

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



"OBTENCION DE LAS CONSTANTES CINETICAS
DE BIODEGRADACION DE BTEX EN PRESENCIA
DE EMTB POR UN CONSORCIO MICROBIANO
MIXTO ACLIMATADO A BTEX; EN MATRICES
ACUOSAS Y DE SUELO, EN PRESENCIA Y
AUSENCIA DEL SURFACTANTE
TERGITOL NP-10"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:

JUAN FRANCISCO VILLARREAL CHIU

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE DE 2003

TL

QR53

.5

.P48

V5

2003

c.1



1080114667

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



"OBTENCION DE LAS CONSTANTES CINETICAS DE BIODEGRADACION DE BTEX EN PRESENCIA DE EMTB POR UN CONSORCIO MICROBIANO MIXTO ACLIMATADO A BTEX; EN MATRICES ACUOSAS Y DE SUELO, EN PRESENCIA Y AUSENCIA DEL SURFACTANTE TERGITOL NP-10"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

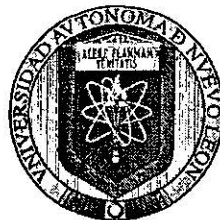
PRESENTA:

JUAN FRANCISCO VILLARREAL CHIU

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE DE 2003

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**“OBTENCIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS DE
BIODEGRADACIÓN DE BTEX EN PRESENCIA DE EMTB POR UN
CONSORCIO MICROBIANO MIXTO ACLIMATADO A BTEX; EN
MATRICES ACUOSAS Y DE SUELO, EN PRESENCIA Y AUSENCIA
DEL SURFACTANTE TERGITOL NP-10”**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:
JUAN FRANCISCO VILLARREAL CHIU

TL

QR53

.S

.P48

U5

2003



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

“OBTENCIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS DE BIODEGRADACIÓN
DE BTE₀X EN PRESENCIA DE EMTB POR UN CONSORCIO MICROBIANO
MIXTO ACLIMATADO A BTEX; EN MATRICES ACUOSAS Y DE SUELO,
EN PRESENCIA Y AUSENCIA DEL SURFACTANTE TERGITOL NP-10”

TESIS PROFESIONAL

Elaborada por:

JUAN FRANCISCO VILLAREAL CHIU

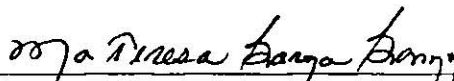
Aceptada y aprobada como requisito parcial para obtener el título de:

LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL

Comisión de tesis:



Dr. Sc. Karim Acuña Askar
Asesor Principal y Director de Tesis



M.C. María Teresa Garza González
Asesor interno



M.C. Alejandro García García
Revisor de tesis



Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa
Revisor de tesis

MONTERREY, N.L.

SEPTIEMBRE DE 2003

A mis padres

DR. JUAN FCO. VILLARREAL ARREDONDO
BIOL. MA. GUADALUPE CHIU DE VILLARREAL

Gracias padres por su humildad
porque me enseñaron que uno no es más hombre
por ser infalible, sino más humano
y pleno al actuar con honestidad
y reconocer los errores cometidos.

Gracias por compartir mi desarrollo,
por gozar de mi gozo de aprender
y descubrir las maravillas que la naturaleza
comparte con nosotros, gracias por compartirme
sus experiencias y permitirme darme cuenta
de la finalidad de conocer el universo.

A mi hermana:

ANNIE CHANTALE VILLARREAL CHIU

Que este pequeño éxito sea una fuente de
inspiración para que realices tus metas y sueños.

Al profesor

Dr. Sc. Karim Acuña Askar

Por sus muchas enseñanzas y sacrificios
para la realización de este trabajo

Porque el florecer del conocimiento comenzó
con la semilla de la curiosidad y regada con
el líquido vital de la enseñanza.

A mis colegas y amigos:

MIRIAM VERÓNICA GRACIA LOZANO
IRAM PABLO RODRÍGUEZ SÁNCHEZ

Por toda su colaboración y entusiasmo
para la realización de esta tesis.

“OBTENCIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS DE BIODEGRADACIÓN DE BTE_oX EN PRESENCIA DE EMTB POR UN CONSORCIO MICROBIANO MIXTO ACLIMATADO A BTEX; EN MATRICES ACUOSAS Y DE SUELO, EN PRESENCIA Y AUSENCIA DEL SURFACTANTE TERGITOL NP-10”

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó de enero a julio del 2003, en el cual se estudió la biodegradación de compuestos contaminantes provenientes de la gasolina sin plomo, siendo estos el benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno (BTE_oX) y éter metil ter-butílico (EMTB), por una biomasa previamente aclimatada a 800 mg/L de BTEX totales.

Se encontró que 905 mg/L de masa celular de la biomasa aclimatada compuesta por una mezcla de bacterias y hongos fue capaz de biodegradar en un 99% al tolueno, etilbenceno y benceno y un 50% al o-xileno, mientras que el EMTB no presentó una biodegradación significativa, determinándose las constantes cinéticas globales y específicas de estas biodegradaciones.

Además se encontró que la presencia de suelo afecta de manera negativa sobre la biodegradación de los compuestos de baja polaridad, al presentarse el efecto de partición agua:suelo.

Por los resultados obtenidos, se observó que el surfactante Tergitol NP-10 tiene un efecto positivo sobre la eficiencia de la biodegradación cuando la biomasa se encuentra en presencia de suelo.

Señor:

Ayúdame a encontrar la fortaleza del viejo roble,
para que ningún triunfo me envanezca.

La alegría de la naturaleza, para que ninguna
soledad me abata.

La libertad del ave, para elegir mi camino.

Y la voluntad del expedicionario, para seguir
siempre adelante y servir.

A mis abuelos

Por su eterno afecto y apoyo,
Con profundo cariño y admiración.

A mi novia:

LESLIE AIDEE BOTELLO SALINAS

Por ser mi fuente de inspiración y energía inagotable para
la realización de este trabajo.

A mis amigos y maestros

Por guiarme hacia el camino de mis
sueños

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó con el apoyo del Instituto Mexicano del Petróleo, mediante el Proyecto Interinstitucional FIES 96 F48-VI. Así mismo se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo recibido mediante los proyectos I32968-B y 990345, y a la Universidad Autónoma de Nuevo León por los proyectos PAICYT números SA672-02, SA591-01 y SA241-99.

Agradezco al Dr. Hugo A. Berrera Saldaña, jefe del Depto. de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L., las facilidades brindadas a través de la Unidad de Laboratorios de Ingeniería y Expresión Genética, para que se desarrollara el presente trabajo.

A la M.C. María Teresa Garza González, coordinadora de la Licenciatura en Química Industrial por su guía profesional y orientación para realizar este estudio.

Al Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa y M.C. Alejandro García García, profesores de Licenciatura en Química Industrial por sus indicaciones y consejos para elaborar este trabajo.

INDICE

I.	Introducción	
	1. Introducción	1
	2. Justificación	6
	3. Hipótesis	8
	4. Objetivos	
	4.1. General	9
	4.2. Particulares	9
II.	Revisión de Literatura	
	1. Antecedentes	11
	2. Tipos de contaminación	16
	3. Contaminantes	
	3.1. Gasolina	19
	3.2. Benceno	23
	3.3. Tolueno	27
	3.4. Etilbenceno	30
	3.5. Xilenos	33
	3.6. EMTB	36
	4. Normatividad ambiental	39
	5. Biorremediación	
	5.1. Fundamentos	45
	5.2. Microorganismos utilizados	50
	5.3. Vías metabólicas	53

III. Materiales y Métodos	
1. Ubicación	56
2. Materiales	
2.1. Equipo	57
2.2. Materiales	58
2.3. Reactivos	61
3. Métodos	
3.1. Aclimatización de la biomasa	
3.1.1. Medio de cultivo	63
3.1.2. Aislamiento de microorganismos	68
3.2. Análisis cromatográfico	72
3.2.1. Inyección de muestra por purga y trampa	73
3.2.2. Condiciones de separación cromatográfica	75
3.2.3. Curva de calibración	77
3.3. Ensayos cinéticos	
3.3.1. Diseño experimental	80
3.3.2. Preparativos	83
3.3.3. Montaje	89
3.4. Determinación de sólidos suspendidos volátiles	98
3.5. Determinación de la tensión superficial	102
3.6. Obtención de coeficientes adimensionales de Henry	106

IV.	Resultados y Discusiones	
1.	Curva de calibración	108
2.	Efectos de partición	113
3.	Constantes cinéticas globales de velocidad	120
4.	Sólidos suspendidos volátiles	233
5.	Constantes cinéticas específicas de velocidad	236
6.	Tensión superficial	238
7.	Coefficientes adimensionales de Henry	243
V.	Conclusiones	253
VI.	Recomendaciones	255
VII.	Bibliografía	256
VIII.	Anexos	261

INDICE DE TABLAS

<u>TABLA No.</u>	<u>PAGINA</u>
1. Efectos toxicológicos de los contaminantes	3
2. Propiedades físicas y químicas de la gasolina	21
3. Componentes de la gasolina	22
4. Propiedades físicas y químicas del benceno	26
5. Propiedades físicas y químicas del tolueno	29
6. Propiedades físicas y químicas del etilbenceno	32
7. Propiedades físicas y químicas del xileno	35
8. Propiedades físicas y químicas del EMTB	38
9. Límites máximos permisibles de concentración de hidrocarburos aromáticos en agua según la NOM-127-SSA1-1994.	41
10. Límites máximos permisibles en mg/Kg de hidrocarburos aromáticos en suelo según la NOM-EM-138-ECOL-2002	42
11. Límites máximos permisibles de hidrocarburos aromáticos en agua, según la NPDWR	43
12. Límites máximos permisibles de hidrocarburos aromáticos en agua, según los Estándares Primarios del Estado de California	44
13. Límites máximos permisibles en mg/Kg de hidrocarburos aromáticos en suelo según las regulaciones del Estado de Carolina del Norte	44
14. Microorganismos presentes en el consorcio utilizado en la biodegradación de BTEX	52
15. Volumen de sustrato requerido para lograr la concentración de cada estándar.	78
16. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras control que contienen solamente buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.	114

17. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 5 gramos de suelo estéril, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB. 114
18. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 5 gramos de suelo estéril, 25 mg/L de Tergitol NP-10, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB. 115
19. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 17 en relación con las muestras de la Tabla 16. 115
20. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 18 en relación con las muestras de la Tabla 16. 116
21. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 18 en relación con las muestras de la Tabla 17. 118
22. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras control que contienen solamente buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB. 124
23. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 2 mL de biomasa concentrada, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB. 124
24. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 2 mL de biomasa concentrada, 5 gr de suelo estéril, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB. 125
25. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 2 mL de biomasa concentrada, 5 gr de suelo estéril, 25 mg/L de Tergitol NP-10, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB. 125
26. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 23 en relación con las muestras de la Tabla 22. 126

27. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).	127
28. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.	127
29. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	129
30. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	130
31. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del benceno por la biomasa aclimatada a BTEX.	131
32. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	133
33. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	134
34. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX.	135
35. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	137
36. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	138
37. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX.	139
38. Concentraciones teóricas de o-xileno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	141
39. Concentraciones teóricas de o-xileno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	142
40. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX	143
41. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por la biomasa aclimatada a BTEX.	146
42. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 22.	148
43. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).	149

44. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.	149
45. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	151
46. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	152
47. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX.	153
48. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	155
49. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	156
50. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril.	157
51. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	159
52. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.	160
53. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril.	161
54. Constantes cinéticas globales de remoción presentadas por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril.	166
55. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 22.	167
56. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).	168
57. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.	168
58. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	170
59. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	171

60. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10	172
61. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	174
62. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	175
63. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10	176
64. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	178
65. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	179
66. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10	180
67. Constantes cinéticas globales de remoción presentadas por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentran en presencia de Tergitol NP-10.	185
68. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 23.	187
69. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).	188
70. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.	188
71. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	190
72. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	191
73. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del benceno en presencia de suelo.	192
74. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	195

75. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	196
76. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del tolueno en presencia de suelo.	197
77. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento	199
78. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	200
79. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del etilbenceno cuando ésta se encuentra en presencia de suelo.	201
80. Constantes cinéticas globales de la eficiencia de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB.	206
81. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 25 en relación con las muestras de la Tabla 18.	208
82. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).	208
83. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.	209
84. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	211
85. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	212
86. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del benceno en presencia de suelo y Tergitol NP-10.	213
87. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	215
88. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	216
89. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del tolueno en presencia de suelo y surfactante.	217
90. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.	219

91. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida	220
92. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa sobre la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo y Tergitol NP-10.	221
93. Constantes cinéticas globales de la eficiencia de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB cuando ésta se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10.	226
94. Constantes cinéticas globales para los bioensayos cinéticos.	227
95. Porcentaje de eliminación de lo BTEoX y EMTB en los bioensayos cinéticos.	230
96. Promedio de las tres réplicas de los valores obtenidos en la determinación de sólidos suspendidos volátiles presentados en el Anexo G.	233
97. Masa celular presente en las muestras de biomasa concentrada que fueron utilizadas para diluirse en los bioensayos experimentales.	233
98. Masa celular presente en los bioensayos experimentales.	235
99. Constantes cinéticas específicas para los bioensayos cinéticos	237
100. Densidad de las muestras utilizadas en la determinación de la tensión superficial.	238
101. Promedio de las alturas obtenidas en la determinación de la tensión superficial.	239
102. Tensión superficial de las muestras analizadas.	239
103. Concentraciones extrapoladas de Tergitol NP-10 presentes en las muestras de los bioensayos.	240
104. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase líquida.	249
105. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase de vapor.	250
106. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase líquida.	250
107. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase de vapor.	251
108. Coeficientes adimensionales de Henry (K_H).	251

INDICE DE FIGURAS

<u>FIGURA No.</u>	<u>PAGINA</u>
1. Estructura del benceno	23
2. Estructura del tolueno	27
3. Estructura del etilbenceno	30
4. Estructuras de los isómeros orto- meta- y p-xileno	33
5. Estructura del EMTB	36
6. Vía usual de contaminación de los BTEX	45
7. Ejemplo de la activación del anillo en la biodegradación del o-Xileno	54
8. Ejemplo de la ruptura del anillo en la biodegradación del o-Xileno	55
9. Comparación de un control negativo con una caja inoculada que presenta crecimiento, ambos en agar BTEX	70
10. Equipo de cromatografía de gases	72
11. Columna Petrocol tm adaptada al cromatógrafo	72
12. Inyección de nitrógeno en la etapa de purga en el concentrador de muestras por Purga y Trampa	74
13. Cromatograma típico indicando los tiempos de retención para BTEoX y las áreas obtenidas para una muestra problema	76
14. Etiqueta para la muestra control que sería muestreada a las 36 horas de la cinética realizada el 23 de mayo de 2003	87
15. Medición del ascenso capilar de una muestra	102
16. Curva de calibración de benceno estando presentes los BTEoX y EMTB	108
17. Curva de calibración de tolueno estando presentes los BTEoX y EMTB	109
18. Curva de calibración de etilbenceno estando presentes los BTEoX y EMTB	110
19. Curva de calibración de o-xileno estando presentes los BTEoX y EMTB	111

20. Curva de calibración de EMTB estando presentes los BTEoX y EMTB	112
21. Evaluación de la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB	116
22. Efecto del Tergitol NP-10 en la partición de los BTEoX y EMTB en agua:suelo	117
23. Eficiencia de la actividad del Tergitol NP-10 sobre la partición agua:suelo de los BTEoX y el EMTB	119
24. Gráfica de primer orden para la biodegradación de benceno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	128
25. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del benceno	129
26. Curva de la biodegradación de benceno por la biomasa aclimatada a BTEX	131
27. Gráfica de primer orden para la biodegradación de tolueno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	132
28. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del tolueno	133
29. Curva de la biodegradación de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX	135
30. Gráfica de primer orden para la biodegradación de etilbenceno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	136
31. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del etilbenceno	137
32. Curva de la biodegradación de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX	139
33. Gráfica de primer orden para la biodegradación del o-xileno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	140
34. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del o-xileno	141

35. Curva de la biodegradación de o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX	143
36. Gráfica de primer orden para la biodegradación EMTB	144
37. Curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX	145
38. Gráfica de primer orden para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	150
39. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX	151
40. Curva de la remoción de benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX	153
41. Gráfica de primer orden para la remoción de tolueno por parte del suelo y la biomasa aclimatada, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	154
42. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del tolueno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX	155
43. Curva de la remoción de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril	157
44. Gráfica de primer orden para la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	158
45. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada	159
46. Curva de la remoción de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril	161
47. Gráfica de primer orden para la remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX	162
48. Curva de la remoción del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril	163

49. Gráfica de primer orden para la remoción de EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX	164
50. Curva de la remoción del EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX	165
51. Gráfica de primer orden para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada en presencia de Tergitol NP-10, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	169
52. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa en presencia de surfactante	170
53. Curva de la remoción de benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10	172
54. Gráfica de primer orden para la remoción de tolueno por el suelo y la biomasa aclimatada en presencia de surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	173
55. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del tolueno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10	174
56. Curva de la remoción de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de surfactante	176
57. Gráfica de primer orden para la remoción del etilbenceno por la biomasa aclimatada y el suelo en presencia del Tergitol NP-10, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	177
58. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10	178
59. Curva de la remoción de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10	180
60. Gráfica de primer orden para la remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de surfactante	181
61. Curva de la remoción del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo en presencia de Tergitol NP-10	182

62. Gráfica de primer orden para la remoción de EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada en presencia de Tergitol NP-10	183
63. Curva de la remoción del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia del Tergitol NP-10	184
64. Gráfica de primer orden para la biodegradación del benceno en presencia de suelo, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	189
65. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del benceno en presencia de suelo	191
66. Curva de la biodegradación de benceno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando está en presencia de suelo	192
67. Gráfica de primer orden para la biodegradación de tolueno en presencia de suelo, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	194
68. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del tolueno en presencia de suelo estéril	195
69. Curva de la biodegradación de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de surfactante	197
70. Gráfica de primer orden para la biodegradación de etilbenceno en presencia de suelo, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	198
71. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo	199
72. Curva de la remoción de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10	201
73. Gráfica de primer orden para la biodegradación del o-xileno en presencia de suelo	202
74. Curva de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo	203
75. Gráfica de primer orden para la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo	204
76. Curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo estéril	205

77. Gráfica de primer orden para la biodegradación de benceno en presencia de suelo y surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	210
78. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del benceno en presencia de suelo y surfactante	211
79. Curva de la biodegradación de benceno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo y Tergitol NP-10	213
80. Gráfica de primer orden para la biodegradación del tolueno en presencia de suelo y surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	214
81. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del tolueno en presencia de suelo y Tergitol NP-10	215
82. Curva de la biodegradación de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y surfactante	217
83. Gráfica de primer orden para la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo y surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada	218
84. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo y Tergitol NP-10	219
85. Curva de la biodegradación de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10	221
86. Gráfica de primer orden para la biodegradación del o-xileno en presencia de suelo y Tergitol NP-10	222
87. Curva de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10	223
88. Gráfica de primer orden para la biodegradación del EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10	224

89. Curva de la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando ésta se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10	225
90. Curva de calibración de los estándares de Tergitol NP-10	240
91. Gráfica del análisis de la tensión superficial de las muestras de los bioensayos	241
92. Curva de calibración de la fase líquida de benceno estando presentes los BTEoX y EMTB	244
93. Curva de calibración de la fase líquida de tolueno estando presentes los BTEoX y EMTB	245
94. Curva de calibración de la fase líquida de etilbenceno estando presentes los BTEoX y EMTB	246
95. Curva de calibración de la fase líquida de o-xileno estando presentes los BTEoX y EMTB	247
96. Curva de calibración de la fase líquida de EMTB estando presentes los BTEoX y EMTB	248

INDICE DE ESQUEMAS

<u>ESQUEMA No.</u>	<u>PAGINA</u>
1. Preparación de medio BOD para reactores de aclimatización	65
2. Preparación de medio concentrado BOD para realización de bioensayos	67
3. Método de aislamiento e identificación de los microorganismos aclimatados	71
4. Preparación del estándar de 10 mg/L de BTEoX y EMTB	79
5. Preparación de la biomasa para el ensayo cinético	84
6. Preparación del suelo para el ensayo cinético	85
7. Preparación de solución de surfactante Tergitol NP-10 para el ensayo cinético	86
8. Preparación de los viales que se utilizaron en el ensayo cinético	88
9. Preparación de las muestras que fueron utilizadas en los bioensayos cinéticos.	94
10. Procedimiento para la realización del estudio cinético de biodegradación.	97
11. Procedimiento para la determinación de los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	101
12. Procedimiento para la determinación de la Tensión Superficial	105
13. Procedimiento experimental para la determinación del coeficiente de Henry del estándar de 10 mg/L	107

I. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas ambientales del país, lo constituye la contaminación de los recursos naturales por sustancias potencialmente peligrosas para la vida. Dentro de estas sustancias se encuentran los denominados BTEX, llamados así por las sustancias que lo componen: Benceno, Tolueno, Etilbenceno y los isómeros del Xileno. Estas sustancias constituyen parte importante de la gasolina, llegando a representar el 15% del peso de la mezcla que la compone (ATSDR, 1995).

Se ha demostrado que la vía usual de contaminación de los suelos por estas sustancias la constituyen las fugas en los tanques de producción y almacenamiento subterráneos, derrames accidentales y/o prácticas de disposición inadecuadas (Eweis, 1999). Posteriormente las sustancias migran hacia los mantos freáticos, siendo arrastrados por el agua de las lluvias (Squillace, 1996).

El Éter Metil *ter*-Butílico (EMTB) es otro de los contaminantes importantes de la gasolina y esto se debe a que es muy soluble en agua y no es adsorbido por el suelo, por lo que llega directamente hasta los mantos freáticos, que son utilizados como suministros de agua potable (Hartley *et al.*, 1999).

Todos estos contaminantes han sido catalogados como altamente peligrosos (USEPA, 2003) debido a los graves efectos que pueden provocar en la salud humana, como se presenta en la Tabla 1, incluso, el benceno ha sido clasificado como cancerígeno por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (ATSDR, 1997).

En México, la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) ha desarrollado una normatividad que regula los límites máximos permisibles de estos contaminantes en suelos y en aguas nacionales (SEMARNAT, 2002a; SSA, 2000).

Tabla 1: Efectos toxicológicos de los contaminantes (Dean, 1978)

Benceno:	Alto riesgo de cáncer, tales como anemia, leucemia, pancitopenia, en animales.
Tolueno:	Es causante de trastornos renales, hepáticos, del sistema nervioso central, daños permanentes al cerebro y a la facultad del habla
Etilbenceno:	Ha demostrado causar trastornos renales, hepáticos y pulmonares en animales de laboratorio
Xilenos:	Causa lesiones al sistema nervioso central
EMTB:	Es clasificado como posible cancerígeno, afecta al SNC y al sistema reproductivo (Belpoggi, 1995)

Teniendo en cuenta que en los Estados Unidos se produjeron 12,000 millones de lbs. de benceno, 6,400 millones de lbs. de tolueno, 11,800 millones de lbs. de etilbenceno, 6,840 millones de lbs. de xilenos durante el año de 1993 (USEPA, 2003) y cerca de 200,000 barriles diarios de EMTB en 1999 (ATSDR, 2002) y considerando que existen cerca de 200,000 tanques de almacenamiento que presentan fugas (Eweis, 1999), se puede tener una idea de los altos niveles de contaminación a los que se está expuesto.

Considerando que estos compuestos son parcialmente biodegradables, la mayor parte de ellos permanecen en el ambiente (Stiner y Halverson, 2002). Es por esto, que se tienen que desarrollar nuevas y mejores tecnologías para la restauración ambiental, que puedan operar a bajo costo, que logren disminuir los niveles de contaminación por debajo de las regulaciones ambientales y que sean amigables con el ambiente.

Una de las tecnologías más importantes para la restauración de sitios contaminados, es la biorremediación, que consiste en la utilización de microorganismos aclimatados para degradar los compuestos contaminantes. De entre las muchas ventajas que presenta esta tecnología, se pueden citar las siguientes:

- El costo suele ser bajo.
- En algunos casos el tratamiento suele ser rápido.
- Se evita el transporte del contaminante.
- El suelo puede reutilizarse en un tiempo muy corto.
- No se producen efectos secundarios.
- Los microorganismos mueren al ya no estar presente el substrato.

2. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo surge de la necesidad de eliminar contaminantes tóxicos del medio ambiente, los cuales afectan la salud del hombre y alteran el equilibrio ecológico. En la presente investigación se aplicó una tecnología innovadora para degradar contaminantes altamente dañinos a los seres vivos y se evaluó la eficiencia de dicho proceso.

Debido a que los BTEX y el EMTB van acompañados en la pluma contaminante tanto de los mantos freáticos como de los suelos expuestos a derrames, es importante determinar la biodegradabilidad que presentan estos compuestos. En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo el estudio de la biodegradabilidad de los BTEoX y el EMTB, por medio de un consorcio microbiano aclimatado a BTEX, así como también la determinación de las constantes de biodegradación globales y específicas para cada uno de los BTEoX y el EMTB. Las condiciones empleadas en este estudio no se ha reportado en la literatura científica y puede llegar a ser de gran utilidad para el tratamiento a nivel de campo. Además, en este trabajo, se analiza el efecto que tiene el surfactante no iónico Tergitol NP-10 sobre la biodisponibilidad de los BTEX y el EMTB, para de esta manera determinar si presentan efectos positivos o negativos en el proceso de biodegradación por los microorganismos.

Es importante destacar que en esta serie de experimentos se utilizó solamente el isómero *orto*-xileno debido a su alta recalcitrancia comparada con los otros isómeros del xileno (García-Peña *et al.*, 2003). Adicionalmente, el uso de *orto*-xileno facilita la determinación analítica por medio de la cromatografía de gases con detección por ionización de llama.

3. HIPÓTESIS

En este estudio se probará la hipótesis de que un consorcio microbiano mixto aclimatado a 800 mg/L de BTEX totales es capaz de biodegradar benceno, tolueno, etilbenceno y *o*-xileno en presencia del éter metil *ter*-butílico (EMTB) y del Tergitol NP-10.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar las constantes de biodegradación de los BTEoX en presencia de EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a BTEX; en matrices acuosas y suspensiones de suelo, a la concentración inicial de 50 mg/L de cada uno de los contaminantes y su efecto en presencia de 25 mg/L de Tergitol NP 10 como surfactante.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Aclimatar un consorcio microbiano a la presencia de 200 mg/L de benceno, 200 mg/L de tolueno, 200 mg/L de etilbenceno y 200 mg/L de *orto*, *meta* y *para*-xilenos en un reactor a escala semipiloto de 19 litros con un volumen de trabajo de 8 litros.
2. Evaluar el efecto de partición de los BTEoX en el medio agua:suelo.
3. Evaluar el efecto del surfactante Tergitol NP 10 sobre la partición de BTEoX en suspensiones de suelo.
4. Evaluar las constantes globales y específicas de biodegradación de cada BTEoX, estando juntos, en presencia de EMTB, en matriz acuosa, por un consorcio microbiano aclimatado.

5. Evaluar las constantes de biodegradación global y específica de cada BTEoX, estando juntos, en presencia de EMTB, en suspensiones de suelo, por un consorcio microbiano aclimatado.

6. Evaluar los efectos del surfactante Tergitol NP 10 sobre las constantes de biodegradación de BTEoX.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. ANTECEDENTES

Algunos grupos de investigación en todo el mundo, han estudiado la biodegradación de los BTEX y el EMTB, utilizando para ello, una gran variedad de parámetros. Sin embargo, son limitados los estudios en los cuales se evalúe la capacidad de biodegradación sobre dichos contaminantes en conjunto.

Algunos trabajos de investigación han reportado que la biodegradación de cada compuesto depende directamente del consorcio y de la concentración a la que está aclimatado. Acuña-Askar *et al.* (2002a) reportaron una serie de experimentos en los cuales se aclimataron 2 inóculos de una misma fuente a diferentes concentraciones de BTEX, obteniendo como resultado que las 2 biomasa presentaban diferentes patrones de biodegradación. La biomasa aclimatada a la mayor concentración biodegradó el 99% de los BTEoX totales, mientras que la otra biomasa presentó la singularidad que solo era capaz de biodegradar el 90% del benceno presente y que tenía una mayor rapidez en la biodegradación de tolueno, etilbenceno y o-xileno.

En biorremediación, el uso de consorcios microbianos son generalmente de mayor interés que los cultivos puros (Eweis 1999), como lo demuestra Hatzinger *et al.* (2001), quienes realizaron experimentos de biodegradabilidad

del EMTB por un cultivo puro de la bacteria *Hydrogenophaga flava*, la cual no fue capaz de captar al EMTB como fuente de carbono o energía. A pesar de esto, se ha encontrado que ciertas especies son capaces de realizar una buena biodegradación por sí mismas a niveles adecuados. Prenafeta-Boldú *et al.* (2002), realizaron pruebas de biodegradabilidad con *Cladophialophora sp.* encontrando que ésta, presenta una alta capacidad biodegradadora del tolueno, del *orto* y *meta*-xileno pero no de benceno, etilbenceno ni *para*-xileno. Es aquí donde resalta la gran utilidad de los consorcios microbianos. Acuña-Askar *et al.* (2003) reportan una biodegradabilidad del 99% para benceno, tolueno y etilbenceno, y un 94% para el *orto*-xileno utilizando un consorcio microbiano aclimatado a 1200 mg/L de BTEX, así como un intervalo de 84 a 99% de biodegradabilidad de los BTEX por un consorcio aclimatado a 400 mg/L de BTEX. En el caso de la biodegradación de EMTB, Wilson *et al.* (2001) reportan una biodegradación del 99% utilizando un consorcio bacteriano.

Para mejorar el poder de biodegradación de los microorganismos, los investigadores manipulan ciertas condiciones ambientales que estimulan o facilitan el trabajo de la célula microbiana. Edwards y Grbic-Galic (1992) realizaron estudios de biodegradación de benceno bajo condiciones anaeróbicas, utilizando como última fuente receptora de electrones al ion sulfato, encontrando que el benceno era degradado más del 90% en un tiempo de 60 días. Álvarez y Vogel (1995) reportaron que el tolueno puede ser biodegradado cuando se utiliza una fuente de nitrato como ultimo receptor de electrones. Sin

embargo, encontraron que estas condiciones no eran buenas para biodegradar al benceno, el etilbenceno y sus derivados metabólicos. Bradley *et al.* (2001) presenta una buena biodegradabilidad del EMTB bajo condiciones anaeróbicas, utilizando también como última fuente receptora de electrones al ion nitrato.

Se ha encontrado que, los surfactantes suelen ayudar en la biodegradación de los compuestos derivados del petróleo. Así lo demuestran Falatko y Novak (1992) en su trabajo de investigación, donde muestran que los microorganismos llegan a producir surfactantes naturales (biosurfactantes) para incrementar la solubilidad de los compuestos poco solubles de la gasolina en el medio de cultivo y de esta manera, promover la biodegradación de estos compuestos haciéndolos más biodisponibles.

Diversos autores han conjuntado diferentes técnicas para aumentar la eficiencia en la biodegradación de estos contaminantes. Un ejemplo de esto, es lo reportado por Acuña-Askar *et al.* (2002b), que estudiaron el efecto de un pretratamiento químico utilizando el reactivo de Fenton (Fe(II) y H_2O_2) para disminuir la recalcitrancia de los BTEX en los microorganismos, encontrando que estos compuestos aromáticos se degradaban de forma instantánea hasta un 50% en concentraciones de 1 mg/L, mientras que a una concentración de 100 mg/L se degradaban solo un 10%, por lo que concluyó que a medida que aumentaba la concentración inicial de BTEX, los porcentajes de degradación química disminuían. Esto es importante, porque las concentraciones de

contaminantes que presentan comúnmente los mantos acuíferos son alrededor de los 20 $\mu\text{g/L}$ para los BTEX (ATSDR, 1995) y los 0.15 $\mu\text{g/L}$ para el EMTB (ATSDR, 2002), por lo que esta técnica no presenta grandes ventajas para la biodegradación. Barreto *et al.* (1995) realizaron un estudio de degradación fotocatalítica del EMTB utilizando como fotocatalizador el TiO_2 , encontrando que el EMTB se reducía en un 76% en los primeros 20 minutos y era totalmente degradado a las 4 horas, por lo que podría utilizarse como un buen pretratamiento debido a la alta recalcitrancia del EMTB.

Se han realizado estudios para entender el comportamiento y la metabolización de estos compuestos por los microorganismos biodegradadores. Entre ellos se encuentra el trabajo realizado por Tsao *et al.* (1998), en el cual presentan una demostración de la ruta metabólica del benceno, tolueno, *meta*- y *para*-xileno (BTX). Para esto, utilizaron reactivos marcados con isótopos de ^{14}C para luego monitorear la ruta de estos isótopos a través de todo el sistema. Con esto determinaron que los BTX eran llevados directamente a CO_2 y no a subproductos metabólicos que pudieran o no, ser tóxicos para el consorcio o los humanos. Villarreal-Chiu *et al.* (2003) presentan una tendencia de biodegradación de los BTEoX, donde muestran que el etilbenceno y el tolueno son los compuestos de más rápida asimilación por el consorcio y que a su vez, estos compuestos funcionan como inhibidores de la biodegradación del benceno y del *o*-xileno, ya que estos son consumidos solamente cuando termina la biodegradación del etilbenceno y del tolueno. Esto es confirmado

posteriormente por García-Peña *et al.* (2003), quienes obtienen los mismos patrones de biodegradación utilizando una biomasa diferente.

Debido a los avances que se han alcanzado a través de estos trabajos de investigación, se ha podido generar tecnologías que puedan aplicarse en los sitios contaminados. Tal es el caso de la descontaminación de mantos freáticos en Corea como lo reportan Chang *et al.* (2001) y la biorrecuperación de suelos contaminados en Carolina del Norte (Eweis, 1999).

2. TIPOS DE CONTAMINACIÓN

La contaminación se define como un cambio indeseable en las características químicas o biológicas del aire, agua o suelo que puede afectar la salud, la supervivencia o las actividades de los seres humanos o de otros organismos vivos (Henry y Heinke, 1999).

Los problemas de contaminación de suelos y agua a gran escala que se han registrado últimamente son consecuencia del desarrollo de nuestra sociedad moderna industrializada. El problema de contaminación más común con hidrocarburos en el mundo está constituido por las fugas de gasolina a partir de los depósitos de almacenamiento subterráneos, además, de los accidentes ocasionados durante el transporte del petróleo.

La contaminación de suelos y agua puede clasificarse en función del compuesto contaminante, de la siguiente manera (Eweis, 1999):

- **Compuestos químicos utilizados en la agricultura:**

Proceden de distribuidores de productos químicos, plantas de manufactura, granjas, aeropuertos destinados a vuelos de fumigación. La movilidad de los contaminantes generalmente es baja en el suelo y dentro de los efectos toxicológicos que producen está la degeneración del sistema nervioso central y algunos tipos de cáncer.

- **Gasolina y Diesel:**

Proceden de las estaciones de servicio y refinerías. Su movilidad es moderada y llegan a producir cáncer.

- **Pinturas:**

Proceden en su mayoría de los vertederos de basura municipal. Tienen una movilidad de moderada a alta y llegan a producir intoxicación por metales pesados, daños en el sistema nervioso central y cáncer.

- **Disolventes:**

Proceden de las plantas eléctricas, industrias y talleres. También tienen una movilidad de moderada a alta y producen diversos tipos de cáncer y daños al sistema nervioso central.

- **Hidrocarburos Poliaromáticos:**

Proceden de la fabricación de gas de hulla. Su movilidad es de baja a moderada. Algunos de ellos son cancerígenos.

- **Bifenilos policlorados:**

Proviene de transformadores eléctricos. Su movilidad es baja y producen cáncer.

- **Dioxinas:**

Son producidos como subproductos en la fabricación de compuestos químicos, además, se encuentran en los gases proveniente del escape de los vehículos y en la combustión de residuos. Su movilidad es baja y estimulan la formación de tumores.

3. CONTAMINANTES

3.1. GASOLINA

La gasolina es una mezcla compleja que no existe naturalmente en el ambiente, sino que es producida a través de la refinación del petróleo. Esta mezcla se utiliza primordialmente como fuente de combustible para motores de combustión interna de automóviles y otros vehículos.

La gasolina esta constituida por cerca de 150 compuestos como puede observarse en la Tabla 3, dependiendo de la calidad del petróleo crudo del cual se produjo, la calidad del proceso al cual fue sometido y las condiciones climáticas del año en las que fue procesado. Además de esta cantidad de compuestos, se le añaden otros como benceno, tolueno, etilbenceno, xilenos y EMTB para mejorar su octanaje (ATSDR, 1995).

En sí, la gasolina es un líquido incoloro, a veces de color café muy tenue. Es un líquido muy inflamable que se evapora fácilmente y forma mezclas explosivas con el aire. La gasolina no es soluble en agua, sin embargo, algunos de sus componentes pueden llegar a solubilizarse con facilidad, lo que hace que la gasolina pueda encontrarse tanto en el aire, en agua y en el suelo (Klaassen, 2001). La Tabla 2 muestra las propiedades físicas y químicas de la gasolina.

La gasolina debido a su composición, puede ingresar al medio ambiente de distintas maneras. Algunos de sus componentes se evaporan fácilmente en el momento que entran en contacto con el aire, tal sería el caso cuando se llena un tanque de gasolina o accidentalmente cae al suelo una vez terminada esta operación. Otros componentes se disuelven en agua, por lo que un derrame o las fugas de los tanques de almacenamiento pueden llegar producir que estos contaminantes ingresen al ambiente y lleguen directamente hasta los mantos freáticos. Mientras que algunos otros compuestos son adsorbidos en el suelo y permanecen ahí hasta ser degradados por los microorganismos presentes (ATSDR, 1995; USEPA, 2000).

Normalmente, los componentes de la gasolina que se evaporan son destruidos rápidamente por la luz solar y por otras sustancias que se encuentran en el ambiente y aquellos componentes que se disuelven en el agua se degradan por procesos naturales (Klaassen, 2001)

Existe riesgo a la salud por intoxicación con gasolina, a través de la exposición a los vapores de la gasolina sobre todo en las estaciones de servicio, o al beber agua contaminada con esta mezcla proveniente de las fugas de los cerca de 200,000 tanques de almacenamiento subterráneos que existen (USEPA, 2000).

La dosis letal en humanos de la gasolina se encuentra entre los 10,000 y 20,000 mg/L cuando es inhalada y cerca de 340 mL cuando es consumida. A pesar de esto, muchas de las intoxicaciones se deben a la acción de un compuesto químico de la mezcla en especial. La gasolina por sí misma es un irritante para la piel, lengua y esófago. En dosis pequeñas llega a producir mareos y dolor de cabeza (ATSDR, 1995).

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de la gasolina (ATSDR, 1995).

Propiedades	Información
Peso molecular	108 g/mol
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro, café tenue, rosa
Punto de ebullición a 1 atm	39°C
Densidad a 25°C	0.7-0.8 g/cm ³
Solubilidad:	
Agua a 20°C	Insoluble
Solventes orgánicos	Alcohol absoluto, éter, cloroformo, benceno

Tabla 3. Componentes de la gasolina (ATSDR, 1995).

Componente	Porcentaje de Composición
n-Alcanos	
C ₅	3.0
C ₆	11.6
C ₇	1.2
C ₉	0.7
C ₁₀ -C ₁₃	0.8
Total de n-alcanos	17.3
Alcanos ramificados	
C ₄	2.2
C ₅	12.1
C ₆	8.0
C ₇	1.9
C ₈	1.8
C ₉	2.1
C ₁₀ -C ₁₃	1.0
Total alcanos ramificados	32.0
Cicloalcanos	
C ₆	3.0
C ₇	1.4
C ₈	0.6
Total de cicloalcanos	5.0
Olefinas	
C ₆	1.8
Total de Olefinas	1.8
Aromáticos	
Benceno	3.2
Tolueno	4.8
Xileno	6.6
Etilbenceno	1.4
C ₃ -bencenos	4.2
C ₄ -bencenos	7.6
Otros	2.7
Total de aromáticos	30.5

3.2. BENCENO

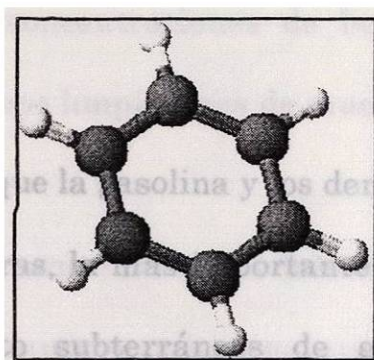


Figura 1. Estructura del benceno

La Figura 1 muestra la estructura química del benceno, el cual es un compuesto altamente utilizado en el mundo y muestra de ello es que en los Estados Unidos, se encuentra dentro de los primeros 10 compuestos de mayor producción. El benceno es un líquido incoloro de olor dulce. Se evapora con facilidad y es poco soluble en agua. Es altamente inflamable y se encuentra en la naturaleza tanto de manera natural como artificial (ATSDR, 1997). La Tabla 4 muestra las propiedades físicas y químicas del benceno.

El benceno puede ser utilizado como tal, pero su mayor beneficio se encuentra en su transformación a productos de mayor utilidad, como lo son los plásticos, resinas, Nylon® y otras fibras sintéticas, además de lubricantes, detergentes, medicamentos, pesticidas y otro sinnúmero de productos.

El benceno puede encontrarse de manera natural en los volcanes y en los incendios forestales, sin embargo, la fuente más importante de benceno en

la actualidad es a través de los procesos industriales, como la refinación del petróleo (Klaassen, 2001).

El benceno, al igual que la gasolina y los demás BTEX, pueden entrar al ambiente de distintas maneras, la más importante es a través de fugas en los tanques de almacenamiento subterráneos de gasolina y en la práctica incorrecta de manejo de reactivos y residuos de las empresas. En la mayoría de las ocasiones, el benceno se evapora en su totalidad del lugar de contaminación y sufre una serie de transformaciones químicas en el ambiente que lo eliminan en unos cuantos días, sin embargo, el benceno puede llegar a filtrarse por el suelo contaminado hasta llegar a los mantos freáticos y entrar a los suministros de agua de las poblaciones (UESPA, 2000).

El benceno se degrada en el medio ambiente en varios días, cuando está en su estado gaseoso, pero le toma un tiempo mayor cuando se encuentra presente en agua o se encuentra adsorbido en el suelo. Pocos son los microorganismos que se han reportado que degradan al benceno en el medio ambiente, esto se debe a la alta recalcitrancia que presenta, sobre todo a la alta estabilidad en su estructura que impide que los microorganismos puedan asimilarlo como fuente de carbono y energía (ATSDR, 1997).

Las personas pueden entrar en contacto con el benceno a través de los gases desprendidos de la gasolina, por el escape de motores mal afinados,

emisiones industriales, inclusive a través del humo de los cigarrillos. Además, se pueden encontrar altas concentraciones de benceno cuando se manejan pinturas, pegamentos y algunos limpiadores de muebles (Klaassen, 2001).

La exposición a altas concentraciones (alrededor de 15 mL) de benceno puede llegar a provocar la muerte, mientras que una simple exposición al benceno puede producir dolores de cabeza, mareo, aceleración en el ritmo cardiaco, somnolencia y vértigo. Cuando el benceno es ingerido, produce vómito, irritación en el estomago, convulsiones e incremento en el ritmo cardiaco (ATSDR, 1997).

Se ha encontrado que una exposición constante al benceno, produce alteraciones en la médula ósea del cuerpo, haciendo que la producción de glóbulos rojos disminuya, hasta llegar a la anemia. También puede llegar a afectar el sistema inmunológico del cuerpo incrementando así la posibilidad de contraer alguna infección (Zinder *et al.*, 1993; Bergsagel *et al.*, 1999).

Tabla 4. Propiedades físicas y químicas del benceno (Merck, 1989).

Propiedades	Información
Peso molecular	78.11 g/mol
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro
Punto de fusión a 1 atm	5.5°C
Punto de ebullición a 1 atm	80°C
Densidad a 25°C	0.8787 g/mL
Solubilidad:	
Agua a 23.5°C	0.188%
Solventes orgánicos	Alcohol, cloroformo, tetracloruro de carbono, ácido acético glacial, éter

3.3. TOLUENO

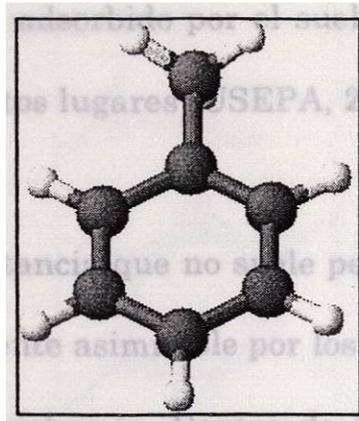


Figura 2. Estructura del tolueno

El tolueno cuya estructura química es presentada en la Figura 2, es un líquido incoloro de olor característico, poco soluble en agua y cuenta con un punto de ebullición mayor a los 100°C , como puede observarse en la Tabla 5. Se encuentra en la naturaleza en el petróleo crudo. En la actualidad se obtiene a través de la producción de gasolina y otros combustibles, también a partir del petróleo crudo y de la producción de coque (ATSDR, 2001).

El tolueno se utiliza para producir pinturas, thinner, adhesivos, explosivos, lacas, resinas, además de una gran variedad de compuestos químicos, como el ácido benzoico y benzaldehído, entre otros. En muchas ocasiones, el tolueno se utiliza como sustituto del benceno, por ser de menor toxicidad (Klaassen, 2001).

El tolueno entra al ambiente a través de derrames de gasolina, petróleo y solventes, también a través de las fugas de los tanques de almacenamiento.

de los sitios de refinamiento de residuos y los tiraderos clandestinos. De esta manera, el tolueno puede ser adsorbido por el suelo y llegar a los ríos y lagos que se encuentren cerca de estos lugares (USEPA, 2000).

El tolueno es una sustancia que no suele permanecer mucho tiempo en el ambiente, ya que es fácilmente asimilable por los microorganismos y tiende a reaccionar fácilmente en el ambiente. Dentro de los microorganismos que se han demostrado capacidad para degradar al tolueno están: *Azoarcus sp.*, *Burkholderia cepacia*, *Thauera aromatica* y una gran variedad de especies del género *Pseudomonas* como la *P. mendocina*, *P. picketti*, *P. putida* (UM-BBD, 2003).

Las formas usuales de intoxicación en las personas son a través de la inhalación en los lugares de trabajo donde se utiliza gasolina, queroseno, pinturas y lacas, bebiendo agua contaminada o cuando se vive cerca de los lugares de refinamiento de residuos y/o tiraderos clandestinos (Klaassen, 2001).

No se tienen evidencias de que el tolueno produzca cáncer, pero se conocen diversos efectos adversos en la salud. Las intoxicaciones a bajas concentraciones de tolueno producen confusión, debilidad, pérdida de memoria, náuseas, pérdida del apetito, cansancio y pérdida de la audición y la visión. Mientras que las intoxicaciones a altas concentraciones de tolueno llegan a

producir somnolencia, mareos, inconsciencia, daños en el riñón y en ocasiones la muerte (ATSDR, 2001; Klaassen, 2001).

Tabla 5. Propiedades físicas y químicas del tolueno (Merck, 1989).

Propiedades	Información
Peso molecular	92.13 g/mol
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro
Punto de fusión a 1 atm	-95°C
Punto de ebullición a 1 atm	110.6°C
Densidad a 25°C	0.866 g/mL
Solubilidad:	
Agua a 23.5°C	0.067%
Solventes orgánicos	Alcohol, cloroformo, tetracloruro de carbono, ácido acético glacial, éter

3.4. ETILBENCENO

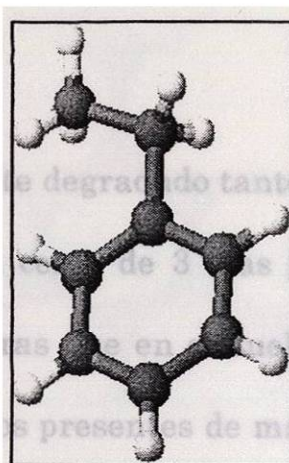


Figura 3. Estructura del etilbenceno

La Figura 3 muestra la estructura química del etilbenceno, el cual es un líquido incoloro e inflamable con olor semejante al de la gasolina. Se encuentra en productos naturales como el alquitrán y el petróleo. Es poco soluble en agua y por el contrario es altamente soluble en solventes orgánicos, los cuáles se muestran en la Tabla 6.

El etilbenceno se utiliza en mayor escala para la producción de otras sustancias químicas, tales como los estirenos, pero suele utilizarse como disolvente industrial o como aditivo en combustibles, también se encuentra en productos manufacturados como insecticidas, pinturas y tintas (ATSDR, 1999).

El etilbenceno, suele ser desechado a través de las aguas industriales y puede ser encontrado cerca de los tanques de almacenamiento de combustible, como es el caso de los otros BTEX. El etilbenceno entra en el ambiente con gran

facilidad debido a que se evapora rápidamente de los suelos o aguas contaminadas (USEPA, 2000).

El etilbenceno es fácilmente degradado tanto en el aire como en el agua y en el suelo. En el aire, le toma cerca de 3 días para ser degradado en otros productos menos nocivos, mientras que en el suelo y en el agua es degradado por acción de los microorganismos presentes de manera natural, en su mayoría del género *Pseudomonas* (UM-BBD, 2003).

Se puede entrar en contacto con este contaminante, a través de la inhalación en áreas particulares como zonas industriales y carreteras, bebiendo agua contaminada, trabajando en industrias donde se trabaje con éste o donde se utilicen productos que lo contengan, tales como la gasolina, pegamentos, barnices, pinturas, pegamentos y asfalto (ATSDR, 1999).

Existe información limitada acerca de los efectos del etilbenceno sobre la salud humana, pero se sabe que este puede llegar a producir mareos, irritación en la garganta y ojos, sensación de ardor en los ojos, y dolor en el pecho. Estudios en animales han revelado que el etilbenceno puede producir tumores y degeneración en el sistema nervioso (Klaassen, 2001).

Tabla 6. Propiedades físicas y químicas del etilbenceno (Merck, 1989).

Propiedades	Información
Peso molecular	106.16 g/mol
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro
Punto de fusión a 1 atm	-95.01°C
Punto de ebullición a 1 atm	136.25°C
Densidad a 25°C	0.866 g/mL
Solubilidad:	
Solventes orgánicos	Alcohol, cloroformo, tetracloruro de carbono, ácido acético glacial, éter, acetona

3.5. XILENO

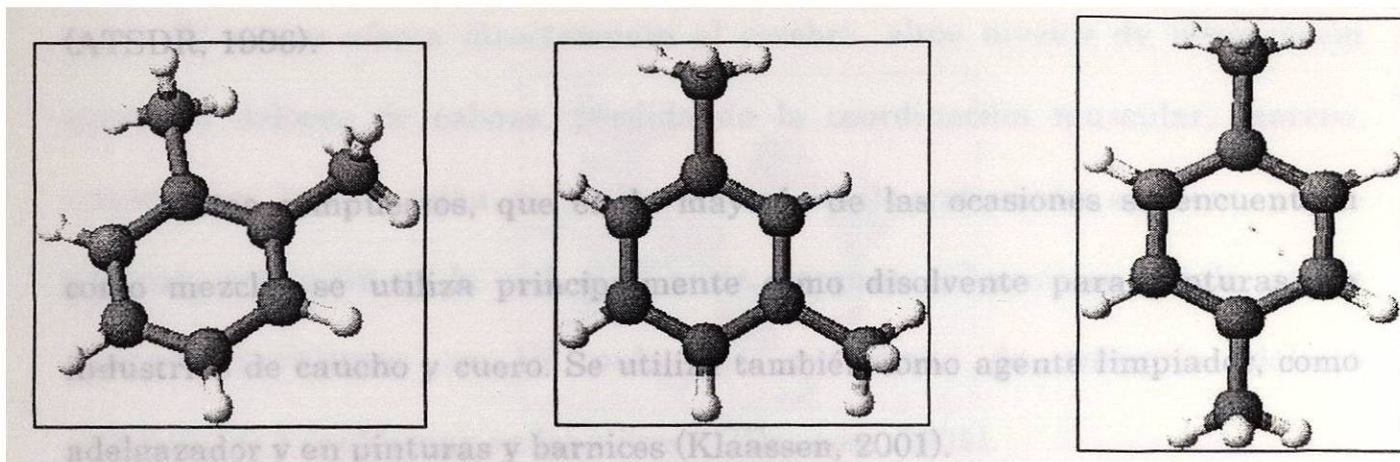


Figura 4. Estructura de los isómeros orto-, meta- y para-xileno

El xileno en realidad es una mezcla de tres isómeros estructurales, o sea, tres compuestos diferentes (mostrados en la Figura 4) que contienen igual número de las mismas clases de átomos, pero estos están unidos entre sí de manera distinta (Morrison y Boyd, 1998).

Esta mezcla se encuentra en forma líquida, incolora, de un olor dulce, insoluble en agua y es altamente inflamable. Es detectable en el aire a concentraciones de 0.8 a 3.7 mg/L y en el agua a concentraciones de 0.53 a 1.8 mg/L. La Tabla 7 muestra las propiedades físicas y químicas del o-xileno.

Los xilenos se encuentran en la naturaleza como parte del petróleo y el alquitrán, además llegan a producirse en los incendios forestales. Sin embargo, se obtiene principalmente de la refinación del petróleo. En los Estados Unidos,

el xileno se encuentra dentro de los 30 productos químicos de mayor producción (ATSDR, 1996).

Estos compuestos, que en la mayoría de las ocasiones se encuentran como mezcla, se utiliza principalmente como disolvente para pinturas, en industrias de caucho y cuero. Se utiliza también como agente limpiador, como adelgazador y en pinturas y barnices (Klaassen, 2001).

Se ha encontrado contaminación por xileno en sitios de refinamiento y en vertederos municipales cuando se desecha como disolvente, como barnices, pinturas y adelgazador (USEPA, 2000).

El xileno se evapora fácilmente de los sitios contaminados y se convierte en sustancias menos peligrosas por la luz solar, mientras que en el suelo y en el agua, se degrada por acción de los microorganismos. Algunos ejemplos de estos microorganismos son: *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Sphingomonas yanoikuyae* (UM-BBD, 2003).

Las personas pueden exponerse al xileno a través de los escapes de los automóviles, en los lugares donde se trabaje con éste, respirando aire contaminado, haciendo contacto con pinturas, removedores de pinturas, barnices, gomas, respirando humo de los cigarrillos o bebiendo agua contaminada (ATSDR, 1996).

El xileno afecta directamente al cerebro, altos niveles de intoxicación provocan dolores de cabeza, pérdida de la coordinación muscular, mareos, cambios en la sensación del balance. La simple exposición a xileno puede provocar irritación en la piel, ojos, nariz, garganta. Cuando se inhala, puede producir problemas en los pulmones, problemas de memoria, dolores estomacales y problemas en los riñones (Klaassen, 2001).

Tabla 7. Propiedades físicas y químicas del xileno (Merck, 1989).

Propiedades	o-Xileno	m-Xileno	p-Xileno
Peso molecular		106.16 g/mol	
Estado físico		Líquido	
Color		Incoloro	
Punto de fusión a 1 atm	-25°C	-47°C	13°C
Punto de ebullición a 1 atm	144°C	139.9°C	137°C
Densidad a 25°C	0.88	0.86	0.86 g/mL
Solubilidad:			
Solventes orgánicos:	Alcohol, cloroformo, tetracloruro de carbono, ácido acético glacial, éter.		

3.6. ÉTER METIL TER-BUTÍLICO

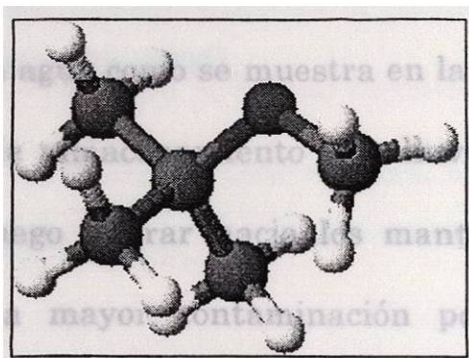


Figura 5. Estructura del EMTB

El Éter metil *ter*-butílico representado en la Figura 5, es un compuesto sintético producido a partir de isobutileno y metanol. Se presenta en estado líquido con un olor dulce característico. Este compuesto se empezó a utilizar como un aditivo en las gasolinas para reemplazar otras sustancias tóxicas como el plomo, a partir de los años setentas. En los lugares donde los niveles de contaminación por monóxido de carbono son muy altos, se llega a incrementar el uso de este compuesto.

El EMTB es el segundo compuesto químico de mayor producción en los Estados Unidos y la mayor parte de la producción está destinada a ser mezclada con la gasolina, sin embargo, el EMTB también es utilizado en los laboratorios científicos y en la medicina, sobre todo para disolver los cálculos biliares (ATSDR, 2002).

EL EMTB se evapora rápidamente al entrar en contacto con el aire y se puede encontrar comúnmente como contaminación en forma de vapor. Sin embargo, es muy soluble en agua como se muestra en la Tabla 8, por lo que los derrames en los tanques de almacenamiento y la lluvia pueden arrastrar el EMTB hacia el suelo y luego migrar hacia los mantos freáticos profundos (Hartley *et al.*, 1999). La mayor contaminación por este compuesto se encuentra cerca de los tanques de almacenamiento subterráneos, las estaciones de servicio, sitios de producción y ductos subterráneos (USEPA, 2002).

De manera natural, el EMTB es destruido por la acción de la luz solar cuando se encuentra en estado gaseoso, sin embargo, el EMTB puede permanecer por mucho tiempo en el agua, ya que es muy recalcitrante para los microorganismos, solo unos cuantos han sido reportados que son capaces de degradarlo y entre éstos, se encuentran: *Arthrobacter ilicis*, *Methylobacter mesophilicum*, *Mycobacterium vaccae*, *Pseudomonas putida* y *Rhodococcus sp* (UM-BBD, 2003).

La mayoría de la gente entra en contacto con el EMTB mientras maneja o llena los tanques de gasolina de sus vehículos. Además de esto, se puede hacer contacto con éste cuando se respira en ciudades muy industrializadas o muy contaminadas, así como bebiendo agua contaminada. Las exposiciones leves al EMTB producen irritación en la nariz y en la garganta, también se han reportado casos de mareos, dolores de cabeza y náuseas. Sin embargo, no se

sabe el nivel de exposición que los llega a provocar en seres humanos. No existen datos acerca de los efectos que tiene el EMTB sobre la salud cuando este es ingerido o bebido (Klaassen, 2001).

Tabla 8. Propiedades físicas y químicas del EMTB (ATSDR, 2002).

Propiedades	Información
Peso molecular	88.15 g/mol
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro
Punto de fusión a 1 atm	-109°C
Punto de ebullición a 1 atm	55.2°C
Densidad a 25°C	0.7405 g/cm ³
Solubilidad:	
Agua a 20°C	4 al 5%
Solventes orgánicos	Alcohol absoluto, éter

4. NORMATIVIDAD

En México, los primeros antecedentes de la política ambiental fueron en los años cuarenta, cuando se promulgó la Ley de Conservación de Suelo y Agua. Tres décadas mas tarde, al inicio de los años setenta, se promulgó la Ley para Prevenir y Controlar la Contaminación.

