



Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

División de Ciencias Ambientales

Posgrado en Ciencias Aplicadas

En la opción de Ciencias Ambientales

**BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS CON DISTINTAS
SOLUBILIDADES EN SISTEMAS BIFÁSICOS**

Tesis que presenta:

IBQ. José Horacio Galindo Garay

Directora de tesis: Dra. Sonia Lorena Arriaga García

Asesor: Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo

Asesor: Dr. Sergio Revah Moiseev

San Luis Potosí, S.L.P. Septiembre del 2008



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "Biodegradación de hidrocarburos con distintas solubilidades en sistemas bifásicos" presentada para obtener el Grado de Maestro(a) en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales fue elaborada por **José Horacio Galindo Garay** y aprobada el 9 de Septiembre del 2008 por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dr. Sonia Lorena Arriaga García
(Directora de la tesis)

Dr. Sergio Revah Moiseev
(Asesor de la tesis)

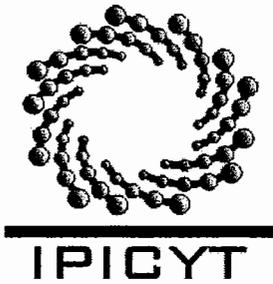
Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo
(Asesor de la tesis)



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en los Laboratorios de Ingeniería Ambiental de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. Sonia Lorena Arriaga García y el Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-204196) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 021 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 9 días del mes de septiembre del año 2008, se reunió a las 12:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Sergio Revah Moiseev	Presidente	UAM Cuajimalpa
Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo	Secretario	IPICYT
Dra. Sonia Lorena Arriaga García	Sinodal	IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS APLICADAS
EN LA OPCIÓN DE CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó el C.

José Horacio Galindo Garay

sobre la Tesis intitulada:

Biodegradación de hidrocarburos con distintas solubilidades en sistemas bifásicos

que se desarrolló bajo la dirección de

Dra. Sonia Lorena Arriaga García

El Jurado, después de deliberar, determinó

APROBARLO

Dándose por terminado el acto a las 13:20 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fé el Secretario Académico del Instituto.

A petición del interesado y para los fines que al mismo convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 9 días del mes de septiembre de 2008.

L.C.C. Ivonne Lette Cuevas Velez
Jefa del Departamento de Asuntos Escolares

Dr. Marcial Borjilla
Secretario Académico



Dedicatoria

Esta tesis esta dedicada a mis padres por su apoyo, comprensión y cariño que me han otorgado.

A mi familia la cual siempre ha estado pendiente de mí.

A Sonia, la cual además de brindarme su amistad me otorgó las herramientas que la vida exige para poder llevar a ser un buen investigador.

A Doña Fausta Romero y Francisco de la Peña (q.e.p.d.) los cuales me brindaron su amistad y confiaron en mí durante su estancia por esta vida.

Agradecimientos

En primera instancia agradezco a mi directora y asesores de tesis por todo el tiempo que me brindaron para la revisión y dar sus observaciones a este documento, su amistad, consejos y apoyo académico, en la elaboración de tesis, en especial a mi directora por aguantarme tanto tiempo.

Al Dr. Sergio Revah, por brindarme sus instalaciones en la UAM de Iztapalapa para la realización de experimentos, además, por su apoyo, buena predisposición y facilidades otorgadas.

Amigos de la UAM Iztapalapa (wippis, José, Armando, Claudia, Sergio Hernandez, Nacho, etc.) los cuales hicieron muy amena mi estancia en el DF, además por su enseñanza otorgada.

Amigos del IPICYT (Albert, Panchis, Carmens, Cesar), los cuales hemos aprendido y compartido juntos enseñanzas que nos forjaron en nuestras vidas. Además de vivir momentos de alegría, preocupación, estrés, etc.

Dr. Marco Antonio por facilitar su laboratorio para la realización de experimentos y amigos de la UASLP (amiguís, Julio, pita, teresina, kike, etc.), los cuales hicieron agradable trabajar en su laboratorio.

A Ivonne por su apoyo brindado, cariño y comprensión.

Un especial agradecimiento al IPICYT y al personal que labora en el, ya que gracias a su trabajo ayudaron a mi formación como investigador.

A todas aquellas personas que de alguna manera me ayudaron, colaboraron para que terminara mi Tesis. (Dr. Chapa, Dulce, etc.)

INDICE

Constancia de aprobación de tesis	ii
Créditos institucionales	iii
Acta de examen	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Lista de Tablas	xi
Lista de Figuras	xiv
Resumen	xvii
Abstract	xix
Introducción.....	1
I Estado del arte.....	4
1.1 Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs).....	4
1.2 Hidrocarburos.....	5
1.3 Tecnologías de tratamiento de emisiones gaseosas	7
1.3.1 Tratamientos Físicoquímicos.....	8
1.3.1.1 Condensación.....	9
1.3.1.2 Incineración.....	9
1.3.1.3 Adsorción.....	9
1.3.1.4 Absorción.....	10
1.3.1.5 Sistemas de membranas.....	10
1.3.2 Tratamientos Biológicos.....	11
1.3.2.1 Biofiltros.....	11
1.3.2.2 Columnas de absorción (Biolavadores).....	12
1.3.2.3 Sistemas Bifásicos.....	12
1.4 Biodegradación de hidrocarburos en sistemas bifásicos.....	16
II Justificación	18

III	Objetivo e Hipótesis.....	20
	3.1 Objetivo general.....	20
	3.1.1 Objetivos particulares.....	20
	3.2 Hipótesis.....	20
IV	Materiales y métodos.....	21
	4.1 Reactivos.....	21
	4.2 Inóculo y Medio mineral.....	21
	4.2.1 Inóculo.....	21
	4.2.2 Medio mineral.....	21
	4.3 Experimentos.....	22
	4.3.1 Sistemas en lote.....	22
	4.3.1.1 Determinación de concentración inhibitoria.....	23
	4.3.1.2 Experimentos de 1 fase (F ₁).....	23
	4.3.1.3 Experimentos de 1 fases con surfactante (F _{1S})	25
	4.3.1.4 Experimentos de 2 fases (F ₂).....	27
	4.3.1.4.1 Aceite de silicona – Médio mineral (F ₂).....	28
	4.3.1.4.2 Experimentos de 2 fases con surfactante (F _{2S}).....	29
	4.3.2 Expresión de resultados.....	30
	4.3.2.1 Porcentaje de mineralización.....	30
	4.3.2.2 Eficiencia de eliminación.....	31
	4.3.2.3 Velocidades de consumo de hidrocarburo y producción de CO ₂	31
	4.3.3 Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad.....	32
	4.3.4 Coeficiente de partición.....	33
	4.4 Métodos analíticos.....	35
	4.4.1 Mediciones en la fase gaseosa.....	35
	4.4.1.1 Concentración de Tricloroetileno, Hexano y Tolueno	35
	4.4.1.2 Producción de dióxido de carbono.....	35
	4.4.2 Determinación de proteína.....	35

V	Resultados y discusión.....	37
5.1	Pruebas preliminares.....	37
5.1.1	Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad	37
5.1.2	Determinación de concentración inhibitoria.....	38
5.1.3	Coeficiente de partición	39
5.2	Experimentos de una fase.....	44
5.2.1	Caída de concentración	44
5.2.2	Producción de CO ₂ y velocidades específicas.....	46
5.2.3	Mineralización	51
5.2.4	Cometabolismo de TCE	53
5.2.4.1	Hexano-TCE.....	53
5.2.4.2	Tolueno-TCE.....	55
5.2.5	Partición (control abiótico).....	59
5.3	Efecto de la adición de Pluronic F-68 en el consumo de hidrocarburos....	63
5.3.1	Caída de concentración	64
5.3.2	Producción de CO ₂ y velocidades específicas.....	65
5.3.3	Mineralización	69
5.3.4	Cometabolismo de TCE	71
5.3.4.1	Hexano-TCE.....	71
5.3.4.2	Tolueno-TCE.....	74
5.3.5	Partición (control abiótico).....	76
5.4	Efecto de la adición de aceite de silicona en la velocidad de consumo de hidrocarburos.....	80
5.4.1	Caída de concentración	81
5.4.2	Producción de CO ₂ y velocidades específicas.....	82
5.4.3	Mineralización	86
5.4.4	Cometabolismo de TCE	87
5.4.5	Partición (control abiótico).....	90
5.5	Efecto de la adición de conjunta de aceite de silicona y Pluronic F-68 en la velocidad de consumo de hidrocarburos.....	93
5.5.1	Caída de concentración	93

5.5.2	Producción de CO ₂ y velocidades específicas.....	95
5.5.3	Mineralización	98
5.5.4	Cometabolismo de TCE	99
5.5.5	Partición (control abiótico).....	101
5.6	Discusión global del efecto de la fase oleosa y surfactante.....	105
5.6.1	Hexano	105
5.6.1.1	Partición (control abiótico).....	105
5.6.1.2	Biodegradación de Hexano.....	107
5.6.1.3	Cometabolismo TCE-Hexano.....	108
5.6.2	Tolueno.....	110
5.6.2.1	Partición (control abiótico).....	110
5.6.2.2	Biodegradación de Tolueno.....	110
5.6.2.3	Cometabolismo TCE-Tolueno.....	112
VI	Conclusiones.....	115
	Referencias bibliográficas.....	117
	Anexo A Curvas de calibración en fase gaseosa.....	128
	Anexo A.1 Curva de calibración de tricloroetileno.....	128
	Anexo A.2 Curva de calibración de Hexano.....	129
	Anexo A.3 Curva de calibración de Tolueno.....	129
	Anexo A.4 Curva de calibración de CO ₂	130
	Anexo A.5 Curva de calibración de proteína.....	130
	Anexo B. Gráficas de toxicidad y biodegradabilidad.....	131
	Anexo B.1 Gráfica de toxicidad y biodegradabilidad para aceite de silicona y Pluronic F-68 a 2.5% (w/v).....	131
	Anexo B.2 Gráfica de toxicidad y biodegradabilidad para aceite de silicona y Pluronic F-68 a 0.1 y 0.01% (w/v)	131
	Anexo C. Cálculo de CO₂ teórico y porcentaje de mineralización.....	132

Lista de Tablas

Tabla 1.1. Efectos a la salud humana provocados por COVs.....	5
Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas de algunos hidrocarburos.....	7
Tabla 1.3. Fases oleosas utilizadas en biorreactores	13
Tabla 1.4. Comparación de resultados obtenidos en sistemas de una y dos fases.....	14
Tabla 4.1. Composición del medio mineral.....	22
Tabla 4.2. Concentraciones inyectadas de solventes a los microcosmos.....	23
Tabla 4.3. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 1 fase (F ₁).....	24
Tabla 4.4. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 1 fase con surfactante (F _{1S}).....	26
Tabla 4.5. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 2 fases (F ₂).....	28
Tabla 4.6. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 2 fases (F _{2S}).....	29
Tabla 4.7. Volúmenes y concentraciones utilizadas en los experimentos de partición para los hidrocarburos Hexano, Tolueno y TCE	34
Tabla 5.1.1. Pruebas de Biodegradabilidad y Toxicidad para el consorcio microbiano	37
Tabla 5.1.2. Coeficientes de partición de los hidrocarburos Hexano, Tolueno y Tricloroetileno, utilizando como fases aceite de silicona y Pluronic F-68	40
Tabla 5.2.1. Velocidades específicas y máximas de consumo de hidrocarburo así como de producción de CO ₂ obtenidas en los experimentos de 1 fase.....	49
Tabla 5.2.2. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de 1 fase...	51
Tabla 5.2.3. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en 1 fase.....	55
Tabla 5.2.4. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 1 fase.....	57
Tabla 5.2.5. Porcentajes de Hexano y Tolueno medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 1 fase.....	61

Tabla 5.3.1. Velocidades específicas y máximas de producción de CO ₂ obtenidas en los experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.....	68
Tabla 5.3.2. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.....	70
Tabla 5.3.3. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.....	73
Tabla 5.3.4. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 1 fase con Pluronic F-68.....	76
Tabla 5.3.5. Porcentajes de Hexano y Tolueno medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 1 fase con surfactante.....	78
Tabla 5.4.1. Velocidades específicas y máximas de producción de CO ₂ obtenidas en los experimentos de dos fases con aceite de silicona.....	85
Tabla 5.4.2. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de dos fases con aceite de silicona.....	86
Tabla 5.4.3. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en 2 fases con aceite de silicona.....	88
Tabla 5.4.4. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 2 fases con aceite de silicona.....	89
Tabla 5.5.1. Porcentajes de Hexano y Tolueno medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 2 fases con surfactante para cinéticas y controles abióticos....	94
Tabla 5.5.2. Velocidades específicas y máximas de producción de CO ₂ obtenidas en los experimentos de 2 fases con surfactante.....	97
Tabla 5.5.3. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de 2 fases con surfactantes.....	99
Tabla 5.5.4. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en 2 fases con surfactante.....	100
Tabla 5.5.5. Valores de CO ₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 2 fases con surfactante.....	101
Tabla 5.6.1. Porcentajes de hidrocarburos medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 1 y 2 fases.....	106

Tabla 5.6.2. Velocidades específicas de producción de CO ₂ obtenidas en los experimentos de 1 y 2 fases para Hexano.....	108
Tabla 5.6.3. Porcentajes de mineralización de TCE obtenidos en los experimentos de TCE-Hexano en 1 y 2 fases.....	109
Tabla 5.6.4. Velocidades específicas de producción de CO ₂ obtenidas en los experimentos de 1 y 2 fases para Tolueno.....	111
Tabla 5.6.5. Porcentajes de mineralización de TCE obtenidos en los experimentos de TCE-Tolueno en 1 y 2 fases.....	113

Lista de Figuras

Figura 1.1. Aplicación de varias tecnologías biológicas y no biológicas para el control de contaminación del aire	8
Figura 1.2. Esquematación de un sistema bifásico.....	15
Figura 5.1.1. Velocidades específicas y % de mineralización para Hexano.....	38
Figura 5.1.2. Velocidades específicas y % de mineralización para Tolueno.....	39
Figura 5.1.3. Curvas de partición de Tolueno	41
Figura 5.1.4. Curvas de partición de Hexano	42
Figura 5.1.5. Curvas de partición de TCE	43
Figura 5.2.1. Caída de concentración de Hexano para experimentos de 1 fase.....	45
Figura 5.2.2. Caída de concentración de Tolueno para experimentos de 1 fase.....	46
Figura 5.2.3. Producción de CO ₂ en experimentos de 1 fase para Hexano.....	47
Figura 5.2.4. Producción de CO ₂ en experimentos de 1 fase para Tolueno.....	48
Figura 5.2.5. Caída de concentración de Hexano para experimentos de TCE-Hexano en 1 fase.....	53
Figura 5.2.6. Producción de CO ₂ en experimentos de 1 fase del cometabolismo de TCE con Hexano.....	54
Figura 5.2.7. Caída de concentración de Tolueno para experimentos de TCE-Tolueno en 1 fase.....	56
Figura 5.2.8. Producción de CO ₂ en experimentos de 1 fase del cometabolismo de TCE con Tolueno.....	56
Figura 5.2.9. Consumo de TCE por cometabolismo con Hexano en experimentos de 1 fase.....	58
Figura 5.2.10. Consumo de TCE por cometabolismo con Tolueno en experimentos de 1 fase.....	58
Figura 5.2.11. Caídas de concentración de Hexano, Tolueno y Tricloroetileno en controles abióticos de 1 fase.....	60
Figura 5.2.12. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa para experimentos en mezcla con Hexano y experimento control (abiótico) en una 1 fase.....	62

Figura 5.2.13. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa para experimentos en mezcla con Tolueno y controles (abiótico) en una 1 fase.....	62
Figura 5.3.1. Caída de concentración de Hexano para experimentos control (abiótico) y cinéticas de 1 fase con Pluronic F-68.....	64
Figura 5.3.2. Caída de concentración de Tolueno para experimentos control (abiótico) y cinéticas de 1 fase con Pluronic F-68.....	65
Figura 5.3.3. Producción de CO ₂ para Hexano en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.....	66
Figura 5.3.4. Producción de CO ₂ para Tolueno en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.....	66
Figura 5.3.5. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para experimentos de TCE-Hexano de 1 fase con Pluronic F-68.....	72
Figura 5.3.6. Producción de CO ₂ para Hexano en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68 utilizando la mezcla de Hexano y TCE.....	72
Figura 5.3.7. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para experimentos de TCE-Tolueno de 1 fase con Pluronic F-68.....	74
Figura 5.3.8. Producción de CO ₂ para Tolueno en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68 utilizando la mezcla de Tolueno y TCE.....	75
Figura 5.3.9. Caída de concentración de Hexano, Tolueno y TCE obtenidos en la fase gaseosa para controles abióticos en 1 fase con Pluronic F-68.....	77
Figura 5.3.10. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa para experimentos en mezcla con Hexano y experimento control en 1 fase con Pluronic F-68.....	79
Figura 5.3.11. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa para experimentos en mezcla con Tolueno y experimento control en 1 fase con Pluronic F-68.....	79
Figura 5.4.1. Caída de concentración de Hexano para controles y cinéticas de 2 fases con aceite de silicona.....	81
Figura 5.4.2. Caída de concentración de Tolueno para controles y cinéticas de 2 fases con aceite de silicona.....	82
Figura 5.4.3. Producción de CO ₂ para Hexano en experimentos de 2 fases con aceite de silicona.....	84

Figura 5.4.4. Producción de CO ₂ para Tolueno en experimentos de 2 fases con aceite de silicona.....	84
Figura 5.4.5. Caída de concentración de Hexano, Tolueno y TCE obtenidos en la fase gaseosa para control abióticos en 2 fases con aceite de silicona.....	90
Figura 5.4.6. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para experimentos control individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con aceite de silicona.....	91
Figura 5.4.7. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para experimentos control individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con aceite de silicona.....	92
Figura 5.5.1. Producción de CO ₂ de Hexano en experimentos de 2 fases con surfactante.....	95
Figura 5.5.2. Producción de CO ₂ de Tolueno en experimentos de 2 fases con surfactante.....	96
Figura 5.5.3. Caída de concentración de Hexano, Tolueno y TCE obtenidos en la fase gaseosa para controles abióticos en 2 fases con surfactante.....	102
Figura 5.5.4. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para experimentos control individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con surfactante...	103
Figura 5.5.5. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para experimentos control individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con surfactante...	103

RESUMEN

Galindo Garay José Horacio 2008. Biodegradación de hidrocarburos con distintas solubilidades en sistemas bifásicos. División de Ciencias Ambientales. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICyT).

En el tratamiento biológico de emisiones gaseosas, el reparto que presentan los contaminantes de la fase gaseosa hacia la fase acuosa, es un factor limitante en la biodegradación de éstos. En este trabajo se estudio el efecto que se presenta al agregar una fase oleosa y un surfactante al sistema, en las velocidades de eliminación de los hidrocarburos hexano, tolueno y tricloroetileno (TCE). Los experimentos de degradación de tolueno, hexano y tricloroetileno se llevaron a cabo en botellas serológicas de 120 mL, las cuales fueron selladas con válvulas mininert de Teflón. Este estudio se dividió en 4 partes durante su desarrollo experimental. Los experimentos realizados fueron: Experimentos de 1 fase (F_1), 1 fase con surfactante (F_{1S}), 2 fases (F_2) y 2 fases con surfactante (F_{2S}); siendo utilizada como segunda fase aceite de silicona y como surfactante Pluronic F-68. El inóculo utilizado en los experimentos se extrajo de 2 sitios. El primero corresponde a un suelo que se encuentra cerca de la descarga de una industria papelera y el segundo al suelo de un taller mecánico, ambos lugares se encuentran cerca de la ciudad de San Luis Potosí. El consorcio de microorganismos se colocó en medio mineral a pH 7 y fue aclimatado con vapores de hexano, tolueno y tricloroetileno. Los resultados de partición de hexano muestran una solubilidad en la fase acuosa de 29%, 32%, 76% y 91% para F_1 , F_{1S} , F_2 y F_{2S} respectivamente. Para el caso del tolueno se obtuvieron valores de 70%, 70%, 89% y 89% para F_1 , F_{1S} , F_2 y F_{2S} . Finalmente para TCE se obtuvo 21%, 15%, 100% y 100% para F_1 , F_{1S} , F_2 y F_{2S} . Con base en estos resultados, se observa que de forma general el uso de fases como aceite de silicona y surfactantes como Pluronic F-68 mejoran la sorción del hidrocarburo en el medio acuoso, siendo el aceite de silicona el que mejor ayuda a este proceso. Sin embargo, el tolueno no presentó un aumento de solubilidad en la fase líquida cuando se agrego al sistema Pluronic F-68. Las velocidades específicas máximas de producción de CO_2 que se obtuvieron fueron de 120 y 394 mg de CO_2 producido / g de proteína * hora para hexano y tolueno respectivamente. El hexano mostró la velocidad específica más alta durante los

experimentos F_{1S}; en cambio el tolueno en los F₂. De acuerdo a los valores de velocidades específicas obtenidos se observó que el Tolueno presentó los valores más altos obtenidos en los experimentos, comparados con los valores de Hexano, lo cual se debe a que el Tolueno presenta un nivel de biodegradabilidad más alto y además, una mayor biodisponibilidad. Los máximos porcentajes de mineralización obtenidos para hexano, tolueno y TCE fueron: 66, 73 y 31% respectivamente. Estos porcentajes altos de mineralización indican que los microorganismos utilizados presentaron una alta actividad biológica hacia el hidrocarburo. Los resultados confirmaron que el uso de fases oleosas y surfactantes en sistemas en lote presentan ventajas sobre los que no las usan, para la degradación de compuestos hidrofóbicos. La adición de los compuestos antes mencionados incrementó el transporte de masa de hexano y tolueno hacia los microorganismos aumentando así las velocidades de degradación.

Palabras Claves: Hidrocarburo, sistema bifásico, fase oleosa, surfactante, biodegradación.

ABSTRACT

Galindo Garay José Horacio 2008. Hydrocarbon biodegradation with different solubility in two-phase systems. División de Ciencias Ambientales. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT).

The biological treatment of gaseous emissions, is sometimes limited due to the low transfer from the gaseous phase towards the liquid phase, where microorganisms are presented. This work aims to evaluate the addition of an organic liquid phase to increase the mass transport of hydrophobic volatile organic compounds (VOCs) and thus their biodegradation. The VOCs selected were hexane, toluene and trichloroethylene (TCE) due to their different physicochemical properties. The experiments were carried out in serologic bottles of 120 ml, which were sealed with Mininert[®] Teflon Valves. The experiments were: Experiments of 1 phase with mineral medium (F₁), 1 phase with surfactant Pluronic F-68 (F_{1S}), 2 phases with mineral medium and silicone oil (F₂) and 2 phases with surfactant and silicone oil (F_{2S}). The inoculum used in the experiments was obtained from two hydrocarbon polluted sites. The consortium was acclimated with hexane, toluene and trichloroethylene steam in mineral medium at pH 7. Partition experiments showed 29, 32, 76 and 91% of hexane average solubility in F₁, F_{1S}, F₂ and F_{2S} from the initial concentrations tested. In the case of toluene were 70, 70, 89 and 89 % in F₁, F_{1S}, F₂ and F_{2S}. Finally, TCE average solubility were 21, 15, 100 and 100 % in F₁, F_{1S}, F₂ and F_{2S} respectively. The results showed that silicone oil and Pluronic additions improve VOC sorption, being the most favorable phase silicone oil. The specific production rates (S_{rates}) of CO₂ founded were 120 and 394 mg CO₂ production/protein g * h for hexane and toluene respectively. Hexane showed the highest S_{rates} during F_{1S} experiments and toluene during F₂ experiments. According to the values obtained for toluene shows the highest S_{rates} because of its higher level of biodegradability and bioavailability. The maximum percentage of mineralization obtained for hexane, toluene and TCE were: 66, 73 and 31% respectively. The values of mineralization obtained indicate that a high biological activity for hydrocarbon consumption. The results confirmed that the use of two-phase systems for hydrophobic compound biodegradation due to increases mass transport and the best system to carry out VOC treatment was F₂.

Key words: Hydrocarbon, oil, surfactant, biodegradation.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico no sólo genera impactos positivos en la vida del ser humano; sino también, desequilibrios en los ecosistemas con los cuales provoca uno de los principales problemas a los que se enfrenta la especie humana, la contaminación. La contaminación es un problema que se presenta en todos los elementos abióticos del planeta (aire, agua y tierra), generando cambios en su funcionalidad y estructura, con lo cual se desarrollan cambios en sus procesos (Kanaly y Harayama, 2000).

La contaminación atmosférica es un problema generado principalmente por actividades humanas. Sin embargo, no sólo el hombre es el único causante de este tipo de contaminación, sino que a través de procesos naturales se pueden presentar emisiones, siendo un ejemplo las erupciones volcánicas. Con base en lo anterior, la contaminación atmosférica se puede clasificar respecto al origen en: antropogénica o natural, siendo la primera la que aporta la mayor cantidad de contaminantes a la atmósfera. Además, este tipo de contaminación tiene dos tipos de fuentes generadoras de contaminantes, las fuentes fijas y las móviles: en la primera, encontramos como ejemplo las industrias y, en las fuentes móviles, el ejemplo principal son los vehículos. Los contaminantes emitidos a la atmósfera los podemos dividir en partículas suspendidas totales (PST), compuestos orgánicos volátiles (COVs), compuestos inorgánicos volátiles (CIV) y ozono. Los COVs son sustancias químicas que contienen carbono y se encuentran en todos los seres vivos, éstos tienen la propiedad de convertirse en vapores o gases, lo cual se debe a que sus presiones de vapor a temperatura ambiente son mayores a 0.01 psia y sus puntos de ebullición en condiciones atmosféricas están por debajo de 100°C (De Nevers, 1998). Dentro de los COVs podemos encontrar compuestos como: hidrocarburos, aldehídos, ésteres, ácidos, aminas y alcoholes.

A escala mundial la contaminación atmosférica es un fenómeno que se presenta y México no está exento de este problema. En las principales ciudades de nuestro país como la ciudad de México, Monterrey, Guadalajara, Toluca y Ciudad Juárez la contaminación atmosférica es un problema cotidiano que contribuye a la contaminación global y perjudica la salud de la población. Según datos de la Organización Mundial de la

Salud (OMS) millones de personas en el mundo sufren enfermedades respiratorias y cardiovasculares debido a la contaminación del aire por partículas.

Instituciones gubernamentales mexicanas como el INE (Instituto Nacional de Ecología) y la SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales), entre otras, se encargan de realizar inventarios de emisiones de gases contaminantes así como estimaciones con el fin de generar bases de datos de los contaminantes presentes en la atmósfera para obtener herramientas que ayuden a atacar este problema. En el año 2004, en México y en el Distrito Federal (DF) las emisiones de COVs generadas por industrias fueron de aproximadamente 114,101 ton, de las cuales el 50.42% correspondió a la industria química y derivados del petróleo, 19.16% a la industria papelera y 11.68% a la industria de productos metálicos, siendo estas industrias las principales fuentes de emisión de COVs (INE, 2007).

Los métodos que existen actualmente para el tratamiento de emisiones de COVs se dividen en 2 grupos: métodos fisicoquímicos y biológicos. Entre los métodos fisicoquímicos podemos encontrar procesos como: incineración, adsorción, absorción, condensación y oxidación catalítica. Algunas desventajas que se presentan por usar un método fisicoquímico son: un elevado consumo de agua, energía y combustible, lo que genera un aumento en los costos de mantenimiento, otra desventaja que se presenta en algunos procesos fisicoquímicos es que el contaminante solamente se mueve de una fase a otra, por ejemplo del aire a agua, con lo cual no se elimina el problema, solamente se transfiere a otro lugar (INE, 2007). Los métodos biológicos son tecnologías que tienen como objetivo degradar o transformar contaminantes a metabolitos que provoquen un menor impacto en el medio ambiente y en la salud pública. Las ventajas que presenta el método biológico sobre el fisicoquímico son: un menor uso de energía, genera menor cantidad de CO₂ comparado con procesos como incineración, menores costos de operación, etc.

Algunas configuraciones de reactores usados en los métodos biológicos son los biofiltros de lecho empacado, biolavadores, biofiltros de lecho escurrido, reactores con

células suspendidas y reactores bifásicos. La clasificación de los métodos biológicos se basa en las condiciones en las que se encuentra los microorganismos en el sistema y del patrón de flujo de la fase líquida. Como se mencionó anteriormente, dentro de los métodos biológicos se encuentran los reactores con células suspendidas; una variante de éstos son los reactores de dos fases que consisten en una fase oleosa y otra fase acuosa donde se encuentran los microorganismos. Este tipo de sistemas presentan ventajas en la degradación de COVs hidrofóbicos debido a que las velocidades de transferencia de masa se incrementan en este tipo de sistemas comparados con un biofiltro. El objetivo de esta tesis estará enfocado al uso de sistemas de 2 y 3 fases para degradar hidrocarburos como Hexano, Tolueno y Tricloroetileno (TCE), los cuales cuentan con distintas solubilidades y niveles de recalcitrancia. Además de ver el efecto del cometabolismo de TCE con Hexano y Tolueno.

I Estado del Arte

1.1 Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs)

Los COVs son una familia química que incluye a una variedad de compuestos, los cuales difieren entre sí por sus propiedades físicas y químicas. El origen de estos compuestos puede ser antropogénico o natural. Entre las emisiones antropogénicas encontramos: procesos de combustión, producción y tratamiento de combustibles fósiles, procesos de producción industrial (fabricación de pinturas, plaguicidas, materiales de construcción) y aplicación de solventes orgánicos volátiles. Actividades agropecuarias como el cultivo de arroz y la ganadería son también responsables de generar COVs, principalmente metano, esto a través de procesos fermentativos (Leng, 1991). En la naturaleza, las plantas son una fuente importante de emisiones de COVs, se estima que aproximadamente se producen 300 tipos, incluyendo hidrocarburos e isoprenos, a través de fragancias producidas por las flores (Graedel, 1979). Otra fuente natural se genera en el medio ambiente marino, como resultado de procesos asociados con el fitoplancton (Andreae y Crutzen, 1997).

Las emisiones de compuestos orgánicos volátiles generan cambios en la composición química y reactividad de la atmósfera, debido a sus interacciones con los compuestos presentes en ella (Warneck, 1993). Estos compuestos no solamente generan problemas a nivel ambiental, si no que también tienen efectos a corto y largo plazo en la salud pública, debido a su toxicidad. En la Tabla 1.1, se muestran algunos efectos a la salud provocados por COVs.

En esta clasificación química de compuestos podemos encontrar: aldehídos, cetonas, alcoholes e hidrocarburos. Estos últimos son los más importantes dentro de los COVs, debido a que son los que aportan la mayor cantidad de emisiones de COVs de origen antropogénico (Hewitt, 1999).

Tabla 1.1. Efectos a la salud humana provocados por COVs. (EPA, 2006)

Hidrocarburo	Efectos Graves	Efectos Crónicos	Efectos en el desarrollo	Riesgo de Cáncer
Hexano	<ul style="list-style-type: none"> • Mareo • Nauseas • Dolor de cabeza • Dermatitis • Irritación de ojos 	<ul style="list-style-type: none"> • Debilidad muscular • Visión borrosa • Fatiga • Lesiones pulmonares • Lesiones nasales 	No se ha encontrado	No
Tolueno	<ul style="list-style-type: none"> • Fatiga • Congestión • Sueño • Hemorragia en el pulmón • Muerte 	<ul style="list-style-type: none"> • Somnolencia • Temblores • Atrofia cerebral • Dificultad para hablar • Irritación de ojos 	<ul style="list-style-type: none"> • Anomalías craneo encefálicas • Abortos espontáneos • Crecimiento retardado 	No
Tricloroetileno	<ul style="list-style-type: none"> • Euforia • Dolor de cabeza • Confusión • Fatiga • Sueño 	<ul style="list-style-type: none"> • Efectos en el sistema nervioso central • Visión borrosa • Daños al riñón • Daños al sistema endocrino 	No se ha encontrado	Si en: <ul style="list-style-type: none"> • Cervix • Riñón • Hígado • Pulmón

1.2 Hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos formados por carbono e hidrógeno principalmente, que presentan diferentes propiedades fisicoquímicas que son conferidas por grupos funcionales. Debido a esta gran diversidad de componentes los hidrocarburos son el segundo grupo que más impacta al aire, quedando en primer lugar las partículas suspendidas totales (Thalasso y Pineda-Olmedo, 2002). Los hidrocarburos incluyen una amplia gama de compuestos, entre los cuales encontramos hidrocarburos aromáticos (tolueno, benceno), alifáticos (hexano, propano) y clorados (tricloroetileno, tetracloroetileno).

Los hidrocarburos aromáticos son compuestos que poseen propiedades asociadas con el núcleo o anillo del benceno, en el cual hay seis enlaces de carbono-hidrógeno unidos a cada uno de los vértices de un hexágono. Estos compuestos fueron nombrados así en un principio a causa de su olor característico; un tipo de hidrocarburo aromático es el benceno, este posee una estabilidad importante gracias a que sus 6 átomos de carbono están unidos por dobles enlaces (Fox y White, 2000). Fuentes importantes de compuestos aromáticos son el petróleo y el alquitrán de hulla (Fessenden y Fessenden 1985). Los hidrocarburos aromáticos simples actualmente se utilizan en la producción de pintura, neumáticos, detergentes, pegamentos, etc., por tal motivo es frecuente encontrarlos en el medio ambiente.

Otro tipo de COVs son los hidrocarburos alifáticos, que son aquellos compuestos en los cuales los átomos de carbono se unen en cadenas abiertas, pudiendo ser lineales o ramificadas. Estos compuestos tienen un origen antropogénico principalmente, se utilizan en la fabricación de aceites, pinturas y adhesivos. Entre estos hidrocarburos encontramos el Hexano el cual presenta facilidad para poder incorporarse al medio ambiente durante su manufactura o uso, esto generado por su alta presión de vapor y poca solubilidad en el agua, lo cual hace que se disperse en el aire (Card, 1998).

Los hidrocarburos clorados se encuentran formados por carbono e hidrógeno, donde en una parte de su estructura se ubica uno o varios grupos clorados. Un ejemplo de estos compuestos es el tricloroetileno (TCE), el cual es xenobiótico y se utiliza como solvente en procesos industriales. El TCE es un compuesto orgánico, alifático halogenado e hidrofílico. Estas propiedades físicas y químicas, son responsables del comportamiento, transporte y disposición final del TCE en el medio ambiente (EPA, 2006).

Las características más importantes que condicionan el comportamiento de los hidrocarburos aromáticos, alifáticos y clorados en el medio ambiente, van ligadas a las características fisicoquímicas de estos, las cuales se listan en la Tabla 1.2.

Algunos hidrocarburos aromáticos (Tolueno) y alifáticos (Hexano) presentan una baja solubilidad en agua lo que les confiere que sean lipofílicos; la persistencia en el medio ambiente de estos compuestos aumenta conforme aumenta su peso molecular (Viñas, 2005). El carácter lipofílico les confiere la propiedad de poder bioacumularse (Kanaly y Harayama, 2000) y concentrarse en sedimentos y suelos en una extensión que dependerá de su persistencia en cada medio y tejidos (Clements et al., 1994).

Aunque una parte significativa de los hidrocarburos presentes en el medio ambiente es biodegradable, las tasas de biodegradación de estos en el medio ambiente están limitadas por su hidrofobicidad, baja solubilidad en el agua, recalcitrancia y toxicidad debida a la estructura química (Alexander, 1999). En la Tabla 1.2 se presentan algunas propiedades fisicoquímicas y los índices de biodegradabilidad para los compuestos Tolueno, Hexano y TCE.

Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas de algunos hidrocarburos.

Propiedades Fisicoquímicas	Hexano	Tolueno	Tricloroetileno
Fórmula	C ₆ H ₁₄	C ₇ H ₈	C ₂ HCl ₃
Masa molecular (g/mol)	86.18	92.14	131.4
Punto de ebullición (°C)	69	110.8	87
Punto de fusión (°C)	- 95	- 95	- 73
Presión de vapor kPa a 20°C	16	2.9	7.8
Densidad (g/mL)	0.659	0.8669	1.5
Límites de explosividad, % en volumen en el aire	1.1 – 7.5	1.1 – 7.1	8 – 10.5
Coefficiente de reparto octanol/agua como log Pow	3.9	2.69	2.42
*Solubilidad en agua, mg/L a 25°C	9.47	526	1280
+Nivel de biodegradabilidad	2	2	1

* Muñoz et al., 2007.

+ 1 = baja biodegradabilidad, 2 = moderada biodegradabilidad (Devinny et al., 1999).

1.3 Tecnologías de tratamiento de emisiones gaseosas

La selección de un método de tratamiento de emisiones gaseosas dependerá: de las características fisicoquímicas del contaminante a remover, características de la corriente contaminada, eficiencia de eliminación requerida, posibilidad de recuperar y utilizar el

contaminante y costos de mantenimiento e inversión inicial (INE, 2007). Las tecnologías aplicadas en el tratamiento de emisiones gaseosas, son principalmente métodos fisicoquímicos, por ejemplo absorción, condensación, oxidación, etc. Los métodos tradicionales para tratar contaminantes del aire son principalmente a través de procesos de oxidación e incineración éstos son muy costosos para tratar emisiones de volúmenes altos (Deshusses et al., 1999; Abumaizar et al., 1997). En cambio, el tratamiento biológico aplicado a la contaminación atmosférica es una alternativa eficiente, ambiental y de bajo costo como mencionaremos más adelante.

