

# BIODEGRADACIÓN DE DIESEL MEXICANO POR UN CONSORCIO DE BACTERIAS DE UN SUELO AGRÍCOLA

SANTIAGO CARDONA

*Instituto de Ingeniería, Coordinación de Ingeniería Ambiental, Grupo de Saneamiento de suelos y acuíferos. UNAM, México.*

ROSARIO ITURBE

*Instituto de Ingeniería, Coordinación de Ingeniería Ambiental, Grupo de Saneamiento de suelos y acuíferos. UNAM, México.*

Recibido para revisar 3 de Julio de 2002, aceptado 20 de enero de 2003, versión final 28 de Febrero de 2003 .

**RESUMEN:** Se realiza la biodegradación de diesel presente en agua por medio de microorganismos de un suelo agrícola. Se determina la cinética de biotransformación y adsorción del diesel para su aplicación en los proyectos de saneamiento de suelos y acuíferos contaminados con diesel. Se presenta la metodología y los resultados de la biodegradación y la adsorción del diesel contenido en agua sintética así como la caracterización del suelo de cultivo seleccionado para el estudio. La degradación se realiza utilizando los microorganismos nativos del suelo de cultivo seleccionado, al cual se le suministra nitrógeno como nutriente y sin él. El peróxido de hidrógeno se suministra como fuente de oxígeno. Por último se presentan los análisis de las cinéticas que determinan la volatilización del diesel. Con los resultados obtenidos se determinan las ecuaciones cinéticas de degradación, adsorción y se calcularon las constantes de velocidad.

**PALABRAS CLAVES:** Biodegradación , Diesel, Suelo Agrícola, Consorcio de Bacterias.

**ABSTRACT:** The biodegradation of diesel in water was done by means of the microorganisms present in an agriculture soil. The kinetics of biodegradation and adsorption of diesel were determined in order to applying the procedure in soil and water resources contaminated with diesel. The methodology and results of biodegradation and adsorption of diesel in sintetic water is presented with a soil caracterizacion. Degradation take place using the original microorganisms present in the soil but giving nitrogen as nutrient. As as oxygen source the hydrogen peroxid was used. The kinetics of diesel volatility are presented too. Kinetics equations for degradation, adsorption and speed constant were determined with the obtained results.

**KEYWORDS:** Biodegradation, Diesel, Agriculture Soil, Bacterium Group.

## 1. INTRODUCCIÓN

La biodegradación de Hidrocarburos del Petróleo (HP) por las poblaciones microbianas nativas representan uno de los principales mecanismos por el cual el petróleo y sus derivados pueden disminuir considerablemente su presencia en el medio ambiente, teniendo identificados como los principales factores para el suelo: los fisicoquímicos y los biológicos (pH, Humedad, nutrientes, tamaño de la partícula y

homogeneidad, densidad, permeabilidad y contenido de materia orgánica). La contaminación de acuíferos con HP es un problema ambiental de grandes proporciones que ha permitido el desarrollo de diversas tecnologías (Hunkeler *et al.*, 1998). El tratamiento *in situ* ha tenido una especial atención debido a que permite una completa mineralización de los HP sin profundas excavaciones de la zona contaminada ni la aplicación de sistemas de saneamientos costosos. En acuíferos contaminados con HP, las poblaciones de microorganismos nativos que

pueden mineralizar los HP son usualmente utilizadas por estar aclimatadas al medio (Atlas, 1972; Cassidy *et al.*, 1997; Hunkeler *et al.*, 1998; Jackson *et al.*, 1999; Suthersan, 1994). En las zonas contaminadas la biorremediación en el sitio usa esquemas de oxidantes externos,  $O_2$ ,  $H_2O_2$  para estimular, incrementar y mejorar las tasa de degradación (Fiorenza, 2000; Hunkeler *et al.*, 1998; Pardieck *et al.*, 1992). Se ha propuesto la cinética de degradación de primer orden para la biotransformación del diesel en sistemas aerobios (Jackson *et al.*, 1990; Suthersan, y 1997). Se han reportado variados trabajos referentes a la biodegradación del diesel bajo diferentes condiciones ambientales, concentración, nutrientes, pH y densidad de microorganismos (Cassidy *et al.*, 1997; Hunkeler *et al.*, 1998; Jackson *et al.*, 1990; Márquez-Rocha, 2001; Pardieck *et al.*, 1992; Zegarra, 2002). Los reactores fuera del sitio permiten la verificación de la mineralización de los HP. Para la adsorción del diesel en suelo los datos han presentado un mejor ajuste con el modelo de Langmuir, determinando el coeficiente de distribución del diesel en el suelo agrícola con el modelo de isoterma lineal (Bendient *et al.*, 1994; Iturbe y Silva, 1992). En este estudio, el objetivo fue obtener la evolución de la mineralización de la mezcla de diesel en condiciones aerobias por medio de un suelo agrícola que contenía una densidad bacteriana inicial de  $6.4 \times 10^5$  unidades formadoras de colonias/gramo de suelo, al cual se suministró como fuente de oxígeno el  $H_2O_2$  y la adición de nitrógeno a escala de laboratorio por medio de reactores "batch", la adición de fósforo no se realizó por la concentración elevada presente en el suelo. Se determina su capacidad máxima de adsorción con el modelo de Langmuir y el coeficiente de distribución de diesel en el suelo agrícola con el modelo de isoterma lineal. Se determinaron los modelos cinéticos de degradación biológica de primer orden de acuerdo con la ecuación de Michaelis-Menten (Cassidy *et al.*, 1997; Jackson *et al.*, 1990; 1992 y 1994, Márquez-Rocha, 2001; Yang *et al.*, 2000). Se propuso el uso del  $H_2O_2$  por su fácil manejo, almacenamiento, economía y por tener la capacidad de disolverse siete veces más que el  $O_2$  en el agua (Pardieck, 1992).

