

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



"EVALUACION DE LAS CONSTANTES CINETICAS
DE BIODEGRADACION 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 IONICO"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:
MIRIAM VERONICA GRACIA LOZANO

MONTERREY, N. L.

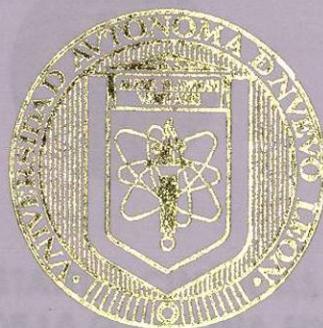
MAYO DE 2004



1080171453

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



"EVALUACION DE LAS CONSTANTES CINETICAS
DE BIODEGRADACION 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 IONICO"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:

MIRIAM VERONICA GRACIA LOZANO

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 2004

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



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

**PRESENTA:
MIRIAM VERÓNICA GRACIA LOZANO**

MONTERREY, N.L.

MAYO DE 2004

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**"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

Elaborada por:

MIRIAM VERÓNICA GRACIA LOZANO

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

LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL

Comisión de tesis:



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



M.C. María Teresa Garza González
Asesor interno



M.C. Alejandro García García
Revisor de tesis



Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa
Revisor de tesis

MONTERREY, N.L.

MAYO DE 2004

Resumen

La presente investigación se realizó de enero a julio de 2003 realizando las cinéticas de biodegradación de los BTEoX y el EMTB juntos en una concentración de 50 mg/L de cada uno de ellos en presencia de 800 mg/L de masa celular de una biomasa aclimatada a 200 mg/L de gasolina sin plomo.

Se evaluó el efecto de 5 gramos de suelo estéril y de 25 mg/L de Tergitol NP10 en la biodegradación de BTEoX y EMTB en un tiempo de experimentación total de 36 horas con intervalos de muestre de 6 horas.

El orden de reacción del benceno y el o-xileno fue de primer orden de reacción y de un solo compartimento. El orden de reacción de tolueno y etilbenceno fue de primer orden de reacción y de doble compartimento. El orden de reacción de EMTB fue cero orden en todas las cinéticas de remoción.

La presencia de suelo los medios de cultivo disminuyo las constantes de velocidad para todos los BTEoX, siendo el mas afectado el o-xileno, En el caso del EMTB aumentó su constante de velocidad

EL surfactante Tergitol NP10 en una concentración de 25 mg/L disminuyo el efecto ocasionado por la presencia de suelo aumentando las constantes de velocidad respecto a las muestras que contenían suelo para todos los compuestos.

Los porcentajes de biodegradación presentados por los compuestos fueron de un 99.3-95.4% en el caso de benceno, 99.5-97.6% para tolueno, 99.7% para etilbenceno, 90.1-55.9% para o-xileno y para el caso de EMTB de 30.1-15.6%

El orden de velocidad de biodegradación fue el siguiente:

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

*"La ciencia tiene las raíces
amargas, pero muy dulces los frutos"*

Aristóteles

Dedicatoria

A Dios
Por darme todo cuanto tengo

A mi abuela
Sra. Celia Robledo Navarro
Gracias por todo el amor y tus
enseñanzas, has sido y serás mi
más grande maestra.

A mis padres
Sr. Gilberto Gracia Cardoza
Sra. Norma Lilia Lozano de Gracia
Por su amor, confianza y
apoyo.

A mis hermanas
Ilithya Noraelia Gracia Lozano
Lourdes Gabriela Gracia Lozano
Por su apoyo, amistad y cariño.

A mi asesor

Dr. Karim Acuña Askar

Por sus consejos, enseñanzas y la confianza que depositó en mí para la realización de este trabajo.

A mis compañeros y amigos

Juan Francisco Villarreal Chiu

Iram Pablo Rodríguez Sánchez

Por todo su apoyo y la incondicional ayuda que me brindaron.

A mis maestros

Por haber compartido conmigo un poco de su gran sabiduría.

A mis amigos

Por su cariño, su apoyo y su 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 lo proyectos PAICYT números SA672-02, SA591-01 y SA241-99.

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

A la M.C. María Teresa Garza González, jefe de la carrera de Licenciado en Química Industrial por todas las facilidades brindadas para la realización de este trabajo, así como su ayuda profesional y su asesoría.

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

Indice

1. Introducción	1
1.1 Agua	2
1.2 Suelo	5
1.3 Contaminación	7
1.4 Contaminantes	10
1.4.1 Gasolina	10
1.4.1.1 Propiedades	12
1.4.1.2 Toxicidad	13
1.4.1.3 Composición Química	16
1.4.2 BTEX	17
1.4.2.1 Benceno	17
1.4.2.2 Tolueno	19
1.4.2.3 Etilbenceno	21
1.4.2.4 Xilenos	22
1.4.2.5 EMTB	24
1.5 Normatividad	26
1.6 Biorremediación	32
1.6.1 Biodegradación de aromáticos	39
2. Hipótesis	42
3. Objetivos	43
3.1 Objetivo General	43

3.2 Objetivos Particulares	43
4. Materiales y Métodos	44
4.1 Materiales	44
4.1.1 Equipo de análisis ambiental	44
4.1.2 Preparación y Preservación de muestras	45
4.1.3 Substancias	46
4.1.4 Area de Experimentación	48
4.2 Métodos	49
4.2.1 Aclimatación del inóculo con enriquecimiento de Gasolina.	49
4.2.2 Mantenimiento de Reactores	51
4.2.3 Aislamiento de Cepas	52
4.2.4 Sólidos Suspendidos Volátiles	52
4.2.5 Cromatografía de gases	54
4.2.5.1 Condiciones del concentrador de muestras por purga y trampa	55
4.2.5.2 Condiciones del cromatógrafo de gases	56
4.2.6 Curvas de calibración	57
4.2.7 Preparación de los ensayos cinéticos	60
4.2.8 Montaje de la Cinética	63
4.2.8.1 Medios para los bioensayos	63
4.2.8.2 Tiempos de muestreo y condiciones de incubación	63

4.2.8.3 Muestras control	64
4.2.8.4 Muestras con Biomasa	64
4.2.8.5 Muestras con Suelo	64
4.2.8.6 Muestras con suelo y surfactante	65
4.2.8.7 Muestras con suelo y biomasa	65
4.2.8.8 Muestras con suelo, surfactante y biomasa	66
4.2.8.9 Muestreos	66
4.2.9 Tratamiento de datos de las cinéticas	69
4.2.9.1 Curva de calibración	69
4.2.9.2 Areas de Cromatogramas	69
4.2.9.3 Concentraciones en mg/L	69
4.2.9.4 Obtención de parámetros	70
4.2.9.5 Obtención del efecto de la biodegradación de BTEoX y EMTB por la biomasa	70
4.2.9.6 Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa y el suelo	71
4.2.9.7 Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa, el suelo y el surfactante	72
4.2.9.8 Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo en la biodegradación de los sustratos	73
4.2.9.9 Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo y surfactante en la biodegradación	

de los sustratos	75
4.2.9.10 Partición de BTEoX y EMTB Agua - Suelo	76
4.2.9.11 Partición de BTEoX y EMTB Agua - Suelo en presencia de surfactante	77
4.2.9.12 Efecto del surfactante en la disponibilidad de los sustratos	78
4.2.10 Cálculos de las constantes cinéticas globales para primer orden de reacción	79
4.2.11 Cálculos de las constantes cinéticas globales para primer orden de reacción de doble compartimento	80
4.2.12 Cálculos de las constantes cinéticas globales para orden de reacción cero	81
4.2.13 Cálculos de las constantes cinéticas específicas	82
4.2.14 Obtención de coeficientes adimensionales de Henry.	83
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES	85
5.1 Aislamiento de Microorganismos biodegradadores del consorcio microbiano mixto.	85
5.2 Sólidos Suspendidos Volátiles	87
5.3 Curvas de calibración para los sustratos	90
5.3.1 EMTB	91
5.3.2 Benceno	92
5.3.3 Tolueno	93

5.3.4 Etilbenceno	94
5.3.5 o-Xileno	95
5.4 Ecuación de la relación entre el área y las concentraciones	96
5.5 Evaluación de la biodegradación de BTEoX y EMTB usando solamente Biomasa	97
5.5.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa respecto a las muestras control	97
5.5.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)	99
5.5.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestra control)	102
5.5.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)	106
5.4.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)	111
5.4.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)	116

5.5 Evaluación de del efecto de remoción de BTEoX y EMTB usando biomasa y suelo	120
5.5.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa y suelo respecto a las muestras control	120
5.5.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)	122
5.5.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solo buffer	125
5.5.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solo buffer	129
5.5.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solo buffer	134
5.5.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente buffer	139
5.6 Evaluación de del efecto de remoción de BTEoX y EMTB usando biomasa, suelo y surfactante	143
5.6.1 Tratamiento de datos para las muestras que	

contenían biomasa, suelo y surfactante respecto a las muestras control	143
5.6.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer	145
5.6.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer	148
5.6.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer	152
5.6.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer	157
5.6.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer	162
5.7 Evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo.	166
5.7.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa y suelo respecto a las muestras que contenían únicamente suelo y buffer	166

5.7.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer	168
5.7.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer	171
5.7.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer	176
5.7.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer	181
5.7.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer	186
5.8 Evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y surfactante.	190
5.8.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante respecto a las muestras que contenían suelo y surfactante	190
5.8.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB	

en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solamente suelo y surfactante	192
5.8.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante	195
5.8.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante	199
5.8.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante	204
5.8.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante	209
5.9 Efecto del surfactante no iónico sobre los modelos cinéticos de la eficiencia de la biodegradación de BTEoX y EMTB	213
5.9.1 EMTB	213
5.9.2 Benceno	214
5.9.3 Tolueno	215
5.9.4 Etilbenceno	216
5.9.5 o-Xileno	217

5.10 Efectos de partición agua - suelo de los BTEoX y el EMTB	218
5.10.1 Partición agua - suelo de los BTEoX y el EMTB	218
5.10.2 Partición agua - suelo de los BTEoX y el EMTB en presencia de un surfactante no iónico.	220
5.11 Coeficientes adimensionales de Henry	223
5.11.1 EMTB	224
5.11.2 Benceno	225
5.11.3 Tolueno	226
5.11.4 Etilbenceno	227
5.11.5 o-Xileno	228
6. Conclusiones	233
7. Recomendaciones	236
8. Bibliografía	237
9. Apéndices	243

Índice de Tablas

Tabla 1. Efectos Adversos a la salud causados por BTEX y EMTB	9
Tabla 2. Propiedades Químicas y Físicas de la Gasolina	12
Tabla 3. Composición Química de la Gasolina	16
Tabla 4. Límites Permisibles de Compuestos Aromáticos de NOM-127-SSA1-1994	26
Tabla 5. Límites Permisibles de Compuestos Aromáticos en Agua Potable (National Primary Drinking Water Standards)	27
Tabla 6. Parámetros a analizar asociados a los hidrocarburos para los que se establecen límites máximos permisibles de contaminación en suelos	28
Tabla 7. Límites máximos permisibles de contaminación en suelos (valores referidos a base seca) mg/kg	29
Tabla 8. Límites máximos permisibles de contaminación en suelos de la NC-DENR	30
Tabla 9. Preparación de estándares	58
Tabla 10. Microorganismos aislados del consorcio aclimatado a gasolina Premium en una concentración diaria de 200 mg/L	85
Tabla 11. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de EMTB	91
Tabla 12. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de Benceno	92
Tabla 13. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de Tolueno	93
Tabla 14. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de Etilbenceno	94
Tabla 15. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de o-Xileno	95

Tabla 16. Ecuaciones de concentración contra área	96
Tabla 17. División de las muestras que contienen Biomasa en relación con las muestras Control (Es para observar el efecto de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB)	97
Tabla 18. Concentraciones Teóricas de los sustratos	98
Tabla 19. Concentraciones teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control	99
Tabla 20. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.	102
Tabla 21. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	104
Tabla 22. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	107
Tabla 23. Valores de las Rectas de la gráfica 9	108
Tabla 24. Valores de concentraciones en dos fases	108
Tabla 25. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	108
Tabla 26. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	109
Tabla 27. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	109
Tabla 28. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control	

y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	112
Tabla 29. Valores de las Rectas de la gráfica 11	113
Tabla 30. Valores de concentraciones en dos fases	113
Tabla 31. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	113
Tabla 32. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	114
Tabla 33. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	114
Tabla 34. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control a diferentes tiempos	116
Tabla 35. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	118
Tabla 36. Relación entre las muestras que contienen Biomasa y suelo con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por el suelo y la biomasa)	120
Tabla 37. Concentraciones Teóricas de los sustratos	121
Tabla 38. Concentraciones teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control	122
Tabla 39. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control a diferentes tiempos	125
Tabla 40. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	127

Tabla 41. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	130
Tabla 42. Valores de las Rectas de la gráfica 18	131
Tabla 43. Valores de concentraciones en dos fases	131
Tabla 44. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	131
Tabla 45. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	132
Tabla 46. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	135
Tabla 47. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	135
Tabla 48. Valores de las Rectas de la gráfica 20	136
Tabla 49. Valores de concentraciones en dos fases	136
Tabla 50. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	136
Tabla 51. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	137
Tabla 52. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	137
Tabla 53. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control	

a diferentes tiempos	139
Tabla 54. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	141
Tabla 55. Relación de las muestras que contienen Biomasa, Suelo y Surfactante con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por el suelo, la biomasa y el surfactante)	143
Tabla 56. Concentraciones Teóricas de los sustratos	144
Tabla 57. Concentraciones Teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control	145
Tabla 58. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control a diferentes tiempos	148
Tabla 59. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	150
Tabla 60. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	153
Tabla 61. Valores de las rectas de la gráfica 27	154
Tabla 62. Valores de concentraciones en dos fases	154
Tabla 63. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	154
Tabla 64. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	155
Tabla 65. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	155

Tabla 66. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	158
Tabla 67. Valores de las Rectas de la gráfica 29	159
Tabla 68. Valores de concentraciones en dos fases	159
Tabla 69. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	159
Tabla 70. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	160
Tabla 71. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	160
Tabla 72. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control a diferentes tiempos	162
Tabla 73. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	164
Tabla 74. Relación de las muestras que contienen Biomasa y Suelo con respecto a las muestras que contienen únicamente suelo (Es para observar el efecto de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de 5 gramos de suelo)	167
Tabla 75. Concentraciones Teóricas de los sustratos	167
Tabla 76. Concentraciones Teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo	168
Tabla 77. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas	

para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	172
Tabla 78. Valores de las Rectas de la gráfica 34	173
Tabla 79. Valores de concentraciones en dos fases	173
Tabla 80. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	173
Tabla 81. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	174
Tabla 82. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Benceno	174
Tabla 83. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	177
Tabla 84. Valores de las Rectas de la gráfica 36	178
Tabla 85. Valores de concentraciones en dos fases	178
Tabla 86. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	178
Tabla 87. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	179
Tabla 88. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	
Tabla 89. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo y valores de la ecuación combinada	

(fase rápida - fase lenta)	182
Tabla 90. Valores de las Rectas de la gráfica 38	183
Tabla 91. Valores de concentraciones en dos fases	183
Tabla 92. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	183
Tabla 93. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	184
Tabla 94. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	184
Tabla 95. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el o-Xileno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo a diferentes tiempos.	186
Tabla 96. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	186
Tabla 97. Relación de las muestras que contienen Biomasa, Suelo y Surfactante con respecto a las muestras que contienen suelo y surfactante (Es para observar el efecto de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de 5 gramos de suelo y 20 mg/L de surfactante)	191
Tabla 98. Concentraciones Teóricas de los sustratos	191
Tabla 99. Concentraciones Teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante	192
Tabla 100. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante a diferentes tiempos.	195

Tabla 101. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	197
Tabla 102. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	200
Tabla 103. Valores de las Rectas de la gráfica 45	201
Tabla 104. Valores de concentraciones en dos fases	201
Tabla 105. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	201
Tabla 106. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	202
Tabla 107. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	202
Tabla 108. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)	205
Tabla 109. Valores de las Rectas de la gráfica 47	206
Tabla 110. Valores de concentraciones en dos fases	206
Tabla 111. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases	206
Tabla 112. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases	207
Tabla 113. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	207

Tabla 114. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante a diferentes tiempos.	209
Tabla 115. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	211
Tabla 116. Relación de las muestras que contienen Suelo con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de partición de BTEoX y EMTB en el suelo)	218
Tabla 117. Relación de las muestras que contienen Suelo y Surfactante con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de partición de BTEoX y EMTB en el suelo en presencia de un surfactante no iónico)	220
Tabla 118. Relación de las muestras que contienen Suelo con respecto a las muestras contiene Suelo y surfactante (Es para observar el efecto de la desorción de BTEoX y EMTB del suelo por acción del surfactante)	222
Tabla 119. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase líquida.	231
Tabla 120. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase de vapor.	232
Tabla 121. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase líquida.	232
Tabla 122. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase de vapor.	232
Tabla 123. Coeficientes adimensionales de Henry (K_H).	232

Indice de Figuras

Fig. 1 Relación entre la disponibilidad del agua y la población	2
Fig.2 Disponibilidad hídrica mundial 1950, 1995, 2025	3
Fig.3 Porcentajes de agua dulce y salada.	4
Fig. 4 Suelo Tipo migajón Arcilloso	6
Fig. 5 Benceno	18
Fig. 6 Tolueno	20
Fig. 7 Etilbenceno	21
Fig. 8 p-Xileno, m-Xileno y o-Xileno	23
Fig. 9 Eter metil <i>ter</i> -butílico	25
Fig. 10 Vía metabólica de los BTEX	41
Fig. 11 Estructura del reactor	50
Fig. 12 Reactores de Aclimatación	50
Fig. 13 Medidor de pH	51
Fig. 14 Reactor de 8 L	51
Fig. 15 Sistema de filtración a vacío y mufla	54
Fig. 16 Inyección de la muestra	55
Fig. 17 Concentrador de purga y trampa	55
Fig. 18 Cromatógrafo de gases adaptado a una purga y trampa	56
Fig. 19 Vial para cinética	60
Fig. 20 Biomasa centrifugada	62
Fig. 21 Sobre de aluminio con suelo estéril	62
Fig. 22 Muestras en agua a 4°C	66
Fig. 23 Filtros para la muestra	67
Fig. 24 Toma de muestra para análisis	67
Fig. 25 Inyección de muestra a vial	68
Fig. 26 Toma de muestra fase	84

Fig. 27 Control negativo contra una muestra inoculada en
agar selectivo

86

Fig. 28 Cepas aisladas del consorcio microbiano

86

Índice de gráficas

Gráfica 1. Curva de calibración para el EMTB	91
Gráfica 2. Curva de calibración para el benceno	92
Gráfica 3. Curva de calibración para el tolueno	93
Gráfica 4. Curva de calibración para el etilbenceno	94
Gráfica 5. Curva de calibración para o-Xileno	95
Gráfica 6. Evaluación de la constante cinética que mide el efecto de la biomasa sobre el EMTB	100
Gráfica 7. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de Benceno por una biomasa aclimatada a Gasolina	103
Gráfica 8. Confirmación de orden uno de reacción para biodegradación del Benceno	104
Gráfica 9. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina	107
Gráfica 10. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	110
Gráfica 11. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina	112
Gráfica 12. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	115
Gráfica 13. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina	117
Gráfica 14. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	118

Gráfica 15. Evaluación de la constante cinética que mide el efecto de la biomasa y el suelo sobre el EMTB	123
Gráfica 16. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de Benceno por efecto de la biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril	126
Gráfica 17. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno en presencia de biomasa y suelo	127
Gráfica 18. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril	130
Gráfica 19. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	133
Gráfica 20. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril	135
Gráfica 21. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno en presencia de suelo y biomasa	138
Gráfica 22. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo	140
Gráfica 23. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno en presencia de suelo y biomasa	141
Gráfica 24. Evaluación de la constante cinética que mide el efecto de la biomasa, suelo y surfactante sobre el EMTB	146
Gráfica 25. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de Benceno por efecto de la biomasa aclimatada a Gasolina, 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP10	149

Gráfica 26. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	150
Gráfica 27. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina, 5 gramos de suelo y 25 mg/L de Tergitol NP10	153
Gráfica 28. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	156
Gráfica 29. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP10	158
Gráfica 30. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	161
Gráfica 31. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina, 5 gramos de suelo y 25 mg/L de Tergitol NP10	163
Gráfica 32. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	164
Gráfica 33. Eficiencia de la biomasa en presencia de suelo sobre el EMTB	169
Gráfica 34. Eficiencia de la biodegradación de Benceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo	172
Gráfica 35. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Benceno	175
Gráfica 36. Eficiencia de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo	177
Gráfica 37. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	180

Gráfica 38. Eficiencia de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo	182
Gráfica 39. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	185
Gráfica 40. Eficiencia de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo	187
Gráfica 41. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	188
Gráfica 42. Eficiencia de la biomasa aclimatada a Gasolina en la biodegradación del EMTB presencia de suelo y surfactante	193
Gráfica 43. Eficiencia de la biodegradación de Benceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante	196
Gráfica 44. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno	197
Gráfica 45. Eficiencia de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante	200
Gráfica 46. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno	203
Gráfica 47. Eficiencia de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante	205
Gráfica 48. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno	208
Gráfica 49. Eficiencia de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante	210

Gráfica 50. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno	211
Gráfica 51. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del EMTB	213
Gráfica 52. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del Benceno	214
Gráfica 53. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del Tolueno	215
Gráfica 54. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del Etilbenceno	216
Gráfica 55. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del o-Xileno	217
Gráfica 56. Disponibilidad de los sustratos en la fase acuosa	219
Gráfica 57. Disponibilidad de los sustratos en la fase acuosa en presencia de 25 mg/L Tergitol NP10	221
Gráfica 58. Eficiencia del surfactante en la desorción de los sustratos del suelo al medio acuoso	222
Gráfica 59. Curva de calibración de la fase líquida de EMTB estando presente los BTEoX y EMTB	224
Gráfica 60. Curva de calibración de la fase líquida de benceno estando presentes los BTEoX y EMTB	225
Gráfica 61. Curva de calibración de la fase líquida de tolueno estando presentes los BTEoX y EMTB	226
Gráfica 62. Curva de calibración de la fase líquida de etilbenceno estando presente los BTEoX y EMTB	227
Gráfica 63. Curva de calibración de la fase líquida de o-xileno estando presentes los BTEoX y EMTB	228

1. Introducción

Los recursos renovables y no renovables son el pilar de la vida en el planeta y el principal motor de crecimiento de las civilizaciones.

El uso inapropiado o la inadecuada disposición de estos recursos impactará en la misma medida sobre el medio ambiente y por consiguiente en la salud de toda la humanidad.

La preservación los recursos naturales y la restauración de los daños hechos sobre éstos, dará como resultado un prevaeciente crecimiento de la calidad de vida en la población y el medio que lo rodea.

La presente investigación se enfoca en el desarrollo de tecnología que permitan mejorar la calidad de los mantos freáticos contaminados con hidrocarburos y con esto contribuir al cuidado de las fuentes naturales de agua potable y así mejorar la calidad del suministro de agua potable a la población.

1.1 Agua

El agua es uno de los componentes del medio ambiente y es el principal recurso natural en el mundo; sin ella la vida no podría existir. En la actualidad, la escasez del vital líquido y del deterioro del mismo es un problema a nivel mundial.

En varias regiones, por ejemplo el Oriente Medio, el norte de África y el sur de Asia, existe escasez crónica de agua (UNESCO 2003), esto se debe en gran medida a que las reservas de agua dulce en estos lugares no son suficientes para cubrir las necesidades de la población. Un ejemplo de esto es Asia, en donde el 60 % de la población mundial está asentada en esta zona, pero solo el 36% del agua dulce del planeta se encuentra en dicha área, tal y como lo muestra la fig. 1.

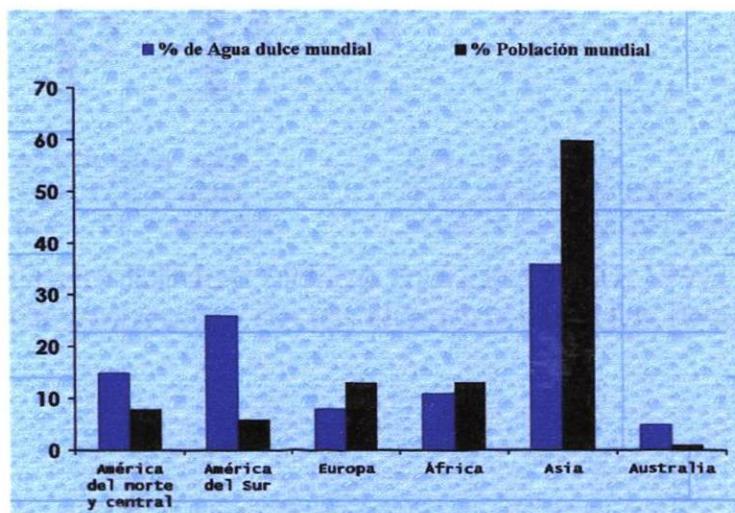


Fig. 1 Relación entre la disponibilidad del agua y la población Fuente: UNESCO 2003

El consumo del agua dulce se elevó a un ritmo superior al doble de la tasa de crecimiento de la población durante el siglo XX y la tendencia irá en aumento. Cuatro de cada diez habitantes del mundo viven en zonas con escasez de agua. Es posible que en 2025 no menos de dos tercios de la población mundial, viva en países con escasez grave de agua. (ONU 2003)

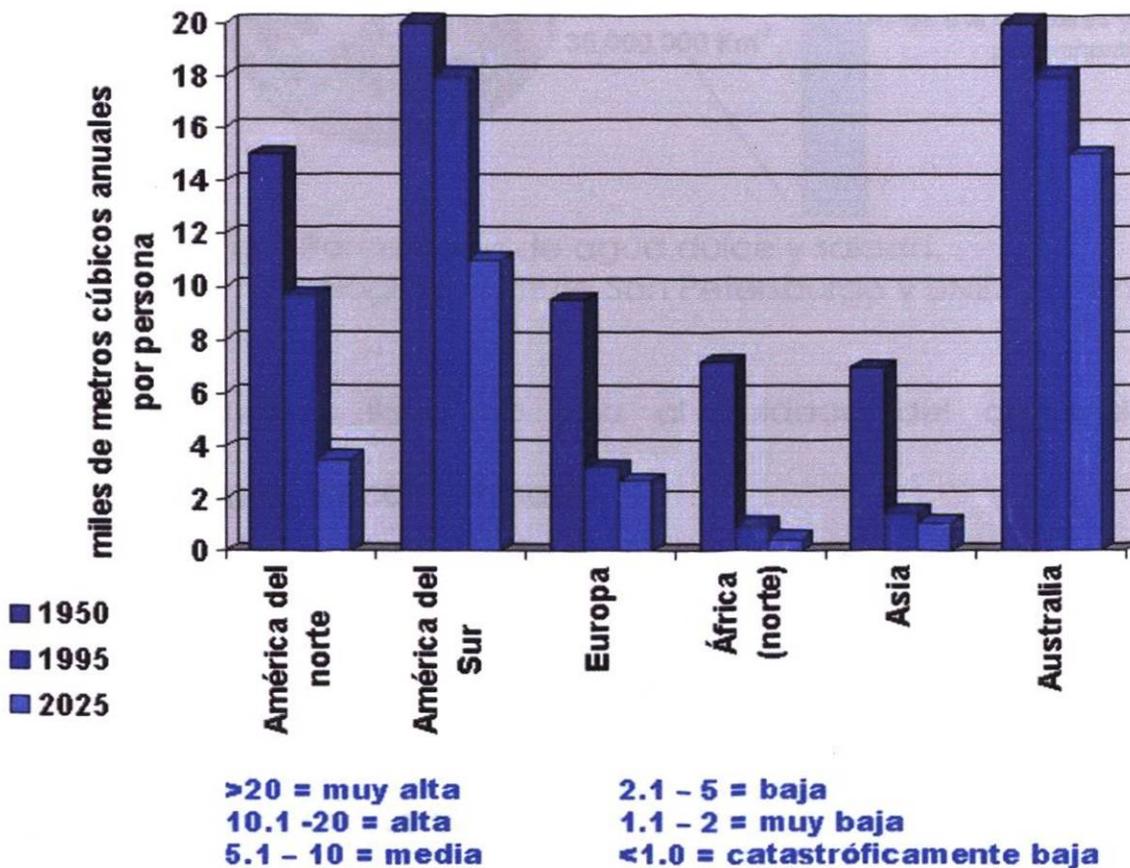


Fig.2 Disponibilidad hídrica mundial 1950, 1995, 2025
Fuente: Organización de las Naciones Unidas (Water Year 2003)

El agua dulce es tan solo el 2.5% del total del agua del planeta y de ésta el 68.9% se encuentra como hielo glaciar, de ahí que tan solo el 31.1% del agua dulce pueda ser utilizada para cubrir las necesidades no solamente del hombre sino de los animales y plantas en general. (Fig. 3)

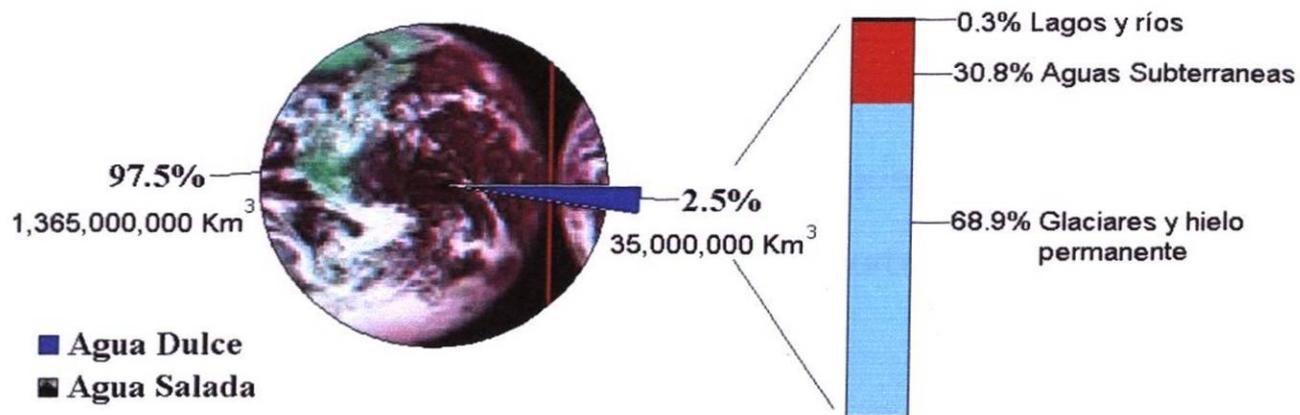


Fig.3 Porcentajes de agua dulce y salada.

Fuente: State Hydrological Institute San Petersburgo y UNESCO 1999

La problemática lleva no solo al cuidado del agua sino al tratamiento del agua ya contaminada.

En México se consumieron 13,494 hectómetros cúbicos (hm³) en 1998, de los cuales 9,374 hm³ fueron extraídos de aguas subterráneas según la Comisión Nacional del Agua (CNA 1999).

1.2 Suelo

El suelo es otro de los componentes del medio ambiente y es también uno de los recursos más importantes para la vida humana; éste se origina, a partir del substrato geológico, por la acción combinada de muchos factores: clima, erosión, vegetación, organismos vivos, etc. La formación de una fina capa de suelo es un proceso que dura normalmente entre 1.000 y 10.000 años, por lo que, en la práctica, el suelo puede considerarse un recurso no renovable. (Tarbuck y Lutgens 1999)

El suelo es una capa de transición entre dos medios distintos donde se producen múltiples procesos físicos, químicos y biológicos que dan lugar a un soporte complejo de componentes minerales y orgánicos, estructurado por un sistema de huecos y poros donde se acumulan gases y líquidos (CMAM, 2003) que proporciona un ambiente propicio para la vida microbiana. (Eweis *et al* 1999)

La fase mineral del suelo que llega a ocupar de un 50 a un 75% de su volumen total, se encuentra principalmente compuesta de óxidos de silicio, aluminio y hierro, así como de calcio blanco, magnesio potasio, entre otros.

La fase orgánica representa del 3 al 6% y está compuesta por restos animales y vegetales así como de microorganismos y los productos metabólicos de éstos que en conjunto se conocen como humus.



Fig. 4 Suelo Tipo migajón Arcilloso

1.3 Contaminación

A gran escala el problema de los suelos y aguas contaminados es resultado de la moderna sociedad industrializada.

Una mayor producción va acompañada de una generación de desechos también mayor y dados los elevados costos de disposición y tratamiento, estos desechos no son dispuestos de la mejor manera.

El petróleo es un claro ejemplo de este problema. Su utilización en la producción de plásticos, fármacos, pesticidas, herbicidas, detergentes y combustibles, lo hace ser una de las principales fuentes de contaminación actualmente.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), estima que existen más de 200,000 fugas de los tanques subterráneos de las estaciones de carga de combustible en Estados Unidos. (Eweis et. al. 1999)

México es uno de los mayores productores de petróleo en el mundo, ocupando el 5º lugar en el 2002 en producción de petróleo solo por debajo de Estados Unidos de América (EUA), Arabia Saudita, Irak y los Emiratos Árabes Unidos, con una extracción de más de tres millones de barriles diarios (INEGI 2003). Los beneficios económicos de esta producción son notables, mas el impacto ecológico que genera esta producción es también muy importante.

Los derrames de hidrocarburos ya sean por petróleo crudo, combustóleo, gasolina, diesel o turbosina, se consideran como emergencias ambientales y si estos sitios permanecen sin ser atendidos causan daños constantes y crecientes en los mantos acuíferos y en otros recursos naturales como lo son el suelo y el aire.

Eweis *et al* (1999) mencionan que diversos compuestos aromáticos están presentes en el petróleo. Hidrocarburos como lo son el Benceno, Tolueno, Etilbenceno y los Xilenos, conocidos en conjunto como BTEX, están entre los compuestos más solubles en agua y de mayor movilidad de la gasolina sin plomo, superados solamente por el Éter Metil Terbutílico (EMTB). En conjunto los BTEX pueden llegar a constituir el 15 % de la gasolina sin plomo (ATSDR 1995).

Los BTEX y el EMTB son altamente tóxicos para la salud humana ya que tiene efectos nocivos como se muestra en la siguiente información:

Tabla 1. Efectos Adversos a la salud causados por BTEX y EMTB

Benceno: anemia, pancitopenia y leucemia

Tolueno: depresor del sistema nervioso central (SNC), daño permanente al cerebro y a la facultad del habla

Etilbenceno: cancerígeno, induce neoplasmas en el riñón, pulmones e hígado en animales

Xilenos: depresor del SNC

EMTB: posible cancerígeno afecta el SNC y el sistema reproductivo en animales del laboratorio

La alta toxicidad de estos compuestos en los seres humanos se debe a sus características hidrofóbicas y a la elevada capacidad de los compartimentos celulares que lo permiten.

La contaminación de los mantos freáticos por los BTEX es efecto de la migración de éstos a través del suelo, proveniente de los sitios de almacenaje, producción, transportación, derrames entre otros (Eweis *et. al.* 1999).

1.4 Contaminantes

1.4.1 Gasolina

La gasolina es una mezcla que no existe de forma natural en el ambiente. Es uno de los principales productos ligeros que se obtiene de la refinación del petróleo crudo y que se destila entre los 40°C y los 210°C.

En la primera década del presente siglo se utilizaban dos métodos de refinación: el natural y el de desintegración. El primero consistía en extraer los productos del crudo elevando su temperatura y agrupando los productos evaporados entre dos temperaturas extremas: y el segundo funcionaba por medio de calor y presión, en presencia de vapor de agua.

Su alto poder calorífico (un kilo de gasolina desprende once mil kilocalorías) es lo que la hace un hidrocarburo ideal para accionar los motores de combustión interna. Los coches, camiones o cualquier otra máquina que utilice gasolina, cuentan con un motor que es el instrumento que convierte a energía mecánica la energía calorífica de ella, pero para lograr esto, la gasolina debe cumplir con ciertas condiciones de volatilidad, densidad y tener un determinado poder antidetonante.

Los vehículos de modelos recientes están equipados con convertidores catalíticos, que son dispositivos que reducen las emisiones contaminantes a la atmósfera y requieren necesariamente el uso de gasolina sin plomo ya que se ven sumamente afectados por los metales pesados.

La gasolina sin plomo sustituye el Tetrametil Plomo por el Éter Metil t-Butílico, el cual, al igual que el primero, sirve como antidetonante para mejorar el octanaje de la gasolina. La función del antidetonante es controlar la explosión de la gasolina para que aumente su rendimiento. También el EMTB se emplea para disminuir los niveles de ozono y dióxido de carbono en las emisiones de los motores de combustión interna.

Las moléculas que producen una mayor cantidad de energía en la gasolina son las de 8 átomos de carbono, de aquí la clasificación en octanaje de las gasolinas.

Regularmente la gasolina contiene más de 150 compuestos químicos pero se han llegado a reportar mas de 1000 compuestos identificados (Domask 1984; Mehlman 1990).

1.4.1.1 Propiedades

Algunas de las propiedades físicas y químicas de la gasolina se presentan en la siguiente tabla

Tabla 2. Propiedades Químicas y Físicas de la Gasolina

Propiedades	Información
Color	Café pálido o rosa
Estado físico (20°C)	Líquido
Punto de Ebullición (1 atm.)	Inicial 39°C Después de 10% de destilación 60°C Después de 50% de destilación 110°C Después de 90% de destilación 170°C Punto final de fusión 204°C
Densidad (20°C)	0.7-0.8 g/cm ³
Percepción al olfato humano	0.025 ppm
Solubilidad	
Agua (20°C)	Insoluble
Solventes Orgánicos (20°C)	Alcohol absoluto, éter, cloroformo, benceno
Temperatura de autoignición	280-486°C

1.4.1.2 Toxicidad

La toxicidad de la gasolina debida a su composición, es alta. Los efectos adversos a la salud pueden ser por inhalación, vía oral o dérmica (ATSDR 1995).

- ***Exposición por inhalación en seres humanos (ATSDR 1995)***

Muerte.- Los casos de muerte registrados por esta vía son de exposiciones a 20,000 ppm por más de 5 minutos. Altas concentraciones de vapores de gasolina entran en el sistema nervioso provocando una depresión de éste, ocasionando asfixia.

Efectos oculares.- Las concentraciones de 200, 500 o 1000 ppm causan irritación en los ojos.

Efectos neurológicos.- Las altas concentraciones de vapores de gasolina se caracterizan por tener efectos neurológicos tales como desmayos, dolores de cabeza, euforia, vértigo, náuseas, visión borrosa, somnolencia y entumecimiento. Las exposiciones crónicas producen euforia y alucinaciones.

Cáncer.- La EPA, en 1987, presentó 55 estudios sobre la exposición de vapores de gasolina sin plomo en los cuales se concluye que existe evidencia de que este tipo de gasolina causa distintos tipos de cáncer, como lo son del cáncer de estomago, cáncer renal, cáncer en la piel y leucemia.

- **Exposición Oral (ATSDR 1995)**

Muerte.- Accidental o intencionalmente la ingesta de grandes cantidades de gasolina causa la muerte en humanos. La dosis letal se estima en 340 mL (para individuos de 70Kg). La causa de muerte es una severa neumonitis y depresión en el sistema nervioso central.

Efectos gastrointestinales.- Causa daños en el tracto digestivo como esofagitis severa, gastritis, degeneración del epitelio y mucosidades orales.

Efectos hematológicos.- Se presenta hemolisis, evidenciando la disminución del numero de hematocitos y se incrementa la hemoglobina en la orina; disminuye la coagulación intravascular en seres humanos.

Efectos hepáticos.- Se presenta un aumento transitorio del suero hipotónico, el cual aumenta la liberación de hemoglobina y un aumento en la producción de enzimas.

Efectos renales.- Los individuos que accidental o intencionalmente ingieren gasolina requieren hemodiálisis por un periodo de 3 a 4 semanas en la mayoría de los casos.

- **Exposición Dérmica (ATSDR 1995)**

Los únicos casos de efectos dañinos en la salud por esta vía han sido causados por inmersiones mayores a 8 horas, provocando irritación en la piel, además de los efectos de la inhalación y/o ingestión.

1.4.1.3 Composición Química

La gasolina es una mezcla de compuestos químicos orgánicos a la cual se le agregan aditivos para mejorar su octanaje, entre los cuales destacan el etilbenceno, tolueno y los xilenos.

