

03060  
4



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

INSTITUTO DE GEOFISICA  
POSGRADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA

BIODISPONIBILIDAD DE  
HIDROCARBUROS EN SUELOS

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**(GEOLOGIA AMBIENTAL)**  
P R E S E N T A :  
ISABEL CAROLINA BERNAL CARRERA

TUTOR: DRA SILKE GRAM

MEXICO, D.F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Esta tesis la dedico con todo mi cariño  
a mis Padres queridos  
mis hermanitas, Rosa, Gabriela y Lucy  
mi sobrina Verita y mi cuñado Nicolas  
y por supuesto a François*

## AGRADECIMIENTOS

*Gracias a la Dirección General de Estudios de Posgrado UNAM, DGPA por otorgarme una beca de estudios. Así mismo, mi agradecimiento a la GTZ por el apoyo económico brindado para la culminación de este trabajo.*

*A los Institutos de Geofísica y Geografía, en especial al Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente, LAFQA, donde realicé mi trabajo.*

*A la Dra Silke Cram, por su calidad humana y profesional que admiro, y a todos mis compañeros del Lafqa Al Dr. Gilberto Díaz G. y la Dra. Cristina Siebe por haber compartido conmigo sus conocimientos.*

*Al Dr. Oscar Campos, Araceli y Mónica por haberme guiado y apoyado en todos los asuntos burocráticos*

*A todos mis amigos... ..*

# INDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
<b>2. MARCO TEORICO .....</b>	<b>3</b>
2.1 PETRÓLEO Y DIESEL .....	3
2.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HAPs) .....	4
2.3 EL SUELO .....	6
2.3.1 <i>Propiedades Físicas</i> .....	7
2.3.2 <i>Materia orgánica</i> .....	10
2.4 COMPORTAMIENTO DE LOS HIDROCARBUROS EN EL SUELO.....	11
2.4.1 <i>Biodisponibilidad</i> .....	11
2.4.2 <i>Sorción en suelos</i> .....	13
2.4.3 <i>Aislamiento y Envejecimiento</i> .....	17
2.5 HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO, HTPs .....	18
2.6 ESTUDIOS ANTERIORES .....	19
2.6.1 <i>Extracción con agua y una resina X (Tenax)</i> .....	19
2.6.2 <i>Extracciones no exhaustivas con solventes orgánicos</i> .....	22
2.6.3 <i>Extracción con Ciclodextrina</i> .....	26
2.6.4 <i>Evaluación de métodos</i> .....	28
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
3.1 OBJETIVO GENERAL .....	29
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES .....	29
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>30</b>
<b>5. METODO .....</b>	<b>32</b>
5.1 SELECCIÓN DEL EXTRACTANTE PARA DETERMINAR LA FRACCIÓN DISPONIBLE ..	32

5.1.1	<i>Justificación</i>	52
5.1.2	<i>Muestra utilizada</i>	53
5.1.3	<i>Determinación de fenantreno y pireno en contaminantes</i>	55
5.1.4	<i>Contaminación de suelos limpios en laboratorio</i>	57
5.1.5	<i>Extracción</i>	58
5.2	SELECCIÓN DE MUESTRAS PARA DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN DISPONIBLE EN UN EXPERIMENTO DE BIORREMEDIACIÓN	57
5.2.1	<i>Muestras utilizadas (Peña Colorada)</i>	58
5.2.2	<i>Monitoreo de la degradación mediante determinación de HTPs</i>	59
5.2.3	<i>Selección de muestras para determinación de la fracción disponible</i>	60
5.3	DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN DISPONIBLE EN SUELOS CONTAMINADOS	61
5.3.1	<i>Muestras utilizadas</i>	62
5.3.2	<i>Extracción múltiple</i>	62
5.3.3	<i>Determinación y cuantificación</i>	63
5.3.4	<i>Determinación de fenantreno y pireno en las muestras seleccionadas antes y después del experimento de biorremediación y en muestras de Tabasco</i>	63
5.4	COMPARACIÓN ENTRE LA FRACCIÓN DISPONIBLE Y EL PORCENTAJE DE DEGRADACIÓN EN MUESTRAS DEL EXPERIMENTO DE BIORREMEDIACIÓN	65
6.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	67
6.1	DETERMINACIÓN DE FENANTRENO Y PIRENO EN MUESTRAS DE DIESEL Y PETRÓLEO	67
6.2	CONTAMINACIÓN DE SUELOS LIMPIOS Y EXTRACCIÓN	67
6.3	SELECCIÓN DE SOLVENTE	67
6.4	MONITOREO DE LA DEGRADACIÓN MEDIANTE DETERMINACIÓN DE HTPs EN SUELOS DE PEÑA COLORADA DURANTE EL EXPERIMENTO DE BIORREMEDIACIÓN	67
6.5	DETERMINACIÓN DE FENANTRENO (PHE) Y PIRENO (PY) EN MUESTRAS SELECCIONADAS ANTES Y DESPUÉS DEL EXPERIMENTO DE BIORREMEDIACIÓN Y EN MUESTRAS DE TABASCO	67
6.6	DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN DISPONIBLE EN SUELOS CONTAMINADOS	67

<b>TESIS CON FALLA DE ORIGEN</b>
--------------------------------------

6.7 COMPARACIÓN ENTRE EL PORCENTAJE DISPONIBLE Y EL PORCENTAJE DE DEGRADACIÓN EN MUESTRAS DE UN EXPERIMENTO DE BIORREMEDIACIÓN.....	54
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>59</b>
<b>8. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>9. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>72</b>
CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	72
<b>ANEXO B.....</b>	<b>74</b>
DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO, HTP, POR FTIR.....	74
<b>ANEXO C.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO D.....</b>	<b>79</b>

## RESUMEN

Hasta ahora la evaluación del riesgo para la salud humana y el medio ambiente, asociado a suelos contaminados con hidrocarburos se ha basado en la utilización de técnicas tradicionales que extraen la totalidad del contaminante presente en el suelo. Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que sólo una fracción del total del contaminante tiene un efecto tóxico en los diferentes organismos y es la que participa en los procesos de biorremediación, lo que ha hecho que se sobreestime el riesgo.

Ante esta realidad, el presente estudio plantea la evaluación de la disponibilidad de hidrocarburos en el suelo, permitiendo prever los niveles de limpieza que se pueden alcanzar con un programa de biorremediación. Para ello la disponibilidad de los hidrocarburos se evaluó a partir de la extracción múltiple de la fracción disponible de fenantreno y pireno, en suelos minerales (contaminados principalmente con diesel) y suelos orgánicos (contaminados con petróleo). En los suelos minerales se realizó la evaluación antes y después de un experimento de biorremediación.

En los suelos minerales, la fracción disponible de fenantreno y pireno se liberó más rápido que en los suelos orgánicos, lo cual evidencia la acción de la materia orgánica como agente reductor de la disponibilidad. También se observa la disminución en la fracción disponible en los suelos minerales después de la biorremediación, lo que puede ser debido a que fue ésta fracción la que participó en el proceso de degradación. En consecuencia el cese en la biodegradación puede ser atribuido a la disminución en esta fracción. Además, con base a los datos obtenidos se calculó un porcentaje disponible que es aproximadamente similar al porcentaje de degradación obtenido en el experimento de biorremediación. En suma, estos resultados sugieren que el estudio de esta fracción podría ser utilizado en la predicción del alcance de los procesos de biorremediación.



## 1. INTRODUCCIÓN

México tiene en la industria petrolera un reglón importante de divisas considerando que este sector aportó hasta marzo de el año 2002 con el 10.6 % de los ingresos para el sector público (SHCP, 2002). Sin embargo, el manejo inadecuado de los hidrocarburos durante la producción, refinamiento y uso de este mineral han llevado a la contaminación del suelo. Según PEMEX en el 2000 se derramaron 6252 toneladas de hidrocarburos al ambiente, las cuales representan tan sólo el 0.5% de las descargas totales (PEMEX,2001). Entre los hidrocarburos que han sido derramados en los suelos, los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs) son de especial importancia dadas sus características cancerígenas y tóxicas. Otra fuente de contaminación con estos compuestos son los procesos de combustión con un contenido reducido de oxígeno (Connell, 1997).

El manejo de estos suelos contaminados es un problema que se debe valorar tomando en cuenta la magnitud y el riesgo que implican. Las evaluaciones del riesgo para la salud humana y el medio ambiente, han sido realizadas para estimar el potencial de los contaminantes en el ambiente que genera efectos adversos. Estas evaluaciones son un componente crítico en las decisiones de las agencias gubernamentales reguladoras del medio ambiente y son usadas para determinar la necesidad y naturaleza de las acciones de remediación a utilizarse.

Para la determinación de las concentraciones de hidrocarburos en el suelo se han utilizado métodos analíticos basados en extracciones rigurosas (soxhlet) con solventes orgánicos (EPA, 2002). El objetivo de estos métodos es el de determinar la concentración total del contaminante presente en la muestra. Sin embargo, es posible que tan sólo una fracción de esta concentración total se encuentre disponible para la asimilación biológica o la migración desde el suelo hacia las aguas subterráneas, y por tanto la concentración que representa un

riesgo sea menor a la estimada por los métodos tradicionales. Siendo así, esta fracción disponible determinará la cantidad de contaminante en el suelo capaz de tener un efecto tóxico en los diferentes organismos, además, determinará la cantidad de hidrocarburos disponibles en un proceso de biorremediación.

La disponibilidad de los compuestos orgánicos ha sido estudiada desde dos perspectivas diferentes, la biológica y la química (Reid, 1999). En este contexto, el presente trabajo propone una evaluación química, a partir del estudio de la extractabilidad con n-butanol del fenantreno y pireno en suelos contaminados, que permita estimar la concentración de hidrocarburos que se encuentran disponibles y predecir el alcance de un programa de biorremediación.

## 2. MARCO TEORICO

### 2.1 Petróleo y diesel

El petróleo es una mezcla compuesta principalmente de hidrocarburos que coexisten en fase sólida, líquida y gaseosa. Existen también pequeñas cantidades de heterocompuestos, con presencia de nitrógeno, azufre y oxígeno, y metales pesados (p.e. vanadio y níquel) en trazas. Ocurre en forma natural en depósitos de roca sedimentaria (PEMEX, 2001). El crudo no es más que el petróleo que ha sido extraído de la tierra en un estado líquido (Hunt, 1999)

El diesel es una de las fracciones en las que se separa el crudo luego de un proceso de destilación. Los principales componentes del diesel son similares a los que están presentes en el crudo, pero incluyen una mayor fracción de aromáticos (30%- 40%) y entre un 60% a 90% de alcanos (ramificados, en cadena o cíclicos). La mayoría de los diesels tienen un intervalo de carbono de entre  $C_8$  a  $C_{26}$  (Gustafson, 1998).

riesgo sea menor a la estimada por los métodos tradicionales. Siendo así, esta fracción disponible determinará la cantidad de contaminante en el suelo capaz de tener un efecto tóxico en los diferentes organismos, además, determinará la cantidad de hidrocarburos disponibles en un proceso de biorremediación.

La disponibilidad de los compuestos orgánicos ha sido estudiada desde dos perspectivas diferentes, la biológica y la química (Reid, 1999). En este contexto, el presente trabajo propone una evaluación química, a partir del estudio de la extractabilidad con n-butanol del fenantreno y pireno en suelos contaminados, que permita estimar la concentración de hidrocarburos que se encuentran disponibles y predecir el alcance de un programa de biorremediación.

## 2. MARCO TEORICO

### 2.1 Petróleo y diesel

El petróleo es una mezcla compuesta principalmente de hidrocarburos que coexisten en fase sólida, líquida y gaseosa. Existen también pequeñas cantidades de heterocompuestos, con presencia de nitrógeno, azufre y oxígeno, y metales pesados (p.e. vanadio y níquel) en trazas. Ocurre en forma natural en depósitos de roca sedimentaria (PEMEX, 2001). El crudo no es más que el petróleo que ha sido extraído de la tierra en un estado líquido (Hunt, 1999)

El diesel es una de las fracciones en las que se separa el crudo luego de un proceso de destilación. Los principales componentes del diesel son similares a los que están presentes en el crudo, pero incluyen una mayor fracción de aromáticos (30%- 40%) y entre un 60% a 90% de alcanos (ramificados, en cadena o cíclicos). La mayoría de los diesels tienen un intervalo de carbono de entre  $C_8$  a  $C_{26}$  (Gustafson, 1998).

## 2.2 Características de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs)

Los HAPs están compuestos únicamente de enlaces de hidrógeno y carbono (enlaces C-H). Se forman de anillos de benceno unidos entre sí por dos o más átomos de carbono. Existen más de 70 compuestos y tienen entre 2 y 7 anillos de benceno. El destino de estos compuestos en el ambiente depende en gran medida de sus propiedades físicas y químicas, como también de las propiedades del medio en el cual se encuentran.

Los HAPs son contaminantes generalizados en la atmósfera y son relativamente resistentes a la degradación, por lo que pueden llegar a acumularse en niveles significativos en el ambiente. Son emitidos por una variedad de fuentes antropogénicas, incluyendo combustión industrial o residencial (p.e. combustibles fósiles, quema de madera), operación de motores y derrames. Las especies de mayor peso molecular (p.e. benzo(a)pireno) son cancerígenas, por lo que constituyen un riesgo para la salud.

Las principales formas de degradación de los HAP involucran procesos químicos, fotolíticos o metabólicos asociados con microorganismos. Estos procesos dependen en gran medida de condiciones ambientales como temperatura, disponibilidad de oxígeno, presencia de microorganismos y de características de los HAPs, como el número de anillos.

Las propiedades de los HAPs que despiertan mayor interés en los estudios ambientales son peso molecular, polaridad, solubilidad en agua y coeficiente de distribución octanol - agua ( $K_{ow}$ ). Como se dijo anteriormente, los HAPs están compuestos de enlaces C-H, cada enlace tiene una diferencia de electronegatividad de 0.4, que le otorga la naturaleza de débilmente polar. Las moléculas de los HAPs, son consideradas como compuestos *no polares*, debido a que la orientación espacial de los múltiples enlaces C-H tiende a reducir su polaridad. En consecuencia, *la solubilidad* de los HAPs no polares en las

moléculas de agua polares, es muy baja y por tanto su movilidad en el ambiente es reducida. Sin embargo, todos los HAPs son solubles en diferentes magnitudes en agua, pero los de menor *peso molecular* presentan una mayor solubilidad (ver tabla 1) y por lo tanto son más fácilmente degradables en razón que los microorganismos degradadores se alimentan principalmente del contaminante presente en la solución del suelo. Esta característica hace que la degradación de un hidrocarburo disuelto sea más rápida y eficiente que la de un hidrocarburo sorbido.

El *coeficiente de distribución octanol-agua* es la medida de la tendencia de un compuesto orgánico para disolverse en la grasa de la biota y otras sustancias lipoidales como el ácido húmico en suelos y sedimentos (Connell, 1997). Se define como la relación, bajo condiciones de equilibrio, de la concentración de un compuesto en la fase octanol entre la fase acuosa, así

$$Kow = C_o / C_w$$

donde

Kow : coeficiente octanol agua (ow) por sus siglas en inglés

C<sub>o</sub> : es la concentración en el octanol y

C<sub>w</sub> : es la concentración en el agua

Para los HAPs, el intervalo del logKow está entre 2 y 6.9 (tabla 1), que los ubica como compuestos hidrofóbicos. Los hidrocarburos tienden a concentrarse en suelos y sedimentos dependiendo de su coeficiente de distribución octanol-agua: a mayor coeficiente mayor afinidad hacia la materia orgánica del suelo y por tanto mayor sorción de hidrocarburos en el suelo (Connell et al, 1990; Krauss et al, 2000).

**Tabla 1. Algunas propiedades físicas de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HAP) de interés para el ambiente (tomado de Connell 1997)**

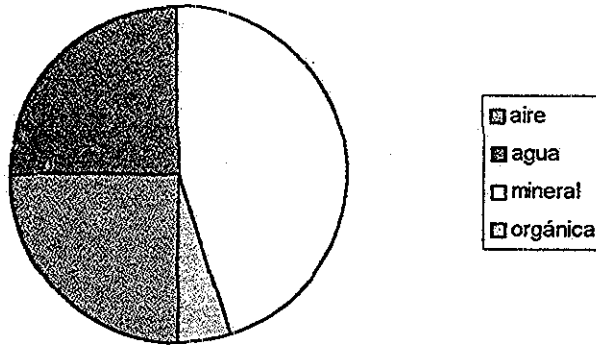
HAP	Formula Molecular	Peso Molecular	Pto Fusión °C	Pto Ebullición °C	Presión Vapor (kPa)	Solubilidad Acuosa (mol/L)	logK <sub>ow</sub>
Naftaleno	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128.2	81	218	1.09*10 <sup>-2</sup>	2.48*10 <sup>-4</sup>	3.36
Acenafteno	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	154.2	93	279	5.96*10 <sup>-4</sup>	2.55*10 <sup>-5</sup>	3.92
Fenantreno	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178.2	100	340	2.67*10 <sup>-5</sup>	7.25*10 <sup>-6</sup>	4.57
Antraceno	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178.2	218	342	1.44*10 <sup>-6</sup>	4.10*10 <sup>-7</sup>	4.54
Fluoranteno	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202.3	107	384	2.54*10 <sup>-4</sup>	1.29*10 <sup>-6</sup>	4.90
Pireno	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202.3	149	404	8.86*10 <sup>-7</sup>	6.68*10 <sup>-7</sup>	5.18
Benzo(a)antraceno	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228.3	157	438		6.14*10 <sup>-8</sup>	5.61
Benzo(b)antraceno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252.3	178	495	6.67*10 <sup>-13</sup>	1.51*10 <sup>-8</sup>	6.04
Perileno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	253.3	277	503		1.59*10 <sup>-9</sup>	6.04
Coroneno	CH <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	300.4	438	509		4.67*10 <sup>-10</sup>	6.90

### 2.3 El suelo

El suelo funciona como un filtro químico y biológico que amortigua el impacto ambiental de los contaminantes orgánicos derramados en la biósfera. Es un cuerpo natural y organizado, con unos constituyentes, propiedades y génesis que son el resultado de la interacción de una serie de factores activos (clima, organismos, relieve y tiempo) sobre un material pasivo (roca madre). Se define también como la región que sustenta la vida vegetal y de la cual las plantas obtienen soporte mecánico y nutrimentos. Este ambiente edáfico es uno de los sitios más dinámicos en interacciones biológicas en la naturaleza, en el cual se realizan la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de materia orgánica, la intemperización de las rocas y la nutrición de cultivos agrícolas.

El suelo está formado por cuatro componentes principales: aire, agua, materia mineral y materia orgánica (figura 1)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Figura 1. Composición en volumen de un suelo en condiciones óptimas para el crecimiento de las plantas (Tomado de Brady, 2000)**

El comportamiento de los hidrocarburos en el suelo está controlado en gran medida por propiedades físicas del suelo (como textura, porosidad, permeabilidad y pH) y por el contenido de materia orgánica.

### **2.3.1 Propiedades Físicas**

#### *Textura*

Las partículas del suelo se distribuyen en diversas fracciones atendiendo a su tamaño. El tamaño de las partículas minerales individuales puede ser:

Arcilla (< 0.002 mm)	arena (0.02 - 2.0 mm)
limo (0.002 – 0.02 mm)	grava (>2 mm)

Las distintas proporciones de arena, limo y arcilla define la textura de cada horizonte (Porta et al, 1994).