La Figura 1.1 muestra los límites de aplicación de las tecnologías existentes para el tratamiento de aire contaminado en función de la concentración del contaminante y flujo de gas emitido.

1.3.1 Tratamientos Fisicoquímicos

Los tratamientos fisicoquímicos se usan, en general, para tratar altas concentraciones de contaminantes en bajos o altos flujos de aire. Por otra parte, los métodos biológicos son usados para tratar altos flujos de aire con bajas concentraciones de COVs.

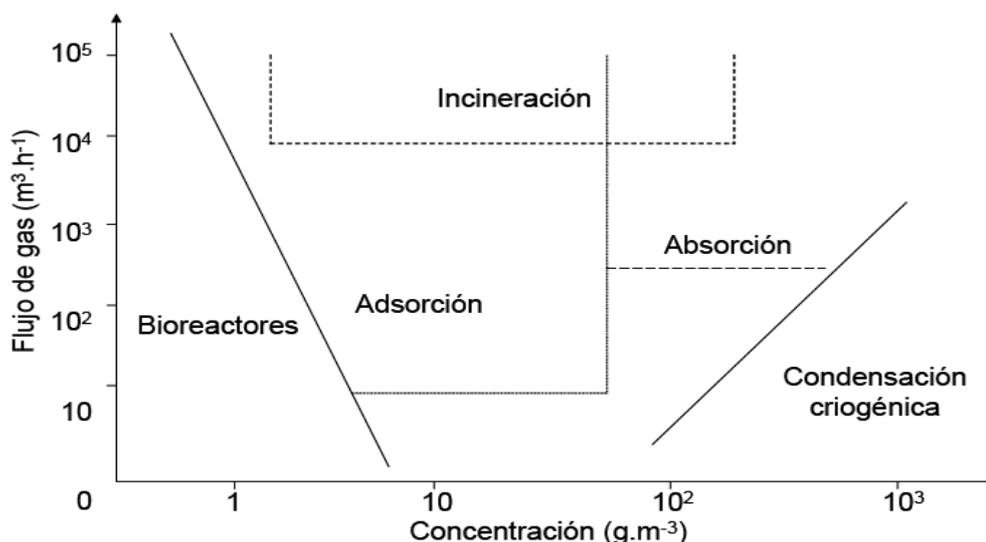


Figura 1.1. Aplicación de varias tecnologías biológicas y no biológicas para el control de contaminación del aire basado en el flujo de aire y la concentración del contaminante (Kennes y Vega, 2001).

Las cinco principales tecnologías de tratamiento fisicoquímico para emisiones gaseosas son: condensación, incineración, adsorción, absorción y sistemas de membranas. A continuación se da una descripción breve de estas tecnologías.

1.3.1.1 Condensación

Esta tecnología se aplica a contaminantes gaseosos concentrados que cuenten con un punto de ebullición alto, la recuperación de estos se logra mediante la aplicación de procesos de enfriamiento y compresión realizados simultáneamente. Esta técnica es económicamente recomendable para vapores concentrados que tengan un valor agregado, el cual justifique su reciclado. Si la corriente de gases es una mezcla de contaminantes, el reciclado será imposible de realizar; por lo tanto, se procederá a aplicar otras tecnologías como la incineración (Devinny et al, 1999; Sharefdeen y Singh, 2005).

1.3.1.2 Incineración

En este proceso los COVs son capturados a través de un proceso de ventilación, para posteriormente ser oxidados a altas temperaturas y convertirlo a CO₂, SO₂ y H₂O. Existen dos tipos de incineración, la catalítica y la térmica, éstas son muy usadas y efectivas en el tratamiento de emisiones gaseosas. La incineración térmica involucra temperaturas de 700 a 1400 °C para la combustión de contaminantes, mientras que la incineración catalítica maneja temperaturas de 300 a 700 °C, utilizando catalizadores como platino, paladio y rubidio. Esta tecnología se recomienda aplicar para corrientes concentradas con flujos moderados a bajos, ya que si se utiliza a flujos muy bajos, el costo por tratamiento se eleva, debido al uso de grandes cantidades de combustibles (Devinny et al, 1999; Sharefdeen y Singh, 2005).

1.3.1.3 Adsorción

La adsorción se refiere al proceso en el cual las moléculas de compuestos (ej. COVs) entran en contacto con la superficie de un sólido adsorbente y forman puentes a través de fuerzas intermoleculares. El carbón activado es el adsorbente más utilizado hoy en día

para tratar COVs. Esta tecnología se utiliza generalmente para controlar emisiones de compuestos orgánicos volátiles con bajas presiones de vapor y altos pesos moleculares. La adsorción se puede llevar a cabo en lechos fijos o fluidizados para los cuales se utilizan soportes como carbón activado o zeolitas. Las máximas eficiencias en este tipo de sistemas se obtienen a partir de tratar flujos con bajas concentraciones de vapores. Una vez que el lecho activado ha alcanzado su máxima capacidad de adsorción, se procede a retirar el material, y se maneja como residuo peligroso, lo que genera un gasto extra a los costos operacionales. Al final del proceso es posible regenerar el carbón activado, una vez que se recobran los contaminantes, este proceso de desorción se logra aplicando una corriente de aire caliente (Devinny et al, 1999; Sharefdeen y Singh, 2005).

1.3.1.4 Absorción

La absorción utiliza una solución de lavado para remover contaminantes del efluente gaseoso. El gas es obligado a tener un tiempo de contacto largo con los contaminantes gaseosos con la finalidad de lograr una transferencia de masa con la fase líquida. El agua es la solución de lavado usada más frecuentemente, ya que permite ajustar el pH para incrementar la solubilidad de gases ácidos o básicos. Para contaminantes hidrofóbicos, se utiliza aceite de silicona como solución de lavado. Una vez ocurrida la transferencia del contaminante, el líquido contaminado deberá tratarse (Devinny et al., 1999).

1.3.1.5 Sistemas de membranas

En estos sistemas primero se procede a realizar procesos de compresión y condensación de la corriente emitida, para posteriormente realizar una separación con membranas. La compresión aplicada es de aproximadamente 310 a 1400 kPa, por tal motivo se mantiene una presión de vapor alta del lado de la alimentación del aire contaminado. Esta diferencia de presión controla el proceso de separación. Este proceso requiere de un post-tratamiento del líquido contaminado obtenido al final (Devinny et al., 1999; Guieysse, et al, 2008).

1.3.2 Tratamientos Biológicos

El tratamiento biológico de contaminantes atmosféricos depende de la habilidad de los microorganismos para metabolizar estos compuestos, así como usarlos como única fuente de carbono y energía, para producir dióxido de carbono (CO₂), vapor de agua y biomasa (Mutafov et al., 2004). El tratamiento biológico tiene la capacidad de tratar corrientes de aire contaminado en grandes flujos y con baja concentración. Algunos ejemplos de reactores biológicos son: Reactor de lecho empacado (biofiltro), Columnas de absorción (biolavador), Biofiltros de lecho escurrido, Reactor de membrana y Reactores con células suspendidas con la variante de reactores de partición de dos fases (TPPBs - Two Phase Partition Bioreactors, por sus siglas en inglés).

El mecanismo básico de remoción de contaminantes es similar en todos los tipos de reactores, la diferencia entre estos consiste en encontrar la fase en la cual las poblaciones de microorganismos se localizarán y el estado de la fase líquida, la cual puede ser estacionaria o en movimiento. El factor limitante en estos tratamientos es la baja transferencia de masa del contaminante de la fase gas a la líquida, cuando se tratan corrientes de aire contaminadas con compuestos hidrofóbicos. También existen limitantes enfocadas a la reacción biológica al tratar contaminantes recalcitrantes. Generalmente este punto se ha venido atacando mediante la modificación genética de microorganismos por lo que una vez hecho esto la única etapa de que limita el proceso sería la transferencia de masa.

1.3.2.1 Biofiltros

En este proceso se utilizan microorganismos los cuales son fijados en un medio poroso, para que degraden los contaminantes que se encuentran presentes en un efluente gaseoso. Estos microorganismos crean una biopelícula la cual puede crecer en la superficie, en los macroporos del soporte o estar suspendida en la fase acuosa que rodea a las partículas. El material empacado está formado por materiales inertes que pueden ser: composta, bagazo de caña, vermiculita, entre otros. El proceso de estos sistemas se basa en pasar una corriente de aire dentro del lecho empacado, donde los contaminantes de la fase aire son sorbidos dentro de la biopelícula, para posteriormente ser degradados. Estos sistemas

usan una combinación de procesos básicos de: absorción, adsorción, degradación y desorción del contaminante en la fase gaseosa (Devinny et al, 1999; Sharefdeen y Singh, 2005).

1.3.2.2 Columnas de absorción (Biolavadores)

En este sistema los contaminantes gaseosos se absorben en una fase líquida en movimiento, para posteriormente ser degradados por los microorganismos que se encuentran suspendidos en la fase líquida. En los biolavadores los microorganismos son fijados en un material inorgánico y suspendidos en la fase acuosa, para degradar los contaminantes absorbidos durante su paso por el reactor. La ventaja de este sistema es que puede proporcionársele de manera continua nutrientes, además de remover posibles subproductos tóxicos para los microorganismos, así como favorecer la difusión de contaminantes hidrofílicos en la biopelícula (Devinny et al., 1999).

1.3.2.3 Sistemas Bifásicos (SB)

Los sistemas convencionales de tratamiento de aire como biofiltros, biolavadores, están diseñados para tratar emisiones de aire a bajas concentraciones de contaminantes. Los principales problemas que presentan este tipo de reactores son: canalización, secado en la columna empacada, baja transferencia de masa (sustrato, oxígeno) e inhibición por sustratos tóxicos (Heslinga, 1994). Los sistemas bifásicos son una nueva tecnología diseñada para eliminar estas limitaciones, además de ser una alternativa para tratar emisiones con concentraciones altas de contaminantes (hidrofóbicos e hidrofílicos), las cuales son tratadas a través de procesos fisicoquímicos.

Un sistema bifásico (ver Figura 1.2) se compone de una fase acuosa (la cual contiene los microorganismos y los nutrientes) y una fase oleosa (orgánica), la cual secuestra altas concentraciones del sustrato tóxico, disminuyendo el contacto que se genera entre los microorganismos y las altas concentraciones de sustrato en el sistema (Déziel et al., 1999). Este proceso es debido a la partición del contaminante en la fase oleosa.

Una limitante de los sistemas bifásicos es la selección de la fase oleosa adecuada para llevar a cabo la degradación del contaminante deseado. La fase orgánica debe reunir ciertos requisitos, debe ser: no tóxica, no biodegradable por los microorganismos (para evitar competencias en la biodegradación de la fase oleosa y el contaminante), biocompatible, inmiscible con la fase acuosa, tener un buen coeficiente de partición, disponible y económica (Collins y Daugulis, 1999). Esta fase oleosa inmiscible y biocompatible actúa como un depósito del sustrato tóxico (hidrofóbico) y en ella ocurre la transferencia del sustrato a los microorganismos, en la fase acuosa se encuentran los microorganismos y nutrientes. Algunos ejemplos de fases orgánicas utilizadas en sistemas bifásicos son: tetradecano, hexadecano, undecano, aceite de silicona, etc. En la Tabla 1.3 reportada por Muñoz et al., (2007), se muestran las fases orgánicas utilizadas recientemente en la degradación de hidrocarburos, así como la relación (v/v) que se utilizó.

Tabla 1.3. Fases oleosas utilizadas biorreactores para aumentar la degradación de hidrocarburos.

COV / Sistema	Fase oleosa	Relación (v/v)^A	Referencia
Benceno/RTA	Hexadecano	33%	Davison y Daugulis, (2003)
Benceno/RTA	Hexadecano	33%	Nielsen et al. (2005)
Tolueno/RTA	Hexadecano	33%	Davison y Daugulis, (2003)
Tolueno/RTA	Hexadecano	33%	Daugulis y Boudreau (2003)
Hexano/BLE	Aceite de silicona	5%	Van Groenestijn y Lake (1999)
Hexano/SB	Aceite de silicona	10%	Muñoz et al. (2006)
Hexano/SB	Aceite de silicona	10%	Arriaga et al. (2006)
Hexano/B	Aceite de silicona	1%	Arriaga et al. (2006)
Estireno/BLE	Aceite de silicona	20%	Djeribi et al. (2005)

RTA = Reactor de tanque agitado, BLE = Biofiltro de lecho empacado, B = Biofiltro, SB = Sistema bifásico. A = Relación volumen/volumen de la fase oleosa y la fase acuosa.

La velocidad de transferencia de masa originada durante la partición entre las dos fases se ha observado que es rápida, además de ser controlada por la actividad metabólica

de los microorganismos (Yeom y Daugulis, 2000), lo que permite que exista en el sistema altos niveles de biodegradabilidad cuando se tratan altas concentraciones de contaminantes.

La toxicidad y la biodisponibilidad de muchos contaminantes, son obstáculos importantes que se deben primero superar para mejorar los procesos de biodegradación, los sistemas de dos fases tienen el potencial de resolver ambas limitaciones que las tecnologías de biotratamiento más comunes no han podido aun, mediante el aumento en la tasa de transferencia de masa de compuestos con baja biodisponibilidad (Déziel et al., 1999). En la Tabla 1.4 se comparan capacidades de eliminación de sistemas de una fase y dos fases.

Tabla 1.4. Comparación de resultados obtenidos en sistemas de una y dos fases

COV / Sistema	Carga ^A	[COV] ^B	ER ^C	CE ^D	Referencia
Tolueno/RTA*	235	9	99	233	Davison y Daugulis, (2003)
Tolueno/RTA*	748	15	97	727	Daugulis y Boudreau (2003)
Hexano/BLE*	100	10	90	90	Van Groenestijn y Lake (1999)
Hexano/SB*	180	3	77	140	Muñoz et al. (2006)
Hexano/SB*	180	3	67	120	Arriaga et al. (2006)
Hexano/B*	180	3	90	160	Arriaga et al. (2006)
Tolueno/B ⁺	29	0.8	97	28	Neal y Loehr (2000)
Tolueno/B ⁺	46	0.8	100	46	Song y Kinney (2005)
Tolueno/B ⁺	255	6	98	250	García-Peña et al. (2001)
Hexano/B ⁺	100	4	100	50	Spigno et al. (2003)
Hexano/B ⁺	160	3	66	100	Arriaga y Revah (2005)
Hexano/B ⁺	290	2	20	60	Kibazohi et al. (2004)

RTA = Reactor de tanque agitado, BLE = Biofiltro de lecho empacado, B = Biofiltro, SB = Sistema bifásico. A = Carga volumétrica (g/m³*h), B = Concentración inicial de COVs (g/m³).

C = Eficiencia de eliminación (%), D = Capacidad de eliminación (g/m³*h)

+ = Sistemas de una fase, * = Sistemas con fase oleosa

En la Tabla anterior se indica que los sistemas de dos fases son capaces de sobrepasar el potencial de aplicación de los sistemas de una fase (Déziel et al., 1999). Además, los SB presentan una alternativa de tratamiento eficaz para COVs hidrofóbicos, ya que a partir de su uso se incrementa el transporte del contaminante debido a la naturaleza hidrofóbica del aceite, la alta absorción del contaminante hidrofóbico en el aceite y al incremento del área interfacial, lo que permite mayores velocidades de degradación.

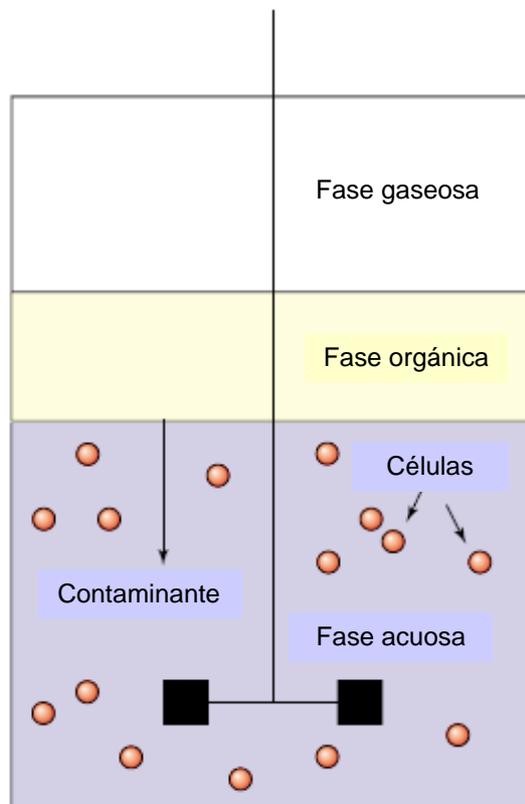


Figura 1.2. Esquematización de un sistema bifásico. (Daugulis, 2001)

1.4 Biodegradación de hidrocarburos en sistemas bifásicos

El tratamiento de hidrocarburos aromáticos a través de biorreactores de dos fases, es una nueva estrategia desarrollada para incrementar la biodisponibilidad y biodegradación de contaminantes tóxicos e hidrofóbicos (Denziel et al., 1999). Se han hecho varios estudios de biodegradación de hidrocarburos aromáticos en los cuales se han obtenido resultados favorables en la degradación de compuestos como fenol (Collins y Daugulis, 1997), Tolueno (Collins y Daugulis, 1999) y benceno (Yeom y Daugulis, 2001). Recientemente se han enfocado en la degradación de compuestos HAP, como: fenantreno, pireno, antraceno y naftaleno, mediante el uso de microorganismos hidrofóbicos adheridos en la fase oleosa (MacLeod y Daugulis, 2005). Un ejemplo de fase oleosa utilizada para la degradación de hidrocarburos como Tolueno, fue el n-hexadecano. Se utilizó n-hexadecano debido a su nula toxicidad y degradabilidad que presentó con los microorganismos utilizados (Collins y Daugulis, 2003).

A partir de estos estudios se han obtenido buenos resultados gracias a los altos valores de velocidades de degradación, debidos al aumento en el área de contacto de la fase orgánica y la acuosa, y a las interacciones de los organismos hidrofóbicos con el compuesto a degradar (Arriaga et al., 2006). Los estudios llevados a cabo en biorreactores de dos fases han mostrado eficiencias de eliminación de hidrocarburos como benceno y Tolueno de un 99% (Ver Tabla 1.4). Collin y Daugulis en el 2003 llevaron a cabo la degradación de una mezcla de benceno y Tolueno, llegando a la conclusión que es factible degradar dos compuestos químicos simultáneamente en un sistema bifásico con altas capacidades de eliminación. Se estima que los biorreactores de 2 fases tienen un potencial alto de capacidad de eliminación de algunos COVs, para el caso del tolueno se encontró, que los biorreactores de 2 fases pueden alcanzar capacidades de eliminación de hasta $1290 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, lo cual es muy alto si se compara con capacidades de eliminación de Tolueno obtenidas por biofiltros, esto gracias a que no existen limitaciones en la transferencia de masa (Collin y Daugulis, 2003; Aizpuru et al., 2005).

Los resultados obtenidos de los biorreactores de dos fases han mostrado eficiencias de remoción altas sobre compuestos orgánicos, debido a un aumento de las velocidades de transferencia de masa, gracias a los equilibrios de partición entre fases hidrofóbicas (sustrato-fase oleosa). Lo que hace que los sistemas bifásicos sean efectivos para tratar mezclas de hidrocarburos con nula o baja solubilidad en agua. La fase oleosa en los sistemas bifásicos sirve como depósito del contaminante, contribuyendo a que no exista inhibición hacia los microorganismos por altas cargas del contaminante, ya que los microorganismos disponen del sustrato paulatinamente.

II JUSTIFICACIÓN

La contaminación atmosférica es un problema grave que se ha ido incrementado con el paso de los años, debido principalmente al aumento de las actividades antropogénicas. La Agencia de Protección Ambiental (EPA) en su Acta de Aire limpio de 1999 enlista una serie de contaminantes emitidos a la atmósfera, los cuales tienen efectos negativos en el medio ambiente y en la salud de los humanos. Dentro de esta lista encontramos contaminantes como Tolueno, Hexano y tricloroetileno (TCE).

Debido al alto riesgo que presentan las emisiones de contaminantes a la salud pública, es necesario establecer tecnologías para el tratamiento de emisiones contaminantes. Las tecnologías de tratamiento biológico han mostrado ser más eficientes que los métodos de tratamiento fisicoquímicos, debido a su bajo costo y a que son tecnologías amigables con el medio ambiente.

Una alternativa viable para eliminar COVs del aire es a través de sistemas biológicos bifásicos. Estos sistemas surgieron por la necesidad de eliminar limitaciones de biodegradación debido a la baja biodisponibilidad de contaminantes hidrofóbicos, las cuales comúnmente se presentan en los biorreactores convencionales de tratamiento biológico (biofiltros, reactores de lecho escurrido, biolavadores). Los sistemas bifásicos son de interés por que, la incorporación de fases oleosas incrementa la biodisponibilidad del contaminante hacia los microorganismos, incrementando así su biodegradación.

Existen algunos compuestos como surfactantes que en principio mejorarían el transporte de masa de sustancias hidrofílicas e hidrofóbicas, debido a su capacidad de formar micelas, las cuales aumentan la solubilidad de sustancias en fases líquidas, por lo tanto los sistemas de 2 fases que incorporan surfactantes, mejorarían la transferencia de masa y tasas de biodegradación de hidrocarburos con distintas solubilidades.

Estudios realizados con mezclas complejas en sistemas bifásicos son escasos, aunque estas circunstancias suponen una situación más cercana a la realidad, en cuanto a

la biodegradación de emisiones reales de contaminantes, por tal motivo sería importante realizar el estudio de la degradación de compuestos con diferentes propiedades fisicoquímicas mediante sistemas de 2 fases.

III OBJETIVO E HIPÓTESIS

3.1 Objetivo general

Estudiar la biodegradación de hidrocarburos con distintas solubilidades (Hexano, Tolueno, tricloroetileno) individualmente y en mezcla, utilizando sistemas mono, bifásicos.

3.1.1 Objetivos particulares

- ❖ Obtener las velocidades de consumo de Hexano, Tolueno y TCE por un consorcio de microorganismos en experimentos en lote de:

1 fase (medio mineral)

2 fases (aceite de silicona-medio mineral; Pluronic F-68-medio mineral)

2 fases con surfactante (aceite de silicona-medio mineral- Pluronic F-68).

- ❖ Estudiar la biodegradación cometabólica de Tricloroetileno con Tolueno y Hexano en sistemas de 1 y 2 fases.

3.2 Hipótesis

- ❖ La velocidad de biodegradación de hidrocarburos hidrofóbicos e hidrofílicos se incrementa con el uso de sistemas bifásicos: medio mineral-surfactante, medio mineral-aceite, medio mineral-surfactante-aceite comparado con sistemas monobásicos (medio mineral).

IV MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Reactivos

Los solventes utilizados fueron Tricloroetileno, n-Hexano, Tolueno (Tecsiquim, Co. México) con un grado de pureza mayor a 98.5%. El agente tensoactivo Pluronic-F68 y aceite de silicona 200 [Poly(dimethylsiloxane)] fueron obtenidos de la compañía Sigma-Aldrich.

4.2 Inóculo y Medio Mineral

4.2.1 Inóculo

El consorcio de microorganismos fue obtenido de un sitio contaminado por una descarga de la industria papelera PRONAPADE en SLP y se mezcló con un suelo contaminado obtenido de la descarga de aceite de un taller mecánico. La extracción de los microorganismos se llevó a cabo con medio mineral a pH 7 en matraces de 500 mL y con agitación constante. Posteriormente, las soluciones se filtraron y se dejaron sedimentar por 24 horas, el sobrenadante se retiró y se agregó medio mineral fresco. Los microorganismos se colocaron en un matraz de 1 L, al cual se le adicionó medio mineral (Sección 4.2.2) para posteriormente colocarlo en una parrilla orbital a una velocidad de 150 revoluciones por minuto (rpm), en un cuarto de temperatura controlada a 30°C. La adición de vapores de Tricloroetileno, Hexano y Tolueno para llevar a cabo la adaptación del inóculo, se realizó cada 3 días, durante un periodo de 6 meses.

4.2.2 Medio Mineral

La composición del medio mineral usado en todos los experimentos se muestra en la Tabla 4.1. El pH se ajustó a 7 con una solución de NaOH a 0.2 N y fue esterilizado en autoclave a 120°C y 15 lb in⁻² por 15 min (García-Peña et al., 2001).

Tabla 4.1. Composición del medio mineral.

Compuesto	Concentración (g.L⁻¹)
Nitrato de Sodio (NaNO ₃)	6
Fosfato de Potasio (KH ₂ PO ₄)	1.3
Sulfato de Magnesio (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0.38
Sulfato de Calcio (CaSO ₄ .2H ₂ O)	0.25
Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	0.055
Sulfato de Hierro* (FeSO ₄ .7H ₂ O)	0.015
Sulfato de Manganeso* (MnSO ₄ . H ₂ O)	0.012
Sulfato de Zinc* (ZnSO ₄ . 7H ₂ O)	0.013
Sulfato de Cobre* (CuSO ₄ . 7H ₂ O)	0.0023
Cloruro de Cobalto* (CoCl ₂ . 6H ₂ O)	0.0015
Ácido Bórico* (H ₃ BO ₃)	0.0015

*Elementos traza

4.3 Experimentos

4.3.1 Sistemas en lote (microcosmos)

En estos sistemas se realizaron estudios cinéticos con Tricloroetileno, Hexano y Tolueno utilizando una (F₁) y dos fases (F₂), individualmente así como mezclas de estos solventes. Una vez terminada la cinética en lote se obtuvieron las velocidades de consumo de los solventes, así como la eficiencia de eliminación y porcentaje de mineralización.

Todos los experimentos en lote se llevaron a cabo en botellas serológicas de 120 mL y se sellaron con válvulas mininert de Teflón (Tapa de 20 mm, Supelco); además de realizarse por duplicado. Se colocaron en una incubadora a 30°C y a una velocidad de agitación de 120 rpm. Se midió el consumo de hidrocarburo y O₂, y la producción de CO₂, (por Cromatografía de Gases), biomasa (inicial y final por el método de Lowry) y pH inicial y final (para las cinéticas con TCE). Para el control se monitoreó la producción de CO₂ debida a la respiración endógena de los microorganismos.

4.3.1.1 Determinación de concentración inhibitoria

Las concentraciones de hidrocarburos que se probaron fueron: Hexano (55, 82, 110, 137, 165 y 220 g/m³), Tolueno (72, 108, 145, 181, 217 y 289 g/m³) y Tricloroetileno (6, 13, 25, 38, 50 y 63 g/m³). El contenido de los microcosmos fue 17 mL de medio mineral y 3 mL de inóculo.

4.3.1.2 Experimentos de una fase (F₁)

El contenido de los F₁ es igual al colocado en los experimentos de determinación de concentración inhibitoria. Se inyectaron volúmenes definidos de los hidrocarburos antes mencionados y se monitoreó su concentración en la fase gaseosa así como la producción de CO₂ como una medida de mineralización de la fuente de carbono a través del tiempo. Los volúmenes inyectados fueron 2.5, 5, 7.5 y 10 µL para Tolueno y Hexano. En la Tabla 4.2 se muestra la conversión de los volúmenes utilizados de los hidrocarburos Hexano, Tolueno y Tricloroetileno (TCE) en concentración (g/m³).

Tabla 4.2. Concentraciones inyectadas de solventes a los microcosmos.

Hidrocarburo	Volumen (µL)	Concentración (g/m ³)
Hexano	2.5	14
Hexano	5	28
Hexano	7.5	41
Hexano	10	55
Tolueno	2.5	19
Tolueno	5	36
Tolueno	7.5	54
Tolueno	10	72
Tricloroetileno (TCE)	0.5	6

*Concentraciones referidas a la densidad del compuesto a condiciones de 30°C.

El contenido de los experimentos con mezclas de hidrocarburos en una fase, experimentos controles (EC) y experimentos abióticos se muestran en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 1 fase (F₁).

F₁ - Mezcla											
Frasco	MM (17mL)	Inóculo (3 mL)	Inducción TCE con Tolueno				Inducción TCE con Hexano				
			C _{0TCE}	C _{1tol}	C _{2tol}	C _{3tol}	C _{4tol}	C _{1hex}	C _{2hex}	C _{3hex}	C _{4hex}
1	x	x	x	x							
2	x	x	x		x						
3	x	x	x			x					
4	x	x	x				x				
5	x	x	x					x			
6	x	x	x						x		
7	x	x	x							x	
8	x	x	x								x
Experimentos bióticos con hidrocarburos individuales											
EC 1	x	x									
EC 2	x	x	x								
EC 3	x	x		x							
EC 3	x	x			x						
EC 3	x	x				x					
EC 3	x	x					x				
EC 4	x	x						x			
EC 4	x	x							x		
EC 4	x	x								x	
EC 4	x	x									x
Experimentos abióticos											
CA 2	x		x								
CA 3	x			x							
CA 3	x				x						
CA 3	x					x					
CA 3	x						x				
CA 4	x							x			
CA 4	x								x		
CA 4	x									x	
CA 4	x										x

MM = Medio mineral, Hex = Hexano, Tol = Tolueno.

C₀, C₁, C₂, C₃, C₄ = 0.5 uL, 2.5 uL, 5 uL, 7.5 uL y 10 uL respectivamente.

EC1 = Respiración endógena, EC 2 = Experimento control de TCE.

EC 3 = Experimento control de Tolueno, EC 4 = Experimento control de Hexano.

CA 2 = Control abiótico de TCE, CA 3 = Control abiótico de Tolueno, CA 4 = Control abiótico de Hexano.

4.3.1.3 Experimentos de 1 fase con surfactante (F_{1S})

Estos experimentos contenían: medio mineral y surfactante. En estos experimentos, el 95% del volumen se conformó de medio mineral e inóculo, mientras que el otro 5% correspondió al surfactante Pluronic F-68 a 0.10% (w/v_{H2O}). Las mezclas de hidrocarburos realizadas en estos sistemas fueron: TCE-Hexano y TCE-Tolueno. Las concentraciones de Hexano y Tolueno que se utilizaron en estas cinéticas fueron las mismas que las empleadas en los estudios de una fase. El contenido de los experimentos con mezclas de hidrocarburos en una fase con surfactante y experimentos controles (EC) se muestran en la Tabla 4.4 respectivamente.

Tabla 4.4. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 1 fase con surfactante (F_{1S}), medio mineral-Pluronic-F68 a 0.10% (w/v_{H2O}).

F_{1S}- Mezcla												
Frasco	MM (16 mL)	Inóculo (3 mL)	Pluronic [▲] (1 mL)	Inducción TCE con Tolueno					Inducción TCE con Hexano			
				C _{0TCE}	C _{1tol}	C _{2tol}	C _{3tol}	C _{4tol}	C _{1hex}	C _{2hex}	C _{3hex}	C _{4hex}
1	x	x	x	x	x							
2	x	x	x	x		x						
3	x	x	x	x			x					
4	x	x	x	x				x				
5	x	x	x	x					x			
6	x	x	x	x						x		
7	x	x	x	x							x	
8	x	x	x	x								x
Experimentos bióticos con hidrocarburos individuales												
EC 1	x	x	x									
EC 2	x	x	x	x								
EC 3	x	x	x		x							
EC 3	x	x	x			x						
EC 3	x	x	x				x					
EC 3	x	x	x					x				
EC 4	x	x	x						x			
EC 4	x	x	x							x		
EC 4	x	x	x								x	
EC 4	x	x	x									x
Experimentos abióticos												
CA 2	x		x	x								
CA 3	x		x		x							
CA 3	x		x			x						
CA 3	x		x				x					
CA 3	x		x					x				
CA 4	x		x						x			
CA 4	x		x							x		
CA 4	x		x								x	
CA 4	x		x									x

MM = Medio mineral, Hex = Hexano, Tol = Tolueno, [▲] Pluronic F-68 a 0.10% (w/v).

C₀, C₁, C₂, C₃, C₄ = 0.5 uL, 2.5 uL, 5 uL, 7.5 uL y 10 uL respectivamente.

EC1 = Respiración endógena, EC 2 = Experimento control de TCE.

EC 3 = Experimento control de Tolueno, EC 4 = Experimento control de Hexano.

CA 2 = Control abiótico de TCE, CA 3 = Control abiótico de Tolueno, CA 4 = Control abiótico de Hexano.

4.3.1.4 Experimentos de dos fases (F₂)

Los experimentos bifásicos realizados contuvieron: medio mineral-aceite de silicona (F₂) y medio mineral-surfactante-aceite de silicona (F_{2S}). En esta etapa, a diferencia de los experimentos F₁, los microcosmos mantuvieron una relación de 9.5 a 0.5 en volumen. Es decir, el 95% del volumen total se conformó de inóculo-medio mineral para los F₂, mientras que para los F_{2S} se le agregó además surfactante. El 5% restante fue aceite de silicona.

Las mezclas de hidrocarburos realizadas en estos sistemas bifásicos fueron: TCE-Hexano y TCE-Tolueno. Las concentraciones de Hexano y Tolueno utilizadas en estas cinéticas de dos fases fueron las mismas que se emplearon en los estudios de una fase. El contenido de los experimentos con mezclas de hidrocarburos en dos fases y experimentos controles (EC) se muestran en la Tabla 4.5 (Medio mineral-aceite silicona) y 4.6 (Medio mineral-surfactante-aceite de silicona) respectivamente. Se colocaron 36 tratamientos experimentales para cada una de las dos fases dando un total de 72 tratamientos experimentales, para cubrir la etapa completa. Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado.

4.3.1.4.1 Aceite de Silicona – Medio mineral (F₂)

Tabla 4.5. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 2 fases (F₂), medio mineral-aceite de silicona.

F₂- Mezcla												
Frasco	MM (16 mL)	Inóculo (3 mL)	Aceite (1 mL)	Inducción TCE con Tolueno					Inducción TCE con Hexano			
				C _{0TCE}	C _{1tol}	C _{2tol}	C _{3tol}	C _{4tol}	C _{1hex}	C _{2hex}	C _{3hex}	C _{4hex}
1	x	x	x	x	x							
2	x	x	x	x		x						
3	x	x	x	x			x					
4	x	x	x	x				x				
5	x	x	x	x					x			
6	x	x	x	x						x		
7	x	x	x	x							x	
8	x	x	x	x								x
Experimentos bióticos con hidrocarburos individuales												
EC 1	x	x	x									
EC 2	x	x	x	x								
EC 3	x	x	x		x							
EC 3	x	x	x			x						
EC 3	x	x	x				x					
EC 3	x	x	x					x				
EC 4	x	x	x						x			
EC 4	x	x	x							x		
EC 4	x	x	x								x	
EC 4	x	x	x									x
Experimentos abióticos												
CA 2	x		x	x								
CA 3	x		x		x							
CA 3	x		x			x						
CA 3	x		x				x					
CA 3	x		x					x				
CA 4	x		x						x			
CA 4	x		x							x		
CA 4	x		x								x	
CA 4	x		x									x

MM = Medio mineral, Hex = Hexano, Tol = Tolueno.

C₀, C₁, C₂, C₃, C₄ = 0.5 uL, 2.5 uL, 5 uL, 7.5 uL y 10 uL respectivamente.

EC1 = Respiración endógena, EC 2 = Experimento control de TCE.

EC 3 = Experimento control de Tolueno, EC 4 = Experimento control de Hexano.

CA 2 = Control abiótico de TCE, CA 3 = Control abiótico de Tolueno, CA 4 = Control abiótico de Hexano.

4.3.1.4.2 Pluronic F-68 – Medio mineral – Aceite de silicona (F_{2S})

Tabla 4.6. Condiciones experimentales aplicadas en los tratamientos bióticos, abióticos y controles en sistemas de 2 fases (F_{2S}), medio mineral - aceite de silicona - Pluronic-F68 a 0.10% (w/v).

F_{2S}- Mezcla													
Frasco	MM (15 mL)	Inóculo (3 mL)	Aceite (1 mL)	Pluronic [▲] (1 mL)	Inducción TCE con Tolueno					Inducción TCE con Hexano			
					C _{1TCE}	C _{1tol}	C _{2tol}	C _{3tol}	C _{4tol}	C _{1hex}	C _{2hex}	C _{3hex}	C _{4hex}
1	x	x	x	x	x	x							
2	x	x	x	x	x		x						
3	x	x	x	x	x			x					
4	x	x	x	x	x				x				
5	x	x	x	x	x					x			
6	x	x	x	x	x						x		
7	x	x	x	x	x							x	
8	x	x	x	x	x								x
Experimentos bióticos con hidrocarburos individuales													
EC 1	x	x	x	x									
EC 2	x	x	x	x	x								
EC 3	x	x	x	x			x						
EC 3	x	x	x	x				x					
EC 3	x	x	x	x					x				
EC 3	x	x	x	x						x			
EC 4	x	x	x	x							x		
EC 4	x	x	x	x								x	
EC 4	x	x	x	x									x
EC 4	x	x	x	x									x
Experimentos abióticos													
CA 2	x		x	x	x								
CA 3	x		x	x			x						
CA 3	x		x	x				x					
CA 3	x		x	x					x				
CA 3	x		x	x						x			
CA 4	x		x	x							x		
CA 4	x		x	x								x	
CA 4	x		x	x									x
CA 4	x		x	x									x

MM = Medio mineral, Hex = Hexano, Tol = Tolueno, [▲] Pluronic F-68 a 0.10% (w/v).

