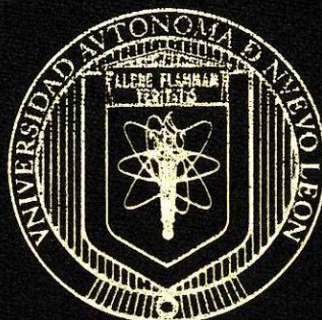


# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



"Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de BTE-oX y EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a Diesel, en matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia de un surfactante no iónico"

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:  
MARCO ANTONIO DE LA TORRE TORRES

Monterrey, N. L.

Julio 2005

2005

2005

TL  
TD427  
.P4  
T677  
2005  
c.1



1080170736

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**“Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de BTE-oX y EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a Diesel, en matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia de un surfactante no iónico”**

**TESIS**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL**

**PRESENTA:**  
**MARCO ANTONIO DE LA TORRE TORRES**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**“Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de BTE-oX y EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a Diesel, en matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia de un surfactante no iónico”**

**TESIS PROFESIONAL**

Elaborada por:

**MARCO ANTONIO DE LA TORRE TORRES**

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

**LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL**

**Comisión Revisora:**



**Dr. Sc. Karim Acuña Askar**

Presidente


Director de Tesis



**Dra. María Teresa Garza González**

Asesor Interno

Secretaria



**M.C. Alejandro García García**

Vocal

Revisor de Tesis

**MONTERREY, N.L.**

**JULIO DE 2005**

# **“Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de BTE-oX y EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a Diesel, en matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia de un surfactante no iónico”**

## **RESUMEN**

El presente trabajo de investigación se realizó de agosto a diciembre del 2004, en el cual se llevaron a cabo bioensayos cinéticos de biodegradación de compuestos derivados del petróleo, como lo son los BTEoX el EMTB, todo esto se llevó a cabo en la presencia de 885 mg/L de masa celular volátil de un consorcio microbiano mixto aclimatado a 200 mg/L de Diesel.

Se evaluó el efecto de la presencia de 5 gramos de suelo estéril, solo y en presencia de Tergitol NP-10 en la biodegradación de los BTEoX y del EMTB en un tiempo de 54 horas totales con intervalos de muestreo de 6 horas cada uno, a una concentración inicial de 50 mg/L de cada BTEoX y EMTB.

Todos los BTEoX mostraron un comportamiento de primer orden de doble compartimiento, en las cinéticas de remoción e igualmente en las cinéticas de la eficiencia de la biomasa a excepción del o-xileno en las muestras que contenía solamente suelo. El EMTB mostró un comportamiento cinético de orden cero en todas las muestras.

La presencia de suelo en las muestras produjo una disminución en las constantes cinéticas de velocidad para todos los BTEoX y del EMTB.

La adición del Tergitol NP-10 al sistema, produjo un efecto positivo en la biodegradación de los BTEoX y el EMTB, ya que al contrario de las muestras con suelo, en estas se produjo un aumento en la biodisponibilidad de los sustratos.

Los porcentajes de biodegradación de cada uno de los compuestos fueron los siguientes: 64.8-78.2% para el benceno, 95.6-98.9 para el tolueno, 95.6-97.6 para el etilbenceno, 18.7-40.8% para el  $\alpha$ -xileno y 7.2-10.3% para el EMTB.

El orden en la velocidad de biodegradación fue el siguiente:

Benceno > Tolueno > Etilbenceno >  $\alpha$ -Xileno > EMTB

A Dios:

Por permitirme estar aquí...



A mis padres

SR. ARTURO DE LA TORRE CORREA  
SRA. SILVIA ERNESTINA TORRES RAMIREZ

Por su amor incondicional y su eterna  
comprensión...

A mis hermanos:

ISRAEL DE LA TORRE TORRES  
ALEJANDRO DE LA TORRE TORRES

Por su apoyo...

Esperando que este pequeño logro sea una  
inspiración para lograr cada una de sus  
metas...

A mis abuelos:

SR. LUIS TORRES REYNA  
SRA. JOSEFA RAMIREZ DE TORRES

Y

SR. DAMIAN DE LA TORRE  
SRA. FRANCISCA CORREA

Por su cariño, comprensión y apoyo  
incondicional en cada etapa de mi vida...

A mi Asesor:

Dr. Sc. Karim Acuña Askar

Por sus consejos y enseñanzas, los cuales  
llevere conmigo siempre...

A mis maestros:

Por todas sus enseñanzas, por su tiempo y  
paciencia...

A mis amigos:

Por su apoyo y confianza...

## AGRADECIMIENTOS

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

Agradezco a la Unidad de Laboratorios de Ingeniería y Expresión Genética y al Dr. Hugo Alberto Barrera Saldaña, las facilidades brindadas para que se desarrollara el presente trabajo.

A la Dra. María Teresa Garza González por su guía profesional y orientación para realizar este estudio.

## INDICE

I.	Introducción	
	1. Introducción	1
	2. Agua	2
	3. Suelo	4
	4. Contaminación	5
	5. Diesel	9
	6. Benceno	13
	7. Tolueno	16
	8. Etilbenceno	19
	9. Xilenos	21
	10. EMTB	25
	11. Normatividad	28
	12. Biorremediación	31
	13. Degradación de compuestos aromáticos	36
	14. Degradación del EMTB	38
II.	Hipótesis y Objetivos	
	1. Hipótesis	40
	2. Objetivo general	40
	3. Objetivos particulares	40
III.	Materiales y Métodos	
	1. Materiales	
	1.1. Equipo de análisis ambiental	41
	2. Métodos	
	2.1. Aclimatación del inóculo con enriquecimiento a Diesel	45

2.2.	Mantenimiento de reactores	46
2.3.	Condiciones del concentrador de muestra purga y trampa	47
2.4.	Condiciones del cromatógrafo de gases	48
2.5.	Curvas de calibración	49
2.6.	Preparación de los bioensayos cinéticos	51
2.7.	Montaje de las cinéticas	55
2.8.	Tratamiento de muestras	58
2.9.	Sólidos suspendidos volátiles	60
2.10.	Obtención de los coeficientes adimensionales de Henry	62
2.11.	Tratamiento de datos de las cinéticas	63
2.12.	Obtención del efecto de la biodegradación de BTEoX y EMTB por la biomasa	64
2.13.	Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa y el suelo	64
2.14.	Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa, suelo y Tergitol NP-10	65
2.15.	Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo en la biodegradación de los sustratos	66
2.16.	Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo y Tergitol NP-10 en la biodegradación de los sustratos	66
2.17.	Partición de BTEoX y EMTB Agua:Suelo	67
2.18.	Partición de BTEoX y EMTB Agua:Suelo en presencia de Tergitol NP-10	68
2.19.	Efecto del Tergitol NP-10 en la biodisponibilidad de los sustratos	68
2.20.	Calculo de las constantes cinéticas globales para orden de reacción uno de doble compartimiento	69
2.21.	Cálculo de las constantes cinéticas globales para orden de reacción cero	70
2.22.	Cálculo de las constantes cinéticas específicas	70

IV.	Resultados y Discusiones	
	1. Curva de calibración	71
	2. Efectos de partición	81
	3. Constantes cinéticas globales de velocidad	89
	4. Sólidos suspendidos volátiles	138
	5. Constantes cinéticas específicas de velocidad	139
	6. Coeficientes adimensionales de Henry	141
V.	Conclusiones	151
VI.	Referencias	153
VII.	Anexos	158

## INDICE DE TABLAS

<u>TABLA No.</u>	<u>PAGINA</u>
1. Efectos de los BTEX y EMTB en seres humanos y animales	7
2. Propiedades físicas y químicas del Diesel	11
3. Componentes del Diesel	12
4. Hidrocarburos que deberán analizarse en función del producto contaminante	28
5. Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelos	29
6. Límites máximos permisibles, impuestos por la USEPA	29
7. Límites máximos permisibles, impuestos por la Secretaría de Salud de México	30
8. Preparación de estándares para curva de calibración	49
9. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras control a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	82
10. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con 5 gramos de suelo estéril a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	82
11. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEox y EMTB en las muestras con 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP-10 a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	83
12. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 10 entre los valores de la Tabla 9	84

13. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 11 entre los valores de la Tabla 9	84
14. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 10 entre los valores de la Tabla 11	87
15. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras control a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	89
16. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con Biomasa a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	90
17. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con Biomasa y Suelo a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	90
18. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con Biomasa, Suelo y Tergitol NP-10 a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales	91
19. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 16 entre los valores de la Tabla 15	92
20. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa	93
21. LN de la concentración teórica de los sustratos de las muestras con biomasa	93
22. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por la biomasa aclimatada a Diesel	99
23. Constante cinética de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel	99
24. Valores de la relación entre los resultados de las muestras de la Tabla 17 y los de las muestras de la Tabla 15	101
25. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa y suelo	102



26. LN de la concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa y suelo	102
27. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por el suelo y la biomasa aclimatada a Diesel.	108
28. Constante cinética de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo	109
29. Valores de la relación entre los resultados de las muestras de la Tabla 18 y los de las muestras de la Tabla 15	109
30. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa suelo y Tergitol NP-10	110
31. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa suelo y Tergitol NP-10	110
32. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por el suelo, Tergitol NP-10 y la biomasa aclimatada a Diesel	115
33. Constante cinética de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo y Tergitol NP-10	115
34. Valores de la división de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 12	117
35. Concentración teórica de los sustratos	118
36. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos	118
37. Eficiencias de la biomasa en la degradación de BTEoX en presencia de suelo	124
38. Eficiencia de la biomasa en la biodegradación del EMTB en presencia de suelo	124
39. Valores de la división de las muestras de la Tabla 29 en relación con las muestras de la Tabla 13	125
40. Concentración teórica de los sustratos	126
41. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos	126
42. Eficiencias de la biomasa en la degradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10	132

43. Eficiencia de la biomasa en la biodegradación del EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10	132
44. Constantes cinéticas globales de los BTEoX obtenidas en los bioensayos cinéticos	133
45. Constantes cinéticas globales del EMTB en los bioensayos cinéticos	134
46. Porcentaje de eliminación de lo BTEoX y EMTB en los bioensayos cinéticos	136
47. Pesos de las muestras en las diferentes réplicas	138
48. Cantidad de SSV presente en cada cinética	138
49. Constantes cinéticas específicas de los BTEoX en los bioensayos cinéticos	139
50. Constantes cinéticas específicas de EMTB	140
51. Concentraciones inyectadas de la fase líquida con respecto a la curva de calibración	147
52. Concentraciones inyectadas de la fase vapor con respecto a la curva de calibración	147
53. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase líquida	148
54. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase vapor	148
55. Concentraciones de las muestras de 25 mL de la fase líquida	149
56. Concentraciones de las muestras de 25 mL de la fase vapor	149
57. Coeficientes adimensionales de Henry	150

## INDICE DE FIGURAS

<u>FIGURA No.</u>	<u>PAGINA</u>
1. Estructura del cetano y del heptametilnonano	9
2. Estructura del benceno	13
3. Estructura del tolueno	16
4. Estructuras del etilbenceno	19
5. Estructura del o- y m- xileno	22
6. Estructura del p-xileno	22
7. Estructura del EMTB	25
8. Vía metabólica de compuestos aromáticos	37
9. Posible ruta metabólica del EMTB	39
10. Reactores de aclimatación	45
11. Medidor de pH	46
12. Reactor de 8 L	46
13. Inyección de la muestra	47
14. Concentrador de purga y trampa	47
15. Cromatógrafo de gases acoplado a una purga y trampa	48
16. Biomasa centrifugada	52
17. Sobre de aluminio con suelo estéril	54
18. Muestras en agua a 3-4° C	58
19. Acrodiscos de 1µm	58
20. Toma de muestra para filtrado	58
21. Inyección de muestra a vial ámbar	59
22. Sistema de filtración a vacío y mufla	61
23. Toma de muestra de la fase gaseosa	62
24. 1ª Curva de calibración para el benceno	71
25. 1ª Curva de calibración para el tolueno	72
26. 1ª Curva de calibración para el etilbenceno	73

27. 1ª Curva de calibración para el o-xileno	74
28. 1ª Curva de calibración para el EMTB	75
29. 2ª Curva de calibración para el benceno	76
30. 2ª Curva de calibración para el tolueno	77
31. 2ª Curva de calibración para el etilbenceno	78
32. 2ª Curva de calibración para el o-xileno	79
33. 2ª Curva de calibración para el EMTB	80
34. Evaluación de la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB de las muestras de suelo	84
35. Evaluación de la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB de las muestras de suelo y surfactante	85
36. Evaluación de la eficiencia del Tergitol NP-10 sobre los BTEoX y EMTB	87
37. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	94
38. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	95
39. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	96
40. Gráfica de primer orden del o-xileno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	97
41. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación	98
42. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	103
43. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	104
44. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	105

45. Gráfica de primer orden del o-xileno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	106
46. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación	107
47. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	111
48. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	112
49. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	113
50. Gráfica de primer orden del o-xileno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	114
51. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación	115
52. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	119
53. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	120
54. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	121
55. Gráfica de orden cero del o-Xileno, donde se muestra la ecuación global de la degradación	122
56. Gráfica de primer orden del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación	123
57. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	127
58. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	128
59. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada	129

60. Gráfica de orden cero del $\alpha$ -xileno, donde se muestra la ecuación global de la degradación	130
61. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación	131
62. Constantes cinéticas específicas de EMTB	142
63. Curva de calibración de tolueno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto	143
64. Curva de calibración de etilbenceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto	144
65. Curva de calibración de $\alpha$ -xileno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto	145
66. Curva de calibración de EMTB, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto	146

# **I.- Introducción**

## **1. Introducción**

Existen dos tipos de recursos naturales que, en la actualidad, son indispensables para la existencia de vida en este planeta, los recursos renovables y los no renovables. La inadecuada utilización de estos recursos puede ocasionar grandes problemas en el devenir de la humanidad y por consecuencia de la vida de todos los seres del planeta.

Paulatinamente se ha tomado conciencia de esta situación y esto ha llevado a que la comunidad mundial se enfoque en el ahorro, mejoramiento y saneamiento de los recursos disponibles y de los procesos que estos implican para su consumo.

Con estas acciones se pretende mejorar la calidad de vida del ser humano para un mejor desarrollo personal, pero sobre todo, para así poder coexistir de una mejor manera con todos los seres vivos del planeta, y así, lograr la conservación de éste.

Es por eso que la presente investigación se enfoca en el saneamiento de dos recursos indispensables para la existencia de vida, como lo son: el **Agua** y el **Suelo**, utilizando para ello la tecnología de **Biorremediación**, la cual tiene muchas ventajas en comparación con otros procesos químicos como lo son, la versatilidad, el bajo costo, y la rapidez entre otros.

## 2. Agua

Dentro de los recursos llamados "renovables" se encuentra el agua, se considera renovable por que se recicla y se renueva continuamente mediante el ciclo hidrológico de la naturaleza.

El agua forma una capa que cubre cerca del 71 % de la superficie del planeta Tierra, la mayor parte es salobre y una parte muy pequeña es agua dulce. Contribuye a mantener el clima en la Tierra, disuelve a una gran cantidad de sustancias, que pueden llegar a ser contaminantes, y es esencial para las formas de vida conocidas.

El agua disponible en la Tierra se encuentra principalmente formando parte de los océanos. Del total de la masa de agua sólo el 2.8 % (36 millones de km<sup>3</sup>) es agua dulce y de ésta cerca del 75% forma el hielo de los casquetes polares de las zonas ártica y antártica. De las aguas que fluyen en los continentes, cerca del 0.63 % (8 millones de km<sup>3</sup>) se encuentran en lagos, ríos y lagunas, y el 0.2 % flota en la atmósfera.

Con estas cifras nos damos cuenta de la cantidad de agua disponible para el consumo humano, y observando las tendencias actuales, tenemos que el consumo de agua dulce se elevó a un ritmo superior al doble de la tasa de crecimiento de la población durante el siglo XX. Cuatro de cada diez habitantes del mundo viven en zonas con escasez de agua. Es posible que en el 2025 no menos de dos tercios de la población mundial, viva en países con escasez grave de agua (ONU, 2003).

En México, la problemática no es menor, debido a que solamente el 10% de las aguas superficiales son de buena calidad, en tanto que la calidad es media en el 65% y mala en el 25% restante. En 1999, se identificaron 600 acuíferos, de los cuales 100 de ellos estaban siendo sobreexplotados.



La importancia del agua subterránea queda de manifiesto al considerar que el 70% del volumen que se suministra a la población, el 33% se destina hacia la agricultura y el 62% se destina a la industria; y debido a esta actividad, algunas ciudades fronterizas y del centro están propensas a tener problemas con el suministro del agua en el futuro por su alto nivel de crecimiento industrial, y aunado a esto existen algunas ciudades que tienen el problema de contaminación por arsénico del vital líquido.

### 3. Suelo

El suelo se define como el conjunto de cuerpos naturales originados a partir de materiales minerales y orgánicos que contienen materia viva, y que pueden soportar vegetación en forma natural. Se pueden considerar tres etapas de formación de un suelo: a) primero, las rocas quedan expuestas al ambiente y se inicia un proceso de desintegración (intemperismo físico), b) segundo, ocurre un proceso de descomposición (intemperismo químico) y, finalmente, se inicia la invasión de vegetación (intemperismo bioquímico); estos procesos pueden durar entre 1.000 y 10.000 años, por lo que el suelo se puede considerar como un recurso no renovable (Tarbuck y Lutgens, 1999).

Existen diferentes tipos de suelos, como son los latosoles (suelos rojos y profundos, pobremente drenados), andosoles (suelos oscuros y profundos con buen contenido de materia orgánica, cenizas volcánicas y buena fertilidad), litosoles (suelos poco desarrollados, superficiales, característicos de relieves montañosos), aluviales (suelos pardos o rojizos, también característicos en montañas), asociados latosoles-aluviales, asociados litosoles-latosoles entre otros (SEMARNAT, 2004).

El suelo actúa como soporte de la materia orgánica, y por lo tanto es un eslabón que no puede faltar en la cadena de la vida, ya que al no haber suelo, no habría plantas y por lo tanto no habría vida, por esto la importancia del cuidado de este recurso y del saneamiento del mismo cuando está contaminado.

#### **4. Contaminación**

En una sociedad globalizada, como es en la actualidad, se observa que el abastecimiento de los recursos naturales es indispensable para el desarrollo y mejoramiento de todo lo que nos rodea, y esta necesidad conduce a contar con recursos "limpios" para poder subsistir y salir adelante.

En muchas partes del mundo, estos recursos se han visto afectados por el problema de la contaminación ambiental, por lo tanto, la contaminación también es un problema globalizado, el cual se tiene que resolver de inmediato.

La contaminación del ambiente se define como: la presencia de sustancias peligrosas en el medio, que pueden perjudicar la salud y la calidad de vida de las personas (ATSDR 2004).

Ante la necesidad de abastecimiento de los recursos para el desarrollo tecnológico, hay factores que afectan directamente al medio ambiente, como lo son los derrames de sustancias tóxicas en mantos acuíferos y suelo, y uno de los ejemplos más tangibles es: el petróleo.

La palabra petróleo significa aceite de piedra y es una mezcla en la que coexisten en fases sólida, líquida y gas, compuestos denominados hidrocarburos, con presencia de nitrógeno, azufre, oxígeno y algunos metales, su color varía entre ámbar y negro. Y éste es utilizado en la producción de plásticos, fibras sintéticas, detergentes, medicinas, conservadores, entre otros (IMP, 2004).

Además de los usos antes mencionados del petróleo, se utiliza en la producción de gasolinas, diesel, aceites, entre otros, los cuales son de uso frecuente y potencialmente peligrosos para la salud ambiental.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) hace mención de que existen cerca de 200,000 fugas en los tanques subterráneos de las estaciones de carga de combustible en Estados Unidos (Ewis *et al.*, 1999).

México es uno de los países con mayor producción de petróleo, encontrándose solo por debajo de China, Irán, Estados Unidos, Rusia y Arabia Saudita, con una producción diaria de 3,371 millones de barriles, dejando una derrama económica de 49,859 millones de dólares en el 2002 (INEGI, 2003), solo que, esto también representa un impacto ecológico muy grande en nuestro medio ambiente.

Desgraciadamente en la actualidad, referirse a derrames petroleros no es un tema tan aislado y cada día el medio ambiente se ve más afectado por estos acontecimientos.

Ewis *et al.* (1999) Menciona que hay diversos compuestos aromáticos presentes en el petróleo que son peligrosos para la salud humana, entre los cuales se encuentran el Benceno, Tolueno, Etilbenceno, los Xilenos y el Éter metil terbutílico (EMTB), el cual es agregado a la gasolina como aditivo para mejorar el octanaje de la misma. La peligrosidad de esos compuestos radica en que son altamente solubles en agua (EMTB > BTEX) y tienen una gran movilidad en el suelo.

Estos compuestos se encuentran principalmente en la gasolina, la cual es un producto de la refinación del petróleo; los BTEX en conjunto pueden llegar a constituir hasta un 15% de este combustible (ATSDR 1995).

Los BTEX y el EMTB deben su importancia toxicológica a que se han identificado como potencialmente carcinogénicos (en el caso del benceno es definitivamente carcinogénico en humanos) (Reinhard *et al.*, 1984).

Estos compuestos se absorben relativamente fácil en el hombre debido a sus características hidrofóbicas y a la abundante capacidad de los compartimentos celulares que lo permiten.

Los riesgos que conlleva la absorción de los BTEX y el EMTB se clasifican en dos tipos: los sistémicos y los cancerígenos. Los efectos toxicológicos de los BTEX y EMTB cada uno por separado, se han estudiado tanto en humanos como en animales y los resultados se muestran en la tabla 1:

Tabla 1. Efectos de los BTEX y el EMTB en seres humanos y animales  
(USEPA, 2001)

---

Benceno	Causa anemia, leucemia, así como alto riesgo de cáncer.
Tolueno	Es causante de trastornos renales, hepáticos, del SNC daños permanentes al cerebro y a la facultad del habla.
Etilbenceno	Ha demostrado causar trastornos renales, hepáticos y pulmonares en animales de laboratorio.
Xilenos	Causa lesiones al sistema nervioso central.
Éter Metil Terbutílico	Es considerado posible cancerígeno, afecta al SNC y al sistema reproductivo.

---

Las principal vía de ingestión de estos contaminantes en el ser humano es por medio de el agua, y esto es debido a que, son altamente solubles, pero a su vez tienen gran movilidad, sumado a la gran cantidad de derrames provocados por los sitios de almacenaje en mal estado, esto les permite llegar con gran facilidad a los mantos freáticos, los cuales son utilizados para consumo humano.

*en agua?*

## 5. Diesel

El combustible diesel es una mezcla compleja de hidrocarburos compuesta principalmente de parafinas y aromáticos, con un contenido de olefina que alcanza solamente a un pequeño porcentaje por volumen. La combustibilidad del diesel en los motores diesel se caracteriza por su número de cetano, el cual es una medida de su capacidad para ser sometido a ignición de compresión, bajo condiciones de prueba estándar. Los combustibles con un número mayor de cetano se queman más fácilmente en los motores de ignición de compresión.

Así como el octano mide la calidad de ignición de la gasolina, el índice de cetano mide la calidad de ignición de un diesel. Es una medida de la tendencia del diesel a cascabelear en el motor; la escala se basa en las características de ignición de dos hidrocarburos:

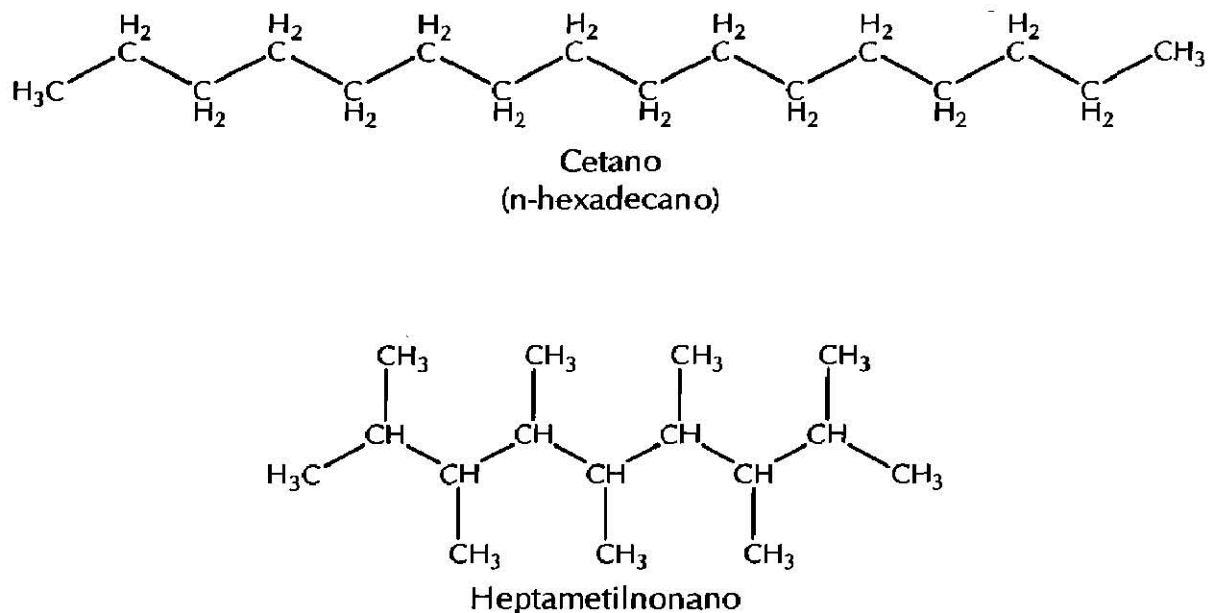


Figura 1. Estructuras del Cetano y del Heptametilnonano

El n-hexadecano tiene un periodo corto de retarde durante la ignición y se le asigna un cetano de 100; el heptametilnonano tiene un periodo largo de retardo y se le asigna un cetano de 15. El índice de cetano es un medio para determinar la calidad de la ignición del diesel y es equivalente al porcentaje por volumen del cetano de la mezcla con heptametilnonano, la cual se compara con la calidad deseable de la gasolina para prevenir el cascabeleo y es la habilidad para resistir la auto ignición, pero para el diesel la propiedad deseable es la auto ignición.

Típicamente los motores se diseñan para utilizar índices de cetano de entre 40 y 55, debajo de 38 se incrementa rápidamente el retardo de la ignición.

En las gasolinas, el número de octano de las parafinas disminuye a medida que se incrementa la longitud de la cadena, mientras que en el diesel, el índice de cetano se incrementa a medida que aumenta la longitud de la cadena. En general, los aromáticos y los alcoholes tienen un índice de cetano bajo, por ello el porcentaje de gasóleos desintegrados, en el diesel, se ve limitado por su contenido de aromáticos.

Muchos otros factores también afectan el índice de cetano; así por ejemplo la adición de alrededor de un 0.5% de aditivos mejoradores de cetano incrementa éste en 10 unidades. Estos aditivos pueden estar formulados con base a alquilnitratos, amil nitratos primarios, nitritos o peróxidos.

Otro aspecto a considerar acerca del diesel es el contenido de azufre, ya que este ocurre naturalmente en el petróleo y si no es eliminado durante el proceso de refinación, contaminará al combustible, lo cual contribuye en gran medida a las emisiones de partículas al ambiente.

El uso del diesel como combustible, tiene ciertas ventajas con respecto a la gasolina, sobre todo tomando en cuenta que su costo es menor, por lo tanto, la utilización de éste en la industria del transporte, tanto urbano como de carga, genera gran cantidad de contaminantes al medio ambiente.



## 5.1. Propiedades

Algunas propiedades físicas y químicas del Diesel se presentan en las siguientes tablas.

Tabla 2. Propiedades del Diesel

Propiedades	Información
Color	Café
Composición	Mezcla de hidrocarburos (Principalmente de 12 a 20 C)
Rango de ebullición (°C a 1 atm.)	160 a 382.2
Densidad (Kg/L)	0.778 a 0.87
Contenido de energía	
MJ/Kg	43.96
MJ/L	34.28 – 35.68
Temperatura de auto ignición (°C)	204.4 a 260
Punto de inflamabilidad (°C)	51.66
Limites de inflamabilidad	Bajo: 0.7
(% vol. En aire)	Alto: 5.0
Contenido de Azufre	
(% en peso)	0.2. a 0.25
Velocidad de la flama (m/s)	0.3962

Tabla 3. Composición química del Diesel (ATDSR, 2003)

<b>Tipo de hidrocarburo</b>	<b>% en volumen</b>
Parafinas	52.4
Monocicloparafinas	21.3
Dicicloparafinas	5.1
Tricicloparafinas	0.8
Total de Hidrocarburos saturados	79.7
Alquilbencenos	13.5
Indans/tetralins	3.3
Dinaphtenobenzenes/indenes	0.9
Naftalenos	2.8
Bifenilos	0.4
Total de hidrocarburos aromáticos	23.6

A diferencia de la gasolina, el diesel tiene una mayor composición química de parafinas, y menor composición de aromáticos y derivados (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos), pero aun así éstos están presentes en la composición de este combustible.

## 6. Benceno

El benceno es un líquido incoloro de aroma dulce. Se evapora al aire rápidamente y es poco soluble en agua. Es sumamente inflamable y se forma tanto de procesos naturales como de actividades humanas.

Tiene un peso molecular de 78.11 g/mol, su solubilidad en agua es de 0.188% (a 23.5°C, peso/peso), su punto de fusión es a los 5.5°C y de ebullición (1 atm.) 80°C (Morrison *et al.*, 1998).

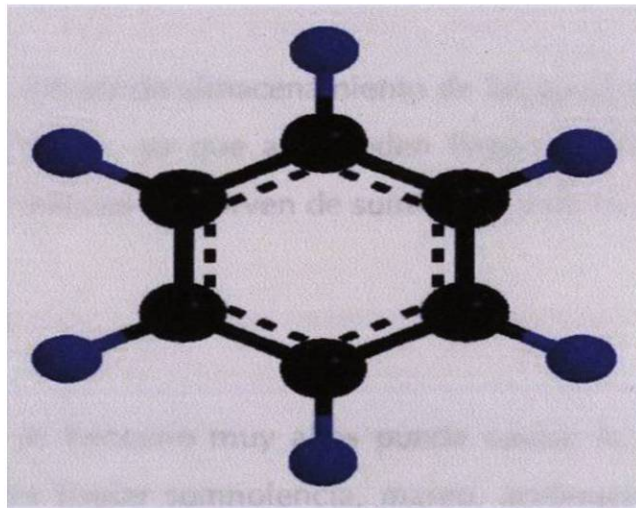


Fig. 2 Estructura del Benceno

El benceno se usa extensamente en los EE.UU.; está listado entre los 20 productos químicos de mayor volumen de producción. Algunas industrias usan benceno para manufacturar otros productos químicos usados en la fabricación de plásticos, resinas, nylon y fibras sintéticas. También se usa benceno para hacer ciertos tipos de gomas, lubricantes, tinturas, detergentes, medicamentos y pesticidas. Los volcanes e incendios forestales constituyen fuentes naturales de benceno. El benceno es también un constituyente natural del petróleo crudo, gasolina y humo de cigarrillo (ATSDR 2004). El benceno es una sustancia química ampliamente usada, generada tanto por procesos naturales como por actividades humanas. Respirar benceno puede causar somnolencia, mareo y pérdida del conocimiento; la exposición de larga

duración produce alteraciones en la médula de los huesos y puede causar anemia y leucemia. Se ha encontrado benceno en por lo menos 813 de los 1,430 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

### **Exposición**

El aire libre contiene niveles bajos de benceno provenientes de humo de cigarrillo, gasolineras, emisiones industriales y del tubo de escape de automóviles; el aire interior contiene una mayor cantidad de este compuesto debido a la presencia de productos como pegamentos, pinturas, cera para muebles, y detergentes (ATSDR 2004).

Las fugas en los tanques de almacenamiento de las gasolineras también son una fuente de contaminación, ya que así pueden llegar a contaminar, tanto el suelo como los mantos freáticos que sirven de suministro para la población.

### **Daños a la salud**

Respirar niveles de benceno muy altos puede causar la muerte, mientras que niveles altos pueden causar somnolencia, mareo, aceleración del latido del corazón, dolores de cabeza, temblores, confusión y pérdida del conocimiento. Comer o tomar altos niveles de benceno puede causar vómitos o irritación del estómago, mareo, somnolencia o convulsiones; rápido latido cardíaco y la muerte (ATSDR 2004).

El efecto principal de la exposición de larga duración (365 días o más) al benceno es en la sangre. El benceno produce efectos nocivos en la médula de los huesos y puede causar una disminución en el número de glóbulos rojos, lo que conduce a anemia. El benceno también puede producir hemorragias y daño al sistema inmunitario, aumentando así las posibilidades de contraer infecciones.

Algunas mujeres que respiraron altos niveles de benceno por varios meses tuvieron menstruaciones irregulares y el tamaño de sus ovarios disminuyó. No se sabe si la exposición al benceno afecta al feto durante el embarazo o la fertilidad en hombres.

Estudios en animales que respiraron benceno durante la preñez han descrito bajo peso de nacimiento, retardo en la formación de hueso y daño en la médula de los huesos.

El Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (DHHS) ha determinado que el benceno es un reconocido carcinógeno en seres humanos. La exposición de larga duración a altos niveles de benceno en el aire puede producir leucemia, un cáncer a los tejidos que fabrican las células de la sangre.

### **Limites permisibles**

La EPA ha establecido un límite permisible máximo en agua potable de 0.005 miligramos de benceno por litro de agua (0.005 mg/L). La EPA requiere que se le notifique en casos de derrames o de liberación al medio ambiente de 10 libras o más de benceno (ATSDR 2004).

La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de los Estados Unidos (OSHA) establece un límite de exposición en el aire del lugar trabajo de 1 parte por millón (1 ppm) en una jornada de 8 horas, 40 horas semanales.

## 7. Tolueno

El tolueno es un líquido incoloro con un olor característico. El tolueno ocurre en forma natural en el petróleo crudo y en el árbol Tolú. También se produce durante la manufactura de gasolina y de otros combustibles a partir de petróleo crudo y en la manufactura de coque a partir de carbón (ATSDR 2004).

El tolueno se usa en la fabricación de pinturas, diluyentes de pinturas, barniz para las uñas, lacas, adhesivos y gomas, y en ciertos procesos de imprenta y curtido de cuero.

Tiene un peso molecular de 92.13 g/mol, tiene una solubilidad en agua de 0.067% (a 23°C relación peso/peso), su punto de fusión es a los -95°C y el de ebullición es (1 atm.) a los 110.6°C (Morrison *et al.*,1998).

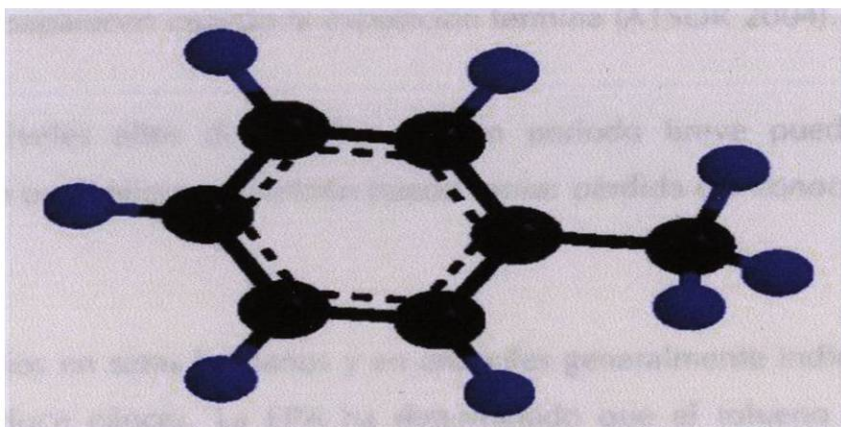


Fig.3 Estructura del Tolueno

La exposición al tolueno ocurre al respirar aire contaminado en el trabajo, escape de automóviles, ciertos productos de consumo, diluyentes de pintura, barniz para las uñas, lacas y adhesivos. El tolueno afecta al sistema nervioso. Se ha encontrado tolueno en 959 de los 1,591 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA).

## **Exposición**

El tolueno entra en el ambiente cuando se utilizan productos que lo contienen, la forma principal de exposición al tolueno ocurre cuando hay derrames de solventes y productos del petróleo, así como también por escapes de tanques subterráneos en gasolineras, llegando así a contaminar, el suelo y el agua, tanto superficial como subterránea (ATSDR 2004).

El tolueno generalmente no permanece mucho tiempo en el ambiente, y no se concentra ni se acumula en cantidades significativas en animales (ATSDR 2004).

## **Daños a la salud**

El tolueno puede afectar al sistema nervioso. Niveles bajos o moderados pueden producir cansancio, confusión, debilidad, pérdida de la memoria, náusea, pérdida del apetito y pérdida de la audición y la vista. Estos síntomas generalmente desaparecen cuando la exposición termina (ATSDR 2004).

Inhalar niveles altos de tolueno por un período breve puede hacerlo sentirse mareado o somnoliento. También puede causar pérdida del conocimiento, y aun la muerte.

Los estudios en seres humanos y en animales generalmente indican que el tolueno no produce cáncer. La EPA ha determinado que el tolueno no puede clasificarse en base a carcinogenicidad.

## **Límites permisibles**

La EPA ha establecido un límite de 1 miligramo por litro (1 mg/L) para tolueno en el agua potable (ATSDR 2004)

La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de los Estados Unidos (OSHA) ha establecido un límite de 200 mg/L de tolueno en el área de trabajo.

La EPA no permite más de 0.1 a 2 mg/L de tolueno en otros productos agrícolas crudos.



## 8. Etilbenceno

El etilbenceno es un líquido inflamable, incoloro, de olor similar a la gasolina. Se le encuentra en productos naturales tal como carbón y petróleo, como también en productos de manufactura como tinturas, insecticidas y pinturas.

El uso principal del etilbenceno es para fabricar otro producto químico, estireno. Otros usos incluyen como solvente, en combustibles, y en la manufactura de otros productos químicos.

El etilbenceno tiene un peso molecular de 106.16 g/mol, tiene una densidad a 20°C de 0.866 g/mL, su punto de fusión es de -95.01°C y su punto de ebullición (1 atm.) es de 136.25°C, y es prácticamente insoluble en agua, pero es miscible en solventes orgánicos usuales (Morrison *et al.*, 1998).

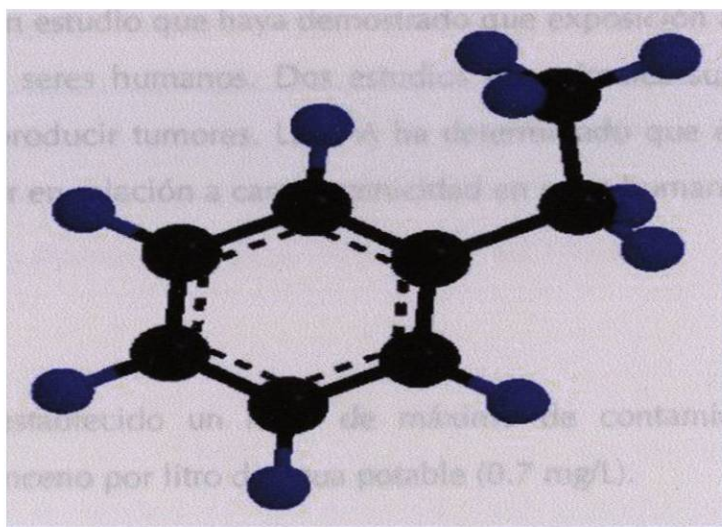


Fig. 4 Estructura del Etilbenceno

El etilbenceno es un líquido incoloro que se encuentra en un sinnúmero de productos incluyendo gasolina y pinturas. Respirar niveles muy altos puede causar mareo e irritación a la garganta y los ojos. Se ha encontrado etilbenceno en por lo menos 731 de los 1,467 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA).

## **Exposición**

El etilbenceno pasa fácilmente al aire del agua y del suelo, puede ser liberado al agua por desagües industriales o por escapes de tanques de almacenaje subterráneos, así como usando productos tales como gasolina, pegamentos para tapices (o alfombras), barnices y pinturas (ATSDR 2004).

## **Daños a la salud**

Existe información limitada acerca de los efectos del etilbenceno sobre la salud humana. En gente expuesta a altos niveles de etilbenceno en el aire, la información disponible describe mareo, irritación a la garganta y los ojos, opresión en el pecho, y una sensación de ardor en los ojos (ATSDR 2004).

Estudios en animales han descrito efectos sobre el sistema nervioso, el hígado, los riñones y los ojos al respirar etilbenceno en el aire.

No hay ningún estudio que haya demostrado que exposición al etilbenceno produzca cáncer en seres humanos. Dos estudios en animales sugieren que el etilbenceno puede producir tumores. La EPA ha determinado que el etilbenceno no se puede clasificar en relación a carcinogenicidad en seres humanos.

## **Limites permisibles**

La EPA ha establecido un nivel de máximo de contaminante de 0.7 miligramos de etilbenceno por litro de agua potable (0.7 mg/L).

La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) ha establecido un límite ocupacional de exposición de 100 mg/L de etilbenceno en el área de trabajo durante una jornada de 8 horas diarias, 40 horas semanales (ATSDR 2004).

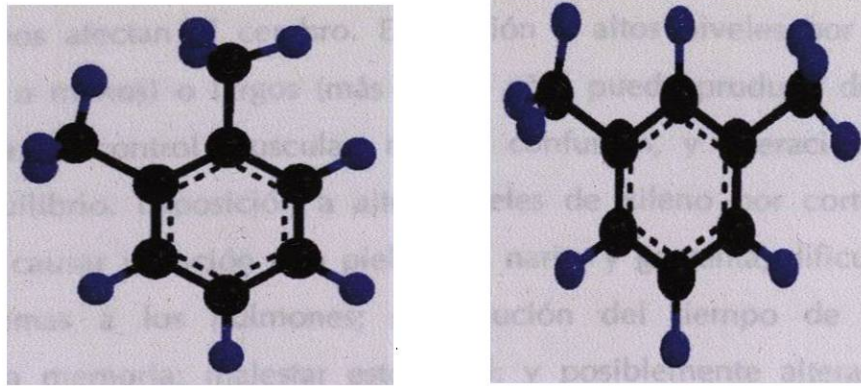
## 9. Xilenos

Los xilenos son líquidos incoloros, de aroma dulce, que se inflaman fácilmente. Ocurren en forma natural en petróleo y en alquitrán, y se forman durante incendios forestales. Se pueden oler xilenos a niveles de 0.08-3.7 mg/L y puede empezar a sentir su sabor en el agua a niveles de 0.53-1.8 mg/L.

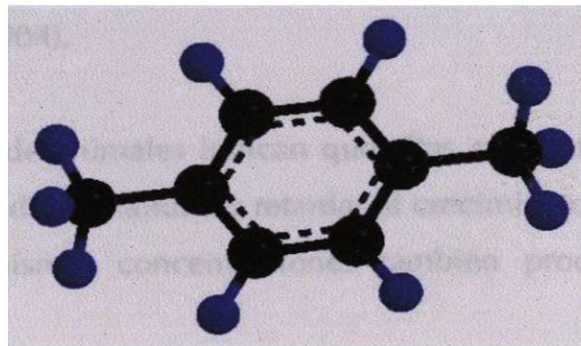
Industrias químicas manufacturan xilenos del petróleo. Son unos de los 30 productos químicos de mayor volumen de producción en los EE.UU.

Los xilenos se usan como solventes y en la imprenta e industrias de goma y de cuero; también se usan como agentes para limpiar, para diluir pinturas, y en pinturas y barnices. Ocurren en pequeñas cantidades en combustible para aviones y en gasolina.

El xileno está presente en tres isómeros, orto, meta y para xileno; tiene un peso molecular de 106.16 g/mol, su densidad, a 20°C, es de 0.88 g/mL para el o-xileno, 0.864 g/mL para el m-xileno y 0.861 g/mL para el p-xileno. Los puntos de fusión de los tres isómeros son -25°C, -48°C y 13°C respectivamente, así como sus puntos de ebullición (1 atm) son 144°C, 139°C y 138°C respectivamente. Estos compuestos son prácticamente insolubles en agua, pero son miscibles en alcohol, éter y otros solventes orgánicos (Morrison *et al.*, 1998).



**Fig. 5 Estructura del o- y m-xileno**



**Fig. 6 Estructura del p-xileno**

Estas sustancias se ha encontrado en por lo menos 658 de los 1,430 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Administración de Protección del Medio Ambiente de los EE.UU.

### **Exposición**

La exposición a los xilenos ocurre en el lugar de trabajo y cuando se usan pinturas, diluyentes de pintura, y otros productos que lo contienen. La contaminación por xilenos se produce, con los materiales de deshecho de las pinturas, barnices, entre otros, pero principalmente por los derrames o fugas de los almacenes subterráneos de gasolineras, los cuales, pueden llegar a contaminar los mantos acuíferos que se utilizan para consumo humano (ATSDR 2004).

## **Daños a la Salud**

Los xilenos afectan al cerebro. Exposición a altos niveles por períodos cortos (14 días o menos) o largos (más de un año) puede producir dolores de cabeza, pérdida de control muscular, mareo, confusión, y alteraciones en el sentido del equilibrio. Exposición a altos niveles de xileno por corto tiempo también puede causar irritación a la piel, ojos, nariz, y garganta; dificultad para respirar; problemas a los pulmones; disminución del tiempo de reacción; dificultades a la memoria; malestar estomacal; y posiblemente alteraciones al hígado y los riñones. Niveles muy altos pueden causar pérdida del conocimiento y aun la muerte (ATSDR 2004).

Estudios en fetos de animales indican que altas concentraciones de xileno pueden aumentar la tasa de mortalidad y retardar el crecimiento y el desarrollo. En muchos casos, estas mismas concentraciones también producen daño a las madres.

El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC,) ha determinado que xileno no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.

### **Limites permisibles**

La EPA ha establecido un límite de 10 mg de xileno por litro de agua potable.

La Administración de la Seguridad y la Salud Ocupacionales de los EE.UU. (OSHA) han establecido un límite máximo de 100 mg/L de xileno en el aire del trabajo en una jornada de 8 horas diarias, 40 horas semanales (ATSDR 2004).

El Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional de los EE.UU. (NIOSH) y la Conferencia Americana de Sanitarios Industriales de Gobierno

(ACGIH) también recomiendan límites de exposición de 100 mg/L en el aire del trabajo.

NIOSH recomienda que un nivel de 900 mg/L de xileno se considere peligro inmediato para la salud y la vida. Este nivel es probable que cause problemas permanentes para la salud o que sea fatal.

## 10. Éter Metil Terbutílico (EMTB)

El éter metil tert-butílico (EMTB) es un líquido inflamable de olor característico desagradable. Se fabrica combinando sustancias químicas como isobutileno y metanol, y se ha usado desde los 1980s como aditivo para lograr mejor combustión de la gasolina sin plomo.