La textura influencia el comportamiento y algunas otras propiedades del suelo de diferentes maneras como se puede ver en la tabla 2.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Tabla 2. Influencia de la textura sobre el comportamiento y algunas propiedades del suelo <sup>a</sup>**

<i>Propiedad/ comportamiento</i>	<i>Arena</i>	<i>Limo</i>	<i>Arcilla</i>
Capacidad de mantener el agua	baja	media a alta	alta
Aireación	buena	media	pobre
Tasa de drenaje	alta	lenta a media	muy lenta
Materia orgánica del suelo	baja	media a alta	alta a media
Descomposición de la materia orgánica	rápida	media	lenta
Compactabilidad	baja	media	alta
Susceptibilidad a la erosión eólica	moderada (alta si se trata de arena fina)	alta	baja
Susceptibilidad a la erosión hídrica	baja (a menos que se trate de arena fina)	alta	baja si esta como agregados
Potencial de lixiviación del contaminante	alto	medio	bajo
Habilidad de almacenar nutrientes para plantas	pobre	medio	alto
Resistencia al cambio de pH	bajo	medio	alto

<sup>a</sup> Pueden ocurrir excepciones a estas generalizaciones, especialmente resultado de la estructura del suelo y la mineralogía de la arcilla. (Tomado de Brady 1999)

En el caso de contaminación de suelos con hidrocarburos, el tamaño de partícula predominante es una característica importante, debido a que a mayor superficie activa mayor será la cantidad de hidrocarburo adsorbido. Además, la oxidación microbiana ocurre en la interface agua - sólido de la superficie de una partícula, entonces la degradación microbiana es más eficiente en partículas finamente divididas.



### *Porosidad*

La *porosidad* es el porcentaje del volumen del suelo total que no está ocupado por partículas sólidas. Se define como la relación del volumen ocupado por los poros con respecto al volumen total:

$$n = V_v / V_T$$

Nam (1998) ha propuesto clasificar a los poros en cuatro grupos:

Macroporos, >75  $\mu\text{m}$

Mesoporos, 30 - 75  $\mu\text{m}$

Microporos, 5 -30  $\mu\text{m}$

Nanoporos, < 5  $\mu\text{m}$

Uno de los mecanismos que disminuye la disponibilidad de un contaminante es la entrada de estos compuestos a los nanoporos (aislamiento).

### *Permeabilidad*

Es la capacidad de un suelo para transmitir líquidos o gases a través del medio poroso. Se manifiesta por la facilidad con la cual los gases, líquidos o raíces de las plantas penetran a través del suelo o de los estratos de un suelo. Por ejemplo, una mayor cantidad de agua se infiltrará a través del suelo si atraviesa una arena gruesa, que si lo hace a través de una arcilla. La movilidad de los hidrocarburos solubles en agua, dependerá de la permeabilidad de los suelos.

### *pH*

El pH del suelo se refiere a la acidez relativa de la solución del suelo. El estrato acuoso en la superficie de las partículas del suelo es la región de mayor abundancia en microorganismos. Para que esta actividad bacteriana sea óptima se requiere un pH de 7 (Cole, 1994).

### 2.3.2 Materia orgánica

Los principales constituyentes de la materia orgánica (M.O.) del suelo, son: carbono (52-58%), oxígeno (34-39%), hidrógeno (3-4.8%) y nitrógeno (3.7-4.1%). Esta materia orgánica está constituida principalmente de sustancias húmicas y no húmicas (que se originan por la descomposición de biomasa, p.e. hojarasca, organismos muertos), (figura 2).



**Figura 2.- Esquema de clasificación de la materia orgánica del suelo. (Tomado de McBride, 1994)**

La M.O. mejora la estructura del suelo, la capacidad de retención del agua, la aireación y la agregación. Es una fuente importante de micronutrientes (B y Mo) y macronutrientes (N, P y S). Su alto contenido de carbono es fuente de la energía necesaria para las actividades de la micro y macro flora. La M.O. tiene una superficie activa de entre 800 y 900 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> y una capacidad de intercambio catiónico de entre los 150 y 300 cmol kg<sup>-1</sup>. Debido a la gran superficie activa y capacidad de intercambio catiónico que presenta, la M.O. es un sorbente importante de macronutrientes y micronutrientes, metales pesados y compuestos orgánicos (Sparks, 1995).

## **2.4 Comportamiento de los hidrocarburos en el suelo**

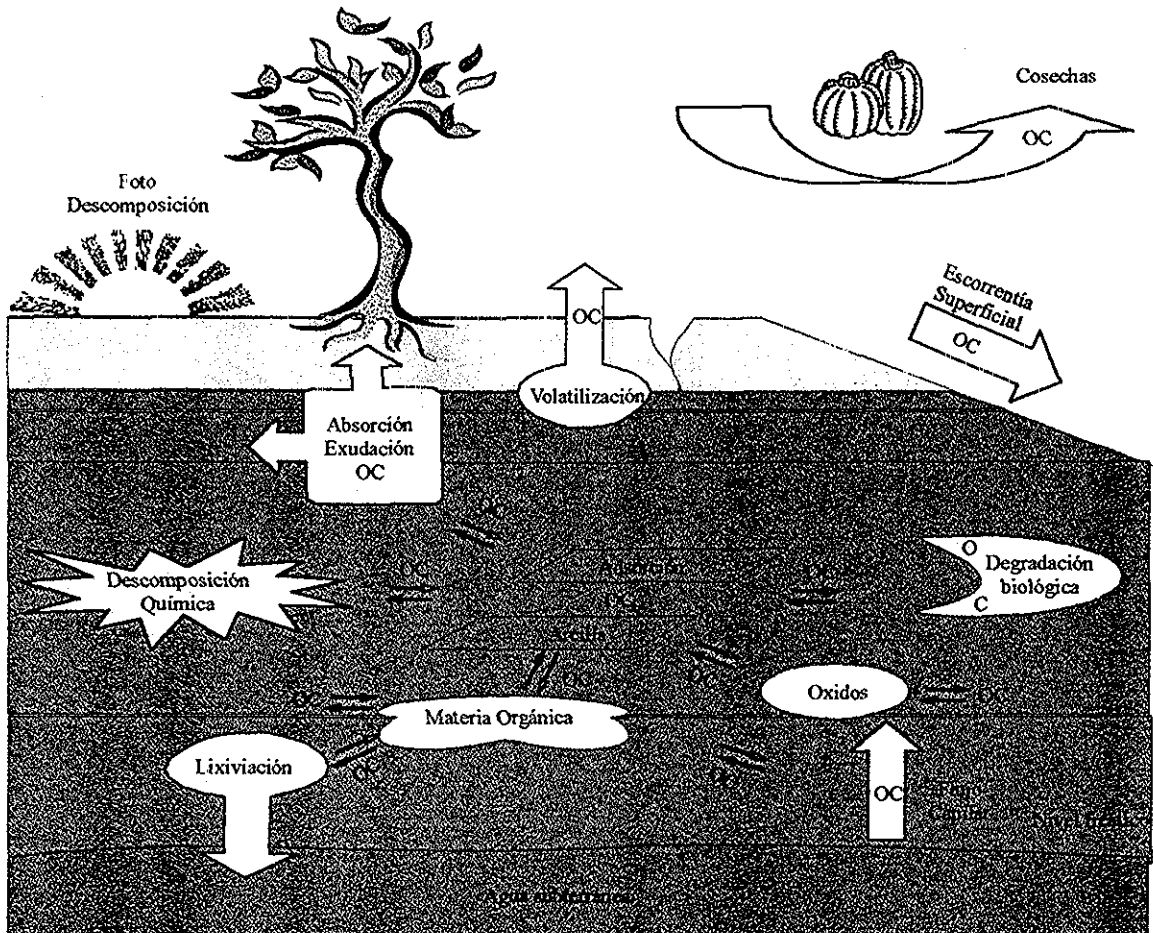
Cuando los contaminantes orgánicos, como los hidrocarburos, llegan al suelo, pueden presentarse como vapores o líquidos, adsorbidos o disueltos. Pueden tener varios destinos (Brady, 1999) (figura 3):

- 1) escapar como vapor a la atmósfera sin ningún cambio químico;
- 2) ser adsorbidos en el suelo;
- 3) moverse hacia abajo a través del suelo hacia los mantos acuíferos;
- 4) sufrir reacciones químicas;
- 5) ser asimilados por los microorganismos del suelo;
- 6) moverse con la escorrentía superficial; y
- 7) ser asimilados por plantas y animales y trasladarse a la cadena trófica.

### **2.4.1 Biodisponibilidad**

En los últimos tiempos se ha incrementado la evidencia (Alexander, 1995; Kelsey, 1997; Cornelissen, 1998) que muestra que el riesgo asociado a un contaminante presente en el medio ambiente no depende únicamente de su concentración total, sino principalmente de la fracción que está disponible y la cual puede ser asimilada y causar algún efecto en los organismos (Alexander, 1995; Alexander, 2000). Así, es menester introducir el concepto de biodisponibilidad, el cual ha sido definido como la facilidad relativa con la cual una sustancia puede ser asimilada por un organismo (Zhao, 2000). Es un proceso complejo que depende del organismo receptor, la ruta de entrada, el tiempo de exposición y la matriz en la que se encuentre el contaminante (Kelsey, 1997). Es decir, para ésto debe cumplirse, que los organismos estén expuestos en la matriz en la que se encuentra el contaminante (o hacia la cual el contaminante puede moverse), que una cierta fracción de contaminante se encuentre disponible para liberarse desde la matriz en una forma en la cual podría causar efectos adversos en los

organismos, y que por último, ellos mismos tengan la capacidad de asimilar el contaminante en esa forma.



**Figura 3.- Procesos que afectan a los contaminantes orgánicos (OC) en el suelo. Nótese que el símbolo OC se divide por la descomposición (ya sea por reacciones químicas o fotolíticas) y la degradación por microorganismo, indicando que estos procesos alteran o destruyen el contaminante orgánico. En los procesos de transferencia el OC permanece intacto (Tomado de Weber y Miller, 1989 en Brady 1999)**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La disponibilidad de esta fracción está ligada con el tiempo de contacto suelo-contaminante (Alexander, 1995; Loehr, 1996). De acuerdo a esto, el contaminante puede ser "fresco" o "envejecido" (fresco se refiere a que la contaminación es reciente, en contraste con el término envejecido, que indica que el contaminante se encuentra por años e inclusive décadas en el suelo). Esto influye en la disponibilidad, porque en los suelos los contaminantes frescos son más disponibles para la degradación, lixiviación o asimilación que los contaminantes envejecidos (Alexander, 2000)

El estudio de la disponibilidad puede ofrecernos datos sobre:

- Los efectos reales en la salud humana de los contaminantes presentes en el suelo.
- Los niveles de limpieza aceptables en un suelo contaminado en particular, logrando con esto ahorrar tiempo y dinero en las remediaciones.

#### **2.4.2 Sorción en suelos**

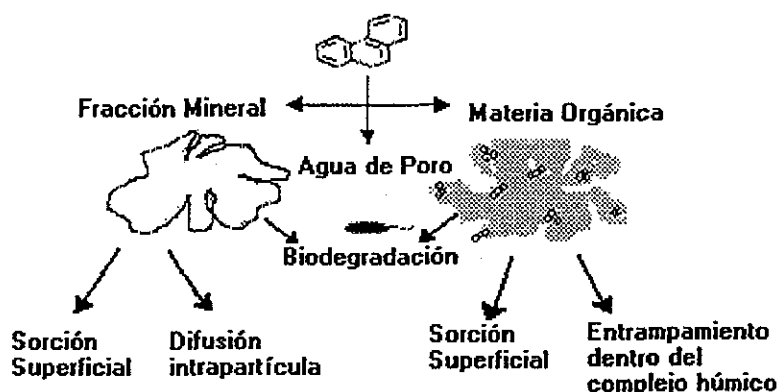
Cuando los contaminantes orgánicos llegan al suelo, éste reduce principalmente su movilidad de dos maneras: por sorción y por degradación química o biológica. En consecuencia, si se desea entender el comportamiento de los contaminantes en el suelo, se deben estudiar los procesos de sorción y degradación que estos compuestos sufren en el suelo (Cole, 1994).

La sorción en los suelos puede ser definida como la interacción de un compuesto en solución con un sólido. Este término incluye la *adsorción*, retención del soluto en la superficie de un material sólido, y la *absorción*, que se refiere a la retención del soluto dentro del sólido. La sorción de un contaminante en la matriz del suelo

restringe su movilidad en el agua subterránea y su disponibilidad para ser asimilado por los organismos, disminuyendo así su toxicidad y genotoxicidad<sup>1</sup>.

Como se puede observar en la figura 4, los compuestos no polares (compuestos orgánicos hidrofóbicos, por ejemplo HAPs) en el suelo se distribuyen principalmente entre la materia orgánica y el agua del suelo, en función del coeficiente de distribución *K<sub>oc</sub>* del compuesto. A mayor *K<sub>oc</sub>* estos contaminantes serán sorbidos por la materia orgánica fundamentalmente, pero una cierta cantidad de éstos quedará en la solución del suelo. La cinética de sorción/desorción de los HAPs está caracterizada frecuentemente por una sorción (o desorción) inicial rápida seguida por un lento acercamiento al equilibrio (Pignatello, 1996). Esta reacción lenta (sorción o desorción) puede ocurrir en una escala de tiempo de días a meses e inclusive años y es una de las causas que limitan la biodegradación, junto con la falta de oxígeno.

Aunque no se ha aclarado el papel que juegan las excreciones o las mismas superficies de los organismos vivos en la desorción, se ha demostrado que existen algunos microorganismos que producen surfactantes que alteran la desorción de los compuestos orgánicos en el suelo (Sheinbenbogen en Alexander 2000).



**Figura 4.- Principales procesos que afectan a un contaminante orgánico en el suelo (Tomado de Reid et al, 2000)**

<sup>1</sup> Genotoxicidad: es el estudio de los efectos adversos de un compuesto en el material genético de las células.

Cuando la M.O. en el suelo está presente en más de un 0.1 %, se considera como el principal sorbente de los contaminantes orgánicos no polares (HAPs) (Chiou, 1989; McLeod, 2000). Esta sorción es el resultado de las interacciones de van der Waals, las cuales involucran enlaces débiles entre unidades polares, permanentes o inducidas por la presencia de moléculas cercanas. Estas interacciones entre dos moléculas son muy débiles, pero cuando se trata de un gran número de moléculas en una estructura polimérica como el humus, son aditivas y fuertes (Sposito, 1989).

Las interacciones de van der Waals entre la M.O. y los contaminantes orgánicos son más fuertes que con el agua del suelo. Las moléculas de agua alrededor de las moléculas no polares no son atraídas y por tanto, no pueden orientar los enlaces OH para hacerlos compatibles, dando como resultado el efecto de hidrofobicidad (Sposito, 1989).

Este hecho produce una baja solubilidad de los contaminantes en el agua y una propensión de estos a interactuar con la M.O. a través de las fuerzas de van der Waals (Sposito, 1989). Estas reacciones se ven reflejadas en el **coeficiente de distribución entre el suelo y el agua del suelo,  $K_{sw}$** , que es la relación entre la concentración en la fase sólida respecto a la concentración en la fase acuosa del suelo.

$$K_{sw} = C_s / C_w \quad (1)$$

donde:

$C_s$ : concentración en la fase sólida del suelo.

$C_w$ : concentración en la fase acuosa del suelo.

Existen algunos modelos que han sido usados para describir la adsorción en las superficies del suelo. Entre estos se encuentran los modelos empíricos, como ecuación de Freundlich y la ecuación de Langmuir, y otros modelos de

complejación superficial. La ecuación de  $K_{sw}$  (1) se deriva de la ecuación de Freundlich (1926):

$$S = k_d C^n$$

donde

$S$  = cantidad de soluto retenido por unidad de masa de suelo ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

$k_d$  = coeficiente de distribución

$C$  = concentración del soluto ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

$n$  = parámetro adimensional, típicamente igual a 1

Este coeficiente de distribución  $k_d$  no es mas que el  $K_{sw}$  que describe la distribución del soluto entre las fases sólidas y líquidas del suelo.

Por lo general se expresa el  $K_{sw}$  en función de otro parámetro, el **coeficiente de distribución entre el carbono orgánico y el agua del suelo,  $K_{oc}$** . Este coeficiente se conoce como la tendencia de los orgánicos a sorberse en el suelo y se define como la relación de la cantidad de masa de un compuesto adsorbido por unidad de masa de carbono orgánico en el suelo (o sedimento) entre la concentración de un compuesto en la solución del suelo. La expresión que relaciona al coeficiente de distribución entre el suelo y el agua del suelo,  $K_{sw}$ , con el coeficiente de distribución entre el carbono orgánico y el agua del suelo,  $K_{oc}$ , es:

$$K_{sw} = f_{oc} K_{oc} \quad (2)$$

donde

$f_{oc}$  : fracción de carbono orgánico

Los métodos empíricos para determinar el  $K_{oc}$  se basan principalmente en la relación de éste con propiedades de los orgánicos como el coeficiente de distribución octanol - agua,  $K_{ow}$ .

$$\text{Log } K_{oc} = 1.029 \text{ log } K_{ow} - 0.18 \quad (\text{Connell et al., 1990}) \quad (3)$$

Si aplicamos la función logarítmica a la ecuación 3 y reemplazamos la ecuación 2 en la 3, tenemos:

$$\text{Log } (K_{sw}/f_{oc}) = 1.029 \text{ log } K_{ow} - 0.18 \quad (4)$$

$$\text{Log } K_{sw} - \text{log } f_{oc} = 1.029 \text{ log } K_{ow} - \text{log } 0.66 \quad (5)$$



Si reemplazamos la ecuación 1 en la 5:

$$\text{Log } (C_s/C_w) - \text{log } f_{oc} = 1.029 \text{ log } K_{ow} - \text{log } 0.66 \quad (6)$$

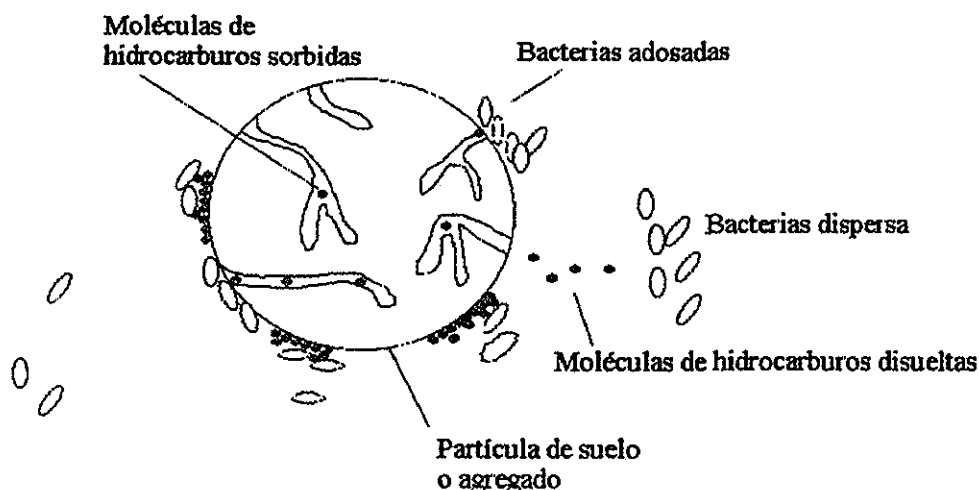
Despejando  $C_w$  para obtener la concentración en la fase acuosa del suelo:

$$C_w = C_s * 0.66 / f_{oc} K_{ow}^{1.029} \quad (7)$$

Bajo condiciones de equilibrio,  $C_w$  es la concentración que se encuentra en solución y por tanto inmediatamente disponible para que los organismos la asimilen. Las concentraciones de HAP que se liberen luego de consumido el  $C_w$ , dependerán de la cinética de desorción que se establezca (Connell, 1990; Krauss, 2000). En todo caso, la cinética que se vaya a establecer estará en función del tiempo de envejecimiento del compuesto y de las interacciones que éste haya tenido con el medio (aislamiento o sorción a la materia orgánica presente).