La composición química general de la gasolina es la siguiente:

Tabla 3. Composición Química de la Gasolina

Composición Química de la Gasolina	
Componentes	Porcentajes (peso/peso)
<i>n</i> -alcanos	17.30%
Alcanos ramificados	32.00%
Cicloalcanos	5.00%
Olefinas	6.00%
Aromáticos	30.50%
Otros	9.20%

Dentro de los compuestos aromáticos se encuentran el benceno, siendo el 3.2% del total de la gasolina, el etilbenceno 1.4%, el tolueno 4.8%, y los xilenos 6.6% (ATSDR 1995).

Para mejorar el octanaje de la gasolina que se obtiene de la destilación del petróleo, se agregan aditivos como el éter metil terbutílico (EMTB) o el t-butil alcohol (TBA).

1.4.2 BTEX

1.4.2.1 Benceno

El benceno es un compuesto orgánico volátil que tiene un peso molecular de 78.11 g/mol. Está constituido en un 92.25% de carbono e hidrógeno en un 7.75%. Fue descubierto por Faraday en 1825. se obtiene de la quema de carbón y en la producción de gas para iluminación a partir de carbón. Es un líquido claro, incoloro y altamente inflamable, con un olor característico. Su solubilidad en agua es de 0.188% (a 23.5°C, relación peso/peso). Su punto de fusión es a los 5.5°C y de ebullición (1atm.) 80°C (Morrison *et. al.* 1998).

El benceno es utilizado en la fabricación de pinturas, aceites, resinas, adhesivos, aspirinas, desodorantes, asfalto, explosivos, pesticidas, plásticos, detergentes, hules entre otros productos.

El contacto por inhalación del benceno ocasiona irritación en el aparato respiratorio y dermatitis a través del contacto con la piel; en el caso de contacto vía oftálmica causa irritación ocular.

Si entra en contacto con los pulmones, produce edema pulmonar y hemorragia. La exposición aguda deprime el sistema nervioso central y provoca dolor de cabeza, mareos, náusea, convulsiones, coma e incluso la muerte.

El benceno está clasificado dentro del grupo de los compuestos cancerígenos. La exposición crónica produce anemia plástica y los cambios en la médula ósea pueden presentarse después de varios años de interrumpir el contacto con el compuesto. La literatura reporta alguna posible relación entre alteraciones cromosómicas y leucemia por el contacto con benceno (Harte *et al.*, 1995).

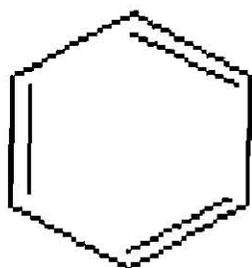


Fig. 5 Benceno

1.4.2.2 Tolueno

El tolueno tiene un peso molecular de 92.13 g/mol. Está compuesto por carbono (91.25%) e hidrógeno (8.75%). Tiene una solubilidad en agua de 0.067% (a 23.5°C relación peso/peso). El punto de fusión es a los -95°C y el de ebullición (1 atm.) a los 110.6°C. Sus fuentes naturales son el alquitrán de hulla y aceites minerales; se genera por combustión de resinas naturales (por ejemplo, durante incendios forestales) (ATSDR 1995).

El tolueno se utiliza en la manufactura del ácido benzoico, benzaldehido, explosivos y muchos otros compuestos orgánicos, como son solventes para pinturas, lacas, gomas, resinas, en la extracción de sustancias de plantas y como aditivo en la gasolina. Es materia prima en la fabricación de fenol (sobre todo en Europa oriental), benceno y cresol (especialmente en Japón) y una serie de otras sustancias

No hay evidencias de que el tolueno produzca cáncer, pero se han documentado diversos efectos adversos para la salud. El contacto con el tolueno seca e irrita la piel. Los vapores son irritantes, sobre todo para los ojos. Al inhalarse, los vapores irritan el aparato respiratorio y deprimen el sistema nervioso central, daña el hígado y los pulmones. Causa cansancio, náusea, somnolencia, confusión, visión borrosa, pérdida del apetito y

debilidad, en algunos casos la inconsciencia y eventualmente la muerte (ATSDR 1995).

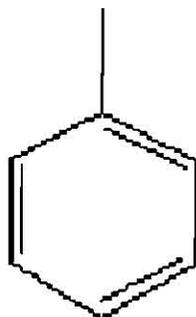


Fig. 6 Tolueno

1.4.2.3 Etilbenceno

El etilbenceno es un compuesto orgánico volátil con un peso molecular de 106.16 g/mol. Está compuesto por carbono (90.50%) e hidrógeno (9.50%). Es un líquido incoloro e inflamable, con 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. Es prácticamente insoluble en agua, miscible sólo con los solventes orgánicos usuales (ATSDR 1995).

Los usos del etilbenceno son para la fabricación de otros químicos, así como en solventes y combustibles, así como para la producción de estireno.

El etilbenceno produce mareos, irritación en los ojos y garganta, afecta el sistema nervioso, los riñones e hígado, contractura en el pecho y ardor en los ojos (ATSDR 1995).

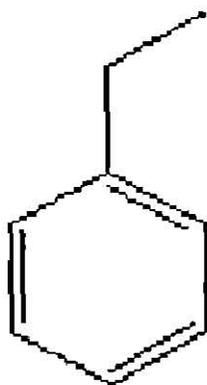


Fig. 7 Etilbenceno

1.4.2.4 Xilenos

El xileno tiene un peso molecular de 106.16 g/mol está constituido por carbono (90.5%) e hidrógeno (9.5%). El xileno por su estructura presenta tres isómeros, orto, meta y para, siendo el m-xileno el predominante. El xileno es un líquido altamente inflamable, con una densidad a 20°C de 0.880 g/mL para el o-xileno, 0.864 g/mL para m-xileno y 0.861 g/mL para el p-xileno. Sus puntos de fusión 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. Prácticamente son insolubles en agua miscibles en alcohol, éter y otros líquidos orgánicos (ATSDR 1995).

Los xilenos son utilizados como solventes en la industria de pinturas y de gomas; es utilizado como agente limpiador, como combustible de aeroplanos y como aditivo de gasolina.

Los xilenos afectan al cerebro. Períodos cortos de exposición provocan irritación en ojos, boca, nariz y garganta, dificultad para respirar, problemas en los pulmones, problemas de memoria, disminución de los reflejos y posiblemente problemas renales y hepáticos.

Concentraciones altas de exposición en períodos mayores de dos semanas producen dolores de cabeza, falta de coordinación en los músculos, vértigo, confusión y mareos. Puede ocasionar la muerte.

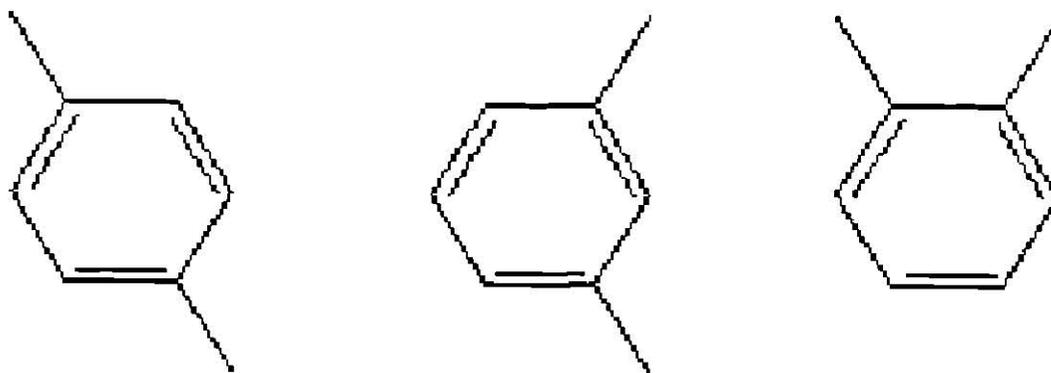


Fig. 8 p-Xileno, m-Xileno y o-Xileno

1.4.2.5 EMTB

Éter Metil terbutílico

El éter metil terbutílico tiene un peso molecular de 88.15 g/mol. Está compuesto por carbono (68.18%), oxígeno (18.18%) e hidrógeno (13.63%). Es un líquido altamente volátil, muy inflamable, incoloro con 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 (ATSDR 1995).

El EMTB es utilizado como aditivo de la gasolina sin plomo para mejorar su octanaje. Es utilizado para disolver cálculos biliares, este tratamiento se realiza insertando el EMTB en la vesícula.

Exposiciones pequeñas de tiempo al EMTB producen irritación en la garganta y nariz; causa mareos, vértigo, dolores de cabeza y confusión. Por ingestión produce irritación gastrointestinal, daños en hígado y riñones y efectos depresores en el sistema nervioso central. En largos períodos de exposición puede causa cáncer de hígado y riñón. Afecta al sistema reproductivo.

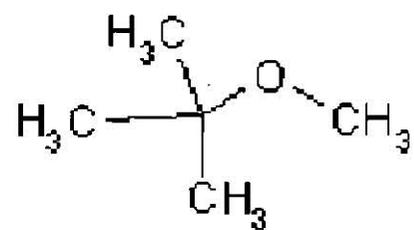


Fig. 9 Eter metil *ter*-butílico

1.5 Normatividad

La Secretaría de Salud expidió en el año 2000 la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, llamada "Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización" en la que se muestra la normatividad para los BTEX como contaminantes del agua potable en la que se especifica:

Tabla 4. Límites Permisibles de Compuestos Aromáticos de NOM-127-SSA1-1994

Contaminantes	Límites permisibles (microgramos/litro)
Benceno	10.00
Tolueno	300.00
Etilbenceno	700.00
Xileno (tres isómeros)	500.00

En los Estados Unidos de América, la regulación federal está dada por medio de la U. S. Environmental Protection Agency (EPA), la que establece los Estándares Nacionales para el Agua Potable (National Primary Drinking Water Standards), que fija los siguientes límites para hidrocarburos aromáticos (US EPA, 2002).

Tabla 5. Límites Permisibles de Compuestos Aromáticos en Agua Potable (National Primary Drinking Water Standards)

Compuesto	Nivel Máximo de Contaminante (mg/L)
Benceno	0.005
Tolueno	1
Etilbenceno	0.7
Xilenos Totales	10

Eweis *et. al.* 1999 mencionan que una de las fuentes de contaminación del suelo es por petróleo, gasolina y diesel que proceden de las estaciones de servicio, de las refinerías, bases militares, líneas de conducción y pozos de extracción. La capacidad de dispersión en el suelo de los compuestos de estos combustibles es de baja a moderada, dentro de la gran variedad de éstos se encuentran hidrocarburos cancerígenos.

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 NOM-EM-138-ECOL-2002 que fija 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 tabla 6.

Tabla 6. Parámetros a analizar asociados a los hidrocarburos para los que se establecen límites máximos permisibles de contaminación en suelos

Parámetro Productos	HTP Fracción de producto	HTP Fracción de diesel	HTP Fracción de gasolina	BTEX	HAP
Petróleo crudo					
Combustóleo					
Emulsiones					
Asfalto					
Parafinas					
Diesel					
Turbosina					
Kerosene					
Aceites					
Vaselinas					
Aceites combustibles					
Gasavión					
Gasolvente					
Gasolina maana					
Gasolina					
Gas nafta					
Éter de petróleo					
Liaroína					
Thiner					
Producto					
Aromina					

También establece los límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos. Éstos son los siguientes:

Tabla 7. Límites máximos permisibles de contaminación en suelos (valores referidos a base seca) mg/kg (ppm)

Contaminantes	Tipo de uso de suelo ¹			Método analítico (EPA)
	Agrícola, forestal, recreativo y de conservación	Residencial o comercial	Industrial	
Gasolina				
HTP	200.00	200.00	500.00	8015B
Benceno	20.00	20.00	50.00	8240*, 8260*
Tolueno	40.00	40.00	100.00	8240*, 8260*
Xilenos	40.00	40.00	100.00	8240*, 8260*
Diesel				
HTP	1.000.00	1.000.00	2.000.00	8015B
Benzo[a]pireno	0.08	0.08	0.80	8310*, 8270*
Benzo[a]antraceno	0.80	0.80	8.00	8310*, 8270*
Benzo[b]fluoranteno	0.80	0.80	8.00	8310*, 8270*
Benzo[k]fluoranteno	8.00	8.00	80.00	8310*, 8270*
Criseno	80.00	80.00	800.00	8310*, 8270*
Productos aceitosos				
HTP	1.000.00	1.000.00	2.000.00	418.1
Benzo[a]pireno	0.08	0.08	0.75	8310*, 8270*
Benzo[a]antraceno	0.80	0.80	7.50	8310*, 8270*
Benzo[b]fluoranteno	0.80	0.80	7.50	8310*, 8270*
Benzo[k]fluoranteno	8.00	8.00	75.00	8310*, 8270*
Criseno	80.00	80.00	750.00	8310*, 8270*

* Métodos analíticos alternativos

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

En los Estados Unidos de América, específicamente el Departamento de Recursos Naturales y Ambiente del Estado de Carolina del Norte, ha establecido las Concentraciones Máximas de Contaminantes en Suelo para algunos hidrocarburos, entre los cuales se encuentran los BTEX. Los límites para BTEX se muestran en la siguiente tabla (NC-DENR, 2002):

Tabla 8. Límites máximos permisibles de contaminación en suelos de la NC-DENR

Compuesto	Nivel Máximo para Suelo Residencial (mg/Kg)	Nivel Máximo para Suelo Industrial o Comercial (mg/Kg)
Benceno	22	200
Tolueno	3200	82000
Etilbenceno	1560	40000
Xilenos Totales	32000	200000
EMTB	*	*

* No regulado en suelos

Existe una necesidad tangible de una forma de remediación de estos 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.

El uso de la biorremediación ambiental para el tratamiento de suelos y agua ofrece grandes ventajas sobre otros tipos de tratamiento como son:

- 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

1.6 Biorremediación

La eliminación de los contaminantes químicos presentes en un ambiente determinado llevada a cabo por microorganismos, se conoce genéricamente como biorremediación (Eweis *et. al.* 1999).

En la actualidad existe una corriente cada vez más importante en el sentido de utilizar microorganismos, en especial bacterias y hongos, para *ayudar a eliminar la contaminación y en la recuperación de ambientes naturales*, así como para el tratamiento de afluentes industriales o municipales.

En la biorremediación, los microorganismos transforman los contaminantes mediante sus reacciones metabólicas. Tanto los compuestos orgánicos como inorgánicos son transformados por los microorganismos en procesos que incluyen reacciones de óxido - reducción, sorción e intercambio iónico, así como quelación y complejamiento de metales que dan como resultados la inmovilización de metales.

Desde 1960 se han estudiado procesos biológicos que ayuden a resolver problemas de contaminación por compuestos específicos.

La biorremediación es una rama reciente de la ciencia que está creciendo rápidamente, dado sus bajos costos de operación y su selectividad.

Los métodos para el tratamiento por biorremediación para aguas subterráneas son el de bombeo e *in situ* (o en el lugar de origen).

El tratamiento por bombeo consiste en la extracción de agua para su tratamiento y posteriormente regresarla a sus sitio original. El tratamiento en la superficie es con el objeto de tener una mejor aireación y agregar los *nutrientes necesarios y realizar la inoculación de los microorganismos degradadores del contaminante al agua*. Este proceso es el que se utiliza con más regularidad en las plantas potabilizadoras de tratamiento de aguas (Eweis *et. al.* 1999).

En el tratamiento *in situ* o en el lugar de origen se introducen nutrientes y oxígeno para activar la capacidad degradadora de los microorganismos. Las condiciones de este tipo de métodos no son fáciles de controlar ya que la inyección de oxígeno y nutrientes puede ser muy complicada y las condiciones para la biodegradación no son óptimas, agregando a esto la posible migración de los contaminantes.

En el caso de la biorremediación de suelos contaminados el tratamiento ya sea *in situ* o transportando el suelo, es relativamente más fácil.

Eweis *et. al.* (1999) menciona los siguientes métodos de biorremediación de suelos:

- Tratamiento *in situ*: este tipo de tratamiento sirve para descontaminar el suelo en su ubicación original. La ventaja de este tratamiento radica en que no es necesario excavar y transportar el material contaminado. Sin embargo, presenta dificultades para proveer oxígeno y nutrientes, además de una velocidad de tratamiento relativamente baja. Adicionalmente, presenta el peligro de esparcir la contaminación a otras áreas. Éste método tiene las siguientes variantes:

- ❖ Aireación: Con este método, el aire es aspirado a través de la zona contaminada y los gases extraídos son tratados. Se utiliza cuando los compuestos a degradar son orgánicos volátiles. Al aspirar el aire de la zona contaminada, los contaminantes se dispersan en las tres fases (agua-aire-suelo), por lo que el caudal de extracción se estima considerando la velocidad de transferencia limitante entre fases, dependiendo de los coeficientes de la ley de

Henry. Así los contaminantes se extraen en forma de gas y se le trata por otro método.

- ❖ **Bioventilación:** Consiste en la introducción de aire u oxígeno y nutrientes en la zona contaminada. Es utilizada para contaminantes de menor volatilidad. La transformación y degradación de los contaminantes son llevadas a cabo en el punto de contaminación. Uno de los objetivos de este método es evitar la migración de los contaminantes. La adición de los nutrientes y del agua normalmente se lleva a cabo por la infiltración desde franjas. Los inconvenientes de este tratamiento son el hecho de que los nutrientes se pueden perder en el subsuelo; mantener el contenido de humedad alto y el caudal de aire necesario son un problema relevante.
- ❖ **Tratamiento en lechos:** Comprende la aireación y mezcla del terreno contaminado mediante el acondicionamiento del terreno, la adición de nutrientes y el control de la humedad a través de la adición periódica de agua. Es un método utilizado desde hace siglos para descomponer la basura orgánica no peligrosa. Consiste en esparcir la basura o suelo contaminado y mezclar el suelo para incorporarlo y proporcionar la aireación necesaria para la actividad biológica. Se debe realizar un seguimiento y ajuste de parámetros relacionados con los nutrientes: contenido de humedad y pH. En el

diseño, se debe eliminar el peligro de transporte de contaminantes a mayor profundidad, mediante la instalación de cubiertas impermeables.

- **Compostaje:** Consiste en la mezcla del material contaminado con agentes esponjantes orgánicos, tales como estiércol, y la disposición en finas o hieleras. Es un proceso biológico aerobio en el que los sólidos orgánicos húmedos son oxidados a formas biológicamente estables. La adición de materia orgánica ocasiona un aumento en la porosidad, con un consiguiente aumento en la aireación y distribución de la humedad, además de que al descomponerse genera el calor necesario para el aumento de la velocidad de las reacciones llevadas a cabo por los microorganismos degradadores de los compuestos objetivo.

- **Biorreactores:** Consisten en sistemas en suspensión, en los cuales el suelo contaminado se introduce en un recipiente con suficiente agua para permitir una mezcla. El tratamiento se lleva a cabo en condiciones de saturación. Al formarse la suspensión, se incrementa el contacto entre los microorganismos y los compuestos contaminantes, dando como resultado un incremento en las velocidades de transferencia de masa y reacción. La biodegradación se optimiza

añadiendo nutrientes y controlando el pH y la temperatura para alcanzar los requerimientos necesarios para el crecimiento microbiano.

Se puede operar en modo continuo, semicontinuo o discontinuo. El modo continuo rara vez se utiliza. Consiste en introducir el suelo contaminado al reactor, añadir el agua y los nutrientes, los cultivos microbianos y mezclar y airear la suspensión hasta que los compuestos seleccionados sean degradados. Entonces se detiene el mezclado y la aireación y se separan los sólidos por sedimentación o flotación, según sea el caso. Los sólidos son retirados y devueltos a su ubicación original. Los líquidos son tratados, evaporados o reciclados.

Si una parte de la suspensión se retiene para utilizarla como arranque en el siguiente lote de suelo, el proceso se llama flujo discontinuo secuencial.

El modo semicontinuo se lleva a cabo en tanques separados. El tanque primario se utiliza para mezclar el suelo contaminado con el agua de relleno, los nutrientes necesarios, el inóculo y los reguladores de pH. Después, la suspensión se bombea hasta el último tanque,

donde los líquidos son separados de los sólidos. Este sistema es más eficiente en términos de ocupación de volumen.

Para la utilización de microorganismos en reactores, se considera que las poblaciones o cultivos mixtos son en la mayoría de los casos más estables que los cultivos puros.

1.6.1 Biodegradación de aromáticos

Los compuestos aromáticos son aquellos que en su estructura presentan como base la molécula de benceno.

Varios compuestos aromáticos están presentes en el petróleo, incluyendo compuestos de 2, 3, 4 y hasta 5 anillos, así como los compuestos alquilbencénicos (Eweis *et. al.* 1999).

Los compuestos aromáticos son más estables que otros compuestos orgánicos ya que sus enlaces presentan el fenómeno de resonancia es decir los electrones de estos enlaces se encuentran deslocalizados.

Ejemplos de estos compuestos son el Benceno, el Tolueno, el Etilbenceno y los Xilenos, en conjunto llamados BTEX, que como se ha mencionado están presentes en la gasolina.

Estos compuestos orgánicos volátiles son altamente peligrosos y pese a que no son muy solubles tiene una buena movilidad en las aguas subterráneas.

La biodegradación de estos compuestos aromáticos involucra dos pasos que son, la activación del anillo y el rompimiento de éste.

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.

La reacción de la oxigenasa tiene que ocurrir en moléculas como benceno, compuestos aromáticos halogenados, tolueno, xilenos, difenilos, naftaleno, antraceno, fenantreno, benzo[a]-pirina y 3-metilcloroantraceno (Gibson 1988).

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

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-hidroximuconico (Fig. 10)

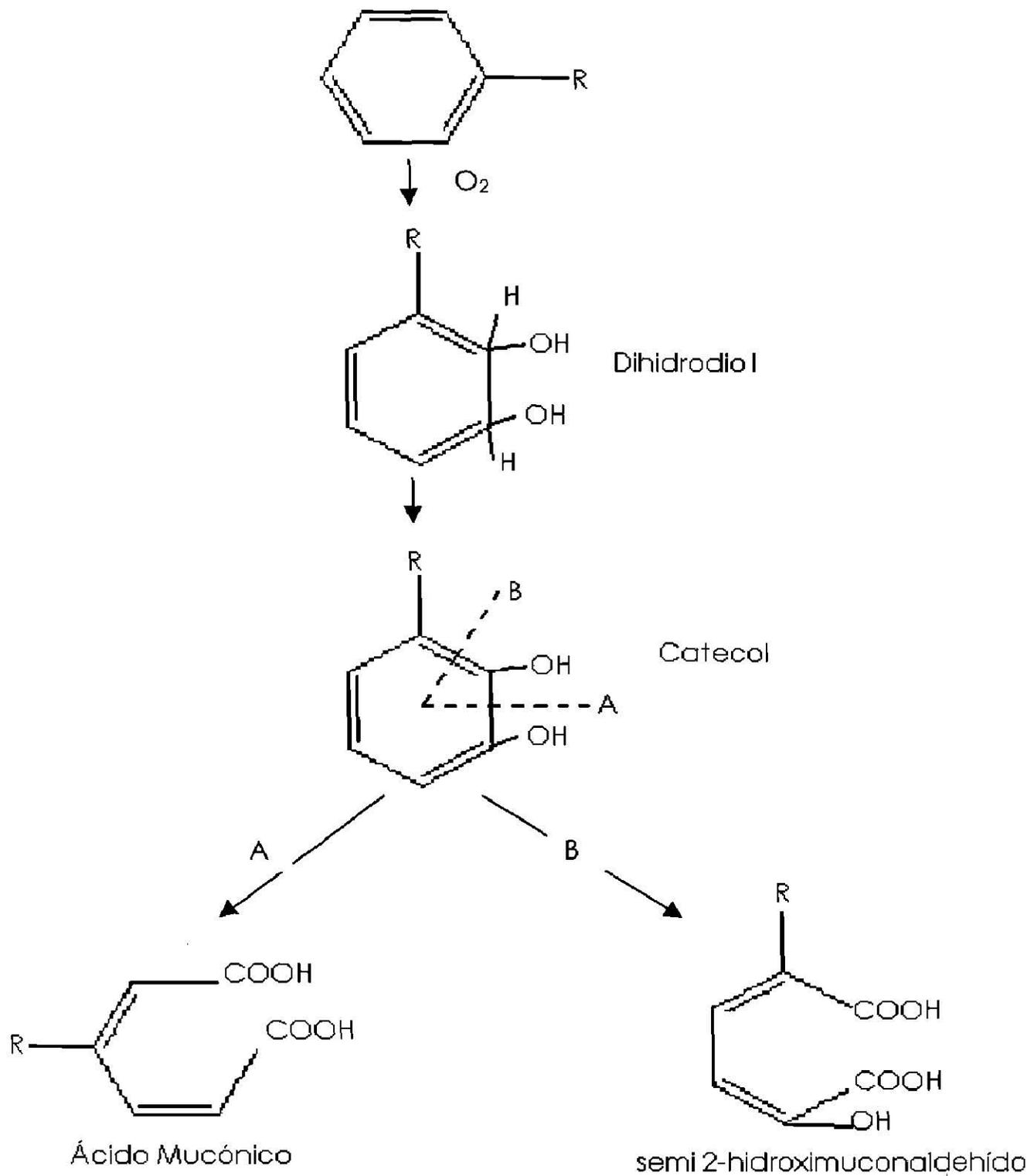


Fig. 10 Vía metabólica de los BTEX

2. Hipótesis

Un consorcio microbiano mixto aclimatado a 200 mg/L de gasolina sin plomo es capaz de biodegradar benceno, tolueno, etilbenceno, y o-xileno en presencia de éter metil ter-butílico (EMTB) y de ~~de~~ Tergitol NP10.

3. Objetivos

3.1 Objetivo General:

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

3.2 Objetivos Particulares:

- Aclimatar una biomasa a la presencia de gasolina sin plomo
- Evaluar la constante de partición de los BTE-oX en suelo y esta bajo el efecto de 25 mg/L de Tergitol NP-10
- Evaluar las constantes de biodegradación de BTE-oX en presencia de EMTB en matriz acuosa y de suelo por el consorcio microbiano aclimatado
- Evaluar las constantes de biodegradación de BTEoX en presencia de EMTB por el consorcio microbiano aclimatado en matriz de suelo bajo el efecto de 25 mg/L de surfactante Tergitol NP-10
- Aislar e identificar los microorganismos del consorcio microbiano aclimatado

4. Materiales y Métodos

4.1 Materiales

4.1.1 Equipo de análisis ambiental

Cromatografía de gases

Cromatógrafo de gases Varian 3400 con detector de llama (FID)

(Varian Corp. Walnut Creek, California)

Concentrador de muestras de purga y trampa Tekmar LSC 2000

(Tekmar Corporation, Cincinnati, Ohio)

Columna Capilar Petrocol™ de 100 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.5 micras de película .

(Supelco, Bellefonte, Pennsylvania)

Computadora HP modelo Vectra 500, acoplado a cromatógrafo de gases.

(Hewlett-Packard Company, California)

Impresora Epson, acoplada al cromatógrafo de gases

(Seiko Epson Corporation)

Potencial REDOX y pH

Analizador de Iones Expandible Orion modelo EA 940

(Thermo Electron Corporation)

Medidor de pH de +0.0 a 14.0 pH Hanna

(Hanna Instruments Inc. Woonsocket, RI)

4.1.2 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

(Barnstead International, Essex, UK)

Refrigerador Easy Modelo 111 de 13 pies³

(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)

Cajas Petri estériles Fisherbrand*

(Fisher Scientific, Pittsburg, PA)

Microfiltros Whatman* de 1.5 μ m

(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)

4.1.3 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)

1-Octanol >99.5% (GC)

(Fluka Chemie GmbH, Buchs Switzerland)

Agar bacteriológico

(Becton Dickinson de México, S.A. de C.V., México, México)

KH_2PO_4 Reactivo Analítico

(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)

K_2HPO_4 Reactivo Analítico, ACS

(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)

Na_2HPO_4 Reactivo Analítico, ACS

(Analytika de México, S.A. de C.V., Escobedo, México)

NH_4Cl 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)

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.)

H₃PO₄ 85%, Reactivo Analítico

(Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V., Monterrey, México)

Azul de bromotimol

(Merck México, S.A., Edo. de México, México)

4.1.4 Area 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.)

Contador de colonias Quebec modelo 3325

(American Optical, Buffalo N.Y.)

4.2 Métodos

4.2.1 Aclimatación del inóculo con enriquecimiento de Gasolina.

La aclimatación del inóculo se realizó mediante la toma de un litro de biomasa previamente aclimatada a BTEX y gasolina y se llevó hasta un volumen total de 8 litros mediante la adición de medio BOD estéril, del cual su preparación está descrita en el apéndice 1.

Debido a que las condiciones del reactor son aerobias se acopló una bomba de aire a dicho reactor. Esta bomba permitía que el flujo de aire llegara hasta la parte inferior del reactor mediante un sistema de tuberías de plástico; de esta manera el flujo de aire ocasionaba adicionalmente una agitación de la biomasa dentro del reactor. (Fig. 11)

Para lograr que la biomasa fuera capaz de biodegradar a los hidrocarburos, se agregaban diariamente 200 mg/L de gasolina Premium, siendo ésta la única fuente de carbono, obligando así a que los microorganismos fueran capaces de introducirla a su ruta metabólica.

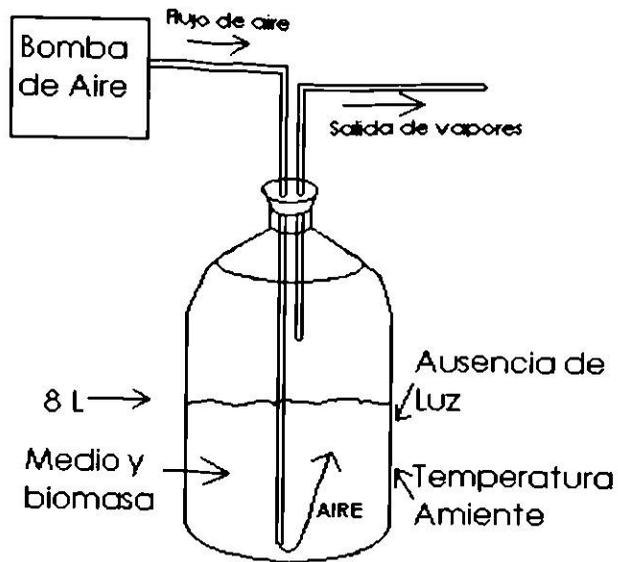


Fig. 11 Estructura del reactor

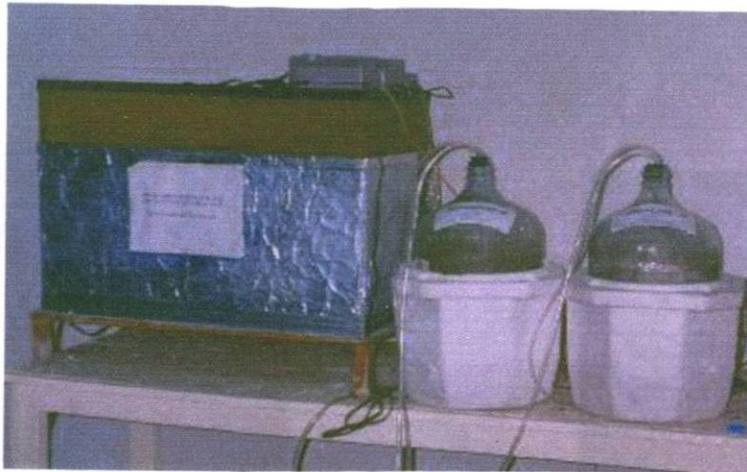


Fig. 12 Reactores de Aclimatación

4.2.2 Mantenimiento de Reactores

Las condiciones del reactor permanecieron constantes para la óptima aclimatación de la biomasa a 200 mg/L de gasolina Premium 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 apéndice 1)

Flujo de aire 50 cc por segundo

Temperatura 25-32°C

Demanda química de oxígeno 471 mg de O₂/L (NMX-AA-030-SCFI-2000)

Demanda biológica de oxígeno 159 mg/L de DBO₅ (NMX-AA-028-SCFI-2001)

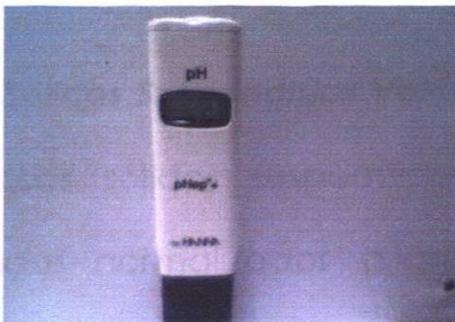


Fig. 13 Medidor de pH



Fig. 14 Reactor de 8 L

4.2.3 Aislamiento de Microorganismos

La biomasa contenida dentro del reactor de aclimatación consistió de un consorcio microbiano mixto. El aislamiento de los microorganismos se realizó mediante la inoculación de muestras del reactor en medios de cultivo selectivos tales como el agar gasolina (apéndice 3) y el agar BTEX (apéndice 4). La incubación de las cajas inoculadas se llevaba a cabo en una incubadora marca Fisher a 30°C en un periodo de 48-96 horas dependiendo del tipo de microorganismo. Las cepas aisladas fueron inoculadas en medios de cultivo de crecimiento; en el caso de bacterias se utilizó el agar nutritivo (apéndice 5) y en el caso de hongos y levaduras se inocularon en agar papa - dextrosa (apéndice 6), para su posterior identificación en laboratorios especializados.

4.2.4 Sólidos Suspendidos Volátiles

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

Se utilizó un filtro Whatman® con un poro de 1µm y se lavó con 10 mL de agua destilada, después de esto, el filtro se colocó en un plato de aluminio marca Fisher® 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 filtró un mililitro de biomasa en un aparato de filtración marca Fisherbrand® a vacío mediante una bomba Dalton® (Fig. 15) 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 entre 103°C a 105°C por espacio de 60 minutos, de esta manera se eliminó el agua presente, se llevó a peso constante e inmediatamente después se pesó y se colocó dentro de la mufla a 550°C en la cual permaneció 20 minutos; se llevó a peso constante y enseguida se pesó.

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.



Fig. 15 Sistema de filtración a vacío y mufla

4.2.5 Cromatografía de gases

La concentración de los BTEX y el EMTB se determinó usando un cromatógrafo de gases con detector de flama marca Varian 3400, con una columna capilar Petrocol™ de 100 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.5 micras de película adaptado a un concentrador de muestras por purga y trampa marca Tekmar® LSC 2000.

4.2.5.1 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. 16), la cual hacía pasar nitrógeno a 25°C por 10 minutos (Fig. 17), 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.

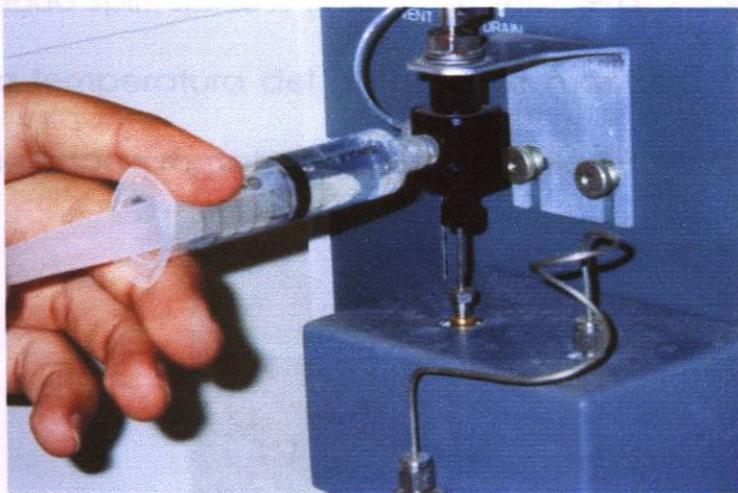


Fig. 16 Inyección de la muestra



Fig. 17 Concentrador de purga y trampa

4.2.5.2 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 20 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 60 minutos.



Fig. 18 Cromatógrafo de gases adaptado a una purga y trampa

4.2.6 Curvas de calibración

Para la evaluación cuantitativa de los sustratos en los bioensayos se requirió realizar una curva de calibración para encontrar la relación entre el área de los cromatogramas y la concentración de los sustratos en los bioensayos.

Se realizó una curva de calibración con 5 concentraciones las cuales fueron las siguientes:

- 10 mg/L de Benceno, 10 mg/L de Tolueno, 10 mg/L de Etilbenceno, 10 mg/L de o-Xileno y 10 mg/L de EMTB
- 20 mg/L de Benceno, 20 mg/L de Tolueno, 20 mg/L de Etilbenceno, 20 mg/L de o-Xileno y 20 mg/L de EMTB
- 30 mg/L de Benceno, 30 mg/L de Tolueno, 30 mg/L de Etilbenceno, 30 mg/L de o-Xileno y 30 mg/L de EMTB
- 40 mg/L de Benceno, 40 mg/L de Tolueno, 40 mg/L de Etilbenceno, 40 mg/L de o-Xileno y 40 mg/L de EMTB
- 50 mg/L de Benceno, 50 mg/L de Tolueno, 50 mg/L de Etilbenceno, 50 mg/L de o-Xileno y 50 mg/L de EMTB

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 μ L se inyectó la muestra dentro del agua, 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. 9 se muestra la cantidad añadida de cada sustrato para obtener las concentraciones deseadas:

Tabla. 9 Preparación de estándares

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

Para solubilizar los sustratos en el medio se agitó vigorosamente el matraz de aforación, 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.

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

El tratamiento de los datos de la curva de calibración se realizó mediante el paquete estadístico Excel®, se graficó el área de los cromatogramas contra la concentración inyectada (para cada sustrato). Posteriormente se obtuvo la regresión lineal y la ecuación de la gráfica en su forma $y = mx$, dado que la intersección debe ser cero. De esta ecuación se despejó x (concentración) para poder analizar los datos obtenidos de los bioensayos.

4.2.7 Preparación de los ensayos cinéticos

- **Preparación de viales**

A las roscas de los viales se les colocó cinta de Teflon® (aproximadamente 6 vueltas) para evitar fugas.

Los viales se etiquetaron con cinta resistente a la humedad y fueron nombrados con la siguiente clave:

EBTEX (por los sustratos involucrados) - 50 (la concentración de cada uno de ellos) - C (clave de cada grupo de muestras, un ejemplo la C de Controles) - 0 (el tiempo de incubación de la muestra, ejemplo tiempo 0), además de esto las muestras se identificaban con fecha de elaboración.



Fig. 19 Vial para cinética

- **Preparación del medio concentrado**

El medio utilizado para realizar los bioensayos fue un medio concentrado en sales, el cual se describe en el apéndice 2.

El medio salino es un búffer 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**

Antes de tomar la biomasa del reactor, éste se dejaba de alimentar un día para disminuir la posibilidad de contaminación por hidrocarburos. Del reactor de aclimatación se tomó un volumen de 560 mL, los cuales se repartieron en 14 tubos Falcon® y se centrifugaron por 5 minutos a 6000 r.p.m., el decantado se eliminó y se agregó alrededor de 5 mL de medio concentrado. La biomasa se dejó únicamente en dos tubos Falcon® con un volumen total de 35 mL cada uno, esto se hizo después de dos centrifugaciones más.

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

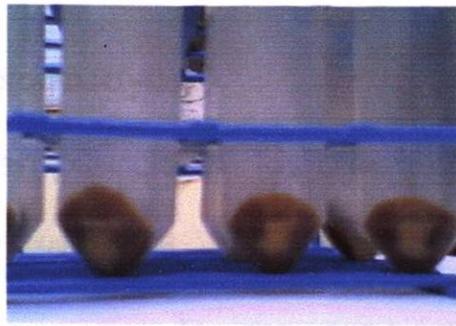


Fig. 20 Biomasa centrifugada

- **Preparación del suelo**

El suelo utilizado en los bioensayos fue de tipo migajón arcilloso, de este suelo se tomaron muestras y de aquí se pesaron 5 gramos y los cuales se pusieron en sobres de aluminio y se sellaron para que evitar pérdidas.

El suelo se sometió a esterilización en tres ciclos de 15 minutos cada uno, a 15 psi de presión.



Fig. 21 Sobre de aluminio con suelo estéril

4.2.8 Montaje de la Cinética

4.2.8.1 Medios para los bioensayos

El medio mineral empleado en los bioensayos contenía 50 mg/L de cada BTEoX y 50 mg/L de EMTB, los cuales se agregaron de la misma manera que se añadían para la preparación de estándares, con la diferencia de que en lugar de agua destilada que se utilizaba en la curva de calibración, la solución acuosa era el medio mineral concentrado.