A partir de 1982 la política ambiental mexicana comenzó a adquirir un enfoque integral y se reformó la Constitución para crear nuevas instituciones y precisar las bases jurídicas y administrativas de la política de protección ambiental. En este año fue creada la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (SEDUE), para garantizar el cumplimiento de las leyes y reorientar la política ambiental del país y en ese mismo año se promulgó la Ley Federal de Protección al Ambiente.

En 1988 fue publicada la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LEEGEPA), misma que hasta la fecha, ha sido la base de la política ambiental del país, estableciendo la creación de Normas Oficiales Mexicanas (NOM) para la conformación de los estándares ambientales nacionales.

En 1989, se creó la Comisión Nacional del Agua (CNA) como autoridad federal en materia de administración del agua, protección de cuencas

hidrológicas y vigilancia en el cumplimiento de las normas sobre descargas y tratamientos del agua.

En 1992, se transformó la SEDUE en la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) y se crearon el Instituto Nacional de Ecología (INE) y la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPa)

En diciembre de 1994 se creó la Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), por la necesidad de planear el manejo de recursos naturales y políticas ambientales en nuestro país desde un punto de vista integral y articular los objetivos económicos, sociales y ambientales. Esta idea nace y crece desde 1992, con el concepto de "desarrollo sustentable". Con este cambio, desaparece la Secretaría de Pesca (SEPEsCA) y la SEMARNAP se integra por la Subsecretaría de Recursos Naturales, la Subsecretaría de Pesca, el Instituto Nacional de Ecología, el Instituto Nacional de la Pesca, el Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, la Comisión Nacional del Agua, la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente y la Comisión para el Conocimiento de la Biodiversidad.

El 30 de noviembre del año 2000, se hizo una enmienda a la Ley de la Administración Pública Federal dando origen a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Este cambio, traspasa el subsector de la pesca a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo

Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) para hacer una gestión funcional que permita impulsar una política nacional de protección ambiental que dé respuesta a la creciente expectativa nacional para proteger los recursos naturales y que logre incidir en las causas de la contaminación y de la pérdida de ecosistemas y de biodiversidad (SEMARNAT, 2002b).

En el año 1996, la Secretaría de Salud expidió la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, llamada “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización” en la cual, establece los límites máximos permisibles para los contaminantes presentes en el agua, entre ellos, los hidrocarburos aromáticos (SSA, 2000). La Tabla 9 muestra los límites máximos permisibles de concentración de los BTEX en agua según ésta norma.

Tabla 9. Límites máximos permisibles de concentración de hidrocarburos aromáticos en agua según la NOM-127-SSA1-1994.

Contaminantes	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
Benceno	10.00
Tolueno	700.00
Etilbenceno	300.00
Xilenos	500.00

En México no se contaba con un marco normativo que precisara los límites máximos permisibles de contaminación en suelos, la metodología para caracterizar los sitios contaminados, ni los procedimientos que se deben llevar

a cabo cuando se produce una emergencia por derrame de hidrocarburos. Por lo que en el año 2002, la SEMARNAT expidió la Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-138-ECOL-2002, que establece los límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración (SEMARNAT, 2002a). Bajo esta Norma, los BTEX se determinan cuando hay derrames de:

- Gasavión
- Gasolvente
- Gasolina Magna
- Gasolina Premium
- Gas nafta
- Éter de petróleo
- Ligroina
- Thinner
- Productos alquilados

La Tabla 10 muestra los límites máximos permisibles de BTX en suelo según esta norma.

Tabla 10. Límites máximos permisibles en mg/Kg de hidrocarburos aromáticos en suelo según la NOM-EM-138-ECOL-2002 (SEMARNAT, 2002a).

Contaminantes	Suelo Comercial	Suelo Residencial	Suelo Industrial
Benceno	20.00	20.00	50.00
Tolueno	40.00	40.00	100.00
Xilenos	40.00	40.00	100.00

En los Estados Unidos, las regulaciones ambientales a nivel federal están dadas por medio de la United States Environmental Protection Agency (USEPA), la cual se estableció en el año 1970 en respuesta a la creciente demanda de la población por una mejor calidad del medio ambiente en el país.

En 1996, la USEPA establece los Estándares Nacionales para el Agua Potable (National Primary Drinking Water Regulations, NPDWR) para que sean aplicados en los sistemas de drenaje públicos, para proteger la salud pública mediante el establecimiento de límites en el nivel de contaminantes en el agua potable (USEPA, 2003). La Tabla 11 muestra los límites máximos permisibles de BTEX en agua según la NPDWR.

Tabla 11. Límites máximos permisibles de hidrocarburos aromáticos en agua, según la NPDWR (USEPA, 2003).

Contaminantes	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
Benceno	5.00
Tolueno	1,000.00
Etilbenceno	700.00
Xilenos	10,000.00

En la actualidad, los Estados Unidos a nivel federal no cuentan con una regulación de estos contaminantes en suelo, sin embargo cada estado puede establecer sus propios parámetros de contaminación, como las presentadas en las Tablas 12 y 13 que establecen los límites máximos permisibles de BTEX y

EMTB en agua en el estado de California y suelo para el estado de Carolina del Norte.

Tabla 12. Límites máximos permisibles de hidrocarburos aromáticos en agua, según los Estándares Primarios del Estado de California (California Code of Regulations, 2002),

Contaminantes	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
Benceno	10.00
Etilbenceno	7,000.00
Tolueno	1,500.00
Xilenos	17,500.00
EMTB	130.00

Tabla 13. Límites máximos permisibles en mg/Kg de hidrocarburos aromáticos en suelo según las regulaciones del Estado de Carolina del Norte (North Carolina Department of Environmental and Natural Resources, 2002).

Contaminantes	Suelo Residencial	Suelo Industrial	Suelo a Agua
Benceno	22.00	200.00	0.0056
Etilbenceno	1,560.00	40,000.00	0.24
Tolueno	3,200.00	82,000.00	7.00
Xilenos	32,000.00	200,000.00	5.00
EMTB	156.00	4,088.00	0.92

5. BIORREMEDIACIÓN

5.1. FUNDAMENTOS

La biorremediación consiste en la utilización de métodos biológicos para transformar o inmovilizar contaminantes que se encuentren en el suelo y/o en el agua. El uso de esta tecnología para tratar residuos peligrosos es un concepto relativamente nuevo. No obstante, su uso ha ido creciendo rápidamente desde los años 70. Esto es debido a muchos factores, uno de ellos es que los métodos biológicos son mucho más económicos que los métodos químicos o físicos.

El mercado para la biorremediación es bastante amplio y un ejemplo de esto son los aproximadamente 200,000 tanques de almacenamiento subterráneos que presentan fugas en los Estados Unidos (Eweis, 1999).

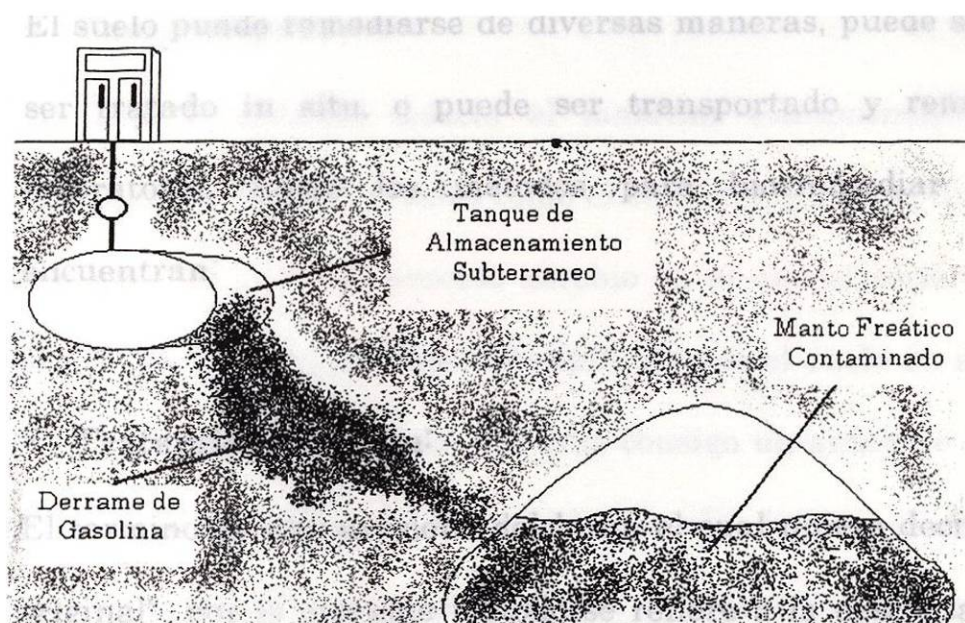


Figura 6. Vía usual de contaminación de los BTEX

Los métodos de biorremediación se pueden clasificar de distintas maneras dependiendo de las condiciones físicas bajo las cuales se someten. Estos son (Eweis, 1999):

- **Biorremediación de mantos freáticos:**

Este método consiste en bombear el agua de los mantos freáticos a la superficie, tratarla y luego usarla o regresarla a los mantos. Este tratamiento requiere de una buena aireación, nutrientes y de un inóculo de los microorganismos degradadores. El método tiene la ventaja de que es muy similar a los tratamientos de aguas residuales, por lo que puede ser incorporada a éstos.

- **Biorremediación de suelos:**

El suelo puede remediarse de diversas maneras, puede ser excavado y ser tratado *in situ*, o puede ser transportado y remediado en el laboratorio. Entre los métodos para biorremediar el suelo se encuentran:

- **Tratamiento *in situ*:**

El término *in situ* proviene del latín, el cual quiere decir “en el lugar original”, por lo que este método se refiere a la descontaminación del suelo en su ubicación original. La ventaja de este método radica en que

no es necesario excavar y transportar el material contaminado, sin embargo presenta dificultades para proveer de oxígeno y nutrientes a los microorganismos degradadores. Una desventaja muy importante, es que presenta el riesgo de esparcir la contaminación a otras áreas aledañas. Además, la velocidad de tratamiento es relativamente baja.

- **Tratamiento en lechos:**

Este método involucra la mezcla de: aireación, suelo contaminado, la adición de nutrientes, además de una constante adición de agua. La ventaja de este método es que puede ser utilizado cerca del lugar de contaminación, sin embargo, presenta la desventaja de que los compuestos volátiles suelen escapar con facilidad.

- **Compostaje:**

En este método se mezcla el material contaminado con agentes esponjantes orgánicos, tales como el estiércol, luego se dispone en filas o hileras. Este es un proceso aerobio en el que el estiércol no solo es capaz de sostener más microorganismos que el suelo en sí (debido a la alta porosidad del estiércol que trae consigo un aumento a la aireación y la distribución de la humedad, además de que al descomponerse genera el calor necesario para que se lleven a cabo las reacciones

degradadoras de los microorganismos), sino que también los provee de nutrientes inorgánicos y materiales inertes.

- **En biorreactores:**

Consiste en sistemas en suspensión, en los cuales el suelo contaminado se introduce en un recipiente con suficiente agua para permitir una mezcla. Al estar la suspensión mezclada, se incrementa el contacto entre los microorganismos y los compuestos contaminantes, dando como resultado un incremento de las velocidades de transferencia de masa y reacción. Se optimiza la biorremediación añadiendo nutrientes y controlando el pH y la temperatura para alcanzar los requerimientos para el crecimiento microbiano. Este método se puede operar de modo continuo, semicontinuo o discontinuo, sin embargo el modo continuo rara vez es utilizado. Se ha determinado que la utilización de poblaciones de cultivos mixtos son casi siempre más estables que los cultivos puros.

Los métodos de biorremediación presentan una serie de ventajas sobre los métodos físicos y químicos, un ejemplo de esto, es el costo de remediar un suelo contaminado, que va de los 100 a los 250 dólares por metro cúbico, mientras que por métodos convencionales como la incineración o los vertederos de seguridad van de los 250 a los 1000 dólares. Otra de las ventajas de la

biorremediación es que el material contaminado no tiene que ser transportado; Además de que la biorremediación usa una tecnología relativamente simple. Dentro de las desventajas de la biorremediación está la dificultad de predecir el grado de rendimiento y la dificultad de escalar la técnica de nivel laboratorio a planta piloto.

Los factores que afectan a la biodegradación se clasifican de tres grupos: ambientales, físicos y químicos, los cuales tienen que ser considerados para el diseño y el buen funcionamiento de las técnicas. El monitoreo y la regulación de estos parámetros puede llegar a ser lo más costoso de la técnica de biorremediación.

5.2. MICROORGANISMOS UTILIZADOS

En la biodegradación, los microorganismos transforman los contaminantes a través de reacciones metabólicas. Tanto los compuestos orgánicos como los compuestos inorgánicos son transformados por microorganismos comúnmente encontrados en el suelo, los cuales utilizan desde reacciones de oxido-reducción, como fenómenos de sorción, transferencia de iones y reacciones de complejamiento para este propósito.

Dentro de los microorganismos utilizados en la biorremediación se encuentran las siguientes:

- **Bacterias:**

Son el grupo de organismos más abundante que se encuentran en el suelo. Su número y la variedad de especies dependen de las características del suelo. Se ha encontrado que son los primeros en entrar en la degradación de los materiales orgánicos.

- **Hongos:**

Los hongos son protistas superiores, a diferencia de las bacterias cuentan con pared celular y suelen ser inmóviles. La mayoría de los hongos se encuentran en el suelo, sin embargo se pueden encontrar en agua y en plantas muertas. Los hongos se encuentran en menor

cantidad que las bacterias y crecen mas lentamente que éstas. Una desventaja de los hongos es que sus procesos metabólicos no suelen ser tan diversos como el de las bacterias, pero tienen la ventaja de ser ácido-tolerantes.

- **Algas:**

Las algas al igual que los hongos son protistas superiores y cuentan con pared celular. Se pueden encontrar desde organismos unicelulares, hasta filamentosos y otros muy parecidos a las plantas. La mayoría de las algas son acuáticas, pero se sabe de algunas que crecen en los suelos. Utilizan el CO₂ como fuente de carbono y la luz para producir energía, por lo que son poco útiles en la biodegradación, además de que pueden llegar a ser un serio problema de contaminación por sí mismas.

- **Protozoos:**

Los protozoos incluyen desde organismos unicelulares hasta protistas superiores. Estos organismos casi siempre en procesos de biorremediación se utilizan como predadores de otros organismos como las bacterias, levaduras, esporas, y otros protozoos. Por lo que actúan como controladores de crecimiento de los demás organismos.

En algunos procesos biológicos es mas ventajoso considerar una comunidad de organismos que la utilización de cultivos puros. Un consorcio consiste en dos o más especies de organismos viviendo e interactuando el uno con el otro. Generalmente los consorcios generan interacciones positivas, donde una especie sale beneficiada de los procesos metabólicos del otro. Dentro de las ventajas que se han encontrado, se encuentran la capacidad de mineralizar los compuestos contaminantes y el de mejorar el tiempo de degradación entre otros tantos.

En la presente tesis, se utilizó un consorcio de un gran numero de bacterias y hongos que traen beneficios mutuos en la biodegradación de los BTEX, los cuáles se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Microorganismos presentes en el consorcio utilizado en la biodegradación de BTEX (Acuña-Askar *et al.*, 2002a).

Bacterias	Hongos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge
<i>Bacillus sp.</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries
<i>Rhodococcus sp.</i>	<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedjin
	<i>Humicola fuscoatra</i>
	<i>Acremonium alternatum</i> W. Gams
	<i>Bipolaris spicifera</i> (Bainier) Subramanian

5.3. VÍAS METABÓLICAS

Los compuestos aromáticos son más estables que los compuestos alifáticos cíclicos debido a los electrones deslocalizados en los orbitales pi, por lo que la biodegradación de estos compuestos es más compleja; comúnmente toma lugar en dos pasos: la activación del anillo (Figura 7) y la ruptura del mismo (Figura 8) (Eweis, 1999). El conocer las vías metabólicas que siguen los microorganismos para biodegradar los compuestos contaminantes es de gran importancia debido a que éstas se pueden modificar para mejorar las cualidades de la biomasa utilizada. Dentro de la vía metabólica seguida, la activación del anillo aromático consiste en la incorporación de una molécula de oxígeno al anillo, en este paso se involucran las enzimas llamadas oxigenasas. Las monooxigenasas, características de los hongos y otros eucariotas catalizan la incorporación de un átomo de oxígeno en la forma de epóxido en el anillo. Mientras que las dioxigenasas, características de las bacterias, catalizan la incorporación de dos átomos de oxígeno al anillo para formar un dihidrodiol. Esta última transformación ha sido demostrada que ocurre en la degradación de los BTEX (Eweis, 1999). Los dihidrodioles son posteriormente oxidados a catecoles, los cuales son los precursores del paso de la ruptura del anillo. El catecol es oxidado en los grupos hidroxilos formando semialdehídos los cuales son transformados a su vez en ácidos orgánicos, los cuales son asimilables por los microorganismos como fuente de carbono y energía (UM-BBD, 2003).

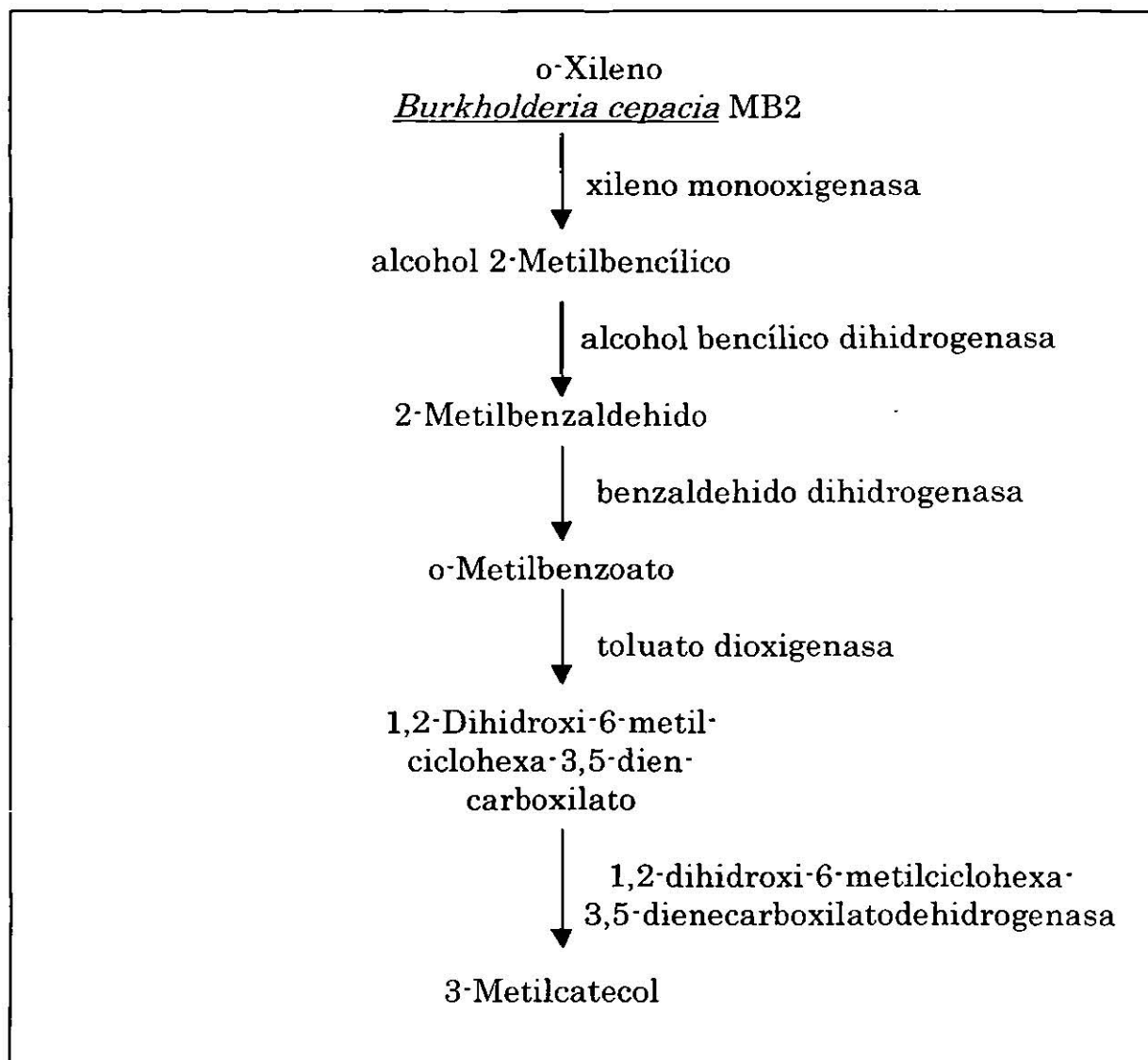


Figura 7. Ejemplo de la activación del anillo en la biodegradación del o-Xileno (UM-BBD, 2003)

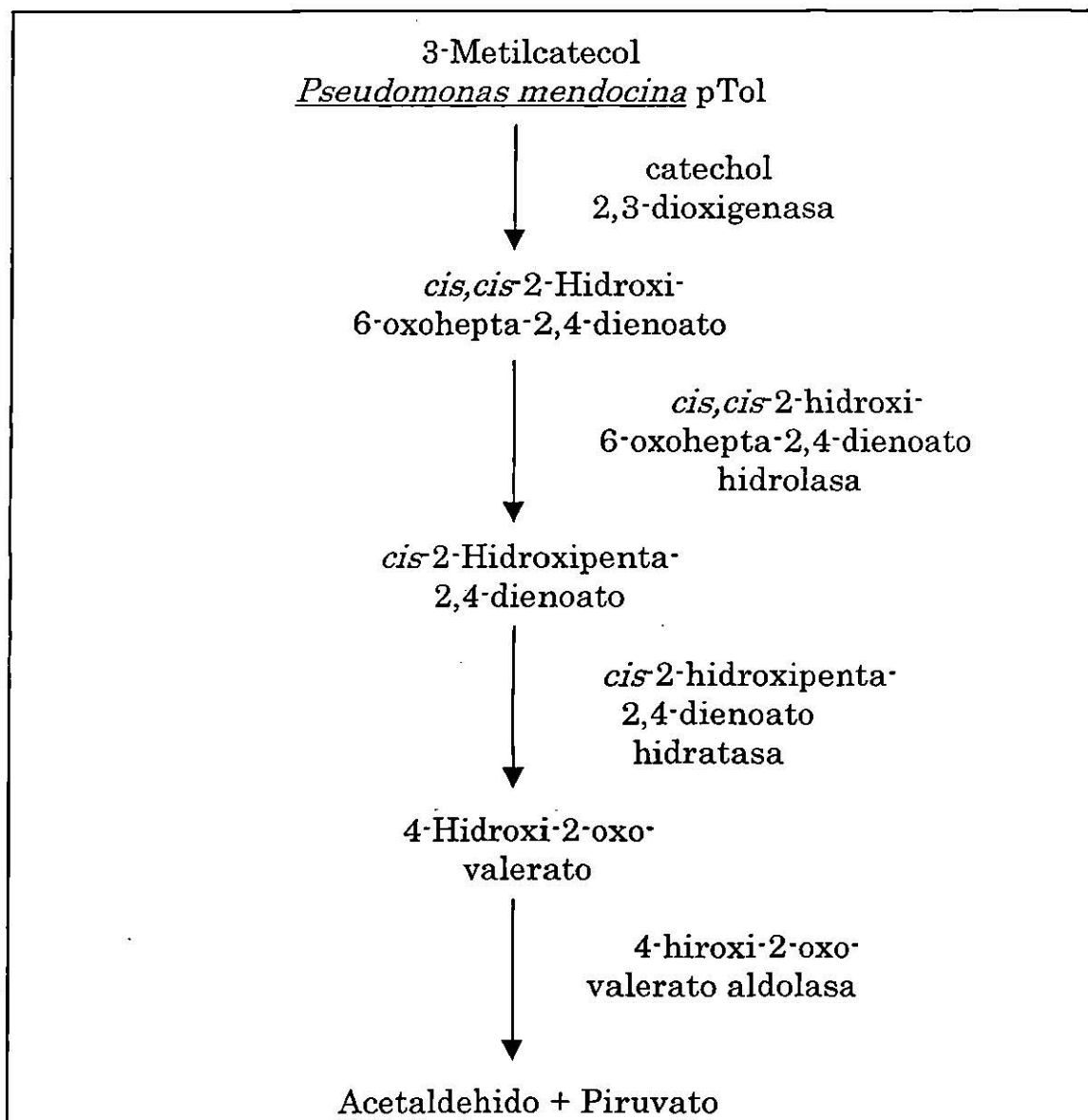


Figura 8. Ejemplo de la ruptura del anillo en la biodegradación del *o*-Xileno (UM-BBD, 2003)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. UBICACIÓN

La realización de la presente tesis fue llevada a cabo en las instalaciones de diversas dependencias de la Universidad Autónoma de Nuevo León, teniendo como base de operaciones el Laboratorio de Biorremediación Ambiental, que se encuentra en la Facultad de Medicina.

En el desarrollo experimental de esta investigación, colaboraron:

- Unidad de Laboratorios de Ingeniería y Expresión Genéticas (ULIEG) de la Facultad de Medicina,
- Laboratorio de Patología Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales,
- Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas.

El estudio dio principio el día 7 de enero de 2003 y se dio por terminado el día 28 de julio del mismo año.

2. MATERIALES

2.1. EQUIPO

A continuación se presenta la lista del equipo que se utilizó para la realización de este trabajo:

- Cromatógrafo de Gases Varian Star 3400
(Varian Corp., Walnut Creek, CA)
- Columna Petrocol
- Detector de ionización de flama
- Concentrador de muestras de purga y trampa Tekmar LSC 2000
(Tekmar Corp., Cincinnati, Ohio)
- Balanza Analítica Ohaus Explorer
(Ohaus Corp., Pine Brook NJ)
- Incubadora Fisher Isotemp
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Mufla Barnstead Thermolyne 1300
(Barnstead International, Essex, UK)
- Incubadora de agitación oscilatoria New Brunswick Scientific R76
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Centrifugadora Beckman Allegra
(Beckman-Coulter, Inc., Fullert, CA)

2.2. MATERIAL

Dentro de los materiales utilizados, se encuentran:

- Contenedores de Teflón* FEP de 250 mL con tapa de rosca no contaminante de Tefzel* EFTE.

(Nalge Nunc International, Rochester, NY)

- Tubos cónicos de polipropileno con tapa de rosca de poliestireno de alta densidad con capacidad de 50 mL.

(Nalge Nunc International, Rochester, NY)

- Cajas Petri estériles Fisherbrand*

(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

- Microfiltros Whatman* de 1.5 μm

(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

- Sistema de microfiltración de vidrio Fisherbrand*

(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

- Matraces de aforación de 100 y 250 mL Pyrex*

(Corning, Corning, NY)

- Matraces Erlen-Meyer de 250 mL Pyrex*

(Corning, Corning, NY)

- Platos de aluminio de 65 mm y 75 mL de capacidad Fisherbrand*

(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

- Refrigerador Easy Modelo 111 de 13 pies cúbicos

- Bomba de vacío Dayton
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Viales de borosilicato de 40 mL certificados por la EPA para análisis de contaminantes
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Viales de 7 mL con tapón de rosca y septa de silicon/PTFE
(Supelco, Bellefonte, PA)
- Tubos de ensayo de 13 x 100 con tapones de rosca
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Pipetas cerológicas Pyrex* estériles de 1 y 10 mL
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Asa bacteriológica
(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)
- Jeringa de plástico Terumo® de 10 mL
(Terumo Medical Corp., Somerset, NJ)
- Jeringa de vidrio SGE® de 10 µL
(SGE international, Pty. Ltd, Australia)
- Acrodiscos de fibra de vidrio de 1 micra de poro y 25 mm de diámetro
(Waters, S.A. de C.V., México D.F.)
- Autoclave de 21 L
(Steel de México, Monterrey, México)

- Tubos capilares Corning de 75 mm de longitud y 1.1 - 1.2 mm de diámetro interno.

(Corning Mexicana, S.A. de C.V., México)

- Medidor de pH de +0.0 a +14.0 pH Hanna

(Hanna Instrument Inc., Woonsocket, RI)

- Bacteriador Oxford Labware Sherwood medical

(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

2.3. REACTIVOS

Lista de reactivos que se utilizaron para desarrollar la parte experimental:

- Benceno 99%, ACS Reagent.
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- Benceno 99.5%, ACS Reagent
(Fluka Chemie GmbH, Buchs Switzerland)
- Tolueno 99.8%, HPLC grade.
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- Etilbenceno >98.0%, GC grade.
(Fluka Chemie GmbH, Buchs Switzerland)
- Mezcla de xilenos 98.5+%.
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- o-Xileno 98%, HPLC grade
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- EMTB 99.8%, HPLC grade
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- Agar bacteriológico
(Becton Dickinson de México, S.A. de C.V., México, México)
- KH_2PO_4 Reactivo Analítico
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)

- K_2HPO_4 Reactivo Analítico, ACS
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Mty, México)
- Na_2HPO_4 Reactivo Analítico, ACS
(Analytyka de México, S.A. de C.V., Escobedo, México)
- NH_4Cl Reactivo Analítico
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)
- $(NH_4)_2SO_4$ Reactivo Analítico
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)
- $NaCl$ Reactivo Analítico, ACS
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Mty, México)
- $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ ACS Reagent
(Fisher Scientific, Pittsburg, PA, USA.)
- $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ Reactivo Analítico
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)
- Tergitol NP-10
(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.)
- H_3PO_3 85%, Reactivo Analítico
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Mty, México)
- Azul de bromotimol
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)

3. MÉTODOS

3.1. ACLIMATIZACIÓN DE LA BIOMASA

3.1.1. MEDIO DE CULTIVO

El primer paso que debe llevarse a cabo para iniciar un estudio de biorremediación, es la aclimatización de la biomasa, la cual consiste en preparar un medio de cultivo que contenga los nutrientes adecuados para el óptimo desarrollo de la biomasa que será aclimatada; en el presente caso, se utilizó el medio de cultivo denominado "BOD Water". Este medio de cultivo consistió de:

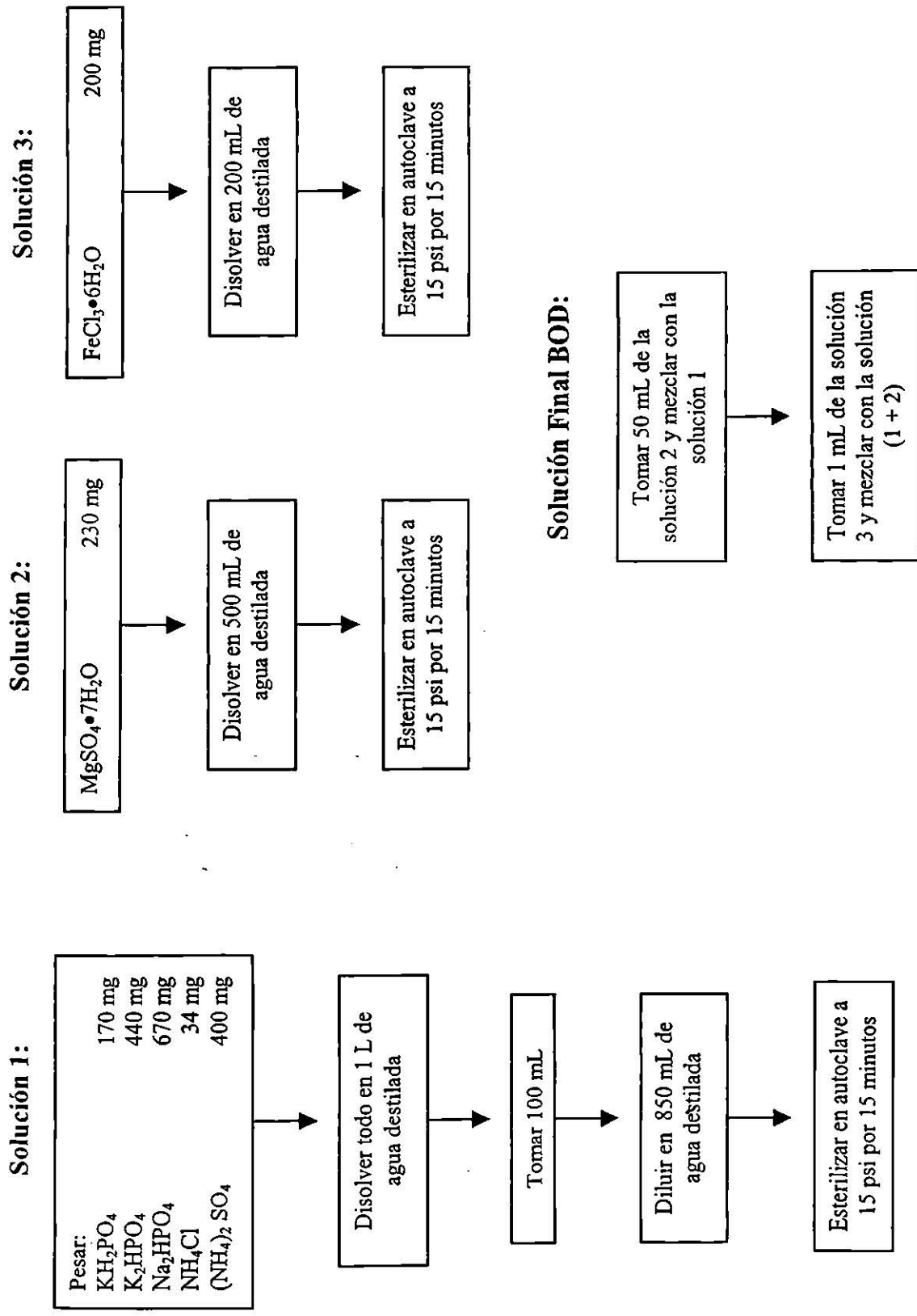
- KH_2PO_4
- K_2HPO_4
- Na_2HPO_4
- NH_4Cl
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

El medio de cultivo, que proporcionó fundamentalmente nutrientes inorgánicos, se complementó con benceno, tolueno, etilbenceno y la mezcla de xilenos (BTEX), para que actuaran como fuente de carbono para la biomasa y de esta manera, fomentar la degradación de estos compuestos.

Los BTEX se adicionaron diariamente para que la concentración de éstos permaneciera constante a 200 mg/L de cada uno, dando una concentración total de 800 mg/L. Esto sirvió para compensar a la alta volatilización de estos compuestos. Además de esto, el medio de cultivo se reemplazó aproximadamente cada 15 días para garantizar un desarrollo aceptable de la biomasa.

La preparación de este medio fue la siguiente:

El medio BOD se preparó en 3 soluciones por separado para impedir la precipitación de las sales que lo componen. De modo que las tres soluciones quedaron distribuidas de la siguiente manera: La primera solución consistió en pesar 170 mg de KH_2PO_4 , 440 mg de K_2HPO_4 , 670 mg de Na_2HPO_4 , 34 mg de NH_4Cl y 400 mg de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y disolver todo en un litro de agua destilada, después de esto, se tomaron 100 mL de la solución y se diluyeron en 850 mL de agua destilada. La siguiente solución se preparó pesando 230 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y disolvió en 500 mL de agua destilada. La solución 3 se preparó pesando 200 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, luego se disolvió en 200 mL de agua destilada. Las tres soluciones se esterilizaron en una autoclave a 15 psi por 15 minutos. Una vez estériles, se mezclaron 50 mL de la solución 2 con la solución 1, y se le adicionó 1 mL de la solución 3 a la nueva solución (1 + 2), quedando completo el medio BOD. Lo anterior se representa en el esquema 1.



Esquema 1. Preparación de medio BOD para reactores de acimatación

Existe además de este medio de cultivo, uno alternativo, denominado Medio Concentrado de BOD, el cual se elaboró para desarrollar los bioensayos experimentales que se comentarán en la sección 3.3.2. Este medio se elaboró de una manera más concentrada, para impedir que el pH de los medios en los bioensayos fueron alterados, ya que cuenta con un mayor poder de amortiguación que el medio original. Este medio de cultivo contiene las siguientes nutrientes:

- KH_2PO_4
- Na_2HPO_4
- NH_4Cl
- NaCl
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Se elaboró de la siguiente manera:

De igual manera que el medio original, este medio se elaboró en tres soluciones separadas, La solución 1 se elaboró pesando 3g de KH_2PO_4 , 6g de Na_2HPO_4 , 1g de NH_4Cl y 1g de NaCl y diluyendo todo en 800 mL de agua destilada. La solución 2 se preparó disolviendo 500 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 200 mL de agua destilada. La solución 3 se preparó disolviendo 200mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 200 mL de agua destilada. Las 3 soluciones se esterilizaron en una autoclave a 15 psi por 15 minutos. Una vez estériles, se mezclaron las soluciones 1 y 2, y luego se adicionó 1 mL de la solución 3. El procedimiento anterior se presenta en el esquema 2.

Solución 1:

Pesar:
KH₂PO₄ 3 g
Na₂HPO₄ 6 g
NH₄Cl 1 g
NaCl 1 g

Disolver todo en 800 mL
de agua destilada

Esterilizar en autoclave a
15 psi por 15 minutos

Solución 2:

MgSO₄•7H₂O 230 mg

Disolver en 500 mL de
agua destilada

Esterilizar en
autoclave a 15 psi por
15 minutos

Solución 3:

FeCl₃•6H₂O 200 mg

Disolver en 200 mL de
agua destilada

Esterilizar en autoclave a
15 psi por 15 minutos

Solución Final de Medio Concentrado

BOD:

Mezclar la solución 2 con
la solución 1

Tomar 1 mL de la solución
3 y mezclar con la solución
(1 + 2)

Esquema 2. Preparación de medio Concentrado BOD para realización de bioensayos

3.1.2. AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS

Después de ser aclimatada la biomasa a la presencia de los BTEX, se prosiguió con el aislamiento de los microorganismos que componen el consorcio microbiano. Para ello, se preparó un medio de cultivo selectivo, en este caso, se preparó el agar denominado Agar BTEX, el cual consistió de agar bacteriológico, medio de cultivo BOD concentrado, azul de bromotimol y 5000 mg/L de cada BTEX. Éste, una vez preparado se vació en cajas Petri y se inoculó con una muestra de la biomasa aclimatada, para luego incubarse a 30°C. Una vez que se observó el crecimiento en las cajas alrededor de las 48 a las 96 horas, se traspasaron a cajas de agar nutritivo en el caso de bacterias, utilizando la técnica de estrías cruzadas o a cajas de agar papa-dextrosa en el caso de los hongos, utilizando para esto la técnica de picadura. Una vez aislados, los microorganismos se enviaron a laboratorios especializados para su identificación; para el caso de los hongos, se enviaron al Lab. de Patología Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales de la U.A.N.L. en Linares, Nuevo León.

El método de preparación del Agar BTEX fue el siguiente:

Se pesaron 1.5 g de agar bacteriológico, luego se mezclaron en 100 mL de agua destilada y 20 mL de medio BOD concentrado. Se esterilizó la solución a 15 psi por 15 minutos. A esta solución, se le adicionó 1.25 mL de azul de bromotimol al 0.5%, cuando aun estaba caliente, se le ajustó el pH a 8.5

utilizando NaOH 1N, obteniéndose de esta manera una coloración azul en la solución. Se dejó enfriar la solución a una temperatura soportable por la mano, en ese momento, se le adicionó 0.2 mL de cada reactivo para obtener así una concentración de 5000 mg/L. La Figura 9 muestra la comparación de un control negativo con una caja inoculada que presenta crecimiento ambos en agar BTEX.

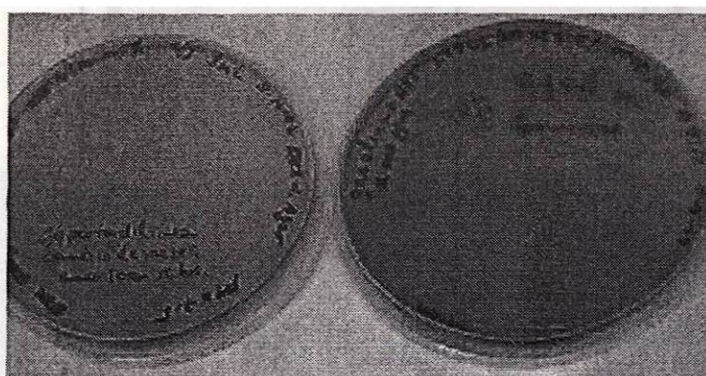
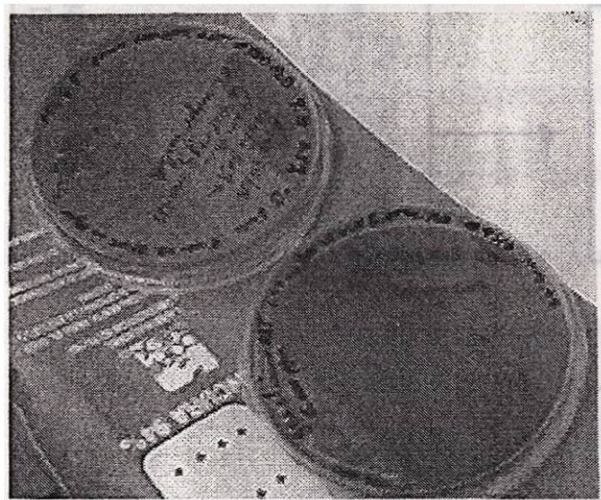
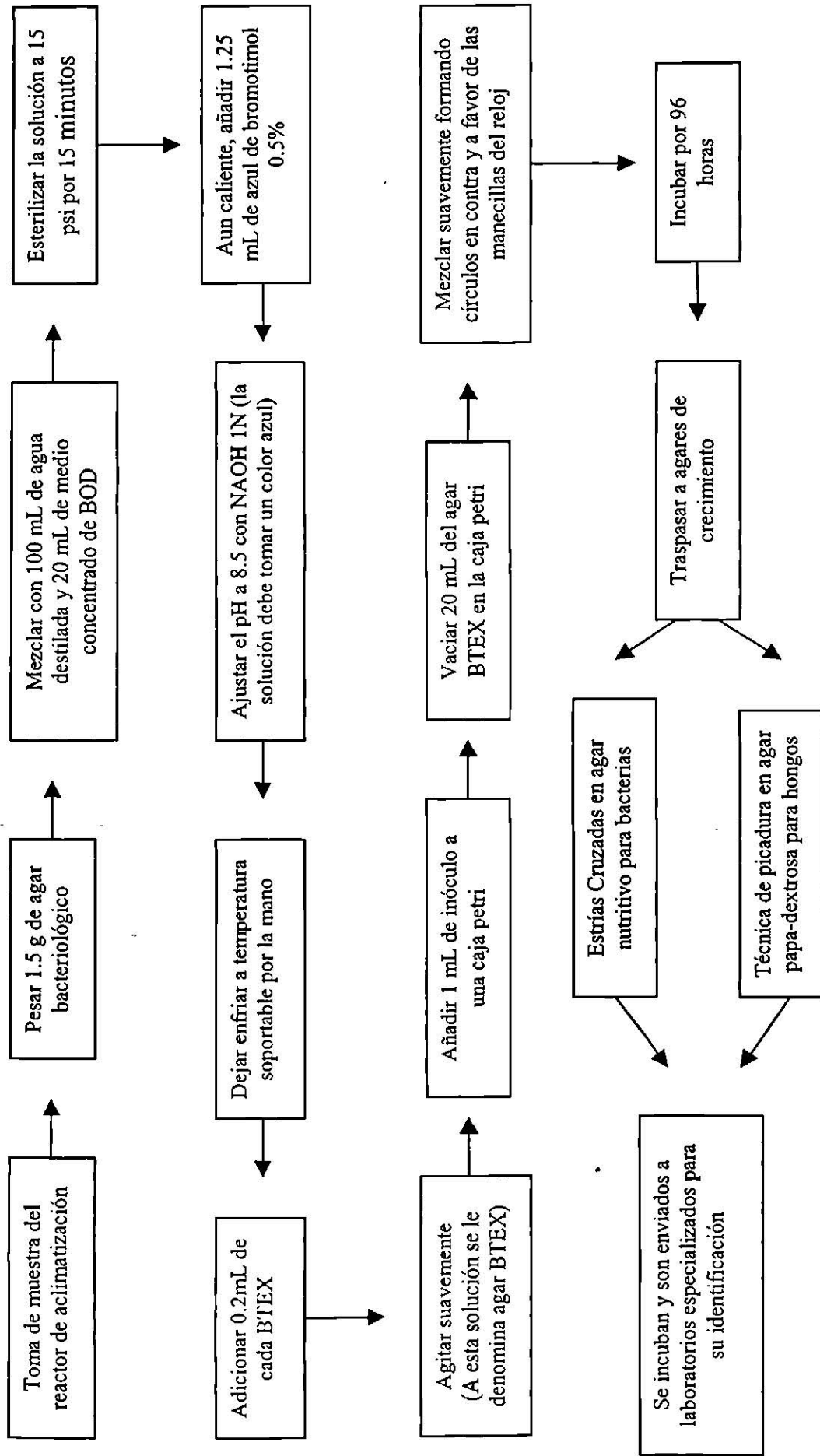


Figura 9. Comparación de un control negativo con una caja inoculada que presenta crecimiento, ambos en agar BTEX.



Esquema 3. Método de aislamiento e identificación de los microorganismos aclimatados

3.2. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

La determinación cuantitativa de los contaminantes en los bioensayos cinéticos, se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases modelo Varian 3400 (Figura 10), el cual cuenta con un detector de ionización de llama. El cromatógrafo tiene adaptado una columna capilar Petrocol™ de 100 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.5 micras de película (Figura 11), especial para separar compuestos orgánicos volátiles. Además de esto, cuenta con un concentrador de muestras de purga y trampa Tekmar LSC 2000, el cual toma la función de inyector de muestra, como se muestra en la Figura 12.

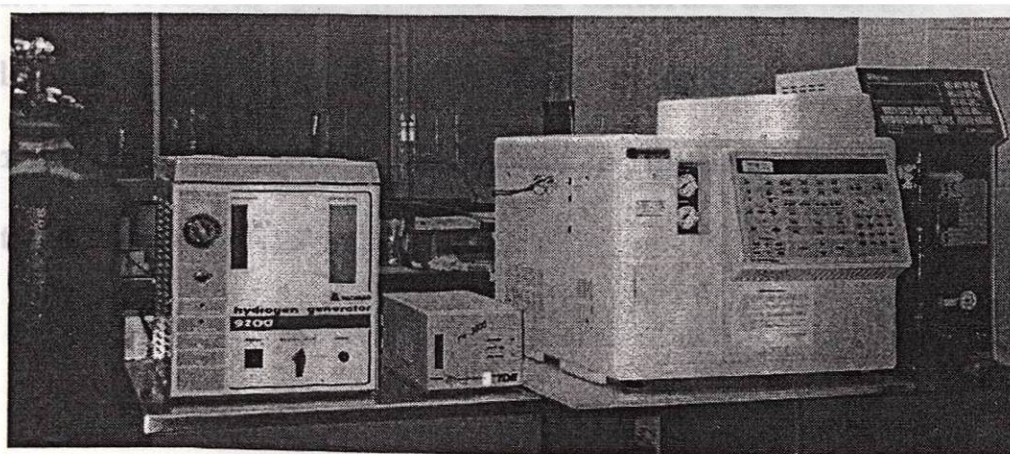


Figura 10. Equipo de Cromatografía de gases

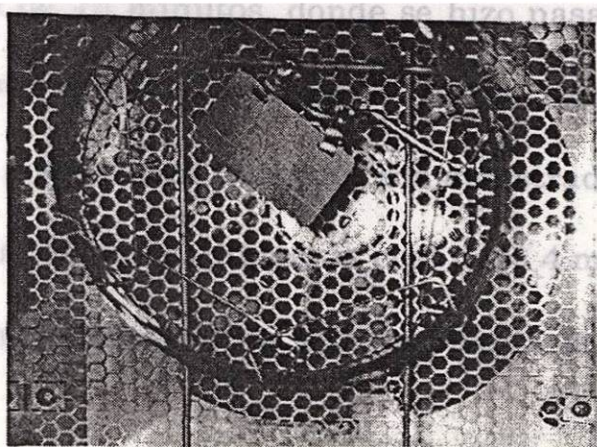


Figura 11. Columna Petrocol™ adaptada al cromatógrafo

3.2.1. INYECCIÓN DE MUESTRA POR PURGA Y TRAMPA

La inyección de la muestra en el cromatógrafo, se realizó a través de un concentrador de muestras por purga y trampa. La técnica de purga y trampa se emplea generalmente para la extracción de compuestos orgánicos volátiles no polares, que tienen puntos de ebullición por debajo de 220°C (Michael, 1988). Esta técnica consiste en hacer pasar a través de la muestra, un gas inerte, en nuestro caso nitrógeno, el cual ocasiona que estos compuestos orgánicos sean purgados de la fase líquida a la fase vapor, para luego ser atrapados en un adsorbente. La trampa, que contiene un material adsorbente, se encuentra dentro de una cámara de calentamiento, la cual al activarse, permite la desorción de los compuestos atrapados e inyectando así solamente los compuestos adsorbidos (USEPA, 1986).

El equipo trabajó bajo las siguientes condiciones: Se dio inicio al periodo de purga con duración de 15 minutos, donde se hizo pasar el nitrógeno por la muestra, posteriormente inició el periodo de purga seca con duración de 5 minutos, en el cual los compuestos purgados son arrastrados a la trampa, luego inició la etapa de desorción de la trampa, la cual duró 4 minutos, en esta etapa es donde se inyectó la muestra. Una vez terminada la desorción, el equipo

realizó una limpieza general inyectando nitrógeno a alta temperatura por los conductos. Esta etapa duró 10 minutos.

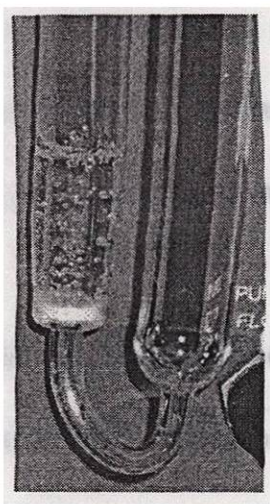


Figura 12. Inyección de nitrógeno en la etapa de purga en el concentrador de muestras por Purga y Trampa

3.2.2. CONDICIONES DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA

El cromatógrafo de gases se programa para separar los componentes de una muestra, en función de la columna capilar con la que cuenta. En este caso, las condiciones de separación que se utilizaron fueron las siguientes:

- Columna

La columna inició con una temperatura de 60°C y permaneció así durante los primeros 30 minutos, después de este tiempo, se fue incrementando la temperatura en un intervalo de 10°C por minuto hasta alcanzar los 90°C. Permaneció en ese estado durante 20 minutos, para luego iniciar un incremento de 30°C por minuto hasta alcanzar los 150°C. Se mantuvo a esta temperatura durante dos minutos.

- Inyector

El inyector mantuvo una temperatura constante de 250°C durante todo el periodo de actividad.

- Detector

La temperatura del detector permaneció constante a 300°C durante todo el periodo de actividad.³

- Duración de los cromatogramas

Todos los cromatogramas tuvieron una duración de 1 hora

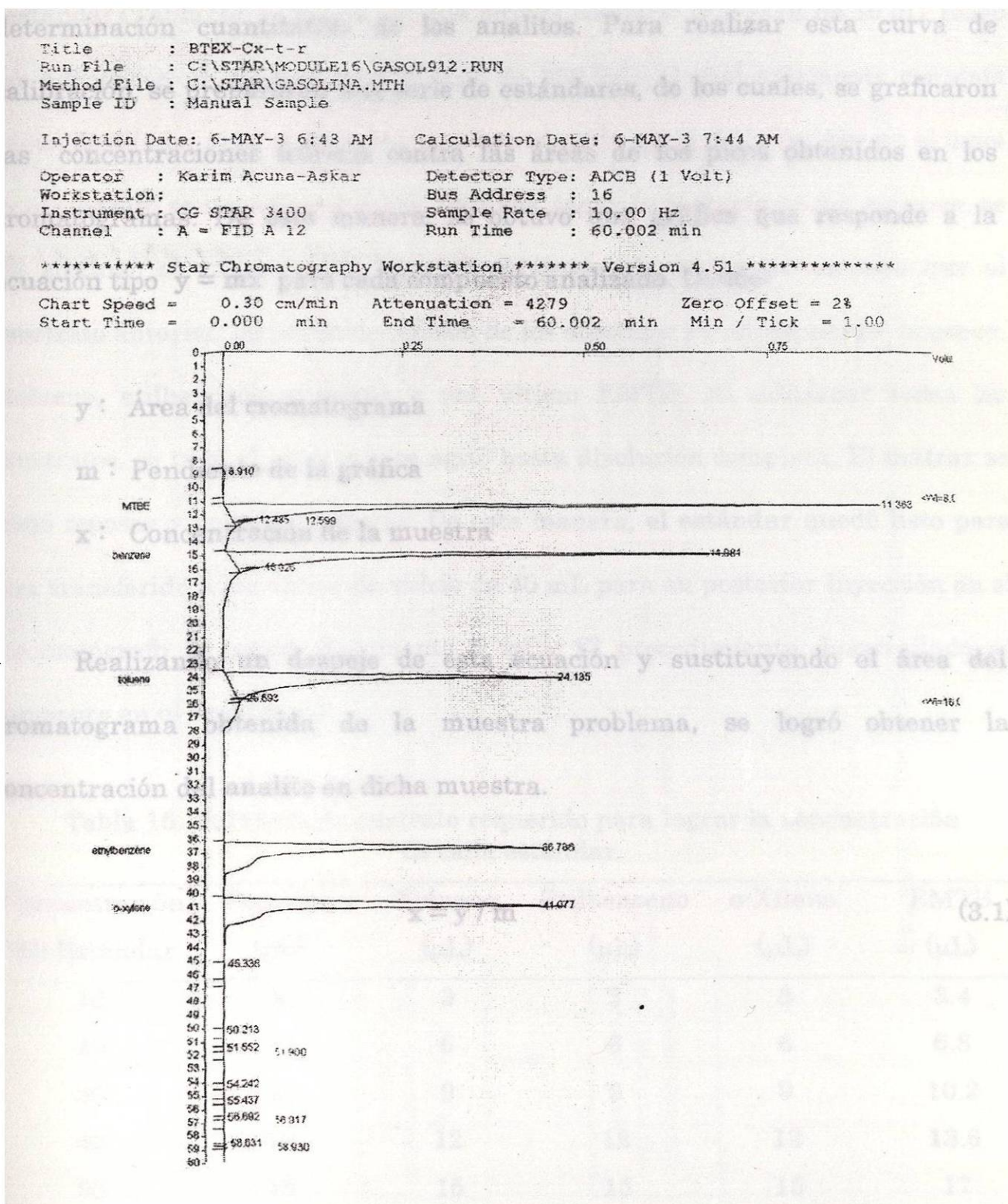


Figura 13. Cromatograma típico indicando los tiempos de retención para BTEX y las áreas obtenidas para una muestra problema

3.2.3. CURVA DE CALIBRACIÓN

Se elaboró una curva de calibración para ser utilizada en la determinación cuantitativa de los analitos. Para realizar esta curva de calibración, se prepararon una serie de estándares, de los cuales, se graficaron las concentraciones teóricas contra las áreas de los picos obtenidos en los cromatogramas. De esta manera, se obtuvo una gráfica que responde a la ecuación tipo $y = mx$ para cada compuesto analizado. Donde:

y : Área del cromatograma

m : Pendiente de la gráfica

x : Concentración de la muestra

Realizando un despeje de esta ecuación y sustituyendo el área del cromatograma obtenida de la muestra problema, se logró obtener la concentración del analito en dicha muestra.

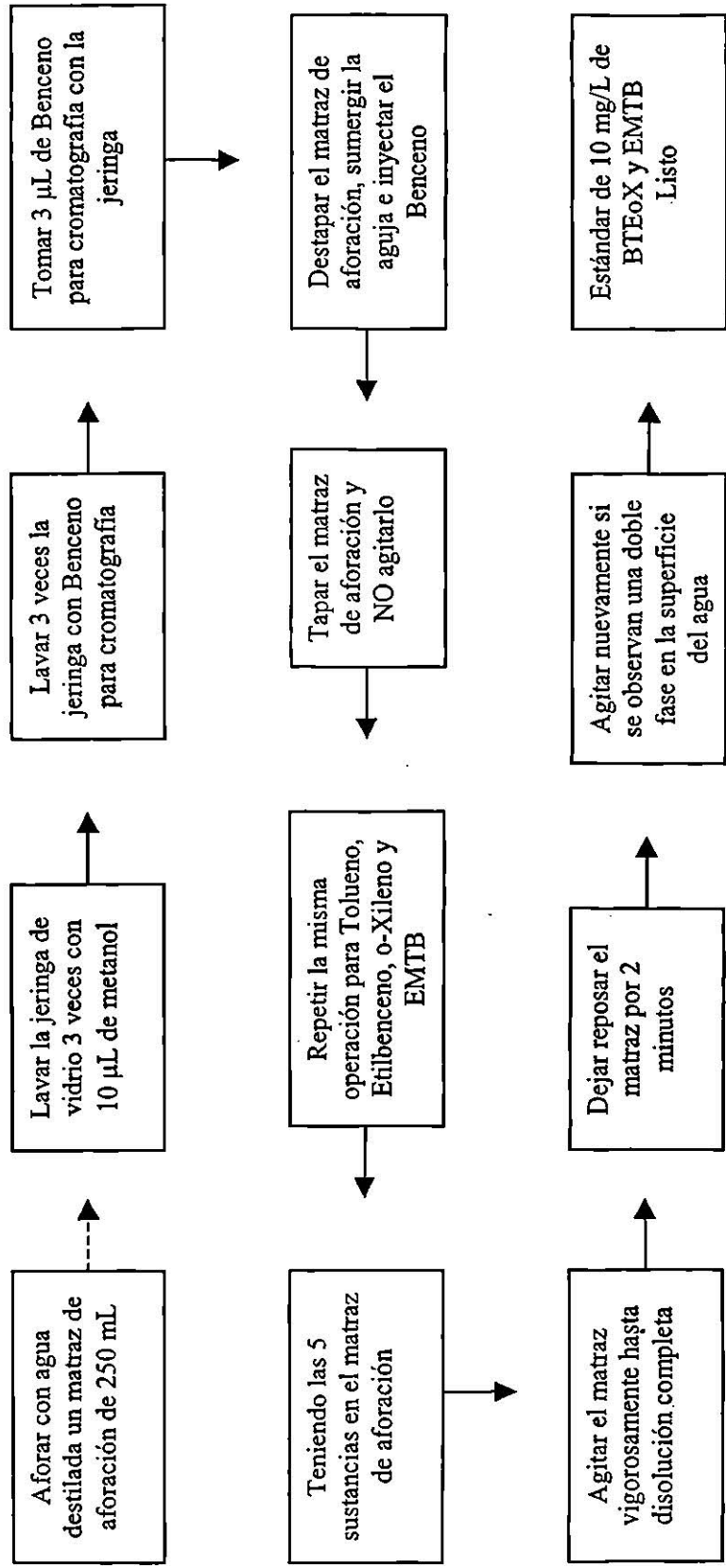
$$x = y / m \quad (3.1)$$

Los estándares se prepararon de la siguiente manera:

El volumen de sustrato que representó la concentración deseada de cada estándar (Tabla 15), se midió con una jeringa de vidrio tipo SGE de 10 μL , luego se adicionó a un matraz de aforación de 250 mL, el cual solamente contenía agua destilada, para realizar esto, se introdujo la aguja de la jeringa en el agua y el sustrato se inyectó a presión. Después, tapando el matraz y sin agitarse, se le adicionó el volumen del sustrato siguiente, de la misma manera que el sustrato anterior. El orden de adición de los sustratos fue el siguiente: benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno y por último EMTB. Al adicionar todos los sustratos, se tapó el matraz y se agitó hasta disolución completa. El matraz se dejó reposar y volvió a agitarse. De esta manera, el estándar quedó listo para ser transferido a los viales de vidrio de 40 mL para su posterior inyección en el cromatógrafo de gases (solamente 5 mL). El procedimiento desarrollado se presenta en el esquema 4.