## 1 METODOLOGÍA

### 1.1 Caracterización del suelo

El suelo seleccionado para el estudio corresponde a un suelo de cultivo del Rancho San Francisco, ubicado en San Andrés Mixquic, México, D.F., propiedad de la Facultad de Veterinaria de la UNAM. La caracterización del suelo permitió obtener las propiedades físicas y químicas para poder acoplarlas al diseño de la barrera reactiva permeable. Los análisis del suelo se realizan de acuerdo con los procedimientos validados por la *Soil Science Society of America, Inc.* y *American Society of Agronomy, Inc.* de Estados Unidos de Norteamérica, excepto los seguidos de su referencia. Se determinaron: porcentaje de humedad, porcentaje de materia orgánica, pH, nitrógeno total (amoniacal y nitratos), fósforo disponible (ortofósforos), clasificación del suelo, conductividad eléctrica, sólidos suspendidos volátiles (Deyta, 1999), densidad real y aparente del suelo (Aguilera *et al.*, 1989), porosidad (Aguilera *et al.*, 1989), textura (Foth y Turk, 1972), color (Macbeth División of Kollmorgen Corporation, 1973), salinidad, conductividad hidráulica (Bedient *et al.*, 1994), capacidad de campo y densidad de biomasa (UFC/gr).

### 1.2 Cinéticas de biodegradación

Para estas pruebas se utilizó el suelo con aplicación de nitrógeno como nutriente y sin él. El procedimiento consistió en agregar 20 gramos de suelo en un vial de 40 mL. Luego se aplicó la concentración de diesel para cada corrida. Se adicionó nitrógeno de acuerdo con los requerimientos del suelo: 120 mg amonio (46% de nitrógeno) por 20 gramos de suelo. No se adicionó fósforo por el alto contenido del nutriente en el suelo. La adición del  $H_2O_2$  se realizó paulatinamente durante ocho días hasta alcanzar 2.5 mL. Se comparó con un suelo sin nutrientes con el mismo procedimiento anterior. Igual que el peróxido de hidrógeno, el nitrógeno se aplicó en bajas cantidades por pulsos durante

los primeros ocho días del experimento hasta lograr lo requerido por los organismos para evitar la toxicidad y lograr la aclimatación (Fiorenza *et al.*, 2002; Marquez rocha *et al.*, 2002; Pardieck *et al.*, 1992). Posteriormente se tomaron muestras durante diez días a partir de los ocho días de aclimatación de los microorganismos del suelo. Los ensayos de las cinéticas se realizaron en tres corridas con concentraciones diferentes y por duplicado. Las concentraciones aplicadas en el estudio se tomaron de las investigaciones realizadas, donde se recomienda para degradar diesel un valor menor de 40,000 mg/L aunque otros autores recomiendan menores a 100,000 mg/L (Zegarra, 2000), como máximas para evitar la inhibición de los microorganismos del suelo agrícola. Los reactores utilizados fueron los recomendados para el análisis en cromatografía de gases de material de vidrio oscuro con rosca de seguridad para evitar la volatilización del hidrocarburo. Finalmente se analizaron las muestras del estudio en un cromatógrafo de gases con selector de masa 5890 serie II de marca Hewlett Packcard, con el *TNRCC Method 1005-Total Petroleum Hydrocarbons of The Petroleum Storage Tank (PST) Division* (1998). El modelo del proceso biológico se simuló a partir de la reacción enzimática de Michaelis-Menten que determina una reacción cinética de primer orden:

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (1)$$

considerando la concentración de la enzima constante,:

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (2)$$

Donde:

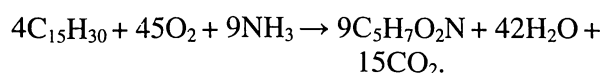
$C$  = concentración de diesel a un tiempo  $t$ .

$C_0$  = Concentración inicial de diesel,

$t$  = tiempo de residencia.

$k$  = constante cinética de biodegradación.

El diesel, el nitrógeno y el peróxido de hidrógeno se suministraron de acuerdo con la relación estequiométrica de biodegradación aerobia para hidrocarburos propuesta por (McCarty, 1988) y la ecuación para diesel recomendada por (Jackson, 1990):



### 1.3 Proceso de adsorción y determinación del coeficiente de distribución del diesel

Las pruebas de adsorción se realizaron con la finalidad de conocer la cantidad de diesel que se adsorbe por las partículas del suelo y determinar el coeficiente de distribución del diesel en el suelo. Para las pruebas se utilizaron viales de 40 mL. Se pesaron 20 gramos de suelo y se aplicaron a los viales por triplicado. A cada vial se le agregó 30 mL de pentano. Para el diesel se colocaron cinco concentraciones diferentes en los viales (40,000; 30,000; 20,000; 10,000 y 5,000 mg/L). Finalmente se pusieron los viales bajo agitación horizontal durante 48 horas a 50 revoluciones por minuto. Se analizó el sobrenadante del vial en el cromatógrafo de gases con selector de masa 5890 serie II de marca Hewlett Packcard. Se planteó la ecuación y la gráfica para determinar el coeficiente de distribución del diesel,  $K_d$  (Bedient *et al.*, 1994; Iturbe y Silva, 1992). Para calcular la concentración del compuesto adsorbido en la masa de suelo  $C_s$ , se empleó la siguiente ecuación de equilibrio dinámico de adsorción:

$$C_s = \frac{(C_o - C_w)}{W} V \quad (3)$$

Donde:

$C_s$  = concentración de diesel adsorbido por el suelo (mg/g).