En el caso de las muestras que contenían surfactante, el medio mineral contenía 12.5 mL de una solución original de 500 mg/L de Tergitol NP10. Este solución original se preparó agregando 50 mg a un matraz de aforación de 100 mL y se agitó vigorosamente, después de esto se dejó que la espuma se dispersara un poco para tomar los 12.5 mL que eran añadidos antes de llenar el matraz de aforación hasta 250 mL y antes de agregar los sustratos.

4.2.8.2 Tiempos de muestreo y condiciones de incubación

Los muestreos se realizaron cada 6 horas teniendo así un grupo de muestras para cada tiempo en los siguientes intervalos: 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas. Las muestras se incubaron a 30°C y 200 revoluciones por minuto (r.p.m.)

4.2.8.3 Muestras control

Las muestras control se prepararon únicamente con 20 mL del medio mineral con los sustratos y 2 gotas de ácido fosfórico concentrado para obtener un pH de 2 a 3. Después de haber sido colocados el medio y el ácido, el vial era cerrado inmediatamente para su incubación en el caso de tiempos mayores a 0. En el caso de tiempo 0 las muestras se mantenían a de 3°C a 4°C por un periodo de 1 hora.

4.2.8.4 Muestras con Biomasa

Las muestras de biomasa contenían 20 mL de medio mineral con sustratos y 2 mL de biomasa previamente concentrada. A estas muestras no se les agregó ácido dado que las condiciones de crecimiento óptimo de la biomasa se encuentran a un pH de 7. Después de haber agregado el medio y la biomasa, los viales se cerraron inmediatamente para su incubación en el caso de tiempos mayores a 0; 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 ser analizadas.

4.2.8.5 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.

4.2.8.6 Muestras con suelo y surfactante

Las muestras que contenían surfactante fueron preparadas de la misma manera que las muestras con suelo a diferencia que se adicionó medio mineral con 25 mg/L de Tergitol NP10 .

4.2.8.7 Muestras con suelo y biomasa

Las muestras con suelo y biomasa se prepararon de la siguiente manera: al vial se le agregaron los 5 gramos de suelo estéril y enseguida se pusieron 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. Estas muestras no recibieron ácido fosfórico.

Para el caso de tiempo 0 las muestras se mantenían de 3°C a 4°C por un periodo de 1 hora, para su posterior análisis; el resto de las muestras se llevaron a incubación.

4.2.8.8 Muestras con suelo, surfactante y biomasa

Las muestras con suelo, surfactante y biomasa se prepararon de la misma manera que las muestras con suelo y biomasa a diferencia que el medio mineral contenía 25 mg/L de Tergitol NP10.

4.2.8.9 Muestreos

Como se mencionó anteriormente, los intervalos de muestreo fueron a tiempo 0 horas, 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas y 36 horas. A excepción de las muestras de tiempo 0, las demás se colocaron en un agitador oscilatorio a 30°C y 200 r.p.m.

Las muestras se retiraban en cada uno de los tiempos establecidos y se colocaban en un baño de hielo a una temperatura de 3-4°C por una hora para lograr de esta manera una estabilidad entre las fases y poder tomar una muestra representativa.



Fig. 22 Muestras en agua a 4°C

Al transcurrir el periodo de tiempo indicado, las muestras se filtraban con un acrodisco de poro igual a 1 micra antes de inyectar en el concentrador de purga y trampa.



Fig. 23 Filtros para la muestra

Las muestras se tomaban de la fase acuosa con una jeringa de plástico marca Terumo® se tomaban 10 mL y se inyectaban en viales ámbar con tapa horadada y septa. En caso de que la inyección de la muestra no fuera inmediata, los viales eran puestos nuevamente a una temperatura de 4°C.



Fig. 24 Toma de muestra para análisis

En estos viales se transportaron las muestras al cromatógrafo y se extrajeron del vial 5 mL y se inyectaron en el concentrador de purga y trampa.



Fig. 25 Inyección de muestra a vial

4.2.9 Tratamiento de datos de las cinéticas

4.2.9.1 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.

4.2.9.2 Areas 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.

4.2.9.3 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.

4.2.9.4 Obtención de parámetros

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_t/C_o .

donde:

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

C_o = concentración de BTEoX y EMTB a tiempo 0

4.2.9.5 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/C_o de las muestras que contenían únicamente biomasa contra los valores de C/C_o 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 = $(C_B/Co_B)/C_C/Co_C$

donde:

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

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

C_C = concentración a tiempo t de las muestras control

Co_C = 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.

4.2.9.6 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 =
 $(C_{SB}/C_{OSB})/C_C/C_{OC}$

donde:

C_{SB} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa y suelo

C_{OSB} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa y suelo

C_C = concentración a tiempo t de las muestras control

C_{OC} = 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.

4.2.9.7 Obtención del efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por la acción de la biomasa, el suelo y el surfactante

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 =
 $(C_{SBS}/C_{OSBS})/C_c/C_{Oc}$

donde:

C_{SBS} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

C_{OSBS} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

C_c = concentración a tiempo t de las muestras control

C_{Oc} = 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.

4.2.9.8 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/Co de las muestras que contenían suelo y biomasa contra los valores de C/Co 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 = $(C_{SB}/C_{OSB})/C_S/C_{OS}$

donde:

C_{SB} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa y suelo

C_{OSB} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa y suelo

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

C_{OS} = 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.

4.2.9.9 Obtención de la eficiencia de la biomasa en presencia de suelo y surfactante 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 =
 $(C_{SBS}/C_{OSBS})/(C_{SS}/C_{OSS})$

donde:

C_{SBS} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

C_{OSBS} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante

C_{SS} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían suelo y surfactante

C_{OSS} = 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.

4.2.9.10 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 =
 $(C_s/Co_s)/C_c/Co_c$

donde:

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

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

C_c = concentración a tiempo t de las muestras control

Co_c = 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.

4.2.9.11 Partición de BTEoX y EMTB Agua - Suelo en presencia de surfactante

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/C_0 de las muestras que contenían suelo y surfactante contra los valores de C/C_0 de las muestras control para eliminar las pérdidas por fugas.

Evaluación del efecto de la partición de los sustratos agua - suelo =
 $(C_{SS}/C_{0SS})/(C_C/C_{0C})$

donde:

C_{SS} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían suelo y surfactante

C_{0SS} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían suelo y surfactante

C_C = concentración a tiempo t de las muestras control

C_{0C} = 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.

4.2.9.12 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/C_0 de las muestras que contenían suelo y surfactante contra los valores de C/C_0 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 =
 $(C_{ss}/C_{oss})/C_s/C_{os}$

donde:

C_{ss} = concentración a tiempo t de las muestras que contenían suelo y surfactante

C_{oss} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían suelo y surfactante

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

C_{0s} = concentración a tiempo 0 de las muestras que contenían únicamente suelo

4.2.10 Cálculos de las constantes cinéticas globales para orden de reacción uno

Para obtener los valores de las constantes cinéticas globales para el orden de reacción uno se utilizó una gráfica de logaritmo natural de las concentraciones contra tiempo, de tal manera que la ecuación que sigue la recta es:

$$\ln S_t = mt + b$$

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de la concentración a tiempo t del sustrato

m = pendiente de la recta

t = tiempo

b = intersección en el eje de $\ln S_t$

El valor de la constante global es el valor negativo de la pendiente, por lo tanto:

$$m = -K$$

Donde:

K = constante cinética global

4.2.11 Cálculos de las constantes cinéticas globales para orden de reacción uno de doble compartimento

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

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,

Para la fase rápida se evaluó:

$$\ln St_1 = m_1 t_1 + b_1$$

Donde:

$\ln St_1$ = logaritmo natural de la concentración a tiempo t del sustrato de la fase rápida

m_1 = pendiente de la recta de la fase rápida

t_1 = tiempo de la fase rápida

b_1 = intersección en el eje de $\ln St$ de la fase rápida

Y para la fase lenta es:

$$\ln S t_2 = m_2 t_2 + b_2$$

Donde:

$\ln S t_2$ = logaritmo natural de la concentración a tiempo t del sustrato de la fase lenta

m_2 = pendiente de la recta de la fase lenta

t_2 = tiempo de la fase lenta

b_2 = intersección en el eje de $\ln S t$ de la fase lenta

4.2.12 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:

$$S t = m t + b$$

Donde:

$S t$ = la concentración a tiempo t del sustrato

m = pendiente de la recta

t = tiempo

b = intersección en el eje de $S t$ o concentración teórica a tiempo 0

El valor de la constante global es el valor negativo de la pendiente, por lo tanto:

$$m = -K$$

Donde:

K = constante cinética global

4.2.13 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:

$$k = K/VSS$$

Donde:

k = constante cinética específica

VSS = masa celular volátil

4.2.14 Obtención de coeficientes adimensionales de Henry.

El procedimiento que se llevó a cabo para obtener las constantes de Henry fue muy similar al que se realizó para la obtención de curvas de calibración.

Se preparó una serie de estándares de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de los BTEoX y EMTB, los cuales se colocaron en un par de viales tipo Falcon® de 50 mL hasta la mitad. Después de esto, los estándares se llevaron al cromatógrafo y se inyectaron 5 mL de la fase líquida y 10 mL de la fase gaseosa para cada muestra respectivamente.

Al obtener los cromatogramas, se graficaron las áreas obtenidas de los diferentes sustratos por separado con respecto al tiempo, y así se obtuvo una curva de calibración para los sustratos en fase líquida y otra curva de calibración para los sustratos en fase gaseosa.

El siguiente paso, fue el de graficar el área de cada sustrato por separado en la fase líquida a un tiempo dado, contra el área del mismo sustrato en la fase gaseosa en ese mismo tiempo, para obtener de esta manera, una gráfica del área de la fase líquida contra el área de la fase gaseosa para cada sustrato.

A estas gráficas, se les calculó la ecuación tipo $y = mx$ de la línea de tendencia para obtener así la constante de Henry de cada sustrato, la cual está representada por "m" en esta ecuación.

Para elaborar los estándares, se realizó el siguiente procedimiento: Cada volumen de sustrato que representó la concentración deseada de cada estándar se midió con una jeringa de vidrio de $10\mu\text{L}$, después se adicionó al matraz de aforación de 250 mL, el cual contenía solamente agua destilada, para realizar esto, se introdujo la aguja de la jeringa en el agua y el sustrato se inyectó a presión. Luego tapando el matraz y sin agitarlo, se le adicionó el volumen del sustrato siguiente, de la misma manera que el sustrato anterior. El orden de adición de los sustratos fue el siguiente: benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno y por último EMTB. Después de adicionar todos los sustratos, se cerró el matraz y se agitó hasta disolución completa. El matraz se dejó reposar, y se volvió a agitar. De esta manera, el estándar quedó listo para transferirse a los viales tipo Falcon®.

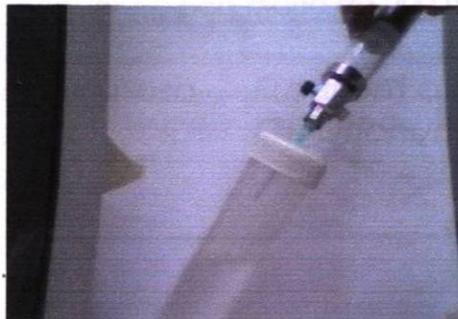


Fig. 26 Toma de muestra fase

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Aislamiento de Microorganismos biodegradadores del consorcio microbiano mixto.

El aislamiento de los microorganismos biodegradadores de gasolina se realizó mediante la inoculación de muestras de los bioensayos en placas de agar gasolina (apéndice 3), las placas se incubaron a 30°C en periodos de tiempo de 42-96 horas. Después de este tiempo las colonias aisladas se sembraron en agar nutritivo para el caso de bacterias y agar papa - dextrosa en el caso de hongos y levaduras y después se enviaron a laboratorios especializados para su identificación. (Fig. 28 y 29)

Los microorganismos que hasta el momento se han identificado del consorcio aclimatado a gasolina son los que se enumeran en la tabla. 10

Tabla 10. Microorganismos aislados del consorcio aclimatado a gasolina Premium en una concentración diaria de 200 mg/L

Bacterias	Hongos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
<i>Rhodococcus sp.</i>	
<i>Bacillus sp.</i>	

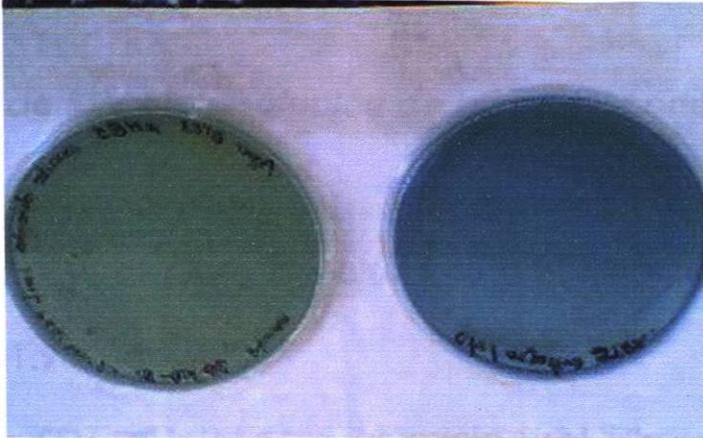


Fig. 27 Control negativo contra una muestra inoculada en agar selectivo

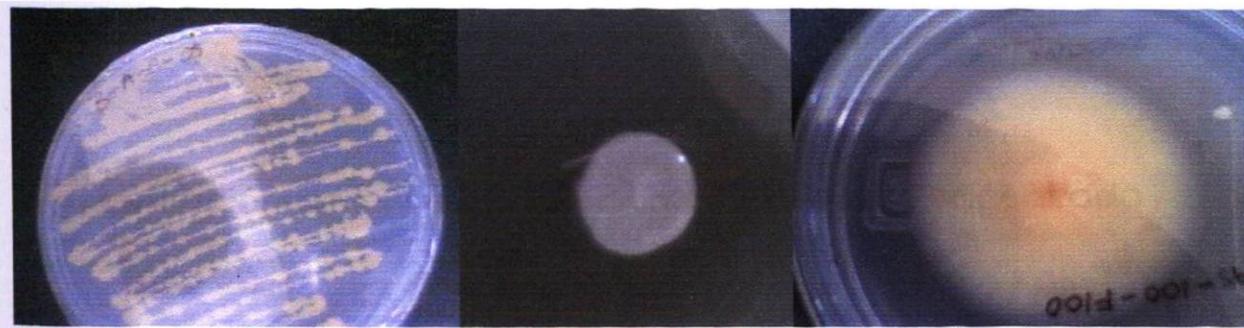


Fig. 28 Cepas aisladas del consorcio microbiano

5.2 Sólidos Suspendidos Volátiles

Mediante el procedimiento expuesto en la sección 4.2.4, se obtuvieron los siguientes resultados de los sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada

- A. Peso de los SSV, el plato de aluminio y el filtro después del secado a 103-105°C = 1.9670g
- B. Peso de los SSV, el plato de aluminio y el filtro después de llevar a cenizas a 550°C = 1.9582g
- C. Volumen de la muestra analizada = 1 mL

Por lo tanto:

Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada

$$= (A - B)/C$$

Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada

$$= [(1.9670g - 1.9582g)/1 mL] \times [1,000mg/1g]$$

Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada

$$= 8.8 \text{ mg/mL}$$

Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada

$$= 8,800 \text{ mg/L}$$

Concentración de SSV en el reactor de aclimatación

La solución de biomasa concentrada pertenecía al reactor de aclimatación y se llevó de un volumen inicial de 560 mL a 70 mL por lo tanto:

D. Volumen inicial de la solución de biomasa extraída del reactor = 560 mL

E. Volumen total de la solución de biomasa concentrada = 70 mL

F. Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada = 8.8 mg/mL

Concentración de SSV en el reactor

$$= (E \times F) / D$$

Concentración de SSV en el reactor

$$= [(70 \text{ mL} \times 8.8 \text{ mg/mL}) / 560\text{mL}] \times [1,000\text{mL}/1\text{L}]$$

Concentración de SSV en el reactor

$$= 1,100 \text{ mg/L}$$

Concentración de SSV en los bioensayos

F. Concentración de SSV en la solución de biomasa concentrada = 8.8 mg/mL

G. Volumen de la solución de biomasa concentrada añadida a los bioensayos = 2 mL

H. Volumen de medio de concentrado para los bioensayos = 20 mL

Concentración de SSV en los bioensayos

$$= (G \times F) / (H + G)$$

Concentración de SSV en los bioensayos

$$= [(2\text{mL} \times 8.8\text{mg/mL}) / (20\text{mL} + 2\text{mL})] \times [1,000\text{ml/1L}]$$

Concentración de SSV en los bioensayos

$$= 800 \text{ mg/L}$$

5.3 Curvas de calibración para los sustratos

Se obtuvieron las ecuaciones que relacionan las áreas de los cromatogramas con las concentraciones mediante una curva de calibración de 5 estándares (50, 40, 30, 20 y 10 mg/L)

Se graficaron las áreas obtenidas contra las concentraciones de los estándares obteniendo así los valores de las ecuaciones de regresión lineal para cada uno de los BTEoX y EMTB. De dichas ecuaciones se obtuvieron los valores de concentración para los diferentes grupos de muestras analizadas.

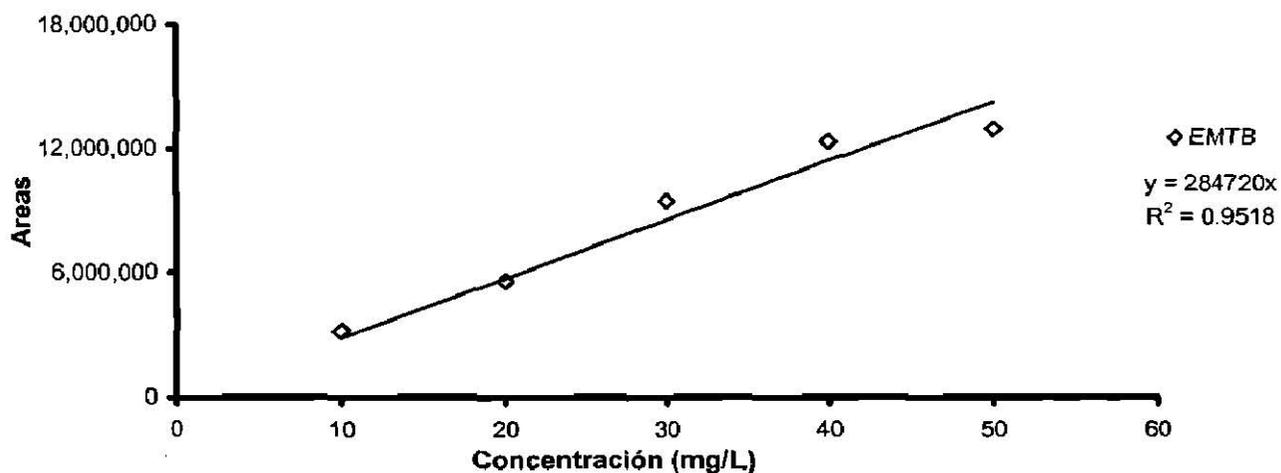
5.3.1 EMTB

Para el caso del EMTB la inyección de los estándares dio la siguiente información (tabla 11)

Tabla 11. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de EMTB

Concentración (mg/L)	Area
10	3,179,085
20	5,579,532
30	9,454,028
40	12,297,699
50	12,941,036

Al graficar concentración contra área se obtiene la ecuación de la relación de estas mismas (gráfica 1)



Gráfica 1. Curva de calibración para el EMTB

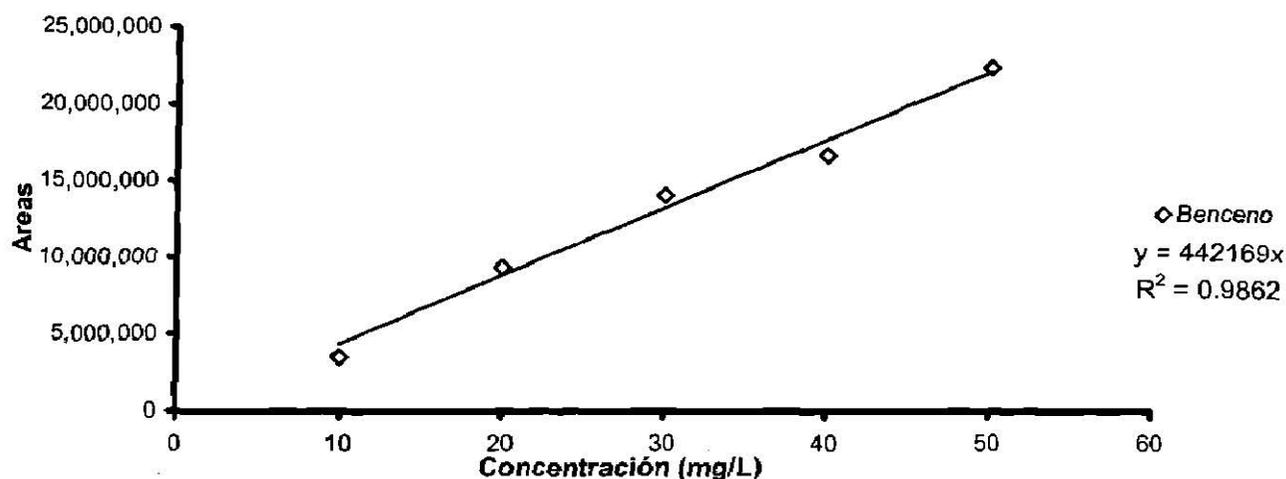
5.3.2 Benceno

Para el caso del Benceno la inyección de los estándares dio la siguiente información (tabla 12)

Tabla 12. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de Benceno

Concentración (mg/L)	Area
10	3,545,582
20	9,333,127
30	14,106,202
40	16,671,572
50	22,395,208

Al graficar concentración contra área se obtiene la ecuación de la relación de estas mismas (gráfica 2)



Gráfica 2. Curva de calibración para el benceno

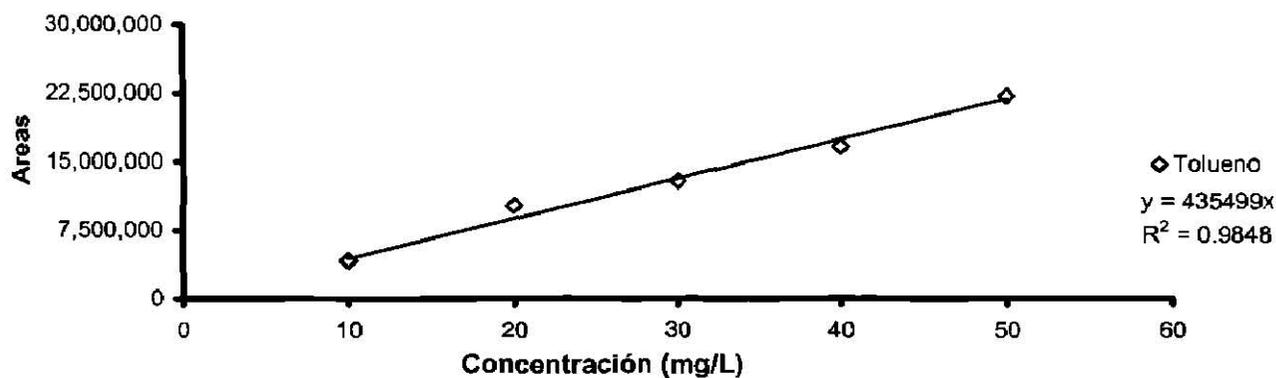
5.3.3 Tolueno

Para el caso del Tolueno la inyección de los estándares dio la siguiente información (tabla 13)

Tabla 13. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de Tolueno

Concentración (mg/L)	Area
10	4,150,866
20	10,090,648
30	12,824,913
40	16,599,522
50	22,063,922

Al graficar concentración contra área se obtiene la ecuación de la relación de estas mismas (gráfica 3)



Gráfica 3. Curva de calibración para el tolueno

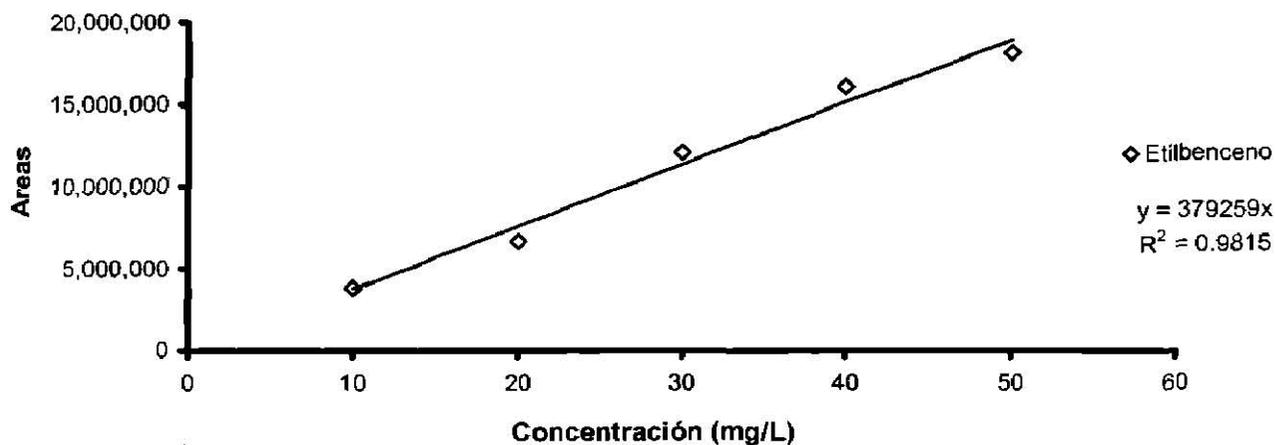
5.3.4 Etilbenceno

Para el caso del Etilbenceno la inyección de los estándares dio la siguiente información (tabla 14)

Tabla 14. Areas correspondientes a la inyección de los estándares de Etilbenceno

Concentración (mg/L)	Area
10	3,808,467
20	6,669,319
30	12,086,038
40	16,062,443
50	18,187,496

Al graficar concentración contra área se obtiene la ecuación de la relación de estas mismas (gráfica 4)



Gráfica 4. Curva de calibración para el etilbenceno

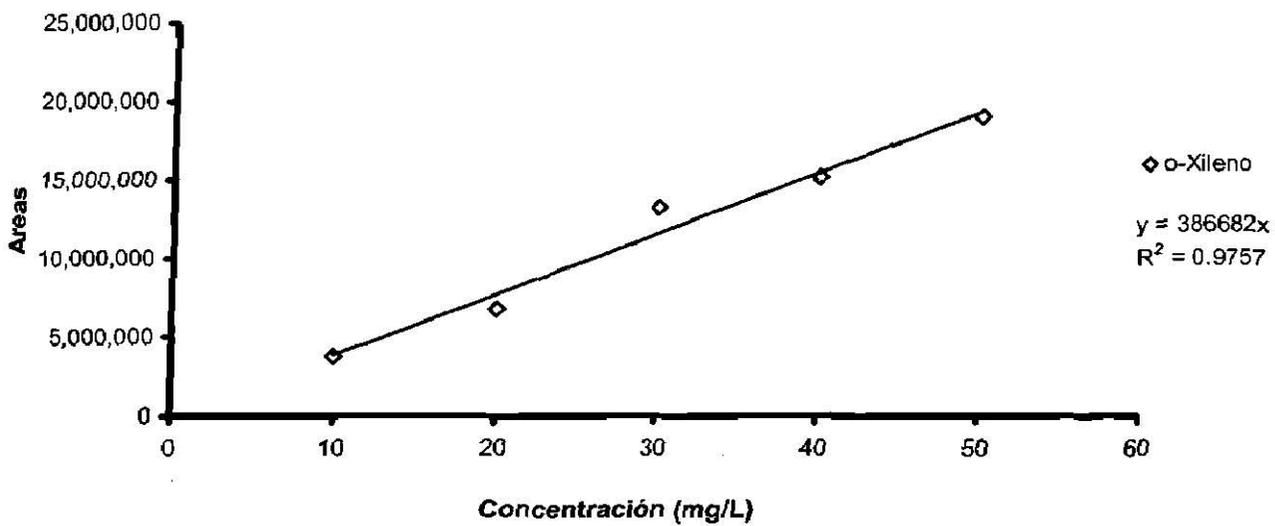
5.3.5 o-Xileno

Para el caso del o-Xileno la inyección de los estándares dio la siguiente información (tabla 15)

Tabla 15. Áreas correspondientes a la inyección de los estándares de o-Xileno

Concentración (mg/L)	Área
10	3,744,089
20	6,782,683
30	13,229,160
40	15,173,698
50	18,996,678

Al graficar concentración contra área se obtiene la ecuación de la relación de estas mismas (gráfica 5)



Gráfica 5. Curva de calibración para o-Xileno

5.4 Ecuación de la relación entre el área y las concentraciones

De las gráficas anteriores se obtiene que:

Tabla 16. Ecuaciones de concentración contra área

Sustrato	Ecuación	Regresión
EMTB	Concentración (mg/L) = (Area)/284720	0.952
Benceno	Concentración (mg/L) = (Area)/442169	0.986
Tolueno	Concentración (mg/L) = (Area)/435599	0.985
Etilbenceno	Concentración (mg/L) = (Area)/379259	0.982
o-Xileno	Concentración (mg/L) = (Area)/386682	0.976

5.5 Evaluación de la biodegradación de BTEoX y EMTB usando solamente

Biomasa

5.5.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa

respecto a las muestras control

Para eliminar las pérdidas por causa de las fugas, los valores de las muestras que contenían biomasa se dividieron entre los valores de las muestras control, para así obtener los valores exactos de las concentraciones a diferentes tiempos entre la concentración de los sustratos a tiempo cero. La tabla 17. muestra los valores obtenidos de esta relación.

Tabla 17. División de las muestras que contienen Biomasa en relación con las muestras Control (Es para observar el efecto de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB)

TIEMPOS (Hrs)	EMTB (C_{Bt}/C_{Bo})	BENCENO (C_{Bt}/C_{Bo})	TOLUENO (C_{Bt}/C_{Bo})	ETILBENCENO (C_{Bt}/C_{Bo})	O-XILENO (C_{Bt}/C_{Bo})
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9224	0.7218	0.2523	0.1299	0.8246
12	0.9111	0.3559	0.0310	0.0230	0.6644
18	0.8937	0.0640	0.0219	0.0220	0.4332
24	0.8815	0.0224	0.0085	0.0076	0.2284
30	0.8533	0.0113	0.0069	0.0070	0.1593
36	0.8435	0.0062	0.0049	0.0025	0.0985

Al multiplicar estas fracciones por la concentración original (50 mg/L) se obtuvieron las concentraciones teóricas de los sustratos a diferentes tiempos. Estos valores se muestran en la tabla 18.

Tabla 18. Concentraciones Teóricas de los sustratos

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000
6	46.1222	36.0893	12.6164	6.4941	41.2322
12	45.5565	17.7926	1.5481	1.1506	33.2185
18	44.6840	3.1996	1.0972	1.0988	21.6613
24	44.0737	1.1197	0.4242	0.3811	11.4217
30	42.6651	0.5665	0.3446	0.3491	7.9668
36	42.1743	0.3083	0.2444	0.1269	4.9225

5.5.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)

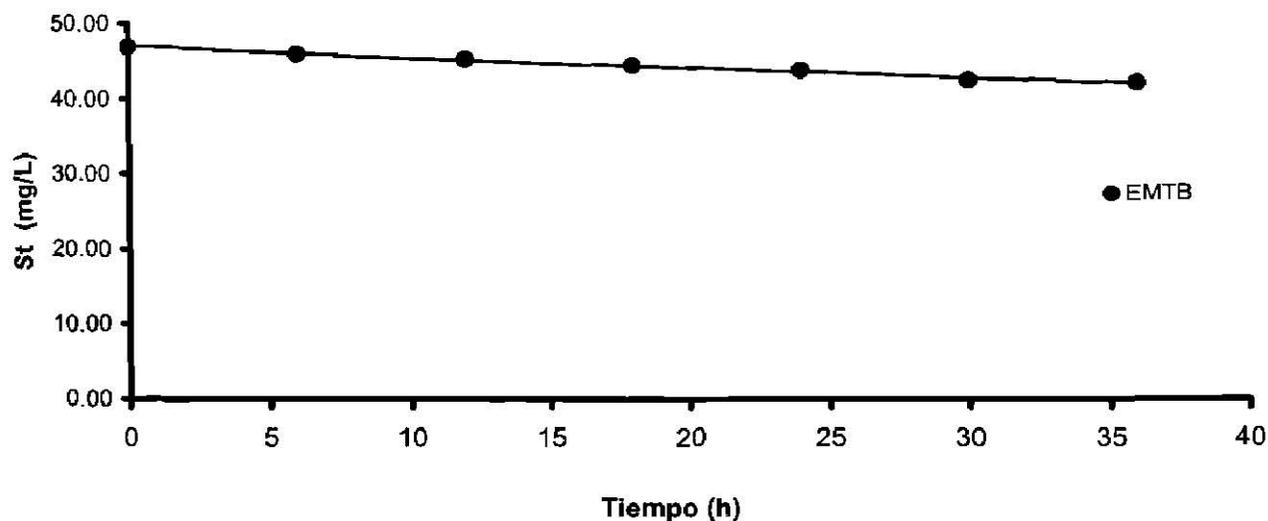
Se utilizó orden cero de reacción para evaluar esta cinética dado que al graficar las concentraciones del EMTB contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 19. Concentraciones teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control

TIEMPO (HORAS)	EMTB S_i(mg/L)
0	47.0000
6	46.1222
12	45.5565
18	44.6840
24	44.0737
30	42.6651
36	42.1743

Donde:

S_i: Concentración teórica en mg/L



Gráfica 6. Evaluación de la constante cinética que mide el efecto de la biomasa sobre el EMTB (Datos de la Tabla. 19)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del EMTB.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$S_t = -0.1362t + 47062$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.1362 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$1.55 \times 10^{-4} \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

$$r^2 = 0.988$$

En la gráfica 6 se observa que al transcurrir las 36 horas del ensayo cinético la disminución en la concentración del EMTB no fue significativa, esto lo comprueba el valor de la constante cinética al disminuir solo 0.1362 mg de EMTB por hora.

5.5.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestra control)

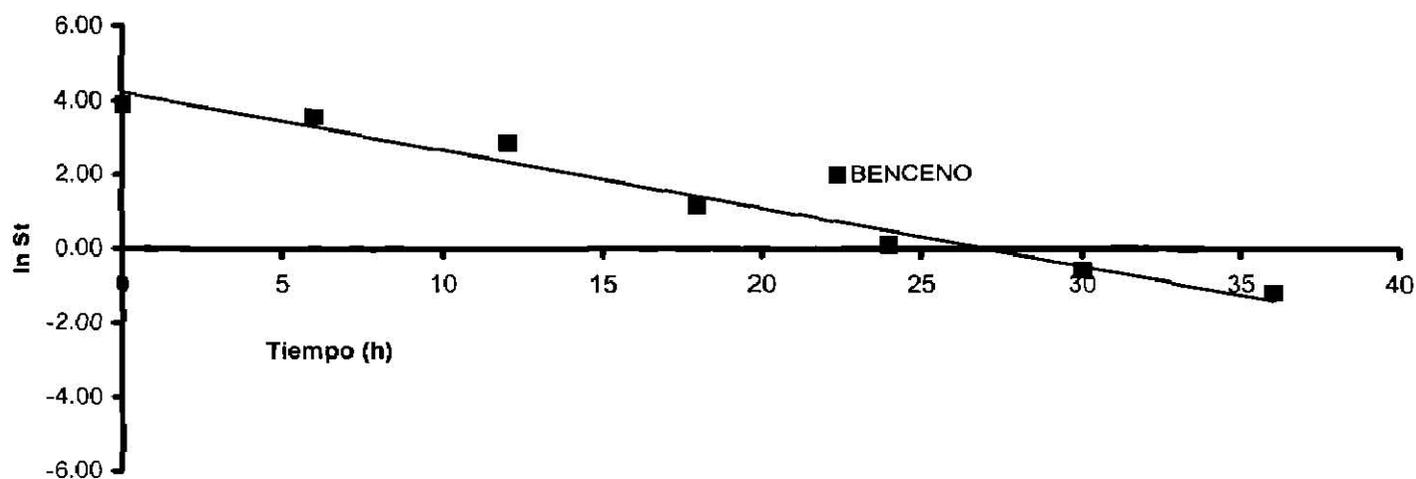
Se utilizó primer orden de reacción para evaluar la cinética del benceno dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 20. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	BENCENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.5860
12	2.8788
18	1.1630
24	0.1130
30	-0.5682
36	-1.1766

Donde:

S_t: Concentración teórica en mg/L



Gráfica 7. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de Benceno por una biomasa aclimatada a Gasolina (Datos de la Tabla 20.)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del Benceno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.1568t + 4.2376$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.1568 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$1.78 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

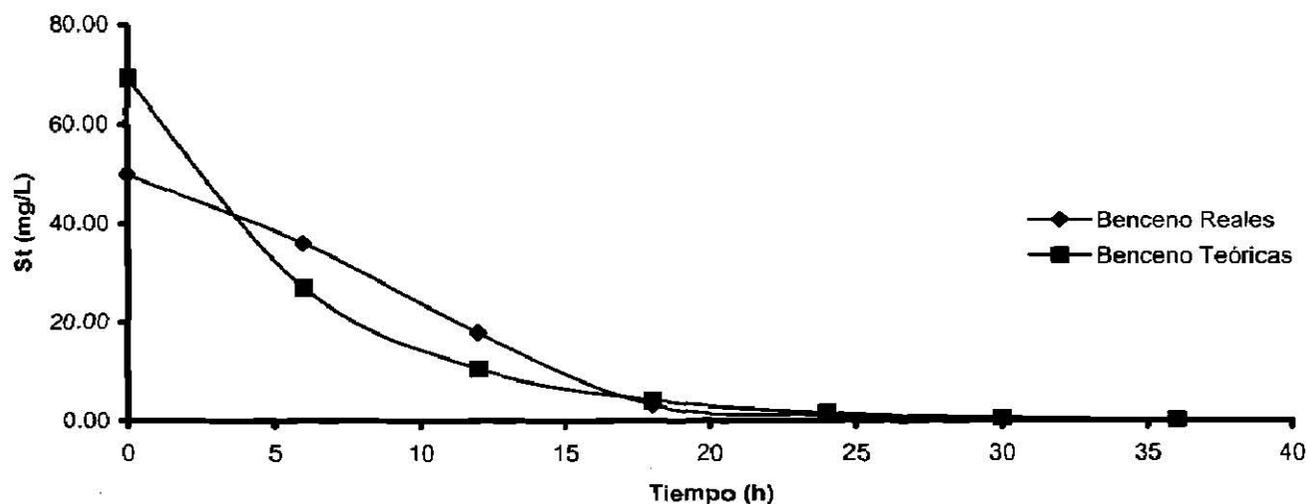
$$r^2 = 0.971$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.1568t + 4.2376)}. \text{ (Gráfica 8).}$$

Tabla 21. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno

TIEMPOS (Hrs)	BENCENO Reales (mg/L)	BENCENO Teóricas (mg/L)
0	50.0000	69.2415
6	36.0893	27.0260
12	17.7926	10.5487
18	3.1996	4.1173
24	1.1197	1.6070
30	0.5665	0.6273
36	0.3083	0.2448



Gráfica 8. Confirmación de orden uno de reacción para biodegradación del Benceno
(Datos de la Tabla 21)

En la gráfica 8 se observa que la línea teórica y la línea experimental presentan la misma tendencia y que en ambas se muestra una mayor pendiente en las primeras 18 horas de experimentación siendo este intervalo de tiempo en el que la concentración de benceno disminuye notablemente, después de este tiempo las concentraciones tienden a cero.

