

09 JUL 2008

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE MONTERREY
CAMPUS ESTADO DE MÉXICO



BIBLIOTECA



296131

**ABSORCIÓN DE PETRÓLEO CRUDO, DIESEL Y ACEITE AUTOMOTRIZ
GASTADO POR RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS Y SU APLICACIÓN
COMO SISTEMA DE DISPOSICIÓN DE HIDROCARBUROS**

TESIS QUE PRESENTA

JOSÉ MANUEL TÉLLEZ CARMONA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN DESARROLLO SOSTENIBLE
MDS 03

Asesor de tesis: Dr. Luís Fernández Linares
Co-asesora: M. en C. Ma. del Pilar Bremauntz Michavila

Comité de Tesis:

Presidente: Dr. Mario Carranza Alvarado

Secretario: Dra. Teresa Roldan

Vocal: Dr. Javier Ramirez Angulo

Vocal: Dr. Luís Carlos Fernández Linares

Atizapán de Zaragoza, Estado de México, Mayo de 2007

INDICE

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. ANTECEDENTES.....	12
2.1 <i>Problemas ambientales derivados de la contaminación por hidrocarburos.....</i>	12
2.2 <i>Uso de estrategias para la limpieza de derrames de hidrocarburos.....</i>	16
2.3 <i>Absorbentes.....</i>	17
2.3.1 <i>Productos minerales inorgánicos.....</i>	17
2.3.2 <i>Productos sintéticos.....</i>	18
2.3.3 <i>Productos orgánicos vegetales-residuos lignocelulósicos.....</i>	18
2.3.3.1 <i>Principales constituyentes de los residuos lignocelulósicos.....</i>	20
2.3.3.2 <i>Fibras de madera.....</i>	23
2.3.3.3 <i>Forraje de gramíneas y leguminosas.....</i>	23
2.3.3.4 <i>Residuos lignocelulósicos absorbentes comerciales.....</i>	24
2.4 <i>Tratamientos biológicos para sitios contaminados y biodegradabilidad.....</i>	27
2.5 <i>Biodisponibilidad de los contaminantes.....</i>	32
2.6 <i>Hidrocarburos del petróleo.....</i>	33
2.6.1 <i>Mecanismos de asimilación de hidrocarburos por los microorganismos.....</i>	34
2.7 <i>Cogeneración.....</i>	35
2.7.1 <i>Beneficios de la cogeneración.....</i>	36
3. JUSTIFICACIÓN.....	40
4. OBJETIVOS.....	41
4.1 <i>Objetivo general.....</i>	41
4.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	41
5. HIPÓTESIS.....	41
6. METODOLOGÍA.....	42
6.1 <i>Estrategia Experimental.....</i>	42
6.1.1 <i>Pruebas de absorción y selección de residuos lignocelulósicos.....</i>	42
6.1.2 <i>Determinación de bacterias y hongos totales e hidrocarbonoclastas en los residuos.....</i>	42
6.1.3 <i>Obtención del inóculo para la bioestimulación de las pruebas de biodegradabilidad.....</i>	42
6.1.4 <i>Determinación de biodegradabilidad.....</i>	42
6.1.5 <i>Determinación de poder calorífico de las matrices absorbidas.....</i>	43