### 2.4.3 Aislamiento y Envejecimiento

El término aislamiento se refiere a la pérdida de disponibilidad física de un contaminante; mientras que envejecimiento se refiere al tiempo de contacto entre el contaminante y el suelo, requerido para disminuir su biodisponibilidad (Alexander, 1995).



**Figura 5.- Modelo que muestra las especies y procesos que afectan el comportamiento de un contaminante orgánico en el suelo**

El envejecimiento se considera como el resultado del aislamiento y sorción de los contaminantes químicos en los nanoporos, que hace que su liberación sea lenta hasta estar disponible para las colonias de microorganismos capaces de degradarlo. Estas colonias, por lo general, son también sorbidas por la materia orgánica complicando más aún el proceso (figura 5).

El significado toxicológico del envejecimiento radica en el hecho que la asimilación y la toxicidad de los compuestos, disminuye conforme aumenta su persistencia y se tornan más aislados con el tiempo. Sin embargo, esta disminución no siempre ocurre, debido a las propiedades del suelo o de los compuestos (Alexander, 2000).

## **2.5 Hidrocarburos Totales del Petróleo, HTPs**

Los Hidrocarburos Totales del Petróleo, HTPs, han sido definidos como la concentración total de hidrocarburos extraídos y medidos por un método particular (Gustafson, 1998). Una misma muestra analizada por diferentes métodos puede producir diferentes valores de HTP. Los cuatro métodos más usados para determinar la concentración de HTP son:

1. Cromatografía de gases (GC),
2. Espectrometría de infrarrojo (IR)
3. Análisis gravimétricos
4. Inmunoensayos

A pesar que las agencias reguladoras de Estados Unidos han utilizado los HTPs para establecer los niveles de limpieza en agua y suelo, los datos sobre las concentraciones de éstos no pueden ser usados para estimar cuantitativamente el riesgo para la salud humana, debido a que las concentraciones de HTPs analizan el conjunto de compuestos y no a cada uno de ellos.

La utilidad de los HTP radica en que se trata de una herramienta barata que puede ser usada con ciertos propósitos como:

- Determinar si existe un problema de contaminación.
- Evaluar la magnitud de la contaminación.
- Seguir la evolución de un proceso de remediación.

## **2.6 Estudios anteriores**

Existen tres tendencias principales en las que se han desarrollado métodos de análisis químicos que intentan reflejar la biodisponibilidad de los hidrocarburos policíclicos aromáticos en el suelo.

### **2.6.1 Extracción con agua y una resina X (Tenax)**

Su objetivo es medir la cinética de desorción de los contaminantes orgánicos hidrofóbicos en suelos contaminados a diferentes tiempos de equilibrio, relacionar las tasas de desorción lenta y las propiedades moleculares de los compuestos, y por último, determinar la factibilidad de predecir el alcance de un proceso de biorremediación a partir de la medición de la cinética de desorción.

#### Fundamentos

Al igual que la sorción/desorción (2.3.2), la biorremediación de suelos y sedimentos contaminados con orgánicos muestra un comportamiento bifásico de una primera fase inicial de rápida degradación seguida por una fase de transformaciones mucho más lenta (Pignatello, 1996; Brusseau, 1991 y Cornellisen, 1997). Se ha planteado que esta fracción de los compuestos que puede ser rápidamente desorbida es análoga a la fracción disponible para los microorganismos (Cornelissen, 1998; Reid, 2000). Como se dijo anteriormente (2.1), la transferencia de masa de los contaminantes sorbidos a la solución del suelo es considerada como una de las causas que limitan la biodegradación, pues regula la disponibilidad, especialmente el tamaño de la fracción rápidamente desorbible (Cornelissen, 1998). Con el aumento del tiempo de envejecimiento la

disminución en la transferencia de masa se acentúa, lo que provoca una reducción en la magnitud de la fracción rápidamente desorbible y disponible (Alexander, 1995; Pignatello, 1996).

Con estos antecedentes se propone un método que permita conocer la magnitud de la degradación de un HAP a partir del conocimiento de la fracción rápidamente desorbible.

Para medir la cinética de desorción se utiliza la resina conocida como Tenax (polímero poroso basado en 2,6-difenil-p-óxido de fenileno), la cual se ha visto que es efectiva en los experimentos de desorción debido a su alta capacidad de sorción (Cornelissen, 1997; Pignatello 1990 en Cornelissen, 1998) y la rápida sorción del soluto presente en el agua.

### Método

Se contaminan los suelos secos y se agitan constantemente con agua, Tenax y  $\text{HgCl}_2$ . Este último es utilizado para inhibir la actividad microbiana.

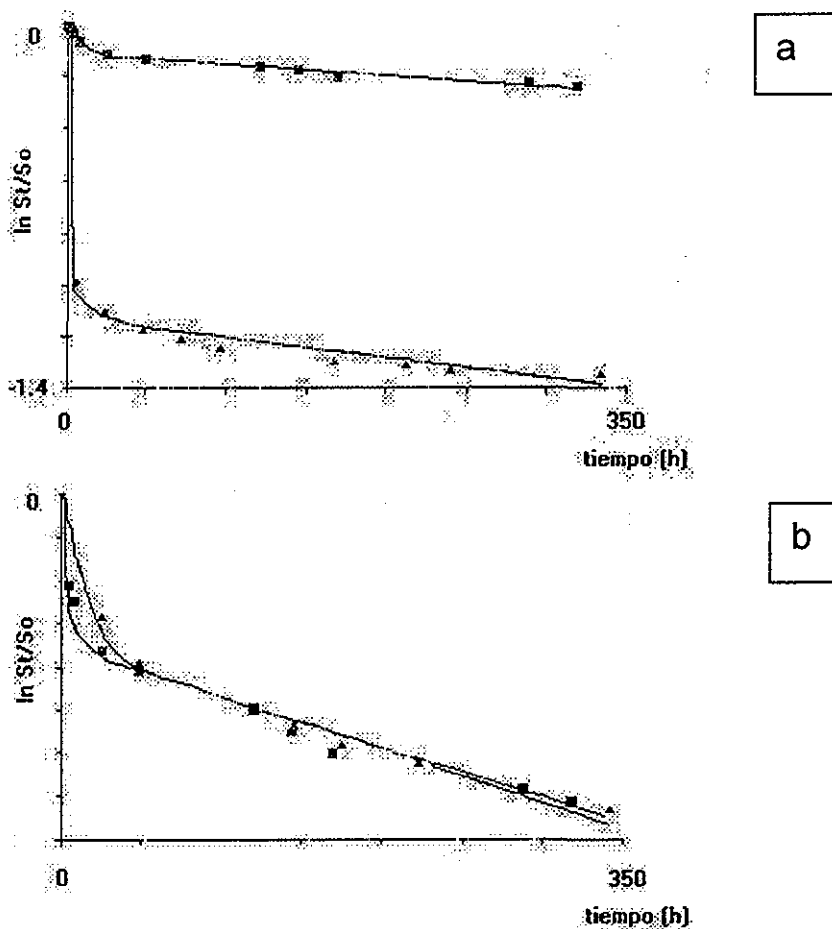
Para tiempos seleccionados, Tenax es separada de la suspensión y reemplazada por resinas nuevas. El contenido de HAPs en Tenax es extraído con hexano para ser analizado por cromatografía líquida.

### Conclusiones

Se determinan dos velocidades constantes de desorción. Una rápida,  $10^{-1}$  /h, y la otra lenta,  $10^{-3}$  / h. Las fracciones de desorción lenta se incrementaron con la hidrofobicidad del soluto y el tiempo de equilibrio.

Posteriormente, esta técnica ha sido orientada a predecir el alcance de la biorremediación en un sedimento contaminado, mediante la determinación de la cinética de desorción de algunos HAPs presentes en los sedimentos, antes y después de la biorremediación (Cornelissen, 1998).

En la figura 6(a), se muestra que la fracción rápidamente desorbible del fluoranteno (FLU4) es significativamente menor después de la biorremediación. La figura 6(b), para el benzo(ghi)perileno (BGP6), muestra que las fracciones rápidamente desorbibles permanecen sin variación antes y después de la biorremediación. Esto nos dice que para los compuestos degradables, como el fluorateno, la disponibilidad varía antes y después de la biorremediación, mientras que para los compuestos no degradables como el benzo(ghi)perileno su disponibilidad no se ve afectada por la biorremediación.



Fuente: Cornelissen, 1998

**Figura 6.- Desorción de (a)fluorante (FLU4) degradado (b) benzo (ghi) perileno (BGP6) no degradado. ( $\Delta$ ) antes y ( $\blacksquare$ ) después de la biorremediación**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La fracción de los compuestos que puede ser rápidamente desorbida es análoga a la fracción disponible para los microorganismos (Cornelissen, 1998; Reid, 2000).

### ***2.6.2 Extracciones no exhaustivas con solventes orgánicos***

El objetivo es determinar la factibilidad de utilizar ensayos químicos para predecir la disponibilidad de los compuestos orgánicos en el suelo.

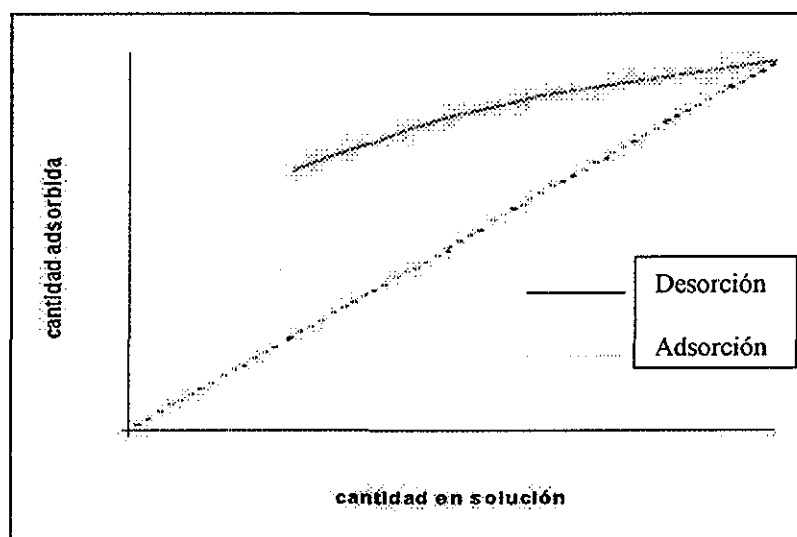
#### *Fundamentos*

La concentración total de un contaminante en el suelo no refleja su disponibilidad para los organismos. Esta diferencia se debe a varios factores: 1) la mayor parte del contaminante susceptible a la degradación se encuentra asociada a la solución del suelo (Ogram, 1985 en Cornellisen 1998); 2) el aumento del tiempo de envejecimiento disminuye la biodegradabilidad del contaminante (Alexander, 1994).

Este método se basa en la extracción del contaminante presente en la fase líquida del suelo y en el que se encuentra fácilmente desorbible. Para ello utiliza una serie de solventes orgánicos, entre ellos el butanol, que se ha comprobado son capaces de retirar los compuestos no polares parentales y metabolitos más polares asociados a la fase acuosa del suelo (Brusseau, 1991; McLeod, 2000).

La sorción de los contaminantes orgánicos no polares ha sido modelada como una distribución de un soluto hidrofóbico entre un solvente polar (agua) y una materia orgánica sorbente (Chiou, 1989; Brusseau, 1991). Con este fin, la materia orgánica ha sido conceptualizada como una amalgama de dos fases, una amorfa y otra microcristalina. En esta última existen sitios con una alta energía de sorción que probablemente son los causantes de la histéresis de desorción (figura 7), (Pignatello, 1996). La difusión de pequeñas moléculas de contaminante a

través de la M.O es función de algunos factores incluyendo la forma y el tamaño de los sorbatos y la naturaleza y conformación de la M.O. A su vez, la conformación de la M.O. está influenciada por la naturaleza del ambiente en el que se encuentra. Esta interdependencia significa que la difusión del sorbato puede ser afectada por perturbaciones del ambiente local. En este caso, la presencia de solventes influyen la conformación de la M.O. expandiéndola, sobre todo a la fase microcristalina, permitiendo la difusión de las moléculas de contaminantes aisladas en sitios de alta sorción. El impacto de estos solventes es la aceleración de la cinética de desorción que ha sido descrita usando modelos log - lineales por Brusseau (1999). El uso de estos solventes altera el coeficiente de distribución del suelo, incrementando la  $C_w$  al facilitar la difusión de las moléculas sorbidas a la solución



**Figura 7. Ejemplo esquemático de la histéresis de desorción. La isoterma de adsorción no coincide con la isoterma de desorción (De Jonge, 1996).**

### Método

Se contaminan los suelos secos y estériles con fenantreno y pireno. Las muestras programadas en los diferentes tiempos de envejecimiento se agitan con una alícuota de solvente.

Esta mezcla de suelo-solvente es sometida a centrifugación para retirar el sobrenadante, el cual es analizado.

Los solventes utilizados fueron:

metanol : agua (1:1)

n-butanol

Hexano

Tolueno agua a 2°C

etanol : agua (35:65)

etanol : agua (3:2)

metanol : agua (45:55)

metanol : agua (9:1)

Etanol

Metanol

acetonitrilo : agua (1:1)

etanol : agua (1:1)

metanol : agua (45:55) a 40°C

### Conclusiones

Los porcentajes recuperados por los diversos extractantes es aproximadamente similar a la ingesta de las lombrices y la degradación bacteriana. Esto sugiere que es factible predecir la biodisponibilidad de los HAPs en suelos a través de procedimientos químicos.

La reducción en la cantidad de HAPs envejecidos que son extraídos con estos solventes es similar a la reducción en la biodisponibilidad de éstos con el envejecimiento (Kelsey, 1997; Chung, 1999; Alexander, 1999 y McLeod, 2000).

El solvente adecuado para predecir la disponibilidad varía con el contaminante y la especie de interés (lombrices o bacterias). En el estudio presentado por Kelsey (1997), se usó una variedad de solventes orgánicos para extraer el contaminante del suelo y se compararon estos resultados con las proporciones de estos compuestos mineralizados por bacterias (*Pseudomonas*) o asimilados por lombrices. Los resultados de estos estudios indican que el butanol es el mejor solvente para predecir la biodisponibilidad del fenantreno tanto en bacterias, (tabla 3) como en lombrices, (tabla 4) en donde se observa una buena correlación entre los datos obtenidos por el método químico y el biológico.

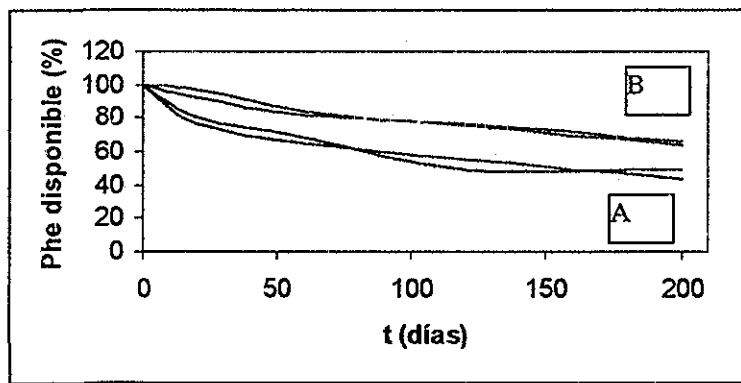


A partir de los datos presentados por Chung y Alexander (1998), se realizaron gráficas del porcentaje de fenantreno disponible en suelos con contenidos diferentes de materia orgánica (7, 16 y 4.4%) (figura 8). Este porcentaje, relativo al tiempo inicial, fue calculado a partir de extracciones no exhaustivas y por análisis de asimilación en lombrices. Se puede apreciar que existe una clara correlación entre los porcentajes de disponibilidad predichos por la extracción con solventes y los porcentajes reales que se obtienen del análisis de los tejidos de las lombrices. También se puede observar la influencia del contenido de materia orgánica; a mayor contenido de ésta se tiene un menor porcentaje de fenantreno disponible.

**Tabla 3. Porcentajes, relativos al tiempo inicial, de mineralización bacteriana y asimilación de lombrices para el fenantreno, comparados con el porcentaje de extractabilidad con butanol.**

Tiempo de envejecimiento (días)	Mineralización bacteriana		Asimilación de lombrices	
	Mineralización relativa al $t_0$ (%)	Extractabilidad relativa al $t_0$ (%)	Asimilación relativa al $t_0$ (%)	Extractabilidad relativa al $t_0$ (%)
0	100	100	100	100
11	80.4	85.7	65.7	62.9
54	64.3	67.5	56.5	45.2
124	60.0	61.5	29.6	19.5

*Tomado de Reid et al., 2000, en base a datos presentados por Kelsey, 1997*



**Figura 8. Porcentaje de Fenantreno (Phe) mineralizado y extraído por extracciones no exhaustivas, relativos al tiempo 0, para dos muestras de suelo con diferente contenido de materia orgánica: A) 7.16%, y B) 4.49% A partir de los datos de Chung y Alexander (1998)**

### **2.6.3 Extracción con Ciclodextrina**

Es una técnica de extracción con base en una solución acuosa de ciclodextrina para contaminantes orgánicos en suelos. Esta técnica busca semejar los procesos que determinan la biodisponibilidad.

#### Fundamento

Se conoce que los contaminantes son más fácilmente asimilados desde la fase acuosa, que los sorbidos a la fase sólida (Ogram 1985 en Reid 2000; Yeom, 1998). De acuerdo a las características hidrofóbicas de los contaminantes orgánicos no polares, éstos se encuentran en bajas cantidades en la solución del suelo. Por ésto se necesita desarrollar un extractante que sea capaz de extraer la totalidad de la fracción disponible (lábil) de hidrocarburos del suelo.

Las ciclodextrinas son macromoléculas compuestas de unidades de glucosa, las cuales tienen una alta solubilidad en agua, pero contienen una cavidad hidrofóbica la cual puede sorber las moléculas orgánicas hidrofóbicas. Una solución de ciclodextrina es capaz de captar la cantidad del contaminante rápidamente desorbido desde la fracción sólida del suelo. La fracción de

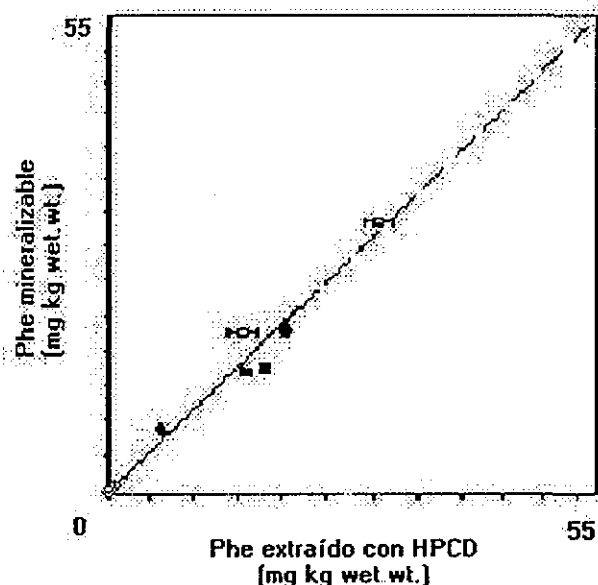
contaminante disponible para los microorganismos es semejante a esta cantidad determinada por medio de las ciclodextrinas

### Método

Las muestras de suelo son contaminadas y dejadas según los diferentes tiempos de envejecimiento establecidos. El suelo contaminado y la solución de ciclodextrina son agitados por 20 horas y luego centrifugadas para obtener el sobrenadante para analizarlo. No se inhibe la actividad microbiana

### Conclusiones

La correlación entre la extracción con ciclodextrina y la mineralización es cercana a 1:1 (figura 9) Por lo tanto, esta técnica es la que mejor semeja los mecanismos de transferencia de masa que gobiernan la biodisponibilidad de los contaminantes orgánicos.