C₀, C₁, C₂, C₃, C₄ = 0.5 uL, 2.5 uL, 5 uL, 7.5 uL y 10 uL respectivamente.

EC1 = Respiración endógena, EC 2 = Experimento control de TCE.

EC 3 = Experimento control de Tolueno, EC 4 = Experimento control de Hexano.

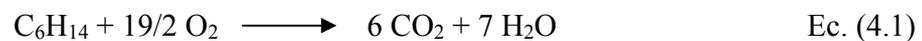
CA 2 = Control abiótico de TCE, CA 3 = Control abiótico de Tolueno, CA 4 = Control abiótico de Hexano.

4.3.2 Expresión de resultados

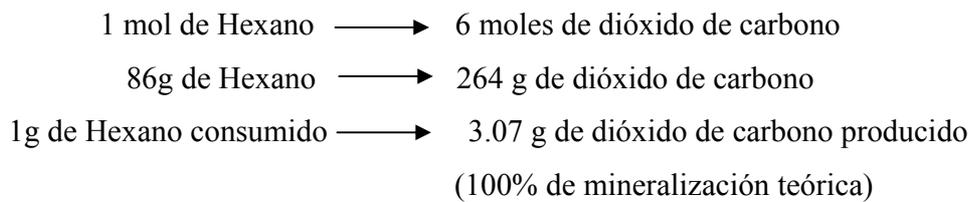
Los resultados obtenidos se expresaron en porcentaje de mineralización calculado con base en balances de carbono, eficiencia de eliminación (%ER) y velocidades de consumo de acuerdo al modelo de Gompertz (Acuña, 1999).

4.3.2.1 Porcentaje de mineralización

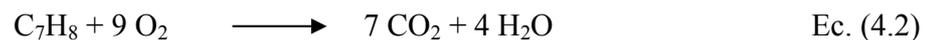
La determinación del porcentaje de mineralización se realizó haciendo balances con base en carbono para Hexano, Tolueno y TCE de acuerdo a la estequiometría de la reacción. La ecuación que representa la oxidación completa de Hexano es la siguiente:



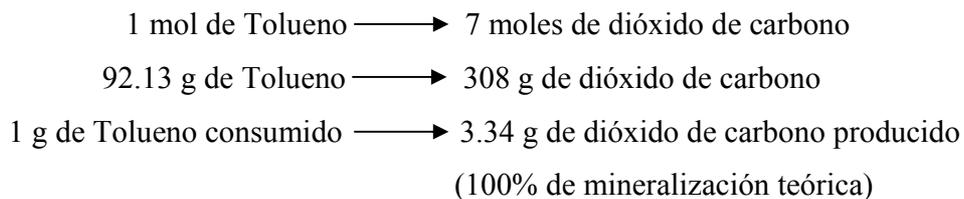
Por lo tanto:



La ecuación de oxidación completa del Tolueno es la siguiente:



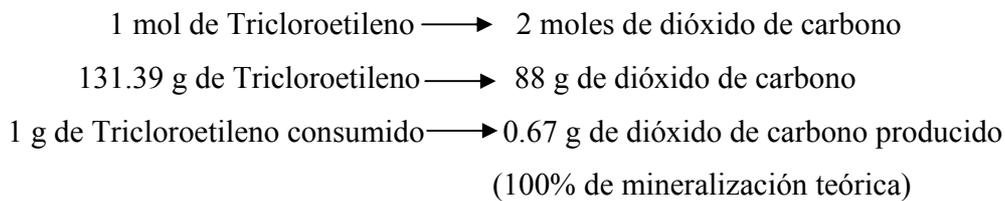
Por lo tanto:



La ecuación de oxidación completa del tricloroetileno se muestra a continuación:



Por lo tanto:



Una vez calculada la producción de CO₂ teórica, obtenida de las ecuaciones de oxidación completa, se calculó el % de mineralización aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de mineralización} = 100 \times (\text{mg CO}_2 \text{ experimentales} / \text{mg CO}_2 \text{ teórico}) \quad \text{Ec. (4.4)}$$

4.3.2.2 Eficiencia de eliminación

La eficiencia de eliminación (%ER) es un parámetro que nos indica el desempeño de un sistema, se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%ER = \frac{(C_{\text{Sent}}^g - C_{\text{Ssal}}^g)}{C_{\text{Sent}}^g} \cdot 100 \quad \text{Ec. (4.5)}$$

Donde:

C_{Sent}^g : Concentración de solvente inicial (g/m³)

C_{Ssal}^g : Concentración de solvente final (g/m³)

4.3.2.3 Velocidades de consumo de hidrocarburo y producción de CO₂

Estas velocidades se calcularon en base al modelo de crecimiento de Gompertz. Este modelo describe una curva asintótica, mediante la siguiente ecuación;

$$S_c = a \exp(-b \exp^{-kt}) \quad \text{Ec. (4.6)}$$

Donde:

S_c : Sustrato consumido (g).

a : Máxima cantidad de sustrato consumido (g).

b : Parámetro relacionado con las condiciones iniciales (adimensional).

k : Velocidad de consumo de sustrato (h⁻¹).

t : Tiempo (h)

Para determinar la tasa volumétrica máxima de consumo de sustrato y producción de CO₂, se utilizó la siguiente ecuación que se obtiene a partir de los valores de a y k del modelo de Gompertz.

$$V_{MAX} = 0.368 * a * k \quad \text{Ec. (4.7)}$$

Para la obtención de la velocidad específica (V_{ESP}) se dividirá la V_{MAX} obtenida entre la concentración de biomasa introducida en el sistema. A continuación se muestra la ecuación con la cual se determinaron las velocidades específicas.

$$V_{ESP} = \frac{(V_{MAX}) (\text{Volumen de fase gaseosa})}{(\text{Concentración de biomasa}) (\text{Volumen de fase líquida})} \quad \text{Ec. (4.8)}$$

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de hidrocarburo consumido/gramo de proteína * hora)

4.3.3 Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad

Estas pruebas se hicieron para aceite de silicona y el agente tensoactivo Pluronic –F68, se realizaron en botellas serológicas con un volumen de 120 mL, a los cuales se les colocó tapones de hule, para posteriormente sellarlos con tapas de aluminio. Los experimentos de biodegradabilidad y toxicidad consistieron en agregar 17 mL de medio mineral, 2 mL del compuesto a analizar, aceite de silicona o Pluronic F-68 y se inocularon con 1 mL del consorcio microbiano, manteniéndose una relación 9:1 (fase acuosa-compuesto a analizar). Para los experimentos de toxicidad se agregó al medio mineral 80 µL de una solución que contenía: 1 g.L⁻¹ de glucosa, 0.02 g.L⁻¹ de extracto de levadura y 0.02 g.L⁻¹ de peptona. Se realizaron controles experimentales, los cuales contenían todos los elementos antes mencionados, exceptuando el compuesto a analizar, con la finalidad de tener como control la respiración endógena. Las botellas serológicas se colocaron en una parrilla orbital a una velocidad de agitación de 150 rpm y una temperatura de 30 °C. Se monitoreó la concentración de CO₂ en un Cromatógrafo de Gases durante un mes. La finalidad de las pruebas de biodegradabilidad y toxicidad es ver si las fases Pluronic F-68 y el aceite de silicona son adecuadas para poder llevar a cabo los experimentos. Para

poder utilizar cualquier fase oleosa es necesario que no sea ni tóxica, ni biodegradable por los microorganismos (Bruce y Daugulis, 1991).

4.3.4 Coeficiente de partición

El coeficiente de partición (m) para los compuestos Hexano, Tolueno y TCE, fue calculado a partir de la relación que existe entre la concentración en la fase gaseosa y la concentración en la fase líquida (Ec. 4.9). La concentración de hidrocarburo en la fase líquida se obtuvo a través de un balance de masa a partir de la ecuación 4.10.

Los experimentos de partición se dividieron en 3 partes, variando en cada experimento la composición de la fase líquida. Las fases líquidas analizadas por separado contenían los volúmenes siguientes: medio mineral (19 mL), Aceite de Silicona (1mL) y Pluronic F-68 a 0.10% (1mL), estos estudios fueron nombrados experimento 1 (E1), 2 (E2) y 3 (E3), respectivamente.

Los experimentos se elaboraron en botellas serológicas con un volumen de 120 mL a los cuales se les colocaron válvulas mininert de Teflón (Tapa de 20 mm, Supelco). A continuación se describe en la Tabla 4.7 el volumen y las concentraciones de los experimentos E1, E2 y E3 para los hidrocarburos Hexano, Tolueno y TCE.

Los volúmenes utilizados en estos estudios se eligieron con base en estudios antes realizados para determinar coeficientes de partición (Arriaga, 2006). Los experimentos se realizaron por duplicado, siendo un total de 36 tratamientos experimentales por hidrocarburo. Se colocaron en una incubadora (Lab Line) a una temperatura de 30°C, con el fin de lograr el equilibrio entre la fase gaseosa y líquida. Se mantuvieron en incubación por 72 horas, tiempo suficiente para lograr el equilibrio en los sistemas E1, E2 y E3. Estudios previos similares realizados en laboratorio han mostrado que en 72 horas los sistemas en lotes alcanzan el equilibrio en fases líquido-gas. (Vergara et al., 2006)

Tabla 4.7. Volúmenes y concentraciones utilizadas en los experimentos de partición para los hidrocarburos Hexano, Tolueno y TCE a 30°C.

Experimento	Hexano		Tolueno		Tricloroetileno (TCE)	
	Volumen inyectado (μL)	Concentración (g/m ³)	Volumen inyectado (μL)	Concentración (g/m ³)	Volumen inyectado (μL)	Concentración (g/m ³)
E1	5	28	5	36	5	86
	10	55	10	72	10	172
	20	110	20	145	20	345
	50	248	50	361	50	862
	100	549	100	722	100	1724
	200	1098	200	1445	200	3448
E2	5	28	5	36	5	86
	10	55	10	72	10	172
	20	110	20	145	20	345
	50	248	50	361	50	862
	100	549	100	722	100	1724
	200	1098	200	1445	200	3448
E3	5	28	5	36	5	86
	10	55	10	72	10	172
	20	110	20	145	20	345
	50	248	50	361	50	862
	100	549	100	722	100	1724
	200	1098	200	1445	200	3448

E1 = Fase medio mineral. E2 = Fase Aceite de silicona. E3 = Fase Pluronic F-68 al 0.10% (w/v H₂O).

La concentración en la fase gaseosa se monitoreó cada 24 horas durante un periodo de 72 horas, a través de un Cromatógrafo de Gases (Sección 4.4.1.1). A continuación se muestran las ecuaciones utilizadas:

$$m^1_s = (C^g_s / C^l_s) \quad \text{Ec. (4.9)}$$

donde:

m^1_s es coeficiente de partición (adimensional)

C^g_s es la concentración de solvente en la fase gaseosa, (g/m³)

C^l_s es la concentración de solvente en la fase líquida, (g/m³)

$$C_s^l = (C_s^i - C_s^g) \quad \text{Ec. (4.10)}$$

donde:

C_s^i es la concentración de solvente inicial, (g/m^3)

C_s^g es la concentración de solvente en la fase gaseosa [en equilibrio], (g/m^3)

4.4 Métodos analíticos

4.4.1 Mediciones en la fase gaseosa

4.4.1.1 Concentración de Tricloroetileno, Hexano y Tolueno

Las mediciones de TCE, Hexano y Tolueno en la fase gaseosa, se obtuvieron a través de un Cromatógrafo de Gases CG (Agilent Technologies serie 6890N, Estados Unidos), equipado con un detector de ionización de flama y una columna capilar HP-5 de (30 m X 0.320 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película). Las temperaturas de operación fueron: inyector 150°C, columna 250°C y detector 250°C. Se utilizó como gas acarreador nitrógeno con un flujo de operación de 25 mL min^{-1} .

4.4.1.2 Producción de dióxido de carbono

En el caso del dióxido de carbono, para sus mediciones se empleó un Cromatógrafo de Gases “Agilent Technologies 6850”. El CG esta provisto con un detector de conductividad térmica y una columna capilar HP – PLOT Q (Divinylbenzene/styrene Porous Polymer), con dimensiones de: 30 m x 0.32 mm de diámetro interno x 20 μm de espesor de película. Las temperaturas del inyector, columna y detector fueron: 180, 35 y 180 °C respectivamente. El gas acarreador utilizado fue helio con un flujo de 10.1 mL min^{-1} . Para la inyección de las muestras en el cromatógrafo se utilizó una jeringa para gases (Hamilton Company; Reno, Nevada; Estados Unidos) aplicando un volumen de 100 μL .

4.4.2 Determinación de Proteína

La cantidad de biomasa se determinó midiendo proteína a través del Kit de Bio-Rad DC Protein Assay. Este Kit se basa en el método de Lowry (1952) y posee un límite máximo

de detección de 250 mg/L. El fundamento es la reacción de la proteína encontrada en la biomasa con tartrato de cobre en medio alcalino y la subsiguiente reducción del reactivo de Folin por el complejo tartrato de cobre-proteína, produciéndose un característico color azul, el cual posee un máximo de absorbancia a 750 nm. El kit incluye las soluciones A y B, la solución A esta formada por sulfato de cobre al 0,5% en tartrato a 1% y carbonato sódico al 2% en NaOH 0.2N. Reactivo B se puede preparar a partir de wolframato sódico, molibdato sódico, ácido fosfórico, HCl concentrado. Para poder determinar la concentración de proteína de las muestras se realizó una curva de calibración (Anexo A.5) utilizando como estándar albúmina de suero de bovino. Esta curva se realizó en un espectrómetro (UV/Vis Lambda 11, Perkin Elmer, Alemania) trabajando a una longitud de onda de 750 nm, del cual se obtuvieron absorbancias que junto con las concentraciones conocidas de proteínas formaron la curva de calibración.

La preparación de las muestras consistió en agregar 400 μ L de la muestra problema más 400 μ L de NaOH 0.2 N y se procedió a digerirla en un baño maría durante 15 min a 100°C. Una vez terminado este proceso se centrifugó a 13000 rpm durante 10 min. De esta muestra se tomaron 200 μ L y se agregaron 0.1mL del reactivo A y 0.8 mL del reactivo B después se colocó en la oscuridad durante un tiempo de 15 min, para posteriormente medir en el espectrómetro. Se preparó un blanco que contenía una parte de sosa y otra de agua de manera igual que el resto de las muestras.

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Pruebas preliminares

5.1.1. Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad

Las metodologías utilizadas en estas pruebas se explican en la Sección 4.3.3. Estas pruebas fueron aplicadas para Aceite de Silicona y Pluronic F-68. Las gráficas obtenidas se muestran en el anexo B. En la Tabla 5.1.1 se resumen los resultados obtenidos en estas pruebas.

En estos experimentos se consideró biodegradable aquel compuesto cuya producción de CO₂ fuera significativamente mayor a la producida en el frasco control de respiración endógena. Para los experimentos de toxicidad se consideró tóxico aquel compuesto cuya producción de CO₂ fuera menor al producido en el frasco control de respiración endógena. Para el caso de Pluronic F-68 al 2.5% (w/v) el valor de CO₂ obtenido al final fue menor 18% respecto a la respiración endógena.

Tabla 5.1.1. Pruebas de Biodegradabilidad y Toxicidad para el consorcio microbiano de diferentes compuestos adicionados en los ensayos.

Compuesto	Biodegradabilidad			Toxicidad		
	CO ₂ final (g/m ³)	CO ₂ R.E. final (g/m ³)		CO ₂ final (g/m ³)	CO ₂ R.E. final (g/m ³)	
Pluronic F-68 a 2.5% *	13	16	No	13	16	Si
Aceite de silicona	11	11	No	14	11	No
Pluronic F-68 a 0.10% *	10	11	No	13	11	No
Pluronic F-68 a 0.01% *	11	11	No	13	11	No

* Relación masa-volumen.

R.E. = respiración endógena (experimento control).

En la Tabla 5.1.1., se observó que el agente tensoactivo Pluronic-F68 es tóxico a concentraciones de 2.5% (w/v), lo cual se observa en la concentración promedio obtenida de CO₂ que fue de 13 g/m³, siendo menor a la obtenida en el experimento control que fue

de 16 g/m^3 . Sin embargo, a concentraciones de 0.10% y 0.01% (w/v) no resultó tóxico. El aceite de silicona no es biodegradable ni tóxico para el consorcio de microorganismos utilizado en estos experimentos. Con base en estos resultados, se optó por utilizar aceite de silicona como fase oleosa en los sistemas bifásicos, así como una solución de Pluronic-F68 a una concentración de 0.10% (w/v), con la finalidad de mejorar el transporte de masa entre el contaminante y los microorganismos del sistema.

5.1.1. Determinación de la concentración inhibitoria

Estos experimentos se realizaron para determinar cinéticas en un intervalo de concentraciones que no sean inhibitorias para el inóculo y para saber a qué concentración se obtienen las velocidades máximas de degradación de hidrocarburos. A continuación se muestra en las Figuras 5.1.1 y 5.1.2 los porcentajes de mineralización y las velocidades específicas promedio obtenidas para los hidrocarburos Hexano y Tolueno a diferentes concentraciones.

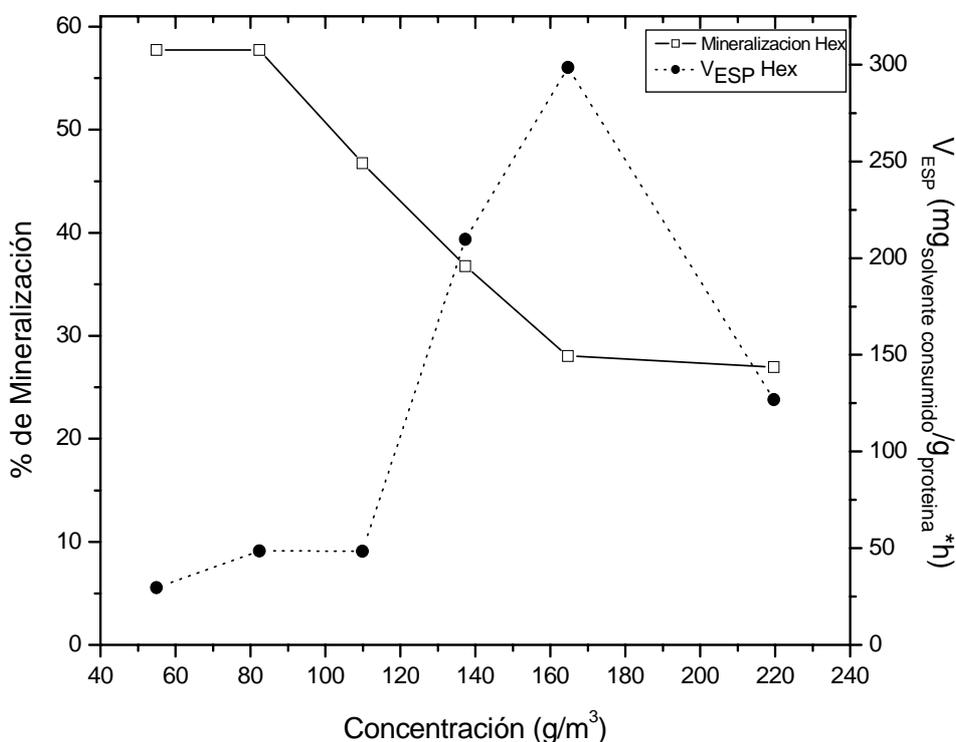


Figura 5.1.1. Velocidades específicas (●) y % de mineralización (□) obtenidos para Hexano.

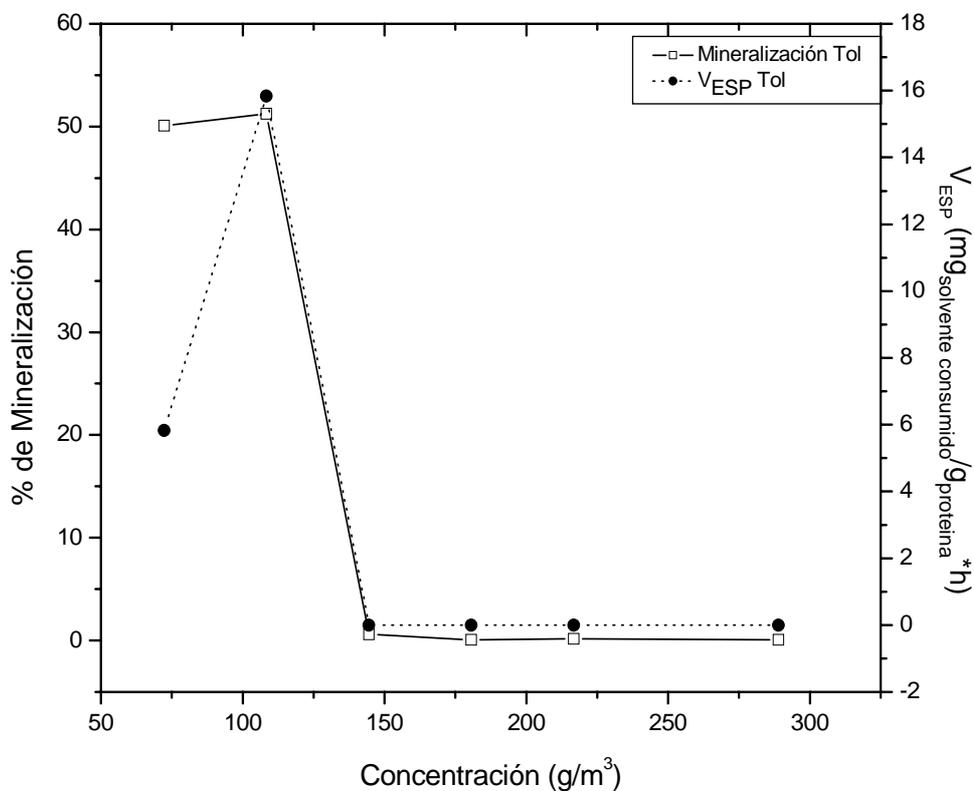


Figura 5.1.2. Velocidades específicas (●) y % de mineralización (□) obtenidos para Tolueno.

El Tolueno presentó la máxima mineralización y velocidad de consumo específica cuando se utilizó la concentración de 108 g/m³ siendo ésta la mejor para poder trabajar en este tipo de sistemas. Para el Hexano la máxima mineralización se alcanzó cuando se colocó una concentración de 55 g/m³. En cambio, la velocidad de consumo específica máxima no corresponde a la misma concentración a la cual se encontró lo máxima mineralización lo que significa probablemente que el Hexano sufre una degradación parcial conforme se aumenta la concentración en el sistema. Esto fue reportado por Arriaga et al. 2005.

5.1.3. Coeficiente de Partición

El coeficiente de partición se calculó para los solventes Tricloroetileno, Hexano y Tolueno mediante la metodología descrita en la Sección 4.3.4. En la Tabla 5.1.2 se

muestran los resultados obtenidos de los experimentos de partición diseñados para E2 y E3 (Sección 4.3.4).

Tabla 5.1.2. Coeficientes de partición de los hidrocarburos Hexano, Tolueno y Tricloroetileno, utilizando como fases aceite de silicona y Pluronic F-68 a 0.10% (w/v), a 30° C.

Hidrocarburo	Coeficiente de partición [$m^l_s = (C^g_s / C^l_s)$] ^a		Coeficiente Henry ^{b, c}	Solubilidad ^b mg/L
	Pluronic F-68	Aceite de Silicona		
Hexano	0.0571	0.0035	53	9.5
Tolueno	0.1042	0.0012	0.29	506.7
Tricloroetileno	0.0932	0.0030	0.4	1100

a = El coeficiente de partición (m) se determino a partir de las Ec. 4.9 y 4.10 experimentalmente.

b = La solubilidad se obtuvo de la base de datos de Syracuse Research Corporation (<http://www.syrres.com/esc/physdemo.htm>). El Coeficiente de Henry es adimensional.

c = Heron, et al. 1998.

El Tolueno fue el que presentó mayor afinidad hacia la fase orgánica de aceite de silicona (coeficiente de partición más pequeño), ya que se encontró 833 veces (1/0.0012) más en aceite que en la fase gaseosa. En cambio para el Hexano y el Tricloroetileno se encuentran alrededor de 300 veces (1/0.0035 y 1/0.0030) más en la fase de aceite que en la fase gaseosa. Respecto al coeficiente de partición del hidrocarburo en la fase de Pluronic F-68, el Hexano (0.0571) presentó mayor afinidad que Tolueno (0.1042) y TCE (0.0932). El valor obtenido del coeficiente de partición para Hexano en la fase de aceite de silicona de 0.0035 fue similar al obtenido por Arriaga et al. 2006 de 0.0034.

La afinidad que presentaron los hidrocarburos hacia las fases analizadas se muestra a continuación:

Aceite de silicona: Tolueno > Tricloroetileno > Hexano

Pluronic F-68: Hexano > Tricloroetileno > Tolueno

Durante la realización de los experimentos de partición, se observó que compuestos como Tolueno y Tricloroetileno presentaban valores de concentración constantes en la fase gaseosa, aunque se inyectaron volúmenes diferentes al sistema. Lo cual indica que se presentó una saturación en la interfase gas-líquido, esto se puede comprobar en base a diagramas de fases liquido-vapor. Este fenómeno se manifestó cuando se utilizaba como fase líquida medio mineral y Pluronic F-68 (Ver Fig. 5.1.3 y 5.1.5). Por otra parte cuando se utilizó como fase aceite de silicona no se alcanzó en ningún momento la saturación de la fase oleosa en el sistema. Esta tendencia se puede observar en las Figuras siguientes.

En las Figuras 5.1.3, 5.1.4 y 5.1.5 se muestran los resultados obtenidos.

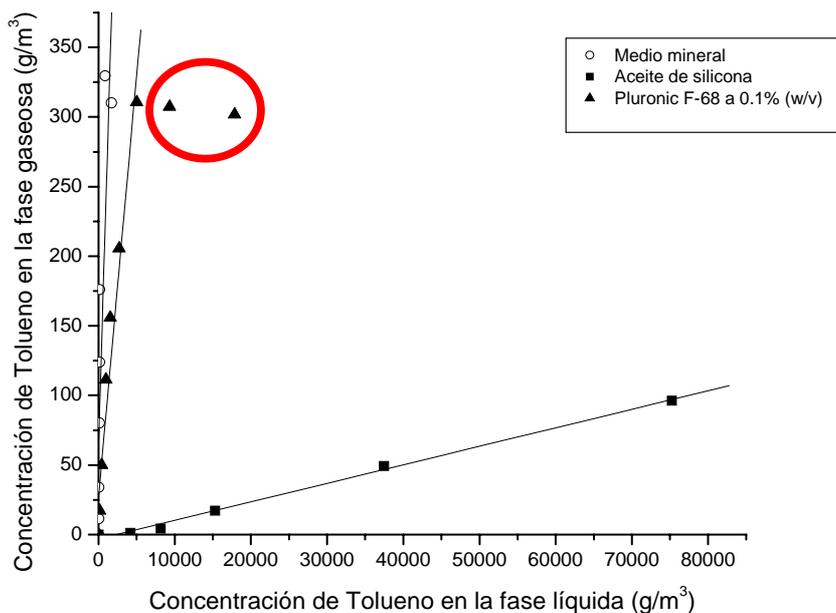


Figura 5.1.3. Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente de partición de Tolueno de las fases líquidas $m^1_s = (C^g_s / C^l_s)$. Para medio mineral $Y = 40.97 X$, $R^2 = 0.8829$ (○), Aceite de silicona $Y = 0.0012 X$, $R^2 = 0.9904$ (■) y Pluronic F-68 $Y = 0.1042 X$, $R^2 = 0.9081$ (▲).

El Tolueno presentó concentraciones constantes en la fase gaseosa cuando se inyectaron volúmenes arriba de 30 μ L, correspondientes a una concentración inicial de

299 g/m³, para las fases líquidas medio mineral y Pluronic F-68. El efecto antes mencionado se debe a que dentro del sistema se genera cierta presión que no permite que aumente la concentración en la fase gaseosa, por lo tanto se genera una mayor difusión del hidrocarburo hacia la fase líquida. Cuando se utilizó como fase aceite de silicona la saturación no se presentó, incluso se pudieron inyectar volúmenes de hasta 200 μL que equivale a una concentración de 1445 g/m³, esto se debió a que el aceite de silicona sorbió la mayoría del Tolueno inyectado, indicando que la afinidad del Tolueno en el aceite de silicona es alta como lo confirmó además el coeficiente de partición obtenido (Ver Tabla 5.12).

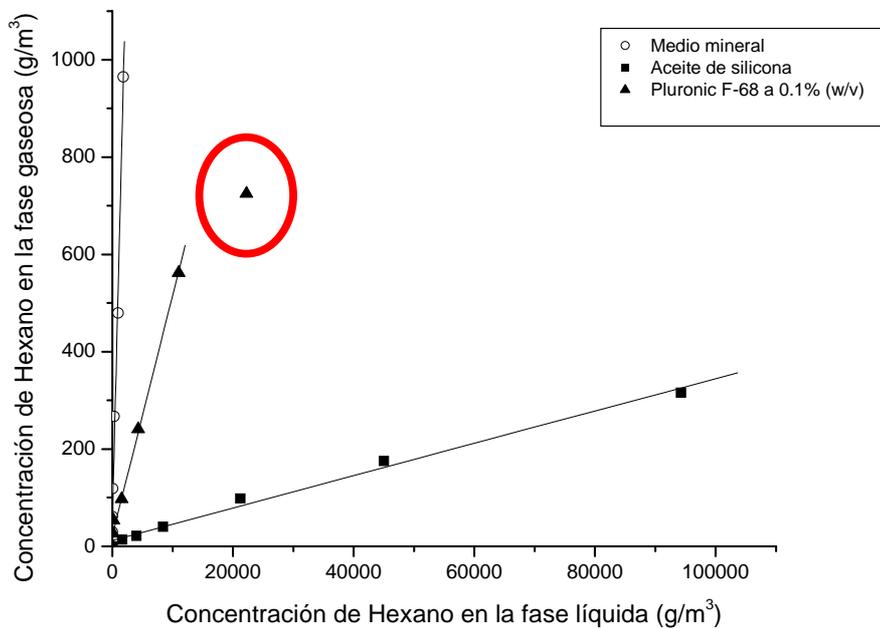


Figura 5.1.4. Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente de partición de Hexano de las fases líquidas $m^1_s = (C^g_s / C^l_s)$. Para medio mineral $Y = 0.5332 X$, $R^2 = 0.9647$ (○), Aceite de silicona $Y = 0.0035 X$, $R^2 = 0.9856$ (■) y Pluronic F-68 $Y = 0.0571 X$, $R^2 = 0.9856$ (▲).

El Hexano en presencia de Pluronic F-68 presentó saturación en la fase gaseosa cuando se inyectaron volúmenes mayores a 150 μL equivalentes a una concentración 824 g/m³. Para las fases medio mineral y aceite de silicona no se observó saturación en la fase gaseosa.

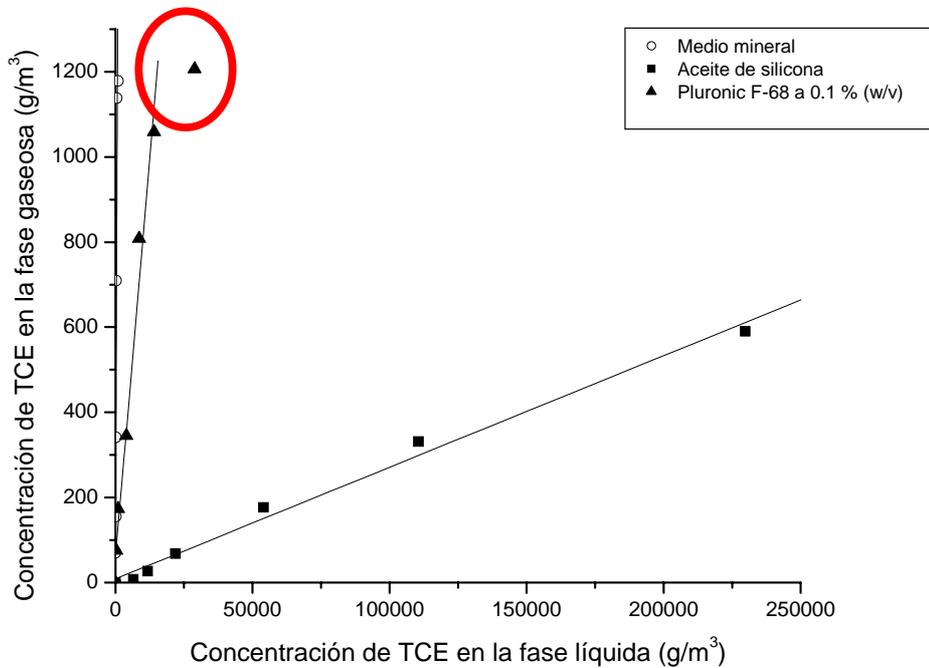


Figura 5.1.5. Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente de partición de TCE de las fases líquidas $m'_S = (C^g_S / C^l_S)$. Para medio mineral $Y = 2.6918 X$, $R^2 = 0.9706$ (○), Aceite de silicona $Y = 0.0030 X$, $R^2 = 0.9878$ (■) y Pluronic F-68 $Y = 0.0932 X$, $R^2 = 0.9746$ (▲).

El TCE presentó un comportamiento similar al observado por el Tolueno, ya que presentó saturación en la fase gaseosa para las mismas fases (medio mineral y Pluronic F-68). La saturación en la fase gaseosa para el TCE se presentó cuando se inyectaron al microcosmo volúmenes mayores a 50 μL equivalente a una concentración inicial de 862 g/m^3 . Con respecto al aceite de silicona en esta fase no se observó saturación en la fase gaseosa.

5.2. Experimentos de una fase (F₁)

Estos estudios fueron realizados con el fin de determinar las velocidades específicas de producción de CO₂ para Hexano y Tolueno. A partir de estos resultados, se obtuvieron los porcentajes de mineralización con base en balances de carbono para Tolueno y Hexano. Se realizaron experimentos individuales para Hexano y Tolueno así como experimentos en mezcla para ver si existía una biodegradación cometabólica de TCE con Hexano o Tolueno. Además, se determinaron las curvas de caída de concentración para cada contaminante y se compararon con controles abióticos.

5.2.1. Caída de concentración

En un sistema cerrado como lo es un biorreactor, los gases introducidos en el sistema se mueven de la fase gaseosa a la líquida, de acuerdo a las leyes de la física. Este equilibrio entre fases se le nombra partición. La partición que se forma entre las fases está relacionada a las propiedades fisicoquímicas del compuesto y de la fase líquida, así como por parámetros como temperatura, presión, pH, agitación, etc. Este equilibrio formado entre las fases contribuye a la caída de concentración que se genera en el sistema, afectando directamente las tasas de consumo del hidrocarburo y la producción de CO₂ generada por la biodegradación.

En estos experimentos se inyectaron volúmenes iguales de 2.5, 5.0, 7.5 y 10 uL de Tolueno y Hexano en las botellas serológicas los cuales corresponden a concentraciones de Hexano de 14, 28, 41, 55 g/m³ y de Tolueno de 19, 36, 54 y 72 g/m³. Por cuestiones de formato en las Figuras se tomará por nomenclatura las unidades de volúmenes en lugar de las unidades de concentración. En la Sección 4.3.1.2 se detalla la metodología utilizada para llevar a cabo estos experimentos.

En la Figura 5.2.1 y 5.2.2 se muestran los perfiles de consumo de hidrocarburos individuales para Hexano y Tolueno, respectivamente, para las diferentes concentraciones probadas en los experimentos de una fase. Además, se muestran los

controles abióticos (sin microorganismos) para cada contaminante a las diferentes concentraciones.

Los controles mostraron una solubilización promedio de Hexano en el medio mineral de aproximadamente 30% respecto a la concentración inicial que se agregó al inicio de cada experimento. Tomando en cuenta que la caída de concentración de los controles abióticos es debida únicamente a la absorción y no a la biodegradación, ya que estos experimentos eran abióticos y no hubo producción de CO₂, se concluye que hubo una degradación del 85% a las 60 horas de experimentación. Además, se puede observar que no hubo un efecto de la concentración inicial en el consumo de Hexano. Esto se aprecia en la Tabla 5.2.1 que muestra las velocidades de consumo específicas para Hexano y Tolueno obtenidas al aplicar el modelo de Gompertz (Acuña et al., 1999), en donde no se observa un efecto negativo de la concentración inicial en las velocidades específicas. En esta Tabla encontramos que la velocidad de consumo específica aumentó conforme incrementó la concentración inicial y para el caso de Hexano fue mayor cuando se inyectaron 10 uL.