El EMTB se usa también para disolver cálculos biliares. En estos pacientes, el MTBE se hace llegar directamente a los cálculos a través de tubos especiales insertados por medio de cirugía.

El EMTB tiene un peso molecular de 88.15 g/mol, tiene una densidad a 20°C de 0.74 g/mL. Su punto de fusión es de -109°C y su punto de ebullición (1 atm.) es de 55.2°C, su solubilidad en agua a 20°C es de 4-5% (relación peso / peso); también es soluble en alcohol y éter (Morrison *et al.*, 1998).

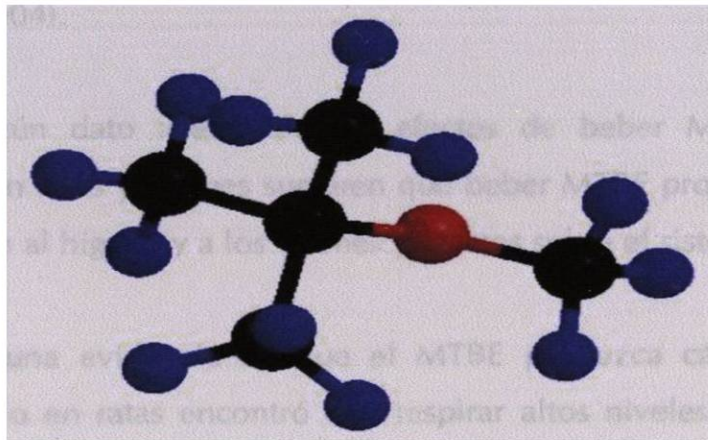


Fig. 7 Estructura del EMTB

El éter metil ter-butílico (EMTB) es un líquido inflamable usado como aditivo en gasolina sin plomo. Beber o respirar MTBE puede causar náusea, irritación a la nariz y garganta y efectos sobre el sistema nervioso. Se ha encontrado MTBE en por lo menos 11 de los 1,430 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

## **Exposición**

Debido a su alta volatilidad, el EMTB es mas probable encontrarlo en la fase vapor, estando expuesto a este, principalmente en las gasolineras al cargar combustible o respirando el aire de los tubos de escape de los automóviles, pero también, se puede tener un contacto directo de este compuesto de otras formas ya que se puede disolver en el agua, llegando desde los tanques de almacenamiento de combustible hasta los mantos freáticos, en los cuales puede durar largo tiempo (ATSDR 2004).

## **Daños a la Salud**

Respirar pequeñas cantidades de MTBE por períodos cortos puede causar irritación a la nariz y la garganta. Ciertas personas que se han expuesto al MTBE al llenar el tanque de gasolina, manejando automóviles o trabajando en gasolineras han experimentado dolores de cabeza, náusea, mareo y confusión mental. Sin embargo, los niveles de exposición efectivos en estos casos no se conocen. Más aun, estos síntomas pueden haber sido causados por exposición a otros productos químicos (ATSDR 2004).

No hay ningún dato acerca de los efectos de beber MTBE en seres humanos. Estudios en ratas y ratones sugieren que beber MTBE produce irritación gastrointestinal, daño al hígado y a los riñones y efectos sobre el sistema nervioso.

No hay ninguna evidencia de que el MTBE produzca cáncer en seres humanos. Un estudio en ratas encontró que respirar altos niveles de MTBE por largo tiempo puede producir cáncer de los riñones. Otro estudio en ratones encontró que respirar altos niveles de MTBE por períodos largos puede producir cáncer del hígado.



El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS), la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y la EPA no han clasificado al MTBE en relación a carcinogenicidad.

### **Limites permisibles**

La EPA ha promulgado reglamentos que recomiendan que, para la protección de los niños, los niveles de MTBE en agua potable no deben exceder 4 miligramos por litro de agua (4 mg/L) para exposición de 1 a 10 días y 3 mg/L para exposiciones de mayor duración.

La Conferencia Americana de Sanitarios Industriales de Gobierno (ACGIH) recomienda un límite de exposición de 40 partes de MTBE por millón de partes de aire (40 mg/L) durante jornadas de 8 horas diarias, 40 horas semanales (ATSDR 2004).

## 11. Normatividad

La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) atendiendo la necesidad de una normatividad para hidrocarburos en suelo ha creado la norma oficial mexicana PROY-NOM-138-SEMARNAT-2003 establece los parámetros a analizar asociados a los hidrocarburos para los que se establecen límites máximos permisibles de contaminación en suelos, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 4. Hidrocarburos que deberán analizarse en función del producto contaminante. (DOF, 2003).

Producto contaminante	Hidrocarburos					
	Fracción pesada	HAPs	Fracción media	HAPs	Fracción Ligera	BTEX
Mezclas	X	X	X	X	X	X
Petróleo crudo	X	X	X	X	X	X
Combustóleo	X	X				
Emulsiones	X	X				
Asfalto	X	X				
Parafinas	X	X				
Petrolatos	X	X				
Aceites	X	X				
Gasóleo			X	X		
Diesel			X	X		
Turbosina			X	X		
Kerosene			X	X		
Cerosota			X	X		
Gasavión					X	X
Gasolvente					X	X
Gasolinas					X	X
Gas nafta					X	X

Así como establece los límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos. Estos límites son los siguientes:

Tabla 5. Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelos (valores referidos a base seca) mg/kg (DOF, 2003).

Hidrocarburos Específicos	Uso de suelo predominante <sup>1</sup>			Método analítico
	Agrícola <sup>2</sup>	Residencial <sup>3</sup>	Industria	
Benceno	6	6	15	Anexo A.4
Tolueno	40	40	100	Anexo A.4
Etilbenceno	10	10	25	Anexo A.4
Xilenos (suma de isómeros)	40	40	100	Anexo A.4
Benzo[a]pireno <sup>4</sup>	2	2	10	Anexo A.4
Dibenzo[a,h]antraceno <sup>4</sup>	2	2	10	Anexo A.4
Benzo[a]antraceno <sup>4</sup>	2	2	10	Anexo A.4
Benzo[b]fluoranteno <sup>4</sup>	2	2	10	Anexo A.4
Benzo[k]fluoranteno <sup>4</sup>	8	8	80	Anexo A.4
Indeno(1,2,3-cd)pireno <sup>4</sup>	2	2	10	Anexo A.4

1 Para usos de suelo mixto, deberá aplicarse la especificación al menor valor de los usos de suelo involucrados.

2 Agrícola, incluye suelo forestal, recreativo, y de conservación.

Residencial incluye comercial.

El análisis comparativo de la legislación de los niveles máximos permisibles de contaminantes establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) y por la Secretaría de Salud de México, muestra congruencia en un compuesto y notables diferencias con otros compuestos químicos.

Tabla 6. Límites máximos permisibles, impuestos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos USEPA (USEPA, 2001).

Compuesto	LMP (mg/L)
Benceno	0.005
Tolueno	1.0
Etilbenceno	0.7
Xilenos	10

Tabla 7. Límites máximos permisibles, impuestos por la Secretaría de Salud de México (DOF, 2000).

<b>Compuesto</b>	<b>LMP (mg/L)</b>
Benceno	0.01
Tolueno	0.3
Etilbenceno	0.7
Xilenos	0.5

En los Estados Unidos, los BTEX fueron incluidos en las regulaciones nacionales primarias de agua potable (USEPA, 2001), y algunos estados tienen marcadas sus concentraciones máximas de hidrocarburos contaminantes incluyendo los BTEX (NCDENR, 2002). La comunidad Europea ha incluido al benceno en la lista de prioridad de las sustancias, en el campo de la política del agua y la dirección de saneamiento (OJEC, 2001). En Japón, el benceno es incluido en la lista de estándares de calidad ambiental para mantos acuíferos y suelos contaminados (JME, 1997).

Hoy en día existe una necesidad tangible de una forma de remediación de los recursos contaminados por hidrocarburos. La tendencia actual de contar con tecnologías limpias conduce a la utilización de microorganismos capaces de degradar biológicamente los contaminantes de una forma eficiente y limpia, así como económica y efectiva, tal es el uso de la biorremediación ambiental.

## 12. Biorremediación

La Biorremediación se utiliza para el saneamiento biológico de cuerpos de agua, entre los cuales se encuentran los mantos freáticos contaminados y consiste en la utilización de microorganismos vivos, como lo son: bacterias, hongos y levaduras, los cuales se "alimentan" de los contaminantes transformando éstos a CO<sub>2</sub> y agua. Esta técnica es relativamente nueva y ha impactado de manera positiva a la sociedad. Este crecimiento de la Biorremediación como tecnología de saneamiento se debe a los diferentes beneficios que esta trae, tales como:

- Bajo costo
- En algunos casos el tratamiento es rápido
- Tratamiento in situ
- El suelo puede utilizarse en un tiempo muy corto
- No se producen efectos secundarios u otros contaminantes
- Los microorganismos mueren al ya no estar presente el contaminante

La Biorremediación tiene un gran campo de acción, y esto es debido a que los derrames de hidrocarburos al subsuelo no se han podido controlar y por citar un ejemplo, tan solo en Estados Unidos existen alrededor de 200,000 tanques de gasolina con fugas (Ewis *et al.*, 1999).

Ewis et al., 1999 los métodos de biorremediación se pueden clasificar de distintas maneras dependiendo de las condiciones físicas bajo las cuales se someten, los cuales son:

### ✓ **Biorremediación de mantos freáticos:**

Este método consiste en bombear el agua de los mantos freáticos a la superficie, tratarla y luego usarla o regresarla a los mantos. Este tratamiento requiere de una buena aireación, nutrientes y de un inóculo de los microorganismos degradadores. El método tiene la ventaja de que

es muy similar a los tratamientos de aguas residuales, por lo que puede ser incorporada a éstos.

### **12.1. Biorremediación de suelos:**

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

#### **✓ Tratamiento *in situ*:**

El termino *in situ* proviene del latín, el cual quiere decir "en el lugar original", por lo que este método se refiere a la descontaminación del suelo en su ubicación original. La ventaja de este método radica en que no es necesario excavar y transportar el material contaminado, sin embargo presenta dificultades para proveer de oxígeno y nutrientes a los microorganismos degradadores. Una desventaja muy importante, es que presenta el riesgo de esparcir la contaminación a otras áreas aledañas. Además, la velocidad de tratamiento es relativamente baja.

#### **✓ Tratamiento en lechos:**

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

#### **✓ Compostaje:**

En este método se mezcla el material contaminado con agentes esponjantes orgánicos, tales como el estiércol, luego se dispone en filas o hileras. Este es un proceso aerobio en el que el estiércol no solo es capaz de sostener mas microorganismos que el suelo en sí (debido a la alta porosidad del estiércol que trae consigo un aumento a la aireación y la

distribución de la humedad, además de que al descomponerse genera el calor necesario para que se lleven a cabo las reacciones degradadoras de los microorganismos), sino que también los provee de nutrientes inorgánicos y materiales inertes.

✓ **En biorreactores:**

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

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

## 12.2. El papel de los microorganismos

En el proceso de Biorremediación, los microorganismos son los encargados de transformar los contaminantes a través de reacciones metabólicas, las cuales pueden involucrar a compuestos tanto orgánicos como inorgánicos. Este proceso ocurre naturalmente, ya que al estar en contacto los microorganismos con los contaminantes, éstos se aclimatan y logran involucrarlos en su vía metabólica, transformándolos, en CO<sub>2</sub> y agua.

Según Ewis *et al.*, (1999) los microorganismos utilizados mas comúnmente para la biorremediación son los siguientes:

- o **Bacterias:**

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

- o **Hongos:**

Los hongos son protistas superiores, a diferencia de las bacterias cuentan con pared celular de diferente composición y suelen ser inmóviles. La mayoría de los hongos se encuentran en el suelo, sin embargo se pueden encontrar en agua y en plantas muertas. Los hongos se encuentran en menor cantidad que las bacterias y crecen mas lentamente que éstas. Una desventaja de los hongos es que sus procesos metabólicos no suelen ser tan diversos como el de las bacterias, pero tienen la ventaja de ser ácido-tolerantes.

- o **Algas:**

Las algas al igual que los hongos son protistas superiores y cuentan con pared celular. Se pueden encontrar desde organismos unicelulares, hasta filamentosos y otros muy parecidos a las plantas. La mayoría de



las algas son acuáticas, pero se sabe de algunas que crecen en los suelos. Utilizan el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono y la luz para producir energía, por lo que son poco útiles en la biodegradación, además de que pueden llegar a ser un serio problema de contaminación por sí mismas.

o **Protozoos:**

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

Cabe señalar, que la utilización de cultivos puros para la Biorremediación no es muy recomendable, ya que se ha descubierto que, al trabajar con grupos asociados de microorganismos, los cuales son denominados "Consortios microbianos", con los que se logran mejores resultados en la biodegradación, y todo esto es debido a que posiblemente existan cometabolismos entre las mismas especies, es decir, una especie de microorganismo toma cierto contaminante y lo transforma en otro compuesto, el cual a su vez sirve de "alimento" a otros microorganismos presentes en el medio, produciendo así una cadena en el metabolismo de los microorganismos, conduciendo a éstos a una mejora en los tiempos de eliminación de los contaminantes presentes en las muestras.

### 13. Degradación de compuestos Aromáticos

Los compuestos aromáticos son mas estables que los compuestos alifáticos, y esto es ocasionado por la deslocalización de los electrones presentes en los anillos bencénicos, produciendo así el fenómeno llamado de resonancia, por esta razón, la biodegradación de compuestos aromáticos tiene dos pasos fundamentales: la activación del anillo y la ruptura del mismo (Eweis *et al.*, 1999).

La activación del anillo involucra la incorporación de una molécula de oxígeno en el mismo, esto es la dihidroxilación del anillo. Este paso se lleva a cabo mediante la acción de enzimas como son las oxigenasas. Las monooxigenasas son características de hongos y otros microorganismos eucariotas; dichas enzimas catalizan la incorporación de dos átomos de oxígeno en un paso formando un dihidroxidiol (Fig.8, Paso 1).

Los dihidrodioles son el resultado de la dihidroxilación, derivados de los catecoles y son los precursores del rompimiento del anillo (Eweis *et al.* 1999) (Fig. 8, Paso 2).

Si el catecol es oxidado y orientado a orto ocasiona la hidrólisis de un enlace carbono - carbono rompiendo así el anillo y formando el ácido mucónico. Si el rompimiento es orientado a meta se forma el semialdehído 2-hidroxi-mucónico (Fig. 8, Paso 3).

### 13.1. Ruta metabólica de compuestos aromáticos

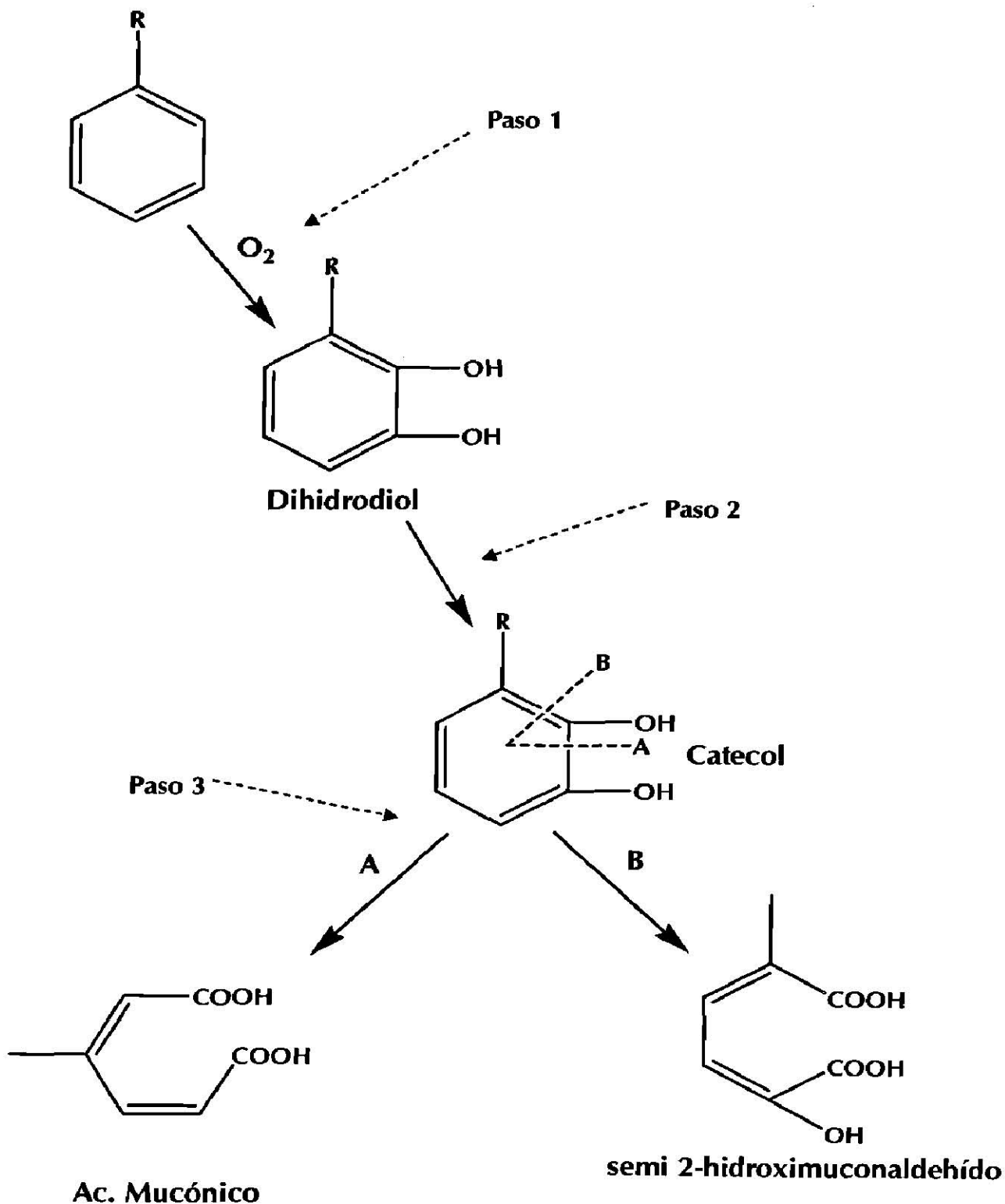


Figura 8. Vía metabólica de compuestos aromáticos

## 14. Degradación del EMTB

Las rutas de degradación del EMTB han sido estudiadas, tanto para cultivos puros, como para consorcios microbianos, mas sin embargo no se ha llegado a establecer con claridad cual es la ruta metabólica de la degradación del EMTB.

Algunos autores mencionan que la formación del *ter*-Butil Alcohol (TBA) y del formaldehído, son los intermediarios metabólicos principales de la degradación del EMTB (Figura 9) (Salanitro *et al.*, 1999; Steffan *et al.*, 1997). Sin embargo, algunos estudios sugieren que el *ter*-Butil Formaldehído (TBF) es el primer metabolito de la degradación el EMTB (Hardison *et al.*, 1997), el cual es rápidamente transformado a TBA.

Después de la formación del TBA, la ruta metabólica continúa en la transformación de este metabolito en, 2-metil-2-hidroxi-1-propanol (MHP), para posteriormente transformarse en el ácido 2-hidroxiisobutírico (HIBA) (Steffan *et al.*, 1997), el cual, finalmente, se especula que se transforma en los metabolitos finales, 2-propanol, acetona e hidroxiacetona (Church *et al.*, 2000; Deeb *et al.*, 2000b; Salanitro *et al.*, 1998; Steffan *et al.*, 1997).

Todos los estudios antes mencionados, sugieren la participación de la enzima monooxigenasa en la transformación inicial del EMTB en TBA.

### 14.1 Posible ruta metabólica del EMTB

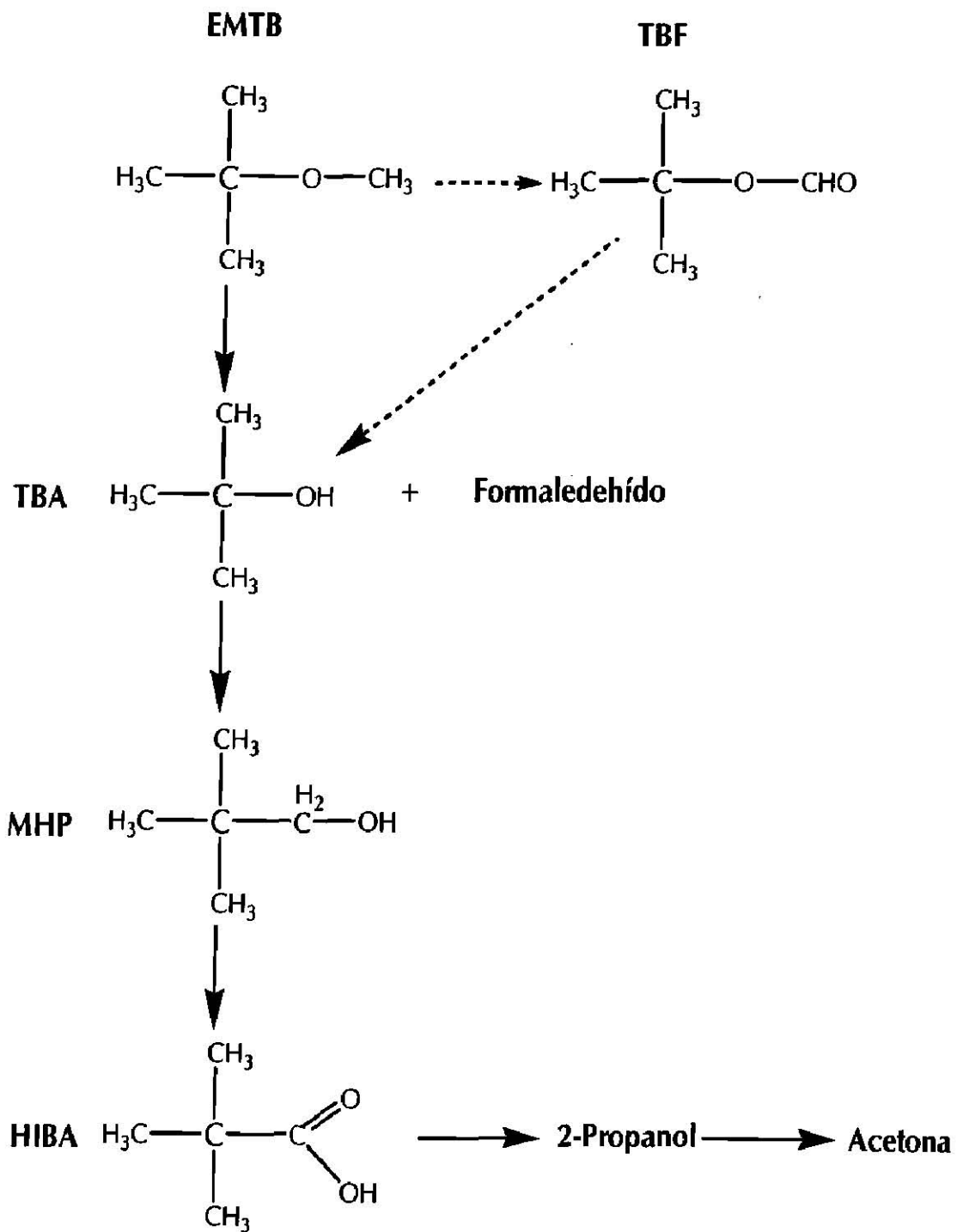


Fig. 9 Posible ruta metabólica del EMTB

## **II.- Hipótesis y Objetivos**

### **1. Hipótesis**

Es posible que la biomasa aclimatada a 200 mg/L de Diesel sea capaz de biodegradar Benceno, Tolueno, Etilbenceno, o-Xileno y EMTB en conjunto, en matrices acuosas y en presencia de Tergitol NP-10.

### **2. Objetivo General:**

Evaluar las constantes cinéticas de biodegradación de los BTEoX en presencia de EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a Diesel, en matrices acuosas y de suelo a una concentración inicial de 50 mg/L de cada BTEoX y 50 mg/L de EMTB y su efecto en presencia de 25 mg/L de Tergitol NP-10 como surfactante.

### **3. Objetivos Particulares:**

- Aclimatar una biomasa natural a la presencia de Diesel.
- Evaluar la constante de partición de los BTEoX en suelo y ésta bajo el efecto de 25 mg/L de Tergitol NP10.
- Evaluar las constantes de biodegradación de BTEoX en presencia de EMTB en matriz acuosa y en suspensiones de suelo por el consorcio microbiano aclimatado.
- Evaluar las constantes de biodegradación de BTEoX en presencia de EMTB por el consorcio microbiano en suspensiones de suelo bajo el efecto de 25 mg/L de surfactante Tergitol NP-10.

### **III.- Materiales y Métodos**

#### **1. Materiales**

##### **1.1. Equipo de análisis ambiental**

###### **1.1.1. Cromatografía de gases**

- ✓ Cromatógrafo de gases Varian 3400 con detector de llama (FID)  
(Varian Corp. Walnut Creek, California)
- ✓ Columna Capilar Petrocol™ de 100 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.5 micras de película.  
(Supelco, Bellefonte, Pennsylvania)
- ✓ Concentrador de muestras de purga y trampa Tekmar LSC 2000  
(Tekmar Corporation, Cincinnati, Ohio)
- ✓ Computadora HP modelo Vectra 500, acoplado a cromatógrafo de gases.  
(Hewlett-Packard Company, California)
- ✓ Impresora Epson, acoplada al cromatógrafo de gases  
(Seiko Epson Corporation)

###### **1.1.2. Potencial REDOX, Oxígeno Disuelto y pH**

- ✓ Water prof D.O. Probe: 083025, ATI Orion Modelo 835  
(Orion)
- ✓ Potenciómetro: Beckam 12 pH/ISE Meter, Electrodo [Ag+/AgCl] Orion  
96788N BNC  
(Orion)
- ✓ Medidor de pH de +0.0 a 14.0 pH Hanna  
(Hanna Instruments Inc. Woonsocket, RI )

### 1.1.3. Preparación y Preservación de muestras

- ✓ Autoclave de 21 Lts.  
(Industrias Steel de México)
- ✓ Bacticinerador  
(Oxford Labware Sherwood Medical)
- ✓ Balanza Analítica  
(Ohaus Corp., Pine Brook NJ)
- ✓ Balanza Granataria  
(Sartorius AG, Goettingen, Alemania)
- ✓ Bomba de vacío de 3/4 de H.P. modelo 42337  
(Dayton)
- ✓ Mufla Barnstead Thermolyne 1300  
(Modelo FB1315M, IOWA U.S.A.)
- ✓ Refrigerador Easy Modelo111 de 13 pies<sup>3</sup>  
(Easy)
- ✓ Contenedores de Teflón\* FEP de 250 mL con tapa de rosca no contaminante de Tefzel\* EFTE.  
(Nalge Nunc International, Rochester, NY)
- ✓ Tubos cónicos de polipropileno con tapa de rosca de poliestireno de alta densidad con capacidad de 50 mL.  
(Nalge Nunc International, Rochester, NY)
- ✓ Microfiltros Whatman\* de 1.5µm  
(Fisher Scientific, Pittsburg, PA)
- ✓ Sistema de microfiltración de vidrio Fisherbrand\*  
(Fisher Scientific, Pittsburg, PA)
- ✓ Matraces de aforación de 100 y 250 mL Pyrex\*  
(Corning, Corning, NY)



#### 1.1.4. Substancias

- ✓ Benceno 99%, ACS Reagent.  
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- ✓ Benceno 99.5%, ACS Reagent  
(Fluka Chemie GmbH, Buchs, Switzerland)
- ✓ Tolueno 99.8%, grado HPLC.  
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- ✓ Etilbenceno >98.0%, grado GC.  
(Fluka Chemie GmbH, Buchs Switzerland)
- ✓ Mezcla de xilenos 98.5+ %.  
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- ✓ *o*-Xileno 98%, grado HPLC.  
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- ✓ EMTB 99.8%, grado HPLC.  
(Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA)
- ✓  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Reactivo Analítico  
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)
- ✓  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  Reactivo Analítico, ACS  
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)
- ✓  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  Reactivo Analítico, ACS  
(Analytika de México, S.A. de C.V., Escobedo, México)
- ✓  $\text{NH}_4\text{Cl}$  Reactivo Analítico  
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)
- ✓  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  Reactivo Analítico  
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)
- ✓  $\text{NaCl}$  Reactivo Analítico, ACS  
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)
- ✓  $\text{FeCl}_3 \bullet 6 \text{H}_2\text{O}$  ACS Reagent  
(Fisher Scientific, Pittsburg, PA, USA.)
- ✓  $\text{MgSO}_4 \bullet 7 \text{H}_2\text{O}$  Reactivo Analítico  
(Merck México, S.A., Edo. de México, México)

- ✓ Tergitol NP-10  
(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.)
- ✓ H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85%, Reactivo Analítico  
(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)

### **1.1.5. Área de Experimentación**

- ✓ Bomba de aireación  
(Optima Hagen Corp.)
- ✓ Incubadora Fisher  
(Fisher Scientific, Pittsburg, PA)
- ✓ Centrífuga model J2M  
(Beckman Instruments, Inc. )
- ✓ Rotor 17  
(Beckman Instruments, Inc.)

## 2. Métodos

### 2.1. Aclimatación del inóculo con enriquecimiento de Diesel

Para aclimatar la biomasa a las condiciones deseadas, se tomó un litro de biomasa previamente aclimatada a gasolina, y se llevó hasta un volumen total de 8 litros con la adición de medio de BOD estéril, del cual su preparación está descrita en el Anexo A.

Para lograr las condiciones adecuadas de aclimatación, y tomando en cuenta que los procesos biológicos que son llevados a cabo son aerobios, a los reactores de aclimatación se les acopló una bomba de aire, agregándole a ésta una serie de tuberías de plástico para así asegurarnos de que el flujo de aire llegara hasta el fondo del reactor.

De igual manera, y para lograr completar el proceso de aclimatación de la biomasa, a los reactores de aclimatación se les agregó diariamente 200 mg/L de Diesel, siendo éste la única fuente de carbono disponible, obligando así a que los microorganismos fueran capaces de introducirla a su ruta metabólica.

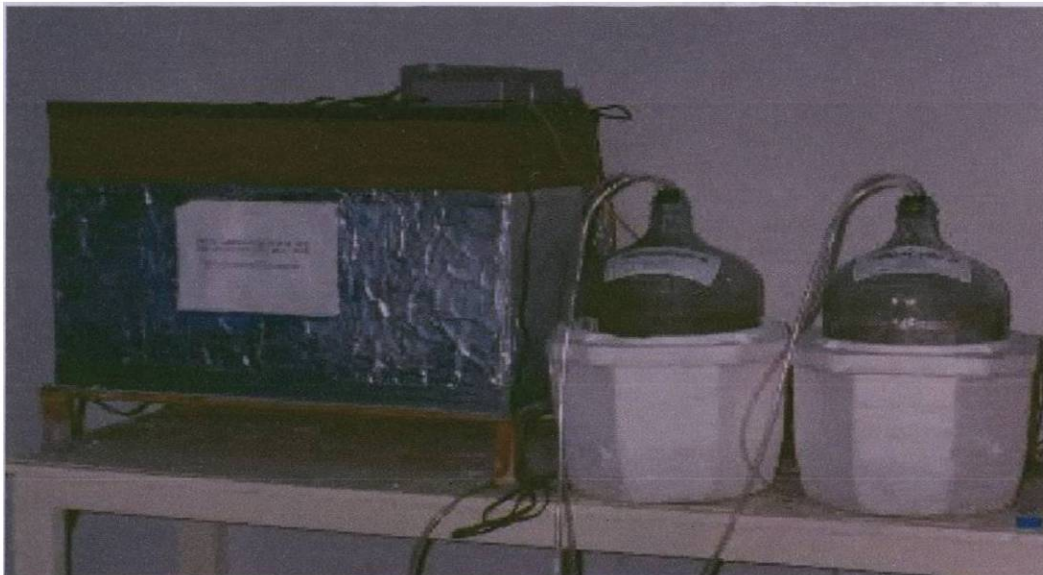


Fig. 10 Reactores de aclimatación

## 2.2. Mantenimiento de Reactores

Las condiciones del reactor permanecieron constantes para la óptima aclimatación de la biomasa a 200 mg/L de Diesel diarios. Las condiciones del reactor fueron las siguientes:

pH 7.0 (ajustando a este valor con NaOH en los casos que así se necesitó)

Volumen de medio 8 L de medio BOD (descrito en el Anexo A)

Flujo de aire 50 cc por segundo

Temperatura 18-23°C

Potencial Oxido Reducción: 640.95 mV

Oxígeno Disuelto: 3.16 mg/L



Fig. 11 Medidor de pH



Fig. 12 Reactor de 8 L

### 2.3. Condiciones del concentrador de muestras por purga y trampa

El concentrador de muestras de purga y trampa fue un Tekmar® LSC 2000. Se colocaron 5 mL de muestra en la purga (Fig. 13), la cual hacía pasar nitrógeno a 25°C por 10 minutos (Fig. 13), después de esto, se aplicó desorción a 225°C por 4 minutos y se calentó a 230°C por 6 minutos, después de los cuales se inyectó automáticamente la muestra al cromatógrafo.

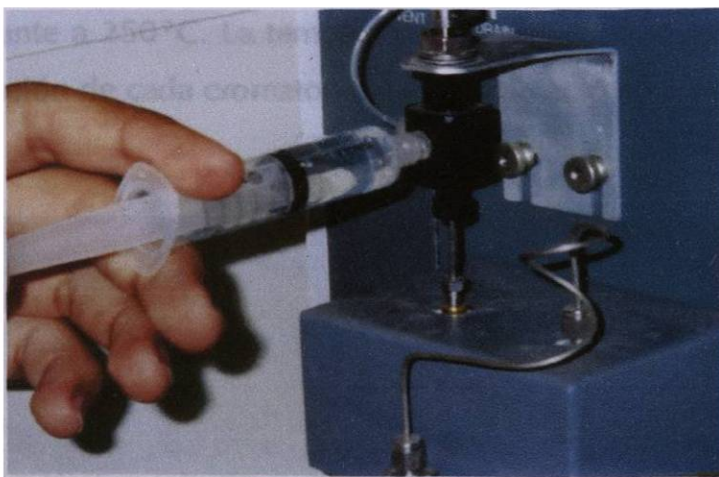


Fig. 13 Inyección de la muestra



Fig. 14 Concentrador de purga y trampa

## 2.4. Condiciones del cromatógrafo de gases

Las temperaturas de operación del cromatógrafo fueron, en la columna, 60°C la inicial por 30 minutos, después de los cuales se varió la temperatura a 10°C por minuto hasta 90°C y en este punto la temperatura se mantuvo por 13 minutos. Posteriormente, se hizo una rampa de temperatura de 30°C por minuto hasta alcanzar 150°C y en este punto se mantuvo la temperatura por dos minutos. El inyector se mantuvo en el modo split/splitless (1:20) y su temperatura se mantuvo constante a 250°C. La temperatura del detector se mantuvo constante a 300°C. La duración de cada cromatograma se estableció en 53 minutos.



Fig. 15 Cromatógrafo de gases adaptado a una purga y trampa

## 2.5. Curvas de calibración

Para poder analizar cuantitativamente los sustratos presentes en las muestras se realizó una curva de calibración para encontrar la relación entre el área de los cromatogramas y la concentración de los sustratos en los bioensayos.

Debido a que, la concentración de los BTEX y EMTB fue de 50 mg/L, las concentraciones de los estándares fueron de: 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de cada BTEX y EMTB en conjunto, para así poder abarcar el rango de concentraciones presentes en las muestras.

Los estándares se prepararon de la siguiente manera: en un matraz de aforación de 250 mL se llenó con agua destilada hasta la línea de aforación y mediante una jeringa de 10  $\mu$ L se inyectó la muestra dentro del agua, cuidando siempre que el matraz no estuviera destapado por mucho tiempo, el orden en el que se agregaron los sustratos fue el siguiente: benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno y finalmente EMTB (aunque es el más soluble en agua, también es el más volátil por lo cual era el último en ser añadido).

En la tabla 8 se muestra la cantidad añadida de cada sustrato para obtener las concentraciones deseadas:

Tabla 8 Preparación de estándares

Concentración	Benceno $\mu$ L	Tolueno $\mu$ L	Etilbenceno $\mu$ L	o-Xileno $\mu$ L	EMTB $\mu$ L
10 mg/L	3	3	3	3	3.4
20 mg/L	6	6	6	6	6.8
30 mg/L	9	9	9	9	10.2
40 mg/L	12	12	12	12	13.6
50 mg/L	15	15	15	15	17

Para solubilizar los sustratos en el medio se agitó vigorosamente el matraz de aforación por un tiempo aproximado de 10 a 15 minutos, después de añadir todos los BTEoX y el EMTB ya que de lo contrario se tendrían grandes pérdidas por volatilización al agitar en cada adición de los sustratos.

Después de preparados los estándares, se colocaron en viales de borosilicato aprobados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA), se tomaron 5 mL del estándar y se inyectaron en el concentrador de purga y trampa mediante una jeringa de plástico marca Terumo® de 10 mL.

Al obtener los cromatogramas, las áreas fueron identificadas para cada compuesto y posteriormente, se llevó a cabo el tratamiento de los datos, todo esto se realizó con el programa computacional de Excel®, en donde se graficaron las áreas de los cromatogramas contra las correspondientes concentraciones de los estándares, y así se obtuvo la gráfica de regresión lineal del tipo  $y = mx$  (con la intersección igual a cero). De la ecuación obtenida se despejó la variable "x" la cual representa la concentración en las muestras, y con esta nueva ecuación, se sustituyeron las áreas de los sustratos en las muestras para así obtener las concentraciones en los bioensayos cinéticos.



## 2.6. Preparación de los bioensayos cinéticos

- **Planeación de los bioensayos**

Para la realización de las 3 cinéticas de biodegradación de BTEoX y EMTB, se tomaron en cuenta los siguientes parámetros:

- ✓ **Tiempo total del bioensayo:** 54 horas.
- ✓ **Intervalos de muestreo:** Cada 6 horas.
- ✓ **Condiciones de incubación:** 30 °C a 200 r.p.m.
- ✓ **Concentración inicial de BTEoX y EMTB:** 50 mg/L.
- ✓ **Muestras:**
  - \* Control
  - \* Biomasa
  - \* Biomasa + Suelo (B + S)
  - \* Biomasa + Suelo + Surfactante (B + S + S)
  - \* Suelo
  - \* Suelo + Surfactante (S + S)

- **Preparación del medio concentrado**

Para la realización de las cinéticas de biodegradación se utilizó un medio de sales inorgánicas el cual se denominó medio concentrado y su preparación se describe en el Anexo B.

El medio salino es un buffer de fosfatos, el cual actuó como estabilizador del pH en los bioensayos manteniendo un pH de 7 en el cual se tuvo un desarrollo óptimo de la biomasa.

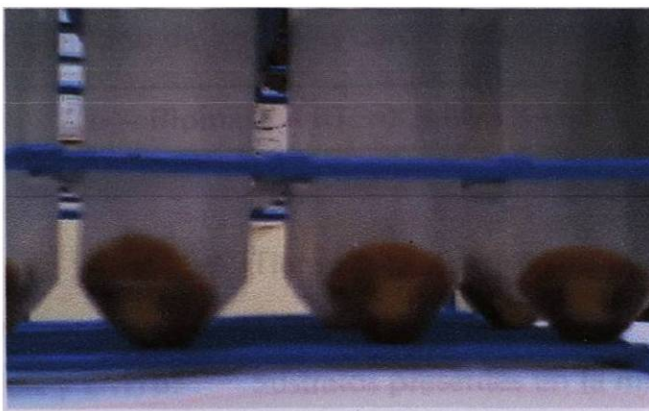
- **Preparación de la biomasa**

El lavado de la biomasa es un proceso indispensable en el desarrollo de las cinéticas de biodegradación, y esto es debido a que se lleva a cabo para así eliminar los contaminantes que puedan estar presentes en las muestras.

El proceso que se siguió se describe a continuación:

Dos días antes del lavado de la biomasa, se dejó de alimentar, para disminuir el riesgo de contaminación por los hidrocarburos. Del reactor de aclimatación, se tomaron 480 mL de licor madre y se pasaron a 12 tubos Falcon® con 40 mL cada uno, los cuales se centrifugaron por espacio de 10 minutos a 6000 r.p.m., se descartó el sobrenadante y se les agregaron 5 mL de medio concentrado estéril a cada tubo, para que se soltara la biomasa pegada en el fondo del tubo y se concentraron en 6 tubos Falcon®, completándolos a 40 mL, posteriormente se centrifugaron de nuevo, se resuspendieron y se reconcentraron en 2 tubos, al tener estos dos tubos, se volvieron a centrifugar, se descartó nuevamente el sobrenadante y se rellenaron los dos tubos hasta 40 mL con el medio concentrado estéril, esta operación se repitió dos veces más.

Con el tratamiento anterior se eliminó cualquier traza de hidrocarburos presentes en la biomasa y ésta se guardó a 5 °C hasta su utilización (no más de un periodo de tiempo mayor a 2 días).



**Fig. 16 Biomasa centrifugada**

- **Preparación de los viales**

Otro factor a cuidar dentro de la experimentación, es la preparación de los viales que van a contener las muestras, debido a que se debe de cuidar al máximo que no haya fugas, para que así nuestros resultados sean confiables, además de la correcta identificación de cada una de las muestras.

El procedimiento que se siguió para la preparación de los viales fue el siguiente:

- A cada uno de los viales, se le colocó en la rosca cinta de Teflon® (aproximadamente 6 vueltas), esto para evitar fugas.
- Cada uno de los viales fue etiquetado con una cinta especial, la cual es resistente a la humedad, cada tipo de muestra tenía un color diferente de cinta, además de su clave correspondiente:

* Cinta Blanca:	Control
* Cinta Verde:	Biomasa
* Cinta Verde Aqua:	Biomasa + Suelo
* Cinta Celeste:	Biomasa + Suelo + Surfactante
* Cinta Roja:	Suelo
* Cinta Amarilla:	Suelo + Surfactante

- La clave de cada uno de los viales contenía la siguiente información:

T<sub>12</sub> – Biomasa – BTEoX y EMTB - 50

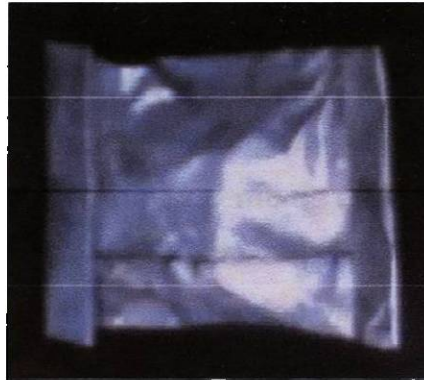
Donde:

- \* T<sub>12</sub>: Tiempo de muestreo (horas)
- \* Biomasa: Tipo de muestra
- \* BTEoX y EMTB: Sustratos presentes en la muestra
- \* 50: Concentración inicial de los sustratos (mg/L)

- **Preparación del suelo**

La preparación del suelo, fue otro paso definitivo para la realización de las cinéticas de biodegradación, debido a esto, se cuidaron factores como el tamaño de partícula y el considerar estéril el suelo, para esto se realizó lo siguiente:

El suelo utilizado en los bioensayos fue de tipo migajón arcilloso. Se tamizó la muestra de suelo a través de un tamiz de malla número 8, luego se prepararon sobres de aluminio, en los cuáles se les agregó 5 gramos del suelo tamizado. Los sobres se cerraron para evitar pérdidas y se sometieron a 3 ciclos de esterilización de 15 psi durante 15 minutos (Alfaro, 2002).



**Fig. 17 Sobre de aluminio con suelo estéril**

## **2.7. Montaje de las Cinéticas**

### **Preparación de medios para los bioensayos**

El medio mineral empleado en los bioensayos contenía 50 mg/L de cada BTEoX y 50 mg/L de EMTB, estos medios fueron preparados en un matraz de aforación de 250 mL, agregando las mismas cantidades de los sustratos y en el mismo orden que en la preparación de los estándares para la curva de calibración, solo que, en esta ocasión, se utilizó medio mineral concentrado en lugar de agua destilada.

En el caso de las muestras que contenían surfactante, se preparó una solución de 500 mg/L de Tergitol NP-10, en un matraz de aforación de 100 mL, agregando a éste, 50 mg de Tergitol NP-10, y agitando vigorosamente hasta la disolución completa del mismo; se dejó reposar la solución hasta que la espuma desapareciera, y después se tomaron 12.5 mL de ésta, se agregaron a un matraz de aforación de 250 mL, se completó el matraz hasta la marca y se le adicionaron los BTEoX y el EMTB, en las cantidades y el orden ya mencionado, y así se obtuvo el medio mineral con una concentración de 25 mg/L de Tergitol NP-10 y 50 mg/L de BTEoX y EMTB.

### **Muestras control**

Estas muestras se prepararon, solamente con la adición de 20 mL de medio con los sustratos y 2 gotas de ácido fosfórico concentrado, esto último, fue para obtener un pH de entre 2 y 3, para así evitar el crecimiento de microorganismos en las muestras. Después de haber sido adicionados el medio y el ácido, las muestras fueron agitadas, y posteriormente, las muestras de tiempo cero, se conservaron a una temperatura entre 3°C y 4°C por un período de una hora, y las demás muestras fueron colocadas en la incubadora.

### **Muestras con Biomasa**

Las muestras con biomasa contenían 20 mL de medio mineral con sustratos y dos mL de biomasa previamente concentrada, solo que a estas muestras no se les agregó ácido fosfórico concentrado, debido a que las condiciones óptimas de crecimiento de la biomasa fueron a pH=7. Después de haber sido adicionados el medio y la biomasa, las muestras fueron agitadas, y posteriormente, las muestras de tiempo cero, se conservaron a una temperatura entre 3°C y 4°C por un período de una hora, y las demás muestras fueron colocadas en la incubadora.

### **Muestras con Biomasa y Suelo**

Las muestras con biomasa y suelo se prepararon de la siguiente manera: al vial se le agregaron los 5 gramos de suelo estéril y enseguida se adicionaron los 20 mL de medio mineral con sustratos, después de esto se agregaron los 2 mL de biomasa concentrada y se cerró el vial inmediatamente. A estas muestras no se les agregó ácido fosfórico. Las muestras de tiempo cero se mantuvieron a una temperatura de entre 3°C y 4°C por un periodo de 1 hora, para su posterior análisis; el resto de las muestras se llevaron a incubación.

### **Muestras con Biomasa, Suelo y Surfactante**

Las muestras de biomasa, suelo y surfactante fueron preparadas de la siguiente manera: primero se agregaron los 5 gramos de suelo estéril, posteriormente los 20 mL de medio con surfactante y sustratos, y por último, los 2 mL de biomasa, y se cerró el vial inmediatamente. A estas muestras no se les agregó ácido fosfórico. Las muestras de tiempo cero se mantuvieron a una temperatura de entre 3°C y 4°C por un periodo de 1 hora, para su posterior análisis; el resto de las muestras se llevaron a incubación.