**Figura 9.- Correlación de la mineralización del fenantreno vs el fenantreno extraído con la ciclodextrina (HPCD), tomada de Reid et al.(2000).**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### **2.6.4 Evaluación de métodos**

Todos los métodos presentados pretenden evaluar la fracción rápidamente desorbible para asemejarla con la fracción disponible para los microorganismos, con el objetivo de evaluar el alcance de la biorremediación o el riesgo asociado a estos contaminantes.

Las extracciones con agua y Tenax (Cornelissen et al, 1997) permiten identificar las dos fracciones en la cinética de desorción, la fracción de rápida y lenta desorción. A pesar que la correlación que se obtuvo entre la fracción de fácil desorción y la disponible para los microorganismos es buena, la cantidad desorbida es mayor que la biodegradada debido tal vez a que para HAPs frescos, la velocidad de desorción es mayor que la de degradación (Carmichael, 1997, Cornelissen, 1998). A pesar de esto, no se han realizado estudios que midan el impacto del envejecimiento en esta técnica. Por sus características este procedimiento ha sido enfocado en la predicción del potencial de biorremediación de un sitio

Las extracciones no exhaustivas propuestas por Kelsey (1997) extraen la fracción rápidamente desorbible por medio de solventes orgánicos y la asemeja con la cantidad de contaminante que es asimilado por bacterias y lombrices para diferentes tiempos de envejecimiento. De esto se desprende que la cantidad extraída por métodos químicos es similar a la cantidad disponible para los organismos, aunque no llega a ser igual. Sin embargo, estas dos cantidades tienden a igualarse con el envejecimiento. Incluso algunos autores suponen que la cantidad extraída puede llegar a ser menor que la cantidad disponible con el aumento del envejecimiento, ya que se ha demostrado que con el aumento del tiempo de envejecimiento, la velocidad de desorción es menor o igual que la velocidad de mineralización (Carmichael, 1997). Este método no es exacto a la hora de determinar la toxicidad de un compuesto, pero podría aportar una idea aproximada y rápida del potencial de biorremediación que tiene un sitio.

Por último se encuentra el método en el que se utiliza a las ciclodextrinas para extraer la fracción rápidamente desorbible de los HAPs. Este método resulta ser el más preciso para predecir la disponibilidad de un contaminante en un suelo recientemente contaminado. Como en los anteriores métodos, el problema está en la diferencia en el comportamiento de suelos contaminados envejecidos y frescos. No se han investigado las variaciones que se puedan presentar en suelos con una larga historia de contaminación.

A pesar de que se ha observado que la actividad microbiana nativa altera la velocidad de desorción de los contaminantes, no se han realizado estudios para ninguno de estos métodos que reporten el efecto que la actividad biológica de comunidades nativas puede tener en la disponibilidad calculada de los contaminantes en suelos envejecidos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Evaluar la disponibilidad<sup>2</sup> de HAPs en el suelo, con el fin de prever los niveles de limpieza que se pueden alcanzar con un programa de biorremediación.

#### **3.2 Objetivos Particulares**

1. Evaluar el efecto de la biorremediación en la disponibilidad de HAPs en el suelo.
2. Comparar la fracción disponible con los porcentajes de degradación obtenidos en el experimento de biorremediación.

---

<sup>2</sup> Disponibilidad: se refiere a la cantidad de contaminante (en solución o rápidamente desorbible) que puede extraer un solvente y que se supone es similar a la ingesta de los microorganismos.

Por último se encuentra el método en el que se utiliza a las ciclodextrinas para extraer la fracción rápidamente desorbible de los HAPs. Este método resulta ser el más preciso para predecir la disponibilidad de un contaminante en un suelo recientemente contaminado. Como en los anteriores métodos, el problema está en la diferencia en el comportamiento de suelos contaminados envejecidos y frescos. No se han investigado las variaciones que se puedan presentar en suelos con una larga historia de contaminación.

A pesar de que se ha observado que la actividad microbiana nativa altera la velocidad de desorción de los contaminantes, no se han realizado estudios para ninguno de estos métodos que reporten el efecto que la actividad biológica de comunidades nativas puede tener en la disponibilidad calculada de los contaminantes en suelos envejecidos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Evaluar la disponibilidad<sup>2</sup> de HAPs en el suelo, con el fin de prever los niveles de limpieza que se pueden alcanzar con un programa de biorremediación.

#### **3.2 Objetivos Particulares**

1. Evaluar el efecto de la biorremediación en la disponibilidad de HAPs en el suelo.
2. Comparar la fracción disponible con los porcentajes de degradación obtenidos en el experimento de biorremediación.

---

<sup>2</sup> Disponibilidad: se refiere a la cantidad de contaminante (en solución o rápidamente desorbible) que puede extraer un solvente y que se supone es similar a la ingesta de los microorganismos.

#### 4. HIPÓTESIS

1. La disminución en la disponibilidad está relacionada con la disminución de la fracción rápidamente desorbible o disponible.
2. La disponibilidad de un hidrocarburo policíclico aromático en el suelo limita su biodegradabilidad.
3. Se puede utilizar la extracción múltiple para inferir la concentración disponible de HAPs
4. El alcance de un proceso de biorremediación puede inferirse a partir de ensayos químicos que extraigan la fracción rápidamente desorbible de un hidrocarburo policíclico aromático degradable.

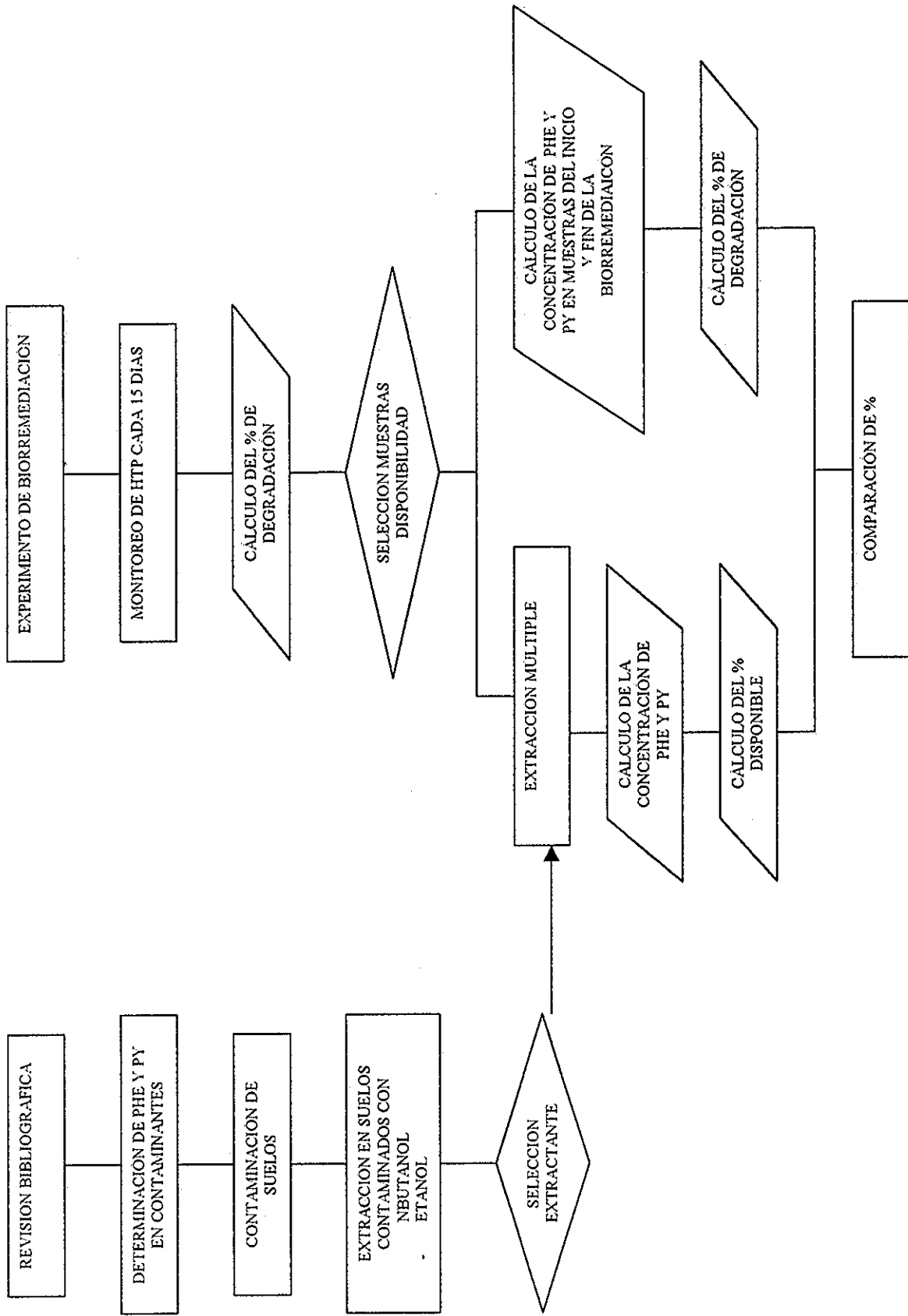


Figura 10. Diagrama que resume la metodología



## 5. METODO

### 5.1 Selección del extractante para determinar la fracción disponible

#### 5.1.1 Justificación

El fenantreno y el pireno son compuestos que pesar de no ser genotóxicos han servido como modelos para examinar la disponibilidad y la degradación fotoquímica y biológica de otros HAPs, debido a su relativa degradabilidad y a que su estructura se encuentra en otros HAPs que son cancerígenos (Chaundry, 1994). Es por esta razón que se eligieron como los compuestos a estudiarse en la evaluación de la disponibilidad.

Partiendo de las similitudes establecidas para el comportamiento bifásico de la desorción y la biodegradación (2.5.1), esta evaluación está dirigida a extraer la fracción rápidamente desorbible de los HAPs que se supone es equiparable a la fracción que se degrada rápidamente. Con este fin se plantea el uso de solventes orgánicos los cuales tienen la propiedad de incrementar la desorción termodinámica (al aumentar la solubilidad) y la cinética (al suavizar la materia orgánica) (Brusseau, 1991; Pignatello, 1995). De los solventes orgánicos (2.5.2), el n-butanol y el etanol han sido utilizados por varios autores para remover la fracción rápidamente desorbible de fenantreno y pireno en el suelo (Kelsey, 1997; McLeod 2000). Debido a que estos solventes recuperan la fracción de compuestos en solución acuosa o sorbidos a la superficie pero accesibles a la solución extractante (Northcott, 2001). Esto sucede porque la fracción disponible está en solución y/o presente en las regiones exteriores de los agregados del los suelos o sedimentos, es decir se trata de la parte que está en contacto cercano con la fase acuosa (Cornelissen, 1998). La fracción de HAPs así extraídos, ha sido comparada con la fracción de compuestos disponibles para los organismos como bacterias y lombrices (Kelsey, 1997, Alexander, 1999; Chung 1999).

Una variable importante en este estudio es el tiempo de agitación sedimento-butanol, que trata de poner en contacto la solución extractante con los compuestos en solución o sorbidos a la superficie pero accesibles a ésta (Northcott, 2001), de tal forma que la solución recupere la fracción de rápida desorción que es la que está disponible para los organismos. Un tiempo de agitación excesivo haría que la solución se difunda a través de los nanoporos y/o la materia orgánica, alterando la conformación de ésta última y recuperando parte de la fracción de lenta desorción. Por estas razones se pretende poner al solvente en contacto íntimo con el suelo a través de una agitación suave, para permitirle posteriormente equilibrarse con él.

### **5.1.2 Muestra utilizada**

Se utilizó suelo no contaminado procedente de un área minera en Colima.

### **5.1.3 Determinación de fenantreno y pireno en contaminantes**

El objetivo de esta fase es el de identificar la presencia de fenantreno y pireno en los contaminantes presentes en los suelos de estudio. Los contaminantes estudiados fueron: una muestra del diesel utilizado en el área minera de Colima; y por otro lado una muestra de petróleo procedente de Tabasco.

Para la extracción y cuantificación de los hidrocarburos aromáticos presentes en las muestras, se empleó el método de limpieza y análisis de los extractos que se refiere en el anexo A. Para esto se utilizó 0.06 g de diesel y 0.04 g de petróleo.

### **5.1.4 Contaminación de suelos limpios en laboratorio**

El objetivo de esta fase fue el de tener muestras de suelo contaminadas en laboratorio con los contaminantes presentes en muestras de suelos minerales. Esto se hizo con el fin de conocer el comportamiento de la evaluación de la disponibilidad en suelos contaminados frescos.

Esta fase se desarrolló de la siguiente manera:

1. Suelo limpio de Peña Colorada fue secado dejándolo 1 noche a 400°C para luego tamizarlo por malla No 30 (0.59 mm de abertura) para asegurar la homogeneidad
2. Los contaminantes fueron:
  - Diesel, 0.06 g.
  - Mezcla de fenatreno (Phe), 0.00019 g y pireno (Py), 0.0001 g.
3. Se utilizó 12 g de suelo para la muestra contaminada con diesel, y 24 g de suelo para la muestra contaminada con la mezcla.
4. El contaminante seleccionado fue disuelto en hexano y adicionado al suelo.
5. Las muestras de suelo fueron agitadas manualmente en un período de 30 minutos para permitir que el hexano se volatilice y el contaminante se mezcle con el suelo
6. Los frascos con las muestras fueron cerrados y ubicados en la oscuridad a 4°C por 2 días antes de su utilización.
7. Se realizó una repetición para cada muestra (diesel y de la mezcla Phe-Py)

### **5.1.5 Extracción**

El objetivo de esta fase fue conocer la afinidad de los solventes seleccionados, a partir de la investigación bibliográfica, con respecto al Phe y Py, presentes en un suelo contaminado con la mezcla de estos dos compuestos. Para esto, se tomaron 2 g de muestras de suelo contaminado con la mezcla de Phe - Py y fueron llevadas a tubos de vidrio de 50 ml junto con 20 ml de solvente. Los tubos fueron suavemente mezclados por 10 minutos y posteriormente sometidos a centrifugación por 20 minutos. Los solventes utilizados fueron:

Etanol 95%

Butanol, grado HPLC

Los extractos que se obtuvieron después de la centrifugación fueron pasados por un sistema de limpieza y se analizó Phe y Py por cromatografía de gases según se explica en el **anexo A**.

## **5.2 Selección de muestras para determinación de la fracción disponible en un experimento de biorremediación**

### **5.2.1 Muestras utilizadas (Peña Colorada)**

Las muestras de suelo provienen de Peña Colorada, una industria minera que explota un yacimiento de hierro a partir de 1975. El proceso de extracción y beneficio del mineral obliga al consumo de hidrocarburos para la elaboración de explosivos o como fuente de energía para la maquinaria pesada. Esto ha provocado la contaminación puntual de los sitios en donde se realizan dichas actividades (zona de embarque, taller mecánico, tanque de combustible, etc...), los cuales están ubicados en antiguas áreas de descapote y explotación.

A partir de los resultados obtenidos en una evaluación previa del sitio realizada por el Instituto de Geografía de la UNAM, se determinó la necesidad de limpiar los suelos que registraron concentraciones de hidrocarburos totales del petróleo de hasta 30 630 mg kg<sup>-1</sup> (Arellano, 2000). Con este fin se conformó un grupo de trabajo, el cual se encargó de desarrollar una metodología de experimentación que permitiera limpiar dichos suelos.

La metodología estuvo basada en el utilización de lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales de la misma empresa, en diferentes relaciones lodo:suelo para evaluar con que proporción se obtendrían los mejores resultados de degradación.

Análisis físicos y químicos de los lodos (Anexo D) muestran que estos contienen bajas concentraciones de nitrógeno y fósforo, pero las cantidades de micronutrientes son más elevadas, principalmente de hierro y zinc. Esto permite suponer que los lodos pueden funcionar como una fuente significativa de nutrientes para estimular el crecimiento de microorganismos en un proceso de biodegradación (CIMA, 2001). Además se identificó en los lodos (Anexo D),

bacterias (*Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Serratia*) que han sido reportadas en la literatura como géneros con capacidad de degradar diversos compuestos químicos, entre los que se encuentran los hidrocarburos (CIMA, 2001).

La experimentación, a cargo del Instituto de Ingeniería de la UNAM, consistió en empacar cajones metálicos con los suelos contaminados y adicionarles lodos de la planta, ambos en dos concentraciones. Las variables consideradas en la experimentación fueron las siguientes:

- ♦ Sitios (4)
- ♦ Concentración de hidrocarburos (2)
- ♦ Volumen de lodos (2)

El arreglo de los cajones (relación peso de suelo:lodo) se hizo tomando como base la experiencia adquirida por el Instituto de Ingeniería en pruebas similares realizadas con anterioridad. En total se instalaron 31 cajones pero debido a consideraciones de tiempo en la experimentación no se consideraron repeticiones para todos los experimentos.

Las condiciones establecidas para el experimento fueron las siguientes (CIMA,2001):

- ♦ Aireación de los cajones en forma manual, removiendo el material dos veces al día.
- ♦ Control de la humedad mediante la adición de lodos cada tres semanas.
- ♦ Temperatura ambiente (bajo condiciones climáticas del lugar).

### **5.2.2 Monitoreo de la degradación mediante determinación de HTPs**

El monitoreo de HTPs fue utilizado con el propósito de evaluar el experimento de biorremediación que se llevó a cabo en los suelos de Peña Colorada, debido a que es una forma rápida y económica de evaluar la eficiencia del experimento.

Con este fin se tomaron muestras de suelo al inicio del experimento y a los 30, 45, 65 y 80 días.

Las muestras para los análisis de HTPs se tomaron de los cajones y se guardaron en frascos de vidrio con un recubrimiento de aluminio en la tapa. Estas muestras se conservaron a una temperatura de 4°C hasta su entrega al laboratorio

La extracción y determinación de HTPs en las muestras se realizó según se describe en el **anexo B**

### **5.2.3 Selección de muestras para determinación de la fracción disponible**

De acuerdo a los resultados obtenidos en el monitoreo de la degradación mediante HTPs, el cálculo del porcentaje de degradación y el tipo de contaminante, se eligieron únicamente dos sitios para el estudio de la disponibilidad, uno en el que se obtuvo un bajo porcentaje de degradación (Polvorín, Plv) y el segundo sitio fue el que mostró un alto porcentaje (Zona de Embarque, ZE) En la tabla 4 se pueden apreciar algunas propiedades de los suelos utilizados en el estudio de disponibilidad.

**Tabla 4. Algunas propiedades de los suelos de Peña Colorada**

Sitios	(% Textura			% M.O.	pH	C.E. ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )	DA ( $\text{gcm}^{-3}$ )	DR ( $\text{gcm}^{-3}$ )
	arena	limo	arcilla					
ZE	46	50	4	0.8 (0.9)	6.9	1.078	2.0	3.2
Plv	76	18	6	1.2 (1.1)	7.1	14.840	1.7	3.2

Se observa que el pH es neutro (6.9 - 7.1) lo cual es un parámetro favorable para la biodegradación. Sin embargo, los valores de conductividad eléctrica son

elevados por el alto contenido de minerales metálicos en los suelos, lo cual podría ser una limitante para la función de los microorganismos (CIMA, 2001).

### **5.3 Determinación de la fracción disponible en suelos contaminados**

#### **5.3.1 Muestras utilizadas**

Las muestras utilizadas fueron las seleccionadas en el apartado anterior (5.2) Plv y ZE, más una muestra procedente de Tabasco.

Los suelos de la zona de Tabasco están clasificados como Histosoles y Gleysoles que se hallan sujetos a inundación la mayor parte del año. Presentan altos porcentajes de materia orgánica en la superficie clasificándose en extremadamente ricos a lo largo del perfil (Ortiz, 2001). En algunos sitios que presentaban derrames antiguos de más de 30 años se encontraron concentraciones de HAPs de hasta 5 011.3 mgkg<sup>-1</sup> entre los 15-30 cm de profundidad (Ortiz, 2001), lo que sugiere que la biodegradación se detuvo por algún mecanismo (condiciones del medio, sorción y/o aislamiento) debido a que probablemente los contaminantes no estuvieron biodisponibles para su degradación.