Tabla 15. Volumen de sustrato requerido para lograr la concentración de cada estándar.

Concentración del Estándar	Benceno (μL)	Tolueno (μL)	Etilbenceno (μL)	o-Xileno (μL)	EMTB (μL)
10	3	3	3	3	3.4
20	6	6	6	6	6.8
30	9	9	9	9	10.2
40	12	12	12	12	13.6
50	15	15	15	15	17



Esquema 4. Preparación del estándar de 10 mg/L de BTEoX y EMTB

3.3. ENSAYOS CINÉTICOS

3.3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para determinar las constantes de biodegradación que es el interés de este estudio, se tuvo que realizar un diseño experimental, que contara con todas las características que necesitábamos para poder obtener los resultados necesarios.

Así, el diseño experimental preliminar más adecuado fue el siguiente: montar 6 series de ensayos cinéticos, los cuales serían muestreados a intervalos definidos de tiempo y cuantificadas las concentraciones de los contaminantes presentes en la muestra.

Para satisfacer las necesidades de esta investigación, se desarrollaron 6 tipos distintos de muestras, las cuales servirían para monitorear distintos parámetros. Dichas muestras se describen a continuación:

- Muestras Control

Estas muestras se prepararon con el objetivo de calcular las pérdidas máximas que se registrarán en los viales experimentales, ya fueran debido a las interacciones de los contaminantes con el vidrio del recipiente, o a fugas que llegaran a presentarse en las roscas de los viales. Estas muestras contenían

solamente medio de cultivo BOD concentrado, ácido fosfórico para impedir el posible crecimiento microbiano y los compuestos contaminantes a una concentración de 50 mg/L de cada uno.

- Muestras de Suelo

La cinética de estas muestras tuvieron como objetivo el de estimar el efecto de partición de los BTEoX y el EMTB en las partículas del suelo y en el medio acuoso. Estas muestras contenían medio de cultivo BOD concentrado, ácido fosfórico para impedir el posible crecimiento microbiano, 5 gramos de suelo estéril y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

- Muestras de Suelo y Surfactante

La cinética de estas muestras tuvieron como objetivo el de estimar el efecto del surfactante tergitol NP-10 en la partición de los BTEoX y el EMTB en las partículas del suelo y en el medio acuoso. Estas muestras contenían medio de cultivo BOD concentrado, ácido fosfórico para impedir el posible crecimiento microbiano, 5 gramos de suelo estéril, 25 mg/L de surfactante tergitol NP-10 y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

- Muestras de Biomasa

El objetivo de la cinética de estas muestras fue el de evaluar la capacidad de biodegradación de los BTEoX y EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX. Dichas muestras contenían medio de cultivo BOD concentrado, 2 mL de biomasa previamente concentrada y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

- Muestras de Suelo y Biomasa

El objetivo de la cinética de estas muestras fue el de evaluar el efecto del suelo en la capacidad de biodegradación de los BTEoX y EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX. Dichas muestras contenían medio de cultivo BOD concentrado, 5 gramos de suelo estéril, 2 mL de biomasa previamente concentrada y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

- Muestras de Suelo, Biomasa y Surfactante

La cinética de estas muestras tuvo como objetivo el de evaluar el efecto del suelo y del surfactante en la capacidad de biodegradación de los BTEoX y EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX. Dichas muestras contenían medio de cultivo BOD concentrado, 5 gramos de suelo estéril, 2 mL de biomasa previamente concentrada, 25 mg/L de surfactante tergitol NP-10 y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

3.3.2. PREPARATIVOS

A continuación se describen los pasos preparativos que siguieron antes de la realización de cada cinética:

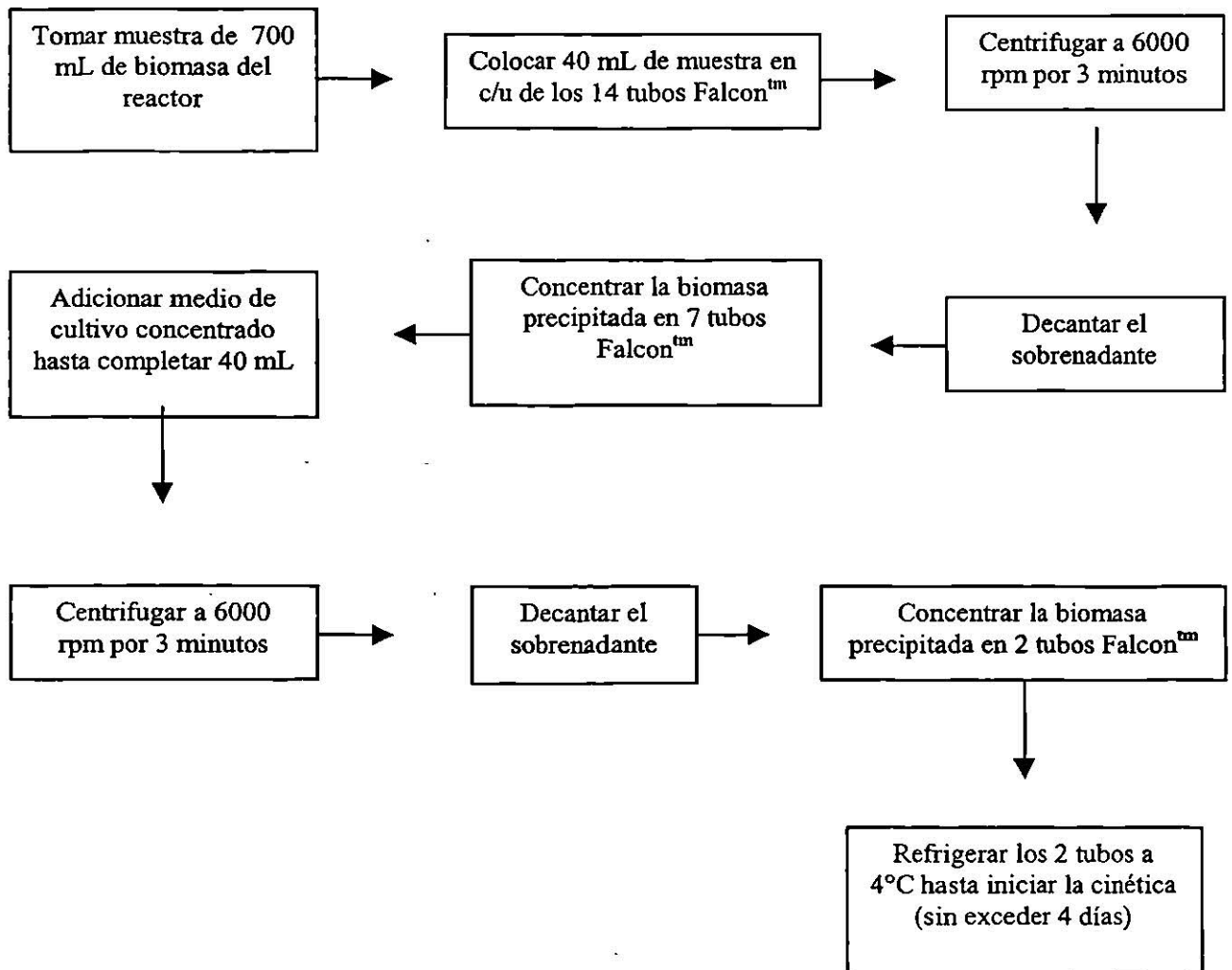
- Preparación de medio de cultivo BOD concentrado

De igual manera que como fue descrito en la sección 3.1., este medio se elaboró en tres soluciones separadas, La solución 1 se elaboró pesando 3g de KH_2PO_4 , 6g de Na_2HPO_4 , 1g de NH_4Cl y 1g de NaCl y diluyendo todo en 800 mL de agua destilada. La solución 2 se preparó disolviendo 500 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 200 mL de agua destilada. La solución 3 se preparó disolviendo 200mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 200 mL de agua destilada. Las 3 soluciones se esterilizaron en una autoclave a 15 psi por 15 minutos. Una vez estériles, se mezclaron las soluciones 1 y 2, y luego se adicionó 1 mL de la solución 3.

- Preparación de la biomasa

Se tomó una muestra de 700 mL de biomasa del reactor de aclimatización a BTEX, los cuales se repartieron en 14 tubos tipo Falcontm, los cuáles se lavaron mediante centrifugación para eliminar los residuos y sustratos presentes a una velocidad de 6000 rpm por 3 minutos. Luego se decantó el líquido sobrenadante y la biomasa centrifugada se concentró en 7 tubos Falcontm. Estos

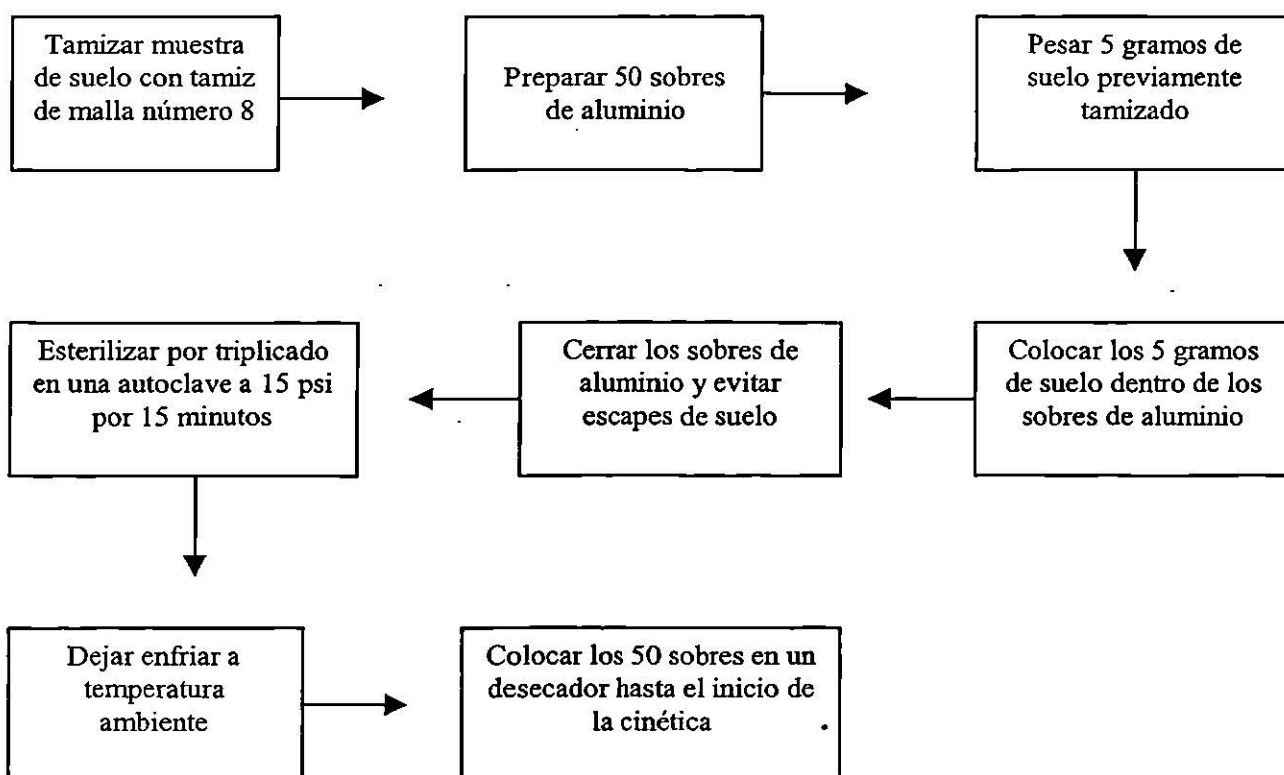
tubos volvieron a ser centrifugados, decantados y esta vez concentrados en 2 tubos Falcontm, para obtener de esta manera, una concentración de biomasa aproximada a 9000 mg/L. Lo anterior puede observarse en el esquema 5.



Esquema 5. Preparación de la biomasa para el ensayo cinético

Preparación del suelo

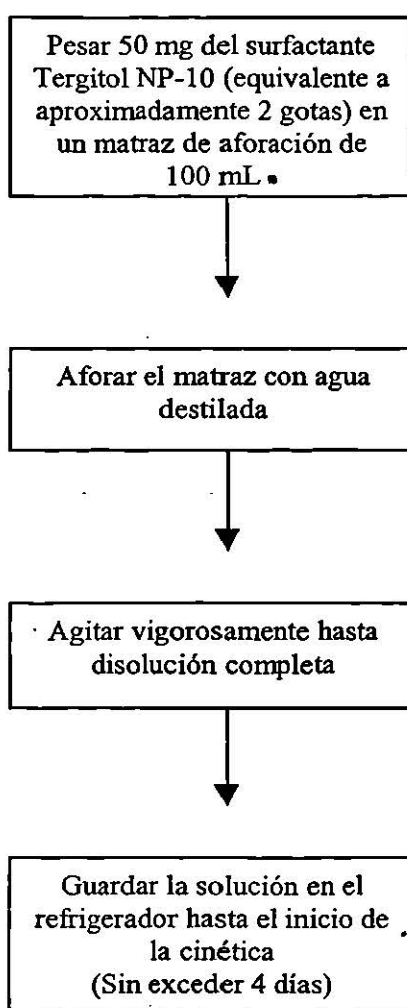
Se tamizó una muestra de suelo a través de un tamiz de malla número 8, luego se prepararon sobres de aluminio, en los cuáles se les agregó 5 gramos del suelo tamizado. Los sobres se cerraron y se sometieron a 3 ciclos de esterilización de 15 psi durante 15 minutos (Alfaro, 2002). El procedimiento desarrollado puede observarse en el esquema 6.



Esquema 6. Preparación del suelo para el ensayo cinético

Preparación del surfactante

En un matraz de aforación de 100 mL donde estaba contenida agua destilada, se disolvieron 50 mg de tergitol NP-10 y se agitó vigorosamente hasta disolución completa. El esquema 7 muestra el procedimiento desarrollado.



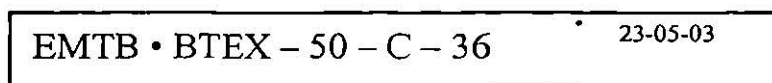
Esquema 7. Preparación de solución de surfactante Tergitol NP-10 para el ensayo cinético

Preparación de los viales

A los viales utilizados en las cinéticas, se les colocó cinta de Teflón® en la rosca (alrededor de 8 vueltas) para evitar la mayor cantidad de fugas posible. Luego, se les etiquetó con una cinta resistente a la humedad de diferente color, y se les nombró para indicar el tipo de muestra que representa. El procedimiento desarrollado se muestra en el esquema 8.

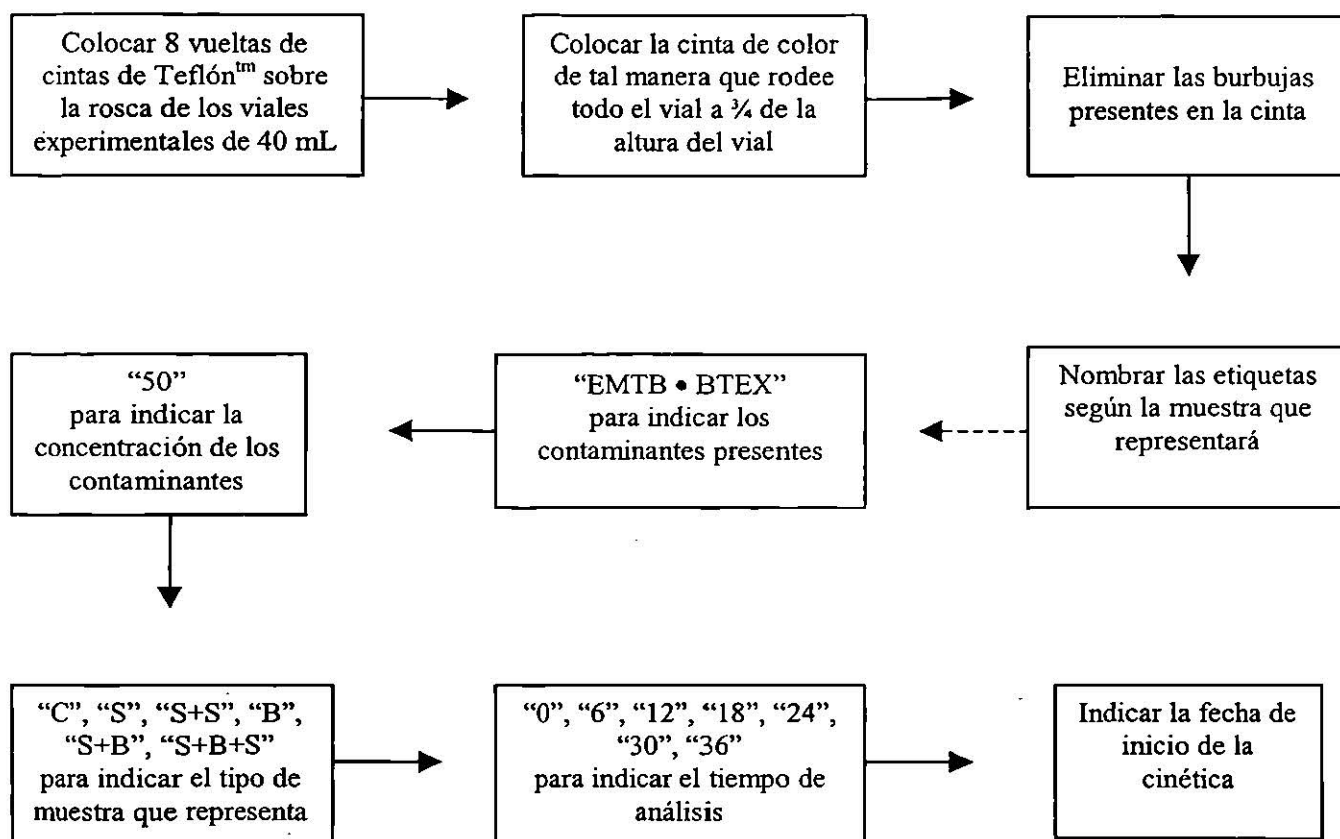
Los viales etiquetados se nombraron según el experimento y según el tiempo al cual, el vial se analizó. Las etiquetas contenían los siguientes datos, que son representados en la Figura 14:

- EMTB • BTEX: indicando los sustratos presentes en el medio
- 50: Indicando la concentración de los sustratos
- C, S, S+S, B, S+B o S+B+S: indicando el tipo de muestra
- 0, 6, 12, 18, 24, 30 o 36: indicando la hora del análisis.
- Fecha: indicando la fecha en la cual se inició la cinética



EMTB • BTEX - 50 - C - 36 23-05-03

Figura 14. Etiqueta para la muestra control que sería analizada a las 36 horas de la cinética realizada el 23 de mayo de 2003



Esquema 8. Preparación de los viales que se utilizaron en el ensayo cinético

3.3.3. MONTAJE

Una vez realizados todos los preparativos, se hicieron los ensayos cinéticos de la siguiente manera, también presentados en el esquema 9 y 10:

- Medio de cultivo

Se adicionaron los BTEoX y EMTB al medio de cultivo, de igual manera que como se preparó el estándar. Se introdujo la aguja de la jeringa de vidrio tipo SGE de 10 μ L dentro del medio de cultivo que se encontraba en un matraz de aforación de 250 mL e inyectó el volumen de sustrato a presión. Se cerró el matraz, para luego inyectar los BTEoX y EMTB en el mismo orden seguido en la sección 3.2.3. Al terminar de inyectar todos los contaminantes, se agitó hasta disolución completa. De esta manera quedó listo para ser trasvasado a los viales experimentales.

A los medios de cultivo que se destinaron a los experimentos que contenían surfactante, se les colocó 12.5 mL de la solución original de tergitol NP-10 previamente preparado en el matraz de aforación y se aforó el matraz a 250 mL con el medio de cultivo concentrado, para luego adicionar los BTEoX y EMTB como se describió en el párrafo anterior.

- Muestra Control

Las muestras control se prepararon adicionando 20 mL de medio de cultivo conteniendo BTEoX y EMTB al vial experimental y 3 gotas de ácido fosfórico concentrado. La mezcla se agitó vigorosamente.

- Muestra de Suelo

Las muestras de suelo, se prepararon colocando 5 gramos de suelo estéril en el vial, luego se le adicionaron 20 mL de medio de cultivo conteniendo BTEoX y EMTB y 3 gotas de ácido fosfórico concentrado. Posteriormente se mezclaron los ingredientes.

- Muestra de Suelo y Surfactante

Las muestras se prepararon colocando 5 gramos de suelo estéril en el vial experimental, 20 mL de medio de cultivo con tergitol NP-10, BTEoX y EMTB y 3 gotas de ácido fosfórico concentrado. Se agitó la mezcla vigorosamente.

- Muestra de Biomasa

Las muestras se prepararon adicionando 2 mL de biomasa concentrada y 20 mL de medio de cultivo conteniendo BTEoX y EMTB al vial experimental previamente etiquetado. La mezcla se agitó vigorosamente.

- Muestra de Suelo y Biomasa

Estas muestras se prepararon colocando 5 gramos de suelo estéril en los viales, luego se adicionaron 20 mL de medio de cultivo conteniendo BTEoX y EMTB y al final 2 mL de biomasa concentrada, esto para simular lo que ocurriría en un caso a nivel de campo, donde al suelo contaminado se le adicionaría la biomasa aclimatada.

- Muestra de Suelo, Biomasa y Surfactante

De igual manera que las muestras de suelo y biomasa, estas muestras se prepararon colocando 5 gramos de suelo estéril en los viales experimentales, 20 mL de medio de cultivo con tergitol NP-10, BTEoX y EMTB y 2 mL de biomasa concentrada.

- Incubación de las muestras

Las muestras de tiempo de análisis de 6 horas en adelante, se incubaron con agitación oscilatoria a una velocidad de 200 revoluciones por minuto (rpm) a 30°C, mientras que las muestras de tiempo cero, pasaron directamente a la etapa de tratamiento de las muestras.

- Tratamiento de las muestras

Las muestras fueron sometidas a un pretratamiento antes de ser inyectadas al cromatógrafo, el cual consistía en sumergir las muestras durante 1 hora en agua-hielo para detener la reacción, luego, sin agitar la muestra se tomaron 10

mL de ésta con una jeringa de plástico marca Terumo[®], teniendo mucho cuidado de tomar muestra que contuviera la menor cantidad de suspendidos posibles, luego, a ésta jeringa, se le colocaba un filtro del tipo acrodisco, entre la jeringa y la aguja. Ya teniendo el filtro, se inyectaron 7 mL de la muestra en un vial Supelco de 7 mL a través de la septa del tapón. Para evitar el vacío dentro del vial, se aflojó un poco el tapón. Una vez, teniendo la muestra en el vial, quedaba lista para ser inyectada en el cromatógrafo a través de la purga y trampa.

- Inyección de las muestras

Antes de inyectar la muestra en la purga y trampa, siempre eran inyectados 10 mL de agua destilada para limpiar el contenedor de muestras del equipo. Una vez limpiado el equipo, se tomó una aguja de plástico de 10 mL, y se midieron cerca de 6 mL de muestra, luego se eliminaron las gotas de aire atrapadas en la aguja y se reguló el émbolo hasta obtener un volumen de muestra de 5 mL. Se retiró la aguja de la jeringa y abriéndose la llave de entrada de muestra del equipo, se inyectó la muestra y se volvió a cerrar la llave, para dar inicio a la purga de la muestra.

- Obtención de datos

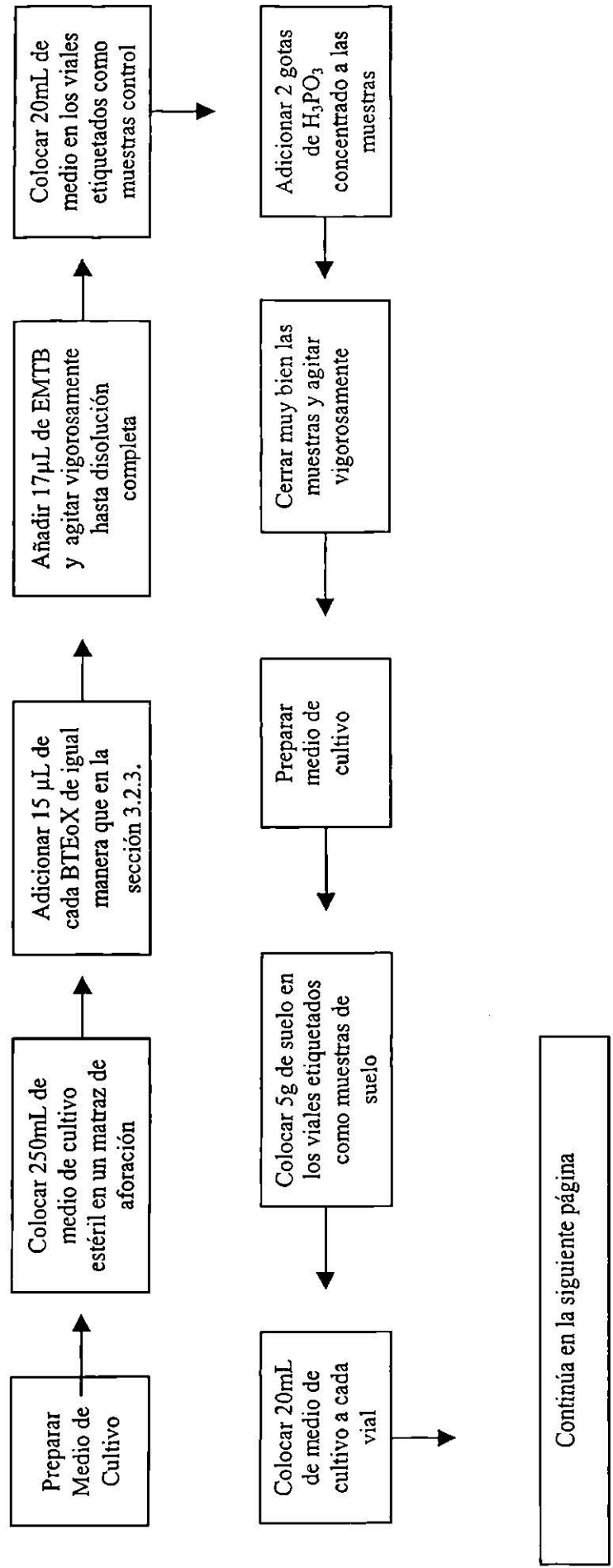
Una vez terminado el cromatograma, se imprimió el reporte obtenido, en el cual se muestran los resultados de cada muestra, los que luego servirán para pasar a la etapa de interpretación.

- Análisis de regresión para los modelos cinéticos

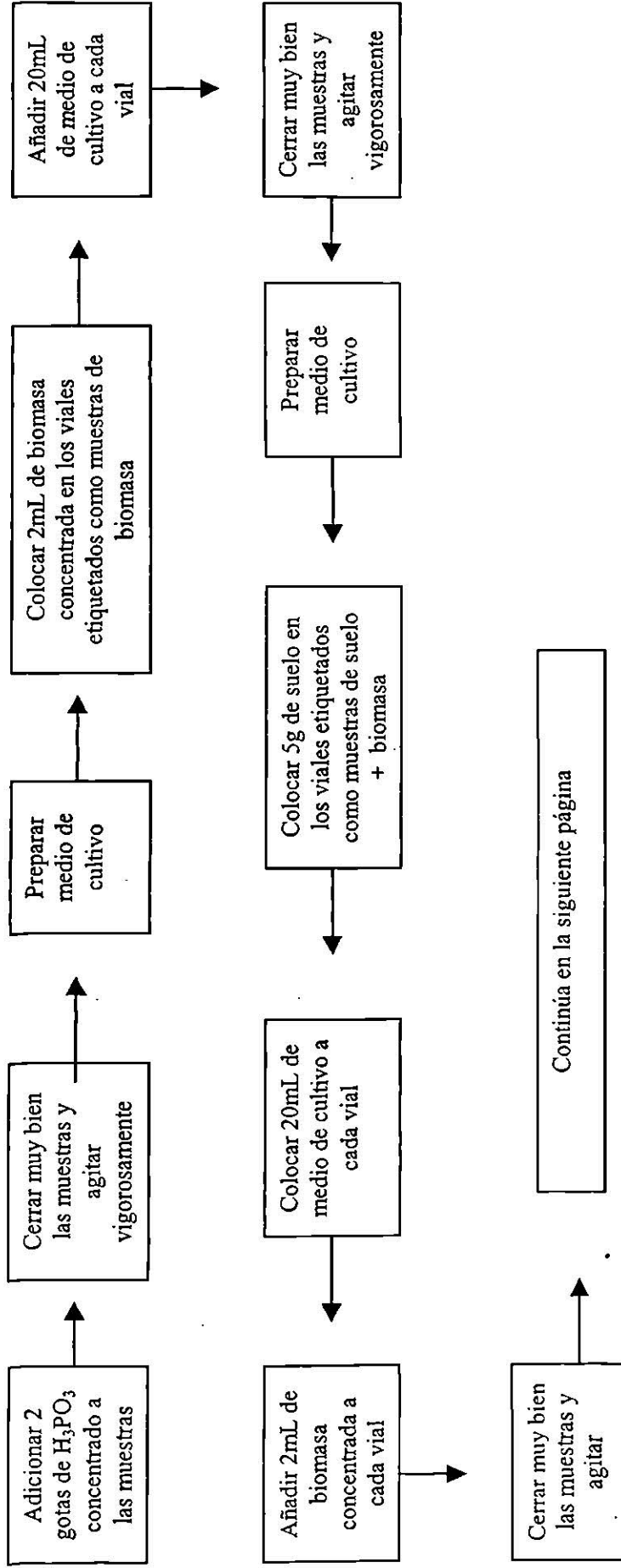
En la presente investigación se realizó el análisis estadístico de datos que incluyeron la media, la desviación estándar (incluida en las áreas de cromatograma) y el método de regresión lineal de mínimos cuadrados (MRLMC) (Daniel, 1987; Townend, 2002). Por medio del MRLMC se evaluó el coeficiente de determinación para las curvas de calibración de estándares, el cual se mide la bondad de ajuste a una línea recta para posibles extrapolaciones que se necesiten conocer de valores de la variable dependiente en función de nuevos valores que se necesiten adicionar en la variable independiente. Adicionalmente, se obtuvieron los coeficientes de correlación para medir la fortaleza de la relación lineal de los puntos obtenidos en las ecuaciones cinéticas y de esta manera evaluar las constante cinéticas, tanto globales como específicas.

El análisis estadístico se efectuó en tres réplicas de cada muestra sacrificada para cada uno de los tiempos analizados, tomando en consideración las condiciones de equilibrio de las muestras, posterior a su retiro de las condiciones de incubación.

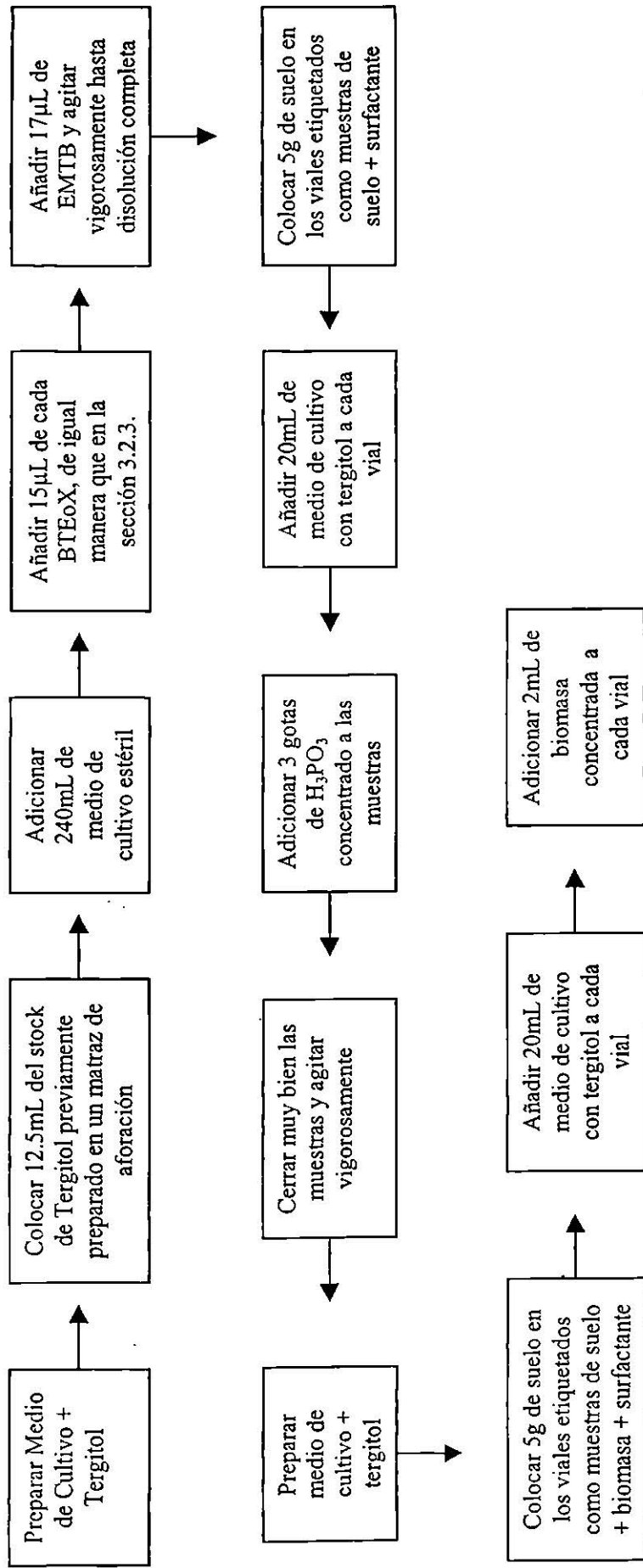
Los programas computacionales que se emplearon para procesar los datos con fines estadísticos fueron Microsoft® Excel y Sigma Plot®.



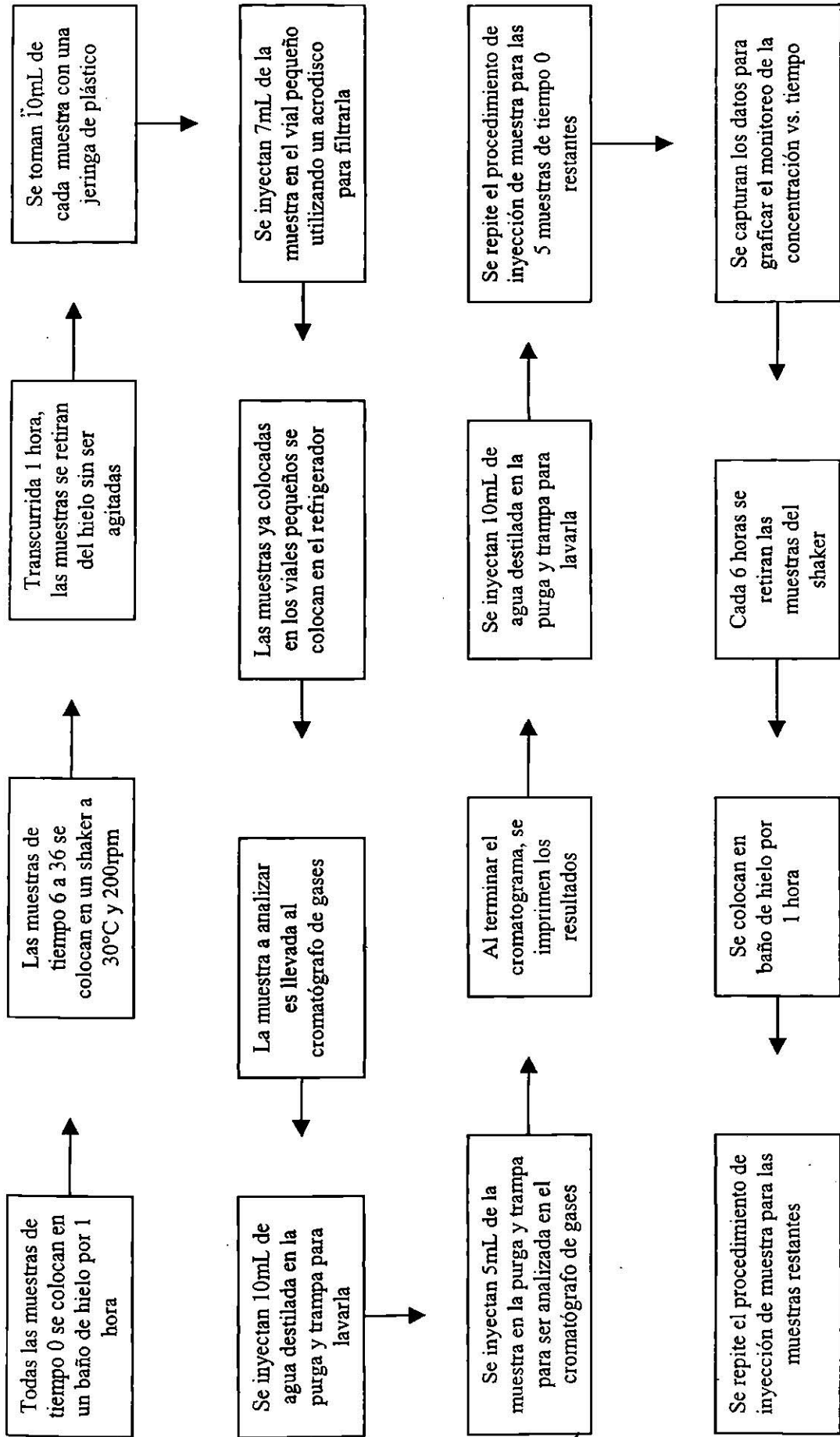
Esquema 9. Preparación de las muestras que fueron utilizadas en los bioensayos cinéticos.



Esquema 9. Preparación de las muestras que fueron utilizadas en los bioensayos cinéticos. (continuación)



Esquema 9. Preparación de las muestras que fueron utilizadas en los bioensayos cinéticos.
(continuación)



Esquema 10. Procedimiento para la realización del estudio cinético de biodegradación.

3.4. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES

La determinación de sólidos suspendidos volátiles (SSV) indica la cantidad de biomasa presente en los bioensayos experimentales, que a su vez representa la masa celular presente en el reactor de aclimatización. Los valores de esta determinación se emplearon en la obtención de las constantes cinéticas específicas de velocidad que presentaron los bioensayos cinéticos.

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determinaron de la siguiente manera y se presenta de manera resumida en el esquema 11:

Se encendieron la mufla (550°C) y la estufa (105°C), luego se armó el equipo de microfiltración de vidrio, al cual después se le colocó un microfiltro Whatman de 1.5µm teniendo cuidado de colocar el lado rugoso hacia arriba. Se le aplicó vacío al sistema con la bomba de vacío y se le adicionaron 20 mL de agua destilada al filtro y se filtró hasta eliminar la mayor cantidad de agua posible. Una vez filtrado, el filtro se colocó en un plato de aluminio con unas pinzas para crisol y se llevó a la mufla por 20 minutos. Transcurrido el tiempo, el plato de aluminio con el filtro se enfrió 3 minutos al aire libre y luego 10 minutos en un desecador. Finalizado ese tiempo, el filtro junto con el plato se pesó y se anotó en el diario. Se volvió a repetir el procedimiento desde el calentamiento hasta obtener un peso constante. Una vez obtenido el peso constante, se volvió a colocar el filtro en el sistema de filtración con el lado

rugoso hacia arriba. Después, se filtró un mililitro de la biomasa concentrada utilizada en los bioensayos cinéticos. Se le adicionaron 30 mL de agua destilada en 3 porciones para lavar la muestra, y se retiró el vacío a los 3 minutos de haber sido filtrada el agua. Se colocó el filtro en el plato de aluminio y se llevó a la estufa por una hora. Luego se retiró la muestra de la estufa y se colocó en un desecador por 10 minutos. Se pesó la muestra con el plato y se volvió a llevar a la estufa repitiéndose el procedimiento hasta obtener un peso constante. Una vez obtenido éste, el plato con el filtro se llevó a la mufla por 20 minutos, luego se enfriaron por 3 minutos a temperatura ambiente y 10 minutos dentro de un desecador. Se pesó el filtro con el plato y se volvió a colocar en la mufla por 20 minutos, se volvió a enfriar y a pesar hasta obtener el peso constante.

Posteriormente, se aplicó la siguiente ecuación (Standard Methods, 1998):

$$\text{mg de masa celular seca / L} = \frac{(A - B) \times 1000}{(\text{vol. de muestra en mL})} \quad (3.2)$$

La cual se desglosa de la siguiente manera:

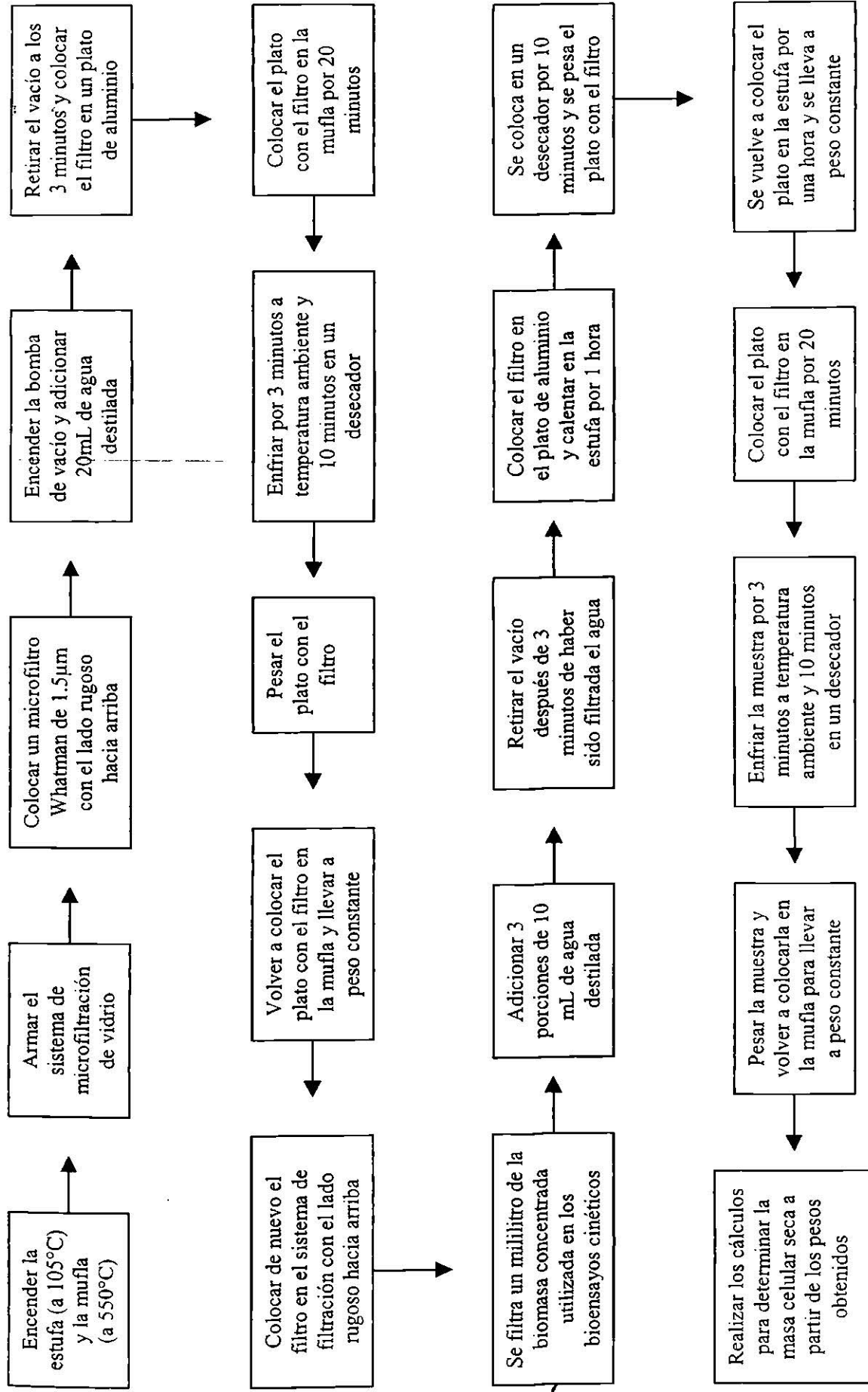
$$\begin{array}{ccc} (A - B) & \longrightarrow & \text{Volumen de muestra en 1 mL} \\ X & \longrightarrow & 1000\text{mL} \end{array}$$

$X = \text{mg de masa celular seca por litro}$,

Donde:

A = peso en mg del plato de aluminio y del filtro con residuo después del secado a 105°C y antes del secado a 550°C

B = peso en mg del plato de aluminio y del filtro con residuo después del secado a 550°C



Esquema 11. Procedimiento para la determinación de los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV).

3.5. DETERMINACIÓN DE LA TENSIÓN SUPERFICIAL DE LAS MUESTRAS

El procedimiento realizado para determinar la tensión superficial es el siguiente, adicionalmente se muestra de manera resumida en el esquema 12:

Se elaboró una serie de estándares de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de Tergitol NP-10, así como un blanco que contenían solamente agua destilada. Luego, 100 mL de estas soluciones se transfirieron a vasos de precipitados de 150 mL. Mientras se realizó esto, se limpiaron cuidadosamente los tubos capilares con ácido nítrico, y enjuagados con agua destilada en abundancia. Los tubos capilares, se colocaron verticalmente dentro de las soluciones hasta el fondo del vaso de precipitados. Una vez estabilizada la altura, se tomó la medición de la distancia que hay entre la superficie del líquido y la altura máxima del líquido en el capilar, como se logra observar en la Figura 15. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada muestra, bajo condiciones de presión y temperatura ambientales.

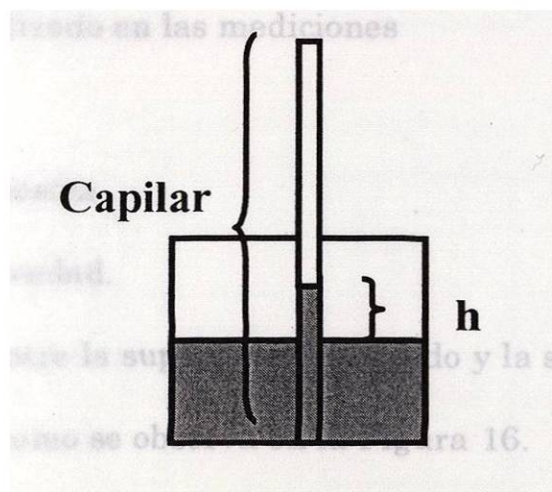


Figura 15. Medición del ascenso capilar de una muestra

Después de medir el blanco y los estándares, se hizo la misma medición para las muestras representativas que contenían biomasa en la realización de las cinéticas.

Además de estas mediciones, se obtuvo la densidad de cada muestra, para lo cual, se pesaron exactamente 100 mL de cada muestra y se sustituyeron en la ecuación:

$$\delta = g / mL \quad (3.3)$$

Donde:

g: Gramos pesados de la muestra problema

mL: Representa los 100 mL pesados de la muestra.

La tensión superficial se obtuvo de la aplicación de la siguiente ecuación (Maron y Prutton, 1968):

$$Y = \frac{r h \delta g}{2 \cos \theta} \quad (3.4)$$

Donde:

Y: Tensión superficial

r: Radio del capilar utilizado en las mediciones

h: Altura medida

δ : Densidad de cada muestra

g: Aceleración de la gravedad.

θ : Ángulo de contacto entre la superficie del líquido y la superficie de la pared interna del capilar, como se observa en la Figura 16.

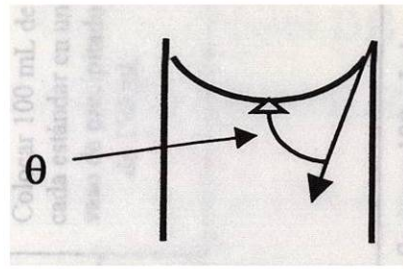
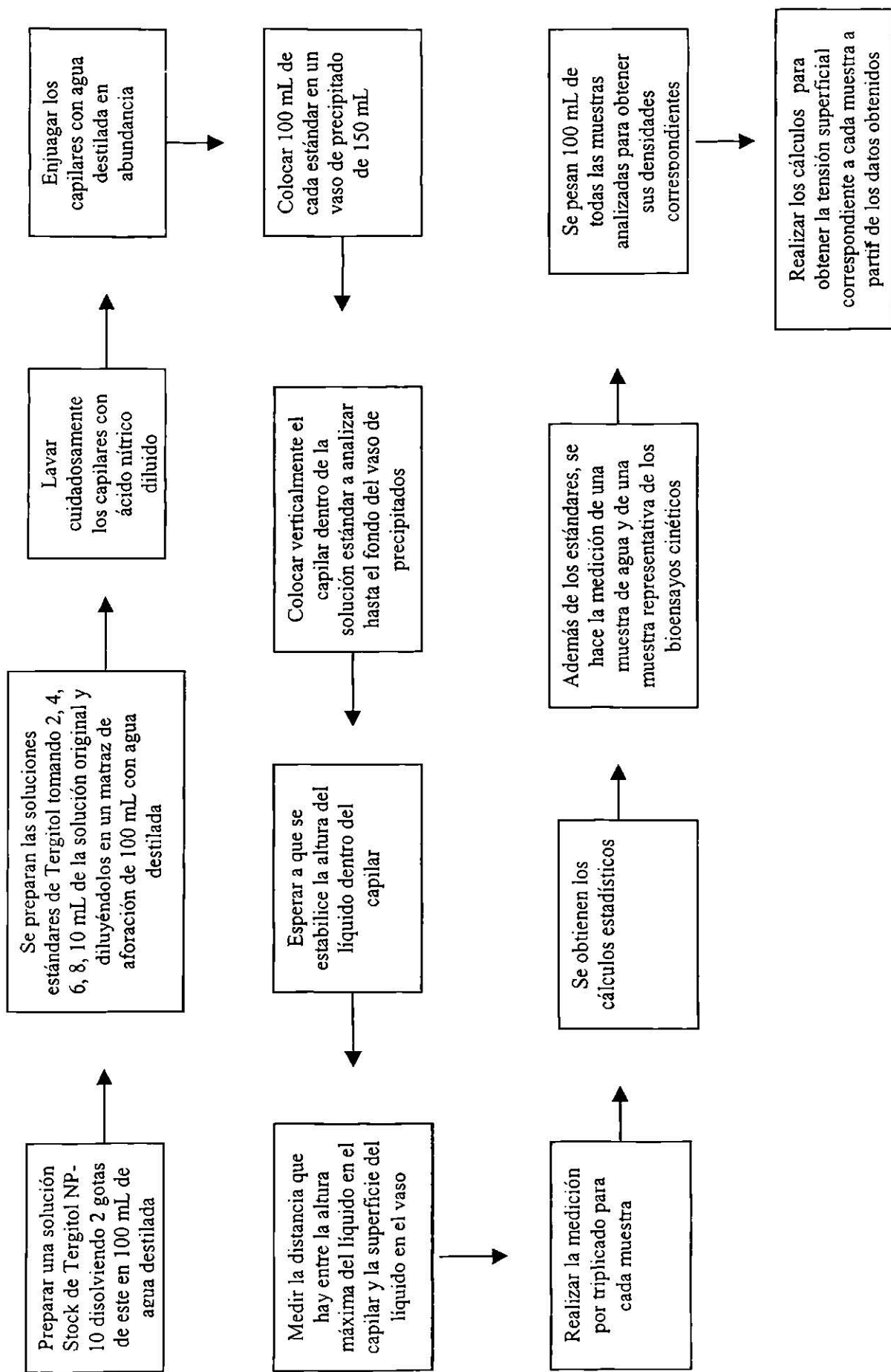


Figura 16. Ángulo de contacto entre la superficie del líquido y la superficie de la pared interna del capilar

El ángulo θ tiende a cero al considerar que la superficie de la pared interna del capilar no opone resistencia al paso del líquido; es decir, cuando el líquido humedece el capilar, lo cual ocurrió al estar completamente limpia la superficie después de haberse enjuagado con ácido. Por lo que la ecuación 3.4 se simplifica (Daniels, 1962; Shoemaker, 1989):

$$Y = \frac{r h \delta g}{2} \quad (3.5)$$



Esquema 12. Procedimiento para la determinación de la Tensión Superficial

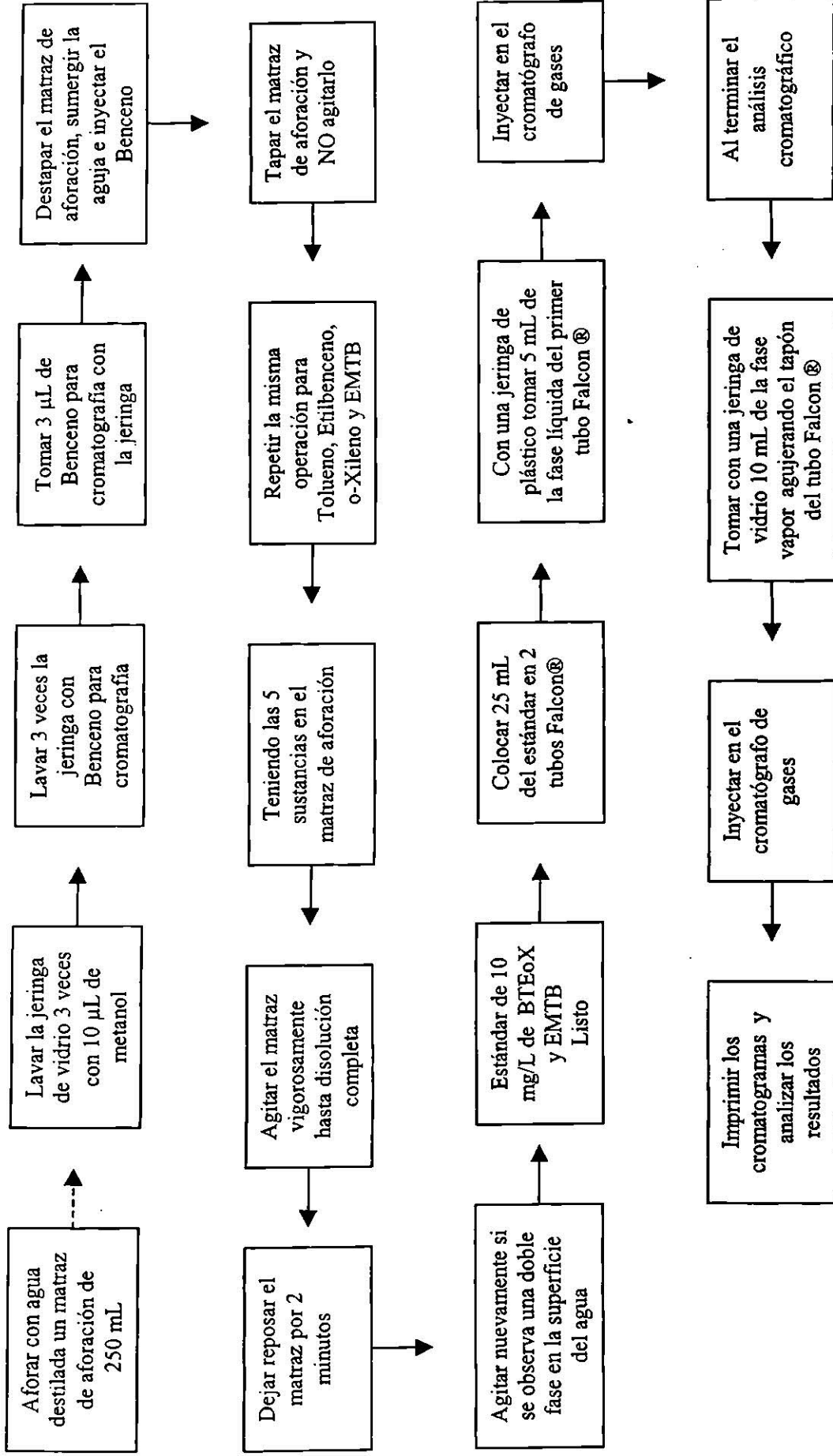
3.6. OBTENCIÓN DE COEFICIENTES ADIMENSIONALES DE HENRY

Los coeficientes de Henry indican el grado en que se solubilizan los gases en un líquido, por lo que da una idea de cuanto analito se encontrará en la fase vapor y cuanto pudiera ser perdido por fugas en los viales experimentales.

El procedimiento experimental para obtener los coeficientes de Henry fue el siguiente:

Se elaboró una serie de estándares de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de los BTEoX y EMTB de igual manera en la que se prepara un estándar (sección 3.2.3.), los cuáles se colocaron en un par de viales tipo Falcon® de 50 mL a medio llenar. Después de esto, los estándares se analizaron en el cromatógrafo de gases siendo inyectados 5 mL de la fase líquida y luego 10 mL de la fase gaseosa para cada muestra respectivamente. El procedimiento desarrollado se puede observar en el esquema 13.

La obtención de los coeficientes adimensionales de Henry fue realizada mediante la relación de la concentración del analito analizado en la fase de vapor entre la concentración del analito presente en la fase líquida de la muestra como se verá en la sección 4 del Capítulo IV.