$C_o$  = concentración inicial de diesel (mg/L),

$C_w$  = concentración de equilibrio (mg/L).

$V$  = volumen de la solución (L)

$W$  = masa del suelo (g)

El coeficiente de distribución  $K_d$  se obtuvo de acuerdo con el modelo de isoterma lineal:

$$C_s = K_d C_w$$

Donde:  $K_d$  corresponde a la pendiente de la recta de regresión obtenida al graficar los valores de

$C_w$ , en la abscisa y  $C_s$  en la ordenada (Bedient *et al.*, 1994; Iturbe y Silva, 1992). El coeficiente de distribución expresa la relación de equilibrio entre la fase sólida y la fase líquida, presentando unidades de volumen de solución/masa de la fase sólida,  $mL/g$ . El otro parámetro principal para medir el grado de adsorción en el suelo es el factor de retardo  $R$ . El factor de retardo está influido por el coeficiente de distribución. Cuanto mayor sea la afinidad del soluto con la fase del suelo, el soluto será adsorbido en mayor grado y el valor de  $K_d$  será mayor. Los solutos que se adsorben más son aquellos que presentan un comportamiento hidrofóbico acentuado (Iturbe y Silva, 1992). Cuando la distribución del contaminante puede ser descrita con una isoterma lineal, el factor de retardo se expresa a partir de la siguiente expresión (Bedient *et al.*, 1994; Freeze, 1979):

$$R = \frac{v}{v_c} = 1 + K_d + \frac{\rho_b}{\eta} \quad (5)$$

Donde

$v$  = Promedio de la velocidad lineal del agua subterránea.

$v_c$  = Velocidad de la masa del contaminante retardado.

$R$  = Factor de retardo.

$K_d$  = Coeficiente de distribución.

$\rho_b$  = Densidad aparente de la muestra de suelo.

$\eta$  = Porosidad del suelo.

#### 1.4 Volatilización del diesel

Se llevó a cabo el ensayo de volatilización de diesel durante ocho días por duplicado (Márquez-Rocha *et al.*, 2001). Se aplicó a cada vial una concentración aproximada de 57,800 mg/L de diesel y luego se agitó a 50 rpm. Finalmente se analizó en el cromatógrafo de gases la concentración no volatilizada.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Caracterización del suelo

pH	7.35 (25°C)
Humedad (%)	0.61
Carbono orgánico (%)	1.404
Conductividad eléctrica:	942 micro siemens (18°C)
Salinidad (%)	0.466 (18°C)
UFC/gr de suelo natural (heterótrofas)	6.4x10 <sup>5</sup> unidades formadoras de colonias/gr de suelo
UFC/g de suelo final del estudio (heterótrofas)	8x10 <sup>7</sup> y 3.2x10 <sup>8</sup> de UFC/g a los 18 días
Clasificación del suelo	SM-Arena limosa mal graduada de baja plasticidad
Fósforo disponible	280 mg/L
Nitrógeno total (amoniaco y nitratos)	250 mg/L
Densidad real suelo agrícola	2.64 g/mL
Densidad aparente suelo agrícola	1.49 g/mL
Porosidad suelo agrícola	43.94 g/mL
Sólidos suspendidos volátiles, SSV (%) en el suelo natural	2.66, suelo de tipo mineral, 90% son sólidos inorgánicos
SSV (%) en el suelo al final del estudio	15.50, a los 18 días
Textura	Migajón Arenoso
Color muestra seca	10YR:5/2, castaño grisáceo (grayish brown)
Color muestra humedad	10YR:2/2, café muy oscuro (very dark brown)
Conductividad hidráulica	1.122x10 <sup>-4</sup> cm/sg
Capacidad de campo (%)	21.75
Factor de retardo, R	5.81

La caracterización del suelo muestra las condiciones disponibles para la biodegradación del diesel presente en agua por los microorganismos presentes. El pH, la salinidad, la conductividad eléctrica son aceptables para el crecimiento de las bacterias degradadoras de diesel. Las unidades formadoras de colonias son las recomendadas para iniciar los procesos de saneamiento de suelo y acuíferos contaminados (Burke *et al.*, 2000; Deyta, 1999; Jackson, 1992; Zegarra, 2000). Los nutrientes disponibles en el suelo agrícola presentaron abundancia con respecto al fósforo y una deficiencia de nitrógeno

en 10 veces con lo requerido al cálculo estequiométrico de la reacción y a lo reportado por otros estudios (Burke, 2000; Cassidy *et al.*, 1997; Jackson, 1992). La clasificación del suelo, los SSV y la textura son consecuentes con su composición predominantes mineral y para el soporte de las bacterias degradadoras. La humedad y la capacidad de campo presentan a un suelo seco al cual se le suministró la humedad adecuada para el estudio, ya que las muestras se tomaron en época de sequía en el mes de mayo. El color y el porcentaje de carbón orgánico disponible en el suelo guardan una correspondencia lógica de su análisis, ya que el color obtenido corresponde con el contenido de materia orgánica y con la consecuencia de tener bacterias en el suelo de interés. La conductividad hidráulica calculada muestra la baja velocidad que alcanza el flujo de agua a través del suelo en estudio, lo cual presenta el tiempo de retención hidráulico adecuado del diesel en el suelo para la

degradación por las bacterias presentes. Las densidades obtenidas presentan lo requerido de suelo agrícola para la aplicación en campo para el tratamiento del agua contaminada con diesel. El factor de retardo calculado para el diesel presentó una velocidad de 5.81 veces menor que la velocidad del agua en el suelo agrícola y es las veces que demoraría en llegar el diesel a un punto determinado en caso de derrame con las características del suelo aplicado en el estudio.