5.5.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)

En el caso del Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Tolueno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Tolueno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

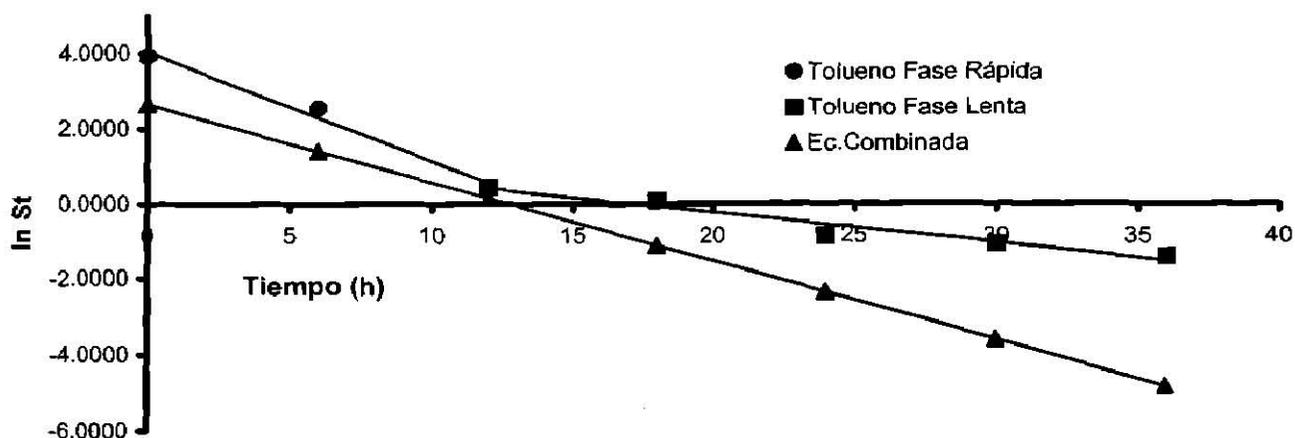
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 22. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Tolueno [lnS _t]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [lnS _t]
0	3.9120	2.6526
6	2.5350	1.3998
12	0.4370	0.1470
18	0.0927	-1.1058
24	-0.8575	-2.3586
30	-1.0652	-3.6114
36	-1.4089	-4.8642

Donde:

lnS_t = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de tolueno



Gráfica 9. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina (Datos de la Tabla 22)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 23. Valores de las Rectas de la gráfica 9

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.2896t + 4.0322$	$r^2 = 0.985$
Fase lenta de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.0808t + 1.3796$	$r^2 = 0.946$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.2088t + 2.652$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 24. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
2.652	1.3796
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
14.1824	3.9733

Tabla 25. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase) (hr^{-1})	K_2 (Segunda Fase) (hr^{-1})
0.2088	0.0808

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 14.1824e^{-0.2088t} + 3.9733e^{-0.0808t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

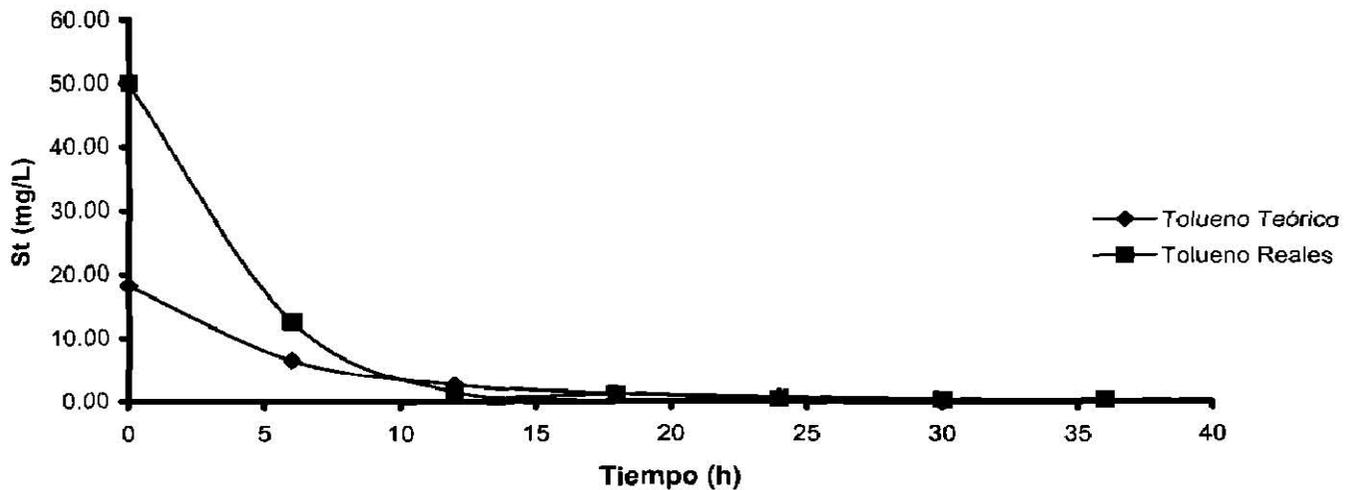
Tabla 26. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
2.37×10^{-4}	0.918×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 14.1824e^{-0.2088t} + 3.9733e^{-0.0808t}$. (Gráfica. 11)

Tabla 27. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno

Tiempos (h)	Tolueno Reales (mg/L)	Tolueno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	18.1557
6	12.6164	6.4988
12	1.5481	2.6645
18	1.0972	1.2587
24	0.4242	0.6659
30	0.3446	0.3789
36	0.2444	0.2244



Gráfica 10. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno (Datos de la Tabla 27)

En la gráfica 10 se observa que la línea teórica se encuentra por debajo de la línea experimental esto se debe a que la gráfica teórica describe los efectos conjuntos de las dos fases de la gráfica real; es decir, los efectos de distribución y eliminación conjuntos, aunque la diferencia en pendientes igualmente se presenta como en las primeras 12 horas de experimentación las concentraciones de tolueno han disminuido hasta valores cercanos a cero.

5.4.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)

En el caso del Etilbenceno al igual que el Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Etilbenceno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Etilbenceno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

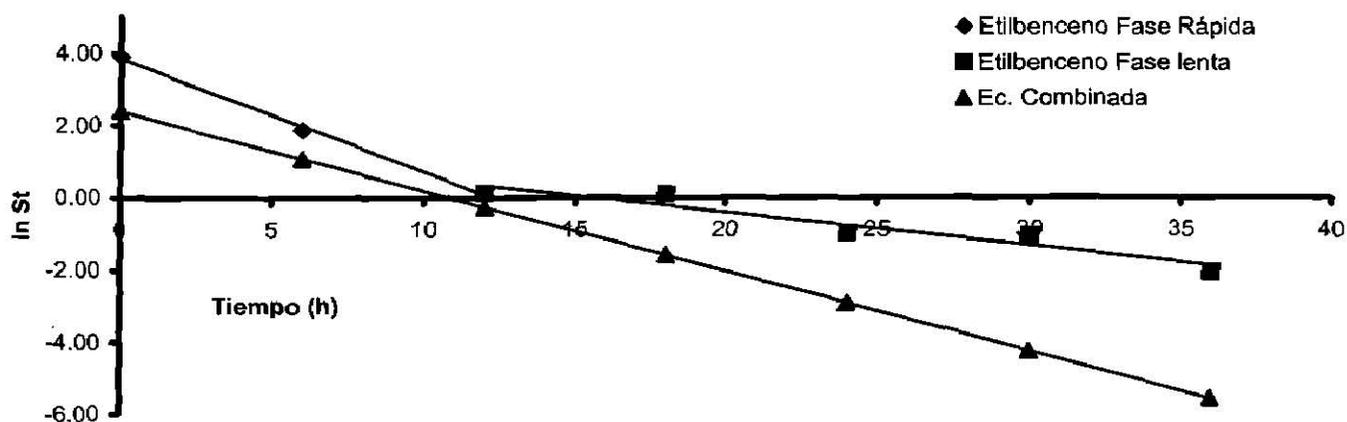
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 28. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Etilbenceno [$\ln S_t$]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [$\ln S_t$]
0	3.9120	2.4072
6	1.8709	1.0770
12	0.1403	-0.2532
18	0.0942	-1.5834
24	-0.9647	-2.9136
30	-1.0524	-4.2438
36	-2.0641	-5.5740

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de etilbenceno



Gráfica 11. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina (Datos de la Tabla 28)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 29. Valores de las Rectas de la gráfica 11

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.3143t + 3.8603$	$r^2 = 0.997$
Fase lenta de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.0926t + 1.4528$	$r^2 = 0.916$
Ecuación combinada de doble compartimiento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.2217t + 2.4072$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 30. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
2.4072	1.4528
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
11.1028	4.2751

Tabla 31. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.2217	0.0926

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 11.1028e^{-0.2217t} + 4.2751e^{-0.0926t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

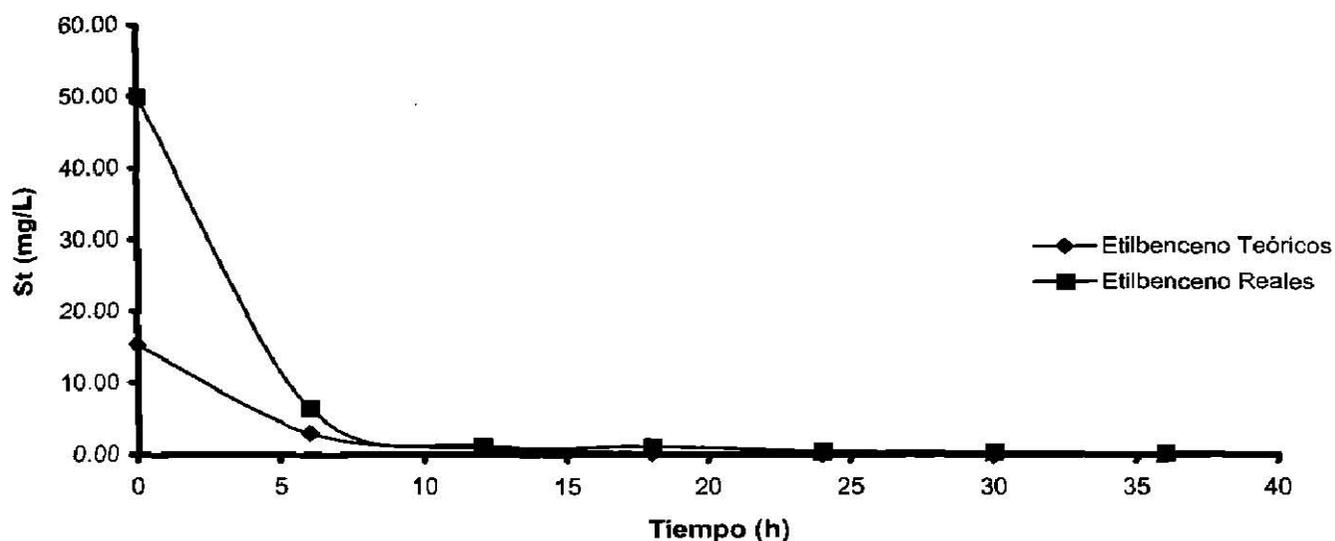
Tabla 32. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$
2.52×10^{-4}	1.05×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 11.1028e^{-0.2217t} + 4.2751e^{-0.0926t}$, (Gráfica 12)

Tabla 33. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno

Tiempos (h)	Etilbenceno Reales (mg/L)	Etilbenceno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	15.3779
6	6.4941	2.9660
12	1.1506	0.7765
18	1.0988	0.2053
24	0.3811	0.0543
30	0.3491	0.0144
36	0.1269	0.0038



Gráfica 12. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno (Datos de la Tabla 33)

La línea teórica del etilbenceno muestra los efectos conjuntos de distribución y eliminación, es por esto que el punto de inicio de la gráfica está por debajo de los 20 mg/L por efecto de la distribución, además se observa una biodegradación muy rápida del etilbenceno ya que a 8 horas de experimentación las concentraciones de etilbenceno son cercanas a cero en ambas líneas.

5.4.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)

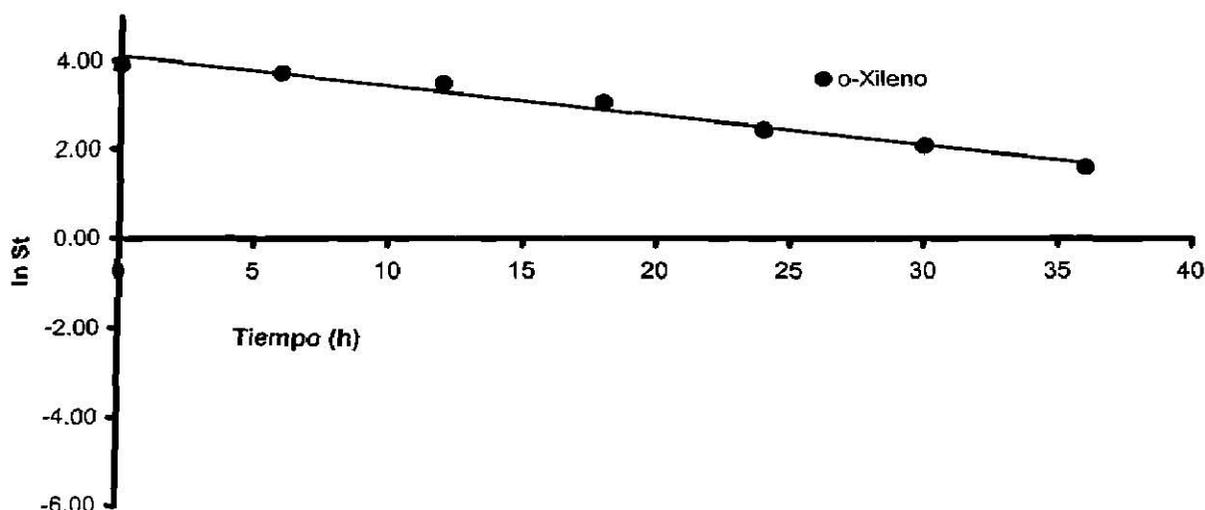
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del o-Xileno dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 34. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	O-XILENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.7192
12	3.5031
18	3.0755
24	2.4355
30	2.0753
36	1.5938

Donde:

lnS_t: Logaritmo natural de la concentración teórica en mg/L



Gráfica 13. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina (Datos de la Tabla 34)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del o-Xileno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.0673t + 4.1139$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.0673 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica es:

$$0.76 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

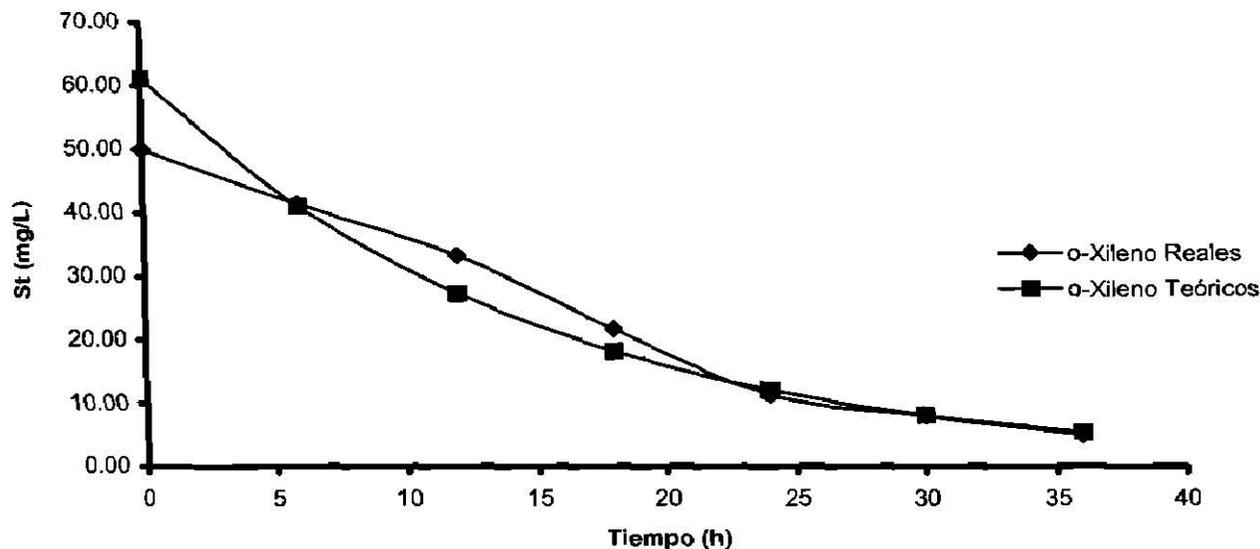
$$r^2 = 0.973$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.0673t + 4.1139)}. \text{ (Gráfica 14)}$$

Tabla 35. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno

TIEMPO (h)	O-XILENO Reales (mg/L)	O-XILENO Teóricos (mg/L)
0	50.0000	61.1849
6	41.2322	40.8579
12	33.2185	27.2840
18	21.6613	18.2196
24	11.4217	12.1667
30	7.9668	8.1246
36	4.9225	5.4254



Gráfica 14. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno (Datos de la Tabla 35)

La tendencia del o-xileno en las líneas experimental y teórica siguen la misma tendencia, esto se observa en la gráfica 14 donde se muestra que las concentraciones de o-xileno van disminuyendo en el transcurso de los tiempos de experimentación, se presenta una clara biodegradación del o-xileno pese a que las concentraciones al termino del las 36 horas no son cercanas a cero.

5.5 Evaluación de del efecto de remoción de BTEoX y EMTB usando biomasa y suelo

5.5.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa y suelo respecto a las muestras control

Para eliminar las pérdidas por causa de las fugas, las muestras que contenían biomasa y suelo se dividieron entre las muestras control, para así obtener los valores exactos de las concentraciones a diferentes tiempos entre la concentración a tiempo cero. La tabla 36 muestra los valores obtenidos de esta relación.

Tabla 36. Relación entre las muestras que contienen Biomasa y suelo con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por el suelo y la biomasa)

TIEMPOS (h)	EMTB (C_{SBt}/C_{SBo})	BENCENO (C_{SBt}/C_{SBo})	TOLUENO (C_{SBt}/C_{SBo})	ETILBENCENO (C_{SBt}/C_{SBo})	O-XILENO (C_{SBt}/C_{SBo})
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9760	0.8722	0.3281	0.1438	0.9257
12	0.9011	0.6045	0.1098	0.0327	0.8772
18	0.8606	0.4111	0.0299	0.0220	0.7238
24	0.8022	0.1694	0.0269	0.0076	0.6224
30	0.7840	0.0976	0.0248	0.0070	0.5564
36	0.7484	0.0454	0.0238	0.0025	0.4402

Al multiplicar estas fracciones por la concentración original (50 mg/L) obtenemos lo que son las concentraciones teóricas de los sustratos a diferentes tiempos. Estos valores se muestran en la tabla 37.

Tabla 37. Concentraciones Teóricas de los sustratos

TIEMPO (h)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000
6	48.7992	43.6076	16.4025	7.1901	46.2872
12	45.0558	30.2240	5.4894	1.6328	43.8615
18	43.0322	20.5533	1.4973	1.0988	36.1876
24	40.1083	8.4706	1.3464	0.3811	31.1205
30	39.1984	4.8792	1.2382	0.3491	27.8213
36	37.4176	2.2718	1.1880	0.1269	22.0109

5.5.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)

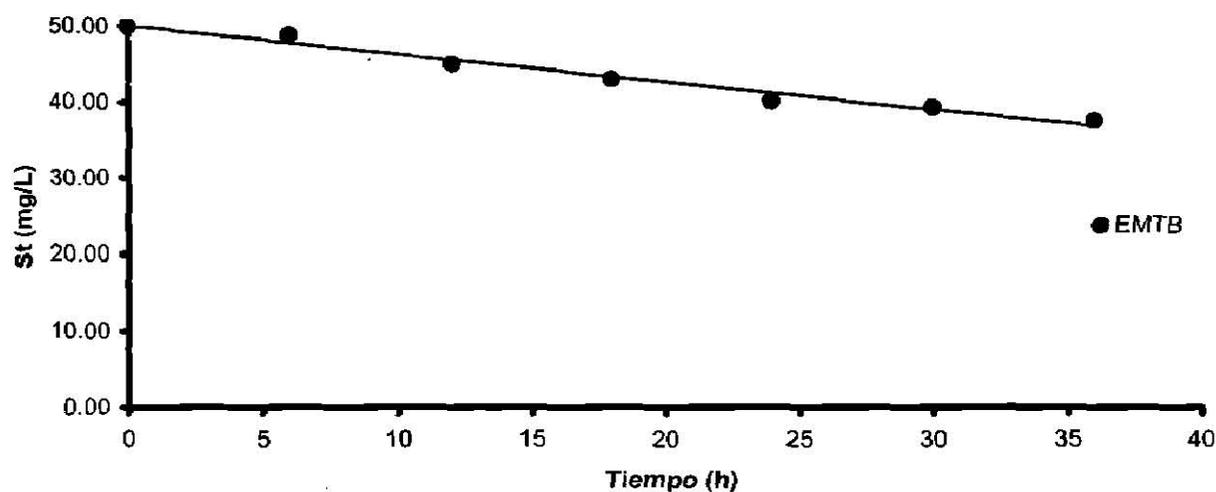
Se utilizó orden cero de reacción para evaluar esta cinética dado que al graficar las concentraciones del EMTB contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 38. Concentraciones teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control

TIEMPO (h)	EMTB S_t(mg/L)
0	50.0000
6	48.7992
12	45.0558
18	43.0322
24	40.1083
30	39.1984
36	37.4176

Donde:

S_t: concentración teórica en mg/L



Gráfica 15. Evaluación de la constante cinética que mide el efecto de la biomasa y el suelo sobre el EMTB (Datos de la Tabla 38)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética global de biodegradación del EMTB.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$S_t = -0.3684t + 50.005$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.3684 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica es:

$$4.06 \times 10^{-4} \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}\text{ssv}$$

La regresión de la recta fue de:

$$r^2 = 0.978$$

En el caso de la remoción por la biomasa y el suelo se puede observar que existe un incremento de la velocidad de remoción del EMTB en comparación con los valores de la remoción por la biomasa, esto podría ser un efecto de la presencia de suelo en las muestras, ya que la constante de remoción de las muestras que contenían suelo y biomasa esta por encima del doble del valor de aquellas que solo contenían biomasa, pero pese a que el valor de la constante de remoción aumentó este valor sigue siendo despreciable ya que las concentraciones de EMTB en las muestras después de haber transcurrido las 36 horas del experimento no disminuyeron por debajo de 35 mg/L .

5.5.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solo buffer

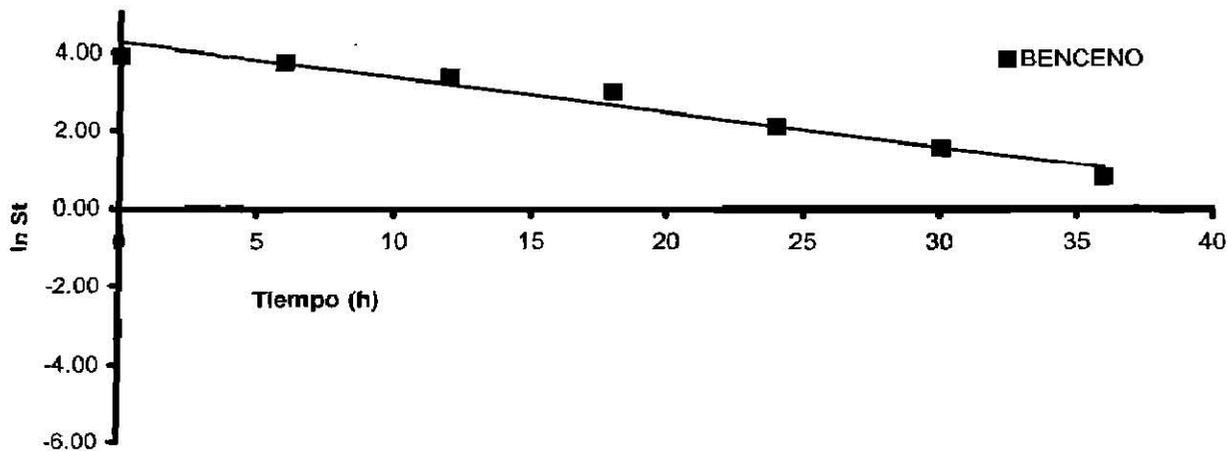
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del benceno dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas ($\ln S_t$) contra tiempo (t) se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 39. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	BENCENO [$\ln S_t$]
0	3.9120
6	3.7752
12	3.4086
18	3.0230
24	2.1366
30	1.5850
36	0.8206

Donde:

S_t : concentración teórica en mg/L



Gráfica 16. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de Benceno por efecto de la biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril (Datos de la Tabla 39)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del Benceno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.0889t + 4.2652$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.0889 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica es:

$$1.11 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

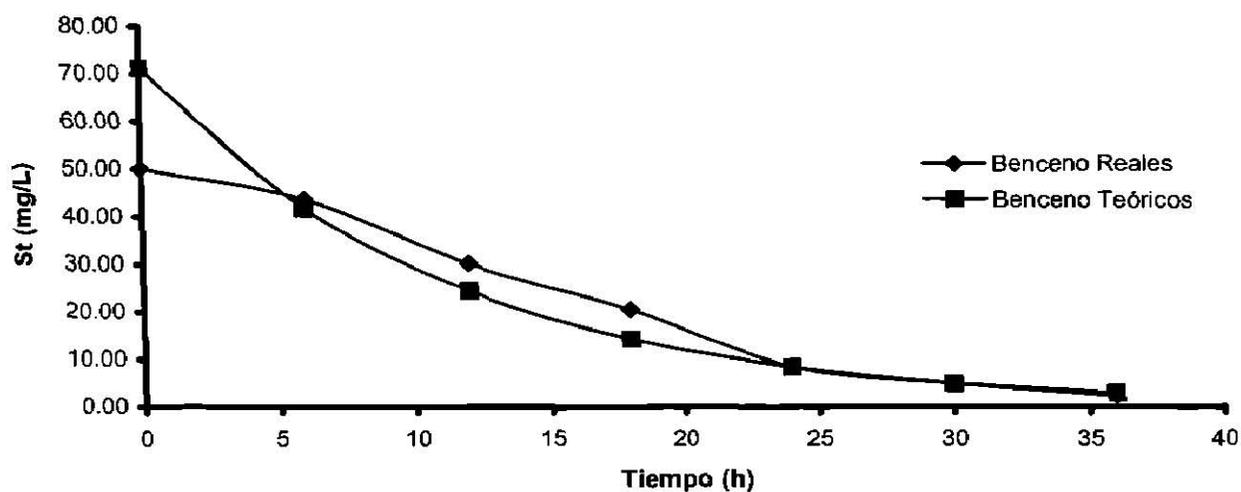
$$r^2 = 0.957$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.0889t + 4.2652)}. \text{ (Gráfica 17)}$$

Tabla 40. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno

TIEMPOS (h)	BENCENO Reales (mg/L)	BENCENO Teóricas (mg/L)
0	50.0000	71.1792
6	43.6076	41.7542
12	30.2240	24.4933
18	20.5533	14.3679
24	8.4706	8.4283
30	4.8792	4.9441
36	2.2718	2.9003



Gráfica 17. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno en presencia de biomasa y suelo (Datos de la Tabla 40)

El valor de las constantes de remoción en las muestras que contenían suelo y biomasa es aproximadamente la mitad del valor de las constantes de biodegradación de las muestras que solo contenían biomasa, esto se debe al efecto del suelo sobre el benceno al presentarse el fenómeno de partición agua -suelo, disminuyendo las concentraciones en el medio líquido.

5.5.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solo buffer

En el caso del Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Tolueno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Tolueno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

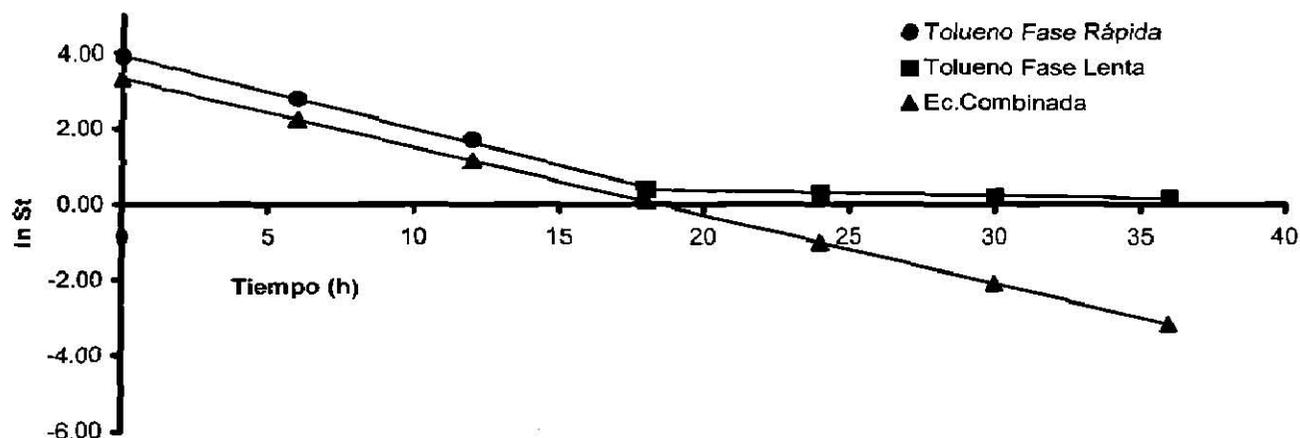
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 41. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Tolueno [lnS _t]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [lnS _t]
0	3.9120	3.3251
6	2.7974	2.2409
12	1.7028	1.1567
18	0.4037	0.0725
24	0.2974	-1.0117
30	0.2137	-2.0959
36	0.1723	-3.1801

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de tolueno



Gráfica 18. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril (Datos de la Tabla 41)

La gráfica anterior da como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 42. Valores de las Rectas de la gráfica 18

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.1937t + 3.9469$	$r^2 = 0.998$
Fase lenta de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.013t + 0.6218$	$r^2 = 0.965$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.1807t + 3.3251$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 43. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
3.325	0.622
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
27.802	1.862

Tabla 44. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.1807	0.013

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 27.802e^{-0.1807t} + 1.862e^{-0.013t}$$

De los valores de las constantes globales entre la concentración de SSV en los bioensayos se obtienen las constantes específicas

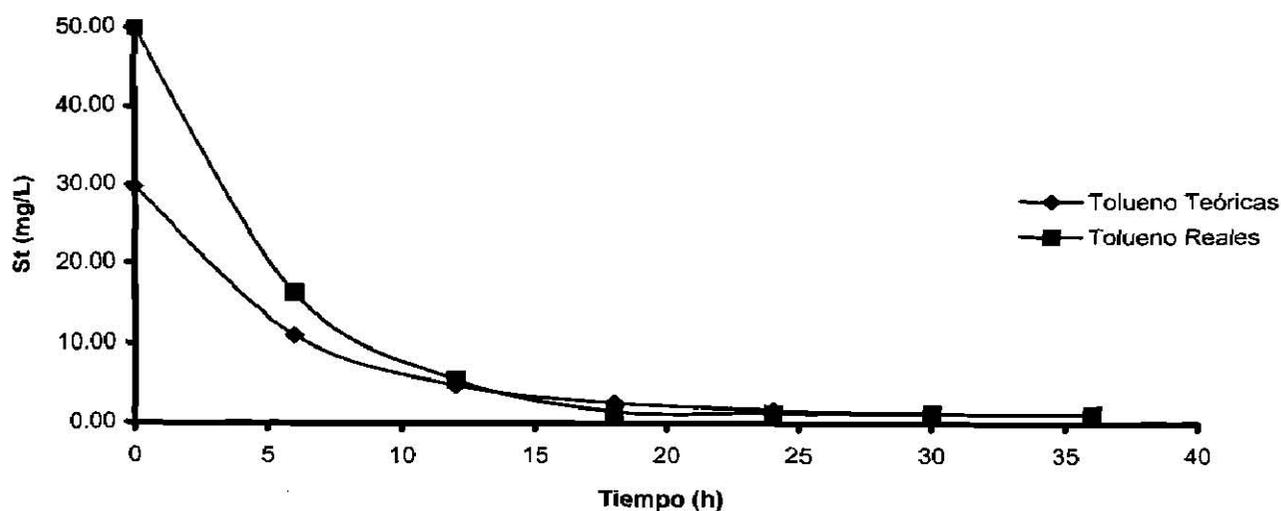
Tabla 45. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
2.26×10^{-4}	0.163×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 27.802e^{-0.1807t} + 1.862e^{-0.013t}$.

Tabla 46. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno

Tiempos (h)	Tolueno Reales (mg/L)	Tolueno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	29.6641
6	16.4025	11.1244
12	5.4894	4.7727
18	1.4973	2.5489
24	1.3464	1.7268
30	1.2382	1.3838
36	1.1880	1.2079



Gráfica 19. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno (Datos de la Tabla 46)

La gráfica 19 muestra las líneas teórica y real para el tolueno de las muestras que contenían suelo y biomasa, se observa que la línea teórica está ligeramente por debajo de la línea real que la fase de distribución es más lenta que en las muestras que no contenían suelo y la fase de eliminación es más lenta.

5.5.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solo buffer

En el caso del Etilbenceno al igual que Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Etilbenceno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Tolueno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

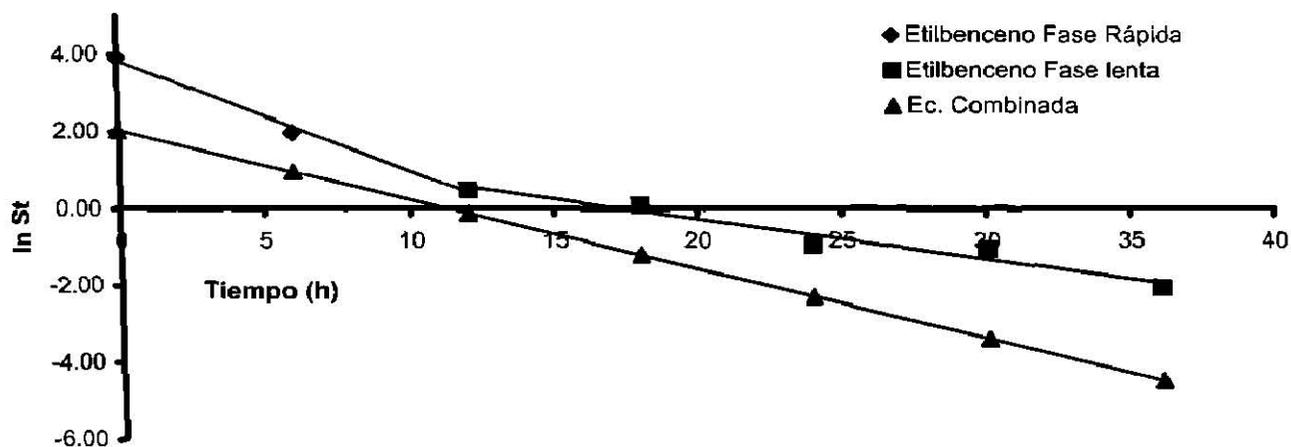
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 47. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Etilbenceno [$\ln S_t$]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [$\ln S_t$]
0	3.9120	2.0331
6	1.9727	0.9483
12	0.4903	-0.1365
18	0.0942	-1.2213
24	-0.9647	-2.3061
30	-1.0524	-3.3909
36	-2.0641	-4.4757

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de etilbenceno



Gráfica 20. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril (Datos de la Tabla 47)

La gráfica anterior da como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 48. Valores de las Rectas de la gráfica 20

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.2851t + 3.8359$	$r^2 = 0.994$
Fase lenta de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.1043t + 1.8028$	$r^2 = 0.953$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.1808t + 2.0331$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 49. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
2.033	1.803
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
7.638	6.067

Tabla 50. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.181	0.104

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 7.638e^{-0.181t} + 6.067e^{-0.104t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

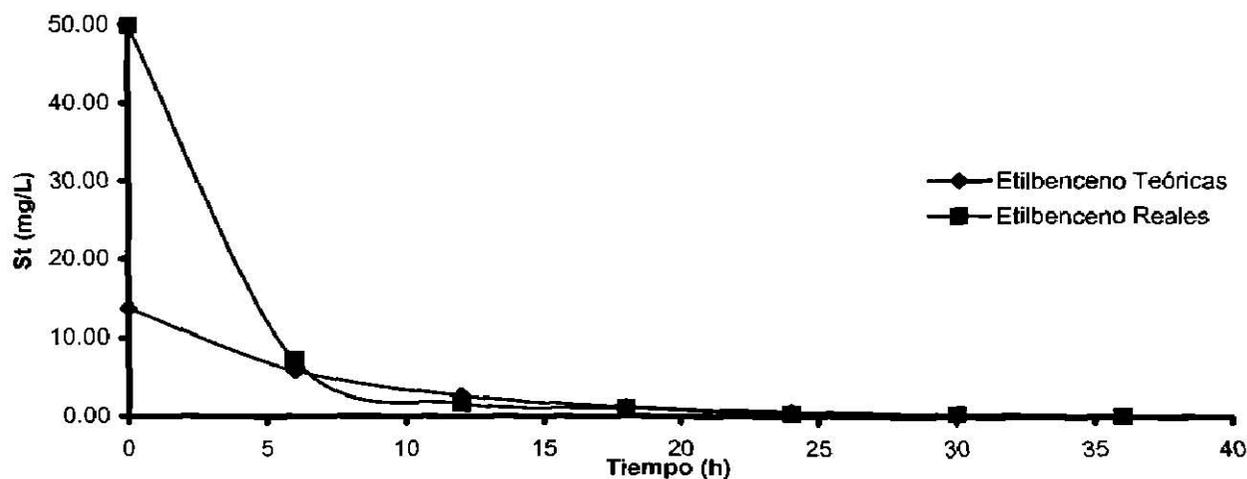
Tabla 51. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
2.26×10^{-4}	1.13×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó la tabla 52 con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 7.638e^{-0.1811t} + 6.067e^{-0.1041t}$.

Tabla 52. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno

Tiempos (h)	Etilbenceno Reales (mg/L)	Etilbenceno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	13.7043
6	7.1901	5.8259
12	1.6328	2.6077
18	1.0988	1.2230
24	0.3811	0.5960
30	0.3491	0.2992
36	0.1269	0.1534



Gráfica 21. Confiración de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno en presencia de suelo y biomasa (Datos de la Tabla 52)

En la gráfica 21 se muestra la gráfica teórica que muestra los efectos conjuntos de distribución y eliminación, además se puede observar que la biodegradación del etilbenceno es muy rápida ya que alrededor de las 8 horas de experimentación los valores de este compuesto son cercanos a cero.

5.5.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente buffer (muestras control)

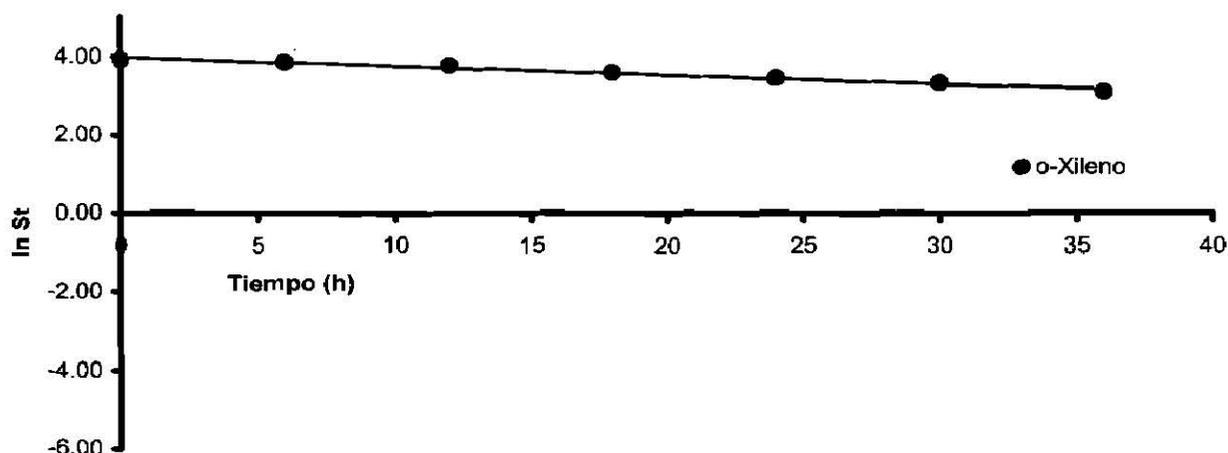
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del o-Xileno dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 53. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	O-XILENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.8349
12	3.7810
18	3.5887
24	3.4379
30	3.3258
36	3.0915

Donde:

lnS_t: Logaritmo de la concentración teórica en mg/L



Gráfica 22. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo (Datos de la Tabla 53)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del o-Xileno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.0228t + 3.977$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.0228 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$0.28 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

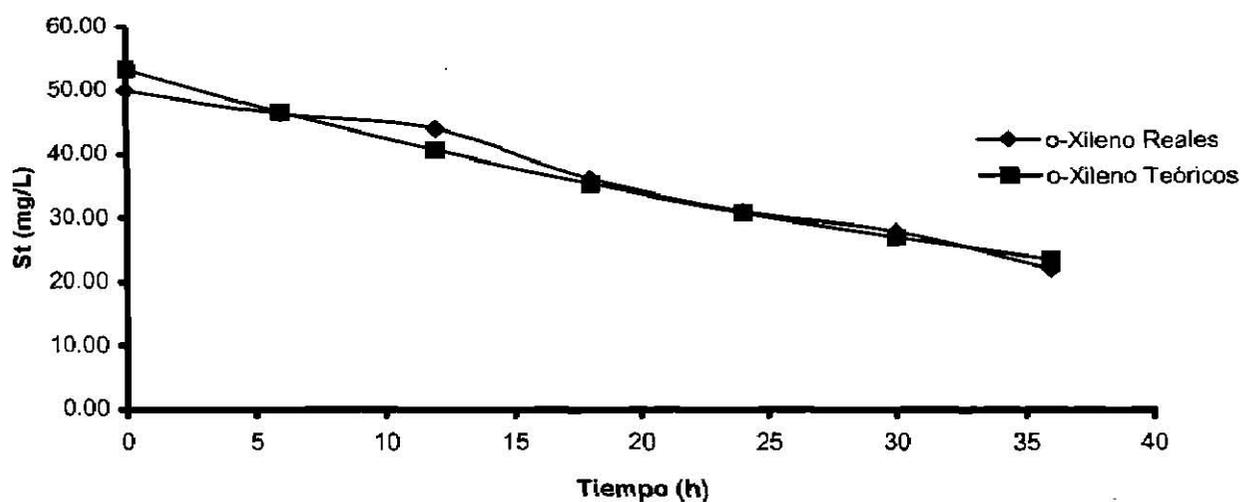
$$r^2 = 0.970$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.0228t + 3.977)}, \text{ (Gráfica 23)}$$

Tabla 54. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno

TIEMPO (h)	O-XILENO Reales (mg/L)	O-XILENO Teóricos (mg/L)
0	50.0000	53.3567
6	46.2872	46.5348
12	43.8615	40.5851
18	36.1876	35.3960
24	31.1205	30.8705
30	27.8213	26.9235
36	22.0109	23.4812



Gráfica 23. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno en presencia de suelo y biomasa (Datos de la Tabla 54)

Las líneas teórica y experimental son muy parecidas como se puede observar en la gráfica 23, la presencia del suelo produce un efecto negativo en la remoción del o-xileno, esto se puede comprobar al comparar los valores de las constantes de biodegradación de las muestras que solo contenían biomasa con las constantes de velocidad de remoción de las muestras que contenían biomasa y suelo, siendo esta última casi una tercera parte de la constante de las muestras que solo contenían biomasa.

