



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TRATAMIENTO DE LODOS ACEITOSOS
PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA PETROLERA,
UTILIZANDO BIOPILAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

ADÁN SILVA HUERTA



MÉXICO, D.F.

2010



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres Héctor y Nohemí por toda su confianza, apoyo, tiempo, comprensión, por estar conmigo en los buenos tiempos como en los malos, gracias por todo, ahora soy el profesionalista que siempre quisieron fuese y que yo quise ser.

A mi hermana Karina y a su esposo Juan Carlos por todo su apoyo.

A mis sobrinos Carlos, Stella y Gael, por ser un motivo más para seguir adelante.

A mis abuelitos Víctor y Dolores por todo su amor.

A todos mis amigos de la colonia por brindarme su amistad, apoyo y por estar siempre conmigo.

A mis compañeros de carrera que siempre nos apoyamos y logramos pasar duros momentos.

A mi asesora de tesis Ana María por darme parte de su tiempo, conocimientos, apoyo, brindarme la oportunidad de trabajar junto a ella, desarrollar mi tesis, aguantarme tanto tiempo y creer en mí, así como a mis asesores de la facultad.

Finalmente, a mí querida Facultad en C.U., la Facultad de Química de la U.N.A.M. y a todos mis profesores.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profesor: Adolfo García Osuna

VOCAL: Profesor: Francisco Javier Garfias Vásquez

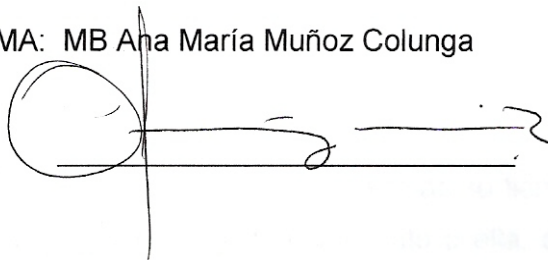
SECRETARIO: Profesora: Ana María Muñoz Colunga

1er. SUPLENTE: Profesor: José Agustín García Reynoso

2º SUPLENTE: Profesor: Juan Manuel Martínez Nuñez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio de Biotecnología del Instituto Mexicano del Petróleo "IMP", bajo la dirección de la M. en B. Ana Ma. Muñoz Colunga

ASESOR DEL TEMA: MB Ana María Muñoz Colunga

A handwritten signature in black ink, consisting of a large circle on the left and a horizontal line extending to the right with a small flourish at the end.

SUSTENTANTE: Adán Silva Huerta

A handwritten signature in black ink, appearing as a series of overlapping horizontal strokes.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
GLOSARIO DE NOMENCLATURAS.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Industria petrolera.....	4
2.2 Residuos generados en el proceso de endulzamiento de gas.....	5
2.2.1 Lodos aceitosos.....	6
2.3 Distintas tecnologías de remediación.....	8
2.4 Principios generales de los tratamientos biológicos.....	10
2.5 Factibilidad de la utilización de procesos biológicos para tratar compuestos provenientes de la industria del gas.....	12
2.6 Tecnología de remediación biológica (biorremediación).....	12
2.6.1 Distintas tecnologías de biorremediación	13
2.6.2 Degradación de hidrocarburos vía aeróbica.....	15
2.7 Aplicación de surfactantes químicos y surfactantes biológicos en el tratamiento de residuos con petróleo y en lavado de suelos.....	15
2.7.1 Surfactantes químicos y surfactantes biológicos.....	16
2.7.2 Clasificación de los surfactantes químicos y sus aplicaciones.....	17
2.7.3 Clasificación de los surfactantes biológicos y sus aplicaciones...	18
2.8 Biopilas en la remediación de suelos.....	19

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	68
4.1 Caracterización de muestras.....	68
4.2 Análisis por técnicas analíticas.....	69
4.2.1 pH.....	69
4.2.2 Carbono orgánico total, nitrógeno amoniacal y fósforo soluble...70	
4.2.3 Concentración total de hidrocarburos por IR y CG/EM.....	71
4.2.4 % Humedad.....	72
4.3 Análisis por técnicas microbiológicas.....	72
4.3.1 Cuenta viable de microorganismos en placa de bacterias heterótrofas, hidrocarbonoclastas y hongos.....	72
4.4 Lavado de muestras.....	74
4.4.1 Lavado de la muestra “LAS” con un surfactante químico (tween 40).....	74
4.4.2 Lavado de la muestra “LAS” con un surfactante biológico (cepa E).....	76
4.4.3 Comparación entre ambos surfactantes (tween 40 y cepaE).....	77
4.5 Monitoreo de los sistemas de biopilas.....	78
4.5.1 Seguimiento a las variables de respuesta y a la disminución de HTP’s.....	78
4.5.2 Seguimiento a la disminución de HTP’s en los sistemas de biopilas.....	79
4.6 Estudio económico básico.....	87
4.6.1 Costos entre distintas tecnologías de remediación.....	87
4.6.2 Costos entre distintos tratamientos de remediación biológicas...89	
5. CONCLUSIONES.....	92
6. BIBLIOGRAFÍA.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Principales sustancias involucradas en derrames ambientales reportadas a la PROFEPA (PROFEPA, 2008).....	2
Figura 2.1 Generación de lodos aceitosos en toneladas en los diferentes organismos de PEMEX durante el 2008.....	8
Figura 2.2 Parte hidrofílica e hidrofóbica, símbolo general.....	17
Figura 3.1 Diagrama de flujo para la determinación de pH.....	32
Figura 3.2 Diagrama de flujo para la determinación de carbono orgánico total.....	33
Figura 3.3 Diagrama de flujo para la determinación de nitrógeno combinado en forma de ión amonio (NH_4^+).....	35
Figura 3.4 Diagrama de flujo para la determinación de fósforo soluble como fosfato PO_4^{3-}	37
Figura 3.5 Diagrama de flujo para la determinación de la concentración total de hidrocarburos por IR.....	41
Figura 3.6 Diagrama de flujo para la determinación de la concentración total de hidrocarburos por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM).....	45
Figura 3.7 Diagrama de flujo para la determinación de % de humedad.....	47
Figura 3.8 Diagrama de flujo para la determinación de bacterias heterótrofas por dilución en placa.....	49
Figura 3.9 Diagrama de flujo para la determinación de bacterias hidrocarbonoclastas por dilución en placa.....	51
Figura 3.10 Diagrama de flujo par la determinación de hongos por dilución en placa.....	54
Figura 3.11 Diagrama de flujo para lavado con surfactante químico (tween 40).....	58

Figura 3.12 Diagrama de flujo para lavado con surfactante biológico (cepa E).....	60
Figura 3.13 Biopila	64
Figura 3.14 Diagrama de flujo para la determinación de CO ₂	66
Figura 3.15 Biopila con crecimiento de microorganismos productores de CO ₂	67
Figura 4.1 Bacterias heterótrofas.....	73
Figura 4.2 Bacterias hidrocarbonoclastas.....	73
Figura 4.3 Hongos.....	73
Figura 4.4 Gráfica representativa de la disminución de HTP's después del lavado con surfactante químico (tween 40).....	75
Figura 4.5 Gráfica representativa de la disminución de HTP's después del lavado con surfactante biológico (cepa E).....	76
Figura 4.6 Gráfica representativa en la remoción de HTP's comparada entre ambos surfactantes.....	77
Figura 4.7 Gráfica representativa de la producción de CO ₂ en los sistemas de biopilas para la muestra "LAS" lavada con surfactante químico tween 4.....	80
Figura 4.8 Gráfica representativa de la producción de CO ₂ en los sistemas de biopilas para la muestra "LAS" lavada con surfactante biológico.....	82
Figura 4.9 Gráfica representativa de los resultados de HTP's en los sistemas de biopilas para la muestra "LAS" lavada con surfactante químico.....	84
Figura 4.10 Gráfica representativa de los resultados de HTP's en los sistemas de biopilas para la muestra "LAS" lavada con surfactante biológico.....	86
Figura 4.11 Gráfica representativa de la oscilación de los costos para cada una de las tecnologías de remediación por m ³	88
Figura 4.12 Gráfica representativa de los costos para cada uno de los tratamientos de remediación biológica por m ³	90

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 2.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO O APLICACIÓN DE LAS TECNOLOGÍAS BIOLÓGICAS, FISCOQUÍMICAS Y TÉRMICAS.....	10
TABLA 2.2 PARÁMETROS A CONSIDERAR Y SUS INTERVALOS ÓPTIMOS DURANTE UN PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN POR BIOPILA, PARA EL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS...	20
TABLA 3.1 NOMENCLATURA DE LAS MUESTRAS TOMADAS EN EL CENTRO PROCESADOR DE GAS DE NUEVO PEMEX EN TABASCO.....	30
TABLA 3.2 CONCENTRACIÓN DE FOSFATO PARA REALIZAR LA CURVA PATRÓN.....	40
TABLA 3.3 DILUCIONES PARA REALIZAR CURVA PATRÓN DE HTP (0-609 mg/L).....	44
TABLA 3.4 MEDIO DE CULTIVO.....	53
TABLA 3.5 DILUCIONES DEL SURFACTANTE QUÍMICO (TWEEN 40) A DIFERENTES PORCENTAJES DE CONCENTRACIÓN.....	57

TABLA 3.6 DILUCIÓN DEL SURFACTANTE BIOLÓGICO (CEPA E) A UN SOLO PORCENTAJE DE CONCENTRACIÓN.....	60
TABLA 3.7 PROPORCIONES DE MUESTRA Y RESIDUO ORGÁNICO EN EL SISTEMA DE BIOPILAS PARA EL LAVADO CON SURFACTANTE QUÍMICO (TWEEN 40).....	62
TABLA 3.8 PROPORCIONES DE MUESTRA Y RESIDUO ORGÁNICO EN EL SISTEMA DE BIOPILAS PARA EL LAVADO CON SURFACTANTE BIOLÓGICO (CEPA E).....	62
TABLA 3.9 VARIABLES DE RESPUESTA A SEGUIR EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS.....	64
TABLA 4.1 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE MUESTRAS ...	69
TABLA 4.2 PRODUCCIÓN DE CO ₂ EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA “LAS” LAVADA CON SURFACTANTE QUÍMICO.....	79
TABLA 4.3 PRODUCCIÓN DE CO ₂ EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA “LAS” LAVADA CON SURFACTANTE BIOLÓGICO.....	81
TABLA 4.4 DISMINUCIÓN DE HTP’s EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA “LAS” LAVADA CON SURFACTANTE QUÍMICO.....	83

TABLA 4.5 DISMINUCIÓN DE HTP's EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS
PARA LA MUESTRA "LAS" LAVADA CON SURFACTANTE BIOLÓGICO.....85

TABLA 4.6 COSTOS PARA CADA UNA DE LAS TECNOLOGÍAS DE
REMEDIACIÓN POR m³.....88

TABLA 4.7 COSTOS PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS DE
REMEDIACIÓN BIOLÓGICA POR m³.....90

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En este trabajo se investiga una alternativa de tratamiento biológico de lodos aceitosos generados en la industria petrolera provenientes de instalaciones de PEMEX gas y petroquímica básica (PGPB), que reduzca la concentración de contaminantes que contienen los lodos a niveles no tóxicos o bien a niveles que marca la legislación actual y disponer de ellos sin riesgo a la salud o al medio ambiente.

El éxito de este trabajo ayudará a Petróleos Mexicanos (PEMEX) a reducir sus pasivos ambientales tal como menciona el reporte elaborado por la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) en 2008 en la gráfica pastel (Figura 1.1), donde muestra los contaminantes involucrados en derrames ambientales que provienen de la industria petrolera. Razón por la cual PEMEX establece políticas de control de emisiones, disminuyendo en gran medida la disposición de residuos peligrosos al ambiente.

La paraestatal debe continuar con la reducción de los inventarios de residuos peligrosos, como la disposición de 29 171 toneladas de lodos aceitosos generados en el 2008. En este sentido y de acuerdo con estos lineamientos de calidad y seguridad, los residuos generados durante el proceso de endulzamiento de gas natural, (considerados como peligrosos de acuerdo con la NOM-052-SEMARNAT-2005) deben tratarse previa disposición final.

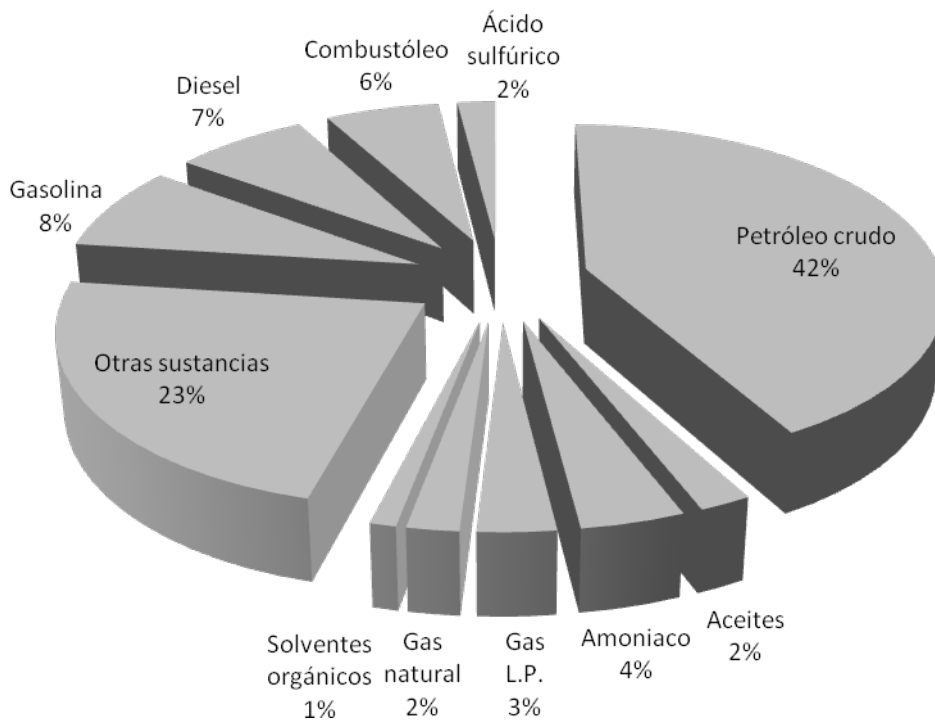


Figura 1.1 Principales sustancias involucradas en derrames ambientales reportadas a la PROFEPA (PROFEPA, 2008).

El beneficio obtenido será contar con un servicio integrado de un protocolo viable para el muestreo, análisis y tratamiento para la disposición sin riesgos al ambiente de los lodos aceitosos generados en las plantas de PGPB y el desarrollo de una tecnología biológica.

Objetivo general

Implementar un sistema integral para tratamiento biológico de lodos aceitosos característicos de la industria petrolera, utilizando biopilas.

Objetivos particulares

- Caracterización de lodo aceitoso proveniente de una instalación de Pemex Gas y Petroquímica Básica (PGPB), mediante técnicas analíticas y microbiológicas.
- Determinar la mejor concentración de un surfactante químico y un surfactante biológico para remover hidrocarburos mediante técnicas de lavado.
- Implementación de tres sistemas de biopilas, utilizando diferentes residuos orgánicos como agentes abultantes.
- Monitorear tres sistemas de biopilas, mediante técnicas analíticas y microbiológicas para comprobar la remoción de hidrocarburos.
- Realizar un estudio económico básico para demostrar la viabilidad de la implementación de un tratamiento biológico de biopilas.

Hipótesis

El lavado con un surfactante químico, un surfactante biológico y la implementación de un tratamiento biológico de biopilas, contribuirá a la disminución de concentración de hidrocarburos totales en lodos aceitosos característicos de la industria petrolera.

MARCO TEÓRICO

2.1 Industria petrolera

En México, la industria del petróleo en su conjunto ha tenido un impacto negativo en materia ambiental por las diferentes actividades industriales que efectúa, contamina potencialmente el ambiente por emisión de humos, polvos, gases, descargas de aguas y sólidos residuales generados durante la perforación de pozos petroleros, en la extracción de hidrocarburos, por la refinación y en la producción de petroquímicos.

Debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo, no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación generada desde la fase de explotación hasta la obtención de los productos petroquímicos básicos.

La infraestructura petrolera está integrada por pozos, baterías de separación, complejos procesadores de gas, centrales de almacenamiento y bombeo, red de ductos y presas para el confinamiento de desechos sólidos y líquidos

procedentes de la perforación y mantenimiento de los pozos y diferentes procesos petroleros.

Los residuos generados por las actividades de esta industria, como son catalizadores gastados y lodos aceitosos, son depositados en tambores, patios y fosas rústicas, previo a su tratamiento y disposición final en sitios autorizados. Existe el interés por parte de PEMEX de rehabilitar los sitios contaminados.

Derivado de las operaciones de la industria petrolera, se generan residuos peligrosos, de manejo especial y sólidos urbanos.

Los residuos peligrosos que se generan en mayor volumen son lodos aceitosos, cloro, hidrocarburos pesados y sosas gastadas, estos residuos representan 69% del total de residuos peligrosos generados por la industria petrolera (Instituto Nacional de Ecología, 2009).

Los residuos de manejo especial que se generan en mayor volumen son los recortes de perforación producidos por las actividades de exploración, mantenimiento y extracción de hidrocarburos y los aceites gastados. Los recortes de perforación representan el mayor volumen de generación de residuos de manejo especial de toda la industria petrolera (PEMEX, 2008).

Durante el año 2008, PEMEX generó 86 000 toneladas de residuos peligrosos.

2.2 Residuos generados en el proceso de endulzamiento de gas

El gas natural es una fuente de energía no renovable formada por una mezcla de gases que se encuentra frecuentemente sólo en yacimientos fósiles, disuelto o asociado con petróleo o en depósitos de carbón.

La composición principal del gas natural es metano, con proporciones significativas de etano, propano y butano, además dependiendo del yacimiento

de donde proviene puede contener diferentes concentraciones de bióxido de carbono, nitrógeno y ácido sulfhídrico. Siendo estos últimos productos contaminantes por sus características tóxicas y corrosivas. Por lo que, en general los procesos desarrollados para el aprovechamiento del gas natural tienen como primera etapa la separación de estos productos no deseados, el cual se conoce como proceso de endulzamiento. Para la remoción de H_2S y CO_2 se utiliza una solución de aminas compuesta por monoetanolamina (MEA), dietanolamina (DEA) o metildietanolamina (MDEA).

En esta solución que fluye a contra corriente del gas en una torre de absorción, estos contaminantes son absorbidos y de esta forma el gas es separado por la parte superior de la torre y por la parte inferior la amina es enviada a una sección de regeneración. En este último proceso los compuestos ácidos (H_2S y CO_2) se separan mediante calor, mientras que la solución de amina se regresa a la torre de absorción.

En otra etapa del proceso el H_2S se transforma en azufre elemental por medio del proceso Claus o produciendo gases ricos en SO_2 (Kohl y Nielsen, 1997). En el endulzamiento de gas natural, se producen lodos residuales considerados como residuos peligrosos según la normatividad vigente (NOM-052 SEMARNAT-2005), los cuales pueden variar en su composición de una planta o complejo petroquímico a otro.

2.2.1 Lodos aceitosos

Los lodos aceitosos generados en la refinación del petróleo provienen de diferentes procesos como la remoción de sólidos y aceites de las aguas residuales, el almacenamiento del petróleo crudo y sus productos, la destilación y los procesos de filtración (Gabriel Castañeda, 2001).

El tratamiento y la disposición de éstos representan un problema potencial de gran magnitud debido a que el petróleo es una de las principales fuentes de energía del mundo y su procesamiento produce grandes cantidades de residuos (Romina Romaniuk, 2009).

Por cada 492 toneladas de crudo procesado resulta aproximadamente una tonelada de lodos aceitosos lo que significa un 0,2% (Cooper y Cricchi 1993).

Los lodos aceitosos son peligrosos debido a que pueden contener metales pesados (arsénico, bario, cadmio, cromo, plomo, mercurio, selenio y plata), compuestos persistentes (bifenilos policlorados, hidrocarburos halogenados y dioxinas) y compuestos inorgánicos tóxicos (amoníaco y ácido sulfhídrico) (Burton y Ravishankar, 1989).

En la normatividad mexicana estos lodos se encuentran listados dentro de la clasificación de residuos peligrosos por giro industrial y proceso (INE, 2009).

Los diferentes métodos de tratamiento y disposición usados actualmente presentan grandes inconvenientes ambientales y económicos por lo que es importante la búsqueda de tecnologías alternas que den respuesta a sus limitaciones.

Durante el 2008, PEMEX generó 86 000 toneladas de residuos peligrosos, dentro de estos residuos se encuentran los lodos aceitosos donde PEMEX petroquímica generó 1 143 toneladas, PEMEX exploración y producción generó 150 toneladas, PEMEX refinación generó 26 717 toneladas de lodos aceitosos, mientras que PEMEX gas y petroquímica básica generó 1 159 toneladas

(Figura 2.1), dando un total de 29 169 toneladas de lodos aceitosos sólo en el 2008. Del 2001 al 2008, PEMEX generó en promedio 54 424 toneladas de lodos aceitosos (PEMEX 2008).

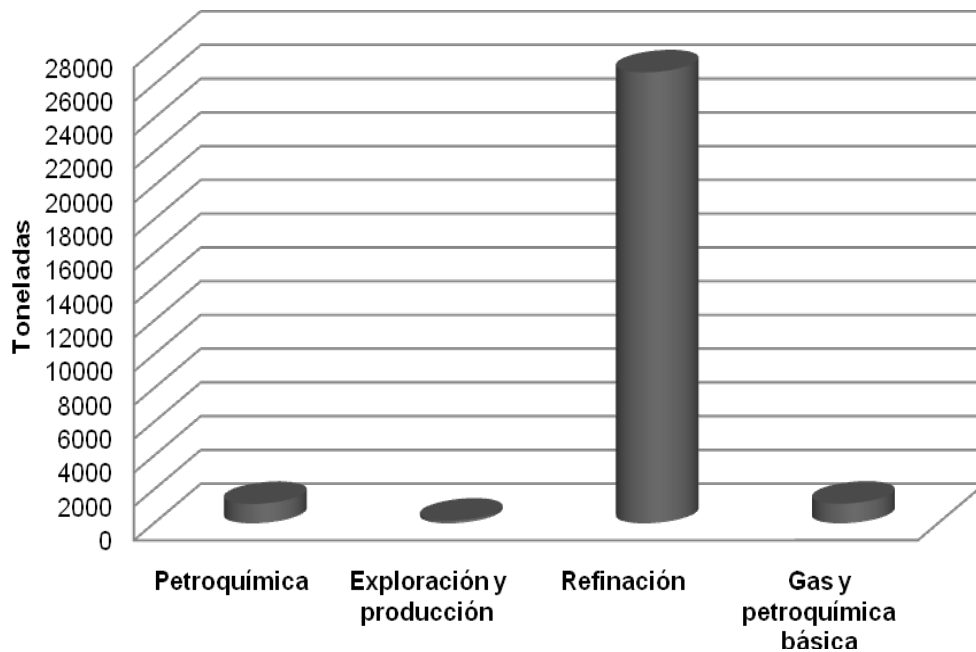


Figura 2.1 Generación de lodos aceitosos en toneladas en los diferentes organismos de PEMEX durante el 2008

2.3 Distintas tecnologías de remediación

El término tecnología de remediación, implica cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (Seminars, 1996). Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de desechos peligrosos que no han

sido tratados, y sus capacidades o posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente.

El uso de una tecnología de remediación en particular depende, además de los factores específicos del sitio y de las propiedades fisicoquímicas del contaminante, de su disponibilidad, de la fiabilidad demostrada o proyectada, de su estado de desarrollo (laboratorio, escala piloto o gran escala) y de su costo (Sellers, 1999).

A continuación se describen distintas tecnologías de remediación:

- *Tecnologías biológicas:* Utilizan las actividades metabólicas de ciertos organismos (plantas, hongos, bacterias) para degradar (destrucción), transformar o remover los contaminantes a productos metabólicos inocuos.
- *Tecnologías fisicoquímicas:* Utiliza las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación.
- *Tecnologías térmicas:* Utilizan calor para incrementar la volatilización (separación), quemar, descomponer o fundir (inmovilización) los contaminantes en un suelo.

En la Tabla 2.1, se muestran las principales ventajas y desventajas del uso o aplicación de las tecnologías biológicas, fisicoquímicas y térmicas.