6.2 Pruebas de absorción y selección de residuos lignocelulósicos	43
6.2.1 Residuos e hidrocarburos	43
6.2.1 Humedad de los residuos	44
6.2.2 Determinación de cenizas	44
6.3 Capacidad de absorción de petróleo de los residuos y efecto de la humedad.....	44
6.4 Cinética de absorción de petróleo, aceite lubricante gastado para coches gastado y diesel por los residuos lignocelulósicos	45
6.5 Aislamiento de bacterias heterótrofas e hidrocarbonoclastas de los residuos lignocelulósicos ...	45
6.5.1 Obtención de inóculos de bacterias hidrocarbonoclastas	47
6.5.2 Caracterización morfológica micro y macroscópica de los microorganismos aislados	49
6.7 Determinación de las condiciones de cultivo (relación C:N:P y % de humedad) para los sistemas bioestimulados.....	50
6.8 Evolución de dióxido de carbono	51
6.9 Extracción de hidrocarburos.....	52
6.9. Determinación de la capacidad calorífica de las matrices residuo—hidrocarburo.	53
6.10. Análisis estadístico.....	53
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
7.1. Contenido de humedad y cenizas.....	55
7.2. Capacidad de absorción de petróleo y efecto de la humedad en la absorción	56
7.2.1 Selección del soporte de los residuos (capacidad de absorción del soporte).....	56
7.3 Cinética de absorción de petróleo, diesel y aceite gastado con los absorbentes en bolsas de peyón.	57
7.4 Determinación de la microflora y aislamiento de bacterias heterótrofas e hidrocarbonoclastas de los residuos lignocelulósicos.....	61
7.5 Biodegradación de hidrocarburos de las matrices absorbidas.	61
7.5.1 Cuenta microbiana	61
7.5.2. Biodegradación de hidrocarburos.....	65
7.5.3. Evolución de CO ₂	66
7.6 Determinación de capacidad calorífica de las matrices lignocelulósicas.....	69
8. CONCLUSIÓN	71
9. BIBLIOGRAFÍA	72
10. ANEXOS	78
Anexo A: Resultados de la determinación de capacidad calorífica de las matrices residuo:hidrocarburo	78
Anexo B: Análisis estadístico de los diferentes parámetros analizados: 1) contenido de humedad, 2) cenizas, 3) capacidad de absorción y 4) degradación de las matrices residuo-hidrocarburo.....	80



ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. A) Imagen de satélite del incidente del <i>Prestige</i> (NewScientist news service, 2006; B) derrame de crudo en Tabasco (LCFL, 2005). C) Limpieza del derrame en Coatzacoalcos, Ver. (Greenpeace, 2005).....	13
Figura 2. Mecanismos de respuesta inmediata a derrames de hidrocarburos. A) botavaras de contención (boomers); B) desnatadores (oleophilic skimmers) oleofílicos; C) desnatadores por succión (suction skimmers) y D) uso de absorbentes. (US EPA, 2005).....	16
Figura 3. Principales elementos de una barrera de contención (Michel <i>et al.</i> , 1994).....	17
Figura 4. Estructura química de la molécula de celulosa (Fengel y Wegener, 1989).....	20
Figura 5. Puentes de hidrógeno en las moléculas de celulosa (Fengel y Wegener, 1989).....	21
Figura 6. Expansión-Contracción de cadenas de celulosa a través de Absorción-Desorción del agua (Fengel y Wegener, 1989).....	22
Figura 7. Principios de Biorremediación. Fuente: Schmidt, 2000.....	27
Figura 8. Biodegradabilidad aerobia en el suelo. US EPA, 1996.....	28
Figura 9. Tecnologías de remediación para suelos utilizadas en México por empresas autorizadas. El porcentaje indica cuales son las tecnologías más empleadas. SF: separación física; EV: extracción de vapores; DT: desorción térmica; C: centrifugación. Fuente: SEMARNAT 2002.....	32
Figura 10. Efecto de la humedad (referida al producto en húmedo) sobre el valor térmico.....	39
Figura 11. Capacidad de absorción de los hidrocarburos.....	45
Figura 12. Obtención de inóculos de bacterias hidrocarbonoclastas.....	48
Figura 13. Determinación de bacterias aerobias por cuenta en placa.....	48
Figura 14. Metodología para el aislamiento de bacterias heterótrofas hidrocarbonoclastas.....	48
Figura 15. Selección y purificación de colonias bacterianas.....	49
Figura 16. Determinación de la actividad microbiana (CO ₂) por titulación ácido-base (Alef, 1998).	51
Figura 17. Equipo de extracción Soxhlet.....	52
Figura 18. Equipo para determinación de capacidad calorífica Shimadzu DSC-60.....	53
Figura 19. A) Contenido de humedad (%); B) ceniza (%) de los diferentes residuos lignocelulósicos probados. Los datos se muestran porcentualmente.....	55
Figura 20. Capacidades de absorción de petróleo de los residuos lignocelulósicos y efecto de la humedad.....	56
Figura 21. Capacidad de absorción de petróleo de los soportes.....	57
Figura 22. Soporte de los residuos de tela "peyón".....	57
Figura 23. Cinética de absorción de petróleo por alfalfa (A, por sus siglas en inglés), A ; y aserrín (W, por sus siglas en inglés), B.....	58
Figura 24. Cinética de absorción de diesel por alfalfa (A), A ; y aserrín (W), B.....	59