### 3.1 Biodegradación

#### Corrida 1:

Es esta etapa se aplicó una corrida con nutrientes (nitrógeno) y  $H_2O_2$  como fuente de oxígeno al suelo y otra sin nutrientes. Con nutrientes y  $H_2O_2$ , como se ve en la Tabla 1 y Figura 1.

Tabla 1. Biotransformación del diesel por biomasa del suelo.

Días	C (mg/L) sobrenadante	C/Co	C (mg/L) Inicial	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
0	28,411.70	1			
9	20,733.75	0.73			
10	18,974.19	0.67			
11	17,214.64	0.61			
12	23,901.00	0.84			
13	16,637.95	0.59	28,411.70	0.0485	14.23
14	8,046.97	0.28			
15	10,176.41	0.36			
16	10,237.96	0.36			
17	5,494.89	0.19			
18	4,897.73	0.17			

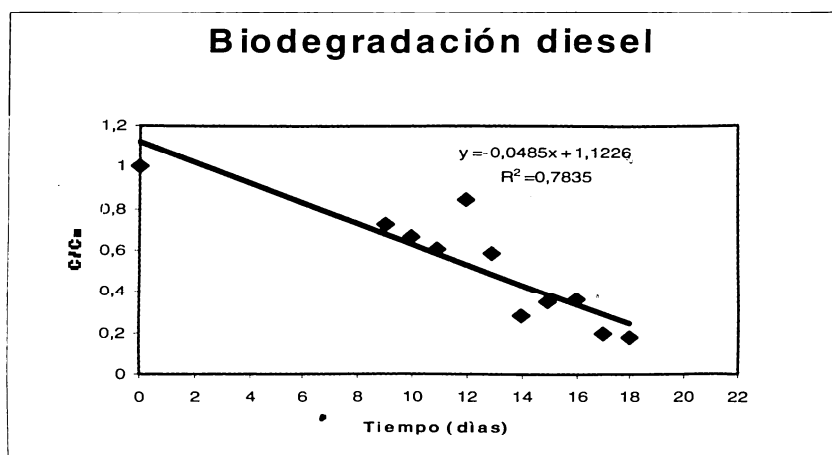


Figura 1. Cinética de biodegradación de diesel.

El resultado sin nutrientes: Suelo + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se ve en la Tabla 2 y Figura 2

Tabla 2. Biotransformación de diesel por biomasa del suelo.

Días	C (mg/L) sobrenadante	C/Co	C (mg/L) Inicial	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
0	22,165.60	1			
9	21,451.68	0.97			
10	20,316.45	0.92			
11	21,269.87	0.96			
12	18,045.97	0.81			
13	16,910.73	0.76	22,165.60	0.0356	19.47
14	18,530.97	0.84			
15	14,640.36	0.66			
16	16,626.65	0.75			
17	12,737.32	0.57			
18	8,228.91	0.37			

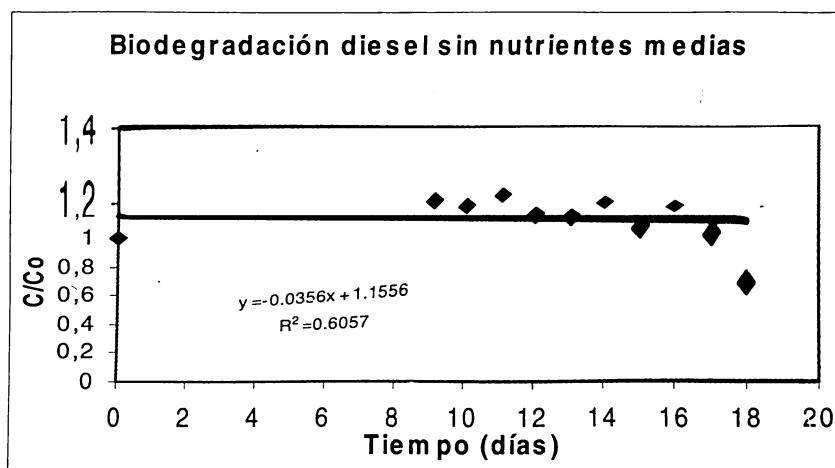


Figura 2. Cinética biodegradación de diesel.

### Segunda corrida

Es esta etapa se aplicó una corrida con una concentración de diesel mayor a la anterior para determinar la velocidad de degradación. Se

estimuló el metabolismo microbiano con nitrógeno y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como fuente de oxígeno. Con nutrientes y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; como se ve en la Tabla 3 y Figura 3.

Tabla 3. Biotransformación de diesel por biomasa del suelo.