5.6 Evaluación de del efecto de remoción de BTEoX y EMTB usando biomasa, suelo y surfactante

5.6.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante respecto a las muestras control

La eliminación de las pérdidas por causa de las fugas se obtuvo dividiendo las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante entre las muestras control, para así obtener los verdaderos valores de las concentraciones a diferentes tiempos entre la concentración a tiempo cero. La tabla 55 muestra los valores obtenidos de esta relación.

Tabla 55. Relación de las muestras que contienen Biomasa, Suelo y Surfactante con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de la remoción de BTEoX y EMTB por el suelo, la biomasa y el surfactante)

TIEMPOS (h)	EMTB (C_{SBSf}/C_{SBo})	BENCENO (C_{SBSf}/C_{SBo})	TOLUENO (C_{SBSf}/C_{SBo})	ETILBENCENO (C_{SBSf}/C_{SBo})	O-XILENO (C_{SBSf}/C_{SBo})
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9674	0.7092	0.2432	0.0756	0.8588
12	0.8819	0.4241	0.0583	0.0062	0.5490
18	0.8442	0.2650	0.0262	0.0046	0.5388
24	0.7665	0.0754	0.0097	0.0045	0.3800
30	0.7207	0.0312	0.0077	0.0025	0.3423
36	0.6987	0.0138	0.0060	0.0021	0.2410

Al multiplicar estas fracciones por la concentración original (50 mg/L) obtenemos lo que son las concentraciones teóricas de los sustratos a diferentes tiempos. Estos valores se muestran en la tabla 56.

Tabla 56. Concentraciones Teóricas de los sustratos

TIEMPO (h)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000
6	48.3690	35.4598	12.1580	3.7804	42.9423
12	44.0966	21.2040	2.9129	0.3103	27.4522
18	42.2093	13.2501	1.3119	0.2291	26.9412
24	38.3263	3.7690	0.4858	0.2233	19.0014
30	36.0367	1.5580	0.3825	0.1228	17.1146
36	34.9369	0.6918	0.3018	0.1041	12.0480

5.6.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer

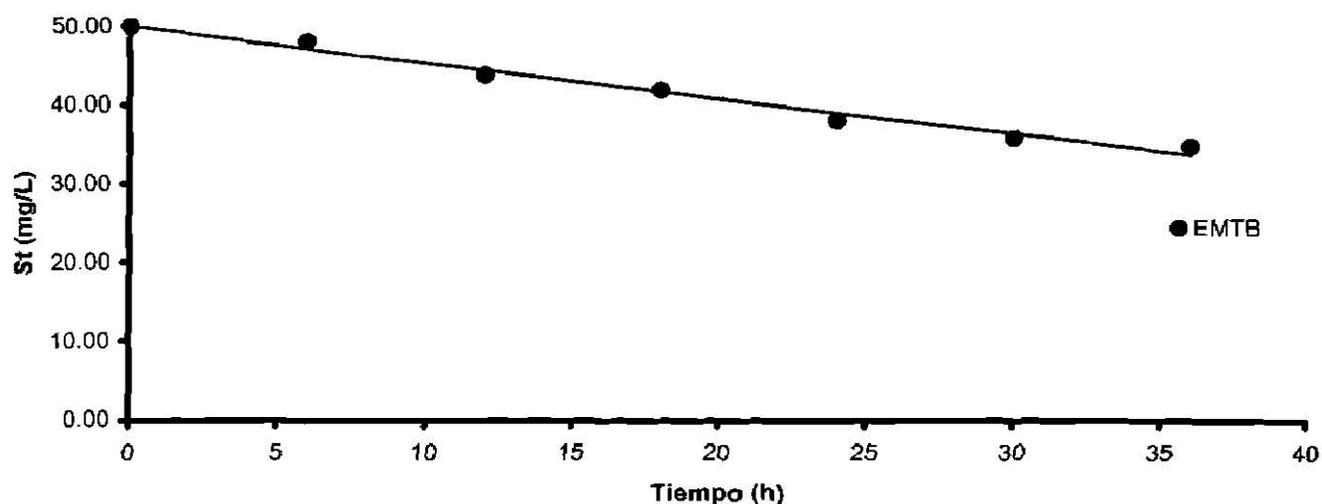
Se utilizó orden cero de reacción para evaluar esta cinética dado que al graficar las concentraciones del EMTB contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad

Tabla 57. Concentraciones Teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control

TIEMPO (h)	EMTB S_t(mg/L)
0	50.0000
6	48.3690
12	44.0966
18	42.2093
24	38.3263
30	36.0367
36	34.9369

Donde:

S_t: concentración teórica en mg/L



Gráfica 24. Evaluación de la constante cinética que mide el efecto de la biomasa, suelo y surfactante sobre el EMTB (Datos de la Tabla 57)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética global de biodegradación del EMTB.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$S_t = -0.4501t + 50.099$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.4501 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$5.62 \times 10^{-4} \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

$$r^2 = 0.982$$

La presencia del surfactante mejora en cierta medida la remoción del EMTB del medio aumentando ligeramente la constante de velocidad de remoción respecto a esta misma en la muestras que contenían suelo y biomasa.

5.6.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer

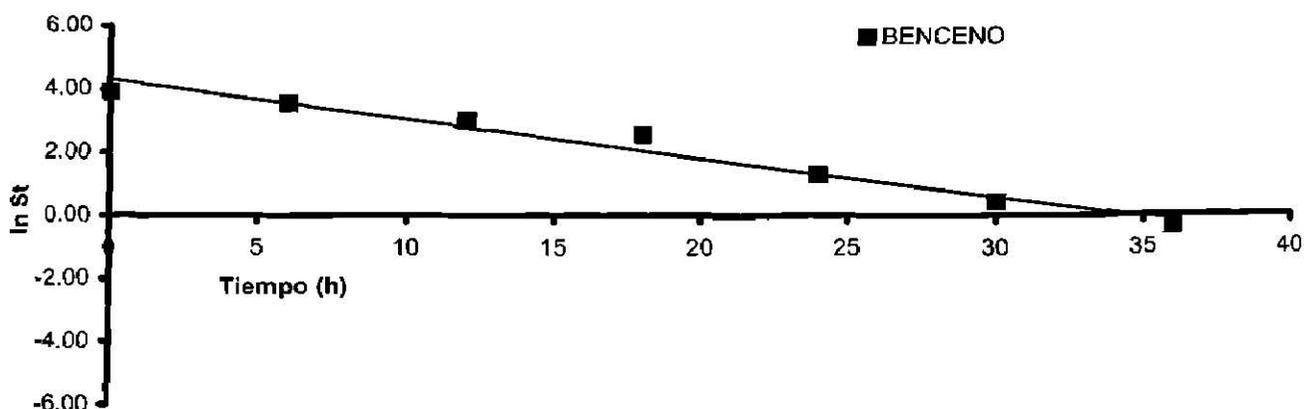
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del benceno dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas ($\ln S_t$) contra tiempo (t) se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 58. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	BENCENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.5684
12	3.0542
18	2.5840
24	1.3268
30	0.4434
36	-0.3684

Donde:

S_t: concentración teórica en mg/L



Gráfica 25. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de Benceno por efecto de la biomasa aclimatada a Gasolina, 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP10 (Datos de la Tabla 58)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del Benceno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.1239t + 4.3049$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.1239 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$1.55 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

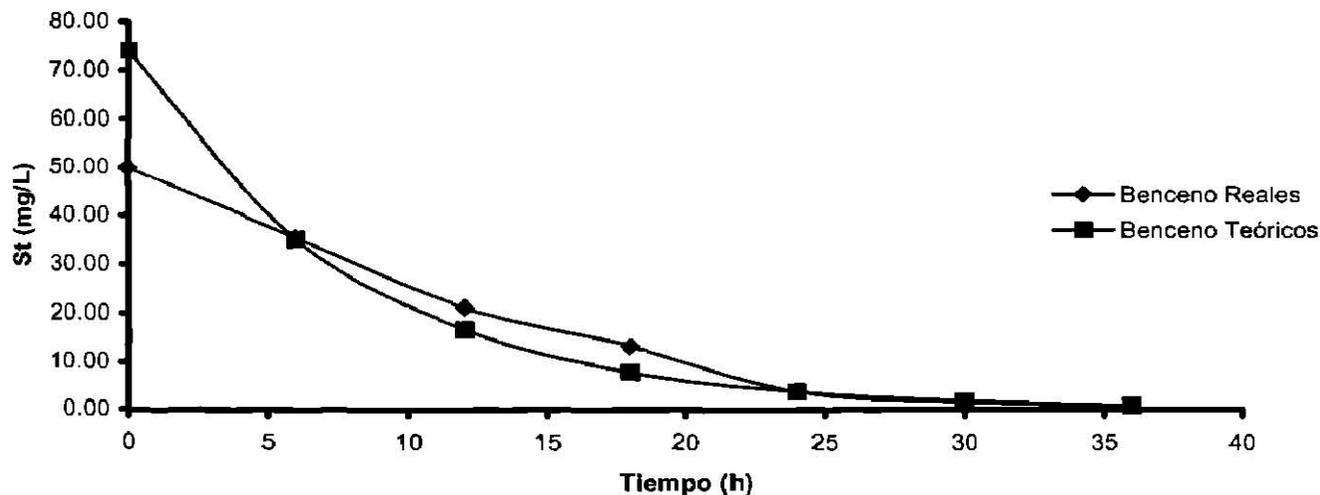
$$r^2 = 0.966$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.0889t + 4.2652)}. \text{ (Gráfica 26)}$$

Tabla 59. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno

TIEMPOS (h)	BENCENO Reales (mg/L)	BENCENO Teóricas (mg/L)
0	50.0000	74.0618
6	35.4598	35.2160
12	21.2040	16.7450
18	13.2501	7.9622
24	3.7690	3.7860
30	1.5580	1.8002
36	0.6918	0.8560



Gráfica 26. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno (Datos de la Tabla 59)

La gráfica 28 muestra las líneas teórica y experimental de benceno para las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante; se observó que existe una leve aceleración en la remoción de este compuesto en relación con la gráfica 17 que presenta las muestras que contenían suelo pero no surfactante.

5.6.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer

En el caso del Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Tolueno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Tolueno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

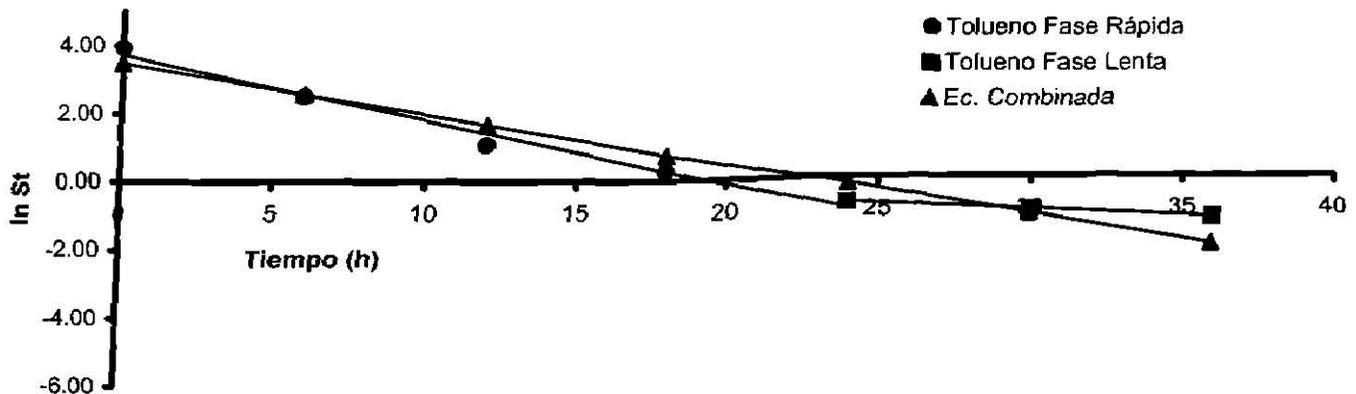
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 60. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Tolueno [$\ln S_t$]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [$\ln S_t$]
0	3.9120	3.4749
6	2.4980	2.5635
12	1.0692	1.6521
18	0.2714	0.7407
24	-0.7219	-0.1707
30	-0.9609	-1.0821
36	-1.1979	-1.9935

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de tolueno



Gráfica 27. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina, 5 gramos de suelo y 25 mg/L de Tergitol NP10 (Datos de la Tabla 60)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 61. Valores de las rectas de la gráfica 27

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.1916t + 3.7046$	$r^2 = 0.985$
Fase lenta de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.0397t + 0.2297$	$r^2 = 0.999$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.1519t + 3.4749$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 62. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
3.475	0.229
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
32.294	1.258

Tabla 63. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.152	0.039

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 32.294e^{-0.152t} + 1.258e^{-0.039t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

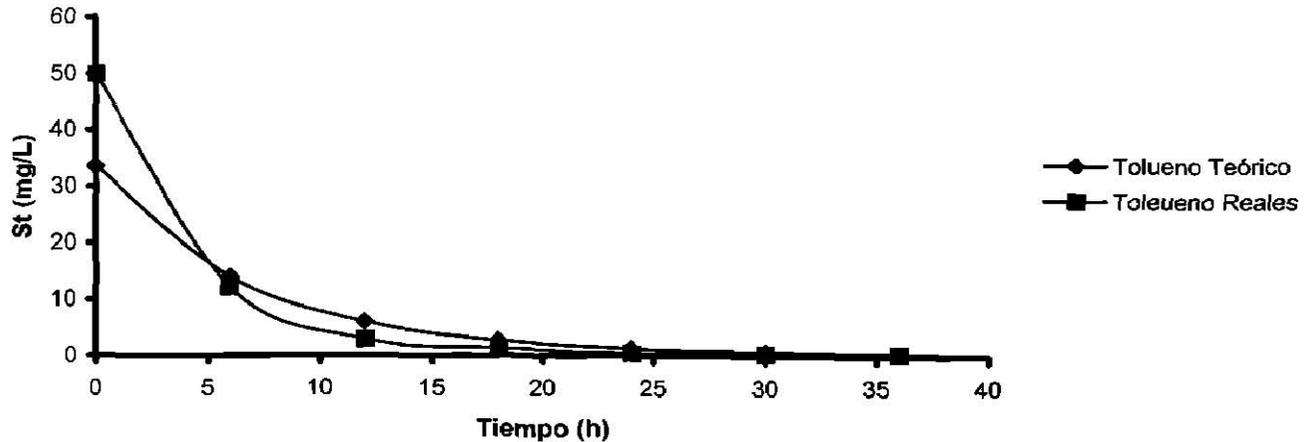
Tabla 64. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
1.9×10^{-4}	0.49×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 32.294e^{-0.152t} + 1.258e^{-0.039t}$.

Tabla 65. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno

Tiempos	Tolueno Reales (mg/L)	Tolueno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	33.5528
6	12.1580	13.9727
12	2.9129	5.9993
18	1.3119	2.7132
24	0.4858	1.3283
30	0.3825	0.7213
36	0.3018	0.4376



Gráfica 28. Confiración de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno (Datos de la Tabla 65)

Las constantes de velocidad para las muestras que contenían suelo, biomasa y surfactante son ligeramente mas altas que las constantes presentadas por las muestras que contenían suelo y biomasa, para el caso del tolueno. Dado que las velocidades de remoción en las tres muestras que contenían biomasa son muy altas, las diferencias no son tan apreciables.

5.6.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer

En el caso del Etilbenceno al igual que Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Etilbenceno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Etilbenceno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

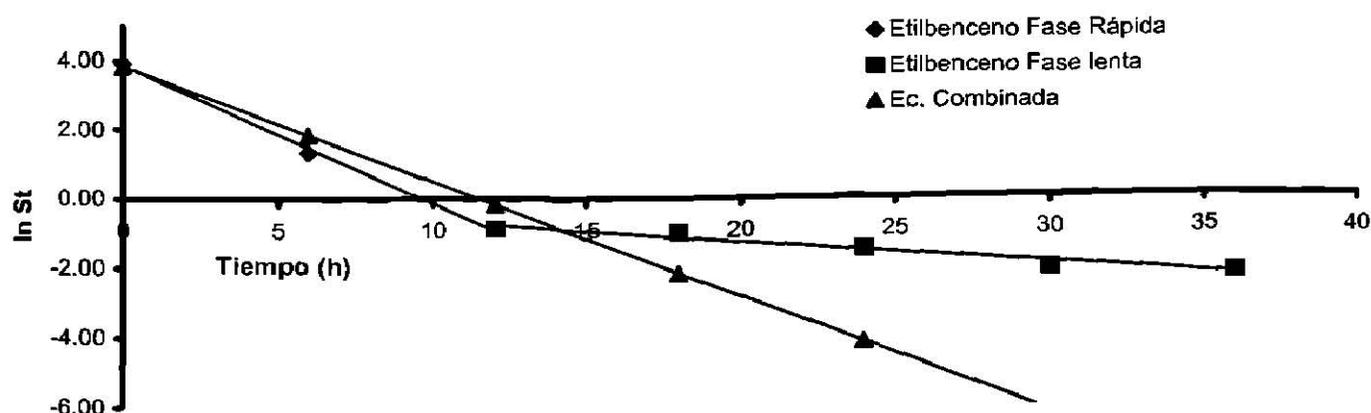
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 66. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Etilbenceno [$\ln S_t$]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [$\ln S_t$]
0	3.9120	3.8252
6	1.3298	1.8254
12	-0.8702	-0.1744
18	-0.9735	-2.1742
24	-1.4993	-4.174
30	-2.0975	-6.1738
36	-2.2629	-8.1736

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de etilbenceno



Gráfica 29. Evaluación de las constantes cinéticas de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina y 5 gramos de suelo estéril y 25 mg/L de Tergitol NP10 (Datos de la Tabla 66)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 67. Valores de las Rectas de la gráfica 29

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.3985t + 3.8483$	$r^2 = 0.997$
Fase lenta de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.0652t + 0.0231$	$r^2 = 0.952$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.3333t + 3.8252$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 68. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
3.848	0.023
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
46.913	1.023

Tabla 69. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.333	0.81

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 46.913e^{-0.333t} + 1.023e^{-0.065t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

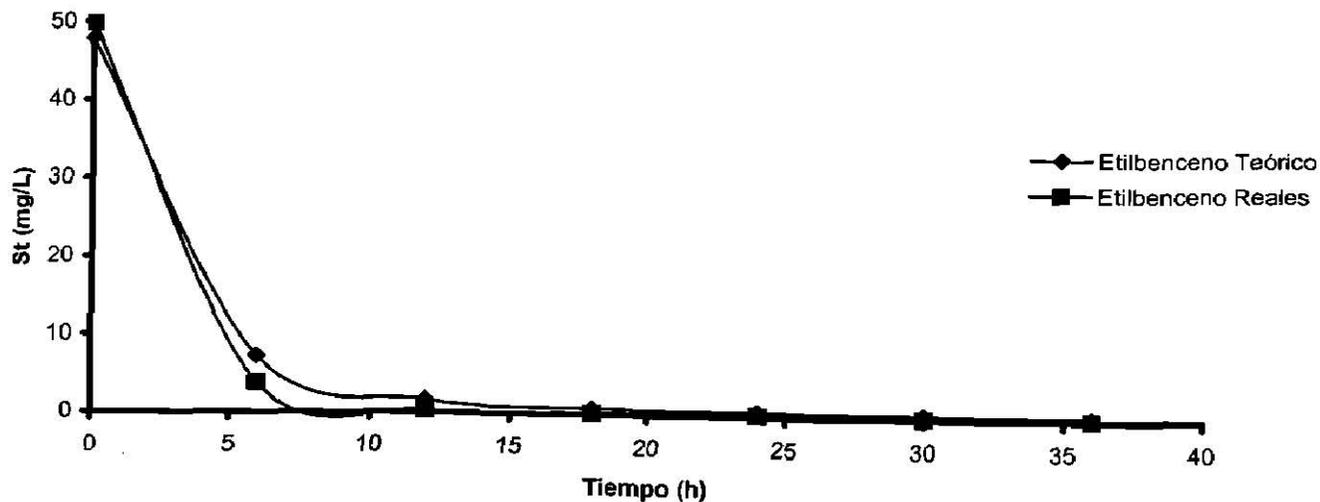
Tabla 70. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$
4.16×10^{-4}	1.13×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 46.913e^{-0.333t} + 1.023e^{-0.065t}$.

Tabla 71. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno

Tiempos (h)	Etilbenceno Reales (mg/L)	Etilbenceno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	47.9366
6	3.7804	7.2412
12	0.3103	1.6352
18	0.2291	0.7916
24	0.2233	0.6036
30	0.1228	0.5139
36	0.1041	0.4458



Gráfica 30. Confiración de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno (Datos de la Tabla 71)

La presencia de surfactante en el caso del etilbenceno aumenta considerablemente le velocidad de remoción con respecto a las muestras que contenían suelo y biomasa, además de ser ligeramente mas alta que la velocidad de biodegradación de las muestras que contenían biomasa únicamente, como se muestra en la gráfica 31.

5.6.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solo buffer

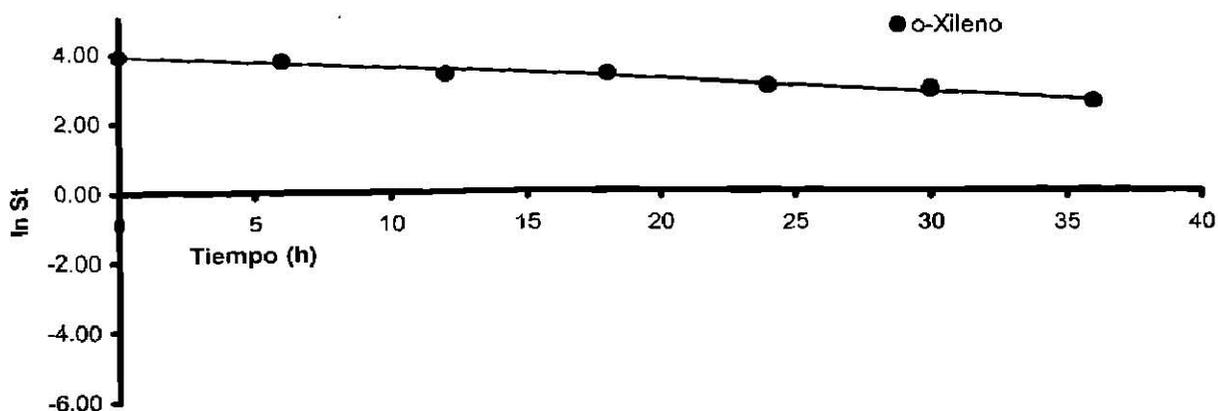
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del o-Xileno dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 72. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras control a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	O-XILENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.7599
12	3.3124
18	3.2937
24	2.9445
30	2.8399
36	2.4889

Donde:

lnS_t: Logaritmo natural de la concentración teórica en mg/L



Gráfica 31. Evaluación de la constante cinética de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina, 5 gramos de suelo y 25 mg/L de Tergitol NP10 (Datos de la Tabla 72)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del o-Xileno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.0386t + 3.9156$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.0386 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$0.48 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

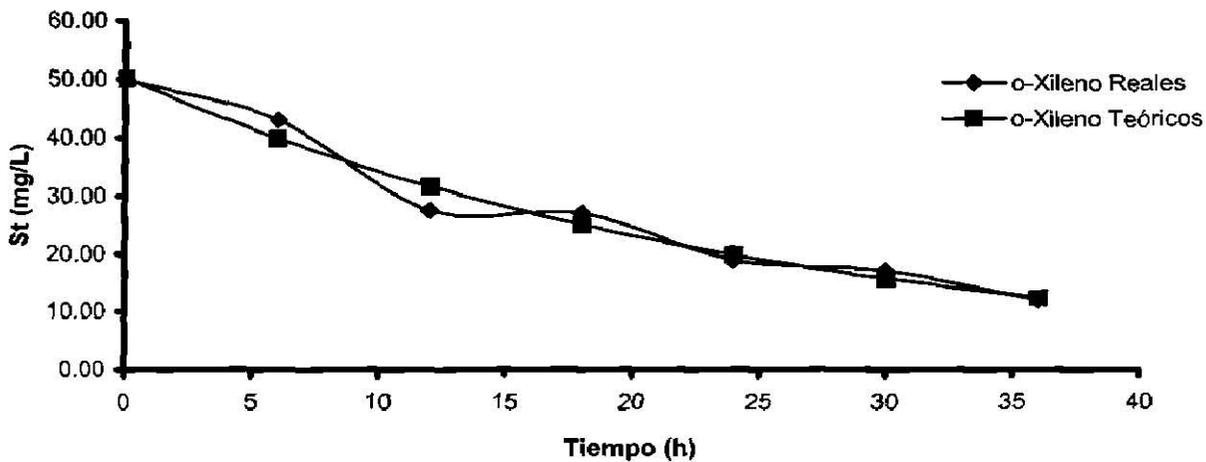
$$r^2 = 0.973$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{[-0.0228t + 3.977]}. \text{ (Gráfica 32)}$$

Tabla 73. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno

TIEMPO (h)	O-XILENO Reales (mg/L)	O-XILENO Teóricos (mg/L)
0	50.0000	50.1792
6	42.9423	39.8053
12	27.4522	31.5761
18	26.9412	25.0482
24	19.0014	19.8698
30	17.1146	15.7620
36	12.0480	12.5034



Gráfica 32 Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno
(Datos de la Tabla 73)

La gráfica 32 muestra que las líneas teórica y experimental, en ellas se puede observar que las concentración de o-xileno no alcanzan valores cercanos a cero, pero que a diferencia de la gráfica 23, estos valores disminuyen por debajo de 20 mg/L.

5.7 Evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo.

5.7.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa y suelo respecto a las muestras que contenían únicamente suelo y buffer

En los tratamiento de datos para obtener la eficiencias de la biodegradación a diferencia de lo referido en los apartados de la evaluación de las remociones, donde se hacía mención a las constantes de remoción (efecto de la biodegradación y los fenómenos de partición) debido a que se elimina el efecto de partición de los compuestos se puede hablar de constantes de biodegradación.

Para eliminar las pérdidas por causa de las fugas y los fenómenos de partición agua - suelo, las muestras que contenían biomasa y suelo se dividen entre las muestras con suelo, para así obtener los verdaderos valores de las concentraciones a diferentes tiempos entre la concentración de los sustratos a tiempo cero, debido únicamente a la biodegradación. La tabla 74 muestra los valores obtenidos de esta relación.

Tabla 74. Relación de las muestras que contienen Biomasa y Suelo con respecto a las muestras que contienen únicamente suelo (Es para observar el efecto de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de 5 gramos de suelo)

TIEMPOS (h)	EMTB (C_{SBt}/C_{SBo})	BENCENO (C_{SBt}/C_{SBo})	TOLUENO (C_{SBt}/C_{SBo})	ETILBENCENO (C_{SBt}/C_{SBo})	O-XILENO (C_{SBt}/C_{SBo})
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9880	0.9763	0.2825	0.1867	0.9521
12	0.9526	0.9140	0.1687	0.0682	0.8957
18	0.8722	0.9031	0.0585	0.0608	0.8271
24	0.8503	0.3252	0.0475	0.0565	0.7431
30	0.8204	0.1758	0.0377	0.0520	0.6452
36	0.7902	0.0433	0.0307	0.0496	0.5385

Al multiplicar estas fracciones por la concentración original (50 mg/L) se obtiene las concentraciones teóricas de los sustratos a diferentes tiempos. Estos valores se muestran en la tabla. 75

Tabla 75. Concentraciones Teóricas de los sustratos

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000
6	49.4000	48.8161	14.1234	9.3343	47.6050
12	47.6312	45.6982	8.4360	3.4120	44.7850
18	43.6117	43.1542	2.9253	3.0386	41.3550
24	42.5143	16.2600	2.3768	2.8235	37.1550
30	41.0204	8.7893	1.8837	2.6000	32.2600
36	39.5103	2.1644	1.5328	2.4813	26.9250

7.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer

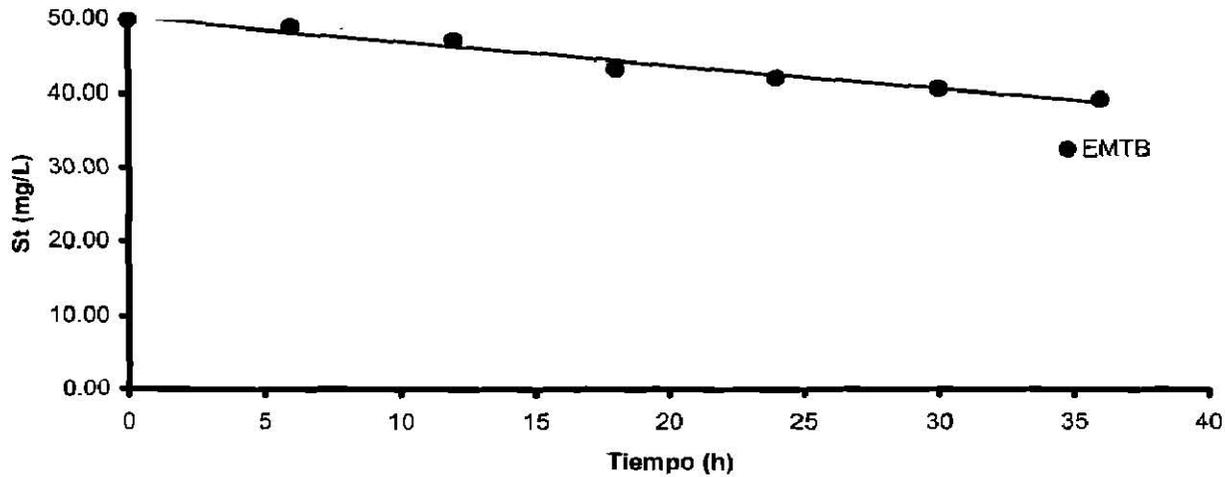
Se utilizó orden cero de reacción para evaluar esta cinética dado que al graficar las concentraciones del EMTB contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad

Tabla 76. Concentraciones Teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo

TIEMPO (h)	EMTB S_t(mg/L)
0	50.0000
6	49.4000
12	47.6312
18	43.6117
24	42.5143
30	41.0204
36	39.5103

Donde:

S_t : concentración teórica en mg/L



Gráfica 33. Eficiencia de la biomasa en presencia de suelo sobre el EMTB (Datos de la Tabla 76)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del EMTB.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$S_t = -0.3175t + 50.528$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.3175 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$3.97 \times 10^{-4} \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

$$r^2 = 0.966$$

El suelo tiene un efecto positivo en la inducción de la biomasa a la posible biodegradación del EMTB al aumentar la constante de biodegradación de este compuesto con respecto a las muestras que contenían biomasa únicamente, como se observa en la gráfica anterior.

5.7.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer

En el caso de la biodegradación del Benceno por efecto de la biomasa, eliminando el fenómeno de partición agua - suelo, se optó por utilizar la ecuación de doble compartimento de primer orden, ya que presentaba una tendencia similar a las antes reportadas en los casos de Tolueno y Etilbenceno.

Ecuación de doble compartimento para el Benceno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Benceno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Fase lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

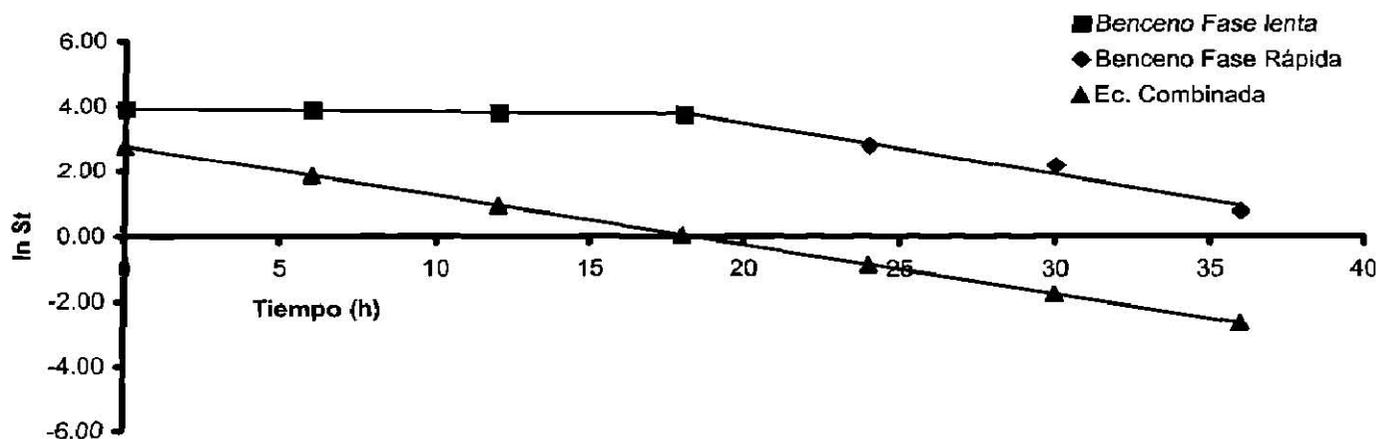
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Evaluada mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 77. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Benceno [lnS _t]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [lnS _t]
0	3.9120	2.7688
6	3.8881	1.8604
12	3.8221	0.9520
18	3.7648	0.0436
24	2.7887	-0.8648
30	2.1735	-1.7732
36	0.7722	-2.6816

Donde:

lnS_t = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de Benceno



Gráfica 34. Eficiencia de la biodegradación de Benceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo (Datos de la Tabla 77)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 78. Valores de las Rectas de la gráfica 34

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de Benceno	$\ln S_t = -0.1599t + 6.6917$	$r^2 = 0.976$
Fase lenta de la biodegradación de Benceno	$\ln S_t = -0.0085t + 3.9229$	$r^2 = 0.969$
Ecuación combinada de doble compartimento de Ter Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.1514t + 2.7688$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 79. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
3.9229	2.7688
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
50.547	15.939

Tabla 80. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.0085	0.1514

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 50.547e^{-0.0085t} + 15.939e^{-0.1514t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

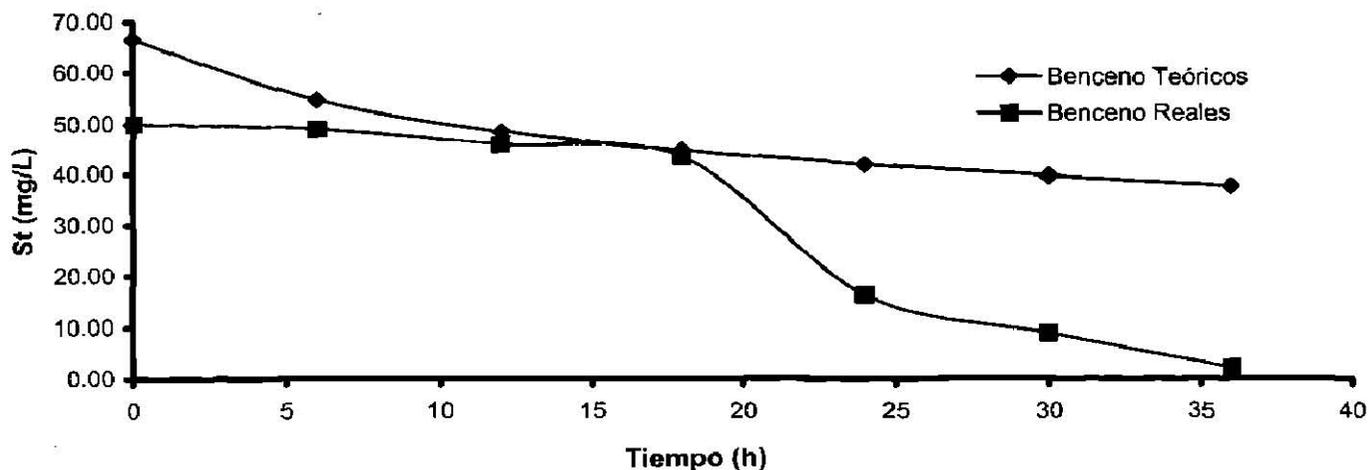
Tabla 81. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$	$[\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}]$
0.10×10^{-4}	1.89×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 50.547e^{-0.0085t} + 15.939e^{-0.1514t}$.

Tabla 82. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Benceno

Tiempos (h)	Benceno Reales (mg/L)	Benceno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	66.4862
6	48.8161	54.4598
12	45.6982	48.2361
18	43.1542	44.4202
24	16.2600	41.6401
30	8.7893	39.3393
36	2.1644	37.2904



Gráfica 35. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Benceno (Datos de la Tabla 82)

Las diferencias en el comportamiento del benceno no fueron tan notables en los efectos de remoción debido a que los fenómenos de *partición enmascararon el comportamiento de la biomasa a diferencia de los valores de las eficiencias de biodegradación* donde se muestra que la fase de distribución es muy lenta en las primeras 18 horas de experimentación y que después de este tiempo en la fase de eliminación, la reacción de biodegradación aumenta considerablemente, llegando a valores de concentración cercanos a cero alrededor de las 36 horas.