Figura 25. Cinética de absorción de aceite gastado (O) por residuos lignocelulósicos de alfalfa, A ; y aserrín, B	60
Figura 26. Conteo de bacterias por tratamientos bioestimulados (B) y no bioestimulados (NB) en base húmeda.....	62
Figura 27. Aporte bacteriano por tipo de residuo lignocelulósico bioestimulado (B) y no bioestimulados (NB) (A, alfalfa; W, aserrín).....	62
Figura 28. Aporte bacteriano por proporción de aserrín (W) y alfalfa (W)	63
Figura 29. Número de bacterias heterótrofas aerobias al inicio y final del tratamiento en los sistemas con alfalfa y bioestimulados. A) con petróleo; B) con diesel; C) con aceite gastado. Simbología: W=aserrín; B=bioestimulado; P=petróleo; D=diesel; O=aceite gastado..... ¡Error! Marcador no definido.	
Figura 30. Número de bacterias heterótrofas aerobias al inicio y final del tratamiento en los sistemas con aserrín y bioestimulados. A) con petróleo; B) con diesel; C) con aceite gastado. Simbología: W=aserrín; B=bioestimulado; P=petróleo; D=diesel; O=aceite gastado.....	64
Figura 31. Número de bacterias heterótrofas aerobias en sistemas no bioestimulados. A) con petróleo; B) con diesel; C) con aceite gastado. Simbología: A=alfalfa; B=bioestimulado; P=petróleo; D=diesel; O=aceite gastado.	64
Figura 32. Porcentaje de degradación. A) Tratamientos; B) Por residuo lignocelulósico; C) Por proporción residuo:hidrocarburo; D) Por hidrocarburo.	65
Figura 33. Acumulado de CO ₂ en los sistemas NB y AB. La terminología es la siguiente: A=alfalfa; W=aserrín; P=petróleo, D=diesel, O=aceite gastado; B=biotestimulado, NB=no bioestimulado, AB=abiótico	66
Figura 34. Acumulado de CO ₂ en sistemas NB, por proporciones residuo:hidrocarburo	67
Figura 35. Capacidad calorífica de las matrices residuo-hidrocarburo. Simbología: P=petróleo, D=diesel, O=aceite gastado, W=aserrín, A=alfalfa..... ¡Error! Marcador no definido.	
Figura 36. Capacidad calorífica de alfalfa impregnada con aceite gastado.	78
Figura 37. Capacidad calorífica de alfalfa impregnada con diesel.....	78
Figura 38. Capacidad calorífica de alfalfa impregnada con petróleo	79
Figura 39. Capacidad calorífica de aserrín impregnado con aceite gastado.....	79
Figura 40. Capacidad calorífica de aserrín impregnado con diesel	80
Figura 41. Capacidad calorífica de aserrín impregnado con petróleo.....	80
Figura 42. Humedad	81
Figura 43. Capacidad de absorción, análisis estadístico	83



LISTA DE TABLAS

Tabla 1.Registro de derrames y fugas durante el año 2005 (PEMEX, 2005) (Original en colores).....	13
Tabla 2.Características comparativas de algunos absorbentes. (Vaisis, 2005).....	26
Tabla 3. Datos energéticos de algunos hidrocarburos y sustancias orgánicas.....	38
Tabla 4. Condiciones de los sistemas de biotratamiento.....	43
Tabla 5.Especificaciones de los materiales absorbentes.	44
Tabla 6.Medio mineral basal	46
Tabla 7.Solución mineral	46
Tabla 8. Proporciones de nutrientes de los sistemas de biodegradación.....	50
Tabla 9.Características Morfológicas de las cepas aisladas a partir de la alfalfa.	61



RESUMEN.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de diferentes residuos orgánicos naturales para absorber hidrocarburos con la finalidad de aplicarlos en la limpieza de derrames de hidrocarburos, y, su disposición final, de forma económica y eficiente.