Esquema 13. Procedimiento experimental para la determinación del coeficiente de Henry del estándar de 10 mg/L

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

1. CURVA DE CALIBRACIÓN

A continuación se presentan las curvas de calibración de cada analito, utilizadas para el tratamiento de las áreas de los cromatogramas obtenidas de los bioensayos cinéticos para la determinación de las constantes cinéticas de velocidad:

a) Benceno

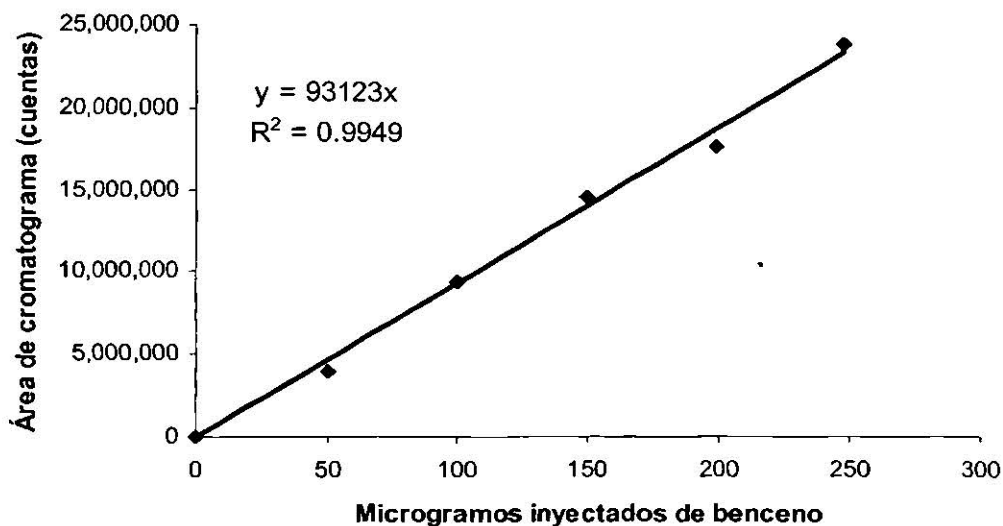


Figura 16. Curva de calibración de benceno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de los cromatogramas en relación con los microgramos teóricos inyectados de benceno es:

$$Y = 93123X$$

$$R^2 = 0.9949$$

b) Tolueno

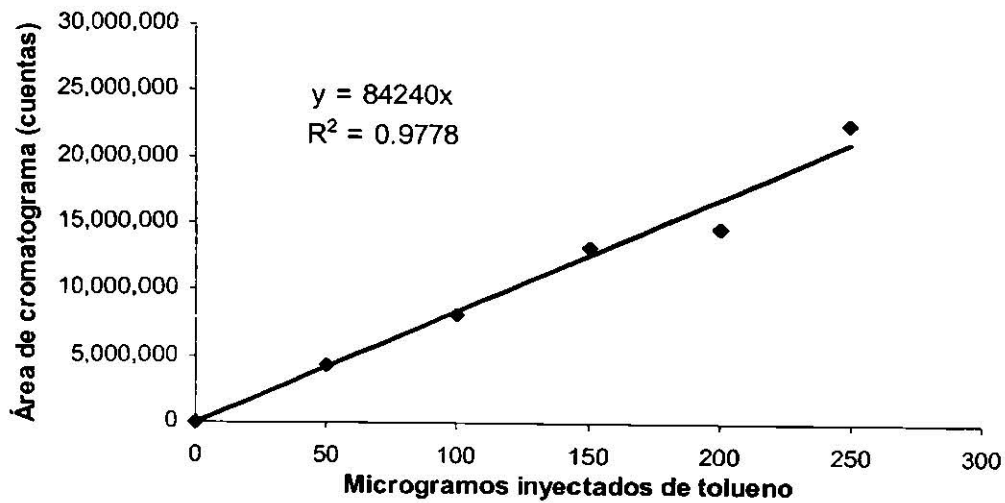


Figura 17. Curva de calibración de tolueno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de los cromatogramas en relación con los microgramos teóricos inyectados de tolueno es:

$$Y = 84240X$$

$$R^2 = 0.9778$$

c) Etilbenceno

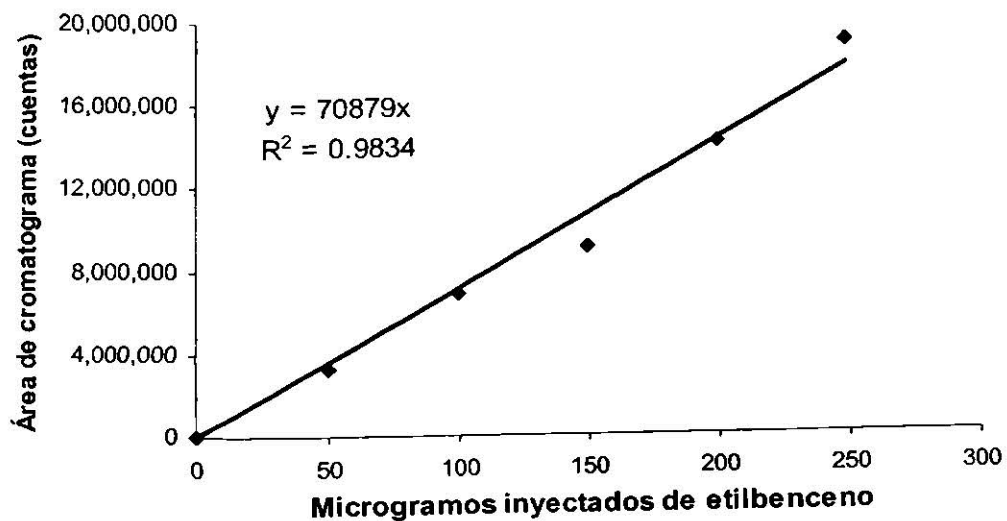


Figura 18. Curva de calibración de etilbenceno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de los cromatogramas en relación con los microgramos teóricos inyectados de etilbenceno es:

$$Y = 70879X$$

$$R^2 = 0.9834$$

d) o-Xileno

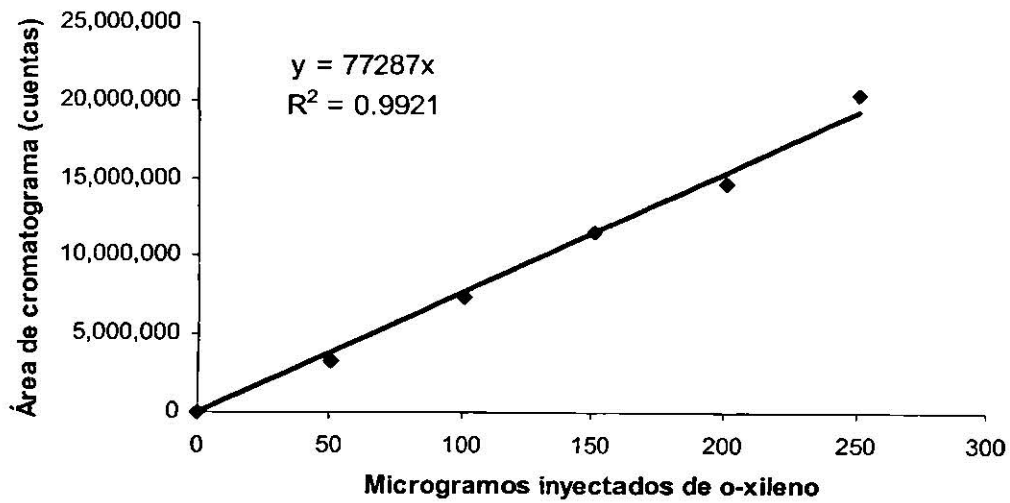


Figura 19. Curva de calibración de o-xileno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de los cromatogramas en relación con los microgramos teóricos inyectados de o-xileno es:

$$Y = 77287X$$

$$R^2 = 0.9921$$

e) EMTB

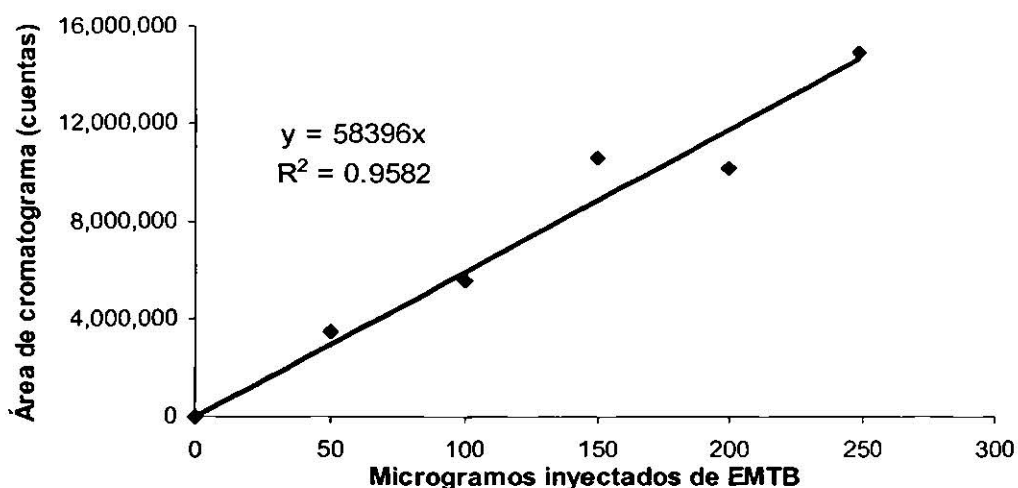


Figura 20. Curva de calibración de EMTB estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de los cromatogramas en relación con los microgramos teóricos inyectados de EMTB es:

$$Y = 58396X$$

$$R^2 = 0.9582$$

Las concentraciones de las muestras analizadas de los bioensayos cinéticos se reportan en el Anexo F, las cuales fueron calculadas a partir del promedio de las áreas de las muestras de las tres réplicas desarrolladas (Anexo E).

2. EFECTOS DE PARTICIÓN

A través de la cinética desarrollada para las muestras de suelo y las muestras de suelo y surfactante, podemos calcular la partición que presentan los BTEoX y el EMTB en estos medios de reacción cuando se encuentran en conjunto y la eficiencia de la actividad que presenta el Tergitol NP-10, sobre la partición agua:suelo de los BTEoX y el EMTB.

Las concentraciones a diferentes tiempos reportadas en el Anexo F para las muestras control, muestras de suelo y muestras de suelo y Tergitol NP-10 se dividieron entre su concentración inicial a tiempo cero, de esta manera se eliminaron las posibles pérdidas ocasionadas por fugas en los bioensayos cinéticos (Tabla 16, 17 y 18). La evaluación de la partición de los BTEoX y EMTB en las muestras de suelo y en las muestras de suelo y surfactante se realizó dividiendo los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían suelo y las que contenían suelo y surfactante por los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tablas 19 y 20). Estos resultados se graficaron para su posterior análisis.

Tabla 16. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras control que contienen solamente buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	1.0268	0.9268	0.7524	0.8297	1.0501
12	1.0016	0.8748	0.6543	0.8031	0.9877
18	1.0229	1.0191	0.8724	0.9520	1.0932
24	0.9286	0.9919	0.7900	0.8855	1.0490
30	0.9589	0.8969	0.8321	0.9534	1.0213
36	0.9360	0.8953	0.6591	0.7288	0.9737

Tabla 17. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 5 gramos de suelo estéril, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9304	0.9187	0.8054	0.8298	1.0902
12	0.8946	0.8454	0.8826	0.8906	1.0138
18	0.8776	0.8415	0.6968	0.7469	1.0544
24	0.6805	0.5901	0.4537	0.5600	0.8258
30	0.9147	0.9242	0.8088	0.8476	1.0188
36	0.4925	0.3778	0.2977	0.3362	0.8309

Tabla 18. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 5 gramos de suelo estéril, 25 mg/L de Tergitol NP-10, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	1.0048	1.1029	0.9299	0.9050	1.0115
12	0.9809	1.0915	0.9535	0.9538	0.9727
18	0.9553	0.9737	0.7102	0.7795	1.0406
24	1.0489	1.1104	0.9410	1.0129	1.0010
30	0.8759	0.9794	0.9447	0.8922	1.0013
36	0.8859	0.9123	0.7378	0.7878	0.9084

Los resultados de las Tablas 17 y 18 fueron divididos por sus datos correspondientes de la Tabla 16, obteniéndose así los resultados presentados en las Tablas 19 y 20.

Tabla 19. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 17 en relación con las muestras de la Tabla 16.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9061	0.9913	1.0705	1.0001	1.0382
12	0.8932	0.9663	1.3489	1.1090	1.0265
18	0.8579	0.8257	0.7987	0.7846	0.9645
24	0.7328	0.5949	0.5743	0.6324	0.7873
30	0.9539	1.0305	0.9720	0.8890	0.9976
36	0.5262	0.4220	0.4517	0.4612	0.8534

Tabla 20. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 18 en relación con las muestras de la Tabla 16.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9785	1.1900	1.2359	1.0907	0.9632
12	0.9794	1.2477	1.4572	1.1877	0.9848
18	0.9339	0.9554	0.8141	0.8188	0.9519
24	1.1296	1.1195	1.1910	1.1438	0.9543
30	0.9134	1.0920	1.1353	0.9358	0.9805
36	0.9465	1.0190	1.1194	1.0810	0.9330

De los valores de la Tabla 19 se obtiene la Figura 21.

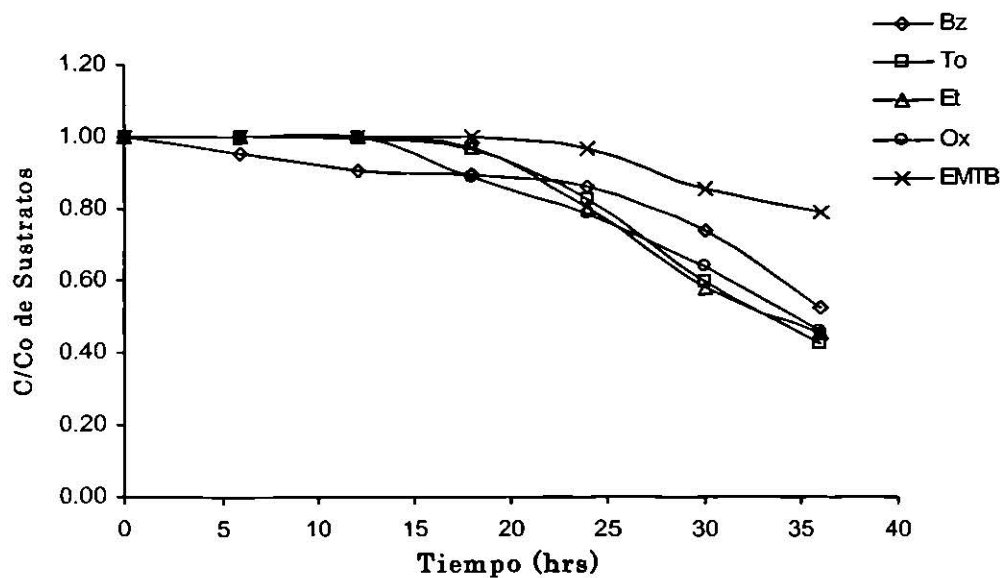


Figura 21. Evaluación de la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB

De los valores de la Tabla 20 se obtiene la Figura 22.

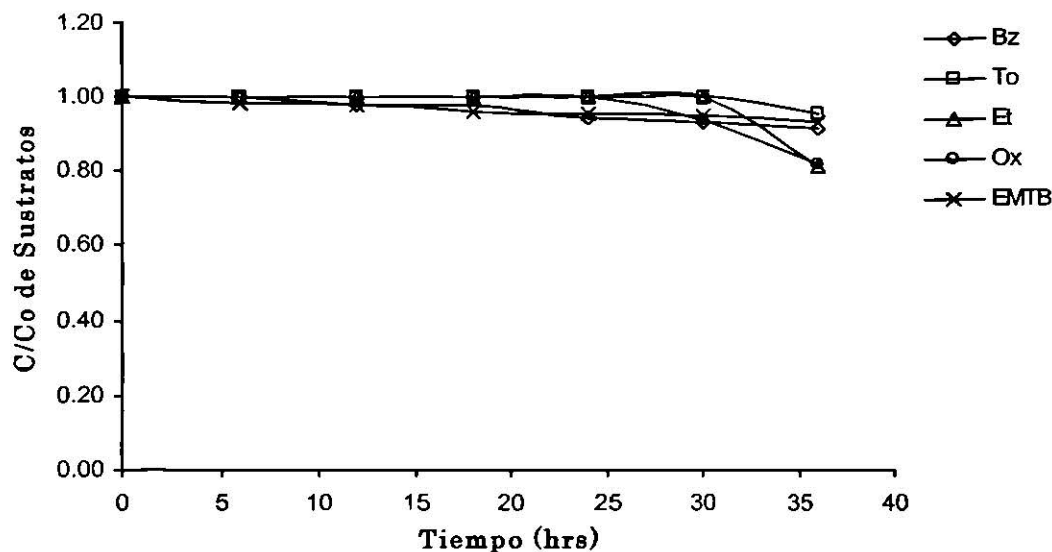


Figura 22. Efecto del Tergitol NP-10 en la partición de los BTEoX y EMTB en agua:suelo

La Figura 21 muestra que el suelo es capaz de atraer un máximo del 50 por ciento de los BTEoX presentes en el medio de cultivo durante las 36 horas de la experimentación, no así el EMTB, que solo el 20 por ciento de éste, se reparte en el suelo. Con lo anterior se confirma la alta solubilidad que presenta el EMTB en agua (Merck, 1989) y la baja polaridad de los BTEoX (Sangster, 1989). Es importante mencionar que, el inicio de la partición para la mayoría de los compuestos analizados se da entre las 12 y las 18 horas, con excepción del benceno que inicia su reparto desde el tiempo inicial de cero horas. En cambio, la presencia del surfactante Tergitol NP-10 en el sistema suelo:buffer, produce ciertos cambios de interés, entre ellos, la minimización en la partición

de los compuestos y esto se puede comprobar, al observar que solamente el 20 por ciento de etilbenceno y o-xileno se reparten en el suelo, mientras que cerca del 100 por ciento de benceno, tolueno y EMTB permanecen en la solución acuosa. También se puede observar que la partición agua:suelo del o-xileno y etilbenceno no inician sino hasta las 18 y 24 horas respectivamente.

Para evaluar la eficiencia de la actividad del Tergitol NP-10 sobre la partición agua:suelo de los BTEoX y el EMTB, se dividieron los valores de la Tabla 18 por los valores de la Tabla 17. Los resultados se presentan en la Tabla 21.

Tabla 21. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 18 en relación con las muestras de la Tabla 17.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9576	1.0597	1.1092	1.0436	0.9278
12	1.0799	1.1572	1.0803	1.0526	0.9594
18	1.0886	1.2004	1.1545	1.0710	0.9829
24	1.0965	1.2911	1.1680	1.0906	0.9869
30	1.5415	1.8818	2.0739	1.8087	1.0933
36	1.7987	2.4147	2.4783	2.3436	1.2121

De los resultados obtenidos en la Tabla 21, se obtiene la siguiente gráfica:

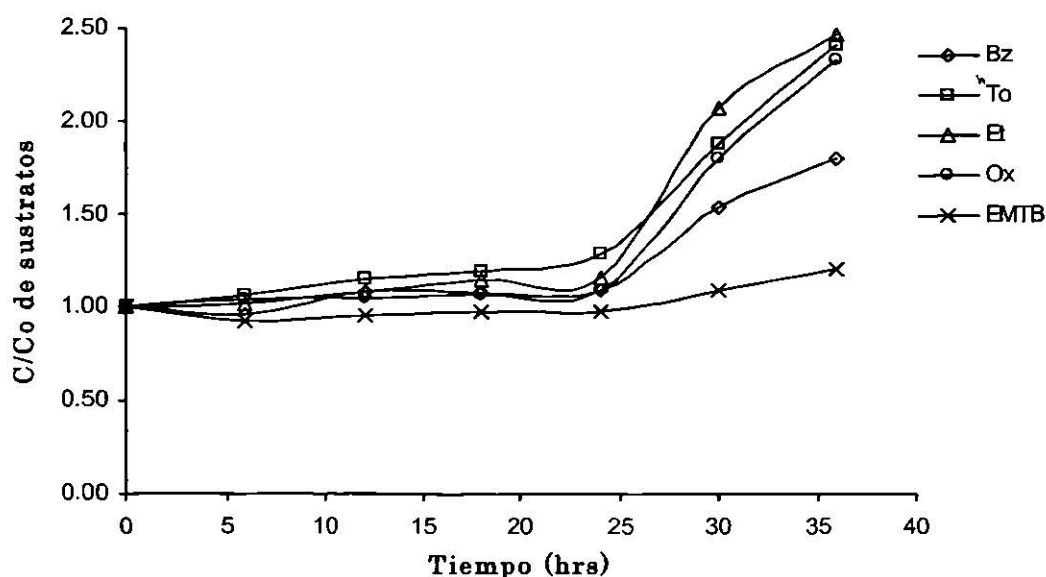


Figura 23. Eficiencia de la actividad del Tergitol NP-10 sobre la partición agua:suelo de los BTEoX y el EMTB

La Figura 23 muestra que el Tergitol NP-10 impide la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB, al no observarse una caída en el porcentaje de sustratos en el medio. Al contrario de esto, puede observarse que a las 24 horas, los sustratos tienden a dirigirse a la fase acuosa, de tal manera que se observa un incremento en la concentración de los sustratos en el medio de cultivo de hasta un 150% en el caso de tolueno, etilbenceno y o-xileno, cerca de un 75% en el caso de benceno y solamente un 25% en el caso de EMTB.

3. CONSTANTES CINÉTICAS GLOBALES DE VELOCIDAD

A través de la cinética desarrollada para las muestras de biomasa, las muestras de suelo con biomasa y las muestras de suelo con biomasa y surfactante, podemos calcular las constantes cinéticas globales de velocidad que muestran la eliminación de los BTEoX y el EMTB en estos medios de reacción cuando se encuentran en conjunto, así como la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTEoX y el EMTB cuando ésta se encuentra sola, en presencia de suelo, y en presencia de suelo y surfactante.

Las constantes cinéticas globales de velocidad, representan la velocidad a la cual se lleva a cabo el proceso de eliminación de los BTEoX y EMTB en el sistema estudiado en un tiempo de experimentación determinado. Sin embargo, estas constantes no nos indican si el proceso estudiado es el de la biodegradación o el de la biodegradación junto con el de partición en el caso de estar presente el suelo. Es por esto, que en este estudio se le denominó biodegradación a los primeros y remoción a los segundos, haciendo referencia al proceso de biodegradación y partición en conjunto.

Las constantes cinéticas globales se obtuvieron realizando el siguiente procedimiento: las concentraciones reportadas en el Anexo F para las muestras control, muestras de biomasa, muestras de suelo con biomasa y muestras de

suelo, biomasa y Tergitol NP-10 fueron divididas entre su concentración inicial, de esta manera se eliminaron las posibles pérdidas ocasionadas por fugas en los bioensayos cinéticos (Tablas 22, 23, 24 y 25). Los cálculos de la biodegradación de los BTEoX y EMTB en las muestras de biomasa y de la remoción de los BTEoX y EMTB en las muestras de suelo con biomasa y las muestras de suelo, biomasa y surfactante, se realizó dividiendo los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían biomasa, suelo con biomasa y suelo, biomasa y surfactante por los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tablas 26, 41 y 53). Estos resultados se multiplicaron por 50, para obtener la concentración teórica de los sustratos presente en las muestras. Posteriormente, para determinar su orden de reacción, se graficó el logaritmo natural de sus concentraciones teóricas ($\ln St$) contra el tiempo de análisis, de tal manera que a las curvas que resultaron con una alta linealidad se les determinó su constante global de velocidad a partir de la pendiente que presentó su línea de tendencia. Sin embargo, al graficar el $\ln St$ contra el tiempo de análisis, se encontró que algunos sustratos presentaban quiebres en su pendiente, lo cual indica que la eliminación de éstos sustratos se llevó a cabo en dos fases. En estos casos, se utilizó el método denominado "Método de Doble Compartimento" para obtener las dos constantes cinéticas globales presentadas por el sistema. Este método consiste en dividir en dos curvas de alta linealidad, la curva procedente de la gráfica de $\ln St$ contra el tiempo de análisis. A las dos curvas resultantes, se les desarrolló las líneas de tendencia y se les substrajo la ecuación de regresión de la fase lenta a

la ecuación de regresión de la fase rápida. Así, se obtuvo una nueva ecuación, a la cual se le denominó “Ecuación combinada”. A esta sustracción, se le conoce como el “Método de los Residuos”. Una vez obtenida la ecuación combinada, se desarrolló la siguiente ecuación:

$$S_t = S_1e^{-K_1t} + S_2e^{-K_2t} \quad (4.1)$$

Donde:

S_t : Concentración teórica del sustrato en cualquier tiempo

S_1 : Concentración teórica del sustrato en la fase lenta

(fase de distribución) a tiempo cero

S_2 : Concentración teórica del sustrato en la ecuación combinada

(fase de eliminación) a tiempo cero

K_1 : Constante cinética global de la fase lenta (fase de distribución)

K_2 : Constante cinética global de la ecuación combinada

(fase de eliminación)

Sin embargo, a esta ecuación se le tuvo que hacer una corrección para que represente la concentración real a la cuál inicia la biodegradación en la fase de distribución y esto se logró graficando los resultados obtenidos de la sustitución de los tiempos en la ecuación 4.1, y se determinó la línea de tendencia de la parte terminal de la curva obtenida. De esta línea de tendencia, se sustrajo el valor de la intersección con el eje Y y se restó al valor

correspondiente al del término S_1 en la ecuación 4.1, obteniéndose así la ecuación corregida de Doble Compartimento:

$$S_t = S_1^*e^{-K_1t} + S_2e^{-K_2t} \quad (4.2)$$

Donde:

S_t : Concentración teórica del sustrato en cualquier tiempo

S_1^* : Concentración teórica del sustrato en la fase de distribución a tiempo

cero menos la concentración correspondiente a la intersección de la línea de tendencia de la fase terminal de la ecuación 4.1.

S_2 : Concentración teórica del sustrato en la fase de eliminación a tiempo cero

K_1 : Constante cinética global de la fase de distribución

K_2 : Constante cinética global de la fase de eliminación

Tabla 22. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras control que contienen solamente buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	1.0268	0.9268	0.7524	0.8297	1.0501
12	1.0016	0.8748	0.6543	0.8031	0.9877
18	1.0229	1.0191	0.8724	0.9520	1.0932
24	0.9286	0.9919	0.7900	0.8855	1.0490
30	0.9589	0.8969	0.8321	0.9534	1.0213
36	0.9360	0.8953	0.6591	0.7288	0.9737

Tabla 23. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 2 mL de biomasa concentrada, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9008	1.0107	0.8958	0.9776	0.9878
12	0.8842	0.9921	0.9015	1.1402	0.9718
18	0.6794	0.5308	0.2149	0.8124	0.9848
24	0.2471	0.0629	0.0194	0.6425	0.9814
30	0.0099	0.0022	0.0068	0.4756	0.9501
36	0.0099	0.0062	0.0090	0.5151	0.9509

Tabla 24. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 2 mL de biomasa concentrada, 5 gr de suelo estéril, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.8922	0.9667	0.8672	0.8898	1.0191
12	0.9620	0.9096	0.6990	0.9088	1.1178
18	0.9874	0.7626	0.3350	0.7424	1.0771
24	0.4777	0.0904	0.1790	0.6276	1.0438
30	0.2206	0.0186	0.1180	0.5562	1.0603
36	0.3048	0.3300	0.0189	0.5627	1.0387

Tabla 25. Valores de la relación de la concentración de los BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre sus concentraciones iniciales (a tiempo 0) de las muestras que contienen 2 mL de biomasa concentrada, 5 gr de suelo estéril, 25 mg/L de Tergitol NP-10, buffer y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y EMTB.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9614	1.0357	0.9412	1.0198	0.9696
12	0.9486	0.9518	0.5952	1.0422	0.9925
18	0.8869	0.8400	0.2444	0.9226	1.0350
24	0.4341	0.1111	0.0144	0.7919	1.0018
30	0.0683	0.0065	0.0061	0.3304	0.8585
36	0.0349	0.0028	0.0018	0.4119	1.0566

3.1 EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE LOS BTE_oX Y EMTB POR LA BIOMASA ACCLIMATADA A BTEX

Para la evaluación de la biodegradación de los BTE_oX y EMTB por la biomasa, fue necesario dividir los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían solamente biomasa (Tabla 23) entre los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tabla 22). De esta manera, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 26.

Tabla 26. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 23 en relación con las muestras de la Tabla 22.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.8828	0.9900	0.9000	0.9800	0.9840
12	0.8773	0.9300	0.8500	0.8900	0.9766
18	0.6642	0.5208	0.2464	0.8534	0.9407
24	0.2661	0.0635	0.0246	0.7255	0.9356
30	0.0106	0.0096	0.0137	0.7068	0.9303
36	0.0103	0.0024	0.0081	0.4989	0.9008

A los resultados presentados en la Tabla 26 se les multiplicó por 50, para obtener así la concentración teórica de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 27. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
6	46.50	49.50	45.00	49.00	49.20
12	43.87	46.50	42.50	44.50	48.83
18	33.21	26.04	12.32	42.67	47.04
24	13.31	3.18	1.23	36.28	46.78
30	0.53	0.35	0.69	35.24	46.52
36	0.52	0.12	0.41	24.95	45.04

A continuación, se les aplicó el logaritmo natural a las concentraciones presentadas en la Tabla 27; los resultados se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 28. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.8395	3.9020	3.8067	3.8918	3.8959
12	3.7811	3.8395	3.7495	3.7955	3.8883
18	3.5029	3.2596	2.5112	3.7535	3.8509
24	2.5881	1.1553	0.2070	3.5911	3.8455
30	-0.6349	-1.0642	-0.3783	3.5650	3.8398
36	-0.6636	-2.1203	-0.9039	3.2167	3.8076

3.1.1. EVALUACIÓN DEL BENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se puede observar que se presenta la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos”, para luego desarrollar la ecuación 4.1.

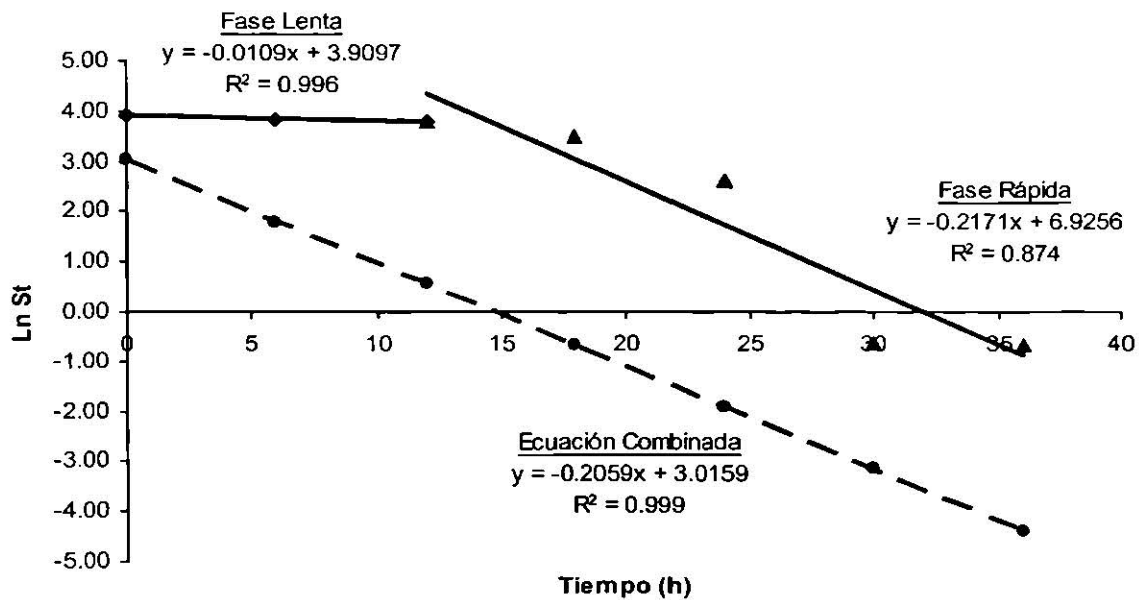


Figura 24. Gráfica de primer orden para la biodegradación de benceno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Sustituyendo los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 49.88e^{-0.0109t} + 20.41e^{-0.2059t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 29 y su gráfica con respecto al tiempo de muestreo se presenta en la Figura 25.

Tabla 29. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 49.88e^{-0.0109t} + 20.41e^{-0.2059t}$ (mg/L)
0	70.29
6	52.66
12	45.49
18	41.50
24	38.54
30	36.01
36	33.70

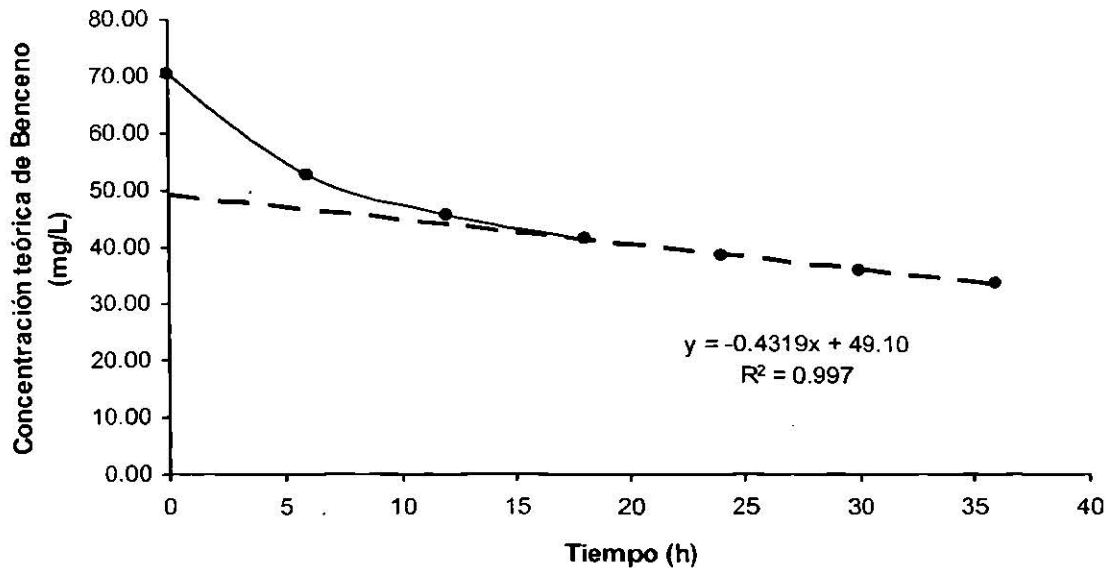


Figura 25. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del benceno

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restarla a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.77e^{-0.0109t} + 20.41e^{-0.2059t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 30. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del benceno por parte de la biomasa. Esta gráfica se presenta en la Figura 26.

Tabla 30. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de doble compartimento corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 0.77e^{-0.0109t} + 20.41e^{-0.2059t}$ (mg/L)
0	21.18
6	6.65
12	2.40
18	1.13
24	0.74
30	0.60
36	0.53

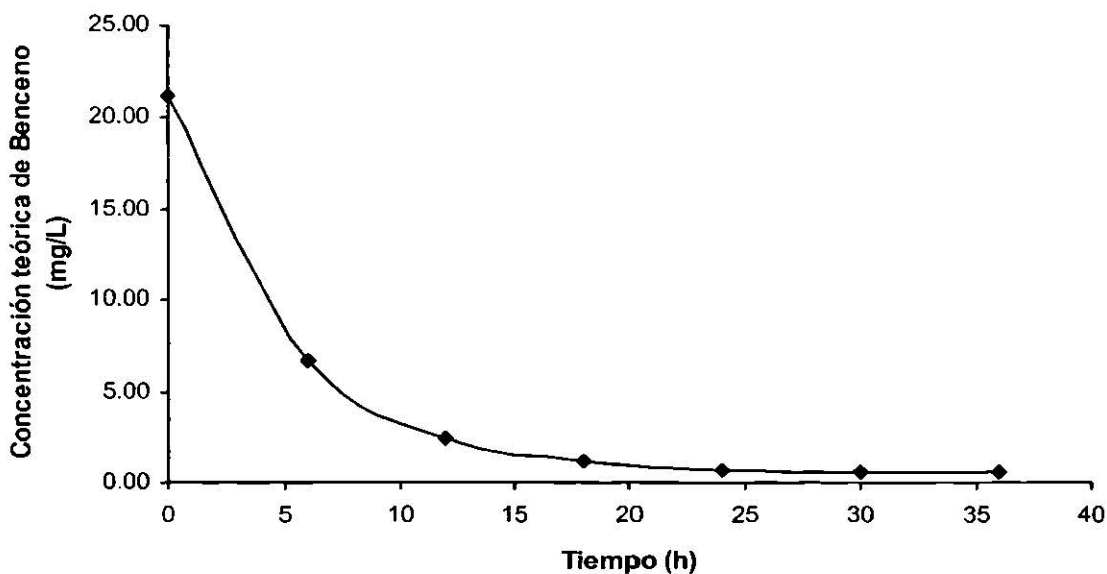


Figura 26. Curva de la biodegradación de benceno por la biomasa aclimatada a BTEX

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del benceno por la biomasa aclimatada a BTEX, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 31. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del benceno por la biomasa aclimatada a BTEX.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	0.77	0.0109
Eliminación	20.41	0.2059

A través de los resultados mostrados en la Tabla 31 podemos deducir que la biodegradación del benceno ocurre en dos etapas, la primera donde hay poca biodegradación, la cual además es lenta, mientras que en la segunda etapa es donde ocurre la mayor parte de la biodegradación, además de que es cerca de 20 veces más rápida que la primera.

3.1.2. EVALUACIÓN DEL TOLUENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del tolueno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se presenta el quiebre en la pendiente, por lo que se presume la presencia de un comportamiento de doble fase, así que se desarrolla el “Método de los Residuos”, para luego sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1.

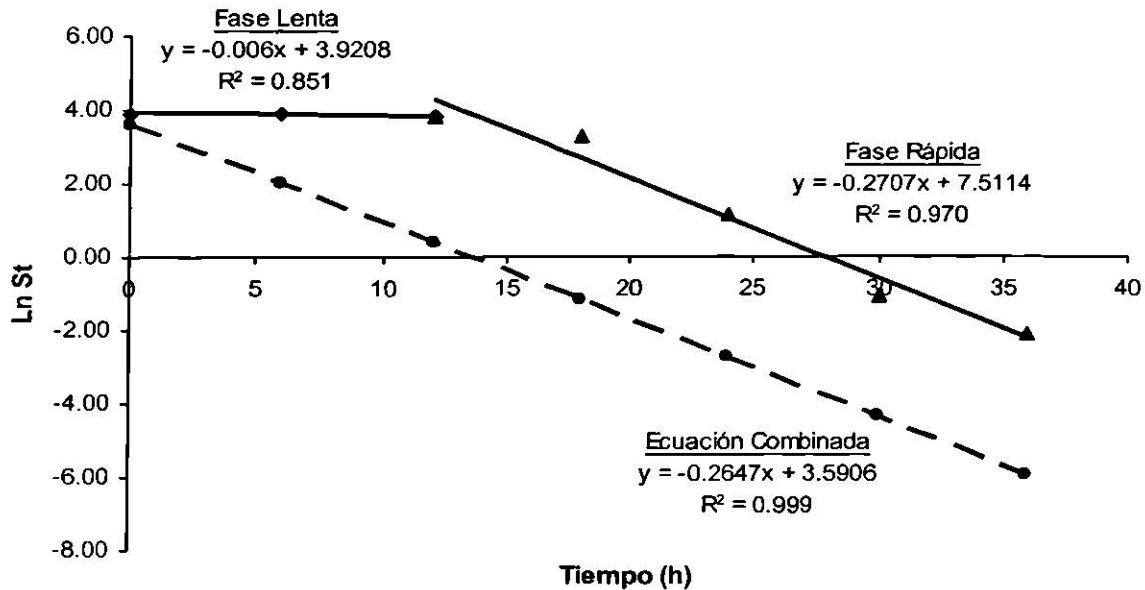


Figura 27. Gráfica de primer orden para la biodegradación de tolueno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Sustituyendo los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 50.44e^{-0.006t} + 36.26e^{-0.2647t}$ cuyos valores se presentan en la Tabla 32 y su gráfica se presenta en la Figura 28.

Tabla 32. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 50.44e^{-0.006t} + 36.26e^{-0.2647t}$ (mg/L)
0	86.70
6	56.06
12	48.45
18	45.59
24	43.74
30	42.14
36	40.64

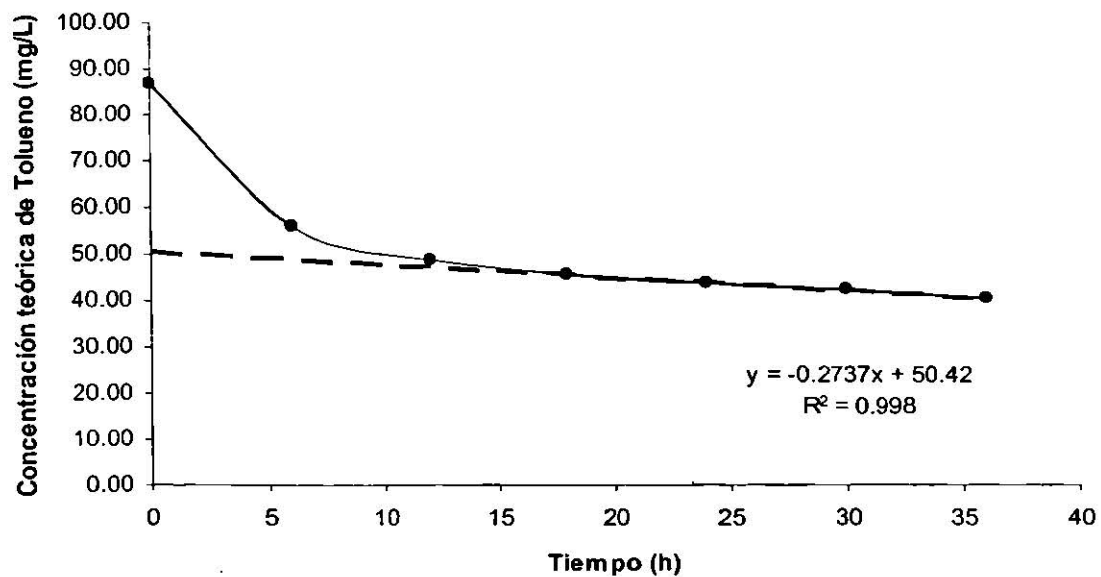


Figura 28. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del tolueno

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.02e^{-0.006t} + 36.26e^{-0.2647t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 33. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del tolueno por parte de la biomasa. Esta gráfica se presenta a continuación.

Tabla 33. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 0.02e^{-0.006t} + 36.26e^{-0.2647t}$ (mg/L)
0	36.28
6	7.43
12	1.53
18	0.33
24	0.08
30	0.03
36	0.02

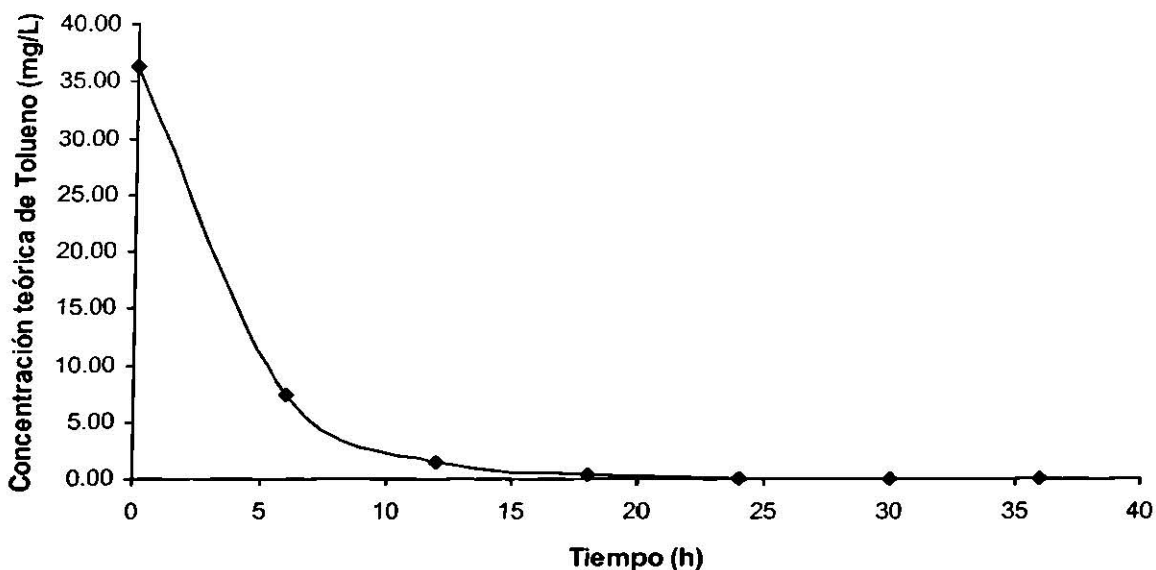


Figura 29. Curva de la biodegradación de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX, se muestran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 34. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h ⁻¹)
Distribución	0.02	0.0060
Eliminación	36.26	0.2647

La Tabla 34 muestra que la biodegradación de tolueno, se lleva a cabo en dos fases; durante la fase de distribución la biodegradación es prácticamente nula, mientras que en la fase de eliminación, hay una abundante biodegradación a una alta velocidad.

3.1.3. EVALUACIÓN DEL ETILBENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del etilbenceno contra el tiempo de muestreo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual podemos observar que se presenta la doble fase, por lo que se utiliza el “Método de los Residuos”, para luego desarrollar la ecuación 4.1.

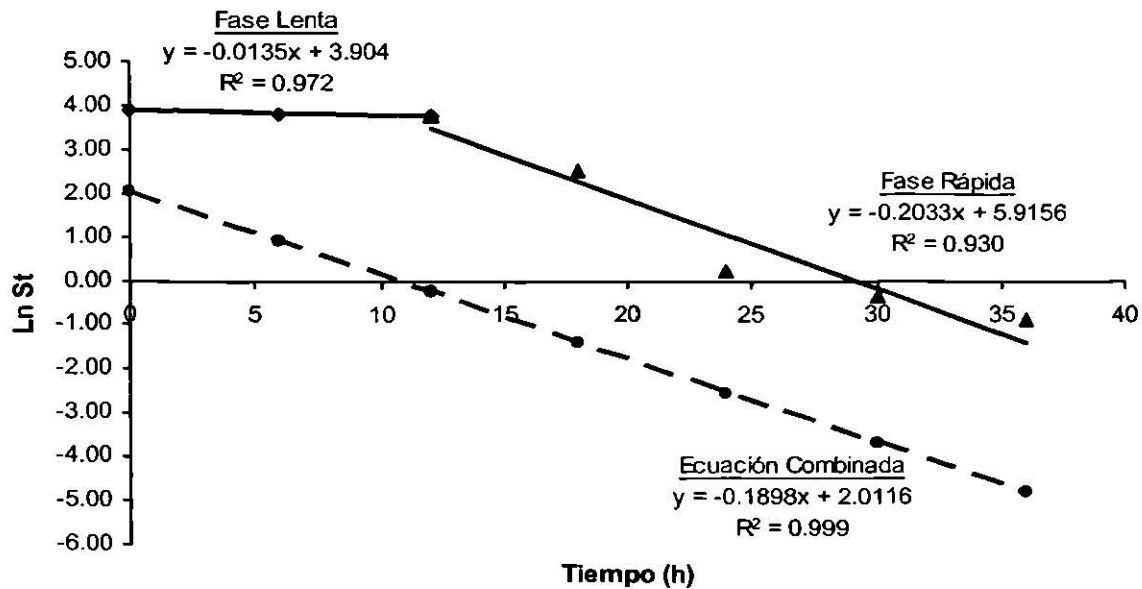


Figura 30. Gráfica de primer orden para la biodegradación de etilbenceno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 49.60e^{-0.0135t} + 7.46e^{-0.1898t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 35 y su gráfica se presenta en la Figura 31.

Tabla 35. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 49.60e^{-0.0135t} + 7.46e^{-0.1898t}$ (mg/L)
0	57.06
6	48.13
12	42.95
18	39.14
24	35.95
30	33.11
36	30.52

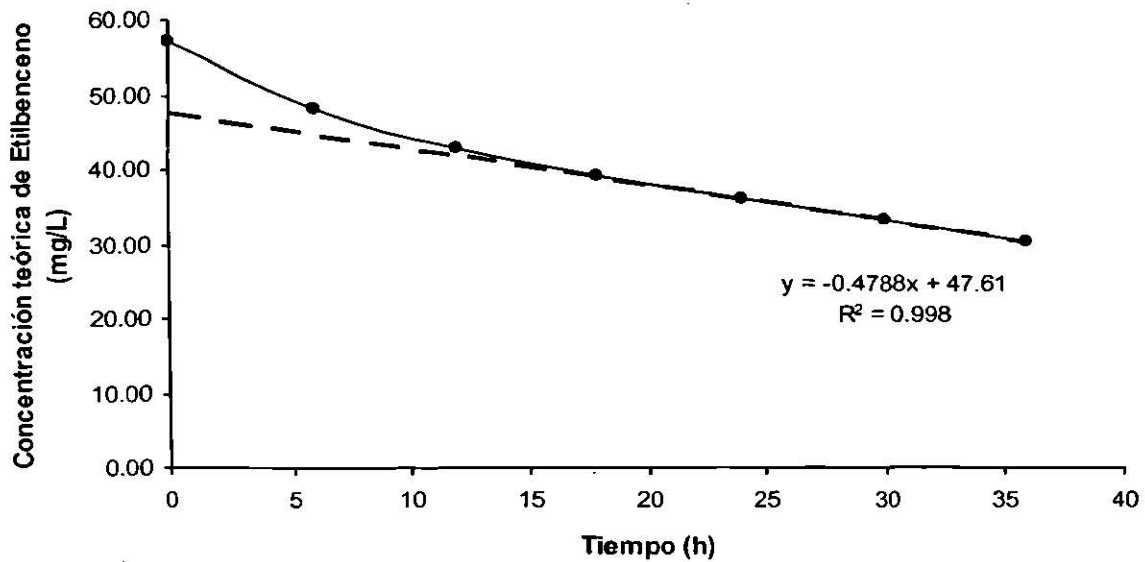


Figura 31. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del etilbenceno

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 1.99e^{-0.0135t} + 7.46e^{-0.1898t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 36. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del etilbenceno por parte de la biomasa. Esta gráfica se presenta en la Figura 32.

Tabla 36. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 1.99e^{-0.0135t} + 7.46e^{-0.1898t}$ (mg/L)
0	9.45
6	4.22
12	2.46
18	1.81
24	1.52
30	1.35
36	1.23

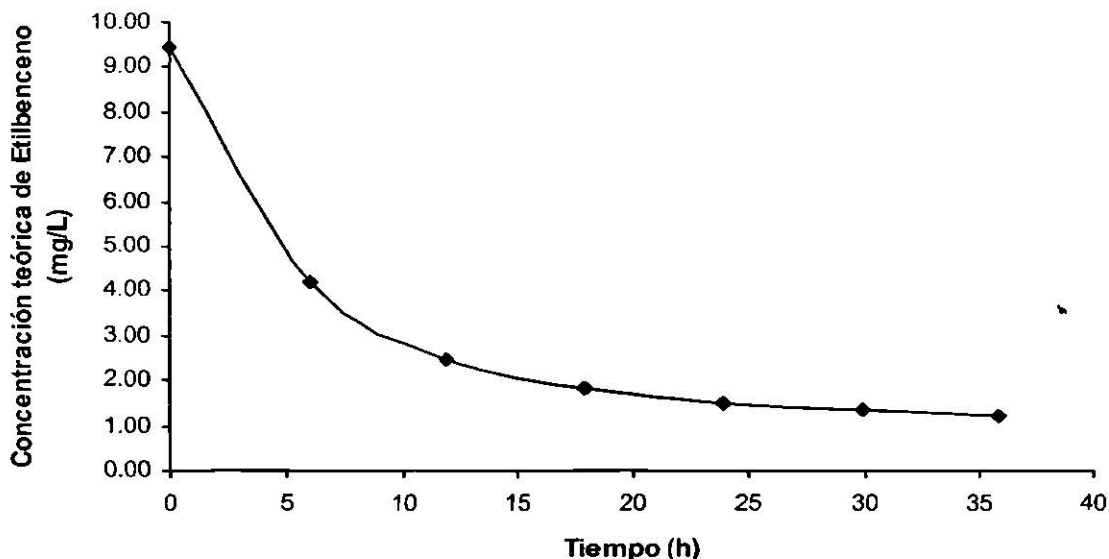


Figura 32. Curva de la biodegradación de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX, se muestran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 37. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	1.99	0.0135
Eliminación	7.46	0.1898

La biodegradación del etilbenceno ocurre en dos partes; la primera, donde ocurre cerca del 20% de la biodegradación de una manera lenta y en la segunda donde se biodegrada el otro 80% del etilbenceno, 18 veces más rápido que en la anterior.

3.1.4. EVALUACIÓN DEL O-XILENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del o-xileno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se puede observar que se presenta la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos”, para luego desarrollar la ecuación 4.1.

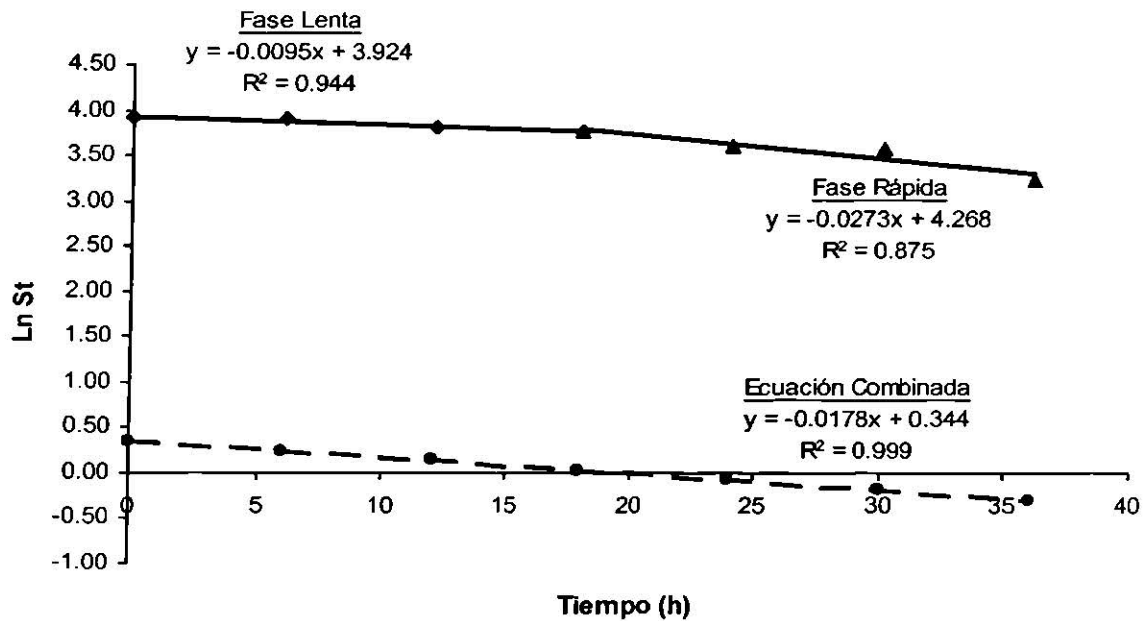


Figura 33. Gráfica de primer orden para la biodegradación del o-xileno, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 50.60e^{-0.0095t} + 1.41e^{-0.0178t}$, cuyos valores se observan en la Tabla 38 y su gráfica se presenta en la Figura 34.

Tabla 38. Concentraciones teóricas de o-xileno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 50.60e^{-0.0095t} + 1.41e^{-0.0178t}$ (mg/L)
0	52.01
6	49.06
12	46.29
18	43.67
24	41.20
30	38.88
36	36.69

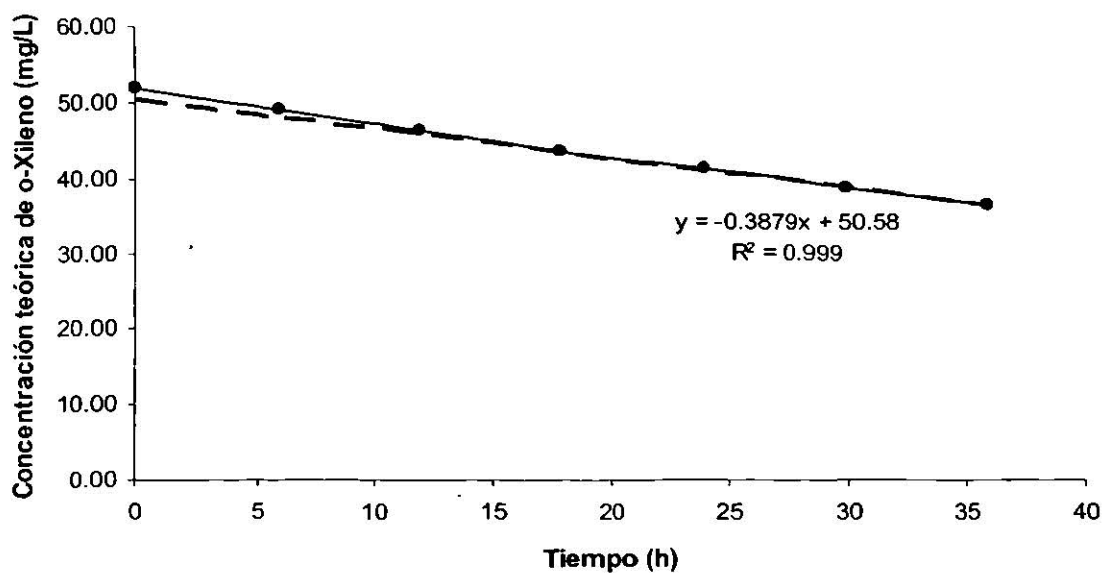


Figura 34. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del o-xileno

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.02e^{-0.0095t} + 1.41e^{-0.0178t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 39. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del o-xileno por parte de la biomasa. Esta gráfica se presenta en la Figura 35.

Tabla 39. Concentraciones teóricas de o-xileno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 0.02e^{-0.0095t} + 1.41e^{-0.0178t}$ (mg/L)
0	1.43
6	0.50
12	0.18
18	0.07
24	0.04
30	0.02
36	0.02

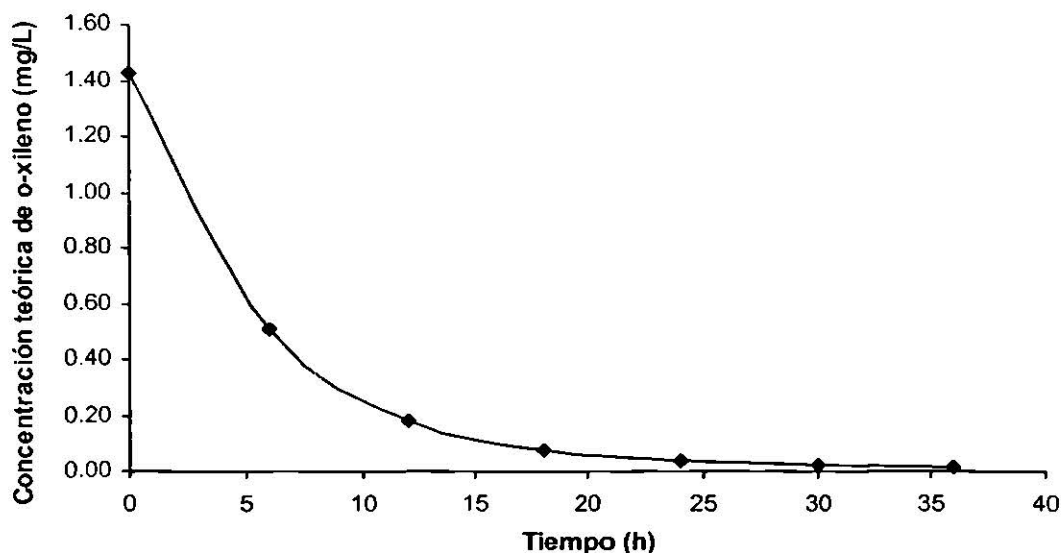


Figura 35. Curva de la biodegradación de o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX, se muestran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 40. Resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	0.02	0.0095
Eliminación	1.41	0.0178

La Tabla 40 muestra que la biodegradación del o-xileno también ocurrió en dos fases, sin embargo, la biodegradación en ambas fases fue baja, y ocurrió de una manera lenta.