## **Muestras con Suelo**

Para el caso de las muestras que contenían suelo estéril, éste se agregó al vial antes de colocar los 20 mL de medio mineral con sustratos, después se añadieron 2 gotas de ácido fosfórico para evitar el crecimiento de microorganismos. Después de haber agregado el suelo, el medio y el ácido el vial se cerraba inmediatamente para evitar pérdidas por evaporación, en el caso de tiempos mayores a 0 estos eran llevado a incubación y en el caso de tiempo 0 las muestras se mantenían a de 3°C a 4°C por un periodo de 1 hora antes de su análisis.

## **Muestras con Suelo y Surfactante**

Para el caso de las muestras que contenían suelo estéril, éste se agregó al vial antes de colocar los 20 mL de medio mineral con surfactante y sustratos, después se añadieron 2 gotas de ácido fosfórico para evitar el crecimiento de microorganismos. Después de haber agregado el suelo, el medio y el ácido el vial se cerraba inmediatamente para evitar pérdidas por evaporación, en el caso de tiempos mayores a 0 estos eran llevados a incubación y en el caso de tiempo 0 las muestras se mantenían a de 3°C a 4°C por un periodo de 1 hora antes de su análisis.

## 2.8. Tratamiento de las muestras

Todas las muestras diferentes de tiempo cero, fueron incubadas a 30 °C con una agitación de 200 r.p.m. teniendo los siguientes tiempos de muestreos: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 y 54 horas.

Al cumplirse los intervalos de tiempo, las muestras eran retiradas del Shaker y colocadas en un baño de agua-hielo a una temperatura de 3-4°C por espacio de una hora, esto se hacia con el propósito de lograr que las fases líquida y gas llegaran a un equilibrio para así poder tomar una muestra representativa.

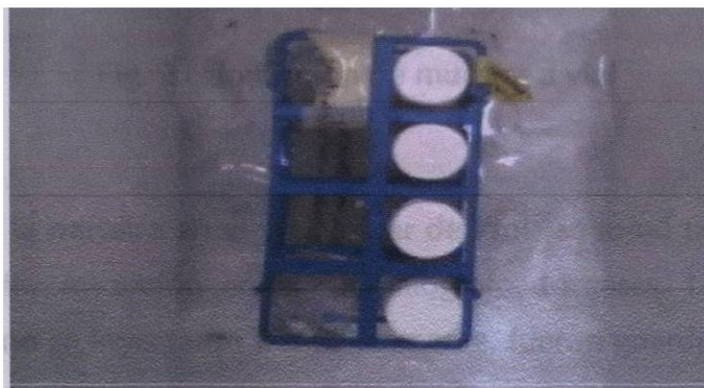


Fig. 18 Muestras en agua a 3-4°C

Después de que transcurrida la hora de reposo, se sacó el vial, con mucho cuidado de no agitarlo demasiado, y se tomaron 9 mL de la muestra con una jeringa de 10 mL marca Terumo®.



Fig. 19 Acrodiscos de 1µm

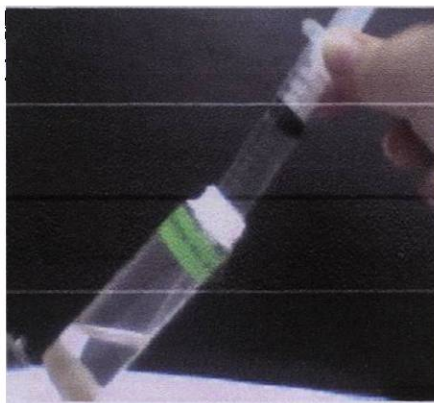


Fig. 20 Toma de muestra para filtrado



A la jeringa de 10 mL se le colocó un acrodisco de 1  $\mu\text{m}$ , para filtrar la muestra, evitando así que las partículas de suelo o de biomasa se pasaran a los viales ámbar de 7 mL con tapa horadada y septa.



Fig. 21 Inyección de muestra a vial ámbar

Al tener la muestra en el vial ámbar de 7mL, se tomó una muestra de 5 mL para su posterior inyección en el cromatógrafo de gases. Las muestras que se filtraron y que no se inyectaron inmediatamente, fueron guardadas de nuevo a una temperatura de 3-4°C.

## 2.9. Sólidos Suspendidos Volátiles

La determinación de sólidos suspendidos volátiles (SSV) indica cuanta biomasa está presente en los bioensayos experimentales, que a su vez representa la masa celular presente en el reactor de aclimatación. Los valores de esta determinación ayudaran a obtener las constantes cinéticas específicas de velocidad que presenten los bioensayos cinéticos.

Los SSV se determinaron siguiendo los métodos normalizados (Standard Methods, 1998). El método utilizado consistió en lo siguiente:

Se encendió la mufla a 550 °C y la estufa a 105 °C. Se armó el aparato de filtración marca Fisherbrand® acoplado a una bomba de vacío marca Dalton® (Fig. 15), y se colocó un filtro Whatman® con un poro de 1µm y se lavó con 10 mL de agua destilada tres veces, después, el filtro se colocó en un plato de aluminio marca Fisher® (tomandolo con pinzas) y se llevó a una mufla marca Barnstead® a una temperatura de 550°C por espacio de 15 minutos, para de esta manera eliminar cualquier tipo de SSV presentes en el filtro y en el plato.

Se dejó enfriar el filtro en un desecador por 10 minutos y después se pasó al aparato de filtración, posteriormente, se filtró un mililitro de biomasa en un con el filtro Whatman® (después de haber sido llevado a la mufla) y se lavó con 30 mL de agua destilada para eliminar la posible acumulación de sales; después de esto, se colocó el filtro nuevamente en el plato de aluminio marca Fisher® y se introdujo en una estufa marca Felisa® a una temperatura de 105°C por espacio de 60 minutos, de esta manera se eliminó el agua presente, se dejó enfriar y se llevó a peso constante, se reportó el peso (Peso 1) e inmediatamente después se colocó dentro de la mufla a 550°C en la cual permaneció 20 minutos; se dejó enfriar nuevamente y se llevó a peso constante para reportar el peso obtenido (Peso 2).

La masa celular seca es la diferencia entre el peso de la muestra deshidratada y la muestra calcinada en la mufla y las unidades se reportaron como mg/ mL.

Una vez obtenidos los pesos constantes del procedimiento, se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{mg de masa celular seca / L} = \frac{(\text{Peso 1} - \text{Peso 2}) \times 1000}{(\text{vol. de muestra en mL})}$$

Donde:

Peso 1 – peso en mg del plato de aluminio y del filtro con residuo después del secado a 105°C y antes del secado a 550°C

Peso 2 – peso en mg del plato de aluminio y del filtro con residuo después del secado a 550°C

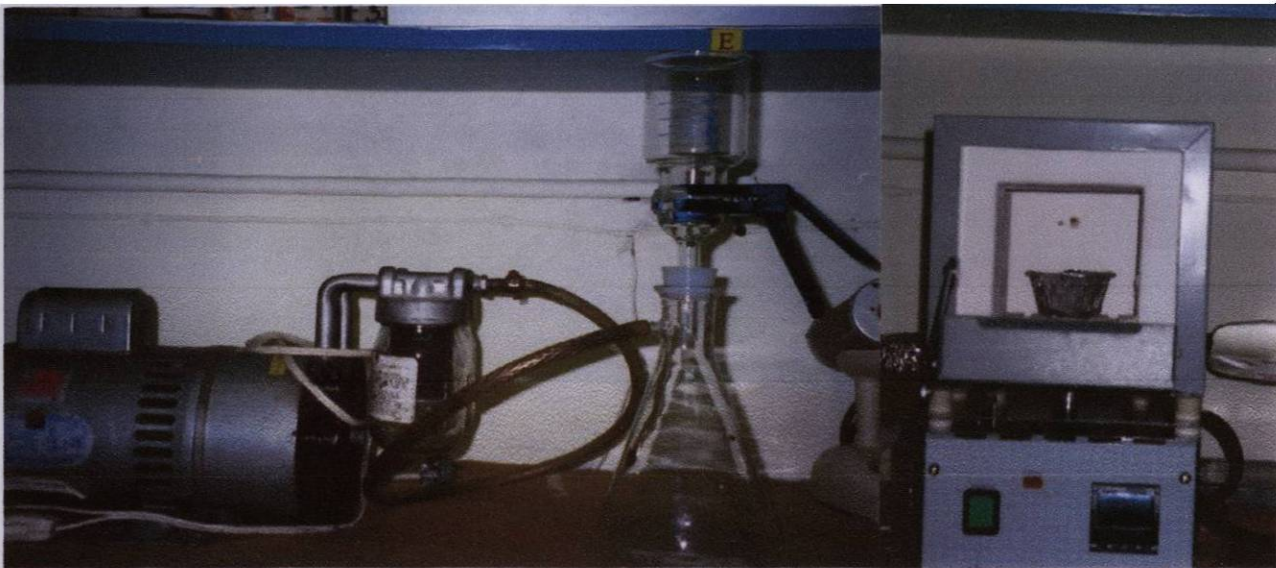


Fig. 22 Sistema de filtración a vacío y mufla

## 2.10. Obtención de los coeficientes adimensionales de Henry

La obtención de los coeficientes adimensionales de Henry nos dicen cual es el grado en el que se solubilizan los gases en un líquido, lo cual es de gran ayuda, ya que nos dice cuanto analito se encuentra en la fase vapor, y se podría estimar de esta manera cual es la cantidad de analito que se pierde por volatilización en los bioensayos experimentales.

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

Se prepararon estándares de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de los BTEoX y EMTB, de la misma forma que para la curva de calibración; estos se colocaron, cada uno en dos tubos Falcon® de 50 mL, llenando éstos a la mitad del su volumen. Se dejaron reposar las muestras por espacio de 10 minutos, se tomaron, de un tubo 5 mL de la fase líquida, y se inyectaron al concentrador de purga y trampa, posteriormente, se tomaron 10 mL de la fase gas (con una jeringa SGE de 10 mL, para líquidos y gases) del segundo tubo, perforando la tapa del mismo para tomar la muestra.

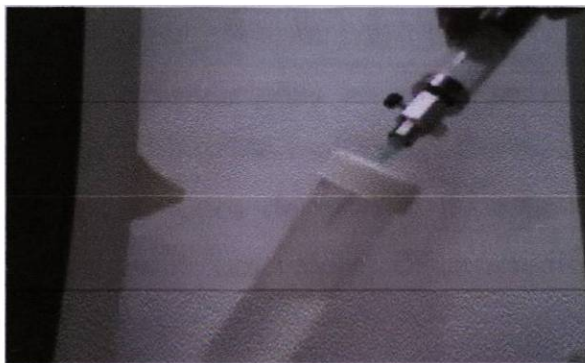


Fig. 23 Toma de muestra de la fase

La obtención de los coeficientes adimensionales de Henry fue mediante la relación de la concentración del analito analizado en la fase de vapor entre la concentración del analito presente en la fase líquida de la muestra.

## **2.11. Tratamiento de datos de las cinéticas**

### **\* Áreas de Cromatogramas**

Las áreas de los cromatogramas fueron obtenidas directamente del programa computacional, el cual indica el tiempo de retención y el área de cada pico de los sustratos presentes en las muestras. Los experimentos se hicieron por triplicado y cada área en los experimentos se registró para su conversión a mg/L.

### **\* Curva de calibración**

Las curvas de calibración fueron realizadas para cada uno de los sustratos con 5 estándares de 50 mg/L, 40 mg/L, 30 mg/L, 20 mg/L y 10 mg/L. Las áreas que resultaron de estas inyecciones se graficaron contra estas concentraciones y se obtuvo una ecuación del tipo  $y = mx$ , donde "y" es el área del pico del cromatograma y "x" es la concentración en mg/L.

### **\* Concentraciones en mg/L**

Para obtener las concentraciones en mg/L se utilizaron las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración realizadas. Las áreas de los cromatogramas se convirtieron en concentraciones de mg/L y de esta información de las tres réplicas se realizó un promedio. Los valores de promedio de las tres réplicas se utilizaron para las estimaciones.

### **\* Normalización de los resultados**

Las muestras a diferentes tiempos se dividieron entre las concentraciones a tiempo 0 de cada grupo de muestras.

De la concentración de BTEoX y EMTB a diferentes tiempos entre la concentración de estos sustratos a tiempo cero se expresó como  $C/Co$ .

Donde:

C = concentración de BTEoX y EMTB a tiempo "t"

Co = concentración de BTEoX y EMTB a tiempo 0

## **2.12. Obtención del efecto de la biodegradación de BTEoX y EMTB por la biomasa**

El efecto de la biodegradación de los sustratos por la biomasa se evaluó por medio de la relación de los valores de C/Co de las muestras que contenían únicamente biomasa contra los valores de C/Co de las muestras control. De esta manera, al relacionar las muestras que contenían biomasa con las muestras control se obtuvo el efecto de la biodegradación eliminando con esta relación, las pérdidas por fugas.

Efecto de la biodegradación =  $(CB/CoB)/CC/CoC$

Donde:

CB = concentración a tiempo t de las muestras que contenían únicamente biomasa

CoB = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían únicamente biomasa

CC = concentración a tiempo t de las muestras control

CoC = concentración a tiempo 0 de las muestras control.

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

## **2.13. Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa y el suelo**

Para evaluar la remoción de los efectos conjuntos de biodegradación y del fenómeno de partición agua - suelo de los sustratos se relacionó los valores de C/Co de las muestras que contenían suelo y biomasa contra los valores de C/Co de

las muestras control y de esta manera, se eliminaron los valores de pérdidas por fuga.

Evaluación del efecto de la remoción por la biomasa y el suelo =  
(CSB/CoSB)/CC/CoC)

Donde:

CSB = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa y suelo

CoSB = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa y suelo

CC = concentración a tiempo t de las muestras control

CoC = concentración a tiempo 0 de las muestras control

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

#### **2.14. Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa, el suelo y el Tergitol NP-10**

La evaluación de la remoción de los sustratos por efecto de la biomasa, el suelo y el surfactante, se obtuvo mediante la relación de los valores de C/Co de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante contra los valores de C/Co de las muestras control para eliminar la pérdida por fugas.

Efecto de la remoción por la biomasa, el suelo y el surfactante =  
(CSBS/CoSBS)/CC/CoC)

donde:

CSBS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

CoSBS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

CC = concentración a tiempo t de las muestras control

CoC = concentración a tiempo 0 de las muestras control

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

### **2.15. Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo en la biodegradación de los sustratos**

Debido a que en este apartado sólo se desea evaluar la eficiencia de la biomasa, fue necesario eliminar el efecto de la partición de los sustratos con el suelo, por lo que se realizó la relación de los valores de  $C/C_0$  de las muestras que contenían suelo y biomasa contra los valores de  $C/C_0$  de las muestras que contenían únicamente suelo; de esta manera se eliminaron los efectos de pérdidas por fuga y el efecto de la partición de los sustratos con el suelo.

Efecto de la remoción por la biomasa y el suelo =  $(CSB/CoSB)/CS/CoS$

Donde:

CSB = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa y suelo

CoSB = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa y suelo

CS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían únicamente suelo

CoS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían únicamente suelo

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

### **2.16. Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo y Tergitol NP-10 en la biodegradación de los sustratos**

Para evaluar únicamente el efecto de la biodegradación se estableció la relación de los valores de  $C/C_0$  de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante, contra los valores de  $C/C_0$  de las muestras que contenían suelo y surfactante, y de esta manera eliminar los efectos de fugas y partición bajo el efecto del surfactante.



Efecto de la remoción por la biomasa, el suelo y el surfactante =  
(CSBS/CoSBS)/CSS/CoSS)

Donde:

CSBS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

CoSBS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

CSS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían suelo y surfactante

CoSS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían suelo y surfactante

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

## **2.17. Partición de BTEoX y EMTB Agua : Suelo**

La evaluación de la partición de los sustratos entre el medio acuoso y el suelo se determinó estableciendo una relación de los valores de  $C/Co$  de las muestras que contenían suelo, contra los valores de  $C/Co$  de las muestras control para eliminar las pérdidas por fugas.

Evaluación del efecto de la partición de los sustratos agua - suelo =  
(CS/CoS)/CC/CoC)

donde:

CS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían únicamente suelo

CoS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían únicamente suelo

CC = concentración a tiempo t de las muestras control

CoC = concentración a tiempo 0 de las muestras control

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

## 2.18. Partición de BTEoX y EMTB Agua : Suelo en presencia de Tergitol NP-10

La evaluación de la partición de los sustratos entre el medio acuoso y el suelo, en presencia de un surfactante, se determinó realizando una relación de los valores de  $C/Co$  de las muestras que contenían suelo y surfactante contra los valores de  $C/Co$  de las muestras control para eliminar las pérdidas por fugas.

Evaluación del efecto de la partición de los sustratos agua - suelo =  $(CSS/CoSS)/CC/CoC$

donde:

CSS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían suelo y surfactante

CoSS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían suelo y surfactante

CC = concentración a tiempo t de las muestras control

CoC = concentración a tiempo 0 de las muestras control

Los valores obtenidos de la relación anterior se multiplicaron por 50 para obtener la concentración que teóricamente se tenía al inicio del experimento.

## 2.19. Efecto del surfactante en la disponibilidad de los sustratos

Para evaluar la acción del surfactante en la disponibilidad de los sustratos en muestras con matrices de suelo, se obtuvo la relación entre los valores de  $C/Co$  de las muestras que contenían suelo y surfactante contra los valores de  $C/Co$  de las muestras que contenían únicamente suelo. Así se eliminaron las pérdidas por fugas y la partición, obteniendo como resultado el fenómeno de disponibilidad de los sustratos, en presencia de suelo bajo el efecto del surfactante.

Evaluación del efecto del surfactante en la disponibilidad de sustratos =  $(CSS/CoSS)/CS/CoS$

Donde:

CSS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían suelo y surfactante

CoSS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían suelo y surfactante

CS = concentración a tiempo t de las muestras que contenían únicamente suelo

CoS = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían únicamente suelo

## 2.20. Cálculos de las constantes cinéticas globales para orden de reacción uno de doble compartimiento

En el caso de las constantes globales para orden de reacción uno de doble compartimiento, se obtuvieron dos constantes por cada reacción debido a que en las gráficas que siguen el orden de reacción uno de doble compartimiento se presentaron dos fases: la lenta que es aquella que presenta menor pendiente y la rápida que presenta una pendiente mayor.

El tratamiento numérico utilizado para estas ecuaciones fue el siguiente:  
Se obtuvieron dos fases en la recta que siguen la forma de orden de reacción uno.  
La ecuación de doble compartimiento utilizada es la siguiente:

$$S_t = S_1 \exp^{-K_1 t} + S_2 \exp^{-K_2 t} \quad (1)$$

Dónde:

$S_t$  = Concentración de sustrato a tiempo t, (mg/L)

$S_1$  = Concentración de sustrato en la primera fase a tiempo cero, (mg/L)

$S_2$  = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo cero, (mg/L)

$K_1$  = Constante cinética global de la primera fase, (h<sup>-1</sup>)

$K_2$  = Constante cinética global de la segunda fase, (h<sup>-1</sup>)

k = Constante de velocidad específica h<sup>-1</sup>(mg/L)-1VSS

t = time (h)

## 2.21. Cálculos de las constantes cinéticas globales para orden de reacción cero

Los valores de las constantes cinéticas globales para el orden de reacción cero se obtuvieron mediante una gráfica de las concentraciones contra tiempo, de tal manera que la ecuación que sigue la recta es:

$$S_t = - Kt + S_0 \quad (2)$$

Donde:

$S_t$  = Concentración del sustrato a tiempo  $t$

$K$  = Constante cinética global

$t$  = Tiempo

$S_0$  = Concentración teórica a tiempo 0.

## 2.22. Cálculos de las constantes cinéticas específicas

Eckenfelder (1989) menciona que las constantes específicas de reacción son el resultado de la relación de las constantes globales con la masa celular volátil para cada tiempo debido a los cambios en el valor de la masa celular presente en la muestra.

Por lo tanto y debido a que los tiempos de evaluación de las cinéticas realizadas fueron muy cortos y que la cantidad de masa celular presente en cada muestra fue muy alta, se asumió que los incrementos debidos al crecimiento de la masa celular volátil no son significativos por lo cual la obtención de las constantes específicas fue el valor de la división de las constantes globales en relación con la masa celular volátil añadida al inicio del experimento. Esto es:

$$k = K/SSV$$

Donde:

$K$  = Constante global

$k$  = Constante cinética específica

$SSV$  = Masa celular volátil

## IV.- Resultados y discusiones

### 1. Curvas de calibración

A continuación se presentan las dos curvas de calibración para cada analito, las cuales fueron utilizadas para el tratamiento de las áreas de los cromatogramas, para así obtener las concentraciones de los analitos en los bioensayos cinéticos.

#### 1ª Curva de calibración

✓ Benceno

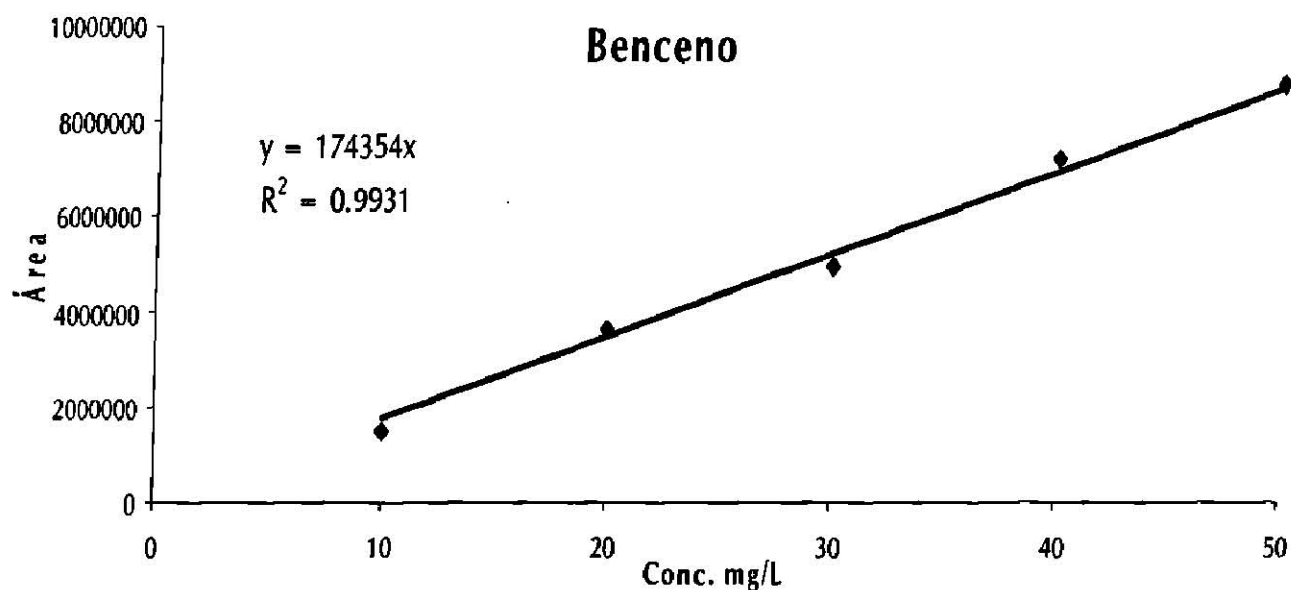


Fig. 24. Curva de calibración de Benceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en

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

$$y = 174354x$$

$$R^2 = 0.9931$$

✓ Tolueno

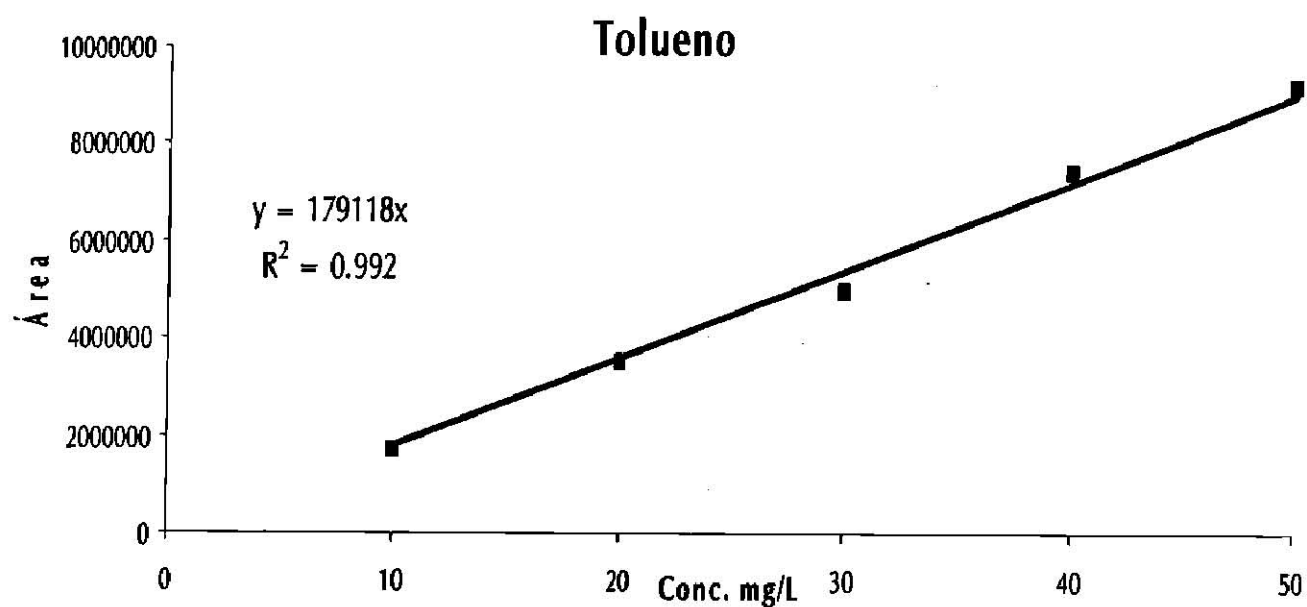


Fig. 25. Curva de calibración de Tolueno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en

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

$$y = 179118x$$

$$R^2 = 0.992$$

✓ Etilbenceno

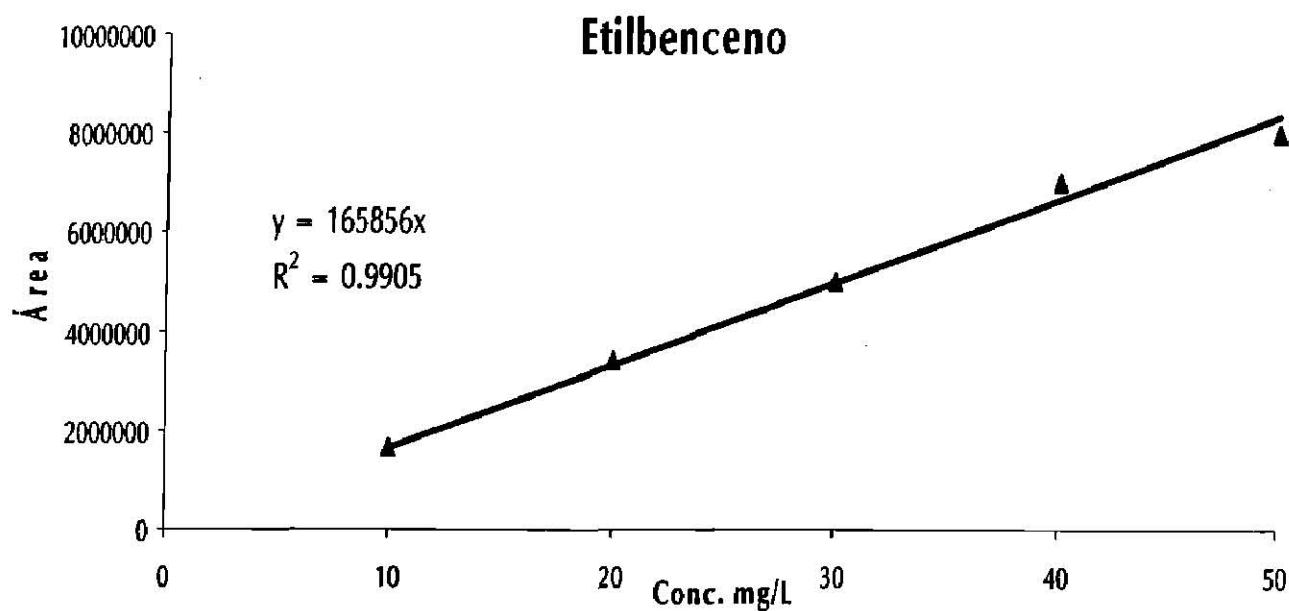


Fig. 26. Curva de calibración de Etilbenceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en

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

$$y = 179118x$$

$$R^2 = 0.9905$$

✓ o-Xileno

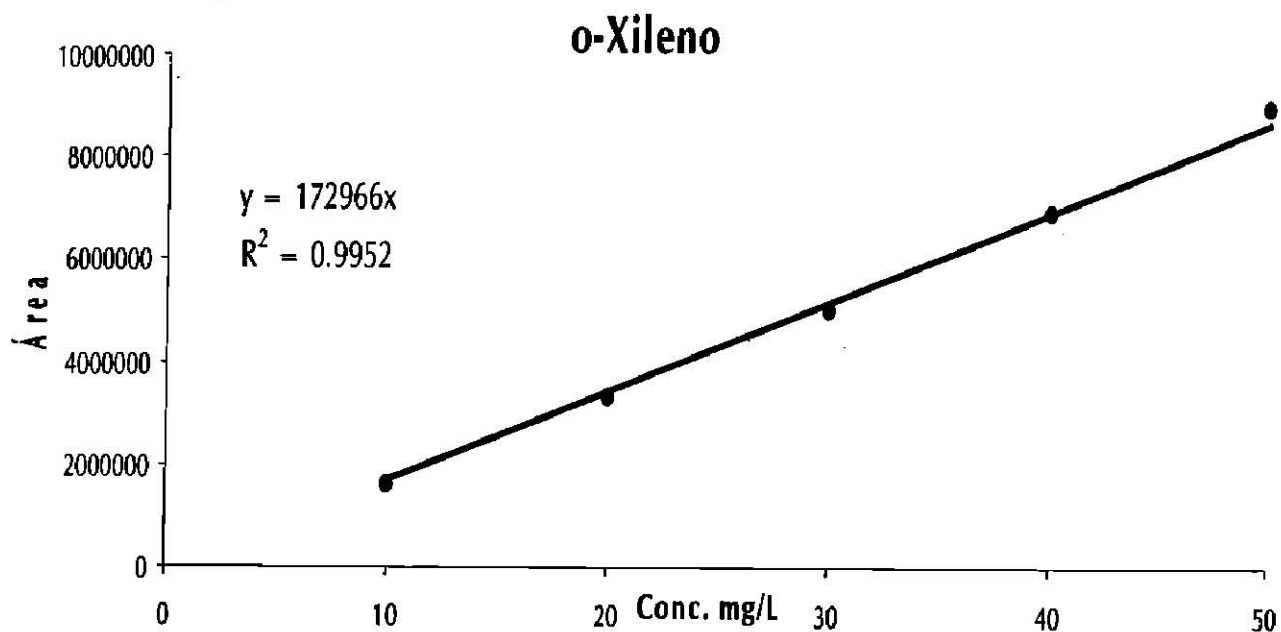


Fig. 27. Curva de calibración de o-xileno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 172966x$$

$$R^2 = 0.9952$$



✓ EMTB

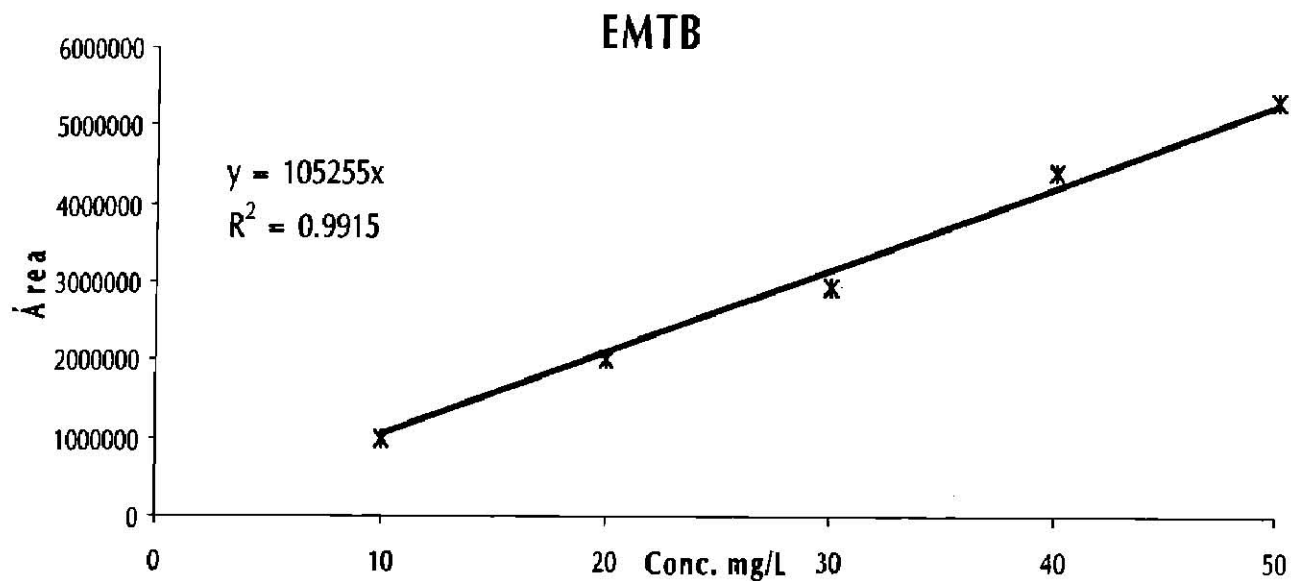


Fig. 28. Curva de calibración de EMTB, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 105255x$$

$$R^2 = 0.9915$$

## 2<sup>da</sup> Curva de calibración

✓ Benceno

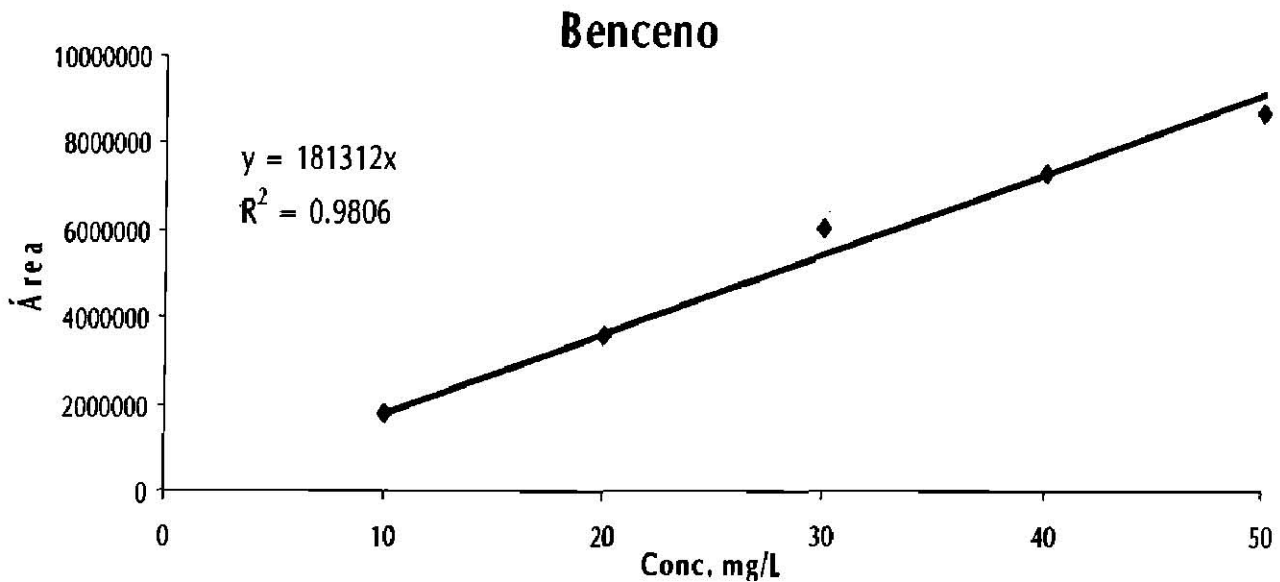


Fig. 29. Curva de calibración de Benceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en

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

$$y = 181312x$$

$$R^2 = 0.9806$$

✓ Tolueno

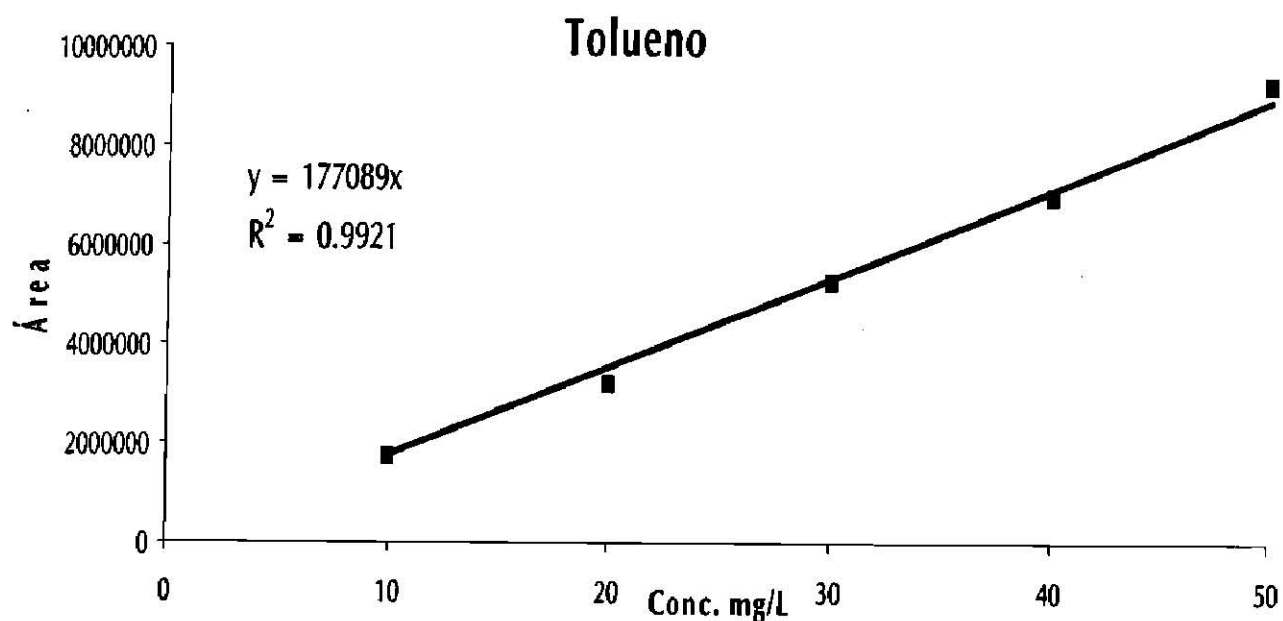


Fig. 30. Curva de calibración de Tolueno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en

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

$$y = 177089x$$

$$R^2 = 0.9921$$

✓ Etilbenceno

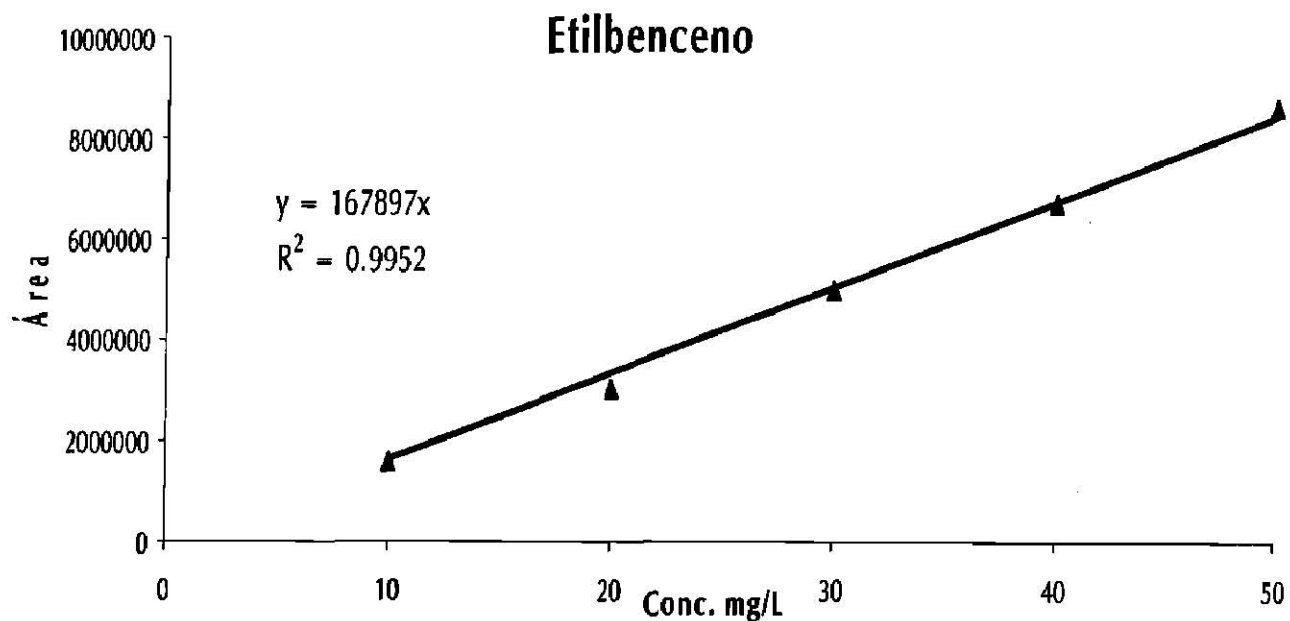


Fig. 31. Curva de calibración de Etilbenceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en

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

$$y = 167897x$$

$$R^2 = 0.9952$$

✓ o-Xileno

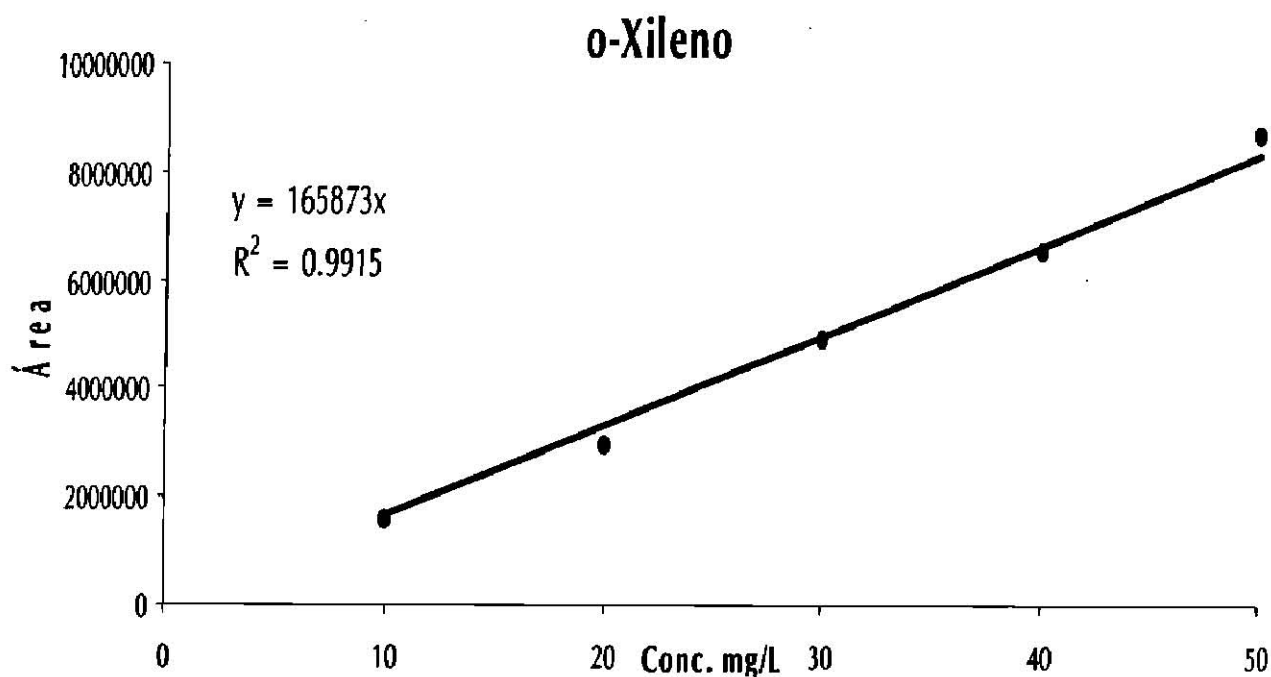


Fig. 32. Curva de calibração de o-xileno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 165873x$$

$$R^2 = 0.9915$$

✓ EMTB

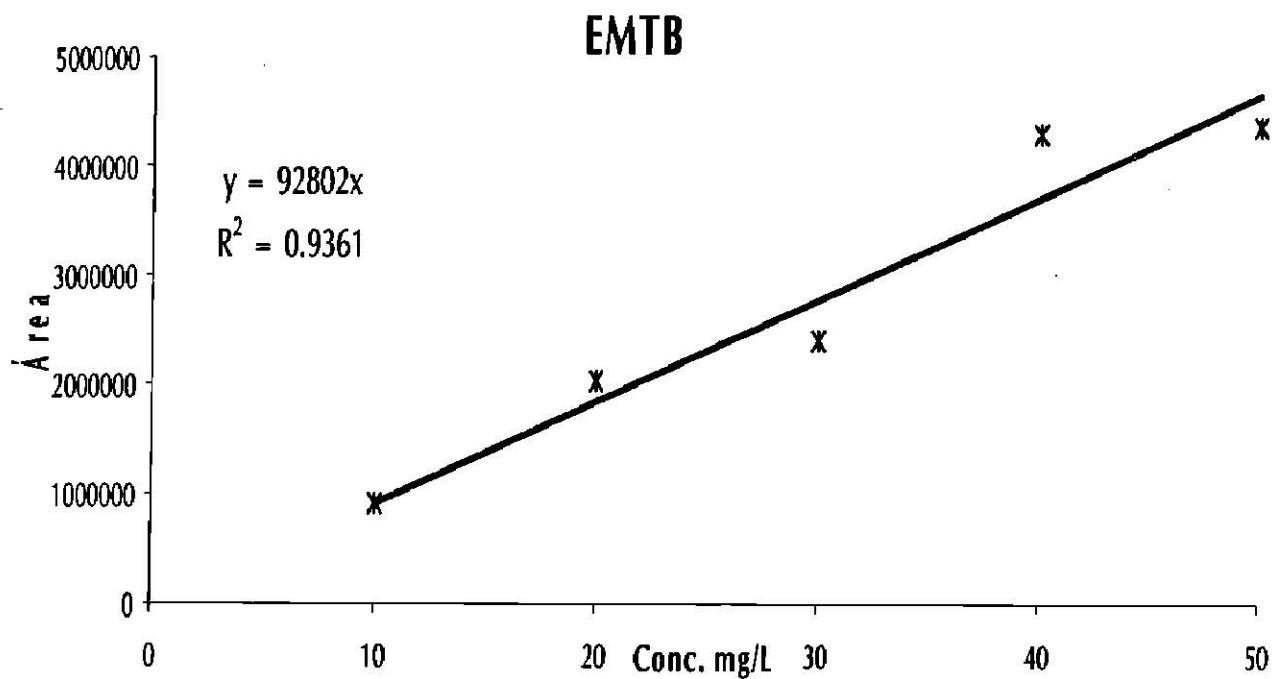


Fig. 33. Curva de calibración de EMTB, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 92802x$$

$$R^2 = 0.9361$$

## **2. Efectos de partición**

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

Las concentraciones a diferentes tiempos reportadas en el Anexo J para las muestras control, muestras de suelo y muestras de suelo y Tergitol NP-10 se dividieron entre su concentración inicial a tiempo cero, de esta manera se eliminan las posibles pérdidas ocasionadas por fugas en los bioensayos cinéticos (Tabla 9, 10 y 11). La evaluación de la partición de los BTEoX y EMTB en las muestras de suelo y en las muestras de suelo y surfactante se realizó dividiendo los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían suelo y suelo mas Tergitol NP-10 por los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tablas 12 y 13). Estos resultados se graficaron para su posterior análisis.