Se evaluó la capacidad de cinco residuos lignocelulósicos orgánicos: forraje de maíz (*Zea mais*), avena forrajera (*Avena sativa*); alfalfa forrajera (*Medicago sativa*); cebada forrajera (*Hordeum spp.*) y aserrín (fibra de madera), para absorber petróleo crudo, diesel y aceites lubricantes gastados. La absorción de hidrocarburos se realizó con el material húmedo y seco (peso seco, PS) (110°C durante 24 horas). La capacidad de absorber y la velocidad de absorción se determinaron con petróleo crudo tipo "istmo" API de 32 y aceite gastado de un taller mecánico y diesel. Las pruebas se realizaron colocando 4 g del residuo correspondiente dentro de bolsas permeables de 7x7 cm de tela "peyón"; las bolsas se sumergieron en los diferentes hidrocarburos y dejando en contacto a diferentes tiempos, para determinar la velocidad de absorción y la máxima retención de los hidrocarburos por residuo. Al mejor absorbente, se le determinó la biodegradabilidad del sistema absorbente-hidrocarburo en sistemas bioestimulados y no bioestimulados y con tres relaciones de matriz absorbida con residuo limpio (25:75, 50:50 y 75:25) y su uso como combustible, estableciendo el poder calorífico del sistema.

La capacidad de absorción de los residuos se incrementa de forma significativa ($\alpha \geq 0.05$) cuando se encuentran secos, menos para el aserrín que, aun cuando aumenta, no presenta diferencia significativa. Para el petróleo, la mayor absorción la presentó el aserrín, alcanzando a retener 3.99 g de petróleo / g de aserrín PS, en un tiempo de 4 minutos, con una velocidad de absorción de 0.289 g/ min; seguida por la alfalfa que absorbió 3.5 g de petróleo/ g de alfalfa PS, logrando la saturación en 6 minutos, con una velocidad de absorción de 6.22×10^{-1} g/ min. El resto de los materiales probados presentaron menor absorción de petróleo, en el caso de la avena fue de 2.32 g de P/ g de aserrín PS; y en el de la cebada 2.8831 g de P/ g de alfalfa PS; el maíz, al realizar una prueba preliminar, no alcanzaba a retener hidrocarburo, por lo que no se siguió trabajando con este residuo. En el caso de aceites gastados, el aserrín nuevamente presentó la máxima absorción 4.17 g de aceite / g de aserrín, seguido por la alfalfa 3.42 g de aceite/ g de alfalfa PS. Presentando una velocidad de absorción de 2.04×10^{-3} g/seg y 7.197×10^{-3} g/seg, alcanzando al saturación en 60 seg., respectivamente.

El aserrín presentó la mayor capacidad de absorción de los materiales probados, y en comparación con otros materiales comerciales tanto biológicos como sintéticos; muestra la ventaja de ser económico, de amplia distribución, biodegradable y poder ser usado como combustible. Sin embargo, la alfalfa, cuya capacidad absorbente es cercana a la del aserrín, presenta una mayor cantidad de microorganismos endógenos, lo cual incrementa su capacidad para biodegradar los hidrocarburos. La mayor capacidad de biodegradación, se presentó cuando la matriz absorbida se diluyó en una relación 50:50 con residuo limpio. El empleo de residuos lignocelulósicos para la recuperación de hidrocarburos, ya sea como material libre o con barreras (bolsas) puede ser una alternativa sustentable de recuperación de hidrocarburos derramados en suelos y aguas.



ABSTRACT.

The main purpose of this work was to evaluate sorb capabilities of different lignocellulosic organic wastes, with the finality to apply them as hydrocarbon spills clean-up, and their final disposal, as in economic as and efficient ways.