5.7.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer

En el caso del Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Tolueno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Tolueno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

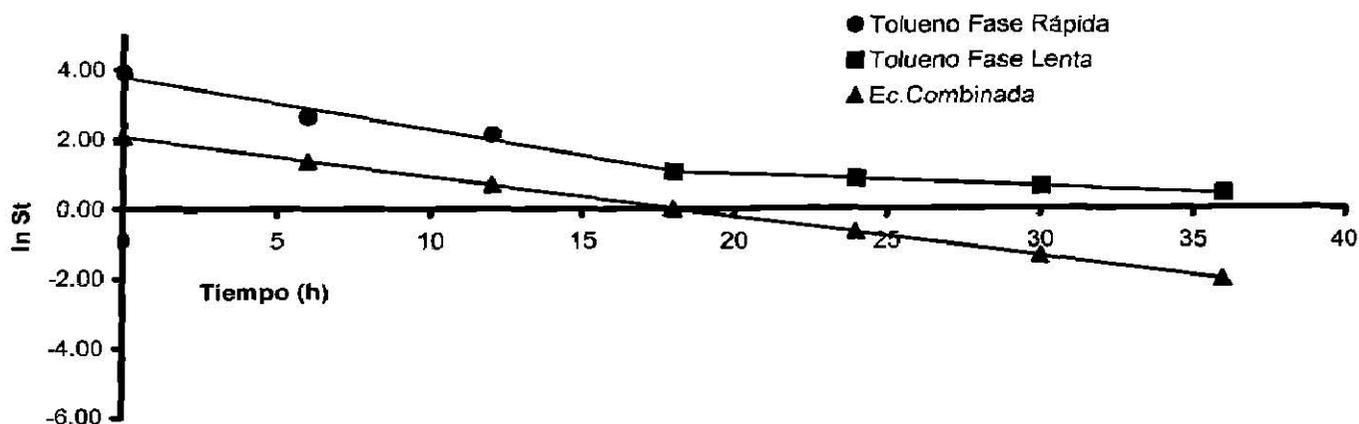
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 83. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Tolueno [lnS _t]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [lnS _t]
0	3.9120	2.0691
6	2.6478	1.3833
12	2.1325	0.6975
18	1.0734	0.0117
24	0.8657	-0.6741
30	0.6332	-1.3599
36	0.4271	-2.0457

Donde:

lnS_t = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de tolueno



Gráfica 36. Eficiencia de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo (Datos de la Tabla 82)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 84. Valores de las Rectas de la gráfica 36

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.1505t + 3.7961$	$r^2 = 0.977$
Fase lenta de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.0362t + 1.727$	$r^2 = 0.999$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.1143t + 2.0691$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 85. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
2.069	1.727
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
7.918	5.623

Tabla 86. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.114	0.036

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 7.918e^{-0.114t} + 5.623e^{-0.036t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

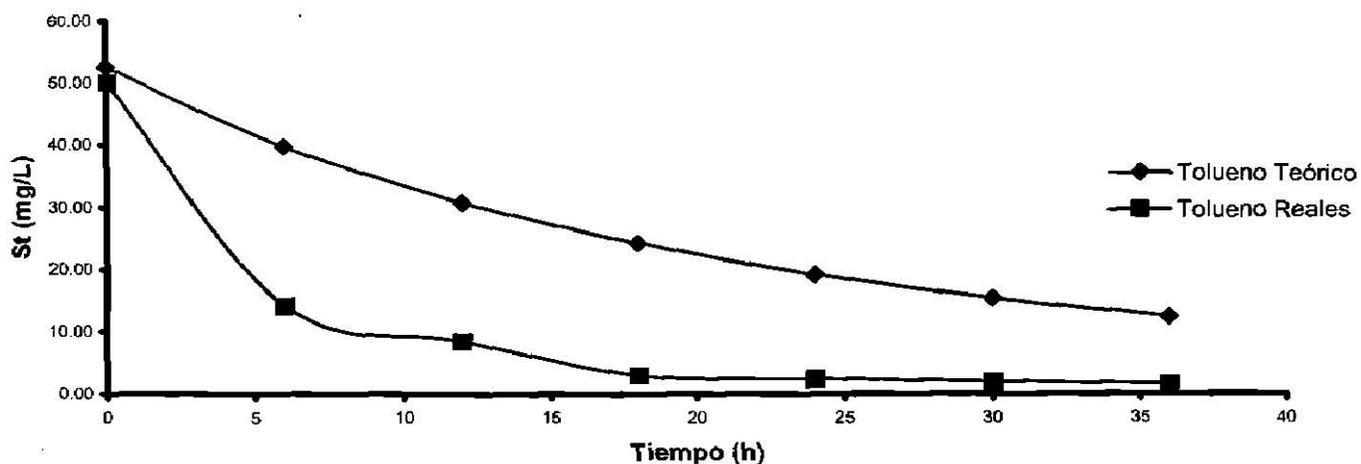
Tabla 87. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
1.43×10^{-4}	0.453×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 7.918e^{-0.114t} + 5.623e^{-0.036t}$.

Tabla 88. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno

Tiempos (h)	Tolueno Reales (mg/L)	Tolueno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	52.4445
6	14.1234	39.8219
12	8.4360	30.8467
18	2.9253	24.2197
24	2.3768	19.1866
30	1.8837	15.2873
36	1.5328	12.2255



Gráfica 37. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno (Datos de la Tabla 88)

La presencia del suelo afecta de manera negativa la biodegradación del tolueno, disminuyendo la constante de biodegradación de la fase rápida en casi un 50% y por encima de 50% de la constante en la fase lenta.

5.7.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer

En el caso del Etilbenceno al igual que el Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Etilbenceno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Etilbenceno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

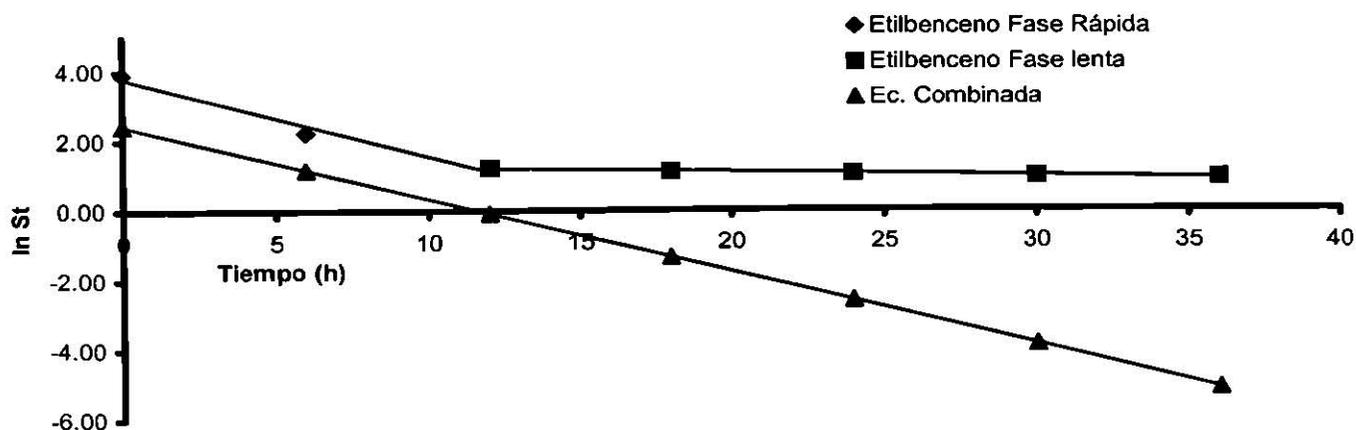
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 89. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Etilbenceno [$\ln S_t$]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [$\ln S_t$]
0	3.9120	2.4346
6	2.2337	1.1716
12	1.2273	-0.0914
18	1.1114	-1.3544
24	1.0380	-2.6174
30	0.9555	-3.8804
36	0.9088	-5.1434

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de etilbenceno



Gráfica 38. Eficiencia de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo (Datos de la Tabla 89)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 90. Valores de las Rectas de la gráfica 38

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.2237t + 3.8000$	$r^2 = 0.979$
Fase lenta de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.0123t + 1.3654$	$r^2 = 0.979$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.2105t + 2.4346$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 91. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
2.4346	1.3654
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
11.4112	3.9173

Tabla 92. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.2105	0.0123

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 11.4112e^{-0.2105t} + 3.9173e^{-0.0123t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

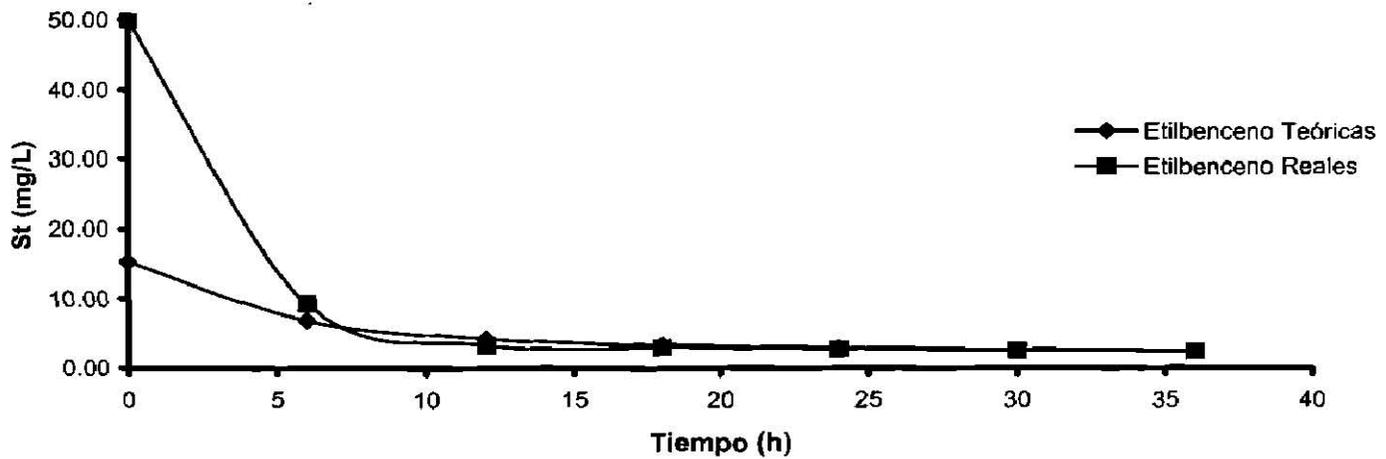
Tabla 93. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
2.63×10^{-4}	0.15×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 11.4112e^{-0.2105t} + 3.9173e^{-0.0123t}$.

Tabla 94. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno

Tiempos (h)	Etilbenceno Reales (mg/L)	Etilbenceno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	15.3285
6	9.3343	6.8657
12	3.4120	4.2924
18	3.0386	3.3974
24	2.8235	2.9889
30	2.6000	2.7291
36	2.4813	2.5216



Gráfica 39. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno (Datos de la Tabla 94)

La constante de velocidad de biodegradación en presencia de suelo es levemente afectada de manera negativa en la fase rápida de la reacción, a diferencia de la fase lenta que se ve más afectada disminuyendo considerablemente, esto puede deberse a que siendo cantidades mínimas de sustrato el efecto de partición esté más favorecido.

5.7.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa y suelo con relación a las muestras que contenían solamente suelo y buffer

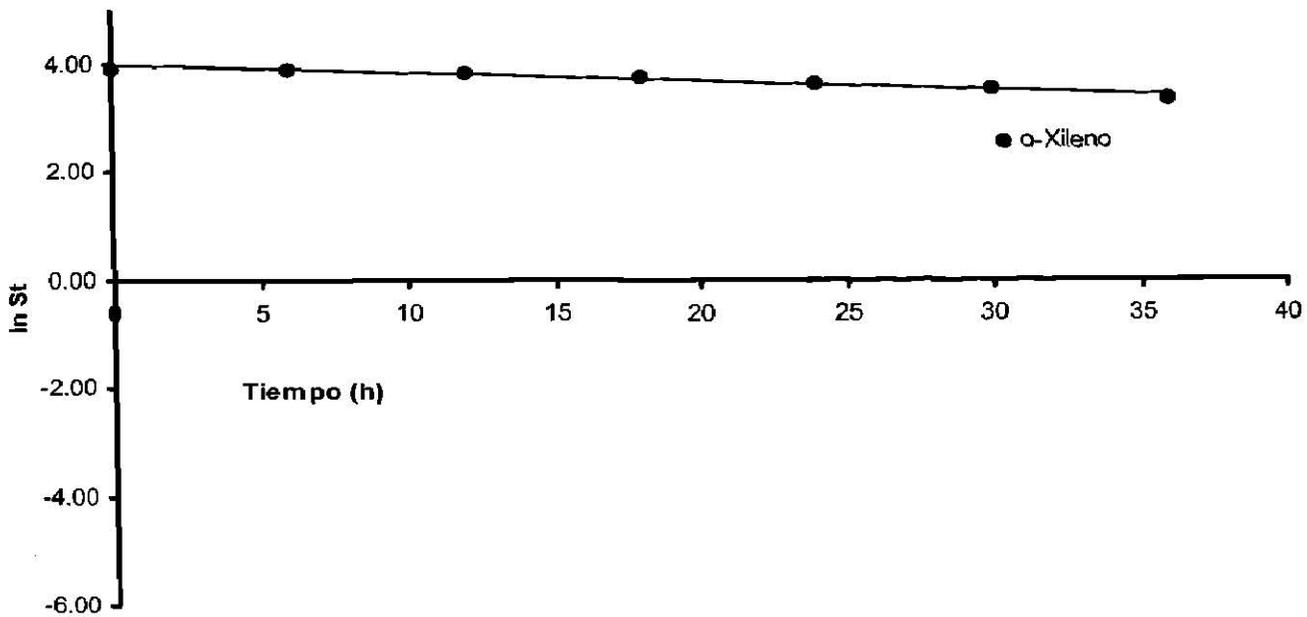
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del o-Xileno dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 95. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el o-Xileno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa y suelo con respecto a las muestras con suelo a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	O-XILENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.8629
12	3.8019
18	3.7222
24	3.6151
30	3.4738
36	3.2931

Donde:

lnS_t: Logaritmo natural de la concentración teórica en mg/L



Gráfica 40. Eficiencia de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo (Datos de la Tabla 95)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del o-Xileno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.0168t + 3.9711$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.0168 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica es:

$$0.21 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

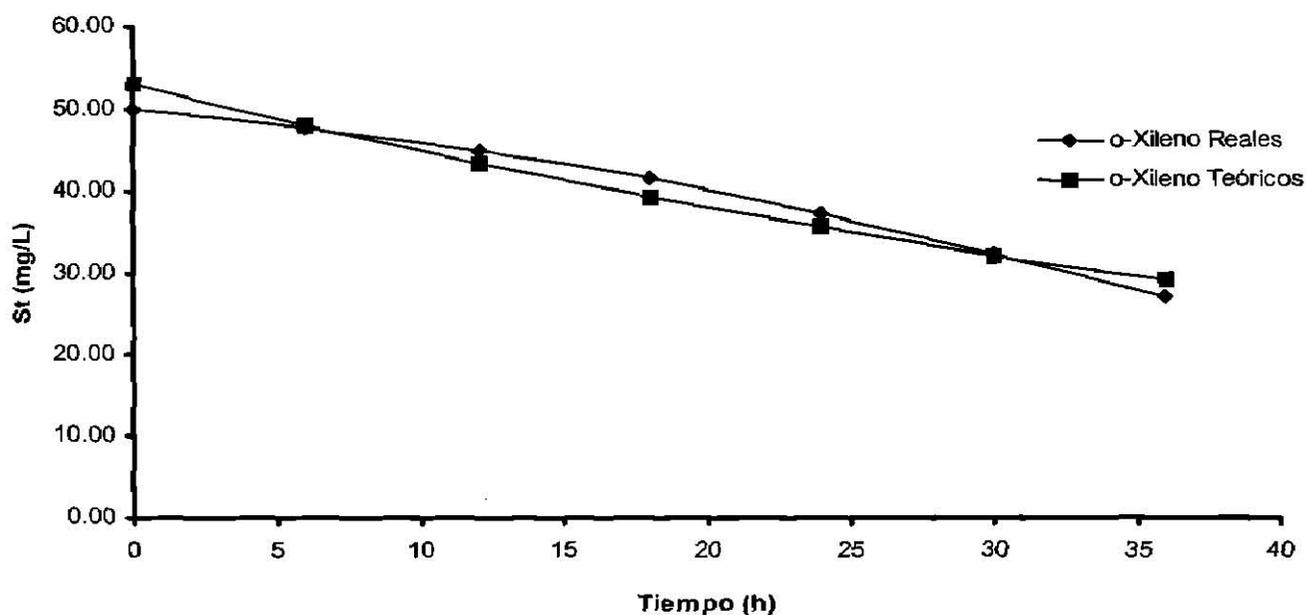
$$r^2 = 0.950$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.0168t + 3.9711)}. \text{ (Gráfica 41)}$$

Tabla 95. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno

TIEMPO (h)	O-XILENO Reales (mg/L)	O-XILENO Teóricos (mg/L)
0	50.0000	53.0428
6	47.6050	47.9568
12	44.7850	43.3584
18	41.3550	39.2009
24	37.1550	35.4421
30	32.2600	32.0437
36	26.9250	28.9711



Gráfica 41. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno (Datos de la Tabla 96)

El compuesto que se ve más afectado de manera negativa en presencia de suelo es el o-xileno debido a que su velocidad de biodegradación disminuye en casi un 30%.

5.8 Evaluación de la eficiencia de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de suelo y surfactante.

5.8.1 Tratamiento de datos para las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante respecto a las muestras que contenían suelo y surfactante

En los tratamiento de datos para obtener la eficiencias de la biodegradación a diferencia de lo referido en los apartados de la evaluación de las remociones, donde se hacía mención a las constantes de remoción (efecto de la biodegradación y los fenómenos de partición) debido a que se elimina el efecto de partición de los compuestos se puede hablar de constantes de biodegradación.

Para eliminar las pérdidas por causa de las fugas y los fenómenos de partición agua - suelo, las muestras que contenían biomasa y suelo se dividen entre las muestras con suelo, para así obtener los verdaderos valores de las concentraciones a diferentes tiempos entre la concentración de los sustratos a tiempo cero, debido únicamente a la biodegradación. La tabla 97 muestra dichos valores.

Tabla 97. Relación de las muestras que contienen Biomasa, Suelo y Surfactante con respecto a las muestras que contienen suelo y surfactante (Es para observar el efecto de la biomasa en la biodegradación de BTEoX y EMTB en presencia de 5 gramos de suelo y 20 mg/L de surfactante)

TIEMPOS (h)	EMTB (C_{B-SSf}/C_{B-SSo})	BENCENO (C_{B-SSf}/C_{B-SSo})	TOLUENO (C_{B-SSf}/C_{B-SSo})	ETILBENCENO (C_{B-SSf}/C_{B-SSo})	O-XILENO (C_{B-SSf}/C_{B-SSo})
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.9531	0.6083	0.2228	0.0142	0.8879
12	0.8891	0.3153	0.0639	0.0064	0.7232
18	0.8302	0.2420	0.0290	0.0062	0.6875
24	0.8188	0.0711	0.0164	0.0045	0.5184
30	0.8010	0.0389	0.0119	0.0029	0.4325
36	0.6885	0.0266	0.0065	0.0023	0.3539

Al multiplicar estas fracciones por la concentración original (50 mg/L) se obtuvo las concentraciones teóricas de los sustratos a diferentes tiempos. Estos valores se muestran en la tabla 98.

Tabla 98 Concentraciones Teóricas de los sustratos

TIEMPO (h)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000	50.0000
6	47.6540	30.4152	11.1397	0.7078	44.3960
12	44.4526	15.7627	3.1941	0.3190	36.1603
18	41.5115	12.1022	1.4486	0.3078	34.3765
24	40.9410	3.5570	0.8179	0.2271	25.9191
30	40.0524	1.9444	0.5933	0.1474	21.6250
36	34.4248	1.3318	0.3267	0.1165	17.6926

5.8.2 Evaluación de las constantes cinéticas de EMTB en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían solamente suelo y surfactante

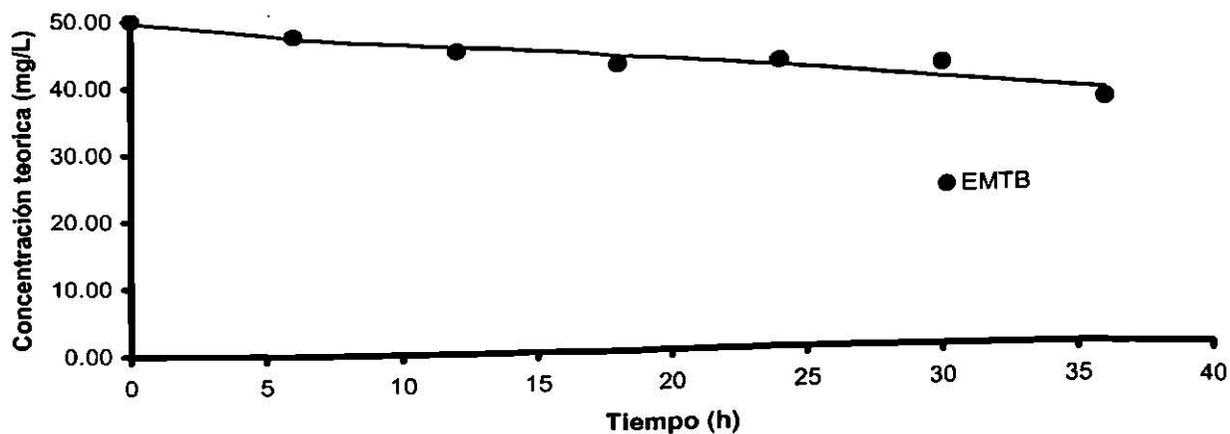
Se utilizó orden cero de reacción para evaluar esta cinética dado que al graficar las concentraciones del EMTB contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad

Tabla 99. Concentraciones Teóricas para el EMTB obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante

TIEMPO (h)	EMTB S_i (mg/L)
0	50.0000
6	47.6540
12	44.4526
18	41.5115
24	40.9410
30	40.0524
36	34.4248

Donde:

S_i : concentración teórica en mg/L



Gráfica 42. Eficiencia de la biomasa aclimatada a Gasolina en la biodegradación del EMTB presencia de suelo y surfactante (Datos de la Tabla 99)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del EMTB.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$S_t = -0.3895t + 49.731$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.3895 \text{mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$4.98 \times 10^{-4} \text{mgL}^{-1}\text{h}^{-1}(\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

$$r^2 = 0.950$$

Para el caso del EMTB la presencia de suelo y surfactante tienen un efecto positivo sobre la posible biodegradación del EMTB aumentando notablemente sus constantes de biodegradación en ambos casos, en presencia del surfactante la biodegradación del EMTB aumenta casi el triple que cuando se encuentra la biomasa sola en el medio.

5.8.3 Evaluación de las constantes cinéticas de Benceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante

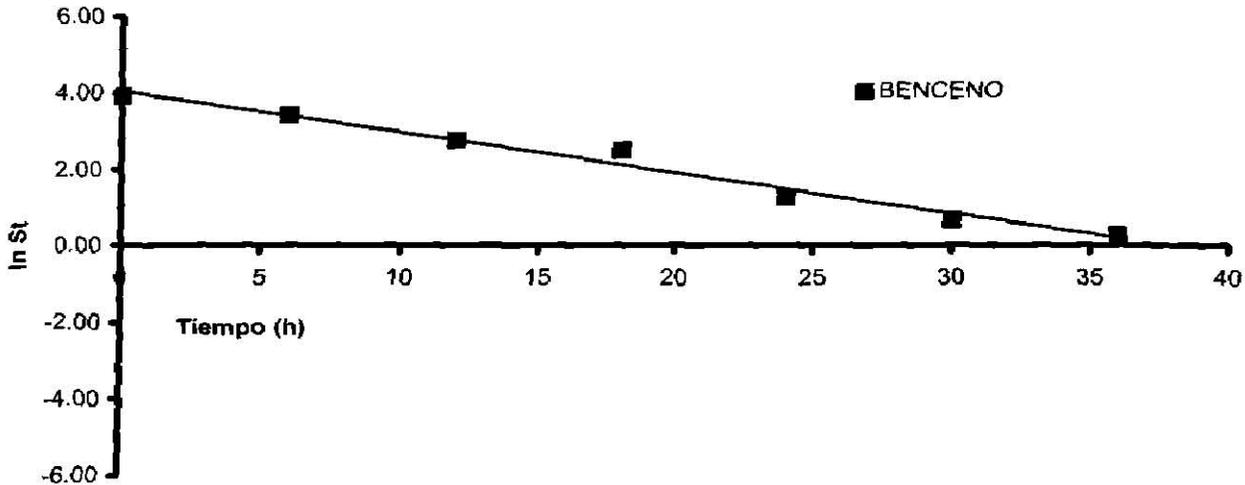
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del benceno dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 100. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	BENCENO [lnS_t]
0	3.9120
6	3.4149
12	2.7576
18	2.4934
24	1.2689
30	0.6650
36	0.2866

Donde:

S_t: concentración teórica en mg/L



Gráfica 43. Eficiencia de la biodegradación de Benceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante (Datos de la Tabla 100)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del Benceno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.1063t + 4.0282$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.1063 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica (cte. global/SSV) es:

$$1.33 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

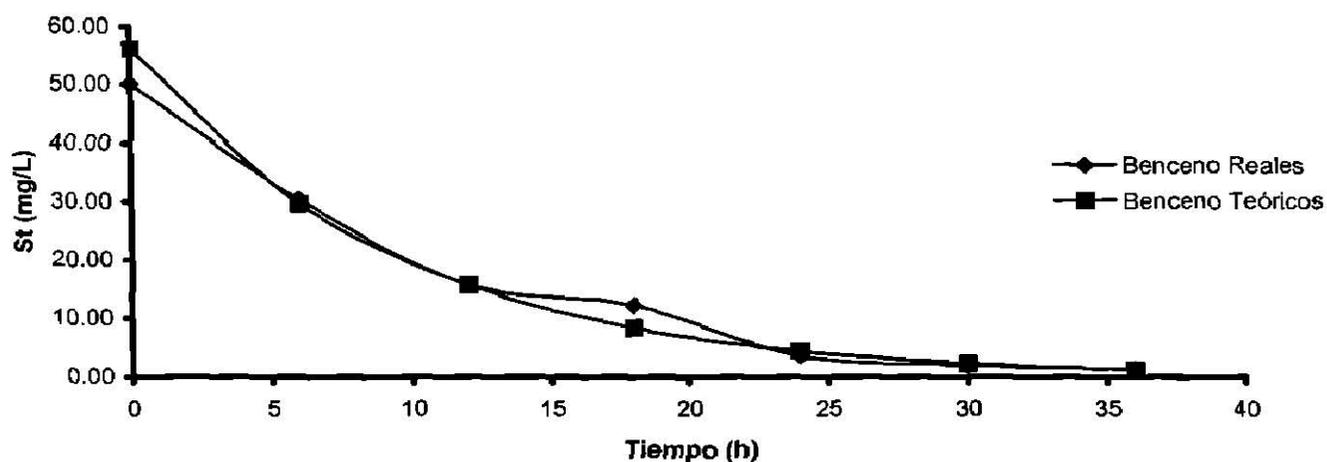
$$r^2 = 0.979$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.1568 + 4.2376t)}. \text{ (Gráfica 44)}$$

Tabla 101. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno

TIEMPOS (h)	BENCENO Reales (mg/L)	BENCENO Teóricas (mg/L)
0	50.0000	56.1597
6	30.4152	29.6778
12	15.7627	15.6834
18	12.1022	8.2879
24	3.5570	4.3798
30	1.9444	2.3145
36	1.3318	1.2231



Gráfica 44. Confirmación de orden uno de reacción para el Benceno (Datos de la Tabla 101)

Es imperativo remarcar que el doble compartimento que se desarrolló debido al efecto del suelo en la biodegradación del benceno es eliminado por la acción del surfactante.

5.8.4 Evaluación de las constantes cinéticas de Tolueno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante

En el caso del Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Tolueno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Tolueno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

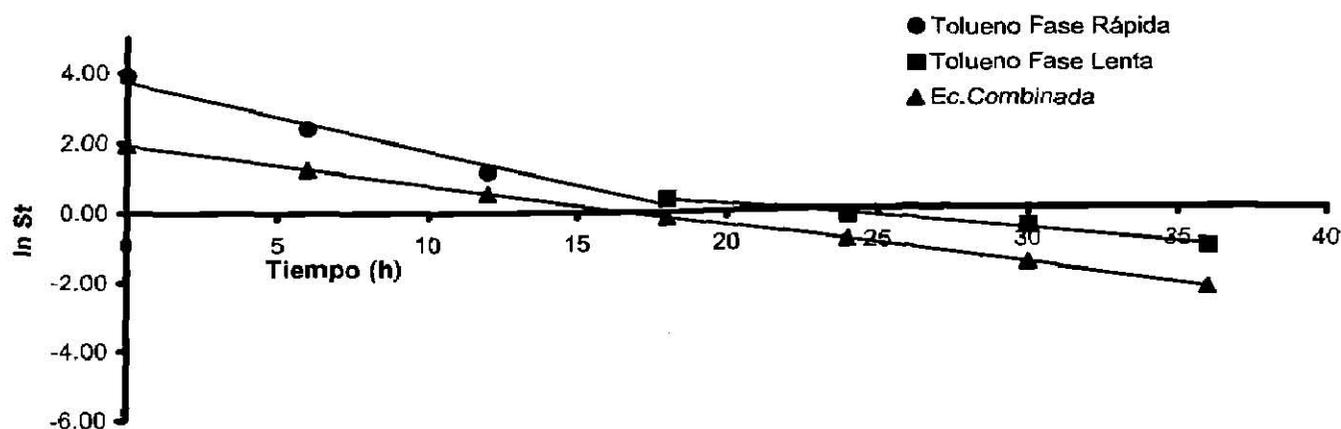
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 102. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Tolueno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Tolueno [lnS _t]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [lnS _t]
0	3.9120	1.9574
6	2.4105	1.2488
12	1.1613	0.5402
18	0.3706	-0.1684
24	-0.2011	-0.877
30	-0.5220	-1.5856
36	-1.1187	-2.2942

Donde:

lnS_t = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de tolueno



Gráfica 45. Eficiencia de la biodegradación de Tolueno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante (Datos de la Tabla 102)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 103. Valores de las Rectas de la gráfica 45

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.1979t + 3.7446$	$r^2 = 0.982$
Fase lenta de la biodegradación de tolueno	$\ln S_t = -0.0798t + 1.7872$	$r^2 = 0.987$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.1181t + 1.9574$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 104 Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
1.9574	1.7872
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
7.0809	5.9727

Tabla 105. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.1181	0.0798

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 7.0809e^{-0.1181t} + 5.9727e^{-0.0798t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

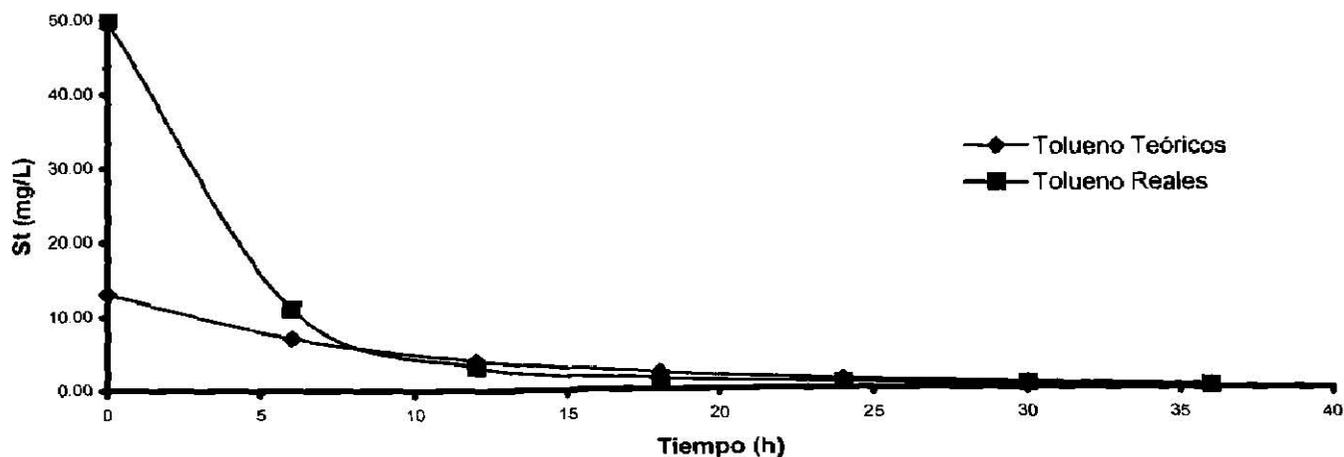
Tabla 106. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
1.48×10^{-4}	0.99×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 7.0809e^{-0.1181t} + 5.9727e^{-0.0798t}$.

Tabla 107. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno

Tiempos (h)	Tolueno Reales (mg/L)	Tolueno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	13.0536
6	11.1397	7.1864
12	3.1941	4.0087
18	1.4486	2.2652
24	0.8179	1.2958
30	0.5933	0.7499
36	0.3267	0.4385



Gráfica 46. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Tolueno (Datos de la Tabla 107)

La primera fase de la reacción no se ve afectada por la presencia del surfactante a diferencia de la segunda fase que presenta un valor por encima del doble a comparación la biodegradación en presencia de suelo.

5.8.5 Evaluación de las constantes cinéticas de Etilbenceno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante

En el caso del Etilbenceno al igual que el Tolueno se utilizó orden uno de reacción con la ecuación de doble compartimento para evaluar la cinética de este sustrato dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica dividida en dos por la diferencia de pendientes en sus rectas.

Ecuación de doble compartimento para el Etilbenceno:

$$\underline{S_t = S_1 e^{-K_1 t} + S_2 e^{-K_2 t}}$$

Donde:

S_t = Concentración del sustrato (Etilbenceno) a tiempo t . (mg/L)

S_1 = Concentración del sustrato en la primera fase a tiempo 0. (mg/L)

S_2 = Concentración del sustrato en la segunda fase a tiempo 0. (mg/L)

K_1 = Constante cinética de velocidad de la primera fase (h^{-1}). Evaluada

mediante la obtención de una recta producto de la resta de la Fase Rápida de la reacción menos la fase lenta, la pendiente de esta gráfica es la constante cinética de velocidad de la primera fase para la cinética de este sustrato exclusivamente.

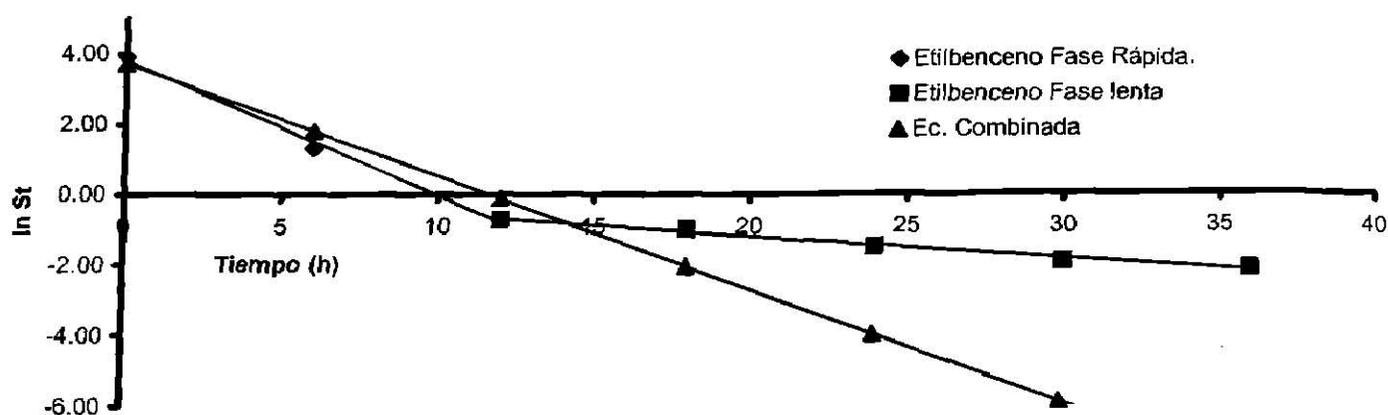
K_2 = Constante cinética de velocidad de la segunda fase (h^{-1}). Fase Lenta para la cinética de este sustrato exclusivamente.

Tabla 108. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Etilbenceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante y valores de la ecuación combinada (fase rápida - fase lenta)

TIEMPOS (h)	Etilbenceno [$\ln S_t$]	Ec. Combinada (Fase rápida - Fase lenta) [$\ln S_t$]
0	3.9120	3.7301
6	1.3298	1.8065
12	-0.7017	-0.1171
18	-0.9735	-2.0407
24	-1.4824	-3.9643
30	-1.9143	-5.8879
36	-2.1494	-7.8115

Donde:

$\ln S_t$ = logaritmo natural de las concentraciones teóricas de etilbenceno



Gráfica 47. Eficiencia de la biodegradación de Etilbenceno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante (Datos de la Tabla 108)

La gráfica anterior dio como resultado la obtención de las constantes y los valores de las concentraciones para poder evaluar la ecuación de biodegradación.

Tabla 109. Valores de las Rectas de la gráfica 47

Recta	Ecuación	Regresión
Fase rápida de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.3845t + 3.8203$	$r^2 = 0.995$
Fase lenta de la biodegradación de etilbenceno	$\ln S_t = -0.0639t + 0.0902$	$r^2 = 0.986$
Ecuación combinada de doble compartimento de 1er Orden (Resultado de la Resta de la ecuación de la fase rápida menos la fase lenta a diferentes tiempos)	$\ln S_t = -0.3206t + 3.7301$	$r^2 = 0.999$

De esta información se obtiene que:

Tabla 110. Valores de concentraciones en dos fases

Primera Fase ($\ln S_1$)	Segunda Fase ($\ln S_2$)
3.7301	0.0902
Primera Fase [S_1 (mg/L)]	Segunda Fase [S_2 (mg/L)]
41.6833	1.0944

Tabla 111. Valores de las constantes cinéticas globales de velocidad en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
(h^{-1})	(h^{-1})
0.3206	0.0639

Siendo la ecuación de doble compartimento:

$$S_t = 41.6833e^{-0.3206t} + 1.0944e^{-0.0639t}$$

Las constantes específicas se obtienen de dividir las constantes globales entre la concentración de SSV empleada en los bioensayos.

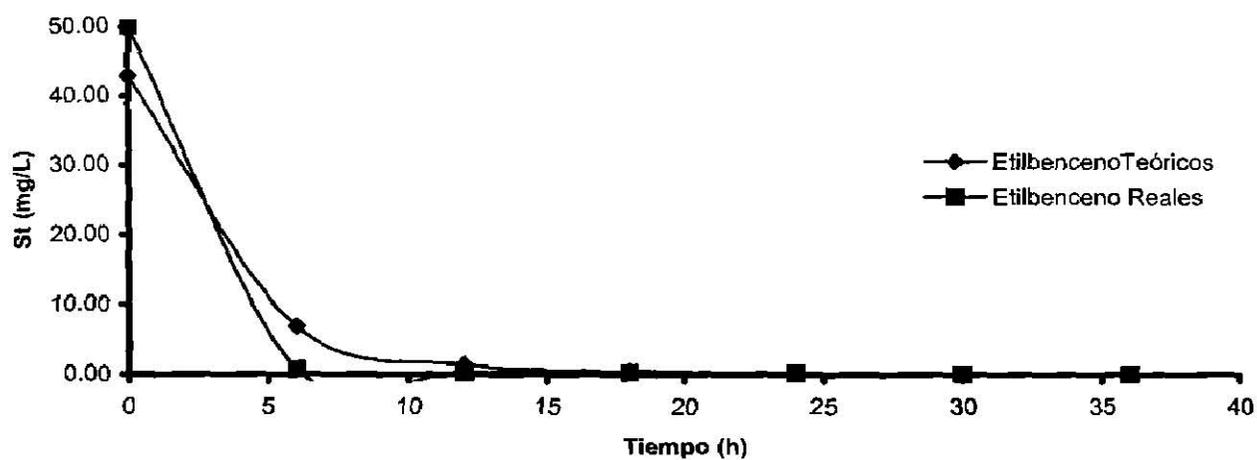
Tabla 112. Valores de las constantes cinéticas específicas de velocidad de reacción en las dos fases

K_1 (Primera Fase)	K_2 (Segunda Fase)
$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$	$[h^{-1}(mg/L)^{-1}]$
4.00×10^{-4}	0.80×10^{-4}

Para confirmar el orden de reacción uno de doble compartimento, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación $S_t = 41.6833e^{-0.3206t} + 1.0944e^{-0.0639t}$.

Tabla 113. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno

Tiempos (h)	Etilbenceno Reales (mg/L)	Etilbenceno Teóricos (mg/L)
0	50.0000	42.7777
6	0.7078	6.8349
12	0.3190	1.3978
18	0.3078	0.4763
24	0.2271	0.2551
30	0.1474	0.1637
36	0.1165	0.1100



Gráfica 48. Confirmación de orden uno de reacción de doble compartimento para el Etilbenceno (Datos de la Tabla 113)

La presencia del surfactante aumenta la velocidad de biodegradación del etilbenceno aun y comparada con la velocidad de las muestras que no contenían suelo.