#### **5.3.2 Extracción múltiple**

El objetivo de esta fase fue realizar una extracción múltiple de la fracción disponible, esto es, extraer con butanol la fracción inmediatamente disponible del contaminante presente el suelo. Para esto, se agitó el suelo durante diferentes tiempos con n-butanol. Como se sabe la sorción/desorción es bimodal (2.3.2) porque ocurre en dos fases, una lenta y otra rápida, y la división entre ellos es arbitraria pero en muchos casos ocurre en pocas horas o días. Curtis et al en Pignatello (1989) estudió la sorción de algunos compuestos halogenados de bajo peso molecular y observó que se requirieron algunos días hasta alcanzar un equilibrio aparente con el suelo del acuífero que tenía un bajo contenido de carbono orgánico, pero cerca de la mitad de la asimilación total se dio en las

primeras 2 horas. Por esta razón, para obtener la fracción disponible o fácilmente desorbible en el experimento de extracción múltiple se consideraron tiempos de 0, 2, 4, 8, 23, 26 y 100 horas que han sido usados también por otros autores (Cornelissen, 1998).

El procedimiento para la obtención de la fracción disponible fue el siguiente:

2 g de cada muestra de suelo fueron transferidos a tubos de vidrio de 50 ml para centrifugar, con 20ml de butanol. Los tubos fueron suavemente agitados por 10 minutos, posteriormente fueron dejados en reposo, con el fin de permitir que la muestra se equilibre con el solvente. Los tiempos de equilibrio fueron de 0, 2, 4, 8, 23, 26, 30 y 100 horas.

Después de cada tiempo la muestra fue centrifugada por 20 minutos y el sobrenadante fue retirado para ser analizado y reemplazado por solvente nuevo para obtener el extracto siguiente

Para remover el material particulado del sobrenadante se utilizó papel filtro Whatman No 5 y posteriormente se evaporó todo el butanol del extracto, para ser reconstituido en hexano con aproximadamente 5 ml.

Se corrió un blanco con el solvente y una repetición de la cinética de una muestra de la Zona de Embarque antes del proceso de biorremediación.

### **5.3.3 Determinación y cuantificación.**

La determinación y cuantificación del fenantreno y pireno se desarrolló según se explica en el **anexo A**.

### **5.3.4 Determinación de fenantreno y pireno en las muestras seleccionadas antes y después del experimento de biorremediación y en muestras de Tabasco.**

Con este paso se pretendió conocer las concentraciones de los HAPs (Phe y Py) de interés en las muestras de suelo al inicio y fin del experimento de biorremediación. Con esta información se pudo calcular los porcentajes de degradación experimentales. Se supuso que este porcentaje es igual al



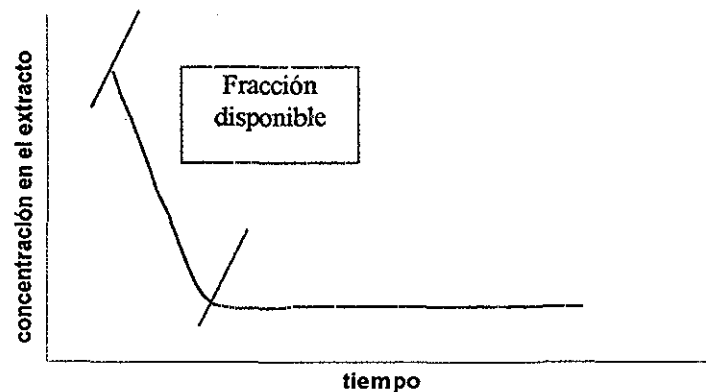
porcentaje de hidrocarburos que estuvieron disponibles durante el experimento de biorremediación.

Los suelos orgánicos no fueron sometidos a ningún proceso de biorremediación y únicamente se determinó la concentración total de Phe y Py presentes.

Estas concentraciones fueron determinadas por cromatografía de gases según se describe en el **anexo A**.

#### **5.4 Comparación entre la fracción disponible y el porcentaje de degradación en muestras del experimento de biorremediación**

Se calculó un porcentaje considerando como la fracción disponible o degradable, a las concentraciones presentes antes de llegar al punto de inflexión de la curva de extracción múltiple (figura 11). Se consideró como la concentración total (el 100%) a aquella que fue determinada por soxhlet para las muestras antes de la biorremediación.



**Figura 11. Curva de extracción múltiple hipotética de un contaminante, donde se observa la fracción disponible antes de llegar al punto de inflexión de la curva**

Se compararon los porcentajes de degradación experimental de Phe y Py que se obtuvieron en 5.2.4 y los porcentajes de disponibilidad calculados a partir de los datos obtenidos en la extracción múltiple.

En el caso de los suelos orgánicos se calculó únicamente el porcentaje disponible que podría alcanzarse en caso de una biorremediación.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Determinación de fenantreno y pireno en muestras de diesel y petróleo.

Tanto el fenantreno (Phe) como el pireno (Py) se encuentran presentes en el diesel y el petróleo en cantidades altas<sup>3</sup>, figura 12. En el diesel se encuentran  $314 \text{ mg kg}^{-1}$  de Phe, y  $559 \text{ mg kg}^{-1}$  de Py. En el caso del petróleo se tiene  $304.9 \text{ mg kg}^{-1}$  de Phe y  $702.9 \text{ mg kg}^{-1}$  de Py

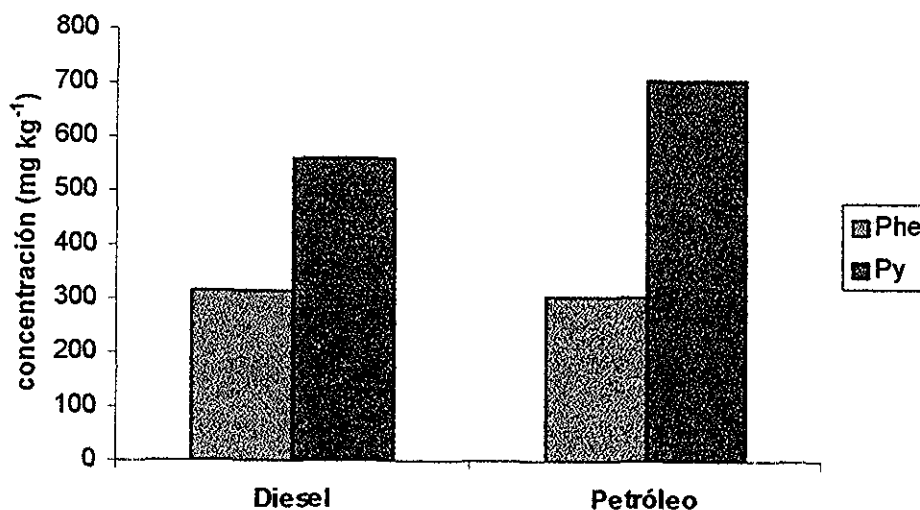


Figura 12. Concentración del fenantreno (Phe) y pireno (Py) en muestras de diesel y petróleo

<sup>3</sup> Los valores se encuentran en el anexo C<sub>1</sub>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Se compararon los porcentajes de degradación experimental de Phe y Py que se obtuvieron en 5.2.4 y los porcentajes de disponibilidad calculados a partir de los datos obtenidos en la extracción múltiple.

En el caso de los suelos orgánicos se calculó únicamente el porcentaje disponible que podría alcanzarse en caso de una biorremediación.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Determinación de fenantreno y pireno en muestras de diesel y petróleo.

Tanto el fenantreno (Phe) como el pireno (Py) se encuentran presentes en el diesel y el petróleo en cantidades altas<sup>3</sup>, figura 12. En el diesel se encuentran  $314 \text{ mg kg}^{-1}$  de Phe, y  $559 \text{ mg kg}^{-1}$  de Py. En el caso del petróleo se tiene  $304.9 \text{ mg kg}^{-1}$  de Phe y  $702.9 \text{ mg kg}^{-1}$  de Py

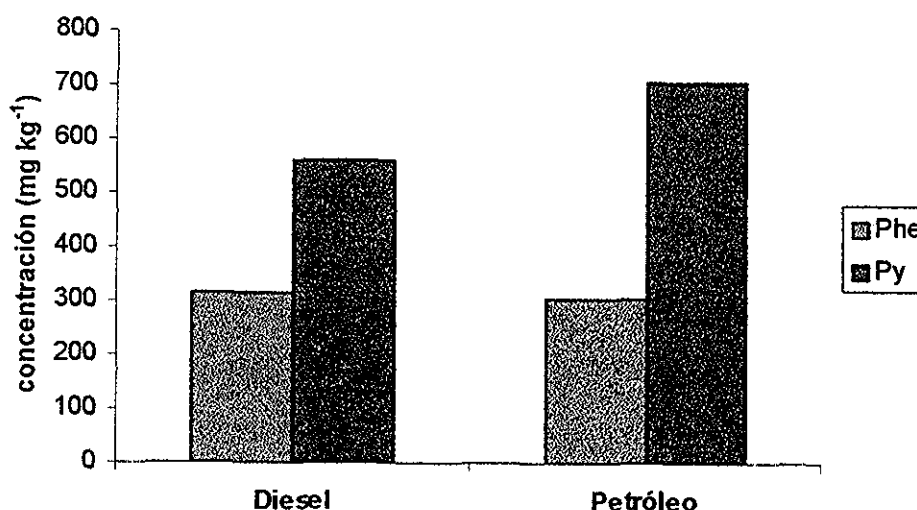


Figura 12. Concentración del fenantreno (Phe) y pireno (Py) en muestras de diesel y petróleo

<sup>3</sup> Los valores se encuentran en el anexo C<sub>1</sub>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 6.2 Contaminación de suelos limpios y extracción.

En general se presentaron dificultades en la contaminación de muestras de suelos en laboratorio, debido a que la recuperación (con butanol, etanol o soxhlet) de los contaminantes en estos suelos fueron muy bajas. Esto puede deberse, en parte, a fallas en el proceso de contaminación como es el hecho de haber contaminado suelos secos con orgánicos, ya que como dice Northcott (2001), la contaminación así aumenta el aislamiento porque el suelo se enriquece en sitios activos de sorción que normalmente están ocupados por agua, dando como resultado un porcentaje alto de compuesto sorbido. La falta de homogenización en la contaminación también pudo haber sido otra causa de los errores en la recuperación.

Por otro lado, se observó que las recuperaciones del etanol y butanol eran similares para un suelo contaminado en laboratorio con una mezcla de Phe y Py (tabla 5). Sin embargo, las cantidades recuperadas son bajas respecto a la contaminación real de las muestras.

**Tabla 5. Concentración de Fenantreno (Phe) y Pireno (Py) disponibles en extracciones no exhaustivas (con butanol y etanol) hechas en muestras de suelo contaminadas en laboratorio con una mezcla de los dos compuestos.**

Solvente	Fenantreno		Pireno	
	(mg Kg <sup>-1</sup> )	% recuperación	(mg Kg <sup>-1</sup> )	% recuperación
Concentración real	7.92		4.2	
Etanol 95%	1.6 (1.8)	20.2	2.1 (2.5)	50
Butanol	2.2 (2.3)	27.8	2.0 (2.3)	47.6

## 6.3 Selección de solvente.

Debido a los problemas presentados en la contaminación de suelos que impidieron observar el comportamiento de los contaminantes con respecto a los

solventes, la selección del solvente fue realizada con base en los reportes que existen en la bibliografía. Kelsey (1997) ha sugerido el uso del butanol como extractante de la fracción disponible de fenantreno, tanto para lombrices como bacterias (2.5.2) Estudios posteriores (Chung, 1999) han propuesto al butanol como extractante de la fracción disponible del pireno, mientras que para el fenantreno se ha sugerido el uso de etanol.

#### 6.4 Monitoreo de la degradación mediante determinación de HTPs en suelos de Peña Colorada durante el experimento de biorremediación.

De los resultados obtenidos en el monitoreo de HTPs para evaluar la eficiencia del experimento de biorremediación se observó que en la mayoría de los cajones se alcanzó una degradación superior al 80%, pero no se observó una relación clara entre la eficiencia de la degradación y la cantidad suelo:lodo (CIMA, 2001).

Para la determinación de la fracción disponible se utilizó únicamente las muestras de la ZE y Plv debido a que estas presentaban el mismo contaminante y mostraban un comportamiento disímil a lo largo del experimento de biorremediación (alto porcentaje de degradación para ZE y un bajo porcentaje de degradación para Plv). Los resultados para estos dos sitios se encuentran en la tabla 6

**Tabla 6. Contenido de hidrocarburos totales del petróleo en muestras de Zona de Embarque (ZE) y Polvorín (Plv) durante el experimento de biorremediación**

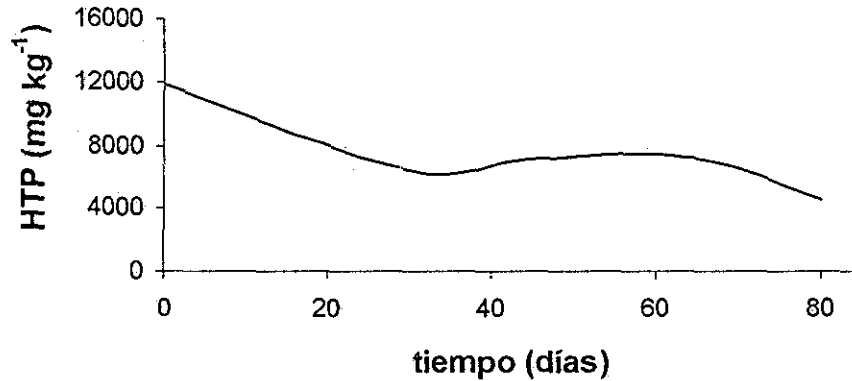
Muestra	Contenido de HTP (mg Kg <sup>-1</sup> )					% degradación
	0 días	30 días	45 días	65 días	80 días	
ZE	11 818	6 402	7 185	7 234	4 545	62
Plv	9 966	9 009	9 267	7 828	9 085	8.8

Los datos muestran que sólo en el suelo de ZE hubo una degradación efectiva del 62% luego de los 80 días. En la figura 13, que muestra la evolución de la biodegradación de hidrocarburos en el suelo de ZE<sup>4</sup>, se puede observar un comportamiento bifásico de los HTP a lo largo del tiempo de duración del experimento. En los primeros 30 días se advierte la existencia de una fase rápida donde se consumen, probablemente, los hidrocarburos fácilmente desorbibles o disponibles. En la segunda fase, entre los 30 y 80 días, se observa un comportamiento que refleja el momento en que la desorción se vuelve lenta y la actividad de los microorganismos está limitada por esta disminución.

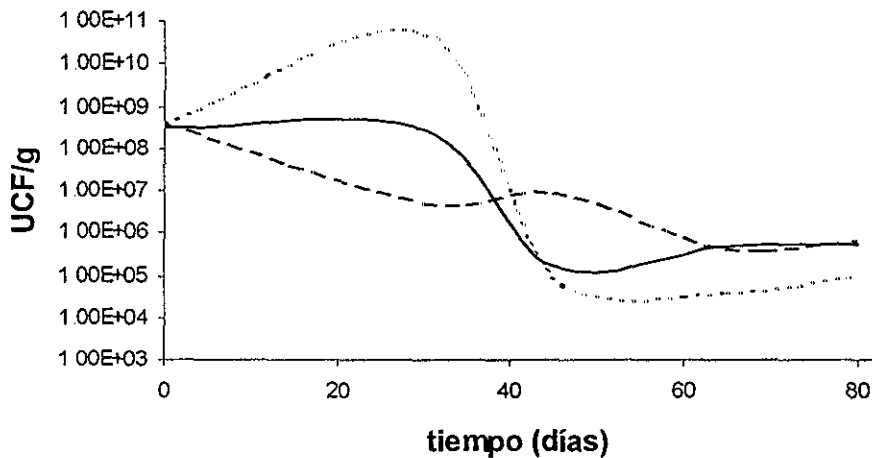
Según los datos proporcionados por CIMA (2001), la actividad microbiana también mostró un comportamiento variable en el tiempo durante el experimento de biorremediación (fig 14). En los primeros 45 días se nota un máximo en el número de las comunidades degradadoras que está relacionado con una actividad de los microorganismos acelerada debido a la mayor concentración de hidrocarburos disponibles. Pasado este tiempo se aprecia un descenso en el número de comunidades degradadoras, que permanece constante hacia el final. Esta disminución está relacionada con una cantidad de hidrocarburos disponibles limitada por la baja en la velocidad de desorción de los hidrocarburos sorbidos en la matriz del suelo

---

<sup>4</sup> En la Zonda de Embarque (ZE), la fuente de contaminación del sitio, lo constituye un tanque de almacenamiento de diesel



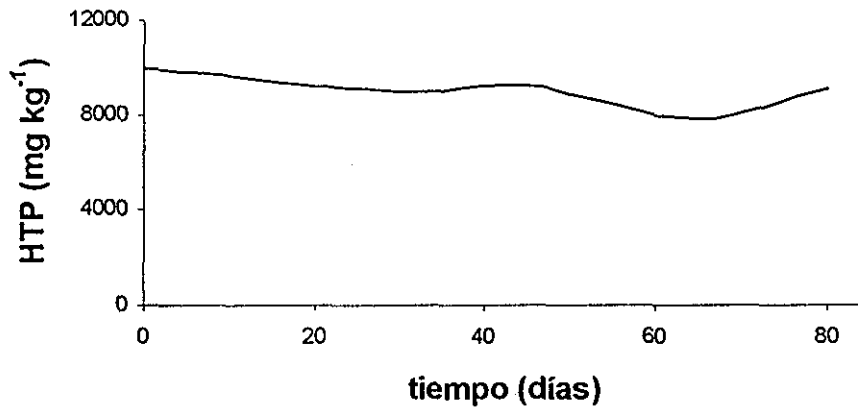
**Figura 13.- Concentración de hidrocarburos totales de petróleo en el transcurso del experimento de biorremediación en el suelo de "Zona de Embarque " (ZE), (M.O. = 0.8 %)**



**Figura 14. Unidades Formadoras de Colonias (UCF) en el transcurso del experimento de biorremediación en el suelo de Zona de Embarque (M.O. = 0.8 %). Según datos proporcionados por CIMA (2001)**

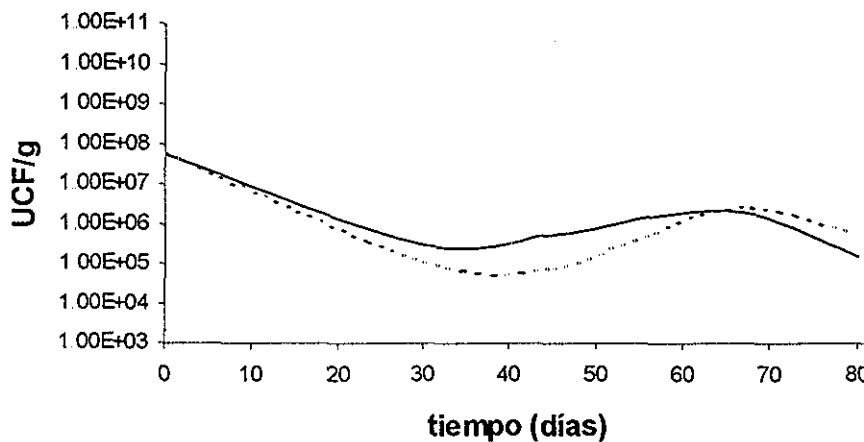
En el caso del suelo de Plv<sup>5</sup> se tiene una baja degradación de hidrocarburos de 8.8% que se ve reflejada en una línea semi horizontal sin mayores variaciones (figura 15)

<sup>5</sup> En el Polvorín (Plv), la fuente de contaminación esta dada por el tránsito de vehículos pesados y el almacén de combustible que se encuentra ahí.