It was evaluate five organic celulosic fibers: maize forage (*Zea mais*), oat forage (*Avena sativa*), alfalfa forage (*Medicago sativa*), barley forage (*Hordeum spp.*) and wood sawdust to sorb petroleum, diesel and spent lubricating oil. The hydrocarbon absorption was realized with moist and dry material (DW) (110°C by 24 h). The absorption capabilities and sorb velocity was determinated with "istmo petroleum" API 32 and spent lubricating oil of a mechanic workshop and diesel. The tests were realized placing 4 g of respective fiber into permeable bags of peyon material 7x7 cm; the bags were submerged into hydrocarbon's content recipient, and let them in contact at different times, to determinate the sorb velocities and maximum load charge for hydrocarbon for fiber. At the best sorb, it was determinated system biodegradability of hydrocarbon-sorb system in bioestimulated systems and no bioestimulated systemas and with three relationships of absorbed matrix with clean fiber (25:75, 50:50 y 75:25) and their use like combustible, establishing calorific value of system. The sorp capabilities of lignocellulosic fiber amounts in significative way ($\alpha \geq 0.05$) when there are dried, minus for wood sawdust, still when amount, not represent significant differences. For petroleum, the best absorption was presented by sawdust, to catching up retain 3.99 g of petroleum/ g of sawdust (DW), on 4 min, with a sorb velocity of 0.289 g/ min. straight ahead for alfalfa that sorbs 3.5 g of petroleum / g (DW), achieving saturation on 6 min, with absorb velocity of 6.22×10^{-1} g/ min. All the others fibers tested presented less petroleum absorption. In the case of oat it was of 2.32 g de P/ g of sawdust (DW), and with barley, 2.8831 g of P/ g of barley . In the case of spent oil, the sawdust presented the best absorption capability 4.17 g of oil/ g of sawdust, next to alfalfa 3.42 g of oil/ g of alfalfa (DW), presenting absorb velocity of 2.04×10^{-3} g/seg y 7.19×10^{-3} g/seg, achieving saturation on 60 seg, respectively.

Of all the tested sorbens, sawdust presented the best sorb capability, and in comparison with other commercial materials as biologics as synthetics, show the advantage of be economic, of wide distribution, biodegradable and can be used like combustible. Nevertheless, although the alfalafa sorb capabilities are nearly to sawdust, presents more amount of endogen microorganisms, which increments it capability to biodegrade hydrocarbons. The best absorb capability shows when absorbed-matrix was diluted in a rate of 50:50 with clean fiber. The employ of lignocellulosic fibers to recuperate hydrocarbons, already be like free material or like barrier (bags), can be a sustanaible choice of spill-hydrocarbons recuperation in soils and water.



1. INTRODUCCIÓN

Los derrames de petróleo que ocurren durante los procesos de extracción, transporte, exploración, y refinación, constituyen un grave problema ambiental que afecta la calidad de vida, tanto del ecosistema en el que se suscitan, como para las personas que viven en las zonas aledañas. Para el control de estos derrames, se han usado procesos físicos, químicos y biológicos en su recuperación, remoción o degradación de la contaminación por hidrocarburos (Wiggers *et al.*, 2005); el tipo de tratamiento a seguir se determina de acuerdo al tipo, composición y localización de la contaminación ocasionada por el hidrocarburo (Nenkova *et al.*, 2004).

Diversos materiales absorbentes han sido utilizados en la remoción de contaminantes orgánicos, como el petróleo, tanto en suelo como en agua, han sido propuestos entre ellos algunos no convencionales, como residuos agrícolas. Estos absorbentes alternativos deben presentar características adecuadas para su utilización a escala industrial, como por ejemplo altas capacidades de absorción (peso de petróleo absorbido por peso de absorbente), abundancia y bajo costo. Otras características deseables para materiales absorbentes son: facilidad de aplicación, alto índice de absorción, que sean biodegradables y que posean una buena capacidad de retención del contaminante en el tiempo (Wiggers, Annunciado y Thais, 2005; Nenkova, Garvanska, Jelev, 2004).