3.1.5. EVALUACIÓN DEL EMTB

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del EMTB contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la Figura 36, en la cual no se observa un quiebre en la pendiente, por lo que fue posible obtener la constante cinética global directamente de la pendiente de la línea de tendencia de la curva obtenida.

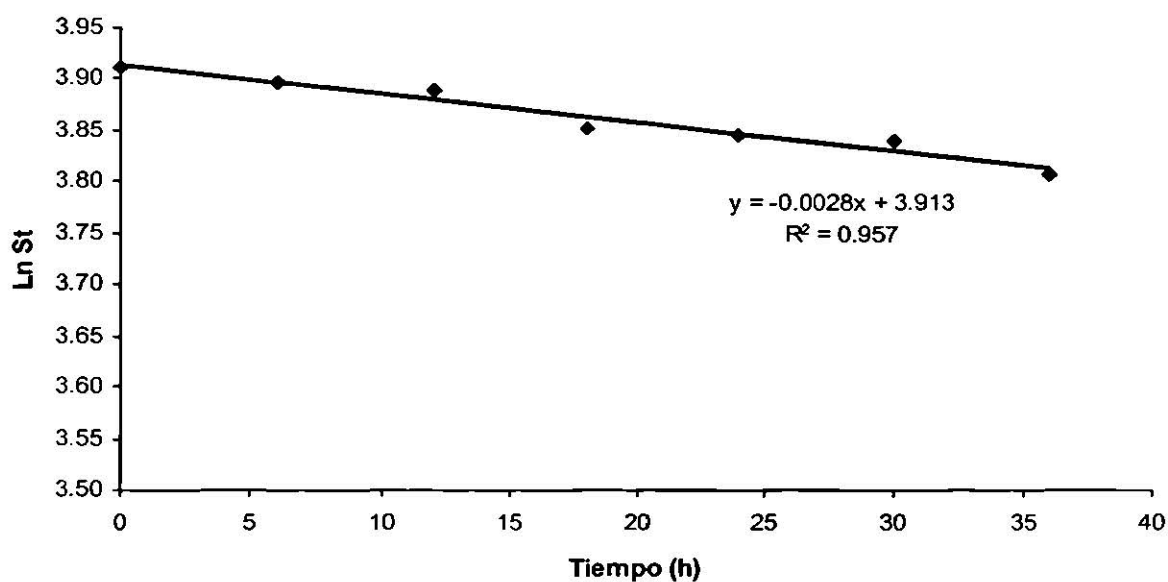


Figura 36. Gráfica de primer orden para la biodegradación EMTB

La constante cinética global de la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX es:

$$0.0028 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 37, se observa la curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX.

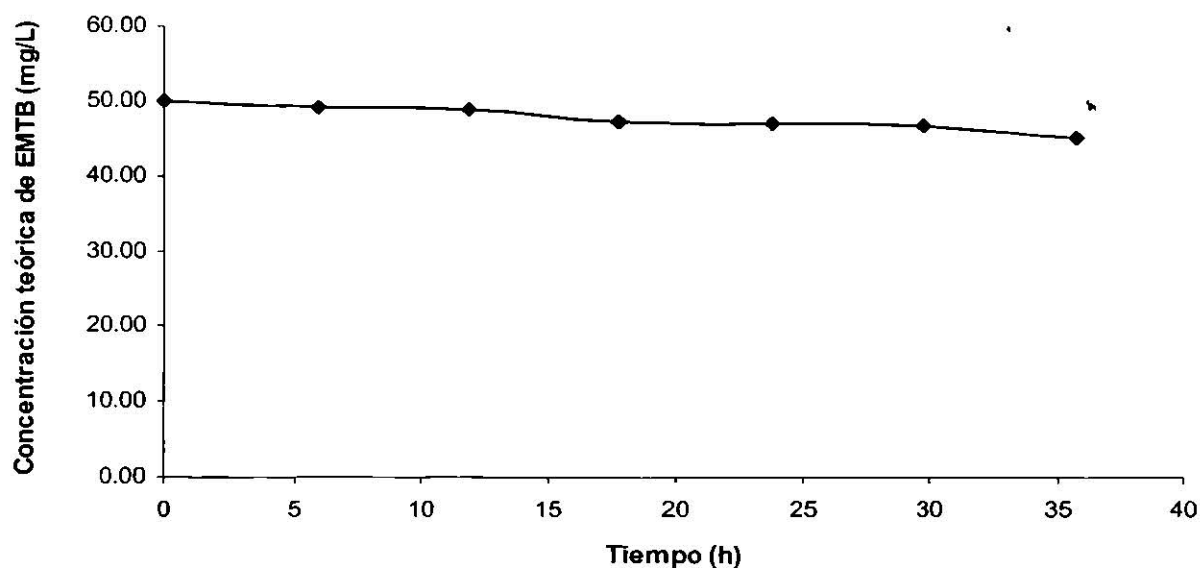


Figura 37. Curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX

El EMTB no es significativamente atacado por la biomasa, cuya constante cinética global es pequeña comparada con las constantes globales de los demás sustratos.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas para la biodegradación de los BTEoX y el EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX.

Tabla 41. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por la biomasa aclimatada a BTEX.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno		EMTB
K Globales [h ⁻¹] (r)	K ₁ 0.0109 (0.999)	K ₂ 0.2059	K ₁ 0.0060 (0.999)	K ₂ 0.2647	K ₁ 0.0135 (0.999)	K ₂ 0.1898	K ₁ 0.0095 (0.999)	K ₂ 0.0178	K 0.0028 (0.978)

Los datos de la Tabla 41 muestran que la biodegradación de los BTEoX por la biomasa aclimatada a BTEX ocurre en dos etapas, la primera donde el sustrato penetra la pared celular y la segunda donde el sustrato es biodegradado dentro de la célula. El EMTB en cambio, no fue significativamente biodegradado por la biomasa. Se puede observar que el etilbenceno fue el primer compuesto en ser metabolizado por la biomasa, seguido por el benceno y el o-xileno, ya que presentan una baja biodegradación en su fase de distribución, no así el tolueno que presentó una constante muy pequeña, sin embargo, se observó un gran cambio de velocidad en la biodegradación del tolueno, cuando este empezó a ser metabolizado en la fase de eliminación, seguido por el benceno y el etilbenceno. El o-xileno no presentó un incremento considerablemente en su velocidad de biodegradación en el cambio de fase, lo cual se puede atribuir a que es el compuesto más recalcitrante de los BTEoX (Di Leche *et al.*, 1997; Stewart y Kamarthi, 1997).

El orden de biodegradabilidad seguido por la biomasa en estas condiciones fue el siguiente:

Tolueno > Benceno > Etilbenceno >> o-Xileno >> EMTB

3.2 EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE LOS BTE_oX Y EMTB POR LA BIOMASA ACLIMATADA A BTEX EN PRESENCIA DE SUELO

Para la evaluación de la remoción de los BTE_oX y EMTB por la biomasa en presencia de suelo, fue necesario dividir los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían suelo y biomasa (Tabla 24) entre los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tabla 22). De esta manera, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 42.

Tabla 42. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 22.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9653	0.9968	0.9157	0.9407	0.9350
12	0.9605	0.9570	0.8474	0.8684	0.9064
18	0.8688	0.7053	0.3840	0.6482	0.8682
24	0.5144	0.0912	0.0287	0.6404	0.8633
30	0.3256	0.0369	0.0226	0.5771	0.8535
36	0.2300	0.0207	0.0142	0.4518	0.8387

A los resultados presentados en la Tabla 42 se les multiplicó por 50, para obtener así la concentración teórica de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 43. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
6	47.56	48.84	45.79	47.04	48.21
12	44.98	44.61	42.37	43.42	45.32
18	43.40	38.59	19.20	32.41	44.76
24	24.82	6.66	1.44	32.02	43.17
30	15.03	1.85	1.13	28.86	42.68
36	9.99	1.04	0.71	22.59	41.94

A continuación, se les aplicó el logaritmo natural a las concentraciones presentadas en la Tabla 43; los resultados se muestran en la tabla siguiente

Tabla 44. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.8620	3.8886	3.8240	3.8509	3.8755
12	3.8063	3.7981	3.7464	3.7709	3.8137
18	3.7705	3.6529	2.9549	3.4785	3.8013
24	3.2120	1.8973	0.3612	3.4664	3.7650
30	2.7100	0.6125	0.1222	3.3623	3.7536
36	2.3000	0.0144	-0.3425	3.1175	3.7361

3.2.1. EVALUACIÓN DEL BENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la gráfica 38, en la cual podemos observar que se presenta la doble fase, por lo que se empleó el “Método de los Residuos”, para luego desarrollar la ecuación 4.1.

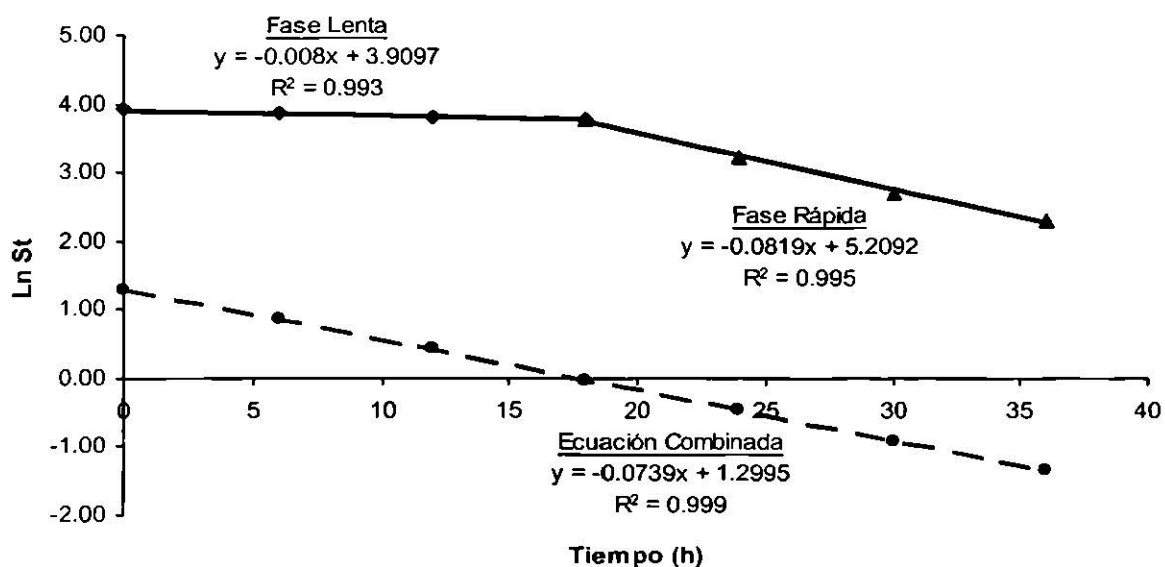


Figura 38. Gráfica de primer orden para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Sustituyendo los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 49.88e^{-0.008t} + 3.67e^{-0.0739t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 45 y su gráfica con respecto al tiempo de muestreo se presenta en la Figura 39.

Tabla 45. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 49.88e^{-0.008t} + 3.67e^{-0.0739t}$ (mg/L)
0	53.55
6	49.90
12	46.83
18	44.16
24	41.17
30	39.24
36	37.40

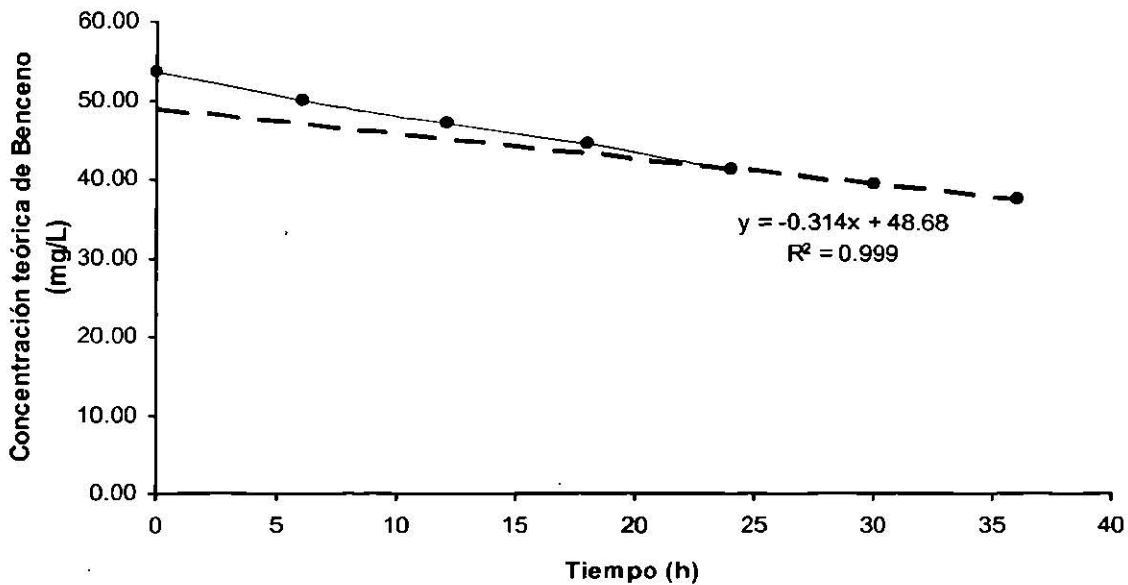


Figura 39. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restarla a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 1.20e^{-0.008t} + 3.67e^{-0.0739t}$, cuyos valores se observan en la Tabla 46. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la remoción del benceno por parte del suelo y la biomasa, que se observa en la Figura 40.

Tabla 46. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 1.20e^{-0.008t} + 3.67e^{-0.0739t}$ (mg/L)
0	4.87
6	3.50
12	2.60
18	2.01
24	1.61
30	1.34
36	1.16

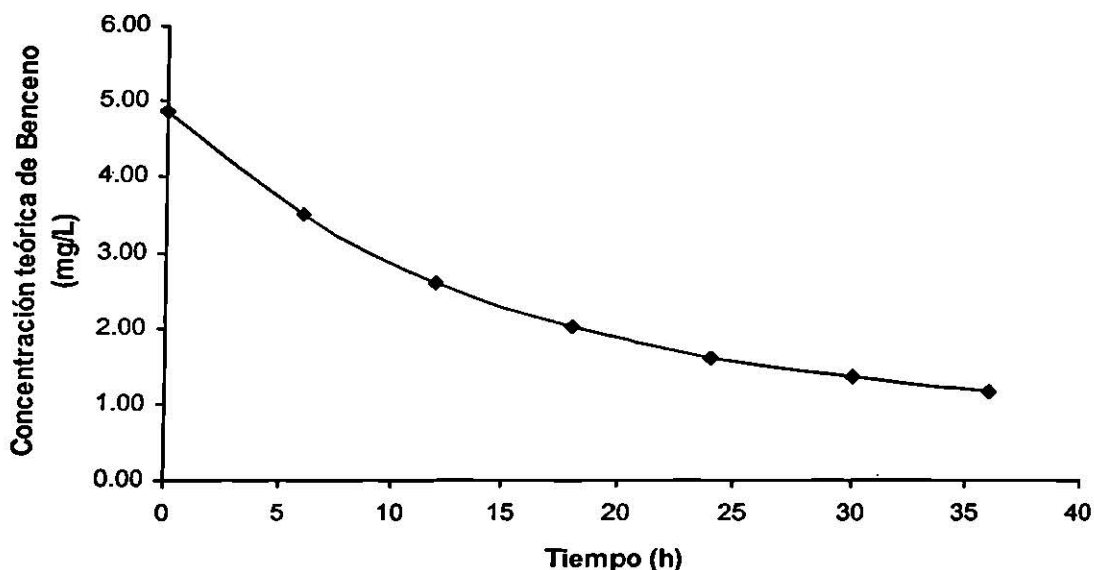


Figura 40. Curva de la remoción de benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX

Los resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 47. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	1.20	0.0080
Eliminación	3.67	0.0739

Los resultados de la Tabla 47 muestran que la remoción del benceno ocurrió en dos fases, sin embargo, en esta ocasión cerca del 40% de la remoción total ocurrió en la fase de distribución, esto debido a que la remoción en la fase de eliminación es mucho menor que en la biodegradación del benceno por la biomasa aclimatada.

3.2.2. EVALUACIÓN DEL TOLUENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del tolueno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la gráfica 41, en la cual se presenta el quiebre en la pendiente, por lo que se presume la presencia de un comportamiento de doble fase, así que se aplicó el “Método de los Residuos”, para luego sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1.

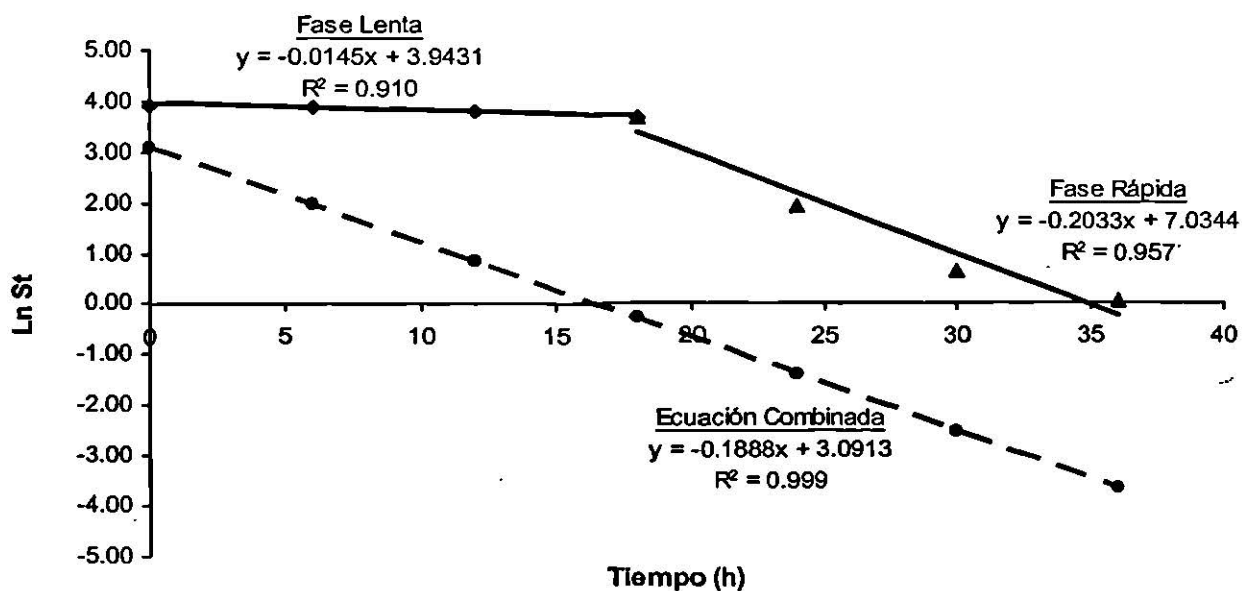


Figura 41. Gráfica de primer orden para la remoción de tolueno por parte del suelo y la biomasa aclimatada, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 51.58e^{-0.0145t} + 22.00e^{-0.1888t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 48 y su gráfica se presenta en la Figura 42.

Tabla 48. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 51.58e^{-0.0145t} + 22.00e^{-0.1888t}$ (mg/L)
0	73.58
6	54.37
12	45.63
18	40.47
24	36.66
30	33.46
36	30.63

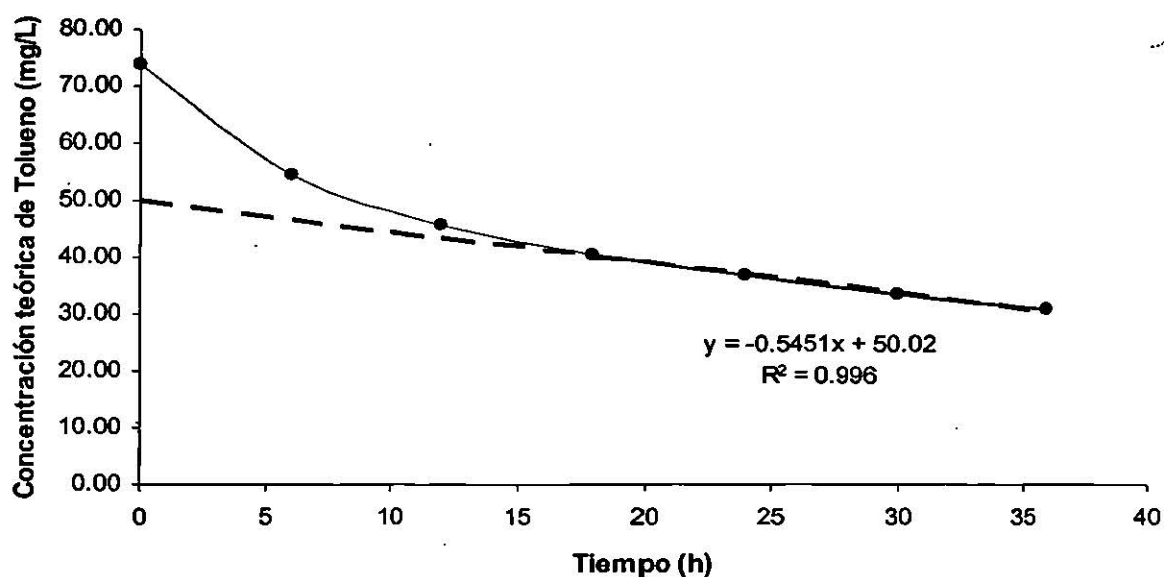


Figura 42. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del tolueno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 1.56e^{-0.0145t} + 22.00e^{-0.1888t}$ cuyos valores se presentan en la Tabla 49. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la remoción del tolueno por parte de la biomasa y el suelo, la cual se observa en la Figura 43.

Tabla 49. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 1.56e^{-0.0145t} + 22.00e^{-0.1888t}$ (mg/L)
0	23.56
6	8.52
12	3.59
18	1.94
24	1.34
30	1.09
36	0.95

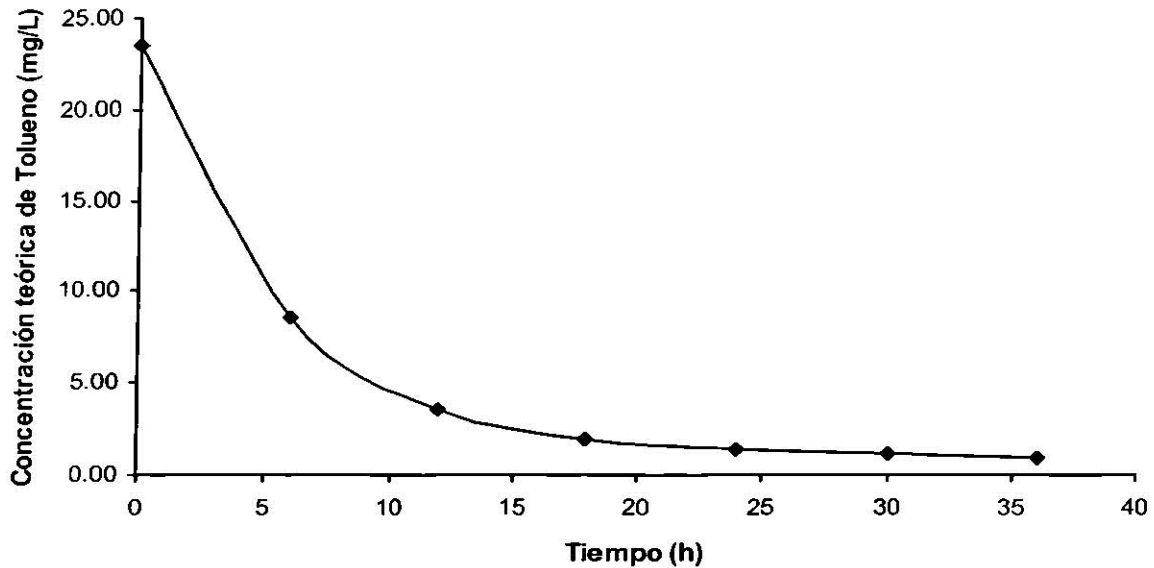


Figura 43. Curva de la remoción de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril

Los resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril, se muestran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 50. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	1.56	0.0145
Eliminación	22.00	0.1888

Los resultados de la Tabla 50 muestran que la remoción de tolueno fue mucho mayor en la fase de eliminación que en la fase de distribución. Comparado con el benceno, la eliminación del tolueno resultó ser mucho mayor y más rápida, aun teniendo una distribución muy similar.

3.2.3. EVALUACIÓN DEL ETILBENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del etilbenceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual podemos observar que se presentó la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos”, para luego aplicar la ecuación 4.1.

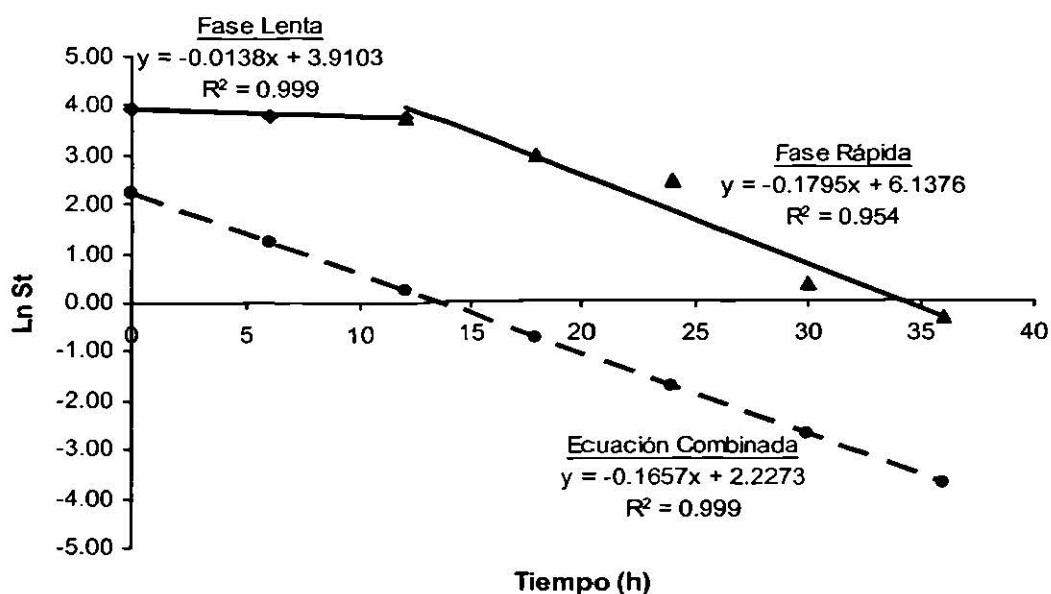


Figura 44. Gráfica de primer orden para la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 49.91e^{-0.0138t} + 9.21e^{-0.1657t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 51 y su gráfica se presenta en la Figura 45.

Tabla 51. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento.

Tiempo (h)	$S_t = 49.91e^{-0.0138t} + 9.21e^{-0.1657t}$ (mg/L)
0	59.12
6	49.35
12	43.55
18	39.40
24	36.01
30	33.05
36	30.39

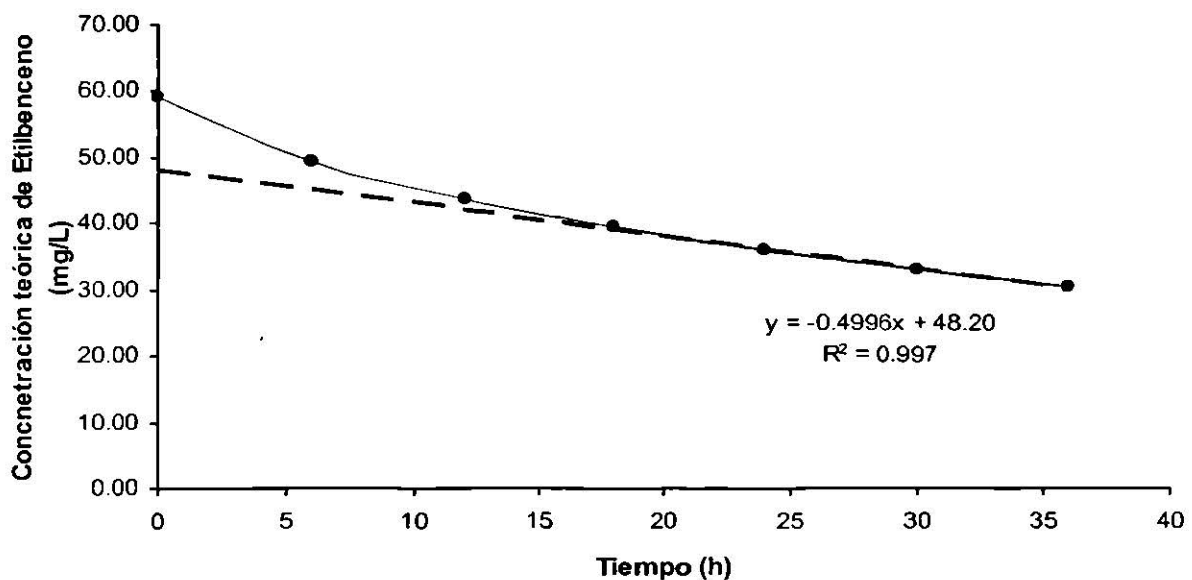


Figura 45. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 1.71e^{-0.0138t} + 9.21e^{-0.1657t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 52. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la remoción del etilbenceno por parte del suelo y la biomasa aclimatada a BTEX, la cual se puede observar en la Figura 46.

Tabla 52. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida.

Tiempo (h)	$S_t = 1.71e^{-0.0138t} + 9.21e^{-0.1657t}$ (mg/L)
0	10.92
6	4.98
12	2.71
18	1.80
24	1.40
30	1.19
36	1.06

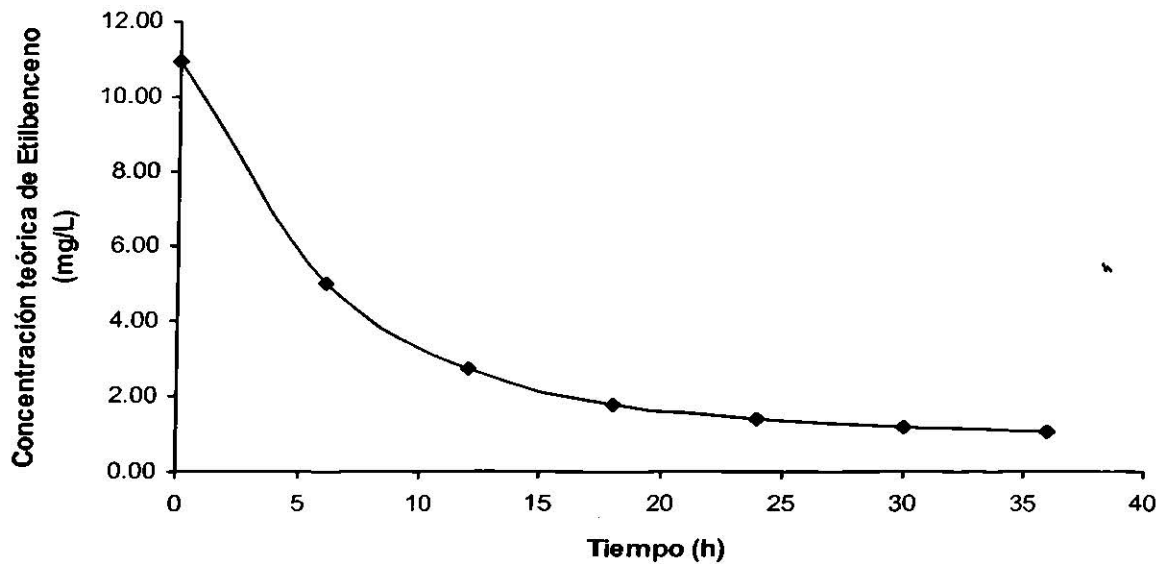


Figura 46. Curva de la remoción de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril

Los resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX, se muestran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 53. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	1.71	0.0138
Eliminación	9.21	0.1657

La Tabla 53 muestra que la remoción del etilbenceno ocurrió en dos fases, donde cerca del 80% ocurrió en la fase de eliminación y la velocidad de remoción en esta fase es 16 veces más rápida que en la fase de distribución.

3.2.4. EVALUACIÓN DEL O-XILENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del o-xileno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa un quiebre en la pendiente, por lo que fue posible obtener la constante cinética global directamente de la pendiente de la línea de tendencia de la curva obtenida.

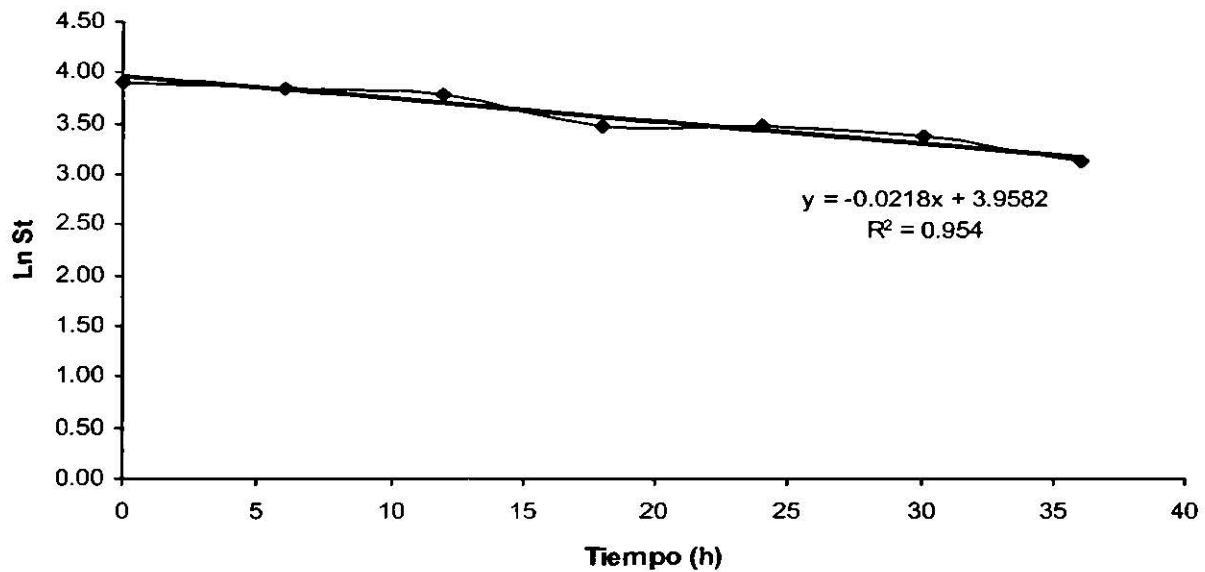


Figura 47. Gráfica de primer orden para la remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX

La constante cinética global de la remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX es:

$$0.0218 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 48 se observa la curva de remoción del o-xileno por parte de la biomasa y el suelo.

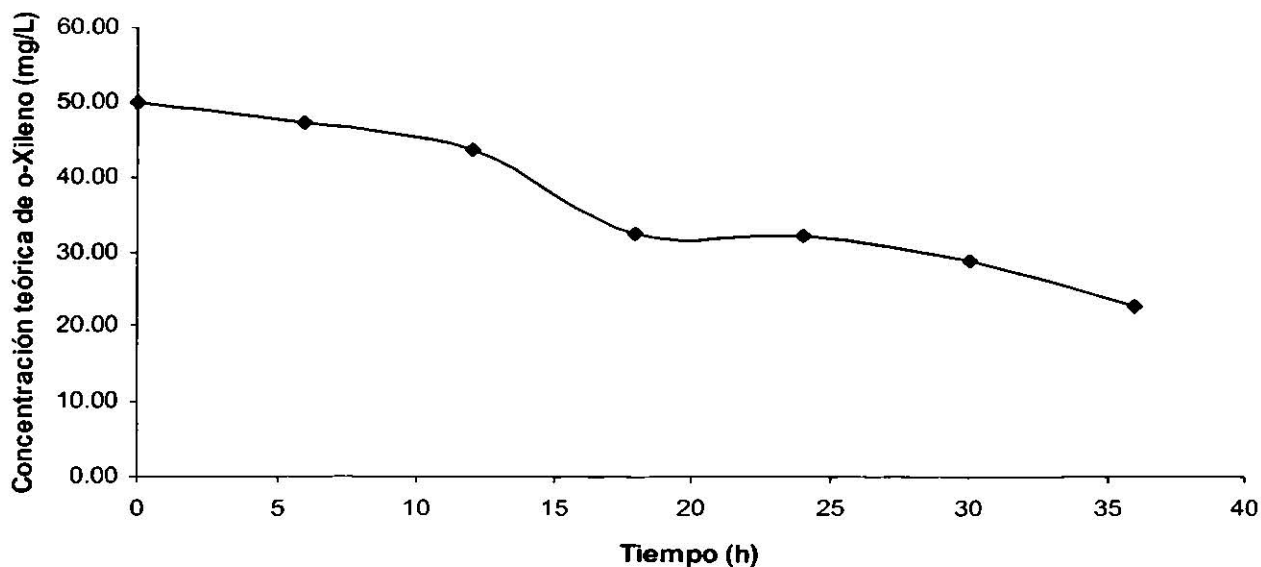


Figura 48. Curva de la remoción del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril

La remoción del o-xileno por parte del suelo y la biomasa presentó una sola fase, lo que indica que la velocidad de biodegradación en la fase de distribución y en la fase de eliminación fueron muy parecidas. Cabe señalar que solo se removi6 alrededor de un 25% del o-xileno, lo que demuestra su alta recalcitrancia hacia la biomasa (Di Lecce *et al.*, 1997; Stewart y Kamarthi, 1997) y su alta partici6n (Sangster, 1989), registrada en la secci6n 2 del presente capitulo.

3.2.5. EVALUACIÓN DEL EMTB

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del EMTB contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica.

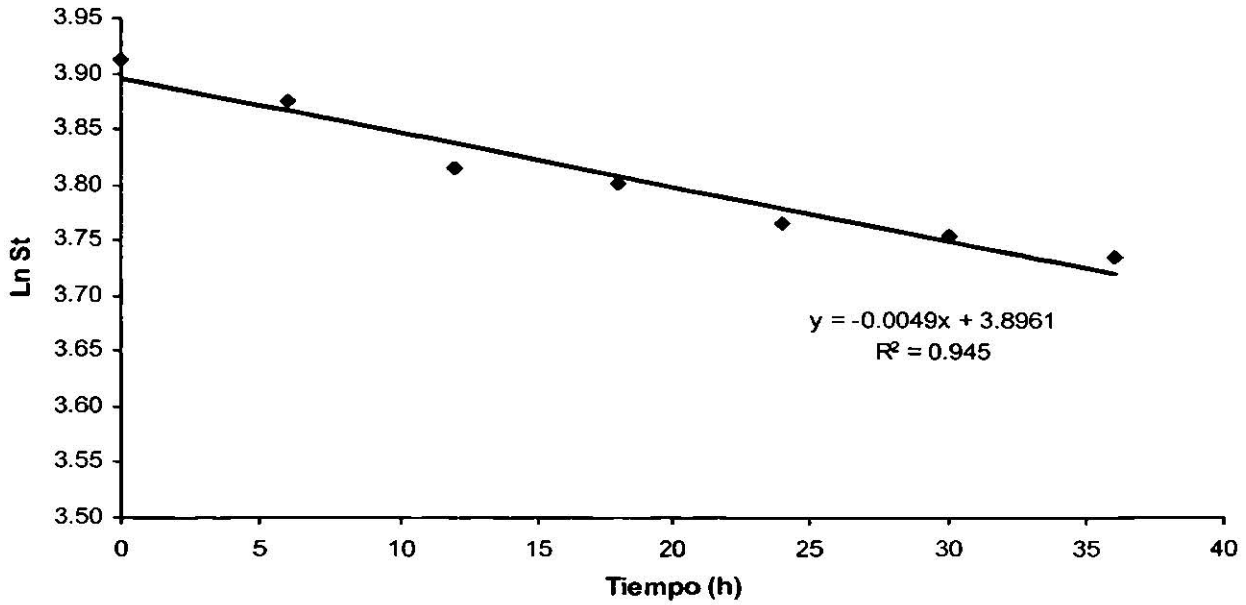


Figura 49. Gráfica de primer orden para la remoción de EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX

La constante cinética global de la remoción del EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX es:

$$0.0049 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 50 se observa la curva de remoción del EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX.

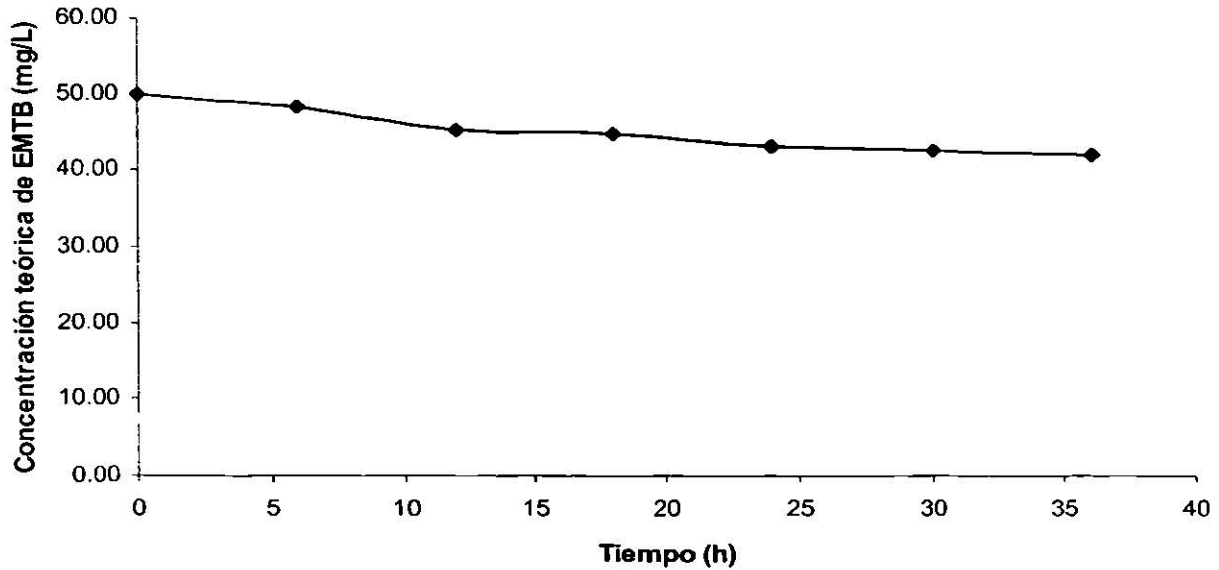


Figura 50. Curva de la remoción del EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX

El EMTB presentó una baja remoción en el sistema, lo cual indica una alta recalcitrancia hacia la biomasa, la cual pudo deberse a la presencia de otras fuentes de carbono fácilmente asimilables como el tolueno y el etilbenceno (Acuña-Askar *et al.*, 2003a) y una baja partición en el suelo (Sangster, 1989), como se registró en la sección 2 del presente capítulo.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas para la remoción de los BTEoX y el EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX.

Tabla 54. Constantes cinéticas globales de remoción presentadas por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	EMTB
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K	K
(r)	0.0080	0.0739	0.0145	0.1888	0.0138	0.1657	0.0218	0.0049
	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.977)	(0.972)

Los datos de la Tabla 54 muestran que la remoción del benceno, tolueno y etilbenceno ocurrió en dos etapas. En esta ocasión la remoción del o-xileno ocurrió en una sola fase, mientras que el EMTB parece no haber sido afectado ni por el suelo ni por la biomasa. Se puede observar que el cambio de velocidades no fue tan grande como en el caso de la biodegradación de estos sustratos en presencia de la biomasa exclusivamente, sin el suelo. El suelo mostró efectos negativos sobre la biodegradación de los compuestos, haciendo que la biodisponibilidad de los compuestos disminuyera. Una comprobación a esto, es lo que ocurrió con el o-xileno, cuya biodegradación en la fase de distribución fue muy similar a su biodegradación en la fase de eliminación, lo que demostró por medio de una sola fase de transformación.

El orden de remoción presentado en estas condiciones fue el siguiente:

Tolueno > Etilbenceno > benceno > o-Xileno >> EMTB

3.3 EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE LOS BTE_oX Y EMTB POR LA BIOMASA ACLIMATADA A BTEX EN PRESENCIA DE SUELO Y TERGITOL NP-10

Para la evaluación de la remoción de los BTE_oX y EMTB por la biomasa en presencia de suelo y surfactante, fue necesario dividir los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían suelo, biomasa y Tergitol (Tabla 24) entre los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tabla 22). De esta manera, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 55.

Tabla 55. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 22.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9472	0.9705	0.7491	0.9314	0.9197
12	0.9362	0.8825	0.6587	0.7023	0.9148
18	0.8697	0.7067	0.2802	0.6714	0.8616
24	0.4675	0.1120	0.0183	0.5965	0.8382
30	0.0712	0.0072	0.0074	0.5652	0.7555
36	0.0373	0.0031	0.0027	0.3466	0.5698

A los resultados presentados en la Tabla 55 se les multiplicó por 50, para obtener así la concentración teórica de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 56. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
6	47.36	48.04	37.46	46.57	45.99
12	46.81	44.13	32.94	40.80	45.74
18	43.49	31.59	14.01	33.57	43.08
24	23.38	5.60	0.92	30.33	41.91
30	3.56	0.36	0.37	28.26	37.78
36	1.87	0.16	0.14	18.40	35.86

A continuación, se les aplicó el logaritmo natural a las concentraciones presentadas en la Tabla 56; los resultados se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 57. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.8578	3.8721	3.6231	3.8410	3.8283
12	3.8461	3.7870	3.4945	3.7086	3.8230
18	3.7724	3.4529	2.6398	3.5136	3.7631
24	3.1517	1.7228	-0.0888	3.4123	3.7355
30	1.2698	-1.0217	-0.9943	3.3414	3.6316
36	0.6233	-1.8643	-2.0025	2.9124	3.5796

3.3.1. EVALUACIÓN DEL BENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual podemos observar que se presentó la doble fase, por lo que se empleó el “Método de los Residuos”, para luego aplicar la ecuación 4.1.

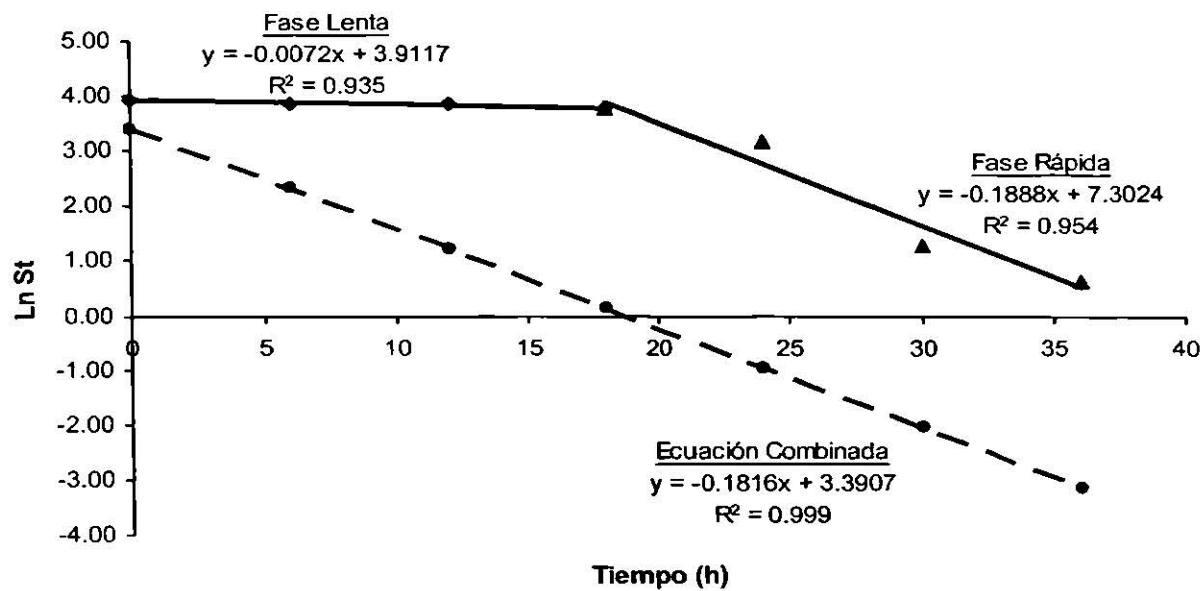


Figura 51. Gráfica de primer orden para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada en presencia de Tergitol NP-10, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 49.88e^{-0.0072t} + 29.69e^{-0.1816t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 58 y su gráfica con respecto al tiempo de muestreo se presenta en la Figura 52.

Tabla 58. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 49.88e^{-0.00872t} + 29.69e^{-0.1816t}$ (mg/L)
0	79.67
6	57.85
12	49.20
18	45.03
24	42.03
30	40.40
36	38.61

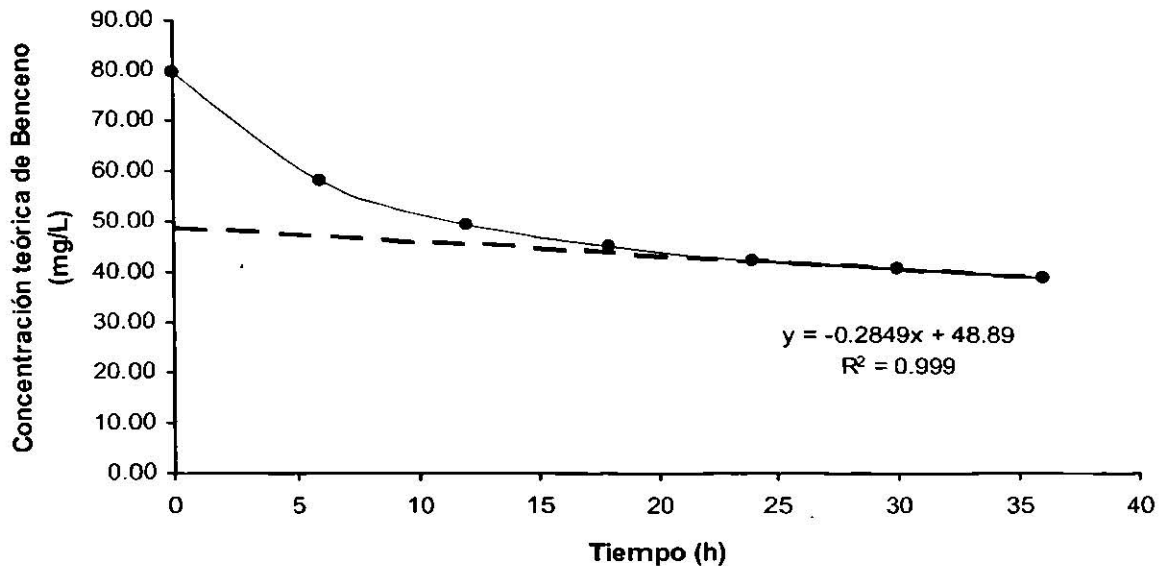


Figura 52. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del benceno por el suelo y la biomasa en presencia de surfactante

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restarla a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.99e^{-0.0072t} + 29.69e^{-0.1816t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 59. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la remoción del benceno por parte del suelo y la biomasa en presencia de Tergitol NP-10 y se puede observar en la Figura 53.

Tabla 59. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 0.99e^{-0.00728t} + 29.69e^{-0.1816t}$ (mg/L)
0	30.68
6	10.93
12	4.27
18	2.00
24	1.21
30	0.93
36	0.81

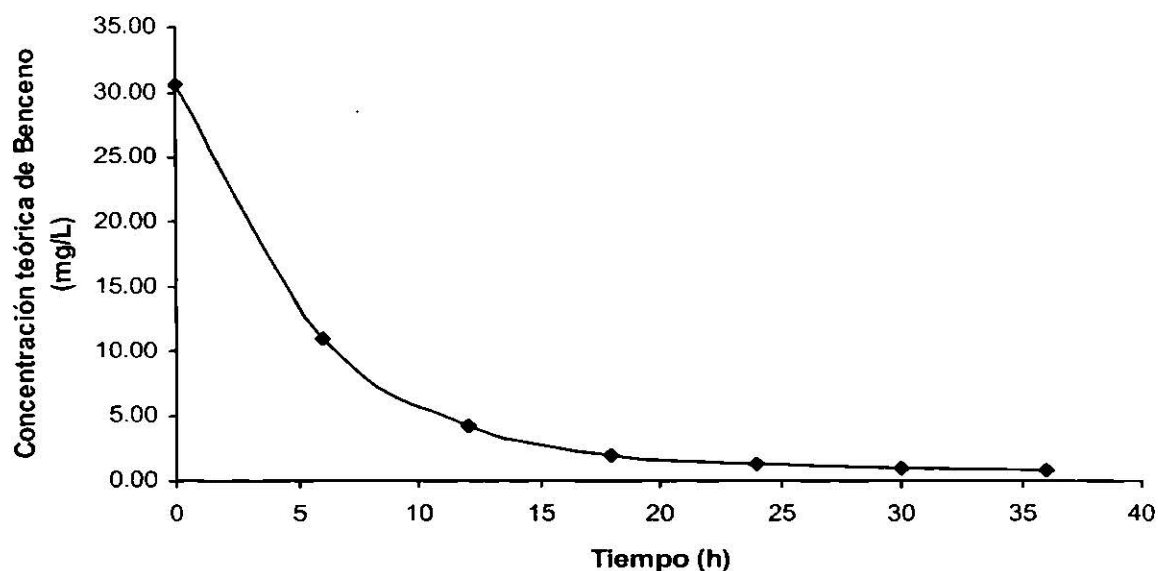


Figura 53. Curva de la remoción de benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10

Los resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 60. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del benceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	0.99	0.0072
Eliminación	29.69	0.1816

De acuerdo con la Tabla 60, la concentración inicial de remoción del benceno en la fase de eliminación fue 30 veces mayor que en su fase de distribución. Aunado a esto, la velocidad de remoción en la eliminación fue 25 veces mayor que en la fase de distribución.

3.3.2. EVALUACIÓN DEL TOLUENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del tolueno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la gráfica 54, en la cual se presenta el quiebre en la pendiente, por lo que se presume la presencia de un comportamiento de doble fase, así que se aplicó el “Método de los Residuos”, para luego sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1.

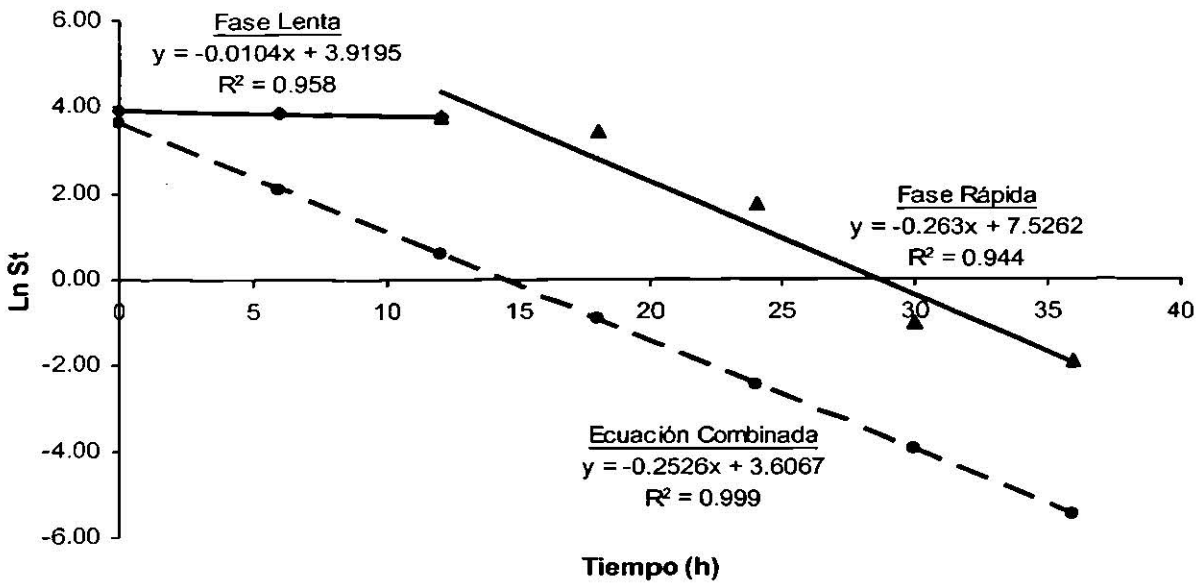


Figura 54. Gráfica de primer orden para la remoción de tolueno por el suelo y la biomasa aclimatada en presencia de surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 50.38e^{-0.0104t} + 36.84e^{-0.2526t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 61 y su gráfica se presenta en la Figura 55.

Tabla 61. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 50.38e^{-0.0104t} + 36.84e^{-0.2526t}$ (mg/L)
0	87.22
6	55.43
12	46.25
18	42.17
24	39.34
30	36.90
36	34.65

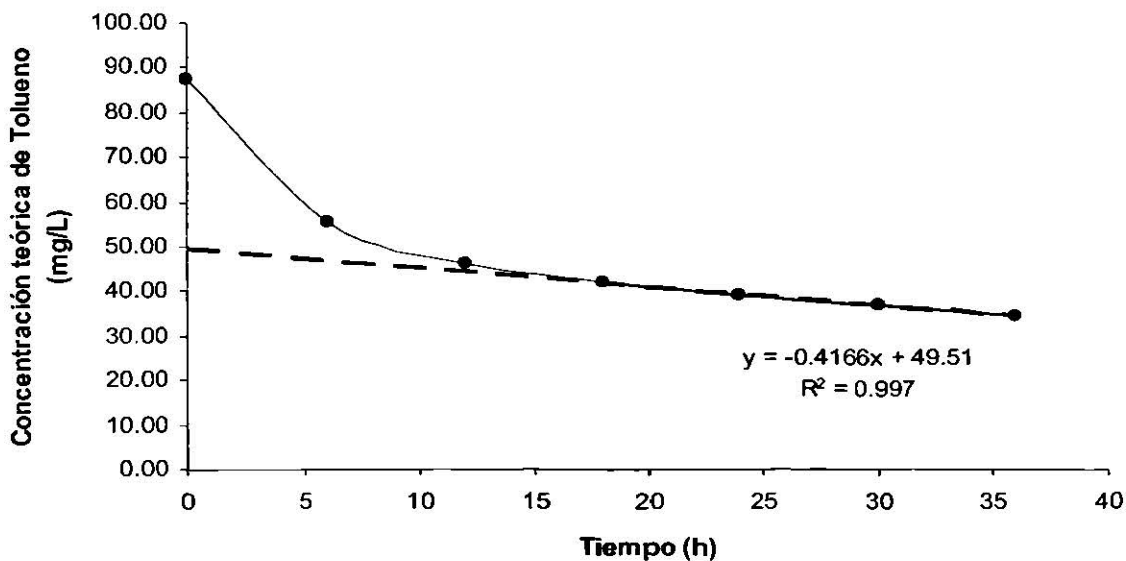


Figura 55. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del tolueno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.87e^{-0.0104t} + 36.84e^{-0.2526t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 62. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la remoción del tolueno por parte de la biomasa y el suelo en presencia de surfactante, la cual se presenta en la Figura 56.