**Figura 15.- Concentración de hidrocarburos totales de petróleo en el transcurso del experimento de biorremediación en el suelo de Polvorín (M.O. ≈1.1 %)**

Otra vez, a partir de los datos de CIMA (2001) se realizó la figura 16, en la que se observa una población relativamente estable de microorganismos, menor a la presente en ZE, a lo largo del experimento. Pero al igual que en el caso de la ZE, en los primeros 30 días se tiene un máximo en el UCF, a continuación se observa un ligero descenso, en el número de colonias.



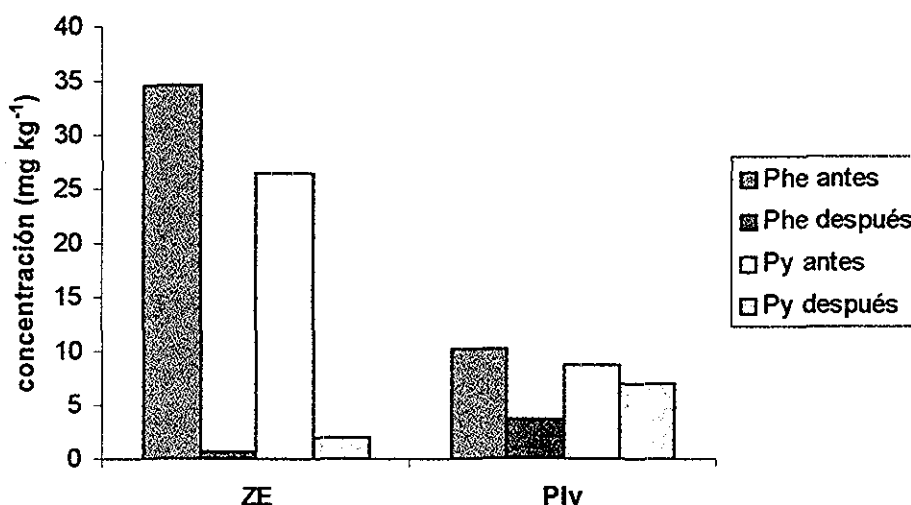
**Figura 16. Unidades Formadoras de Colonias (UCF) en el transcurso del experimento de biorremediación en el suelo de Polvorín (M.O. = 1.1 %). Según datos proporcionados por CIMA (2001)**



Estos contrastes en los porcentajes de degradación de ZE y Plv podrían ser explicables a partir de las diferencias en las cantidades de hidrocarburos que están disponibles para la degradación.

### 6.5 Determinación de fenantreno (Phe) y pireno (Py) en muestras seleccionadas antes y después del experimento de biorremediación y en muestras de Tabasco.

En las muestras de ZE y Plv )Peña Colorada se puede observar que el Phe y el Py tienen una presencia inicial importante antes del proceso de remediación, pero permanecen aún después del proceso<sup>6</sup>, figura 17.



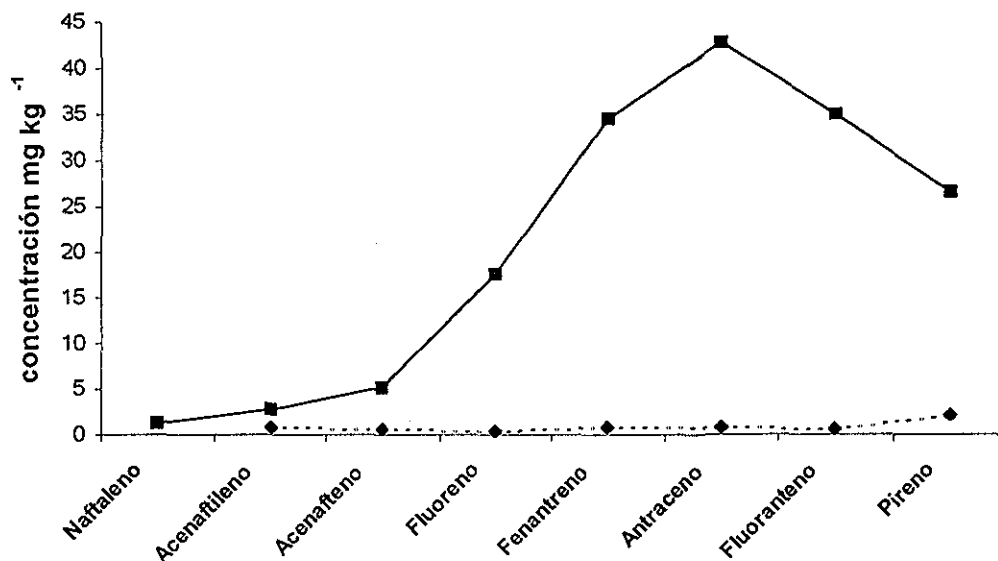
**Figura 17. Concentración de Fenantreno (Phe) y Pireno (Py) en muestras de “Zona de Embarque” (ZE) y “Polvorín” (Plv), antes y después de la remediación**

Es interesante anotar que aunque los dos sitios no tienen concentraciones iniciales de HTP muy diferentes (ZE de 11818 ppm y Plv 9966 ppm, ver 6.1), sus concentraciones iniciales de fenantreno y pireno son casi tres veces mayores.

<sup>6</sup> Los valores se encuentran en el anexo C<sub>2</sub>

Una diferencia en la composición de los HTPs podría ser un factor importante en la disponibilidad de los hidrocarburos, porque un alto contenido de hidrocarburos de bajo a medio peso molecular favorecería la biodegradación.

En la figura 18<sup>7</sup> se muestran los HAPs presentes en ZE antes y después de la biorremediación, donde se puede observar que existe una degradación marcada de los HAPs de peso molecular medio. Suponiendo que en los contaminantes presentes en ZE predominen los hidrocarburos de peso molecular medio y bajo (p.e. Py porcentaje de degradación de 98%) que pudieran tener una alta participación en el proceso de biorremediación (porcentaje de degradación de HTPs de 62%).

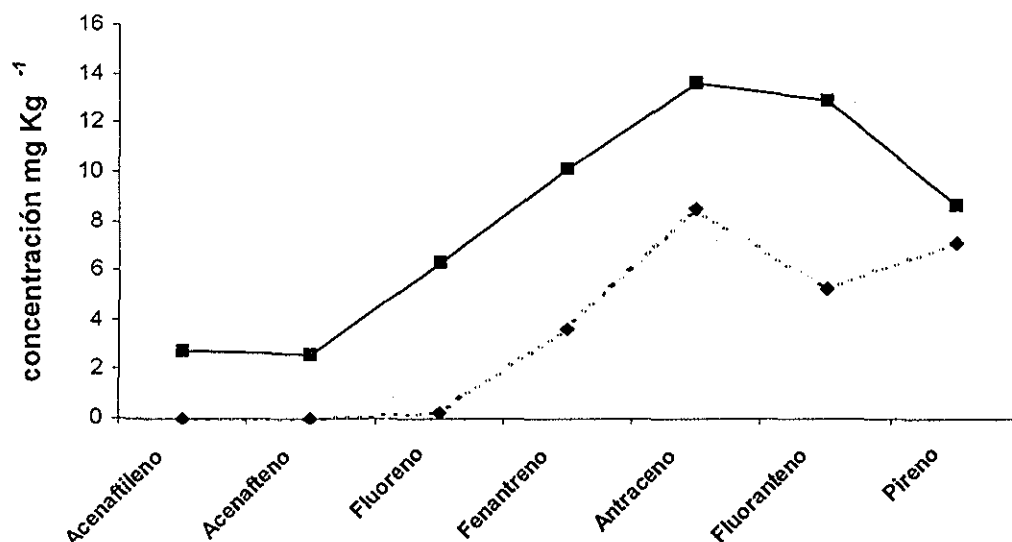


**Figura 18.** Concentración de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs) en la Zona de Embarque (ZE), antes (■) y después (◆) de la remediación.

<sup>7</sup> Los valores se encuentran en el anexo C<sub>3</sub>.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 19<sup>8</sup> se muestra los HAPs presentes en Plv antes y después de la biorremediación, donde se puede observar una degradación moderada ( en comparación a ZE) de los HAPs de peso molecular medio. Suponiendo que este suelo contaminado se encuentre enriquecido en hidrocarburos de alto peso molecular, y además considerando que presentó un porcentaje de degradación de HTPs del 8.8%, podemos suponer que la degradación de los HTPs fue limitada principalmente por la falta de disponibilidad de los hidrocarburos de alto peso molecular



**Figura 19. Concentración hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs) en el “Polvorín” (Plv), antes (▪) y después (♦) de la remediación**

En el caso de los suelos orgánicos de Tabasco, la repetición de la concentración total no fue buena. El hecho que este suelo tenga altos porcentajes de materia orgánica, que hacen que se lo clasifique como extremadamente rico ( $\geq 4.21\%$ ), pudo haber afectado la homogenización de la muestra

<sup>8</sup> Los valores se encuentran en el anexo C<sub>4</sub>



### 6.6 Determinación de la fracción disponible en suelos contaminados.

Los resultados obtenidos para la extracción múltiple realizada para los suelos minerales (ZE y Plv) y orgánicos (T), se muestran en la tabla 7. Aquí se encuentra la información sobre las cantidades de Phe y Py extraídas con butanol para los diferentes tiempos

**Tabla 7. Cantidad de pireno y fenantreno extraídos con butanol antes y después de la biorremediación (ND= no detectado)**

Muestra	Tiempo de extracción (horas)	Fenantreno (Phe) (mg Kg <sup>-1</sup> )		Pireno (Py) (mg Kg <sup>-1</sup> )			
		Antes	Después	Antes	Después		
Repetición		A	B		A	B	
<b>ZE</b>	0	16.4	16.5	ND	18.3	20.2	0.4
	2	0.3	1.4	ND	1.7	1.5	0.5
	4	ND	ND	ND	0.3	ND	0.6
	8	ND	ND	ND	0.3	ND	0.6
	23	ND	ND	ND	0.3	ND	0.6
	Conc disponible		16.7	17.9		20.3	21.7
<b>Plv</b>	0	1.6		1.6	1.5		0.4
	2	ND		ND	0.5		0.3
	4	ND		ND	0.3		ND
	8	ND		ND	0.3		ND
	23	ND		ND	0.2		ND
	26	ND		ND	0.3		ND
Conc disponible		1.6		1.6	2.3		0.7
<b>T</b>	0	0.3	3.1		2.7	10.1	
	2	0.3	2.9		2.1	7.1	
	4		1.7			5.7	
	8	0.1	1.3		1.5	4.8	
	23	ND	1.3		0.3	3.5	
	26	ND	1.2		ND	3.4	
	100	ND	1.3		0.1	3.6	
Conc disponible		0.7	9		6.6	31.2	

Para ZE (M.O. = 0.8%) se realizó una repetición para la extracción múltiple en la muestra de suelo antes del proceso de remediación. La repetición resultó buena y no presentó ninguna otra complicación. Pero en el caso de T que cuenta con altos porcentajes de materia orgánica, que hacen que se lo clasifique como extremadamente rico (>4.21 %), no se logró una buena repetición. Esto puede estar relacionado con alto contenido de M.O. que afectó la homogenización, o que al ser la M.O. muy heterogénea, los procesos que se dan en ella varían grandemente y por tanto son difícilmente repetibles.

A partir de los datos de la tabla 7 se realizaron las gráficas para los diferentes suelos, en las que se representó la cantidad de contaminante extraído en función del tiempo de extracción, antes y después del proceso de remediación. Esto se hizo con el objeto de observar la diferencia en la extracción múltiple de la fracción disponible en las dos fases de la biorremediación. Las gráficas que representan la extracción múltiple de la fracción disponible del pireno antes del proceso de remediación (figuras 20,21, 22) muestran que para los suelos minerales, ZE y Plv, esta fracción se obtiene en las primeras 2 y 5 horas respectivamente; mientras que para T con un suelo orgánico la liberación de la fracción disponible se prolongó hasta las 40 horas, razón por la cual el tiempo de agitación se prolongó hasta las 100 h. Después de estos tiempos las curvas se tornan asintóticas, lo que indicaría que se ha iniciado la fase de desorción lenta del compuesto. Este comportamiento particular de los suelos orgánicos podría ser debido a que los compuestos estén fuertemente adsorbidos a la M.O., circunstancia que induce a que la fracción disponible de fenantreno y pireno se libere más lentamente que en los suelos minerales. Esto hace pensar en la materia orgánica como agente reductor de la disponibilidad. Sin embargo, en condiciones de campo otras razones también limitan la disponibilidad de estos hidrocarburos en el suelo de Tabasco, como son las condiciones del medio, anóxicas la mayor parte del año.

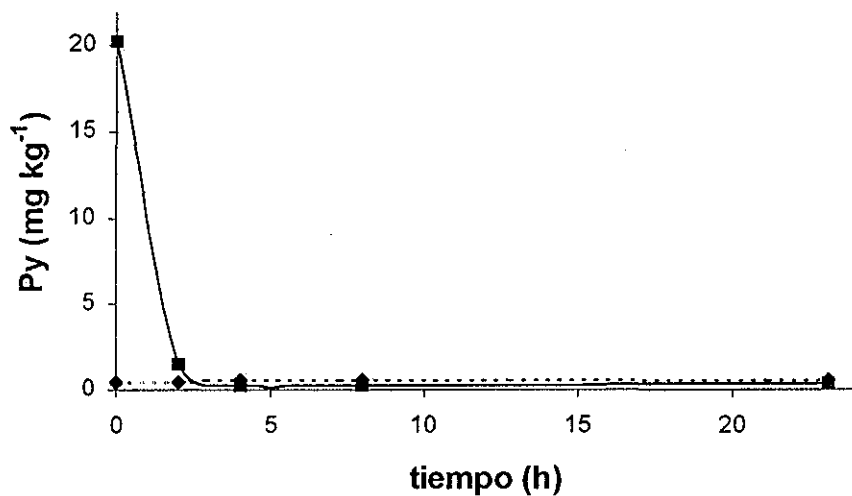


Figura 20. Curvas de extracción para el pireno, Zona de Embarque, antes (■) y después(◆) de la biorremediación

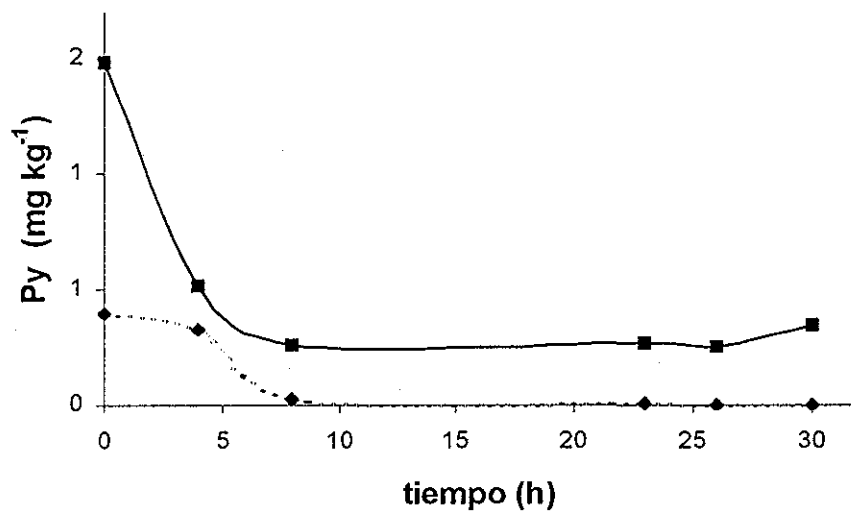
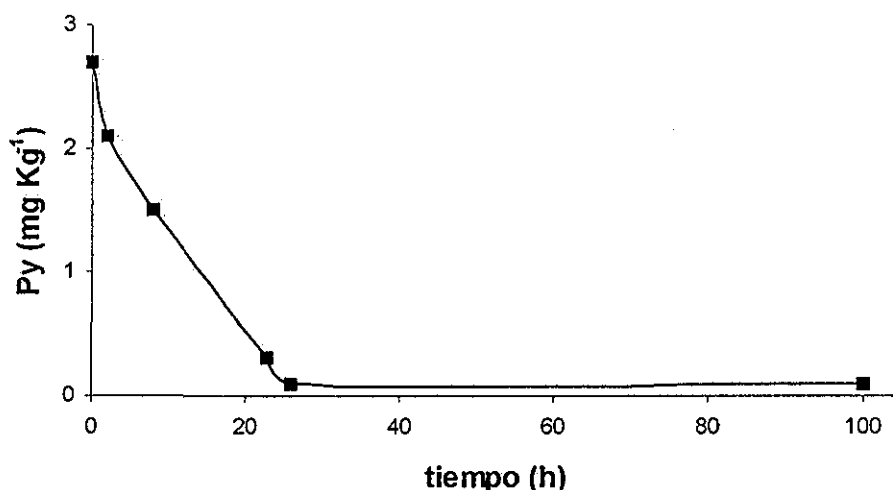


Figura 21. Curvas de extracción para el pireno, Polvorín, antes (■) y después (◆) de la biorremediación



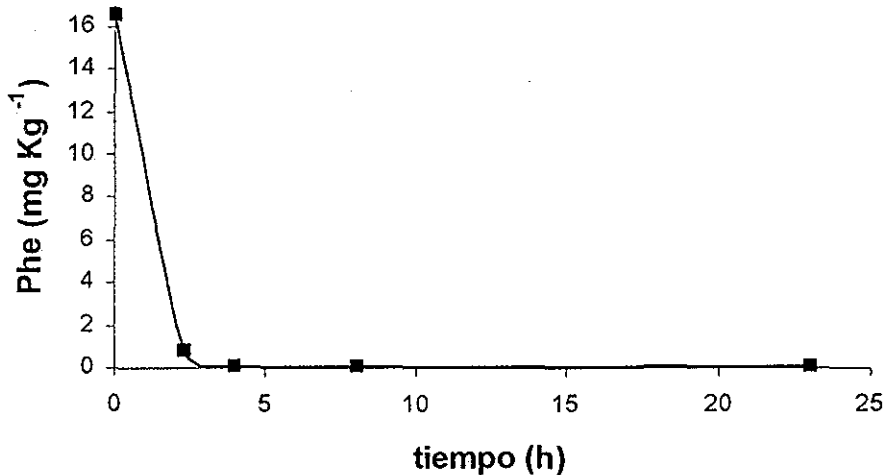
**Figura 22.** Curva de extracción para el pireno, Tabasco

En las gráficas 20 y 21 se puede observar la extracción múltiple de la fracción disponible de Py después de la remediación. En el caso de ZE, la curva después de la remediación no presentan una fracción disponible o de rápida desorción importante, lo que podría explicarse por la influencia de este proceso que conduce a una reducción marcada en la disponibilidad de los contaminantes en el suelo, lo que puede ser debido a que fue esta fracción la que participó en el proceso de degradación. En consecuencia, el cese en la biodegradación puede ser atribuido a la disminución en esta fracción

En el caso de Plv, las curvas antes y después de la biorremediación tienen una variación menos acentuada (en contraste con ZE), lo que nos hace suponer que la biodegradación aún no se ha desacelerado completamente.

En el caso del Phe, la gráfica 23 muestra la cinética de extracción para ZE antes del experimento de remediación. Se puede observar la presencia de una fracción significativa de Phe disponible. Después de la remediación no existe recuperación de Phe (tabla 7), lo que nos indica que no existe más compuesto disponible y que la fracción de desorción lenta es la que controlará a partir de ese

momento la biodegradación. Para el Plv, la recuperación es pobre antes y después de la remediación (tabla 7) lo que sería un indicio que la fracción disponible no se afecta por la biodegradación y que la disponibilidad de este compuesto en este suelo es baja.