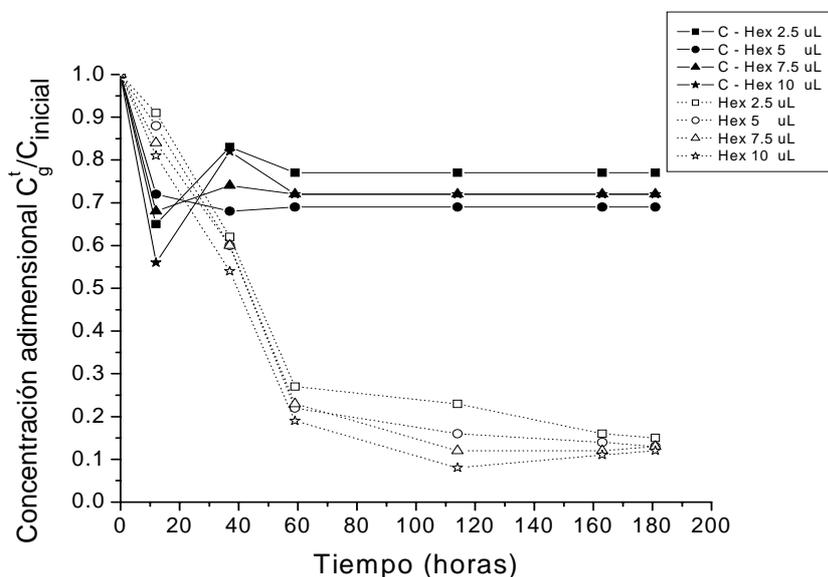


Figura 5.2.1. Caída de concentración de Hexano (adimensional, $C_g / C_{INICIAL}$) en la fase gaseosa de controles y cinéticas de 1 fase. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

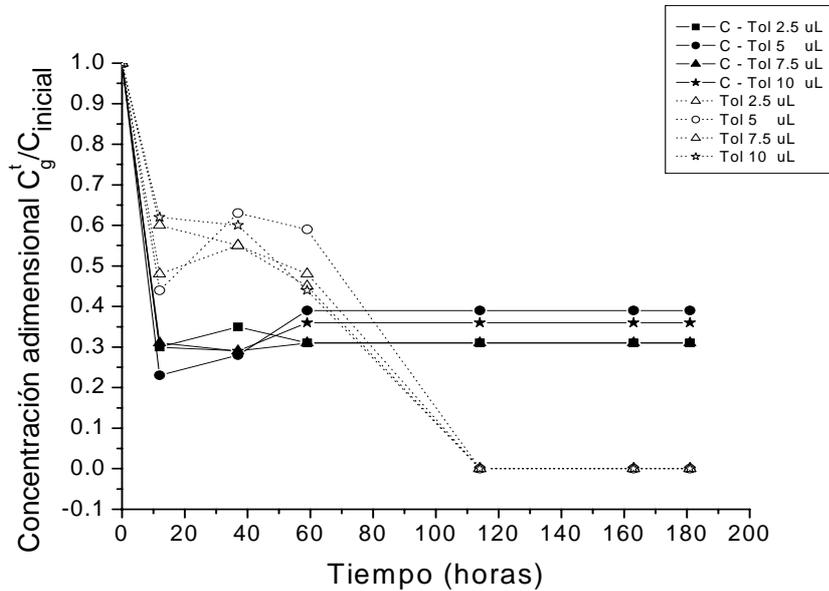


Figura 5.2.2. Caída de concentración de Tolueno (adimensional, $C_g / C_{INICIAL}$) en la fase gaseosa de controles y cinéticas de 1 fase. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆).

En el caso de Tolueno al igual que en los experimentos control con Hexano, al inicio del experimento se muestra una solubilización del Tolueno sobre el medio mineral 2 veces mayor que la obtenida para Hexano (Fig. 5.2.1). El Tolueno tuvo una absorción de aprox. 70% en la fase acuosa o medio mineral. En este caso fue mayor que para el Hexano porque el Tolueno tiene una solubilidad 50 veces mayor que la de Hexano en agua (Tabla 5.1.2). Respecto a la caída de concentración, al igual que con Hexano, tampoco observamos un efecto inhibitorio de la concentración inicial de Tolueno. El Tolueno mostró una degradación del 100% aproximadamente a las 120 horas, tomando en cuenta que en los controles abióticos no hubo producción de CO_2 (Esto se discutirá más adelante).

5.2.2. Producción de CO_2 y Velocidades específicas

El CO_2 se midió con el propósito de determinar sus tasas de producción, así como de obtener los valores de respiración endógena, que nos permitirán cerrar los balances de masa y obtener los porcentajes de mineralización. Una vez obtenidas las Figuras correspondientes a la producción de CO_2 se aplicó el modelo de Gompertz que permitió

obtener las velocidades máximas y específicas obtenidas en los experimentos de una fase para Hexano y Tolueno. Es importante mencionar que durante cada cinética realizada, se corrieron controles para medir la respiración endógena de los microorganismos. Por lo tanto, los valores de CO_2 graficados de aquí en adelante se les restó el valor correspondiente a la respiración endógena (control) obtenida en el experimento. Por lo que la producción de CO_2 de los controles de respiración endógena tendrían un valor de cero en las gráficas.

Los perfiles de producción de CO_2 obtenidos para Hexano y Tolueno a diferentes concentraciones en los experimentos F_1 se observan en las Figuras 5.2.3 y 5.2.4.

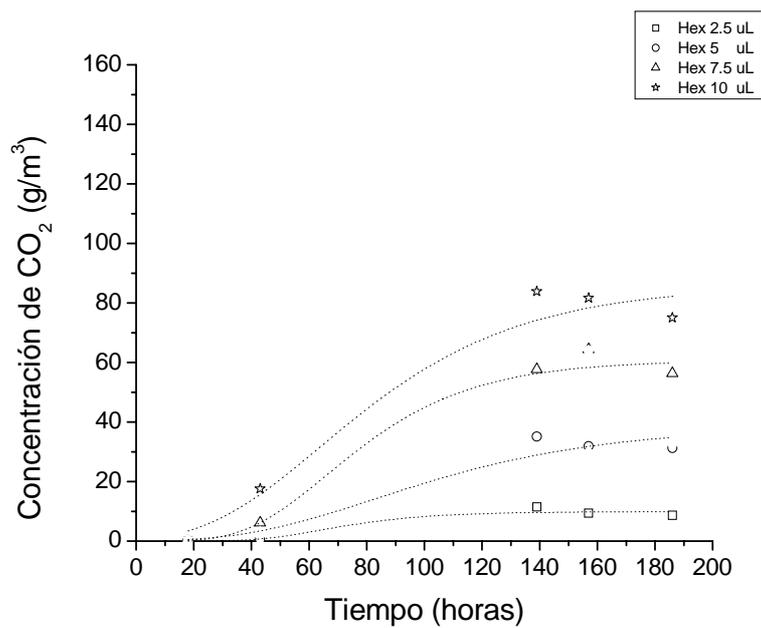


Figura 5.2.3. Producción de CO_2 en experimentos de 1 fase. Concentración de Hexano 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 (▲) y 10 uL (★).

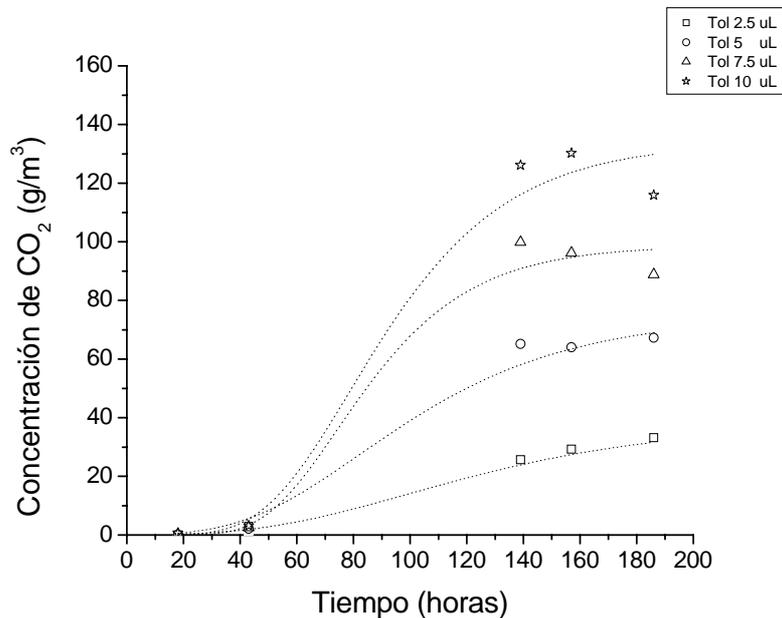


Figura 5.2.4. Producción de CO₂ en experimentos de 1 fase. Concentración de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

Los valores máximos de producción de CO₂ para los experimentos con Hexano fueron alrededor de 80 g/m³, los cuales se produjeron en los cultivos con 54.92 g/m³ (10 uL) de Hexano. Haciendo un balance de carbono se determinó el porcentaje de mineralización, el cual alcanzó un valor de 50% (ver Tabla 5.2.2).

En las cinéticas realizadas con Tolueno, se obtuvo una producción de CO₂ de alrededor de 130 g/m³, siendo más alta que la obtenida con el Hexano. Las pendientes obtenidas al graficar la producción de CO₂ en los experimentos con Tolueno fueron más pronunciadas que para Hexano, lo que significa que las velocidades de producción de CO₂ fueron más altas. Por lo tanto, el Tolueno, además de ser más biodisponible por las bacterias, es más biodegradable por el consorcio bacteriano utilizado.

La producción de CO₂ obtenida para las diferentes concentraciones de Tolueno estudiadas aumentó conforme se incrementó la concentración del hidrocarburo. Esto se debe a que al elevar la concentración de los hidrocarburos en el sistema, se aumenta la

cantidad de carbono disponible para las bacterias como fuente de carbono, por lo tanto se incrementa la mineralización (producción de CO₂), aunque puede ocurrir inhibición por altas concentraciones de contaminante. Lo cual indica que las concentraciones a las cuales se realizaron las cinéticas no mostraron un efecto inhibitorio en el consorcio bacteriano utilizado.

Las velocidades específicas y máximas de consumo de hidrocarburo (Tolueno y Hexano) y producción de CO₂ obtenidas en los F₁ se resumen en la Tabla 5.2.1.

Tabla 5.2.1. Velocidades específicas y máximas de consumo de hidrocarburo así como de de producción de CO₂ obtenidas en los experimentos de 1 fase.

Hidrocarburo	Concentración inicial	V _{ESP} ^A	V _{ESP} ^B	V _{MAX} ^A	V _{MAX} ^B
	[g/m ³]				
Hex	14	20	33	0.17	0.28
Hex – TCE	14 – 6	18	19	0.15	0.16
Hex	28	37	81	0.31	0.69
Hex – TCE	28 – 6	36	74	0.30	0.62
Hex	41	94	112	0.79	0.95
Hex – TCE	41 – 6	68	96	0.57	0.81
Hex	55	95	128	0.81	1.08
Hex – TCE	55 – 6	106	118	0.90	1.00
Tol	19	32	17	0.27	0.14
Tol – TCE	19 – 6	55	21	0.47	0.18
Tol	36	79	32	0.67	0.27
Tol – TCE	36 – 6	58	34	0.49	0.29
Tol	54	165	42	1.40	0.35
Tol – TCE	54 – 6	127	33	1.08	0.28
Tol	72	189	66	1.60	0.56
Tol – TCE	72 – 6	216	83	1.83	0.70

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de hidrocarburo consumido/gramo de proteína * hora) (sección 4.3.2.3).

V_{MAX} = Velocidad máxima de producción de CO₂ (g/m³*h) (sección 4.3.2.3).

Hex = Hexano, Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno, A = Producción de CO₂, B = Consumo de hidrocarburo.

De acuerdo a los valores de V_{ESP}^A reportados en la Tabla 5.2.1, se observa que el Tolueno presentó valores más altos que el Hexano. Las velocidades de consumo obtenidas en los experimentos F_1 , muestran valores más altos para Hexano que el Tolueno, lo que significa una mayor biodegradación. Observando la Figura 5.2.1 se aprecia que el Hexano presentó una disminución en la fase gaseosa de 75% aproximadamente en las primeras 60 horas. Posteriormente, la caída de concentración en la fase gaseosa disminuye su velocidad hasta detenerse, en un tiempo de 120 horas hasta 85% aproximadamente, lo que significa que probablemente exista una acumulación de subproductos de biodegradación, los cuales afectan las velocidades de degradación. Esta disminución de la caída de concentración se ve reflejado en la producción de CO_2 obtenida en los experimentos 1 fase para hexano, generando una menor cantidad y por ende una menor pendiente, lo que se refleja en valores menores de V_{MAX} y V_{ESP} que para Tolueno.

La velocidad específica más alta de consumo de hidrocarburo obtenida para el hexano fue de 128 (mg de hidrocarburo consumido/ g proteína * h), la cual se obtuvo cuando se introdujo en el sistema la concentración inicial $55 g/m^3$. Este valor de V_{ESP} es mayor que el obtenido por Arriaga et al. (2005); Vergara et al. (2006), el cual fue similar en ambos casos siendo de 79 (mg de hidrocarburo consumido/ g proteína * h). En el caso del Tolueno, este presentó la velocidad específica más alta cuando se introdujo en el sistema la concentración inicial de $72 g/m^3$, siendo este valor más alto que el obtenido por Aizpuru et al. (2005), el cual fue de 33 (mg de hidrocarburo consumido/ g proteína * h). El hecho de que se obtuvieran mejores velocidades específicas en los experimentos realizados que en los encontrados en la búsqueda bibliográfica, se debe a que los valores de V_{ESP} encontrados se realizaron en sistemas de flujo continuo (Reactor de lecho empacado), en cambio los experimentos que se realizaron en este trabajo fueron en lote. Las limitaciones que presentan ambos sistemas son diferentes, teniendo para el primer caso que es el reactor de lecho empacado, problemas como canalización en el lecho, lo que disminuye el área de contacto de los microorganismos con el contaminante a eliminar, además de generar problemas de caída de presión en el sistema (Auria et al, 1993). Otro problema que se presenta en estos sistemas de lecho empacado es una baja actividad microbiana debida a

la disminución del contenido de humedad (Sharefdeen y Singh, 2005). Estas y otras limitaciones no se presentan en los sistemas bifásicos, lo cual puede ser la causa de que en estos experimentos realizados se hallan presentado las velocidades específicas más altas que las reportadas.

5.2.3. Mineralización

Los porcentajes de mineralización obtenidos en los F₁ se resumen en la Tabla 5.2.2. En general, el Tolueno mostró los porcentajes de mineralización más altos en los experimentos de una fase.

Tabla 5.2.2. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de 1 fase.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	Mineralización[□] (%)
Hex	14	27
Hex – TCE	14 – 6	23
Hex	28	42
Hex – TCE	28 – 6	39
Hex	41	51
Hex – TCE	41 – 6	59
Hex	55	50
Hex – TCE	55 – 6	60
Tol	19	55
Tol – TCE	19 – 6	43
Tol	36	56
Tol – TCE	36 – 6	53
Tol	54	55
Tol – TCE	54 – 6	62
Tol	72	53
Tol – TCE	72 – 6	62

[□] Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4. A los porcentajes de mineralización obtenidos se le restó la concentración de CO₂ obtenida debida a la respiración endógena.

Hex = Hexano, Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

El máximo porcentaje de mineralización que presentó el Tolueno (36 g/m^3) y el Hexano (41 g/m^3) fueron de 56 y 51 respectivamente. En los experimentos en donde se realizaron mezclas de hidrocarburos se obtuvo para Tolueno-tricloroetileno ($55 - 6 \text{ g/m}^3$) un valor de 62% y para Hexano-tricloroetileno ($55 - 6 \text{ g/m}^3$) de 60%. Los experimentos realizados con mezclas de hidrocarburo mostraron un mayor porcentaje de mineralización que los experimentos individuales (control) cuando se colocaron en las botellas serológicas concentraciones mayores de 40 g/m^3 y 50 g/m^3 para Hexano y Tolueno, respectivamente. Con base en lo anterior se sugiere que a concentraciones mayores a las anteriormente mencionadas, existe biodegradación cometabólica de TCE. Para poder corroborar esta afirmación se aplicaron análisis estadísticos, de los cuales se hablará más adelante.

Los máximos porcentajes de mineralización de hexano obtenidos en las cinéticas realizadas son muy similares a los obtenidos por trabajos anteriores (Arriaga y Revah, 2005; Lee y Cho, 2008), siendo de 59 y 40% respectivamente. García et al. en el 2001 obtuvieron porcentajes de mineralización para tolueno de 50%, el cual es un poco menor al porcentaje de mineralización máximo obtenido para Tolueno que fue de 56%. Sin embargo, existen estudios en los cuales se han obtenido porcentajes de mineralización para tolueno alrededor de 88% (Aizpuru et al. 2005). Aizpuru et al. utilizaron en sus experimentos el hongo *Paecilomyces variotii* CBS 115145 para degradar tolueno; en cambio, en los experimentos realizados en el presente estudio se utilizó un consorcio bacteriano. El uso de hongos en los procesos de biofiltración permite obtener porcentajes de mineralización más altos debido a que producen micelas las cuales favorecen la biodegradación del Tolueno. Esto se debe a que las micelas fúngicas producen hidrofobinas las cuales ayudan a la sorción del Tolueno con el hongo (Lugones et al, 1998).

Para el caso de Hexano, se obtuvo una mineralización más baja que el Tolueno debido a que probablemente parte del carbono se fue a síntesis de celular, o bien a la formación de EPS, así como también pudo haber existido una degradación parcial dando origen a intermediarios (Arriaga et al., 2005). Sin embargo, hay compuestos como el

TCE que aun siendo altamente disponibles, debido a su alta solubilidad, no presentan tasas de degradación considerables, ya que son altamente recalcitrantes o tóxicos.

5.2.4 Cometabolismo de TCE

La finalidad de hacer estudios cinéticos de tricloroetileno-Hexano y tricloroetileno-Tolueno es inducir un cometabolismo para biodegradar tricloroetileno (TCE) utilizando Tolueno o Hexano como sustrato de crecimiento.

5.2.4.1 Hexano-tricloroetileno

En la Figura 5.2.5 se muestra la caída de concentración de Hexano en experimentos de cometabolismo con TCE, así como los controles abióticos. En la Figura 5.2.6 se muestran las concentraciones de CO₂ obtenidas de las cinéticas anteriormente mencionadas.

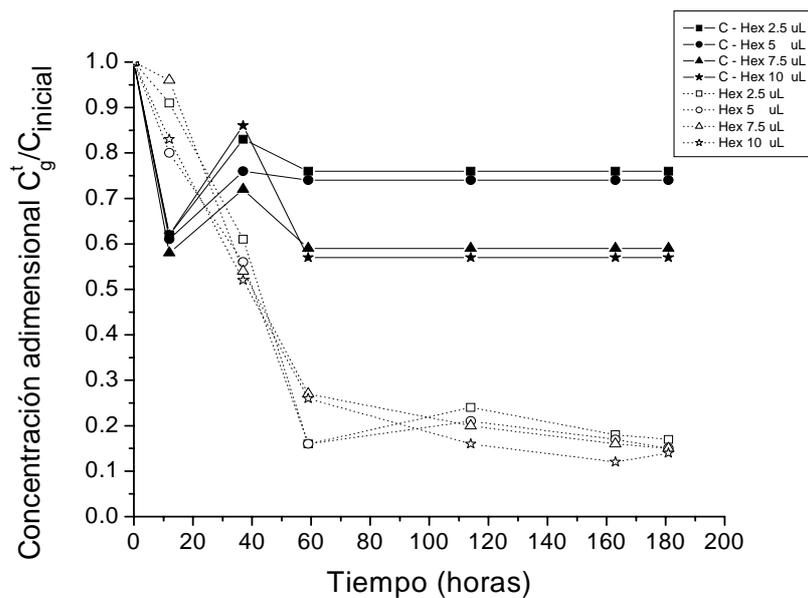


Figura 5.2.5. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para controles (TCE-Hexano) y cinéticas de 1 fase. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

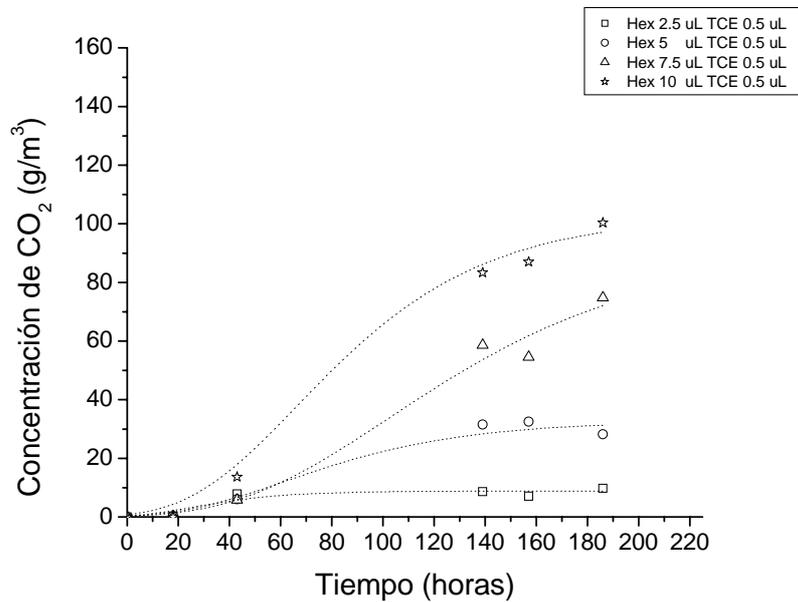


Figura 5.2.6. Producción de CO_2 en experimentos de 1 fase para el cometabolismo de TCE con Hexano. Concentración de Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

El valor máximo de producción de CO_2 fue de 100 g/m^3 , este se obtuvo en la cinética en la que se colocó la concentración de Hexano de 55 g/m^3 (10 uL). El porcentaje de mineralización alcanzado fue de 60%, 10% mayor que la obtenida en la cinética de Hexano solo a la concentración de 55 g/m^3 . Los porcentajes de mineralización obtenidos para TCE en los experimentos de 1 fase se muestran en la Tabla 5.2.3.

Tabla 5.2.3. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en 1 fase.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	CO₂ teórico* (mg)	CO₂ experimental^o (mg)	% de mineralización[□] (TCE)
Hex	14	4.21	1.14	
Hex – TCE	14 – 6	4.63	0.97	0
Hex	28	8.43	3.51	
Hex – TCE	28 – 6	8.85	3.25	0
Hex	41	12.60	6.44	
Hex – TCE	41 – 6	13.06	7.47	8
Hex	55	16.86	8.38	
Hex – TCE	55 – 6	17.28	10.03	10

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

^o CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Hex = Hexano, TCE = Tricloroetileno.

En los experimentos de TCE con Hexano comparado con los experimentos del consumo de Hexano, se observó un mayor porcentaje de mineralización cuando se manejaron concentraciones arriba de 41 g/m³, por lo que se concluye que en los estudios de 1 fase, la mineralización es afectada directamente por la concentración del hidrocarburo que se coloca en el sistema. Este fenómeno probablemente se deba a que los microorganismos, al estar en contacto con altas concentraciones de hidrocarburo, liberan una mayor cantidad de enzimas las cuales favorecen la biodegradación fortuita del TCE (Rittmann, 2001).

5.2.4.2 Tolueno - TCE

Este experimento se realizó con el objetivo de ver si existe una degradación cometabólica del TCE con Tolueno. En la Figura 5.2.7 se observan los porcentajes de Tolueno medidos en la fase gaseosa. La Figura 5.2.8 muestra las concentraciones de CO₂ obtenidas en estas cinéticas.

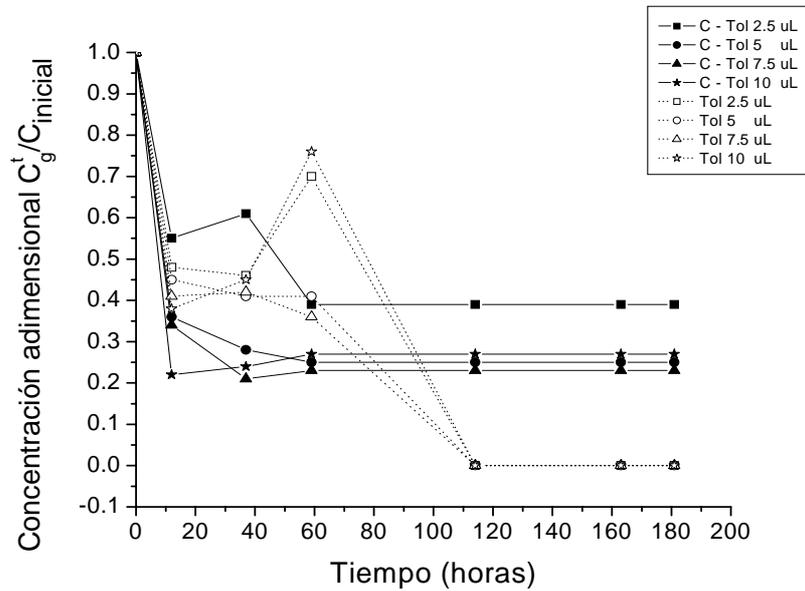


Figura 5.2.7. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para controles (TCE-Tolueno) y cinéticas de 1 fase. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

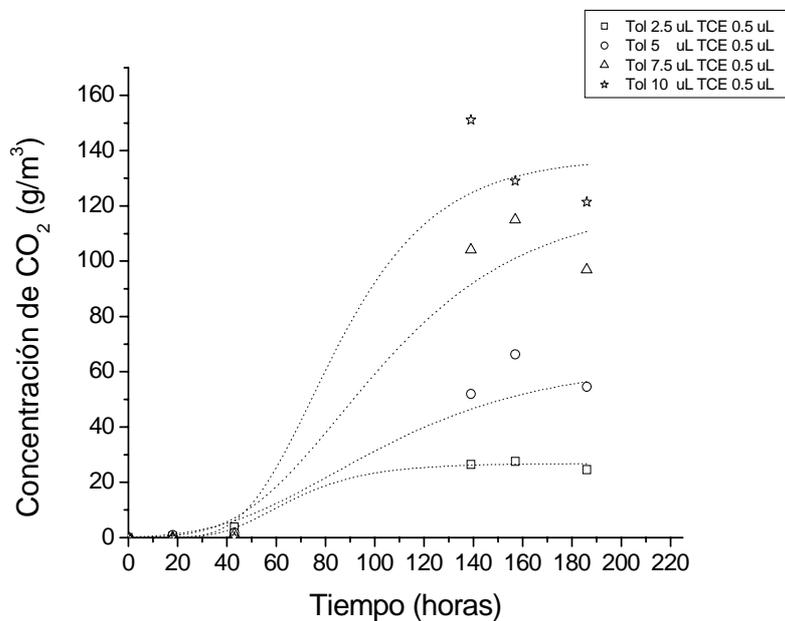


Figura 5.2.8. Producción de CO₂ en experimentos de 1 fase del cometabolismo de TCE con Tolueno. Concentración de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

La máxima producción de CO₂ fue de 150 g/m³, la cual se obtuvo en la cinética en la que se colocó la concentración de Tolueno de 72 g/m³ (10 uL). El porcentaje de mineralización alcanzado fue de 61%, 8% mayor que la obtenida en la cinética de Tolueno solo a la misma concentración.

A continuación se muestra los porcentajes de mineralización de TCE y valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de una fase en la Tabla 5.2

Tabla 5.2.4. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 1 fase.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	CO₂ teórico* (mg)	CO₂ experimental^o (mg)	% de mineralización[□] (TCE)
Tol	19	6.03	3.32	
Tol – TCE	19 – 6	6.45	2.75	0
Tol	36	12.06	6.73	
Tol – TCE	36 – 6	12.48	6.63	0
Tol	54	18.10	9.98	
Tol – TCE	54 – 6	18.52	11.50	8
Tol	72	24.13	13.02	
Tol – TCE	72 – 6	24.55	15.11	9

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

° CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

Los experimentos de cometabolismo de TCE con Tolueno, mostraron un mayor porcentaje de mineralización que los experimentos individuales para Tolueno cuando se colocaron concentraciones mayores a 50 g/m³. Con base en lo anterior, se sugiere que en experimentos de 1 fase, a concentraciones mayores a la antes mencionada, se favorece la degradación cometabólica de tricloroetileno teniendo como co-sustrato al Tolueno.

A continuación se muestran los porcentajes de TCE medidos en la fase gas de los experimentos de cometabolismo de TCE con Hexano (Figura 5.2.9) y Tolueno (Figura 5.2.10).

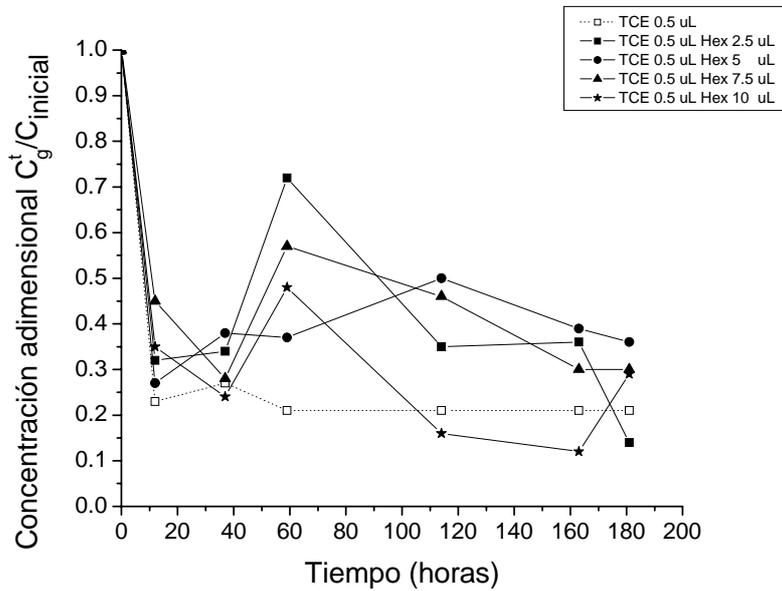


Figura 5.2.9. Consumo de TCE por cometabolismo con Hexano en experimentos de 1 fase. Cinética de Tricloroetileno con Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control (abiótico), Tricloroetileno a 0.5 uL (□).

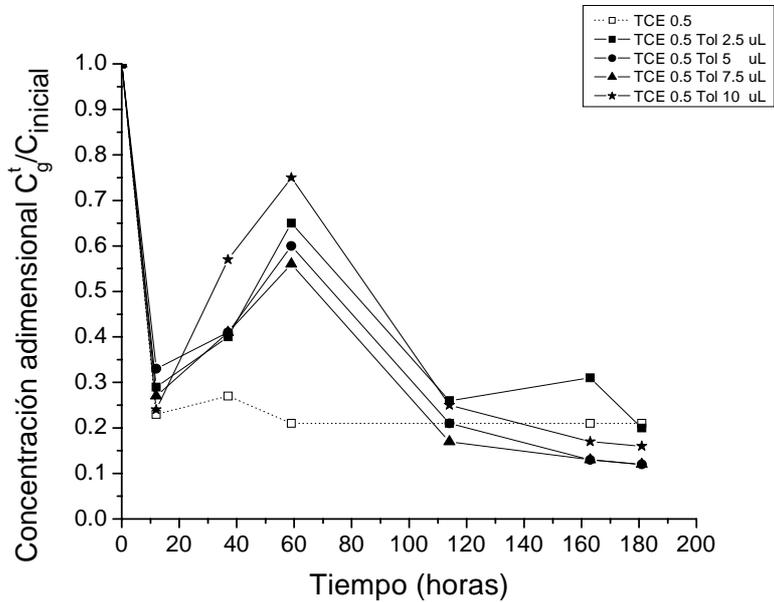


Figura 5.2.10. Consumo de TCE por cometabolismo con Tolueno en experimentos de 1 fase. Cinética de Tricloroetileno con Tolueno a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control (abiótico), Tricloroetileno a 0.5 uL (□).

Para poder determinar si existen diferencias estadísticas entre los controles de TCE (abiótico) y los valores obtenidos de las cinéticas del cometabolismo de TCE con Hexano y TCE con Tolueno se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas Tukey. El análisis de varianza se realizó utilizando como variable de respuesta el consumo de TCE, una vez que se determinó que existía diferencia estadística se aplicó la prueba de Tukey para identificar la diferencia entre pares de medias individuales.

Para el caso del Hexano, no se encontró diferencia significativa entre el experimento control (Hexano 2.5 uL) y el experimento de cometabolismo de TCE con Hexano (2.5uL), con lo cual podemos decir que no existe cometabolismo de TCE con Hexano. Para el Tolueno se realizó la prueba estadística ANOVA ($P = 0.0012$, $F = 19.55$, $r^2 = 0.9421$) con lo cual se demostró que existe diferencia estadística significativa entre las medias analizadas. Posteriormente, se realizó la prueba de Tukey, la cual demostró que existen diferencias estadísticas entre el experimento control y las cinéticas de experimentos en mezcla que utilizaron concentraciones de Tolueno arriba de 36 g/m^3 .

Con base en los resultados de las mediciones de TCE en la fase gaseosa y el porcentaje de mineralización obtenido se puede afirmar que el Tolueno se utilizó como co-sustrato de crecimiento para la degradación del TCE. En cambio, para el caso del Hexano, los porcentajes de mineralización no concuerdan con los resultados de las mediciones en la fase gaseosa de las concentraciones de TCE, esto se debe a variaciones de temperatura a las cuales fueron expuestos los experimentos, provocando cambios en la partición entre las fases gaseosa y líquida (Heron et al, 1998). El TCE fue el hidrocarburo que presentó más variación ante los cambios de temperatura, como se puede observar en las Figuras 5.2.9 y 5.2.10.

5.2.5 Partición (control abiótico)

Los controles abióticos se realizaron con la finalidad de ver el reparto o solubilidad a las diferentes concentraciones utilizadas de los hidrocarburos Tolueno, Hexano y Tricloroetileno en el medio mineral. Estos experimentos se realizaron en botellas

serológicas de acuerdo a la metodología descrita en la Sección 4.3.1.2. A continuación se muestra la gráfica obtenida.

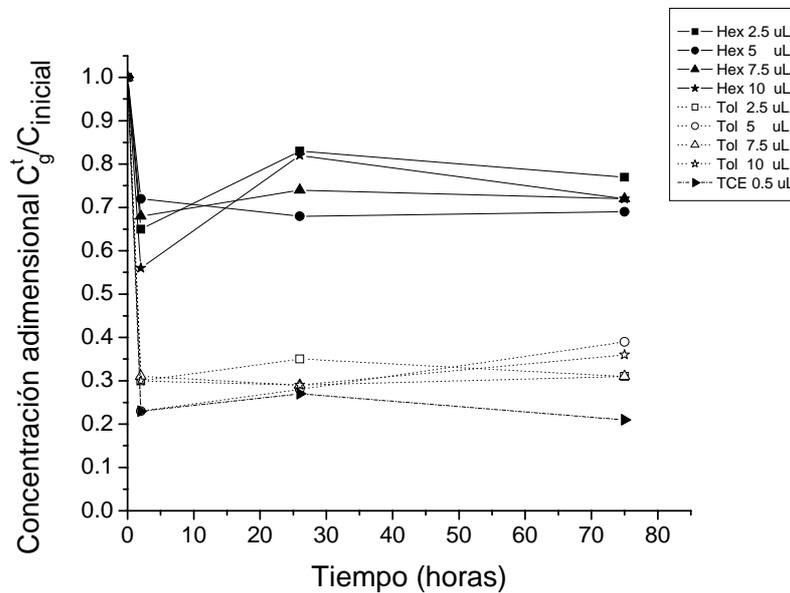


Figura 5.2.11. Caídas de concentración de Hexano, Tolueno y Tricloroetileno en la fase gaseosa para experimentos control (abiótico) en 1 fase. Control de Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control de Tolueno a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆). Control de Tricloroetileno a 0.5 uL (▶).

De los hidrocarburos analizados en los controles, se encontró que el TCE fue el que presentó una mayor solubilidad en el medio mineral, quedando en segundo lugar el Tolueno y en último Hexano. La solubilidad en el medio mineral que presentó el Tricloroetileno fue de un 80%, para Tolueno fue de 65% y Hexano de 28% respecto a la concentración inicial de cada hidrocarburo.

En el tratamiento de emisiones gaseosas, la solubilidad que presentan los gases en la fase líquida del sistema, juega un papel muy importante en la biodegradación de estos, debido a que la solubilidad es un factor que algunas veces limita la biodegradación.

A continuación se muestran la Tabla y Figuras obtenidas en los experimentos controles para ver el efecto de la partición cuando se colocan en los sistemas compuestos individualmente y en mezcla. En la Tabla 5.2.5 se muestran los porcentajes de Hexano y

Tolueno, respectivamente, encontrados en la fase gaseosa de los sistemas. En las Figuras 5.2.14 y 5.2.15 se muestran los porcentajes de TCE encontrados en la fase gaseosa para experimentos en mezcla e individual.

Tabla 5.2.5. Porcentajes de Hexano y Tolueno medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 1 fase.

Hidrocarburo	Concentración Inicial [g/m³]	%[□]
Hexano	14	77
Hexano	14 – 6	76
Hexano	28	69
Hexano	28 – 6	74
Hexano	41	72
Hexano	41 – 6	59
Hexano	55	72
Hexano	55 – 6	57
Tolueno	19	31
Tolueno	19 – 6	39
Tolueno	36	39
Tolueno	36 – 6	25
Tolueno	54	31
Tolueno	54 – 6	23
Tolueno	72	36
Tolueno	72 – 6	27

[□] = Porcentaje de la concentración inicial medido en la fase gaseosa al termino de 72 horas.

De la Tabla 5.2.5, así como de las Figuras 5.2.12 y 5.2.13 podemos observar que la solubilidad de Hexano, Tolueno y TCE aumenta en un sistema que utiliza una mezcla de estos hidrocarburos en comparación con el sistema que tiene a los hidrocarburos de manera individual. Este fenómeno se debe a que al colocar a más de un gas (hidrocarburo) dentro del sistema, la presión total de éste aumenta, afectando el equilibrio de partición del hidrocarburo que se genera de la fase gaseosa a la fase acuosa. Si esta presión aumenta por lo tanto aumenta la solubilidad del hidrocarburo de acuerdo a la ley de Raoult (Valsaraj et al., 2000).