Días	C (mg/L) sobrenadante	C/Co	C (mg/L) Inicial	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
0	39,870.37	1			
9	36,882.88	0.93			
10	36,211.88	0.91			
11	35,540.87	0.89			
12	36,994.10	0.93			
13	33,660.34	0.84	39,870.37	0.0147	47.14
14	34,304.38	0.86			
15	32,856.87	0.82			
16	32,218.97	0.81			
17	30,714.68	0.77			
18	29,978.26	0.75			

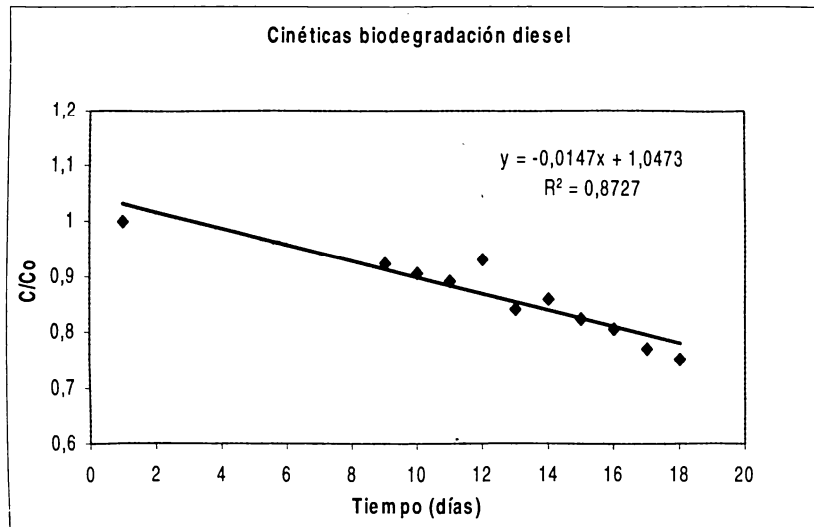


Figura 3. Cinética biodegradación de diesel.

Los resultados sin nutrientes: suelo + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se ven en la Tabla 4 y en la Figura 4.

Tabla 4. Biotransformación de diesel por biomasa del suelo.

Días	C (mg/L) sobrenadante	C/Co	C (mg/L) Inicial	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
0	15481,66	1			
9	7764,07	0,50			
10	8971,37	0,58			
11	8365,95	0,54			
12	7760,53	0,50			
13	7155,12	0,46	15,481.66	0.0378	18.33
14	6549,7	0,42			
15	5944,28	0,38			
16	5338,86	0,34			
17	4733,44	0,31			
18	4953,84	0,32			

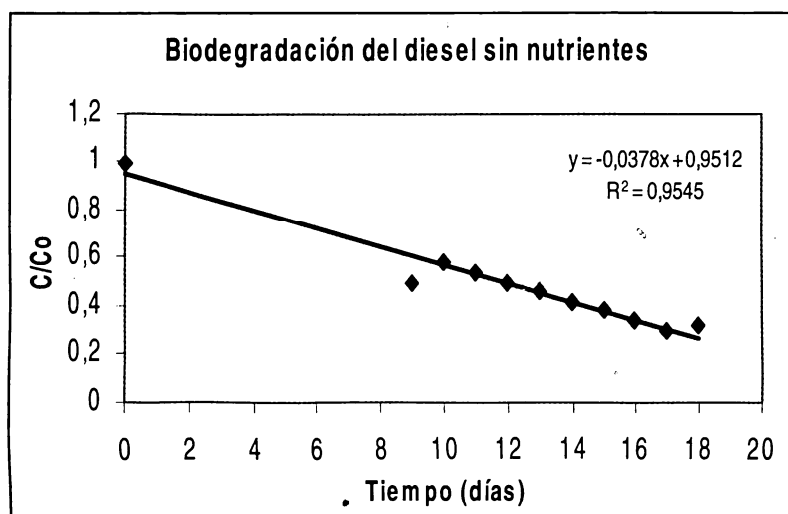


Figura 4. Cinética de biodegradación diesel.

*Tercera corrida*

Es esta etapa se aplicó una corrida con nutrientes (nitrógeno) y  $H_2O_2$  como fuente de oxígeno al suelo y otra con peróxido de hidrógeno sin

nutrientes. Con nutrientes y  $H_2O_2$ , los resultados se ven en la Tabla 5 y en la Figura 5.

Tabla 5. Biotransformación de diesel por biomasa del suelo.

Días	C (mg/L) sobrenadante	C/Co	C (mg/L) Inicial	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
0	31,480.65	1	31,480.65	0.0438	15.82
9	23877,56	0.76			
10	24833,10	0.79			
11	19175,10	0.61			
12	12100,54	0.38			
13	15890,64	0.50			
14	13144,46	0.42			
15	12606,64	0.40			
16	10138,75	0.32			
17	9322,40	0.30			
18	12602,19	0.40			