5.8.6 Evaluación de las constantes cinéticas de o-Xileno en las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con relación a las muestras que contenían suelo y surfactante

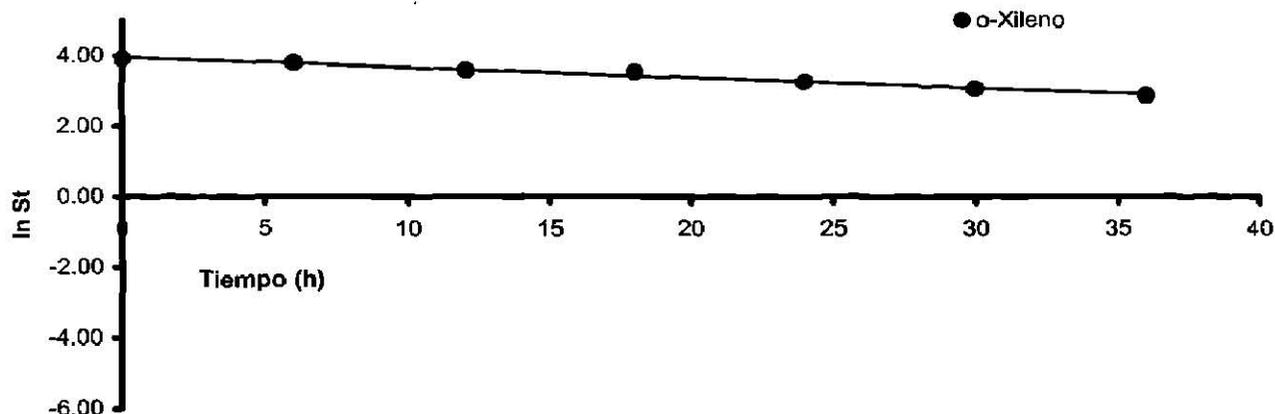
Se utilizó orden uno de reacción para evaluar la cinética del o-Xileno dado que al graficar los logaritmos naturales de las concentraciones teóricas contra tiempo se obtuvo una gráfica de regresión cercana a la unidad.

Tabla 114. Logaritmo natural de las concentraciones teóricas para el Benceno obtenidas de la relación de las muestras que contenían biomasa, suelo y surfactante con respecto a las muestras con suelo y surfactante a diferentes tiempos.

TIEMPOS (h)	O-XILENO [lnS _t]
0	3.9120
6	3.7931
12	3.5880
18	3.5374
24	3.2550
30	3.0739
36	2.8731

Donde:

lnS_t: Logaritmo natural de la concentración teórica en mg/L



Gráfica 49. Eficiencia de la biodegradación de o-Xileno por una biomasa aclimatada a Gasolina en presencia de suelo y surfactante (Datos de la Tabla 114)

De la anterior gráfica se obtuvo el valor de la ecuación de la recta y de esta manera se encontró que el valor de la pendiente es la constante cinética de biodegradación del o-Xileno.

La ecuación que sigue esta recta es:

$$\ln S_t = -0.0291t + 3.9569$$

Por lo tanto el valor para la constante cinética global es:

$$0.0291 \text{ h}^{-1}$$

El valor de la constante cinética específica es:

$$0.36 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}_{\text{SSV}}$$

La regresión de la recta fue de:

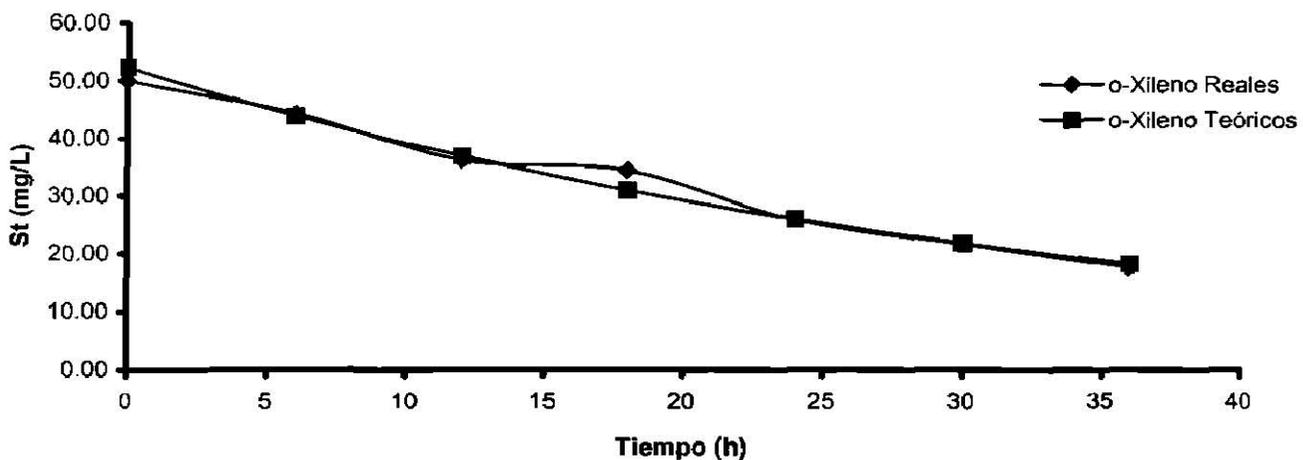
$$r^2 = 0.982$$

Para confirmar el orden de reacción uno, se realizó una tabla con los valores reales de la cinética y los valores teóricos obtenidos de la ecuación

$$S_t = e^{(-0.0291t + 3.9569)}. \text{ (Gráfica 50)}$$

Tabla 115. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno

TIEMPO (h)	O-XILENO Reales (mg/L)	O-XILENO Teóricos (mg/L)
0	50.0000	52.2950
6	44.3960	43.9169
12	36.1603	36.8811
18	34.3765	30.9725
24	25.9191	26.0105
30	21.6250	21.8434
36	17.6926	18.3440



Gráfica 50. Confirmación de orden uno de reacción para el o-Xileno (Datos de la Tabla 115)

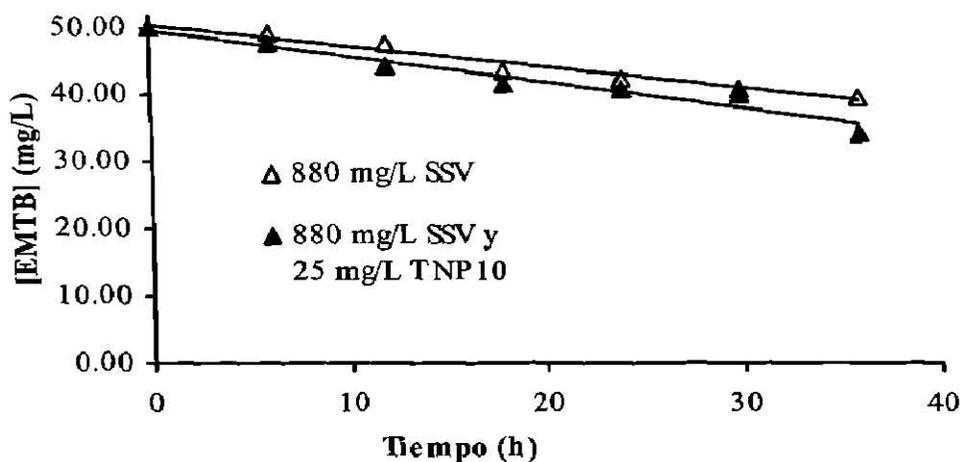
Al igual que los demás sustratos, la presencia del surfactante disminuye el efecto del suelo aumentando la velocidad de biodegradación en comparación con las muestras que conteían suelo.

5.9 Efecto del surfactante no iónico sobre los modelos cinéticos de la eficiencia de la biodegradación de BTEoX y EMTB

Los efectos del surfactante sobre la biodegradación de los BTEoX y el EMTB son más apreciables en los resultados de las eficiencias de la biodegradación debido a que los fenómenos de partición ocasionan un enmascaramiento de la influencia de Tergitol NP10 sobre la acción de la biomasa.

5.9.1 EMTB

En la gráfica 51 se muestran los valores de las cinéticas de las eficiencias de la biodegradación del EMTB.

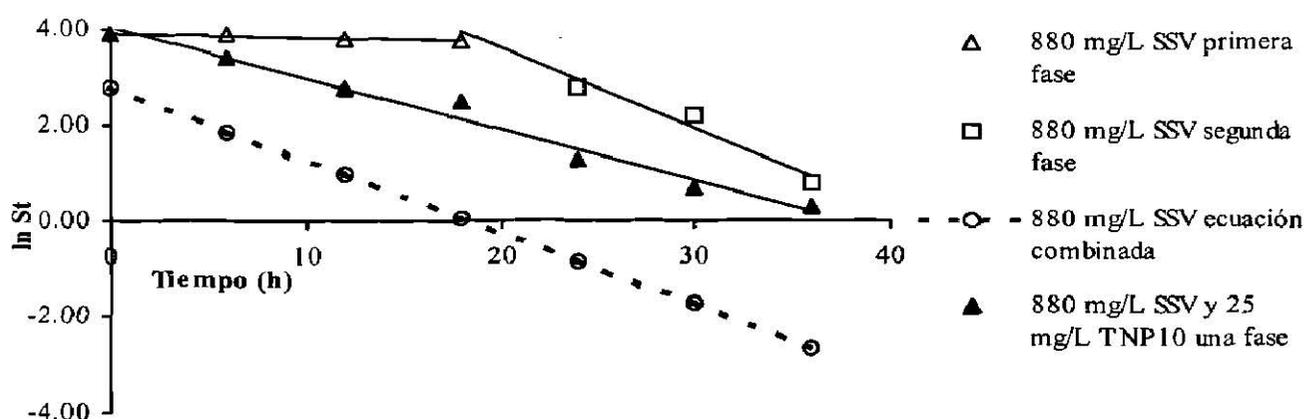


Gráfica 51. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del EMTB

La adición del Tergitol NP 10 no modificó el orden de reacción, el cual es de cero, sin embargo, incrementó la velocidad de la eficiencia de biodegradación del EMTB en un 22.6%.

5.9.2 Benceno

Las cinéticas evaluadas para la eficiencia de la biodegradación en presencia y ausencia del Tergitol NP10 se muestran en la gráfica 52.



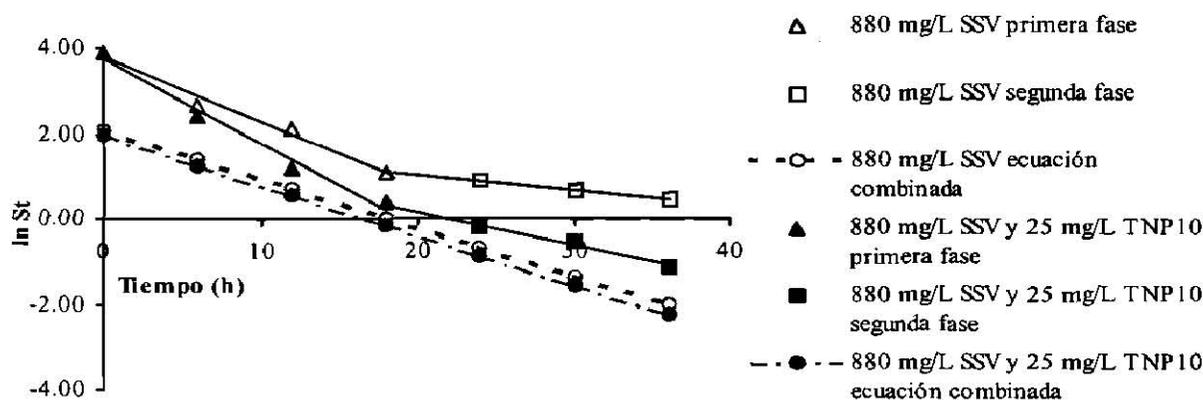
Gráfica 52. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del Benceno

La eficiencia de la biodegradación del benceno mostró una velocidad de reacción de primer orden y de dos fases en ausencia del surfactante Tergitol NP 10. En presencia de este surfactante, la eficiencia de la biodegradación del benceno se desplazó a un modelo de velocidad cinética de primer orden de una fase; lo cual sugiere que el surfactante

Tergitol NP 10 fue capaz de reducir las diferencias entre las velocidades de distribución y eliminación.

5.9.3 Tolueno

Las cinéticas de la eficiencia de la biodegradación se muestran en la gráfica 53.



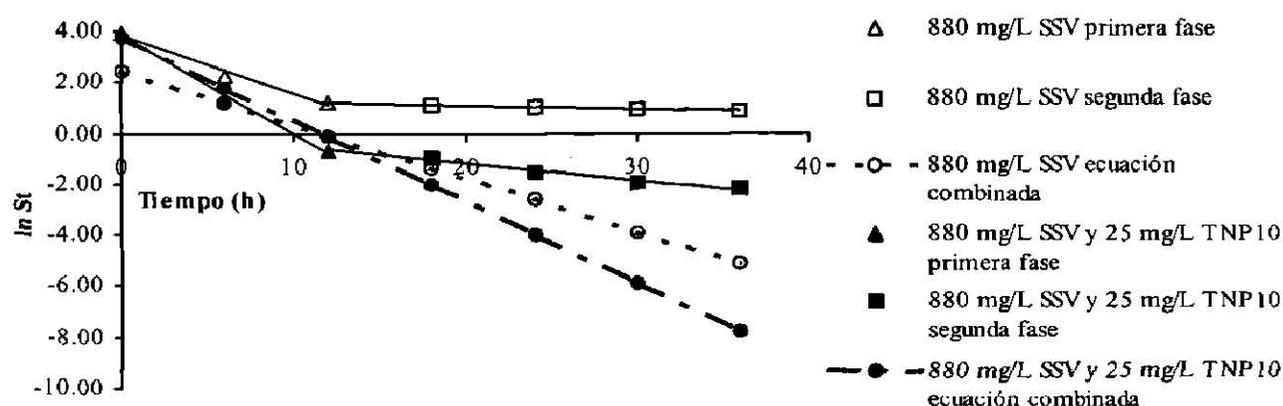
Gráfica 53. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del Tolueno

La eficiencia de la biodegradación del Tolueno mostró una velocidad cinética de primer orden de dos fases. Sin embargo, la adición de Tergitol NP 10 tuvo un impacto selectivo importante con un incremento significativo en la constante de velocidad cinética de la segunda fase de la eficiencia de la biodegradación del tolueno, lo cual sugiere que el

Tergitol NP 10, puede influir en las reducción de las diferencias de las velocidades de distribución y eliminación del tolueno.

5.9.4 Etilbenceno

En la gráfica 54 se muestran las cinéticas de las eficiencias de la biodegradación del etilbenceno.



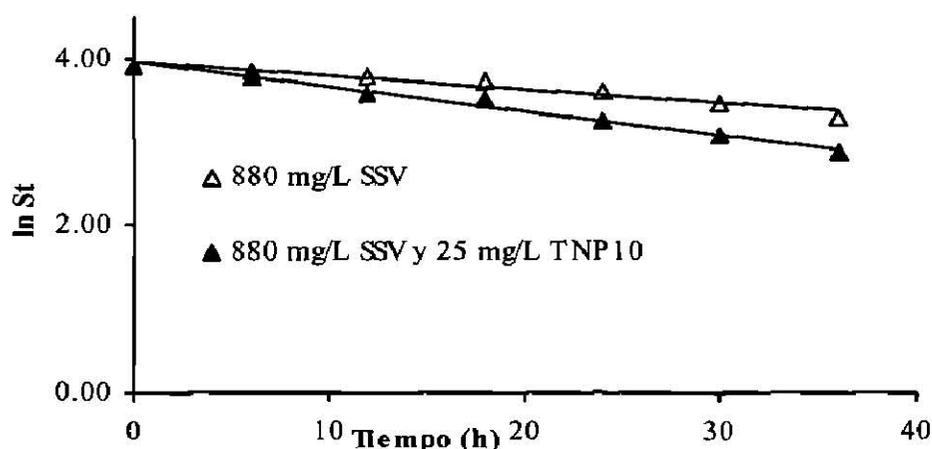
Gráfica 54. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del Etilbenceno

La eficiencia de la biodegradación del etilbenceno mostró un modelo de velocidad cinética de primer orden de dos fases. Sin embargo, la adición de Tergitol NP 10 tuvo un impacto selectivo importante con un incremento significativo en la constante de velocidad cinética de la segunda fase de la eficiencia de la biodegradación del etilbenceno. Esta selectividad mostrada por el Tergitol NP 10, también contribuyó como en el

tolueno, a disminuir la relación de las velocidades cinéticas de las fases de distribución y eliminación del etilbenceno.

5.9.5 o-Xileno

Las cinéticas de las eficiencias del o-Xileno en presencia y ausencia de surfactante se presentan en la gráfica 55.



Gráfica 55. Efectos del surfactante no iónico sobre las cinéticas de las eficiencias de biodegradación del o-Xileno

La eficiencia de la biodegradación del o-xileno siguió una velocidad cinética de primer orden de una fase en todas las muestras. La adición de Tergitol NP 10 incrementó significativamente la constante cinética de velocidad cinética de la eficiencia de la biodegradación del o-xileno.

5.10 Efectos de partición agua - suelo de los BTEoX y el EMTB

5.10.1 Partición agua - suelo de los BTEoX y el EMTB

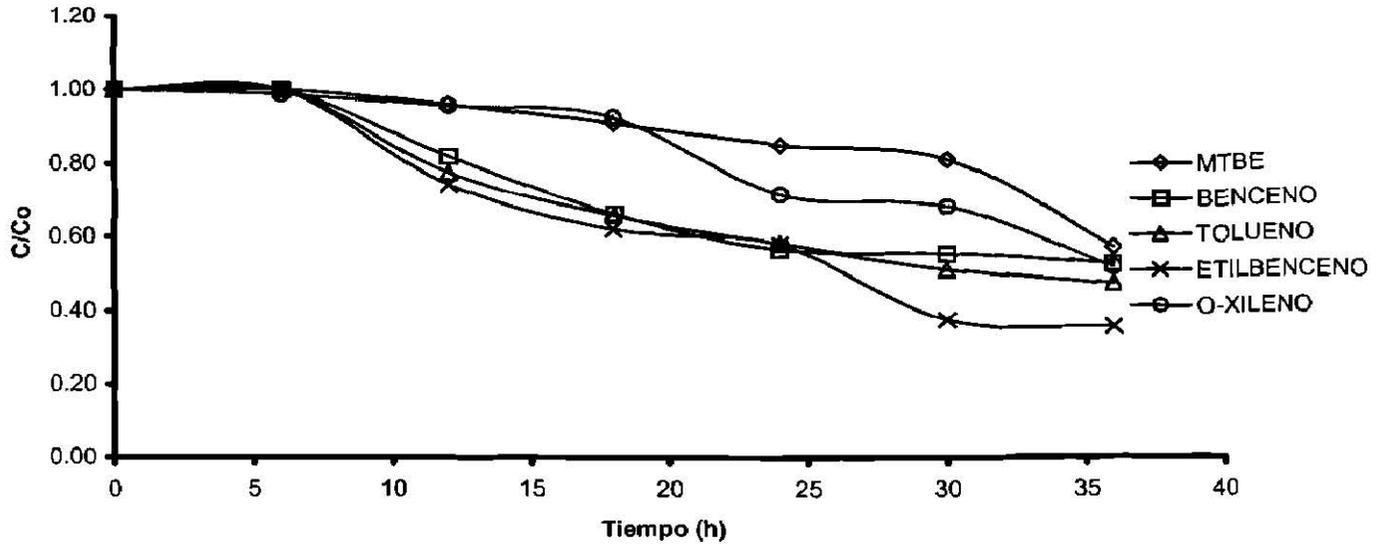
Debido a que los BTEoX presenta una baja polaridad su comportamiento en un mezcla de agua y suelo tiende a favorecer la partición de en suelo.

Este fenómeno puede ser observado en las muestras que contenían únicamente suelo en relación con las muestras que solo contenían buffer. Los resultados de esta relación se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 116. Relación de las muestras que contienen Suelo con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de partición de BTEoX y EMTB en el suelo)

TIEMPOS (h)	MTBE (C/Co)	BENCENO (C/Co)	TOLUENO (C/Co)	ETILBENCENO (C/Co)	O-XILENO (C/Co)
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9873
12	0.9604	0.8200	0.7751	0.7419	0.9574
18	0.9097	0.6614	0.6573	0.6192	0.9248
24	0.8514	0.5659	0.5818	0.5783	0.7150
30	0.8109	0.5551	0.5119	0.3743	0.6817
36	0.5656	0.5209	0.4680	0.3508	0.5119

La gráfica 56 muestra los valores de la tabla 116 donde se puede observar que la presencia del suelo en las muestras disminuye la disponibilidad de los sustratos en el agua.



Gráfica 56. Disponibilidad de los sustratos en la fase acuosa
(Datos de la tabla 116)

En la gráfica 56 se observa como después de las 18 horas la partición de los BTEoX se ve favorecida hacia el suelo, en cambio el EMTB se presenta más a la fase acuosa.

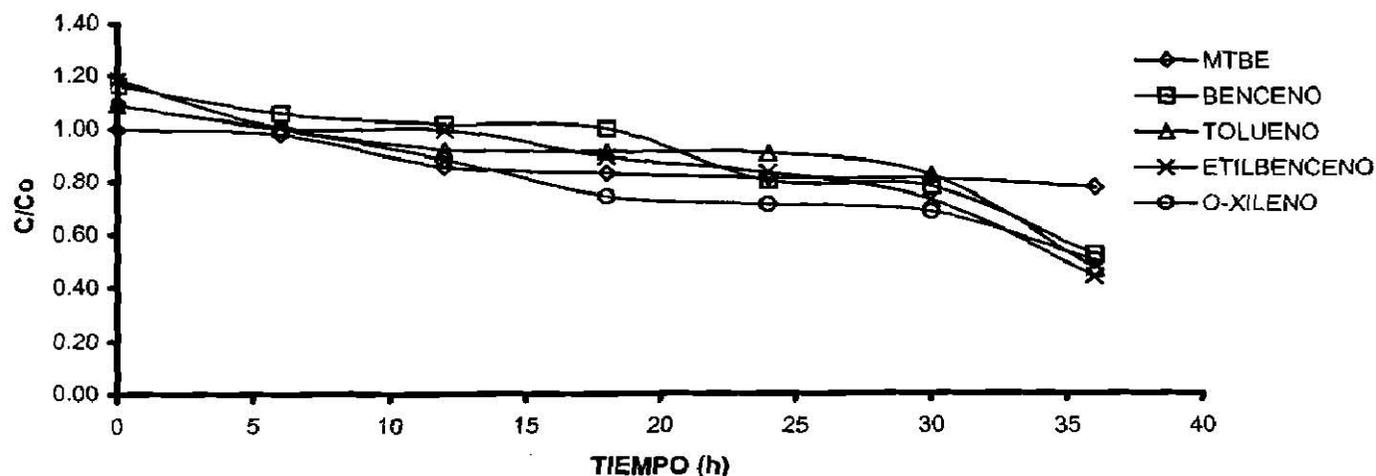
5.10.2 Partición agua - suelo de los BTEoX y el EMTB en presencia de un surfactante no iónico.

Para observar el efecto del Tergitol NP10 en el medio de los bioensayos en los que estaba presente el suelo se puede relacionar las muestras que contenían suelo y surfactante con las muestras control, para eliminar las posibles fugas, estos resultados se muestran en la tabla 117.

Tabla 117. Relación de las muestras que contienen Suelo y Surfactante con respecto a las muestras Control (Es para observar el efecto de partición de BTEoX y EMTB en el suelo en presencia de un surfactante no iónico)

TIEMPOS (h)	MTBE (C/Co)	BENCENO (C/Co)	TOLUENO (C/Co)	ETILBENCENO (C/Co)	O-XILENO (C/Co)
0	1.0000	1.1659	1.0914	1.1852	1.0900
6	0.9794	1.0596	1.0000	1.0089	1.0000
12	0.8596	1.0213	0.9239	1.0000	0.8879
18	0.8321	1.0000	0.9120	0.8928	0.7451
24	0.8115	0.8013	0.9056	0.8326	0.7137
30	0.8064	0.7748	0.8188	0.7254	0.6810
36	0.7718	0.5194	0.4677	0.4384	0.4979

De graficar los valores de la tabla 117 se obtiene la siguiente gráfica.



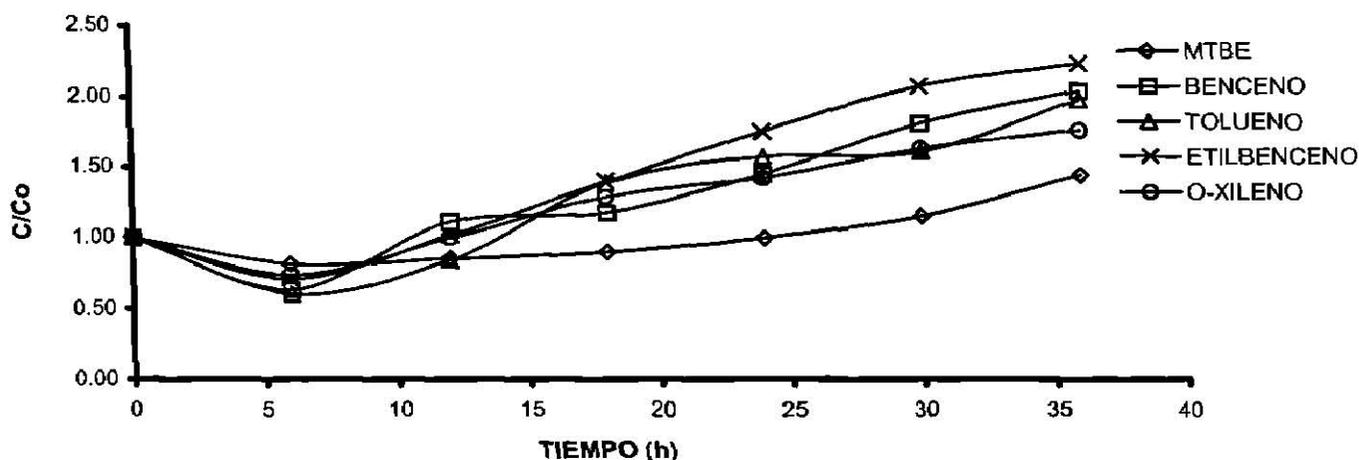
Gráfica 57. Disponibilidad de los sustratos en la fase acuosa en presencia de 25 mg/L Tergitol NP10 (Datos de la tabla 117)

En la gráfica 57 se observa que el efecto de partición agua - suelo se minimiza por efecto de la presencia del surfactante no iónico. Este efecto se puede comprobar al comparar la disponibilidad de sustratos en medio acuoso en presencia y ausencia de suelo. Realizando la relación entre las muestras que contenían suelo únicamente y las muestras que contenían suelo y surfactante es posible observar el efecto directo que induce la presencia del surfactante sobre la disponibilidad de los sustratos.

La tabla 118 presenta los valores de la relación de las muestras que contenían suelo y las muestras con suelo y surfactante.

Tabla 118. Relación de las muestras que contienen Suelo con respecto a las muestras contiene Suelo y surfactante (Es para observar el efecto de la desorción de BTEoX y EMTB del suelo por acción del surfactante)

TIEMPOS (h)	MTBE (C/Co)	BENCENO (C/Co)	TOLUENO (C/Co)	ETILBENCENO (C/Co)	O-XILENO (C/Co)
0	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
6	0.8136	0.6335	0.6035	0.7080	0.7360
12	0.8484	1.1056	0.8400	1.0130	0.9944
18	0.8950	1.1714	1.3777	1.3909	1.2822
24	0.9944	1.4434	1.5676	1.7447	1.4191
30	1.1503	1.8046	1.5998	2.0679	1.6189
36	1.4349	2.0340	1.9740	2.2241	1.7577



Gráfica 58. Eficiencia del surfactante en la desorción de los sustratos del suelo al medio acuoso (Datos de la tabla 118.)

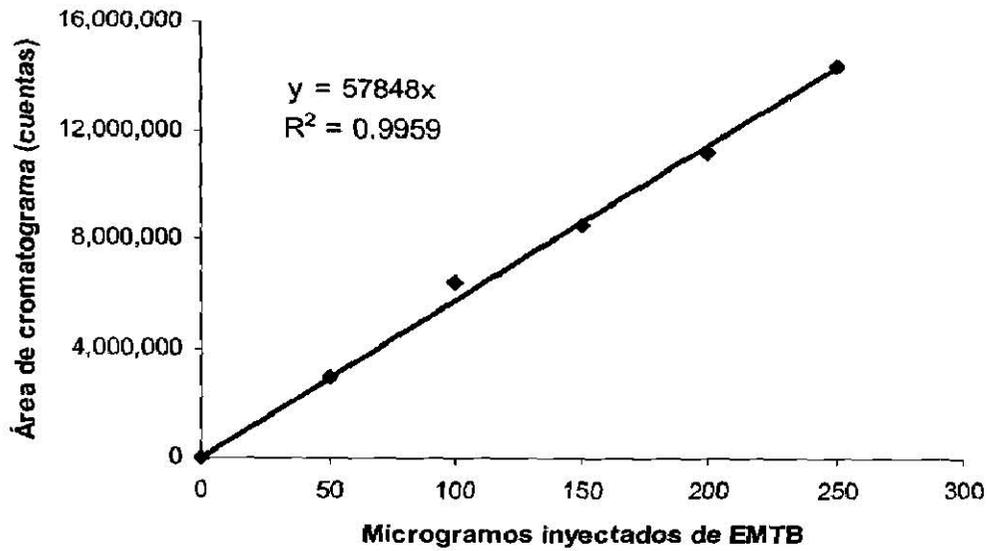
5.11 Coeficientes adimensionales de Henry

Para obtener los coeficientes adimensionales de Henry (K_H) de los BTEoX y el EMTB fueron analizadas muestras de las fases líquida y gaseosa por cromatografía de gases.

En el caso de las muestras en fase líquida se inyectaron 5 mL de la muestra y posteriormente se analizaron en las mismas condiciones que las muestras de los bioensayos, para el caso de la fase gaseosa las muestras inyectadas tenían un volumen de 10 mL, esto fue por las bajas concentraciones de las muestras en fase gaseosa.

Se obtuvieron los valores de las áreas para la fase líquida de los cromatogramas los cuales se presentan en el apéndice 26 de los estándares inyectados los cuales tenían una concentración de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de cada uno de los BTEoX y del EMTB y se graficaron los microgramos correspondientes de cada estándar contra las áreas de los cromatogramas para obtener así las curvas de calibración para cada sustrato.

5.11.1 EMTB



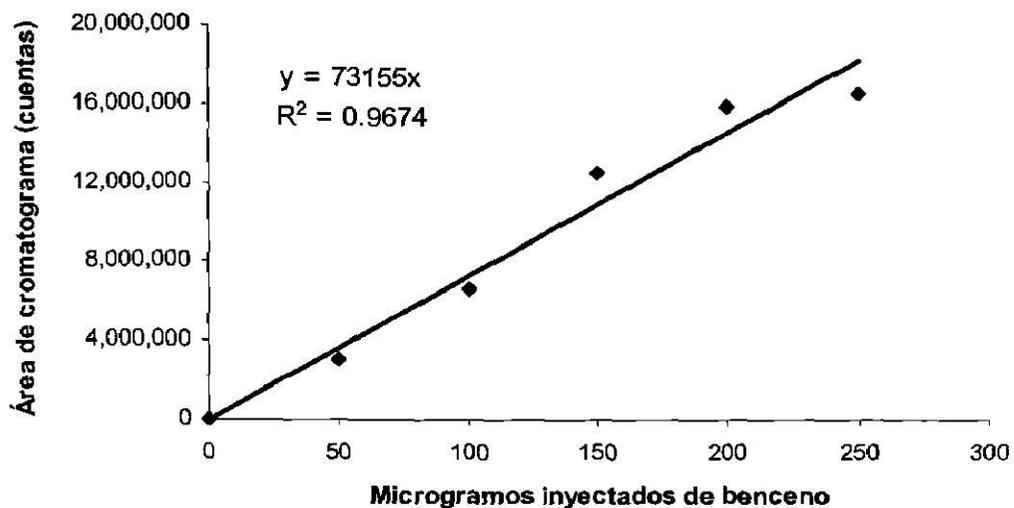
Gráfica 59. Curva de calibración de la fase líquida de EMTB estando presente los BTEoX y EMTB

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

$$\text{Microgramos} = \text{Area}/57848$$

$$R^2 = 0.9959$$

5.11.2 Benceno



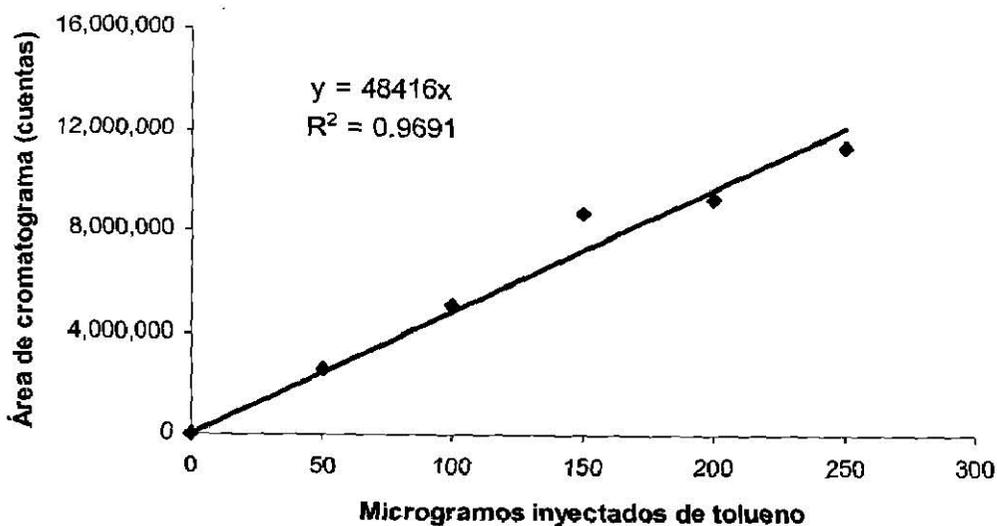
Gráfica 60. Curva de calibración de la fase líquida de benceno estando presentes los BTEoX y EMTB

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

$$\text{Microgramos} = \text{Area} / 73155$$

$$R^2 = 0.9674$$

5.11.3 Tolueno



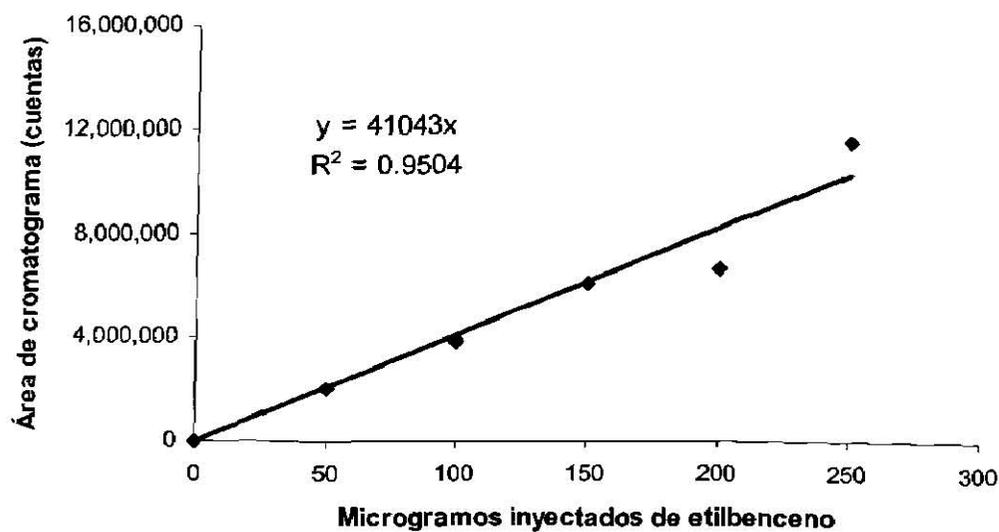
Gráfica 61 Curva de calibración de la fase líquida de tolueno estando presentes los BTEoX y EMTB

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

$$\text{Microgramos} = \text{Area} / 48416$$

$$R^2 = 0.9691$$

5.11.4 Etilbenceno



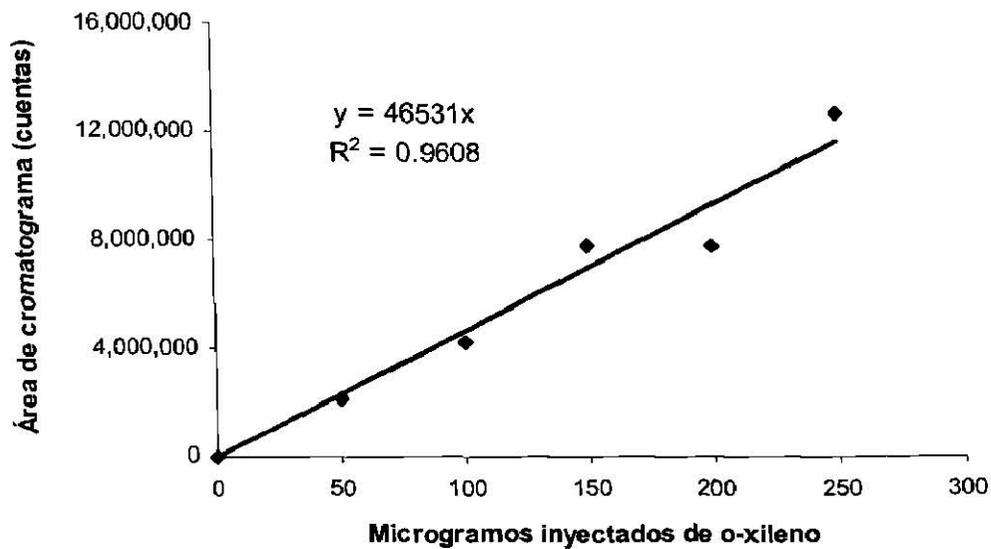
Gráfica 62. Curva de calibración de la fase líquida de etilbenceno estando presente los BTEoX y EMTB

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

$$\text{Microgramos} = \text{Area}/41043$$

$$R^2 = 0.9504$$

5.11.5 o-Xileno



Gráfica 63. Curva de calibración de la fase líquida de o-xileno estando presentes los BTEoX y EMTB

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

$$\text{Microgramos} = \text{Area}/46531$$

$$R^2 = 0.9608$$

Las masas inyectadas de los BTEoX y el EMTB se obtuvieron a través de las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración. Estas masas, fueron extrapoladas al volumen total de la muestras, lo cual se calculó de la siguiente manera:

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

Donde:

M_{EL} : Masa extrapolada del compuesto en la fase líquida para un total de 25 mL

M_L : Masa obtenida del compuesto en la muestra líquida inyectada

$$M_{EV} = (M_V) (2.5 \text{ mL})$$

Donde:

M_{EV} : Masa extrapolada del compuesto en la fase de vapor

M_V : Masa obtenida del compuesto en la muestra gaseosa inyectada

Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 119. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase líquida.

Compuesto	Estándar 10 mg/L (μg)	Estándar 20 mg/L (μg)	Estándar 30 mg/L (μg)	Estándar 40 mg/L (μg)	Estándar 50 mg/L (μg)
EMTB	255.25	557.69	738.88	970.64	1,256.17
Benceno	211.60	458.50	857.10	1,093.60	1,135.20
Tolueno	261.75	526.04	904.64	958.42	1,117.73
Etilbenceno	245.83	465.50	745.11	817.73	1,413.37
o-Xileno	228.21	450.75	836.10	838.02	1,352.01

Tabla 120. Masas extrapoladas a la muestra de 25 mL de la fase de vapor.

Compuesto	Estándar 10 mg/L (μg)	Estándar 20 mg/L (μg)	Estándar 30 mg/L (μg)	Estándar 40 mg/L (μg)	Estándar 50 mg/L (μg)
EMTB	6.49	10.60	19.31	22.94	25.84
Benceno	38.00	58.90	109.40	120.00	147.50
Tolueno	52.43	76.14	119.02	135.68	184.74
Etilbenceno	33.19	54.44	91.63	101.92	141.73
o-Xileno	26.01	38.19	57.80	64.87	92.69

Las concentraciones de las muestras se obtuvieron de la división de las masas de las Tablas 125 y 126 por el volumen de 25 mL (Tablas 127 y 128).

Tabla 121. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase líquida.

Compuesto	Estándar 10 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 20 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 30 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 40 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 50 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
EMTB	10.21	22.30	29.56	38.83	50.25
Benceno	8.46	18.34	34.28	43.74	45.41
Tolueno	10.47	21.04	36.18	38.33	47.11
Etilbenceno	9.83	18.62	29.80	32.71	56.53
o-Xileno	9.13	18.03	33.44	33.52	54.08

Tabla 122. Concentraciones en las muestras de 25 mL de la fase de vapor.

Compuesto	Estándar 10 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 20 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 30 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 40 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Estándar 50 mg/L ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
EMTB	0.26	0.46	0.77	0.92	1.03
Benceno	1.52	2.36	4.38	4.80	5.90
Tolueno	2.10	3.05	4.76	5.43	7.39
Etilbenceno	1.33	2.18	3.67	4.08	5.67
o-Xileno	1.04	1.53	2.31	2.59	3.71

Las constantes de Henry para cada compuesto estando en conjunto, se obtuvieron de la división de la concentración obtenida en la fase de vapor por la concentración obtenida en la fase líquida.

$$K_H = \frac{\text{Concentración del compuesto en la fase de vapor en 25 ml}}{\text{Concentración del compuesto en la fase líquida en 25 ml}}$$

Los cuales se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 123. Coeficientes adimensionales de Henry (K_H).