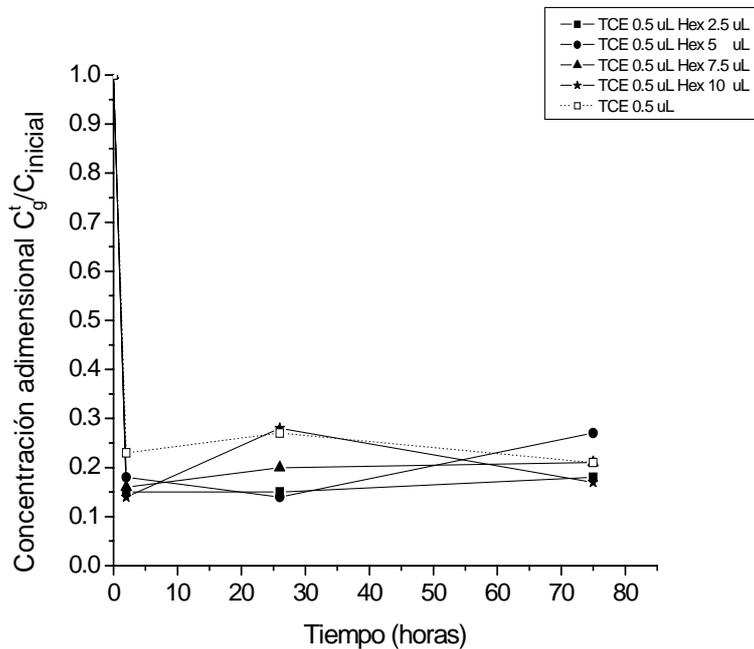


Figura 5.2.12. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa para experimentos en mezcla con Hexano en una 1 fase. Control (abiótico) de TCE 0.5 uL con Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control (abiótico), TCE a 0.5 uL (□).

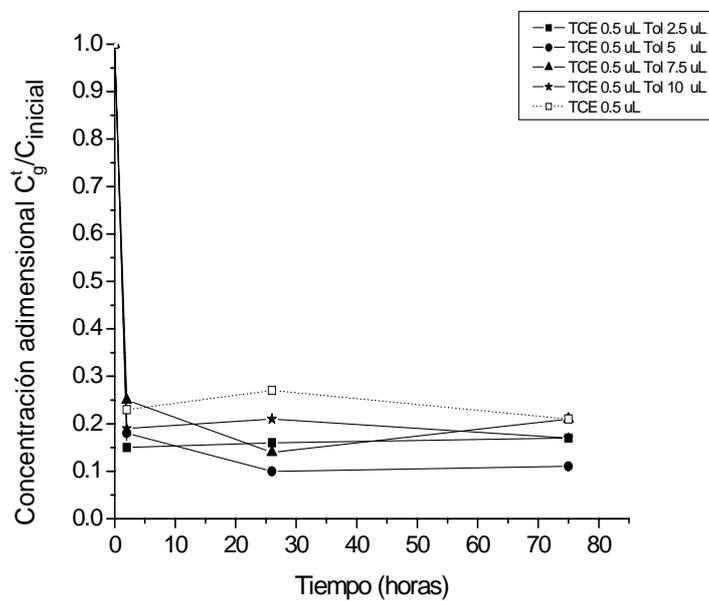


Figura 5.2.13. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa para experimentos en mezcla con Tolueno en una 1 fase. Control (abiótico) de TCE 0.5 uL con Tolueno a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control (abiótico), TCE a 0.5 uL (□).

5.3 Efecto de la adición de surfactante Pluronic F-68 en el consumo de hidrocarburos

Para poder obtener altas velocidades de consumo de contaminantes es necesario que el contaminante este biodisponible para los microorganismos. La velocidad de degradación depende de la tasa de captación del contaminante, así como de su transferencia de masa. La biodisponibilidad es afectada por procesos como: desorción, difusión y disolución (Sharefdeen y Singh, 2005). El uso de surfactantes químicos o biosurfactantes durante los procesos de biodegradación, ayudan a resolver problemas de biodisponibilidad (van Hamme et al, 2003). Los surfactantes tienen la habilidad de emulsificar, pseudosolubilizar compuestos poco solubles en agua, aumentando potencialmente su biodisponibilidad hacia los microorganismos.

El surfactante Pluronic F-68 es un copolímero de óxidos de etileno y propileno, el cual es soluble en agua, no tóxico para el consorcio utilizado a concentración de 0.10% [w/v] (Tabla 5.1.1) y no biodegradable (Cox, 1978; Kawai, 1987). Para el caso de hidrocarburos de cadena larga (pocos solubles) e hidrocarburos aromáticos policíclicos, los surfactantes como Pluronic F-68 forman micelas, las cuales incrementan los valores de degradación y los valores de crecimiento bacteriano (Bury y Miller, 1993; Tiehm, 1994). En trabajos realizados con surfactantes para gases como metano, oxígeno, eteno, propano se encontró que la formación de micelas aumenta la solubilidad (Bolden et al, 1983).

Los experimentos de una fase con surfactante se realizaron con el propósito de ver el efecto de adición del agente tensoactivo Pluronic F-68 en la biodegradación de los hidrocarburos. Dos de los hidrocarburos a degradar (Hexano, Tolueno) presentan ligera solubilidad en agua, por tal motivo el uso de un agente tensoactivo disminuirá la tensión superficial de la fase acuosa (medio mineral) lo que permitirá un mayor transporte de los contaminantes de la fase gaseosa a la líquida, incrementando la biodisponibilidad de los hidrocarburos hacia los microorganismos. De esta manera, se espera que se aumenten las

velocidades de consumo. Estos experimentos se realizaron de acuerdo a la metodología descrita en la Sección 4.3.1.3.

5.3.1. Caída de concentración

Los perfiles de consumo de Hexano para las diferentes concentraciones colocadas en los experimentos se muestran en la Figura 5.3.1, así como los controles abióticos obtenidos en los experimentos de 1 fase con Pluronic F-68 (F_{1S}). Los controles abióticos mostraron una solubilización de Hexano en el medio acuoso (Medio mineral – Pluronic F-68 a 0.10% [w/v]) respecto a la concentración inicial del experimento. Se puede observar en la Fig. 5.3.1 que a las 110 horas el Hexano había sido consumido en un 85% aproximadamente para todas las concentraciones probadas.

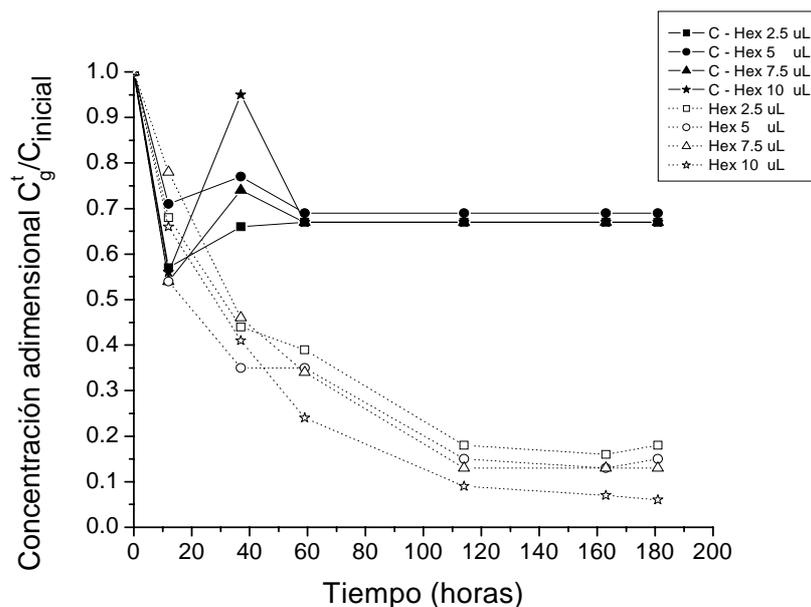


Figura 5.3.1. Caída de concentración de Hexano (adimensional, $C_g / C_{INICIAL}$) en la fase gaseosa para control (abiótico) y cinéticas de 1 fase con Pluronic F-68. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

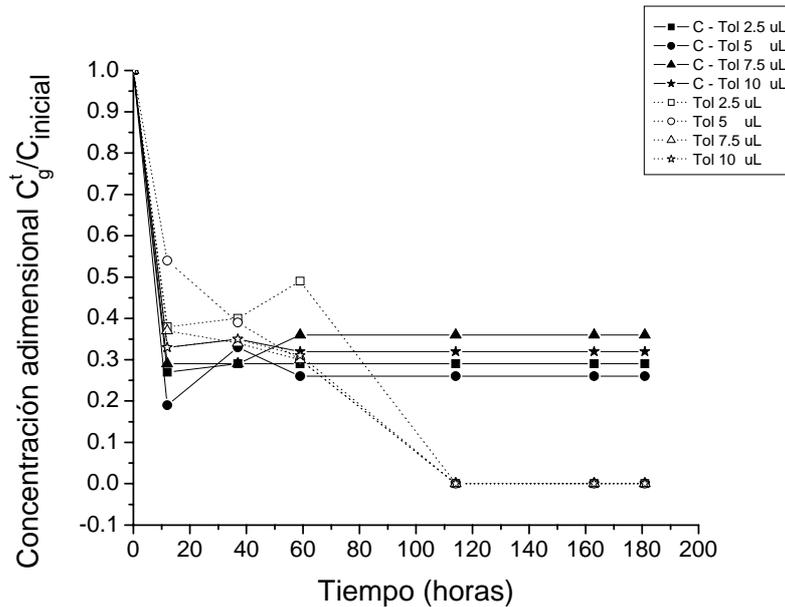


Figura 5.3.2. Caída de concentración de Tolueno (adimensional, $C_g / C_{INICIAL}$) en la fase gaseosa para control (abiótico) y cinéticas de 1 fase con Pluronic F-68. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

La Figura 5.3.2 muestra los perfiles de consumo de Tolueno obtenidos en los experimentos F_{1S} . La solubilización del Tolueno sobre el medio acuoso (Medio mineral – Pluronic F-68 a 0.10% [w/m]) fue de 70% respecto a la concentración inicial de Tolueno. Este valor es 2 veces mayor que el obtenido para Hexano, lo que indica que el Tolueno fue más afín a la fase acuosa que el Hexano.

Después de 115 horas de incubación, el Tolueno presentó una sorción del 70% en la fase líquida; sin embargo, si tomamos en cuenta los experimentos abióticos, se concluye que el Tolueno se degradó al 100% en este periodo. Para poder afirmar lo anterior, se midió la producción de CO_2 del sistema. Estos resultados se muestran en la siguiente Sección 5.3.2.

5.3.2. Producción de CO_2 y Velocidades específicas

La producción de CO_2 es una medida que nos permite medir el grado de biodegradación de los hidrocarburos en el sistema. Los valores obtenidos de producción de CO_2 para

Hexano y Tolueno a las diferentes concentraciones iniciales manejadas se muestran en las Figuras 5.3.3 y 5.3.4.

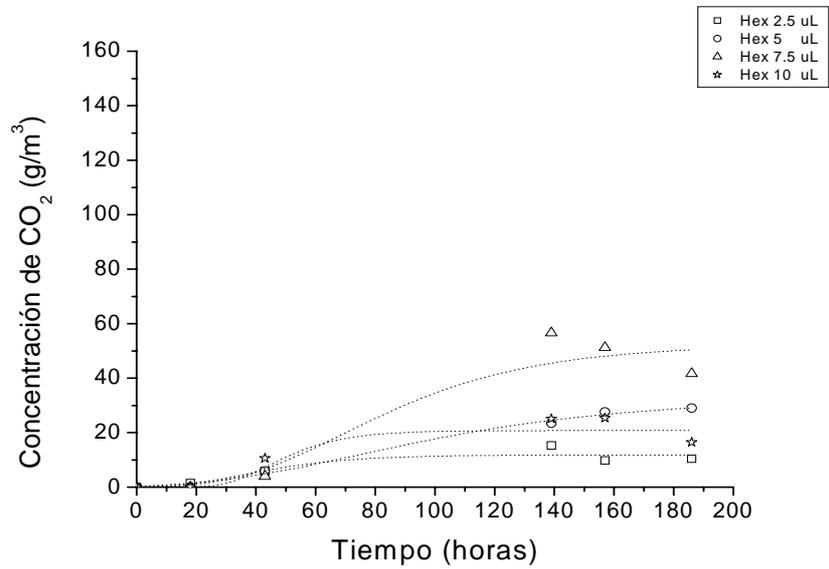


Figura 5.3.3. Producción de CO₂ en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68. Concentración de Hexano 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 (▲) y 10 uL (★).

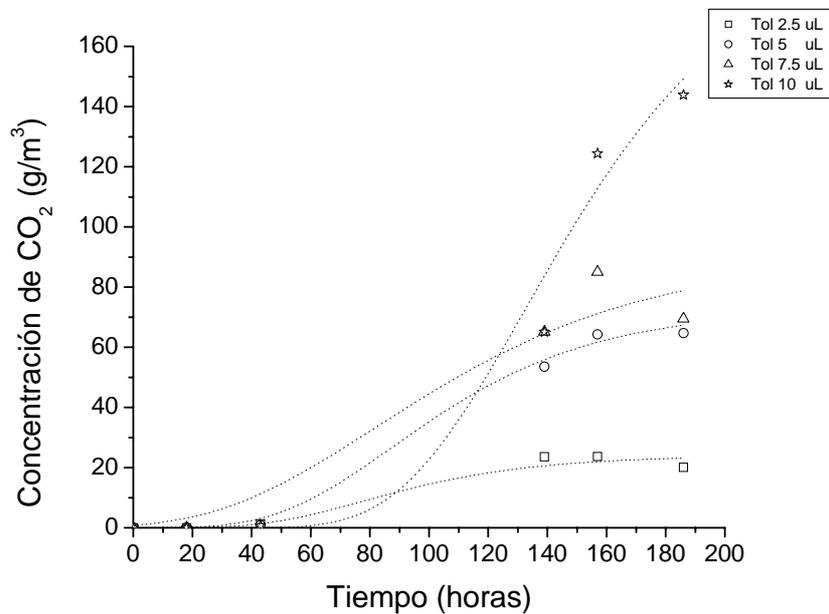


Figura 5.3.4. Producción de CO₂ en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68. Concentración de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

La cinética en la que se introdujeron concentraciones de Hexano de 41 g/m^3 (7.5 uL), produjo valores máximos de producción de CO_2 cercanos a 56 g/m^3 . Un balance de carbono determinó que el porcentaje de mineralización alcanzó un valor de 45% (ver Tabla 5.3.2).

Ninguna de las concentraciones de Tolueno utilizadas en los experimentos fueron capaces de producir un efecto inhibitorio en el consorcio bacteriano y esto se explica al ver que la producción de CO_2 obtenida para éstas aumentó paralelamente al consumo de Tolueno.

En las cinéticas realizadas con Tolueno se obtuvieron valores de producción de CO_2 de alrededor de 140 g/m^3 , siendo más altos que los producidos para Hexano. Lo anterior puede ser debido a que el Hexano es un compuesto que tiene 6 carbonos y el Tolueno 7. Además, si tomamos en cuenta los resultados obtenidos en los controles abióticos, el Tolueno se sorbió en la fase medio mineral – Pluronic F-68 en un 70% respecto a la concentración inicial y el Hexano sólo un 32%, lo que indica que el Tolueno estuvo más biodisponible para el ataque microbiano que el Hexano. Por lo tanto, fue más fácilmente biodegradado por las bacterias. Esto se observa claramente en los valores de CO_2 producidos. Este resultado es consistente con datos reportados en la literatura, en donde se han obtenido eficiencias de remoción de Tolueno y porcentajes de mineralización mayores que para Hexano (Aizpur et al, 2005; Arriaga y Revah, 2005; Lee y Cho, 2008).

Las velocidades específicas y máximas de producción de CO_2 obtenidas en los F_{1S} se resumen en la Tabla 5.3.1. En donde se observa que el Tolueno presentó las velocidades más altas.

Tabla 5.3.1. Velocidades específicas y máximas de producción de CO₂ obtenidas en los experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m ³]	V _{ESP}	V _{MAX}
Hex	14	25	0.21
Hex – TCE	14 – 6	15	0.13
Hex	28	28	0.24
Hex – TCE	28 – 6	61	0.51
Hex	41	106	0.90
Hex – TCE	41 – 6	88	0.75
Hex	55	36	0.30
Hex – TCE	55 – 6	120	1.02
Tol	19	53	0.45
Tol – TCE	19 – 6	34	0.29
Tol	36	118	1.00
Tol – TCE	36 – 6	155	1.31
Tol	54	133	1.13
Tol – TCE	54 – 6	214	1.81
Tol	72	231	1.95
Tol – TCE	72 – 6	155	1.31

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de hidrocarburo consumido/gramo de proteína * hora) (Sección 4.3.2.3).

V_{MAX} = Velocidad máxima de producción de CO₂ (g/m³*h) (Sección 4.3.2.3).

Hex = Hexano Tol = Tolueno TCE = Tricloroetileno.

De acuerdo a los valores de V_{ESP} reportados en la Tabla 5.3.1, observamos que el Tolueno presentó valores más altos que el Hexano, así como las velocidades de producción de CO₂ más altas. La velocidad de consumo de un compuesto, depende de la biodisponibilidad del mismo hacia los microorganismos, de su recalcitrancia o toxicidad y de la producción de enzimas por parte de los microorganismos para romper la estructura del compuesto (Devinny et al., 1999). Las velocidades de consumo obtenidas en los experimentos F_{1S}, comprueban que el Tolueno tiene un índice de biodegradabilidad mayor que el Hexano y TCE, esto concuerda con los datos reportados por Devinny et al. (1999).

Las velocidades específicas para hexano obtenidas en los experimentos F_{1S}, en su mayoría, son más altas que las obtenidas en los experimentos F₁, lo cual se asume que se debió a que el agente tensoactivo Pluronic F-68 aumentó la solubilidad del Hexano en la fase acuosa, lo que permitió una mayor biodisponibilidad y, por lo tanto, una mayor biodegradación. Estudios realizados por Kastner et al. en 1999 obtuvieron esta misma tendencia al realizar experimentos en los cuales vieron el mismo efecto al agregar el agente tensoactivo Pluronic F-68 en las tasas de degradación de Hexano en experimentos en lote.

5.3.3. Mineralización

Los porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos F_{1S} se resumen en la Tabla 5.3.2. En donde se observó que el Tolueno presentó los porcentajes de mineralización más altos, obteniéndose un valor máximo de hasta 76%.

Los porcentajes de mineralización obtenidos muestran que el Tolueno fue el hidrocarburo que presentó los valores más altos. El máximo porcentaje de mineralización que presentó el Tolueno a concentración de 72 g/m³ fue de 60% y para Hexano fue de 45% a una concentración de 41 g/m³. En los experimentos en donde se realizaron mezclas de hidrocarburos es bastante claro que los porcentajes de mineralización fueron en general mayores que en los experimentos con hidrocarburos individuales. Para la mezcla de Tolueno-TCE (55 - 6 g/m³) se obtuvo un valor de 76% y para Hexano-TCE (41 - 6 g/m³) de 47%.

Los porcentajes de mineralización obtenidos para Hexano, no mostraron la tendencia que se presentó en los experimentos de una fase. El porcentaje de mineralización de hexano que se presentó cuando se utilizó una concentración inicial de 55 g/m³ fue menor al obtenido con la concentración de 41 g/m³. Esto probablemente se deba a que el Hexano presentó una oxidación parcial debida al aumento de su concentración en la fase líquida lo que produce una menor captación de oxígeno a la fase acuosa (Sharefdeen y Singh, 2005). En ausencia de oxígeno, los microorganismos pueden derivar algo de energía de la oxidación parcial de los contaminantes para producir

intermediarios los cuales se pueden acumular en la fase líquida (Devinny y Hodge 1995; Kirchner et al. 1996; Christen et al. 2002).

Tabla 5.3.2. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.

Hidrocarburo	Concentración inicial	Mineralización [□]
	[g/m ³]	(%)
Hex	14	36
Hex – TCE	14 – 6	27
Hex	28	34
Hex – TCE	28 – 6	31
Hex	41	45
Hex – TCE	41 – 6	47
Hex	55	15
Hex – TCE	55 – 6	42
Tol	19	39
Tol – TCE	19 – 6	44
Tol	36	54
Tol – TCE	36 – 6	54
Tol	54	47
Tol – TCE	54 – 6	76
Tol	72	60
Tol – TCE	72 – 6	37

[□] Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4. A los porcentajes de mineralización obtenidos se le resta la concentración de CO₂ obtenida debida a la respiración endógena.

Hex = Hexano Tol = Tolueno TCE = Tricloroetileno.

De forma general, el Hexano obtuvo una degradación más baja que el Tolueno, debido a la baja solubilidad de éste en la fase acuosa (medio mineral) lo que implica una baja biodisponibilidad del mismo hacia los microorganismos. Sin embargo, hay compuestos como el TCE que aun siendo altamente disponibles, debido a su alta solubilidad, no presentan tasas de degradación considerables, ya que son altamente recalcitrantes o tóxicos.

Comparando los porcentajes de mineralización obtenidos de los experimentos F_1 (medio mineral) y F_{1S} (medio mineral – Pluronic F-68 0.10% [w/v]), se observa que los F_1 mostraron mayores porcentajes que los F_{1S} , por lo tanto la adición del agente tensoactivo Pluronic F-68 no mejoró la transferencia del sustrato (hidrocarburo) de la fase gaseosa a la fase líquida, esto probablemente se deba a que se estuvo trabajando por debajo de la concentración micelar crítica (CMC). La CMC se define como la concentración mínima de agente tensoactivo a la cual se empiezan a formar micelas. La concentración de Pluronic F-68 a la cual se estuvo trabajando fue de 0.10% (w/v) y fue elegida con base en pruebas de toxicidad e inhibición que fueron realizadas (ver Sección 5.1.1). Resultados similares fueron obtenidos por Kastner et al. (1999) en donde se usó Pluronic F-68 para aumentar las tasas de consumo de Hexano, en ese estudio se confirmó que Pluronic F-68 no tuvo efecto significativo en la degradación de Hexano en un sistema continuo.

5.3.4 Cometabolismo de TCE

5.3.4.1 Hexano-TCE

A continuación se muestra en la Figura 5.3.5 la caída de concentración de Hexano con TCE, así como los controles abióticos. En la Figura 5.3.6 se muestran las concentraciones de CO_2 obtenidas de las cinéticas anteriormente mencionadas.

El valor máximo de producción de CO_2 fue de 72 g/m^3 , este se obtuvo en la cinética en la que se empleó la concentración de Hexano de 55 g/m^3 (10 uL). El porcentaje de mineralización alcanzado fue de 42%.

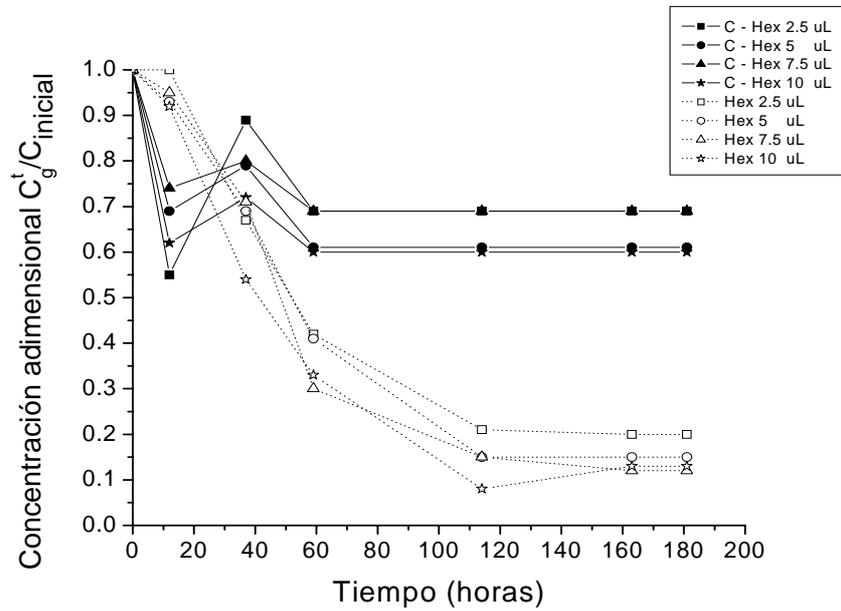


Figura 5.3.5. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para controles (TCE-Hexano) y cinéticas de 1 fase con Pluronic F-68. Controles (abióticos) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

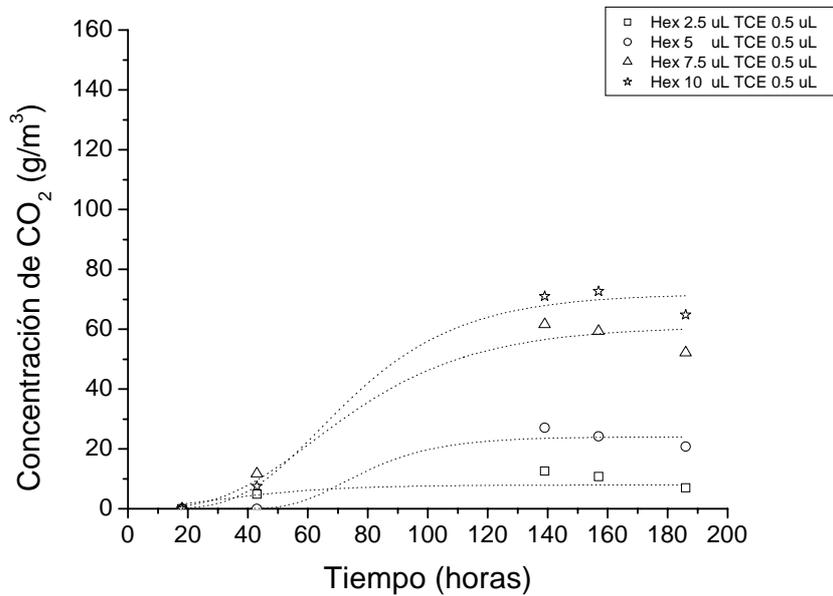


Figura 5.3.6. Producción de CO_2 en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68 utilizando la mezcla de Hexano y TCE. Producción de CO_2 para Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

En los experimentos con Hexano-TCE se observó que el porcentaje de mineralización fue ligeramente mayor (47%) en comparación con el obtenido con Hexano únicamente (45%), al manejarse concentraciones de 41 g/m³. En los experimentos antes descritos se manejaron las mismas condiciones de operación, sin embargo la única diferencia de un experimento a otro fue la adición de TCE. El TCE no se pudo degradar, debido a que existen factores como la estructura química que limitan el proceso de biodegradación. Así vemos que el proceso de mineralización se ve afectado por la toxicidad y recalcitrancia de los compuestos, estas características son generadas por la estructura química (Sharefdeen y Singh, 2005).

Para poder obtener los porcentajes de mineralización de TCE se realizaron balances de masa (detalles del cálculo ver anexo C), en los cuales se tomaron en cuenta los valores de producción de CO₂ experimental y producción de CO₂ teórica. En la Tabla 5.3.3 se muestran los valores obtenidos.

Tabla 5.3.3. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	CO₂ teórico* (mg)	CO₂ experimental^o (mg)	% de mineralización[□] (TCE)
Hex	14	4.21	1.53	
Hex – TCE	14 – 6	4.63	1.26	0
Hex	28	8.43	2.90	
Hex – TCE	28 – 6	8.85	2.70	0
Hex	41	12.60	5.66	
Hex – TCE	41 – 6	13.06	6.16	4
Hex	55	16.86	2.53	
Hex – TCE	55 – 6	17.28	7.27	28

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

° CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Hex = Hexano, TCE = Tricloroetileno.

El mayor porcentaje de mineralización de TCE se presentó cuando se utilizó una concentración de Hexano de 55 g/m³ la cual fue 28%. A concentraciones menores de 28 g/m³ de Hexano el TCE no fue biodegradado pues la mineralización fue nula.

5.3.4.2 Tolueno-TCE

Este estudio se hizo con la finalidad de observar si existe una degradación cometabólica del TCE con Tolueno. En la Figura 5.3.7 se observan los porcentajes de Tolueno medidos en la fase gaseosa cuando se realizaron experimentos en mezcla con TCE, así como los experimentos control. En la Figura 5.3.8 se observan las concentraciones de CO₂ obtenidas de las cinéticas.

Como se puede observar en la Fig. 5.3.7, durante las primeras 60 horas de transcurrido el experimento, se observó una fase de latencia. Sin embargo, durante las siguientes 50 horas, el Tolueno se degradó rápidamente hasta consumirse completamente a las 110 horas.

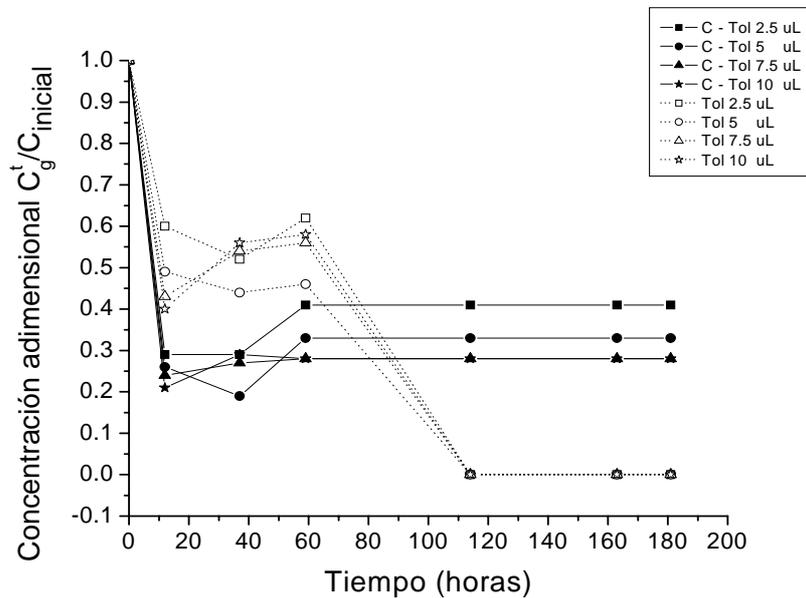


Figura 5.3.7. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para controles (TCE-Tolueno) y cinéticas de 1 fase con Pluronic F-68. Controles (abióticos) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

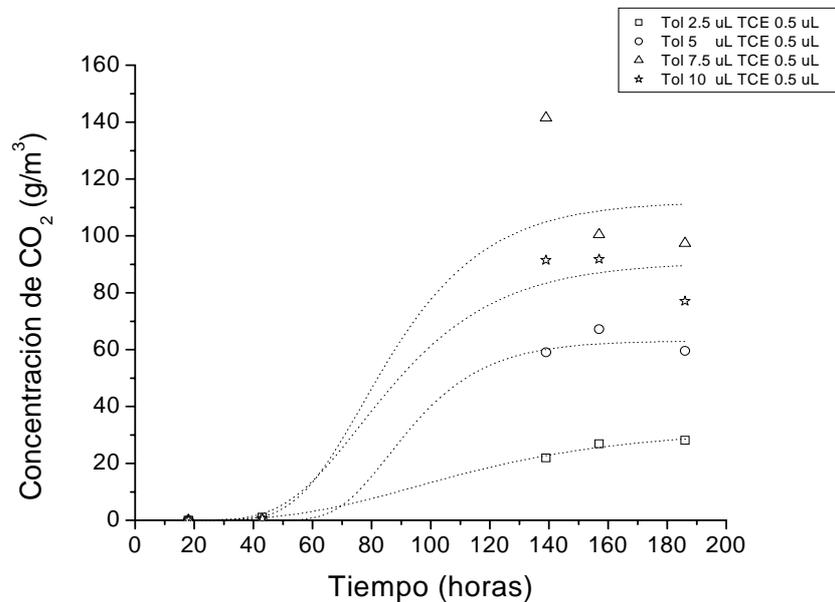


Figura 5.3.8. Producción de CO₂ en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68 utilizando la mezcla de Tolueno y TCE. Producción de CO₂ para Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

La máxima producción de CO₂ fue de 140 g/m³, la cual obtuvo en la cinética en la que se colocó la concentración de Tolueno de 54 g/m³ (8 uL). El porcentaje de mineralización alcanzado fue de 76%. El porcentaje de mineralización de TCE obtenido en los experimentos de 1 fase con agente tensoactivo Pluronic F-68 se muestra a continuación (Tabla 5.3.4).

Tabla 5.3.4. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 1 fase con Pluronic F-68.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m ³]	CO ₂ teórico* (mg)	CO ₂ experimental ^o (mg)	% de mineralización [□] (TCE)
Tol	19	6.03	2.37	
Tol – TCE	19 – 6	6.45	2.81	7
Tol	36	12.06	6.47	
Tol – TCE	36 – 6	12.48	6.72	2
Tol	54	18.10	8.50	
Tol – TCE	54 – 6	18.52	14.15	31
Tol	72	24.13	14.39	
Tol – TCE	72 – 6	24.55	9.18	0

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

^o CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

En los experimentos F_{1S} (medio mineral – Pluronic F-68 0.10% [w/v]) el mayor porcentaje de mineralización de TCE fue de 31%, el cual se presentó cuando se colocó en el sistema la concentración de Tolueno de 54 g/m³. Los porcentajes de mineralización del Tolueno (72 g/m³) y TCE (6 g/m³) fueron 37% y 0%, respectivamente. El porcentaje de mineralización de Tolueno antes mencionado fue muy bajo. Esto se puede deber a una inhibición de los microorganismos, originada por las concentraciones de Tolueno y TCE encontradas en la fase acuosa.

5.3.5 Partición (control abiótico)

Los experimentos control se realizaron con la finalidad de ver el reparto de los hidrocarburos Tolueno, Hexano y TCE en la fase acuosa (medio mineral – Pluronic F-68 a 0.10% [w/v]). A continuación se muestran los resultados obtenidos (Figura 5.3.9).

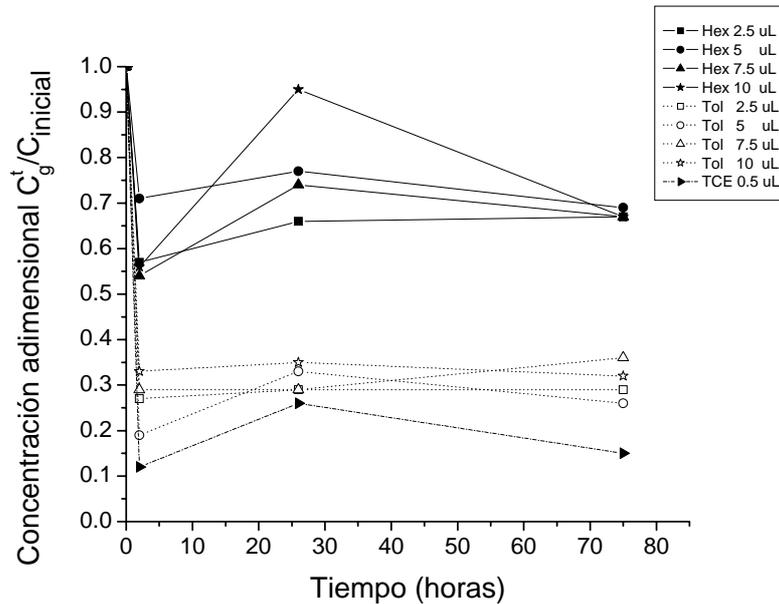


Figura 5.3.9. Caída de concentración de Hexano, Tolueno y TCE obtenidos en la fase gaseosa, en los controles abióticos de 1 fase con Pluronic F-68. Control de Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control de Tolueno a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆). Control de TCE a 0.5 uL (►).

De los hidrocarburos analizados en los experimentos control, se encontró que el TCE fue el que presentó una mayor solubilidad en el medio acuoso (medio mineral, Pluronic F-68), quedando en segundo lugar el Tolueno y en último Hexano. La solubilidad en el medio acuoso que presentaron los hidrocarburos fue de 85%, 69% y 33% para TCE, Tolueno y Hexano, respectivamente. El porcentaje se calculó dividiendo la concentración (g/m^3) del solvente en el equilibrio (72 horas), medida en la fase gaseosa entre la concentración inicial (g/m^3) colocada en el sistema.

Los surfactantes son utilizados para aumentar la solubilidad; sin embargo, ésta, no solo es un factor limitante en las velocidades de biodegradación, si no que también, se ve afectada por otros factores como, la toxicidad del contaminante hacia los microorganismos (Kastner et al., 1999).

A continuación se muestran las Figuras obtenidas en los experimentos control para ver el efecto de la partición cuando se colocan en los sistemas compuestos

individualmente y en mezcla. En la Tabla 5.3.5 se muestran los porcentajes de Hexano y Tolueno respectivamente encontrados en la fase gaseosa de los sistemas. En las Figura 5.3.12 y 5.3.13 se muestran los porcentajes de TCE encontrados en la fase gaseosa para experimentos en mezcla e individual.

Tabla 5.3.5. Porcentajes de Hexano y Tolueno medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 1 fase con surfactante.