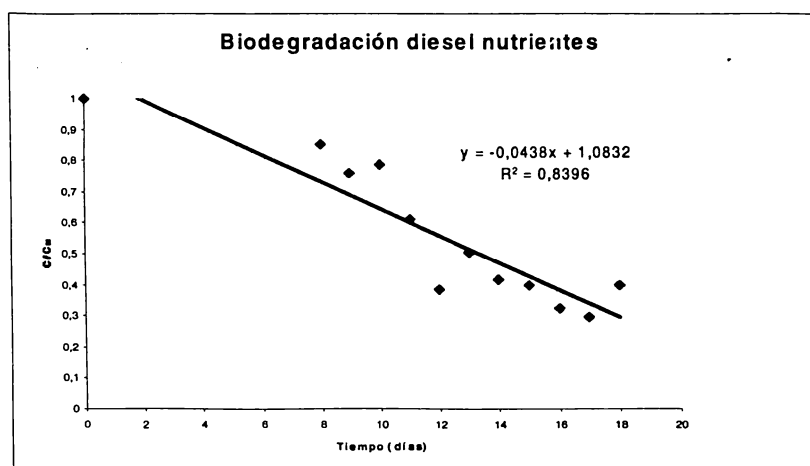


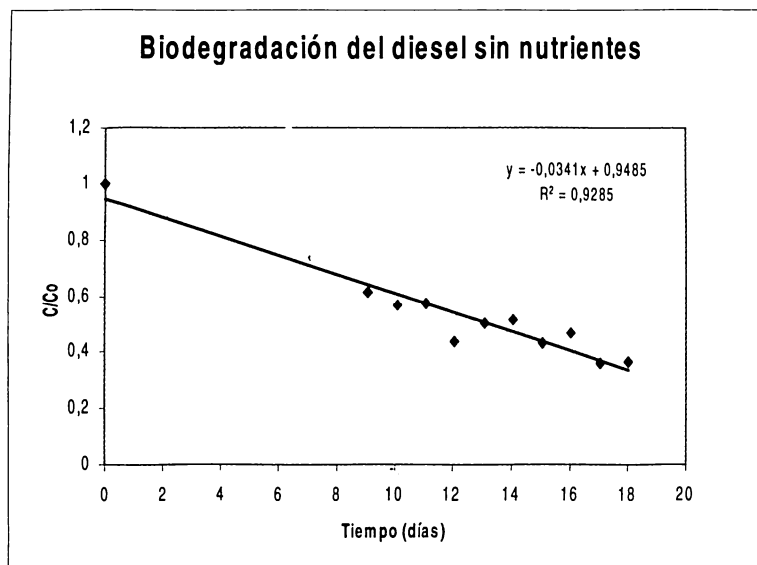
Figura 5. Cinética de Biodegradación de diesel.

Los resultados sin nutrientes: Suelo+ $H_2O_2$ , se ven en la Tabla 6 y en la Figura 6.

Tabla 6. Biotransformación del diesel por biomasa del suelo.

Días	C (mg/L) sobrenadante	C/Co	C (mg/L) Inicial	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
0	31480,65	1	31,480.65	0.0341	20.32
9	19390,00	0,62			
10	17848,91	0,57			
11	17972,83	0,57			
12	13757,42	0,44			
13	15769,21	0,50			
14	16253,47	0,52			
15	13565,58	0,43			
16	14609,78	0,46			
17	11361,96	0,36			
18	11474,27	0,364			





Gráfica 6. Biodegradación de diesel.

Tabla 7. Resumen de la velocidad y tiempo de vida media para la biodegradación.

Corrida	K (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)	C inicial (mg/L)	Porcentaje degradado
Con nutrientes				
1	0.0444	15.61	28,411.70	80.66
2	0.0115	19.47	39,742.40	18.93
3	0.0420	16.50	31,480.65	59.97
Sin nutrientes				
1	0.0356	19.49	22,165.60	62.18
2	0.0352	19.69	15,481.66	63.97
3	0.0329	21.06	31,480.65	63.55

Como se presenta en la Tabla 7, para las tres concentraciones diferentes, aplicadas para estudiar la biodegradación del diesel en presencia de nutrientes, se observó que a una concentración más alta el tiempo de vida media,  $t_{1/2}$  se amplía más para lograr la biodegradación y la velocidad disminuye en una tercera parte, lo que muestra la influencia en gran medida de la concentración en la transformación del diesel. Esto es consecuente con lo reportado en otros estudios (Marquez-Rocha *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2000). Las constantes de velocidad determinadas con nutrientes ( $0.04d^{-1}$ ) se relacionan con los valores propuestos por otros investigadores para la biodegradación del diesel (Jackson *et al.*, 1994). Sin nutrientes se observó una condición similar, presentando las velocidades y  $t_{1/2}$  similares.

Los dos métodos, con nutrientes y sin ellos presentan una diferencia menor para bajas

concentraciones pero a mayores concentraciones se muestra una diferencia más acentuada, lo cual ratifica la necesidad del suministro de nutrientes esenciales para lograr una adecuada biodegradación (MacCarty, 1988). En el sistema de biodegradación se muestra que los porcentajes del contaminante removido son menores con el aumento de la concentración. En la tercera corrida la diferencia entre el porcentaje degradado para las muestras con nutrientes y sin ellos es muy baja pero con una marcada diferencia en la constante de velocidad, lo que demuestra que la biotransformación aerobia es un mecanismo adecuado para remover el diesel con el suministro de los nutrientes necesarios para las biomasa nativa del suelo ((MacCarty, 1988; Fiorenza *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2000). La relación C:N:P suministrada a partir de la ecuación propuesta por (MacCarty, 1988) y la fórmula química para el diesel de (Jackson *et al.*,

1994) presentaron consistencia con las relaciones reportadas en la literatura para C:N:P de 100:15:1 respectivamente (Burke, 2000; Cassidy *et al.*, 1997; Jackson, 1992). La adición del  $H_2O_2$  como fuente de  $O_2$  tuvo un comportamiento adecuado como aceptor de electrones ya que los datos obtenidos reportan la biodegradación del diesel, lo cual es consistente con los procesos propuestos como fuentes alternas y económicas de suministro de oxígeno (Fiorenza *et al.*, 1997; Freijer, 1996; Pardieck *et al.*, 1992). La biodegradación se constató adicionalmente con los ensayos de sólidos suspendidos volátiles (SSV) y la cuenta total en placa de organismos heterótrofos, como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC/g) para observar el crecimiento de los microorganismos presente en el suelo de cultivo. Los SSV aumentaron de 2.66% en el suelo original hasta 15.50% al final del ensayo, este crecimiento de los SSV se ha reportado en otros estudios (Deyta, 1999). Las UFC/g presentaron también un aumento de forma similar a lo reportado en otros trabajos desde  $6.4 \times 10^5$  UFC/g en el suelo original hasta  $8 \times 10^7$  y  $3.2 \times 10^8$  de UFC/g en el suelo después del ensayo de biodegradación (Marquez-Rocha *et al.*, 2001). Los tiempos de vida media obtenidos, muestran la influencia de la concentración del hidrocarburo en la actividad

bacteriana, el aumento en la concentración del diesel inhibe y crea condiciones de toxicidad a los microorganismos del suelo; aproximándose al umbral de las concentraciones reportadas como inhibitoras del metabolismo bacterial para los procesos de saneamiento de suelos contaminados (Zegarra, 2000).