Tabla. 9. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras control a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	0.93	0.95	0.96	0.96	0.97
12	0.90	0.90	0.93	0.93	0.96
18	0.89	0.88	0.92	0.91	0.93
24	0.87	0.87	0.88	0.88	0.91
30	0.86	0.86	0.87	0.87	0.88
36	0.86	0.85	0.85	0.85	0.88
42	0.83	0.83	0.85	0.84	0.87
48	0.83	0.80	0.81	0.83	0.85
54	0.79	0.77	0.79	0.80	0.83

Tabla. 10. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con 5 gramos de suelo estéril a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	0.96	0.97	0.94	0.94	0.98
12	0.94	0.95	0.89	0.92	0.91
18	0.89	0.90	0.81	0.80	0.89
24	0.86	0.88	0.78	0.77	0.88
30	0.85	0.86	0.76	0.75	0.87
36	0.83	0.84	0.75	0.72	0.85
42	0.82	0.80	0.74	0.72	0.82
48	0.80	0.79	0.72	0.70	0.81
54	0.75	0.74	0.69	0.66	0.80



Tabla. 11. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEox y EMTB en las muestras con 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP-10 a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	0.96	0.93	0.94	0.95	0.97
12	0.90	0.90	0.90	0.93	0.94
18	0.89	0.86	0.88	0.90	0.90
24	0.87	0.84	0.83	0.85	0.89
30	0.85	0.81	0.79	0.83	0.89
36	0.85	0.79	0.77	0.77	0.87
42	0.82	0.77	0.74	0.77	0.84
48	0.79	0.76	0.72	0.75	0.82
54	0.76	0.74	0.72	0.70	0.80

Tabla. 12. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 10 entre los valores de la Tabla 9.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	1.04	1.02	0.98	0.98	1.01
12	1.04	1.05	0.95	0.99	0.95
18	1.00	1.03	0.87	0.88	0.95
24	0.99	1.01	0.88	0.88	0.97
30	0.98	1.00	0.88	0.87	0.99
36	0.97	0.99	0.88	0.85	0.97
42	0.99	0.96	0.88	0.85	0.94
48	0.96	0.98	0.90	0.84	0.95
54	0.96	0.96	0.88	0.83	0.96

De los datos de la tabla 12 se obtiene la siguiente figura:

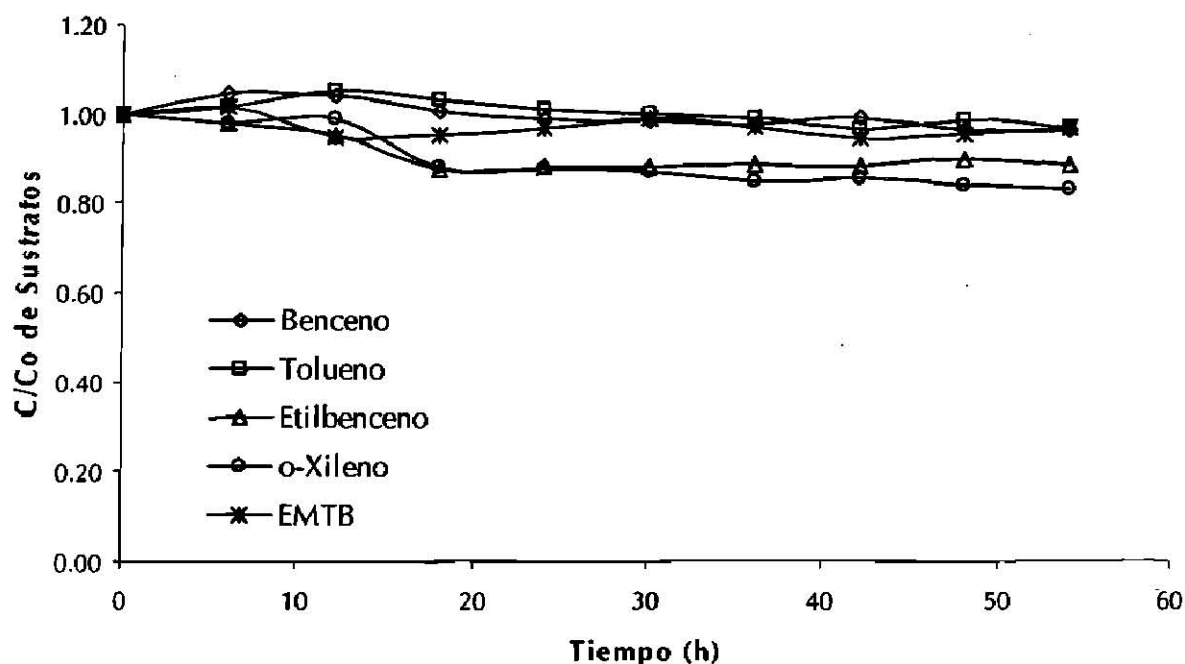


Fig. 34. Evaluación de la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB de las muestras de suelo

Tabla. 13. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 11 entre los valores de la Tabla 9.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	1.03	0.98	0.98	0.99	1.01
12	1.01	0.99	0.97	1.00	0.98
18	1.01	0.98	0.95	1.00	0.96
24	0.99	0.97	0.95	0.97	0.98
30	0.98	0.94	0.92	0.96	1.01
36	0.98	0.93	0.90	0.91	0.99
42	0.99	0.92	0.88	0.91	0.96
48	0.95	0.95	0.90	0.90	0.97
54	0.96	0.96	0.91	0.87	0.96

De los datos de la tabla 13 se obtiene la siguiente figura:

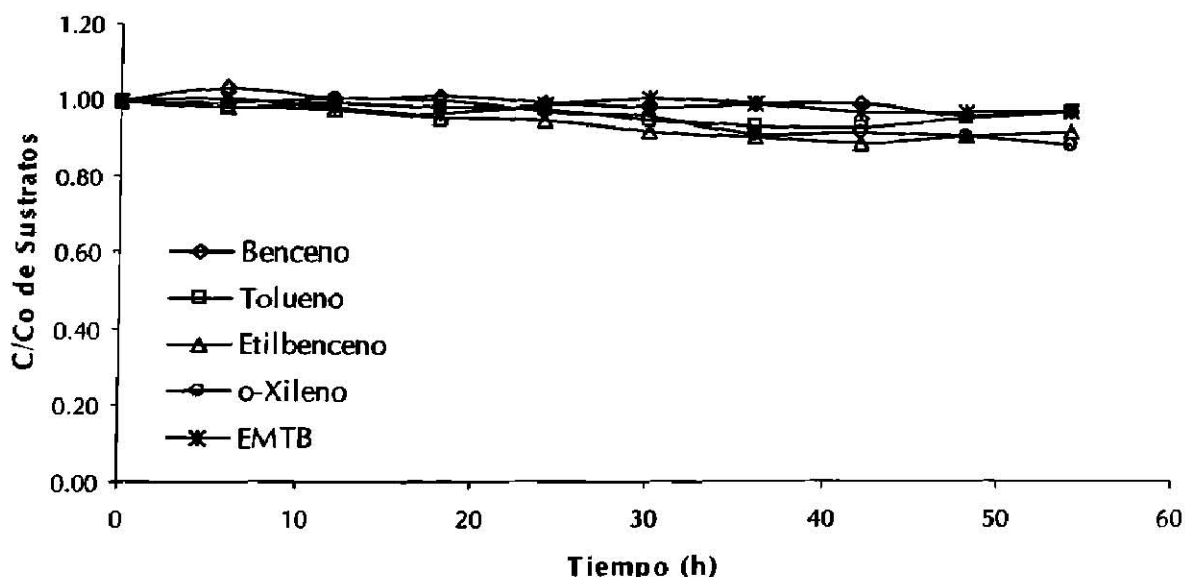


Fig. 35. Evaluación de la partición agua:suelo de los BTEoX y EMTB de las muestras de suelo y surfactante

En la figura 34, se observa que en presencia de 5 gramos de suelo estéril, la concentración de los BTEoX no se ve afectada, y esto puede ser debido a que al agregar el medio con los sustratos a las muestras de suelo, este haya adsorbido a los BTEoX antes de ser inyectados al cromatógrafo, estos datos se muestran en el Anexo J sección 1.5, donde se observa que a tiempo cero, la concentración de los BTEX ha disminuido casi en un 25%, pero después de ese punto, la concentración en solución no se ve tan afectada por la presencia del suelo; mientras que la concentración del EMTB no se ve afectada a tiempo cero, pero se observa un efecto no tan marcado en los tiempos subsecuentes.

Villarreal-Chiu, (2003), muestra que el suelo tiene un efecto en la remoción de los BTEoX de alrededor de un 50% y un 20% para el EMTB al paso de 36 horas, estos resultados coinciden con los reportados por Gracia-Lozano, (2004), los cuales

también muestran una remoción de cerca del 50% para los BTEoX, pero para el EMTB, muestra un 44% de repartición en el suelo.

En la presencia de suelo y surfactante este efecto fue muy parecido al anterior, debido a que de nuevo, los BTEoX a tiempo cero tienen un cambio en su concentración inicial (Anexo J, sección 1.6), sólo que en este caso el efecto del surfactante provocó que las concentraciones finales del Etilbenceno y del o-xileno se mantuvieran un poco por encima de las reportadas en las muestras con suelo (2% y 4% respectivamente); mientras que el EMTB no se vió afectado en su concentración en solución (Figura 35).

Gracia-Lozano, (2004), reporta que para las muestras con 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP-10, los BTEoX se mantienen en la fase acuosa, alrededor de un 50% y el EMTB en un 75%, mientras que Villarreal-Chiu, (2003), reporta que los BTEoX se mantienen casi en un 100% en solución acuosa y el EMTB se mantiene en un 93% en la misma, observando así que el surfactante ayuda a que los BTEoX y el EMTB se mantengan en dicha fase.

El efecto de adsorción mostrado en los resultados reportados en este trabajo puede deberse a que el suelo utilizado fue el mismo que el de los trabajos de Villarreal-Chiu, (2003) y Gracia-Lozano, (2004), solo que, éste suelo ya contaba con un tiempo de 2 años, lo cual pudo provocar que éste se secase y absorbiera los contaminantes presentes en los bioensayos cinéticos, en los tiempos iniciales, provocando así, que al paso del tiempo, las concentraciones de los sustratos no mostraran un efecto tan marcado, debido a que los huecos provocados por la sequedad del suelo, ya estaban ocupados por el medio con los sustratos.

Para evaluar la eficiencia de la actividad del Tergitol NP-10 sobre la partición agua:suelo de los BTEoX y el EMTB, se dividieron los valores de la Tabla 10 entre los valores de la Tabla 11. Los resultados se presentan en la Tabla 14.

Tabla. 14. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 10 entre los valores de la Tabla 11.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	0.99	0.96	1.00	1.02	0.99
12	0.96	0.95	1.02	1.01	1.03
18	1.01	0.95	1.09	1.13	1.01
24	1.00	0.96	1.07	1.11	1.02
30	1.00	0.94	1.05	1.10	1.02
36	1.01	0.94	1.02	1.07	1.02
42	1.00	0.96	1.00	1.07	1.02
48	0.99	0.96	1.00	1.07	1.01
54	1.01	1.00	1.03	1.06	1.00

De los datos de la tabla 14 se obtiene la figura 35

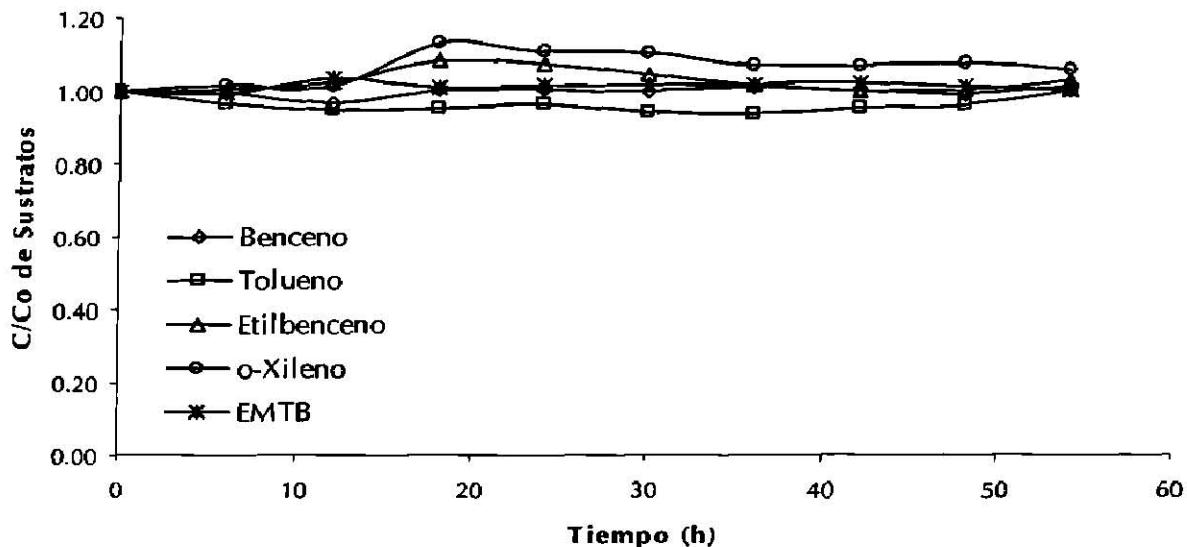


Fig.

36. Evaluación de la eficiencia del Tergitol NP-10 sobre los BTEoX y EMTB

En la figura 36 se observa que el Tergitol NP-10 no tiene un efecto muy marcado en las muestras con los sustratos, ya que el benceno, tolueno y EMTB, permanecen en porcentaje similar a la solución acuosa, en tanto que para el etilbenceno y el o-xileno solamente se incrementan en un 3% y 4% respectivamente, debido quizás, al efecto antes mencionado de absorción de los sustratos por el suelo a tiempo cero.

### **3. Constantes cinéticas globales de velocidad**

Dentro del tratamiento que se le dio a los datos de esta investigación, se encuentra el determinar las constantes cinéticas de biodegradación de cada uno de los BTEoX y EMTB, tomando en cuenta las muestras que contenían biomasa, en este caso serían las muestras de: Biomasa, Biomasa + Suelo y Biomasa + Suelo + Tergitol NP-10. Las constantes cinéticas de biodegradación representan la velocidad a la cual se lleva a cabo el proceso de eliminación de los BTEoX y EMTB en el sistema estudiado.

Para hacer estas determinaciones, se necesitan los valores de las relaciones de las concentraciones de las muestras antes mencionadas.

Tabla. 15. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras control a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Benceno C/Co</b>	<b>Tolueno C/Co</b>	<b>Etilbenceno C/Co</b>	<b>o-Xileno C/Co</b>	<b>EMTB C/Co</b>
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6	0.93	0.95	0.96	0.96	0.97
12	0.90	0.90	0.93	0.93	0.96
18	0.89	0.88	0.92	0.91	0.93
24	0.87	0.87	0.88	0.88	0.91
30	0.86	0.86	0.87	0.87	0.88
36	0.86	0.85	0.85	0.85	0.88
42	0.83	0.83	0.85	0.84	0.87
48	0.83	0.80	0.81	0.83	0.85
54	0.79	0.77	0.79	0.80	0.83

Tabla. 16. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con Biomasa a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.918	0.945	0.854	0.957	0.959
12	0.885	0.888	0.713	0.922	0.941
18	0.866	0.853	0.610	0.890	0.906
24	0.843	0.837	0.499	0.860	0.873
30	0.829	0.823	0.422	0.843	0.841
36	0.643	0.799	0.357	0.821	0.828
42	0.437	0.204	0.154	0.806	0.812
48	0.306	0.046	0.058	0.732	0.784
54	0.203	0.010	0.022	0.645	0.757

Tabla. 17. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con Biomasa y Suelo a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.916	0.885	0.826	0.937	0.960
12	0.878	0.779	0.688	0.892	0.947
18	0.856	0.702	0.588	0.852	0.918
24	0.830	0.646	0.323	0.814	0.890
30	0.812	0.595	0.190	0.788	0.862
36	0.628	0.543	0.111	0.759	0.854
42	0.466	0.301	0.066	0.724	0.843
48	0.355	0.143	0.038	0.688	0.820
54	0.258	0.068	0.022	0.633	0.796



Tabla. 18. Valores de la relación de los promedios de las concentraciones de BTEoX y EMTB en las muestras con Biomasa, Suelo y Tergitol NP-10 a diferentes tiempos, divididas entre sus concentraciones iniciales.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Benceno C/Co</b>	<b>Tolueno C/Co</b>	<b>Etilbenceno C/Co</b>	<b>o-xileno C/Co</b>	<b>EMTB C/Co</b>
0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.917	0.931	0.831	0.931	0.958
12	0.882	0.859	0.681	0.880	0.938
18	0.863	0.812	0.573	0.834	0.903
24	0.839	0.783	0.333	0.790	0.869
30	0.823	0.756	0.192	0.759	0.836
36	0.617	0.441	0.111	0.725	0.822
42	0.417	0.203	0.065	0.699	0.805
48	0.290	0.091	0.036	0.596	0.777
54	0.191	0.041	0.021	0.481	0.749

### 3.1. Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de los BTEoX y el EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel

Para evaluar la biodegradación de los BTEoX y el EMTB fue necesario dividir los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras que contenían solamente biomasa (Tabla 16), entre los valores obtenidos de la eliminación de fugas de las muestras control (Tabla 15). De esta forma se obtuvieron los resultados de la Tabla 19.

Tabla. 19. Valores de la relación de las muestras de la Tabla 16 entre los valores de la Tabla 15.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.992	0.993	0.893	0.996	0.993
12	0.984	0.983	0.768	0.989	0.983
18	0.974	0.973	0.660	0.983	0.973
24	0.966	0.963	0.567	0.976	0.963
30	0.958	0.953	0.488	0.970	0.954
36	0.749	0.943	0.419	0.964	0.944
42	0.525	0.245	0.182	0.957	0.934
48	0.368	0.057	0.072	0.877	0.924
54	0.258	0.013	0.028	0.806	0.914

Los valores obtenidos en la Tabla 19, se les multiplicó por 50, para así poder obtener la concentración teórica de los sustratos, dichos valores se muestran en la Tabla 20.

Tabla. 20. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Conc. Benceno (mg/L)	Conc. Tolueno (mg/L)	Conc. Etilbenceno (mg/L)	Conc. o-xileno (mg/L)	Conc. EMTB (mg/L)
0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
6	49.6	49.6	44.7	49.8	49.6
12	49.2	49.1	38.4	49.5	49.2
18	48.7	48.6	33.0	49.1	48.7
24	48.3	48.1	28.4	48.8	48.2
30	47.9	47.6	24.4	48.5	47.7
36	37.5	47.2	21.0	48.2	47.2
42	26.3	12.3	9.1	47.9	46.7
48	18.4	2.9	3.6	43.8	46.2
54	12.9	0.7	1.4	40.3	45.7

A los resultados obtenidos se les aplicó el logaritmo natural para así obtener los datos de la Tabla 21, excepto al EMTB, el cual se graficó directamente su concentración contra el tiempo.

Tabla. 21. LN de la concentración teórica de los sustratos de las muestras con biomasa.

Tiempo (h)	Benceno LN Conc.	Tolueno LN Conc.	Etilbenceno LN Conc.	o-xileno LN Conc.
0	3.912	3.912	3.912	3.912
6	3.904	3.905	3.799	3.908
12	3.896	3.894	3.648	3.901
18	3.886	3.884	3.497	3.895
24	3.877	3.874	3.345	3.888
30	3.869	3.864	3.194	3.882
36	3.623	3.854	3.043	3.875
42	3.268	2.506	2.209	3.868
48	2.913	1.054	1.278	3.781
54	2.558	-0.398	0.347	3.697

### 3.1.1. Evaluación del benceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del benceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente grafica, en la que se puede observar la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

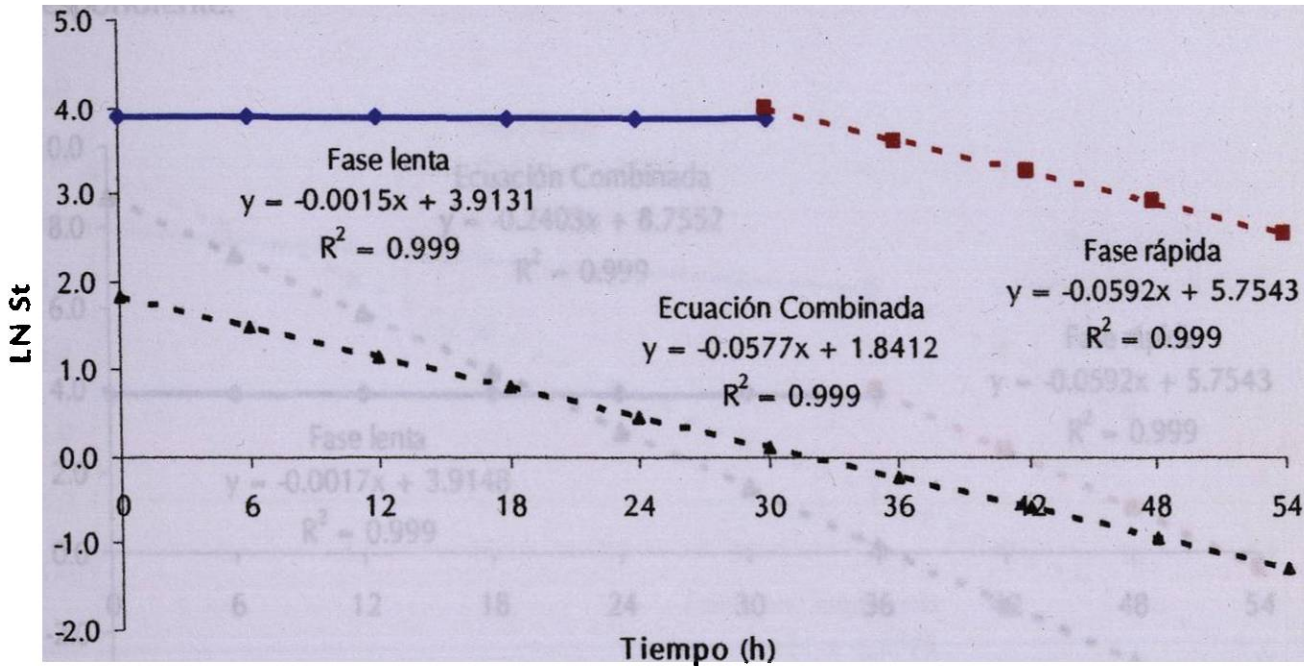


Fig. 37. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.1.2. Evaluación del tolueno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del tolueno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, es la que se puede observar el quiebre de la misma, lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

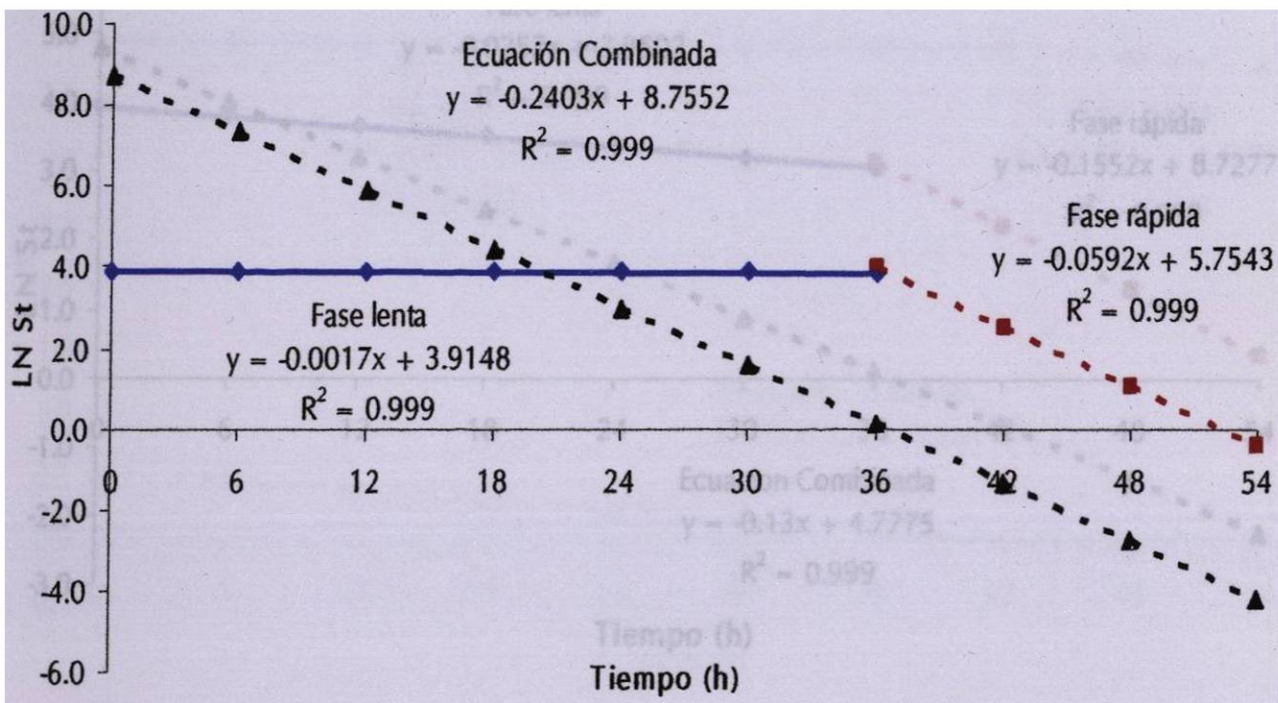


Fig. 38. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.1.3. Evaluación del etilbenceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del etilbenceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, es la que se puede observar el quiebre de la misma lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

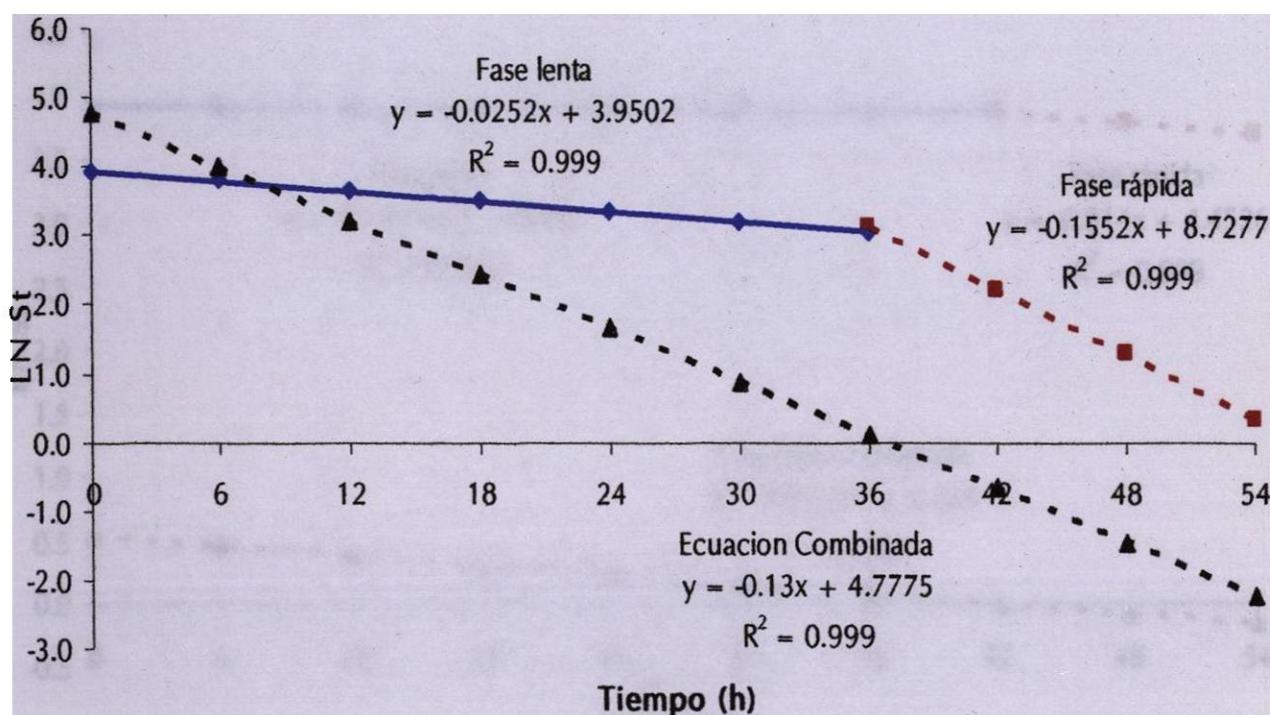


Fig.39. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.1.4. Evaluación del o-xileno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del o-xileno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa muy claramente la presencia de la doble fase, pero al hacer el análisis se observó que se presenta este efecto, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

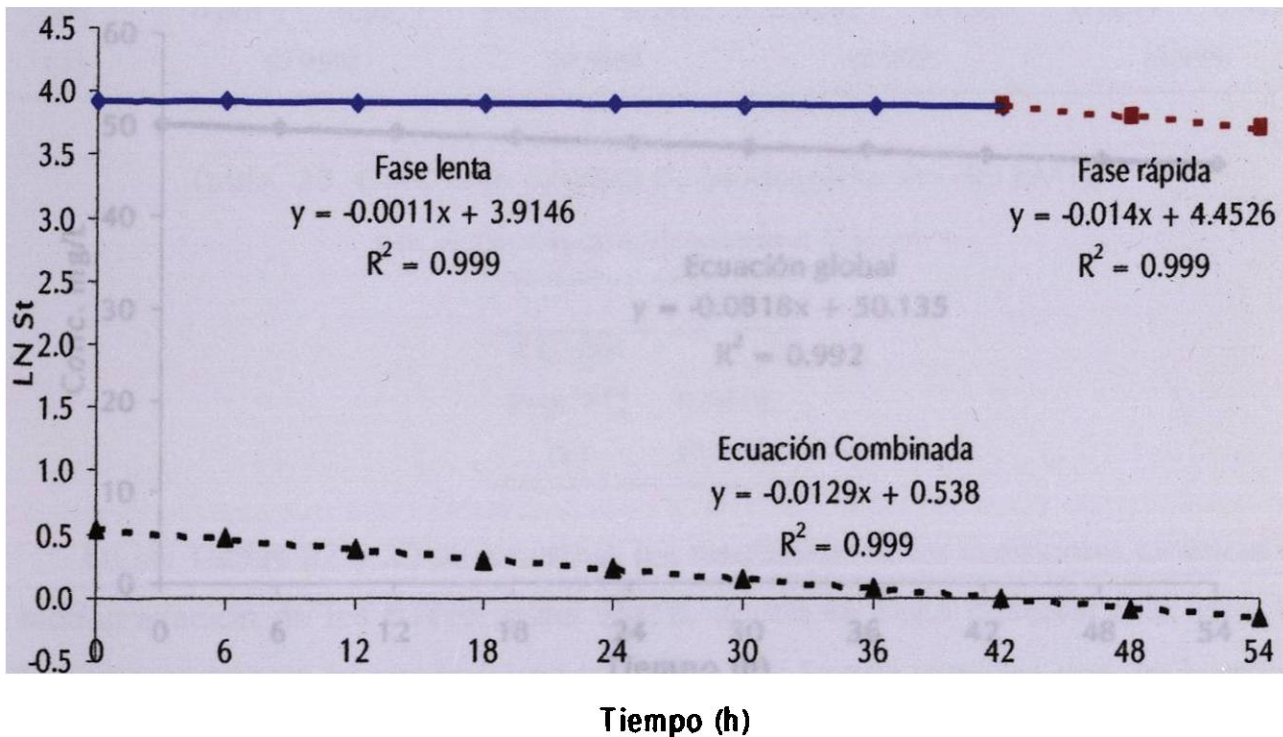


Fig.40. Gráfica de primer orden del o-xileno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.1.5. Evaluación del EMTB

Al graficar los valores de la concentración teórica del EMTB contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa el cambio en la pendiente como sucedió con las anteriores, lo cual, indica un comportamiento de una fase de orden cero, obteniendo así, la constante global de degradación directamente de la pendiente de la ecuación de la gráfica.

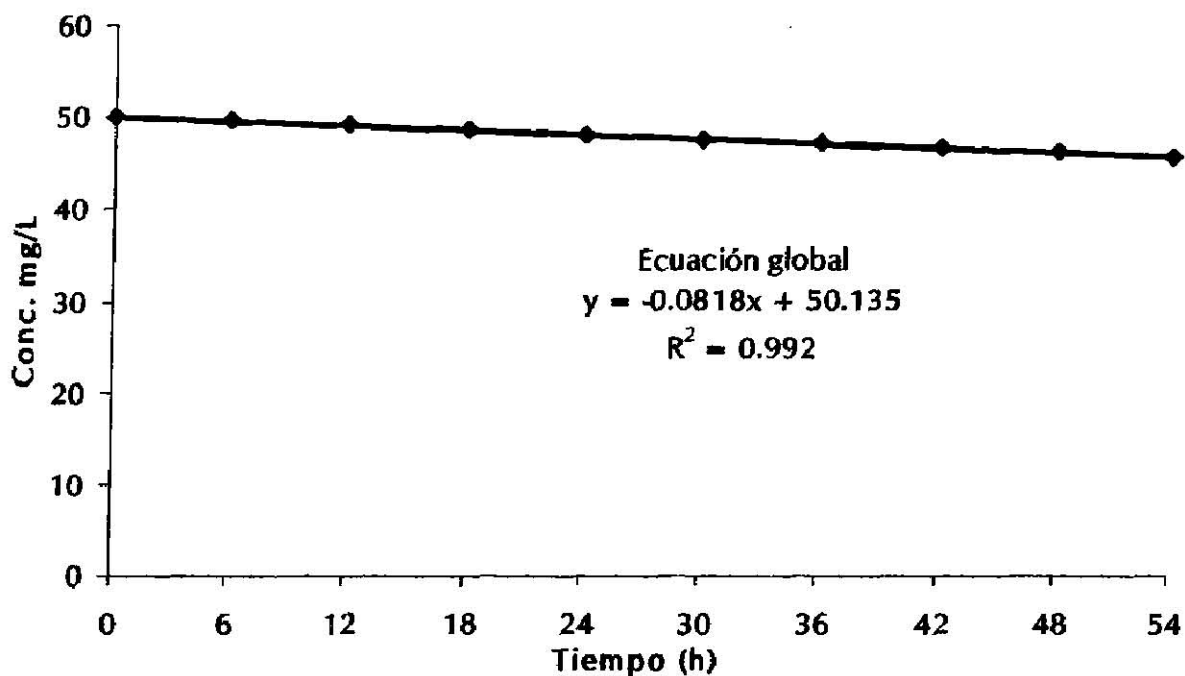


Fig. 41. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación.



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

Tabla. 22. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por la biomasa aclimatada a Diesel.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	
K Globales	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
[h <sup>-1</sup> ]	0.0015	0.0577	0.0017	0.2403	0.0252	0.1300	0.0011	0.0129
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.999)	

Tabla. 23. Constante cinética de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel

EMTB	
K Global	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0818
(r)	(0.992)

En las Tablas 22 y 23 se muestran los resultados de las constantes cinéticas de la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, donde se pudo observar que, para los BTEoX se presentó un comportamiento de dos fases, lo que sugiere que, en la primer fase se llevó a cabo la penetración de los sustratos en la pared celular de la biomasa (fase lenta), y en la segunda donde los sustratos fueron degradados dentro de la célula (fase rápida). El EMTB mostró un comportamiento de una sola fase, y su concentración con respecto al tiempo disminuyó muy poco, comparado con los BTEoX. Se observó que el Etilbenceno fue el primero que empezó a metabolizarse en la primera fase de la cinética, seguido por el tolueno, benceno, y al final el o-xileno. Al entrar en la segunda fase de la cinética se observó un cambio muy marcado para la mayoría de los compuestos, observando que el tolueno fue el compuesto que aumentó en mayor proporción su velocidad de degradación, seguido por el etilbenceno, el benceno y al final el o-xileno. El o-xileno no presentó un incremento considerablemente en su velocidad de biodegradación en el cambio de fase, lo cual

se puede atribuir a que es el compuesto más recalcitrante de los BTEoX (Di Leece *et al.*, 1997; Stewart y Kamarthi, 1997).

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

Tolueno > Etilbenceno > Benceno > o-Xileno > EMTB

### 3.2. Evaluación de la remoción de los BTEoX y el EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo

Para la evaluación de la remoción de los BTEoX ocasionada por la biomasa en presencia de suelo, fue necesario dividir los valores de la eliminación de fugas de las muestras con biomasa y suelo, entre los valores de la eliminación de fugas de las muestras control. De esta forma se presentaron los datos obtenidos en la tabla siguiente.

Tabla. 24. Valores de la relación entre los resultados de las muestras de la Tabla 17 y los de las muestras de la Tabla 15.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.989	0.929	0.863	0.975	0.994
12	0.976	0.862	0.741	0.958	0.990
18	0.964	0.801	0.636	0.941	0.986
24	0.951	0.743	0.367	0.924	0.982
30	0.938	0.690	0.219	0.907	0.978
36	0.731	0.640	0.131	0.891	0.974
42	0.559	0.361	0.078	0.859	0.970
48	0.428	0.179	0.047	0.825	0.966
54	0.328	0.088	0.028	0.791	0.962

Los valores obtenidos en la Tabla 24, se les multiplicó por 50, para así poder obtener la concentración teórica de los sustratos, dichos valores se muestran en la Tabla 25.

Tabla. 25. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa y suelo.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
6	49.5	46.5	43.2	48.8	49.7
12	48.8	43.1	37.0	47.9	49.5
18	48.2	40.0	31.8	47.0	49.3
24	47.5	37.2	18.4	46.2	49.1
30	46.9	34.5	11.0	45.4	48.9
36	36.6	32.0	6.5	44.6	48.7
42	28.0	18.0	3.9	43.0	48.5
48	21.4	8.9	2.3	41.2	48.3
54	16.4	4.4	1.4	39.6	48.1

A los resultados obtenidos se les aplicó el logaritmo natural para así obtener los datos de la Tabla 26, excepto para el EMB, el cual se graficó directamente su concentración contra el tiempo.

Tabla. 26. LN de la concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa y suelo.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Benceno LN Conc.</b>	<b>Tolueno LN Conc.</b>	<b>Etilbenceno LN Conc.</b>	<b>o-xileno LN Conc.</b>
0	3.912	3.912	3.912	3.912
6	3.901	3.838	3.765	3.887
12	3.888	3.764	3.612	3.869
18	3.875	3.690	3.459	3.851
24	3.862	3.615	2.910	3.833
30	3.849	3.541	2.394	3.815
36	3.599	3.466	1.878	3.797
42	3.331	2.893	1.362	3.761
48	3.064	2.189	0.846	3.719
54	2.796	1.485	0.330	3.678

### 3.2.1. Evaluación del benceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del benceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la que se puede observar la doble fase, por lo que se utilizó el “Método de los Residuos” para después desarrollar la ecuación correspondiente.

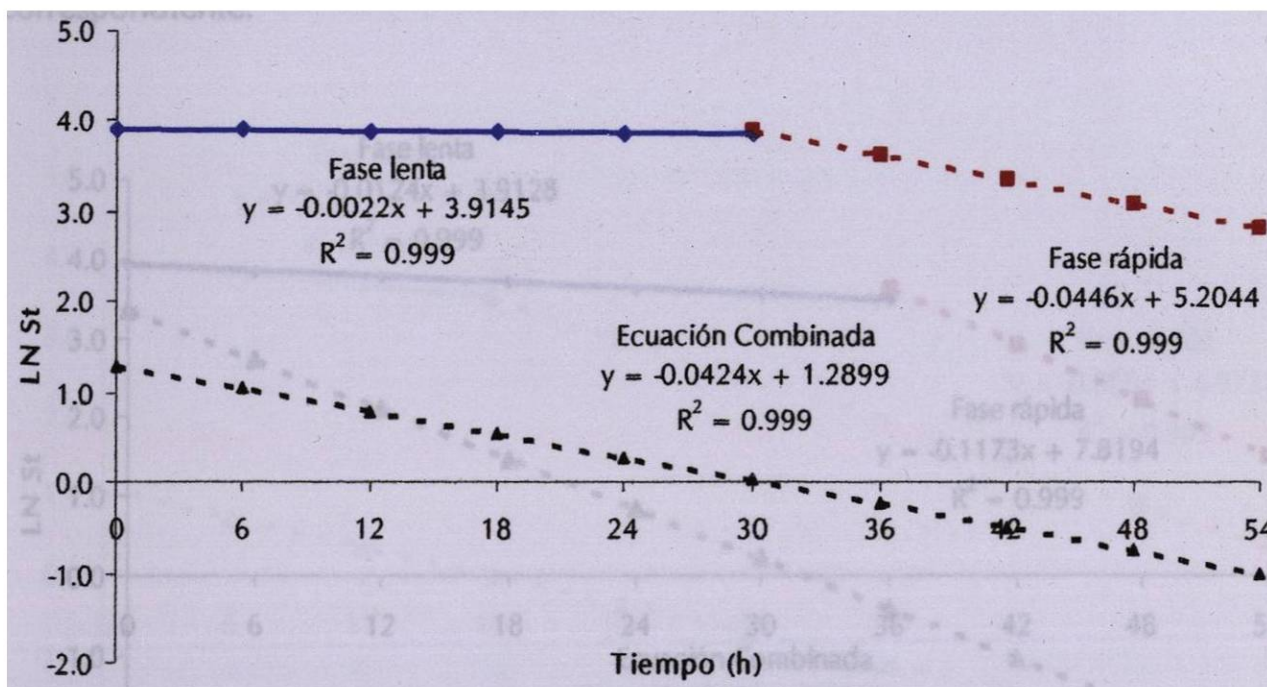


Fig. 42. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.2.2. Evaluación del tolueno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del tolueno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, es la que se puede observar el quiebre de la misma lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

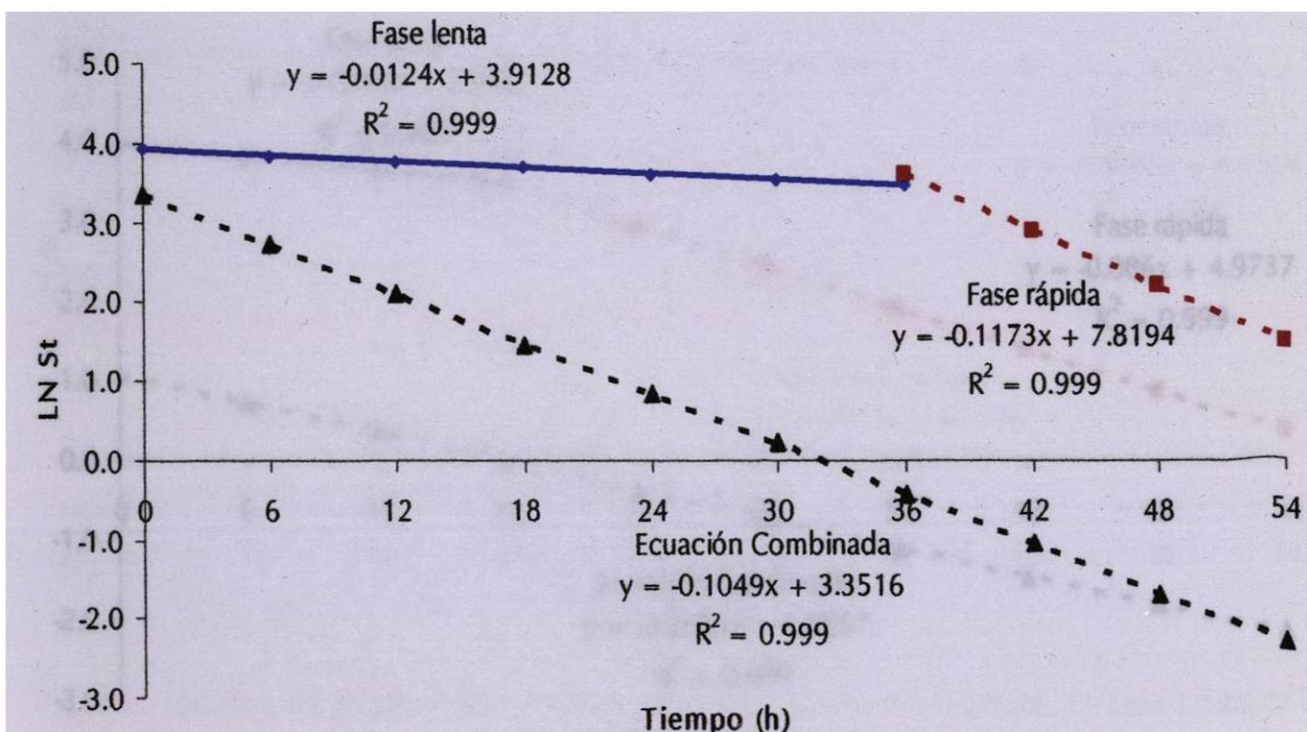


Fig. 43. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.2.3. Evaluación del etilbenceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del etilbenceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la que se puede observar el quiebre de la misma lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

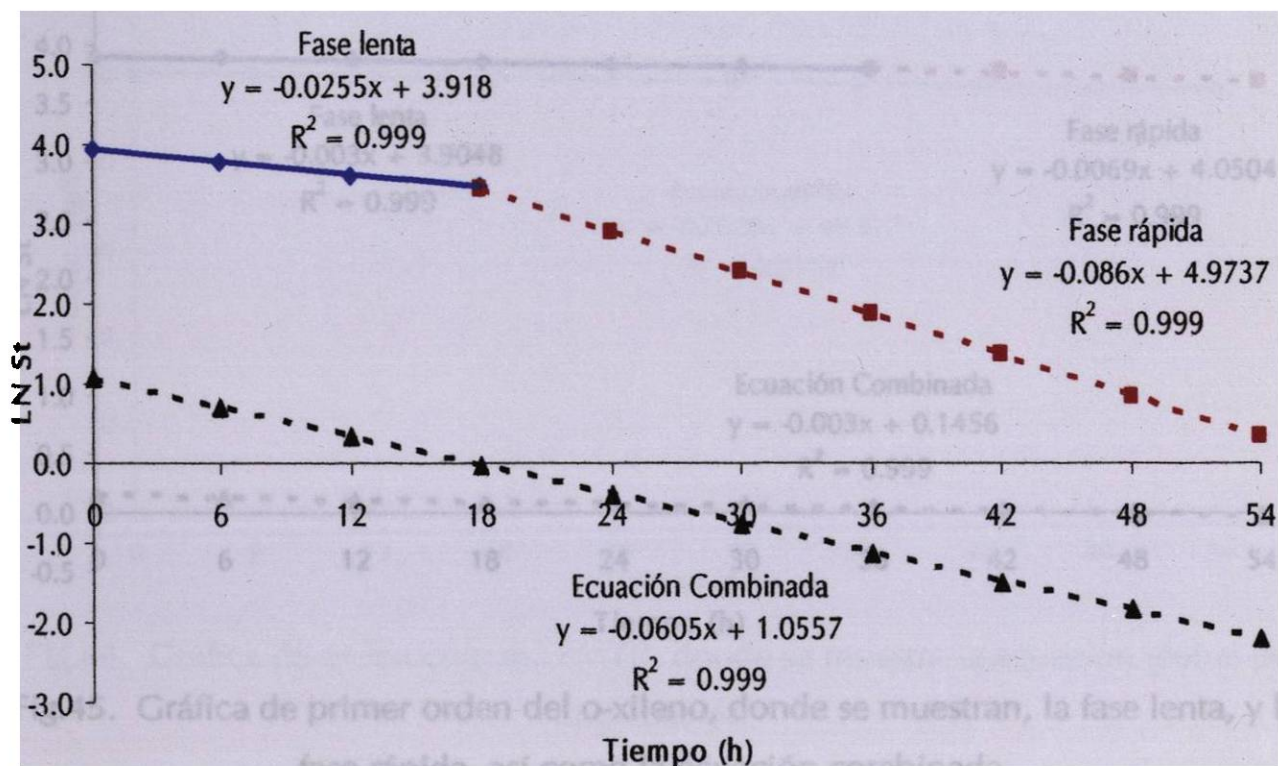


Fig.44. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.2.4. Evaluación del o-xileno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del o-xileno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa muy claramente la presencia de la doble fase, pero al hacer el análisis se observó que se presenta este efecto, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

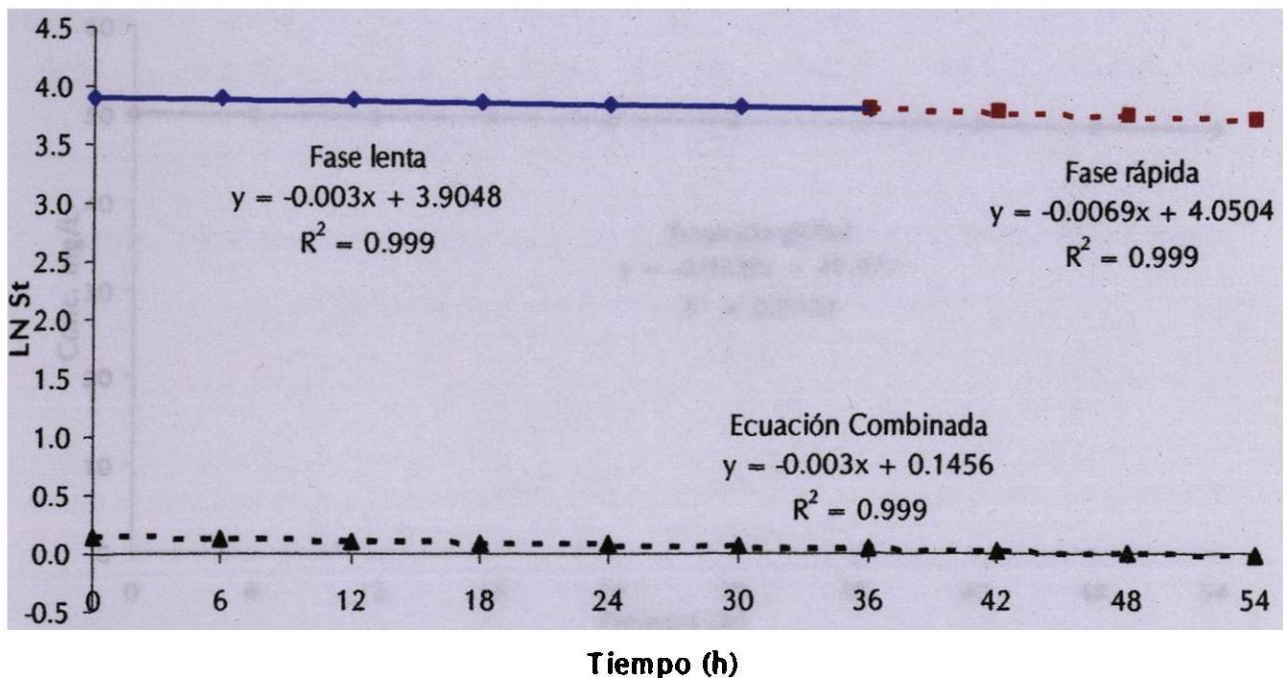


Fig.45. Gráfica de primer orden del o-xileno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.