Hidrocarburo	Concentración Inicial [g/m³]	%[□]
Hexano	14	67
Hexano	14 – 6	69
Hexano	28	69
Hexano	28 – 6	61
Hexano	41	67
Hexano	41 – 6	69
Hexano	55	67
Hexano	55 – 6	60
Tolueno	19	29
Tolueno	19 – 6	15
Tolueno	36	26
Tolueno	36 – 6	33
Tolueno	54	36
Tolueno	54 – 6	28
Tolueno	72	32
Tolueno	72 – 6	28

[□]= Porcentaje de la concentración inicial medido en la fase gaseosa al termino de 72 horas.

En la Tabla 5.3.5 podemos observar que la solubilidad de Hexano y Tolueno aumenta en un sistema que utiliza una mezcla de estos hidrocarburos en comparación con el sistema que tiene a los hidrocarburos de manera individual. Este fenómeno se puede deber a interacciones que se generan entre los hidrocarburos y el agente tensoactivo Pluronic F-68, desgraciadamente los valores obtenidos no ayudan a entender el por qué del comportamiento presentado.

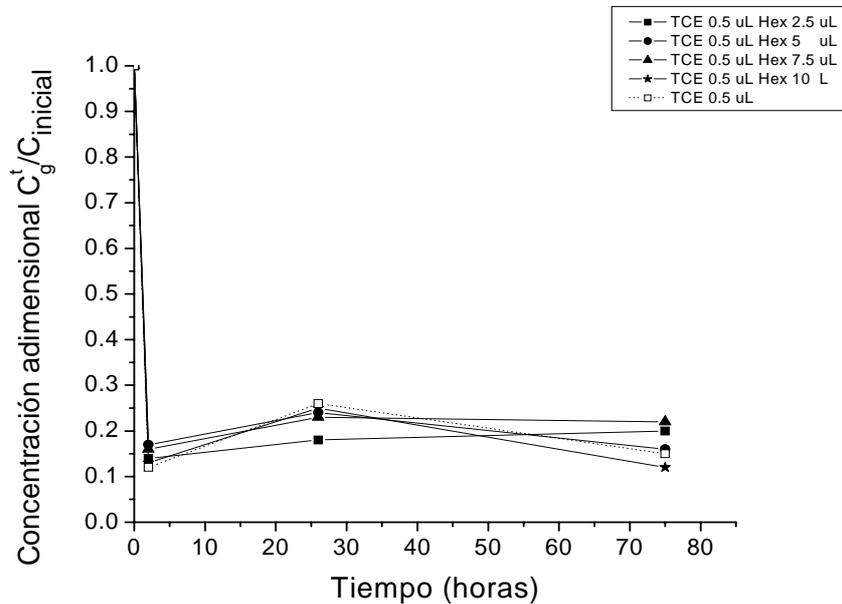


Figura 5.3.10. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa, para controles en mezcla (TCE-Hexano) y control individual de TCE en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68. Controles de TCE 0.5 uL con Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control, TCE a 0.5 uL (□).

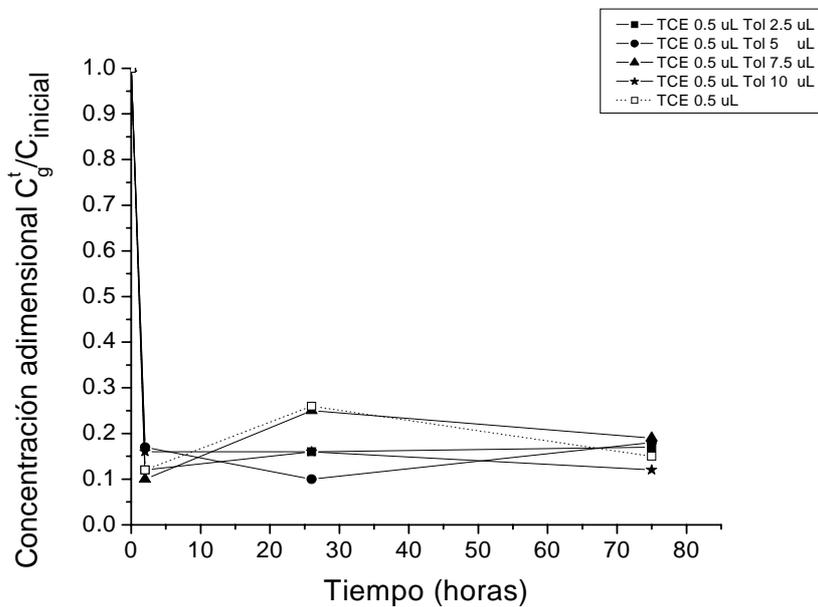


Figura 5.3.11. Caída de concentración de TCE en la fase gaseosa, para controles en mezcla (TCE-Tolueno) y control individual de TCE en experimentos de 1 fase con Pluronic F-68. Controles de TCE 0.5 uL con Tolueno a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control, TCE a 0.5 uL (□).

5.4 Efecto de adición de aceite de silicona en la velocidad de consumo de hidrocarburos

El uso de biofiltros en el tratamiento de aire, es una alternativa eficiente y barata para eliminar contaminantes como compuestos orgánicos volátiles (COVs). Al igual que otras tecnologías, el tratamiento biológico presenta limitaciones durante su aplicación, una de estas restricciones es tratar flujos de aire por debajo de concentraciones de 5 mg/L (Daugulis, 2001), debido a que los contaminantes a tratar pueden ser tóxicos o inhibitorios para el consorcio bacteriano. Una forma de disminuir esta limitante es mediante el uso de una segunda fase en la cual generalmente se utilizan solvente orgánicos como el aceite de silicona.

El uso de fases oleosas en los biorreactores aumenta la biodisponibilidad de los contaminantes, debido a que solventes orgánicos, como el aceite de silicona, presenta afinidad con COVs hidrofóbicos, la transferencia de masa se incrementa de la fase gas a la líquida del sistema. Otra ventaja que ofrece el trabajar con aceite de silicona es el aumento de la transferencia de oxígeno (Leung et al., 1997), la cual en muchos procesos aerobios es limitante (Muñoz, et al. 2007).

El utilizar aceite de silicona como segunda fase en esta parte experimental lleva como objetivo mejorar las velocidades de consumo de compuestos como Hexano y Tolueno, los cuales debido a su baja solubilidad en agua presentan velocidades de consumo muy bajas.

En estos estudios se determinaron las curvas de caída de concentración para los contaminantes Hexano y Tolueno y se comparó con sus respectivos controles abióticos. Además, se obtuvieron las velocidades específicas de producción de CO₂ y a partir de estos resultados, se obtuvieron los porcentajes de mineralización con base en balances de carbono. Se realizaron experimentos individuales para Hexano y Tolueno, así como experimentos en mezcla para ver si existía una biodegradación cometabólica de TCE con Hexano o Tolueno.

5.4.1. Caída de concentración

En los sistemas bifásicos la afinidad originada de la fase oleosa con los contaminantes afecta directamente las tasas de consumo de estos. A continuación se muestran los experimentos realizados para Hexano y Tolueno a diferentes concentraciones así como sus controles abióticos.

En la Figura 5.4.1 se muestran los perfiles de consumo de Hexano para las diferentes concentraciones probadas. Los experimentos control mostraron una solubilización promedio de Hexano en el aceite de silicona de aprox. 76% respecto a la concentración inicial que se agregó al inicio de cada experimento. Comparando la caída de concentración de los experimentos en presencia de microorganismos con los controles se concluye que hubo una degradación, así como solubilización del 100% a las 190 horas de experimentación de la concentración de Hexano presente en la fase gaseosa. Además, se puede observar que no hubo un efecto de la concentración inicial (inhibición) en el consumo de Hexano debido al efecto de amortiguamiento que genera la fase oleosa en el sistema, el cual otros autores han reportado (Déziel et al., 1999).

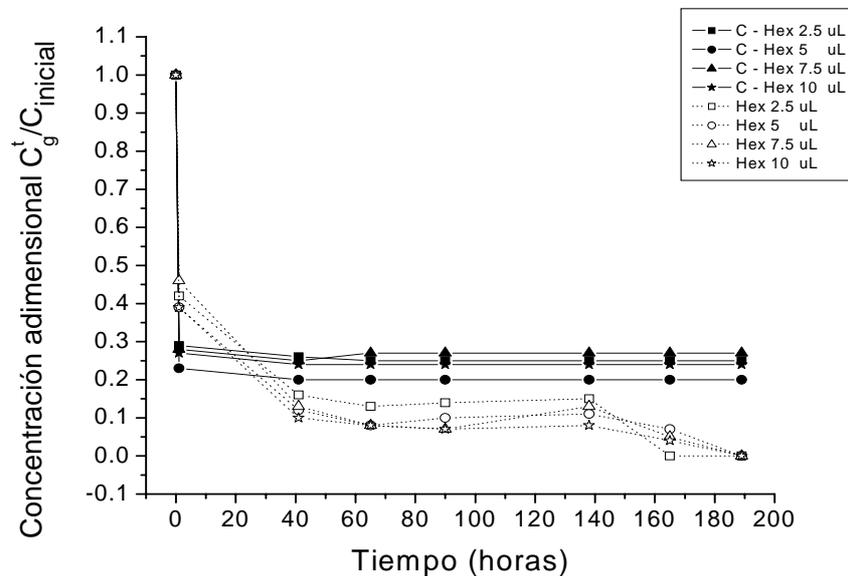


Figura 5.4.1. Caída de concentración de Hexano (adimensional, $C_g / C_{g\text{INICIAL}}$) en la fase gaseosa para control (abiótico) y cinéticas de 2 fases con aceite de silicona. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Hexano 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

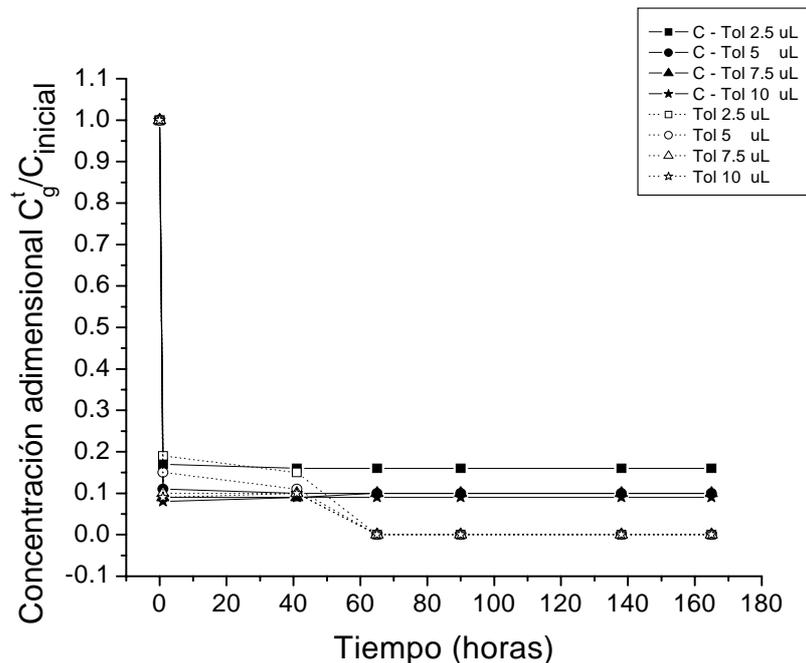


Figura 5.4.2. Caída de concentración de Tolueno (adimensional, $C_g / C_{g\text{ INICIAL}}$) en la fase gaseosa para control (abiótico) y cinéticas de 2 fases con aceite de silicona. Control (abiótico) C-2.5 uL (■), C-5 uL (●), C-7.5 uL (▲) y C-10 uL (★). Cinética de consumo de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

En el caso de Tolueno hubo una sorción de aprox. 89% en la fase acuosa (medio mineral-aceite de silicona), en este caso fue mayor que para el Hexano, debido básicamente a la estructura química de los compuestos y a las interacciones que presentan con la fase oleosa. Respecto a la caída de concentración al igual que con Hexano tampoco observamos un efecto inhibitorio de la concentración inicial de Tolueno.

5.4.2. Producción de CO_2 y Velocidades específicas

La producción de CO_2 en los procesos aerobios de degradación biológica es una medida que nos permite cuantificar y ver el desarrollo de la degradación o mineralización de los contaminantes. La rapidez a la cual se efectúa el proceso de degradación puede ser medida con base en las velocidades específicas, las cuales se obtienen de los modelos que ajustan los valores obtenidos.

Los perfiles de producción de CO₂ obtenidos para Hexano, a diferentes concentraciones en los experimentos de dos fases con aceite de silicona F₂, se observan en la Figura 5.4.3. Comparando la máxima cantidad de CO₂ producido en los experimentos F₁ (medio mineral) observamos que en los experimentos F_{1S} (medio mineral-aceite de silicona) se generan valores más altos de CO₂. Cabe mencionar que en este tipo de experimentos, cuando se trabaja a las mismas concentraciones de hidrocarburos, una mayor producción CO₂ significa un mayor porcentaje de mineralización, del cual se hablará más adelante. Este aumento en los porcentajes de mineralización en los experimentos de dos fases con aceite de silicona se puede deber probablemente a un aumento en la captación de oxígeno hacia la fase acuosa. Experimentos realizados por Leung et al. (1997) demostraron este aumento de oxígeno en la fase líquida. La cantidad de oxígeno encontrada en la fase líquida es un factor importante que influye en las tasas de biodegradación de los contaminantes, debido a que el oxígeno es necesario para llevar a cabo la degradación de los compuestos a través de las reacciones que realizan los microorganismos. Al haber en la fase acuosa una mayor cantidad de oxígeno, los microorganismos pueden degradar más cantidad de contaminante, es por esto que en los experimentos F₂ se produjo una mayor cantidad de CO₂ que en los F₁.

En la Figura 5.4.4 se muestra la producción de CO₂ obtenida en los experimentos con Tolueno a las diferentes concentraciones. La producción de CO₂ generada a partir de la degradación de Tolueno fue mayor que la obtenida para Hexano, lo cual se debe a que el Tolueno presenta un nivel de biodegradabilidad más alto (Devinny et al., 1999) y además, una mayor biodisponibilidad en la fase oleosa de aceite de silicona. Lo anterior, se pudo comprobar, ya que el Tolueno se solubilizó hasta en un 89% en la fase oleosa de aceite de silicona y el Hexano sólo un 76%, indicando que Tolueno estuvo más biodisponible para la degradación microbiana (ver controles abióticos, Sección 5.4.5). Al igual que en el caso del Hexano, la concentración inicial de Tolueno colocada en el sistema no mostró un efecto inhibitorio hacia los microorganismos.

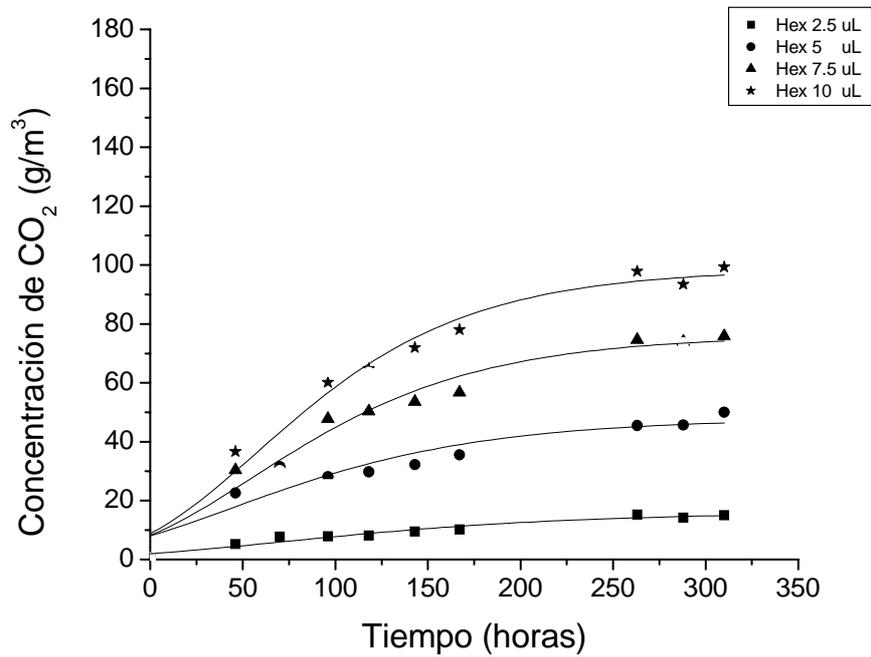


Figura 5.4.3. Producción de CO₂ en experimentos de 2 fases con aceite de silicona. Concentración de Hexano 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 (▲) y 10 uL (★).

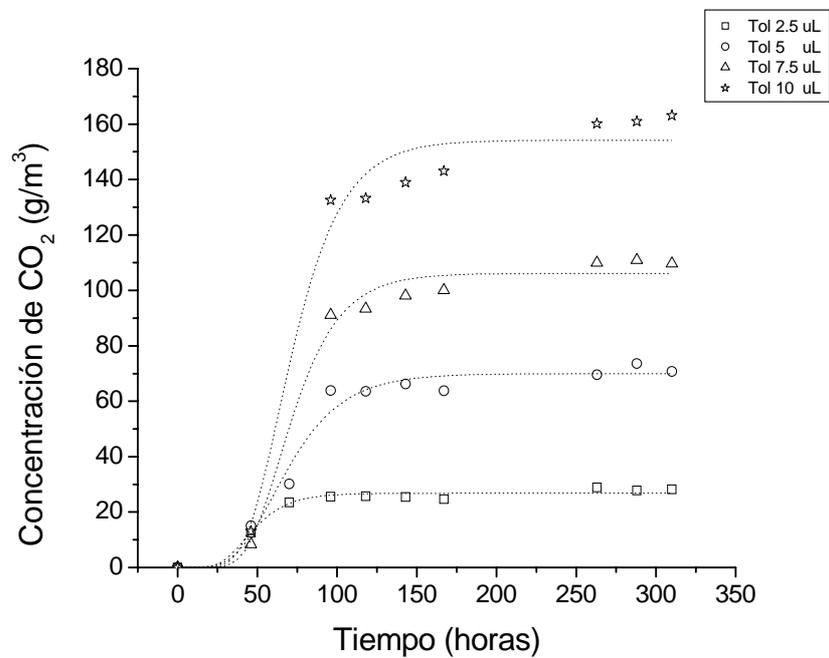


Figura 5.4.4. Producción de CO₂ en experimentos de 2 fases con aceite de silicona. Concentración de Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

En la Tabla 5.4.1 se muestra las velocidades máximas y específicas de consumo para Hexano y Tolueno obtenidas al aplicar el modelo de Gompertz, en donde se observa que no hubo un efecto negativo generado por la concentración inicial del hidrocarburo. En esta Tabla se puede observar que la velocidad de consumo específica, al igual que la velocidad de consumo máxima, aumentó conforme incrementó la concentración inicial.

Se observó que el Tolueno presentó las velocidades máximas y específicas de producción de CO₂ más altas, siendo 3 (g/m³*h) y 394 (mg hidrocarburo consumido / g proteína * h).

Tabla 5.4.1. Velocidades específicas y máximas de producción de CO₂ obtenidas en los experimentos de dos fases con aceite de silicona.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	V_{ESP}	V_{MAX}
Hex	14	8	0.06
Hex – TCE	14 – 6	8	0.06
Hex	28	31	0.23
Hex – TCE	28 – 6	27	0.20
Hex	41	54	0.40
Hex – TCE	41 – 6	36	0.27
Hex	55	75	0.56
Hex – TCE	55 – 6	90	0.67
Tol	19	90	0.67
Tol – TCE	19 – 6	126	0.94
Tol	36	145	1.08
Tol – TCE	36 – 6	292	2.17
Tol	54	255	1.90
Tol – TCE	54 – 6	366	2.72
Tol	72	352	2.62
Tol – TCE	72 – 6	394	2.93

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de CO₂ producido/gramo de proteína * hora) (Sección 4.3.2.3).

V_{MAX} = Velocidad máxima de producción de CO₂ (g/m³*h) (Sección 4.3.2.3).

Hex = Hexano Tol = Tolueno TCE = Tricloroetileno.

Para el caso del Hexano al igual que el Tolueno las máximas velocidades específicas y de consumo ocurrieron cuando se inyectaron al microcosmo volúmenes de 10 uL.

5.4.3. Mineralización

En la siguiente Tabla se muestra los porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos F₂.

Tabla 5.4.2. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de dos fases con aceite de silicona.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	Mineralización[□] (%)
Hex	14	36
Hex – TCE	14 – 6	38
Hex	28	59
Hex – TCE	28 – 6	47
Hex	41	60
Hex – TCE	41 – 6	51
Hex	55	59
Hex – TCE	55 – 6	67
Tol	19	48
Tol – TCE	19 – 6	48
Tol	36	61
Tol – TCE	36 – 6	63
Tol	54	61
Tol – TCE	54 – 6	69
Tol	72	68
Tol – TCE	72 – 6	71

[□] Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4. A los porcentajes de mineralización obtenidos se le resta la concentración de CO₂ obtenida debida a la respiración endógena.

Hex = Hexano Tol = Tolueno TCE = Tricloroetileno.

Los F₂ al igual que las cinéticas F₁ y F_{1S} mostraron porcentajes de mineralización más altos para Tolueno que el obtenido por Hexano. Los máximos porcentajes de

mineralización que presentaron el Tolueno (72 g/m^3) y el Hexano (41 g/m^3) fueron de 68 y 60, respectivamente. Para las mezclas de hidrocarburos con TCE se obtuvieron, en todos los casos mayores, porcentajes de mineralización. Por ejemplo, para Tolueno-TCE ($72 - 6 \text{ g/m}^3$) se obtuvo un valor de 71% y para Hexano-TCE ($41 - 6 \text{ g/m}^3$) de 51%.

Los porcentajes de mineralización encontrados en los experimentos F_2 fueron mayores que los obtenidos en F_1 y F_{1S} , esto se debe que la fase oleosa mejora las velocidades de consumo de compuestos hidrofóbicos como el Hexano y Tolueno. Lo anterior se explica por una mayor área de contacto que implica mayor transporte gas-medio mineral/aceite debido a que el Tolueno y el Hexano se solubilizan en mayor cantidad en el aceite de silicona incrementando la biodisponibilidad de los hidrocarburos hacia los microorganismos. Estudios realizados muestran que el uso de fases oleosas aumentan las tasas de consumo de contaminantes comparados con estudios en los que no se utilizan fases oleosas, observándose la misma tendencia que se obtuvo en los experimentos realizados de 1 y 2 fases (Daugulis y Boudreau, 2003; Song y Kinney 2005; Arriaga et al., 2006; Kibazohi et al., 2004).

5.4.4 Cometabolismo de TCE

En estos experimentos se probaron distintas concentraciones de Tolueno y Hexano (Ver Tabla 5.4.3) para encontrar una concentración a la cual se indujera la degradación cometabólica del TCE. La concentración de TCE manejada se mantuvo constante, siendo una concentración de 6 g/m^3 .

La cuantificación de la degradación de TCE se realizó con base en la diferencia de CO_2 producido de los experimentos individuales y los experimentos en mezclas que son Hexano-TCE, Tolueno-TCE.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 5.4.3, se observó que el porcentaje máximo de mineralización de TCE fue de 9%, obtenido cuando se realizó el experimento con Hexano (55 g/m^3) y TCE (6 g/m^3). Los porcentajes de mineralización

obtenidos fueron similares a los obtenidos cuando se utilizó como co-sustrato a Tolueno (se discutirá más adelante).

Tabla 5.4.3. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en 2 fases con aceite de silicona.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	CO₂ teórico* (mg)	CO₂ experimental^o (mg)	% de mineralización[□] (TCE)
Hex	14	4.21	1.52	
Hex – TCE	14 – 6	4.63	1.74	5
Hex	28	8.43	5.00	
Hex – TCE	28 – 6	8.85	4.16	0
Hex	41	12.60	7.58	
Hex – TCE	41 – 6	13.06	6.67	0
Hex	55	16.86	9.94	
Hex – TCE	55 – 6	17.28	11.52	9

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

^o CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Hex = Hexano, TCE = Tricloroetileno.

Los porcentajes de mineralización de TCE cuando se utilizó como co-sustrato el Tolueno en los experimentos de 2 fases con aceite de silicona se muestran a continuación.

En los experimentos de F₂ (medio mineral-aceite de silicona) el TCE presentó porcentajes de mineralización en las 4 concentraciones de Tolueno utilizadas, siendo el porcentaje más alto de 9%, el cual se presentó cuando se introdujo al sistema la concentración de Tolueno de 54 g/m³.

Tabla 5.4.4. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 2 fases con aceite de silicona.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	CO₂ teórico* (mg)	CO₂ experimental^o (mg)	% de mineralización[□] (TCE)
Tol	19	6.03	2.89	
Tol – TCE	19 – 6	6.45	3.10	4
Tol	36	12.06	7.36	
Tol – TCE	36 – 6	12.48	7.89	4
Tol	54	18.10	11.09	
Tol – TCE	54 – 6	18.52	12.78	9
Tol	72	24.13	16.31	
Tol – TCE	72 – 6	24.55	17.49	5

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

^o CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

Lee et al. (2006), reportaron que cuando se utilizan concentraciones iniciales de Tolueno arriba de 30 g/m³, se presenta inhibición por parte de los microorganismos para poder degradar TCE. Sin embargo, en los experimentos realizados a concentraciones de Tolueno mayores a 30 g/m³ no se mostró dicha inhibición. Este hecho se debe a que el uso de fases oleosas como aceite de silicona, sorben la mayoría de la concentración del hidrocarburo colocada en el sistema, sirviendo como un reservorio de éstos, lo que provoca que los microorganismos no entren en contacto con altas concentraciones del contaminante que pudieran generar inhibición o muerte de los mismos.

En la mayoría de las investigaciones que reportan degradación cometabolica de TCE, los resultados son en función de eficiencias de eliminación (Han et al., 2007; Lu et al., 1998; Lee et al., 2006; Guo et al., 2001), por lo que los porcentajes de mineralización obtenidos para TCE son difíciles de referenciar.

5.4.5 Partición (control abiótico)

El coeficiente de partición se define como la razón de la distribución de una sustancia entre dos fases cuando el sistema está en equilibrio; la razón de concentraciones de la misma especie molecular en las dos fases es constante a temperatura constante.

Los experimentos de partición se realizaron con la finalidad de ver el reparto de los hidrocarburos Tolueno, Hexano y TCE en la fase líquida (medio mineral – aceite de silicona) y la fase gaseosa. A continuación se muestra la Figura obtenida.

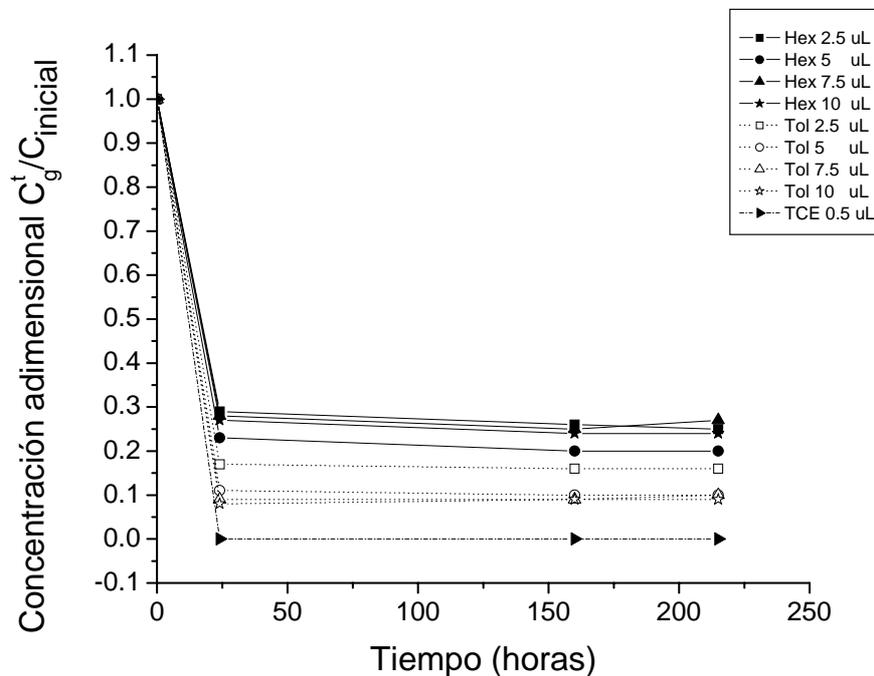


Figura 5.4.5. Caída de concentración de Hexano, Tolueno y TCE obtenidos en la fase gaseosa, en los controles abióticos de 2 fases con aceite de silicona. Control de Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control de Tolueno a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆). Control de TCE a 0.5 uL (►).

En los experimentos de partición (control abiótico) el TCE fue el hidrocarburo que presentó una mayor solubilidad en el aceite de silicona, quedando en segundo lugar el Tolueno y en tercero el Hexano. La solubilidad que presentó el TCE fue de 100%, para Tolueno fue de 89% y Hexano de 76% a la relación de fase oleosa-medio mineral probada (5:95%, v/v). La solubilidad y partición de compuestos orgánicos en agua ha

sido estudiada extensamente (Coleman et al., 1984; Brookman et al., 1985; Cline et al., 1991), pero existen pocos estudios que hablen de solubilidad y partición en fases orgánicas.

En seguida se muestran las Figuras obtenidas en los controles para ver el efecto de la partición cuando se colocan en los sistemas compuestos individualmente y en mezcla. La Figura 5.4.6 muestra los porcentajes de Hexano y la Figura 5.4.7 de Tolueno encontrados en la fase gaseosa de los sistemas individuales y en mezcla.

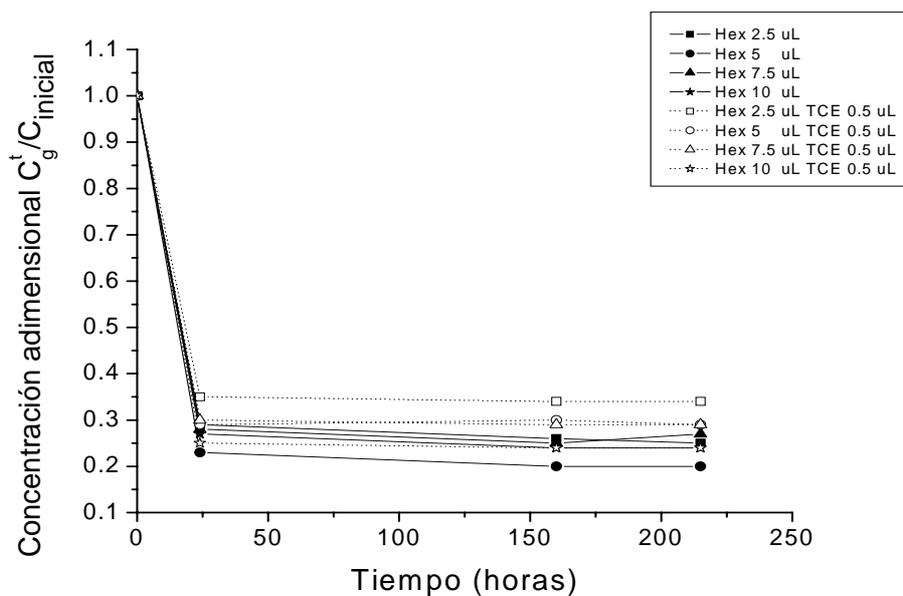


Figura 5.4.6. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para controles individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con aceite de silicona. Controles individuales para Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Controles mezcla de TCE a 0.5 uL con Hexano a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆).

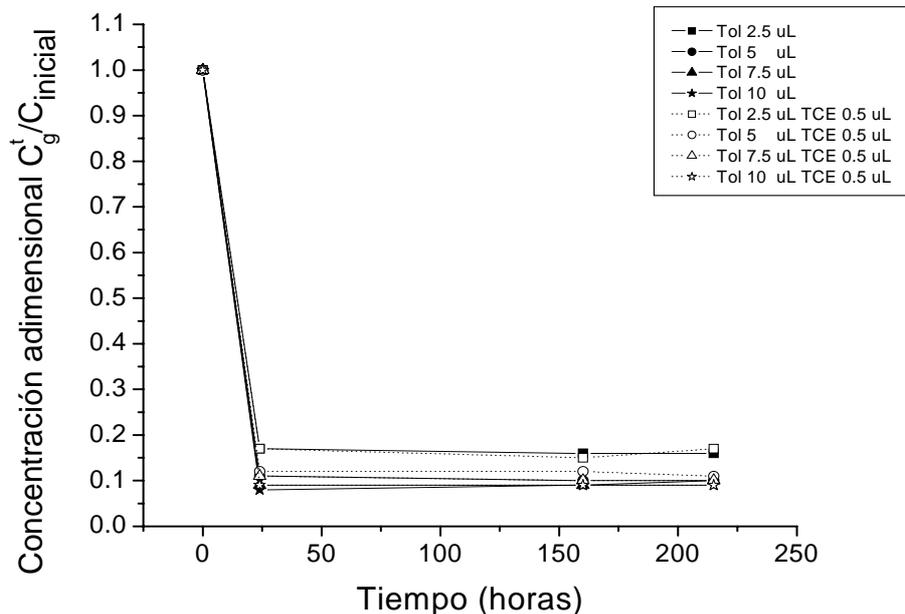


Figura 5.4.7. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para controles individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con aceite de silicona. Controles individuales para Tolueno a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Controles mezcla de TCE a 0.5 uL con Tolueno a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆).

Cuando se utiliza aceite de silicona como fase en el sistema, la partición de los hidrocarburos no se ve afectada cuando se introducen mezclas, debido a que la presión interna que se genera dentro del sistema se reduce, esto se debe a que la afinidad o partición que presenta el aceite hacia los hidrocarburos es tan alta que disminuye la concentración de los solventes en la fase gaseosa lo que reduce la presión total y presiones parciales generadas en el sistema. Esto se debe a que la fase oleosa sirve como depósito de todos los hidrocarburos que se alimentaron al sistema. A las concentraciones a las cuales se trabajó no llegó a presentarse la saturación de la fase gaseosa, es decir puede soportar concentraciones mayores de hidrocarburos.

5.5 Efecto de la adición conjunta de aceite de silicona y surfactante Pluronic F-68 en la velocidad de consumo de hidrocarburos

En estos experimentos se observó el efecto de agregar simultáneamente aceite de silicona y Pluronic F-68 en las velocidades de producción de CO₂ de los hidrocarburos individuales y en mezcla.

Esta parte se propuso debido a que se cree que la fase de aceite de silicona, por ser de carácter hidrofóbico, beneficiaría el transporte de masa del contaminante hidrofóbico (Hexano), aumentando así su biodegradación. En cuanto al surfactante, mejoraría la transferencia de masa de los compuestos más solubles como: TCE y Tolueno incrementando sus velocidades de degradación. Además, las interacciones que se presenten entre aceite de silicona y Pluronic F-68 podrían beneficiar la degradación de los hidrocarburos.

5.5.1. Caída de concentración

La caída de concentración es un fenómeno afectado por la partición de los compuestos en el sistema, así como por las propiedades fisicoquímicas del medio acuoso. A continuación se muestran los experimentos realizados para Hexano y Tolueno a diferentes concentraciones, así como sus controles abióticos.

Los perfiles de consumo de Hexano encontrados para las diferentes concentraciones en los controles se muestran en la Tabla 5.5.1. En los experimentos de 2 fases con surfactante (F_{2S}), el Hexano mostró una sorción promedio de 91% respecto a la concentración colocada al inicio de los experimentos. La caída de concentración de Hexano mostrada en los controles y cultivos con microorganismos fue muy similar, lo cual dificulta percibir que esta caída de concentración se deba a una sorción únicamente sin que la biodegradación tome lugar. Sin embargo, para descartar que se tratara sólo de una sorción, se realizaron mediciones de CO₂ en la fase gaseosa, tanto para los controles abióticos como para los experimentos con microorganismos, siendo este punto discutido más adelante.

Al igual que en los experimentos de 2 fases con aceite de silicona, los experimentos de 2 fases con surfactante no mostraron un efecto de la concentración inicial en el consumo de Hexano. Las cinéticas con Hexano a diferentes concentraciones mostraron una solubilidad del 100% al tiempo de 190 horas a cualquiera de las concentraciones probadas.

Tabla 5.5.1. Porcentajes de Hexano y Tolueno medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 2 fases con surfactante para cinéticas y controles abióticos.

Hidrocarburo	Concentración Inicial [g/m³]	% [□]
Hexano	14	0
Hexano ^C	14	13
Hexano	28	0
Hexano ^C	28	10
Hexano	41	0
Hexano ^C	41	7
Hexano	55	0
Hexano ^C	55	7
Tolueno	19	0
Tolueno ^C	19	16
Tolueno	36	0
Tolueno ^C	36	11
Tolueno	54	0
Tolueno ^C	54	8
Tolueno	72	0
Tolueno ^C	72	8

[□] = Porcentaje de la concentración inicial medido en la fase gaseosa al termino de 72 horas.

^C = Control abiótico.

En los controles (abióticos) el Tolueno mostró una sorción en la fase acuosa (medio mineral - aceite de silicona – Pluronic F-68) de aproximadamente 89%, valor igual al presentado en los experimentos de 2 fases. Para los experimentos bióticos, Tolueno presentó una solubilidad (fase gaseosa a fase líquida) del 100% al tiempo de 62

horas, siendo más afín a la fase acuosa (medio mineral - Pluronic F-68 - aceite de silicona) que el Hexano.

5.5.2. Producción de CO₂ y Velocidades específicas

Los biorreactores son una tecnología que esta basada en la capacidad natural de los microorganismos para oxidar los contaminantes en CO₂ y agua. La producción de CO₂ que se genera en este proceso es una forma cuantitativa de medir la eficiencia de la biodegradación.