TABLA 2.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO O APLICACIÓN DE LAS TECNOLOGÍAS BIOLÓGICAS, FISICOQUÍMICAS Y TÉRMICAS

	Ventajas	Desventajas
Tecnologías biológicas	<p>Son efectivos en cuanto a costos.</p> <p>Son tecnologías más benéficas para el ambiente.</p> <p>Los contaminantes generalmente son destruidos.</p> <p>Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior.</p>	<p>Requieren mayores tiempos de tratamiento.</p> <p>Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos.</p> <p>No pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano.</p>
Tecnologías fisicoquímicas	<p>Son efectivos en cuanto a costos.</p> <p>El equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería.</p>	<p>Los residuos generados por técnicas de separación, deben tratarse o disponerse: aumento en costos y necesidad de permisos.</p> <p>Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes: necesidad de sistemas de recuperación.</p>
Tecnologías térmicas	<p>Permite tiempos rápidos de limpieza.</p>	<p>Es el grupo de tratamientos más costoso.</p> <p>Los costos aumentan en función del empleo de energía y equipo.</p> <p>Intensivos en mano de obra y capital.</p>

2.4 Principios generales de los tratamientos biológicos

En los tratamientos biológicos se utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, entre otros) para transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por

consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de carbono y energía (Van Deuren et al., 1997).

Los procesos biológicos de tratamiento puede emplear organismos propios del sitio contaminado (autóctonos) o de otros sitios (exógenos), pueden realizarse *in situ* o *ex situ*, en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno) (Eweis et al., 1998).

Las rutas de biodegradación de los contaminantes orgánicos, varían en función de la estructura química del compuesto y de las especies microbianas degradadoras. Así, algunos de los microorganismos poseen actividades de peroxidasas y oxigenasas, que permiten la oxidación específica de algunas fracciones del petróleo. Esta oxidación cambia las propiedades de los compuestos, haciéndolos susceptibles de ataques secundarios y facilitando su conversión a bióxido de carbono y agua. En algunas ocasiones no es necesario llegar a la mineralización, sino que basta una oxidación para disminuir notablemente su toxicidad o aumentar su solubilidad en agua, incrementando su biodisponibilidad (Vázquez-Duhalt, 2000).

Las comunidades microbianas en ecosistemas contaminados tienden a ser dominadas por aquellos organismos capaces de utilizar y/o de sobrevivir a los compuestos tóxicos (MacNaughton et al., 1999). De esta forma, aunque no todos los compuestos son susceptibles a la biodegradación, ésta se ha usado con éxito para tratar efluentes, suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos totales del petróleo (HTP's), solventes (benceno y tolueno), explosivos (TNT), clorofenoles (PCP's por sus siglas en inglés), pesticidas, conservadores de madera (creosota) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) (Van Deuren et al., 1997; Semple et al., 2001).

2.5 Factibilidad de la utilización de procesos biológicos para tratar compuestos provenientes de la industria del gas

Considerando los posibles compuestos que constituyen los lodos generados por PEMEX gas y petroquímica básica (PGPB), se tiene conocimiento de trabajos en los que se muestra que de manera individual y/o conjunta en algunos casos es posible la remoción de estos compuestos por sistemas de tratamiento biológico (Ana Ma. Muñoz, 2007).

De igual forma considerando los posibles efectos antagónicos o sinérgicos que pudieran presentar los microorganismos involucrados, así como la complejidad de la matriz que contiene a los contaminantes, la implementación de un proceso para el tratamiento y disposición final de los lodos generados en PEMEX gas y petroquímica básica (PGPB), puede incluir más de una etapa biológica y/o fisicoquímica, lo cual podría suponer la implementación de un tren de tratamiento fisicoquímico- biológico. Por lo tanto, es importante realizar investigación acerca del tratamiento de lodos provenientes de instalaciones de PGPB o de la industria del petróleo en general.

2.6 Tecnología de remediación biológica (biorremediación)

Las tecnologías biológicas se basan en utilizar microorganismos con capacidad de vivir en presencia de compuestos contaminantes y de utilizarlos como parte de su metabolismo.

La biodegradación involucra diferentes procesos microbianos, como la mineralización y el cometabolismo o activación; donde los compuestos orgánicos son transformados por la acción de microorganismos. La biorremediación engloba las técnicas de saneamiento de suelos y de cuerpos

de agua, que utilizan organismos vivos y/o sus enzimas, para transformar o degradar bioquímicamente los contaminantes hasta su mineralización o concentraciones que no produzcan efectos nocivos a la salud o al ambiente en general (Eco2site.com, 2009).

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio contaminado (autóctonos) o de otros sitios (exógenos), condiciones aerobias o anaerobias y pueden llevarse a cabo *in-situ* o *ex-situ* (Eweis et al. 1998). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos, solventes, explosivos, clorofenoles y pesticidas (Van Deuren et al. 1997; Semple et al., 2001).

2.6.1 Distintas tecnologías de biorremediación

- *Bioestimulación*. Implica la adición de oxígeno y/o nutrientes en el suelo contaminado con el fin de estimular la actividad de los microorganismos autóctonos y con ello la biodegradación de los contaminantes (Van Deuren et al. 1997).
- *Bioaumentación*. Consiste en la adición de microorganismos vivos que tienen la capacidad de degradar el contaminante en cuestión y así promover su biodegradación o biotransformación (Riser-Roberts, 1998).
- *Biolabranza*. El suelo contaminado se mezcla con agentes de volumen y nutrientes, y se remueve (labra) periódicamente para favorecer su aireación. Durante la biolabranza, el suelo contaminado se mezcla con suelo limpio (Van Deuren et al. 1997).

- *Bioventeo*. Consiste en estimular la biodegradación aerobia de un contaminante por medio del suministro de aire en el sitio contaminado (Van Deuren et al. 1997).
- *Fitorremediación*. Es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos o sedimentos (Van Deuren et al. 1997).
- *Biorreactores*. Un biorreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo, en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas, derivadas de dichos organismos, (Riser-Roberts, 1998).
- *Biodegradación en fase sólida*. Este tipo de tecnología generalmente se lleva a cabo *ex situ*, e incluye el composteo, las pilas estáticas y las pilas alargadas, (Rojas-Avelizapa, 2007).

Los procesos biológicos que pueden utilizarse para transformar la parte orgánica de los materiales a tratar, pueden ser aeróbicos o anaeróbicos.

Ciertos organismos degradadores específicos poseen la capacidad de degradar hidrocarburos provenientes del petróleo para satisfacer sus necesidades energéticas.

2.6.2 Degradación de hidrocarburos vía aeróbica

Nos enfocaremos sólo en la degradación de hidrocarburos por vía aeróbica, ya que es la que se llevó a cabo en este trabajo. La biodegradación aeróbica implica el uso del oxígeno molecular (O_2), donde el O_2 recibe electrones transferidos de un contaminante orgánico:



En la degradación aeróbica de hidrocarburos, los subproductos del metabolismo degradativo son principalmente: CO_2 , H_2O y biomasa generada en el proceso (Maroto Arroyo).

2.7 Aplicación de surfactantes químicos y surfactantes biológicos en el tratamiento de residuos con petróleo y en lavado de suelos

El lavado con surfactantes químicos o surfactantes biológicos, también llamados agentes tensoactivos, consiste en remover los hidrocarburos que están adheridos al suelo y combinarlos con el agua para facilitar su extracción. El fin de hacer un lavado del suelo es para separar la matriz del suelo del hidrocarburo (Germida J. J., 1993).

Los surfactantes químicos o surfactantes biológicos que se usan en el lavado del suelo, debido a su alta solubilidad, movilizan contaminantes orgánicos absorbidos al suelo.

Un paso importante en el desarrollo de este tipo de metodologías es la caracterización de los surfactantes químicos y surfactantes biológicos, pues de ello depende que sea seleccionado para alguna aplicación específica.

Entre estas características se encuentra el carácter iónico de los productos, el peso molecular, la reducción en la tensión superficial que producen al ser disueltos en agua, el balance hidrófilo-lipófilo (BHL), la concentración micelar crítica (CMC) y sus características de degradación.

2.7.1 Surfactantes químicos y surfactantes biológicos

Surfactante químico y surfactante biológico, son dos términos que normalmente se utilizan para designar a los compuestos con actividad interfacial.

Existen casos, donde dos fases inmiscibles, tales como el aceite y el agua, están en contacto con un sólido, en este caso la presencia de un surfactante químico o surfactante biológico en el sistema, puede modificar las energías interfaciales: líquido-líquido o líquido-sólido. Este fenómeno se manifiesta como un cambio en los ángulos de contacto o mojabilidad de un líquido u otro por el sólido (Ira N. Levine, 2004).

Los surfactantes químicos y surfactantes biológicos se caracterizan por tener una doble estructura molecular: polar y apolar. En la parte polar presenta elementos como O₂, S, N₂, P, los cuales aparecen en grupos funcionales como alcohol, tiol, éster, éter, ácido, sulfato, sulfonato, fosfato, amina, amida, entre otros, y de la otra parte, un grupo apolar, en general formado por un hidrocarburo parafínico, cicloparafínico o aromático, el cual puede eventualmente contener halógenos.

La parte polar tiene afinidad para los solventes polares, particularmente el agua, mientras que la parte apolar tiene afinidad para los solventes orgánicos, en particular los hidrocarburos, aceites o grasas, o simplemente esta repelida por el agua (Salager y Fernández, 2004). Por esta razón la parte polar del surfactante químico o surfactante biológico se denomina hidrofílica, mientras que la parte apolar corresponde a la lipofílica o hidrofóbica (Figura 2.2).

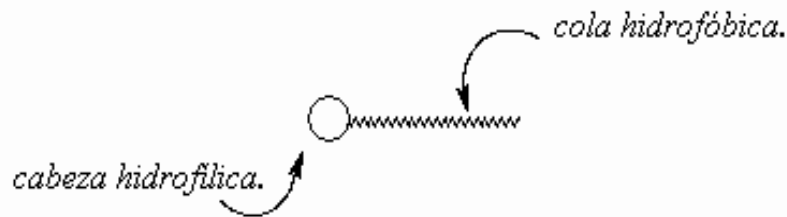


Figura 2.2 Parte hidrofílica e hidrofóbica, símbolo general

2.7.2 Clasificación de los surfactantes químicos y sus aplicaciones

Los surfactantes químicos, se clasifican fundamentalmente según su poder de disociación en presencia de un electrolito y según sus propiedades fisicoquímicas.

Se clasifican en aniónicos, catiónicos y no iónicos, según la carga que posean en la parte que presenta actividad de superficie.

- **Aniónicos.** Contienen generalmente uno de cuatro grupos polares solubles - carboxilato, sulfonato, sulfato o fosfato - combinado con una cadena hidrocarbonada hidrófoba. Si esa cadena es corta son muy hidrosolubles, y en caso contrario tendrán baja hidrosolubilidad y

actuaran en sistemas no acuosos como aceites lubricantes, son de alta utilización en la industria de jabones y detergentes.

- *Catiónicos*. Están compuestos por una molécula lipofílica y otra hidrofílica, consistente de uno o varios grupos amonios terciarios o cuaternarios. Las sales de cadenas larga de amonio terciarias, obtenidas por neutralización de las aminas con ácidos orgánicos o inorgánicos, su principal aplicación está en el tratamiento de textiles y ocasionalmente como suavizantes.
- *No iónicos*. En contraste a sus contrapartes iónicas, los surfactantes no iónicos no se disocian en iones hidratados en medios acuosos. Las propiedades hidrofílicas son provistas por hidratación de grupos amido, amino, éter o hidroxilo.

Cuando existe un número suficiente de estos grupos la solubilidad acuosa es comparable con la de los surfactantes iónicos. Las aplicaciones son extensas y dependen de la cantidad de grupos polares presentes, que determinaran la solubilidad tanto en agua como en aceite.

2.7.3 Clasificación de los surfactantes biológicos y sus aplicaciones

Los surfactantes biológicos son moléculas producidas por microorganismos y presentan una alta actividad de superficie y propiedades emulsificantes, generalmente son metabolitos secundarios excretados por los microorganismos, su principal papel fisiológico es el de permitir crecer a los microorganismos en sustratos inmiscibles en agua mediante la reducción de la tensión superficial de la interfase (Miguel Sulbarán, 2005).

Pueden ser clasificados principalmente por su composición bioquímica, por consiguiente la mayor clase de surfactantes biológicos comprenden a los

glicolípidos, lipopéptidos y lipoproteínas, fosfolípidos y ácidos grasos, surfactantes poliméricos y partículas de surfactantes.

La enorme demanda del mercado de los surfactantes ha provocado un incremento en la preparación por síntesis de numerosos surfactantes químicos, principalmente con aplicación de la industria petrolera.

Los rápidos avances en la biotecnología e incremento de la necesidad del consumidor de proteger el medio ambiente, provee un buen futuro para considerar seriamente a los surfactantes biológicos como posibles alternativas para la producción de éstos.

Los surfactantes biológicos tienen variadas aplicaciones en el mercado, entre las aplicaciones está la relacionada con la industria del petróleo, en los procesos de biorremediación y dispersión de derrames petroleros, tanto a nivel del suelo como de las aguas, la remoción y movilización de petróleo pegado en el interior de los tanques y también en la recuperación mejorada de petróleo y como productos de limpieza.

2.8 Biopilas en la remediación de suelos

Existen varias tecnologías para el tratamiento por biorremediación de suelo con hidrocarburos provenientes de la industria petrolera. Una de estas alternativas es el biotratamiento de hidrocarburos por medio de la tecnología conocida como biopila.

La tecnología de remediación se desarrolla bajo la base de la degradación biológica de la materia orgánica (en este caso hidrocarburos), por medio de bacterias adaptadas a los compuestos a ser tratados.

Es necesario optimizar cinco parámetros: la aireación, la temperatura, el contenido de humedad, la relación carbono/nitrógeno (C/N) y el pH (Eweis et al. 1998), en la Tabla 2.2 se mencionan los parámetros que se deben considerar y controlarse para aumentar la eficiencia en una biopila.

TABLA 2.2 PARÁMETROS A CONSIDERAR Y SUS INTERVALOS ÓPTIMOS DURANTE UN PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN POR BIOPILA, PARA EL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS.

Parámetro	Intervalo óptimo
Humedad	40 -85%; 50 - 80%
pH	6 - 8; con un óptimo de 7
Relación de nutrientes (C/N/P)(a)	100/(3,3-10)/(0,5-1)
Relación C/N; C/P; (b)	10 - 30; 100 - 200
Relación suelo:aditivos (peso seco)	1,5:1 a 3:1
Temperatura	25 - 35 °C
Contaminante(s)	< 50 000 mg/kg
Metales tóxicos	< 2 500 mg/kg
Cuenta bacteriana	> 1 000 UFC(c)/gr suelo seco

(a) C/N/P se refiere al contenido (en peso) de nitrógeno (N), fósforo (P), en relación con 100 partes (en peso) de carbono (C) (Instituto Nacional de Ecología, 2009).

(b) C/N, C/P, se refieren a las relaciones (en peso) de cada elemento relativas al carbono
(c) UFC: unidades formadoras de colonias (Instituto Nacional de Ecología, 2009).

Debido a que los contaminantes orgánicos comúnmente no se encuentran en concentraciones suficientes, el material contaminado debe mezclarse con sustancias orgánicas sólidas biodegradables como aserrín, paja, bagazo, estiércol, composta madura y desechos agrícolas. Estos materiales son conocidos como agentes abultantes y se utilizan con tres finalidades básicas:

- a) Asegurar la generación del calor necesario para el proceso.

- b) Mejorar el balance y disponibilidad de nutrientes (C/N) para la actividad microbiana.

- c) Aumentar la porosidad de la composta y con esto la aireación y capacidad de retención de agua (Alexander 1994, Eweis et al. 1998. Semple et al. 2001).

La concentración y composición de la comunidad microbiana y la tasa de transformación de contaminantes está influenciada por diversos factores:

- *Necesidad de nutrientes.* El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos y éstos requieren que los constituyentes químicos se encuentren disponibles para su asimilación y síntesis.

Los nutrientes principalmente requeridos son el fósforo y el nitrógeno. Por lo general suele haber en el suelo una concentración de nutrientes suficiente, sin embargo, si éstos no se encontrasen en el intervalo adecuado se puede adicionar mayor cantidad al medio.

- *pH del suelo.* Afecta significativamente en la actividad microbiana. El crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8. Así mismo el pH también afecta directamente en la solubilidad del fósforo y en el transporte de metales pesados en el suelo. La acidificación o la reducción del pH en el suelo se puede realizar adicionando azufre o compuestos del azufre (Bates R.G., 1983).
- *Temperatura.* Generalmente las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura entre 15 y 45 °C (condiciones mesófilas), decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a 45 °C e inhibiéndose a inferiores a 0 °C.
- *Humedad.* Los microorganismos requieren unas condiciones mínimas de humedad para su crecimiento. El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo.
- *Estructura química del hidrocarburo.* La inherente biodegradabilidad de un hidrocarburo depende, en gran medida, de su estructura molecular. Siendo los parámetros que más van a afectar la halogenación, la existencia de ramificaciones, la baja solubilidad en el agua y la diferente carga atómica (Admon S., 2001).
- *Aireación del suelo.* Se va a favorecer la degradación de los hidrocarburos por dos motivos: por volatilización, facilitando la migración de la fase volátil de los contaminantes, y por biodegradación, ya que al incrementar la oxigenación del suelo se va a estimular la actividad bacteriana.

2.8.1 Ventajas en la aplicación de biopilas

Una de las ventajas fundamentales que posee la biorremediación de hidrocarburos y en particular la aplicación de biopila, es el bajo costo de aplicación que en general esta posee. Esto se debe a los bajos requerimientos de instalaciones fijas e insumos necesarios para su aplicación.

La alternativa de biopila puede constituir una solución viable en aquellos casos en los que contar con tiempos relativamente cortos de tratamiento no es uno de los principales factores a la hora de seleccionar la tecnología de tratamiento más adecuada y donde la ubicación geográfica del proyecto condicionaría la aplicación de otras tecnologías cuyos requerimientos de insumo y servicios fuesen más intensivos.

2.9 Determinación de hidrocarburos

2.9.1 Extracción de hidrocarburos por agitación-centrifugación

Aunque la extracción con Soxhlet es una de las técnicas más utilizadas para la extracción de hidrocarburos por su eficiencia de extracción (mayor al 80%) (M. Valcarcel, 1990), el tiempo y número de muestras que se logran procesar son limitadas a la cantidad de equipos disponibles, razón por la cual se han desarrollado otras técnicas que tienen como finalidad optimizar los tiempos de extracción y cantidad de solvente a utilizar, haciéndolas más económicas y rápidas, con la ventaja de poder procesar más muestras en menor tiempo, tal es el caso de la extracción agitación-centrifugación (Kenneth-Judith, 2001).

La técnica para la extracción de los hidrocarburos del petróleo de muestras sólidas se basa en el método 3540 de la USEPA (Seminars, 1996), con algunas modificaciones (Arce O. J. M., 2004) en cuanto a la velocidad de agitación y volúmenes de solvente a utilizar.

Este método se basa en la extracción de hidrocarburos no volátiles y semivolátiles de muestras sólidas, a través del contacto íntimo de la muestra con el solvente mediante la agitación en un matraz o tubo (lavado), produciendo un efecto de extracciones sucesivas. Separando posteriormente el solvente del suelo por centrifugación.

2.9.2 Cuantificación de hidrocarburos

Realizada la extracción de los hidrocarburos en una muestra sólida, éstos se pueden cuantificar para conocer su concentración por varios métodos, entre ellos: Espectroscopia de Infrarrojo y/o Cromatografía de Gases.

2.9.2.1 Cuantificación de hidrocarburos por espectroscopia de infrarrojo (IR)

La Espectroscopia infrarroja (Espectroscopia IR) es la rama de la espectroscopia que trata con la parte infrarroja del espectro electromagnético. Ésta cubre un conjunto de técnicas, siendo la más común una forma de espectroscopia de absorción. Así como otras técnicas espectroscópicas, puede usarse para identificar un compuesto e investigar la composición de una muestra.

Puede dividirse según el tipo de la radiación que se analiza, en:

- Espectroscopia del Infrarrojo cercano
- Espectroscopia del infrarrojo medio
- Espectroscopia del infrarrojo lejano

En el análisis cuantitativo, la espectroscopia de infrarrojo medio, es el más utilizado en el intervalo de onda que va de 2,5 a 15,0 (λ) μm , su enorme ventaja reside en la gran selectividad, lo que posibilita a veces la cuantificación de una sustancia en una mezcla compleja sin la realización de mucho trabajo previo de separación (Douglas-Donald, 1989).

La porción infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres regiones; el infrarrojo cercano, medio y lejano, así nombrados por su relación con el espectro visible. El infrarrojo lejano (aproximadamente $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) se encuentra adyacente a la región de microondas, posee una baja energía y puede ser usado en espectroscopia rotacional. El infrarrojo medio (aproximadamente $4\ 000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) puede ser usado para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura rotacional vibracional, mientras que el infrarrojo cercano ($14\ 000\text{-}4\ 000\text{ cm}^{-1}$) puede excitar sobretonos o vibraciones armónicas.

La espectroscopia infrarroja se basa en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias a las cuales rotan y vibran, es decir, los movimientos de rotación y

vibración moleculares tienen niveles de energía discretos (modos normales vibracionales).

Para medir una muestra, un rayo de luz infrarroja atraviesa la muestra, y se registra la cantidad de energía absorbida en cada longitud de onda. Esto puede lograrse escaneando el espectro con un rayo monocromático, el cual cambia de longitud de onda a través del tiempo, o usando una transformada de Fourier para medir todas las longitudes de onda a la vez. A partir de esto, se puede trazar un espectro de transmitancia o absorbancia, el cual muestra a cuáles longitudes de onda la muestra absorbe el IR, y permite una interpretación de cuáles enlaces están presentes.

2.9.2.2 Interferencias en la cuantificación de hidrocarburos por espectroscopia de infrarrojo (IR)

Los enlaces carbono-hidrógeno provenientes de fuentes que no sean petróleo, como lípidos y ácidos grasos de la materia orgánica de la muestra, pueden dar valor de HTP's mayores a los reales; por lo que en algunas ocasiones se recomienda hacer un lavado de la muestra para eliminar todo el material biogénico

2.9.2.3 Cuantificación de hidrocarburos por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM).

La cromatografía de gases (CG) es una técnica analítica que se ha estudiado y utilizado intensamente durante más de 40 años para resolver una gran variedad de problemas analíticos y, gracias a ello, se han encontrado condiciones válidas para la separación de casi todo tipo de compuestos, para los que la cromatografía de gases (CG) es un método de separación válido.

Partiendo de esta base, se sigue intentando la optimización de análisis específicos para cada compuesto (Kenneth-Judith, 2001).

Las muestras son preparadas para su análisis por CG/EM y si es necesario se realiza hasta una limpieza de la muestra. El extracto de la muestra es introducido en el cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas por inyección del extracto de la muestra dentro del cromatógrafo de gases (CG).

La columna del cromatógrafo de gases (CG) es programada a cierta temperatura para separar los analitos, los cuales son entonces detectados con el espectro de masas (EM).

La espectrometría de masas (EM), es una técnica analítica que permite la medición de iones derivados de moléculas.

El espectrómetro de masas (EM), es un instrumento que permite analizar con gran precisión la composición de compuestos en su relación masa-carga (m/z).

La cromatografía de gases (CG) acoplada con la espectrometría de masas (EM), son técnicas que constituyen una herramienta potente para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas.

El método de CG/EM identifica compuestos por el tiempo de retención y su espectro de masas.

2.9.2.4 Interferencias en la cuantificación de hidrocarburos por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM)

Los espectrómetros de masas están entre los detectores más selectivos, pero son aún susceptibles a interferencias:

- Los isómeros tienen espectros idénticos. Productos pesados del petróleo pueden contener miles de componentes principales que no son resueltos por cromatografía de gases. Como resultado, compuestos múltiples están simultáneamente dentro del espectro de masas.

Diferentes compuestos pueden compartir muchos de los mismos iones, confundiendo el proceso de identificación.

- La probabilidad de una incorrecta identificación es alta en mezclas complejas, como productos del petróleo.
- Algunas veces la identificación de compuestos está acompañada por un programa de biblioteca de investigación. Debido a que la biblioteca computarizada no puede contener todos los posibles isómeros del petróleo y frecuentemente contiene datos de pesticidas, plásticos y otros compuestos no encontrados en el petróleo, éstos algunas veces interfieren en la identificación correcta de los compuestos.