La aplicación de materiales absorbentes en un área en la cual se derramó petróleo, permite el cambio del estado líquido del hidrocarburo a uno semisólido. Una vez que el hidrocarburo ha sido absorbido en la matriz del absorbente, alcanzando el cambio, la remoción del hidrocarburo se facilita. Los materiales absorbentes de hidrocarburos pueden ser categorizados dentro de tres principales clases: productos minerales inorgánicos; productos sintéticos orgánicos y productos orgánicos vegetales. Los primeros no muestran una flotabilidad adecuada, y tienen baja capacidad de absorción; En cuanto a los productos sintéticos, sus capacidades de absorción son por lo general altas, son de bajo costo y de fácil disponibilidad. Aunado a esto una porción considerable del hidrocarburo puede ser recuperada de algunos absorbentes, tales como el grafito exfoliado, de tal forma que el absorbente se puede reutilizar varias veces y recuperar el hidrocarburo. La eventual disposición de esos absorbentes con el hidrocarburo residual absorbido permanece como un problema ambiental, ya que tanto los productos minerales y los sintéticos, no son biodegradables. Los absorbentes orgánicos vegetales son por lo general fibras naturales, como *Kenaf*, algodón, musgos (del género *Sphagnum*), entre otros. Estos absorbentes presentan la ventaja de ser biodegradables y seguros para su disposición. (Biswas, Chaudari *et al.*, 2005; Spillsorb, 2006; Biomatrix, 2006; Naturasorb, 2006). Se ha reportado que los productos vegetales orgánicos tales como el forraje de algunas plantas, la cubierta del maíz, y la fibra de madera presentan tasas aceptables de absorción, aunado a su biodegradabilidad (Hyung-Min, 1992). Basándose en lo anterior, en el presente trabajo se propone el estudio de la capacidad de diferentes residuos vegetales (forraje de leguminosas y gramíneas, y residuos de madera (aserrín)) de absorber diferentes tipos de hidrocarburos.



2. ANTECEDENTES

2.1 Problemas ambientales derivados de la contaminación por hidrocarburos

La rápida expansión y complejidad creciente de diferentes sectores industriales, ocurrida sobretudo en los últimos 30 años, se ha traducido en un incremento de la cantidad y alcance de los derrames de hidrocarburos, y toxicidad de los residuos. Al mismo tiempo, se ha ido desarrollando una conciencia social de este peligro que va forzando el establecimiento y adaptación de legislación que conduce a reducir la producción de de residuos contaminantes y en la prevención del escape de los mismos al medio ambiente. (Martín *et al.*, 2004)

Los principales contaminantes que afectan al suelo son los compuestos orgánicos (hidrocarburos y sus productos), componentes mecánicos, y desperdicios domésticos. En comparación con la contaminación generada por hidrocarburos, los dos últimos tienen un aporte menor. Algunos accidentes que han supuesto un elevado impacto ambiental, sobre todo los derrames de petróleo y sus derivados. Tanto en el contexto mexicano, como mundial, han provocado una severa contaminación del suelo y de los cuerpos de agua. Estos compuestos son tóxicos para los seres vivos debido a su carácter carcinogénico y mutagénico (Flores *et al.*, 2001).

En general, los hidrocarburos pueden llegar al medio ambiente por alguna de las siguientes vías (Vaisis, 2005):

- Durante el transporte de hidrocarburos – por tren; camiones-tanque, buque-tanques, accidentes en la ruta de suministros, y empalmes con goteras.
- En el suministro de esos recursos en maquinas de combustión internas, autos, locomotoras, barcos y aviones.
- Realizando el trabajo relacionado al transporte de motores, trenes, barcos, y reparación de aviones.
- Durante el llenado de productos con aceites: tanto de estaciones petroleras como terminales de aceites.

Han ocurrido algunos incidentes de gran impacto ambiental relacionados con derrames de hidrocarburos. Por ejemplo, el incidente del buque-tanque *Exxon Valdez* en 1989 liberó un aproximado de 42'396 millones de litros de crudo (11.2 millones de galones) en la región de Alaska (Biswas, Chaudari *et al.*, 2005); o el accidente de otro buque-tanque, el *Prestige*, que ocasionó un vertido de 63,000 toneladas de crudo a las costas de Galicia, en España, afectando regiones de Portugal y Francia (New Scientist, 2006). En México, el derrame de petróleo en la estación de bombeo de Mazumiapan, en Veracruz con un estimado de 100 mil litros (diciembre de 2004); o recientemente en agosto de 2006 el derrame de 170 mil litros de combustóleo en Manzanillo, ocasionado por la ruptura de una tubería subterránea (En periódicos *Reforma*, *La Jornada* y otros, del 28 julio 2006). Otro factor considerable es la cantidad de aceite gastado



que se vierte a los drenajes sin ningún tipo de control, sobre todo pequeños talleres de cambio de aceite. Asimismo, se presenta la problemática del vertido de combustibles en estaciones de servicio, lugares en los que en ocasiones suceden derrames, e hidrocarburos tales como gasolina y diesel son esparcidos hacia los drenajes. Estos derrames han tenido graves efectos adversos sobre el ecosistema adyacente con graves consecuencias sociales y económicas (Fig. 1) (Pezeshki, Hester *et al.*, 2000; Kim, 2002; Kingston, 2002).