La producción de CO₂ obtenida en los experimentos bióticos de 2 fases con surfactante (F_{2s}) para Hexano, a las diferentes concentraciones, se muestra en la Figura 5.5.1. La producción de CO₂ medida en los experimentos con Hexano aumenta conforme se incrementa la concentración inicial en el sistema. Se observa además, que las concentraciones probadas en el sistema no generaron inhibición al consorcio bacteriano.

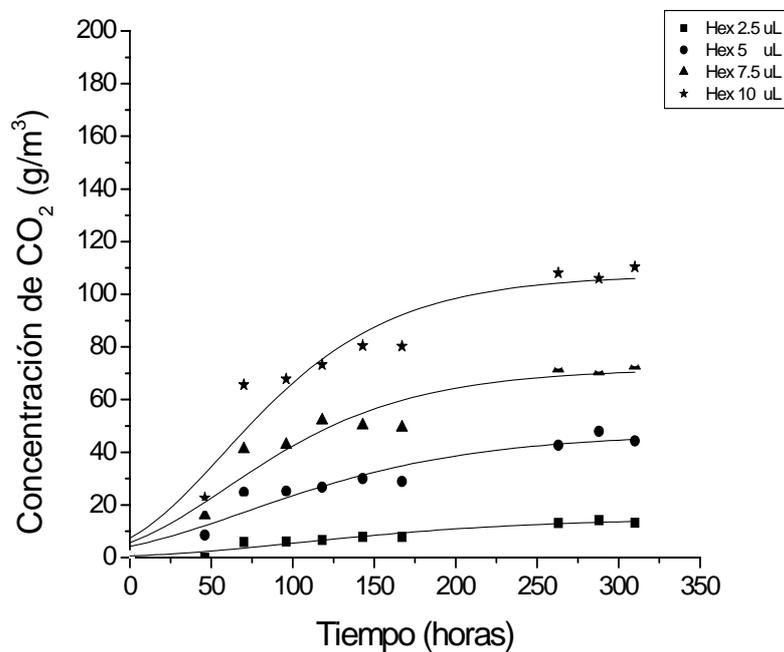


Figura 5.5.1. Producción de CO₂ en experimentos de 2 fases con surfactante. Producción de CO₂ para Hexano 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 (▲) y 10 uL (★).

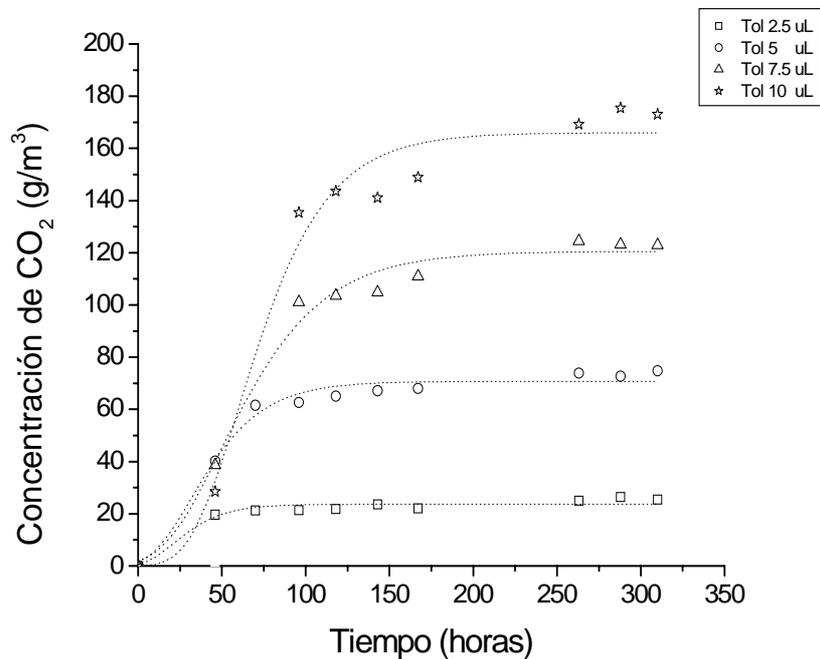


Figura 5.5.2. Producción de CO₂ en experimentos de 2 fases con surfactante. Producción de CO₂ para Tolueno 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 (△) y 10 uL (☆).

Para el caso del Tolueno la producción del CO₂ se muestra en la Figura 5.5.2, donde se puede apreciar que, al igual que el Hexano, a ninguna concentración inicial que se utilizó en el sistema resultó inhibitoria para los microorganismos. Comparando la producción de Hexano con la de Tolueno, este último fue el que presentó una mayor producción de CO₂, debido a que el Tolueno presenta una mayor biodegradabilidad conferida por su estructura química.

Al igual que en los experimentos anteriores, las velocidades específicas y de producción de CO₂ para Tolueno y Hexano en experimentos de 2 fases con surfactante se obtuvieron aplicando el modelo de Gompertz (Sección 4.3.2.3). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.5.2.

Tabla 5.5.2. Velocidades específicas y máximas de producción de CO₂ obtenidas en los experimentos de dos fases con surfactante.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m ³]	V _{ESP}	V _{MAX}
Hex	14	9	0.06
Hex – TCE	14 – 6	10	0.07
Hex	28	29	0.21
Hex – TCE	28 – 6	31	0.23
Hex	41	56	0.41
Hex – TCE	41 – 6	54	0.40
Hex	55	91	0.68
Hex – TCE	55 – 6	73	0.54
Tol	19	70	0.52
Tol – TCE	19 – 6	262	1.95
Tol	36	146	1.09
Tol – TCE	36 – 6	231	1.72
Tol	54	174	1.29
Tol – TCE	54 – 6	244	1.82
Tol	72	281	2.09
Tol – TCE	72 – 6	303	2.25

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de CO₂ producido/gramo de proteína * hora) (Sección 4.3.2.3).

V_{MAX} = Velocidad máxima de producción de CO₂ (g/m³*h) (Sección 4.3.2.3).

Hex = Hexano Tol = Tolueno TCE = Tricloroetileno.

En esta Tabla podemos apreciar que las velocidades máximas de producción de CO₂ y velocidades específicas de consumo están directamente relacionadas con la concentración, ya que cuando aumenta la concentración, se incrementa la velocidad de producción. El Tolueno fue el hidrocarburo que presentó las velocidades máximas de producción de CO₂ más altas obteniendo valores de 2.25 (g/m³*h) y velocidades específicas de consumo de 303 (mg CO₂ producido / g proteína * h). Para el Hexano las velocidades específicas y máximas más altas fueron: 91 (mg CO₂ producido / g proteína * h) y 0.68 (g/m³*h) respectivamente.

En los estudios de 2 fases con surfactante se observó que la principal limitante en el proceso de biodegradación fue la actividad microbiana del inóculo, y no la biodisponibilidad, ya que la solubilidad presentada en la fase líquida por Hexano y Tolueno estuvo arriba del 90%; indicando que en el sistema F_{2S} los hidrocarburos estaban biodisponibles. El sistema ya no estuvo limitado por el transporte si no por la reacción biológica que llevan a cabo los microorganismos. En este sentido el objetivo principal de la tesis fue alcanzado al mejorar el transporte de masa de los hidrocarburos, el siguiente reto estaría enfocado al mejoramiento genético o al uso de cepas puras específicas para la degradación de cada uno de los hidrocarburos.

5.5.3. Mineralización

Los porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos F_{2S} para Hexano y Tolueno (individual y en mezcla) se observan en la Tabla 5.5.3.

En los experimentos F_{2S} (medio mineral-aceite de silicona-Pluronic F-68) el Tolueno mostró porcentajes de mineralización más altos que los obtenidos con Hexano. Los máximos porcentajes de mineralización que presentaron el Tolueno (concentración inicial de 72 g/m^3) y el Hexano (concentración inicial de 55 g/m^3) fueron de 73% y 66%, respectivamente. En los experimentos con mezclas de hidrocarburos, se obtuvo para Tolueno-TCE ($72 - 6 \text{ g/m}^3$) un valor de 73% y para Hexano-TCE ($55 - 6 \text{ g/m}^3$) de 64%. El porcentaje máximo de mineralización encontrado para Tolueno, es similar al encontrado por Aizpuru et al. (2005) que es de 74%. Estos porcentajes altos de mineralización indican que los microorganismos utilizados presentaron una alta actividad biológica hacia el hidrocarburo.

Los porcentajes de mineralización encontrados en los experimentos F_{2S} fueron mayores que los obtenidos en F_1 , F_{1S} y F_2 , lo cual se debe a que el uso de varias fases mejoran la sorción (solubilidad) de los hidrocarburos en la fase líquida dando lugar a una mayor velocidad de consumo y al incremento del porcentaje de mineralización.

Tabla 5.5.3. Porcentajes de mineralización obtenidos en los experimentos de dos fases con surfactante.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	Mineralización[□] (%)
Hex	14	34
Hex – TCE	14 – 6	44
Hex	28	57
Hex – TCE	28 – 6	51
Hex	41	58
Hex – TCE	41 – 6	62
Hex	55	66
Hex – TCE	55 – 6	64
Tol	19	44
Tol – TCE	19 – 6	55
Tol	36	62
Tol – TCE	36 – 6	64
Tol	54	69
Tol – TCE	54 – 6	69
Tol	72	73
Tol – TCE	72 – 6	73

[□] Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4. A los porcentajes de mineralización obtenidos se le resta la concentración de CO₂ obtenida debida a la respiración endógena.

Hex = Hexano Tol = Tolueno TCE = Tricloroetileno.

5.5.4 Cometabolismo de TCE

El cometabolismo es el proceso en el cual un microorganismo transforma un compuesto tóxico o difícil de degradar en presencia de un segundo compuesto orgánico que es utilizado como fuente de energía primaria.

Los resultados de los porcentajes de mineralización del TCE obtenidos en los experimentos de 2 fases con surfactante, utilizando como co-sustrato Hexano se muestran a continuación (Tabla 5.5.4).

Tabla 5.5.4. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Hexano y TCE-Hexano en 2 fases con surfactante.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	CO₂ teórico* (mg)	CO₂ experimental^o (mg)	% de mineralización[□] (TCE)
Hex	14	4.21	1.42	
Hex – TCE	14 – 6	4.63	2.02	14
Hex	28	8.43	4.79	
Hex – TCE	28 – 6	8.85	4.47	0
Hex	41	12.60	7.29	
Hex – TCE	41 – 6	13.06	8.07	6
Hex	55	16.86	11.04	
Hex – TCE	55 – 6	17.28	11.11	0.4

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

^o CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Hex = Hexano, TCE = Tricloroetileno.

El TCE presentó un porcentaje de mineralización de 14% cuando se utilizó la concentración de Hexano de 14 g/m³, siendo el más alto que se obtuvo a las diferentes concentraciones de Hexano probadas. Sin embargo, cuando se aumentó la concentración de Hexano en el sistema, los porcentajes de mineralización disminuyeron o simplemente no existió.

Para el caso del Tolueno como co-sustrato, los porcentajes de mineralización de TCE obtenidos se muestran en la Tabla 5.5.5, en donde se observó que el porcentaje de mineralización de TCE fue disminuyendo conforme aumentó la concentración de Tolueno que se introdujo en el sistema, siendo el porcentaje de mineralización de TCE más alto el de 15% y obtenido cuando se introdujo al sistema una concentración de Tolueno de 19 g/m³.

Tabla 5.5.5. Valores de CO₂ obtenidos en los experimentos de Tolueno y TCE-Tolueno en 2 fases con surfactante.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m ³]	CO ₂ teórico* (mg)	CO ₂ experimental ^o (mg)	% de mineralización [□] (TCE)
Tol	19	6.03	2.65	
Tol – TCE	19 – 6	6.45	3.54	15
Tol	36	12.06	7.48	
Tol – TCE	36 – 6	12.48	8.03	5
Tol	54	18.10	12.44	
Tol – TCE	54 – 6	18.52	12.78	2
Tol	72	24.13	17.55	
Tol – TCE	72 – 6	24.55	17.82	1

* El cálculo de CO₂ teórico se observa en el Anexo C.

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4.

^o CO₂ experimental = CO₂ medido (fase gaseosa) – CO₂ obtenido de la respiración endógena.

Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

5.5.5 Partición (Control abiótico)

El coeficiente de partición nos sirve para obtener la distribución o reparto de la concentración a través de dos fases cuando están en el equilibrio. Al igual que en los experimentos anteriores se determinó la partición de los hidrocarburos Tolueno, Hexano y TCE en la fase líquida (medio mineral – aceite de silicona – Pluronic F-68) y la fase gaseosa. A continuación se muestra la Figura obtenida.

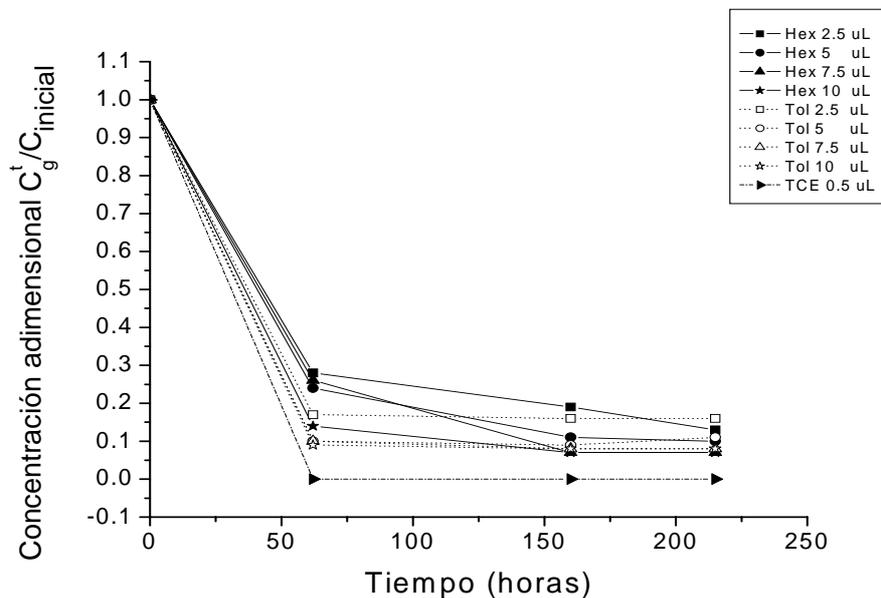


Figura 5.5.3. Caída de concentración de Hexano, Tolueno y TCE obtenidos en la fase gaseosa, en los controles abióticos de 2 fases con surfactante. Control de Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Control de Tolueno a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆). Control de TCE a 0.5 uL (►).

En los experimentos de partición, el hidrocarburo que presentó la mayor solubilidad fue el TCE, quedando en segundo lugar el Hexano y en tercero el Tolueno. La solubilidad que presentó el TCE fue de un 100%, para Hexano fue de 91% y para Tolueno de 89%.

El uso de varias fases permite que algunos compuestos aumenten su sorción en la fase líquida. Comparado los resultados de 2 fases con surfactante con los de 2 fases se puede observar que compuestos de diferentes solubilidades pueden llegar a un punto donde su distribución entre las fases (partición) de éstos sea igual, como se puede observar en la Figura 5.5.3.

A continuación se observan las Figuras 5.5.4 y 5.5.5, obtenidas en los experimentos control. En estas Figuras se puede ver el efecto de la partición cuando se colocan en los sistemas compuestos de forma individual y en mezcla. La Figura 5.5.4 muestra los porcentajes de Hexano y la Figura 5.5.5 los de Tolueno encontrados en la fase gaseosa.

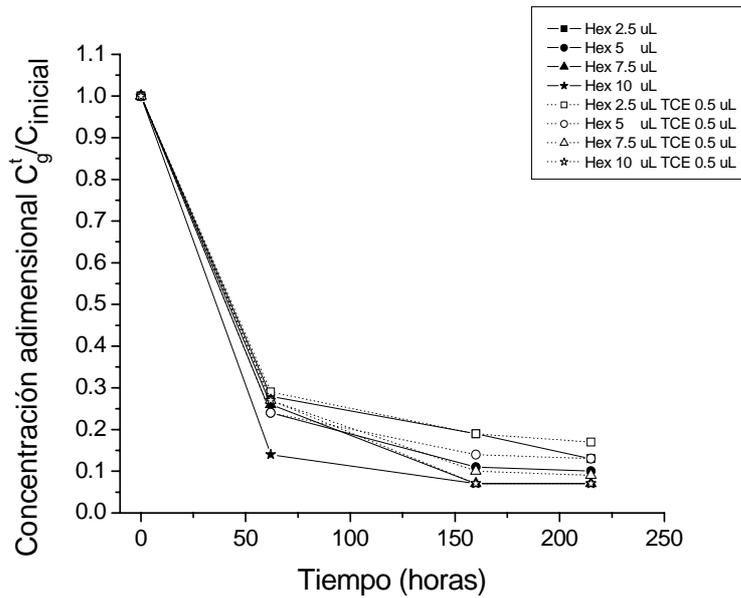


Figura 5.5.4. Caída de concentración de Hexano en la fase gaseosa para controles individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con surfactante. Controles individuales para Hexano a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Controles mezcla de TCE a 0.5 uL con Hexano a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆).

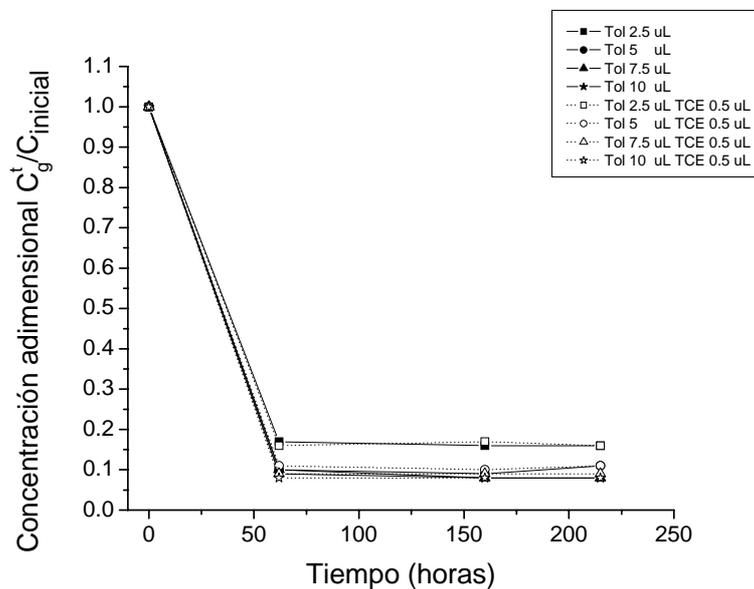


Figura 5.5.5. Caída de concentración de Tolueno en la fase gaseosa para controles individuales y en mezcla con TCE en 2 fases con surfactante. Controles individuales para Tolueno a: 2.5 uL (■), 5 uL (●), 7.5 uL (▲) y 10 uL (★). Controles mezcla de TCE a 0.5 uL con Tolueno a: 2.5 uL (□), 5 uL (○), 7.5 uL (△) y 10 uL (☆).

Para el caso del Tolueno el uso de 2 fases con surfactante no mejoró la partición comparada con la obtenida en los experimentos de 2 fases. En cambio, para el Hexano si se observó una mejora en la partición.

En los experimentos F_{2S} el efecto generado por la presión de los gases dentro del sistema no se presentó, debido a que la sorción que tuvo la fase acuosa con los hidrocarburos fue alta, comparada con los sistemas de 1 y 2 fases; disminuyendo así la presión total generada dentro del sistema. Además, el uso de 2 fases con surfactante aumenta la partición de hidrocarburos hidrofóbicos en fases acuosas, como es el caso del Hexano, haciendo igual su distribución entre las fases que compuestos menos hidrofóbicos como el Tolueno.

5.6 Discusión global del efecto de fase la oleosa y surfactante

5.6.1 Hexano

En el tratamiento de aire, el primer paso para llevar a cabo la biodegradación es la transferencia del contaminante de la fase gaseosa a la fase líquida. En un sistema cerrado, como lo son los microcosmos, la biodegradación del contaminante se lleva a cabo en la fase líquida. La solubilidad que presenten los contaminantes a biodegradar en la fase acuosa es un factor importante en el proceso de biodegradación, ya que, gracias a esta propiedad, la bio-disponibilidad de compuestos hacia los microorganismos se verá afectada y por ende las tasas de eliminación.

Dentro de los principales contaminantes del aire encontramos los COVs, los cuales presentan bajos niveles de biodegradabilidad en biorreactores debido a su poca solubilidad en agua. El Hexano es un hidrocarburo que presenta baja solubilidad en agua (ver Tabla 1.2), con lo cual su tasa de biodegradación esta ligada con la afinidad que presenta con la fase acuosa. Sin embargo el uso de aceite de silicona y surfactantes como Pluronic F-68 mejoran la partición del hexano en la fase líquida (Ver Tabla 5.6.1), lo cual propicia velocidades de consumo más altas.

5.6.1.1 Partición (control abiótico)

El coeficiente de partición entre la fase gaseosa y la líquida, también llamado coeficiente de Henry que presenta el Hexano puede variar conforme se adhieren fases al medio acuoso. El uso de fases, como aceite de silicona, así como Pluronic F-68 para el caso del Hexano, mejoraron la solubilidad de éste, haciéndolo más biodisponible para los microorganismos.

En la Tabla 5.6.1, se muestran los porcentajes de Hexano, Tolueno y TCE medidos en la fase gaseosa para los experimentos de 1 y 2 fases.

Tabla 5.6.1. Porcentajes de hidrocarburos medidos en la fase gaseosa obtenidos en los experimentos de 1 y 2 fases.

Hidrocarburo	Concentración Inicial [g/m³]	F₁ % [□]	F_{1s} % [□]	F₂ % [□]	F_{2s} % [□]
Hexano	14	77	67	25	13
Hexano	28	69	69	20	10
Hexano	41	72	67	27	7
Hexano	55	72	67	24	7
Tolueno	19	31	29	16	16
Tolueno	36	39	26	10	11
Tolueno	54	31	36	10	8
Tolueno	72	36	32	9	8
TCE	6	21	15	0	0

[□] = Porcentaje de la concentración inicial medido en la fase gaseosa al termino de 72 horas.

Los resultados obtenidos muestran una solubilidad promedio de Hexano (a las diferentes concentraciones probadas) para los F₁, F_{1s}, F₂ y F_{2s} de 29%, 32%, 76% y 91% respectivamente. Con base en estos resultados, se observa que el uso de fases como aceite de silicona y surfactantes como Pluronic F-68 mejoran la sorción del hidrocarburo en el medio acuoso, siendo el aceite de silicona el que mejor ayuda a este proceso. Sin embargo, cuando se mezcla las fases de aceite de silicona con el agente tensoactivo Pluronic F-68, la solubilidad del Hexano se mejora aún más que cuando se utiliza solamente aceite de silicona, llegando a obtener una solubilidad del 91% de la concentración inicial introducida en el sistema.

Kastner et al. en 1999 realizaron experimentos en lote y demostraron que el Pluronic F-68 disminuye el coeficiente de partición de hexano e incrementa la solubilidad de éste en el agua; sin embargo, los mecanismos por los cuales el Pluronic F-68 afecta esta reducción no pueden ser explicados con los resultados obtenidos. Es posible que el Pluronic aumente la disolución del hidrocarburo en la fase acuosa por las micelas formadas.

El uso de dos fases con surfactante en estos sistemas mejoró tres veces la sorción del Hexano, en comparación con los experimentos de 1 fase, con lo cual la biodisponibilidad del hidrocarburo aumentó considerablemente, eliminando problemas de transporte de masa de la fase gaseosa a la fase líquida, limitación que tienen los biorreactores convencionales o de 1 fase en el tratamiento de hidrocarburos que presentan baja solubilidad en agua (Sharefdeen y Singh, 2005).

5.6.1.2 Biodegradación de Hexano

Muchos compuestos orgánicos son biodegradables por microorganismos por actividades metabólicas para obtener energía y crecer. Una característica de los hidrocarburos es que son biodegradables aeróbicamente. La tasa de biodegradación aeróbica depende de varios factores, uno de ellos es la estructura química de la molécula (Rittmann, 2001).

En la Tabla 5.6.2 se muestran las velocidades específicas de producción de CO₂ por Hexano obtenidas en los estudios cinéticos de F₁, F_{1S}, F₂ y F_{2S}. En donde se observó que cuando se colocó Pluronic F-68 en el medio acuoso del sistema (fase líquida), se encontraron las velocidades específicas más altas comparadas con los estudios de F₁, F₂ y F_{2S}. Encontrándose la velocidad específica más alta de 120 mg de CO₂ producido / g de proteína * hora a la concentración de 55 g/m³.

Para el caso de Hexano, se obtuvieron velocidades específicas más bajas que el Tolueno (Tabla 5.6.3), debido a que presentan una solubilidad más baja de éste en la fase líquida lo que implica una baja biodisponibilidad del mismo hacia los microorganismos. Sin embargo, hay compuestos como el TCE que aun siendo altamente disponibles, debido a su alta solubilidad, no presentan tasas de degradación considerables, ya que son altamente recalcitrantes o tóxicos. En la siguiente sección se muestran los porcentajes de mineralización obtenidos para TCE.

Tabla 5.6.2. Velocidades específicas de producción de CO₂ obtenidas en los experimentos de 1 y 2 fases para Hexano.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m ³]	F ₁	F _{1S}	F ₂	F _{2S}
		V _{ESP}	V _{ESP}	V _{ESP}	V _{ESP}
Hex	14	20	25	8	9
Hex – TCE	14 – 6	18	15	8	10
Hex	28	37	28	31	29
Hex – TCE	28 – 6	36	61	27	31
Hex	41	94	106	54	56
Hex – TCE	41 – 6	68	88	36	54
Hex	55	95	36	75	91
Hex – TCE	55 – 6	106	120	90	73

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de hidrocarburo consumido/gramo de proteína * hora) (Sección 4.3.2.3).

Hex = Hexano, TCE = Tricloroetileno.

F₁ = Experimentos de 1 fase.

F_{1S} = Experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.

F₂ = Experimentos de 2 fases (aceite de silicona).

F_{2S} = Experimentos de 2 fases con surfactante (medio mineral – Pluronic F-68 – aceite de silicona).

5.6.1.3 Cometabolismo TCE-Hexano

El tratamiento de compuestos orgánicos volátiles es limitado en muchas ocasiones por su baja solubilidad en agua. Sin embargo, existen compuestos como el TCE que siendo solubles en agua, presentan índices de biodegradación muy bajos, este hecho se debe a que es un compuesto muy recalcitrante. El término recalcitrancia molecular fue descrito por Alexander (1965), el cual se define como la resistencia a la biodegradación de compuestos orgánicos. Entre los factores que originan la recalcitrancia encontramos: La estructura de la molécula, los microorganismos, disponibilidad del compuesto, ausencia de nutrientes y toxicidad del medio.

La finalidad de hacer estudios cinéticos con TCE-Hexano fue inducir un cometabolismo que ayude a aumentar la biodegradación de TCE como algunos autores lo han reportado (Leahy et al., 1996; Wackett et al., 1988; Zylstra y Gibson, 1989). En estos

experimentos de TCE- Hexano se utilizaron los controles que se muestran en las Tablas 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6.

Los porcentajes de mineralización obtenidos para TCE en F₁, F_{1S}, F₂ y F_{2S} se muestran en la Tabla 5.6.3, en donde se observó que la mineralización obtenida en los estudios cinéticos de acuerdo a la fase que se utiliza. En los estudios F₁, F_{1S} la mineralización del TCE se presentó cuando se utilizaron concentraciones (iniciales) en el sistema arriba de 41 g/m³. Sin embargo, para los F₂ y F_{2S} no se mostró una tendencia de la mineralización del TCE con base en la concentración inicial colocada en el sistema.

Por lo tanto, se descarta la posibilidad de que el cometabolismo del TCE esté relacionado con la concentración de Hexano que se introduce al sistema. Con base en esto podemos decir que no se encontró una concentración que aumente la degradación cometabólica de TCE.

Tabla 5.6.3. Porcentajes de mineralización de TCE obtenidos en los experimentos de TCE-Hexano en 1 y 2 fases.

Hidrocarburo	Concentración Inicial [g/m³]	F₁ % [□]	F_{1S} % [□]	F₂ % [□]	F_{2S} % [□]
Hex – TCE	14 – 6	0	0	5	14
Hex – TCE	28 – 6	0	0	0	0
Hex – TCE	41 – 6	8	4	0	6
Hex – TCE	55 – 6	10	28	9	0.4

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4. Hex = Hexano, TCE = Tricloroetileno.

F₁ = Experimentos de 1 fase.

F_{1S} = Experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.

F₂ = Experimentos de 2 fases (aceite de silicona).

F_{2S} = Experimentos de 2 fases con surfactante (medio mineral – Pluronic F-68 – aceite de silicona).

Estas cinéticas realizadas con Hexano-TCE mostraron el porcentaje de mineralización más alto en los estudios de 1 fase con Pluronic F-68, obteniéndose un valor de mineralización de 28% cuando se utilizó una concentración de Hexano de 55 g/m³, lo cual indica una inducción hacia un cometabolismo con tricloroetileno por parte

de Hexano. Con base en la revisión bibliográfica realizada hasta el momento no se ha reportado que exista un cometabolismo de TCE con el alcano n-Hexano. Lo que sí se ha reportado son cometabolismos con los alcanos: metano (Lontoh et al., 1999) y propano (Wackett y Householder, 1989).

5.6.2 Tolueno

El tratamiento biológico de COVs (ej, Tolueno) en aire depende de la habilidad de los microorganismos para metabolizar el contaminante y usarlo como fuente de carbono y energía para producir CO₂, vapor de agua y biomasa (Mutafov et al., 2004). De forma general, los contaminantes se sorben de la fase gas a la líquida en la cual los microorganismos atacan y degradan los contaminantes. Una propiedad fisicoquímica que limita esta sorción (partición) en las fases es la solubilidad, que se origina por la estructura química que presentan los compuestos. La biodegradación aeróbica de Tolueno ha sido estudiada extensivamente por una amplia variedad de bacterias (Olsen et al., 1994; Shields et al., 1989)

5.6.2.1 Partición (control abiótico)

En la Tabla 5.6.1 podemos observar que la sorción presentada por el Tolueno en las diferentes fases utilizadas varía dependiendo del tipo de fase que se coloca en el medio acuoso del sistema, obteniéndose valores de 70%, 70%, 89% y 89% para F₁, F_{1S}, F₂ y F_{2S}, respectivamente. Estos valores muestran que la afinidad que presenta el Tolueno con la fase acuosa, cuando se adhiere el agente tensoactivo Pluronic F-68, no tiene un efecto positivo en el proceso de sorción. Sin embargo cuando se utiliza aceite de silicona en el medio acuoso, la solubilidad se incrementa casi un 20%. Para el caso de Tolueno, el uso de aceite de silicona en la fase líquida mejora el transporte de masa (fase gaseosa-líquida) en el sistema, aunque el uso de agente tensoactivo presentó un efecto nulo.

5.6.2.2 Biodegradación de Tolueno

Muchos hidrocarburos afortunadamente son degradables por microorganismos si se les proporciona las condiciones necesarias para crecer. Los hidrocarburos aromáticos pueden ser biodegradados a través de procesos aerobios mediante bacterias y hongos (Kibazohi et

al., 2004; Song y Kinney, 2005; Arriaga y Revah, 2005; Davison y Daugulis, 2003; Van Groenestijn y Lake 1999).

La degradación de hidrocarburos a través de bacterias inicia con la introducción de oxígeno a la molécula por oxigenasas, las cuales requieren de energía en forma de NAD(P)H y oxígeno molecular. Las reacciones de oxigenación introducen uno o dos grupos OH en la estructura del hidrocarburo (Rittmann, 2001).

La velocidad de biodegradación puede ser obtenida a través de la aplicación de modelos matemáticos como el de Gompertz (Acuña et al., 1999), el cual ajusta perfectamente los resultados obtenidos en las cinéticas realizadas. Con base en el modelo de Gompertz se obtienen las velocidades máximas de producción de CO₂, las cuales, al ser divididas por la concentración de biomasa introducida al sistema, se obtienen las velocidades específicas. Las velocidades específicas para Tolueno obtenidas en los experimentos F₁, F_{1S}, F₂ y F_{2S} se observan en la Tabla 5.6.4.

Tabla 5.6.4. Velocidades específicas de producción de CO₂ obtenidas en los experimentos de 1 y 2 fases para Tolueno.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	F₁ V_{ESP}	F_{1S} V_{ESP}	F₂ V_{ESP}	F_{2S} V_{ESP}
Tol	19	32	53	90	70
Tol – TCE	19 – 6	55	34	126	262
Tol	36	79	118	145	146
Tol – TCE	36 – 6	58	155	292	231
Tol	54	165	133	255	174
Tol – TCE	54 – 6	127	214	366	244
Tol	72	189	231	352	281
Tol – TCE	72 – 6	216	155	394	303

V_{ESP} = Velocidad específica (mg de hidrocarburo consumido/gramo de proteína * hora) (Sección 4.3.2.3).

Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

F₁ = Experimentos de 1 fase.

F_{1S} = Experimentos de 1 fase con Pluronic F-68.

F₂ = Experimentos de 2 fases (aceite de silicona).

F_{2S} = Experimentos de 2 fases con surfactante (medio mineral – Pluronic F-68 – aceite de silicona).

De acuerdo a los valores de velocidades específicas reportadas en la Tabla 5.6.4 se observó que el Tolueno presentó los valores más altos obtenidos en los experimentos, comparados con los valores de Hexano. Para el caso del Tolueno, la adición de aceite de silicona en la fase acuosa mejoró las velocidades de consumo, comparadas con los experimentos de F₁, F_{1S} y F_{2S}. Lo anterior, no promovió una mejora en las velocidades específicas de Tolueno de los experimentos F_{2S} comparadas con los de F₂, teniendo un efecto nulo el Pluronic F-68 cuando se mezcla con aceite de silicona. Por otro lado, cuando se agrega el agente tensoactivo al medio acuoso sí se observa una mejora comparado con el medio que contiene solamente medio mineral.

La velocidad específica de producción de CO₂ o consumo de un compuesto, depende de la biodisponibilidad del mismo hacia los microorganismos, de su recalcitrancia o toxicidad y de la producción de enzimas por parte de los microorganismos para romper la estructura química del compuesto (Devinny et al., 1999).

5.6.2.3 Cometabolismo TCE-Tolueno

Los microorganismos obtienen electrones y energía de la transformación de compuestos orgánicos. Sin embargo, no todos los compuestos pueden ser usados como fuente de energía por los microorganismos. Este hecho ocurre porque no todos los microorganismos producen las enzimas necesarias para su completa biodegradación. Algunos compuestos son transformados a través del cometabolismo, el cual se define como una transformación fortuita de compuestos por enzimas o cofactores diseñados para otros propósitos (Rittmann, 2001).

Muchas enzimas son muy específicas en la transformación, pero algunas no y transforman otros compuestos. Un ejemplo de este tipo de enzimas no específicas son las oxigenasas, las cuales inician la oxidación de hidrocarburos como el Tolueno. Las oxigenasas pueden oxidar fortuitamente compuestos como TCE, formando epóxidos, los cuales son químicamente inestables y de más fácil biodegradación (McCarty et al., 1997). En la degradación cometabólica del TCE, el Tolueno es el donador de electrones para los

microorganismos, los cuales, al estar en presencia del Tolueno, producirán las oxigenasas, las cuales proporcionan electrones y energía a los microorganismos así como para su crecimiento y actividad enzimática. Sin la presencia de la fuente de energía (Tolueno) la transformación por cometabolismo no puede ocurrir.

Estos estudios cinéticos de TCE-Tolueno, como se menciona en el párrafo anterior, son para inducir un cometabolismo de TCE. Para la realización de éstos se utilizaron los controles que se muestran en la Tabla 4.3.

En la Tabla 5.6.5 se muestran los porcentajes de mineralización de TCE obtenidos en los experimentos F₁, F_{1S}, F₂ y F_{2S}, en donde se observa, que la mineralización obtenida en los estudios cinéticos, no muestran una tendencia con base en la concentración inicial colocada en el sistema (misma tendencia presentada con Hexano). Con base en esto se puede decir que no se encontró una concentración de Tolueno que ayudara a mejorar la degradación del TCE por cometabolismo.

Tabla 5.6.5. Porcentajes de mineralización de TCE obtenidos en los experimentos de TCE-Tolueno en 1 y 2 fases.

Hidrocarburo	Concentración inicial [g/m³]	F₁ % [□]	F_{1S} % [□]	F₂ % [□]	F_{2S} % [□]
Tol – TCE	19 – 6	0	7	4	15
Tol – TCE	36 – 6	0	2	4	5
Tol – TCE	54 – 6	8	31	9	2
Tol – TCE	72 – 6	9	0	5	1

□ Cálculo obtenido de la Sección 4.3.2.1 Ec. 4.4. Tol = Tolueno, TCE = Tricloroetileno.

F₁ = Experimentos de 1 fase.

F_{1S} = Experimentos de 1 fases con Pluronic F-68.

F₂ = Experimentos de 2 fases (aceite de silicona).

F_{2S} = Experimentos de 2 fases con surfactante (medio mineral – Pluronic F-68 – aceite de silicona).