*Figura 23. Curvas de extracción para el fenantreno, Zona de Embarque, antes de la biorremediación*

### **6.7 Comparación entre el porcentaje disponible y el porcentaje de degradación en muestras de un experimento de biorremediación.**

Como lo sugiere Cornelissen (1998), se utilizaron los compuestos que presentaron una degradación significativa al final del experimento de remediación. Para el cálculo aproximado del alcance del experimento de biorremediación, se utilizó al Phe y Py por sus porcentajes de degradación (98% y 92% ZE ; 64% y 19% Plv ) en el experimento de remediación. En la Tabla 8 se muestra las concentraciones de Phe y Py totales y disponibles con butanol, y los porcentajes de degradación y disponibles.



**Tabla 8. Concentración de fenantreno (Phe) y pireno (Py) totales (extraídos con hexano) y disponibles (extraídos con butanol) en suelos minerales (ZE y Plv) y orgánicos (T), y porcentajes de degradación calculados a partir de las concentraciones totales y disponibles**

Muestra	Fenantreno				Pireno			
	conc. total (mgKg <sup>-1</sup> )	fracción disponible (mgKg <sup>-1</sup> )	% disp <sup>9</sup>	% degr <sup>10</sup>	conc. total (mgKg <sup>-1</sup> )	fracción disponible (mgKg <sup>-1</sup> )	% disp	% degr
ZE	34.6	17.9	52	98	26.5	21.7	82	92
Plv	10.2	1.6	16	64	8.7	2.3	26	19
T	3.42 (20.79)	0.7 (9)	20 (43)		18.3 (67.47)	6.6 (31.2)	36 (46)	

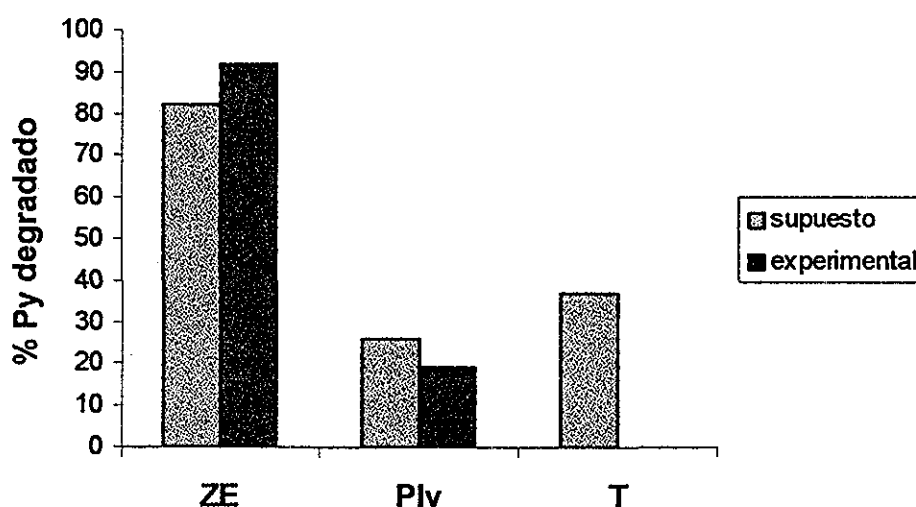
En la figura 24 se pueden observar los porcentajes disponibles calculados a partir de la extracción múltiple de la fracción disponible del Py y los porcentaje reales que se obtuvieron al final de la biorremediación en los suelos minerales de ZE (82% y 92% respectivamente) y Plv (26% y 19% respectivamente). Los porcentajes de degradación y disponibles tienen una diferencia de alrededor de 10 puntos y puede deberse a múltiples factores: a) probable generación de surfactantes<sup>11</sup> por los microorganismos que se adicionaron con los lodos y que aceleraron la mineralización a pesar de una desorción más lenta de la fracción disponible, (ZE); b) posible diferencia entre la velocidad de desorción y la velocidad de mineralización que estaría provocando que en Plv la desorción sea más rápida que la mineralización y por tanto el porcentaje disponible sea mayor que el experimental, mientras que en ZE la desorción sería más lenta que la mineralización y por ende el porcentaje calculado sería mayor que el experimental.

<sup>9</sup> Porcentaje disponible

<sup>10</sup> Porcentaje degradado

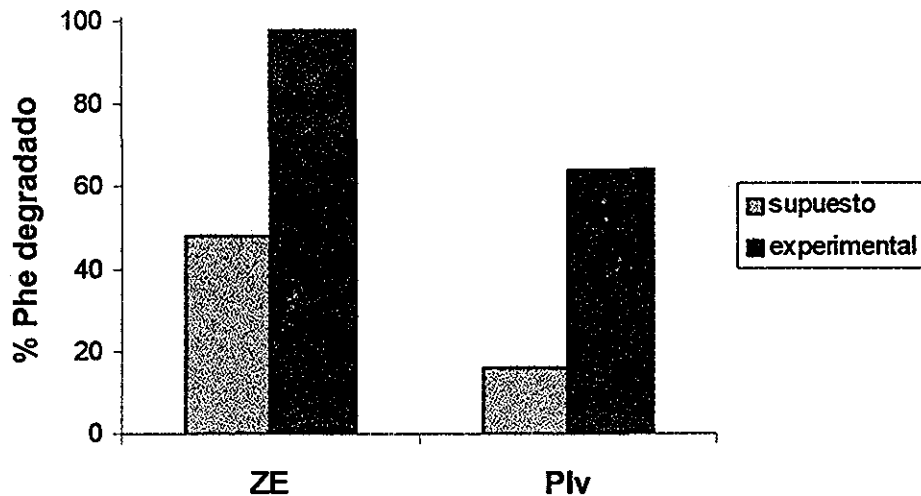
<sup>11</sup> Los surfactantes actúan en la superficie o interfase entre una fase polar y otra no polar modificando las propiedades de las fases. Esta característica es la que facilita la liberación de los HAPs sorbidos al suelo, con lo cual favorecen la biorremediación.

La diferencia entre la velocidad de mineralización y la velocidad de desorción ha sido atribuida a la existencia de comunidades microbianas nativas, adaptadas a la mineralización de los HAPs. Estas comunidades alteran la velocidad de desorción en suelos envejecidos, de manera que el contaminante sea desorbido en cantidades suficientes para asegurar su subsistencia (Carmichael, 1997; Guthrie, 1998). En los suelos estudiados se ha determinado la existencia de comunidades microbianas degradadoras nativas (CIMA, 2001), y su actividad pudo haber afectado la cinética de desorción de los HAPs.



**Figura 24.** Comparación de los porcentajes de degradación de pireno en suelos minerales (ZE y PIV) y orgánicos (T), obtenidos a) experimentalmente en la biorremediación, y b) calculados a partir de la cinética de la extracción múltiple de la fracción disponible con butanol

En el caso del Phe, el cálculo del porcentaje de degradación con base en la extracción de la fracción disponible fue de 52% en ZE y de 16% en PIV, y los porcentajes obtenidos al final del experimento de degradación fueron de 98% para ZE y de 64% para PIV (figura 25), debido probablemente a que el butanol no es el extractante adecuado para la extracción de la fracción disponible de fenantreno.



**Figura 25. Comparación de los porcentajes de degradación de fenantreno en suelos minerales (ZE y Plv), obtenidos a) experimentalmente en la biorremediación, y b) calculados a partir de la extracción múltiple de la fracción disponible con butanol**

Como se sabe (5.1.2) los sedimentos que participaron en el experimento provienen de los terreros caracterizados por un bajo contenido de M.O. y una fertilidad limitada. Sin embargo es común la presencia de líquenes y hongos, y en algunos terreros se puede observar la presencia de pastos y material vegetal apetecible para el ganado (PIQAYCA, 1991). De ahí que posean bajos contenido de materia orgánica, de 0.8% para la ZE y de 1.1% para el Plv. Se ha dicho que la adsorción en la materia orgánica es el principal mecanismo que retarda el movimiento de los contaminantes en suelos con un contenido de materia orgánica superior al 0.1%(Chiou, 1989; McLeod, 2000). Sin embargo, no existe un contraste significativo en el contenido de M.O. que explique la diferencia en la disponibilidad de los contaminantes en los suelos minerales de Peña Colorada. En el caso de los suelos orgánicos (T), los porcentajes disponibles fueron de 20 y 36% para el Phe y Py, respectivamente. Desafortunadamente no se pudo comparar estos resultados con porcentajes de degradación experimentales que

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

nos hubieran permitido evaluar el comportamiento de los extractantes en suelos con un alto contenido de M.O

Otro factor significativo en la disponibilidad de los contaminantes en los suelos es el envejecimiento. Sin embargo, carecemos de los datos acerca del tiempo de contaminación de estos suelos que nos permitan comparar el comportamiento de los suelos frente a la degradación. En todo caso sabemos que se trata de suelos que han sido continuamente contaminados desde hace más o menos tres décadas por lo que se debe esperar una presencia substancial de la fracción de lenta desorción que limitará el éxito de cualquier programa de remediación.

En suma, la degradabilidad de los contaminantes en los sitios de estudio (ZE y Plv) está condicionada por múltiples factores como:

- i) La disponibilidad de los contaminantes, sea que éstos estén sorbidos o aislados en microporos.
- ii) Actividad de microorganismos adaptados a la mineralización de HAPs, que modifican la relación entre la velocidad de mineralización y la velocidad de desorción y de lo cual se habló en párrafos anteriores.
- iii) Condiciones ambientales, pH, temperatura, contenido de nutrientes, presencia de oxígeno, durante el experimento de biorremediación
- iv) Diferencias en la composición de los contaminantes de ZE y Plv. La presencia de compuestos de alto peso molecular en Plv dificultan la biodegradación.

## 7. CONCLUSIONES

- Los contaminantes en cuestión (diesel y petróleo) y los suelos analizados, tienen Phe y Py en cantidades significativas.
- Una misma concentración de HTPs representa diferentes composiciones de hidrocarburos. Por esta razón este parámetro no puede ser utilizado para evaluar el riesgo en un suelo contaminado. Su utilidad en el caso de estudio es para evaluar el progreso de un experimento de biorremediación.
- Para evaluar el riesgo que representa la exposición de los organismos a compuestos tóxicos en el suelo, se requiere conocer la concentración que está disponible para la especie en cuestión. Las extracciones exhaustivas (Soxhlet) no reflejan la cantidad de contaminante disponible para los microorganismos porque se ha demostrado en este y anteriores experimentos (Kelsey, 1997) que solo una fracción del total es la que se encuentra disponible.
- Debido a que la estructura y características del Py y Phe se encuentran en otros HAPs cancerígenos, se los utilizó para la evaluación de la fracción disponible.
- El butanol extrae los compuestos en solución acuosa y/o adsorbidos a las superficies. El grado de accesibilidad del solvente a los compuestos adsorbidos depende del tiempo y la velocidad de agitación. Un tiempo y velocidad excesivos harían que el solvente altere excesivamente la conformación de la M.O. (2.5.2) permitiendo que sean liberados los hidrocarburos que se encuentran dentro de la M.O. o fuertemente adsorbidos a los nanoporos en los agregados del suelo.
- La cantidad de Py extraído del suelo por el butanol antes del punto de inflexión de la curva de extracción, es aproximadamente similar a la fracción disponible

para los microorganismos, lo que sugiere que a partir de la fracción rápidamente desorbible de HAPs de bajo peso molecular, como el Py, se podría predecir aproximadamente la magnitud a la cual los HAPs podrían ser degradados sin ser limitados por la desorción.

- El comportamiento del Phe en la extracción múltiple de la fracción disponible, no concuerda con resultados del experimento de biorremediación. Probablemente esto se deba a una falta de afinidad entre el solvente (butanol) y el Phe
- Esta evaluación de la disponibilidad puede servir como una primera aproximación más no se debe perder de vista el hecho que el solvente a usarse en la experimentación debe ser elegido de acuerdo al contaminante y a la especie de interés.
- En los suelos minerales, la fracción disponible de Phe y Py se liberó más rápido que en los suelos orgánicos debido a la acción de la M.O. como agente reductor de la disponibilidad.
- La baja disponibilidad de los HAPs como el Phe y Py en el suelo puede ser la causa de la limitación en su degradabilidad.
- La fracción de HAPs disponibles o rápidamente desorbibles disminuye con la biorremediación
- Esta evaluación de la disponibilidad se presenta como un acercamiento económico, rápido y fácil para predecir el alcance de un proceso de biorremediación. El conocimiento de la disponibilidad aproximada de un contaminante orgánico en el suelo es un factor importante a la hora de tomar decisiones, relacionadas con el saneamiento de sitios contaminados, porque

permite escoger la técnica más adecuada para el suelo a tratar. Sin embargo, la evaluación está limitada a un solo compuesto, pireno.

- La actividad de los microorganismos nativos y los presentes en los procesos de biorremediación en los suelos minerales de Peña Colorada, consume la mayoría de la fracción rápidamente desorbible o disponible, dejando al suelo enriquecido en las fracciones de lenta desorción. Este hecho hace que la disponibilidad del contaminante se reduzca, y por consiguiente su toxicidad, pero esta circunstancia limita también los alcances del experimento de remediación al no permitir retirar la totalidad del contaminante.

## 8. RECOMENDACIONES

- Las velocidades de desorción y mineralización en suelos envejecidos y frescos son diferentes. Por tanto cualquier estudio de disponibilidad que se realice debe tener claras estas diferencias a la hora de evaluar los resultados.
- Diferencias metodológicas en los procedimientos, como el tiempo de agitación, entre el presente y otros estudios pueden explicar la variación en la extractabilidad de los compuestos. El tiempo de agitación ha variado entre segundos de agitación (con vortex o manual) a horas de agitación, dando como resultado diferencias en las cantidades finales extraídas. Por esta razón, estudios posteriores deberán evaluar la influencia del tiempo de agitación en la extracción múltiple de la fracción disponible.
- El método de análisis de la disponibilidad que se aplique, deberá estar orientado por los objetivos del estudio. Es decir, debe estar claro que se quiere averiguar con ello, a) la toxicidad de un contaminante b) el alcance de un proceso de remediación o c) una probable bioacumulación del

permite escoger la técnica más adecuada para el suelo a tratar. Sin embargo, la evaluación está limitada a un solo compuesto, pireno.

- La actividad de los microorganismos nativos y los presentes en los procesos de biorremediación en los suelos minerales de Peña Colorada, consume la mayoría de la fracción rápidamente desorbible o disponible, dejando al suelo enriquecido en las fracciones de lenta desorción. Este hecho hace que la disponibilidad del contaminante se reduzca, y por consiguiente su toxicidad, pero esta circunstancia limita también los alcances del experimento de remediación al no permitir retirar la totalidad del contaminante.

## 8. RECOMENDACIONES

- Las velocidades de desorción y mineralización en suelos envejecidos y frescos son diferentes. Por tanto cualquier estudio de disponibilidad que se realice debe tener claras estas diferencias a la hora de evaluar los resultados.
- Diferencias metodológicas en los procedimientos, como el tiempo de agitación, entre el presente y otros estudios pueden explicar la variación en la extractabilidad de los compuestos. El tiempo de agitación ha variado entre segundos de agitación (con vortex o manual) a horas de agitación, dando como resultado diferencias en las cantidades finales extraídas. Por esta razón, estudios posteriores deberán evaluar la influencia del tiempo de agitación en la extracción múltiple de la fracción disponible.
- El método de análisis de la disponibilidad que se aplique, deberá estar orientado por los objetivos del estudio. Es decir, debe estar claro que se quiere averiguar con ello, a) la toxicidad de un contaminante b) el alcance de un proceso de remediación o c) una probable bioacumulación del



contaminante. Las evaluaciones biológicas de la disponibilidad son el instrumento más idóneo para evaluar la toxicidad de un contaminante. Un análisis químico basado en la extracción de la fracción disponible es el más indicado a la hora de evaluar el alcance de un proceso de remediación. Por último, la bioacumulación de contaminantes en organismos, especialmente peces, es estudiada utilizando modelos teóricos.

- Los análisis de disponibilidad que se realicen deberán tener en cuenta la existencia de comunidades microbianas degradadoras nativas, debido a que éstas alteran las velocidades de desorción de los contaminantes en el suelo.
- No se puede ignorar la existencia de una fracción de lenta desorción, pues ésto puede ocasionar una sobreestimación de la movilidad y la disponibilidad de los contaminantes.

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. Alexander, M. (2000). ***Aging, bioavailability and overestimation of risk from environmental pollutants***. Environ. Sci. Technol., 34 (20) : 4259 – 4265
2. Alexander , M. (1994). ***Biodegradation and Bioremediation*** Academic Press, Inc. San Diego, California, pp 302
3. Alexander, M. (1995). ***How toxic are toxic chemical in soil?*** Environ Sci. Technol. 29 (11) : 2713 - 2717.
4. Alexander, R. and Alexander, M. (1999). ***Genotoxicity of two polycyclic aromatic hydrocarbons declines as they age in soil*** . Environ. Tox. and Chem. 18 (6) : 1140 - 1143.
5. Arellano, A. (2000). ***Análisis de hidrocarburos totales por espectroscopia de infrarrojo en suelos. Estudio de caso: Empresa Minera*** Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp 63
6. Benenett, P. última fecha de actualización 28.08.98 ***Organic water partitioning.*** [www.geo.utexas.edu/courses/387e/PDF](http://www.geo.utexas.edu/courses/387e/PDF).
7. Bohn, H., McNeal, B. and O'Connor, G. (1993). ***Química del suelo***. Limusa, México. pp 363.
8. Brady, N. (1999). ***The nature and properties of soils***. Prentice - Hall, pp 881

9. Brusseau, M., Wood, and Rao P. (1991). ***Influence of organic cosolvents on the sorption kinetics of hydrophobic organic chemicals***. Environ. Sci. Technol. 25 (5) : 903 - 909.
10. Carmichael, L., Christman, R. and Pfaender, F. (1997). ***Desorption and mineralization kinetics of phenantrene and chrysene in contaminated soils***. Environ. Sci. Technol. 31 (1) : 126-132.
11. Chiou, C. (1989). ***Theoretical considerations of the partition uptake of nonionic organic compounds by soil organic matter***. In *Reaction and movement of organic chemicals in soils* Sawhney, B. and Brown K. (Eds) SSSA Spec. Publ. No 22, Soil Science of America, Madison. pp 1 – 30
12. Chung, N. and Alexander, M. (1999). ***Effect of concentration on sequestration and bioavailability of two polycyclic aromatic hydrocarbons*** Environ. Sci. Technol. 33 (20) : 4259 - 4265.
13. Chung, N. and Alexander, M. (1998). ***Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soil*** Environ. Sci. Technol. 32 (7) : 855 - 860.
14. Cole, M. (1994). ***Assessment and remediation of petroleum contaminated sites***. Lewis Publishers, USA. pp 360.
15. Connell, D. (1997). ***Basic concepts of environmental chemistry***. Lewis Publishers, E. U. pp 506.
16. Connell, D. and Markell, R. (1990). ***Bioaccumulation in the soil to earthworm system***. Chemosphere. 20 (1-2) : 91-100.