### 3.2.5. Evaluación del EMTB

Al graficar los valores de la concentración teórica del EMTB contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa el cambio en la pendiente como sucedió con las anteriores, lo cual, sugiere un comportamiento de una fase de orden cero, obteniendo así, la constante global de degradación directamente de la pendiente de la ecuación de la gráfica.

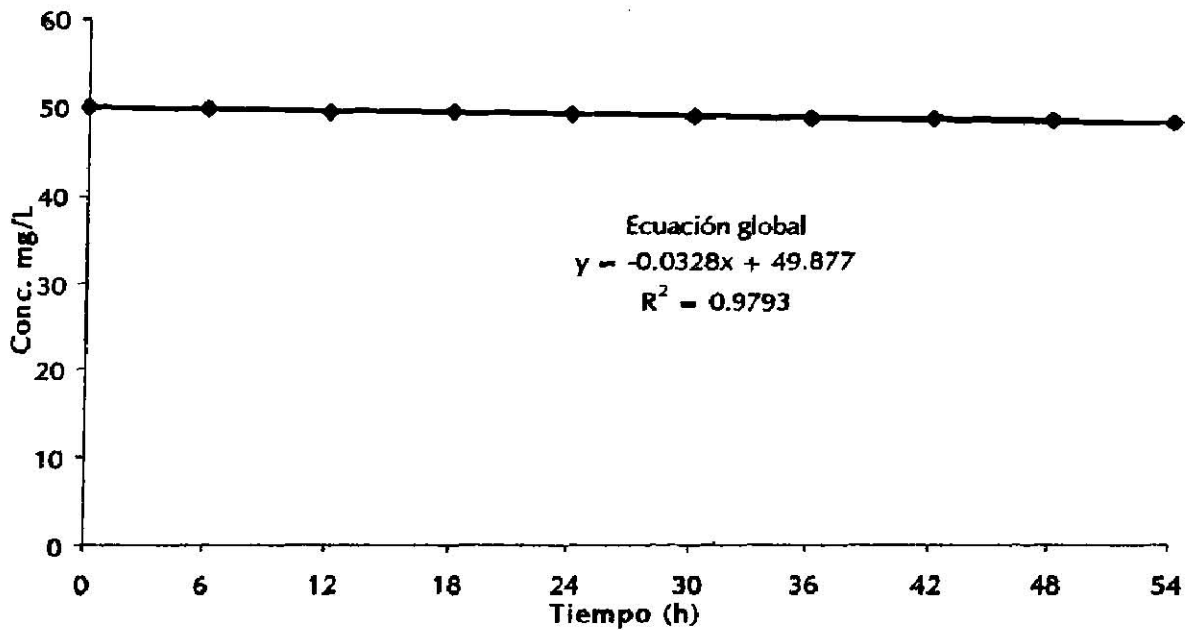


Fig.46. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación.

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

Tabla. 27. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por el suelo y la biomasa aclimatada a Diesel.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	
K Globales	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
[h <sup>-1</sup> ]	0.0022	0.0424	0.0124	0.1049	0.0255	0.0605	0.001	0.0059
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.999)	

Tabla. 28. Constante cinética de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo.

EMTB	
K Global	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0328
(r)	(0.9793)

En las Tablas 27 y 28 se muestran los resultados de las constantes cinéticas de la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, donde se pudo observar que, para los BTEoX se presentó un comportamiento de dos fases en todos los casos; el EMTB mostró un comportamiento de una sola fase con una constante de velocidad pequeña. La presencia del suelo tuvo un efecto negativo en la degradación de los BTEoX y del EMTB disminuyendo las constantes de velocidad de cada uno de los compuestos, este efecto pudo deberse a que el suelo provocó que la biodisponibilidad de los BTEoX y del EMTB disminuyera.

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

Tolueno > Etilbenceno > Benceno > o-Xileno > EMTB

### 3.3. Evaluación de la remoción de los BTEoX y el EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo y Tergitol NP-10

Para la evaluación de la remoción de los BTEoX ocasionada por la biomasa en presencia de suelo Tergitol NP-10, fue necesario dividir los valores de la eliminación de fugas de las muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10, entre los valores de la eliminación de fugas de las muestras control. De esta forma se presentaron los datos obtenidos en la tabla siguiente.

Tabla. 29. Valores de la relación entre los resultados de las muestras de la Tabla 18 y los de las muestras de la Tabla 15.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.991	0.978	0.868	0.969	0.991
12	0.980	0.951	0.734	0.944	0.981
18	0.971	0.925	0.620	0.920	0.970
24	0.961	0.900	0.378	0.897	0.959
30	0.951	0.876	0.222	0.874	0.948
36	0.719	0.520	0.131	0.852	0.937
42	0.501	0.243	0.077	0.830	0.926
48	0.349	0.114	0.045	0.715	0.916
54	0.243	0.053	0.026	0.601	0.905

Los valores obtenidos en la Tabla 29, se les multiplicó por 50, para así poder obtener la concentración teórica de los sustratos, dichos valores se muestran en la Tabla 30.

Tabla.30. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Conc. Benceno (mg/L)	Conc. Tolueno (mg/L)	Conc. Etilbenceno (mg/L)	Conc. o-xileno (mg/L)	Conc. EMTB (mg/L)
0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
6	49.5	48.9	43.4	48.5	49.6
12	49.0	47.6	36.7	47.2	49.0
18	48.5	46.3	31.0	46.0	48.5
24	48.0	45.0	18.9	44.8	47.9
30	47.5	43.8	11.1	43.7	47.4
36	35.9	26.0	6.5	42.6	46.9
42	25.0	12.2	3.8	41.5	46.3
48	17.5	5.7	2.3	35.7	45.8
54	12.2	2.7	1.3	30.0	45.2

A los resultados obtenidos en la Tabla 30, se les aplicó el logaritmo natural para así obtener los datos de la Tabla 31, con excepción del EMTB, el cual se graficó directamente su concentración contra el tiempo.

Tabla.31. Concentración teórica de los sustratos en las muestras con biomasa suelo y Tergitol NP-10.

Tiempo (h)	Benceno LN Conc.	Tolueno LN Conc.	Etilbenceno LN Conc.	o-xileno LN Conc.
0	3.912	3.912	3.912	3.912
6	3.903	3.890	3.771	3.881
12	3.892	3.862	3.602	3.855
18	3.882	3.834	3.434	3.829
24	3.872	3.807	2.939	3.803
30	3.862	3.779	2.407	3.777
36	3.582	3.258	1.876	3.752
42	3.221	2.498	1.344	3.726
48	2.860	1.738	0.813	3.576
54	2.498	0.978	0.281	3.403

### 3.3.1. Evaluación del benceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del benceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente grafica, en la que se puede observar la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

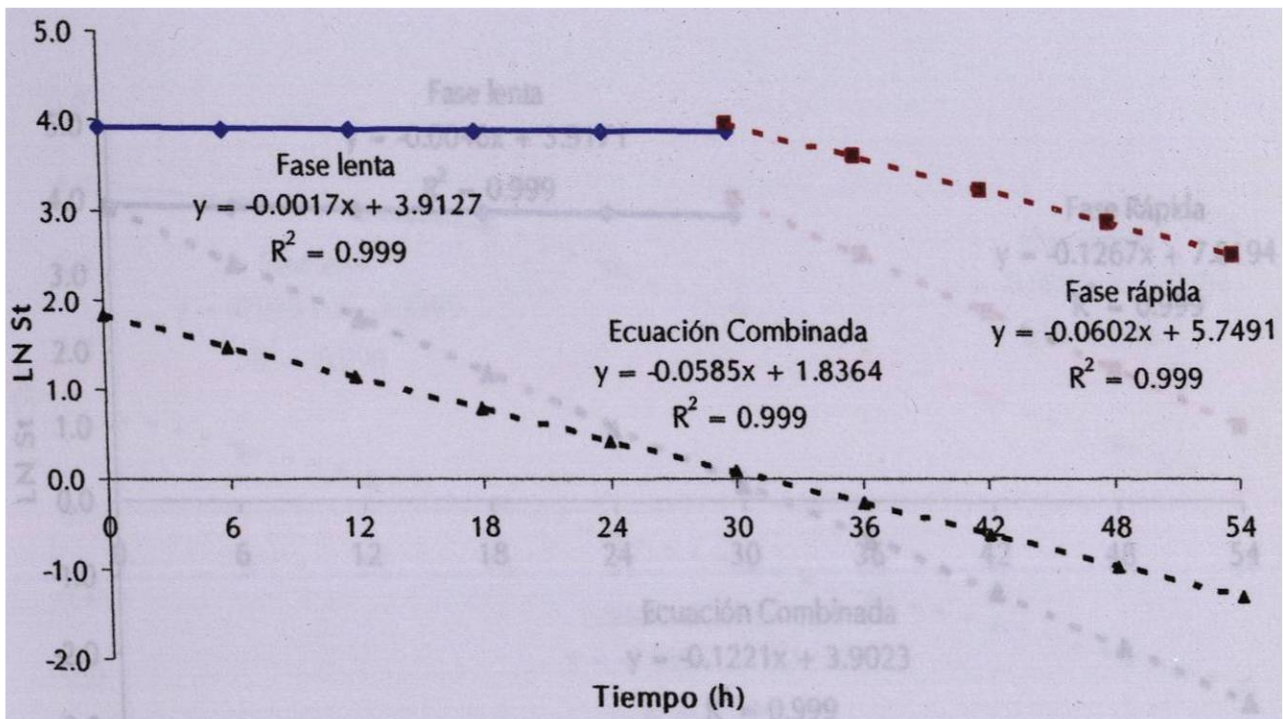


Fig.47. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.3.2. Evaluación del tolueno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del tolueno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la que se puede observar el quiebre de la misma lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

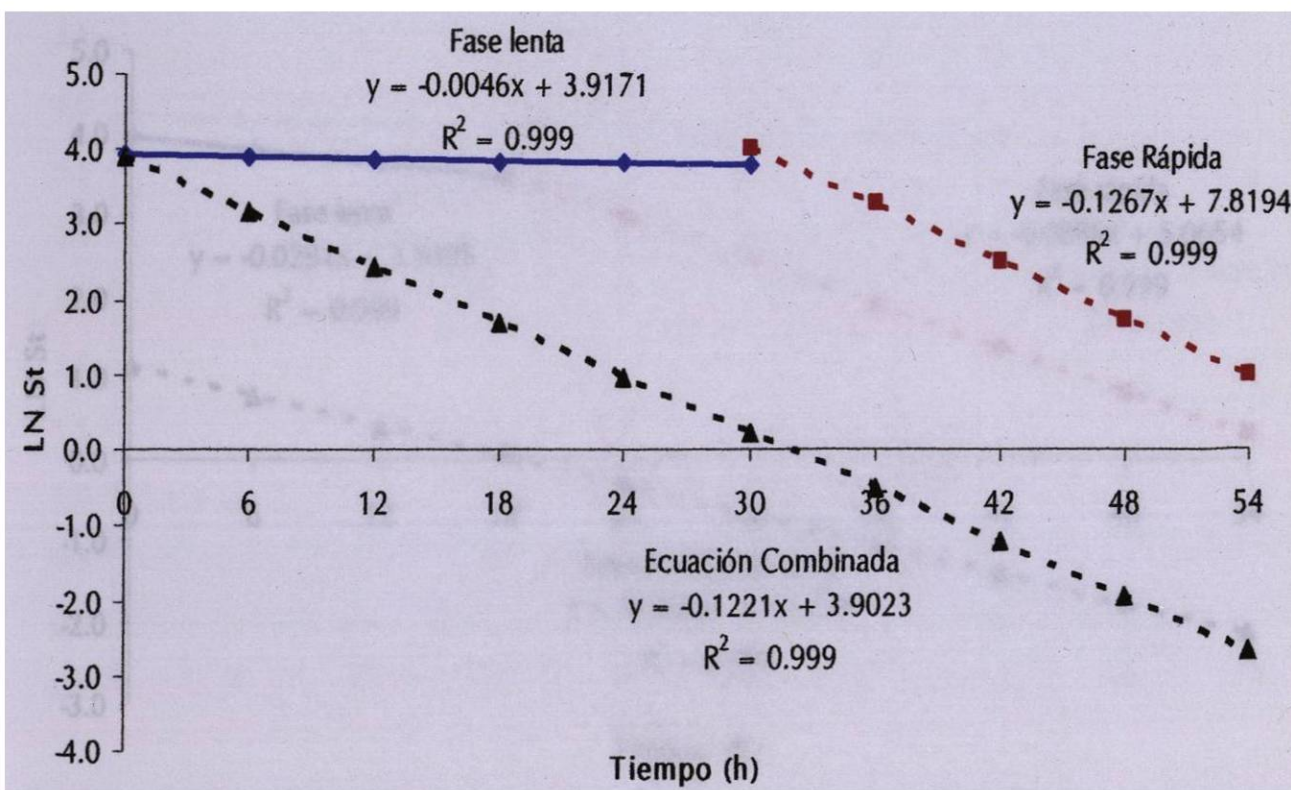


Fig.48. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.3.3. Evaluación del etilbenceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del etilbenceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la que se puede observar el quiebre de la misma lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

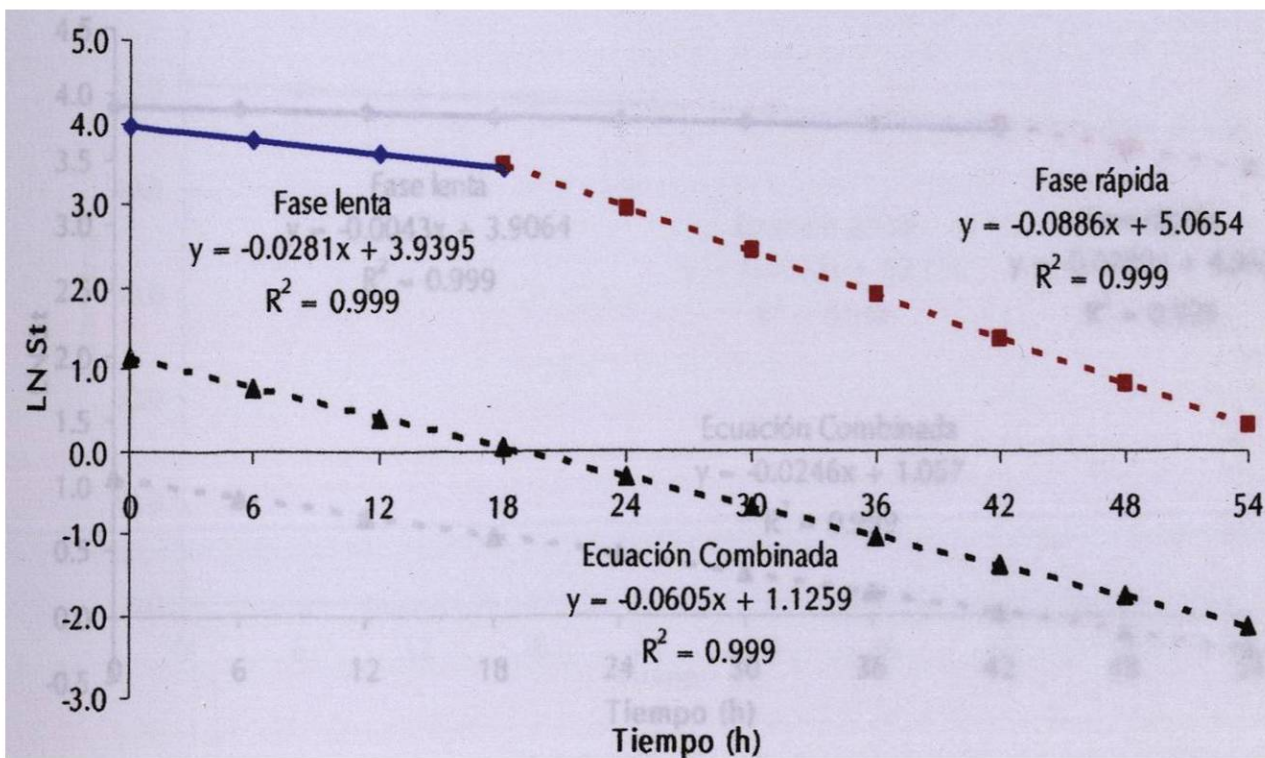


Fig.49. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.3.4. Evaluación del o-xileno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del o-xileno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa muy claramente la presencia de la doble fase, pero al hacer el análisis se observó que se presenta este efecto, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

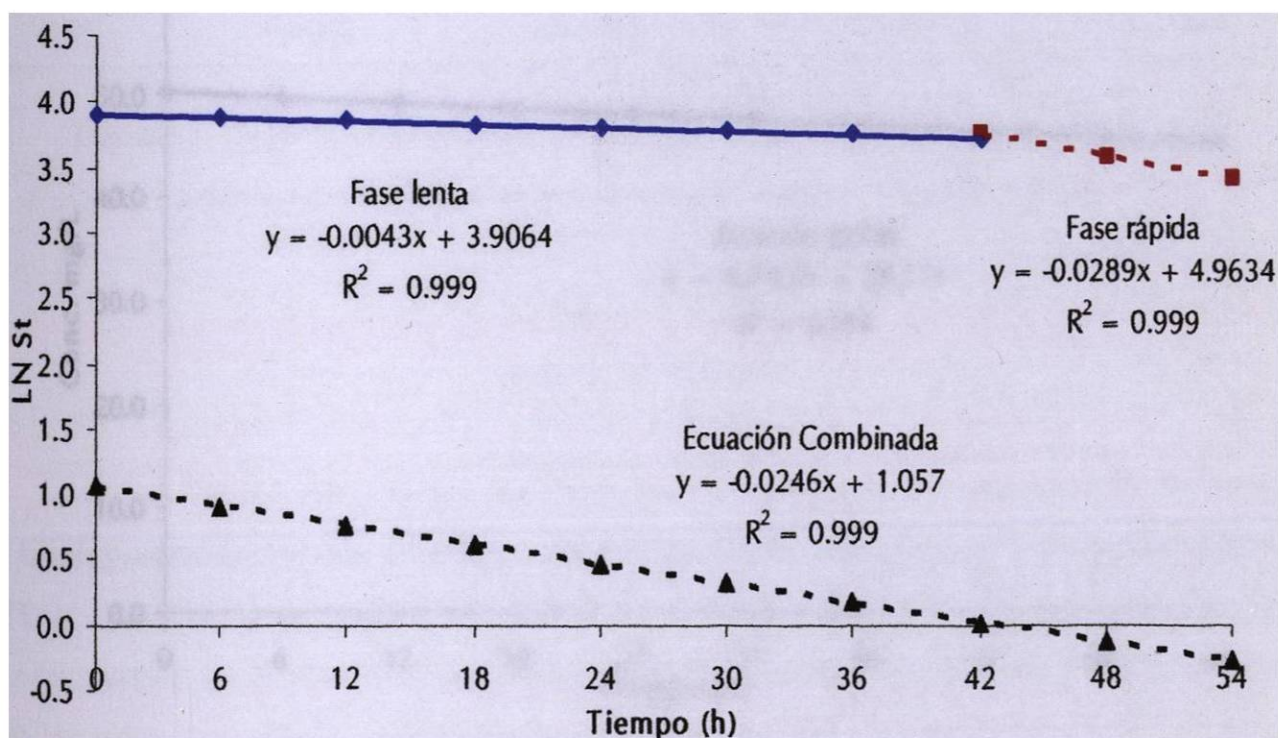


Fig.50. Gráfica de primer orden del o-xileno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.



### 3.3.5. Evaluación del EMTB

Al graficar los valores de la concentración teórica del EMTB contra el tiempo, se obtuvo la siguiente gráfica, en la cual no se observa el cambio en la pendiente como sucedió con las anteriores, lo cual, indica un comportamiento de una fase de orden cero, obteniendo así, la constante global de degradación directamente de la pendiente de la ecuación de la gráfica.

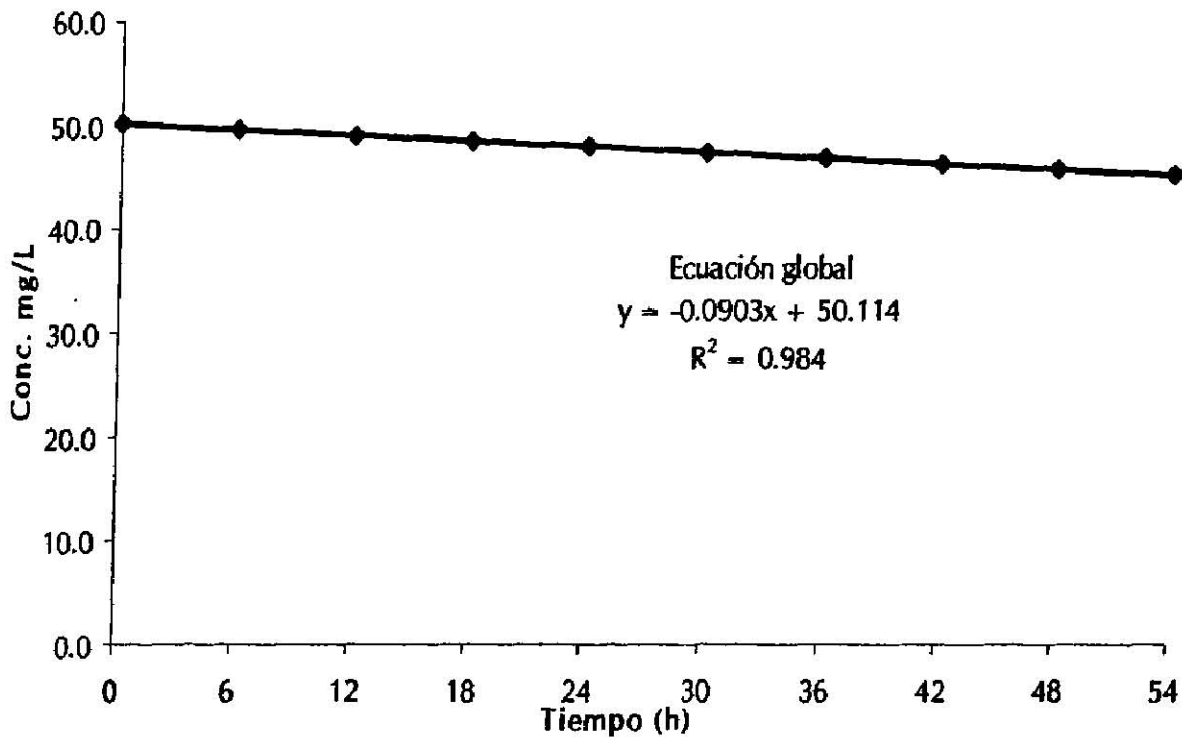


Fig.51. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas para la biodegradación de los BTEoX y el EMTB por el suelo, Tergitol NP-10 y la biomasa aclimatada a Diesel.

Tabla.32. Constantes cinéticas globales de biodegradación presentadas por el suelo, Tergitol NP-10 y la biomasa aclimatada a Diesel.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	
K Globales	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
[h <sup>-1</sup> ]	0.0017	0.0585	0.0046	0.1221	0.0281	0.0605	0.0043	0.0246
(r)	(0.999)		(0.999)		(0.999)		(0.999)	

Tabla.33. Constante cinética de biodegradación del EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo y Tergitol NP-10.

EMTB	
K Global	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0903
(r)	(0.984)

En las Tablas 32 y 33 se muestran los resultados de las constantes cinéticas de la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, donde se pudo observar que para los BTEoX se volvió a presentar un comportamiento de dos fases en todos los casos; el EMTB mostró un comportamiento de una sola fase. La presencia del suelo y Tergitol NP-10 tuvo un efecto positivo en la remoción del benceno, o-xileno y EMTB, mostrando un aumento en la remoción de cada uno. Este efecto podría deberse a que, con la presencia del Tergitol NP-10 se haya disminuido el efecto de partición agua:suelo, produciendo así, un aumento en la concentración de los BTEoX y EMTB en la fase acuosa aumentando la biodisponibilidad de estos compuestos para ser biodegradados por el consorcio microbiano aclimatado.

El orden de biodegradación seguido por la biomasa en presencia de suelo y Tergitol NP-10 fue el siguiente:

Tolueno > Etilbenceno > Benceno > o-Xileno > EMTB

### 3.4. Evaluación de la eficiencia de la biomasa aclimatada a Diesel en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo

En la evaluación de la eficiencia de la degradación de los BTEoX y EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo, fue necesario dividir los valores de la eliminación de fugas de las muestras con biomasa y suelo (Tabla. 24), entre los valores de la eliminación de fugas de las muestras con suelo (Tabla 12), obteniendo así los resultados presentados en la siguiente tabla.

Tabla.34. Valores de la división de las muestras de la Tabla 24 en relación con las muestras de la Tabla 12.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9880	0.9151	0.8826	0.9980	0.9980
12	0.9740	0.8480	0.7770	0.9920	0.9980
18	0.9557	0.7700	0.7020	0.9840	0.9940
24	0.9420	0.6940	0.5580	0.9780	0.9920
30	0.9300	0.6160	0.3120	0.9700	0.9920
36	0.7523	0.5360	0.1820	0.9660	0.9900
42	0.6060	0.3440	0.1040	0.9600	0.9860
48	0.4450	0.1820	0.0620	0.9580	0.9840
54	0.3427	0.0920	0.0316	0.9565	0.9822

Los valores obtenidos en la tabla anterior se multiplicaron por 50 para así obtener las concentraciones teóricas de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla.

Tabla.35. Concentración teórica de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno mg/L	Tolueno mg/L	Etilbenceno mg/L	o-xileno mg/L	EMTB mg/L
0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
6	49.4	45.8	44.1	49.9	49.9
12	48.7	42.4	38.9	49.6	49.9
18	47.8	38.5	35.1	49.2	49.7
24	47.1	34.7	27.9	48.9	49.6
30	46.5	30.8	15.6	48.5	49.6
36	37.6	26.8	9.1	48.3	49.5
42	30.3	17.2	5.2	48.0	49.3
48	22.2	9.1	3.1	47.9	49.2
54	17.1	4.6	1.6	47.8	49.1

A los valores obtenidos en la tabla anterior se le aplicó el logaritmo natural, y los resultados se muestran en la siguiente tabla, con excepción del EMTB, el cual fue graficado directamente su concentración contra el tiempo.

Tabla.36. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno LN Conc.	Tolueno LN Conc.	Etilbenceno LN Conc.	o-xileno LN Conc.
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.9000	3.8233	3.7872	3.9100
12	3.8857	3.7471	3.6597	3.9040
18	3.8667	3.6507	3.5582	3.8959
24	3.8523	3.5467	3.3286	3.8898
30	3.8395	3.4275	2.7473	3.8816
36	3.6275	3.2884	2.2083	3.8774
42	3.4111	2.8449	1.6487	3.8712
48	3.1023	2.2083	1.1314	3.8691
54	2.8411	1.5258	0.4573	3.8676

### 3.4.1. Evaluación del benceno

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica (Ln St) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la figura 52, en la cual se puede observar que se presenta la doble fase, por lo que se empleó el "Método de los Residuos".

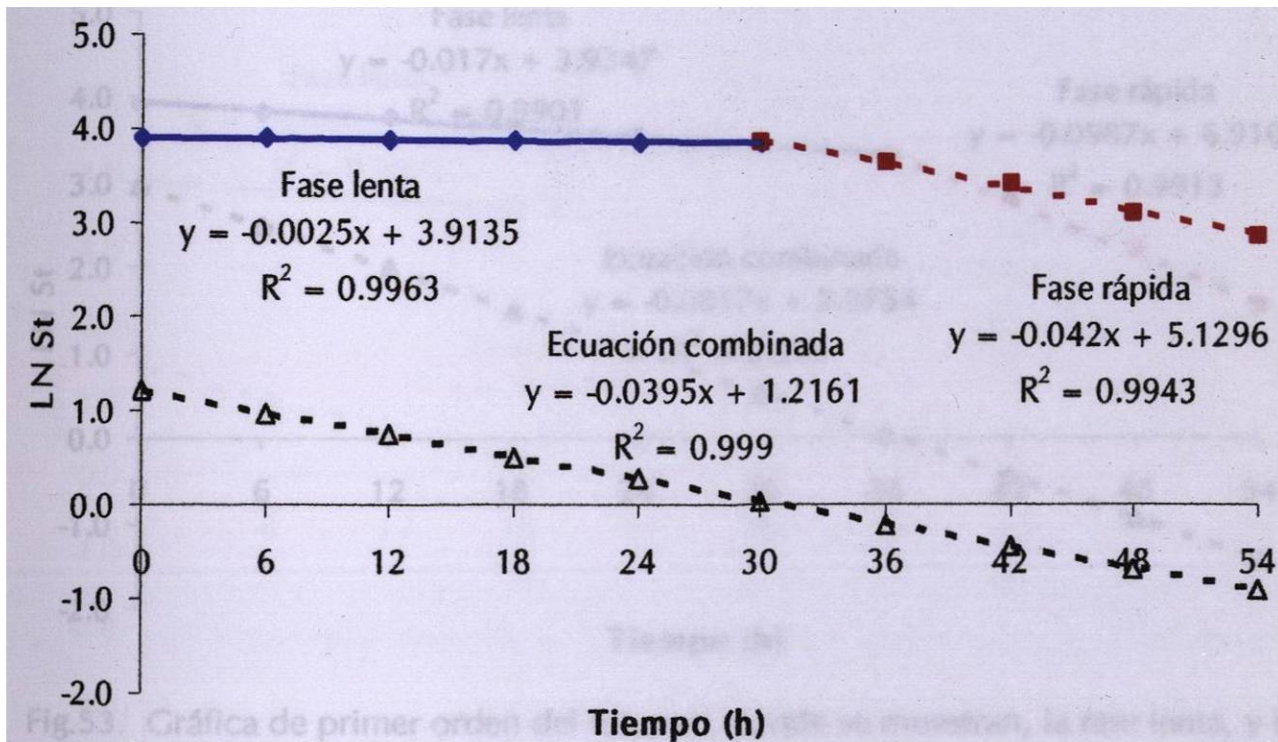


Fig.52. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.4.2. Evaluación del tolueno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del tolueno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura, en la que se puede observar el quiebre en la gráfica lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

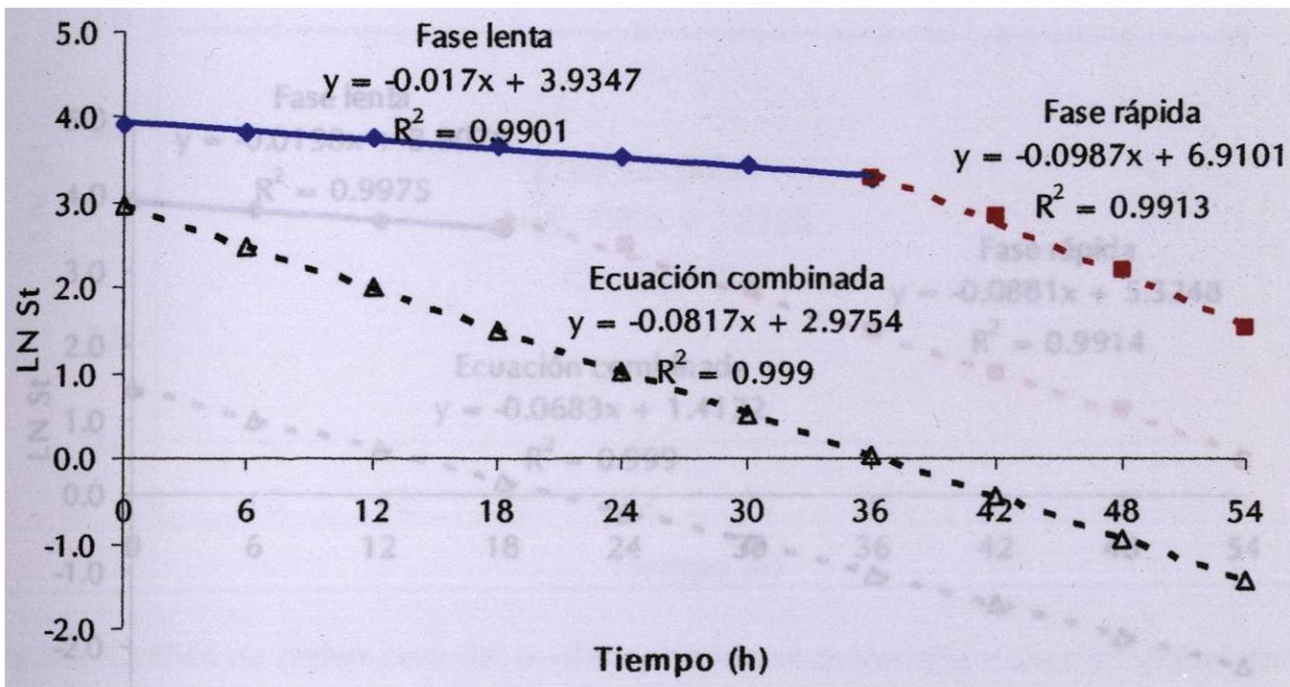


Fig.53. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.4.3. Evaluación del etilbenceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del etilbenceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura, en la que se puede observar el quiebre en la gráfica lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

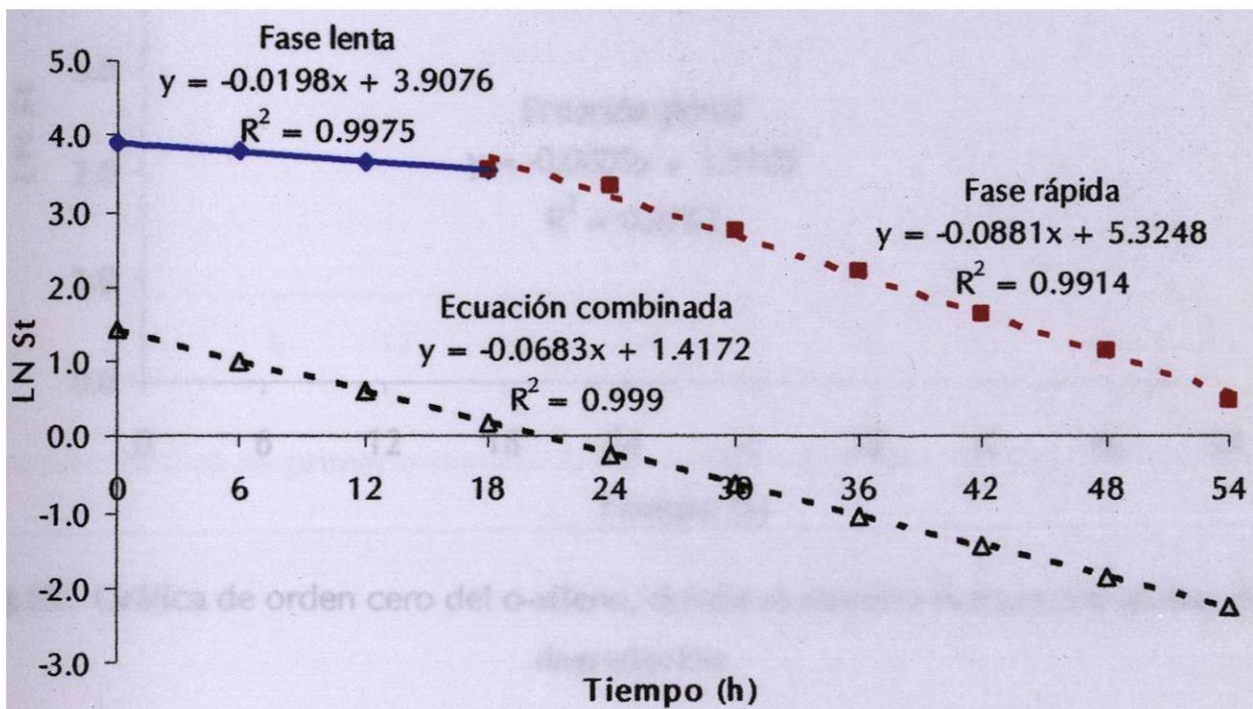


Fig.54. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.2.4. Evaluación del o-xileno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración del o-xileno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura.

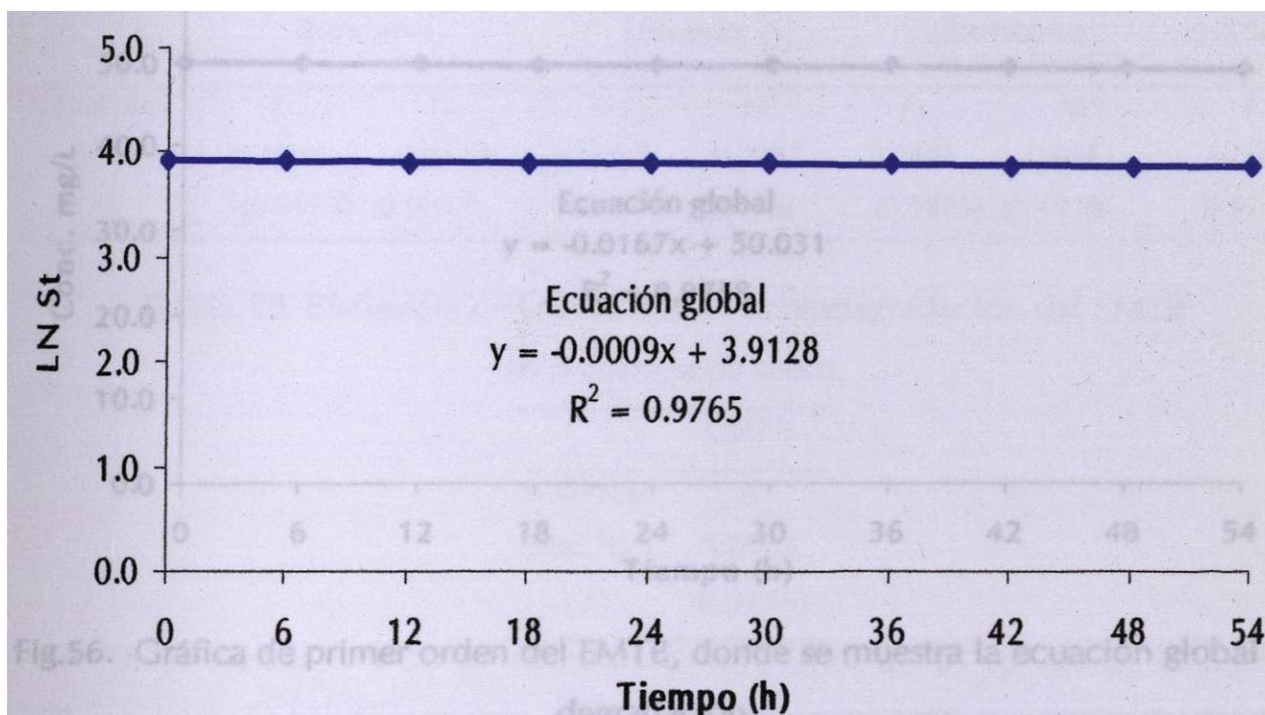


Fig.55. Gráfica de orden cero del o-xileno, donde se muestra la ecuación global de la degradación.



### 3.2.5. Evaluación del EMTB

Al graficar los valores de la concentración teórica del EMTB contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura.

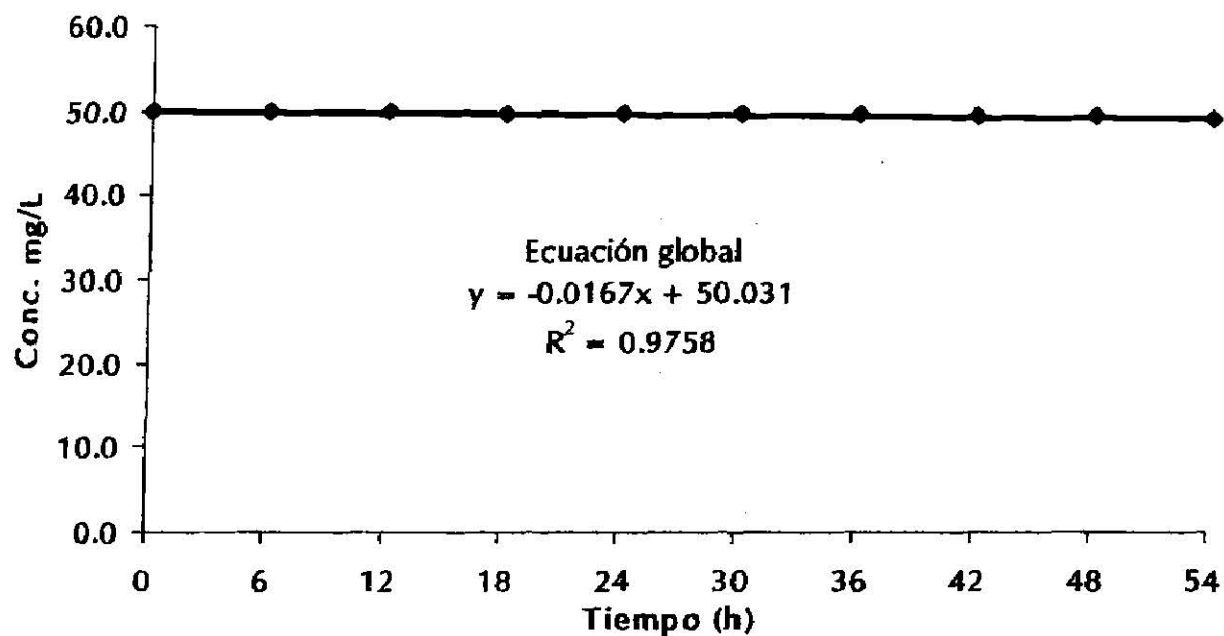


Fig.56. Gráfica de primer orden del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas de la eficiencia de la biomasa para la biodegradación de los BTEoX y el EMTB en presencia de suelo.