Tabla 62. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 0.87e^{-0.0104t} + 36.84e^{-0.2526t}$ (mg/L)
0	37.71
6	8.91
12	2.55
18	1.11
24	0.76
30	0.66
36	0.60

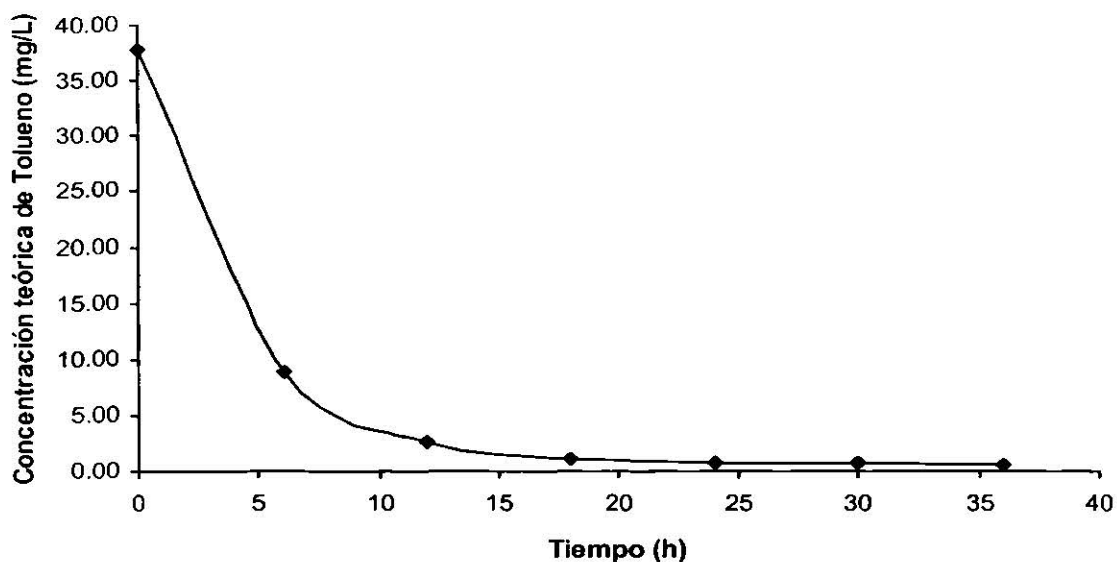


Figura 56. Curva de la remoción de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de surfactante

Los resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 63. Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	0.87	0.0104
Eliminación	36.84	0.2526

La Tabla 63 muestra que la concentración inicial a la cual se remueve el tolueno en la fase de eliminación es 42 veces mayor que en la fase de distribución, mientras que la velocidad a la que se remueve éste en la fase de eliminación es 25 veces mayor que en la fase de distribución.

3.3.3. EVALUACIÓN DEL ETILBENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del etilbenceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual podemos observar que se presenta la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos”, para luego aplicar la ecuación 4.1.

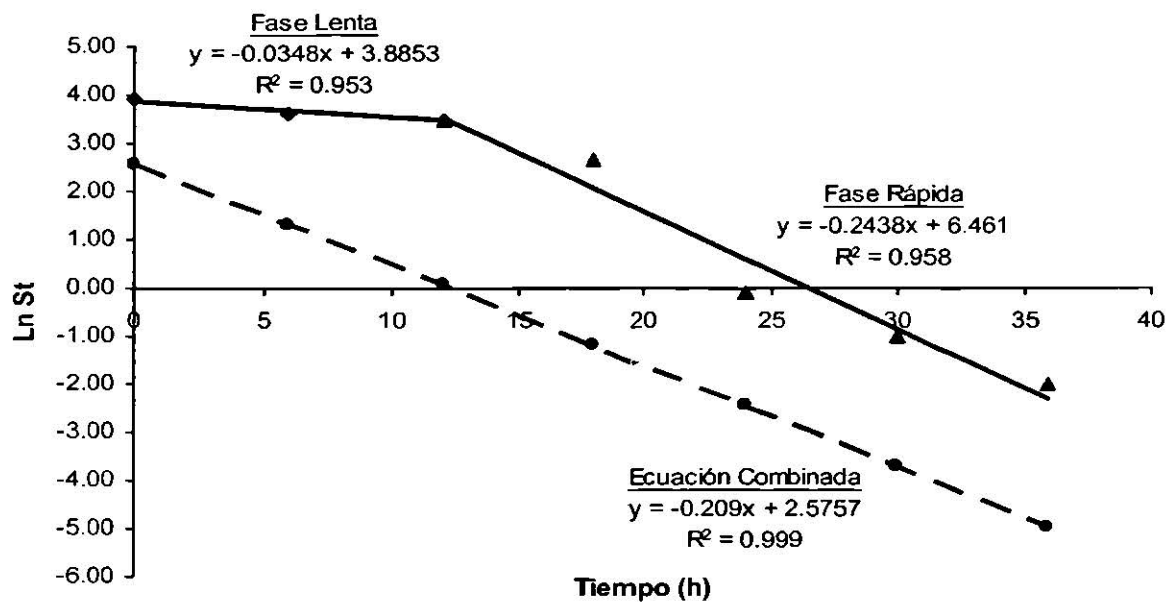


Figura 57. Gráfica de primer orden para la remoción del etilbenceno por la biomasa aclimatada y el suelo en presencia del Tergitol NP-10, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 48.68e^{-0.0348t} + 13.14e^{-0.2090t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 64 y su gráfica se presenta en la Figura 58.

Tabla 64. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 48.68e^{-0.0348t} + 13.14e^{-0.2090t}$ (mg/L)
0	61.82
6	43.26
12	33.13
18	26.33
24	21.20
30	17.16
36	13.92

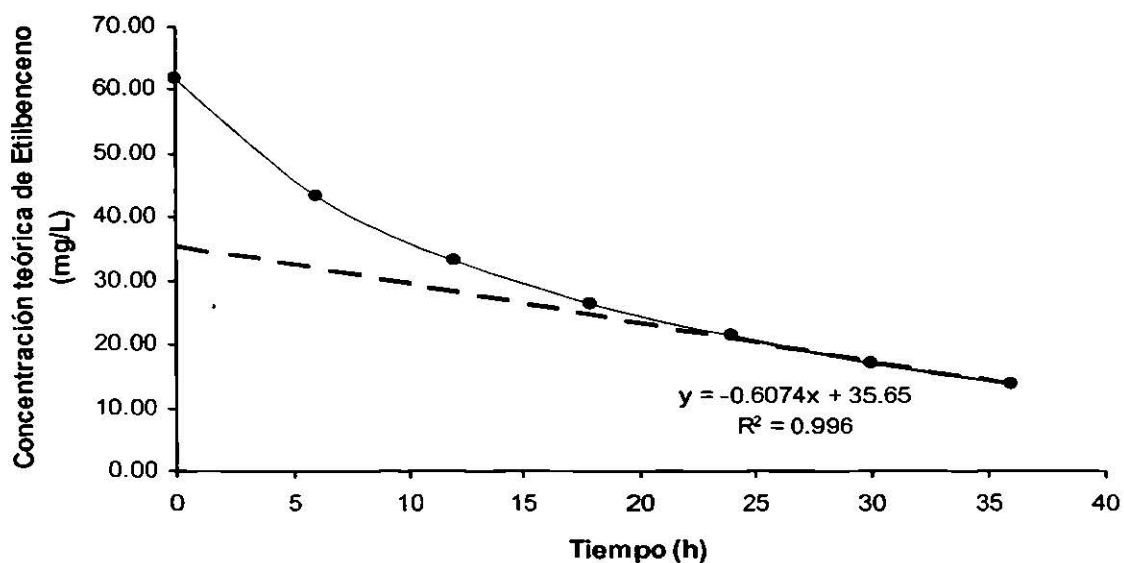


Figura 58. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 13.03e^{-0.0348t} + 13.14e^{-0.2090t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 65. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la remoción del etilbenceno por parte de la biomasa y el suelo en presencia de Tergitol NP-10, la cual se presenta en la Figura 59.

Tabla 65. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 13.03e^{-0.0348t} + 13.14e^{-0.2090t}$ (mg/L)
0	26.17
6	14.32
12	9.65
18	7.27
24	5.74
30	4.61
36	3.73

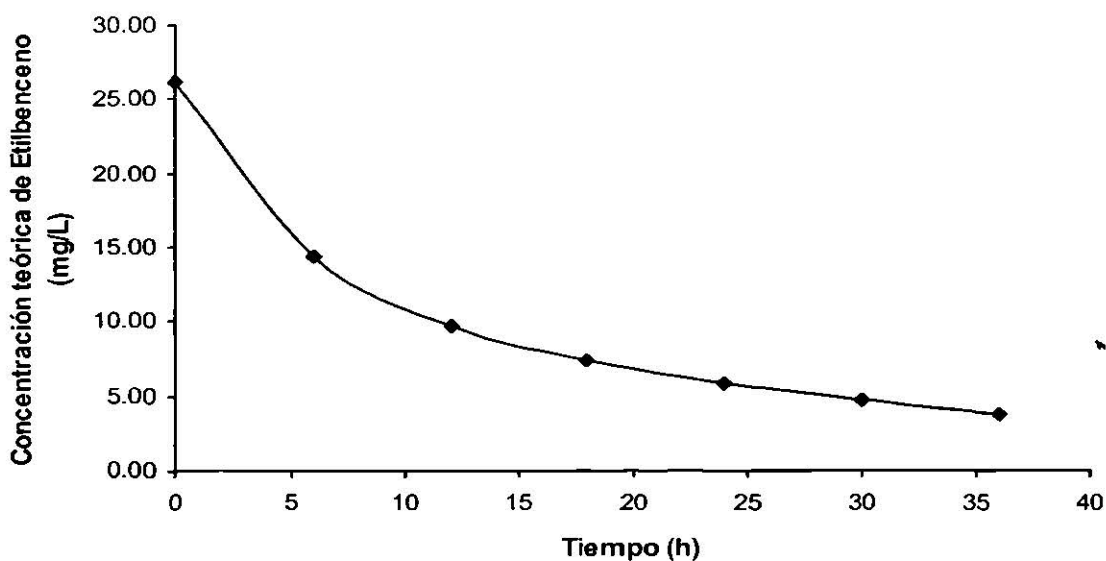


Figura 59. Curva de la remoción de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10

Los resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del etilbenceno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 66 Resultados obtenidos de la evaluación de la remoción del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	13.03	0.0348
Eliminación	13.14	0.2090

La Tabla 66 muestra que la concentración inicial a la cual ocurre la distribución es aproximadamente igual a la cual ocurre la eliminación, sin embargo la velocidad de remoción en la fase de eliminación es 6 veces superior a la velocidad de distribución.

3.3.4. EVALUACIÓN DEL O-XILENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del o-xileno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa un quiebre en la pendiente, por lo que fue posible obtener la constante cinética global directamente de la pendiente de la línea de tendencia de la curva obtenida.

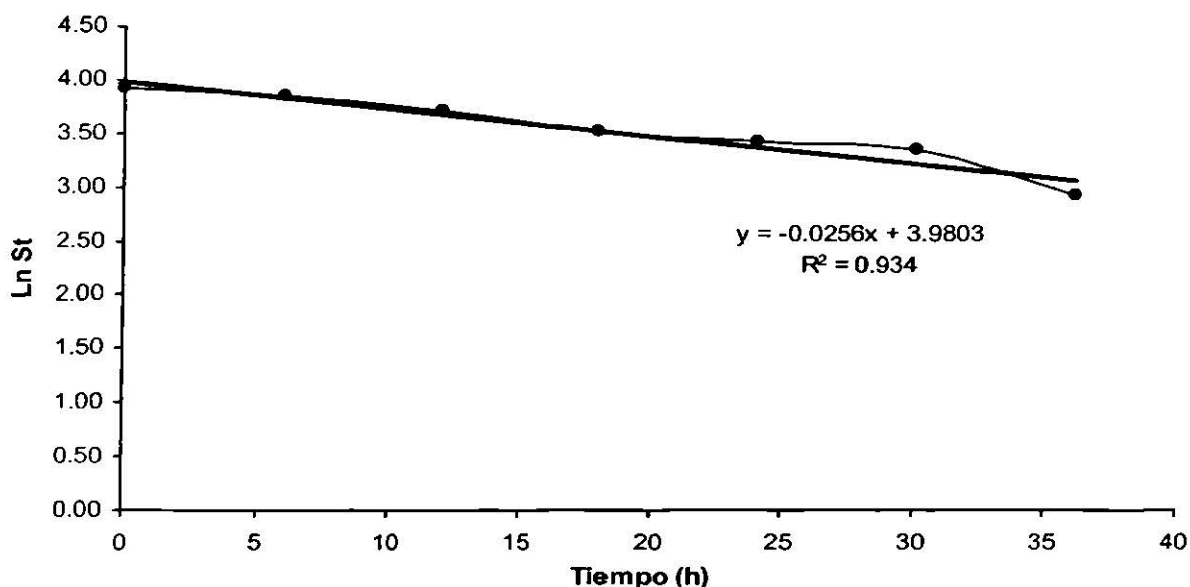


Figura 60. Gráfica de primer orden para la remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de surfactante

La constante cinética global de la remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10 es:

$$0.0256 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 61 se observa la curva de remoción del o-xileno por el suelo y la biomasa cuando se encuentra presente el Tergitol NP-10:

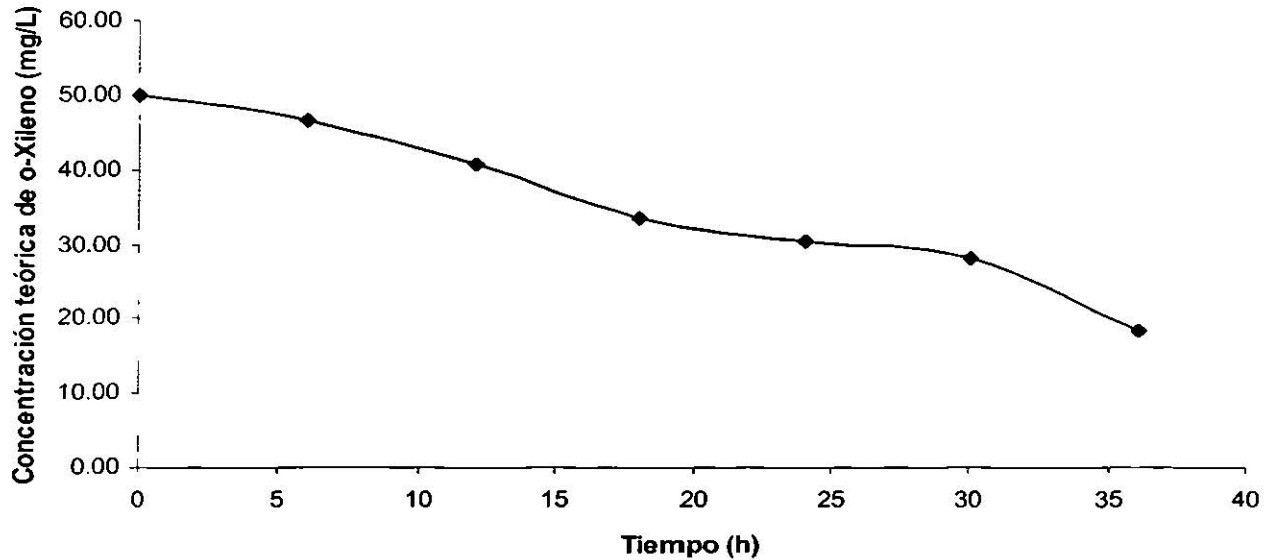


Figura 61. Curva de la remoción del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo en presencia de Tergitol NP-10

La remoción del o-xileno, por la biomasa y el suelo en presencia de Tergitol NP-10 ocurre en una sola fase, alrededor de un 65% en el tiempo de experimentación de 36 horas, lo cual indica la recalcitrancia del o-xileno. El surfactante tiene un efecto positivo sobre la remoción del o-xileno, al incrementar un 10% el porcentaje de remoción.

3.3.5. EVALUACIÓN DEL EMTB

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del EMTB contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica.

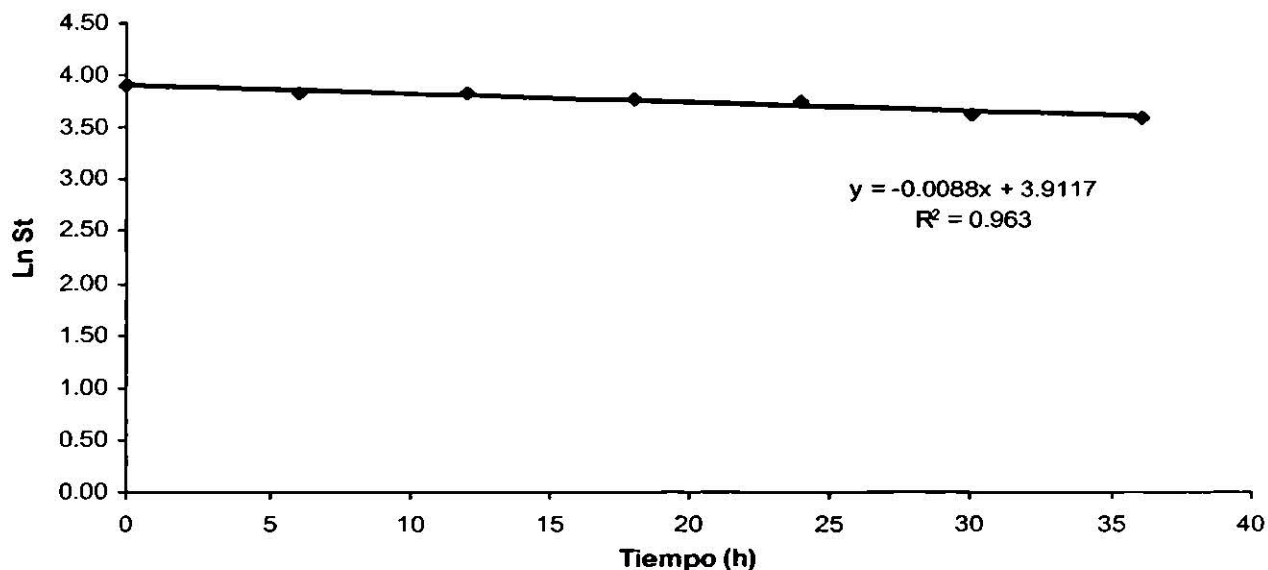


Figura 62. Gráfica de primer orden para la remoción de EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada en presencia de surfactante Tergitol NP-10

La constante cinética global de la remoción del EMTB por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de Tergitol NP-10 es:

$$0.0088 \text{ h}^{-1}$$

La Figura 63 muestra la curva de remoción del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX y suelo en presencia del surfactante Tergitol NP-10.

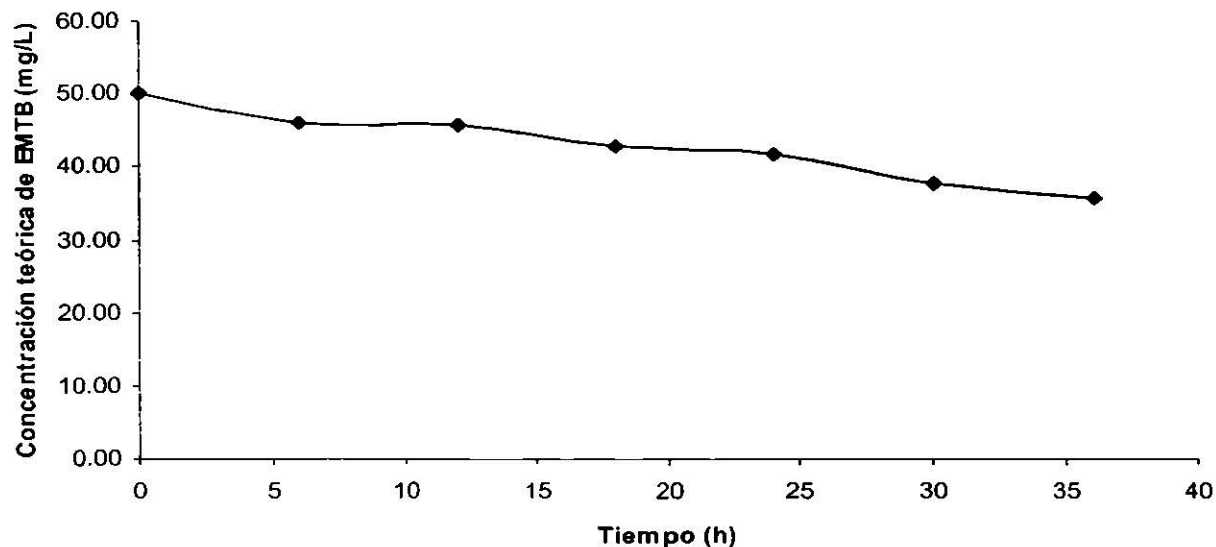


Figura 63. Curva de la remoción del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX y el suelo estéril en presencia del Tergitol NP-10

La remoción del EMTB aumentó comparada con los experimentos anteriores en los cuales no se había adicionado Tergitol NP-10, por lo que se puede afirmar que el surfactante presentó un efecto positivo en la remoción del EMTB.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas para la remoción de los BTEoX y el EMTB por el suelo estéril y la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentran en presencia de Tergitol NP-10.

Tabla 67. Constantes cinéticas globales de remoción presentadas por el suelo y la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentran en presencia de Tergitol NP-10.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	EMTB
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K	K
(r)	0.0072	0.1816	0.0104	0.2526	0.0348	0.2090	0.0256	0.0088
	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.966)	(0.981)

La Tabla 67 muestra que la remoción del benceno, tolueno y etilbenceno ocurrió en dos etapas y que es ampliamente beneficiada por el surfactante. El o-xileno presentó una sola fase de remoción, la cual se incrementó por la acción del surfactante en el medio, ya que su constante global aumentó con respecto a la remoción sin surfactante. El EMTB también presentó una mayor remoción, por lo que se podría deducir que el surfactante tiene un efecto positivo sobre la remoción de los BTEoX y EMTB. Esto podría deberse a la actividad del surfactante que limita la partición agua-suelo de los sustratos, aumentando así la biodisponibilidad de estos compuestos en el medio para que puedan ser biodegradados por el consorcio mixto aclimatado.

El orden de remoción seguido cuando se encuentra presente el Tergitol NP-10 fue el siguiente:

Tolueno > Etilbenceno > benceno >> o-Xileno >> EMTB

Cabe destacar, que el orden de remoción anterior es el mismo seguido por la remoción cuando el suelo y la biomasa se encuentran en ausencia de Tergitol NP-10, sin embargo, las constantes cinéticas globales son mayores cuando interviene el surfactante, al igual que los porcentajes de remoción.

3.4 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA BIOMASA EN LA BIODEGRADACIÓN DE LOS BTE_oX Y EMTB EN PRESENCIA DE SUELO

Para efectos de esta investigación, la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTE_oX y EMTB se definió como el efecto exclusivo de la biomasa sobre los substratos, de tal manera que las muestras no se compararon con los controles que solamente contenían buffer, sino que se emplearon como controles las muestras que contenían todas las variables (en este caso suelo) exceptuando la biomasa. Por esto, para evaluar la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTE_oX y el EMTB en presencia, fue necesario dividir los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían suelo y biomasa (Tabla 24) entre los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían solamente suelo (Tabla 23). De esta manera, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 68.

Tabla 68 Valores de la relación de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 23.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9502	0.9762	0.9233	0.9823	0.9922
12	0.8748	0.9240	0.7153	0.9516	0.9536
18	0.8336	0.8303	0.4808	0.8997	0.9381
24	0.5768	0.2010	0.0635	0.8793	0.9189
30	0.4936	0.1533	0.0394	0.8732	0.8974
36	0.2412	0.0874	0.0146	0.6562	0.8322

A los resultados presentados en la Tabla 68 se les multiplicó por 50, para obtener así la concentración teórica de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 69. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
6	47.51	48.81	46.17	48.14	49.61
12	43.74	46.20	35.77	47.58	47.68
18	41.68	41.52	24.04	44.99	46.91
24	28.84	12.28	3.18	43.97	45.95
30	24.68	7.67	1.97	42.37	44.87
36	12.06	4.37	0.73	36.26	41.61

A continuación, se les aplicó el logaritmo natural a las concentraciones presentadas en la Tabla 69; los resultados se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 70. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.8609	3.8879	3.8322	3.8742	3.9042
12	3.7783	3.8330	3.5770	3.8624	3.8645
18	3.7300	3.7261	3.1797	3.8063	3.8481
24	3.3618	2.5080	1.1553	3.7834	3.8274
30	3.2060	2.0367	0.6780	3.7464	3.8038
36	2.4899	1.4748	-0.3147	3.5907	3.7283

3.4.1. EVALUACIÓN DEL BENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la gráfica 64, en la cual se puede observar que se presenta la doble fase, por lo que se empleó el “Método de los Residuos”, para luego aplicar la ecuación 4.1.

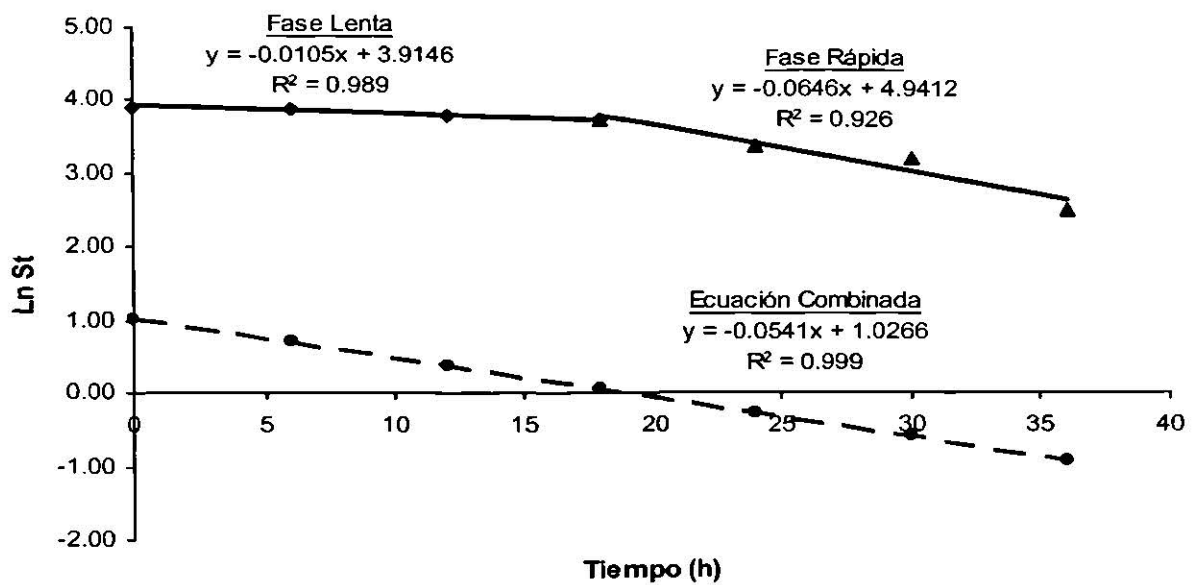


Figura 64. Gráfica de primer orden para la biodegradación del benceno en presencia de suelo, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituirse los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 50.13e^{-0.0105t} + 2.79e^{-0.0541t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 71 y su gráfica con respecto al tiempo de muestreo se presenta en la Figura 65.

Tabla 71. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 50.13e^{-0.0105t} + 2.79e^{-0.0541t}$ (mg/L)
0	52.92
6	49.09
12	45.65
18	42.55
24	39.72
30	37.13
36	34.75

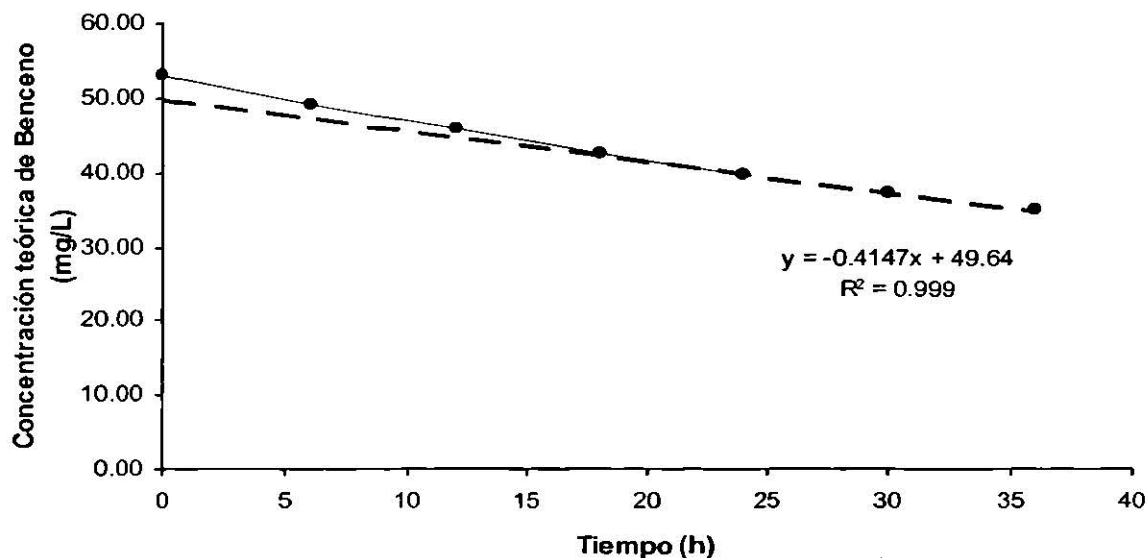


Figura 65. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del benceno en presencia de suelo

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restarla a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.44e^{-0.0105t} + 2.79e^{-0.0541t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 72. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del benceno por parte de la biomasa en presencia de suelo, cuya gráfica se presenta en la Figura 66.

Tabla 72. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 0.44e^{-0.0105t} + 2.79e^{-0.0541t}$ (mg/L)
0	3.23
6	2.43
12	1.85
18	1.42
24	1.10
30	0.87
36	0.70

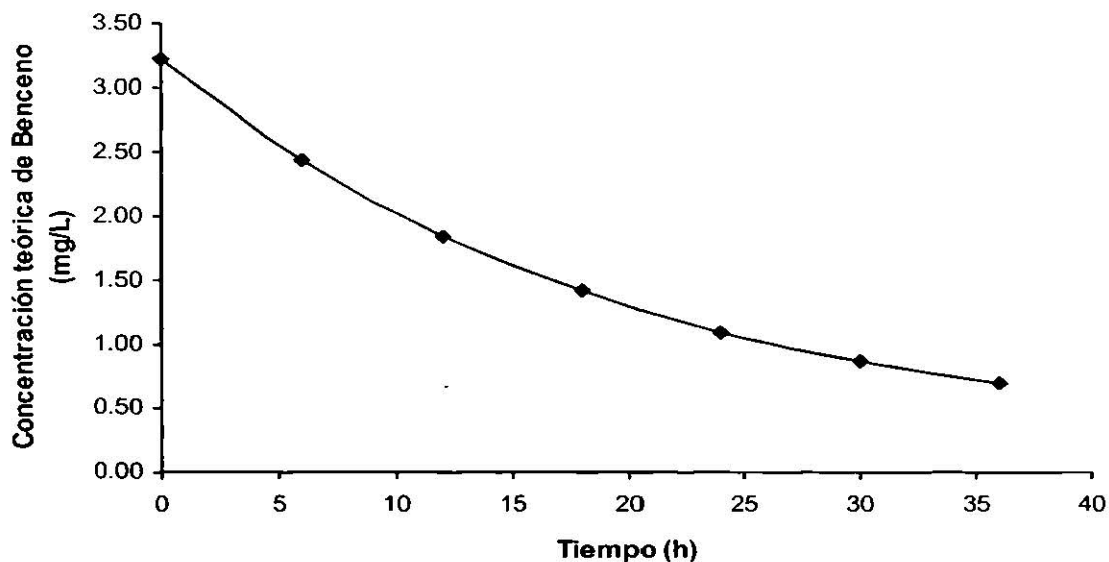


Figura 66. Curva de la biodegradación de benceno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando está en presencia de suelo

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del benceno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo, se resume en la siguiente tabla:

Tabla 73. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del benceno en presencia de suelo.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	0.44	0.0105
Eliminación	2.79	0.0541

Los resultados obtenidos del análisis de biodegradación del benceno cuando la biomasa se encuentra en presencia de suelo muestran que, ésta se lleva a cabo en cantidades menores que cuando la biomasa se encuentra sola, al igual que la velocidad de biodegradación, que se ve disminuida ampliamente por acción del suelo.

3.4.2. EVALUACIÓN DEL TOLUENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del tolueno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se presenta el quiebre en la pendiente, por lo que se presume la presencia de un comportamiento de doble fase, por lo que se aplicó el “Método de los Residuos”, para luego sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1.

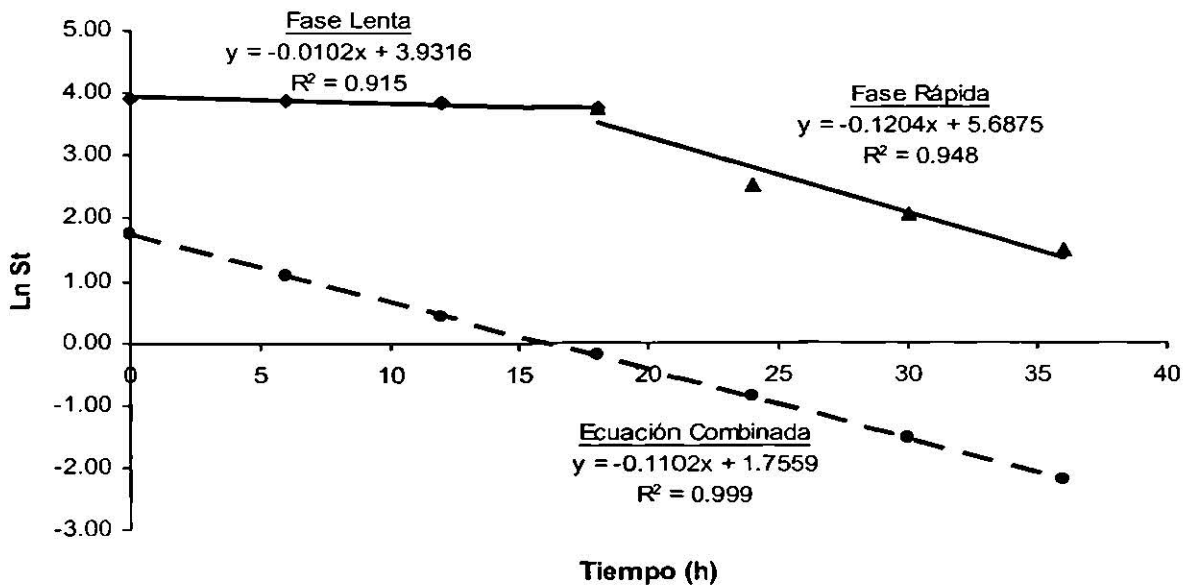


Figura 67. Gráfica de primer orden para la biodegradación de tolueno en presencia de suelo, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 50.99e^{-0.0102t} + 5.79e^{-0.1102t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 74 y su gráfica se presenta en la Figura 74.

Tabla 74. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 50.99e^{-0.0102t} + 5.79e^{-0.1102t}$ (mg/L)
0	56.78
6	50.95
12	46.66
18	43.23
24	40.33
30	37.76
36	35.43

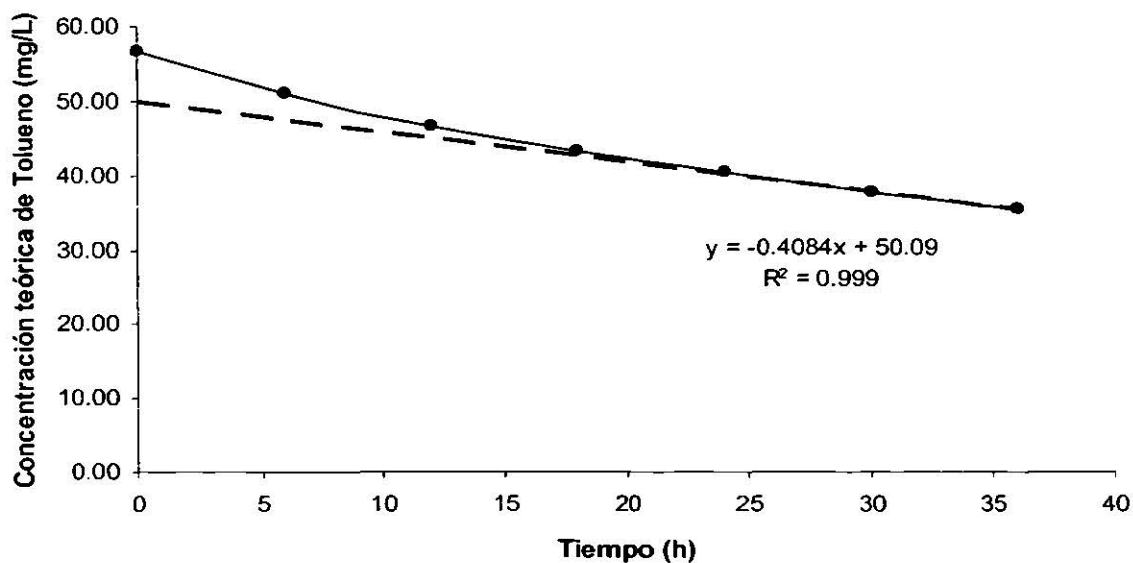


Figura 68. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del tolueno en presencia de suelo estéril

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.90 \cdot 0.0102t + 5.79e^{-0.1102t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 75. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del tolueno por parte de la biomasa cuando se encuentra en presencia de suelo, la cual se puede observar en la Figura 69.

Tabla 75. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 0.90e^{-0.0102t} + 5.79e^{-0.1102t}$ (mg/L)
0	6.69
6	3.84
12	2.34
18	1.55
24	1.12
30	0.88
36	0.73

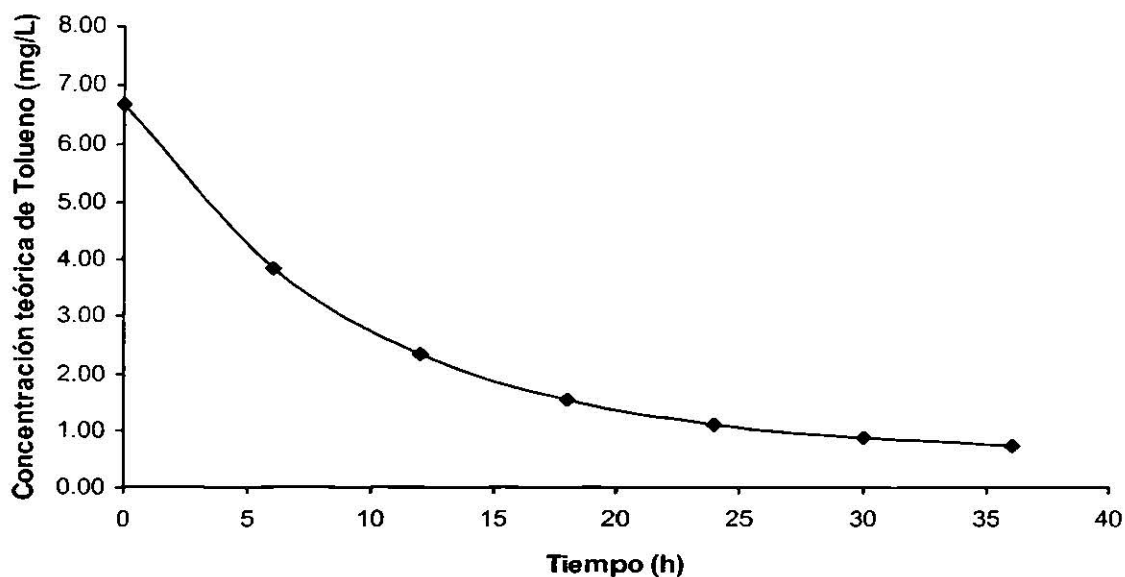


Figura 69. Curva de la biodegradación de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de surfactante

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 76. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del tolueno en presencia de suelo.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	0.90	0.0102
Eliminación	5.79	0.1102

La biodegradación del tolueno en presencia de suelo estéril se da en dos fases; cerca del 16% de la biodegradación ocurre en la fase de distribución, mientras que el resto se biodegrada en la fase de eliminación a una velocidad 11 veces mayor.

3.4.3. EVALUACIÓN DEL ETILBENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del etilbenceno contra el tiempo de experimentación, obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se pudo observar que se presentó la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos”, y luego se aplicó la ecuación 4.1.

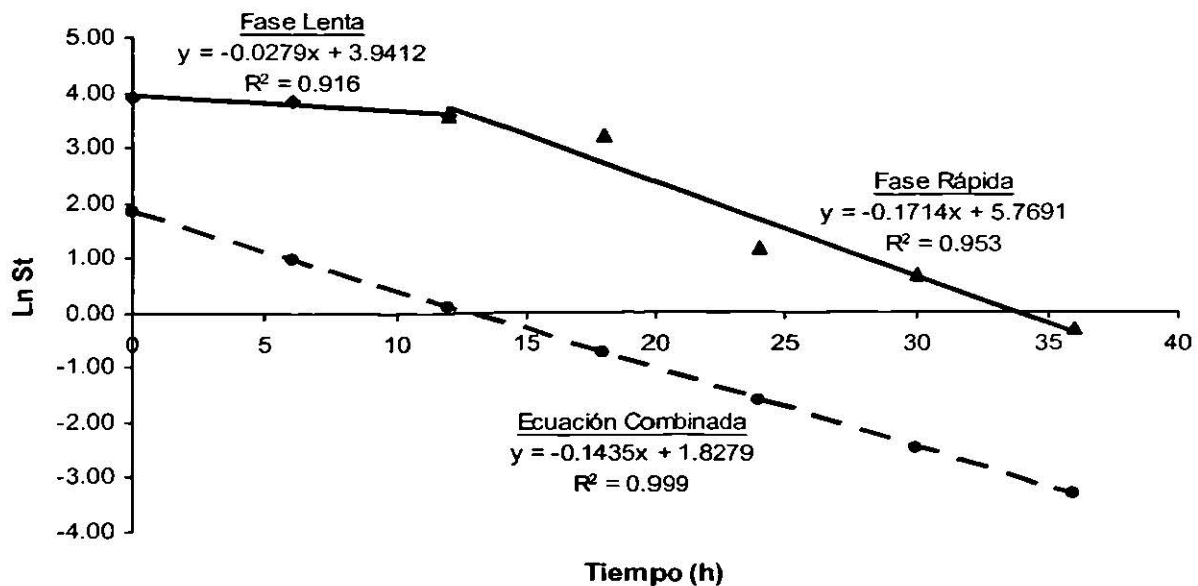


Figura 70. Gráfica de primer orden para la biodegradación de etilbenceno en presencia de suelo, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 51.64e^{-0.0279t} + 6.22e^{-0.1435t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 77 y su gráfica se observa en la Figura 71.

Tabla 77. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 51.64e^{-0.0279t} + 6.22e^{-0.1435t}$ (mg/L)
0	57.86
6	46.31
12	38.06
18	31.72
24	26.63
30	22.44
36	18.95

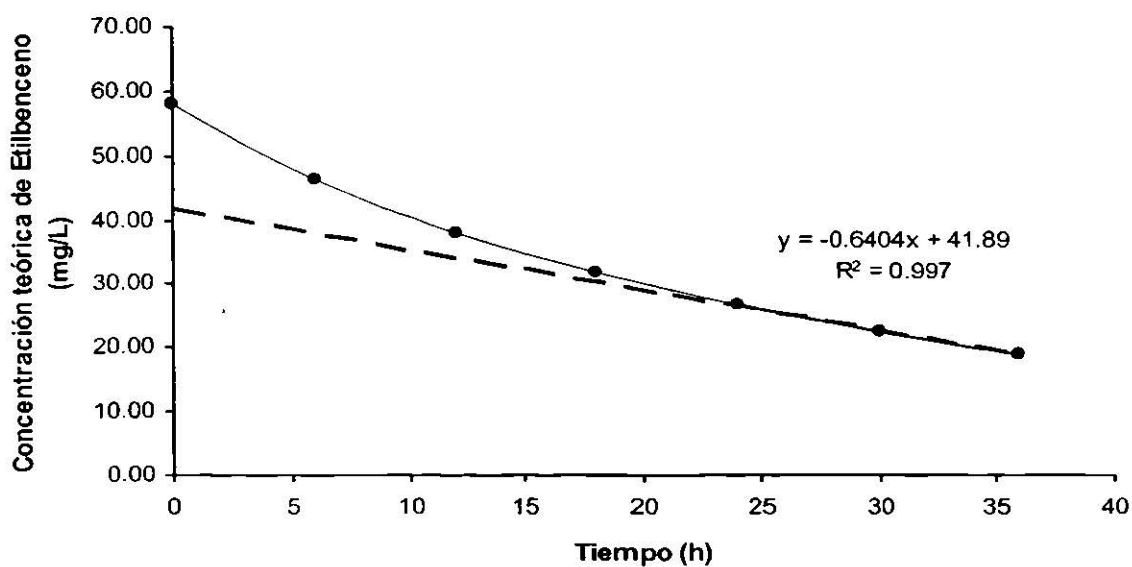


Figura 71. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 9.75e^{-0.0279t} + 6.22e^{-0.1435t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 78. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva la cual representa la biodegradación del etilbenceno por parte de la biomasa en presencia de suelo y puede observarse en la Figura 72.

Tabla 78. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 9.75e^{-0.0279t} + 6.22e^{-0.1435t}$ (mg/L)
0	15.97
6	10.88
12	8.09
18	6.37
24	5.19
30	4.31
36	3.61

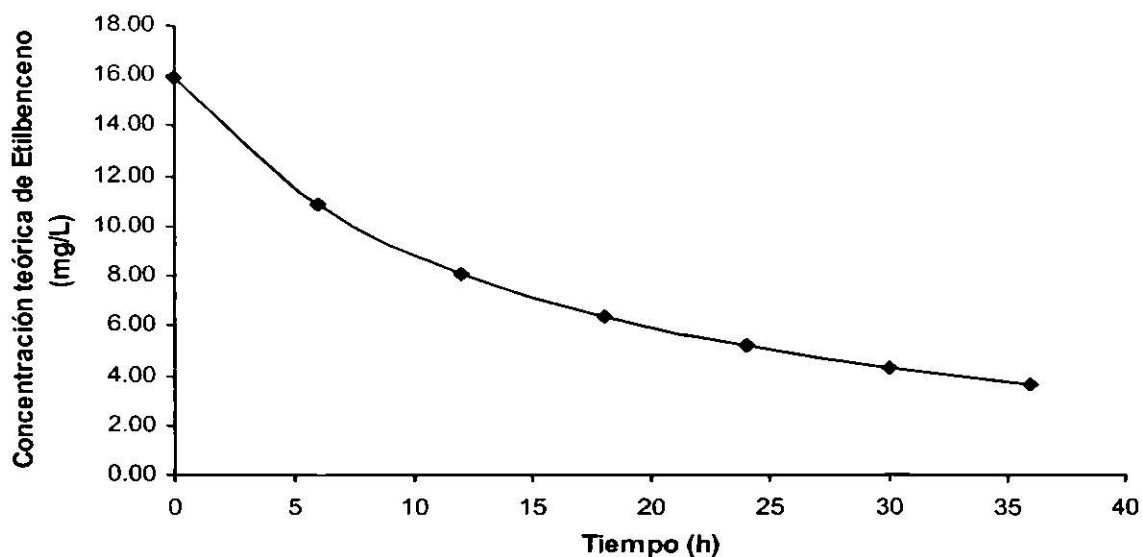


Figura 72. Curva de la remoción de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEoX y el suelo estéril en presencia de Tergitol NP-10

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 79. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del etilbenceno cuando ésta se encuentra en presencia de suelo.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	9.75	0.0279
Eliminación	6.22	0.1435

La Tabla 79 muestra que la biodegradación del etilbenceno ocurre en dos fases. Se puede observar que la concentración a la cual inició la eliminación fue 36% menor que la concentración a la cual inició la distribución; mientras que la velocidad de eliminación superó en cinco veces la velocidad de distribución.

3.4.4. EVALUACIÓN DEL O-XILENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del o-xileno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa un quiebre en la pendiente, por lo que fue posible obtener la constante cinética global directamente de la pendiente de la línea de tendencia de la curva obtenida.

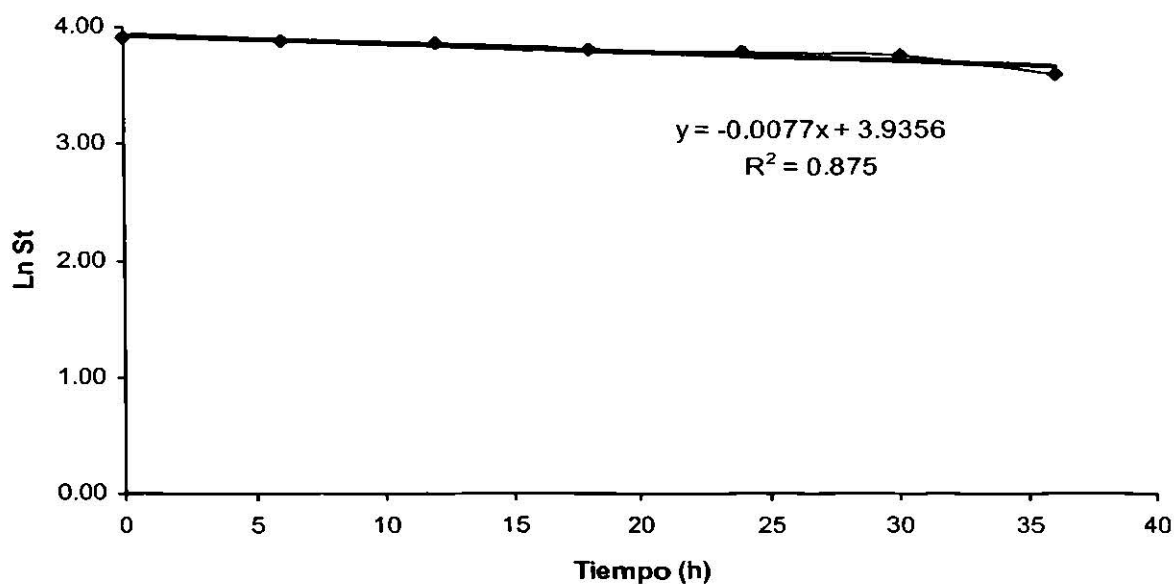


Figura 73. Gráfica de primer orden para la biodegradación del o-xileno en presencia de suelo

La constante cinética global de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo es:

$$0.0077 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 74 se muestra la curva de biodegradación experimental del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando ésta se encuentra en presencia de suelo.

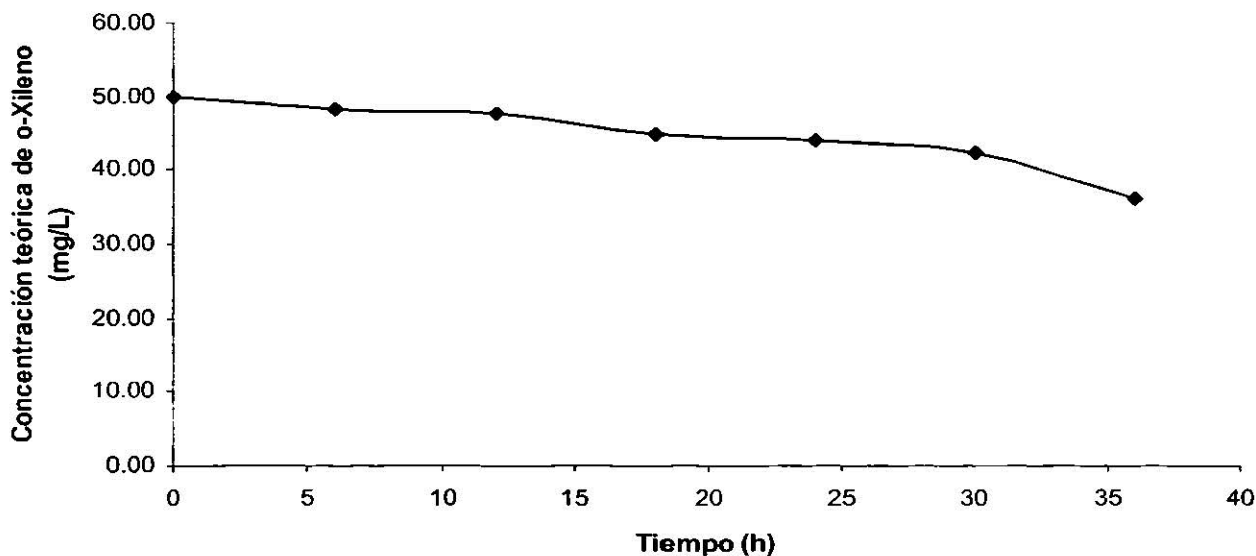


Figura 74. Curva de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo

La biodegradación del o-xileno cuando la biomasa se encuentra en presencia de suelo estéril, resultó ser más lenta en comparación a la biodegradación cuando la biomasa se encuentra en ausencia de suelo. Adicionalmente, la presencia de suelo mostró un efecto negativo sobre el valor de la constante global, la cual resultó ser menor a la obtenida por la biomasa en ausencia de suelo.

3.4.5. EVALUACIÓN DEL EMTB

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del EMTB contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica.

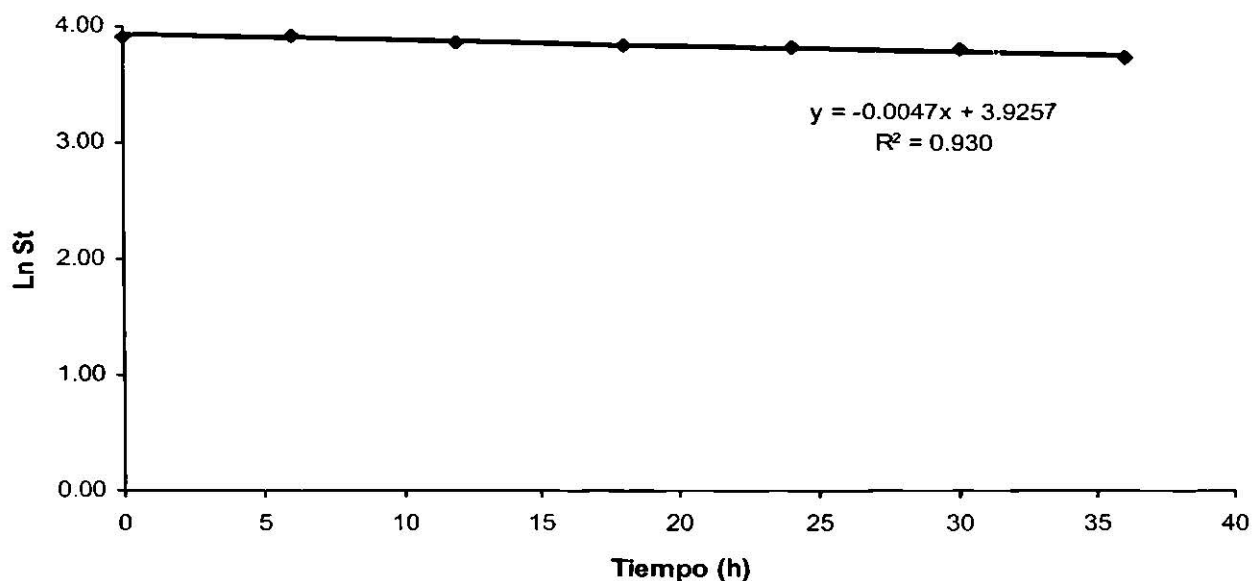


Figura 75. Gráfica de primer orden para la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo

La constante cinética global de la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo es:

$$0.0047 \text{ h}^{-1}$$

La Figura 76 muestra la curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando ésta se encuentra en presencia de suelo.

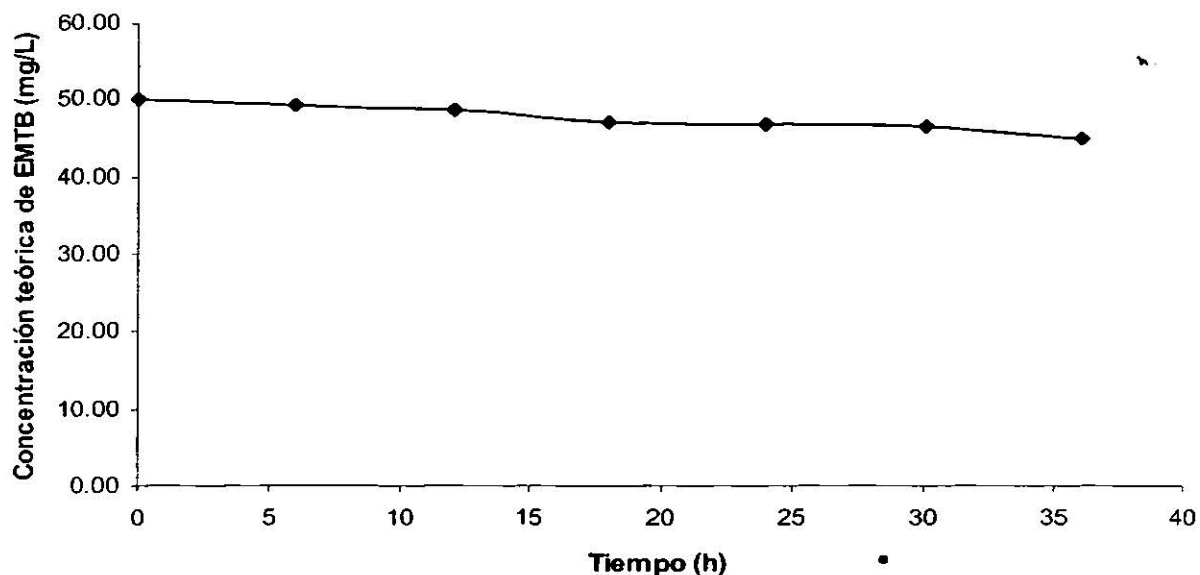


Figura 76. Curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo estéril

El EMTB no resultó significativamente afectado por la biomasa aclimatada a BTEX, por lo que su constante global es muy pequeña.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas para la biodegradación de los BTEoX y el EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX.

Tabla 80. Constantes cinéticas globales de la eficiencia de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	EMTB
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K	K
(r)	0.0105	0.0541	0.0102	0.1102	0.0279	0.1435	0.0077	0.0047
	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.935)	(0.964)

Los datos de la Tabla 80 confirman que el suelo presenta un efecto negativo sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB, ya que todas las constantes globales de la fase de eliminación resultaron menores que las reportadas en la biodegradación de los BTEoX y EMTB en los experimentos en los que no se utilizó suelo, sino únicamente la biomasa. Sin embargo, las constantes globales de la fase de distribución se incrementaron, probablemente debido a la misma disminución en la biodisponibilidad de sustratos en el medio por el efecto de partición agua:suelo.