17. Cornelissen, G., Noort, P. and Gover, H. (1997) ***Desorption kinetics of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls: sediment extraction with Tenax and effects of contact time and solute hydrophobicity***. Environ. Tox. and Chem. 16 (7) : 1351-1357.
18. Cornelissen, G., Rigterink, H., Ferdinandy, M. and Van Noort, P. (1998). ***Rapidly desorbing fractions of HAPs in contaminated sediments as a predictor of the extent of biorremediation***. Environ. Sci. Technol. 32 (7) : 966-970
19. Cornelissen, G., Van Noort, P. and Govers, H. (1998). ***Mechanism of slow desorption of organic compounds from sediments: a study using model sorbents***. Environ. Sci. Technol. 32 (20) : 3124-3131.
20. Consultoría en Investigación en Medio Ambiente (CIMA). 2001. ***Restauración de suelos contaminados con hidrocarburos, CMBJPC. Informe parcial***. México, pp 51.
21. De Jonge, H., Freijer, J., Verstraten, J. and Westerveld, J. (1997). ***Relation between bioavailability and fuel oil hydrocarbon composition in contaminated soils*** Environ. Sci. Technol. 31 (3) : 771-775.
22. De Jonge J. (1996). ***Resorption, bioavailability and mineralization of hydrocarbons in contaminated soils***. Amsterdam. pp 150.
23. Environmental Protection Agency, EPA (2000) ***Test Methods***. [www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/waste/test/](http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/waste/test/)
24. Green, J. and Trett, M. (1989). ***The fate and effects of oil in freshwater*** Elsevier Applied Science, London. pp338

25. Gustafson, J. (Ed) (1998) ***Total Petroleum Hydrocarbon criteria working group (TPHCWG): Selection of representative TPH fractions based on fate and transport considerations.*** Vol. 3 ISBN 1-884-940-12-9
26. Guthrie, E. and Pfander, F. (1998). ***Reduced pyrene bioavailability in microbially active soils*** Environ. Sci. Technol. 32 (4) : 501 – 508.
27. Haitzer, M., Gudrun, A., Traunspurger, W. and Steinberg, C. (1999). ***Effect of humic substances on the bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons: correlations with spectroscopic and chemical properties of humic substances*** Environ. Tox. and Chem. 18 (22) : 2782-2788.
28. Haeseler, F., Blanchet, D., Druelle, V., Werner, P. and Vandecasteele, J. (1999). ***Ecotoxicological assesment of soils of former manufactured gas plant sites: Bioremediation potential and pollutant mobility*** Environ. Sci. Technol. 33 (24) : 4379-4384
29. Jin, Z., Simkins, S. and Xing, B. (1999). ***Bioavailability of freshly added and aged naphthalene in soils under gastric pH conditions.*** Environ. Tox and Chem. 12 (8) : 2751-2758.
30. Johnson, M., Keinath, M. and Weber, W. (2001). ***A distributed reactivity model for soprtion by soils and sediments.14 Characterization and Modeling of phenantrene desorption rates.*** Environ. Sci. Technol. 35 (8) : 1688-1695.
31. Joseph, P. and Brusseau, M. (1998). ***Rate-limited sorption of Hydrophobic organic compounds by soils with well-characterized organic matter*** Environ. Sci. Technol. 32 (11) : 1604-1608

32. Kelsey, J., Kottler, B. and Alexander, M. (1997). ***Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil aged organic chemicals.*** Environ. Sci. Technol. 31 (1): 214 – 17.
33. Kraus, M., Wilcke, W. and Zech, W. (2000). ***Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) to earthworms in urban soils*** Environ. Sci. Technol. 34 (20): 4335 – 4340.
34. La Grega, M., Buckingham, P. and Evans, J. (1996). ***Gestión de residuos tóxicos- tratamiento eliminación y recuperación de suelos.*** Vol 1. Mac Graw-Hill, Madrid. pp 642
35. Loehr, R. última fecha de actualización 08.96 ***The environmental impact of soil contamination .*** [www.rppi.org/ambiente/ps211.html](http://www.rppi.org/ambiente/ps211.html)
36. Macleod, C. and Semple, K. (2000). ***Influence of contact time on extractability and degradation of pyrene in soils.*** Environ. Sci. Technol. 34 (23): 4952 - 4957
37. McBride, M. (1994). ***Environmental Chemistry of soils.*** Oxford University Press, pp 406.

38. McKay, D. y Fraser, A. (2000) ***Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models.*** Environmental Pollution. 110 : 375-391.
39. Nam, K., Chung, N. and Alexander, M. (1998). ***Relationship between organic matter content of soil and the sequestration of phenanthrene*** Environ. Sci. Technol. 32 (23) : 3785- 3788.
40. Nam, K. and Alexander, M. (1999) ***Role of Nanoporosity and hydrophobicity in sequestration and bioavailability: tests with model solids*** Environ. Sci. Technol. 33 (20) : 3605-3608.
41. Northcott, G. and Jones, K. (2001) ***Partitioning, extractability and formation of nonextractable PAH residues in soil. 1. Compound differences in aging and sequestration.*** Environ. Sci. Technol. 35 (6) : 1103 - 1110.
42. Ortiz, R. (2001). ***Migración de hidrocarburos en suelos orgánicos cercanos a sitios de explotación petrolera en el distrito de Agua Dulce, Tabasco*** Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp 112.
43. Páez, B. (2000). ***Aplicación de bioensayos de toxicidad aguda para evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo.*** Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp 83
44. Pignatello, J. and Xing, B. (1995). ***Mechanism of slow sorption of organic chemicals to natural particles*** Environ. Sci. Technol. 30 (1) : 1-11

45. Pignatello, J (1989). ***Sorption dynamics of organic compounds in soils and sediments.*** In *Reaction and movement of organic chemicals in soils.* Sawhney, B and Brown K. (Eds) SSSA Spec Publ. No 22, Soil Science of America, Madison pp 45 – 80
46. Porta, J , López-Acevedo, M. y Roquero, C (1994) ***Edafología para la agricultura y el medio ambiente.*** Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp 52
47. Pothuluri, J. and Cerniglia, C. (1994). ***Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons*** In *Biological Degradation and Bioremediation of Toxic Chemicals.* Chaundry R. (Ed) Chapman & Hall, Londres. pp 92 –124.
48. Potter, T. (Ed) (1998). ***Total Petroleum Hydrocarbon criteria working group (TPHCWG): Composition of petroleum mixtures.*** ISBN 1-884-940-19-6
49. Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental, PIQAYAQ, Instituto de Geografía – Facultad de Química, UNAM. (1991). ***Evaluación de las afectaciones al ambiente relacionadas con las actividades del CMBJPC S.A. de C.V.*** México. pp 116.
50. Reid, B., Stokes, J., Jones, K. and Semple, K. (2000). ***Nonexhaustive Cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability*** Environ. Sci Technol. 34 (15): 3174 - 3179.
51. Reid, B., Jones, K. And Semple, K. (1999). ***Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments a prepective on mechanisms, consequences and assesment.*** Enviromental Pollution. 108 : 103-112.



52. Sayles, G., Achenson, C., Kupferle, M., Shan, Y., Zhou, Q., Meier, J., Chang, L. and Brenner, R. (1999). ***Land treatment of PAH-contaminated soil: performance measured by chemical and toxicity assays*** Environ. Sci. Technol. 33 (20) : 3605-3608.
53. Secretaría de Hacienda y Crédito Público, SHCP (2002). ***Comunicado de Prensa 036/2002***. [www.shcp.gob.mx/index01.html](http://www.shcp.gob.mx/index01.html)
54. Sijms, D., Kraaij, R. and Belfroid, A. (2000). ***Bioavailability in soil or sediment: exposure of different organisms and approaches to study it***. Environmental Pollution. 108 : 113 - 119.
55. Sparks D. (1995). ***Environmental Soil Chemistry***. Academic Press
56. Sparks, D. (1989). ***Kinetics of soil chemical processes***. Academic Press, San Diego. pp 210
57. Sposito, G. (1989). ***The chemistry of soils***. Oxford University Press, Londres. pp 277
58. Stroh, H., Jensen, R., Loehr, R., Nakles, D., Fairbrother, A. and Liban, C. (2000). ***Environmental Acceptable endpoints for PAHs at a manufactured gas plant site*** Environ. Sci. Technol. 34 (18) : 3831-3836.
59. Tan, K., (1993) ***Principles of soil chemistry***. Marcel Dekker, New York. pp 210-212.
60. Tang, J., Robertson, B. and Alexander, M. (1999). ***Chemical extraction methods to estimate bioavailability of DDT and DDD in soil***. Environ. Tox. and Chem. 33 (23) : 4346-4351

61. Tang, J and Alexander, M. (1999). ***Mild extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil.*** Environ. Tox and Chem. 18 (12) : 2711-2714.
62. Tang, J , Carroquino, M., Robertson, B. and Alexander, M. (1998) ***Combined effect of sequestration and bioremediation in reducing the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil.*** Environ. Sci. Technol. 32 (22) : 3586-3590
63. Wild, A. (1994) ***Soils and the environment.*** Cambridge university press,
64. Xing, B and Pignatello, J. (1997) ***Dual- model of low-polarity compounds in glassy poly(vinyl chloride) and soil organic matter*** Environ. Sci. Technol. 31 (8) : 792-799.
65. Yeom, I. and Ghosh, M. (1998) ***Mass transfer limitations in PAH-contaminated soil remediation*** Wat. Sci. Tech. 37 (8): 111-118.
66. Zhao, X. and Voice, T. (2000) ***Assessment of Bioavailability using a multicolumn system*** Environ. Sci. Technol. 34 (8) : 1506 -1512.

## Anexo A

### Cromatografía de Gases

La cromatografía es un método físico de separación de los componentes de una mezcla, los cuales se distribuyen entre dos fases. Una de las fases la constituye un lecho estacionario y la otra es un gas que pasa a través de este lecho. En el caso de la cromatografía de gases, la fase móvil está constituida por un gas de arrastre y la fase estacionaria por su parte, está hecha de un material adsorbente que separa los componentes presentes en la fase móvil.

#### Método de Extracción

Se utilizó la técnica de extracción para hidrocarburos del petróleo UNEP/IOC/IAEA (1992), Reference Method No. 20 UNITED NATIONS EXPERTS POLLUTION (UNEP), aplicando una limpieza con hexano a todo el material de vidrio, papel filtro y fibra de vidrio por 4 horas en el sistema soxhlet.

1. Pesar 5 g de suelo húmedo en papel filtro previamente purificado y doblar en forma de cartucho.
2. Por medio de una pinza introducir el cartucho en el Soxhlet.
3. Adicionar una mezcla extractante de diclorometano – hexano<sup>12</sup> relación 5:5 al matraz bola de 250 ml de capacidad.
4. Montar el sistema de extracción por 8 horas.
5. Al término del tiempo de extracción, concentrar la muestra en el soxhlet, retirando paulatinamente el solvente presente en la cámara del soxhlet hasta un volumen aproximado de 3 a 5 ml.

#### Limpieza del extracto

1. Para esto se utilizaron columnas empacadas en húmedo con hexano, en el siguiente orden: fibra de vidrio + 4 g de silica gel + 4 g de alumina y sulfato de sodio anhidro. Antes de su uso, la silica gel y la alumina fueron activadas a 200 °C durante 12 horas y posteriormente desactivadas al 5% en peso/peso

---

<sup>12</sup> los reactivos deben ser grado cromatográfico

con agua tridestilada. El sulfato de sodio anhidro fue activado por 12 horas a 400° C.

2. Se vació el concentrado obtenido en la extracción en las columnas con ayuda de una pipeta pasteur y se abrió la llave de la columna de manera que se asegure un goteo continuo. Cuando llegó casi a la sequedad en la superficie del sulfato anhidro, se adicionó una alícuota de hexano a manera de enjuague y así sucesivamente hasta llegar a los 4 enjuagues. Al término de los lavados, se adicionaron 20 ml de hexano para obtener la fracción de hidrocarburos alifáticos. Cuando se llegó casi a la sequedad, se dispuso de otro matraz para coleccionar la fracción de hidrocarburos aromáticos, adicionando 30 ml de una mezcla de hexano-diclorometano (9:1). Nuevamente al llegar casi a sequedad se adiciona 20 ml de hexano-diclorometano (5:5) hasta el final.
3. La fracción de hidrocarburos aromáticos fue concentrada en un rotavapor.
4. Los concentrados fueron pasados por un sistema de sequedad (minivap) con flujo de nitrógeno. Para la fracción de interés, los aromáticos, los enjuague se hicieron con una mezcla hexano-diclorometano. Una vez secos los viales en el minivap, se retiran, se tapan y se etiquetan. De esta forma se guardan a 4°C hasta su análisis en el Cromatógrafo de Gases.
5. Se reconstituyeron los viales con 1 ml de isooctano.
6. Estos extractos fueron pasados por el Cromatógrafo de Gases, detector de ionización de flama, GC-FID. El límite de detección se tomó en 0.1 ppm.
7. Se inyectó en el cromatógrafo 1 µl de muestra.
8. Se inyectó 1 µl de estándar de aromáticos con una concentración conocida de 20 ppm.

#### Cálculo de la concentración

Obtenido los cromatogramas correspondientes a las muestras y al estándar, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/g o ppm} = \frac{\text{Area muestra}}{\text{Area STD}} \frac{\text{Vol inyectado STD } (\mu\text{l})}{\text{Vol inyectado muestra}} \frac{\text{Coc. STD } (\mu\text{g ml}^{-1})}{\text{Peso de la muestra (g o l)}} \frac{\text{Aforo muestra (ml)}}{1}$$

## Anexo B

### Determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo, HTP, por FTIR

La espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier, FTIR, es uno de los principales métodos de detección de HTP en suelos. A partir de este método se ha definido los HTP como cualquier compuesto extractable con hexano el cual no es removido por el óxido de aluminio y puede ser detectado por FTIR en una longitud de onda específica. Esta técnica mide la vibración que ocurre cuando una molécula absorbe energía en la región del infrarrojo en el espectro electromagnético. Los grupos funcionales C-H tienen frecuencias e intensidades de absorción de entre 2900 y 3000  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro.

#### Método de extracción

Se utilizó el método de extracción con soxhlet, como se describe a continuación:

1. Pesar 5 g de suelo húmedo en papel filtro (previamente lavado con hexano en el soxhlet por 8 horas) y doblar el papel en forma de cartucho.
2. Por medio de una pinza introducir el cartucho en el soxhlet
3. Adicionar 150 mL de hexano grado cromatográfico al matraz bola de 250 ml de capacidad.
4. Montar los soxhlets en el sistema de extracción a una temperatura cercana a los 80°C por 10 horas.
5. Al término del tiempo de extracción, concentrar la muestra en el soxhlet, retirando paulatinamente el solvente presente en la cámara del soxhlet hasta un volumen aproximado de 3 a 5 ml en el matraz.

#### Limpieza del extracto

Se realiza para evitar las interferencias con otros compuestos que hayan podido salir durante la extracción. Según la técnica, el extracto debe pasar a través de una columna de óxido de aluminio, el cual actúa como sorbente. A continuación se describe brevemente el proceso:

1. Lavar las columnas de separación con acetona grado HPLC .
2. Empacar la columna con óxido de aluminio (alúmina) con un grosor aproximado de 4 cm.
3. Pasar el extracto por la columna empacada y realizar el enjuague del matraz para evitar pérdidas.
4. Colectar el extracto en probetas graduadas y tomar nota del volumen obtenido que será utilizado en la determinación de la concentración del extracto.

### Método Analítico

Se utilizó el método DIN 38-409 H18 modificado para suelos, el cual emplea la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) (Arellano, 2000).

1. Calibración del equipo utilizando como estándar el mismo contaminante o en caso de no existir este, usar escualeno.
2. Previo a la lectura de las muestras, el material empleado se enjuaga con acetona.
3. Colocar 3  $\mu$ L del extracto en la celda de cuarzo limpia y evaporar el hexano completamente con nitrógeno por 3 minutos aproximadamente. De lo contrario el hexano puede interferir absorbiendo radiación en la región de interés.
4. Adicionar 3 mL de 1,1,2-triclorotrifluoretano a la celda de cuarzo e introducirla al equipo. Para la lectura se emplean las intensidades de absorción de los grupos  $\text{CH}_3$  a  $2960 \text{ cm}^{-1}$  y  $\text{CH}_2$  a  $2929 \text{ cm}^{-1}$ .

### Cálculo de la concentración

Con los datos de absorbancia obtenidos en el FTIR, para las longitudes de onda de 2960 y 2929 aproximadamente, se realizan los siguientes cálculos:

$$\text{Concentración}_1 = F * \frac{E1}{8.3 \text{ ml / mgcm}} + \frac{E2}{5.4 \text{ ml / mgcm}} * \frac{1}{\phi} * \frac{\text{Vol}}{m} * fd$$

donde:

F = factor de corrección 1.4

$\phi$  = espesor de la celda (1 cm)

Vol = volumen del extracto obtenido del filtrado (ml)

m = peso de la muestra (Kg)

fd = factor de dilución

E<sub>1</sub> = Absorbancia de la banda del grupo CH<sub>3</sub>

E<sub>2</sub> = Absorbancia de la banda del grupo CH<sub>2</sub>

A esta concentración<sub>1</sub>, se realizó una corrección dependiendo del tipo de contaminante que traía la muestra, de la siguiente manera:

$$\text{Concentración}_{\text{diesel}} = 0.9649 * C_1 - 0.00028658$$

A estas concentraciones resultantes se les resta el valor del blanco.

Para este método modificado se ha reportado un límite de detección de: 0.003 mg ml<sup>-1</sup> (Arellano, 2000).

## Anexo C

**Tabla C<sub>1</sub>. Concentración de Fenantreno y Pireno en muestras de diesel y petróleo**

Muestra	Phe mg Kg <sup>-1</sup>	Py mg Kg <sup>-1</sup>
Diesel (0.06 g)	314.4	559.7
Petróleo (0.04 g)	304.9	702.9

**Tabla C<sub>2</sub>. Concentraciones de fenantreno y pireno totales antes y después de la remediación, y porcentajes de degradación, en suelos de Zona de Embarque (ZE) y Polvorín (Plv). Para los suelos orgánicos de Tabasco (T) se muestra la concentración inicial.**

Muestra	Fenantreno (mg kg <sup>-1</sup> )			Pireno(mg kg <sup>-1</sup> )		
	antes	después	% degrd	Antes	después	% degrd
ZE	34.6	0.8	98	26.5	2.1	92
Plv	10.2	3.7	64	8.7	7	19
T	3.42 (20.79)			18.3 (67.47)		



**Tabla C<sub>3</sub>. Concentraciones de hidrocarburos policíclicos aromáticos, antes y después de la remediación en suelos de Zona de Embarque (ZE)**

Compuesto	Antes	Antes´	Después
Naftaleno	1.37	1.90	
Acenaftileno	2.84	2.97	0.8
Acenafteno	5.32	6.51	0.5
Fluoreno	17.53	20.47	0.4
Fenantreno	34.64	39.05	0.8
Antraceno	42.72	45.39	0.8
Fluoranteno	35.09	36.31	0.6
Pireno	26.47	27.71	2.1

**Tabla C<sub>4</sub>. Concentraciones de hidrocarburos policíclicos aromáticos, antes y después de la remediación en suelos de Polvorín (Plv)**

	Antes	Después
Acenaftileno	2.77	0.01
Acenafteno	2.58	0.01
Fluoreno	6.32	0.23
Fenantreno	10.18	3.68
Antraceno	13.67	8.49
Fluoranteno	12.95	5.27
Pireno	8.66	7.12

Anexo D

**Caracterización química y física de los lodos de la planta de tratamiento, CIMA (2001)**

PARAMETROS	MUESTRAS	
	Pila de lodos secos	Pila de lodos frescos
% humedad	92.84	95.05
% nitrógeno total	2.471	2.042
% materia orgánica	55.37	58.09
PH	7.35	7.44
Conductividad eléctrica ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )	1.514	1.760
Fósforo total (ppm)	12 075.47	12 783.01
Fósforo disponible (ppm)	654.72	567.66
Cu (ppm)	259.8	290.2
Mn (ppm)	382.4	230.6
Zn (ppm)	2 471.00	3 404.00
Fe %	5.9	4.9
Pb (ppm)	170.6	91.8
Ni (ppm)	31.7	17.3
Mg (ppm)	3 730.00	4 080.00

**Bacterias identificadas en lodos y suelos contaminados**

LUGAR DE AISLAMIENTO	ESPECIE
Lodo residual (planta de tratamiento)	<i>Serratia plymuthica</i> <i>Serratia rubidaea</i> <i>Pseudomona spp.</i> <i>Chryseobacterium spp.</i> <i>Cedacea spp.</i> <i>Vibrio spp.</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
Suelo Plv	<i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio spp.</i>