Tabla.37. Eficiencias de la biomasa en la degradación de BTEoX en presencia de suelo.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno
K Globales	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K
[h <sup>-1</sup> ]	0.0025	0.0420	0.0017	0.0987	0.0198	0.0881	0.0009
(r)	(0.9963)	(0.9943)	(0.9901)	(0.9913)	(0.9975)	(0.9914)	(0.9765)

Tabla.38. Eficiencia de la biomasa en la biodegradación del EMTB en presencia de suelo

EMTB	
K Global	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0003
(r)	(0.9755)

En las Tablas 37 y 38 se muestran los resultados de las constantes cinéticas de la eficiencia de la biodegradación de los BTEoX y del EMTB en presencia de suelo, donde se pudo observar que para el benceno, tolueno y el etilbenceno se volvió a presentar un comportamiento de orden uno de dos fases, mientras que para el o-xileno hubo un cambio presentándose una sola fase; el EMTB presentó también este comportamiento de una fase solo que su comportamiento cinético fue de orden cero. La presencia de suelo tuvo un efecto negativo en la degradación de los BTEoX y del EMTB, ya que se observó una disminución en las constantes globales de velocidad, comparado con las muestras que contenían solamente biomasa.

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

Tolueno > Etilbenceno > Benceno > o-Xileno > EMTB

### 3.5. Evaluación de la eficiencia de la biomasa aclimatada a Diesel en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10

En la evaluación de la eficiencia de la degradación de los BTEoX y EMTB por la biomasa aclimatada a Diesel en presencia de suelo y Tergitol NP-10, fue necesario dividir los valores de la eliminación de fugas de las muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP-10 (Tabla. 29), entre los valores de la eliminación de fugas de las muestras con suelo y Tergitol NP-10 (Tabla 13), obteniendo así los resultados presentados en la siguiente tabla.

Tabla.39. Valores de la división de las muestras de la Tabla 29 en relación con las muestras de la Tabla 13.

Tiempo (h)	Benceno C/Co	Tolueno C/Co	Etilbenceno C/Co	o-Xileno C/Co	EMTB C/Co
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9920	0.9880	0.8847	0.9900	0.9960
12	0.9840	0.9740	0.7535	0.9760	0.9920
18	0.9760	0.9560	0.6523	0.9580	0.9880
24	0.9645	0.9380	0.3991	0.9400	0.9800
30	0.9578	0.9268	0.2421	0.9340	0.9720
36	0.7520	0.5599	0.1451	0.9200	0.9600
42	0.5280	0.2644	0.0873	0.9102	0.9540
48	0.3380	0.1201	0.0502	0.7953	0.9500
54	0.2521	0.0553	0.0292	0.6885	0.9414

Los valores obtenidos en la tabla anterior se multiplicaron por 50 para así obtener las concentraciones teóricas de los sustratos, las cuales se presentan en la siguiente tabla.

Tabla.40. Concentración teórica de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno mg/L	Tolueno mg/L	Etilbenceno mg/L	o-xileno mg/L	EMTB mg/L
0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
6	49.6	49.4	44.2	49.5	49.8
12	49.2	48.7	37.7	48.8	49.6
18	48.8	47.8	32.6	47.9	49.4
24	48.2	46.9	20.0	47.0	49.0
30	47.9	46.3	12.1	46.7	48.6
36	37.6	28.0	7.3	46.0	48.0
42	26.4	13.2	4.4	45.5	47.7
48	16.9	6.0	2.5	39.8	47.5
54	12.6	2.8	1.5	34.4	47.1

A los valores obtenidos en la tabla anterior se le aplicó el logaritmo natural, y los resultados se muestran en la siguiente tabla, a excepción del EMTB, el cual fue graficado directamente su concentración contra el tiempo

Tabla.41. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas de los sustratos.

Tiempo (h)	Benceno LN Conc.	Tolueno LN Conc.	Etilbenceno LN Conc.	o-xileno LN Conc.
0	3.9120	3.9120	3.9120	3.9120
6	3.9040	3.9000	3.7895	3.9020
12	3.8959	3.8857	3.6289	3.8877
18	3.8877	3.8670	3.4848	3.8691
24	3.8758	3.8480	2.9935	3.8501
30	3.8689	3.8360	2.4938	3.8437
36	3.6270	3.3321	1.9815	3.8286
42	3.2734	2.5818	1.4740	3.8179
48	2.8273	1.7923	0.9207	3.6830
54	2.5340	1.0170	0.3783	3.5388

### 3.5.1. Evaluación del benceno

Al graficar el logaritmo natural de la concentración teórica (Ln St) del benceno contra el tiempo de experimentación, se obtuvo la figura 57, en la cual se puede observar que se presenta la doble fase, por lo que se empleó el "Método de los Residuos".

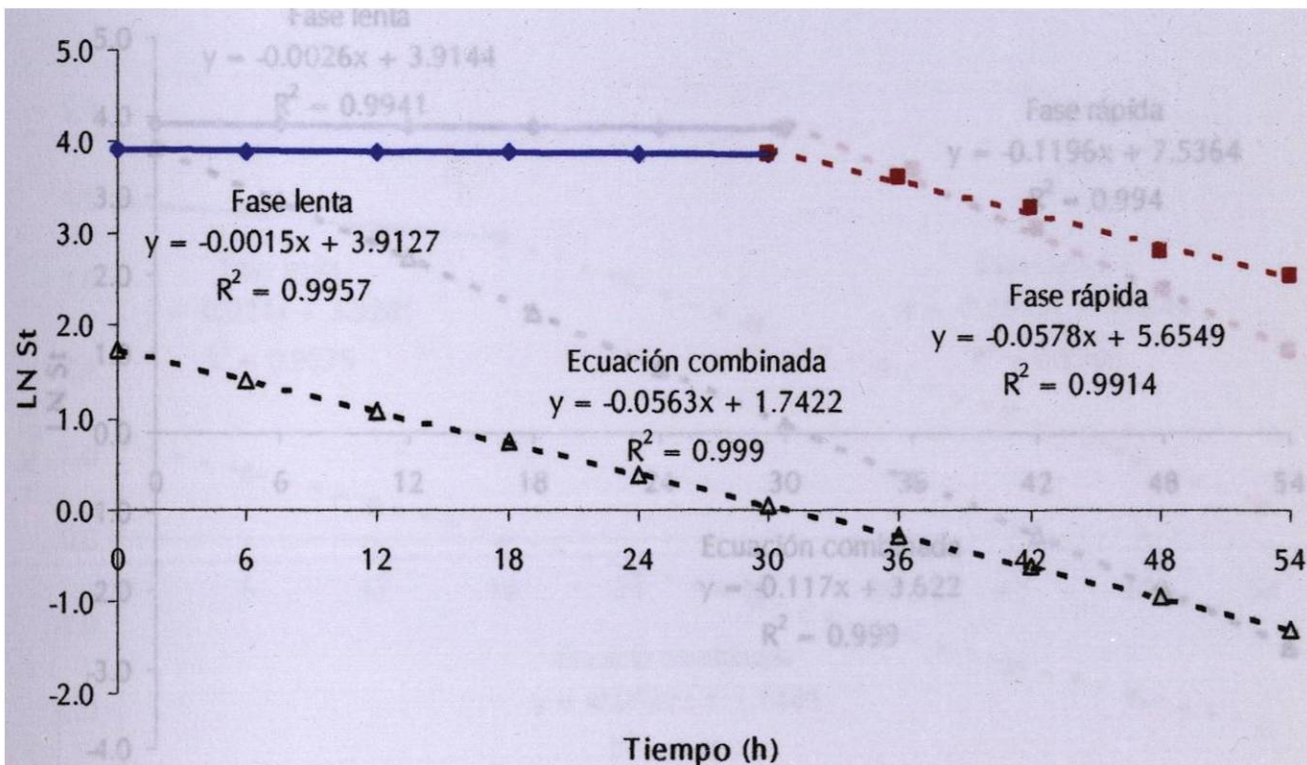


Fig.57. Gráfica de primer orden del benceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.5.2. Evaluación del tolueno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del tolueno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura, es la que se puede observar el quiebre en la gráfica lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

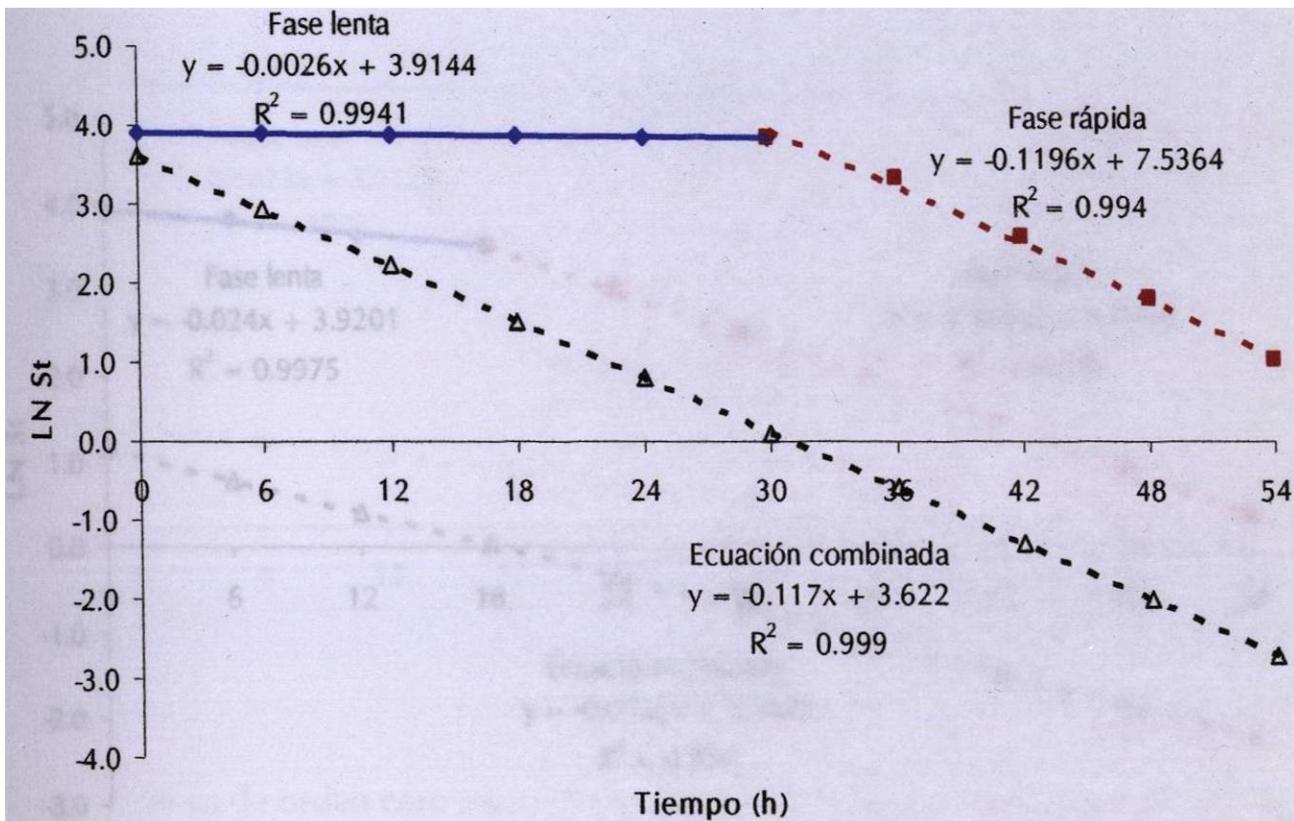


Fig.58. Gráfica de primer orden del tolueno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.5.3. Evaluación del etilbenceno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración teórica del etilbenceno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura, es la que se puede observar el quiebre en la gráfica lo que sugiere la presencia de la doble fase, por lo que se utilizó el "Método de los Residuos" para después desarrollar la ecuación correspondiente.

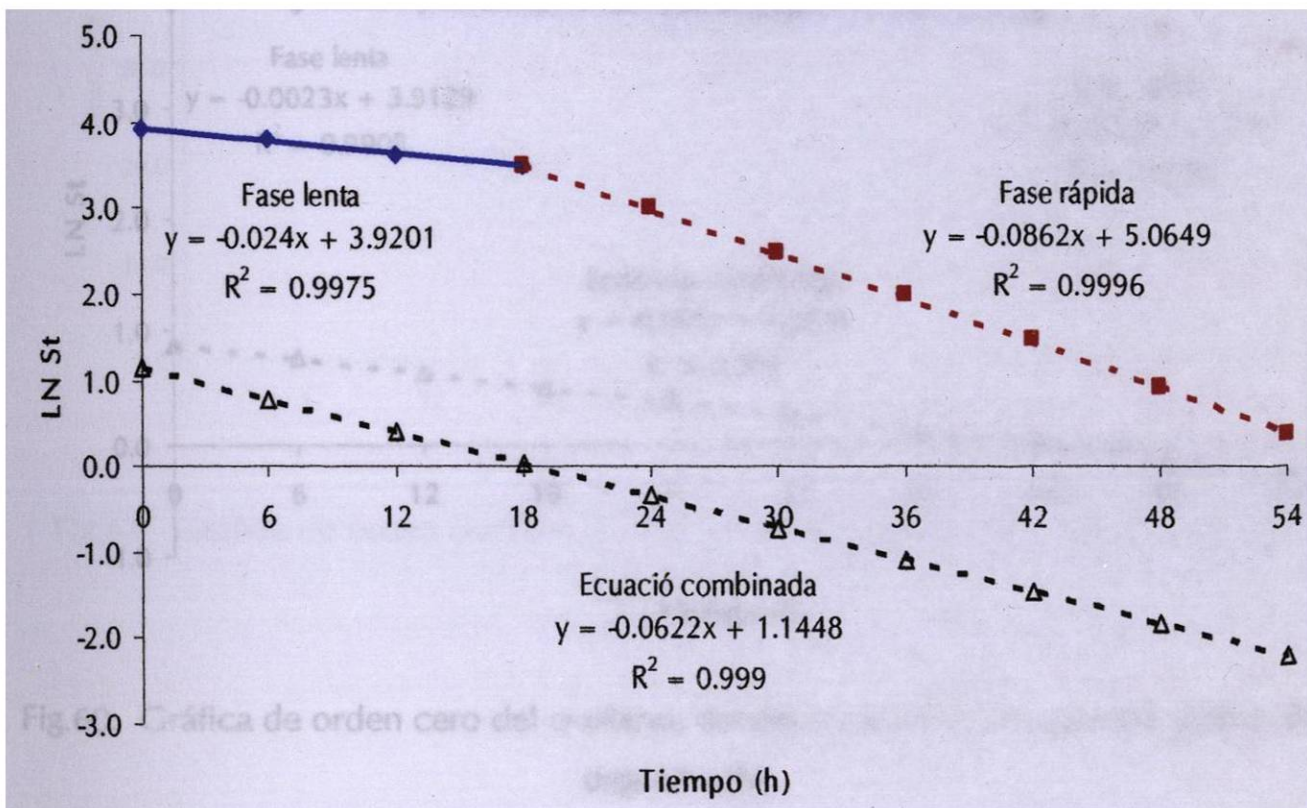


Fig.59. Gráfica de primer orden del etilbenceno, donde se muestran, la fase lenta, y la fase rápida, así como la ecuación combinada.

### 3.5.4. Evaluación del o-xileno

Al graficar los valores del logaritmo natural de la concentración del o-xileno contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura, donde al igual que las anteriores se muestra el doble compartimiento.

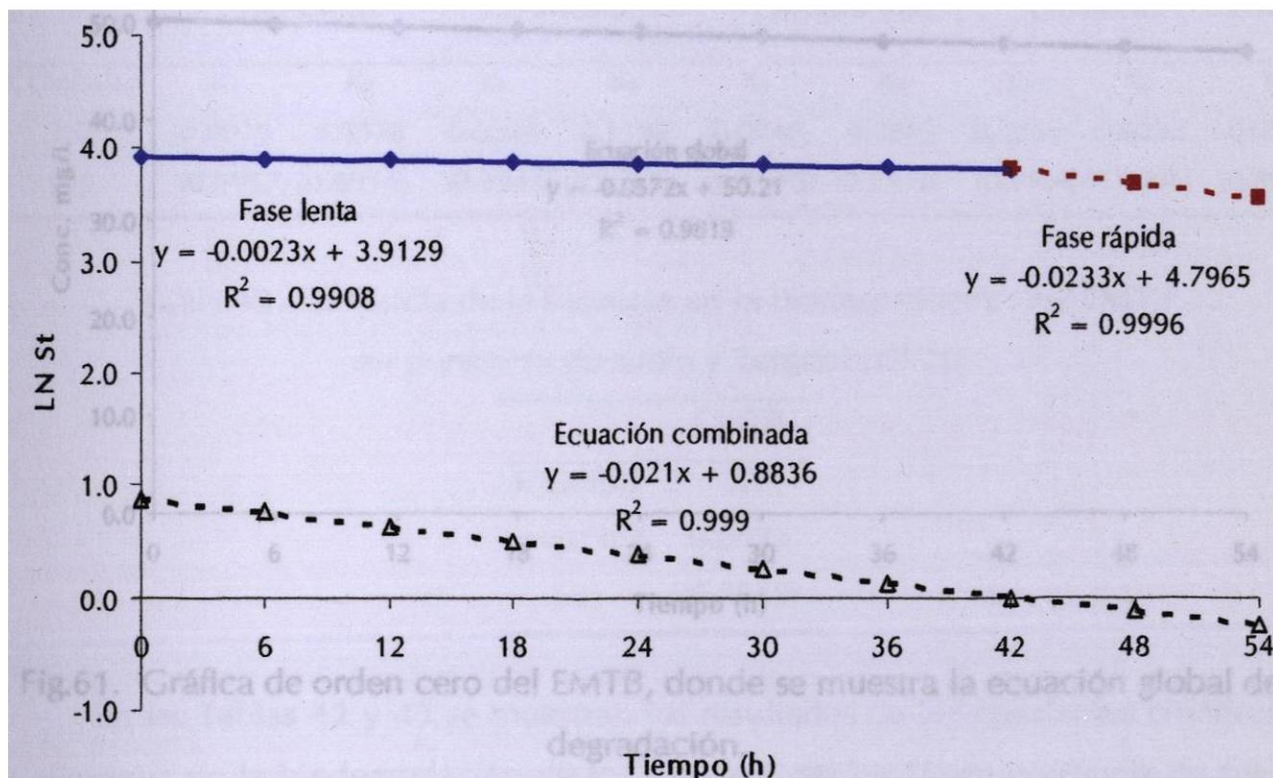


Fig.60. Gráfica de orden cero del o-xileno, donde se muestra la ecuación global de la degradación.



### 3.5.5. Evaluación del EMTB

Al graficar los valores de la concentración teórica del EMTB contra el tiempo, se obtuvo la siguiente figura.

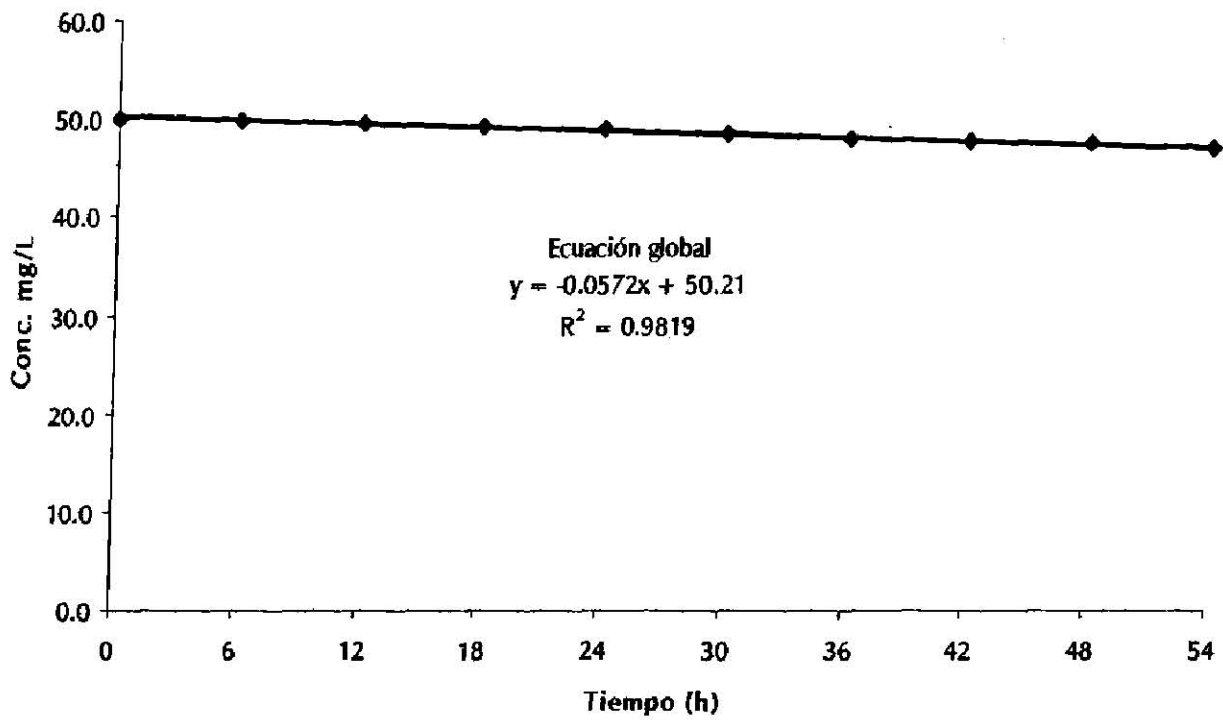


Fig.61. Gráfica de orden cero del EMTB, donde se muestra la ecuación global de degradación.

A continuación se presentan las constantes cinéticas globales obtenidas de la eficiencia de la biomasa para la biodegradación de los BTEoX y el EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10.

Tabla.42. Eficiencias de la biomasa en la degradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno		EMTB
K Globales	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K
[h <sup>-1</sup> ]	0.0015	0.0578	0.0026	0.1196	0.0240	0.0862	0.0023	0.0233	0.0572
(r)	(0.9957)	(0.9914)	(0.9941)	(0.9940)	(0.9975)	(0.9996)	(0.9908)	(0.9996)	(0.9819)

Tabla.43. Eficiencia de la biomasa en la biodegradación del EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10

EMTB	
K Global	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0572
(r)	(0.9819)

En las Tablas 42 y 43 se muestran los resultados de las constantes cinéticas de la eficiencia de la biodegradación de los BTEoX y del EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10, donde se observó la doble fase de primer orden para todos los BTEoX; mientras que, para el EMTB se presentó el mismo comportamiento que los anteriores, siendo esto de orden cero de una fase. Comparando las muestras con las que contenían solamente biomasa, el o-xileno y el EMTB se vieron favorecidos por la presencia de suelo y de Tergitol NP-10, mientras que para el tolueno y el etilbenceno, sus constantes cinéticas se vieron disminuidas bajo estas condiciones. El benceno se mantuvo prácticamente igual, en comparación con las muestras que contenían solamente biomasa.

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

Tolueno > Etilbenceno > Benceno > o-Xileno > EMTB

En la siguiente tabla se muestran las constantes cinéticas de biodegradación de todas las muestras analizadas.

Tabla.44. Constantes cinéticas globales de los BTEoX obtenidas en los bioensayos cinéticos.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	
<b>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
(r)	0.0015 (0.999)	0.0577	0.0017 (0.999)	0.2403	0.0252 (0.999)	0.1300	0.0011 (0.999)	0.0129
<b>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
(r)	0.0022 (0.999)	0.0424	0.0124 (0.999)	0.1049	0.0255 (0.999)	0.0605	0.001 (0.999)	0.0059
<b>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
(r)	0.0017 (0.999)	0.0585	0.0046 (0.999)	0.1221	0.0281 (0.999)	0.0605	0.0043 (0.999)	0.0246
<b>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K	
(r)	0.0025 (0.9963)	0.0420 (0.9943)	0.0017 (0.9901)	0.0987 (0.9913)	0.0198 (0.9975)	0.0881 (0.9914)	0.0009 (0.9765)	
<b>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo y Tergitol NP-10</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K	K
(r)	0.0015 (0.9957)	0.0578 (0.9914)	0.0026 (0.9941)	0.1196 (0.9940)	0.024 (0.9975)	0.2130 (0.996)	0.0023 (0.9908)	0.0233 (0.9996)

Tabla.45. Constantes cinéticas globales del EMTB obtenidas en los bioensayos cinéticos.

<i>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0818
( r )	(0.9998)
<i>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0328
( r )	(0.999)
<i>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0903
( r )	(0.9999)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0003
( r )	(0.9755)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo y Tergitol NP-10</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	0.0572
( r )	(0.9819)

Los resultados obtenidos en las tablas anteriores, muestran que la biomasa aclimatada a Diesel tiene un comportamiento de biodegradación muy parecido para todos los BTEoX, mostrando una cinética de biodegradación de orden uno de dos compartimientos para todos los compuestos, en las muestras con biomasa. El EMTB tuvo un comportamiento cinético de orden cero de un solo compartimiento para todas las muestras. Acuña-Askar *et al.*; (2004) reportan que con una biomasa aclimatada a gasolina se obtuvieron resultados similares a los anteriores, mostrando cinéticas de biodegradación de orden uno de doble compartimiento para el tolueno y el etilbenceno, y de un solo compartimiento para el benceno y el o-xileno, y el EMTB mostró orden cero de reacción.

La presencia de suelo en los sistemas, trae como consecuencia una disminución en la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, y esto es debido a que el suelo retiene los compuestos, disminuyendo así la biodisponibilidad de los mismos. Acuña-Askar *et al.*, (2004) muestran en su trabajo un efecto muy parecido al reportado en este trabajo, en el cual se observa una disminución en las constantes cinéticas de biodegradación de los compuestos.

La inclusión del Tergitol NP-10 en los bioensayos cinéticos, trajo como consecuencia un efecto favorable en la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, mostrando un aumento en las constantes cinéticas, y esto pudo ser debido a que, este compuesto evita en gran medida el efecto de partición agua:suelo, aumentando la biodisponibilidad de los BTEoX y del EMTB en las muestras acuosas. Acuña-Askar *et al.*, (2004) mencionan que la presencia de un surfactante no iónico en muestras con suelo, se observa un aumento en las constantes cinéticas de biodegradación de BTEoX y de EMTB, confirmando así los resultados del presente trabajo.

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes de biodegradación y remoción que fueron obtenidos en los bioensayos cinéticos.

Tabla.46. Porcentaje de eliminación de lo BTEoX y EMTB en los bioensayos cinéticos.

Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
<b>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX y EMTB</b>				
75.8%	98.9%	97.5%	18.7%	8.6%
<b>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</b>				
64.8%	95.7%	95.6%	20.4%	7.2%
<b>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX y EMTB</b>				
78.2%	95.6%	97.6%	40.8%	10.3%
<b>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo</b>				
65.8%	90.8%	96.8%	4.4%	1.8%
<b>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y Tergitol NP-10</b>				
74.8%	94.4%	97%	31.2%	5.8%

Los resultados obtenidos en los porcentajes de biodegradación muestran que los compuestos que mas fácilmente se biodegradaron fueron el Etilbenceno, seguido por el tolueno, benceno, o-xileno y al final el EMTB. Los porcentajes de biodegradación del benceno, tolueno y etilbenceno, son cercanos al 100%, sin embargo en trabajos anteriores se reporta una degradación casi completa para estos tres compuestos con biomasa aclimatada a gasolina (Acuña-Askar *et al.*, 2004). El orden de biodegradación es comparable con otros trabajos donde reportan que los compuestos de mayor asimilación son el tolueno, etilbenceno y el benceno (Chang *et al.*, 2001, Villarreal-Chiu *et al.*, 2003a).

Estos resultados muestran que los compuestos que son mas fácilmente metabolizados por el consorcio microbiano aclimatado a Diesel son el etilbenceno, tolueno, benceno y en menor proporción el o-xileno y al final el EMTB.

#### **4. Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)**

El cálculo de los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV), es necesario para saber la cantidad de masa celular volátil presente, tanto en el reactor de aclimatación, como en los bioensayos cinéticos, y esto último es necesario para la obtención de las constantes cinéticas específicas.

En la sección 2.9 se describió el procedimiento para la obtención de los SSV presentes en los bioensayos cinéticos, los resultados se muestran a continuación.

Tabla.47. Pesos de las muestras en las diferentes réplicas

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
	(g)	(g)	(g)
Peso 1	1.8553	1.9745	1.9265
Peso 2	1.9490	1.9652	1.9175

Aplicando las ecuaciones descritas en la Sección 2.9 se obtuvieron los valores de la siguiente tabla, los cuales representan la cantidad de SSV presentes en los bioensayos cinéticos en las diferentes réplicas.

Tabla.48. Cantidad de SSV presente en cada cinética

Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
961	859	835

**Promedio de SSV presentes en los bioensayos cinéticos = 885 mg/L**



## 5. Constantes cinéticas específicas

Las constantes cinéticas específicas se calculan a partir de las constantes globales divididas entre el valor promedio de la masa celular volátil presente en los bioensayos cinéticos, que en este caso fue de 885 mg/L.

Los resultados de esta división se muestran a continuación.

Tabla.49. Constantes cinéticas específicas de los BTEoX en los bioensayos cinéticos.

	Benceno		Tolueno		Etilbenceno		o-Xileno	
<b>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss] (r)	k <sub>1</sub> 1.6949 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 1.5197 <sup>-5</sup>	k <sub>1</sub> 1.9209 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 2.7152 <sup>-4</sup>	k <sub>1</sub> 2.8474 <sup>-5</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 1.4689 <sup>-4</sup>	k <sub>1</sub> 1.2429 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 1.4576 <sup>-5</sup>
<b>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss] (r)	k <sub>1</sub> 2.4858 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 4.7909 <sup>-6</sup>	k <sub>1</sub> 1.4011 <sup>-5</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 1.1853 <sup>-4</sup>	k <sub>1</sub> 2.8813 <sup>-5</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 6.8361 <sup>-5</sup>	k <sub>1</sub> 1.1299 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 6.6666 <sup>-6</sup>
<b>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss] (r)	k <sub>1</sub> 1.9209 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 6.6101 <sup>-5</sup>	k <sub>1</sub> 5.1977 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 1.3796 <sup>-6</sup>	k <sub>1</sub> 3.1751 <sup>-5</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 6.8361 <sup>-5</sup>	k <sub>1</sub> 4.8587 <sup>-6</sup> (0.999)	k <sub>2</sub> 2.7796 <sup>-5</sup>
<b>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss] (r)	k <sub>1</sub> 2.8349 <sup>-6</sup> (0.9963)	k <sub>2</sub> 4.7458 <sup>-5</sup> (0.9943)	k <sub>1</sub> 1.9209 <sup>-6</sup> (0.9901)	k <sub>2</sub> 1.1153 <sup>-4</sup> (0.9913)	k <sub>1</sub> 2.2372 <sup>-5</sup> (0.9975)	k <sub>2</sub> 9.9548 <sup>-5</sup> (0.9914)	k <sub>1</sub> 1.0169 <sup>-6</sup> (0.9765)	k <sub>2</sub>
<b>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo y Tergitol NP-10</b>								
K Globales [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss] (r)	k <sub>1</sub> 1.6949 <sup>-6</sup> (0.9957)	k <sub>2</sub> 6.5311 <sup>-5</sup> (0.9914)	k <sub>1</sub> 2.9379 <sup>-6</sup> (0.9941)	k <sub>2</sub> 1.3514 <sup>-4</sup> (0.9940)	k <sub>1</sub> 2.7119 <sup>-5</sup> (0.9975)	k <sub>2</sub> 2.4068 <sup>-4</sup> (0.996)	k <sub>1</sub> 2.5988 <sup>-6</sup> (0.9908)	k <sub>2</sub> 2.6327 <sup>-5</sup> (0.9996)

Tabla.50. Constantes cinéticas específicas de EMTB.

<i>Efecto de la biomasa sobre la biodegradación de los BTEoX</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	9.2429 x 10 <sup>-5</sup>
( r )	(0.9998)
<i>Efecto del suelo y la biomasa sobre la remoción de los BTEoX</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	3.7062 x 10 <sup>-5</sup>
( r )	(0.999)
<i>Efecto del suelo, biomasa y Tergitol NP-10 sobre la remoción de los BTEoX</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	1.0203 x 10 <sup>-4</sup>
( r )	(0.9999)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	3.3898 x 10 <sup>-7</sup>
( r )	(0.9755)
<i>Eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX en presencia de suelo y Tergitol NP-10</i>	
K Globales	K
[mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	6.4633 x 10 <sup>-5</sup>
( r )	(0.9819)

## **6. Coeficientes adimensionales de Henry**

Los coeficientes adimensionales de Henry ( $K_H$ ) se obtuvieron para cada uno de los BTEoX y el EMTB, estando estos compuestos presentes en conjunto en las muestras analizadas. Los  $K_H$  se obtuvieron analizando en el cromatógrafo de gases la fase de vapor y la fase líquida. Para la fase de vapor se emplearon 10 mL y para la fase líquida se emplearon 5 mL. El hecho de haber analizado el doble de volumen de la fase gaseosa se debió a la necesidad de inyectar una cantidad que estuviera dentro del intervalo de detección del detector.

Las áreas reportadas en el Anexo K corresponden a la masa detectada en 10 mL de la fase gaseosa y 5 mL de la fase líquida. En base a la curva de calibración de la fase líquida (Fig. 62-66) para cada analito se obtuvieron las masas correspondientes a las áreas del Anexo K. Estas masas se extrapolaron a las masas contenidas en los 25 mL de la fase de vapor del tubo Falcon® y a los 25 mL de la fase líquida contenida en el tubo Falcon®. La masa contenida en los 25 mL de vapor se dividió por 25 y se expresó como microgramos por mililitro, igualmente para la fase líquida.

A continuación se muestra la curva de calibración de la fase líquida de cada analito, utilizadas para la determinación de los  $K_H$ .

✓ Benceno

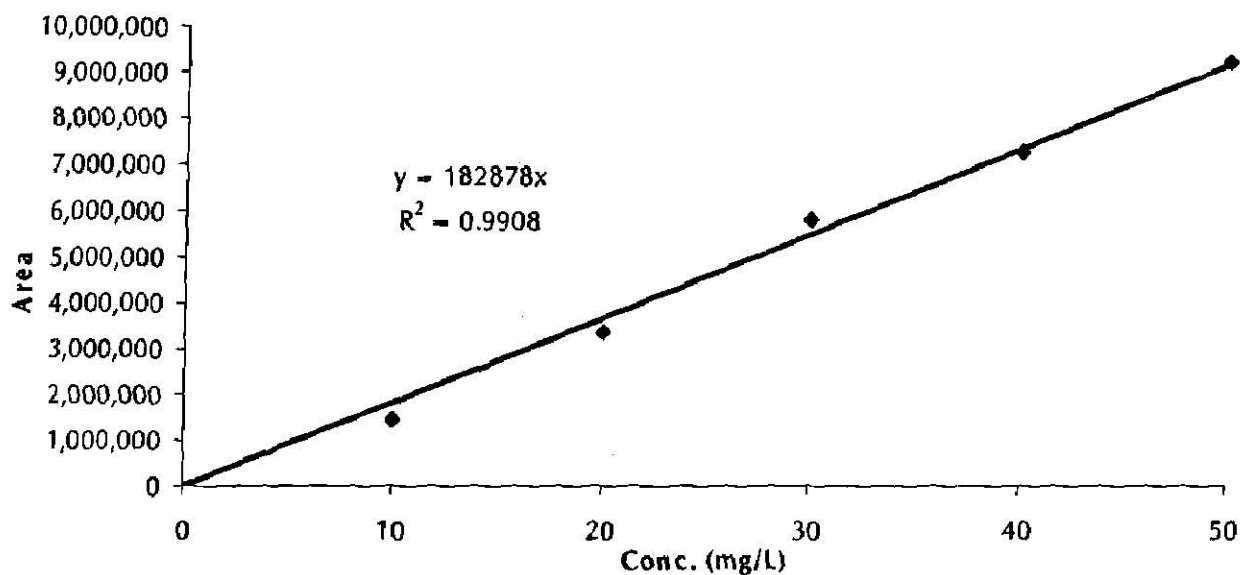


Fig.62. Curva de calibración de benceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 182878x$$

$$R^2 = 0.9908$$

✓ Tolueno

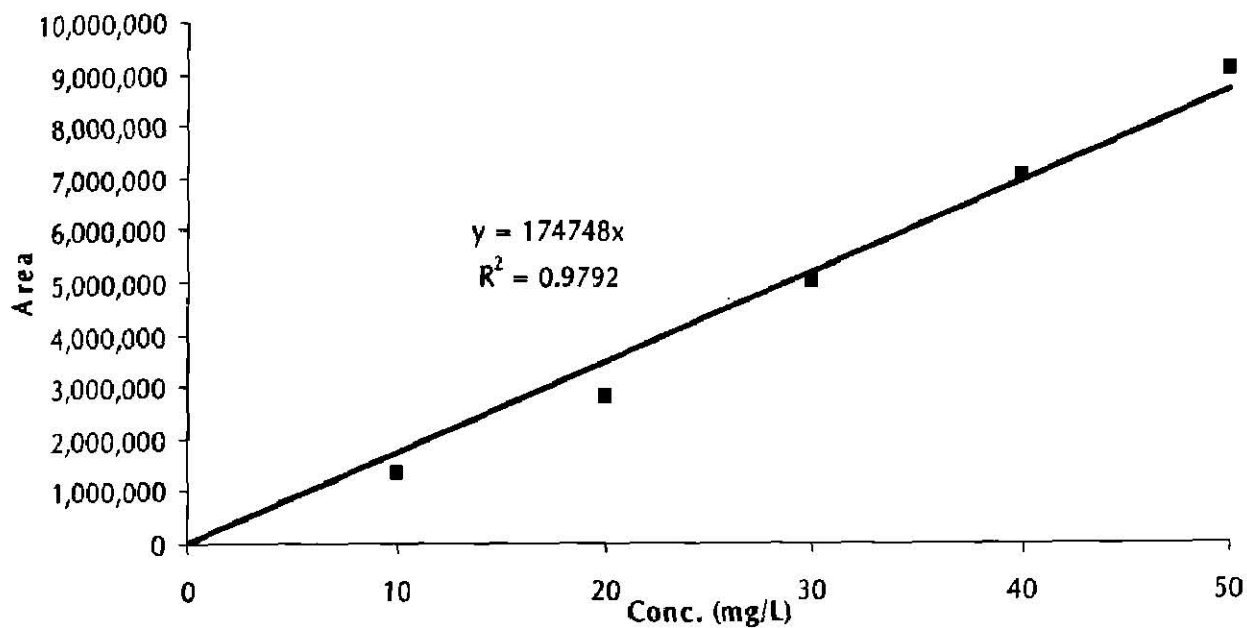


Fig.63. Curva de calibración de tolueno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 174748x$$

$$R^2 = 0.9792$$

✓ Etilbenceno

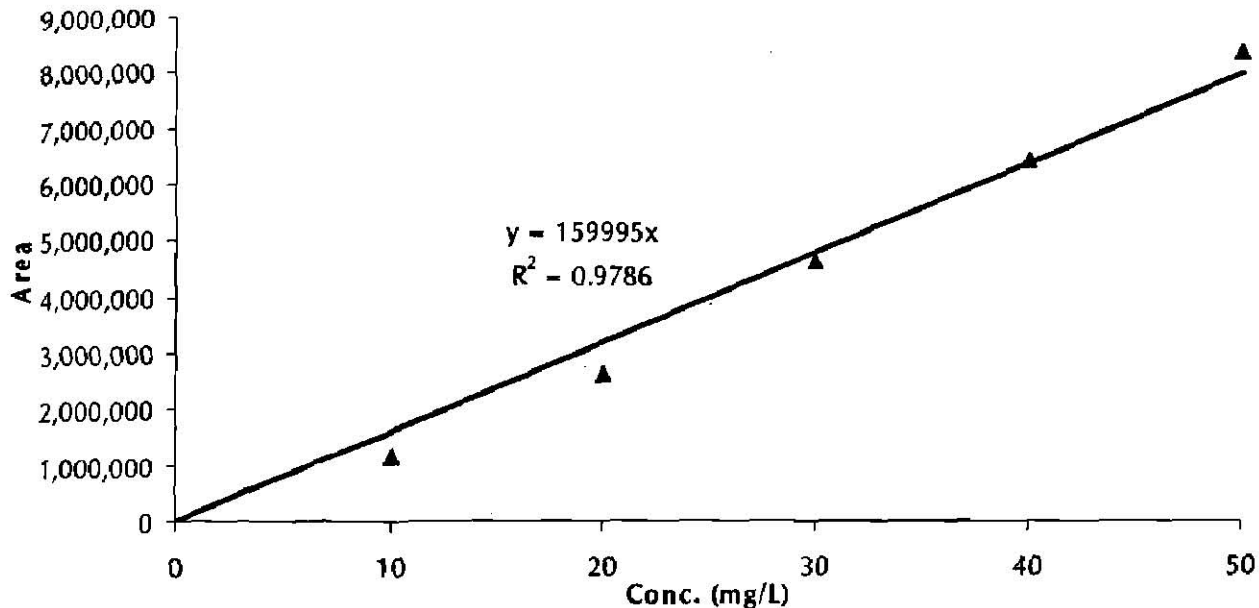


Fig.64. Curva de calibración de etilbenceno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 159995x$$

$$R^2 = 0.9786$$

✓ o-Xileno

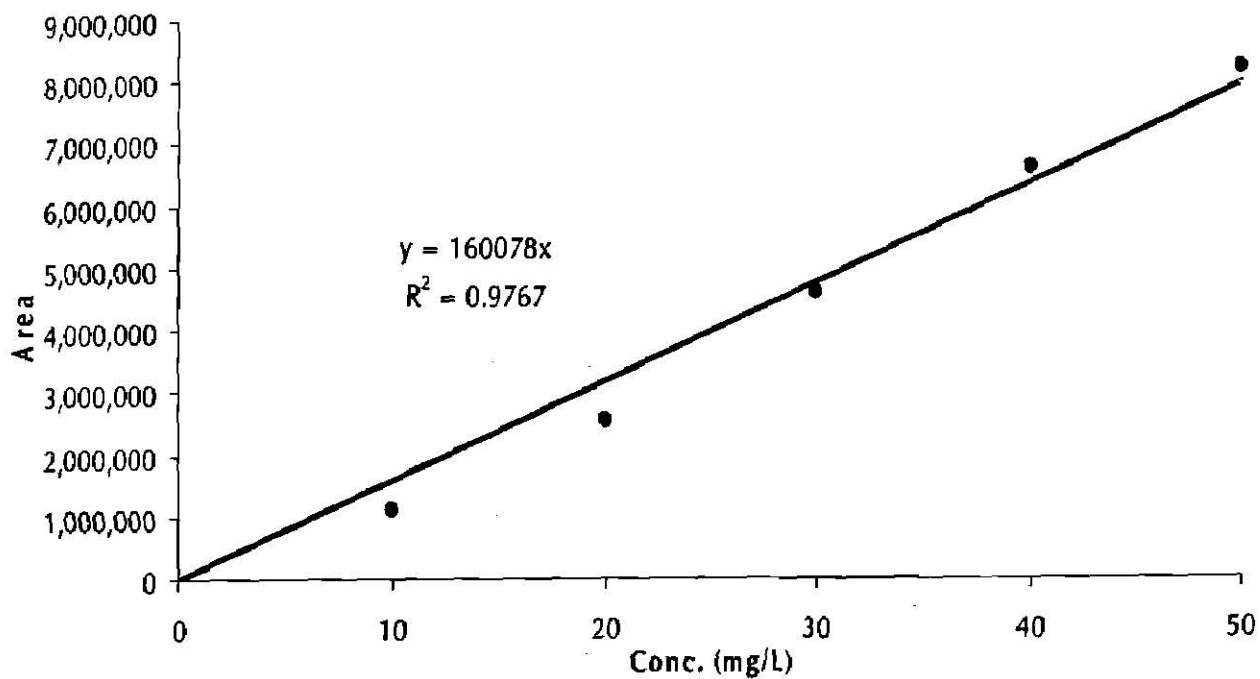


Fig.65. Curva de calibración de o-xileno, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 160078x$$

$$R^2 = 0.9767$$

✓ EMTB

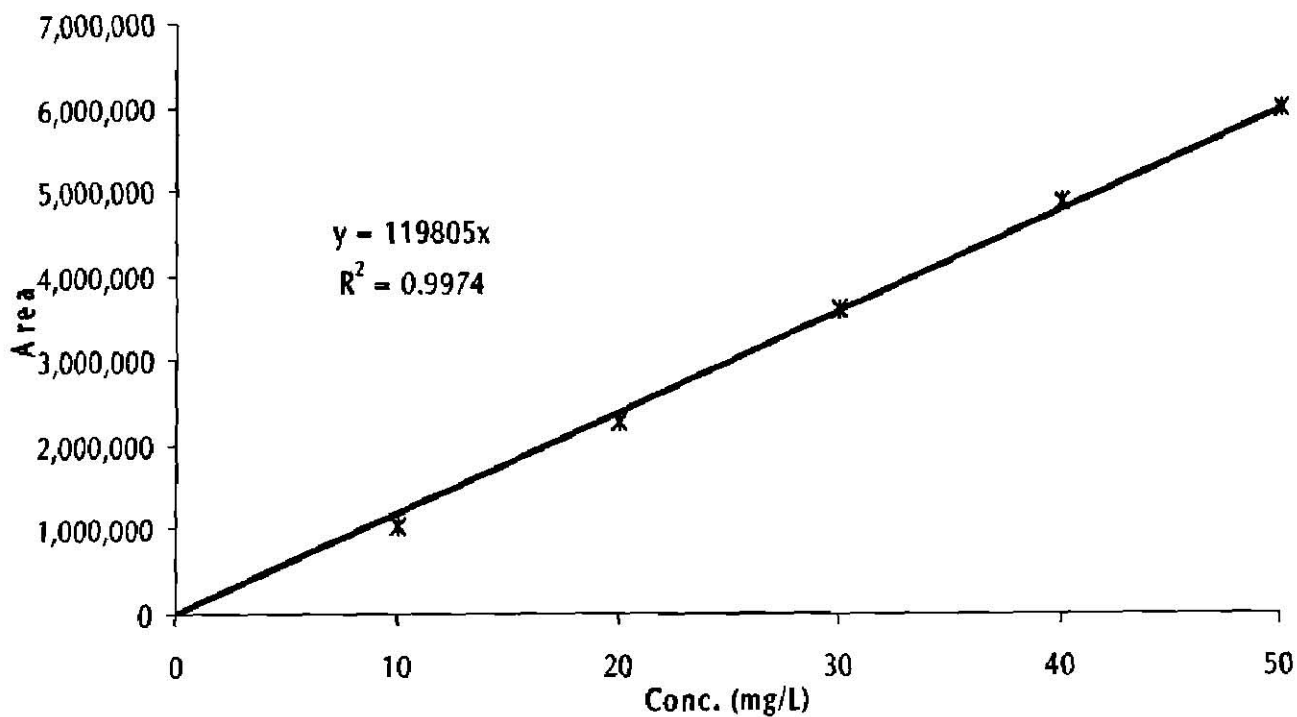


Fig.66. Curva de calibración de EMTB, estando presentes los BTEoX y el EMTB en conjunto.