### 3.2 Adsorción

La adsorción del diesel se representó adecuadamente por la ecuación de Langmuir con un comportamiento en correspondencia lógica con lo reportado en la literatura para los compuestos orgánicos (Bendient *et al.*, 1994; Iturbe, 1992). La capacidad máxima de adsorción ( $C_s$ ) obtenida con la ecuación de Langmuir del suelo agrícola fue de 17.40 mg/g para una concentración de 36,548 mg/L, el  $K_d$  de 0.8 mL/g y un coeficiente de distribución de carbono orgánico ( $K_{oc}$ ),  $K_{oc} = K_d/f_{oc} = 0.8/0.01404 = 56.98$  mL/g. Esto se ve en la Tabla 8 y Figura 7.

Tabla 8. Resultados de adsorción en suelo.

Co (mg/L)	Cw eq. (mg/L) Sobrenadante	Cs (mg/g) adsorbida	V (L) Volumen	W (g) masa de suelo	C (mg/L) teórica	$K_d$ (mL/g)
<b>SUELO</b>						
5,753.50	4,551.94	1.802	0.030	20	5,000	0.800
10,124.00	7,734.10	3.585			10,000	
19,330.46	13,764.97	8.348			20,000	
30,664.74	20,111.37	15.830			30,000	
36,548.48	24,948.02	17.401			40,000	

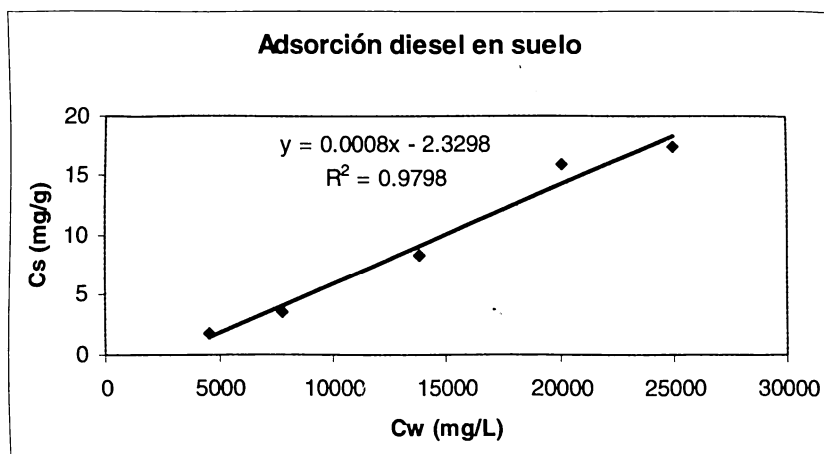


Figura 7. Cinética de adsorción de diesel en el suelo.

### 3.3 Volatilización

Tabla 9. Análisis de la volatilización del diesel

Tiempo (días)	Concentración n (mg/L)	Concentración promedio (mg/L)	Porcentaje de Volatilización
0	57,729.05	56,445.00	0.0000
0	55,161.01		
2	57,457.64	56,315.71	0.2300
2	55,173.78		
4	57,260.35	57,157.90	0.0000
4	57,055.45		
6	58,083.22	56,743.52	0.0000
6	55,403.81		
8	56,298.64	55,423.16	0.0000
8	54,547.68		

La volatilización del diesel en los ensayos realizados fue de cero, lo cual es similar a lo reportado en otros estudios (*Marquez-Rocha et al.*, 2001) que fue menor a 5% de la concentración inicial. Los resultados de la volatilización del diesel, como lo muestra la tabla 9, presentaron una baja pérdida de éste, lo que hace concluir que el hidrocarburo no se volatiliza dentro de los reactores “batch” y se transforma por biodegradación, oxidación o adsorción en el suelo.

### CONCLUSIONES

- Se muestra la influencia en gran medida de la concentración en la transformación del diesel, lo cual hace menor o mayor la tasa de transformación.
- En el sistema de biodegradación se muestra que los porcentajes del contaminante removido son menores con el aumento de la concentración, por la inhibición que causan los hidrocarburos a las bacterias del suelo.

- Se observaron velocidades de biotransformación similares a las suministradas en la literatura.
- Los SSV y las UFC/g presentaron el crecimiento de la biomasa microbial, siendo estas unas herramientas adecuadas para observar el cambio en los organismos encargados de la biodegradación.
- El  $H_2O_2$  tuvo un comportamiento adecuado como fuente de  $O_2$  en el proceso aerobio de transformación del diesel, lo cual es consecuente con los datos de los SSV y las UFC/g.
- Los dos métodos, con nutrientes y sin ellos presentan una diferencia menor para bajas concentraciones, debido a la alta presencia del fósforo, pero a mayores concentraciones se muestra una diferencia más acentuada.
- La cinética de biodegradación se representó adecuadamente por una ecuación de grado uno.
- La adsorción del diesel se comportó apropiadamente por la ecuación de Langmuir y con un menor ajuste con el modelo de Freundlich. No se apreció volatilización en las pruebas con diesel.
- Los reactores fuera del sitio permitieron observar la evolución de la mineralización del diesel.
- La volatilización del diesel no se presentó y la adsorción del suelo mostraron que el diesel remanente se biodegradó hasta el periodo del estudio, lo cual está en relación con la biotransformación presentada en otras investigaciones.
- Finalmente se pudo observar la biodegradación del diesel por los microorganismos nativos de un suelo agrícola. La caracterización del suelo agrícola presentó las cualidades deseables para ser usado en un proceso de tratamiento de agua subterránea contaminada con diesel.