La identificación de biblioteca computarizada debe ser usada con extrema precaución.

- Un espectro de masas, puede tener muy diferentes respuestas para dos diferentes compuestos de hidrocarburos. Puesto que los productos del

petróleo son mezclas complejas de hidrocarburos, la misma masa de dos diferentes productos puede tener dos diferentes respuestas en un espectro de masas.

3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Las muestras para llevar a cabo la experimentación, fueron tomadas en el centro procesador de gas de Nuevo Pemex en Tabasco, la nomenclatura utilizada es la que se muestra en la Tabla 3.1.

TABLA 3.1 NOMENCLATURA DE LAS MUESTRAS TOMADAS EN EL CENTRO PROCESADOR DE GAS DE NUEVO PEMEX EN TABASCO

Muestra	Tipo	Procedencia
LAS (lodos aceitosos)	lodo	Fosa de residuos aceitosos
LES (lodos aceitosos)	lodo	Laguna de estabilización
SUE (suelo)	sólido	Suelo del centro procesador

La muestra LAS fue el problema a tratar en el experimento, la muestra LES se tomó con el objeto de ver si contenía microorganismos que pudieran servir para el tratamiento biológico de la muestra LAS, como una opción para el aumento de la flora microbiana, mientras que la muestra SUE se tomó con el fin de ver si se encuentra contaminado con hidrocarburos y como una opción de ayuda para disminuir la concentración de hidrocarburos presentes en la muestra LAS y dar un tratamiento en conjunto con ésta. Las muestras fueron recolectadas en

cubetas de plástico, selladas para su transportación por personal del Instituto Mexicano del Petróleo.

3.1 Caracterización de muestras

En la caracterización de las muestras (Tabla 3.1), se aplicaron técnicas analíticas (siguiendo la metodología de un manual interno del programa de Ingeniería Molecular del Instituto Mexicano del Petróleo) para realizar el análisis de:

- pH
- Carbono orgánico total
- Nitrógeno amoniacal
- Fósforo soluble
- Concentración total de hidrocarburos por IR
- Concentración total de hidrocarburos por CG/EM
- % Humedad

Técnicas microbiológicas (siguiendo la metodología de un manual interno del programa de Ingeniería Molecular del Instituto Mexicano del Petróleo) para:

- Cuenta viable de microorganismos en placa de bacterias heterótrofas.
- Cuenta viable de microorganismos en placa de bacterias hidrocarbonoclastas.
- Cuenta viable de microorganismos en placa de hongos.

3.1.1 Técnicas analíticas

Una explicación de las técnicas utilizadas se presenta en las Figuras 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 y 3.7

Análisis de pH

Para la determinación del pH se utilizó *un* pHmetro Oakton 125-232.

Fundamento: El método potenciométrico o electroquímico para medir pH de una muestra es el más utilizado. Con este método se mide el potencial de un electrodo sensitivo a los iones H^+ (electrodo de vidrio) presentes en una solución problema, usando como referencia un electrodo cuya solución problema no se modifica cuando cambia la concentración de los iones a medir, siendo generalmente un electrodo de Ag/AgCl. El electrodo a través de sus paredes desarrolla un potencial eléctrico. En la práctica se utilizan soluciones amortiguadoras de pH conocido, para calibrar el instrumento y luego comparar, ya sea el potencial eléctrico o el pH directamente de la solución a evaluar.

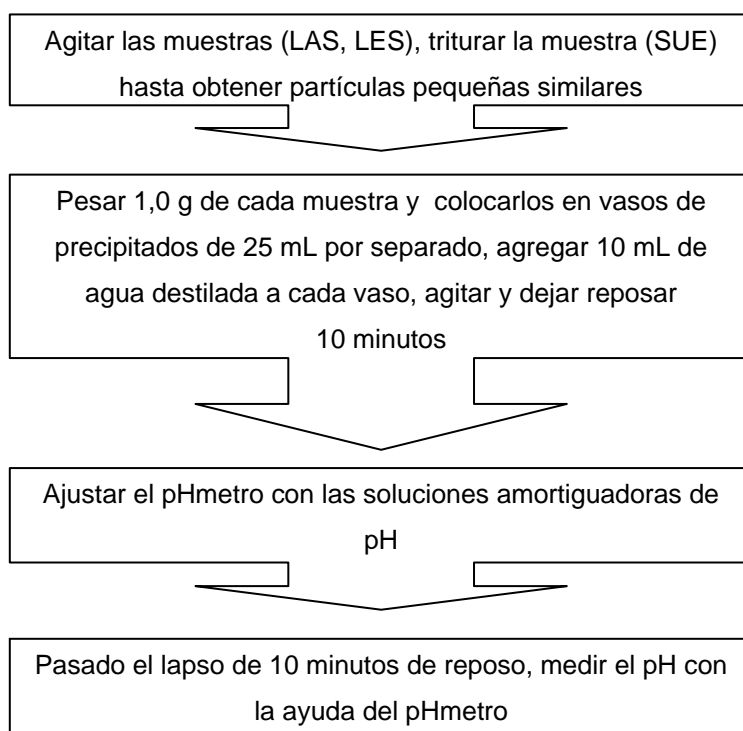


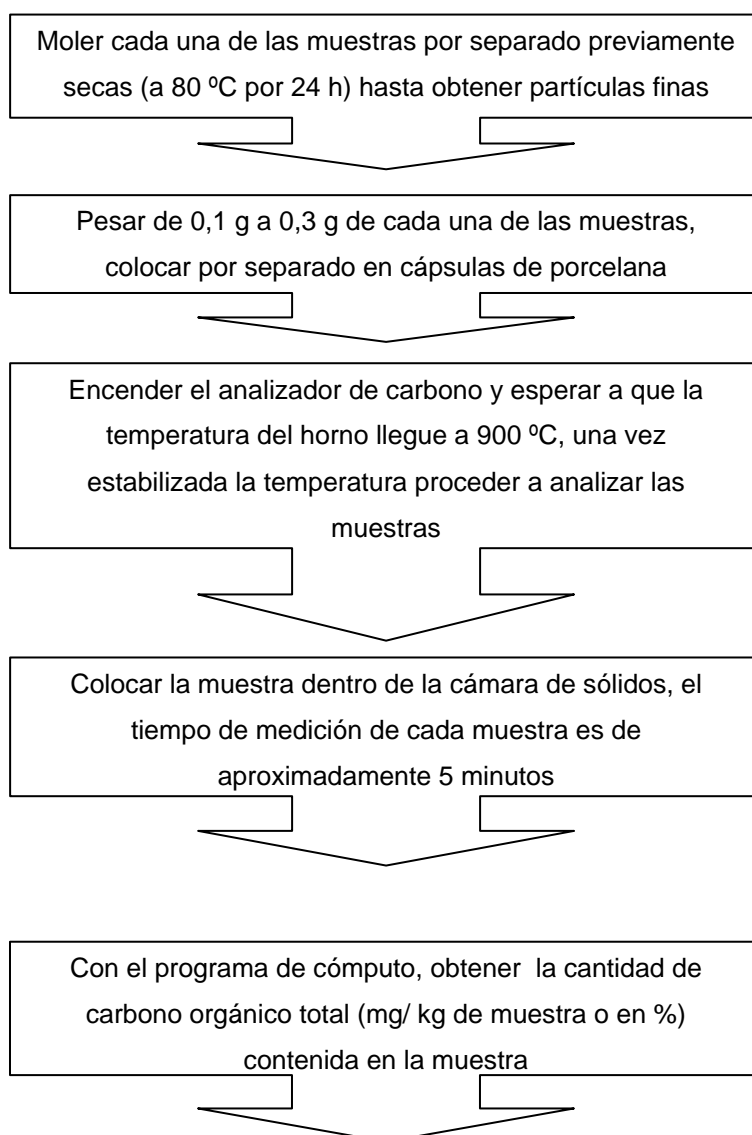
Figura 3.1 Diagrama de flujo para la determinación de pH

Nota: El análisis se realizó por triplicado para cada muestra, se tomó 1,0 g de muestra en los análisis de caracterización, mientras que para los análisis en los sistemas de biopilas, se tomó 0,5 g, esto para no extraer demasiada muestra de los sistemas.

Análisis de carbono orgánico total

Para la determinación de carbono orgánico total se utilizó un analizador de carbono con una cámara de combustión y un detector de infrarrojo SHIMADZU TOC-5000A.

Fundamento: La muestra es colocada dentro de la cámara de combustión a una temperatura de 900 °C, proceso que provoca la liberación de CO₂ proveniente de todo el carbono presente en el suelo. El CO₂ es cuantificado con un detector de infrarrojo. El límite de detección de la técnica va de 0 a 25 mg de C, y considerando que no toda la muestra es materia orgánica (m.o.) se recomienda utilizar muestras de 0,1 a 0,3 g, pero mientras más m.o. se tenga, se debe tomar menor cantidad de suelo al realizar esta técnica.



Determinar la concentración de carbono orgánico total extrapolando el valor en una curva patrón, ésta se realiza con biftalato de potasio ($C_6H_4(COOK)_2$) en un intervalo de concentraciones de 0 a 25 mg (0 a 0.025 g) de carbono contenido en este compuesto

Figura 3.2 Diagrama de flujo para la determinación de carbono orgánico total

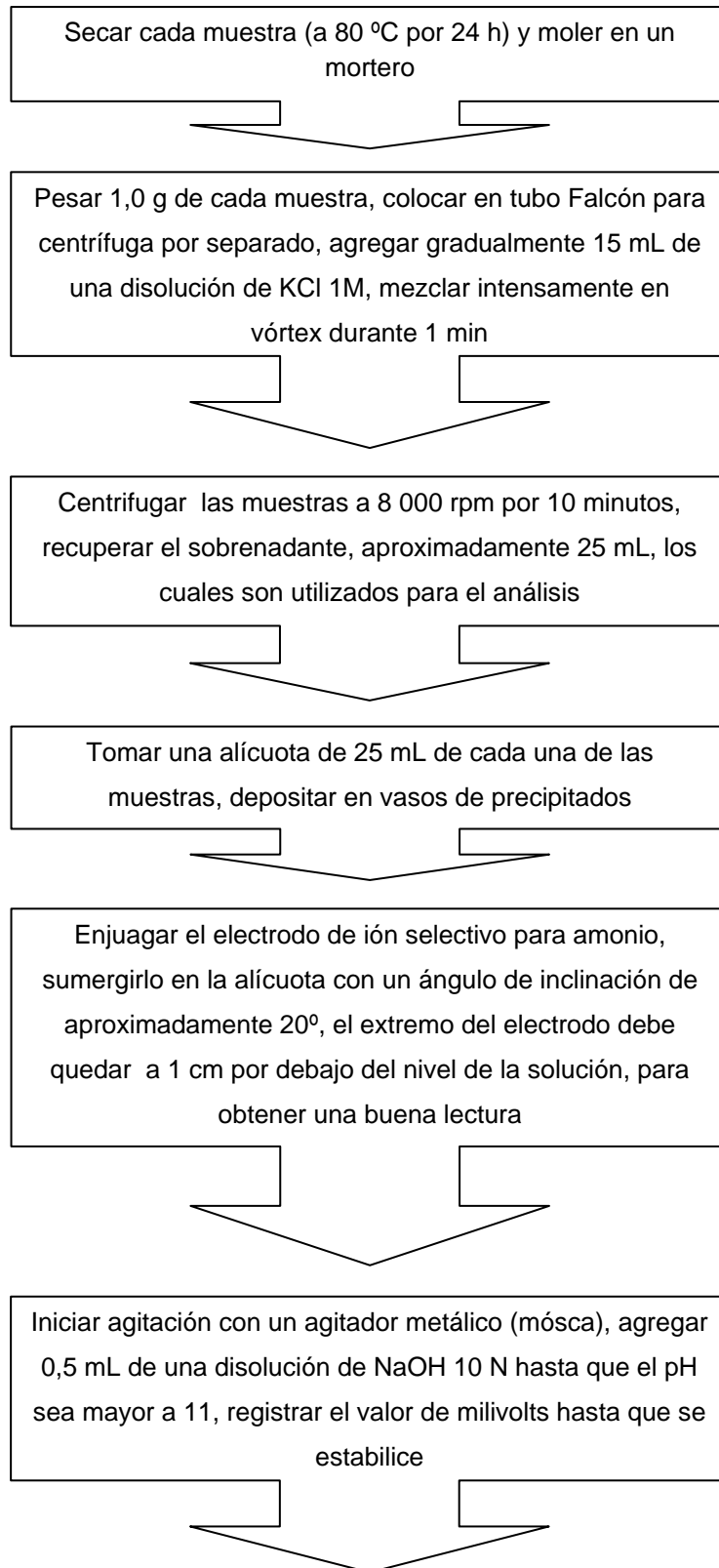
Nota: El análisis se realizó por triplicado.

Análisis de nitrógeno amoniacal (nitrógeno combinado en forma de ión amonio NH_4^+)

Para la determinación de nitrógeno amoniacal (nitrógeno en forma de amonio) se utilizó un Potenciométrico ORION 920A con electrodo de ion selectivo para ión amonio.

Fundamento: El ión amonio se cuantifica, en medio acuoso, empleando un electrodo de ion selectivo, que consta de una membrana hidrofóbica permeable al gas, permitiendo separar la fase acuosa de la muestra y la solución interna del electrodo (el líquido no penetra la membrana).

El amoniaco de la muestra en solución difunde a través de la membrana hasta que la presión parcial del amoniaco es la misma en ambos lados de la membrana. Así, para las muestras la presión parcial del amoniaco es proporcional a su concentración y esta a su vez se encuentra en equilibrio con el ion amonio. Estos cambios de concentración son detectados por el elemento interno del electrodo y dan como resultado un cambio de potencial (voltaje) proporcional a la concentración de amoniaco en la solución.



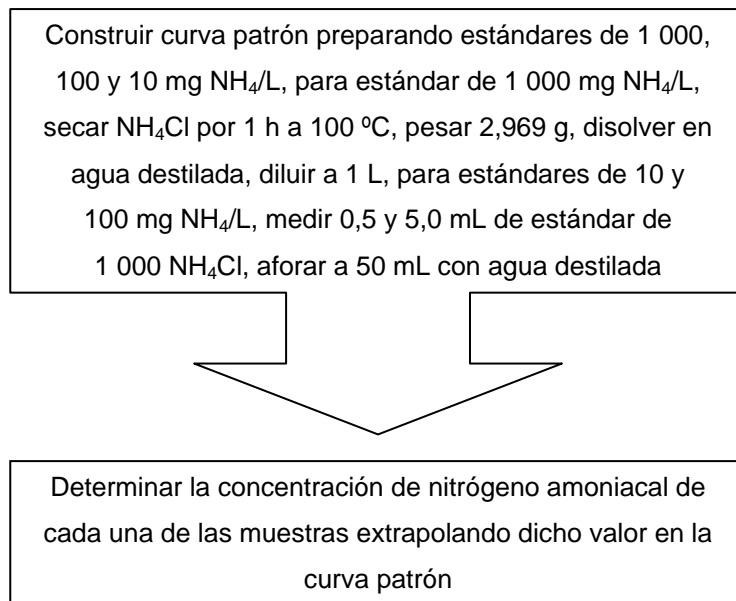


Figura 3.3 Diagrama de flujo para la determinación de nitrógeno amoniacal (nitrógeno combinado en forma de ión amonio NH_4^+)

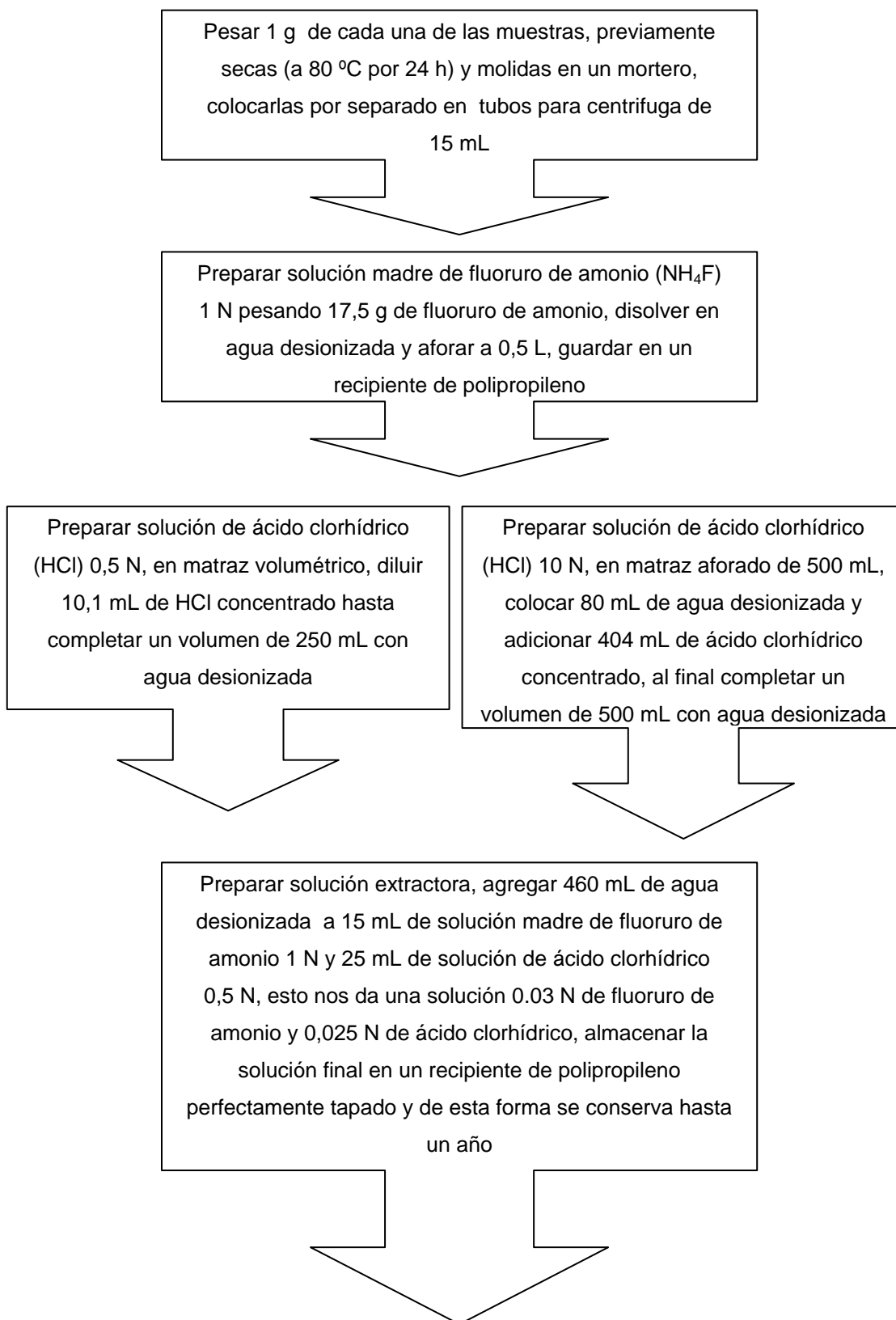
Nota: El análisis se realizó por triplicado para cada muestra, se tomó 1,0 g de muestra en los análisis de caracterización, mientras que para los análisis en los sistemas de biopilas, se tomó 0,5 g, esto para no extraer demasiada muestra de los sistemas.

Análisis de fósforo soluble (en forma de fosfato PO_4^{3-})

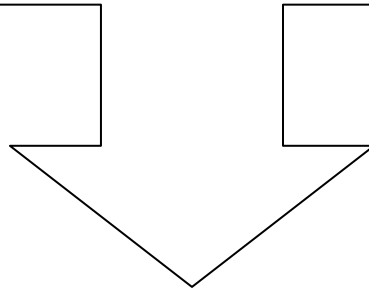
Para la determinación de fósforo soluble se utilizó un Espectrofotómetro Hach DR 2000.

Fundamento: Este método se basa en la extracción de las formas de fósforo fácilmente solubles, principalmente fosfatos de calcio y una fracción de los fosfatos de aluminio y hierro con la combinación de ácido clorhídrico y fluoruro de amonio. El fluoruro de amonio disuelve los fosfatos debido a la formación de un ión complejo con estos compuestos, cuando se encuentran en solución ácida. La cuantificación del P soluble se lleva a cabo por espectrofotometría.

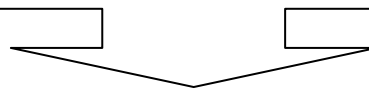
Los límites de detección de la técnica van de 1 a 10 ppm de P.



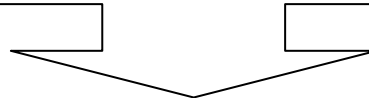
Preparar solución madre de cloruro estanoso, pesar 15 g de molibdato de amonio tetrahidratado $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O})$, disolver en 350 mL de agua desionizada, agregar con agitación constante 300 mL de ácido clorhídrico 10 N, enfriar a temperatura de laboratorio, aforar a 1 L con agua desionizada, mezclar bien, para preparar solución madre de cloruro estanoso diluida, agregar 99 mL de agua desionizada a 0,3 mL de la solución madre de cloruro estanoso, debe ser preparada al momento, debe emplearse dentro de las cuatro posteriores a su preparación, guardar en frasco ámbar con tapón esmerilado y guardar en refrigerador



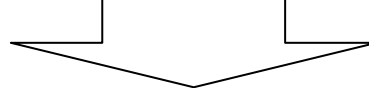
Agregar 7 mL de solución extractora, agitar con vórtex de tal manera que se mezcle bien la muestra con la solución extractora, centrifugar durante 10 minutos a 6 000 rpm



Del sobrenadante tomar 1 mL, colocar en tubo de vidrio, agregar 6 mL de agua desionizada y 2 mL de solución de molibdato, mezclar bien, agregar 1 mL de solución de cloruro estanoso diluido



Dejar reposar por 10 min, leer la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 640 nm, todas las lecturas se deben terminar de leer antes de 20 minutos



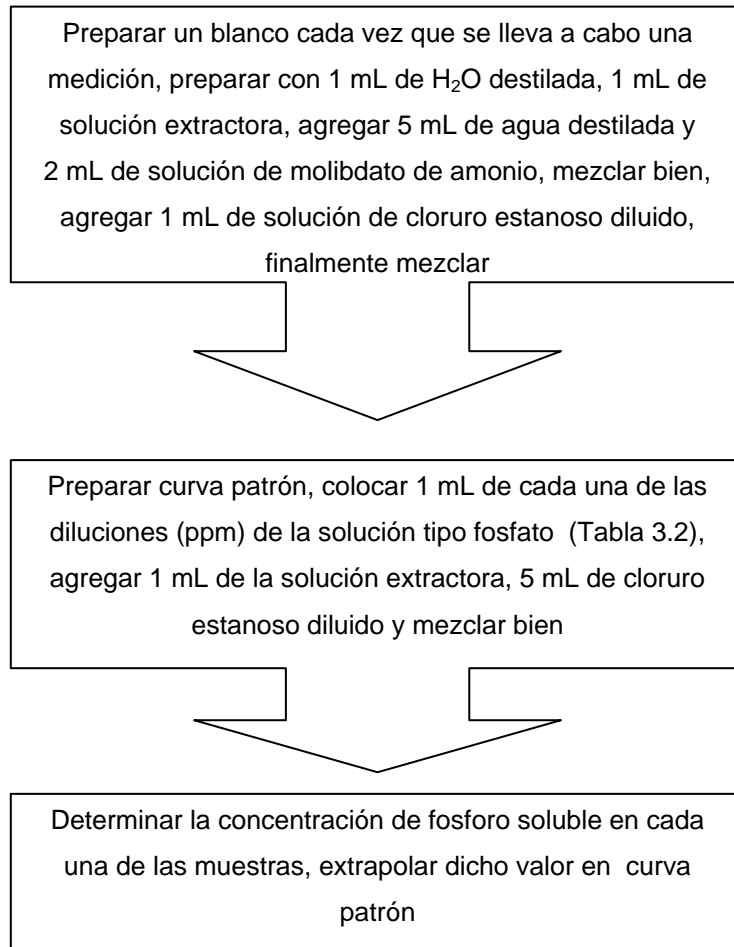


Figura 3.4 Diagrama de flujo para la determinación de fósforo soluble (en forma de fosfato PO_4^{3-})

TABLA 3.2 CONCENTRACIÓN DE FOSFATO PARA REALIZAR LA CURVA PATRÓN.