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

$$y = 119805x$$

$$R^2 = 0.9974$$



Por medio de las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración de cada analito, se obtuvieron las masas de los BTEoX y EMTB que fueron inyectadas, las cuales se muestran en las siguientes tablas.

Tabla.51. Concentraciones inyectadas de la fase líquida con respecto a la curva de calibración.

Estándar (mg/L)	Benceno ( $\mu\text{g}$ )	Tolueno ( $\mu\text{g}$ )	Etilbenceno ( $\mu\text{g}$ )	o-Xileno ( $\mu\text{g}$ )	EMTB ( $\mu\text{g}$ )
50	40.22	38.35	35.36	34.72	43.93
100	91.26	80.79	81.85	80.41	95.13
150	158.84	144.06	145.19	144.54	150.23
200	197.81	203.03	201.95	207.43	203.19
250	251.90	261.14	261.51	258.21	250.47

Tabla.52. Concentraciones inyectadas de la fase vapor con respecto a la curva de calibración.

Estándar (mg/L)	Benceno ( $\mu\text{g}$ )	Tolueno ( $\mu\text{g}$ )	Etilbenceno ( $\mu\text{g}$ )	o-Xileno ( $\mu\text{g}$ )	EMTB ( $\mu\text{g}$ )
50	2.79	2.30	2.28	1.91	0.75
100	6.83	5.09	5.30	4.81	1.67
150	9.25	6.57	5.21	3.85	2.34
200	12.71	10.64	11.18	7.86	3.26
250	17.81	12.07	9.14	6.37	4.75

Estas masas fueron extrapoladas al volumen total de las muestras, lo cual se calculó de la siguiente manera:

$$M_{EL} = (M_L)(5 \text{ mL})$$

Donde:

$M_{EL}$  = Masa extrapolada del analito en la fase líquida para un total de 25 mL

$M_L$  = Masa obtenida del analito en la muestra líquida inyectada

$$M_{EV} = (M_V)(5 \text{ mL})$$

Donde:

$M_{EV}$  = Masa extrapolada del analito en la fase vapor

$M_V$  = Masa obtenida del analito en la muestra gaseosa inyectada

Por medio de las ecuaciones anteriores se obtuvieron los resultados de las siguientes tablas.

Tabla.53. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase líquida.

Estándar (mg/L)	Benceno ( $\mu\text{g}$ )	Tolueno ( $\mu\text{g}$ )	Etilbenceno ( $\mu\text{g}$ )	o-Xileno ( $\mu\text{g}$ )	EMTB ( $\mu\text{g}$ )
50	201.08	191.73	176.78	173.62	219.66
100	456.31	403.96	409.23	402.07	475.67
150	794.19	720.31	725.94	722.69	751.15
200	989.03	1,015.16	1,009.77	1,037.17	1,015.96
250	1,259.49	1,305.72	1,307.57	1,291.07	1,252.34

Tabla.54. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase vapor.

Estándar (mg/L)	Benceno ( $\mu\text{g}$ )	Tolueno ( $\mu\text{g}$ )	Etilbenceno ( $\mu\text{g}$ )	o-Xileno ( $\mu\text{g}$ )	EMTB ( $\mu\text{g}$ )
50	6.97	5.76	5.70	4.77	1.88
100	17.09	12.72	13.24	12.03	4.18
150	23.11	16.42	13.03	9.63	5.86
200	31.78	26.61	27.94	19.65	8.14
250	44.52	30.17	22.86	15.92	11.88

Las concentraciones de las muestras se obtuvieron de la división de las masas de las tablas 53 y 54 entre el volumen del sistema que es de 25 mL, y así se obtuvieron las tablas 55 y 56 respectivamente.

Tabla.55. Concentraciones de las muestras de 25 mL de la fase líquida.

Estándar (mg/L)	Benceno (µg/mL)	Tolueno (µg/mL)	Etilbenceno (µg/mL)	o-Xileno (µg/mL)	EMTB (µg/mL)
50	8.04	7.67	7.07	6.94	8.79
100	18.25	16.16	16.37	16.08	19.03
150	31.77	28.81	29.04	28.91	30.05
200	39.56	40.61	40.39	41.49	40.64
250	50.38	52.23	52.30	51.64	50.09

Tabla.56. Concentraciones de las muestras de 25 mL de la fase vapor.

Estándar (mg/L)	Benceno (µg/mL)	Tolueno (µg/mL)	Etilbenceno (µg/mL)	o-Xileno (µg/mL)	EMTB (µg/mL)
50	0.28	0.23	0.23	0.19	0.08
100	0.68	0.51	0.53	0.48	0.17
150	0.92	0.66	0.52	0.39	0.23
200	1.27	1.06	1.12	0.79	0.33
250	1.78	1.21	0.91	0.64	0.48

Como paso final para la obtención de los coeficientes adimensionales de Henry para cada analito, fue el de dividir la concentración obtenida de la fase vapor de entre la concentración obtenida de la fase líquida.

$$K_H = \frac{\text{Concentración del analito en la fase vapor en 25 mL}}{\text{Concentración del analito en la fase líquida en 25 mL}}$$

Los resultados de este cociente se muestran en la tabla siguiente:

Tabla.57. Coeficientes adimensionales de Henry.

Estandar (mg/L)	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
50	0.0347	0.0300	0.0323	0.0275	0.0086
100	0.0374	0.0315	0.0324	0.0299	0.0088
150	0.0291	0.0228	0.0179	0.0133	0.0078
200	0.0321	0.0262	0.0277	0.0189	0.0080
250	0.0353	0.0231	0.0175	0.0123	0.0095

Los resultados obtenidos de los coeficientes adimensionales de Henry, nos muestran que, tanto los BTEoX y el EMTB se mantienen en mayor proporción en la fase líquida del sistema, como se ha reportado que sucede en los mantos freáticos contaminados (Chang *et al.*, 2001). Estos resultados nos indican que, al momento de atacar un problema real de contaminación, los contaminantes se mantendrían en mayor proporción en la fase líquida, y de esta manera el proceso de eliminación de dichos compuestos sería el de la biodegradación y no el del desplazamiento hacia la fase gaseosa.

## **V.- Conclusiones**

La biomasa aclimatada a 200 mg/L de Diesel, dio una concentración de masa celular volátil de 885 mg/L, la cual fue capaz de degradar en gran proporción el tolueno y el etilbenceno con un 98.9 y 97.6% respectivamente. El benceno llegó a un 78.2% de biodegradación, mientras que el *o*-xileno se degradó un 40.8% y el EMTB fue el mas recalcitrante llegando solamente a un 10.3%.

La presencia de suelo en las muestras, tuvo un efecto negativo en la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, debido a que este favoreció el efecto de partición agua:suelo, provocando una disminución en la biodisponibilidad de los sustratos.

La adición de un surfactante no iónico como el Tergitol NP-10 a los sistemas acuosos, produjo un efecto positivo en la biodegradación de los BTEoX y del EMTB, ya que al contrario de las muestras con suelo, en este caso se produjo un aumento en la biodisponibilidad de los sustratos, llegando así a los niveles más altos de degradación, para el benceno (78.2%), etilbenceno (97.6%), *o*-xileno (40.8%), y el EMTB (10.3%). El porcentaje de biodegradación del tolueno en este sistema fue de 95.6%, superado solamente por las muestras con biomasa con un 98.9%.

Los BTEoX y el EMTB mostraron el siguiente orden de los coeficientes adimensionales de Henry:

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

Con los resultados obtenidos de los coeficientes adimensionales de Henry se concluye que el benceno y el tolueno son de los compuestos que más se volatilizan, y el EMTB es el compuesto más soluble dentro del sistema estudiado.

Comparando los resultados obtenidos en la presente investigación con investigaciones anteriores, se observa que hay una disminución en los porcentajes de biodegradación de las diferentes muestras, ya que, en pasadas investigaciones, las biomasas fueron aclimatadas a BTEX y a Gasolina, llegando así a porcentajes de biodegradación muy cercanos al 100% para el benceno, tolueno y etilbenceno; mientras que el *o*-xileno y el EMTB llegaron cerca del 50% (Villarreal-Chiu, 2003; Gracia-Lozano, 2004). Esta diferencia, pudo haberse debido al hecho de que la biomasa al estar aclimatada a Diesel, el cual esta constituido en su mayoría de cadenas largas de alcanos, se haya especializado en dichos compuestos, perdiendo su capacidad de biodegradar compuestos aromáticos, en mayor o igual medida que lo reportado en investigaciones anteriores.

## **VI.- Referencias**

Acuña-Askar, K., Villarreal-Chiu, J. F., Gracia-Lozano, M. V., Garza-González, M. T., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Sánchez, I. P. y Barrera-Saldaña, H. A. (2004). BTE-oX biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation. *Wat. Sci. Tech.*, 50(5), 85-92

Alfaro-Rodríguez, J. F. (2002). Balance de masas en la biodegradación de benceno, tolueno, etilbenceno y o-xileno por un cultivo microbiano mixto aclimatado. Tesis Profesional, Facultad de Agronomía, U.A.N.L., Marín, N.L.

ATSDR (2003) Fuel oils, chemical and physical information U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

ATSDR. (1996). Toxicological profile for xylene. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

ATSDR. (1997). Toxicological profile for benzene. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

ATSDR. (1999). Toxicological profile for ethylbenzene. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

ATSDR. (2001). Toxicological profile for toluene. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

ATSDR. (2002). Toxicological profile for methyl-tert-butyl ether. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

Chang, S. W., La, H. J. y Lee, S. J. (2001). Microbial degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) contaminated groundwater in Korea. *Wat. Sci. Tech.* 44(7), 165-171.

Church CD, Isabelle L, Pankow JF, Rose DL & Tratnyek PG (1997). Method for determination of methyl tert-butyl ether and its degradation products in water. *Environ. Sci. Technol.* 31: 3723-3726.

Church CD, Tratnyek P & Scow K (2000). Pathways for the degradation of MTBE and other fuel oxygenates by isolate PM1. *Preprints of Extended Abstracts, Am. Chem. Soc.* 40: 261-263.

Deeb RA, Nishino S, Spain J, Hu HY, Scow K & Alvarez-Cohen L (2000). MTBE and benzene biodegradation by bacterial isolate via two independent monooxygenase-initiated pathways. *Preprints of Extended Abstracts, Am. Chem. Soc.* 40: 280-282.

Di Lecce, C., Accarino, M., Bolognese, F., Galli, E. y Barbieri, P. (1997). Isolation and metabolic characterization of a *Pseudomonas stutzeri* mutant able to grow on the three isomers of xylene. *Appl. Environ. Micro.* 63(8), 3279-3281.

DOF, (2003). Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-138-SEMARNAT-2003, que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y restauración. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales de los Estados Unidos Mexicanos, México, D. F.

DOF. (2000). Diario Oficial de la Federación. Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. 22 Noviembre.



Eckenfelder, W. W., Jr. (1989). Industrial water pollution control. McGraw-Hill. 2nd Edition. México.

Eweis, J. B., Ergas S. J., Chang D. P. Y. y Schroeder, E. D. (1999). Principios de biorrecuperación. McGraw Hill-Interamericana de España, S.A.U. Madrid, España.

Gracia-Lozano, M. V. (2004). Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de hidrocarburos de la gasolina sin plomo por un consorcio microbiano mixto aclimatado a estos en matrices acuosas y de suelo en presencia y ausencia de un surfactante no iónico. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L., Monterrey, N.L.

Hardison LK, Curry SS, Cuiffetti LM & Hyman MR, (1997). Metabolism of diethyl ether and cometabolism of methyl tert-butyl ether by filamentous fungus, a *Graphium* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3059-3067.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Historia (INEGI) (2003). Estadísticas económicas. 2002 México D.F.

JME. (1997). Japan Ministry of the Environmental. Laws and Regulations. Environmental Quality Standards. Japan.

Morrison R. T. y Boyd R. N. (1998). Química Orgánica. Pearson Educación. 5ª Edición, Edo. de México, México.

NC Department on Environment and Natural Resources. (2002). Risk-based Assessment and Corrective Action for Petroleum Underground Storage Tanks. Maximum Soil Contaminant Concentrations. Mooresville Regional Office, Mooresville, North Carolina.

OJEC. (2001). Decision No. 2455/2002/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and Amending Directive 2000/60/EC. Official Journal of the European Communities. Brussels. 15 Diciembre.

Organización de las Naciones Unidas (2003). Documento público "Año Internacional del Agua Dulce", New York, NY, USA.

Reinhard, M., Goodman, N.L. y Barker, J.F. (1984). Occurrence and distribution of organic chemicals in two landfill leachate plumes. *Environ. Sci. Tech.* 18:953-961

Salanitro J, Spinnler G, Maner P, Wisniewski H. & Johnson P (1999). Potential of MTBE bioremediation in situ inoculation of specialized cultures. In: Proceedings of the API/NGWA Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation Conference, 17-20 November, Houston, TX.

Salanitro JP, Chou CS, Wisniewski HL & Vipond TE (1998). Perspectives on MTBE biodegradation and the potential for in situ aquifer bioremediation. In: Proceedings of the National Ground Water Association, MTBE and Perchlorate in Ground Water 3-4 June, Anaheim, CA.

Standard methods for the examination of water and wastewater (1998). 20th Edition. American Public Health Association/American Water Works association/Water Environment Federation, Washington, DC; USA.

Steffan RJ, McClay K, Vainberg S, Condee CW & Zhang D (1997). Biodegradation of the gasoline oxygenates methyl tert-butyl ether, ethyl tert-butyl ether, and tert-amyl methyl ether by propane-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:4216-4222.

Stewart, W. C. y Kamarthi, R. (1997). Biofilter application for control of BTEX compounds from glycol dehydrator condenser vent gases at oil and natural gas producing facility. Air and Waste Management Association Annual Meeting and Exhibition. Toronto, Ontario.

USEPA. (2001). National Primary Drinking Water Standards. Office of Water, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, Marzo 2001.

USEPA. (2000). National Water Quality Inventor. 1998 Report to Congress. Groundwater and Drinking Water Chapters. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, Agosto.

Villarreal-Chiu, J. F. (2003). Obtención de las constantes cinéticas de biodegradación de BTEoX en presencia de EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a BTEX; en matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia del surfactante Tergitol NP-10. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L., Monterrey, N.L.

Villarreal-Chiu, J. F., Gracia-Lozano, M. V., Garza-González, M. T., Acuña-Askar, K., Rodríguez-Sánchez, I. P., Barrera-Saldaña, H. A. (2003a). Biodegradación aeróbica de BTEX en presencia de EMTB en muestras de suelo. XXXVIII Congreso Mexicano de Química.

## VII.- Anexos

### A. Preparación de medio de BOD para reactores.

#### ✓ Solución 1

Pesar las siguientes sales:

$K_2HPO_4$  0.440 g

$KH_2PO_4$  0.170 g

$Na_2HPO_4$  0.670 g

$NH_4Cl$  0.034 g

$(NH_4)SO_4$  0.400 g

Disolver en 1 litro de agua destilada

#### ✓ Solución 2

Pesar la siguiente sal:

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.230 g

Disolver en 200 mL de agua destilada

#### ✓ Solución 3

Pesar la siguiente sal:

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$  0.200 g

Disolver en 200 mL de agua destilada

#### \* Solución de BOD para reactores

100 mL de solución 1

+ 50 mL de solución 2

+ 1 mL de solución 3

+ 850 mL de agua destilada

**Esterilizar por 15 min. a 15 psi**

## **B. Preparación de medio de BOD concentrado para bioensayos cinéticos.**

### ✓ **Solución 1**

Pesar las siguientes sales:

$K_2HPO_4$  3 g

$Na_2HPO_4$  6 g

$NH_4Cl$  1 g

$NaCl$  1 g

Disolver en 800 mL de agua destilada

### ✓ **Solución 2**

Pesar la siguiente sal:

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 g

Disolver en 200 mL de agua destilada

### ✓ **Solución 3**

Pesar la siguiente sal:

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$  0.2 g

Disolver en 200 mL de agua destilada

**Esterilizar por 15 min. a 15 psi las tres soluciones por separado**

### \* **Medio concentrado para las cinéticas**

Solución 1

+ Solución 2

+ 1 mL de solución 3

### C. Áreas de los cromatogramas de los estándares de las dos curvas de calibración.

#### 1.1. 1ª Curva de calibración

Conc. Inicial (mg/L)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
10	1,498,818	1,676,277	1,627,438	1,564,066	989,000
20	3,629,114	3,461,606	3,413,472	3,287,615	2,001,369
30	4,916,721	4,942,393	4,994,883	4,986,900	2,741,361
40	7,188,814	7,367,235	6,997,254	6,884,238	4,413,003
50	8,726,433	9,123,903	7,958,522	8,898,847	5,284,442

#### 1.2. 2ª Curva de calibración

Conc. Inicial (mg/L)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
10	1,819,926	1,690,246	1,590,646	1,558,072	921,608
20	3,602,204	3,177,505	3,041,221	2,950,237	2,021,967
30	6,080,177	5,220,141	4,974,027	4,889,475	2,402,364
40	7,312,908	6,939,336	6,703,690	6,514,613	4,271,906
50	8,641,031	9,187,165	8,586,694	8,608,945	4,356,179

## D. Áreas de los cromatogramas de la primera réplica de los bioensayos cinéticos.

### 1.1. Muestras control

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	7,897,527	8,080,761	6,852,768	7,997,168	5,181,960
6	7,470,421	7,602,533	6,724,836	7,707,928	5,063,170
12	7,013,967	7,083,445	6,627,771	7,417,637	5,023,650
18	6,844,505	6,812,529	6,607,926	7,023,093	4,893,671
24	6,749,168	6,756,674	5,899,792	6,796,855	4,740,618
30	6,725,259	6,683,483	5,712,022	6,740,178	4,538,988
36	6,657,649	6,648,425	5,651,709	6,564,354	4,537,958
42	6,651,605	6,439,292	5,846,424	6,559,736	4,488,218
48	6,648,959	6,229,566	5,376,355	6,555,028	4,438,455
54	6,405,766	6,227,037	5,339,734	6,385,905	4,384,159

### 1.2. Muestras con biomasa

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,536,433	4,373,501	2,857,687	3,147,127	5,014,964
6	5,285,928	4,265,727	2,696,628	3,087,190	4,965,556
12	5,222,465	4,045,117	2,226,301	3,049,053	4,613,204
18	4,772,278	4,019,921	1,839,021	2,988,395	4,601,417
24	4,693,423	3,599,922	1,754,435	2,887,305	4,591,059
30	4,589,496	3,559,627	1,546,347	2,827,144	4,566,231
36	4,233,056	3,082,046	1,451,046	2,800,316	4,532,512
42	3,229,953	1,587,069	797,282	2,708,720	4,419,091
48	2,226,849	92,091	143,518	2,617,124	4,305,669
54	2,055,422	66,115	92,676	2,611,659	4,027,174

### 1.3. Muestras con biomasa y suelo

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,238,577	4,022,769	2,757,721	2,777,278	4,572,846
6	4,670,796	4,018,415	2,226,836	2,586,948	4,556,833
12	4,591,000	3,811,043	2,222,312	2,543,547	4,346,784
18	4,571,849	3,655,030	1,346,319	2,171,019	4,118,895
24	3,985,679	2,954,435	548,850	2,165,295	4,079,773
30	3,380,328	1,467,374	431,801	1,959,478	4,025,933
36	2,943,523	1,158,529	105,826	1,870,478	3,861,550
42	2,468,542	670,548	104,887	1,775,670	3,829,331
48	1,993,561	182,567	103,947	1,680,862	3,797,112
54	1,951,314	182,298	82,460	1,674,094	3,791,875

### 1.4. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP10

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,495,674	4,156,010	2,266,330	2,669,222	4,764,898
6	5,462,016	4,067,328	2,162,146	2,386,757	4,429,298
12	5,381,821	3,826,567	2,050,684	2,372,084	4,350,218
18	4,927,168	3,753,087	1,599,387	2,360,662	4,306,607
24	4,806,646	3,602,431	1,035,824	2,276,310	4,261,057
30	4,592,829	3,207,327	977,853	2,051,464	4,240,327
36	4,534,129	2,508,775	509,223	2,028,671	4,231,544
42	3,367,305	1,410,383	297,579	1,968,171	4,209,159
48	2,200,480	311,990	85,935	1,907,671	4,186,773
54	1,932,225	284,015	84,469	1,876,701	4,182,026



### 1.5. Muestras con suelo

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	6,373,355	5,649,740	4,747,241	5,192,325	5,073,185
6	6,204,802	5,513,947	4,586,464	5,089,273	5,065,053
12	6,175,908	5,438,498	4,350,537	4,993,561	4,562,274
18	5,436,183	4,965,329	3,773,440	3,137,040	4,492,583
24	5,266,323	4,882,536	3,605,199	3,130,199	4,375,815
30	5,176,385	4,752,019	3,556,777	3,010,538	4,360,306
36	5,026,089	4,607,658	3,499,167	2,934,427	4,295,533
42	4,946,066	4,511,724	3,456,510	2,933,273	4,223,301
48	4,866,042	4,415,790	3,413,853	2,932,118	4,151,068
54	4,822,107	4,410,054	3,364,368	2,920,355	4,074,493

### 1.6. Muestras con suelo y Tergitol NP10

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	7,201,528	6,754,121	4,966,783	5,478,279	5,073,213
6	6,825,549	5,986,279	4,618,888	5,273,790	4,948,420
12	6,281,455	5,609,236	4,572,954	5,140,256	4,897,796
18	6,162,934	5,561,317	4,554,992	5,068,250	4,761,835
24	6,014,928	5,461,144	4,462,702	4,985,600	4,751,610
30	5,965,913	5,449,172	4,146,636	4,690,870	4,711,267
36	5,928,904	5,395,870	3,883,892	4,426,206	4,455,357
42	5,907,870	5,319,523	3,869,861	4,412,765	4,405,154
48	5,886,835	5,243,175	3,855,829	4,399,323	4,354,951
54	5,786,474	5,189,831	3,851,239	4,355,757	4,301,164

## E. Áreas de los cromatogramas de la segunda réplica de los bioensayos cinéticos.

### 1.1. Muestra control

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	7,333,628	7,761,984	7,243,208	7,371,562	5,016,286
6	6,990,917	7,720,264	6,539,164	7,241,234	4,768,430
12	6,938,081	7,137,319	6,257,103	7,047,672	4,726,674
18	6,866,927	6,931,359	6,218,375	6,999,680	4,624,070
24	6,764,336	6,836,973	6,208,433	6,850,500	4,573,049
30	6,674,236	6,817,407	6,118,404	6,644,700	4,466,230
36	6,664,813	6,574,717	6,017,571	6,514,589	4,450,621
42	6,234,270	6,491,922	5,791,046	6,318,424	4,387,827
48	6,200,752	6,436,644	5,582,557	6,315,887	4,204,861
54	6,144,641	6,106,476	5,507,790	6,193,554	4,187,184

### 1.2. Muestras con biomasa

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,483,348	3,997,533	2,138,935	2,219,461	4,944,655
6	5,477,781	3,856,917	2,077,947	2,195,796	4,734,753
12	5,390,867	3,793,879	1,913,562	2,048,995	4,655,799
18	5,355,190	3,557,989	1,168,655	1,996,933	4,526,614
24	5,238,310	3,484,286	758,034	1,796,744	4,481,568
30	5,202,116	3,475,250	495,027	1,766,854	4,464,039
36	4,125,188	3,452,216	402,809	1,760,851	4,413,420
42	2,488,854	165,292	66,304	1,754,009	4,196,151
48	463,880	11,953	62,503	1,214,088	3,963,937
54	122,132	7,929	49,165	1,147,015	3,847,047

### 1.3. Muestras de biomasa y suelo

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,527,809	3,901,579	2,331,687	2,489,531	4,697,979
6	5,336,445	3,643,484	2,034,657	2,319,143	4,440,141
12	5,279,227	3,616,659	1,658,659	2,276,779	4,414,433
18	5,227,407	3,391,632	1,475,697	2,244,824	4,367,567
24	5,076,149	3,290,565	573,893	2,211,781	4,345,954
30	4,710,133	3,274,207	277,431	2,180,859	4,301,560
36	4,662,043	2,018,105	24,321	2,150,985	4,167,984
42	4,654,804	1,917,307	23,298	2,006,916	4,088,010
48	1,267,890	103,919	17,934	1,925,484	3,930,529
54	1,053,249	79,996	17,370	1,751,214	3,916,328

### 1.4. Muestras de biomasa, suelo y surfactante

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,585,082	4,057,878	2,249,994	2,435,647	4,536,954
6	5,207,613	3,798,361	1,625,875	2,045,260	4,491,483
12	5,128,937	3,333,992	1,463,190	2,011,729	4,250,359
18	5,036,934	3,141,482	899,204	1,921,172	4,241,399
24	4,845,735	3,136,166	353,358	1,876,424	4,197,524
30	4,803,018	2,843,462	88,116	1,673,398	4,158,228
36	4,490,120	1,665,737	11,419	1,668,264	4,127,547
42	3,615,853	1,493,456	10,501	1,622,391	4,117,198
48	1,226,982	468,190	3,168	1,614,660	4,106,078
54	16,376	0	0	620,184	3,267,865

### 1.5. Muestras de suelo

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	7,394,403	6,548,653	5,463,650	5,928,277	5,264,449
6	6,912,953	6,116,513	5,004,579	5,432,275	5,141,170
12	6,518,342	5,949,974	4,698,740	5,297,276	4,755,048
18	6,452,872	5,615,036	4,499,292	5,118,590	4,578,821
24	6,199,071	5,455,453	4,219,816	4,759,091	4,541,158
30	6,054,738	5,426,206	4,046,540	4,728,919	4,515,385
36	6,002,985	5,277,077	4,014,919	4,539,257	4,512,312
42	5,980,385	5,105,104	3,968,397	4,496,988	4,327,975
48	5,590,613	5,067,000	3,901,842	4,334,934	4,284,051
54	5,268,223	4,754,644	3,865,688	4,091,510	4,207,284

### 1.6. Muestras de suelo y Tergitol NP10

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	6,857,344	6,357,771	4,837,336	5,190,009	4,920,973
6	6,315,343	5,477,968	4,201,164	4,861,836	4,859,677
12	6,239,584	5,312,965	4,087,338	4,593,130	4,709,820
18	6,037,094	5,290,726	3,916,726	4,573,754	4,643,972
24	5,843,375	5,282,555	3,901,741	4,502,122	4,600,040
30	5,735,558	5,171,668	3,866,249	4,449,021	4,561,802
36	5,729,345	5,078,616	3,857,680	4,403,514	4,487,179
42	5,631,964	4,875,888	3,639,534	4,162,022	4,354,758
48	5,514,904	4,666,783	3,138,910	4,161,876	4,216,165
54	5,504,720	4,560,425	3,128,691	4,107,773	4,080,241

## F. Áreas de los cromatogramas de la tercer réplica de los bioensayos cinéticos.

### 1.1. Muestras control

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	8,023,935	6,981,205	6,293,454	7,604,466	5,003,633
6	7,051,400	6,411,605	6,239,539	7,124,606	4,854,535
12	6,956,096	6,400,548	6,051,125	6,940,620	4,792,885
18	6,951,041	6,277,906	6,023,435	6,794,192	4,639,549
24	6,782,741	6,258,243	5,835,252	6,599,283	4,475,876
30	6,706,253	6,197,822	5,820,596	6,572,013	4,395,720
36	6,640,628	6,112,231	5,692,975	6,483,757	4,353,257
42	6,460,632	6,098,705	5,606,235	6,467,799	4,340,190
48	6,446,998	5,651,070	5,500,897	6,301,434	4,252,991
54	5,718,497	5,223,236	5,245,066	6,121,096	4,025,873

### 1.2. Muestras con biomasa

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,397,979	4,383,284	2,656,802	2,991,577	5,093,373
6	5,394,876	4,140,246	2,617,638	2,888,184	5,054,736
12	5,386,272	4,095,919	2,254,329	2,767,559	4,572,889
18	5,099,321	4,055,557	2,153,360	2,697,662	4,550,611
24	4,957,042	3,872,181	1,015,270	2,655,230	4,516,522
30	4,889,155	3,526,288	399,803	2,509,044	4,469,643
36	4,207,536	2,945,409	33,012	2,463,242	4,446,527
42	2,807,994	184,122	17,415	2,340,219	4,105,618
48	1,020,637	5,326	6,060	2,134,576	3,946,879
54	313,029	1,748	0	2,033,726	3,897,603

### 1.3. Muestras de biomas y suelo

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	5,140,009	3,995,437	2,716,934	2,941,574	5,136,722
6	5,114,344	3,988,174	2,473,075	2,871,936	4,856,988
12	4,742,061	3,939,674	1,922,553	2,851,802	4,489,918
18	4,659,313	3,585,336	1,476,587	2,776,776	4,365,198
24	4,519,141	3,546,214	824,936	2,731,033	4,177,641
30	4,187,034	3,416,141	708,707	2,379,519	4,034,485
36	4,171,028	1,827,737	133,552	2,253,453	3,970,417
42	3,889,101	508,253	100,491	2,161,066	3,831,858
48	1,124,467	122,762	20,701	2,103,687	3,767,639
54	69,735	65,691	15,657	1,860,000	3,541,712

### 1.4. Muestras de biomasa, suelo y Tergitol NP10

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	6,206,010	4,718,937	2,858,247	3,108,510	4,818,459
6	5,458,357	4,326,324	2,711,274	3,090,857	4,670,849
12	5,293,656	4,251,809	2,404,969	2,827,812	4,453,121
18	5,257,667	4,017,622	2,073,789	2,703,036	4,355,202
24	5,254,783	2,632,647	30,126	1,808,167	4,190,948
30	5,191,280	2,429,551	24,716	1,752,998	4,167,440
36	5,162,014	1,935,762	19,669	1,480,449	4,127,998
42	4,760,968	1,077,906	11,242	1,400,817	3,922,640
48	54,856	2,625	1,582	1,354,839	3,898,293
54	7,353	0	0	536,077	3,857,171

### 1.5. Muestras de suelo

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	6,119,197	5,957,368	5,094,913	5,649,045	5,189,003
6	6,077,695	5,917,778	4,726,396	5,195,713	4,981,025
12	5,947,867	5,805,289	4,500,956	5,167,565	4,745,513
18	5,822,702	5,778,250	4,106,370	5,090,708	4,667,137
24	5,717,850	5,567,972	4,040,777	5,028,574	4,657,926
30	5,678,927	5,477,174	4,015,007	4,888,838	4,645,290
36	5,586,850	5,343,207	4,014,134	4,634,662	4,387,654
42	5,471,557	4,929,907	3,975,838	4,607,069	4,174,327
48	5,447,598	4,867,514	3,755,124	4,413,805	4,132,122
54	4,872,775	4,245,769	3,399,645	4,287,036	4,074,770

### 1.6. Muestras de suelo y Tergitol NP10

Tiempo (h)	Área de Benceno	Área de Tolueno	Área de Etilbenceno	Área de o-Xileno	Área de EMTB
0	6,725,593	6,031,739	4,812,405	5,220,389	5,305,797
6	6,681,877	5,923,438	4,688,862	5,135,274	5,108,900
12	6,491,124	5,793,338	4,512,686	5,080,490	4,989,473
18	6,471,344	5,461,765	4,334,520	4,829,353	4,670,518
24	6,262,128	5,412,510	4,017,181	4,457,311	4,662,269
30	6,106,941	4,856,138	3,907,981	4,407,355	4,642,959
36	6,102,506	4,543,705	3,777,752	3,883,351	4,581,151
42	5,649,072	4,404,581	3,480,503	3,867,844	4,367,887
48	5,344,316	4,386,622	3,280,421	3,742,190	4,187,635
54	5,129,570	4,354,000	3,193,400	3,354,236	3,967,440

**G. Valores de las concentraciones en mg/L de la primer réplica de los bioensayos cinéticos, evaluados con la primer curva de calibración.**

**1.1. Muestras control**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	45.30	45.11	41.32	46.24	49.75
6	42.85	42.44	40.55	44.56	48.61
12	40.23	39.55	39.96	42.88	48.23
18	39.26	38.03	39.84	40.60	46.98
24	38.71	37.72	35.57	39.30	45.51
30	38.57	37.31	34.44	38.97	43.58
36	38.18	37.12	34.08	37.95	43.57
42	38.15	35.95	35.25	37.93	43.09
48	38.13	34.78	32.42	37.90	42.61
54	36.74	34.77	32.20	36.92	42.09

**1.2. Muestras con biomasa**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	31.75	24.42	17.23	18.20	48.14
6	30.32	23.82	16.26	17.85	47.67
12	29.95	22.58	13.42	17.63	44.29
18	27.37	22.44	11.09	17.28	44.17
24	26.92	20.10	10.58	16.69	44.08
30	26.32	19.87	9.32	16.35	43.84
36	24.28	17.21	8.75	16.19	43.51
42	18.53	8.86	4.81	15.66	42.42
48	12.77	0.51	0.87	15.13	41.34
54	11.79	0.37	0.56	15.10	38.66



### 1.3. Muestras con biomasa y suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	30.05	22.46	16.63	16.06	43.90
6	26.79	22.43	13.43	14.96	43.75
12	26.33	21.28	13.40	14.71	41.73
18	26.22	20.41	8.12	12.55	39.54
24	22.86	16.49	3.31	12.52	39.17
30	19.39	8.19	2.60	11.33	38.65
36	16.88	6.47	0.64	10.81	37.07
42	14.16	3.74	0.63	10.27	36.76
48	11.43	1.02	0.63	9.72	36.45
54	11.19	1.02	0.50	9.68	36.40

### 1.4. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	31.52	23.20	13.66	15.43	45.74
6	31.33	22.71	13.04	13.80	42.52
12	30.87	21.36	12.36	13.71	41.76
18	28.26	20.95	9.64	13.65	41.34
24	27.57	20.11	6.25	13.16	40.91
30	26.34	17.91	5.90	11.86	40.71
36	26.01	14.01	3.07	11.73	40.62
42	19.31	7.87	1.79	11.38	40.41
48	12.62	1.74	0.52	11.03	40.19
54	11.08	1.59	0.51	10.85	40.15

### 1.5. Muestras con suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	36.55	31.54	28.62	30.02	48.70
6	35.59	30.78	27.65	29.42	48.63
12	35.42	30.36	26.23	28.87	43.80
18	31.18	27.72	22.75	18.14	43.13
24	30.20	27.26	21.74	18.10	42.01
30	29.69	26.53	21.44	17.41	41.86
36	28.83	25.72	21.10	16.97	41.24
42	28.37	25.19	20.84	16.96	40.54
48	27.91	24.65	20.58	16.95	39.85
54	27.66	24.62	20.28	16.88	39.12

### 1.6. Muestras con suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	41.30	37.71	29.95	31.67	48.70
6	39.15	33.42	27.85	30.49	47.51
12	36.03	31.32	27.57	29.72	47.02
18	35.35	31.05	27.46	29.30	45.71
24	34.50	30.49	26.91	28.82	45.62
30	34.22	30.42	25.00	27.12	45.23
36	34.00	30.12	23.42	25.59	42.77
42	33.88	29.70	23.33	25.51	42.29
48	33.76	29.27	23.25	25.43	41.81
54	33.19	28.97	23.22	25.18	41.29

**H. Valores de las concentraciones en mg/L de la segunda réplica de los bioensayos cinéticos, evaluados con la primer curva de calibración.**

**1.1. Muestras control**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	42.06	43.33	43.67	42.62	48.16
6	40.10	43.10	39.43	41.87	45.78
12	39.79	39.85	37.73	40.75	45.38
18	39.38	38.70	37.49	40.47	44.39
24	38.80	38.17	37.43	39.61	43.90
30	38.28	38.06	36.89	38.42	42.88
36	38.23	36.71	36.28	37.66	42.73
42	35.76	36.24	34.92	36.53	42.12
48	35.56	35.94	33.66	36.52	40.37
54	35.24	34.09	33.21	35.81	40.20

**1.2. Muestras con biomasa**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	31.45	22.32	12.90	12.83	47.47
6	31.42	21.53	12.53	12.69	45.45
12	30.92	21.18	11.54	11.85	44.70
18	30.71	19.86	7.05	11.55	43.46
24	30.04	19.45	4.57	10.39	43.02
30	29.84	19.40	2.98	10.22	42.86
36	23.66	19.27	2.43	10.18	42.37
42	14.27	0.92	0.40	10.14	40.28
48	2.66	0.07	0.38	7.02	38.05
54	0.70	0.04	0.30	6.63	36.93

### 1.3. Muestras con biomasa y suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	31.70	21.78	14.06	14.39	45.10
6	30.61	20.34	12.27	13.41	42.63
12	30.28	20.19	10.00	13.16	42.38
18	29.98	18.94	8.90	12.98	41.93
24	29.11	18.37	3.46	12.79	41.72
30	27.01	18.28	1.67	12.61	41.30
36	26.74	11.27	0.15	12.44	40.01
42	26.70	10.70	0.14	11.60	39.25
48	7.27	0.58	0.11	11.13	37.73
54	6.04	0.45	0.10	10.12	37.60

### 1.4. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	32.03	22.65	13.57	14.08	43.56
6	29.87	21.21	9.80	11.82	43.12
12	29.42	18.61	8.82	11.63	40.80
18	28.89	17.54	5.42	11.11	40.72
24	27.79	17.51	2.13	10.85	40.30
30	27.55	15.87	0.53	9.67	39.92
36	25.75	9.30	0.07	9.65	39.63
42	20.74	8.34	0.06	9.38	39.53
48	7.04	2.61	0.02	9.34	39.42
54	0.09	0.00	0.00	3.59	31.37

### 1.5. Muestras con suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	42.41	36.56	32.94	34.27	50.54
6	39.65	34.15	30.17	31.41	49.36
12	37.39	33.22	28.33	30.63	45.65
18	37.01	31.35	27.13	29.59	43.96
24	35.55	30.46	25.44	27.51	43.60
30	34.73	30.29	24.40	27.34	43.35
36	34.43	29.46	24.21	26.24	43.32
42	34.30	28.50	23.93	26.00	41.55
48	32.06	28.29	23.53	25.06	41.13
54	30.22	26.54	23.31	23.65	40.39

### 1.6. Muestras con suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	42.41	36.56	32.94	34.27	50.54
6	39.65	34.15	30.17	31.41	49.36
12	37.39	33.22	28.33	30.63	45.65
18	37.01	31.35	27.13	29.59	43.96
24	35.55	30.46	25.44	27.51	43.60
30	34.73	30.29	24.40	27.34	43.35
36	34.43	29.46	24.21	26.24	43.32
42	34.30	28.50	23.93	26.00	41.55
48	32.06	28.29	23.53	25.06	41.13
54	30.22	26.54	23.31	23.65	40.39

**I. Valores de las concentraciones en mg/L de la tercer réplica de los bioensayos cinéticos, evaluados con la segunda curva de calibración.**

**1.1. Muestras control**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	44.25	39.42	37.48	45.85	53.92
6	38.89	36.21	37.16	42.95	52.31
12	38.37	36.14	36.04	41.84	51.65
18	38.34	35.45	35.88	40.96	49.99
24	37.41	35.34	34.75	39.79	48.23
30	36.99	35.00	34.67	39.62	47.37
36	36.63	34.52	33.91	39.09	46.91
42	35.63	34.44	33.39	38.99	46.77
48	35.56	31.91	32.76	37.99	45.83
54	31.54	29.49	31.24	35.11	43.38

**1.2. Muestras con biomasa**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	29.77	24.75	15.82	18.04	54.88
6	29.75	23.38	15.59	17.41	54.47
12	29.71	23.13	13.43	16.68	49.28
18	28.12	22.90	12.83	16.26	49.04
24	27.34	21.87	6.05	16.01	48.67
30	26.97	19.91	2.38	15.13	48.16
36	23.21	16.63	0.20	14.85	47.91
42	15.49	1.04	0.10	14.11	44.24
48	5.63	0.03	0.04	12.87	42.53
54	1.73	0.01	0.00	11.66	42.00

### 1.3. Muestras con biomasa y suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	28.35	22.56	16.18	17.73	55.35
6	28.21	22.52	14.73	17.31	52.34
12	26.15	22.25	11.45	17.19	48.38
18	25.70	20.25	8.79	16.74	47.04
24	24.92	20.03	4.91	16.46	45.02
30	23.09	19.29	4.22	14.35	43.47
36	23.00	10.32	0.80	13.59	42.78
42	21.45	2.87	0.60	13.03	41.29
48	6.20	0.69	0.12	12.68	40.60
54	0.38	0.37	0.09	10.67	38.16

### 1.4. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	34.23	26.65	17.02	18.74	51.92
6	30.10	24.43	16.15	18.63	50.33
12	29.20	24.01	14.32	17.05	47.99
18	29.00	22.69	12.35	16.30	46.93
24	28.98	14.87	0.18	10.90	45.16
30	28.63	13.72	0.15	10.57	44.91
36	28.47	10.93	0.12	8.93	44.48
42	26.26	6.09	0.07	8.45	42.27
48	0.30	0.01	0.01	8.17	42.01
54	0.04	0.00	0.00	3.07	41.56

### 1.5. Muestras con suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	33.75	33.64	30.35	34.06	55.91
6	33.52	33.42	28.15	31.32	53.67
12	32.80	32.78	26.81	31.15	51.14
18	32.11	32.63	24.46	30.69	50.29
24	31.54	31.44	24.07	30.32	50.19
30	31.32	30.93	23.91	29.47	50.06
36	30.81	30.17	23.91	27.94	47.28
42	30.18	27.84	23.68	27.77	44.98
48	30.05	27.49	22.37	26.61	44.53
54	26.88	23.98	20.25	24.59	43.91

### 1.6. Muestras con suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	37.09	34.06	28.66	31.47	57.17
6	36.85	33.45	27.93	30.96	55.05
12	35.80	32.71	26.88	30.63	53.76
18	35.69	30.84	25.82	29.11	50.33
24	34.54	30.56	23.93	26.87	50.24
30	33.68	27.42	23.28	26.57	50.03
36	33.66	25.66	22.50	23.41	49.36
42	31.16	24.87	20.73	23.32	47.07
48	29.48	24.77	19.54	22.56	45.12
54	28.29	24.59	19.02	19.24	42.75



**J. Valores de los promedios de las concentraciones en mg/L de la tres réplicas de los bioensayos cinéticos, evaluados con las respectivas curvas de calibración.**

**1.1. Muestras control**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	43.87	42.62	40.82	44.90	50.61
6	40.61	40.58	39.05	43.13	48.90
12	39.46	38.51	37.91	41.82	48.42
18	38.99	37.39	37.74	40.68	47.12
24	38.31	37.08	35.92	39.56	45.88
30	37.95	36.79	35.33	39.00	44.61
36	37.68	36.11	34.76	38.23	44.40
42	36.51	35.54	34.52	37.82	43.99
48	36.42	34.21	32.95	37.47	42.94
54	34.51	32.78	32.21	35.95	41.89

**1.2. Muestras con biomasa**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	30.99	23.83	15.32	16.35	50.17
6	30.50	22.91	14.79	15.99	49.20
12	30.19	22.30	12.80	15.39	46.09
18	28.74	21.74	10.32	15.03	45.56
24	28.10	20.47	7.07	14.36	45.26
30	27.71	19.73	4.90	13.90	44.95
36	23.71	17.70	3.79	13.74	44.60
42	16.10	3.61	1.77	13.30	42.32
48	7.02	0.20	0.43	11.67	40.64
54	4.74	0.14	0.29	11.13	39.20

### 1.3. Muestras con biomasa y suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	30.03	22.27	15.62	16.06	48.12
6	28.53	21.77	13.47	15.23	46.24
12	27.59	21.24	11.62	15.02	44.16
18	27.30	19.86	8.60	14.09	42.84
24	25.63	18.30	3.89	13.92	41.97
30	23.17	15.25	2.83	12.76	41.14
36	22.21	9.35	0.53	12.28	39.96
42	20.77	5.77	0.46	11.63	39.10
48	8.30	0.76	0.29	11.18	38.26
54	5.87	0.61	0.23	10.16	37.39

### 1.4. Muestras con biomasa, suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	32.59	24.17	14.75	16.08	47.07
6	30.43	22.78	13.00	14.75	45.32
12	29.83	21.33	11.84	14.13	43.52
18	28.72	20.39	9.14	13.68	43.00
24	28.11	17.50	2.85	11.64	42.12
30	27.51	15.83	2.19	10.70	41.84
36	26.74	11.41	1.09	10.10	41.58
42	22.10	7.43	0.64	9.73	40.73
48	6.65	1.46	0.18	9.51	40.54
54	3.74	0.53	0.17	5.84	37.69

### 1.5. Muestras con suelo

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	37.57	33.91	30.64	32.78	51.72
6	36.25	32.78	28.66	30.72	50.55
12	35.20	32.12	27.12	30.22	46.86
18	33.43	30.57	24.78	26.14	45.79
24	32.43	29.72	23.75	25.31	45.27
30	31.91	29.25	23.25	24.74	45.09
36	31.36	28.45	23.07	23.72	43.95
42	30.95	27.18	22.82	23.58	42.36
48	30.01	26.81	22.16	22.87	41.84
54	28.25	25.05	21.28	21.71	41.14

### 1.6. Muestras de suelo y Tergitol NP10

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc. Benceno (mg/L)</b>	<b>Conc. Tolueno (mg/L)</b>	<b>Conc. Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>Conc. o-Xileno (mg/L)</b>	<b>Conc. EMTB (mg/L)</b>
0	40.27	36.11	30.52	32.47	52.14
6	38.55	33.67	28.65	30.95	50.64
12	36.40	32.42	27.59	30.32	48.81
18	36.02	31.08	26.80	29.34	46.67
24	34.86	30.50	25.43	27.74	46.48
30	34.21	29.38	24.23	27.01	46.20
36	34.03	28.41	23.37	25.08	45.15
42	33.11	27.69	22.66	24.94	43.64
48	31.77	27.44	22.10	24.35	42.69
54	30.57	26.70	21.85	22.69	41.48

**K. Áreas de los cromatogramas de los estándares utilizados para la determinación experimental de la ley de Henry para los BTEoX y EMTB en conjunto.**

**1.1. Áreas de los cromatogramas de los estándares de la fase líquida.**

Conc. (mg/L)	Benceno (5mL)	Tolueno (5mL)	Etilbenceno (5mL)	o-Xileno (5mL)	EMTB (5mL)
10	1,470,963	1,340,179	1,131,380	1,111,705	1,052,636
20	3,337,982	2,823,665	2,618,988	2,574,505	2,279,512
30	5,809,630	5,034,999	4,645,873	4,627,499	3,599,652
40	7,234,981	7,095,943	6,462,308	6,641,181	4,868,690
50	9,213,412	9,126,970	8,368,183	8,266,992	6,001,460

**1.2. Áreas de los cromatogramas de los estándares de la fase vapor.**

Conc. ppm	Benceno (10mL)	Tolueno (10mL)	Etilbenceno (10mL)	o-Xileno (10mL)	EMTB (10mL)
10	102,030	84,221	83,454	69,731	27,542
20	249,966	186,148	193,708	176,063	61,082
30	338,180	240,256	190,625	140,883	85,727
40	465,013	389,253	408,800	287,489	119,081
50	651,375	441,461	334,483	232,935	173,882

## CURRÍCULUM VITAE

- Datos Personales

### Marco Antonio de la Torre Torres

20 de Septiembre de 1981, Monterrey NL

Soltero

Av. Republica Mexicana # 350

Col. El Fundador, San Nicolás de los Garza N.L. CP: 66414

Tel. 83-02-02-08

Correo electrónico: marcodlt@gmail.com

Idiomas: 70% Inglés

- Formación Académica

#### **Primaria**

Escuela Constructores de Monterrey, Manuel Z. Gómez, Col. Constituyentes del 57 Monterrey NL de 1987 - 1991

Escuela Profesor José Garza Martínez, Capil 651, Col. Lomas de Anáhuac, Monterrey NL, CP: 64260 de 1991 – 1993.