El orden de biodegradabilidad seguido por la biomasa cuando se encuentra en presencia de suelo estéril es el siguiente:

Etilbenceno > Tolueno > benceno >> o-Xileno > EMTB

3.5 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA BIOMASA EN LA BIODEGRADACIÓN DE LOS BTE_oX Y EMTB EN PRESENCIA DE SUELO Y TERGITOL NP-10

Para efectos de los bioensayos de esta sección de la presente investigación, la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTE_oX y EMTB, se definió como el efecto exclusivo de la biomasa sobre los substratos en presencia de suelo y Tergitol NP-10, de tal manera que las muestras no se compararon con los controles que solamente contenían buffer, sino que se emplearon como controles las muestras que contenían todas las variables (en este caso suelo y Tergitol), exceptuando la biomasa. Por esto, para evaluar la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTE_oX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10, fue necesario dividir los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían suelo, biomasa y surfactante (Tabla 25) entre los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contienen suelo y surfactante (Tabla 18). De esta manera, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 81.

Tabla 81. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 25 en relación con las muestras de la Tabla 18.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9671	0.9390	0.9879	0.9433	0.9904
12	0.9568	0.8721	0.6321	0.9090	0.9804
18	0.9312	0.8626	0.6121	0.8164	0.9796
24	0.4138	0.1000	0.0153	0.7818	0.9742
30	0.0779	0.0066	0.0065	0.5228	0.9382
36	0.0349	0.0031	0.0024	0.3703	0.8574

A los resultados presentados en la Tabla 81 se les multiplicó por 50, para obtener así la concentración teórica de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 82. Concentración teórica de los sustratos (mg/L).

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
6	48.36	46.95	44.69	47.17	49.52
12	47.84	43.61	31.61	45.45	48.92
18	46.56	26.16	22.67	40.82	48.91
24	20.69	2.72	0.77	35.37	48.49
30	3.90	0.33	0.37	26.67	46.91
36	1.75	0.16	0.13	20.46	45.07

A continuación, se les aplicó el logaritmo natural a las concentraciones presentadas en la Tabla 82; los resultados se muestran en la tabla siguiente

Tabla 83. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.8786	3.8491	3.7998	3.8537	3.9024
12	3.8679	3.7752	3.4533	3.8166	3.8902
18	3.8407	3.2642	3.1212	3.7092	3.8900
24	3.0297	1.0000	-0.2679	3.5659	3.8809
30	1.3597	-1.1087	-1.0039	3.2835	3.8482
36	0.5568	-1.8643	-2.0203	3.0186	3.8082

3.5.1. EVALUACIÓN DEL BENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la gráfica 77, en la cual se puede observar que se presenta la doble fase, por lo que se empleó el “Método de los Residuos”, para luego aplicar la ecuación 4.1.

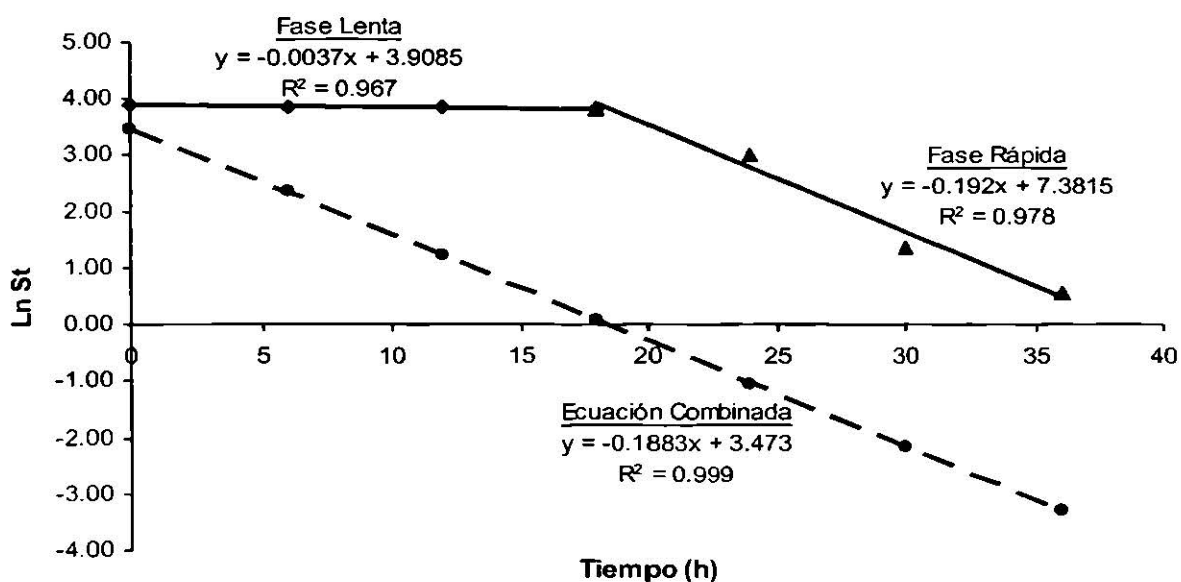


Figura 77. Gráfica de primer orden para la biodegradación de benceno en presencia de suelo y surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 49.82e^{-0.0037t} + 32.23e^{-0.1883t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 84 y su gráfica con respecto al tiempo de muestreo se presenta en la Figura 78.

Tabla 84. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 49.82e^{-0.0037t} + 32.23e^{-0.1883t}$ (mg/L)
0	82.05
6	59.14
12	51.02
18	47.70
24	45.00
30	43.70
36	42.64

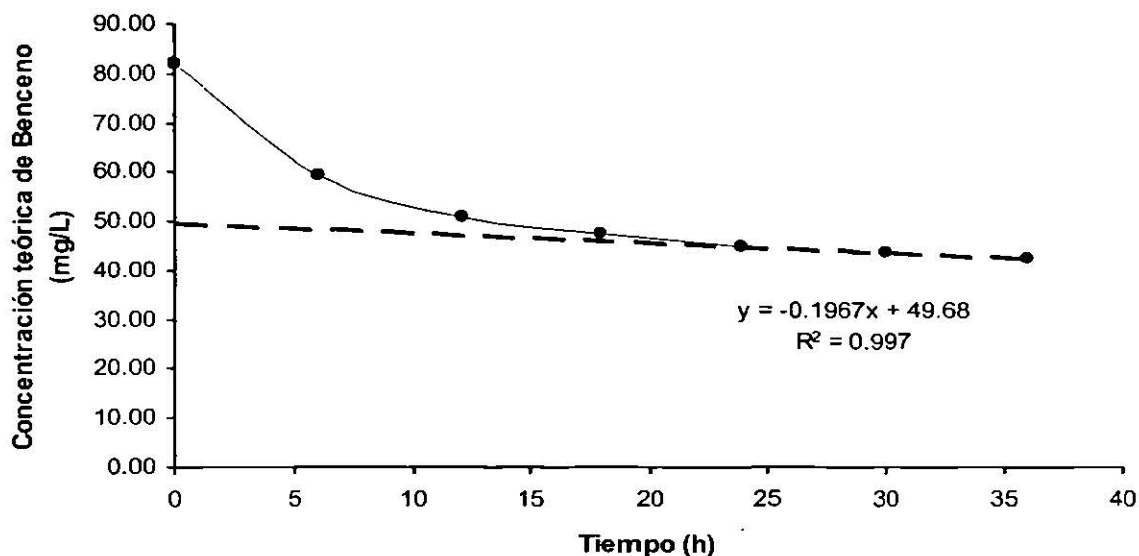


Figura 78. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del benceno en presencia de suelo y surfactante

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restarla a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 0.14e^{-0.0037t} + 32.23e^{-0.1883t}$, cuyos datos se muestran en la Tabla 85. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del benceno por parte de la biomasa cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10, la cual se observa en la Figura 79.

Tabla 85. Concentraciones teóricas de benceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 0.14e^{-0.0037t} + 32.23e^{-0.1883t}$ (mg/L)
0	32.37
6	10.55
12	3.50
18	1.22
24	0.48
30	0.24
36	0.16

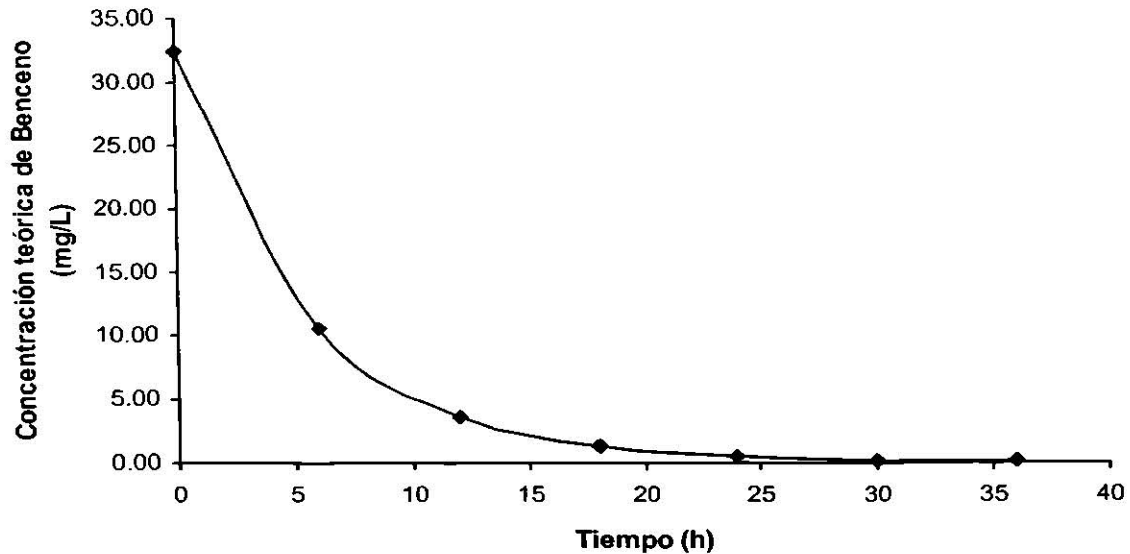


Figura 79. Curva de la biodegradación de benceno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo y Tergitol NP-10

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del benceno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo y Tergitol NP-10, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 86. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del benceno en presencia de suelo y Tergitol NP-10.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h ⁻¹)
Distribución	0.14	0.0037
Eliminación	32.23	0.1883

La Tabla 86 muestra que prácticamente el 100% de la biodegradación del benceno ocurre en la fase de eliminación, a una velocidad muy por encima de la fase de distribución.

3.5.2. EVALUACIÓN DEL TOLUENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del tolueno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se presentó el quiebre en la pendiente, por lo que se presume la presencia de un comportamiento de doble fase, así que se desarrolló el “Método de los Residuos”, para luego sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1.

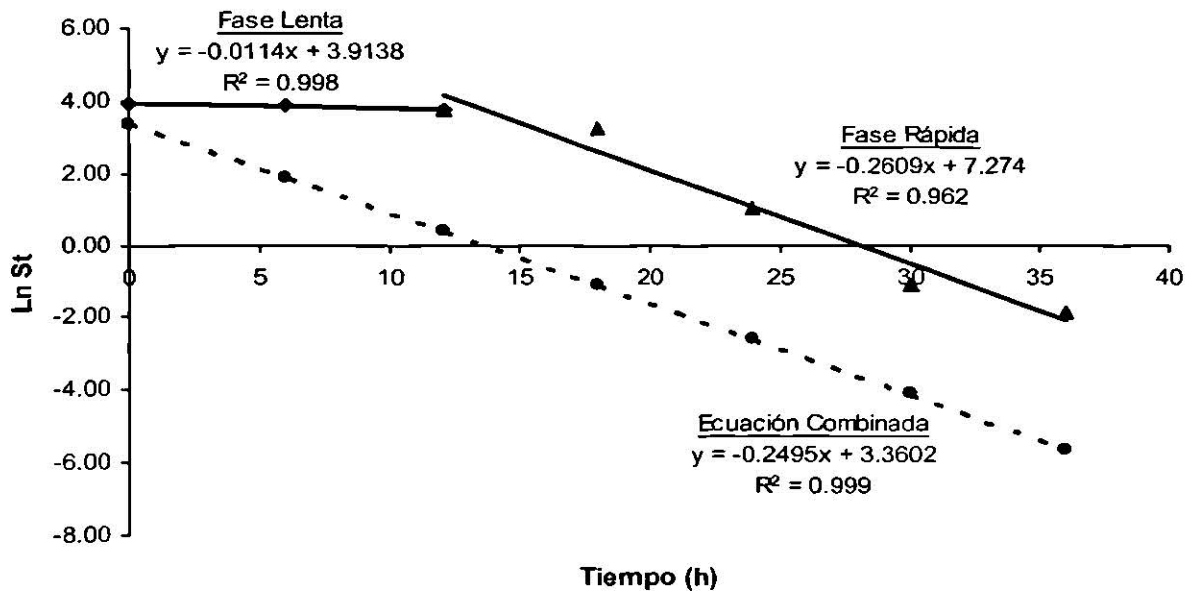


Figura 80. Gráfica de primer orden para la biodegradación del tolueno en presencia de suelo y surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 50.09e^{-0.0114t} + 28.79e^{-0.2495t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 87 y su gráfica se observa en la Figura 81.

Tabla 87. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 50.09e^{-0.0114t} + 28.79e^{-0.2495t}$ (mg/L)
0	78.88
6	53.22
12	45.13
18	41.12
24	38.17
30	35.60
36	33.23

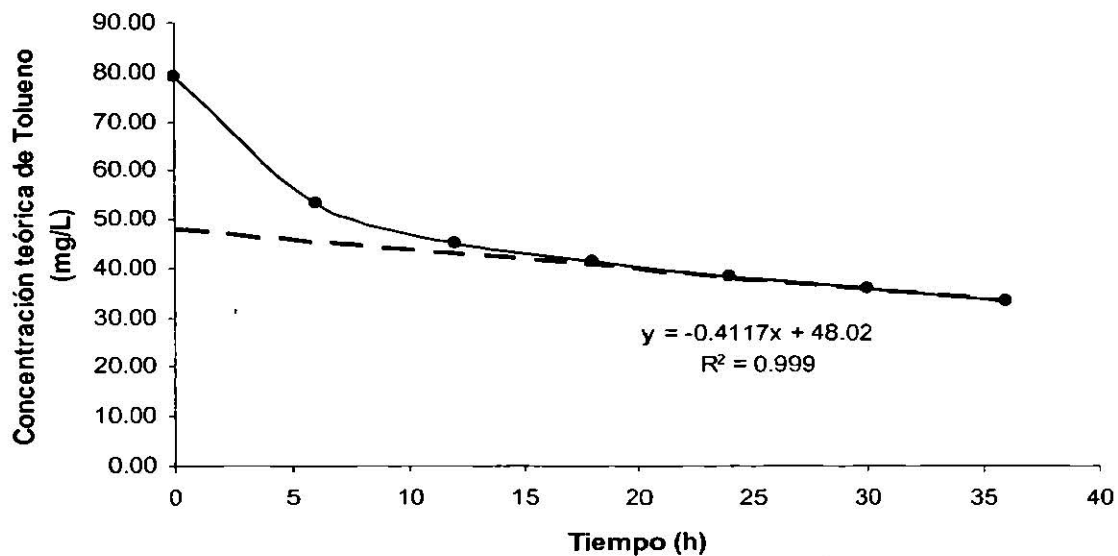


Figura 81. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del tolueno en presencia de suelo y Tergitol NP-10

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 2.07e^{-0.0114t} + 28.79e^{-0.2495t}$. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del tolueno por parte de la biomasa cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10. Esta gráfica se presenta a continuación en la Figura 82.

Tabla 88. Concentraciones teóricas de tolueno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 2.07e^{-0.0114t} + 28.79e^{-0.2495t}$ (mg/L)
0	30.86
6	8.38
12	3.25
18	2.01
24	1.65
30	1.49
36	1.38

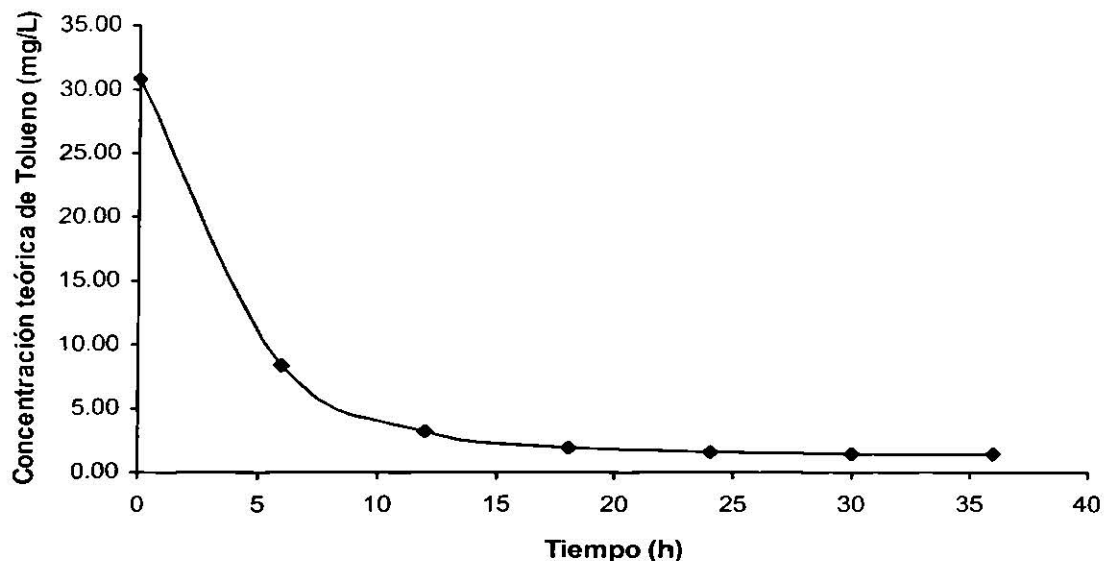


Figura 82. Curva de la biodegradación de tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y surfactante

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del tolueno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo y surfactante, se resume en la siguiente tabla:

Tabla 89. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación del tolueno en presencia de suelo y surfactante.

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	2.07	0.0114
Eliminación	28.79	0.2495

En la Tabla 89 se observa que la biodegradación del tolueno ocurre en dos fases, cerca del 93% del total de la concentración inicial se va a la fase de eliminación, en cuya fase la velocidad de biodegradación es 22 veces mayor comparada con la fase de distribución.

3.5.3. EVALUACIÓN DEL ETILBENCENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del etilbenceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual se presenta la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos”, para luego aplicar la ecuación 4.1.

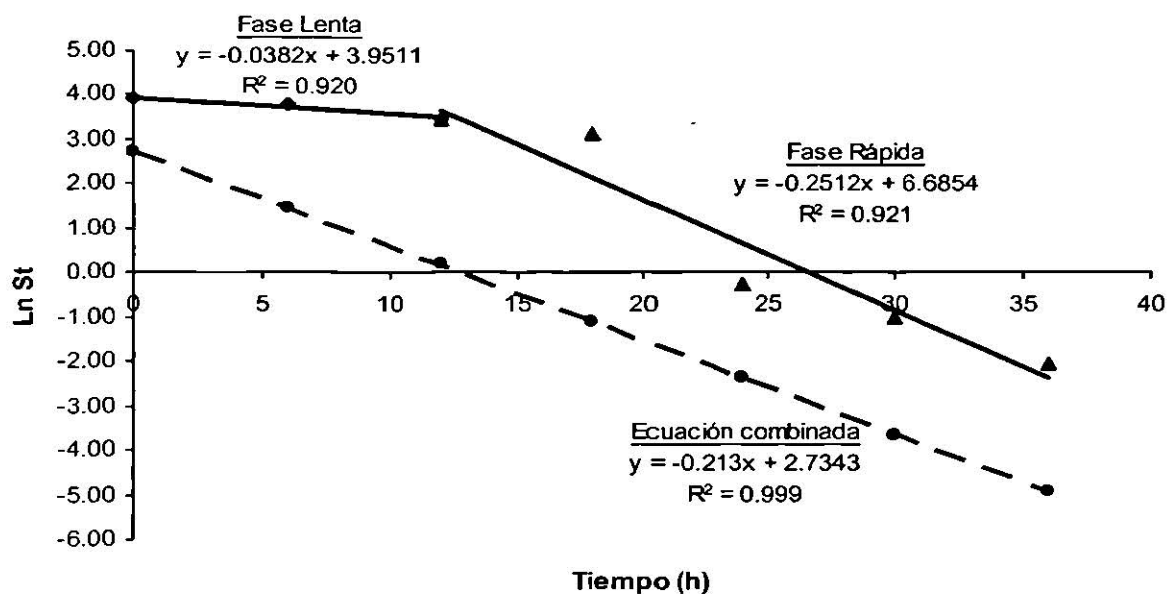


Figura 83. Gráfica de primer orden para la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo y surfactante, mostrando las curvas de la fase lenta y la fase rápida, así como la gráfica de la ecuación combinada

Al sustituir los valores obtenidos en la ecuación 4.1, se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 51.99e^{-0.0382t} + 15.40e^{-0.2130t}$, cuyos valores se presentan en la Tabla 90 y su gráfica se presenta en la Figura 84.

Tabla 90. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento

Tiempo (h)	$S_t = 51.99e^{-0.0382t} + 15.40e^{-0.2130t}$ (mg/L)
0	67.39
6	45.63
12	34.07
18	26.47
24	20.88
30	16.55
36	13.15

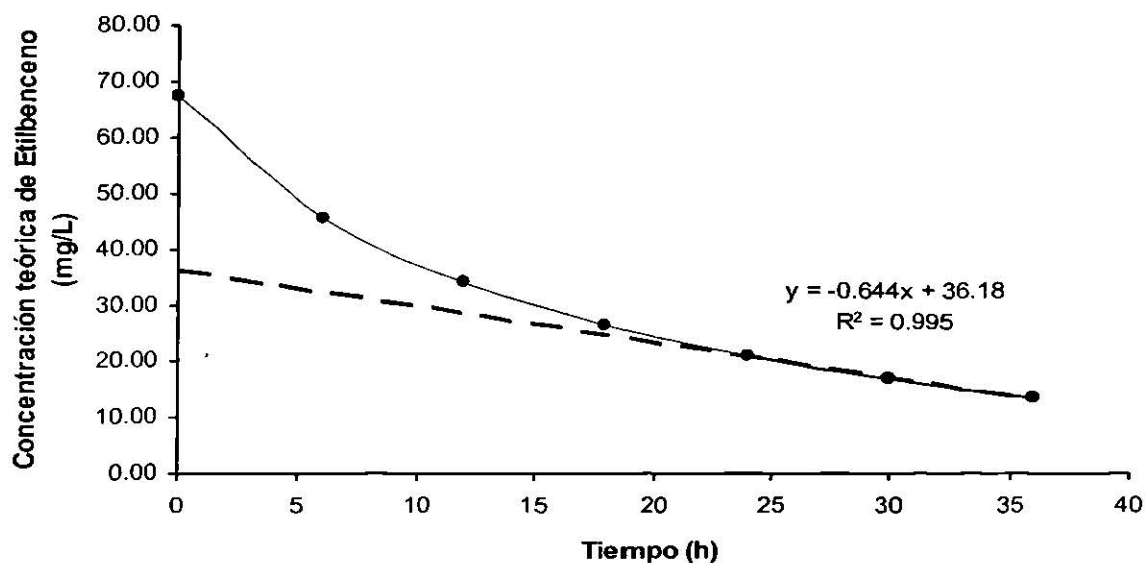


Figura 84. Gráfica de la ecuación de doble compartimento para la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo y Tergitol NP-10

Al obtener la concentración a la que se intersecta la línea de tendencia, se prosiguió a restársela a la concentración correspondiente al término S_1 , y el resultado se sustituyó en la ecuación 4.2. De esta manera se obtuvo la siguiente ecuación: $S_t = 15.81e^{-0.0382t} + 15.40e^{-0.2130t}$. Al graficar esta nueva ecuación, se obtuvo el área bajo la curva que representa la biodegradación del etilbenceno por parte de la biomasa cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10, cuya gráfica se presenta en la Figura 85.

Tabla 91. Concentraciones teóricas de etilbenceno obtenidas de la ecuación de Doble Compartimento Corregida

Tiempo (h)	$S_t = 15.81e^{-0.0382t} + 15.40e^{-0.2130t}$ (mg/L)
0	31.21
6	16.86
12	11.19
18	8.28
24	6.41
30	5.05
36	4.00

PRODUCTOS DE TRABAJO DE LA TESIS DE JUAN FRANCISCO VILLARREAL CHIU (LICENCIATURA EN QUIMICA INDUSTRIAL)

Publicaciones

Villarreal Chiú, J. F., Gracia Lozano, M. V., Garza González, M. T., **Acuña Askar, K.**, Rodríguez Sánchez, I. P. y Barrera Saldaña, H. A. *Biodegradación aeróbica de BTEX en presencia de EMTB en muestras de suelo.* Memorias de la División de Química Ambiental del XXXVIII Congreso Mexicano de Química, Ixtapa, Gro., México, 21-25 de septiembre de 2003.

Acuna-Askar, K., Villarreal-Chiu, J.F., Gracia-Lozano, M.V., Garza-Gonzalez, M.T., Chavez-Gomez, B., Rodriguez-Sanchez, I.P. and Barrera-Saldana, H.A. *BTE-oX biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation.* Proceedings of the 4th Specialised International Water Association Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water (ECOHAZARD 2003). Aachen, Alemania, 14-17 de septiembre de 2003, pp. 43/1-43/7. Aceptado para su publicación en Journal Water Science and Technology, (Revista Indexada de alto impacto), Reino Unido.

Acuna-Askar, K., Gracia-Lozano, M.V., Villarreal-Chiu, J.F., Marmolejo, J.G., Garza-Gonzalez, M.T. and Chavez-Gomez, B. *Effect of soil and a nonionic surfactant on BTE-oX and MTBE biodegradation kinetics.* (2003). Proceedings of the 4th International Water Association World Water Congress. Marrakech, Marruecos, 19-24 de septiembre de 2004. Aceptado para su publicación en el Congreso. Artículo sometido a Journal Water Science and Technology.

Acuna-Askar, K., Gracia-Lozano, M.V., Villarreal-Chiu, J.F., Garza-Gonzalez, M.T., Chavez-Gomez, B., Rodriguez-Sanchez, I.P. and Barrera-Saidana, H.A. (2003). *The role of a nonionic surfactant on biodegradation efficiency kinetic models of BTE-oX and MTBE.* Proceedings of the 4th International Water Association World Water Congress. Marrakech, Marruecos, 19-24 de septiembre de 2004. Aceptado para su publicación en el Congreso. Artículo sometido a Journal Water Science and Technology.

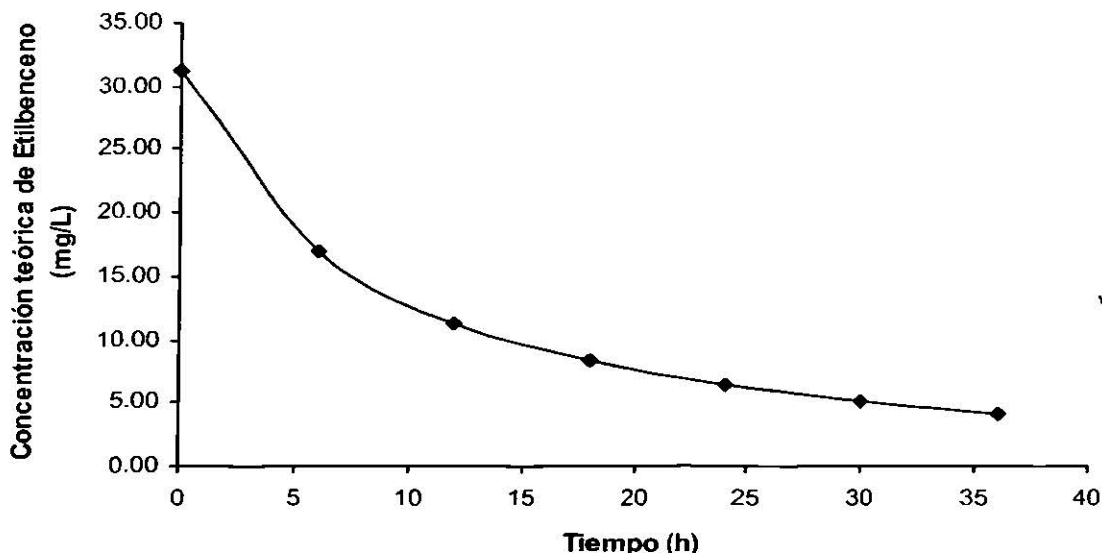


Figura 85. Curva de la biodegradación de etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEoX cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10

Los resultados obtenidos de la evaluación de la biodegradación del etilbenceno por la biomasa aclimatada a BTEX en presencia de suelo y Tergitol NP-10, se resume en la siguiente tabla:

Tabla 92. Resultados obtenidos de la evaluación de la eficiencia de la biomasa sobre la biodegradación del etilbenceno en presencia de suelo y Tergitol NP-10

Fase	Conc. Inicial de biodegradación (mg/L)	Constante cinética global (h^{-1})
Distribución	15.81	0.0382
Eliminación	15.40	0.2130

En la Tabla 92 se muestra que las concentraciones a las cuales inicia la biodegradación tanto en la fase de distribución como en la fase de eliminación, son muy similares; sin embargo, la velocidad de biodegradación en la fase de eliminación fue aproximadamente 6 veces mayor que en la fase de distribución.

3.5.4. EVALUACIÓN DEL O-XILENO

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del o-xileno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa un quiebre en la pendiente, por lo que fue posible obtener la constante cinética global directamente de la pendiente de la línea de tendencia de la curva obtenida.

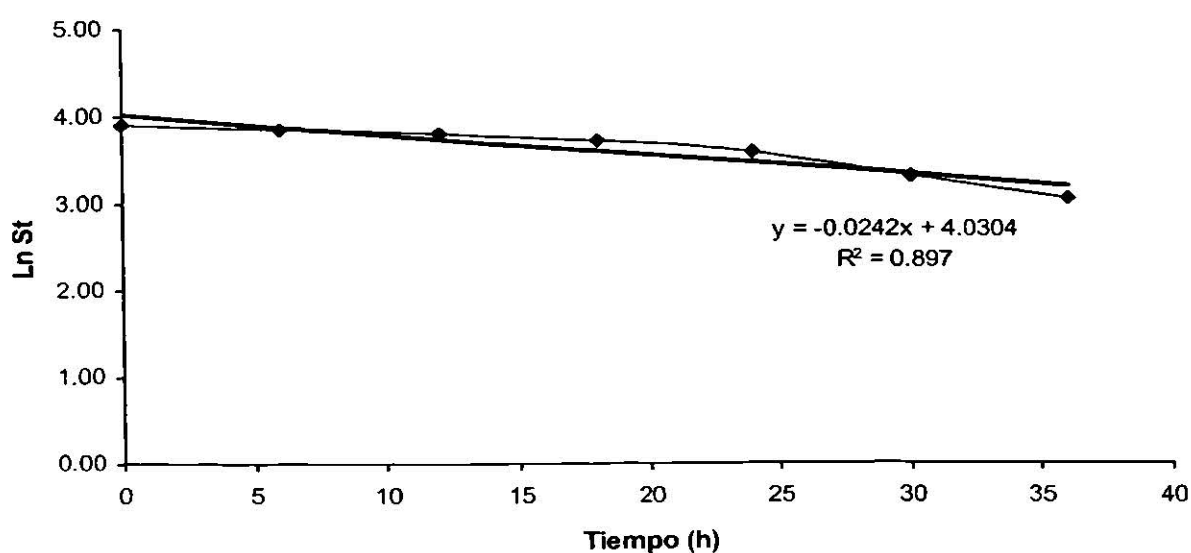


Figura 86. Gráfica de primer orden para la biodegradación del o-xileno en presencia de suelo y Tergitol NP-10

La constante cinética global de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10 es:

$$0.0242 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 87 se muestra la curva de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y surfactante.

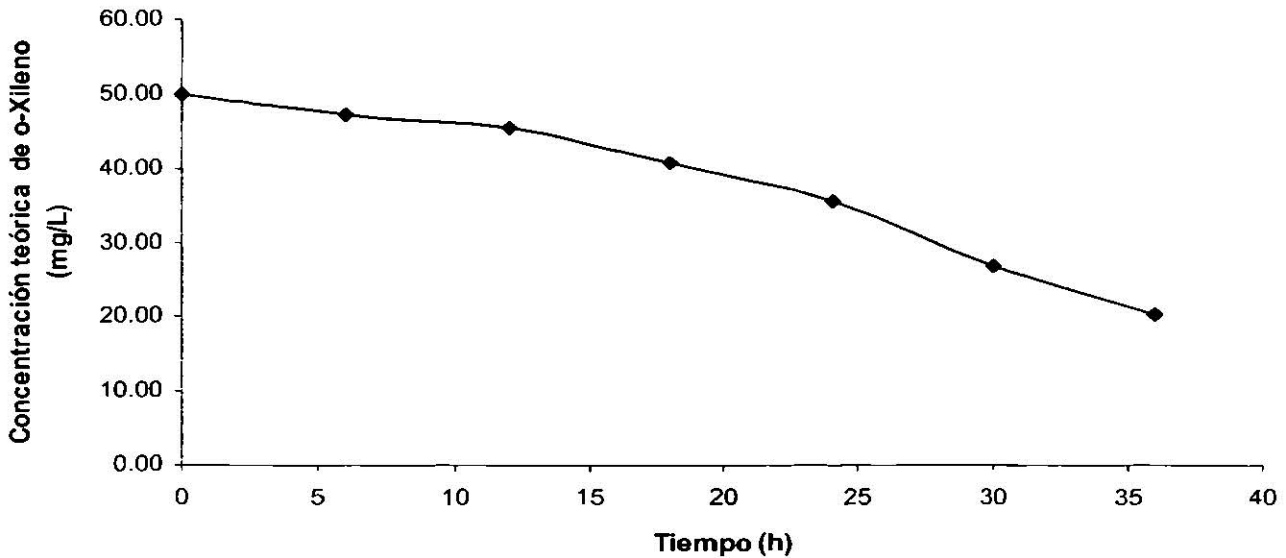


Figura 87. Curva de la biodegradación del o-xileno por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10

La biodegradación del o-xileno fue de un 40% en presencia de suelo y surfactante. Al comparar resultados, en ausencia de Tergitol NP-10, se encontró que el surfactante tuvo un efecto positivo sobre la biodegradación.

3.5.5. EVALUACIÓN DEL EMTB

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica ($\ln St$) del EMTB contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la siguiente gráfica.

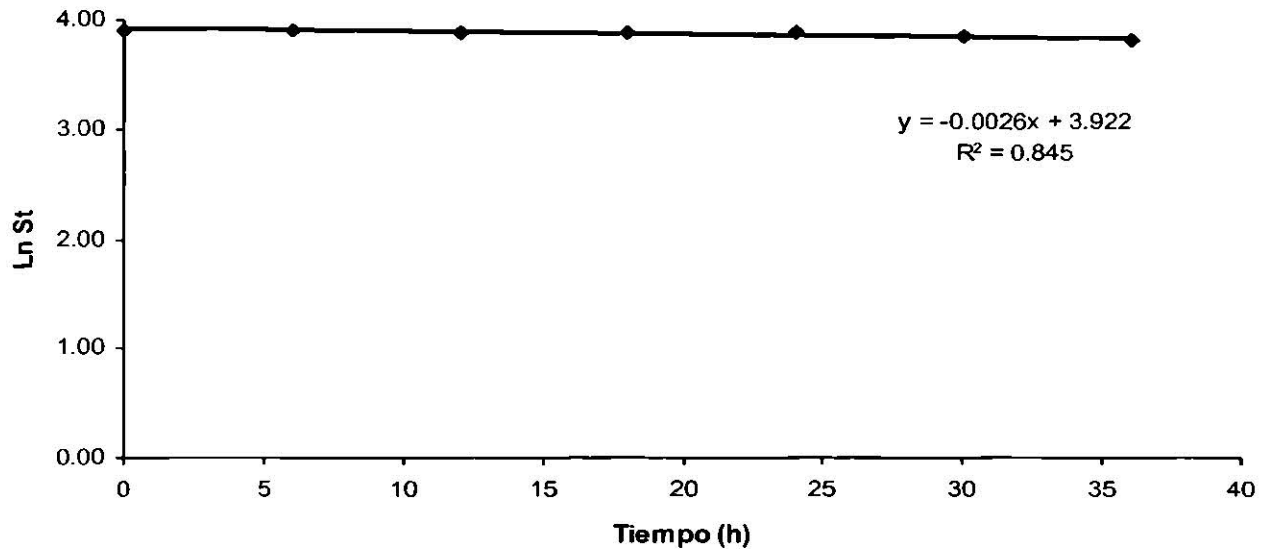


Figura 88. Gráfica de primer orden para la biodegradación del EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10

La constante cinética global de la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando esta en presencia de suelo y Tergitol NP-10 es:

$$0.0026 \text{ h}^{-1}$$

En la Figura 89 se muestra la curva de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando se encuentra en presencia de suelo y el surfactante Tergitol NP-10.

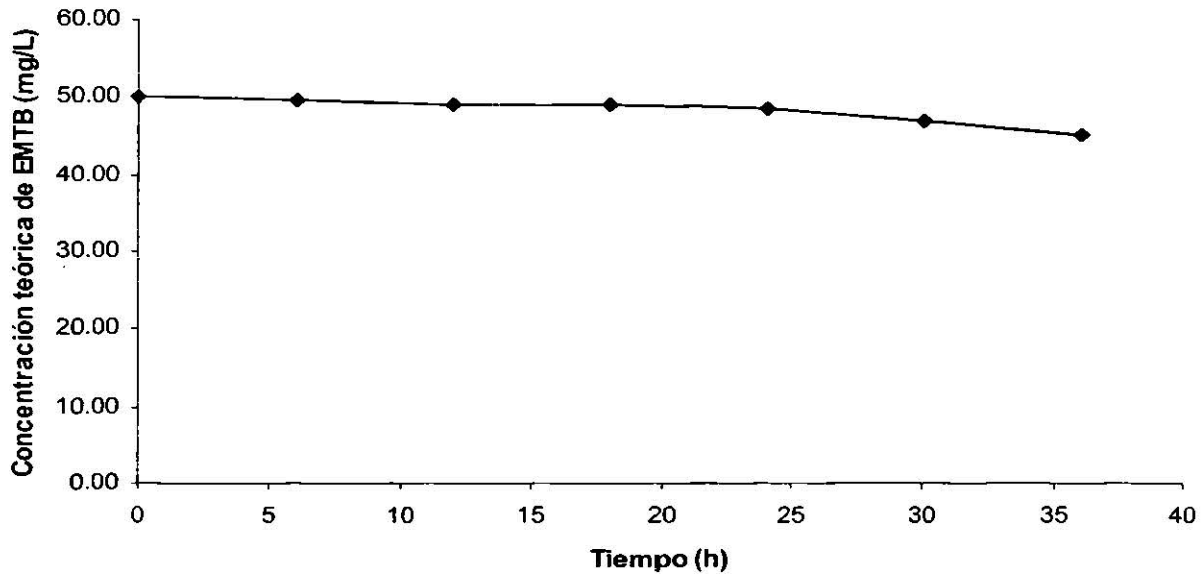


Figura 89. Curva de la biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX cuando ésta se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10

La presencia de surfactante no contribuyó de manera significativa en el valor de la constante cinética global de biodegradación del EMTB; sin embargo, logra incrementar la eficiencia de la biomasa al aumentar el porcentaje de biodegradación de EMTB de un 9.9 a 14.2% .

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas para la biodegradación de los BTEoX y el EMTB por la biomasa aclimatada a BTEX.

Tabla 93. Constantes cinéticas globales de la eficiencia de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB cuando ésta se encuentra en presencia de suelo y Tergitol NP-10.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	EMTB
K Globales [h ⁻¹] (r)	K ₁ 0.0037 (0.999)	K ₂ 0.1883	K ₁ 0.0114 (0.999)	K ₂ 0.2495	K ₁ 0.0382 (0.999)	K ₂ 0.2130	K 0.0242 (0.947)	K 0.0026 (0.919)

Los datos de la Tabla 93 muestran varios cambios en las constantes globales muy interesantes, entre ellos el aumento significativo en el valor de las constante globales del tolueno, etilbenceno y o-xileno y la disminución en las constantes del benceno. El EMTB no registró cambios significativos. Con esto se observa que el surfactante actúa como inhibidor del benceno, o que está afectando de manera indirecta en su asimilación. Lo anterior sugiere que el Tergitol NP-10 tiene un efecto positivo cuando se emplea a una concentración menor a la concentración micelar crítica con respecto al tolueno, etilbenceno y o-xileno.

El orden de biodegradabilidad seguido por la biomasa cuando se encuentra en presencia de suelo estéril y Tergitol NP-10 es el siguiente:

Etilbenceno > Tolueno > benceno >> o-Xileno > EMTB

La siguiente tabla muestra en forma resumida las constantes cinéticas globales obtenidas apartir los bioensayos cinéticos

Tabla 94. Constantes cinéticas globales para los bioensayos cinéticos.

	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
<i>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB</i>					
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K
(r)	0.0109 (0.999)	0.2059	0.0060 (0.999)	0.2647	0.0028 (.978)
<i>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</i>					
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K
(r)	0.0080 (0.999)	0.0739	0.0145 (0.999)	0.1888	0.0218 (0.977)
<i>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</i>					
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K
(r)	0.0072 (0.999)	0.1816	0.0104 (0.999)	0.2526	0.0256 (0.966)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo</i>					
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K
(r)	0.0105 (0.999)	0.0541	0.0102 (0.999)	0.1102	0.0077 (0.935)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10</i>					
K Globales [h ⁻¹]	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K
(r)	0.0037 (0.999)	0.1883	0.0114 (0.999)	0.2495	0.0242 (0.947)

La biomasa aclimatada a 800 mg/L de BTEX totales presentó la peculiaridad de biodegradar al benceno, tolueno, etilbenceno y o-xileno a través de un modelo de doble compartimento mientras que el EMTB fue biodegradado mediante un solo compartimento. En un trabajo similar en el que se empleó una biomasa que fue aclimatada a 200 mg/L de gasolina sin plomo, Acuña-Askar *et al.* (2003a) reportan que el tolueno y el etilbenceno emplean un modelo muy parecido de doble compartimento, mientras que el benceno y o-

xileno se biodegradaron a través de un solo compartimento. Además de esto, el EMTB presentó un orden de reacción cero. Con esto se comprueba que la biodegradación de los compuestos depende directamente del consorcio y de la concentración a la que está aclimatado como se comentó en el capítulo 2.

El compuesto de más rápida asimilación de manera general fue el tolueno, seguido del etilbenceno, benceno, o-xileno y el EMTB. Acuña-Askar *et al.* (2003a) reportan que el orden seguido por la biomasa aclimatada a gasolina sin plomo es etilbenceno, seguido del tolueno, benceno, o-xileno y el EMTB, lo cual confirma que el tolueno y etilbenceno son los compuestos de más rápida asimilación.

La presencia de suelo trae como consecuencia una baja biodisponibilidad de los BTEoX, lo cual ocasiona que las constantes cinéticas de biodegradación y remoción disminuyan. Esto también viene a ser confirmado por Acuña-Askar *et al.* (2003a) quienes han reportado una disminución en las constantes cinéticas globales de remoción de los BTEoX y EMTB en conjunto, comparado con las constantes obtenidas de la biodegradación de éstos compuestos por la biomasa exclusivamente.

La introducción de un surfactante en el medio de cultivo junto con suelo para determinar su efecto en la biodegradación de los BTEoX y EMTB es algo novedoso y poco reportado en la literatura, sin embargo podemos comparar los

resultados obtenidos que indican que el surfactante Tergitol NP-10 beneficia en la velocidad a la que se biodegradan los contaminantes, con los trabajos reportados por Acuña-Askar *et al.* (2003a) donde reportan un incremento en las constantes cinéticas de velocidad, comparadas con las constantes cinéticas en ausencia del surfactante.

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes de biodegradación y remoción obtenidos a partir los bioensayos cinéticos.

Tabla 95. Porcentaje de eliminación de lo BTEoX y EMTB en los bioensayos cinéticos.

	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
<i>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB</i>					
	98.97%	99.76%	99.19%	50.11%	9.92%
<i>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</i>					
	77.00%	97.93%	98.28%	54.82%	16.13%
<i>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</i>					
	96.27%	99.69%	99.73%	65.34%	43.02%
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo</i>					
	75.88%	91.26%	98.54%	34.38%	16.78%
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10</i>					
	96.51%	99.69%	99.76%	62.97%	14.26%

Los resultados obtenidos en los porcentajes de biodegradación por la biomasa aclimatada a 800 mg/L de BTEX totales muestran que los compuestos de mayor asimilación son el tolueno, etilbenceno y benceno. Estos resultados pueden compararse con los reportados por Chang *et al.* (2001) quienes reportan que los compuestos de mayor asimilación son el tolueno (99% de biodegradación a las 12 horas), seguido por el etilbenceno (99% de biodegradación a las 24 horas) y el benceno (99% de biodegradación a las 24 horas), obteniendo por el contrario un bajo porcentaje de biodegradación para el para-xileno (25% de biodegradación a las horas de experimentación). García-Peña *et al.* (2003) obtuvieron como resultados que el tolueno y el etilbenceno son los compuestos

de más rápida metabolización obteniendo un 90% de biodegradación del tolueno a las 170 horas de experimentación y un 80% de biodegradación del etilbenceno a un tiempo de 260 horas, sin embargo, reportan un bajo porcentaje de biodegradación para el benceno, que se encuentra cercano al 45% en un tiempo total de 300 horas de muestreo, el cual se encuentra a su vez por encima del porcentaje de biodegradación del o-xileno (30% de biodegradación en un tiempo de 300 horas de experimentación). Villarreal-Chiu *et al.* (2003) obtuvieron resultados similares a los anteriores, reportando una rápida biodegradación para etilbenceno y tolueno (90% de biodegradación del etilbenceno a las 24 horas de muestreo y 90% para el tolueno a las 32 horas de muestreo). Prenafeta-Boldú *et al.* (2002) reportan una rápida asimilación del tolueno así como de etilbenceno (99% de biodegradación del tolueno a los 16 días de muestreo y 99% de biodegradación de etilbenceno a los 15 días de muestreo). Acuña-Askar *et al.* (2003a) reportan un porcentaje de biodegradación superior al 90% de los BTEoX cuando la biomasa encargada de la biodegradación se encuentra aclimatada a 200 mg/L de gasolina sin plomo, además reportan una biodegradación de EMTB cercana a un 16%, el cual es superior al reportado por la biomasa aclimatada a BTEX.

Estos resultados muestran que el tolueno y el etilbenceno son los compuestos más fácilmente asimilables y su biodegradación podría estar ligada mediante un cometabolismo mutuo.

La Tabla 95 muestra que el suelo afectó de manera negativa a los compuestos que se biodegradaron a través de dos fases como el benceno, tolueno y etilbenceno, no así al o-xileno y EMTB que se biodegradaron a través de un solo compartimento. Acuña Askar *et al.* (2003a) reportaron un comportamiento similar cuando la biomasa se aclimató a gasolina sin plomo, estudio, en el cual, el porcentaje de biodegradación de los BTEoX disminuyó por efecto del suelo, muestra que la biodegradación del EMTB se incrementó del 16 a 25% en presencia del mismo.

La remoción de los contaminantes se incrementa ampliamente cuando en el medio de cultivo está presente el Tergitol NP-10, debido a que este incrementa la biodisponibilidad de los BTEoX como lo reportan Volkering *et al.* (1995). Lo anterior viene a ser confirmado por Acuña-Askar *et al.* (2003a) quienes reportaron un incremento en el porcentaje de remoción por la acción del suelo y la biomasa aclimatada a 200 mg/L de gasolina sin plomo, cuando el Tergitol NP-10 se encuentra presente en el medio de cultivo.

Adicionalmente, puede observarse que el suelo tuvo un efecto negativo sobre la biodegradación en general, impidiendo que la biomasa actuara de manera eficiente. Esto se confirma por los resultados que indican que el Tergitol NP-10 contribuyó en el reestablecimiento de la eficiencia de la biodegradación de la biomasa, para la mayoría de los BTEoX y EMTB.

4. SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES

Los valores promedio que se obtuvieron de la determinación de masa celular seca como sólidos suspendidos volátiles se muestran en la Tabla 96.

Tabla 96. Promedio de las tres réplicas de los valores obtenidos en la determinación de sólidos suspendidos volátiles presentados en el Anexo G.

	Réplica 1 (mg)	Réplica 2 (mg)	Réplica 3 (mg)
Peso A	1,950	1,599	1,969
Peso B	1,938	1,590	1,960

Aplicando la ecuación 3.1 se obtuvo la masa celular presente en las muestras de biomasa concentrada que fueron utilizadas para diluirse en los bioensayos experimentales, las cuáles se presentan en la Tabla 97:

Tabla 97. Masa celular presente en las muestras de biomasa concentrada que fueron utilizadas para diluirse en los bioensayos experimentales.

Unidades	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
mg/L	12,100	9,000	8,900
mg/mL	12.1	9.0	8.9

Para obtener las constantes cinéticas específicas de velocidad de los bioensayos experimentales, se debe calcular primero la masa celular presente en estos bioensayos, que representan a su vez, la masa celular que se encuentra presente en los reactores de aclimatización.

En el capítulo de Materiales y Métodos se describe que se colocaron 2 mL de la biomasa concentrada en 20 mL de medio de cultivo, por lo que se obtuvieron 22 mL de volumen total en el vial experimental. La Tabla 97 muestra los miligramos de biomasa concentrada por mililitro de muestra, por lo que la masa celular contenida en los 2 mL se dividió entre 22 mL que es el volumen total contenido en el vial de los bioensayos cinéticos..

Lo anterior puede desglosarse como:

1) Se colocaron 2 mL de biomasa concentrada en el vial experimental:

$$X = (2 \text{ mL}) (\text{mg/mL de la biomasa concentrada reportada en la Tabla 97}) \quad (4.3)$$

2) Estos 2 mL se diluyeron en 20 mL de medio, dando un volumen total de 22 mL:

$$Y = X / 22 \text{ mL} \quad (4.4)$$

3) Se reportó el dato de masa celular en mg/L:

$$Z = (Y) (1000 \text{ mL}) / 1 \text{ L} \quad (4.5)$$

Siguiendo este procedimiento, se obtuvo la cantidad de masa celular presente en los bioensayos experimentales, que resultó ser aproximadamente igual a la que se encuentra en los reactores de aclimatización, la cual, en tres réplicas se presenta en la Tabla 98.

Tabla 98. Masa celular presente en los bioensayos experimentales.

Réplica 1 (mg/L)	Réplica 2 (mg/L)	Réplica 3 (mg/L)
1,090	818	809

El valor promedio de las tres réplicas se utilizó en el cálculo para la obtención de las constantes cinéticas específicas de velocidad y aparece a continuación:

Promedio masa celular presente en los bioensayos = 905.6 mg/L

5. CONSTANTES CINÉTICAS ESPECÍFICAS DE VELOCIDAD

Las constantes cinéticas específicas de velocidad se calcularon dividiendo las constantes cinéticas globales obtenidas de los bioensayos experimentales (presentadas en la Tabla 94) entre el valor promedio de las tres réplicas de la masa celular presente en dichos bioensayos (Eckenfelder, 1989; Acuna-Askar *et al.*, 2003a).

$$k = K / m_p \quad (5.1)$$

Donde:

k: Constante cinética específica de velocidad

K: Constante cinética global de velocidad

m_p: Masa celular promedio presente en los bioensayos cinéticos

De esta manera, se obtuvo la Tabla 99:

Tabla 99. Constantes cinéticas específicas para los bioensayos cinéticos

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno		EMTB
<i>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB</i>									
	k_1	k_2	k_1	k_2	k_1	k_2	k_1	k_2	k
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	1.20×10^{-5}	2.28×10^{-4}	6.63×10^{-6}	2.92×10^{-4}	1.49×10^{-5}	2.10×10^{-4}	1.05×10^{-5}	1.97×10^{-5}	3.09×10^{-6}
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.978)
<i>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</i>									
	k_1	k_2	k_1	k_2	k_1	k_2	k	k	
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	8.84×10^{-6}	8.17×10^{-5}	1.60×10^{-5}	2.09×10^{-4}	1.52×10^{-5}	1.83×10^{-4}	2.41×10^{-5}		5.41×10^{-6}
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.977)		(0.978)
<i>Efecto del suelo, biomasa y tergitol sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</i>									
	k_1	k_2	k_1	k_2	k_1	k_2	k	k	
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	7.96×10^{-6}	2.01×10^{-4}	1.15×10^{-5}	2.79×10^{-4}	3.85×10^{-5}	2.31×10^{-4}	2.83×10^{-5}		9.72×10^{-6}
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.966)		(0.981)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTEoX y EMTB en presencia de suelo</i>									
	k_1	k_2	k_1	k_2	k_1	k_2	k	k	
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	1.16×10^{-5}	5.90×10^{-5}	1.13×10^{-5}	1.22×10^{-4}	3.08×10^{-5}	1.59×10^{-4}	8.51×10^{-6}		5.19×10^{-6}
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.935)		(0.964)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de los BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10</i>									
	k_1	k_2	k_1	k_2	k_1	k_2	k	k	
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	4.09×10^{-6}	2.08×10^{-4}	1.26×10^{-5}	2.76×10^{-4}	4.22×10^{-5}	2.35×10^{-4}	2.67×10^{-5}		2.87×10^{-6}
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.947)		(0.919)

6. TENSIÓN SUPERFICIAL

Los valores de las densidades de las muestras analizadas se obtuvieron sustituyendo los valores de los pesos de las muestras presentados en el Anexo H en la ecuación 3.3. Estos valores se muestran en la Tabla 100.

Tabla 100. Densidad de las muestras utilizadas en la determinación de la tensión superficial.

Muestra	Densidad (g/mL)
Estándar 10 mg/L Tergitol	0.9939
Estándar 20 mg/L Tergitol	0.9939
Estándar 30 mg/L Tergitol	0.9942
Estándar 40 mg/L Tergitol	0.9928
Estándar 50 mg/L Tergitol	0.9930
Muestra de bioensayo sin Tergitol	0.9924
Muestra de bioensayo con Tergitol	0.9908

Los valores de las alturas promedio que se obtuvieron de la determinación de la tensión superficial a través del método de ascenso capilar se muestran en la Tabla 101.

Tabla 101. Promedio de las alturas obtenidas en la determinación de la tensión superficial.

Muestra	Altura promedio (cm)
Estándar 10 mg/L Tergitol	2.27
Estándar 20 mg/L Tergitol	2.10
Estándar 30 mg/L Tergitol	2.00
Estándar 40 mg/L Tergitol	1.43
Estándar 50 mg/L Tergitol	1.03
Muestra de bioensayo sin Tergitol	2.00
Muestra de bioensayo con Tergitol	1.60

Al aplicar la ecuación 3.4 se obtuvieron los valores de la Tabla 102.

Tabla 102. Tensión superficial de las muestras analizadas.

Muestra	Tensión superficial (Dina/cm)
Estándar 10 mg/L Tergitol	62.92
Estándar 20 mg/L Tergitol	58.30
Estándar 30 mg/L Tergitol	55.53
Estándar 40 mg/L Tergitol	39.74
Estándar 50 mg/L Tergitol	28.66
Muestra de bioensayo sin Tergitol	55.44
Muestra de bioensayo con Tergitol	44.28

A continuación se presenta la curva de calibración obtenida de los estándares:

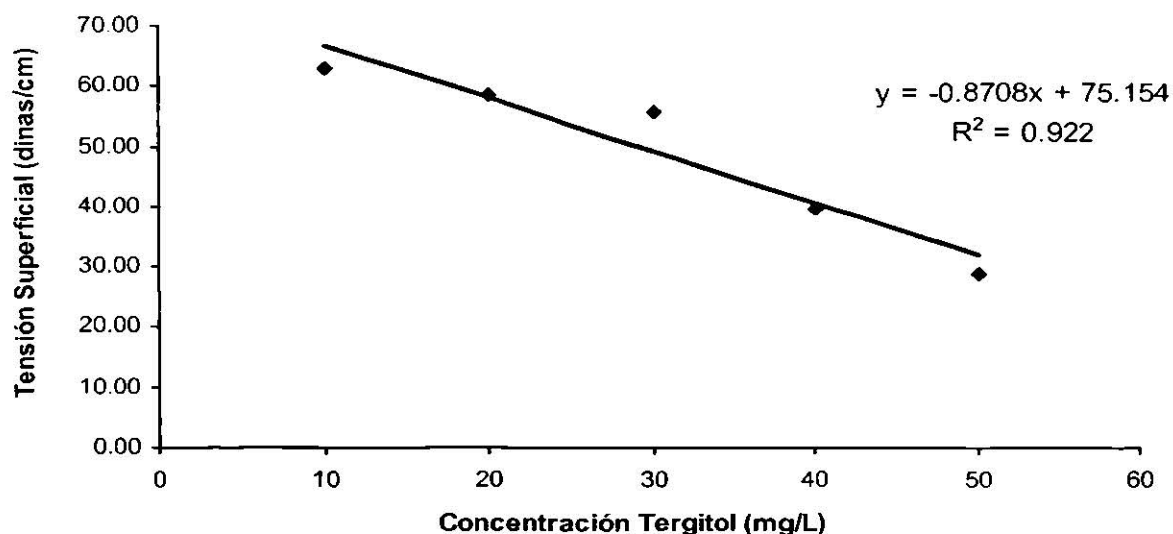


Figura 90. Curva de calibración de los estándares de Tergitol NP-10

La ecuación obtenida del análisis de regresión de la tensión superficial en relación con la concentración de Tergitol NP-10 es:

$$Y = -0.8708X + 75.15$$

$$R^2 = 0.922$$

A través del despeje de esta ecuación, se obtuvo el equivalente a las concentraciones de Tergitol NP-10 presentes en las muestras de los bioensayos, las cuáles se presentan en la Tabla 103.