Concentración (ppm)	mL de solución tipo de fosfato
10	10
9	9
8	8
7	7
6	6
5	5
4	4
3	3
2	2
1	1

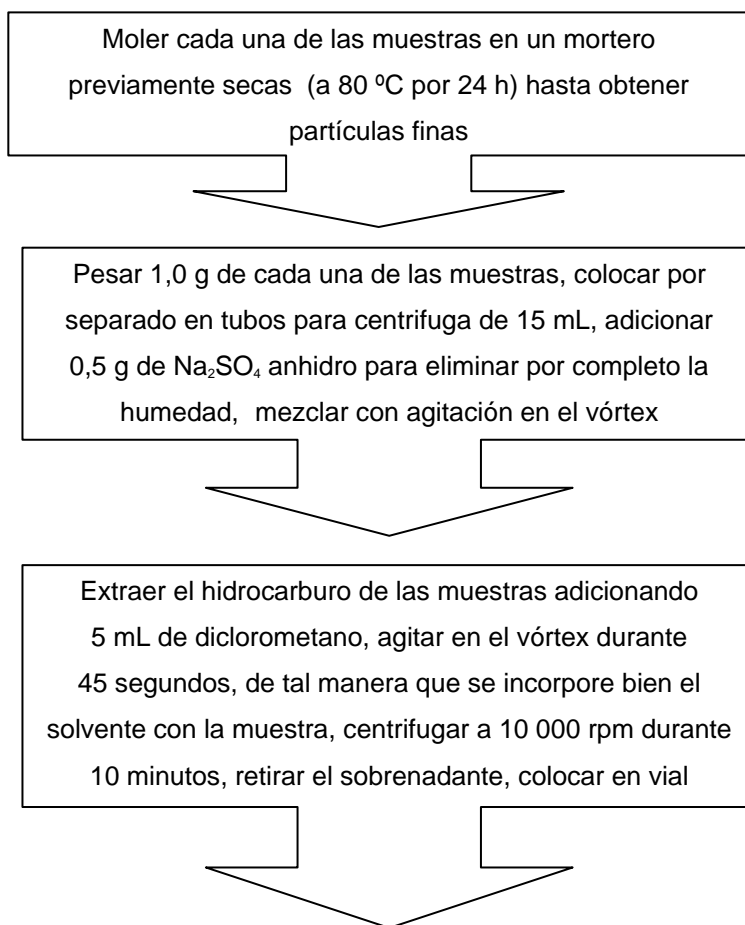
Nota: El análisis se realizó por triplicado para cada muestra, se tomó 1,0 g de muestra en los análisis de caracterización, mientras que para los análisis en los sistemas de biopilas, se tomó 0,5 g, esto para no extraer demasiada muestra de los sistemas, en preparación de soluciones de ácido clorhídrico siempre agregar el ácido al agua, se debe preparar en una campana de extracción y sobre un baño de hielo, en caso de que las muestras tengan un alto contenido de fósforo, deben hacerse las diluciones necesarias con el extracto (sobrenadante) de tal manera que los valores de absorbancia estén dentro de la curva patrón o bien se puede iniciar la extracción con menos cantidad de muestra.

Análisis de hidrocarburos totales de petróleo por espectroscopia de infrarrojo (IR)

Para la determinación de de hidrocarburos totales de petróleo se utilizó un espectrofotómetro IR Nicolete Nexus 470, se realizó utilizando el método 8440 de la US EPA 2003 (Seminars, 1996), por espectroscopia de infrarrojo.

Fundamento: Mide la absorción producida por los cambios de vibración-rotación de los enlaces C-H de los hidrocarburos en un intervalo de longitud de onda de 3 200 a 2 700 cm^{-1} . La cuantificación se lleva a cabo comparando la absorción de la muestra contra una curva de calibración hecha con un petróleo de referencia.

El límite de detección de la técnica va de 10 a 600 ppm de HTP's y en caso de tener extractos más concentrados, se recomienda hacer las diluciones necesarias para obtener mediciones de absorbancia entre 0,1 y 0,8. Este método presenta en ciertas ocasiones limitada exactitud y precisión, especialmente para muestras heterogéneas, y no da información referente a qué tipo de hidrocarburos hay en la muestra, ni a la presencia o ausencia de moléculas tóxicas (Weisman, 1998).



Extraer el hidrocarburo de las muestras dos veces más hasta obtener aproximadamente 15 mL de sobrenadante

Evaporar el disolvente (diclorometano) del sobrenadante en un recirculador (Nest Lab RTE-101) hasta concentrar el residuo que contiene todos los hidrocarburos solubles en diclorometano, recuperar el residuo de cada una de las muestras en un vial de 40 mL con tapón de teflón para su cuantificación por IR

El residuo obtenido en la extracción para cada muestra, se resuspende en 5 mL de diclorometano, trasvasar la suspensión a un matraz de 10 mL y aforar con diclorometano

Tomar 1 mL de la suspensión aforada, colocar en vial y evaporar a sequedad (a baño maría), una vez que se obtiene el extracto sin solvente, adicionar 10 mL de tetracloroetileno

Tomar 1 mL (de la disolución anterior) y colocarlo en otro vial, adicionar 9 mL de tetracloroetileno

Tomar 3 mL (de la disolución anterior) y colocarlo en otro vial, adicionar 3 mL de tetracloroetileno

Colocar la muestra en una celda de cuarzo, colocar dentro del espectrofotómetro de infrarrojo, correr un blanco del solvente a utilizar (tetracloroetileno) antes de la medición para eliminar posibles interferencias, realizar mediciones

Realizar la medición de absorbancia, debe hacerse alrededor de la longitud de onda de $2\ 950\text{ cm}^{-1}$, la huella característica de los HTP's en infrarrojo produce una huella digital de 3 picos en $2\ 956\text{ cm}^{-1}$, $2\ 926\text{ cm}^{-1}$ y $2\ 855\text{ cm}^{-1}$, para el cálculo se debe considerar el pico a $2\ 956\text{ cm}^{-1}$

Preparar una solución de referencia compuesta por 15 mL de n-hexadecano, 15 mL de iso-octano y 10 mL de clorobenceno

Preparar una solución madre, colocar 0,5 mL de la solución de referencia en un matraz aforado de 50 mL a peso constante, pesando en una balanza analítica, anotar el peso para obtener la concentración total de los estándares, aforar con tetracloroetileno hasta 50 mL, esta solución madre sirve para hacer las diluciones necesarias para la curva de calibración, tendrá aproximadamente una concentración de $3\ 810\text{ mg/L}$ de HTP's

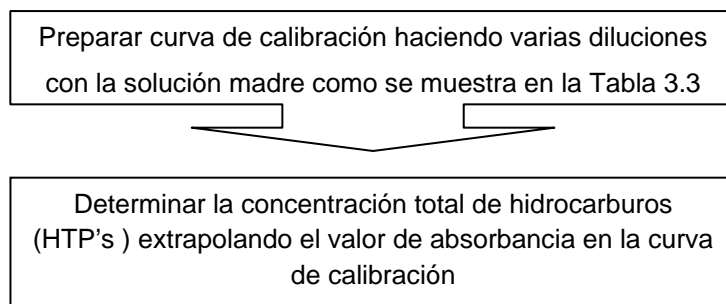


Figura 3.5 Diagrama de flujo para la determinación de la concentración total de hidrocarburos por IR

TABLA 3.3 DILUCIONES PARA REALIZAR CURVA PATRÓN DE HTP (0-609 mg/L)

No. solución	Volumen de la solución madre a tomar (mL)	Volumen de Tetracloroetileno (mL)	HTP (mg/L)
1	—	10,0	0,0
2	De (8) tomar 0,2 mL	9,8	10,16
3	De (8) tomar 1,0 mL	9,0	50,80
4	De (8) tomar 2,0 mL	8,0	101,60
5	De (7) tomar 5,0 mL	5,0	203,20
6	De (9) tomar 5,0 mL	5,0	304,80
7	De sol. Stock tomar 1,6 mL	13,4	406,40
8	De sol. Stock tomar 2,0 mL	13,0	508,00
9	De sol. Stock tomar 2,4 mL	12,6	609,60

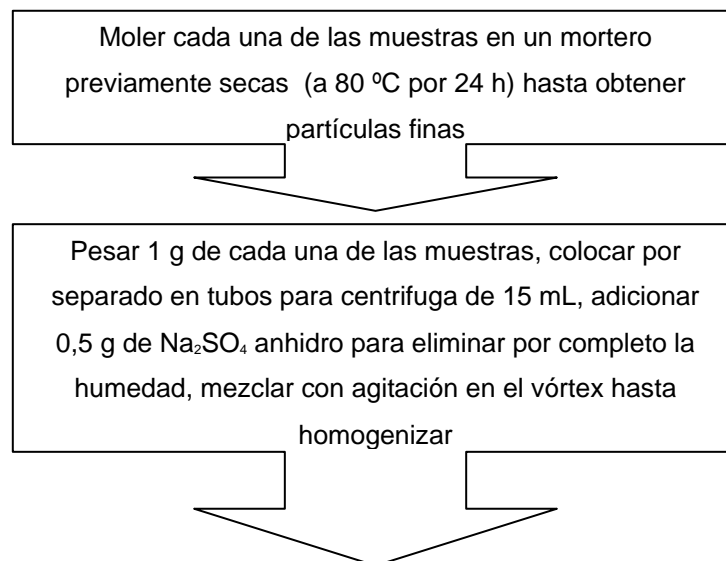
Nota: El análisis se realizó por triplicado para cada muestra, en las extracciones, en la evaporación y en la preparación de la solución de referencia y patrón, se debe trabajar en campana de extracción.

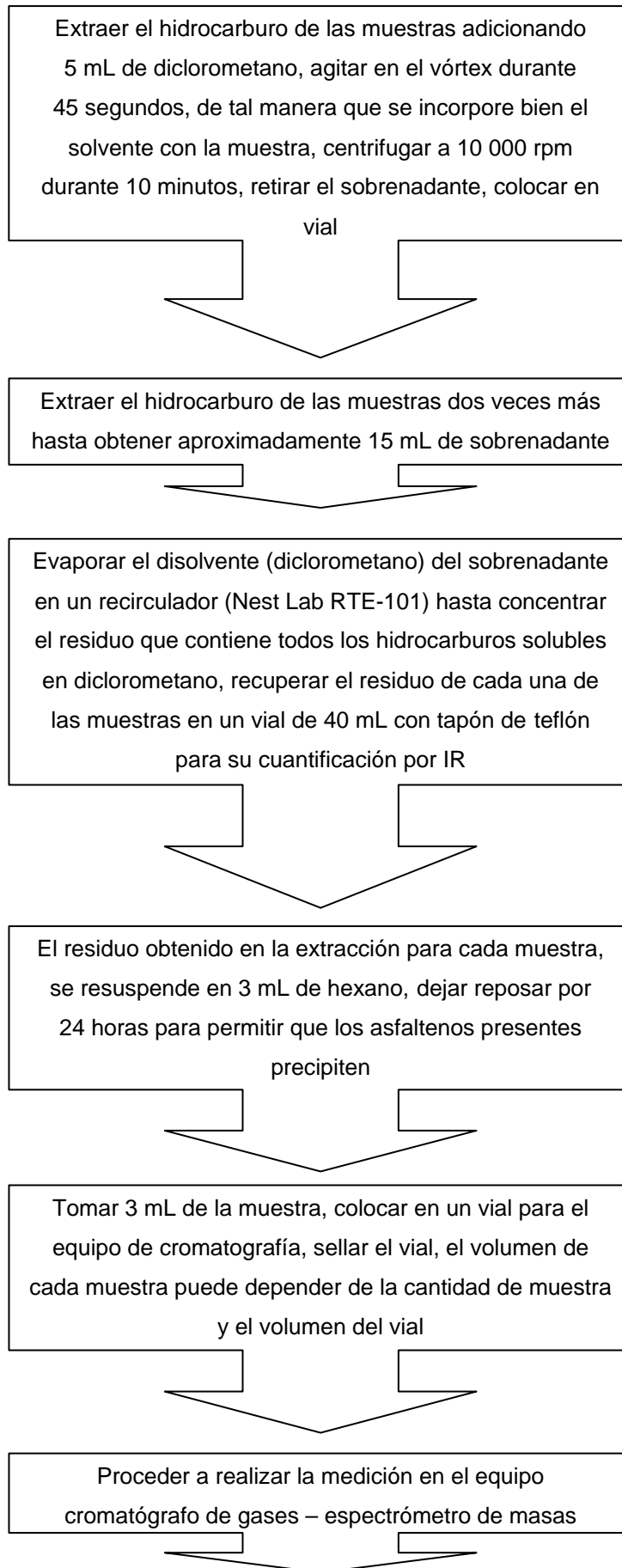
Análisis de hidrocarburos totales de petróleo por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM)

Para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo se utilizó un Cromatógrafo de Gases – Espectrómetro de Masas Agilent 6850, se realizó utilizando el método US EPA 8270DC, 1996 (Seminars, 1996), por CG/EM.

Fundamento: Cuando se requiere un análisis a detalle del tipo de compuestos presentes en una muestra contaminada con hidrocarburos, se recomienda utilizar cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG/EM) es una técnica analítica instrumental de alta sensibilidad capaz de identificar cualitativa y cuantitativamente cualquier tipo de mezclas de sustancias, mediante el análisis de su patrón de fragmentación.

El método US EPA 8270DC, 1996 (Seminars, 1996) es utilizado para determinar la concentración de compuestos orgánicos semivolátiles en extractos preparados de muchos tipos de matrices sólidas residuales, suelos, medios muestreados de aire y muestras de agua. Esta metodología contiene los criterios para verificar el método global del desarrollo del sistema de CG/EM.





Determinar la concentración de hidrocarburos totales integrando el cromatograma considerando el área bajo la curva de los picos resueltos, (para determinar la concentración de hidrocarburos totales, se extrapolo el valor del área en una curva de calibración, la cual fue proporcionada por el personal técnico encargado de realizarla)

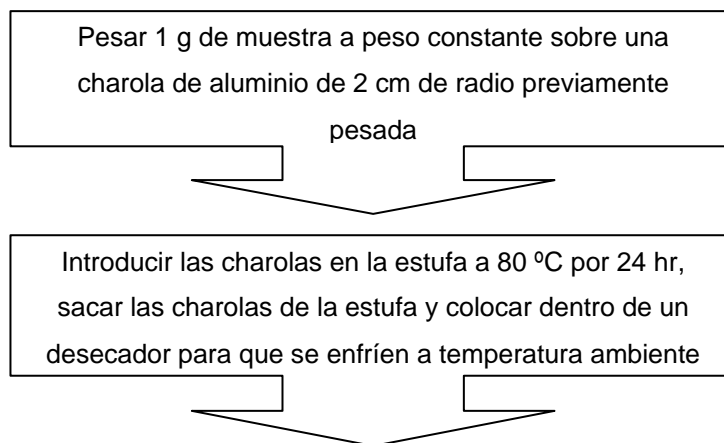
Figura 3.6 Diagrama de flujo para la determinación de la concentración total de hidrocarburos por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM)

Nota: El análisis se realizó por triplicado para cada muestra, en las extracciones se debe trabajar en campana de extracción.

Análisis de % de humedad

Para la determinación de % de humedad se utilizó una estufa de laboratorio Lumistell.

Fundamento: El método utilizado para esta medición es el gravimétrico, determinando únicamente la cantidad de humedad de las muestras, la humedad de la muestra se calcula por la diferencia de peso de una muestra húmeda y después de haberse secado en la estufa hasta obtener peso constante.



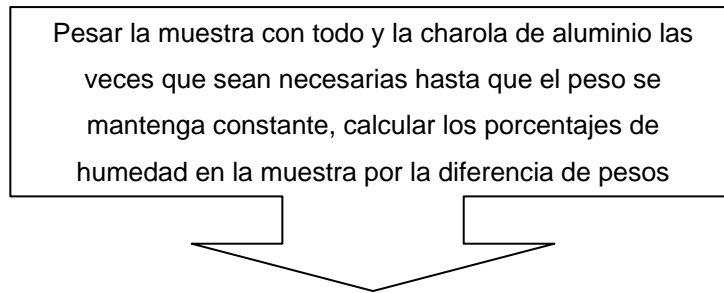


Figura 3.7 Diagrama de flujo para la determinación de % de humedad

Nota: El análisis se realizó por triplicado para cada muestra, la cantidad de muestra a tomar depende del análisis a realizar, para el lavado se tomó 100 g de muestra colocadas en charolas de aluminio de 10 cm x 10 cm, dentro de la estufa y el desecador deben de permanecer las charolas separadas sin tocarse.

3.1.2 Técnicas microbiológicas

La cuenta viable de microorganismos en muestras se puede realizar por la técnica de cuenta en placa (Pelczar M.J., 1982).

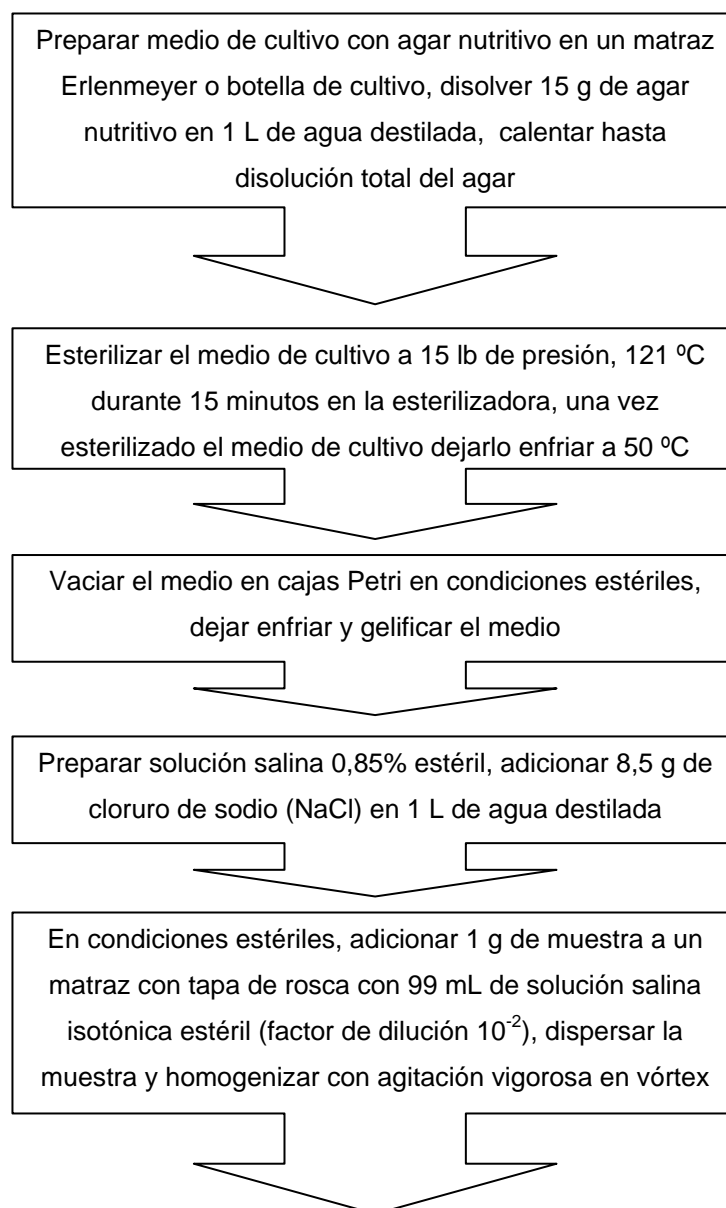
Una explicación de los métodos para determinar la cuenta viable de microorganismos en muestras se presentan en las Figuras 3.8, 3.9 y 3.10

Análisis de bacterias heterótrofas por dilución en placa

Es una técnica indirecta de cuantificación de bacterias heterótrofas con agar nutritivo como medio de crecimiento (Luis Fernández, 2007), se utilizó para la esterilización una esterilizadora Yamato SE510, para preparación de medio de cultivo y la inoculación se utilizó una campana de flujo laminar Labconco.

Fundamento: El método de dilución en placa se fundamenta en que cualquier célula viable inoculada en un medio de cultivo, se multiplica y produce datos de fácil identificación tales como la formación de colonias en placas de agar. Este

método consiste en la preparación de una serie de diluciones de una muestra de suelo en un diluyente apropiado, esparciendo una alícuota de una dilución sobre la superficie de un medio de cultivo sólido e incubando la placa de agar bajo condiciones ambientales apropiadas (Luis Fernández, 2007). La dilución de una agrupación (unidad viable), la cual se contará como una bacteria. Bajo este fundamento, estas placas pueden ser usadas no sólo para el conteo de poblaciones microbianas, sino también para el aislamiento de organismos. Un medio selectivo o no selectivo puede ser usado dependiendo de la naturaleza del microorganismo que se desea contar o aislar (Ramírez et al., 1992).



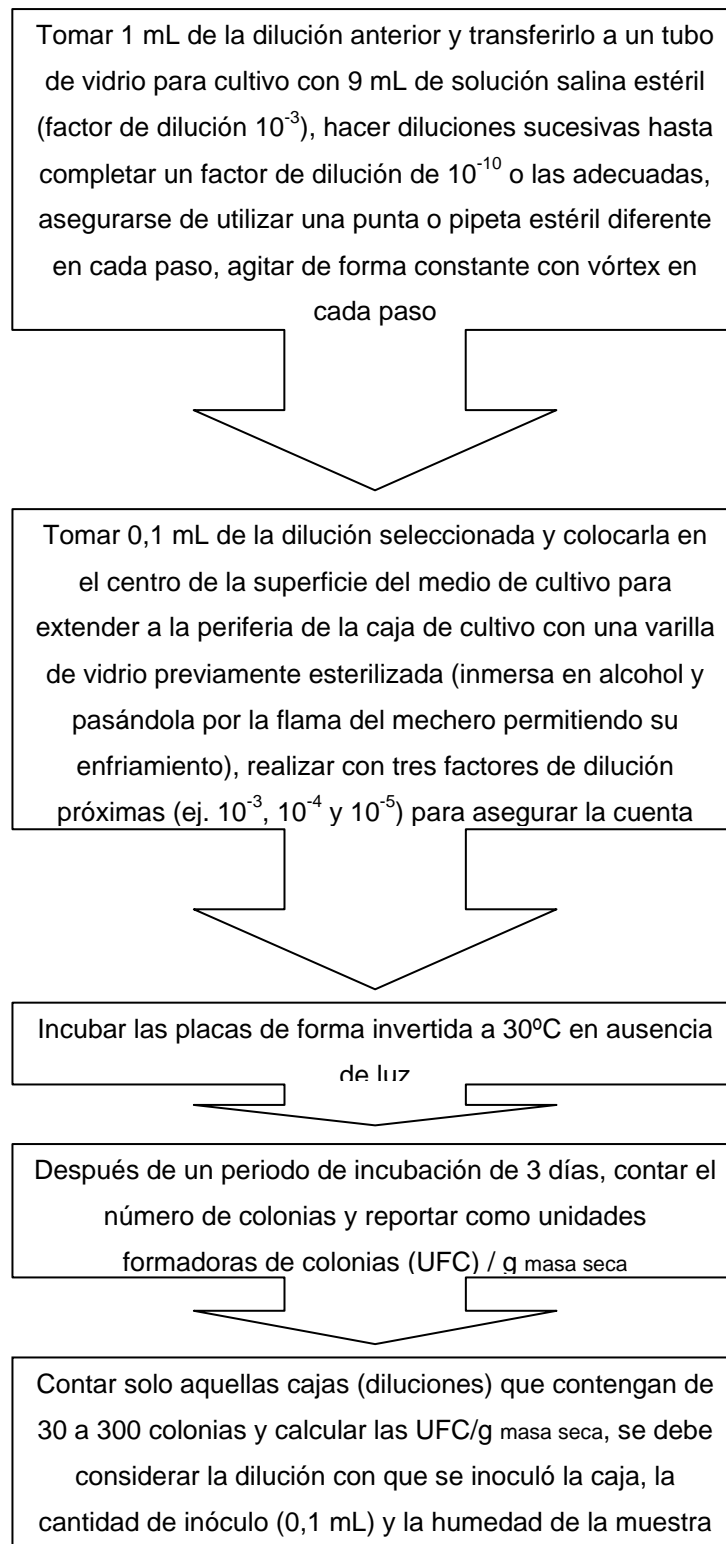


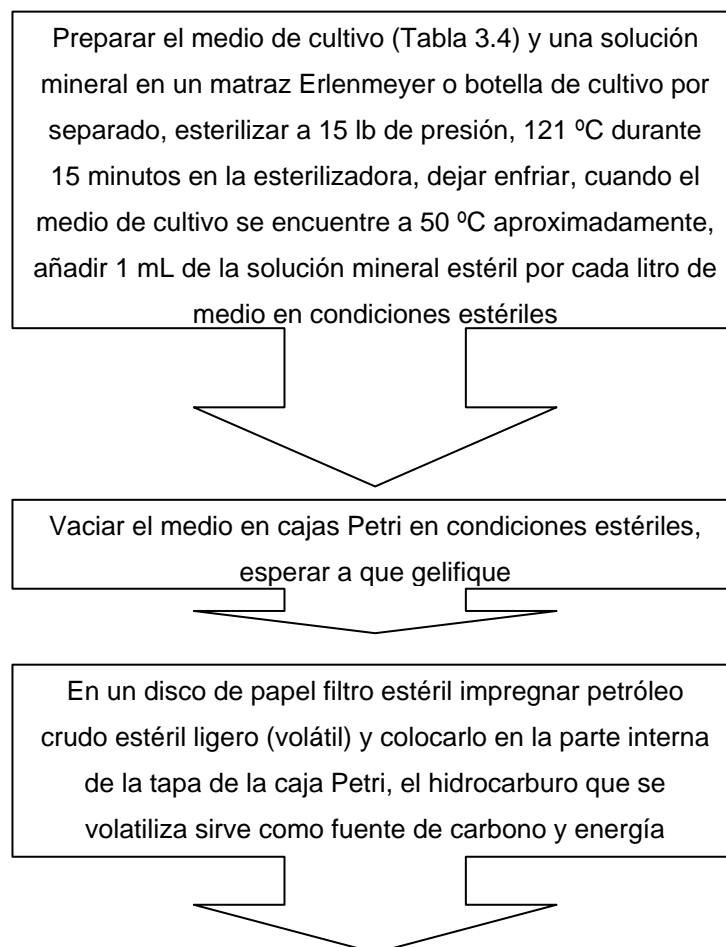
Figura 3.8 Diagrama de flujo para la determinación de bacterias heterótrofas por dilución en placa

Nota: Se realizó por triplicado para cada muestra, cuando la varilla queda muy caliente después de ser esterilizada con alcohol y flameada, puede quemar el inóculo.