El porcentaje de mineralizaron de TCE más alto se encontró en los estudios de 1 fase con Pluronic F-68, cuando se utilizó una concentración de Tolueno de 54 g/m³, siendo de 31%, el cual fue el porcentaje de mineralización más alto encontrado en todos

los experimentos realizados. En los estudios de una fase, el porcentaje de mineralización se presentó a concentraciones de Tolueno arriba de 54 g/m^3 ; en cambio, para los experimentos F_{2S} esta tendencia es inversa, presentándose los porcentajes de mineralización de TCE cuando se utilizaron las concentraciones de Tolueno más bajas en el sistema, siendo la concentración de 19 g/m^3 la que obtuvo el porcentaje de mineralización más alto de TCE. Este fenómeno probablemente se deba a un aumento de la concentración de Tolueno en la fase acuosa, lo que favoreció la degradación del TCE. Por otro lado, cuando se agregaron concentraciones mayores a la de 19 g/m^3 este mismo efecto de aumento de Tolueno en la fase acuosa generó una disminución de la actividad microbiana.

VI Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio confirmaron que el uso de fases oleosas y compuestos como surfactantes, presenta ventajas sobre los sistemas que no utilizan fases en el tratamiento de COVs, como Tolueno y Hexano. En este trabajo se observó la biodegradación que presentan los hidrocarburos Hexano, Tolueno y TCE cuando se adhieren fases, como aceite de silicona, el surfactante Pluronic F-68 y mezclas de ambas, en el consumo de estos contaminantes. Esta adición de fase oleosa y surfactante se debe a que algunos COVs presentan poca solubilidad en agua, lo que disminuye la biodegradación de estos, debido a que presentan una baja biodisponibilidad hacia los microorganismos que se encuentran en la fase acuosa.

A pesar de que se utilizaron concentraciones iniciales más altas a las reportadas en la literatura, estas no provocaron un efecto inhibitorio o tóxico hacia los microorganismos, debido a que las fases oleosas sirven como reservorio de los contaminantes, lo cual disminuye el contacto del hidrocarburo con el consorcio bacteriano.

El uso de aceite de silicona como segunda fase en un sistema bifásico aumenta la biodegradación y biodisponibilidad de hidrocarburos en biorreactores, así como las velocidades de consumo de hidrocarburo y las velocidades de producción de CO₂. Surfactantes como Pluronic F-68 por si solo no podría aumentar la degradación de los hidrocarburos, pero si la biodisponibilidad y el reparto de la fase gaseosa a la fase líquida.

El uso conjunto de fases como aceite de silicona y surfactantes como Pluronic F-68 aumentan los valores de mineralización, esto se debe a que fases oleosas como aceite de silicona mejoran el transporte de oxígeno de la fase gaseosa a la fase líquida, el cual al estar más biodisponibles para los microorganismos aumentan la reacción biológica y por ende la oxidación completa de los contaminantes.

La biodegradación y biodisponibilidad (factor limitante en los procesos de tratamiento biológico de COVs) de hidrocarburos en biorreactores se ve afectada por factores como la presión total en el sistema, así como la estructura química de los hidrocarburos. Estos factores afectan directamente la partición de la fase gaseosa a la fase líquida. Con el uso de 2 fases y surfactantes (aceite de silicona - medio mineral - surfactante) se elimina el problema de biodisponibilidad, debido a un aumento de la sorción de los compuestos (hidrofóbicos e hidrofílicos) en la fase acuosa.

La degradación cometabólica de TCE con hexano y tolueno se presentó a porcentajes muy bajos, esto probablemente se deba al acumulamiento de subproductos metabólicos en la fase acuosa, así como a la falta de enzimas que se encargarán de su degradación. Una alternativa a este problema sería el uso de cepas o microorganismos modificados genéticamente.

Se comprobó que la eficiencia de un sistema bifásico es más adecuado que un sistema de una fase para la biodegradación de hidrocarburos con distintas propiedades. Esto se debió a que se incrementó la transferencia de masa, gracias a la suma de las capacidades de degradación de los microorganismos y al uso de sistemas bifásicos. Además se confirmó el aumento de la biodisponibilidad que genera el uso de fases como aceite de silicona y Pluronic F-68.

Si bien en esta tesis se comprobó que la adición de fases oleosas y surfactantes mejoran la velocidad de producción de CO₂ (medida de consumo del hidrocarburo); es necesario establecer herramientas analíticas que nos permitan cuantificar al cabo del tiempo la concentración del hidrocarburo en la fase acuosa, para saber si este fue biodegradado completamente y no una sorción en la fase oleosa. Lo anterior confirma un poco esta sospecha porque los % de mineralización o velocidades de producción de CO₂ aunque son o fueron útiles para interpretar los datos, tuvieron valores bajos, respecto a los reportados; pero sería bueno cerrar los balances de masa y reportar velocidades de consumo de hidrocarburo reales en sistemas bifásicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abumaizar, R.J., Smith E. H. & Kocher W. Analytical model of dual-media biofilter for removal of organic air pollutants. *J. Environ. Eng.* 123: 606–614. 1997.
2. Acuña, M. E., Perez, F., Auria, R.; Revah, S. Microbiological and Kinetic Aspects of a Biofilter for the Removal of Toluene from Waste Gases. *Biotechnol. Bioeng.* 63(2): 175-184, 1999.
3. Aizpuru A., Dunat B., Christen P., Auria R., Garcia I., Revah S. Fungal biofiltration of toluene on ceramic rings. *J. Environ. Engineering.* March. 2005.
4. Alexander, M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Env. Sci. Technol.* 34: 4259-4265. 1999.
5. Alexander, M. Biodegradation: Problems of Molecular Recalcitrance and Microbial Fallibility. In *Advances in Applied Microbiology*. New York: Academic Press, pp. 35-80. 1965
6. Andreae, M. O., & Crutzen, P. J. Atmospheric aerosols: biogeochemical sources and role in atmospheric chemistry. *Science.* 276, 1052-1058. 1997
7. Arp, J. D., Chris, M. Y. & Michael, R.H. Molecular and cellular fundamentals of aerobic cometabolism of trichloroethylene. *Biodegradation.* 12: 81-103. 2001.
8. Arriaga Sonia. Tesis de doctorado. Comparación del transporte y biodegradación de hexano entre bacterias y hongos con diferentes configuraciones de reactores. UAM-Iztapalapa. 2005.

9. Arriaga, S. Muñoz R., Revah, S. Enhanced in a two phase partitioning bioreactor: Overcoming pollutant transport limitations. *Process Biochemistry*. 41 : 1614-1619. 2006.
10. Arriaga, S., Raúl M., Sergio, H., Benoit G. & Sergio R. Gaseous hexane biodegradation by *Fusarium solana* in two liquid phase packed-bed and stirred-tank bioreactors. *Environ. Sci. Technol.* 40: 2390-2395. 2006.
11. Arriaga S., Revah S. Improving hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter. *Biotechnol Bioeng*; 90:107–15. 2005.
12. Auria R., Morales M., Villegas E., Revah S. Influence of mold growth on the pressure drop in aerated solid state fermenters. *Biotechnol. Bioeng.* 41: 1007-1013. 1993.
13. Bolden P. L., Hoskins J. C., King A. D. Jr. The solubility of gases in solutions containing sodium alkylsulfonates of various chain lengths. *J. Colloid Interface Sci.* 91: 454-463. 1983.
14. Brookman G. T., Flanagan M., Kebe J. O. *Laboratory study on solubilities of petroleum hydrocarbons in groundwater*; Publication No. 4395; American Petroleum Institute: Washington DC, 1985.
15. Bruce L. J., Daugulis A. J. Solvent selection strategies for extractive biocatalysis. *Biotechnol Prog.* 7: 116 – 24. 1991.
16. Bury S. J., Miller C. A. Effect of micellar solubilization on biodegradation rates of hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.* 27: 104-110. 1993.

17. Card, T. R. Fundamentals Chemistry and characteristic of odors and VOC's. In Rafson H., editor. Odor and VOC Control Handbook, McGraw-Hill. 1998.
18. Christen P., Domenech F., Michelena G., Auria R., Revah S. Biofiltration of volatile ethanol using sugar cane bagasse inoculated with *Candida utilis*. J. Hazard. Mater. 89: 253–265. 2002.
19. Clements, W. H., Oris J. T. & Wissing T. E. Accumulation and food chain transfer of fluoranthene and benzo(a)pyrene in *Chironomus riparius* and *Lepomis macrochirus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 26: 261-266. 1994.
20. Cline P. V., Delfino J. J., Rao P. S. C. Partitioning of Aromatic Constituents into Water from Gasoline and Other Complex Solvent. *Environ. Sci. Technol.* 25: 914-920. 1991.
21. Coleman W. E., Munch J. W., Streicher R. P., Ringhand H. P., Kopfler F. C. The Identification and Measurement of Components in Gasoline, Kerosene, and No. 2 Fuel Oil that Partition Into the Aqueous Phase After Mixing. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 13: 171-178. 1984.
22. Collin, T. D. & Daugulis, A. J. Addressing biofilter limitations: A two-phase partitioning bioreactor process for the treatment of benzene and toluene contaminated gas streams. *Biodegradation.* 14: 415-421. 2003.
23. Collins, L. D. & Daugulis, A. J. BTX degradation part I: solvent selection and toluene degradation in a two-phase partitioning bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 354-359. 1999.
24. Collins, L. D. & Daugulis, A. J. Characterization and optimization of two-phase partitioning bioreactor for the biodegradation of phenol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 18-22. 1997.

25. Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act (CERCLA) 2005. <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html#top>.
26. Cox D. P. The biodegradation of polyethylene glycols. *Adv. Appl. Microbiol.* 23: 173-194. 1978.
27. Daugulis A. J., Boudreau N. G. Removal and destruction of high concentrations of gaseous toluene in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylosoxidans*. *Biotechnol Lett*;25: 1421–4. 2003.
28. Daugulis A. J. Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends in Biotechnology*. Vol. 19 No. 11 November 2001.
29. Davison C. T., Daugulis A. J. Addressing biofilter limitations: a two-phase partitioning bioreactor process for the treatment of benzene and toluene contaminated gas streams. *Biodegradation*. 14: 415–21. 2003.
30. Davison C. T., Daugulis A. J. The treatment of gaseous benzene by two-phase partitioning bioreactors: a high performance alternative to the use of biofilters. *Appl Microbiol Biotechnol*. 62: 297–301. 2003.
31. De Nevers. *Ingeniería de Control de la Contaminación del aire*. Edit. McGraw Hill. PP: 5, 299, 310.1998.
32. Deziel E., Comeau Y., Villemur R. Two-liquid phase bioreactors for enhanced degradation of hydrophobic/toxic compounds. *Nombre Revista*, 219-233.1999.
33. Devinsky, J. S., Deshusses, M. A., Webster, T. S. *Biofiltration for Air Pollution Control*. CRC Lewis Publishers. E.U.A.. 1999.

34. Devanny J., Hodge D. Formation of acidic and toxic intermediates in overloaded ethanol biofilters. *J AirWaste Manage. Assoc.* 45:125–131.1995.
35. Djeribi R., Dezcenclos T., Pauss A., Lebeault J. M. Removal of styrene from waste gas using a biological trickling filter. *Eng Life Sci*;5: 450–7. 2005.
36. Environmental Protection Agency (EPA, 2006)
<http://www.epa.gov/safewater/mcl.html>.
37. Fessenden R. J., Fessenden J. S., Química Orgánica, Ed., Iberoamerica. Ed segunda.1985, pp. 1076.
38. Fox B. G., Borneman J. G., Wackett L. P. & Lipscomb J. D. Haloalkene oxidation by soluble methane monooxygenase from *Methylosinus trichosporium* Ob3b: mechanistic and environmental implications. *Biochemistry* 29: 6419-6427. 1990.
39. Fox M. A., White J. K. Química Orgánica. Ed. Jones & Barlett publishing ed. Segunda. 2000 ; pp 1232.
40. García-Peña E.I, Hernández S, Favela-Torres E, Auria R, Revah S. Toluene biofiltration by the fungus *Scedosporium apiospermum* TB1. *Biotechnol Bioeng* 76: 61-69. 2001.
41. Graedel, T. E. “Chemical Compounds in the Atmosphere,” Academic Press: New York. 1979.
42. Guieysse B, et al. Biological treatment of indoor air for VOC removal: Potential and challenges. *Biotechnol Adv.* 2008.

43. Heald S. & Jenkins R. O. Trichloroethylene removal and oxidation toxicity mediated by toluene dioxygenase of *Pseudomonas putida*. Appl. Environ. Microbiol. 60: 4634-4637. 1994.
44. Heron G., Christensen T. H., Enfield C. G. Henry's law constant between 10 and 95 °C. Environ. Sci. Technol. 32. 1433-1437. 1998.
45. Heslinga D. C. Biofiltration technology. VDI Berichte 1104:13–18. 1994.
46. Hewitt, C., Nicholas. Reactive Hydrocarbons in the Atmosphere, Ed., Academic Press. London, UK. 1999, pp.322.
47. Instituto Nacional de Ecología (INE). 2007. Inventario Nacional de Emisiones de México, 2004. <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/index.html>
48. Kanaly, R. A. & Harayama S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. J. Bacteriol. 182: 2059-2067. 2000.
49. Kastner J. R., Thompson D. N., Cherry R. S. Water-soluble polymer for increasing the biodegradation of sparingly soluble vapor. Enzyme and Microbial Technology 24: 104-110. 1999.
50. Kawai F. The biochemistry of degradation of polyethers. CRC Crit. Rev. Biotechnol. 6: 273-307. 1987.
51. Kennes C., Veiga M. C. Bioreactors for waste gas treatment. Kluwer Academic Publishers The Netherlands. Pp. 47-98, 215-254. 2001.
52. Kibazohi O, Yun S, Anderson WA. Removal of hexane in biofilters packed with perlite and a peat-perlite mixture. World J Microb Biotechnol; 20:337–43. 2004.

53. Kirchner K., Wagner S., Rehm H. J. Removal of organic air pollutants from exhaust gases in trickle bed reactors effect of oxygen. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45: 415–419. 1996.
54. Leahy J. G., Byrne A.M., Olsen R.H. Comparison of factors influencing trichloroethylene degradation by toluene-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 825-833. 1996.
55. Lee E. H., Cho K. S. Characterization of cyclohexane and hexane degradation by *Rhodococcus* sp. EC1. *Chemosphere.* 71. 1738-1744. 2008.
56. Leng, R. A. Improving ruminant production and reducing methane emission from ruminants by strategic supplementation. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Air and Radiation, EPA/400/1-91/004. 1991.
57. Leung R. D., Poncelet & Ronald J. Neufeld. Enhancement of oxygen transfer rate using microencapsulated silicone oils as oxygen carriers. *J. Chem, Tech. Biotechnol.* 68: 37-46. 1997.
58. Lontoh S., DiSpirito A. A. & Semrau J. D. Dichloromethane and trichloroethylene inhibition of methane oxidation by the membrane-associated methane monooxygenase of *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Arch. Microbiol.* 171: 301-308. 1999.
59. Lowry, O. H., Rosebrough, W. J., Farr, A. L., Randall, R. J. Protein determination with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
60. Lugones L. G., Wosten H. A., Wessels J. G. A hydrophobin (ABH3) specifically secreted by vegetatively growing hyphae of *Agaricus bisporus*. *Microbiology.* 144: 2345-2353. 1998.

61. McCarty P. L. Aerobic Cometabolism of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons. In C. H. Ward, J. A. Cherry, and M. R. Scalf Ed., *Subsurface Restoration*. Chelsea, MI: Ann Arbor Press, pp. 373-395. 1997.
62. MacLeod C. T., Daugulis A. J. Interfacial Effects in a two-phase partitioning bioreactor: degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a hydrophobic Mycobacterium. *Process Biochemistry*. 40 : 1799-1805. 2005.
63. Muñoz R., Arriaga S., Hernandez S., Guieysse B., Revah S. Enhanced hexane biodegradation in a two phase partitioning bioreactor: overcoming pollutant transport limitations. *Process Biochem*;41:1614–9. 2006.
64. Muñoz, R., Santiago V., Beniot G. & Sergio R. Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds. *Biotechnology Advances* 25: 410-422. 2007.
65. Mutafov S., Angelova B., Schmauder H. P., Avramova T., Boyadjieva L. Stoichiometry of microbial continuous-flow purification of toluene contaminated air. *Appl Microbiol Biotechnol*. 65:22–234. 2004.
66. Neal A. B., Loehr R. C. Use of biofilters and suspended growth reactors to treat VOCs—the role of humidity and microbial heat generation. *Waste Manag*; 20:59–68. 2000.
67. Nielsen D. R., Daugulis A. J., McLellan P. J. Transient performance of a two-phase partitioning bioscrubber treating a benzene-contaminated gas stream. *Environ Sci Technol*; 39:8871–977. 2005.
68. Nielsen D. R., Kyla N. S., McLellan P. J., Daugulis A. J. Benzene vapor treatment using a two-phase partitioning bioscrubber: an improved steady-state protocol to enhance long-term operation. *Bioprocess Biosyst Eng*. 29:229–240. 2006.

69. Olsen R. H., Kukor J. J., Kahammer B. A novel toluene-3-monooxygenase pathway cloned from *Pseudomonas pickettii* PK01. *J. Bacteriol.* 176: 3749–3756. 1994.
70. Rittmann, B. E. *Environmental Biotechnology “Principles and Applications”*. Ed. Mc Graw-Hill. E.U.A. 2001.
71. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2005. *Informe de la situación del Medio Ambiente en México 2005*.
72. Sharefdeen Z, Singh A. *Biotechnology for odor and air pollution control*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp. 409. 2005
73. Shields M. S., Montgomery S. O., Chapman P. J., Cuskey S. M., Pritchard P. H. Novel pathway of toluene catabolism in the trichloroethylene degrading bacterium G4. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1624–1629. 1989.
74. Song J., Kinney K. A. Microbial response and elimination capacity in biofilters subjected to high toluene loadings. *Appl Microbiol Biotechnol*; 68:554–9. 2005.
75. Spigno G., Pagella C., Fumi M. D., Molteni R., de Faveri D. M. VOCs removal from waste gases: gas-phase bioreactor for the abatement of hexane by *Aspergillus niger*. *Chem Eng Sci*;58:739–46. 2003.
76. Thalasso, F., Pineda-Olmedo, R. Biofiltración: Tratamiento Biológico de Aire Contaminado. XXX Aniversario de Biotecnología. Avance y Perspectiva vol.21.2002.
77. Tiehm, A. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of synthetic surfactants. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 258-263. 1994.

78. Valsaraj K. T., Gordon A., Cain M. Elements of environmental engineering. Thermodynamics and kinetics. Ed. Lewis Publishers. E.U.A. 2000.
79. Van Hamme J. D., Singh A., Ward O. P. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiol Mol. Biol. Rev.* 7: 503–549. 2003.
80. Van Groenestijn J. W., Lake M. E. Elimination of alkanes from off-gases using biotrickling filters containing two liquid phases. *Environ Prog*; 18:151–5. 1999.
81. ctVergara F., Van H., Revah S. Phase partition of gaseous hexane and surface hydrophobicity of *Fusarium solani* when grown in liquid and solid media with hexanol and hexane. *Biotechnol Lett.* 28: 2011-2017. 2006.
82. Vitousek, P. M., H. A. Mooney, J. Lubchenco, & J. M. Melillo. Human domination of Earth's ecosystems. *Science* 277:494-499. 1997.
83. Viñas M. C., Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Barcelona, 2005.
84. Wackett, L. P. & Householder S. R. Toxicity of trichloroethylene to *Pseudomonas putida* F1 is mediated by toluene dioxygenase. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2723-2725. 1989.
85. Wackett, L. P., Kwart L. D. & Gibson D. T. Benzylic monooxygenation catalyzed by toluene dioxygenase from *Pseudomonas putida*. *Biochemistry* 27: 1360-1367. 1988
86. Warneck, P. Chemical changes of the atmosphere on geological and recent time scales. In "Global Atmospheric Chemical Change". Elsevier Applied Science: London. pp. 1-52. 1993.

87. Yeom, S. H. & Daugulis, A. J. Benzene degradation in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylooxidans* Y234. *Proc. Biochem.* 36: 765-772. 2001.
88. Yeom S.H., Daugulis A.J. Development of a novel bioreactor for treatment of gaseous benzene. *Biotechnol Bioeng* 72(2):156–165. 2000.
89. Zylstra, G. J. & Gibson D. T. Toluene degradation by *Pseudomonas putidas* F1: nucleotide sequence of the *todC1C2BADE* genes and their expression in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 264: 14940 – 14946. 1989.

Anexo A. Curvas de Calibración en fase gaseosa

Para determinar la cantidad de TCE, Hexano, Tolueno y bióxido de carbono (CO₂) se realizaron curvas de calibración. En botellas serológicas de 120 mL se inyectaron volúmenes de 0.5, 1, 2, 3, 4 μL para la cuantificación del tricloroetileno, mientras que para los solventes restantes se inyectaron volúmenes de 2, 4, 6, 8, 10 μL. En el caso del CO₂ se utilizaron volúmenes de 2, 5, 10, 15 y 20 mL. Una vez inyectados los volúmenes de los compuestos a medir en las botellas serológicas, estas se colocaron en una incubadora a una temperatura de 30°C durante un tiempo de 15 min. Posteriormente se tomaron muestras de 100 μL del espacio vacío de las botellas serológicas y se inyecta en el cromatógrafo de gases. Una vez realizado esto se graficó la concentración de solvente inyectado a las botellas serológicas y los datos del área bajo la curva obtenidos del cromatógrafo para ajustarlos a una línea recta.

Anexo A.1 Curva de calibración de TCE

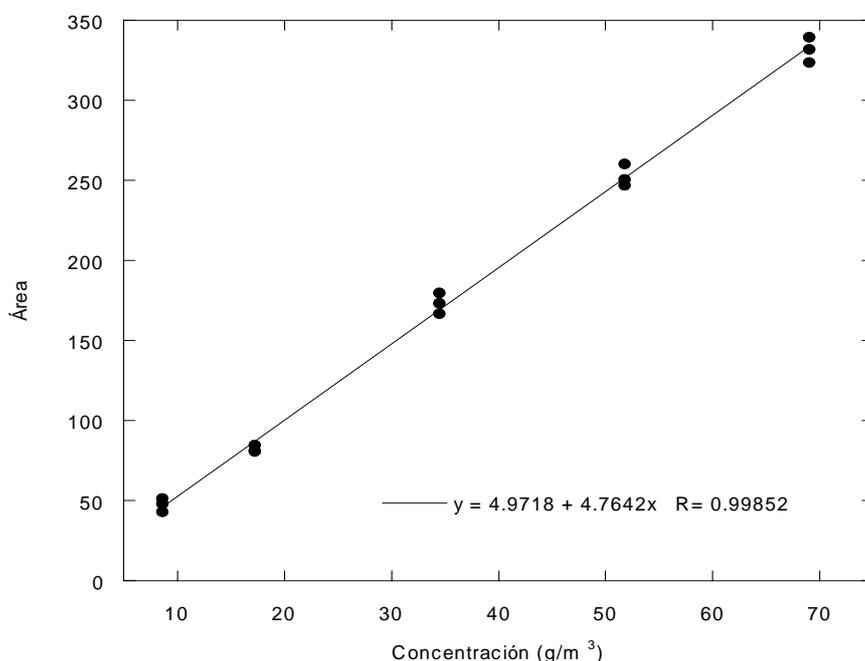


Figura A.1 Curva de calibración de TCE

Anexo A.2 Curva de calibración de Hexano

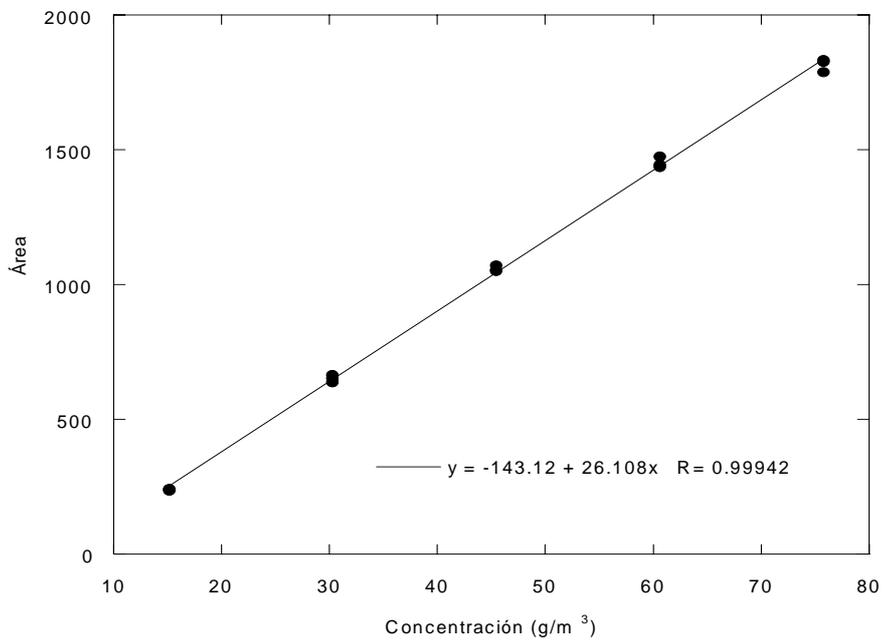


Figura A.2 Curva de calibración de Hexano

Anexo A.3 Curva de calibración de Tolueno

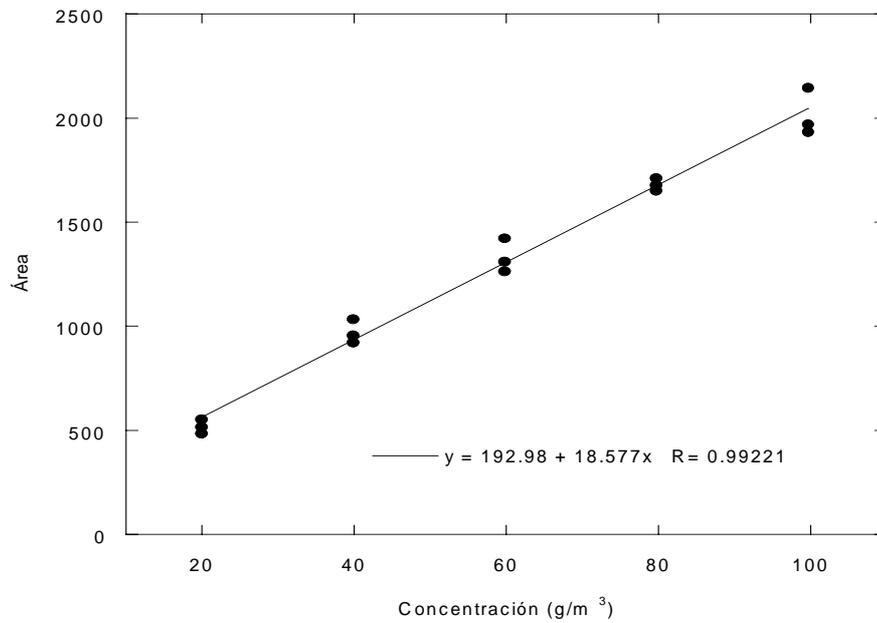


Figura A.3 Curva de calibración de Tolueno

Anexo A.4 Curva de calibración de CO₂

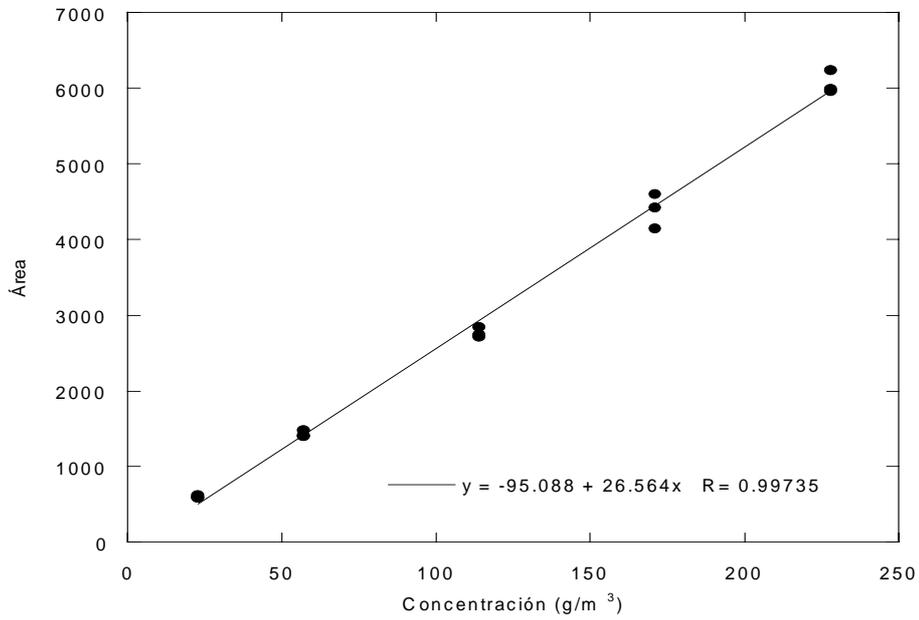


Figura A.4 Curva de calibración de CO₂

Anexo A.5 Curva de calibración de proteína

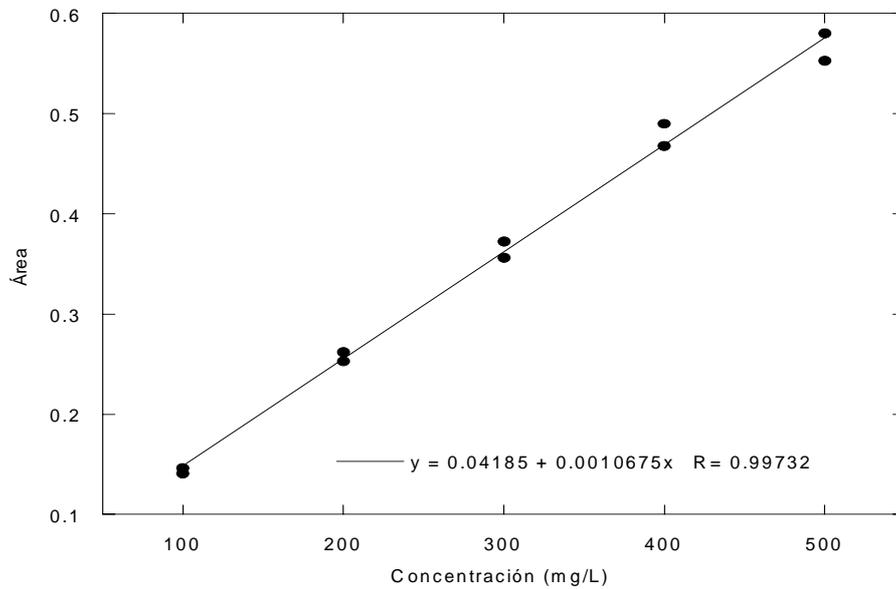


Figura A.5 Curva de calibración de proteína

Anexo B. Gráfica de toxicidad y biodegradabilidad

Anexo B.1 Gráfica de toxicidad y biodegradabilidad para aceite de silicona y Pluronic-F68 a 2.5% (w/v)

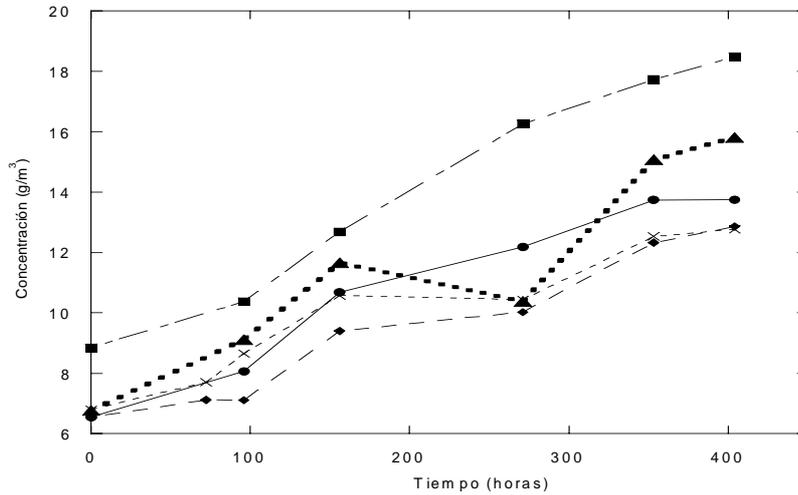


Figura B.1. Pruebas de biodegradabilidad (b) y toxicidad (t) para: Aceite de silicona (●)^b; Aceite de silicona (■)^t; Pluronic-F68 a 2.5% (◆)^b; Pluronic-F68 a 2.5% (x)^t; control (▲).

Anexo B.2 Gráfica de toxicidad. y biodegradabilidad para aceite de silicona y pluronic-F68 a 0.10 y 0.01% (w/v)

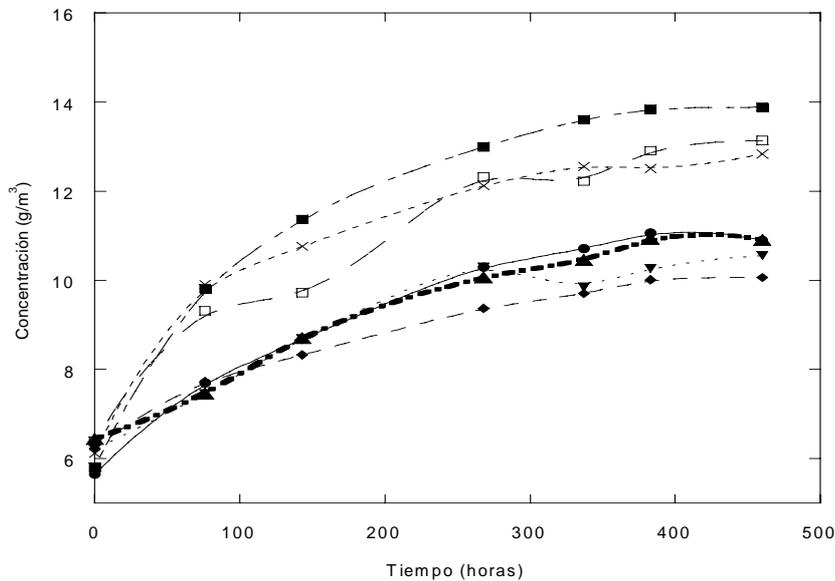


Figura B.2. Pruebas de biodegradabilidad (b) y toxicidad (t) para: Aceite de silicona (●)^b; Aceite de silicona (■)^t; Pluronic-F68 a 0.10% (◆)^b; Pluronic-F68 a 0.10% (x)^t; Pluronic-F68 a 0.01% (▼)^b; Pluronic-F68 a 0.01% (□)^t; control (▲).

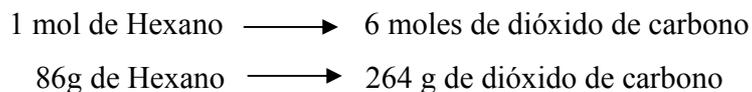
Anexo C. Cálculo del Dióxido de Carbono teórico y Porcentaje de mineralización.

El CO₂ teórico se obtiene a través de un cálculo estequiométrico, mediante un balance de carbono. Esto se representa en una ecuación de oxidación completa de un compuesto. Una vez balanceada la ecuación de oxidación, se procede a calcular los gramos de CO₂ que se producen por tantos gramos de solvente. Con base en esta relación se obtiene el CO₂ teórico. Por ejemplo, para calcular cuantos gramos de CO₂ se producen por cierta masa de Hexano se realiza lo siguiente:

1.- Se obtiene la ecuación de oxidación de Hexano y se balancea



2.- Se estima cuanto se genera



3.- Con base en este cálculo se estima cuantos gramos de CO₂ se produce por gramo de solvente en este caso Hexano. Una vez determinado el cálculo anterior se procede a realizar una regla de tres tomando en cuenta la masa inicial de Hexano inyectada al sistema y así determinar el CO₂ teórico.

Para determinar el porcentaje de mineralización de TCE, se toman en cuenta las reacciones de oxidación del TCE y del co-sustrato. Posteriormente se cuantifica el CO₂ teórico que deberían de producir ambos compuestos (suma de CO₂ teóricos). Una vez determinado el CO₂ teórico y experimental se aplica la ecuación 4.4 y se obtiene el porcentaje de mineralización.

Por ejemplo, para determinar el porcentaje de mineralización de TCE obtenido en los experimentos de 1 fase, usando como concentración inicial de Hexano 55 g/m^3 y de TCE 6 g/m^3 se realizó lo siguiente:

1.- Se determinó la cantidad de CO_2 generada en el experimento antes mencionado, así como en su control, el cual contenía lo mismo pero sin la concentración inicial de TCE.

0.010033 g CO_2 Hexano 55 g/m^3 y TCE
 0.008382 g CO_2 Hexano 55 g/m^3

2.- Se procede a obtener los g de CO_2 generados por degradación de TCE mediante la resta de valores antes mencionados obteniendo un valor de:

$0.001650825 \text{ g CO}_2$

3.- Una vez obtenidos los g de CO_2 generados por la degradación del TCE se produce a hacer una regla de 3 para poder determinar el % de mineralización de TCE, tomando como 100% de mineralización el CO_2 que se genera de las reacciones de oxidación completa del Hexano y del TCE, obteniéndose un valor $0.016859 \text{ g de CO}_2$.

$$\begin{array}{r} 0.016859 \text{ g de CO}_2 \quad 100\% \text{ de mineralización} \\ 0.001650825 \text{ g de CO}_2 \quad \quad \quad X \\ \hline \end{array}$$

$X = 9.79\%$ de mineralización de TCE