Compuesto	Estándar 10 mg/L	Estándar 20 mg/L	Estándar 30 mg/L	Estándar 40 mg/L	Estándar 50 mg/L
EMTB	0.0254	0.0190	0.0261	0.0236	0.0206
Benceno	0.1796	0.1284	0.1276	0.1097	0.1299
Tolueno	0.2003	0.1447	0.1316	0.1416	0.1569
Etilbenceno	0.1350	0.1170	0.1230	0.1246	0.1003
o-Xileno	0.1140	0.0847	0.0691	0.0774	0.0686

Con los resultados obtenidos en la tabla 123 se observó que la mayor parte de los BTEoX y EMTB permanecen en el medio líquido por lo cual la biodegradación en la fase líquida es un efecto mas importante que el efecto de desplazamiento de los compuesto a la fase gaseosa.

6. Conclusiones

La biomasa aclimatada a 200 mg/L de gasolina sin plomo, medida como masa celular volátil en una concentración de 800 mg/L fue capaz de biodegradar en medio de cultivo un 99.3% de benceno, 90.1% de o-xileno siguiendo para estos un primer orden de reacción de un compartimento, 99.5% de tolueno, 99.7% de etilbenceno siguiendo primer orden de reacción con doble compartimento para estos dos últimos y de orden cero de reacción para EMTB con un porcentaje de biodegradación de 15.6%

La presencia de suelo en el medio de cultivo afecto negativamente a todos los BTEoX al presentarse un efecto de partición agua - suelo siendo favorecida hacia el suelo. La presencia de suelo favoreció la remoción del EMTB, debido a su solubilidad el efecto de partición no lo afecto negativamente. Los porcentajes de biodegradación fueron de un 95.4% de benceno, 55.9% de o-xileno siguiendo para éstos un primer orden de reacción de un compartimento, 97.6% de tolueno, 99.7% de etilbenceno siguiendo primer orden de reacción con doble compartimento y orden cero de reacción para EMTB con un porcentaje de biodegradación de 25.1%

La adición de 25 mg/L del surfactante no iónico Tergitol NP 10 aumentó la disponibilidad de cada uno de los BTEoX en la fase acuosa en todos los casos; por lo tanto, las constantes de biodegradación aumentaron en comparación con las muestras que solo contenían suelo, resultando así los siguientes porcentajes de biodegradación un 98.6% de benceno, 75.9% de o-xileno siguiendo para estos un primer orden de reacción de un compartimento, 99.4% de tolueno, 99.7% de etilbenceno siguiendo primer orden de reacción con doble compartimento y orden cero de reacción para EMTB con un porcentaje de biodegradación de 30.1%. El surfactante pudiera también haber contribuido en el cometabolismo de los BTEoX y el EMTB dado que los valores de biodegradación del EMTB aumentaron.

Las eficiencias de la biodegradación demostraron para todos los BTEoX y el EMTB que la presencia de surfactante aumenta la velocidad de biodegradación. El suelo tiene un efecto negativo en la biodegradación de los BTEoX haciéndolos menos disponibles y por tanto disminuyendo las velocidades de biodegradación de los BTEoX, en el caso del benceno donde se había mostrado un modelo cinético de primer orden de un solo compartimento la presencia del suelo provocó que la eficiencia de la biodegradación se comportara como una ecuación de primer orden de doble compartimento, donde la fase de distribución es mucho menor a la

fase de eliminación, debido probablemente a los fenómenos de partición agua - suelo; en cambio, la presencia del surfactante disminuye este fenómeno y logró que el benceno siguiera una ecuación de primer orden de un solo compartimento en presencia de 25 mg/L de Tergitol NP 10.

El orden de velocidad de biodegradación en todos los grupos de muestras fue el siguiente:

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

Los BTEoX presentaron el siguiente orden general de coeficientes de Henry estando en conjunto:

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

El compuesto con una mayor tendencia a un posible escape del sistema fue el tolueno y el más soluble el EMTB.

7. Recomendaciones

1.- Desarrollar un experimento cinético en el cual se acorten los tiempos de muestreo para el tolueno y el etilbenceno debido a que su biodegradación ocurre en las primeras 8 horas de experimentación, en los tres grupos de muestras realizados en la presente investigación.

2.- Desarrollar una biomasa en diferentes condiciones de la estudiada en esta investigación que sea capaz de biodegradar EMTB y ser agregada después de un periodo de 18 a 24 horas, tiempo en el cual se habrán biodegradado ya los BTEoX.

3.- Realizar un experimento con diferentes surfactantes a una misma tensión superficial para comprender cual es el origen del beneficio del Tergitol NP10, si es debido a su efecto con surfactante o a un posible cometabolismo de los BTEoX y el EMTB

8. Bibliografía

Acuna-Askar, K., Englande, A. J., Jr., Ramírez-Medrano, A., Coronado-Guardiola, J. E. y Chávez-Gómez, B. (2002a). *Evaluation of Biomass Production in Unleaded Gasoline and BTEX-fed Batch Reactors*. Environmental Biotechnology. Massey University Press. Palmerston North, Nueva Zelanda, pp. 291-297.

Acuna-Askar, K., Englande, A. J., Jr., Ramírez-Medrano, Rodríguez-Fuentes, H., Marmolejo, J.G., Chavez-Gomez, B. And Nevarez-Morillon, G.V. 2002. *BTEX biodegradation by indigenous microorganisms adapted in a soil bioreactor* (Sometido a Acta Biotechnologica, Leipzig, Alemania)

Acuna-Askar K., Englande, A. J., Jr., Coronado-Guardiola J. E., Rodríguez-Fuentes H., Marmolejo J. G., Chávez-Gómez B. y Nevarez-Moorillón G. V. (2002b). *Degradación química de BTEX y EMTB por el reactivo de Fenton*. Memorias División de Química Ambiental del XXV Congreso Latinoamericano y XXXVII Congreso Mexicano de Química. Cancún, Quintana Roo, México. Pgs. 174-177.

Acuna-Askar, K., Villarreal-Chiu, J. F., Gracia-Lozano, M. V., Garza-González, M. T., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Sánchez, I. P. y Barrera-Saldaña, H. A. (2003a). *BTE-oX biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation*. Proceedings of the 4th Specialized International Water Association Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water (ECOHAZARD 2003). Aachen, Alemania pp 43-1 - 43-7.

Acuna-Askar, K., Gracia-Lozano, M. V., Villarreal-Chiu, J. F., Garza-González, M. T., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Sánchez, I. P. y Barrera-Saldaña, H. A. (2003). *The role of a nonionic surfactant on biodegradation efficiency kinetics models on BTE-oX and MTBE*. Proceedings of the 4th International Water Association World Water Congress, Marruecos, 19-24 septiembre de 2004 (somético a publicación).

Acuna-Askar, K., Gracia-Lozano, M. V., Villarreal-Chiu, J. F., Marmolejo, J.G., Garza-González, M. T. and Chávez-Gómez, B. (2003). *Effect of soil and a nonionic surfactant on BTEo-X and MTBE biodegradation kinetics*. Proceedings of the 4th International Water Association World Water Congress, Marruecos, 19-24 septiembre de 2004 (somético a publicación).

Acuna-Askar, K., Moeller-Chávez, G., Rodríguez-Fuentes, H., De Lira-Reyes, G., Vidales-Contreras, J. A., Marmolejo J. G. and Chávez-Gómez, B. (2003b). *BTE-oX biodegradation by biomass acclimated under two different BTEX concentrations*. International Water Association, Specialised Conference on Environmental Biotechnology, Kuala Lumpur, Malasia, 9-10 de diciembre (aceptado para su publicación en la Conferencia Especializada, en prensa).

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

Álvarez, P. J. y Vogel, T. M. (1995). *Degradation of BTEX and their aerobic metabolites by indigenous microorganisms under nitrate reducing conditions*. *Wat. Sci. Tech.* 31(1), 15-28.

ATSDR. (1995). *Toxicological profile for automotive gasoline*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta GA, USA.

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

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

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

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

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

Barreto R. D., Gray K. A. y Anders K. (1995). *Photocatalytic degradation of metil tert-butyl ether in TiO₂ slurries: a proposed reaction scheme*. *Wat. Res.* 29(5), 1243-1248.

Belpoggi, F., Sofritti, M. y Maltoni, C. (1995). *Metil tertiary-butyl ether (MTBE) a gasoline additive causes testicular and lymphohaematopoietic cancers in rats*. *Toxicol. Ind. Health.* 11: 119-149.

Bergsagel, D. E., Wong, O. y Bergsagel, P. L. (1999). Benzene and multiple myeloma: appraisal of the scientific evidence. *Blood* 94: 1174-1182.

Bradley P. M., Chapelle F. H. y Landmeyer J. E. (2001). Methyl t-butyl ether mineralization in surface-water sediment microcosms under denitrifying conditions. *Appl. Environ. Micro.* 67(4), 1975-1978.

California Code of Regulations (2002) *Domestic water quality and monitoring*. California, USA.

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

Chow P.S. 1998. *Petroquímica y Sociedad*. 2ª. Ed. Fondo de Cultura Económica. México D.F.

Klaassen, C. D. (2001). *Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons*. McGraw-Hill. 6th Edition. USA.

Dean, B. J. (1978). Genetic toxicology of benzene, toluene, xylenes and phenols. *Mutat. Res.* 47:157-164.

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

Edwards E. A. y Grbic-Galic D. (1992). Complete mineralization of benzene by aquifer microorganisms under strictly anaerobic conditions. *Appl. Environ. Micro.* 58(8), 2663-2666.

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

Falatko, D. M. y Novak, J. T. (1992). Effects of biologically produced surfactants on the mobility and biodegradation of petroleum hydrocarbons. *Wat. Environ. Res.* 64(2), 163-169.

García-Peña, I., Hernández, S., Acevedo, M. y Revah, S. (2003). *Biodegradación de BTEX con Scedosporium apiospermum*.

Hartley, W.R., Englande, A.J., Jr. and Harrington, D.J. (1999). *Health risk assessment of groundwater contaminated with methyl tertiary-butyl ether (MTBE)*. *Wat. Sci. Tech.*, 39(10-11), 305-310.

Hatzinger, P. B., McClay, K., Vainberg, S., Tugusheva, M., Condee, C. W. y Steffan, R. J. (2001). *Biodegradation of methyl tert-butyl ether by a pure bacterial culture*. *App. Environ. Micro.* 67(12), 5601-5607.

Henry J. G. y Heinke G. W. (1999). *Ingeniería ambiental*. 2a. Ed. Prentice Hall Hispanoamericana, S.A. de C.V. México

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

Jafvert, Chad T., Van Hoof, Patricia L. and Heath, Janice K. *Solubilization of non-polar compounds by non-ionic surfactant micelles*. *Wat. Res.* 28 (5)1009-1017.

Merck Index. (1989). 11th Ed. Merck & Co. Rahway, New Jersey, USA.

Michael, L. C. y Pellizarl, E.P. *Development and evaluation of a procedure for determining volatile organics in water*. *Environ. Sci. Tech.* 22(5), 565-570.

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

North Carolina Department of Environmental and Natural Resources (2002). *Risk-based assessment and corrective action for petroleum underground storage tanks. Maximum soil contaminant concentrations*. Mooresville Regional Office, Mooresville, North Carolina.

Organización de las Naciones Unidad (ONU). *Documento público "Año Internacional del Agua Dulce" 2003*

Prenafeta-Boldú, F. X., Vervoort, J., Grotenhuis, J. T. C. y Groenestijn, J. W. (2002). *Substrate interactions during the biodegradation of benzene, toluene, etilbenzene, and xilene (BTEX) hydrocarbons by the fungus Cladophialophora sp. Strain T1*. *App. Environ. Micro.* 68(6), 2660-2665.

SSA. (2000). *Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. Secretaría de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, México.

SEMARNAT. (2002a). Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-138-ECOL-2002. *Limites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.

SEMARNAT. (2002b). *Antecedentes de la SEMARNAT*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
<http://www.semarnat.gob.mx/portal/index.shtml>

Solano-Serena Floriane, Marchal Rémy, Casarégola Serge, Vasnier Christelle, Lebeault Jean-Michel and Vandecasteele 2002.A Mycobacterium strain with extended capacities for degradation gasoline hydrocarbons. *App. Environ. Micro.* 66 (6) 2392-2399.

Squillace, P. G., Zogorski, J. S., Wilber, W. J. y Price, C. V. (1996). *Preliminary assessment of the occurrence and possible sources of MTBE in groundwater in the United States, 1993-1994*. *Environ. Sci. Tech.* 30(5), 1721-1730.

Snyder, R., Witz, G., Goldstein, B. D. (1993). *The toxicology of benzene*. *Environ. Health Perspect.* 100: 293-306.

Stiner, L. y Halverson L. J. (2002). *Development and characterization of a green fluorescent protein-based bacterial biosensor for bioavailable toluene and related compounds*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1962-1971.

Tsao C.W., Song H.G. y Bartha R. (1998). *Metabolism of benzene, toluene and xylene hydrocarbons in soil*. *Appl. Environ. Micro.* 64(12), 4924-4929.

UM-BBD. (2003). *Biocatalysis / Biodegradation Database*. University of Minnesota. <http://umbbd.ahc.umn.edu/index.html>

USEPA. (1986). Methods 5030, 8000, 8015 and 8280. Test methods for evaluating solid waste, vol. 1B, laboratory manual, physical/chemical methods (SW-846), 3rd edition with updates III, 1995. United States Environmental Protection Agency. Office of Emergency Response, Washington, D.C., USA.

USEPA. (2000). *National Water Quality Inventory. 1998 Report to Congress. Ground Water and Drinking Water Chapters*. United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C., USA.

USEPA. (2003). *National Primary Drinking Water Standards*. United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C., USA.

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

Washington State Department of Health. Base de datos de la salud. Washington 2002

Wilson G. J., Richter A. P., Suidan M. T. y Venosa A. D. (2001). *Aerobic biodegradation of gasoline oxygenates MTBE and TBA*. *Wat. Sci. Tech.*, 43(2), 277-284.

9. Apéndices

Apéndice 1

Preparación medio 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**

Apéndice 2

Preparación medio concentrado para cinéticas

❖ 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

Apéndice 3

Preparación agar gasolina

❖ Solución 1

1.5 g de agar bacteriológico
Disolver en 100 mL de agua destilada

❖ Solución 2

20 mL de medio concentrado para cinéticas

❖ Solución 3

Pesar:
Azul de bromotimol 0.050 g

Disolver en 10 mL de agua destilada

➤ Esterilizar solución 1 y 2 por 15 min. a 15 psi

➤ Agar BTEX

Solución 2 (templada) + 0.82 mL de gasolina
+ Solución 1 (caliente)
+ 1.2 mL de solución 3

(de ser necesario se agregan algunas gotas de NaOH 1 N para obtener un color verde-azul en el agar)

Apéndice 4

Preparación agar BTEX

❖ Solución 1

1.5 g de agar bacteriológico
Disolver en 100 mL de agua destilada

❖ Solución 2

20 mL de medio concentrado para cinéticas

❖ Solución 3

Pesar:
Azul de bromotimol 0.050 g

Disolver en 10 mL de agua destilada

➤ Esterilizar solución 1 y 2 por 15 min. a 15 psi

➤ Agar BTEX

Solución 2 (templada) + 0.82 mL de cada BTEX

+ Solución 1 (caliente)

+ 1.2 mL de solución 3

(de ser necesario se agregan algunas gotas de NaOH 1 N para obtener un color verde-azul en el agar)

Apéndice 5

Preparación agar nutritivo

❖ Solución 1

2.3 g de agar nutritivo
Disolver en 100 mL de agua destilada

➤ **Esterilizar solución 1 por 15 min. a 15 psi**

Apéndice 6

Preparación agar papa-dextrosa

❖ Solución 1

2.3 g de agar papa-dextrosa
Disolver en 100 mL de agua destilada

➤ Esterilizar solución 1 por 15 min. a 15 psi

Apéndice 7

Áreas de los estándares de las curvas de calibración

Concentración (mg/L)	Áreas				
	EMTB	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	o-Xileno
10	3,179,085	3,545,582	4,150,866	3,808,467	3,744,089
20	5,579,532	9,333,127	10,090,648	6,669,319	6,782,683
30	9,454,028	14,106,202	12,824,913	12,086,038	13,229,160
40	12,297,699	16,671,572	16,599,522	16,062,443	15,173,698
50	12,941,036	22,395,208	22,063,922	18,187,496	18,996,678

Apéndice 8

Áreas de las muestras control de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras CONTROL que contienen únicamente 2 gotas de ácido fosfórico

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	14,334,103	22,556,974	21,268,132	17,859,066	19,592,836
6	14,018,159	18,425,476	15,441,324	12,570,220	14,804,073
12	17,318,322	20,172,452	17,558,012	12,063,079	14,397,260
18	15,865,135	14,835,162	10,502,826	7,790,377	9,412,869
24	13,795,443	14,246,444	14,159,486	8,984,416	11,394,799
30	14,420,421	15,501,098	9,444,831	7,798,860	10,061,130
36	14,119,276	13,730,054	10,420,134	7,205,133	9,509,197

Réplica 2

Muestras CONTROL que contienen únicamente 2 gotas de ácido fosfórico

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	13,590,805	18,411,298	18,456,038	14,971,765	15,851,049
6	13,693,480	16,281,461	13,807,385	10,147,815	11,660,260
12	16,610,220	15,527,295	11,674,507	9,556,248	12,214,465
18	13,817,011	19,161,694	18,393,398	13,790,016	15,781,807
24	15,446,958	18,145,742	17,154,380	13,351,750	15,116,682
30	15,887,232	16,565,032	14,777,069	10,989,635	12,670,417
36	15,887,232	16,565,032	14,777,069	10,989,635	12,670,417

Apéndice 9

Áreas de las muestras con biomasa de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada obteniendo 880 mg/L en los bioensayos (Source= 8,800 mg/L VSS)

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	18,195,238	21,066,880	15,836,560	12,285,349	13,430,099
6	15,496,276	15,326,822	4,118,567	276,996	10,675,732
12	15,713,393	10,936,278	686,000	273,267	11,771,897
18	17,632,994	4,636,399	150,477	70,338	6,988,476
24	15,227,688	271,547	214,220	158,178	4,742,251
30	15,440,972	67,707	14,291	28,089	1,857,090
36	18,109,502	84,401	57,246	27,978	1,612,623

Réplica 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada obteniendo 880 mg/L en los bioensayos (Source= 8,800 mg/L VSS)

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	13,055,706	17,056,726	17,621,096	10,383,810	14,131,269
6	12,759,942	11,214,440	2,097,483	83,979	12,052,611
12	16,313,437	4,207,568	76,320	54,775	6,539,058
18	11,375,880	551,700	17,282	33,696	4,951,828
24	14,018,334	403,456	364,512	302,695	1,553,685
30	14,795,570	116,294	85,432	70,793	856,342
36	12,866,583	235,035	122,805	3,915	2,778,898

Apéndice 10

Áreas de las muestras con suelo de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras con 5 gramos de Suelo y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa y SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	14,598,072	20,090,062	15,355,322	10,912,625	11,864,378
6	14,433,712	18,874,644	15,758,629	9,753,972	10,863,634
12	14,306,909	17,250,250	11,776,909	8,259,999	9,402,885
18	12,574,979	10,695,978	6,571,390	4,572,865	5,162,793
24	11,590,775	5,412,778	4,687,573	2,621,137	3,500,115
30	14,369,131	6,455,332	3,754,779	2,096,453	3,221,449
36	15,743,856	11,855,127	8,598,504	4,486,398	6,131,155

Réplica 2

Muestras con 5 gramos de Suelo y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa y SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	13,959,471	17,088,652	13,202,110	9,140,763	10,194,360
6	12,783,904	14,337,233	11,562,856	6,480,091	7,190,511
12	5,317,184	1,083,852	448,651	216,393	221,190
18	12,040,445	9,709,093	7,083,476	3,049,761	4,647,513
24	13,870,396	9,900,819	5,848,157	2,485,990	3,198,980
30	13,824,940	9,698,890	5,158,109	1,929,466	2,729,336
36	15,637,564	10,688,297	5,441,396	2,395,568	3,206,716

Apéndice 11

Áreas de las muestras con suelo y surfactante de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras con 5 gramos de Suelo y 25 ppm de Tergitol NP10 y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	15,716,458	16,905,216	12,187,550	7,221,454	10,245,012
6	12,459,845	16,922,840	10,751,776	5,626,957	7,001,537
12	13,020,562	17,304,822	11,328,570	5,665,124	6,250,560
18	13,657,012	13,155,531	11,933,668	6,538,396	7,086,214
24	12,910,166	13,864,163	10,797,110	5,240,525	5,868,108
30	12,106,871	8,249,607	6,001,723	3,031,632	3,891,830
36	13,699,964	4,535,229	2,868,835	1,569,059	2,738,091

Réplica 2

Muestras con 5 gramos de Suelo y 25 ppm de Tergitol NP10 y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	13,798,218	14,174,903	12,640,867	6,975,441	7,352,904
6	12,715,793	13,774,199	9,200,366	6,015,889	7,320,814
12	16,081,134	10,354,028	5,333,888	2,681,277	3,593,603
18	11,640,843	6,826,542	4,422,191	2,876,679	4,020,332
24	17,359,564	12,174,529	7,284,805	2,801,081	3,525,873
30	12,614,837	11,242,519	6,394,837	2,862,275	3,793,689
36	12,688,913	7,403,026	4,497,427	1,880,271	2,744,402

Apéndice 12

Áreas de las muestras con suelo y biomasa de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	14,710,125	16,503,871	12,767,957	7,465,852	8,614,552
6	12,702,618	15,262,854	4,066,900	163,925	8,073,810
12	15,071,061	11,334,174	1,779,097	300,051	7,422,183
18	12,307,626	13,977,634	6,860,811	208,487	8,491,736
24	14,448,646	4,185,903	523,724	205,421	5,878,657
30	12,751,388	2,383,818	438,011	231,621	5,310,234
36	13,306,372	575,914	376,176	256,575	3,103,125

Réplica 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	14,604,395	15,135,775	12,534,643	7,005,819	9,444,135
6	13,416,861	12,331,715	2,044,746	66,007	8,253,384
12	13,396,553	2,756,294	265,149	117,377	3,809,391
18	13,170,773	1,893,377	227,899	102,153	3,223,616
24	15,403,634	52,146	13,364	18,562	964,350
30	10,972,176	32,791	24,015	20,230	32,753
36	11,299,335	19,194	5,167	1,676	11,828

Apéndice 13

Áreas de las muestras con suelo, biomasa y surfactante de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo y 25 ppm de Tergitol NP10

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	11,741,092	20,812,772	14,962,447	11,206,558	12,130,109
6	11,185,406	13,098,806	3,646,311	73,591	7,992,218
12	8,616,559	11,107,018	1,052,169	0	6,552,117
18	13,636,830	8,203,288	486,041	42,890	7,045,076
24	11,205,834	1,856,959	120,256	23,807	4,900,992
30	10,464,692	809,445	92,713	33,575	3,457,741
36	11,573,682	109,755	82,292	59,191	2,327,237

Réplica 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (AREAS)	BENCENO (AREAS)	TOLUENO (AREAS)	ETILBENCENO (AREAS)	O-XILENO (AREAS)
0	15,710,170	16,809,542	11,434,243	7,002,230	10,502,428
6	12,642,179	9,504,919	1,079,671	21,676	6,521,143
12	12,713,509	2,796,062	79,499	24,953	2,604,026
18	13,327,700	70,159	17,752	11,957	1,787,926
24	15,179,929	385,361	5,359	6,609	1,532,419
30	11,385,219	108,132	63,680	12,959	39,836
36	10,929,915	275,178	45,812	3,438	2,520,535

Apéndice 14

Concentraciones en mg/L de las muestras control de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras CONTROL que contienen únicamente 2 gotas de ácido fosfórico

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.3446	51.0144	48.8362	47.0894	50.6691
6	49.2349	41.6707	35.4566	33.1442	38.2849
12	60.8258	45.6216	40.3170	31.8070	37.2328
18	55.7219	33.5509	24.1168	20.5410	24.3427
24	48.4527	32.2195	32.5132	23.6894	29.4681
30	50.6477	35.0570	21.6874	20.5634	26.0191
36	49.5900	31.0516	23.9269	18.9979	24.5918

Réplica 2

Muestras CONTROL que contienen únicamente 2 gotas de ácido fosfórico

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	47.7339	41.6386	42.3791	39.4764	40.9925
6	48.0945	36.8218	31.7047	26.7570	30.1546
12	58.3388	35.1162	26.8072	25.1972	31.5879
18	48.5284	43.3357	42.2352	36.3604	40.8134
24	54.2532	41.0380	39.3902	35.2048	39.0933
30	55.7995	37.4631	33.9314	28.9766	32.7670
36	55.7995	37.4631	33.9314	28.9766	32.7670

Apéndice 15

Concentraciones en mg/L de las muestras con biomasa de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada obteniendo 880 mg/L en los bioensayos (Source= 8,800 mg/L VSS)

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	63.9057	47.6444	36.3642	32.3930	34.7316
6	54.4264	34.6628	9.4571	0.7304	27.6086
12	55.1889	24.7333	1.5752	0.7205	30.4434
18	61.9310	10.4856	0.3455	0.1855	18.0729
24	53.4830	0.6141	0.4919	0.4171	12.2640
30	54.2321	0.1531	0.0328	0.0741	4.8026
36	63.6046	0.1909	0.1314	0.0738	4.1704

Réplica 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada obteniendo 880 mg/L en los bioensayos (Source= 8,800 mg/L VSS)

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	45.8545	38.5751	40.4619	27.3792	36.5449
6	44.8158	25.3623	4.8163	0.2214	31.1693
12	57.2964	9.5157	0.1752	0.1444	16.9107
18	39.9546	1.2477	0.0397	0.0888	12.8059
24	49.2355	0.9124	0.8370	0.7981	4.0180
30	51.9653	0.2630	0.1962	0.1867	2.2146
36	45.1903	0.5316	0.2820	0.0103	7.1865

Apéndice 16

Concentraciones en mg/L de las muestras con suelo de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras con 5 gramos de Suelo y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa y SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	51.2717	45.4353	35.2591	28.7735	30.6825
6	50.6944	42.6865	36.1852	25.7185	28.0945
12	50.2490	39.0128	27.0423	21.7793	24.3168
18	44.1661	24.1898	15.0893	12.0574	13.3515
24	40.7094	12.2414	10.7637	6.9112	9.0517
30	50.4676	14.5992	8.6218	5.5278	8.3310
36	55.2959	26.8113	19.7440	11.8294	15.8558

Réplica 2

Muestras con 5 gramos de Suelo y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa y SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	49.0288	38.6473	30.3149	24.1016	26.3637
6	44.8999	32.4248	26.5508	17.0862	18.5954
12	18.6751	2.4512	1.0302	0.5706	0.5720
18	42.2887	21.9579	16.2652	8.0414	12.0190
24	48.7159	22.3915	13.4286	6.5549	8.2729
30	48.5563	21.9348	11.8441	5.0875	7.0583
36	54.9226	24.1724	12.4946	6.3164	8.2929

Apéndice 17

Concentraciones en mg/L de las muestras con suelo y surfactante de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras con 5 gramos de Suelo y 25 ppm de Tergitol NP10 y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	55.1997	38.2325	27.9853	19.0410	26.4947
6	43.7617	38.2723	24.6884	14.8367	18.1067
12	45.7311	39.1362	26.0128	14.9373	16.1646
18	47.9665	29.7523	27.4023	17.2399	18.3257
24	45.3434	31.3549	24.7925	13.8178	15.1755
30	42.5220	18.6571	13.7813	7.9936	10.0647
36	48.1173	10.2568	6.5875	4.1372	7.0810

Réplica 2

Muestras con 5 gramos de Suelo y 25 ppm de Tergitol NP10 y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	48.4624	32.0577	29.0262	18.3923	19.0154
6	44.6607	31.1514	21.1260	15.8622	18.9324
12	56.4805	23.4164	12.2478	7.0698	9.2934
18	40.8852	15.4388	10.1543	7.5850	10.3970
24	60.9707	27.5337	16.7275	7.3857	9.1183
30	44.3061	25.4258	14.6839	7.5470	9.8109
36	44.5663	16.7425	10.3271	4.9577	7.0973

Apéndice 18

Concentraciones en mg/L de las muestras con suelo y biomasa de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	51.6652	37.3248	29.3180	19.6854	22.2781
6	44.6144	34.5181	9.3385	0.4322	20.8797
12	52.9329	25.6331	4.0852	0.7912	19.1945
18	43.2271	31.6115	15.7539	0.5497	21.9605
24	50.7469	9.4667	1.2026	0.5416	15.2028
30	44.7857	5.3912	1.0058	0.6107	13.7328
36	46.7349	1.3025	0.8638	0.6765	8.0250

Réplica 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	51.2939	34.2307	28.7823	18.4724	24.4235
6	47.1230	27.8891	4.6952	0.1740	21.3441
12	47.0517	6.2336	0.6088	0.3095	9.8515
18	46.2587	4.2820	0.5233	0.2693	8.3366
24	54.1010	0.1179	0.0307	0.0489	2.4939
30	38.5367	0.0742	0.0551	0.0533	0.0847
36	39.6858	0.0434	0.0119	0.0044	0.0306

Apéndice 19

Concentraciones en mg/L de las muestras con suelo, biomasa y surfactante de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo y 25 ppm de Tergitol NP10

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	41.2373	47.0697	34.3570	29.5486	31.3697
6	39.2856	29.6240	8.3727	0.1940	20.6687
12	30.2633	25.1194	2.4160	0.0000	16.9445
18	47.8956	18.5524	1.1161	0.1131	18.2193
24	39.3574	4.1997	0.2761	0.0628	12.6745
30	36.7543	1.8306	0.2129	0.0885	8.9421
36	40.6493	0.2482	0.1890	0.1561	6.0185

Réplica 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	55.1776	38.0161	26.2555	18.4629	27.1604
6	44.4021	21.4961	2.4792	0.0572	16.8644
12	44.6527	6.3235	0.1825	0.0658	6.7343
18	46.8098	0.1587	0.0408	0.0315	4.6238
24	53.3153	0.8715	0.0123	0.0174	3.9630
30	39.9874	0.2445	0.1462	0.0342	0.1030
36	38.3883	0.6223	0.1052	0.0091	6.5184

Apéndice 20

Promedio de las concentraciones en mg/L de las muestras control de la réplica 1 y 2

Muestras CONTROL que contienen únicamente 2 gotas de ácido fosfórico

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	49.0392	46.3265	45.6076	43.2829	45.8308
6	48.6647	39.2462	33.5807	29.9506	34.2198
12	59.5823	40.3689	33.5621	28.5021	34.4103
18	52.1252	38.4433	33.1760	28.4507	32.5780
24	51.3529	36.6287	35.9517	29.4471	34.2807
30	53.2236	36.2600	27.8094	24.7700	29.3931
36	52.6948	34.2574	28.9291	23.9873	28.6794

Apéndice 21

Promedio de las concentraciones en mg/L de las muestras con biomasa de la réplica 1 y 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada obteniendo 880 mg/L en los bioensayos (Source= 8,800 mg/L VSS)

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	54.8801	43.1098	38.4130	29.8861	35.6383
6	49.6211	30.0126	7.1367	0.4759	29.3889
12	56.2427	17.1245	0.8752	0.4325	23.6770
18	50.9428	5.8666	0.1926	0.1372	15.4394
24	51.3593	0.7633	0.6644	0.6076	8.1410
30	53.0987	0.2081	0.1145	0.1304	3.5086
36	54.3975	0.3612	0.2067	0.0420	5.6785

Apéndice 22

Promedio de las concentraciones en mg/L de las muestras con suelo de la réplica 1 y 2

Muestras con 5 gramos de Suelo y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa y SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	50.1502	42.0413	32.7870	26.4376	28.5231
6	47.7972	37.5556	31.3680	21.4023	23.3450
12	34.4621	20.7320	14.0363	11.1749	12.4444
18	43.2274	23.0738	15.6773	10.0494	12.6852
24	44.7126	17.3165	12.0962	6.7330	8.6623
30	49.5119	18.2670	10.2330	5.3076	7.6947
36	55.1093	25.4919	16.1193	9.0729	12.0744

Apéndice 23

Promedios de las concentraciones en mg/L de las muestras con suelo y surfactante de la réplica 1 y 2

Muestras con 5 gramos de Suelo y 25 ppm de Tergitol NP10 y 2 gotas de ácido fosfórico estéril SIN biomasa

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	51.8311	35.1451	28.5057	18.7166	22.7550
6	44.2112	34.7119	22.9072	15.3495	18.5195
12	51.1058	31.2763	19.1303	11.0036	12.7290
18	44.4258	22.5955	18.7783	12.4125	14.3613
24	53.1570	29.4443	20.7600	10.6017	12.1469
30	43.4141	22.0415	14.2326	7.7703	9.9378
36	46.3418	13.4997	8.4573	4.5475	7.0891

Apéndice 24

Promedio de las concentraciones en mg/L de las muestras con suelo y biomasa de la réplica 1 y 2

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo SIN surfactante

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	51.2939	35.7778	29.0501	19.0789	23.3508
6	45.8687	31.2036	7.0168	0.3031	21.1119
12	49.9923	15.9334	2.3470	0.5503	14.5230
18	44.7429	17.9468	0.5233	0.4095	15.1486
24	52.4239	4.7923	0.6166	0.2953	8.8484
30	41.6612	2.7327	0.5305	0.3320	6.9088
36	43.2104	0.6729	0.4378	0.3405	4.0278

Apéndice 25

Promedio de las concentraciones en mg/L de las muestras con suelo, biomasa y surfactante de la réplica 1 y 2

Réplica 1

Muestras que contienen 2 mL de Biomasa concentrada y 5 gramos de suelo y 25 ppm de Tergitol NP10

TIEMPO (HORAS)	EMTB (mg/L)	BENCENO (mg/L)	TOLUENO (mg/L)	ETILBENCENO (mg/L)	O-XILENO (mg/L)
0	55.1776	42.5429	30.3063	24.0057	29.2651
6	41.8439	25.5601	5.4259	0.1256	18.7665
12	37.4580	15.7215	1.2993	0.0329	11.8394
18	47.3527	9.3555	0.5784	0.0723	11.4215
24	46.3363	2.5356	0.1442	0.0401	8.3187
30	38.3709	1.0376	0.1796	0.0613	4.5225
36	39.5188	0.4353	0.1471	0.0826	6.2684

Curriculum Vitae

Miriam Verónica Gracia Lozano

- Fecha de nacimiento: 30 de enero de 1980
- Lugar de nacimiento: Monterrey, Nuevo León
- Dirección: Arteaga 1131 pte. Zona centro Monterrey, Nuevo León
- Teléfono: 83-75-45-21
- Teléfono móvil: 044-81-11-02-34-53
- Email: miriam_gracia@hotmail.com

Formación académica

Primaria Escuela primaria "Venustiano Carranza"
Av. Venustiano Carranza
Monterrey Nuevo León. México (1986 -1992)

Secundaria Secundaria #10
Prof.. Moisés Sáenz Garza
Av. Arramberri
Monterrey Nuevo León México (1992 - 1995)

Preparatoria Preparatoria #15 Unidad "Madero" UANL
Av. Madero
Monterrey, Nuevo León México (1995 - 1997)

Facultad Facultad de Ciencias Químicas UANL
Av. Pedro de Alba s/n
San Nicolás de los Garza, Nuevo León México (1997 - 2003)

Formación extra académica

Congresos

- 1997** 1° Semana Integral
Facultad de ciencias Químicas
Monterrey, Nuevo León México
- 1998** II Congreso de Cristalografía
Sociedad Mexicana de Cristalografía, A.C.
Biblioteca "Raúl Rancel Frías"
Monterrey, Nuevo León México
- 1998** 2° Semana Integral
Facultad de Ciencias Químicas
Monterrey, Nuevo León México
- 1999** VII Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica
Academia Mexicana de Química Inorgánica, A.C.
Monterrey, Nuevo León México.
- 1999** XXXIV Congreso Mexicano de Química y
XVIII Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C.
Monterrey, Nuevo León México.
- 2000** Congreso Regional de Estudiantes de Química
Sociedad Química de México, Región Nuevo León
Monterrey, Nuevo León México
- 2001** 1° Congreso Regional de LQI
Carrera de Licenciado en Química Industrial
Ciudad Universitaria, San Nicolás de Los Garza Nuevo León.
- 2001** IX Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica
Academia Mexicana de Química Inorgánica, A.C.
Monterrey, Nuevo León México.
- 2001** XXXVI Congreso Mexicano de Química y
XX Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C.
Ixtapa, Guerrero. México.

2002 2° Congreso Regional de LQI
Carrera de Licenciado en Química Industrial
Ciudad Universitaria, San Nicolás de Los Garza Nuevo León.

2002 XXV Congreso Latinoamericano de Química
XXXIV Congreso Mexicano de Química y
XVIII Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C.
Cancún, Quintana Roo México

2003 XXXVII Congreso Mexicano de Química y
XXI Congreso Nacional de Educación Química
Sociedad Química de México, A.C.
Ixtapa, Guerrero México

Concursos

Sexta Olimpiada Estatal de Biología

Universidad Autónoma de Nuevo León y Academia de
Investigación Científica
Monterrey, Nuevo León México.
16 de mayo de 1996

Séptima Olimpiada Estatal de Biología

Universidad Autónoma de Nuevo León y Academia de
Investigación Científica
Monterrey, Nuevo León México.
17 de mayo de 1997

Publicaciones

- 1998** Exposición del Proyecto: "Cerame" Cera antiempañante para todo tipo de superficies
Exposición de proyectos Emprendedor de la carrera de Licenciado en Química Industrial
Facultad de Ciencias Químicas
Monterrey, Nuevo León México
- 2002** Conferencia: "Determinación de una actividad tipo lignina peroxidasa en actinomicetos termofilos"
Seminario de Laboratorio Químico Integrado
Facultad de Ciencias Químicas
Monterrey, Nuevo León México
- 2003** Cartel: "Biodegradación Aeróbica de BTEX en presencia de EMTB en matrices de suelo"
XXVII Congreso Mexicano de Química
Sociedad Química de México, A.C.
Ixtapa, Guerrero México
- 2003** Taller: "Técnicas de Biorremediación en Suelos y Aguas"
Facultad de Agronomía y Lab. de Biorremediación Ambiental
Marín, Nuevo León
- 2003** Acuna-Askar, K., Villarreal-Chiu, J. F., Gracia-Lozano, M. V., Garza-González, M. T., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Sánchez, I. P. y Barrera-Saldaña, H. A. (2003a). *BTE-oX biodegradation kinetics with MTBE through bioaugmentation*. Proceedings of the 4th Specialized International Water Association Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water (ECOHAZARD 2003). Aachen, Alemania pp 43-1 - 43-7.
- 2004** Acuna-Askar, K., Gracia-Lozano, M. V., Villarreal-Chiu, J. F., Garza-González, M. T., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Sánchez, I. P. y Barrera-Saldaña, H. A. (2003). *The role of a nonionic surfactant on biodegradation efficiency kinetics models on BTE-oX and MTBE*. Proceedings of the 4th International Water Association World Water Congress, Marruecos, 19-24 septiembre de 2004 (sometido a publicación).

- 2004** Acuna-Askar, K., Gracia-Lozano, M. V., Villarreal-Chiu, J. F., Marmolejo, J.G., Garza-González, M. T. and Chávez-Gómez, B. (2003). *Effect of soil and a nonionic surfactant on BTEo-X and MTBE biodegradation kinetics*. Proceedings of the 4th International Water Association World Water Congress, Marruecos, 19-24 septiembre de 2004 (sometido a publicación).

Experiencia laboral

Fac. de Biología UANL Área de alimentos (mar. 2002 – ago. 2001) Laboratorio de Alimentos

- Auxiliar de investigación en el área de alimentos.-
Área de análisis cuantitativos y cualitativos por métodos espectroscópicos e investigación de la influencia de metales en organismos vivos.

Fac. de Biología UANL (feb. 2002 – jul. 2002) Departamento de Enzimología

- Auxiliar de investigación en el área de bioquímica.-
Investigación de enzimas extra celulares en la biodegradación de materia vegetal.

Fac. de Medicina (UANL (sep. 2002 – dic. 2003) Laboratorio de biorremediación ambiental

- Tesista investigador en el área de salud ambiental.-
Investigación de biorremediación ambiental en mantos freáticos impactados por hidrocarburos.

Idiomas

Ingles 65%