Análisis de bacterias hidrocarbonoclastas por dilución en placa

Es una técnica indirecta de cuantificación de bacterias hidrocarbonoclastas con agar noble como medio de crecimiento (Luis Fernández, 2007), se utilizó para la esterilización una esterilizadora Yamato SE510, para preparación de medio de cultivo y la inoculación se utilizó una campana de flujo laminar Labconco.

Fundamento: El fundamento es el de dilución en placa, basándose en la capacidad de los microorganismos hidrocarbonoclastas de poder utilizar a los hidrocarburos como fuente de carbono y energía cuando se crecen en un medio con estas características de selección. El petróleo ligero que se impregna en un papel filtro, permite que las bacterias hidrocarbonoclastas se alimenten de los hidrocarburos volátiles, o la adición de un hidrocarburo en solución asperjando la superficie de la caja ya inoculada.



En condiciones estériles, adicionar 1 g de muestra a un matraz con tapa de rosca con 99 mL de solución salina isotónica estéril (factor de dilución 10^{-2}), dispersar la muestra y homogenizar con agitación vigorosa en vórtex

Tomar 1 mL de la dilución anterior y transferirlo a un tubo de vidrio para cultivo con 9 mL de solución salina estéril (factor de dilución 10^{-3}), hacer diluciones sucesivas hasta completar un factor de dilución de 10^{-10} o las adecuadas, asegurarse de utilizar una punta o pipeta estéril diferente en cada paso, agitar de forma constante con vórtex en cada paso

Tomar 0,1 mL de la dilución seleccionada y colocarla en el centro de la superficie del medio de cultivo para extender a la periferia de la caja de cultivo con una varilla de vidrio previamente esterilizada (inmersa en alcohol y pasándola por la flama del mechero permitiendo su enfriamiento), realizar con tres factores de dilución próximas (ej. 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5}) para asegurar la cuenta

Incubar las placas de forma invertida a 30°C en ausencia de luz

Después de un periodo de incubación de 5 días, contar el número de colonias y reportar como unidades formadoras de colonias (UFC)/ g masa seca

Contar solo aquellas cajas (diluciones) que contengan de 30 a 300 colonias y calcular las UFC/g masa seca, se debe considerar la dilución con que se inoculó la caja, la cantidad de inóculo (0.1 mL) y la humedad de la muestra

Figura 3.9 Diagrama de flujo para la determinación de bacterias hidrocarbonoclastas por dilución en placa

TABLA 3.4 MEDIO DE CULTIVO

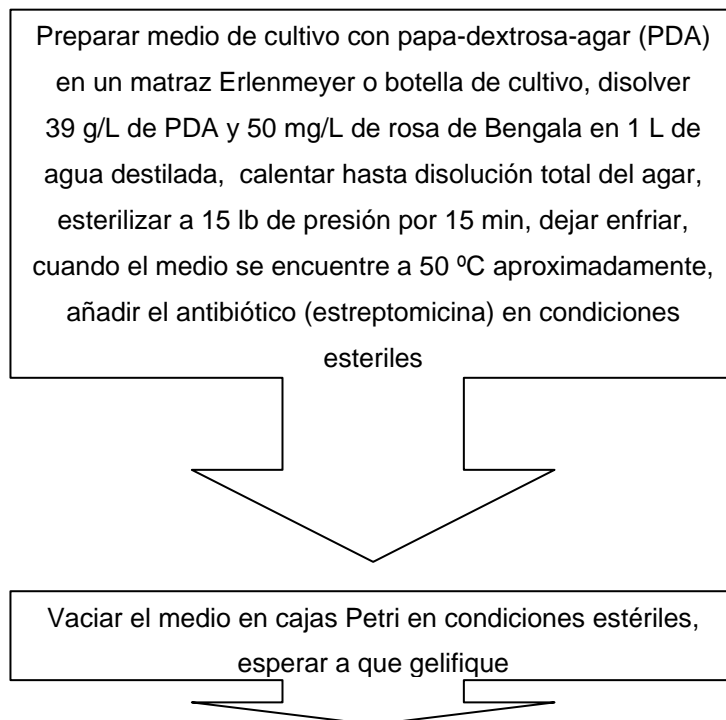
Componente		Cantidad
Agua destilada		1 L
Fosfato de potasio monobásico	KH_2PO_4	0,4 g
Fosfato de potasio dibásico	K_2HPO_4	1,6 g
Cloruro de amonio	NH_4Cl	1,5 g
Cloruro de magnesio sextahidratado	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,17 g
Sulfato de sodio heptahidratado	$\text{NaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,5 g
Cloruro de calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,045 g
Agar noble		15 g

Nota: Se realizó por triplicado para cada muestra, cuando la varilla queda muy caliente después de ser esterilizada con alcohol y flameada, puede quemar el inóculo, la solución mineral estéril y el petróleo crudo ligero (volátil) estéril fué proporcionado por el técnico del laboratorio.

Análisis de hongos por dilución en placa

Es una técnica indirecta de cuantificación de hongos con papa-dextrosa-agar (PDA) como medio de crecimiento adicionado con rosa de Bengala para permitir el conteo de hongos, así como la adición de un antibiótico (estreptomycin) para evitar el crecimiento de bacterias (Luis Fernández, 2007), se utilizó para la esterilización una esterilizadora Yamato SE510, para preparación de medio de cultivo y la inoculación se utilizó una campana de flujo laminar Labconco.

Fundamento: Este método se basa en el fundamento de la dilución en placa; sin embargo, en este caso una célula no da origen a una colonia, sino a una espora o una parte del hongo, basándose en la habilidad de estos microorganismos para crecer en medios vegetales (papa), así como en las propiedades tanto de la rosa de Bengala, de limitar el crecimiento de los hongos permitiendo su conteo, como de la estreptomycin, de evitar el crecimiento indeseable de bacterias.



En condiciones estériles, adicionar 1 g de muestra a un matraz con tapa de rosca con 99 mL de solución salina isotónica estéril (factor de dilución 10^{-2}), dispersar la muestra y homogenizar con agitación vigorosa en vórtex

Tomar 1 mL de la dilución anterior y transferirlo a un tubo de vidrio para cultivo con 9 mL de solución salina estéril (factor de dilución 10^{-3}), hacer diluciones sucesivas hasta completar un factor de dilución de 10^{-10} o las adecuadas, asegurarse de utilizar una punta o pipeta estéril diferente en cada paso, agitar de forma constante con vórtex en cada paso

Tomar 0,1 mL de la dilución seleccionada y colocarla en el centro de la superficie del medio de cultivo para extender a la periferia de la caja de cultivo con una varilla de vidrio previamente esterilizada (inmersa en alcohol y pasándola por la flama del mechero permitiendo su enfriamiento), realizar con tres factores de dilución próximas (ej. 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5}) para asegurar la cuenta

Incubar las placas de forma invertida a 30°C en ausencia de luz

Después de un periodo de incubación de 5 días, contar el número de colonias y reportar como unidades formadoras de colonias (UFC)/ g masa seca

Contar las esporas o parte del hongo, calcular las UFC/g masa seca, se debe considerar la dilución con que se inoculó la caja, la cantidad de inóculo (0,1 mL) y la humedad de la muestra

Figura 3.10 Diagrama de flujo para la determinación de hongos por dilución en placa

Nota: Se realizó por triplicado para cada muestra, cuando la varilla queda muy caliente después de ser esterilizada con alcohol y flameada, puede quemar el inóculo.

3.2 Lavado de muestras

El lavado se realizó con el fin de comparar la acción de un surfactante químico a diferentes concentraciones (tween 40, el cual fue adquirido mediante un proveedor de productos químicos) y de un surfactante biológico (cepa E, obtenido en el laboratorio de microbiología del departamento de Ing. Molecular del Instituto Mexicano del Petróleo) en la remoción de hidrocarburos totales en las muestras y en base a eso tomar la mejor decisión para realizar el lavado de la muestra LAS para el montaje del sistema de biopilas.

Cabe aclarar, que el lavado se realizó sólo a la muestra LAS, lo anterior fue basado en los resultados obtenidos en la caracterización, ya que la mayor concentración de hidrocarburos totales se presentó en la muestra LAS con 666 275 (mg/kg ms) por la técnica de IR y de 622 474 (mg/kg ms) por la técnica de CG/EM, por lo que al realizar el lavado en las tres muestras implicaba un costo mayor por el uso del surfactante químico y del surfactante biológico.

Se decidió elegir para los lavados el surfactante químico (tween 40) y el surfactante biológico (cepa E), basado en los resultados de otros trabajos experimentales realizados anteriormente en el Instituto Mexicano del Petróleo,

donde se concluyó que estos dos surfactantes (también llamados tensoactivos) comparados con otros, fueron los mejores en su tipo (Cármen González, 2009).

3.2.1 Lavado de la muestra "LAS" con un surfactante químico (tween 40)

El tween 40 es un surfactante químico del tipo "no-iónico" se refiere principalmente a los derivados polioxietilenados y polioxipropilenados, tiene la ventaja de que es estable con la mayoría de los productos químicos en las concentraciones usuales de empleo, al no ionizarse en agua, no forma sales con los iones metálicos y son igualmente efectivos en aguas blandas y duras.

El lavado de la muestra LAS se llevó a nivel piloto con 6 g a concentraciones de 0,01%, 0,2%, 0,5% y 1,0% del surfactante, por triplicado, antes de montar el sistema de biopilas, para comparar cual era la mejor concentración de surfactante químico para llevar a cabo el lavado.

Se prepararon diluciones del surfactante químico (Tabla 3.5) a diferentes porcentajes de concentración.

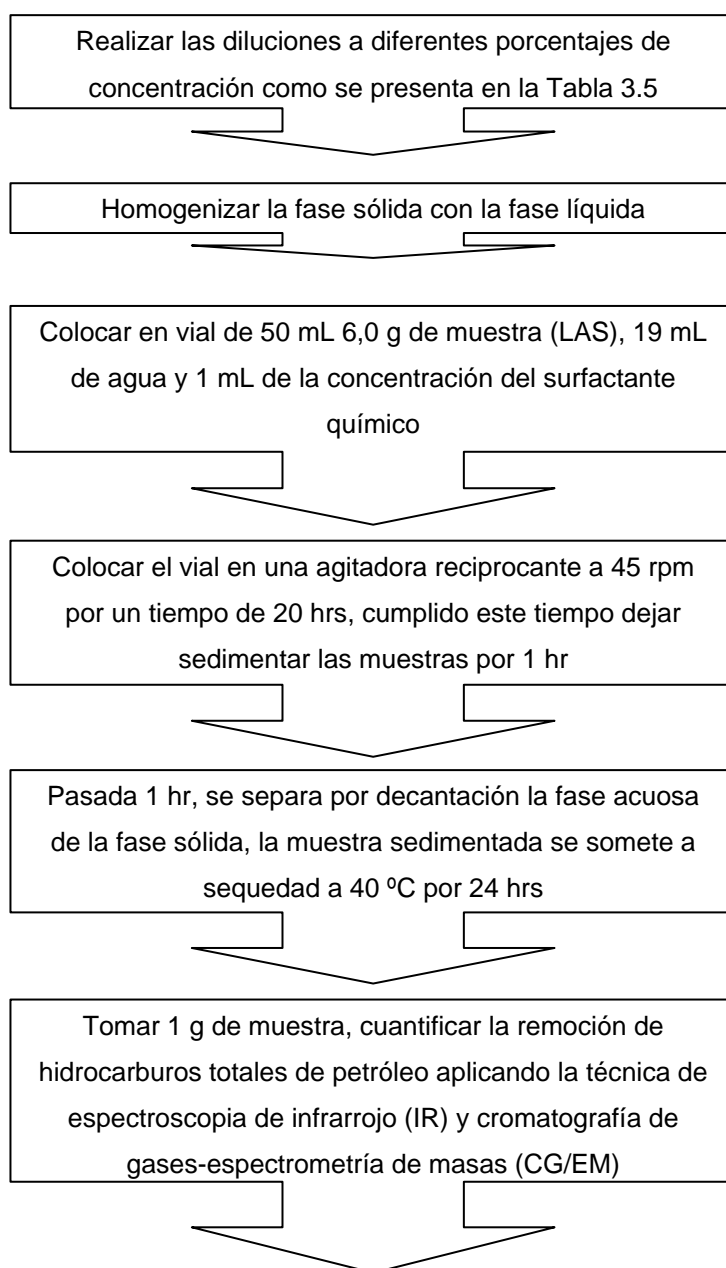
TABLA 3.5 DILUCIONES DEL SURFACTANTE QUÍMICO (TWEEN 40) A DIFERENTES PORCENTAJES DE CONCENTRACIÓN.

Surfactante Químico	% de concentración surfactante químico	mL de agua	mg de surfactante químico
tween 40	0,01	50	1
tween 40	0,2	50	20
tween 40	0,5	50	50
tween 40	1,0	50	100

Una explicación del método para el lavado de la muestra se presenta en la Figura 3.11

Lavado de muestra LAS con surfactante químico (tween 40)

El método utilizado para esta medición está basado en la técnica de realizar diluciones, el lavado se realiza por la técnica de diluir con agua el surfactante químico a distintas concentraciones.



Tomar una decisión de cuál es la mejor concentración de surfactante químico para llevar a cabo el lavado de la muestra LAS para el montaje final del sistema de biopilas

Figura 3.11 Diagrama de flujo para lavado con surfactante químico (tween 40)

Nota: Se realizó por triplicado para cada muestra.

3.2.2 Lavado de la muestra "LAS" con un surfactante biológico (cepa E)

El surfactante biológico (cepa E), como ya se había mencionado, fue obtenida en el laboratorio de microbiología del departamento de Ing. Molecular del Instituto Mexicano del Petróleo, el desarrollo experimental para obtener este surfactante biológico fue desarrollada en un trabajo experimental aparte, el cual demostró que fue el mejor comparado con otros (Cármen González, 2009).

El lavado de la muestra LAS se llevó a nivel piloto con 6 g a una concentración de 1,0% del surfactante, por triplicado. Este lavado se llevó a nivel piloto, con muestras pequeñas antes de montar el sistema de biopilas, para ver que tanto disminuía la concentración total de hidrocarburos, cabe aclarar que no se realizaron diluciones como es el caso del surfactante químico, ya que se obtiene muy poco surfactante biológico y su producción es muy costosa.

Se preparó la dilución del surfactante biológico (Tabla 3.6) a un sólo porcentaje de concentración.

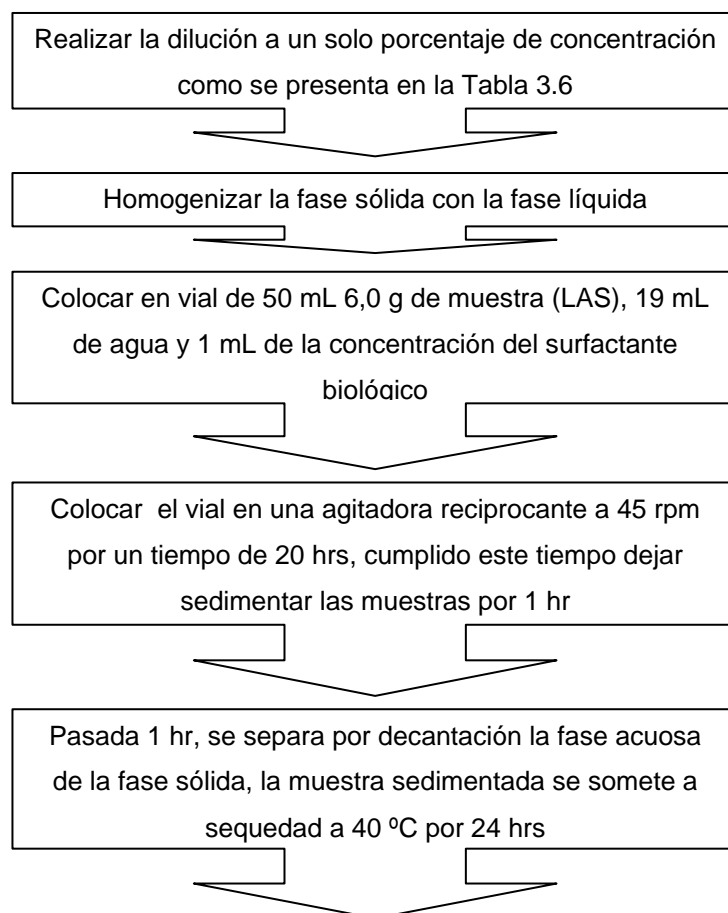
TABLA 3.6 DILUCIÓN DEL SURFACTANTE BIOLÓGICO (CEPA E) A UN SÓLO PORCENTAJE DE CONCENTRACIÓN.

Surfactante Biológico	% de concentración surfactante biológico	mL de agua	mL de surfactante biológico
cepa E	1,0	50	1

Una explicación del método para el lavado de la muestra se presenta en la Figura 3.12

Lavado de muestra LAS con surfactante biológico (cepa E)

El método utilizado para esta medición está basado en la técnica de realizar diluciones, el lavado se realiza por la técnica de diluir con agua el surfactante biológico a una sola concentración.



Tomar 1 g de muestra, cuantificar la remoción de hidrocarburos totales de petróleo aplicando técnica de espectroscopia de infrarrojo (IR) y cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM)

Figura 3.12 Diagrama de flujo para lavado con surfactante biológico (cepa E)

Nota: Se realizó por triplicado para cada muestra.

3.3 Monitoreo de los sistemas de biopilas

3.3.1 Montaje de los sistemas de biopilas

Para el montaje final del sistema de biopilas se eligió lavar la muestra “LAS” con el surfactante químico (tween 40) a una concentración al 0,5%, mientras que para el lavado con el surfactante biológico (cepa E) fue a una concentración al 1,0%, esto para ver si los surfactantes tienen un efecto en los sistemas de biopilas y por lo tanto, en la disminución de la concentración total de hidrocarburos.

Se colocó en un matraz de 6 L, 1 kg de lodo aceitoso (LAS), 3,17 L de agua y 167 mL de la concentración del surfactante elegido, se siguió la metodología para el lavado de muestra “LAS” de las Figuras 3.11 y 3.12, las biopilas consistieron en sistemas cerrados, montados en frascos color ámbar de 1,0 L con tapa y un orificio con pivote que permitiera introducir en él la aguja de una jeringa para la toma de muestras de CO₂.

Se montó un sistema de 3 biopilas y 1 control para el lavado con surfactante químico y un sistema igual de 3 biopilas y 1 control para el lavado con

surfactante biológico, utilizando residuos orgánicos como agentes abultantes (cachaza de caña y cáscara de naranja).

El montaje del sistema de biopilas para el lavado con surfactante químico (tween 40) se realizó como se muestra en la Tabla 3.7

TABLA 3.7 PROPORCIONES DE MUESTRA Y RESIDUO ORGÁNICO EN EL SISTEMA DE BIOPILAS PARA EL LAVADO CON SURFACTANTE QUÍMICO (TWEEN 40).

Biopila	LAS (g)	LES (g)	SUE (g)	Cachaza de caña (g)	Cáscara de naranja (g)
Control (Co)	100	30	50	—	—
A	100	30	50	60	—
B	100	30	50	—	60
C	100	30	50	30	30

El montaje del sistema de biopilas para el lavado con surfactante biológico (cepa E) se realizó como se muestra en la Tabla 3.8

TABLA 3.8 PROPORCIONES DE MUESTRA Y RESIDUO ORGÁNICO EN EL SISTEMA DE BIOPILAS PARA EL LAVADO CON SURFACTANTE BIOLÓGICO (CEPA E).

Biopila	LAS (g)	LES (g)	SUE (g)	Cachaza de caña (g)	Cáscara de naranja (g)
Control (Co)	100	30	50	—	—
D	100	30	50	60	—
E	100	30	50	—	60
F	100	30	50	30	30

Se siguió la relación 3:1 para los sistemas de biopilas, es decir, 3 partes de muestra a tratar por 1 parte de residuo orgánico.

Una vez montado el sistema de biopilas se ajustaron ciertos parámetros como la relación C/N/P y durante la experimentación se ajustaron ciertos parámetros como el pH y humedad (esto sólo si era necesario) tomando lecturas cada 15 días.

Ajuste de la relación C/N/P

La relación que se manejó para el sistema de biopilas fue 100/15/1, para realizar dicho ajuste se utilizó NH_4Cl para el ajuste de Nitrógeno Amoniacal y K_2HPO_4 para el ajuste de Fósforo Soluble, utilizando siempre como referencia el Carbono, ya que es el que se encontraba en mayor proporción.

Ajuste de pH

El pH que se manejó para los sistemas de biopilas fue de 6 a 8, aunque el óptimo es de 7, para realizar dicho ajuste sólo en el caso necesario de que se requiriera se utilizó 2,1 g de Na_2CO_3 por cada 1 000 g de muestra y 3,2 g de NaHCO_3 por cada 1 000 g de muestra, con esta base se pudo calcular la cantidad necesaria de cada reactivo para el ajuste.

Ajuste de Humedad

La humedad que se manejó para los sistemas de biopilas fue de un 50% de humedad a un 80% de humedad, para realizar dicho ajuste sólo en el caso necesario de que se requiriera se utilizó agua directa de la llave.

Las biopilas fueron colocadas en un cuarto a temperatura constante entre los 25°C a 35°C para mantener la actividad de los microorganismos degradadores de hidrocarburos durante un periodo de 90 días, en la Figura 3.13 se puede observar el aspecto de uno de los sistemas de biopilas visto desde arriba.



Figura 3.13 Biopila

3.3.2 Seguimiento a las variables de respuesta y a la disminución de HTP's

Se fijo un plan de tiempos comenzando de cero hasta cinco con un periodo de 15 días cada uno durante un lapso de 90 días como se muestra en la Tabla 3.9, para dar un seguimiento y control a las variables de respuesta durante la experimentación.