#### **Secundaria**

General Jesús González Ortega, Mitla y Copán S/n Col. Lomas de Anáhuac, Monterrey NL. CP 66450 de 1993 – 1996.

#### **Bachillerato**

Preparatoria # 7

Sierra de Santa Clara, Col. Las Puentes de 1996 a 1998.

#### **Licenciatura**

Facultad de Ciencias Químicas, Av. Pedro de Alba S/n, Cd. Universitaria, de Agosto de 1998 a Julio de 2004.

Carrera de Licenciatura en Química Industrial

- **Cursos y Actividades Extracurriculares**

### **Diplomado**

Curso de Inglés Básico, en la Secretaría de Relaciones Culturales de la Facultad de Ciencias Químicas, 1998

"Administrados de la Tecnología Digital e Inglés"

Instituto de Computación del Norte, Hidalgo #320, Col. Centro de 1999 a 2002

Participación en el "VI Verano de Investigación Científica y Tecnológica de la UANL" durante el período comprendido del 28 de Junio al 23 de Julio de 2004. Llevado a cabo en la Facultad de Medicina de la UANL.

Participación como colaborador en el "Taller de Biorremediación Ambiental", Llevado a cabo los días 1 al 9 de Julio de 2004, con duración de 40 horas. Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología, Laboratorio de Biorremediación Ambiental, UANL.

- **Congresos:**

### **Congresos Nacionales e Internacionales**

#### **Sociedad Química de México**

\* En Marzo de 1999, Asistencia al VII Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica Academia Mexicana de Química Inorgánica, A.C. Monterrey, N.L

\* En Septiembre de 1999, Asistencia al XXXIV Congreso Mexicano de Química y XVIII Congreso Nacional de Educación Química, Sociedad Química de México, A.C.

\* En Septiembre del 2001, Asistencia al XXXVI Congreso Mexicano de Química y XX Congreso Nacional de Educación Química, Sociedad Química de México, A.C. Ixtapa, Guerrero.

\* En Septiembre del 2002, Asistencia al XXV Congreso Latinoamericano de Química, XXXVII Congreso Mexicano de Química y XXI Congreso Nacional de Educación Química, Sociedad Química de México, A.C. y Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas Cancún, Quintana Roo

\* En Septiembre del 2003, Asistencia al XXXVIII Congreso Mexicano de Química y XXII Congreso Nacional de Educación Química, Sociedad Química de México, A.C. Ixtapa, Guerrero

\* En Octubre del 2004, Asistencia al XXXIX Congreso Mexicano de Química y XXIII Congreso Nacional de Educación Química, Sociedad Química de Medico, A.C. Mérida, Yucatán.

### **Congresos Regionales de Licenciados en Química Industrial**

\* En 1998, Asistencia a la 2ª Semana Integral, Realizada en las instalaciones de Mederos de la UANL, Monterrey N.L.

\* En 2000, 1er. Congreso Regional de L.Q.I. Carrera de la Licenciatura en Química Industrial Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

\* En 2000, Asistencia al 2º Congreso Regional de LQI, Carrera de la Licenciatura en Química Industrial, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

\* En 2001, Asistencia al Ciclo de Conferencias, Realizada en la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas, Monterrey N.L.

\* En 2002, Asistencia al 3er Congreso Regional de LQI, Carrera de Licenciatura en Química Industrial, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

\* Programa Emprendedores de La Facultad de Ciencias Químicas en la carrera de Licenciado en Química Industrial, de Agosto 1998 a Febrero 1999, presentación del producto SINAC-G°, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

- **Publicaciones Internacionales.**

2005 Participación en la coautoría del artículo de investigación "Biodegradation kinetics of BTE-OX and MTBE by a diesel-grown biomasa." Proceedings of the International Water Association Conference on Sustainable Development of Chemical Industries with the Environment. Chemical Industries 2005. Waste and Wastewater Management. Matsui, S., and Tanaka, H., Eds. Tsukuba and Kashima, Japan, July 14-16, 2005, 176-179.

2005 Participación en la coautoría del artículo de investigación, Acuna-Askar, K., de la Torre-Torres, M.A., Guerrero-Munoz, Garza-González, M.T. and Chavez-Gomez, B. "The effect of soil on BTEOX biodegradation by BTEX-acclimated biomasa". Proceedings of the 9th International Forschungszentrum Karlsruhe/TNO Conference on Soil-Water Systems (CONSOIL 2005). Bordeaux, France, 3-7 October, 2005. Resumen en extenso aceptado.

- **Publicaciones Nacionales.**

2004 Exposición del trabajo intitulado "Desarrollo de un consorcio microbiano mixto aclimatado a gasolina para la biodegradación de BTEoX, mediante un proceso de bioestimulación acelerada", dentro del ciclo de conferencias de Laboratorio de Químico Integrado de la carrera de Licenciado en Química Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas.

2004 Presentación en cartel del trabajo intitulado "Desarrollo de un consorcio microbiano aclimatado a gasolina para la biodegradación de BTEoX en muestras acuosas a través de un proceso de bioestimulación acelerada." mismo que se publicó en las memorias del V Congreso Regional de Licenciado en Química industrial, que se realizó en Monterrey Nuevo León, del 12 al 15 de Mayo de 2004.

2004 Presentación oral del trabajo intitulado De la Torre Torres M.A., Acuña Askar K., Gracia Lozano M.V., Garza González M.T., Rodríguez Sánchez P. y Rocha Pizaña M.R. "Cinética de la biodegradación de BTEoX por biomasa aclimatada a gasolina sin plomo en un proceso de bioestimulación acelerada." mismo que se publicó en las memorias del XXXIX Congreso Mexicano de Química, que se realizó en Mérida Yucatán, del 3 al 7 de Octubre de 2004.

2005 Presentación en cartel del trabajo intitulado, De la Torre Torres M.A., Machorro Garza J.P., García Gómez N.A., Acuña Askar K. "Patrones de biodegradación de BTEoX y EMTB por biomasa aclimatada a Diesel." En el XL Congreso Mexicano de Química y al XXIV Congreso Nacional de Educación Química, que se realizará en la Ciudad de Morelia, Michoacán del 24 al 29 de Septiembre de 2005.

Aceptado

2005 Participación en la coautoría del trabajo intitulado, García Gómez N.A., De la Torre Torres M.A., Machorro Garza J.P., Acuña Askar K. "Efecto del EMTB y Etanol en la biodegradación de BTEX empleando biomasa aclimatada a gasolina." En el XL Congreso Mexicano de Química y al XXIV Congreso Nacional de Educación Química, que se realizará en la Ciudad de Morelia, Michoacán del 24 al 29 de Septiembre de 2005.

Aceptado

2005 Participación en la coautoría del trabajo intitulado, García Gómez N.A., Machorro Garza, J.P., De la Torre Torres M.A., Acuña Askar K. "Evaluación de los patrones de remoción de BTEX, EMTB y Etanol de matrices acuosas en un reactor de flujo continuo." En el XL Congreso Mexicano de Química y al XXIV Congreso Nacional de Educación Química, que se realizará en la Ciudad de Morelia, Michoacán del 24 al 29 de Septiembre de 2005.

Aceptado



- **Experiencia Laboral**

Instituto de Computación del Norte de Octubre del 2000 a Noviembre del 2001

Actividades Realizadas:

Administración del Departamento Escolar y de Archivo

Coordinador General de Eventos Especiales

Así como trabajo en el área de cobranza de dicho instituto.

**Trabajo de Auxiliar de Laboratorio**

Primer Periodo Agosto 1999- Febrero 2000 en el Laboratorio de Análisis Instrumental en la Facultad de Ciencias Químicas

Actividades Realizadas:

Atención de los grupos, proporcionar el material que necesario, y preparación de reactivos.

Segundo Periodo Agosto de 2001- Julio de 2004 En el Departamento de Química Inorgánica en la Facultad de Ciencias Químicas

Actividades Realizadas:

Atención de los grupos, proporcionar el material que necesario, y preparación de reactivos.

- **Habilidades**

Manejo de los paquetes de computo como, Word, Excel, Power Point, Director, Acces, Front Page, Corel Draw , Image Composer, Linux, Java. Así como de aparatos para análisis químicos, tales como Absorción Atómica, IR, Cromatografía de líquidos, Cromatografía de Gases, entre otros.

- **Aficiones Personales**

Actividades al aire libre

Pesca deportiva

Deportes en general

Lectura

## **Artículos derivados del presente trabajo**

# Biodegradation kinetics of BTE-OX and MTBE by a diesel-grown biomass.

K. Acuna-Askar\*, M. A. de la Torre-Torres\*, M. J. Guerrero-Munoz\*,  
M. T. Garza-Gonzalez\*\*, B. Chavez-Gomez\*\*\*, I. P. Rodriguez-Sanchez\*\*\*\* and  
H. A. Barrera-Saldana\*\*\*\*\*

\*Laboratorio de Biorremediación Ambiental, Depto. de Microbiología, Facultad de Medicina, UANL, Madero Pte. y Dr. Aguirre-Pequeño, 64460 Monterrey, N.L., Mexico (Corresponding author: E-mail: [kaskar@fm.uanl.mx](mailto:kaskar@fm.uanl.mx); [marco\\_delatorre81@yahoo.com.mx](mailto:marco_delatorre81@yahoo.com.mx); [jairgenoma@yahoo.com](mailto:jairgenoma@yahoo.com)).

\*\*Facultad de Ciencias Químicas, UANL, Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, 66400 San Nicolás de los Garza, N.L., Mexico (E-mail: [tgazra@fcq.uanl.mx](mailto:tgazra@fcq.uanl.mx)).

\*\*\*Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas 152, Delegación Gustavo A. Madero, 07730 Mexico, D.F. (E-mail: [bchavez@imp.mx](mailto:bchavez@imp.mx)).

\*\*\*\*Unidad de Laboratorios de Ingeniería y Expresión Genéticas, Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UANL, Madero Pte. y Dr. Aguirre, 64460 Monterrey, N.L., Mexico (E-mail: [irodriguez@fm.uanl.mx](mailto:irodriguez@fm.uanl.mx); [hbarrera@fm.uanl.mx](mailto:hbarrera@fm.uanl.mx)).

**Abstract** The biodegradation kinetics of BTE-oX and MTBE, mixed all together, in the presence of diesel-grown bioaugmented bacterial populations as high as 885 mg/L VSS was evaluated. The effect of soil in aqueous samples and the effect of Tergitol NP-10 on substrate biodegradation rates were also evaluated. Biodegradation kinetics was evaluated for 54 hours, every 6 hours. All BTE-oX chemicals followed a first-order two-phase biodegradation kinetic model, whereas MTBE followed a zero-order removal kinetic model in all samples. BTE-oX removal rates were much higher than those of MTBE in all samples. The presence of soil in aqueous samples retarded BTE-oX and MTBE removal rates. The addition of Tergitol NP-10 to aqueous samples containing soil, had a positive effect on substrate removal rate in all samples. Substrate percent removals ranged 64.8-98.9% for benzene, toluene and ethylbenzene. O-xylene and MTBE percent removals ranged 18.7-40.8% and 7.2-10.3%, respectively.

**Keywords** BTEX; MTBE; Tergitol NP-10

## Introduction

Benzene, toluene, ethylbenzene and mixed xylenes (BTEX) along with methyl tertiary-butyl ether (MTBE) are among the unleaded gasoline compounds of major environmental concern usually found in petroleum-contaminated sites. In the United States, BTEX are included in the National Primary Drinking Water Regulations (USEPA, 2001), and some states have set maximum soil contaminant concentrations for a number of hydrocarbons including BTEX (NCDENR, 2002). The maximum contaminant levels (MCLs) for BTEX in drinking water in Mexico are 0.01, 0.3, 0.7 and 0.5 mg/L, respectively (DOF, 2000). Hydrocarbon fractions of diesel as well as BTEX-contaminated soil MCLs have been recently established in Mexico environmental regulations. MCLs for BTEX-contaminated soil in Mexico are 6, 40, 10 and 40.0 mg/Kg, for agricultural and residential settings, respectively, and 15, 100, 25 and 100 mg/Kg for industrial use, respectively (DOF, 2005). Research has shown that among xylene isomers, o-xylene appears to be the most recalcitrant (Stewart and Kamarthi, 1997). Furthermore, the inability to degrade benzene has been correlated to the inability to degrade o-xylene (Gülensoy and Alvarez, 1999). In addition, chemical surfactants have shown to increase substrate dissolution rate (Grimberg *et al.*, 1996) and hydrocarbon uptake through emulsification (Van Hamme and Ward, 2001). Therefore, hydrocarbon polluted site cleanup efforts require the development of new and more efficient technologies to treat contaminated sites, including groundwater. This study was aimed to evaluate the biodegradation kinetics of BTE-oX, all together, in the presence of MTBE by the addition of bioaugmented bacterial populations previously acclimated to diesel. The effects of soil and the addition of nonionic surfactant Tergitol NP-10 (TNP-10) on BTE-oX and MTBE biodegradation kinetics were also evaluated.

## Materials and methods

### Chemicals and culture conditions

Chemicals, including BTE-oX, MTBE and Tergitol NP-10 (TNP-10, a nonionic surfactant) were purchased from Sigma-Aldrich (Mexico) and were above 98% purity. Diesel was purchased from a

local diesel station. Mineral medium I (MMI) was prepared in deionized water and maintained in the seed biomass acclimation bioreactor according to Acuna-Askar *et al.*, 2003. Mineral medium II (MMII) was prepared to resuspend the bacterial cells after centrifugation and had the following composition (in g/L): Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 6; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3; NaCl, 1; NH<sub>4</sub>Cl 1, MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 0.5; CaCl<sub>2</sub>, 0.011; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.001. Substrate mineral medium (SMM) was prepared for the experimental bioassays to evaluate biodegradation kinetics and consisted of MMII, 50 mg/L of each BTE-oX component and 50 mg/L MTBE. The pH of MMII and SMM was 7.0-7.5. The biomass used for experimental bioassays was grown in a 20-L glass bottle, with 8 L as the working volume, aerated at an inlet flowrate of 50 mL/s and keeping dissolved oxygen at 8.2-8.7 mg/L. Single daily manual additions of 200 mg/L diesel as the only source of carbon were made to the bioreactor for 6 months. The conditions described here allowed microbial growth to reach 830-960 mg/L volatile suspended solids (VSS). VSS determination followed Standard Method 2540 E (*Standard Methods*, 1998).

#### Bioaugmentation and experimental bioassays.

Bioassays were performed using 50 mg/L as the initial MTBE concentration and 50 mg/L as the initial concentration of each BTE-oX component to evaluate substrate removal capabilities of diesel-acclimated biomass. Controls and three sets of samples were evaluated. Controls had only SMM. Set 1 contained SMM and 885 mg/L VSS of microbial inoculum. Set 2 contained SMM, 18.5% sterilized soil (SS) and 885 mg/L VSS of microbial inoculum. Set 3 contained SMM, 18.5% SS, 885 mg/L VSS of microbial inoculum and 25 mg/L TNP-10. The amount of TNP-10 added to experimental bioassays was slightly below the critical micelle concentration (CMC) based on prior studies (Acuna-Askar *et al.*, 2003). MTBE and BTE-oX were monitored for 54 hours every 6 hours. Substrate biodegradation kinetics were conducted using 40-mL Wheaton borosilicate glass EPA vials with Teflon™ fluorocarbon resin-lined top screw caps of GPI thread finish (Wheaton Science Products, Millville, NJ), with a maximum working volume of 22 mL, leaving a headspace available for respiration. The experimental bioassays were run three times at different dates to evaluate substrate biodegradation kinetics.

#### Sample and control sterilization and analysis.

5-g soil samples wrapped in aluminum foil were autoclaved in a 21-L Presto autoclave (Industrias Steele, Mexico) following three sterilization cycles. Soil samples were considered sterile at a maximum of 5 CFU/mL in nondiluted samples. Samples and controls were shaken at 200 rpm at 30°C. MTBE and BTE-oX were analyzed by a Varian 3400 GC/FID chromatograph following standard procedures with some modifications according to Acuna-Askar *et al.*, 2004. 5-mL samples were purged with nitrogen at 25°C for 10 minutes and concentrated prior to injection.

#### Kinetic models evaluation

For the three sample sets, the overall BTE-OX biodegradation rate constants K were obtained by the first-order two-phase model (Hu *et al.*, 2004):

$$\text{Model I } S_t = S_1 \exp(-K_1 t) + S_2 \exp(-K_2 t) \quad (1)$$

where:  $S_t$  = Substrate concentration at time t, (mg/L)

$S_1$  = First phase substrate concentration at time zero, (mg/L)

$S_2$  = Second phase substrate concentration at time zero, (mg/L)

$K_1$  = First phase kinetic rate constant, (h<sup>-1</sup>)

$K_2$  = Second phase kinetic rate constant, (h<sup>-1</sup>)

$K$  = overall first order constant,  $K = k X_v$ ;  $X_v = \text{VSS}$ , (mg/L)

$k$  = specific rate constant h<sup>-1</sup>(mg/L)<sup>-1</sup>vss

$t$  = time (h)

For the three sample sets, the overall MTBE removal rate constants K were obtained by the zero-order model:

$$\text{Model II } S_t = - Kt + S_0 \quad (2)$$

Terms are defined as for model I. The overall removal rate constants  $K$  were obtained from the slope by plotting  $S_t$  versus  $t$ .

## Results and discussion

All BTE-oX chemicals followed a first-order two-phase removal rate in the presence of 885 mg/L VSS of diesel-acclimated biomass during the time frame evaluation of 54 hours. As shown in Figure 1, toluene biodegraded slightly faster than ethylbenzene and these two substrates were removed faster than benzene and o-xylene. Recent studies have shown that unleaded-gasoline acclimated biomass under experimental conditions similar to the present study, removed toluene and ethylbenzene faster than benzene and o-xylene, however, some remarkable differences were found on substrate removal rates (Acuna-Askar *et al.*, 2004). As can be seen from comparing Figures 1 and 2, the addition of soil to the substrate mixture retarded the biodegradation rates of all BTE-oX chemicals, primarily toluene, ethylbenzene and o-xylene removal rates.

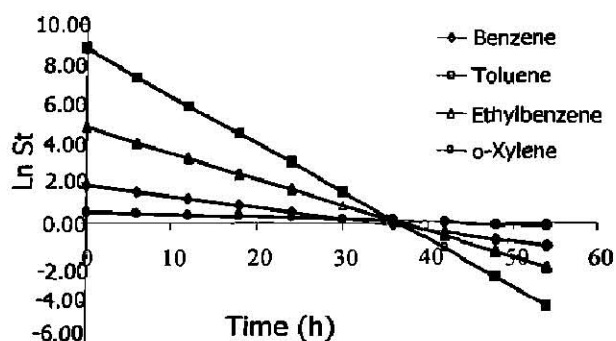


Figure 1 BTEoX biodegradation kinetics with 50 mg/L MTBE in the presence of 885 mg/L VSS.

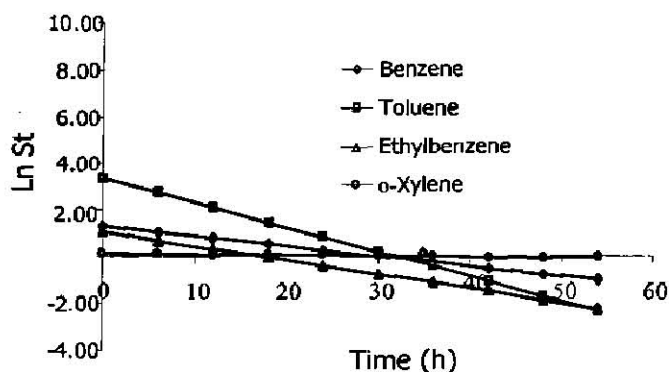


Figure 2 BTEoX biodegradation kinetics with 50 mg/L MTBE, 885 mg/L VSS and 18.5% SS

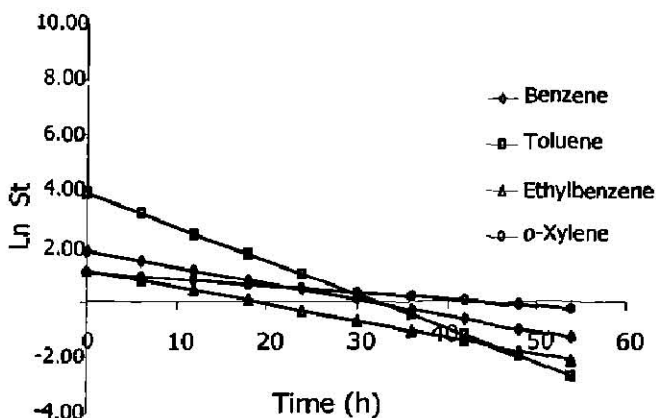


Figure 3 BTEoX biodegradation kinetics with 50 mg/L MTBE, 885 mg/L VSS, 18.5% SS and 25 mg/L of TNP10.

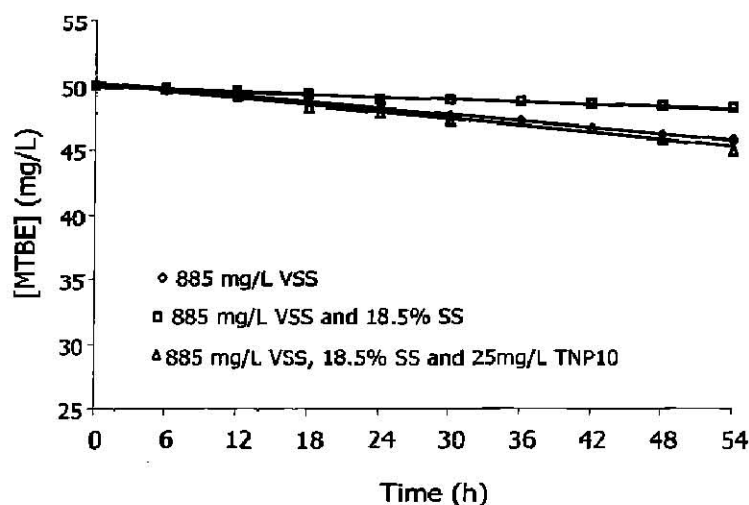


Figure 4 MTBE biodegradation kinetics with 200 mg/L total BTEoX in the presence of 885 mg/L VSS.

The significant reduction of BTE-oX biodegradation rates by soil can be explained by a decrease of substrate solubility in water, possibly due to the hydrophobic attraction between soil and substrates and their octanol-water partition coefficients (Sangster, 1989). The addition of TNP-10 to soil slurry samples noticeably showed a tendency to reinstate BTE-oX availability in water (Figure 3). Benzene and toluene removal rates were restored by 38% and 16%, respectively, whereas no change was observed on ethylbenzene removal rate. The addition of TNP-10, however, had a positive effect on o-xylene removal rate of four-fold. Toluene and ethylbenzene biodegradation rates were so high that the addition of TNP-10 did not have a significant substrate availability restoration effect on them.

MTBE showed a zero-order removal rate during the time frame evaluation of 54 hours. The presence of soil on MTBE biodegradation had a negative impact on the slope of the curve and the addition of surfactant significantly restored MTBE availability (Figure 4).

All BTE-oX followed a first-order two-phase removal rate kinetic model. The first phase kinetic rate constants of all BTE-oX were significantly lower than the corresponding second phase kinetic rate constants (Table 1). Kinetic models for mixed BTEX and MTBE, all together are limited in the literature and kinetic models for the early phase of BTEX/MTBE biodegradation by diesel-acclimatized bacterial cultures are non-existent.

**Table 1** Kinetic model reaction rate constants vs. experimental bioassay samples

		Set 1 Samples*		Set 2 Samples**		Set 3 Samples***	
Benzene	Overall K rate [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
	(r)	0.0015	0.0577	0.0022	0.0424	0.0017	0.0585
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
Benzene	Specific k rate [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>
	(r)	1.6949x10 <sup>-6</sup>	6.5197x10 <sup>-5</sup>	2.4858x10 <sup>-6</sup>	4.7909x10 <sup>-5</sup>	1.9209x10 <sup>-6</sup>	6.6101x10 <sup>-5</sup>
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
Toluene	Overall K rate [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
	(r)	0.0017	0.2403	0.0124	0.1049	0.0046	0.1221
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
Toluene	Specific k rate [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>
	(r)	1.9209x10 <sup>-6</sup>	2.7152x10 <sup>-4</sup>	1.4011x10 <sup>-5</sup>	1.1853x10 <sup>-4</sup>	5.1977x10 <sup>-6</sup>	1.3796x10 <sup>-4</sup>
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
Ethylbenzene	Overall K rate [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
	(r)	0.0252	0.13	0.0255	0.0605	0.0281	0.0605
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
Ethylbenzene	Specific k rate [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>
	(r)	2.8474x10 <sup>-5</sup>	1.4689x10 <sup>-4</sup>	2.8813x10 <sup>-5</sup>	6.8361x10 <sup>-5</sup>	3.1751x10 <sup>-5</sup>	6.8361x10 <sup>-5</sup>
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
o-Xylene	Overall K rate [h <sup>-1</sup> ]	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
	(r)	0.0011	0.0129	0.001	0.0059	0.0043	0.0246
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	
o-Xylene	Specific k rate [h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>
	(r)	1.2429x10 <sup>-6</sup>	1.4576x10 <sup>-5</sup>	1.1299x10 <sup>-6</sup>	6.666x10 <sup>-6</sup>	4.8587x10 <sup>-6</sup>	2.7796x10 <sup>-5</sup>
		(0.999)		(0.999)		(0.999)	

r = correlation coefficient \*SMM + 885 mg/L VSS \*\*SMM + 18.5% SS + 885 mg/L VSS

\*\*\*SMM + 18.5% SS + 885 mg/L VSS + 25 mg/L TNP-10

Reliable fit of data consistently showed that all BTE-oX had a biphasic removal rate with a slope change signaling for chemical breakdown following bacterial adaptation. All BTE-oX second phase kinetic rate constants were significantly higher than the corresponding first phase kinetic rate constants, suggesting that microorganism growth may have occurred along with substrate distribution into the cell prior to substrate transformation. Among all BTE-oX, toluene and ethylbenzene second phase kinetic rate constants showed stronger differences as compared to their respective first phase kinetic rate constants, suggesting that enhanced biodegradation due to some type of substrate interactions may have occurred (Chang *et al.*, 2001; Du Plessis *et al.*, 2001). It has also been reported, however, that MTBE does not interfere on BTEX degradation (Da Silva and Alvarez, 2002), therefore substrate interactions may be attributed to BTEX themselves (Prenafeta-Boldu *et al.*, 2002)

MTBE followed a zero-order removal rate model in the three sample sets evaluated (Table 2). Recent research has found that BTEX does not affect either the biodegradation rate or the lag period of MTBE biodegradation (Pruden and Suidan, 2004). The presence of soil retarded MTBE kinetic rate constants by 60%, however, the addition of TNP-10 helped restore MTBE reaction rate.

**Table 2 MTBE kinetic model reaction rate constants vs. experimental bioassay samples**

	Set 1 Samples*	Set 2 Samples**	Set 3 Samples***
Overall K rate [mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	K	K	K
(r)	0.0818 (0.992)	0.0328 (0.9793)	0.0903 (0.984)
Specific k rate [mgL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> (mg/L) <sup>-1</sup> vss]	k	k	k
(r)	9.2429x10 <sup>-5</sup> (0.992)	3.7062x10 <sup>-5</sup> (0.9793)	1.0203x10 <sup>-4</sup> (0.984)

r = correlation coefficient \*SMM + 885 mg/L VSS \*\*SMM + 18.5% SS + 885 mg/L VSS  
\*\*\*SMM + 18.5% SS + 885 mg/L VSS + 25 mg/L TNP-10

As indicated in Table 3, overall MTBE biodegradation was 8.6% and decreased to 7.2% in the presence of soil and was further increased to 10.3% when surfactant was added to the mixture. The low biodegradation of MTBE was not unexpected because prior studies have shown that different conditions are needed to significantly achieve MTBE biodegradation (Acuna-Askar *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2004; Sedran *et al.*, 2004).

**Table 3 Biodegradation percentage vs. experimental bioassay samples**

	Benzene (%)	Toluene (%)	Ethylbenzene (%)	o-Xylene (%)	MTBE (%)
SMM + 885 mg/L VSS	75.8	98.9	97.5	18.7	8.6
SMM + 885 mg/L VSS + 18.5% SS	64.8	95.7	95.6	20.4	7.2
SMM + 885 mg/L VSS + 18.5% SS + 25 mg/L TNP-10	78.2	95.6	97.6	40.8	10.3

Among the BTE-oX, benzene biodegradation was the most affected by the presence of soil with a 15% reduction in removal performance. The addition of TNP-10, however, helped increase benzene and o-xylene percentage removals by nearly 20% and 100%, suggesting that the addition of nonionic surfactant at a concentration lower than the CMC was able to enhance the interaction of substrate with the microbial population. This is noteworthy because previous research had demonstrated that micellization would reduce substrate availability (Grimberg *et al.*, 1996).

## Conclusions

All BTE-oX chemicals followed a first-order two-phase biodegradation kinetic model, whereas MTBE followed a zero-order removal kinetic model in all samples. Toluene biodegradation rates were higher than any other substrate in all samples, followed by ethylbenzene, benzene, o-xylene and MTBE biodegradation rates. Soil significantly slowed down the biodegradation rates of all BTE-oX compounds, showing the highest negative impact on toluene followed by o-xylene, ethylbenzene and benzene removal rates. The addition of TNP-10 to aqueous samples containing soil showed the highest positive effect on o-xylene followed by benzene and toluene, with no effect on ethylbenzene biodegradation rate. MTBE was the most negatively affected substrate among all chemicals by the presence of soil. The addition of TNP-10 enhanced MTBE biodegradation rate in soil slurry samples by nearly three-fold. Toluene and ethylbenzene percent biodegradations were higher than any other substrates evaluated. Chemical percent removals ranged 64.8-98.9% for benzene, toluene and ethylbenzene. O-xylene and MTBE percent removals ranged 18.7-40.8% and 7.2-10.3%, respectively.

## Acknowledgements

Authors are grateful to M.V. Gracia-Lozano, J. F. Villarreal-Chiu and Juan M. Oviedo-Tristan for providing technical assistance. This research was supported under the auspices of the Instituto Mexicano del Petroleo, CONACYT Start-up project I32968-B and CONACYT Fellowship 990345.

## References

- Acuna-Askar, K., Englande, A.J., Jr., Hu, C. and Jin, G. (2000). Methyl tertiary-butyl ether (MTBE) biodegradation in batch and continuous upflow fixed-biofilm reactors. *Wat. Sci. Tech.*, **42**(5-6), 153-161.
- Acuna-Askar, K., Englande, A.J., Jr., Ramirez-Medrano, A., Coronado Guardiola, J.E. and Chavez-Gomez, B. (2003). Evaluation of biomass production in unleaded gasoline and BTEX-fed batch reactors. *Wat. Sci. Tech.*, **48**(8), 127-133.
- Acuna-Askar, K., Villarreal-Chiu, J.F., Gracia-Lozano, M.V., Garza-Gonzalez, M.T., Chavez-Gomez, B., Rodriguez-Sanchez, I.P. and Barrera-Saldana, H.A. (2004). BTE-oX biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation. *Wat. Sci. Tech.*, **50**(5), 85-92.
- Chang, S.W., La, H.J. and Lee, S.J. (2001). Microbial degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) contaminated groundwater in Korea. *Wat. Sci. Tech.*, **44**(7), 165-171.
- Da Silva, M. and Alvarez, P.J.J. (2002). Effects of ethanol versus MTBE on benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene natural attenuation in aquifer columns. *J. Environ. Engineer.* **128**(9), 862-867.
- DOF. (2000). *Modificacion a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Limites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilizacion.* Diario Oficial de la Federacion. Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de Salud. 22 November.
- DOF. (2005). *Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Limites maximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterizacion y remediacion.* Diario Oficial de la Federacion. Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 29 March.
- Du Plessis, C.A., Strauss, J.M. and Riedel, K.H.J. (2001). BTEX catabolism interactions in a toluene-acclimatized biofilter. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **55**, 122-128.



- Grimberg, S.J., Stringfellow, W.T. and Aitken, M.D. (1996). Quantifying the biodegradation of phenanthrene by *Pseudomonas stutzeri* P16 in the presence of a nonionic surfactant. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**(7), 2387-2392.
- Gülensoy, N. and Alvarez, P. J.J. (1999). Diversity and correlation of specific aromatic hydrocarbon biodegradation capabilities. *Biodegradation*, **10**, 331-340.
- Hu, C., Acuna-Askar, K. and Englande, A.J., Jr. (2004). Bioremediation of methyl tertiary-butyl ether (MTBE) by innovative biofilter. *Wat. Sci. Tech.*, **49**(1), 87-94.
- NC Department of Environment and Natural Resources. (2002). *Risk-based Assessment and Corrective Action for Petroleum Underground Storage Tanks. Maximum Soil Contaminant Concentrations*. Mooresville Regional Office, Mooresville, North Carolina.
- Prenafeta-Boldu, F.X., Vervoort, J., Grotenhuis, J.T.C. and van Groenestijn, J.W. (2002). Substrate interactions during the biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene (BTEX) hydrocarbons by the fungus *Cladophialophora* sp. Strain T1. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**(6), 2660-2665.
- Pruden, A. and Suidan, M. (2004). Effect of benzene, toluene, ethylbenzene and p-xylene (BTEX) mixture on biodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) and tert-butyl alcohol (TBA) by pure culture UC1. *Biodegradation*, **15**, 213-227.
- Sangster, J. (1989). Octanol-water partition coefficients of simple organic compounds. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* **18**(3), 1111-1229.
- Sedran, M.A., Pruden, A., Wilson, G.J., Suidan, M.T. and Venosa, A. D. (2004). Biodegradation of methyl tert-butyl ether and BTEX at varying hydraulic retention times. *Water Environ. Res.* **76**(1), 47-55.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1998). 20<sup>th</sup> edn, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA.
- Stewart, W.C. and Kamarthi, R. (1997). Biofilter Application for Control of BTEX Compounds from Glycol Dehydrator Condenser Vent Gases at Oil and Natural Gas Producing Facility. *Air and Waste Management Association Annual Meeting and Exhibition*. Toronto, Ontario.
- USEPA. (2001). *National Primary Drinking Water Standards*. Office of Water, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, March.
- Van Hamme, J.D. and Ward, O.P. (2001). Physical and metabolic interactions of *Pseudomonas* sp. Strain JA5-B45 and *Rhodococcus* sp. Strain F9-D79 during growth on crude oil and effect of a chemical surfactant on them. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**(10), 4874-4879.

# PATRONES DE BIODEGRADACIÓN DE BTEoX Y EMTB POR BIOMASA ACLIMATADA A DIESEL

De la Torre Torres M.A., Machorro Garza J.P., García Gómez N.A., Acuña Askar K.

Laboratorio de Biorremediación Ambiental, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UANL, Madero Pte. y Dr. Aguirre, s/n, CP. 64460 Monterrey, N.L., México (e-mail: marcodlt@gmail.com; noraaleyda@gmail.com; pablomachorro@gmail.com; kaskar@fm.uanl.mx)

## INTRODUCCIÓN

México es por excelencia un país productor de petróleo a nivel mundial, y por esa misma razón, el riesgo de contaminación con compuestos derivados del mismo es muy alto. Hoy en día la preocupación por la contaminación ambiental ha tomado gran importancia en la sociedad; así mismo, la presencia de compuestos químicos recalcitrantes en el medio ambiente, entre los cuales se encuentran algunos de los componentes de las gasolinas, particularmente los BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos) y el oxigenante, EMTB (Éter metil *ter*-butílico) son un problema que se debe de abordar con prontitud. Los BTEX y el EMTB deben su importancia toxicológica a que se han identificado como potencialmente carcinogénicos (Dean et al., 1985; Belpoggi et al., 1995) y su importancia ambiental a que son capaces de migrar a través del subsuelo con relativa facilidad y contaminar los mantos freáticos. Este proyecto busca resolver esta problemática de contaminación por estos hidrocarburos, utilizando para ello la técnica de biorremediación, que consiste en el empleo de microorganismos para la eliminación de los contaminantes, y cuenta con varias ventajas, como lo son: bajo costo, alta rapidez, tratamiento *in situ* y sobre todo, el hecho de ser una técnica amigable con el ambiente (Fayolle et al., 2001).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Condiciones de aclimatación.** El Benceno, Tolueno, Etilbenceno, o-Xileno y el EMTB fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (México) de un 98 % de pureza. El medio de BOD fue preparado con agua desionizada y mantenido en el reactor de aclimatación de biomasa de acuerdo a las siguientes concentraciones (mg/L) (Acuna-Askar et al., 2003)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 17;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 44;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 67;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 23;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 3.4;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 40;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 1. El medio concentrado (MC) fue preparado para resuspender las células bacterianas después de centrifugarlas y tuvo la siguiente composición (g/L)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 6;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 3;  $\text{NaCl}$ , 1;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 1;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5;  $\text{CaCl}_2$ , 0.011;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.001. El medio con sustratos (MCS) fue preparado para los bioensayos experimentales para evaluar los patrones de biodegradación y consistió de MC y 50 mg/L de cada BTEoX y EMTB.

**Aclimatación de inóculo con enriquecimiento a BTEoX.** La biomasa fue aclimatada en un reactor tipo batch de 19 litros con un volumen de trabajo de 8 litros con un intervalo de aireación de 8.3-8.6 mg/L de oxígeno disuelto. Diariamente se alimentó el reactor adicionando 200 mg/L de Diesel durante los 6 meses de aclimatación. La temperatura se mantuvo en un intervalo de 18-23°C y el pH de 7.0-7.5. Bajo las condiciones descritas anteriormente se encontraron un total de 1618 mg/L de sólidos suspendidos volátiles (SSV) (Standard Methods, 1998) en el reactor de aclimatación.

**Bioensayos experimentales y bioaumentación.** Del reactor de aclimatación fue tomado un volumen total de 480 mL de licor usando 12 tubos Falcon® llenados con 40 mL de licor. La biomasa aclimatada fue centrifugada a 6,000 rpm a 25°C por 3 minutos, fue concentrada y resuspendida en dos tubos Falcon® con 35 mL de MC cada uno. El inóculo de 2 mL de biomasa concentrada fue agregado a los bioensayos experimentales para encontrar 885 mg/L de SSV. En los bioensayos fue

usada una concentración inicial de 50 mg/L de cada BTEoX y EMTB. Fueron monitoreadas las concentraciones de los BTEoX y EMTB en un período de 54 horas cada 6 horas.

**Esterilización de muestras.** Los medios de BOD y MC fueron esterilizados a 121 °C a 15 psi por 15 minutos.

**Incubación y análisis.** El control y las muestras fueron incubadas y agitadas por un Incubador Shaker a 200 rpm a 30 °C durante 54 horas. Los BTEoX y el EMTB fueron analizados por Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Flama. Las determinaciones de CG/DIF se hicieron de acuerdo a procedimientos estandarizados (USEPA, 1995) con algunas modificaciones. El inyector se mantuvo en el modo split/splitless (1:20) y su temperatura fue de 250°C. La temperatura del detector fue de 300°C. El volumen de muestra purgado fue de 5 mL y se realizó con nitrógeno a 25°C por 10 minutos y se concentraron antes de inyectarse al cromatógrafo.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

La Tabla 2 muestra los porcentajes de biodegradación de los BTEoX y del EMTB, donde se puede ver que el Tolueno y el Etilbenceno son los compuestos que más se biodegradan, seguidos por el Benceno, el o-Xileno y al último el EMTB en las 54 horas de muestreo. La Figura 1 nos muestra los patrones de biodegradación de los BTEoX y del EMTB, en donde se puede observar que el Etilbenceno es el compuesto que se empieza a biodegradar primero, seguido del Benceno, Tolueno, o-Xileno y al final el EMTB. Trabajos anteriores, han reportado la biodegradación casi completa de los BTEoX y degradaciones de EMTB de entre 10 y 15.6% en tiempos de 36 horas, con biomasas aclimatadas a BTEX y Gasolina (Villarreal-Chiu, 2003, Gracia-Lozano, 2004), estos porcentajes de biodegradación son más altos que los reportados en este trabajo, y esto pudo deberse a que la biomasa utilizada en este trabajo estaba aclimatada a Diesel, el cual, consta en su mayoría de alcanos de cadena larga, especializándose así, en este tipo de compuestos y no en los compuestos aromáticos estudiados.

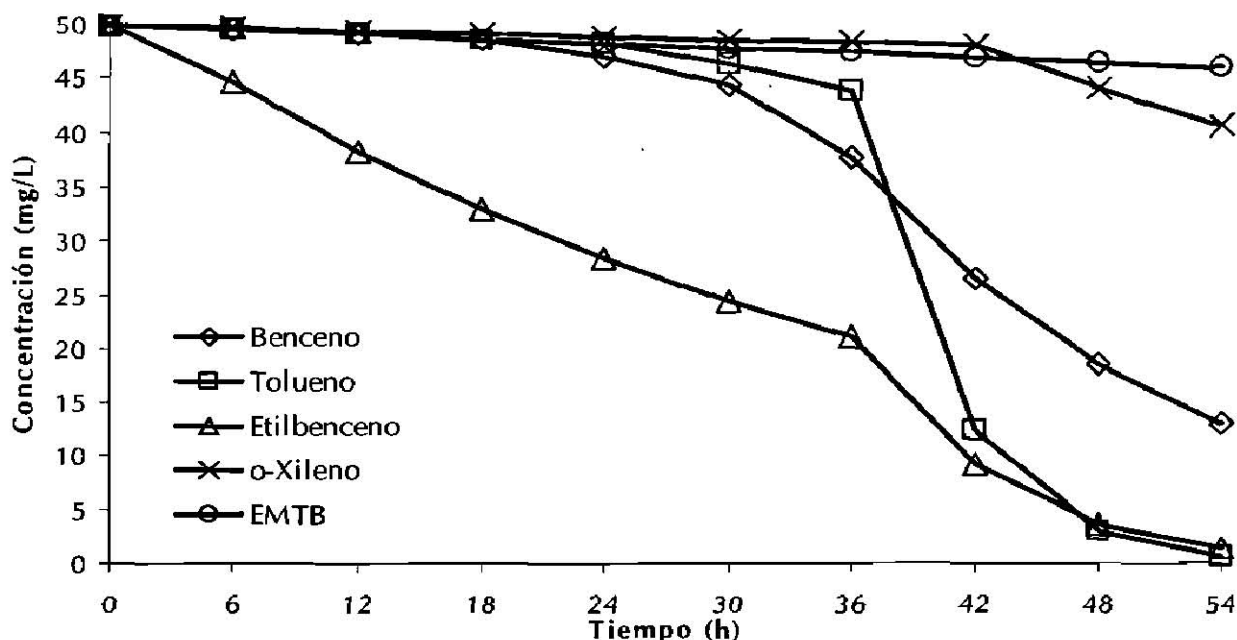
## REFERENCIAS GRÁFICAS Y NUMÉRICAS

**Tabla 1. Concentraciones de los sustratos a diferentes tiempos**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Benceno (mg/L)</b>	<b>Tolueno (mg/L)</b>	<b>Etilbenceno (mg/L)</b>	<b>o-Xileno (mg/L)</b>	<b>EMTB (mg/L)</b>
<b>0</b>	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
<b>6</b>	49.6	49.6	44.7	49.8	49.6
<b>12</b>	49.2	49.1	38.4	49.5	49.2
<b>18</b>	48.7	48.6	33.0	49.1	48.7
<b>24</b>	47.1	48.1	28.4	48.8	48.2
<b>30</b>	44.3	46.3	24.4	48.5	47.7
<b>36</b>	37.5	43.6	21.0	48.2	47.2
<b>42</b>	26.3	12.3	9.1	47.9	46.7
<b>48</b>	18.4	2.9	3.6	43.8	46.2
<b>54</b>	12.9	0.7	1.4	40.3	45.7

**Tabla 2. Porcentajes de biodegradación de los BTEoX y el EMTB**

	%	%	%	%	%
	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno	EMTB
MCS + 885 mg/L SSV	74.2	98.6	97.2	19.4	8.6



**Fig. 1 Patrones de biodegradación de BTEoX y EMTB**

## REFERENCIAS

1. Acuna-Askar, K., Englande, A.J., Jr., Ramirez-Medrano, A., Coronado Guardiola, J.E. and Chavez-Gomez, B. (2003) Evaluation of biomass production in unleaded gasoline and BTEX-fed batch reactors. *Wat. Sci. Tech.*, 48(8), 127-133.
2. Belpoggi P, Soffritti M, Maltoni C. (1995) Methyl-Tertiary-Butyl Ether (MTBE) -A Gasoline Additive- Causes Testicular and Lymphohaematopoietic Cancers in Rats, *Toxicol. Ind. Health*
3. Dean BJ. Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xlenes and phenols, *Mutant. Res.*, 1985, 145: 153-181
4. Fayolle F, Vandecasteele JP, Mont F. (2001) Microbial degradation and fate in the enviroment of methyl *tert*-butyl ether and related fuel oxygenates, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 56: 339-349
5. Gracia-Lozano, M. V. (2004) Evaluación de las constantes cinéticas de biodegradación de hidrocarburos de la gasolina sin plomo por un consorcio microbiano mixto aclimatado a estos en matrices acuosas y de suelo en presencia y ausencia de un surfactante no iónico. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L., Monterrey, N.L.
6. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998) 20th edn, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA.
7. USEPA. (1995) Method 624-purgeables. U. S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulation 40 CFR 806. Washington DC, USA.
8. Villarreal-Chiu, J. F. (2003) Obtención de las constantes cinéticas de biodegradación de BTEoX en presencia de EMTB por un consorcio microbiano mixto aclimatado a BTEX; en matrices acuosas y de suelo, en presencia y ausencia del surfactante Tergitol NP-10. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L., Monterrey, N.L.