## REFERENCIAS

- Aguilera, N. y Domínguez, I. Metodología de análisis físico-químicos de suelos. Facultad de Ciencias de la UNAM. México, D.F, 1989.
- Atlas, R. et al. Degradation and mineralization of petroleum in sea water: Limitation by nitrogen and phosphorous. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. XIV, 309-318, 1972.
- Baker, K. and Herson D. Bioremediation. McGraw-Hill, Inc. New York, 1994.
- Bedient, P. et al., *Ground Water Contamination. Transporte and remediation*. Prenteci Hall, Inc. New Jersey, USA, 1994.
- Burke, G. et al. Bioremediation. *Handbook of environmental management and technology*. Second edition. John Wiley & Sons, Inc. Publication. New York. Pg597-614, 2000.
- Cassidy, D. et al. Biological Treatment of soil contaminated with diesel fuel using periodically operated slurry and solid phase reactors. *Water Science Technology*, 1, (35), pp. 185-192, 1997.
- Deyta, A. Caracterización de dos suelos contaminados con gasolina y evaluación de su potencial degradadora de hidrocarburos monoaromáticos. Tesis de Maestría en Biotecnología. Facultad de Química. Colegio de Ciencias y Humanidades de la UNAM. México, D. F, 1999.
- Fiorenza, S. et al. Microbial adaptation to hydrogen peroxide and biodegradation of aromatic hydrocarbons. *J. of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 18: 140-151, 1997.
- Fiorenza, S. et al. *Sequenced reactive barriers for groundwater remediation*. Lewis Publishers, CRC Press LLC. Boca Raton , Florida, 2000.
- Foth, H. y Turk, L. *Fundamentos de la ciencia del suelo*. Compañía Editorial Continental, S.A. CECSA y John Wiley and Sons, Inc. México, D.F, 1972.
- Freeze, J. and cherry, R. Groundwater. Prentice Hall, Inc. New Jersey, USA, 1979.
- Freijer, J. Mineralization of hydrocarbons in soils under decreasing oxygen availability. *Environmental Quality*. 25: 296-304, 1996.
- Hunkeler, D. et al. Petroleum hydrocarbon mineralization in anaerobic laboratory aquifer columns. *J. Of Contaminant Hydrology*. 32: 41-61, 1998.
- Iturbe A. y Silva M. "Agua subterránea y contaminación". *Series del Instituto de Ingeniería*, No. 539. UNAM, 1992.
- Jackson, J. Bioremediation of diesel contaminated soils. *Proceesing of 3<sup>th</sup> annual Symposium of the Hydrology Society*. Casa

- Grande, Arizona. 309-316. September 20-21, 1990.
- Jackson, J. In-situ bioremediation of diesel contaminated soils. *Proceeing of 5<sup>th</sup> annual Symposium of the Hydrology Society*. Casa Grande, Arizona, 1992.
- Jackson, J. et al. *Using microbial kinetics in the bioremediation of contaminated soils*. Remediation of hazardous waste contaminated soils. Edited by: Donald L. Wise and Bebra J. Trantolo. Marcel Dekker, Inc. New York. 681-989, 1994.
- Macbeth Division of Kollmargen Corporation Munsell Soil Color Chart. edition. Macbeth Division of Kollmargen Corporation. Baltimore, Maryland 21218, USA. Gandoy Bernasconi, William Manual de laboratorio para el manejo físico de suelos. Temporal y riego-parcela y cuenca. Universidad Autónoma de Chapingo. Serie Agronomía No. 22. Texcoco, México, 1973.
- Márquez-Rocha, F. et al. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium. *Water, Air and soil Pollution*, 128: 313-320, 2001.
- McCarty, L. *Bioengineering issues related to in situ remediation of contaminated soils and groundwater*. In Environmental Biotechnology, Reducing risks from environmental chemicals trough biotechnology. Edited by Gilbert S. Omenn. Plenum Press. New York. 1988.
- Pardieck, D. et al. Hydrogen peroxide use to increase oxidant capacity for in situ bioremediation of contaminated soils and aquifers: A review. *J. of Contaminat Hydrology*, 9, 221-242, 1992.
- Soil Science Society of America, Inc. y American Society of Agronomy, Inc. Methods of soil analysis. Part 1, 2 y 3. Soil Science Society of America, Inc. y American Society of Agronomy, Inc. Madison, Winconsin, USA, 1984.
- Schwarzenbach, R, et al. *Environmental organic chemistry*. Jonh Wiley & Sons, Inc. New York, USA, 1993.
- Suthersan, S. *Remediation Engineering*. CRC Lewis Publisher. Boca Raton, Florida. USA, 1997.
- Yang, L. et al. Biodegradation of dispersed diesel fuel under high salinity conditions. *Water Research*, 13, (34), 3303-3314, 2000.
- Zegarra, H. Optimización de la biodegradación de diesel industrial en un suelo contaminado mediante la metodología de superficie de respuesta. Tesis de Maestría Ingeniería Ambiental. División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería de la UNAM. México, D.F, 2000.