Tabla 103. Concentraciones extrapoladas de Tergitol NP-10 presentes en las muestras de los bioensayos

Muestra	Concentración (mg/L)
Muestra de bioensayo sin Tergitol	22.64
Muestra de bioensayo con Tergitol	35.45

La gráfica del logaritmo natural de las concentraciones de las muestras contra la tensión superficial se presenta en la Figura 91:

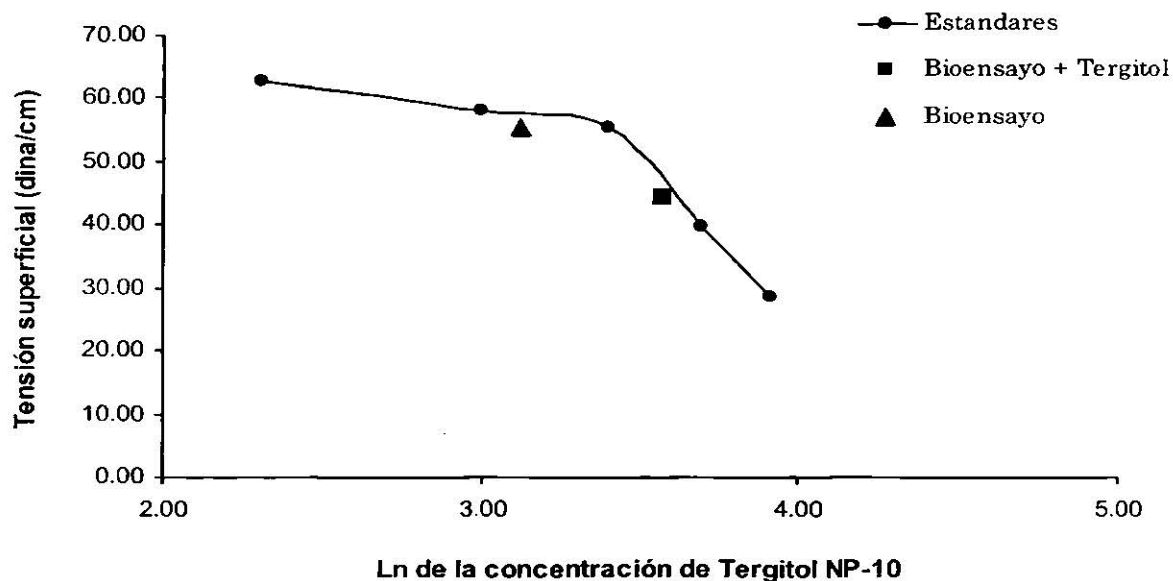


Figura 91. Gráfica del análisis de la tensión superficial de las muestras de los bioensayos

En la Figura 91 se observa el quiebre en la pendiente que presentó la tensión superficial a partir de los 30 mg/L de Tergitol NP-10, que indica la zona en la cual inicia el intervalo de concentraciones que representa la Concentración Micelar Crítica (CMC). Se observa también que la muestra del bioensayo que no contenía surfactante se encuentra por debajo de este intervalo, donde la tensión superficial no varía. En cambio, la muestra del bioensayo que contenía surfactante sí se encuentra dentro del intervalo, lo que indica que el Tergitol NP-10 podría aumentar la biodisponibilidad de los sustratos en las condiciones normales de temperatura y presión.

Esto resulta de gran interés, ya que la biorremediación es una técnica que se aplica *in situ*, por lo que no existe un control en los parámetros ambientales, De llevarse a cabo un cambio en la tensión superficial con respecto a la temperatura o presión ambiental, no contribuiría a una pérdida significativa en la biodisponibilidad de los sustratos. Sin embargo, esto se tendría que comprobar realizando un estudio más detallado, determinando la biodisponibilidad de los sustratos con respecto a la tensión superficial y a sus cambios con respecto a la temperatura y presión de experimentación.

7. COEFICIENTES ADIMENSIONALES DE HENRY

Los coeficientes adimensionales de Henry (K_H) se obtuvieron para cada uno de los BTEoX y el EMTB, estando estos compuestos presentes en conjunto en las muestras analizadas. Los K_H se obtuvieron analizando en el cromatógrafo de gases la fase de vapor y la fase líquida. Para la fase de vapor se emplearon 10 mL y para la fase líquida se emplearon 5 mL. El hecho de haber analizado el doble de volumen de la fase gaseosa se debió a la necesidad de inyectar una cantidad que estuviera dentro del intervalo de detección del detector.

Las áreas reportadas en el Anexo I corresponden a la masa detectada en 10 mL de la fase gaseosa y 5 mL de la fase líquida. Con base en la curva de calibración de la fase líquida (Fig. 92-96) para cada analito se obtuvieron las masas correspondientes a las áreas mostradas en el Anexo I. Estas masas se extrapolaron a las masas contenidas en los 25 mL de la fase de vapor del tubo Falcon® y a los 25 mL de la fase líquida contenida en el tubo Falcon®. La masa contenida en los 25 mL de vapor se dividió por 25 y se expresó como microgramos por mililitro, igualmente se hizo para la fase líquida (Tablas 106 y 107).

A continuación se presentan las curvas de calibración de la fase líquida de cada analito, utilizadas para la determinación de los K_H :

a) Benceno

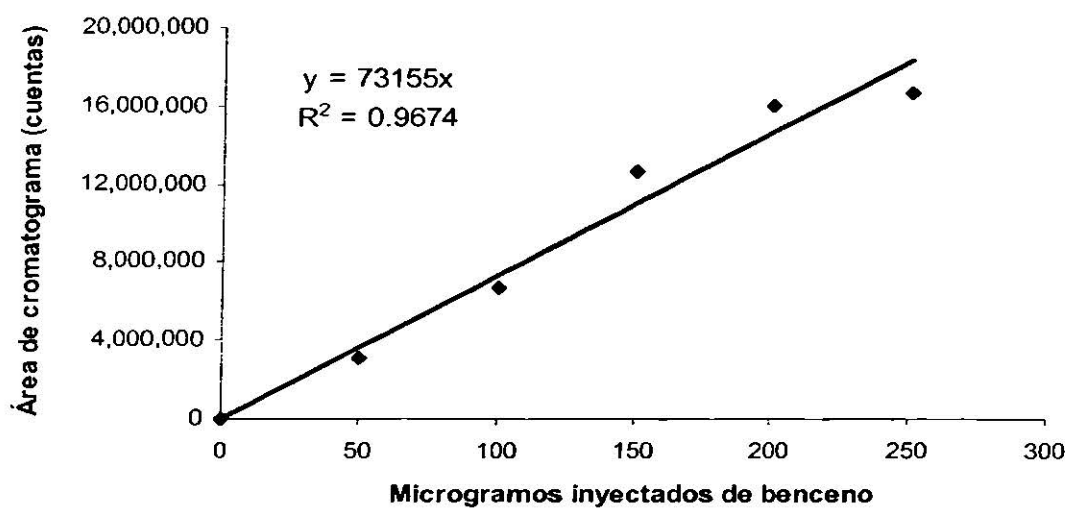


Figura 92. Curva de calibración de la fase líquida de benceno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de cromatograma en relación con los microgramos teóricos inyectados de benceno es:

$$Y = 73155X$$

$$R^2 = 0.9674$$

b) Tolueno

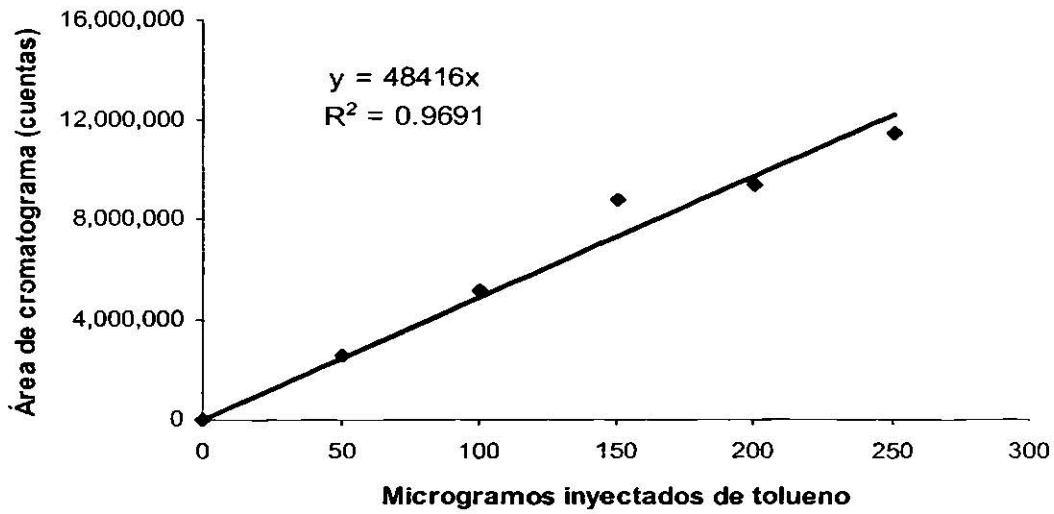


Figura 93. Curva de calibración de la fase líquida de tolueno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de cromatograma en relación con los microgramos teóricos inyectados de tolueno es:

$$Y = 48416X$$

$$R^2 = 0.9691$$

c) Etilbenceno

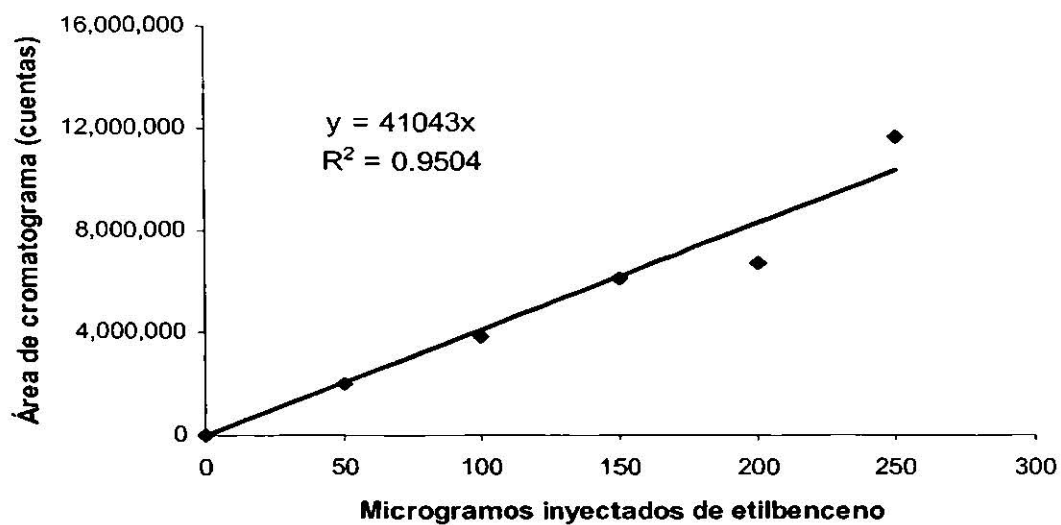


Figura 94. Curva de calibración de la fase líquida de etilbenceno estando presente los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de cromatograma en relación con los microgramos teóricos inyectados de etilbenceno es:

$$Y = 41043X$$

$$R^2 = 0.9504$$

d) o-Xileno

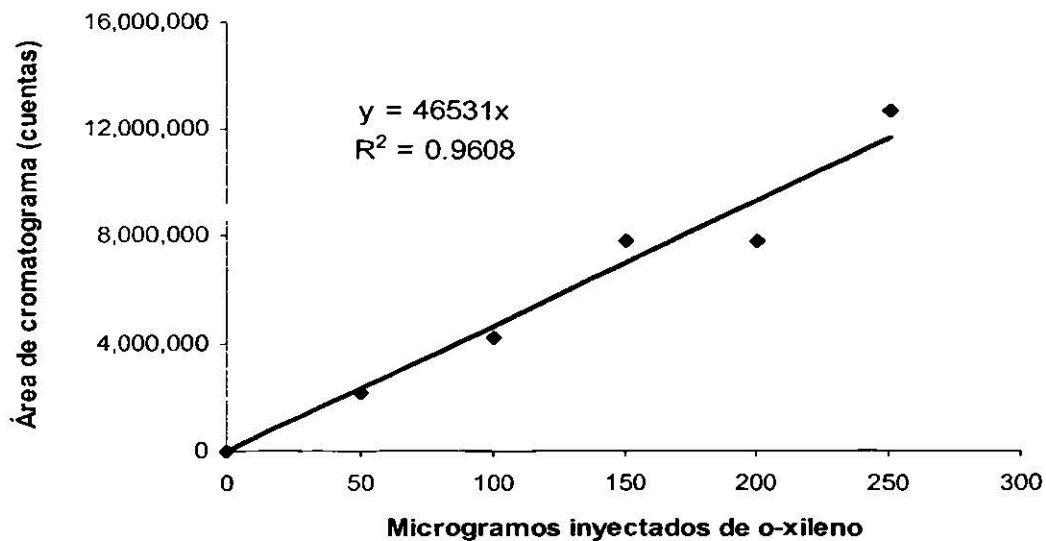


Figura 95. Curva de calibración de la fase líquida de o-xileno estando presentes los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de cromatograma en relación con los microgramos teóricos inyectados de o-xileno es:

$$Y = 46531X$$

$$R^2 = 0.9608$$

e) EMTB

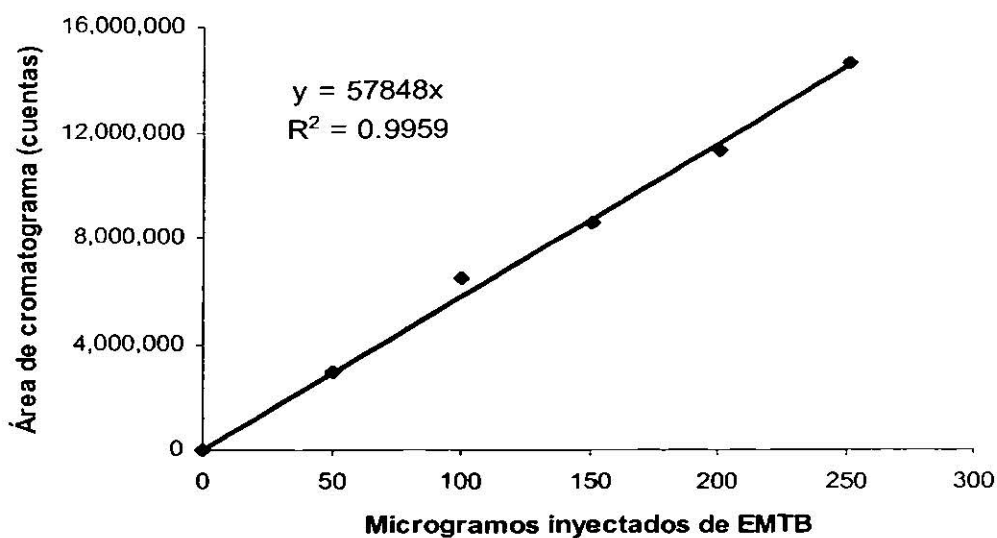


Figura 96. Curva de calibración de la fase líquida de EMTB estando presente los BTEoX y EMTB

La ecuación obtenida del análisis de regresión de las áreas de cromatograma en relación con los microgramos teóricos inyectados de EMTB es:

$$Y = 57848X$$

$$R^2 = 0.9959$$

A través de las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración de cada analito, se obtuvieron las masas de los BTEoX y EMTB que fueron inyectadas. Estas masas, fueron extrapoladas al volumen total de la muestras, lo cual se calculó de la siguiente manera:

$$M_{EL} = (M_L) (5 \text{ mL}) \quad (7.1)$$

Donde:

M_{EL} : Masa extrapolada del analito en la fase líquida para un total de 25 mL

M_L : Masa obtenida del analito en la muestra líquida inyectada

$$M_{EV} = (M_V) (2.5 \text{ mL}) \quad (7.2)$$

Donde:

M_{EV} : Masa extrapolada del analito en la fase de vapor

M_V : Masa obtenida del analito en la muestra gaseosa inyectada

A través de lo anterior, se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tablas 104 y 105.

Tabla 104. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase líquida.

Analito	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar
	10 mg/L (μg)	20 mg/L (μg)	30 mg/L (μg)	40 mg/L (μg)	50 mg/L (μg)
Benceno	211.60	458.50	857.10	1,093.60	1,135.20
Tolueno	261.75	526.04	904.64	958.42	1,117.73
Etilbenceno	245.83	465.50	745.11	817.73	1,413.37
o-Xileno	228.21	450.75	836.10	838.02	1,352.01
EMTB	255.25	557.69	738.88	970.64	1,256.17

Tabla 105. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase de vapor.

Analito	Estándar 10 mg/L (μg)	Estándar 20 mg/L (μg)	Estándar 30 mg/L (μg)	Estándar 40 mg/L (μg)	Estándar 50 mg/L (μg)
Benceno	38.00	58.90	109.40	120.00	147.50
Tolueno	52.43	76.14	119.02	135.68	184.74
Etilbenceno	33.19	54.44	91.63	101.92	141.73
o-Xileno	26.01	38.19	57.80	64.87	92.69
EMTB	6.49	10.60	19.31	22.94	25.84

Las concentraciones de las muestras se obtuvieron de la división de las masas de las Tablas 104 y 105 por el volumen de 25 mL (Tablas 106 y 107).

Tabla 106. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase líquida.

Analito	Estándar 10 mg/L ($\mu\text{g/mL}$)	Estándar 20 mg/L ($\mu\text{g/mL}$)	Estándar 30 mg/L ($\mu\text{g/mL}$)	Estándar 40 mg/L ($\mu\text{g/mL}$)	Estándar 50 mg/L ($\mu\text{g mL}$)
Benceno	8.46	18.34	34.28	43.74	45.41
Tolueno	10.47	21.04	36.18	38.33	47.11
Etilbenceno	9.83	18.62	29.80	32.71	56.53
o-Xileno	9.13	18.03	33.44	33.52	54.08
EMTB	10.21	22.30	29.56	38.83	50.25

Tabla 107. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase de vapor.

Analito	Estándar 10 mg/L (µg/mL)	Estándar 20 mg/L (µg/mL)	Estándar 30 mg/L (µg/mL)	Estándar 40 mg/L (µg/mL)	Estándar 50 mg/L (µg mL)
Benceno	1.52	2.36	4.38	4.80	5.90
Tolueno	2.10	3.05	4.76	5.43	7.39
Etilbenceno	1.33	2.18	3.67	4.08	5.67
o-Xileno	1.04	1.53	2.31	2.59	3.71
EMTB	0.26	0.46	0.77	0.92	1.03

Las constantes de Henry para cada analito estando en conjunto, se obtuvieron de la división de la concentración obtenida en la fase de vapor por la concentración obtenida en la fase líquida.

$$K_H = \frac{\text{Concentración del analito en la fase de vapor en 25 mL}}{\text{Concentración del analito en la fase líquida en 25 mL}}$$

Los cuales se presentan en la Tabla 108.

Tabla 108. Coeficientes adimensionales de Henry (K_H).

Analito	Estándar 10 mg/L	Estándar 20 mg/L	Estándar 30 mg/L	Estándar 40 mg/L	Estándar 50 mg/L
Benceno	0.1796	0.1284	0.1276	0.1097	0.1299
Tolueno	0.2003	0.1447	0.1316	0.1416	0.1569
Etilbenceno	0.1350	0.1170	0.1230	0.1246	0.1003
o-Xileno	0.1140	0.0847	0.0691	0.0774	0.0686
EMTB	0.0254	0.0190	0.0261	0.0236	0.0206

En base a estos resultados, podemos observar que la relación de los sustratos en la fase líquida y en la fase de vapor, tendió a ser mayor en la primera, lo que indica que la mayor parte de los BTEoX y EMTB permanecen en el medio líquido, como se ha comprobado que sucede en los mantos freáticos contaminados (Chang *et al.*, 2001). Esto nos indica que en un caso real, los contaminantes sean eliminados en mayor porcentaje por el proceso de biodegradación, que por el desplazamiento de los BTEoX y EMTB a la fase gaseosa.

V. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el capítulo 4 se puede concluir lo siguiente:

La masa celular medida como sólidos suspendidos volátiles, a una concentración de 905 mg/L, aclimatada a 800 mg/L de BTEX totales fue capaz de biodegradar en un alto porcentaje al benceno (98.97%), tolueno (99.76%) y etilbenceno (99.19%), utilizando para ello el modelo de doble compartimento en la cinética de biodegradación. En cambio, el *o*-xileno y el EMTB presentaron cierta recalcitrancia, al ser biodegradados solamente el 50% de *o*-xileno y cerca del 10% de EMTB.

La presencia de suelo en el medio de cultivo afectó de manera negativa la eficiencia de la biodegradación de los BTEoX al presentarse el efecto de partición agua:suelo, lo cual sugiere que la biodisponibilidad de éstos compuestos disminuye en el medio de cultivo. La disminución en la biodisponibilidad de otras fuentes de carbono asimilables como los BTEoX favoreció el incremento en la biodegradación del EMTB.

Aunque la biomasa por sí misma contribuyó en la disminución de la tensión superficial, la actividad del surfactante Tergitol NP-10 condujo a la muestra a estar dentro del intervalo de concentraciones que pertenecen a la concentración micelar crítica (CMC), contribuyendo de manera significativa, a incrementar la biodisponibilidad de los sustratos. Adicionalmente, el Tergitol

NP-10 pudiera haber contribuido en el cometabolismo de los BTEoX y EMTB, ya que la eficiencia de la biomasa se incrementó cuando ésta se encontraba en presencia del surfactante como se observó en los siguientes porcentajes: benceno (96.51%), tolueno (99.69%), etilbenceno (99.76%), o-xileno (62.97%) y EMTB (14.26%).

Los BTEoX presentaron el siguiente orden general de coeficientes de Henry estando en conjunto:

tolueno > benceno > etilbenceno > o-xileno >> EMTB

Lo cual confirma que el EMTB es el compuesto de mayor solubilidad, mientras que el tolueno es el compuesto que se volatiliza con mayor facilidad, por lo cual presenta una mayor tendencia de escape del sistema.

Los resultados obtenidos en la presente investigación aportaron datos de las constantes de biodegradación de los BTEoX y EMTB no reportadas anteriormente en la literatura científica, particularmente porque son valores obtenidos estando en forma conjunta estos sustratos, en microambientes que, en cierta forma, simulan las condiciones reales en sitios contaminados con hidrocarburos de la gasolina. Si bien, las condiciones ambientales de los sitios contaminados son múltiples y varían en función de la naturaleza del suelo, del agua y de variables fisicoquímicas y microbiológicas, el presente estudio aportó una metodología para pruebas de biodegradabilidad para sustratos múltiples en microambientes de agua y de agua y suelo. Adicionalmente, el presente

estudio aportó la metodología para posibles alternativas de estimulación de la biodegradación mediante el uso de surfactante no iónico para el caso de factores ambientales que proveen de recalcitrancia al sistema, como lo demostró el uso del Tergitol NP-10, que demostró capacidad para revertir el efecto recalcitrante del suelo en el caso de la biodegradabilidad de los BTEoX.

Cabe mencionar que la metodología de tratabilidad de este estudio es original, toda vez que no ha sido reportada en la literatura científica por otros laboratorios y es propositiva desde el punto de vista de que emplea volúmenes de prueba mínimos necesarios que permiten la autotratabilidad de los residuos de las muestras sacrificadas para el análisis químico, dando lugar así a descargas de aguas residuales del laboratorio compatibles con el ambiente.

En general, el trabajo desarrollado en la presente investigación aportó conocimientos relacionados con una tecnología de bajo costo, compatible con el ambiente y el entorno social, así como la legislación internacional, incluyendo la normatividad mexicana, lo cual la hace atractiva para extrapolarla a niveles superiores de prueba como lo sería a nivel semipiloto.

VI. RECOMENDACIONES

Es recomendable que la biomasa actualmente aclimatada a 800 mg/L de BTEX totales, sea aclimatada a una concentración menor, ya que cabe la posibilidad de que las biodegradaciones realizadas por doble compartimento hayan sido causadas por una sobre exposición de los sustratos, de tal manera que hayan causado cierta toxicidad sobre la biomasa.

Se recomienda desarrollar una biomasa aparte, capaz de biodegradar los residuos del o-xileno y el EMTB, estando ambos juntos, la cual podría adicionarse a las 24 horas, que es el tiempo en el cual la biomasa empleada en este estudio, disminuye su actividad. Otra opción podría ser la de probar el uso de un reactor de flujo continuo con biomasa fija a la base estacionaria para analizar su capacidad en incrementar la biodegradación del o-xileno y del EMTB.

Para obtener una mejor comprensión del beneficio de la biodisponibilidad de los sustratos en el medio de cultivo por el surfactante Tergitol NP-10, es recomendable realizar un estudio más detallado acerca de la actividad que éste presenta en el sistema, por ejemplo la determinación cuantitativa de la tensión superficial bajo parámetros controlados de presión y temperatura, así como su variación con respecto a estos factores.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Acuña-Askar, K., Englande, A. J., Jr., Ramírez-Medrano, A., Coronado-Guardiola, J. E. y Chávez-Gómez, B. (2002a). *Evaluation of Biomass Production in Unleaded Gasoline and BTEX-fed Batch Reactors*. Environmental Biotechnology. Massey University Press. Palmerston North, Nueva Zelanda, pp. 291-297.

Acuña-Askar K., Englande, A. J., Jr., Coronado-Guardiola J. E., Rodríguez-Fuentes H., Marmolejo J. G., Chávez-Gómez B. y Nevarez-Moorillón G. V. (2002b). *Degradación química de BTEX y EMTB por el reactivo de Fenton*. Memorias División de Química Ambiental del XXV Congreso Latinoamericano y XXXVII Congreso Mexicano de Química. Cancún, Quintana Roo, México. Pgs. 174-177.

Acuña-Askar, K., Villarreal-Chiu, J. F., Gracia-Lozano, M. V., Garza-González, M. T., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Sánchez, I. P. y Barrera-Saldaña, H. A. (2003a). *BTE-oX biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation*. Proceedings of the 4th Specialized International Water Association Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water (ECOHAZARD 2003). Aachen, Alemania, 14-17 de septiembre de 2003 (aceptado para su publicación).

Acuña-Askar, K., Moeller-Chávez, G., Rodríguez-Fuentes, H., De Lira-Reyes, G., Vidales-Contreras, J. A., Marmolejo J. G. and Chávez-Gómez, B. (2003b). *BTE-oX biodegradation by biomass acclimated under two different BTEX concentrations*. International Water Association, Specialised Conference on Environmental Biotechnology, Kuala Lumpur, Malasia, 9-10 de diciembre (aceptado para su publicación en la Conferencia Especializada, en prensa).

Alfaro-Rodríguez, J. F. (2002). Balance de masas en la biodegradación de benceno, tolueno, etilbenceno y o-xileno por un cultivo microbiano mixto aclimatado. Tesis Profesional, Facultad de Agronomía, U.A.N.L., Marín, N.L.

Álvarez, P. J. y Vogel, T. M. (1995). *Degradation of BTEX and their aerobic metabolites by indigenous microorganisms under nitrate reducing conditions*. *Wat. Sci. Tech.* 31(1), 15-28.

ATSDR. (1995). *Toxicological profile for automotive gasoline*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

ATSDR. (1996). *Toxicological profile for xylene*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

- ATSDR. (1997). *Toxicological profile for benzene*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.
- ATSDR. (1999). *Toxicological profile for ethylbenzene*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.
- ATSDR. (2001). *Toxicological profile for toluene*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.
- ATSDR. (2002). *Toxicological profile for methyl-tert-butyl ether*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.
- Barreto R. D., Gray K. A. y Anders K. (1995). *Photocatalytic degradation of methyl tert-butyl ether in TiO₂ slurries: a proposed reaction scheme*. *Wat. Res.* 29(5), 1243-1248.
- Belpoggi, F., Soffritti, M. y Maltoni, C. (1995). *Methyl tertiary-butyl ether (MTBE) a gasoline additive causes testicular and lymphohaematopoietic cancers in rats*. *Toxicol. Ind. Health.* 11: 119-149.
- Bergsagel, D. E., Wong, O. y Bergsagel, P. L. (1999). *Benzene and multiple myeloma: appraisal of the scientific evidence*. *Blood* 94: 1174-1182.
- Bradley P. M., Chapelle F. H. y Landmeyer J. E. (2001). *Methyl t-butyl ether mineralization in surface-water sediment microcosms under denitrifying conditions*. *Appl. Environ. Micro.* 67(4), 1975-1978.
- California Code of Regulations (2002) *Domestic water quality and monitoring*. California, USA.
- Chang, S. W., La, H. J. y Lee, S. J. (2001). *Microbial degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) contaminated groundwater in Korea*. *Wat. Sci. Tech.* 44(7), 165-171.
- Daniel, W. W. (1987). *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. 5th Edition. John Wiley & sons, Inc. USA.
- Daniels, F., Mathews J. H., Williams, J. W., Bender, P. y Alberty, R. A. (1962). *Experimental Physical Chemistry*. 6a. Ed. Mc Graw Hill, Inc. Kogakusha, Co. Ltd. New York, N.Y.
- Dean, B. J. (1978). *Genetic toxicology of benzene, toluene, xylenes and phenols*. *Mutat. Res.* 47:157-164.

- Di Lecce, C., Accarino, M., Bolognese, F., Galli, E. y Barbieri, P. (1997). *Isolation and metabolic characterization of a Pseudomonas stutzeri mutant able to grow on the three isomers of xylene*. Appl. Environ. Micro. 63(8), 3279-3281.
- Eckenfelder, W. W., Jr. (1989). *Industrial water pollution control*. McGraw-Hill. 2nd Edition. México
- Edwards E. A. y Grbic-Galic D. (1992). *Complete mineralization of benzene by aquifer microorganisms under strictly anaerobic conditions*. Appl. Environ. Micro. 58(8), 2663-2666.
- Eweis, J. B., Ergas S. J., Chang D. P. Y. y Schroeder, E. D. (1999). *Principios de biorrecuperación*. McGraw Hill-Interamericana de España, S.A.U. Madrid, España.
- Falatko, D. M. y Novak, J. T. (1992). *Effects of biologically produced surfactants on the mobility and biodegradation of petroleum hydrocarbons*. Wat. Environ. Res. 64(2), 163-169.
- García-Peña, I., Hernández, S., Acevedo, M. y Revah, S. (2003). *Biodegradación de BTEX con Scedosporium apiospermum*. X Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería; Puerto Vallarta, México.
- Hartley, W.R., Englande, A.J., Jr. and Harrington, D.J. (1999). *Health risk assessment of groundwater contaminated with methyl tertiary-butyl ether (MTBE)*. Wat. Sci. Tech., 39(10-11), 305-310.
- Hatzinger, P. B., McClay, K., Vainberg, S., Tugusheva, M., Condee, C. W. y Steffan, R. J. (2001). *Biodegradation of methyl tert-butyl ether by a pure bacterial culture*. App. Environ. Micro. 67(12), 5601-5607.
- Henry J. G. y Heinke G. W. (1999). *Ingeniería ambiental*. 2a. Ed. Prentice Hall Hispanoamericana, S.A. de C.V. México
- Klaassen, C. D. (2001). *Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons*. McGraw-Hill. 6th Edition. USA.
- Maron, S. H., y Prutton, C. F. (1984). *Fundamentos de fisicoquímica*. Ed. Limusa, S.A. de C.V. México.
- Merck Index. (1989). 11th Ed. Merck & Co. Rahway, New Jersey, USA.
- Michael, L. C. y Pellizarl, E.P. *Development and evaluation of a procedure for determining volatile organics in water*. Environ. Sci. Tech. 22(5), 565-570.

- Morrison R. T. y Boyd R. N. (1998). *Química Orgánica*. Pearson Educación. 5ª Edición, Edo. de México, México.
- North Carolina Department of Environmental and Natural Resources (2002). *Risk-based assessment and corrective action for petroleum underground storage tanks. Maximum soil contaminant concentrations*. Mooresville Regional Office, Mooresville, North Carolina.
- Prenafeta-Boldú, F. X., Vervoort, J., Grotenhuis, J. T. C. y Groeneštij, J. W. (2002). *Substrate interactions during the biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene (BTEX) hydrocarbons by the fungus Cladophialophora sp. Strain T1*. *App. Environ. Micro.* 68(6), 2660-2665.
- SSA. (2000). *Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. Secretaría de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, México.
- SEMARNAT. (2002a). *Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-138-ECOL-2002. Límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
- SEMARNAT. (2002b). *Antecedentes de la SEMARNAT*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
<http://www.semarnat.gob.mx/portal/index.shtml>
- Sangster, J. (1989). *Octanol-water partition coefficients of simple organic compounds*. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 18(3) 1111-1229
- Shoemaker, D. P., Garland, C. W. y Nibler, J. W. 1989. 5a. Ed. Mc Graw Hill, Inc. New York, N.Y.
- Squillace, P. G., Zogorski, J. S., Wilber, W. J. y Price, C. V. (1996). *Preliminary assessment of the occurrence and possible sources of MTBE in groundwater in the United States, 1993-1994*. *Environ. Sci. Tech.* 30(5), 1721-1730.
- Snyder, R., Witz, G., Goldstein, B. D. (1993). *The toxicology of benzene*. *Environ. Health Perspect.* 100: 293-306.
- Standard methods for the examination of water and wastewater* (1998). 20th Edition. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA.

- Stewart, W. C. y Kamarthi, R. (1997). *Biofilter application for control of BTEX compounds from glycol dehydrator condenser vent gases at oil and natural gas producing facility*. Air and Waste Management Association Annual Meeting and Exhibition. Toronto, Ontario.
- Stiner, L. y Halverson L. J. (2002). *Development and characterization of a green fluorescent protein-based bacterial biosensor for bioavailable toluene and related compounds*. Appl. Environ. Micro. 68:1962-1971.
- Townend, J. (2002). *Practical statistics for environmental and biological scientists*. John Wiley & sons, LTD. England
- Tsao C.W., Song H.G. y Bartha R. (1998). *Metabolism of benzene, toluene and xylene hydrocarbons in soil*. Appl. Environ. Micro. 64(12), 4924-4929.
- UM-BBD. (2003). *Biocatalysis / Biodegradation Database*. University of Minnesota. <http://umbbd.ahc.umn.edu/index.html>
- USEPA. (1986). Methods 5030, 8000, 8015 and 8280. Test methods for evaluating solid waste, vol. 1B, laboratory manual, physical/chemical methods (SW-846), 3rd edition with updates III, 1995. United States Environmental Protection Agency. Office of Emergency Response, Washington, D.C., USA.
- USEPA. (2000). *National Water Quality Inventory. 1998 Report to Congress. Ground Water and Drinking Water Chapters*. United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C., USA.
- USEPA. (2003). *National Primary Drinking Water Standards*. United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C., USA.
- Villarreal-Chiu, J. F., Gracia-Lozano, M. V., Garza-González, M. T., Acuña-Askar, K., Rodríguez-Sánchez, I. P., Barrera-Saldaña, H. A. (2003). *Biodegradación aeróbica de BTEX en presencia de EMTB en muestras de suelo*. XXXVIII Congreso Mexicano de Química (aceptado para su publicación), Ixtapa, Guerrero.
- Volkerling, F., Breure, A. M., van Andel, J. G. y Rulkens, W. H. (1995). *Influence of nonionic surfactants on bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Appl. Environ. Micro. 61(5), 1699-1705.
- Wilson G. J., Richter A. P., Suidan M. T. y Venosa A. D. (2001). *Aerobic biodegradation of gasoline oxygenates MTBE and TBA*. Wat. Sci. Tech., 43(2), 277-284.

VIII. ANEXOS

A. Áreas de cromatogramas en estándares de la curva de calibración.

Conc. Inicial (mg/L)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	0	0	0	0	0
10	3,945,385	4,275,246	3,255,377	3,232,125	3,439,931
20	9,418,490	8,183,780	6,814,614	7,308,604	5,519,253
30	14,555,283	13,310,382	9,064,791	11,486,786	10,529,991
40	17,684,988	14,686,803	14,081,679	14,659,854	10,083,237
50	23,779,864	22,467,596	18,902,060	20,318,218	14,837,257

B. Áreas de cromatogramas obtenidas en la réplica 1 del estudio cinético experimental.

I. Muestras control.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,332,967	15,617,650	12,296,697	13,759,259	14,570,139
6	14,406,009	12,635,104	10,389,015	12,752,148	14,506,652
12	15,832,038	12,437,806	9,680,155	13,802,341	13,923,284
18	16,246,246	15,885,686	11,440,229	13,159,421	17,404,482
24	14,582,387	16,381,064	12,473,990	14,991,279	14,943,516
30	14,000,350	11,692,410	11,702,192	14,767,411	14,932,885
36	13,447,086	12,603,933	8,464,809	10,188,060	14,758,360

II. Muestras con suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	16,008,060	16,836,768	12,645,131	14,206,730	14,175,288
6	15,471,341	14,861,694	9,896,201	11,606,672	17,895,650
12	14,134,782	14,271,635	12,490,552	14,378,313	15,565,119
18	13,953,548	11,995,988	7,228,370	8,438,797	16,979,360
24	2,473,062	1,325,428	591,708	1,026,035	7,019,272
30	11,891,720	13,746,938	8,817,547	11,061,052	14,908,960
36	10,546,014	7,448,679	5,313,121	6,159,500	13,870,748

III. Muestras con suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,832,376	14,580,346	11,234,261	11,103,133	13,590,166
6	15,647,974	13,331,706	9,260,379	10,099,451	14,748,174
12	16,116,582	13,887,579	10,016,481	11,092,284	14,182,676
18	15,839,318	13,943,434	7,451,581	9,885,043	15,156,571
24	15,737,755	17,797,704	10,850,599	14,429,660	13,523,077
30	13,757,268	17,346,578	13,414,910	13,175,945	15,989,275
36	10,634,112	9,567,458	6,934,964	8,748,642	13,389,287

IV. Muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,760,012	12,963,570	7,566,578	8,670,881	13,890,007
6	13,170,898	13,132,051	6,794,440	8,561,456	13,472,722
12	10,520,136	11,996,838	6,427,794	10,478,153	12,718,241
18	10,225,586	8,776,713	3,009,575	7,493,703	13,630,162
24	8,449,060	2,031,737	209,908	9,288,743	13,847,234
30	315,131	39,198	93,510	5,985,284	13,008,559
36	59,035	22,882	66,129	4,914,249	12,707,041

V. Muestras con biomasa y suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,643,566	14,718,599	11,041,747	12,402,698	12,627,165
6	12,086,232	12,119,177	8,215,682	9,082,392	13,326,332
12	15,921,995	12,108,439	6,968,096	8,865,817	16,745,683
18	13,572,312	10,115,413	4,227,768	6,898,267	13,710,761
24	10,699,552	2,242,673	32,876	6,514,045	12,834,006
30	7,374,861	436,417	82,547	8,144,472	14,324,662
36	6,593,592	319,202	61,829	5,376,504	12,740,950

VI. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	15,095,657	13,638,979	7,561,497	8,130,843	13,586,282
6	11,646,307	11,604,599	5,544,807	6,836,183	10,841,039
12	14,189,078	13,713,963	5,546,287	9,666,904	13,157,851
18	13,965,339	11,474,003	3,585,092	7,613,352	13,374,061
24	7,123,434	1,023,373	187,640	8,013,635	12,772,923
30	2,423,503	47,169	19,962	5,379,786	14,058,962
36	348,336	47,350	17,261	1,595,336	12,249,275

C. Áreas de cromatogramas obtenidas en la réplica 2 del estudio cinético experimental.

I. Muestras control.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,586,200	13,791,142	14,051,617	15,211,828	13,151,381
6	13,481,858	13,539,790	9,227,693	10,460,175	14,787,227
12	11,805,114	11,062,137	6,086,406	8,820,626	13,929,055
18	13,780,546	14,813,343	11,972,974	14,432,398	15,087,080
24	12,317,610	14,630,541	10,795,337	13,582,292	14,737,061
30	14,674,420	15,026,250	11,203,500	13,746,597	14,988,358
36	10,994,380	11,561,691	7,330,966	9,078,786	12,860,327

II. Muestras con suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	15,135,246	13,345,017	9,912,105	12,904,825	15,175,468
6	14,687,251	12,988,715	9,794,739	10,530,808	14,777,684
12	14,373,473	11,947,936	9,540,794	9,411,912	14,225,415
18	13,457,427	12,538,571	8,079,731	8,816,405	14,813,023
24	16,405,670	15,477,232	8,971,221	13,274,608	14,627,095
30	17,150,976	13,988,012	10,830,984	11,201,895	14,657,666
36	4,212,815	3,050,278	1,593,254	2,179,410	8,896,605

III. Muestras con suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,378,850	14,188,114	10,505,226	12,073,400	14,352,651
6	14,551,749	16,029,289	10,047,038	10,805,230	14,898,945
12	12,978,712	14,025,158	8,276,096	9,965,594	15,201,011
18	13,718,414	11,317,476	5,605,831	6,990,068	17,441,324
24	17,504,598	14,911,032	10,432,399	11,934,478	15,357,016
30	15,033,727	11,472,648	9,135,395	9,825,416	15,948,383
36	11,979,164	11,861,142	6,228,160	7,407,114	13,691,173

IV. Muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,532,279	13,183,077	9,596,708	10,220,628	14,544,474
6	12,026,107	12,359,033	7,582,509	9,532,194	13,912,096
12	13,490,666	15,884,428	11,866,716	13,187,088	14,267,935
18	12,630,946	10,584,797	2,267,529	8,923,624	14,426,390
24	1,010,330	109,016	46,768	5,869,799	13,640,883
30	55,003	23,028	45,085	3,726,025	12,638,657
36	29,624	10,598	28,033	2,843,111	13,620,867

V. Muestras con biomasa y suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	15,169,497	12,706,080	8,183,343	10,421,863	11,976,211
6	12,040,537	12,544,034	7,226,172	9,003,003	12,077,994
12	13,810,875	12,275,509	5,878,728	11,127,497	13,487,145
18	15,338,367	8,433,727	1,268,831	7,348,291	14,282,255
24	4,146,369	297,541	64,933	6,385,406	13,331,395
30	68,793	10,304	31,263	2,659,167	13,660,509
36	5,099,585	669,504	221,851	6,628,192	14,503,016

VI. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,165,058	10,896,347	7,348,917	9,565,883	12,990,354
6	14,642,507	14,462,498	8,189,074	10,444,543	13,683,853
12	13,565,870	12,576,002	5,567,085	10,160,568	13,642,884
18	12,505,157	7,335,449	313,110	7,922,262	13,584,026
24	3,179,378	71,647	38,556	4,707,530	13,231,877
30	302,686	21,704	8,884	1,194,833	7,001,839
36	942,851	10,096	5,976	4,457,708	13,895,445

D. Áreas de cromatogramas obtenidas en la réplica 3 del estudio cinético experimental.

I. Muestras control.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,327,415	14,947,405	13,965,465	15,379,133	15,651,038
6	15,492,390	14,934,007	10,716,124	13,586,854	16,250,092
12	14,675,357	15,304,749	10,611,276	12,994,650	14,984,857
18	13,189,097	14,506,202	11,756,302	14,629,922	14,921,712
24	12,330,455	12,984,414	8,580,002	10,699,387	15,816,698
30	11,836,650	13,064,106	10,639,957	13,769,930	14,373,365
36	15,100,824	15,546,811	10,775,016	13,057,193	14,611,740

II. Muestras con suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,031,152	13,580,522	11,900,916	11,470,502	14,257,882
6	10,943,347	12,356,165	8,062,752	9,878,103	14,868,011
12	11,009,090	10,776,333	8,380,715	10,571,673	14,419,681
18	11,355,051	12,291,156	8,701,544	11,562,532	14,188,426
24	11,180,588	9,020,108	5,676,736	7,305,066	14,367,127
30	11,365,762	12,711,069	8,221,258	10,440,009	14,861,429
36	6,998,444	6,036,021	3,351,633	4,361,379	13,466,784

III. Muestras con suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,646,446	10,666,257	8,514,620	11,541,089	16,929,720
6	12,861,561	14,131,051	8,825,659	10,515,095	15,739,991
12	12,945,021	15,130,379	10,554,287	12,056,608	14,262,554
18	11,385,519	13,138,046	8,428,400	10,185,981	14,095,030
24	11,712,159	11,079,271	7,185,213	8,800,243	16,036,653
30	8,749,381	9,804,122	6,030,065	7,974,897	12,995,264
36	15,355,247	14,549,534	9,157,435	11,196,410	13,683,330

IV. Muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	11,320,568	11,232,894	7,600,332	9,073,675	13,219,711
6	10,486,167	12,289,282	7,807,030	9,245,716	13,761,319
12	11,013,197	9,204,240	4,030,178	8,219,398	13,493,620
18	4,055,997	479,606	45,713	6,302,964	12,962,831
24	330,588	212,137	224,137	2,808,397	13,393,034
30	21,928	19,061	28,840	3,590,063	13,927,483
36	305,264	198,888	128,837	6,648,679	13,279,385

V. Muestras con biomasa y suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,119,309	11,973,075	8,132,879	9,115,636	14,040,743
6	14,175,592	13,422,132	8,284,250	10,333,685	13,977,004
12	11,569,918	11,453,503	6,275,919	9,033,869	12,964,080
18	13,480,635	11,495,955	3,669,032	9,465,464	13,630,838
24	5,662,687	1,022,852	390,974	7,166,562	14,171,585
30	2,027,264	285,612	209,720	6,980,660	12,987,275
36	1,391,281	312,553	233,180	5,967,477	12,897,434

VI. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,098,228	10,541,000	8,063,051	9,060,506	12,972,285
6	14,433,732	10,259,965	7,888,060	10,007,184	13,822,113
12	12,428,441	7,097,317	2,559,466	8,058,249	12,451,129
18	11,212,293	10,653,447	1,717,618	9,150,011	13,974,998
24	8,084,274	2,800,477	105,236	8,466,867	13,614,126
30	165,424	158,574	112,046	2,266,394	12,893,600
36	187,552	41,206	18,036	4,968,737	15,642,483

E. Promedio de las áreas de cromatogramas obtenidas en las 3 réplicas del estudio cinético experimental.

I. Muestras control.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,082,194	14,785,399	13,437,926	14,783,406,	14,457,519
6	14,480,085	13,702,967	10,110,644	12,266,392	15,181,323
12	14,104,169	12,934,897	8,792,612	11,872,539	14,279,0665
18	14,405,296	15,069,410	11,723,168	14,073,913	15,804,424
24	13,076,817	14,665,339	10,616,443	13,090,986	15,165,758
30	13,503,806	13,260,922	11,181,883	14,094,646	14,764,869
36	13,180,763	13,237,478	8,856,930	10,774,679	14,076,809

II. Muestras con suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,724,819	14,587,435	11,486,051	12,860,685	14,536,212
6	13,700,646	13,402,191	9,251,231	10,671,861	15,847,115
12	13,172,448	12,331,968	10,137,354	11,453,966	14,736,738
18	12,922,008	12,275,238	8,003,215	9,605,911	15,326,938
24	10,019,773	8,607,588	5,211,379	7,201,903	12,004,498
30	13,469,486	13,482,006	9,289,930	10,900,958	14,809,351
36	7,252,424	5,511,659	3,419,336	4,323,429	12,078,045

III. Muestras con suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,285,890	13,1449,05	10,084,702	11,572,540	14,957,512
6	14,353,761	14,497,348	9,377,692	10,473,258	15,129,036
12	14,013,431	14,347,705	9,615,615	11,038,162	14,548,747
18	13,647,750	12,799,652	7,161,937	9,020,364	15,564,308
24	14,984,837	14,598,002	9,489,404	11,721,460	14,972,582
30	12,513,458	12,784,449	9,526,790	10,325,419	14,977,640
36	12,656,174	11,992,711	7,440,186	9,117,388	13,587,930

IV. Muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	13,204,286	12,459,847	8,254,539	9,321,728	13,884,730
6	11,894,390	12,593,455	7,394,660	9,113,122	13,715,379
12	11,674,666	12,361,835	7,441,563	10,628,213	13,493,268
18	8,970,843	6,613,705	1,774,272	7,573,430	13,673,127
24	3,263,326	784,296	160,271	5,988,979	13,627,050
30	130,687	27,095	55,812	4,433,790	13,191,566
36	131,307	77,456	74,333	4,802,013	13,202,431

V. Muestras con biomasa y suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,310,790	13,132,584	9,119,323	10,646,732	12,881,373
6	12,767,453	12,695,114	7,908,701	9,473,026	13,127,110
12	13,767,596	11,945,817	6,374,248	9,675,727	14,398,969
18	14,130,438	10,015,031	3,055,210	7,904,007	13,874,618
24	6,836,202	1,187,688	162,928	6,682,004	13,445,662
30	3,156,972	244,111	107,843	5,921,433	13,657,482
36	4,361,486	433,753	172,287	5,990,724	13,380,466

VI. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	14,119,647	11,692,108	7,657,822	8,919,077	13,182,973
6	13,574,182	12,109,020	7,207,314	9,095,970	12,782,335
12	13,394,463	11,129,094	4,557,613	9,295,240	13,083,954
18	12,580,929	9,820,966	1,871,940	8,228,541	13,644,361
24	6,129,028	1,298,499	110,477	7,062,677	13,206,308
30	963,871	75,815	46,964	2,947,004	11,318,133
36	492,913	32,884	13,758	3,673,927	13,929,067

F. Concentraciones en mg/L de las muestras analizadas basadas en la curva de calibración y el promedio de las áreas de las 3 réplicas del estudio cinético experimental.

I. Muestras control.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	30.24	35.10	37.92	38.26	49.52
6	31.06	32.53	28.53	31.74	51.99
12	30.29	30.71	24.81	30.82	48.90
18	30.94	35.77	33.08	36.42	54.13
24	28.09	34.82	29.96	33.88	51.94
30	29.00	31.48	31.55	36.47	50.57
36	28.31	31.43	24.99	27.88	48.21

II. Muestras con suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	31.62	34.62	32.41	33.28	49.78
6	29.42	31.82	26.10	27.62	54.27
12	28.29	29.28	28.60	29.64	50.47
18	27.75	29.14	22.58	24.86	52.49
24	21.52	20.44	14.71	18.64	41.11
30	28.93	32.01	26.21	28.21	50.72
36	15.58	13.09	9.65	11.19	41.37

III. Muestras con suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	30.68	31.21	28.46	29.95	51.23
6	30.83	34.42	26.46	27.10	51.82
12	30.10	34.06	27.13	28.56	49.83
18	29.31	30.39	20.21	23.34	53.31
24	32.18	34.65	26.78	30.33	51.28
30	26.88	30.57	26.88	26.72	51.30
36	27.18	28.47	20.99	23.59	46.54

IV. Muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	28.36	29.58	23.29	24.12	47.55
6	25.55	29.90	20.87	23.58	46.97
12	25.07	29.35	21.00	27.50	46.21
18	19.27	15.70	5.01	19.60	46.83
24	7.01	1.86	0.45	15.50	46.67
30	0.28	0.06	0.16	11.47	45.18
36	0.28	0.18	0.21	12.43	45.22

V. Muestras con biomasa y suelo.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	30.74	31.18	25.73	27.55	44.12
6	27.42	30.14	22.32	24.51	44.96
12	29.57	28.36	17.99	25.04	49.31
18	30.35	23.78	8.62	20.45	47.52
24	14.68	2.82	0.46	17.29	46.05
30	6.78	0.58	0.30	15.32	46.78
36	9.37	1.03	0.49	15.50	45.83

VI. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
0	30.32	27.76	21.61	23.08	45.15
6	29.15	28.75	20.34	23.54	43.78
12	28.77	26.42	12.86	24.05	44.81
18	26.98	23.32	5.28	21.29	46.73
24	13.16	3.08	0.31	18.28	45.23
30	2.07	0.18	0.13	7.63	38.76
36	1.06	0.08	0.04	9.51	47.71

G. Datos obtenidos del experimento de sólidos suspendidos volátiles (SSV).

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
	(gramos)	(gramos)	(gramos)
Blanco	1.9383	1.5840	1.9572
	1.9381	1.5855	1.9579
	-	-	-
Peso A	1.9499	1.5994	1.9694
	1.9507	1.5997	1.9689
	-	-	-
Peso B	1.9383	1.5936	1.9583
	1.9380	1.5903	1.9603
	-	1.5907	1.9604

H. Datos obtenidos del experimento de tensión superficial.

Muestra	1ª medición (cm)	2ª medición (cm)	3ª medición (cm)	Peso de la muestra (gramos)
Medio de cultivo	1.4	1.1	1.0	9.9232
Estándar 10 mg/L Tergitol	2.2	2.4	2.2	9.9388
Estándar 20 mg/L Tergitol	2.1	2.2	2.0	9.9392
Estándar 30 mg/L Tergitol	2.1	2.0	1.9	9.9415
Estándar 40 mg/L Tergitol	1.5	1.4	1.4	9.9275
Estándar 50 mg/L Tergitol	1.0	1.1	1.0	9.9298
Muestra de Bioensayo sin Tergitol	2.0	1.9	2.1	9.9241
Muestra de Bioensayo con Tergitol	1.2	1.7	1.9	9.9076
Agua	2.1	2.0	2.3	9.9832

I. Áreas de los cromatogramas de los estándares utilizadas para la determinación experimental de la ley de Henry para los BTEoX y EMTB en conjunto.

I. Áreas de benceno y tolueno

Concentración del estándar (mg/L)	Áreas			
	Benceno		Tolueno	
	Fase Líquida (5 mL)	Fase de vapor (10 mL)	Fase Líquida (5 mL)	Fase de vapor (10 mL)
0	0	0	0	0
10	3,096,200	1,112,228	2,534,604	1,015,544
20	6,707,928	1,723,174	5,093,725	1,474,586
30	12,539,932	3,199,918	8,759,847	2,304,982
40	16,000,472	3,511,012	9,280,613	2,627,676
50	16,608,454	4,315,610	11,404,190	3,577,844

II. Áreas de etilbenceno y o-xileno

Concentración del estándar (mg/L)	Áreas			
	Etilbenceno		o-Xileno	
	Fase Líquida (5 mL)	Fase de vapor (10 mL)	Fase Líquida (5 mL)	Fase de vapor (10 mL)
0	0	0	0	0
10	2,017,921	544,930	2,123,805	484,154
20	3,821,100	893,812	4,194,747	710,724
30	6,116,306	1,504,340	7,780,904	1,075,802
40	6,712,443	1,673,262	7,798,772	1,207,428
50	11,601,799	2,326,860	12,582,096	1,725,182

III. Áreas de EMTB

Concentración del estándar (mg/L)	Áreas	
	EMTB	
	Fase Líquida (5 mL)	Fase de vapor (10 mL)
0	0	0
10	2,953,088	150,116
20	6,448,812	245,240
30	8,548,583	446,846
40	11,229,899	530,698
50	14,533,385	597,892

JUAN FCO. VILLARREAL CHIU



INFORMACIÓN PERSONAL

- Estado civil: Soltero
- Edad: 21
- Lugar de nacimiento: Monterrey, N.L.
- Fecha de nacimiento: 4 de Octubre de 1981
- Idiomas: 90% Inglés
70% Francés

EDUCACIÓN

PRIMARIA

- | | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1987-1988 | Ecole Elementaire Mixte Charles Perraul
21 rue Tourrette 63100, Clermont-Ferrand, Francia |
| 1988-1992 | Profra. Ma. De Jesús Castaño Guerra
Av. Las puentes y Pico Sorata, Col. Puentes 6° sector,
San Nicolás de los Garza, N.L. |
| 1992-1993 | Liceo Anglo Francés de Monterrey, A.C.
Río de la Plata 110 y 108 ote., Col. Del Valle,
San Pedro Garza García, N.L. |

SECUNDARIA

- | | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1993-1995 | Liceo Anglo Francés de Monterrey, A.C.
Río de la Plata 107 ote. Col. Del Valle,
San Pedro Garza García, N.L. |
| 1995-1996 | Esc. Sec. N° 7 "Margarita Maza de Juárez"
15 de Agosto y Fray Bartolomé de las Casas, Col. Roble
San Nicolás de los Garza, N.L. |

PREPARATORIA

- | | |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1996-1998 | Esc. Preparatoria N° 7
Sierra de Santa Clara, Col. Las Puentes 1er. Sector,
San Nicolás de los Garza, N.L. |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

LICENCIATURA

- | | |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1998-2003 | Licenciatura en Química Industrial
Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L.
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

CURSOS EXTRACURRICULARES

1993	Fundamentos Empresariales Sistema DESEM
1996-1997	Curso de Ingles Básico 3 Instituto Mexicano Norteamericano de Relaciones Culturales Anáhuac, A.C. Santos Chacano 606 Col. Anáhuac, San Nicolás de los Garza, N.L.
1997	Curso de Ingles Intermedio Instituto Mexicano Norteamericano de Relaciones Culturales Anáhuac, A.C. Santos Chacano 606 Col. Anáhuac, San Nicolás de los Garza, N.L.
1998	Curso de Internet Club de Informática de la U.A.N.L. Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
2000	Curso de Mantenimiento y Configuración de PC's Club de Informática de la U.A.N.L. Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
2001	Curso de Ingles Nivel 148 Texas Intensive English Program Austin, Texas
2001	Acreditación del Examen TOEFL Centro de Auto-Aprendizaje de Idiomas Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

PUBLICACIONES Y SEMINARIOS IMPARTIDOS

- 1999 Exposición del Proyecto: Insecticida “Rula Max” dentro de la Exposición de Proyectos del Programa Emprendedor de la Carrera de Licenciado en Química Industrial.
Facultad de Ciencias Químicas
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
- 2002 Presentación de la conferencia “Evaluación de la Biodegradación de BTEX por un Consorcio Microbiano Aclimatado” dentro del ciclo de conferencias de la materia Laboratorio Químico Integrado
Facultad de Ciencias Químicas
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
- 2003 Publicación del cartel “Biodegradación Aeróbica de BTEX en Presencia de EMTB en Muestras de Suelo” dentro del 4º Congreso Regional L.Q.I.
Biblioteca “Raúl Rangel Frías”
Monterrey, N.L.
- 2003 Publicación de la exposición oral: “BTEo-X biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation” dentro del 4th Specialized International Water Association Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water (ECOHAZARD 2003)
Aachen, Alemania.

CONGRESOS

- 1999 Asistencia al VII Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica
Academia Mexicana de Química Inorgánica, A.C.
Monterrey, N.L.
- 1999 Asistencia al XXXIV Congreso Mexicano de Química y XVIII Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C.
- 2000 Asistencia al V Congreso Regional de Estudiantes de Química
Sociedad Química de México, Sección Nuevo León
- 2000 Colaborador en el 1er. Congreso Regional de L.Q.I. Carrera de la Licenciatura en Química Industrial
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
- 2001 Asistencia al XXXVI Congreso Mexicano de Química y XX Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C.
Ixtapa, Guerrero
- 2001 Colaborador en el 2º Congreso Regional L.Q.I. Carrera de la Licenciatura en Química Industrial
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
- 2002 Colaborador en el 3er. Congreso Regional L.Q.I. Carrera de la Licenciatura en Química Industrial
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.
- 2002 Asistencia al XXV Congreso Latinoamericano de Química, XXXVII Congreso Mexicano de Química y XXI Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C. y Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas
Cancún, Quintana Roo

EXPERIENCIA PROFESIONAL

- 1998 Captura y Procesamiento de Datos del Proyecto:
“Evaluación del Programa Ganado Mejor 1998
de Alianza para el Campo en Nuevo León”
Proyecto Solicitado por la SAGAR (Secretaría de
Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural) y la FAO
(Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y
la Alimentación)
- 1998 Captura y Procesamiento de Datos del Proyecto:
“Evaluación del Programa Mejoramiento Genético 1998
de Alianza para el Campo en Nuevo León”
Proyecto Solicitado por la SAGAR (Secretaría de
Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural) y la FAO
(Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y
la Alimentación)
- 1999 Captura y Procesamiento de Datos del Proyecto:
“Evaluación del Programa Ganado Mejor 1999
de Alianza para el Campo en Nuevo León”
Proyecto Solicitado por la SAGAR (Secretaría de
Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural) y la FAO
(Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y
la Alimentación)
- 2001-2002 Colaborador en el proyecto: “Producción, Caracterización
y Determinación de Enzimas Lignolíticas”
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.
- 2002 Colaborador en el proyecto: “Evaluación de la
Biodegradación de BTEX y EMTB por un Consorcio
Microbiano Aclimatado”
Facultad de Medicina, U.A.N.L.
- 2003 a la fecha Tesista Investigador
Proyecto: “Obtención de las constantes cinéticas de
biodegradación de BTEoX en presencia de EMTB por un
consorcio microbiano mixto aclimatado a BTEX; en
matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia del
surfactante tergitol NP-10”
Facultad de Medicina, U.A.N.L.