TABLA 3.9 VARIABLES DE RESPUESTA A SEGUIR EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS

Variables de Respuesta									
Tiempo	Periodo (día)	pH	Humedad	Temp	HTP's	Cuenta Microbiana	COT	Fósforo Soluble	Nitrógeno Amoniacal
T0	1 a 15	•	•	•	•	•	X	•	•
T1	16 a 30	•	•	•	•	X	X	•	•
T2	31 a 45	•	•	•	•	X	X	•	•
T3	46 a 60	•	•	•	•	X	X	•	•
T4	61 a 75	•	•	•	•	X	X	•	•
T5	76 a 90	•	•	•	•	•	X	•	•

• medido X no medido

El COT no fue medido durante la experimentación, para conocer el COT se uso como referencia los HTP's presentes, ya que con este parámetro se pueden obtener las concentraciones de carbono orgánico total.

Se aplicaron las técnicas descritas de la Figura 3.1. a la Figura 3.10 y la Figura 3.14 para dar seguimiento a la disminución de hidrocarburos totales como a las variables de respuesta.

Además de estos parámetros, se dió seguimiento a la producción de CO₂ presente en cada uno de los sistemas de biopilas.

Se analizo el CO₂ en las muestras cada tercer día y a la vez los sistemas de biopilas fueron aireados después de la medición retirando la tapa, dejando que las biopilas estuvieran en contacto con el aire del medio ambiente.

Una explicación del método para la medición de CO₂ se presenta en la Figura 3.14

Análisis de CO₂

Es una técnica de medición de CO₂ como indicador de la cantidad de carbono consumido por los microorganismos degradadores de hidrocarburos, se utilizó un cromatógrafo de gases con un detector de conductividad térmica Gow-Mac.

Fundamento: Este método es aplicable para medir el CO₂ producido por el metabolismo aerobio de microorganismos presentes en muestras de suelo incubadas en sistemas cerrados, mediante cromatografía de gases. De la atmósfera de los sistemas se toma una muestra con una jeringa que se introduce en un cromatógrafo de gases para su cuantificación. En la columna específica (CTR 1), se separan los gases de la muestra que son acarreados con el helio (gas inerte), los cuales son detectados con un sistema de conductividad térmica. Los detectores de conductividad térmica (DCT) para CG

consisten en un filamento calentado térmicamente o termistor. La temperatura del elemento sensible depende de la conductividad térmica del gas que se pasa sobre éste. Los cambios en conductividad térmica, que ocurren cuando las moléculas desplazan el gas acarreador, causan un incremento de temperatura, el cual es detectado como un cambio de resistencia. El DCT es capaz de detectar concentraciones desde 100% y bajas hasta 100 mg Kg^{-1} . Sin embargo, los límites de detección de este método van de 0,1% a 15% de CO_2 producido en el sistema.

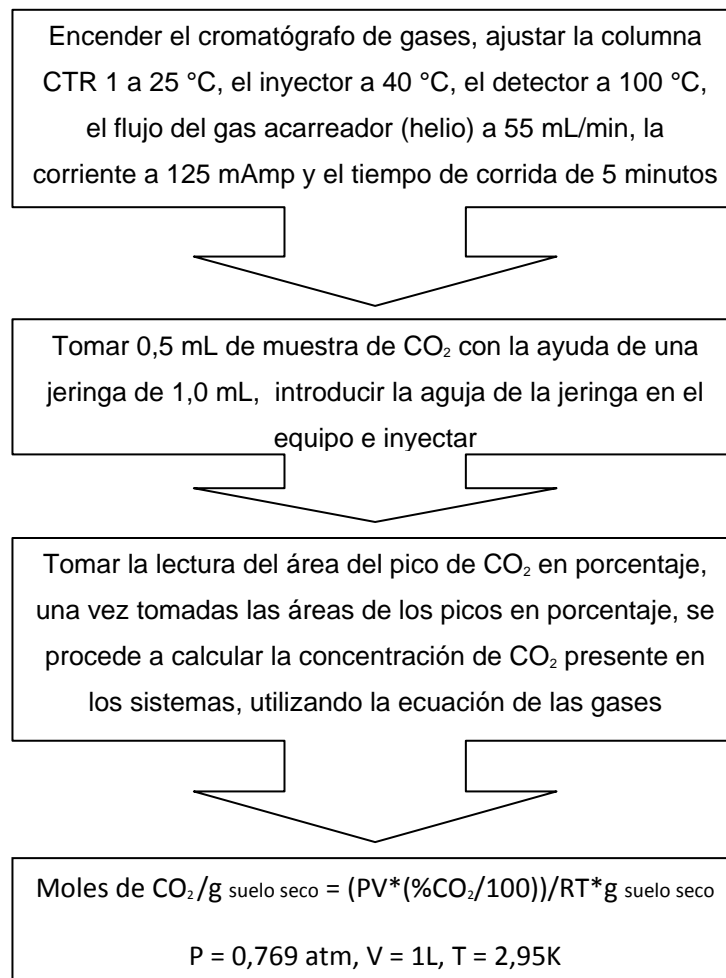


Figura 3.14 Diagrama de flujo para la determinación de CO_2

En la Figura 3.15 se presenta uno de los sistemas de biopilas visto desde arriba, donde se puede observar el crecimiento de las colonias de microorganismos productores de CO_2 .

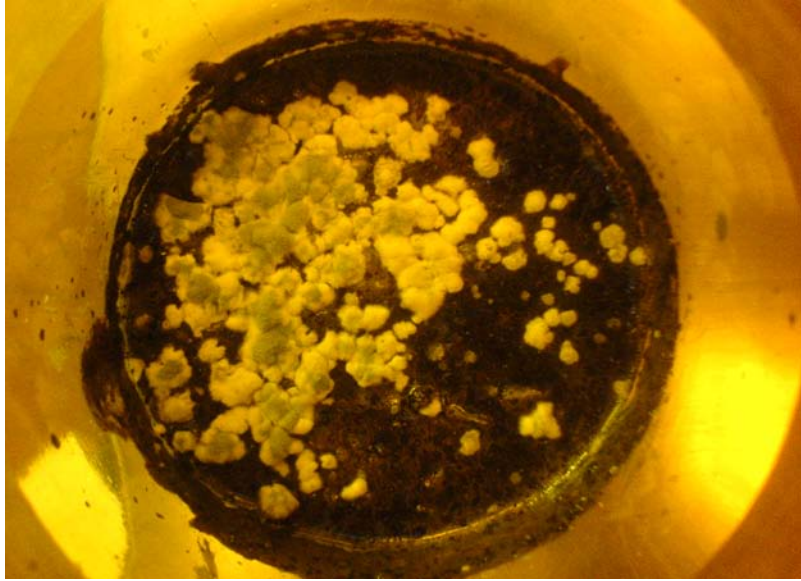


Figura 3.15 Biopila con crecimiento de microorganismos productores de CO₂

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de muestras

Los lodos aceitosos que se generan en centros procesadores de gas están incluidos en la norma (NOM-052-SEMARNAT-2005) de residuos peligrosos, en ésta no se indican los límites máximos permisibles de los compuestos contenidos en estos residuos, por lo que para su caracterización se consideraron los parámetros reportados en la norma (NOM-138-SEMARNAT-05) de hidrocarburos en suelos.

Algo muy importante en la caracterización es que las muestras fueran representativas, se caracterizaron 3 diferentes muestras del centro procesador de gas de Nuevo Pemex en Tabasco, las cuales fueron denominadas como LAS, LES y SUE.

La Tabla 4.1 muestra los resultados de la caracterización de las muestras LAS, LES y SUE.

TABLA 4.1 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE MUESTRAS

Parámetro	LAS	LES	SUE
pH	7,99	8,20	5,41
Carbono orgánico total (mg/kg masa seca)	91 721	124 470	22,0
Nitrógeno amoniacal (mg/kg masa seca)	554,75	4,421	19,12
Fósforo soluble (mg/kg masa seca)	64,23	0,579	19,20
HTP's (mg/kg masa seca) IR	666 275	129 749	35 956
HTP's (mg/kg masa seca) CG/EM	622 474	92 115	9 342
Humedad (%peso)	50,61	88,77	15,90
Bacterias heterótrofas (UFC/g masa seca)	1,02E+04	1,28E+11	2,46E+07
Bacterias hidrocarbonoclastas (UFC/g masa seca)	1,44E+03	1,49E+06	3,06E+06
Hongos (UFC/g masa seca)	2,04E+03	1,49E+03	8,07E+04

4.2 Análisis por técnicas analíticas

4.2.1 pH

La muestra LAS presentó un valor de pH de 7,99 mientras que la muestra LES presentó un valor de pH de 8,20 y la muestra SUE presentó un valor de pH de 5,41 por lo que para las muestras LES y SUE se tuvo que realizar un ajuste en su valor de pH. Un valor de pH mayor a 7 indica que la fase acuosa de la muestra puede estar asociado con agua amarga por lo que se considera alcalina, mientras que para un pH menor a 7, indica que la muestra es ácida.

El valor de pH obtenido fue el adecuado para utilizar en los sistemas biológicos (biopilas) para el tratamiento.

4.2.2 Carbono orgánico total, nitrógeno amoniacal y fósforo soluble

Es importante la concentración de carbono orgánico total; para poder determinar la relación de nutrientes C/N/P. Esta relación tiene por objeto identificar si existe una concentración adecuada de estos nutrientes, para el desarrollo de microorganismos potencialmente degradadores de hidrocarburos (L. Larochelle, 1998).

Los resultados obtenidos, en base seca para C, N y P en la caracterización de la muestra LAS indican que se tiene una relación de 100/0,60/0,070. La relación de C/N/P muestra una importante deficiencia de nitrógeno y fósforo en la muestra.

Los resultados obtenidos para la muestra LAS indican la necesidad de realizar ajustes en cuanto al contenido de nitrógeno y fósforo, con el propósito de potenciar el desarrollo de microorganismos para la degradación de los hidrocarburos presentes en la misma.

En lo que se refiere a la muestra LES la relación C/N/P fue de 100/0,003/0,0004, lo cual indica una gran deficiencia de nitrógeno y fósforo de la muestra.

En la muestra SUE la relación C/N/P fue de 100/86,90/87,27 lo cual indica una gran cantidad de nitrógeno y fósforo de la muestra.

4.2.3 Concentración total de hidrocarburos por IR y CG/EM

La caracterización inicial de las muestras LAS, LES, SUE, la extracción de hidrocarburos se llevó a cabo mediante el método de agitación/centrifugación.

Es importante mencionar que la mayor concentración de HTP's se presentó en la muestra LAS el cual fue de (666 275 mg/kg *masa seca*) por IR y de (622 474 mg/kg *masa seca*) por CG/EM debido a que proviene directamente de la fosa de residuos orgánicos donde son depositados los residuos generados durante el proceso de endulzamiento del gas natural, seguida por la muestra LES que proviene directamente de la laguna de estabilización donde se reduce la concentración debido a una estabilización natural provocado por fenómenos de tipo físico, químico, bioquímico y biológico, por lo tanto presenta menor concentración de HTP's el cual fue de (129 749 mg/kg *masa seca*) por IR y de (92 115 mg/kg *masa seca*) por CG/EM, finalmente la muestra SUE que es un suelo arenoso del mismo centro procesador que presentó la menor concentración de HTP's el cual fue de (35 956 mg/kg *masa seca*) por IR y de (9 342 mg/kg *masa seca*) debido a que se encuentra contaminado en menor proporción por hidrocarburos.

Los dos métodos tuvieron una pequeña diferencia de valores en la medición entre ambos, debido a que se tratan de dos equipos diferentes, un Espectrofotómetro IR y un Cromatógrafo de Gases los cuales presentan diferentes tipos de interferencias en la medición.

4.2.4 % Humedad

El porcentaje de humedad para la muestra LES se considera alta con un 88,77%, mientras que para la muestra LAS se considera que está dentro del intervalo considerado como óptimo con un 50,61%. Presentaron este porcentaje de humedad debido a que en el centro procesador de Nuevo PEMEX ambas muestras se encuentran en fosas por separado a las cuales se vierten varias corrientes líquidas aceitosas y que están a cielo abierto.

El porcentaje de humedad para la muestra SUE se considera bajo para un sistema biológico (biopila) con un 15,90% debido a que se trata de un suelo arenoso y este no retiene con facilidad el agua (NOM-021-RECNAT-2000-SEMARNAT), presenta humedad debido a que proviene de una región donde la humedad es alta en el ambiente.

4.3 Análisis por técnicas microbiológicas

4.3.1 Cuenta viable de microorganismos en placa de bacterias heterótrofas, hidrocarbonoclastas y hongos

La cantidad de microorganismos se reporta como unidades formadoras de colonias (UFC) e indica la probabilidad de remover hidrocarburos totales presentes en los sistemas de biopilas (Lorch H. J, 1995).

Las bacterias son los principales responsables de la biodegradación de hidrocarburos. Es por esto que desde el punto de vista de biorremediación (procesos biológicos de eliminación de contaminantes) es importante

determinar las bacterias capaces de utilizar al petróleo como sustrato, es decir, determinar a las bacterias heterótrofas (Figura 4.1) e hidrocarbonoclastas (Figura 4.2) (Bossert y Kosson, 1996) además también es importante determinar los hongos (Figura 4.3) que desempeñan una actividad importante en la mineralización del carbono orgánico; es decir; el carbono orgánico es oxidado hasta CO_2 .



Figura 4.1

Bacterias heterótrofas



Figura 4.2

Bacterias hidrocarbonoclastas



Figura 4.3

Hongos

La cuenta microbiana en la muestra LAS indica que la cantidad de microorganismos aerobios heterótrofos fue de $(1,02\text{E}+04 \text{ UFC/g masa seca})$, de hidrocarbonoclastas fue de $(1,44\text{E}+03 \text{ UFC/g masa seca})$ y de hongos fue de $(2,04\text{E}+03 \text{ UFC/g masa seca})$, para la muestra LES la cantidad de microorganismos aerobios heterótrofos fue de $(1,28\text{E}+11 \text{ UFC/g masa seca})$, de hidrocarbonoclastas fue de $(1,49\text{E}+06 \text{ UFC/g masa seca})$ y de hongos fue de $(1,49\text{E}+03 \text{ UFC/g masa seca})$, mientras que para la muestra SUE la cantidad de microorganismos aerobios heterótrofos fue de $(2,46\text{E}+07 \text{ UFC/g masa seca})$, de hidrocarbonoclastas fue de $(3,06\text{E}+06 \text{ UFC/g masa seca})$ y de hongos fue de $(8,07\text{E}+04 \text{ UFC/g masa seca})$.

En la literatura se indica que un mínimo de 1 000 UFC/ g *masa seca* es suficiente para llevar a cabo un proceso biológico de biorremediación (Furhacker, 2003).

Por lo tanto, nuestro sistema mostró valores de cuenta microbiana superiores al mínimo requerido para considerar que un tratamiento biológico puede ser exitoso para remover contaminantes del lodo.

4.4 Lavado de muestras

El lavado de las muestras con surfactantes permite remover el hidrocarburo presente en cada una de ellas; por lo tanto, permite disminuir la concentración de hidrocarburos totales presentes.

El lavado se realizó con el fin de comparar la acción del surfactante químico (tween 40) y del surfactante biológico (cepa E) a diferentes concentraciones de 0,01%, 0,2%, 0,5%, 1,0% para el tween 40 y 1,0% para la cepa E en la remoción de hidrocarburos totales en las muestras y en base a eso tomar la mejor decisión para realizar el lavado de la muestra LAS a una cierta concentración para disminuir el riesgo de inactividad alta microbiana por toxicidad.

4.4.1 Lavado de la muestra "LAS" con un surfactante químico (tween 40)

El lavado con surfactante químico a nivel piloto con muestras pequeñas arrojó que la mejor concentración para llevar a cabo el lavado fue al 0,5%, ya que fue el que removió la mayor cantidad de hidrocarburos totales presentes, por lo tanto, se lavó la muestra LAS a utilizar en los sistemas de biopilas a esta

concentración. Los resultados obtenidos en el lavado al 0,5% para el montaje final se pueden observar en la Figura 4.4

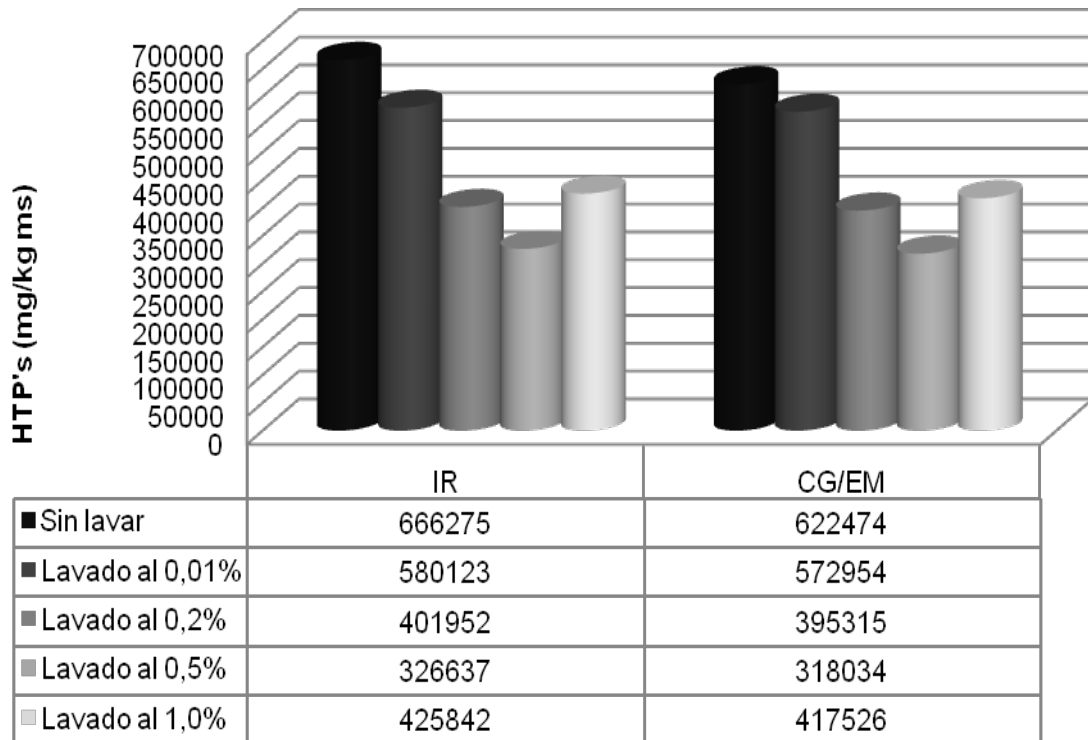


Figura 4.4 Gráfica representativa de la disminución de HTP's después del lavado con surfactante químico (tween 40)

En el gráfico se puede observar que la concentración total de hidrocarburos en la muestras LAS después de realizado el lavado disminuyó un 50,97% (339 638 mg/kg *masa seca*) determinado por IR, mientras que un 48,90% (304 440 mg/kg *masa seca*) determinado por CG/EM, con un 2,07% de diferencia entre ambos métodos.

Con los resultados obtenidos se puede decir que, es una buena opción el uso de este surfactante químico a la concentración del 0,5% para el propósito que se busca en este trabajo, que es remover el máximo contenido de hidrocarburos de la matriz de lodo.

4.4.2 Lavado de la muestra "LAS" con un surfactante biológico (cepa E)

El lavado con surfactante biológico al 1,0% a nivel piloto con muestras pequeñas arrojó resultados satisfactorios ya que removió una gran cantidad de hidrocarburos totales presentes, por lo tanto, se lavó la muestra LAS a utilizar en los sistemas de biopilas a esta concentración. Los resultados obtenidos en el lavado al 1,0% para el montaje final se pueden observar en la Figura 4.5

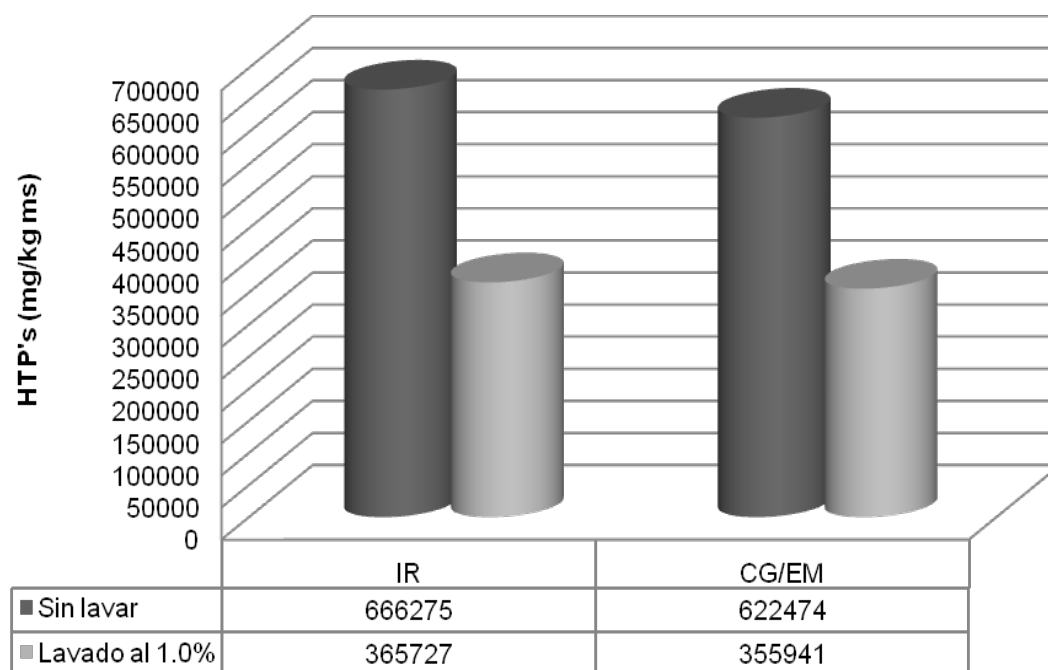


Figura 4.5 Gráfica representativa de la disminución de HTP's después del lavado con surfactante biológico (cepa E)

En el gráfico se puede observar que la concentración total de hidrocarburos en la muestras LAS después de realizado el lavado disminuyó un 45,11% (300 548 mg/kg _{masa seca}) determinado por IR, mientras que un 42,82% (266 533 mg/kg _{masa seca}) determinado por CG/EM, con un 2,29% de diferencia entre ambos métodos.

Con los resultados obtenidos se puede decir que, es una buena opción el uso de este surfactante biológico a la concentración del 1,0% para el propósito que

se busca en este trabajo, que es remover el máximo contenido de hidrocarburos de la matriz de lodo.

4.4.3 Comparación entre ambos surfactantes (tween 40 y cepaE)

Se compararon valores en la remoción total de hidrocarburos totales entre el surfactante químico (tween 40) y el surfactante biológico (cepa E) aplicando ambas técnicas cromatográficas (IR y CG/EM), los resultados se pueden observar en la Figura 4.6

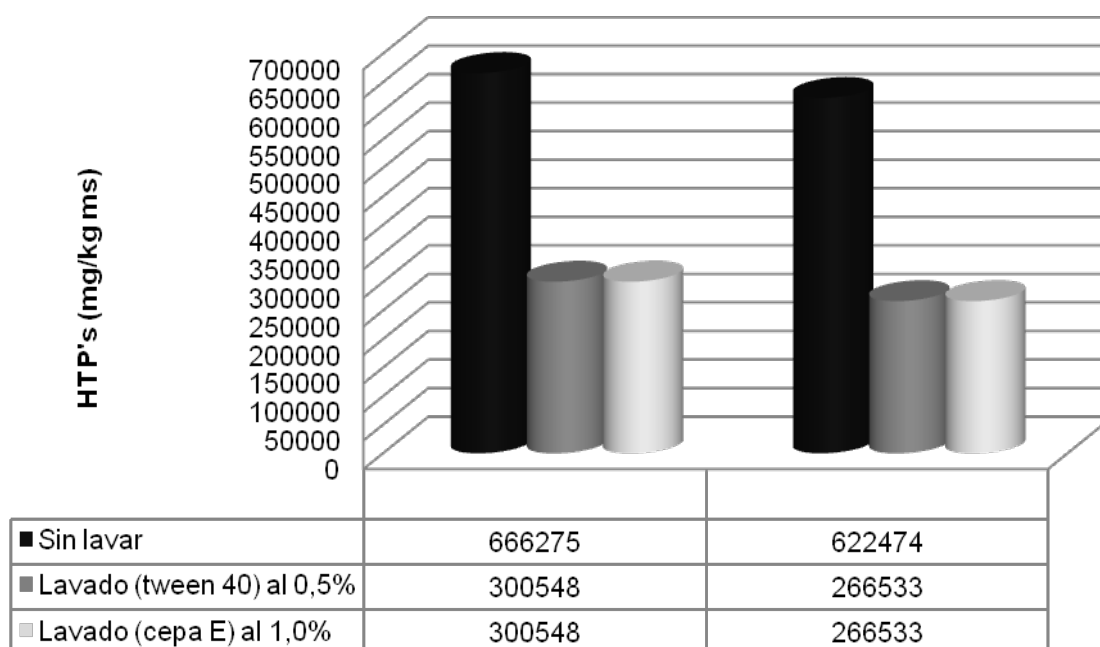


Figura 4.6 Gráfica representativa en la remoción de HTP's comparada entre ambos surfactantes

En el gráfico se puede observar que hubo una mayor disminución de la concentración total de hidrocarburos en la muestras LAS al lavar con surfactante químico (tween 40) comparado con el surfactante biológico (cepa E), aplicando la técnica por IR se puede notar que el surfactante químico redujo (39 090 mg/kg _{masa seca}) más que el surfactante biológico, lo cual

representa un 11,51%, mientras que aplicando la técnica por CG/EM el surfactante químico redujo (37 907 mg/kg *masa seca*) más que el surfactante biológico, lo cual representa un 12,45%.

4.5 Monitoreo de los sistemas de biopilas

4.5.1 Seguimiento a las variables de respuesta y a la disminución de HTP's

Con los resultados obtenidos en la caracterización se tuvieron que ajustar ciertas variables de respuesta al inicio de la experimentación en los sistemas de biopilas para ambos lavados con surfactante químico (tween 40) y biológico (cepa E).

No fue necesario realizar un ajuste en la variable pH, ya que en la incorporación de las tres muestras y los residuos orgánicos se autoajustó entre el intervalo de valores óptimos de pH de 6,0 a 8,0 en donde la mayoría de los microorganismos pueden desarrollarse.

La relación de C/N/P en la incorporación de las tres muestras y los residuos orgánicos fue de 100/135/0,065 el cual no fue el adecuado para los sistemas biológicos (biopilas) para el tratamiento, por lo que fue necesario realizar un ajuste de estas variables en su relación C/N/P, ya que la óptima y elegida para la experimentación fue de 100/15/1.

La humedad que se manejó para los sistemas de biopilas fue de un 50% de humedad a un 80% de humedad, por lo cual no fue necesario ajustar esta variable, ya que en la incorporación de las tres muestras y los residuos orgánicos ésta se autoajusto en el intervalo seleccionado.

4.5.2 Seguimiento a la disminución de HTP's en los sistemas de biopilas

La actividad metabólica de los microorganismos aerobios del lodo y suelo, fue cuantificado por medio de la producción de CO₂ o consumo de O₂, el cual es un producto de la respiración de dichos microorganismos y está estrechamente relacionado con la degradación y disminución de los hidrocarburos totales presentes en los sistemas de biopilas.

La producción de CO₂ en los sistemas de biopilas para la muestra LAS (lavada con surfactante químico), se puede observar en la Tabla 4.2 y Figura 4.7

TABLA 4.2 PRODUCCIÓN DE CO₂ EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA "LAS" LAVADA CON SURFACTANTE QUÍMICO

Tiempo	Días	Co (moles CO ₂ /g ss)	A (moles CO ₂ /g ss)	B (moles CO ₂ /g ss)	C (moles CO ₂ /g ss)
T0	15	3,33E ⁻⁴	2,13E ⁻³	2,69E ⁻³	3,47E ⁻³
T1	30	1,02E ⁻⁴	3,60E ⁻³	1,84E ⁻³	2,21E ⁻³
T2	45	8,34E ⁻⁵	1,03E ⁻³	1,02E ⁻³	8,59E ⁻⁴
T3	60	9,13E ⁻⁵	7,58E ⁻⁴	6,45E ⁻⁴	6,69E ⁻⁴
T4	75	9,49E ⁻⁴	1,45E ⁻³	1,50E ⁻³	1,46E ⁻³
T5	90	7,38E ⁻⁴	7,78E ⁻⁴	7,20E ⁻⁴	7,49E ⁻⁴

Nota: Co (LAS-LES-SUE), A (LAS-LES-SUE + cachaza de caña), B (LAS-LES-SUE + cáscara de naranja), C (LAS-LES-SUE + cachaza de caña + cáscara de naranja)

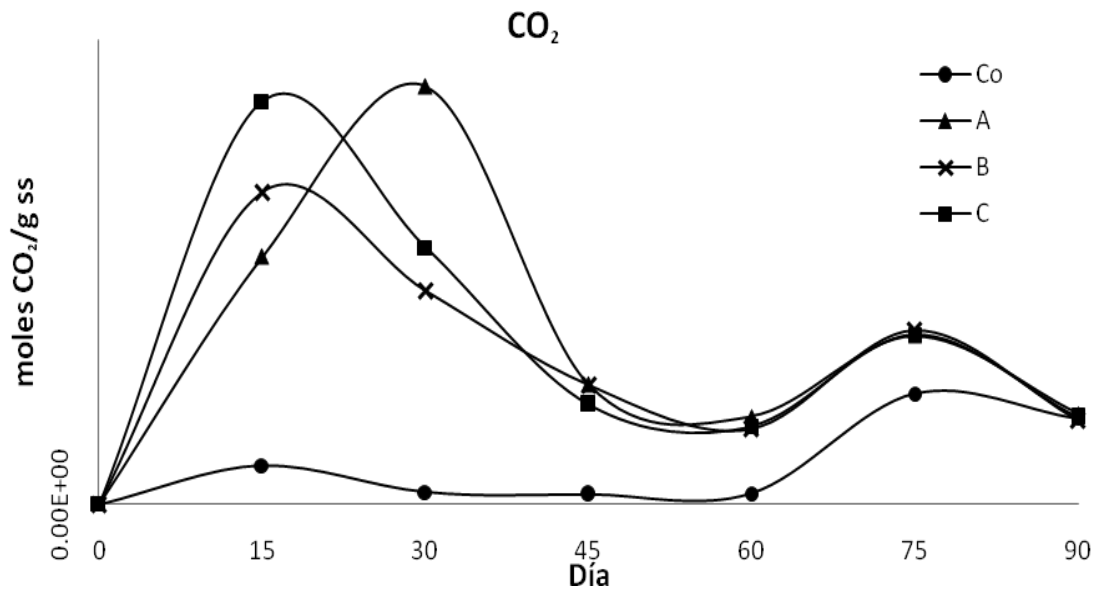


Figura 4.7 Gráfica representativa de la producción de CO₂ en los sistemas de biopilas para la muestra “LAS” lavada con surfactante químico

Para los sistemas de biopilas denominados como A (cachaza de caña), B (cáscara de naranja) y C (cachaza de caña + cáscara de de naranja) se compararon con el sistema denominado como Co (control), se puede observar que en los sistemas A, B, C en los primeros 30 días (T0 y T1) se presentó la mayor producción de CO₂, del día 31 al día 60 (T2 al T3) la producción de CO₂ fue disminuyendo por lo que se tuvo que realizar un solo ajuste en la experimentación al día 60 (T3) en el pH para los sistemas A, B, C y en la relación C/N/P para los mismos sistemas, al realizar lo anterior, hubo un aumento de la producción de CO₂ para el día 75 (T4) y fue disminuyendo hacia el día 90 (T5) al final del experimento.

Para el sistema Co, la producción de CO₂ se mantuvo casi constante hasta que se realizó un solo ajuste en la experimentación en el pH y en la relación C/N/P en el día 75 (T4), la producción de CO₂ aumento, por lo que se puede decir que, los agentes abultantes como los ajustes del pH y la relación C/N/P, ayudaron en la actividad metabólica de los microorganismos aerobios.

La producción de CO₂ en los sistemas de biopilas para la muestra LAS (lavada con surfactante biológico), se puede observar en la Tabla 4.3 y Figura 4.8

TABLA 4.3 PRODUCCIÓN DE CO₂ EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA “LAS” LAVADA CON SURFACTANTE BIOLÓGICO

Tiempo	Días	Co (moles CO ₂ /g ss)	D (moles CO ₂ /g ss)	E (moles CO ₂ /g ss)	F (moles CO ₂ /g ss)
T0	15	2,69E ⁻⁴	5,40E ⁻³	7,91E ⁻⁴	2,75E ⁻³
T1	30	5,31E ⁻⁵	4,06E ⁻³	2,10E ⁻³	2,76E ⁻³
T2	45	5,09E ⁻⁵	2,35E ⁻³	1,42E ⁻³	1,10E ⁻³
T3	60	2,79E ⁻⁴	2,45E ⁻³	1,51E ⁻³	1,63E ⁻³
T4	75	3,42E ⁻⁴	1,73E ⁻³	8,16E ⁻⁴	9,00E ⁻⁴
T5	90	1,39E ⁻⁴	1,03E ⁻³	5,16E ⁻⁴	4,84E ⁻⁴

Nota: Co (LAS-LES-SUE), D (LAS-LES-SUE + cachaza de caña), E (LAS-LES-SUE + cáscara de naranja), F (LAS-LES-SUE + cachaza de caña + cáscara de naranja)

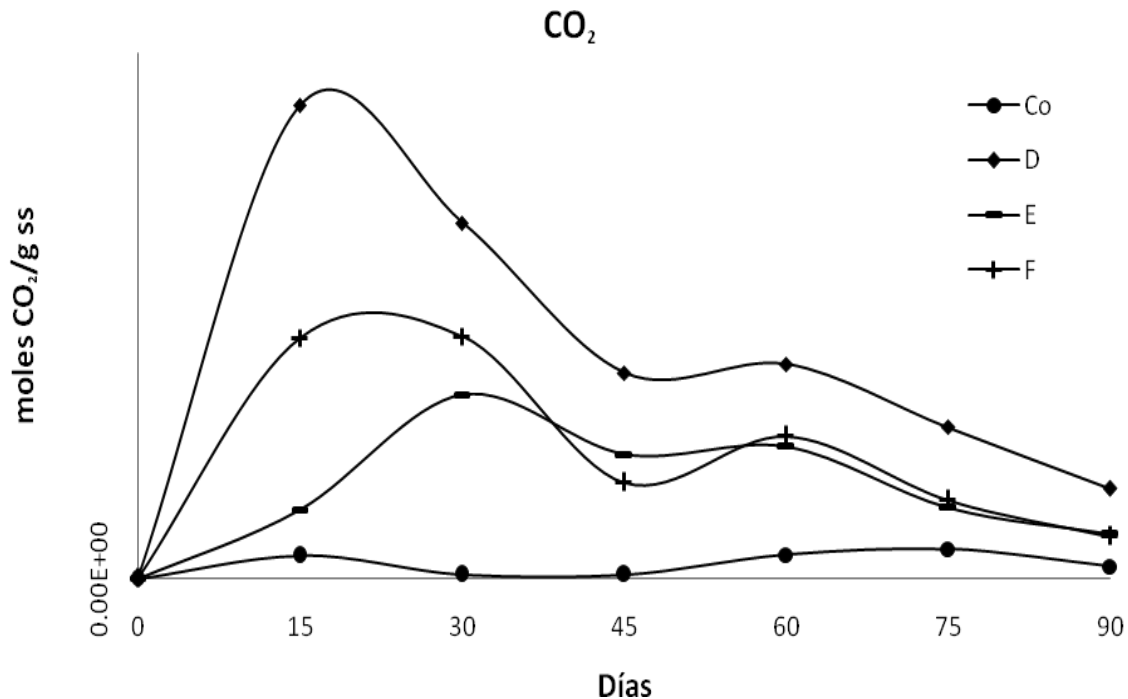


Figura 4.8 Gráfica representativa de la producción de CO₂ en los sistemas de biopilas para la muestra “LAS” lavada con surfactante biológico

Para los sistemas de biopilas denominados como D (cachaza de caña), E (cáscara de naranja) y F (cachaza de caña + cáscara de de naranja) se compararon con el sistema denominado como Co (control), se puede observar que los sistemas D y F en los primeros 15 días (T0) presentaron la mayor producción de CO₂, para el día 30 (T1) solo el sistema E incremento la producción de CO₂, el sistema F se mantuvo mientras que el sistema D disminuyó su producción, para el día 45 (T2) la producción de CO₂ para los tres sistemas D, E, F fue disminuyendo por lo que se tuvo que realizar un solo ajuste en la experimentación en el ajuste de pH y en la relación C/N/P en ese tiempo, hubo un ligero aumento de la producción de CO₂ para el día 60 (T3) y fue disminuyendo hacia el día 75 y día 90 (T4, T5) al final de la experimentación.

Para el sistema Co, la producción de CO₂ se mantuvo casi constante hasta que se realizó el único ajuste en la experimentación en el pH y en la relación C/N/P,

la producción de CO₂ aumentó ligeramente, por lo que se puede decir que, los agentes abultantes como los ajustes del pH y la relación C/N/P, ayudaron en la actividad metabólica de los microorganismos aerobios.

Los resultados de HTP's en los sistemas de biopilas durante la parte experimental con la muestra LAS lavada tanto con surfactante químico y surfactante biológico, fue analizado solo por la técnica de Infrarrojo (IR), los resultados se pueden observar en la Tablas 4.4, 4.5 y en las Figuras 4.9 y 4.10

TABLA 4.4 RESULTADOS DE HTP's EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA "LAS" LAVADA CON SURFACTANTE QUÍMICO

Tiempo	Días	Co	A	B	C
		(mg/kg ms)	(mg/kg ms)	(mg/kg ms)	(mg/kg ms)
Mezcla (LAS-LES-SUE)	0	326 637	326 637	326 637	326 637
T0	15	177 249	172 857	176 719	175 529
T1	30	233 319	190 647	182 268	185 376
T2	45	132 589	100 590	177 181	99 000
T3	60	120 830	93 817	139 984	96 118
T4	75	119 118	90 804	101 164	84 849
T5	90	118 254	72 059	74 172	82 584
% remoción		63,79	77,93	77,29	74,71

Nota: Co (LAS-LES-SUE), A (LAS-LES-SUE + cachaza de caña), B (LAS-LES-SUE + cáscara de naranja), C (LAS-LES-SUE + cachaza de caña + cáscara de naranja)

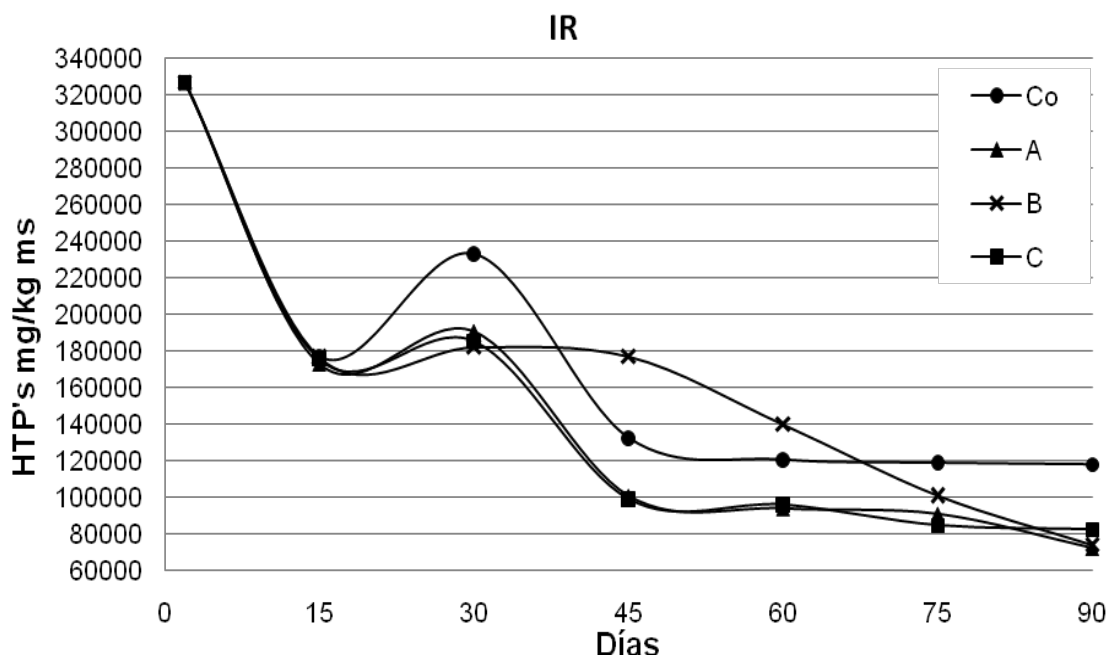


Figura 4.9 Gráfica representativa de los resultados de HTP's en los sistemas de biopilas para la muestra "LAS" lavada con surfactante químico

La concentración inicial de HTP's al comienzo de la experimentación en los sistemas de biopilas denominados como Co (control), A (cachaza de caña), B (cáscara de naranja) y C (cachaza de caña + cáscara de de naranja), fue de 326 637 mg/kg *masa seca* (lavado y montaje de biopilas), se compararon con el sistema Co (control), se presentó una disminución de HTP's considerable (oclusión) a los 15 días (T0), esta condición estaría principalmente asociada a la difusión o adsorción de los hidrocarburos en la matriz del surfactante químico (tween 40), más que a su biodegradación, para el día 30 (T1) se presentó un incremento de la concentración de los HTP's (liberación parcial de los hidrocarburos en la matriz) principalmente en el sistema control (Co).

Del día 31 al día 60 (T2 al T3) se presentó la mayor disminución en la concentración de HTP's (mineralización/humificación) en todos los sistemas de biopilas, el sistema B presentó una menor disminución comparado con los otros sistemas, esta condición estaría principalmente asociada a la descomposición de la materia orgánica donde los microorganismos se procuran de la energía y

los nutrientes requeridos (hidrocarburos y materia orgánica) para mantener su crecimiento y su reproducción (Randy H. Adams, 2007), del día 61 al día 90 (T4 al T5) se presentó una menor disminución de concentración de HTP's, excepto el sistema B fue el único que presentó una disminución con tendencia constante del día 45 (T2) hasta el día 90 (T5).

El sistema Co (control) presentó la menor disminución en la concentración de HTP's debido a que los microorganismos degradadores de hidrocarburos, no contaban con una concentración de nutrientes igual que los otros sistemas de biopilas, dicho sistema fue tomado como referencia para comparar que tanto ayudaban los agentes abultantes (materia orgánica) en la disminución de HTP's, este sistema fue solo la mezcla de las muestras LAS, LES y SUE sin la adición de agentes abultantes.

TABLA 4.5 RESULTADOS DE HTP's EN LOS SISTEMAS DE BIOPILAS PARA LA MUESTRA "LAS" LAVADA CON SURFACTANTE BIOLÓGICO

Tiempo	Día	Co	D	E	F
		(mg/kg ms)	(mg/kg ms)	(mg/kg ms)	(mg/kg ms)
Mezcla (LAS-LES-SUE)	0	365 727	365 727	365 727	365 727
T0	15	113 115	129 929	139 507	142 501
T1	30	185 538	164 682	172 032	175 669
T2	45	148 943	125 278	126 991	136 552
T3	60	128 958	100 155	110 687	114 359
T4	75	125 400	87 265	92 134	98 866
T5	90	122 854	85 455	86 353	90 935
% remoción		66,40	76,63	76,38	75,13

Nota: Co (LAS-LES-SUE), D (LAS-LES-SUE + cachaza de caña), E (LAS-LES-SUE + cáscara de naranja), F (LAS-LES-SUE + cachaza de caña + cáscara de naranja)

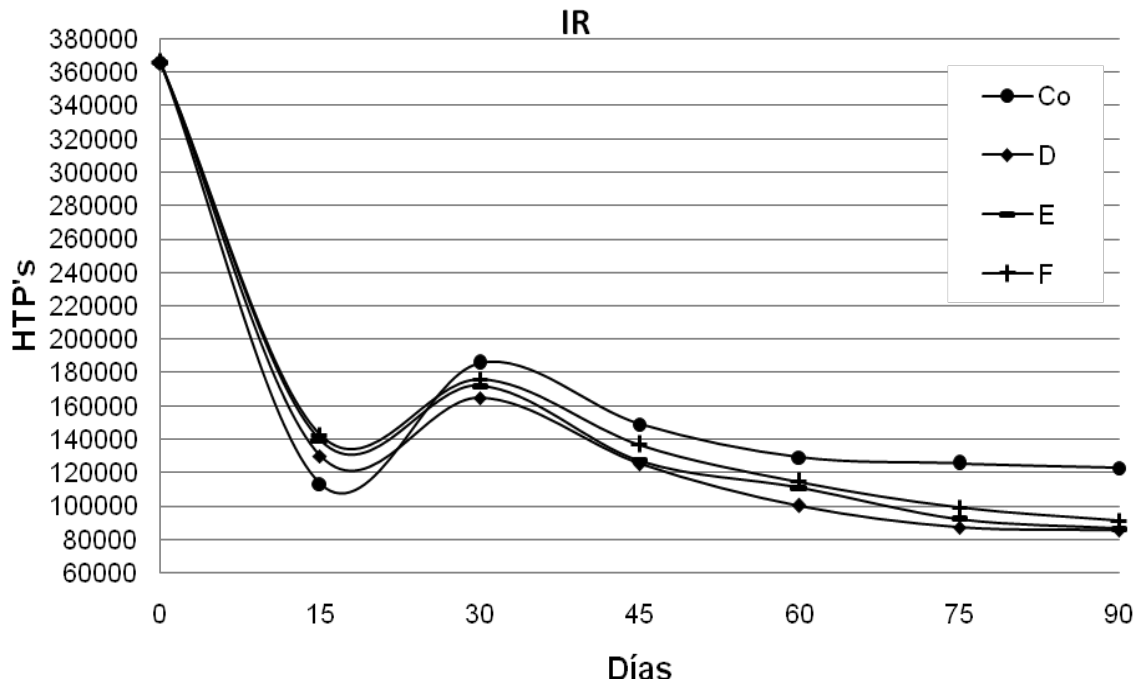


Figura 4.10 Gráfica representativa de los resultados de HTP's en los sistemas de biopilas para la muestra "LAS" lavada con surfactante biológico

La concentración inicial de HTP's al comienzo de la experimentación en los sistemas de biopilas denominados como Co (control), D (cachaza de caña), E (cáscara de naranja) y F (cachaza de caña + cáscara de de naranja), fue de 365 727 mg/kg *masa seca* (lavado y montaje de biopilas), se compararon con el sistema Co (control), a los 15 días (T0) se presentó una disminución de HTP's considerable (oclusión) en todos los sistemas, esta condición estaría principalmente asociada a la difusión o adsorción de los hidrocarburos en la matriz del surfactante biológico (cepa E), más que a su biodegradación, para el día 30 (T1) se presentó un incremento de la concentración (liberación parcial de los hidrocarburos en la matriz).

Del día 31 al día 60 (T2 al T3) se presentó la mayor disminución en la concentración de HTP's (mineralización/humificación) en todos los sistemas de biopilas, esta condición estaría principalmente asociada a la descomposición

de la materia orgánica donde los microorganismos se procuran de la energía y los nutrientes requeridos (hidrocarburos y materia orgánica) para mantener su crecimiento y su reproducción (Randy H. Adams, 2007), del día 61 al día 90 (T4 al T5) se presentó una menor disminución de concentración de HTP's.

El sistema Co (control) lavado con surfactante biológico presentó la misma tendencia que el sistema Co (control) lavado con surfactante químico, con una menor disminución en la concentración de HTP's.

Con los resultados obtenidos en los sistemas de biopilas durante la experimentación, se puede observar que en ambos casos se presentó una disminución de HTP's (oclusión) seguido por un incremento de la concentración (liberación parcial de los hidrocarburos en la matriz) y nuevamente una disminución en la concentración de HTP's (mineralización/humificación).

4.6 Estudio económico básico

4.6.1 Costos entre distintas tecnologías de remediación

Se realizó un estudio económico comparando distintas tecnologías de remediación como son las fisicoquímicas, biológicas y térmicas.

En la Tabla 4.6 y Figura 4.11, se muestra la oscilación de los costos en pesos mexicanos para cada uno de las tecnologías por m³ (INE, 2009).

TABLA 4.6 COSTOS PARA CADA UNA DE LAS TECNOLOGÍAS DE REMEDIACIÓN POR m³

Tecnología de remediación	Costo por m ³ (pesos mexicanos)
Térmico	\$3 500 a \$13 000
Biológico	\$1 300 a \$3 300
Fisicoquímico	\$1 300 a \$1 950

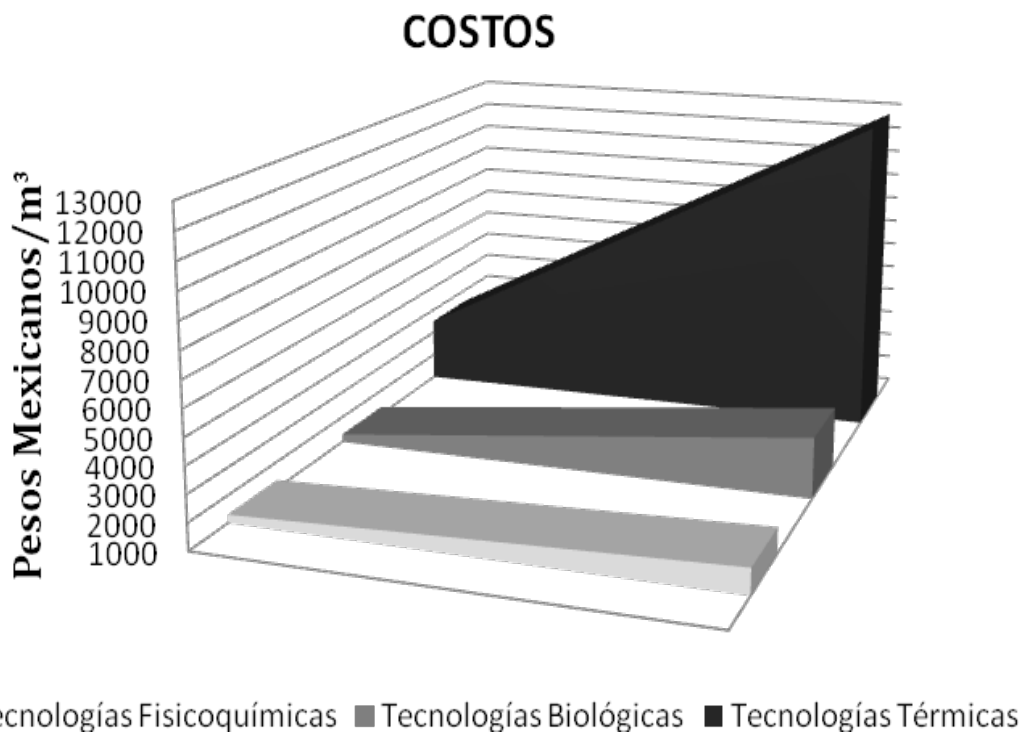


Figura 4.11 Gráfica representativa de la oscilación de los costos para cada una de las tecnologías de remediación por m³

En el gráfico se puede observar que los costos de las tecnologías de remediación fisicoquímicas se encuentran entre los \$1 300 y \$1 950 pesos

mexicanos/m³, los costos de las tecnologías de remediación biológicas se encuentran entre los \$1 300 y \$3 300 pesos mexicanos/m³, mientras que los costos de las tecnologías de remediación térmico se encuentran entre los \$3 500 y \$13 000 pesos mexicanos/m³.

La oscilación de costos para cada una de las tecnologías, pueden variar en función del espacio disponible, costos de operación, costos de energía eléctrica, etc.

Las tecnologías térmicas ofrecen tiempos muy rápidos de limpieza, pero son generalmente los más caros, mientras que dentro de las más económicas se encuentran las tecnologías fisicoquímicas que generalmente son efectivas en cuanto a costos, en comparación con las tecnologías de biorremediación. Sin embargo, los costos pueden incrementarse cuando se utilizan técnicas de separación en las que los contaminantes pueden requerir de tratamiento o disposición.

4.6.2 Costos entre distintos tratamientos de remediación biológicas

Se realizó un estudio económico comparando distintos tratamientos de remediación biológicas como son el bioventeo, la biolabranza, biopilas y biorreactores.

En la Tabla 4.7 y Figura 4.12 se muestra la oscilación de los costos en pesos mexicanos para cada uno de los tratamientos de remediación biológica por m³ (INE, 2009).

TABLA 4.7 COSTOS PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS DE REMEDIACIÓN BIOLÓGICA POR m³

Tratamiento biológico	Costo por m ³ (pesos mexicanos)
Bioventeo	\$130 a \$910
Biolabranza	\$390 a \$910
Biopila	\$330 a \$2 000
Biorreactor	\$1 700 a \$2 600

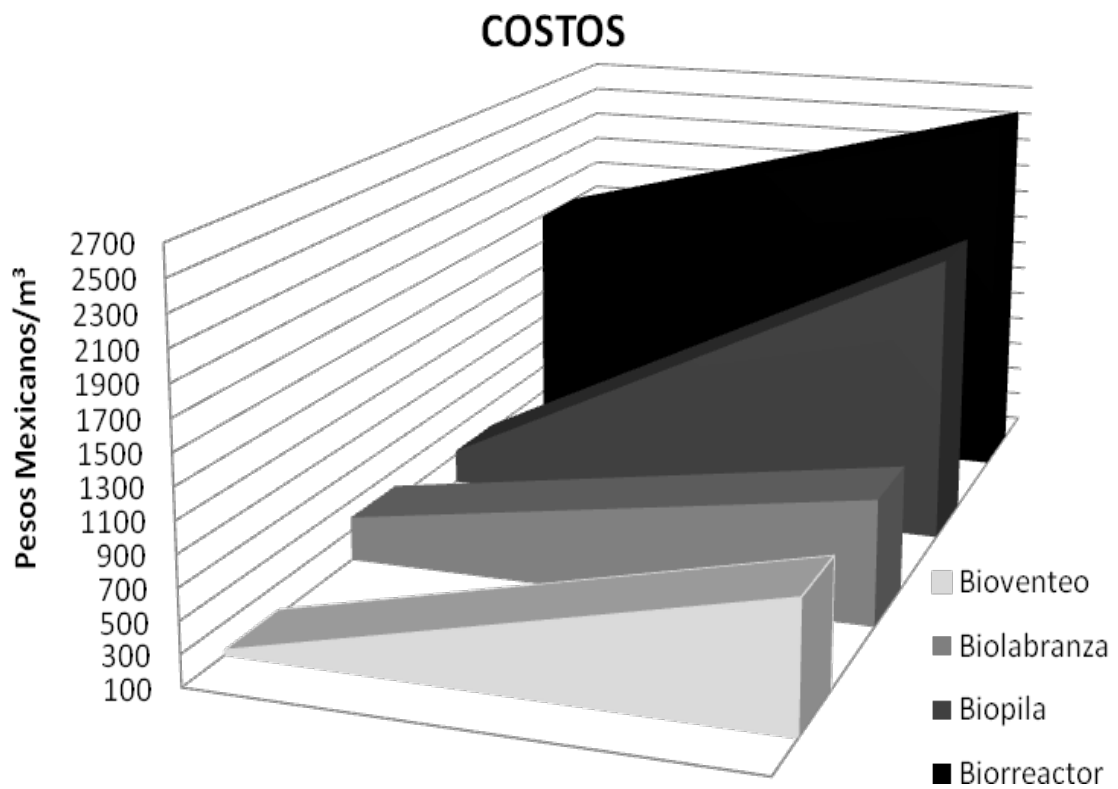


Figura 4.12 Gráfica representativa de los costos para cada uno de los tratamientos de remediación biológica por m³

En el gráfico se puede observar que los costos del bioventeó se encuentran entre los \$130 a \$190 pesos mexicanos/m³, siendo éste el menos costoso, los costos de la biolabranza se encuentran entre los \$390 a \$910 pesos mexicanos/m³, para el caso particular de las biopilas, los costos estimados se encuentran entre los \$330 y \$2 000 pesos mexicanos/m³ y los costos del biorreactor se encuentran entre los \$1 700 a \$2 600 pesos mexicanos/m³, siendo éste el más costoso en la remediación biológica de lodos aceitosos.

Los costos pueden variar principalmente por los siguientes factores:

- Cantidad y tipo de muestra a tratar
- Disponibilidad de agentes de volumen
- Tipo de contaminantes
- Tipo de tratamiento a emplear
- Necesidad de tratamientos previos y posteriores
- Condiciones climáticas
- Costos de instalación, operación

5. CONCLUSIONES

- La aplicación de técnicas analíticas como microbiológicas resultaron suficientes para caracterizar la muestra LAS (lodos aceitosos de la fosa de residuos aceitosos), muestra LES (lodos aceitosos de la laguna de estabilización) y la muestra SUE (suelo del centro procesador) de Nuevo PEMEX.
- El surfactante químico (tween 40) y el surfactante biológico (cepa E), sirven para disminuir la concentración de HTP's (hidrocarburos totales del petróleo) en un lavado previo y ayudan a los microorganismos en la degradación de HTP's (hidrocarburos totales del petróleo) presentes, siempre y cuando las concentraciones no alteren la preferencia de los microorganismos por el hidrocarburo como sustrato.

- El uso de diferentes residuos orgánicos como agentes abultantes (cachaza de caña, cáscara de naranja y la mezcla de ambos), facilitan la mineralización de los hidrocarburos presentes en los sistemas de biopilas, debido a que estos residuos orgánicos, son ricos en microorganismos y además permiten una buena aireación, al ser comparado con el sistema control el cual no contenía agente abultante.
- La producción de CO₂ es un evidente indicador de la actividad metabólica de los microorganismos aerobios del lodo y suelo, está estrechamente ligado con la degradación y disminución de los hidrocarburos totales presentes en los sistemas de biopilas.
- La disminución de HTP's (hidrocarburos totales del petróleo) fue de un 76,65 % promedio en 90 días entre los sistemas de biopilas donde la muestra LAS (lodos aceitosos de la fosa de residuos aceitosos) fue lavada con surfactante químico (tween 40) y de un 73,19 % promedio en 90 días entre los sistemas de biopilas en donde la muestra LAS (lodos aceitosos de la fosa de residuos aceitosos) fue lavada con surfactante biológico (cepa E), esto nos demuestra que, el uso de biopilas es una opción viable para el tratamiento de lodos generados en instalaciones de PEMEX gas y petroquímica básica.
- Las tecnologías biológicas que cuentan con la participación de organismos vivos, presentan la ventaja de que no producen efectos secundarios frente al implemento de otras tecnologías, lo que se traduce en menores costos, con resultados y tiempos más alentadores frente a otras tecnologías de remediación, que presentan la desventaja de ser muy costosos y que puede emplear mucho tiempo para que se produzcan resultados.

- En forma general, los tratamientos biológicos como el bioventeo y la biolabranza, resultan ser más económicos frente al tratamiento biológico de biopilas, aunque el implemento de sistemas de biopilas resulta ser frente a las tecnologías fisicoquímicas y térmicas más económica, viable, por los bajos costos de instalación, operación, por ser de fácil aplicación, por ser seguros con un mínimo de riesgo a la salud y por ser un tratamiento tecnológicamente efectivo.

BIBLIOGRAFÍA

Ana Ma. Muñoz Colunga, Icoquih Zapata Peñasco, Romeo, Jesús Reyes Ávila, Teresa Guadalupe Roldán Carrillo, Gladys Teresa Castorena Cortés, Jesús Marín Cruz, Diego Zaragoza Contreras, Patricia Olguín Lora y Arquímedes Estrada Martínez. Programa de Ingeniería Molecular. 2007. Alternativa potencial para tratamiento biológico y disposición final de lodos de instalaciones PGPB. pp. 4 a 7, 10 a 62.

Admon, S., Green, M. y Avnimelech, Y. 2001. Biodegradation. Kinetics of hydrocarbons in soil during land treatment of oily sludge. *Bioremediation J.* 5(3): 193 – 209.

Alexander, M. 1994. Biodegradation and biorremediation. Academic Press, San Diego. 302 pp.

Arce O. J. M., Rodríguez V. R., Rojas A. N. G. 2004. Identification of recalcitrant hydrocarbons present in a drilling waste-polluted soil. *J. Environ. Sci. & Health Part A*, 39 (6).

Bates R.G. 1983. Determination of pH, Wiley, New York.

Bossert I. D., and Kosson D. S., 1997. Measurement of Hydrocarbon Degradation in Soils. In: Manual of Environmental Microbiology. Edited by C. J. Hurst, G. R.

Burton D. J. y Ravishankar K. (1989). Treatment of hazardous petrochemical and petroleum wastes. Noyes Publications, Park Ridge, N. J.

Cármén González. 2009. Biorremediación de hidrocarburos por microorganismos provenientes de un lodo aceitoso. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. México D.F.

Cooper G. R. y Cricchi G. (1995). Oil refinery waste disposal methods, quantities and costs. 1993 Survey, CONCAWE, Bruelas.

Douglas A. Skoog, Donald M. West. Stanford University, San Jose State University. 1989. Análisis Instrumental, 2ª ed. Mc Graw Hill Interamericana de México. pp. 221.

Eco2site.com. 2009. <http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp>

Eweis, J.B.; Ergas, S.J.; Chang, D.P y Schroeder, E.D. 1998. Bioremediation Principles. McGraw-Hill International Editions. pp. 296.

Furhacker M., Press A., Allabash: R. (2003). Aerobic biodegradability of methyldiethanolamine (MDEA) used in natural gas sweetening plants in batch test and continuous flow. Chemosphera, 52 (10): 1943-1748.

Gabriel Castañeda Jiménez, Joel Pacheco Sotelo, Mabel Vaca Mier, Julio Flores Rodríguez, Raymundo López Callejas. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, UAM. 2001. Tratamiento de lodos aceitosos residuales mediante plasma térmico en ausencia de oxígeno. pp. 16.

Germida J. J. 1993. Cultural methods for soil microorganisms. In: Soil Sampling and Methods of Analysis. M. R. Carter editor. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers, pp. 263-275.

INE. Instituto Nacional de Ecología. 2009. <http://www.ine.gob.mx/>

Ira N. Levine. 2004. Fisicoquímica. 5ª ed. Volumen 1. Mc Graw-Hill Interamericana de España, S.A.U.

Kenneth A. Rubinson, Judith F. Rubinson. 2001. Análisis instrumental. Prentice Hall.

Kohl A. y R. Nielsen, "Gas Purification", 5a edición, 40-174. Gulf Publishing Company, Houston, Texas, USA (1997).

L. Larochelle, F. Pagé, G.J. Beauchamp y G. Lemieux. Departamento de Ciencias de la Madera y del Bosque. Facultad de Ciencias Forestales y Geomática. Universidad laval. 1998. Papel de la mesofauna en la dinámica de la transformación de la materia leñosa aplicada al suelo. Québec Canadá. pp. 5.

Lorch H. J., Benckieser G., Ottow J. C. G. 1995. Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In: Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Edited by K. Aler and P. Nannipieri. Academic Press. p. 146-161.

Luis Carlos Fernández Linares, Norma Gabriela Rojas Avelizope, Teresa Guadalupe Roldán Carrillo, Martha Elena Ramírez Islas, Héctor Gustavo Zegarra Martínez, Raúl Uribe Hernández, Romeo Jesús Reyes Ávila, David Flores Hernández y Juan Manuel Arce Ortega. 2007. Manual de Técnicas de Análisis de Suelos aplicados a la remediación de sitios contaminados, Instituto Mexicano del Petróleo IMP, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales SEMARNAT. Instituto Nacional de Ecología INE. pp. 112-115.

M. Valcárcel Cases, A. Gómez Hens. Departamento de Química Analítica, Universidad de Córdoba. 1990. Técnicas Analíticas de Separación. Ed. Reverte S.A. pp. 615.

Mac Naughton, S. J., J. R. Stephen, A. D. Venosa, G. A. Davis, Y. J. Chang and D. C. White. 1999. Microbial population changes during biorremediation of an experimental oil spill. Appl. Environ. Microbiol. 65:3566-3574.

Maroto Arroyo, M^a Esther y Rogel Quesada, Juan Manuel. GEOCISA. División de Protección Ambiental de Suelos. Aplicación de Sistemas de Biorremediación de Suelos y Aguas Contaminadas por Hidrocarburos. pp. 299.

Miguel Sulbarán Mora, Ali Bahsas, William Velásquez, Julio Otoniel Rojas. CIENCIA 13. 2005. Caracterización de Biosurfactantes producidos por Pseudomonas Fluorescentes aisladas de emulsiones de petróleo pesado. Maracaibo, Venezuela. pp. 229.

NOM 052 SEMARNAT 2005. Norma oficial mexicana, 052. Que establece características, el procedimiento de identificación, clasificación y los residuos peligrosos. D.O.F. 23/06/2006.

NOM-021-RECNAT-2000-SEMARNAT. Diario Oficial 2002. Norma Mexicana.

NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación.

Pelczar M. J., Reid R. D., Chan E. C. S. 1982. Microbiología. 4^a edición. McGraw-Hill.

PEMEX, 2008. Seguridad, Salud y Medio Ambiente.

PROFEPA. 2008, Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. 2002. Dirección General de Inspección de Fuentes de Contaminación, Informe Trienal 1995-1997 México. <http://www.profepa.gob.mx/>

Ramírez G. R. M., Luna M. B., Mejía Ch. A., Velázquez M. O., Tsuzuki R. G., Vierna G. L. y Müggenburg I. 1992 En: Manual de Prácticas de Microbiología General. Laboratorio de Microbiología Experimental. Facultad de Química, UNAM.

Randy H. Adams. Guzmán, F. J. Álvarez, J. A. y Domínguez, V.I. 2007. Recuperación de Fertilidad en Suelo Contaminado por Hidrocarburos y Tratado por la Estabilización Química-Biológica. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), Villahermosa Tabasco, México.

Riser-Roberts, E (1998). Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical and Chemical Processes, Lewis Publishers/CRC Press, Boca Raton, FL.

Rojas-Avelizapa, N.G., Roldán-Carrillo T., Zegarra-Martínez, H., Muñoz-Colunga, A.M. and Fernández Linares, L.C. (2007). A field trial an ex-situ bioremediation of a drilling mud-polluted site. *Chemosphere*, 66:1595-1600.

Romina Romaniuk 1; Juan Felipe Brandt 2; Paola Ruth Rios & Lidia Giuffré1.
1 Edafología-FAUBA - Av. San Martín 4453 (1417). Buenos Aires. Argentina.
2 Bioservices Group S.A. Manzanares 1831 (1429). Buenos Aires. Argentina.
Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Recursos Naturales y Ambiente. 2009. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. Atenuación natural y remediación inducida en suelos contaminados con hidrocarburos. Ciudad Autónoma de Buenos Aires República Argentina Tel: (+54 11) 4524-8057.

Salager J. L., Fernández A., Usubillaga A., 2004, Síntesis de un nuevo surfactante extendido con cabeza polar carbohidrato, *Ciencia* 12, 315-322 (2004).

Sellers, K., T. A. Pedersen y C. Fan. 1993. Review of soil mound technologies for the remediation of hydrocarbon contaminate soil. En: E. Calabrese y C. Bell (eds.). *Hydrocarbon contaminated soil*, vol. III Lewis Publishers.

Seminars. 1996. Bioremediation of Hazardous Waste Sites: Practical Approaches to Implementation. United States Environmental Protection Agency Washington, DC 20460. pp. 1-2.

Semple, K. T.; Reid, B. J. y Fermor, T. R. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollution*, 112: 269-283.

Van Deuren, J.; Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3^a Ed. Technology Innovation Office, EPA.

Vázquez-Duhalt, R. 2000. Environmental oil biocatalysis, in Olguín, E. J., Sánchez, G. y Hernández E. (eds). Environmental biotechnology and cleaner bioprocesses, London: Taylor and Francis Publishers, pp. 191-207.

Weisman W. 1998. Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environment Media. Vol. 1. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series. Association of American Railroads BP Oil Company. United States Air Force, Armstrong Laboratory, Occupational Medicine Division.

Willard H. H., Merrit L. L. and Dean J. A. 1974. Instrumental methods of analysis. 5th edition Van Nostrand.

APÉNDICE

Surfactante químico (tween 40)

El tween 40 fue adquirido por el laboratorio de biotecnología del Instituto Mexicano del Petróleo a un proveedor de productos químicos.

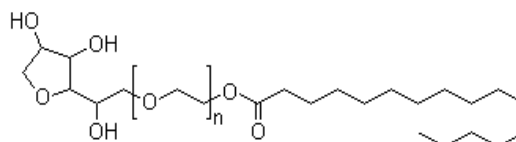
Características y especificaciones del surfactante químico tween 40

Aspecto: Amarillo a la crema ambarina

Nombre químico: Tween 40

Sinónimos: Monopalmitato del sorbitán del polioxietileno.

Fórmula molecular: $C_{22}H_{42}O_6 (C_2H_4O)_n$



CAS No.: 9005-66-7

Parámetro	Unidad	Especificación	Prueba del método
Valor del hidróxido	mgKOH/g	85~100	GB/T 7384
Número de saponificación	mgKOH/g	40~55	HG/T 3505
Grado de acidez	mgKOH/g	≤2	GB/T 6365
Contenido en agua	% de m/m	≤2,5	GB/T 7380

Utilizado como emulsificante, elemento espumoso, lubricante.

Vida útil: dos años.

Surfactante biológico (cepa E)

La Cepa E, fue obtenida en el laboratorio de microbiología del departamento de Ingeniería Molecular del Instituto Mexicano del Petróleo, la composición del medio de cultivo fue la siguiente:

Muestra	Solución de (NH₄)₂SO₄ 10 g/L (mL)	Solución de FeSO₄*7H₂O 0,01 g/L (mL)	Solución de MgSO₄*7H₂O 1 g/L (mL)	Medio base (mL)
Cepa E	0,75	0,44	0,9	27,89

Medio base para el cultivo de microorganismos productores de surfactante biológico

Componente	Concentración (g/L)
Glucosa	20
KCl	1,1
NaCl	1,1
KH ₂ PO ₄	3,4
K ₂ HPO ₄	4,4
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,29
CaCl ₂ *4H ₂ O	0,24
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,25
Solución de elemento traza	5 mL

Nota: El desarrollo experimental del diseño, fue desarrollado en un trabajo aparte.

Características y especificaciones del surfactante biológico cepa E:

Aspecto: Líquido amarillo transparente.

GLOSARIO DE NOMENCLATURAS

BHL: Balance hidrófilo-lipófilo

C: Carbón

CG/EM: Cromatografía de gases-espectrometría de masas

C-H: Relación carbón-hidrógeno

cm: Centímetros

CMC: Concentración micelar crítica

C/N/P: Relación de carbono/nitrógeno/fósforo

CO₂: Bióxido de carbono

COT: Carbono orgánico total

C₆H₄(COOK): Biftalato de potasio

°C: Grados centígrados

DEA: Dietanolamina

EPA: Agencia de protección ambiental de los estados unidos

Ex situ: Fuera del lugar

g: Gramos

HAP's: Hidrocarburos aromáticos policíclicos

hr: Horas

HTP's: Hidrocarburos totales del petróleo

H₂: Hidrógeno

H₂O: Agua

H₂S: Ácido sulfhídrico

INEGI: Instituto nacional de estadística

In situ: En el lugar, dentro del lugar

IR: Infrarrojo

KCl: Cloruro de potasio

kg: Kilogramos

L: Litros

LAS: Lodos aceitosos de la fosa de residuos aceitosos

lb: Libras

LES: Lodos aceitosos de la laguna de estabilización

MDEA: Metildietanolamina

MEA: Monoetanolamina

mg: Miligramos

min: Minutos

mL: Mililitros

ms: Masa seca

mV: Milivolts

N: Normal

Na_2CO_3 : Carbonato de sodio

NaHCO_3 : Bicarbonato de sodio

NaOH : Hidróxido de sodio

NH_4^+ : Ión Amonio

NH_4Cl : Cloruro de amonio

nm: Nanómetros

NOM: Norma oficial mexicana

N_2 : Nitrógeno

Na_2SO_4 : Sulfato de sodio

O_2 : Oxígeno

P: Fósforo

PCP's: Clorofenoles (por sus siglas en inglés)

PDA: Papa-dextrosa-agar

PEMEX: Petróleos Mexicanos

PGPB: Pemex Gas y Petroquímica Básica

pH: Indicador ácido o básico de una sustancia

PO_4^{3-} : Fosfato

ppm: Partes por millón

PROFEPA: Procuraduría Federal de Protección al Ambiente

psi: Libras por pulgada cuadrada

rpm: Revoluciones por minuto

S: Azufre

SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SUE: Suelo del centro procesador

TNT: Trinitrotolueno

UFC: Unidades formadoras de colonias

US EPA: Environmental Protection Agency of the United States

μm : Micrómetro

%: Por ciento masa