Figura 1. A) Imagen de satélite del incidente del *Prestige* (NewScientist news service, 2006; B) derrame de crudo en Tabasco (LCFL, 2005). C) Limpieza del derrame en Coatzacoalcos, Ver. (Greenpeace, 2005).

Según datos aportados por PEMEX, durante el 2005, el número total de eventos ocurridos y registrados en el sistema de transporte de ductos fue de 395, de los cuales 280 fueron derrames de hidrocarburos líquidos y 115 fueron fugas de hidrocarburos en fase gaseosa. (Tabla 1).

Tabla 1. Registro de derrames y fugas durante el año 2005 (PEMEX, 2005) (Original en colores).

Organismo	Derrames (líquidos)			Fugas (gases)		Totales (fugas + derrames)	
	Número registrado	Volumen estimado (bls)	Cantidad estimada (ton)	Número registrado	Cantidad estimada (ton)	Número registrado	Cantidad estimada (ton)
PEMEX-Exploración y Producción ¹	226	1502	211	102	19	328	230
PEMEX-Gas y Petroquímica Básica	1	481	68	7	248	8	316
PEMEX-Refinación	55	20613	2901	6	1	61	2902
PEMEX-Petroquímica	1	0.06	0.01	1	80	2	80.01
Total PEMEX	283	22596.06	3180.01	116	348	399	3528

¹ Incluye únicamente los derrames y las fugas de los sistemas de transporte de hidrocarburos por ductos

De los derrames, el 24% (68), fueron mayores a 5 barriles, el 67% tuvo lugar en los estados de Oaxaca (7%), Tabasco (13%) y Veracruz, destacando este último con 32 derrames (47%) con un volumen

derramado estimado en 3368 barriles y afectaciones al suelo de aproximadamente, tres hectáreas. De acuerdo a la Paraestatal, las causas asociadas a estos eventos fueron principalmente la corrosión de los ductos derivada de la falta de recursos para el mantenimiento en años anteriores, los daños provocados por terceros y las tomas clandestinas descontroladas, que en conjunto representan el 80% de las causas de los derrames y fugas mencionadas anteriormente. (PEMEX, 2005)

La contaminación por petróleo se caracteriza por su persistencia en el ecosistema, a pesar de los procesos de degradación natural y/o antrópica a que pueden ser sometidos. Los estudios que se llevaron a cabo en la zona de Alaska, donde ocurrió el derrame del *Exxon Valdez*, mostraron concentraciones medias anuales de hasta 62'258 mg de hidrocarburos totales/ g en sedimentos (base húmeda) del área (Carls *et al.*, 2001).

Por la alta viscosidad del petróleo crudo, éste no penetra inicialmente al subsuelo, se retiene en el horizonte superficial donde se separa en tres fracciones: volátil, disuelta y sólida. La volátil consiste de la fracción ligera que se fotooxida y volatiliza a través del espacio poroso del suelo y se transporta a la atmósfera. La fase disuelta, es la fracción soluble que se difunde en la solución del suelo, los hidrocarburos que entran en esta fase son de 5 a 17 átomos de carbono. La fracción sólida es la más estable que queda adsorbida a la matriz del suelo; agrupa los hidrocarburos con 18 o más átomos de carbono en su molécula, incluye a los compuestos polares y a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Rivera, 2001)

La contaminación por hidrocarburos tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del lugar en el que sucedió el derrame pudiendo impedir o retardar el crecimiento de la vegetación sobre el área contaminada, debido a la toxicidad de los productos derramados y la capacidad de estos de cubrir raíces, cortezas de árboles, interfiriendo de esta forma en el metabolismo de la planta, específicamente en el intercambio gaseoso. De igual forma, provoca la desnaturalización de las membranas celulares, reduciendo la transpiración y fotosíntesis, afectando la respiración y reduciendo el crecimiento de las plantas. Los hidrocarburos Incluso pueden llegar a contaminar eventualmente el agua subterránea, cuerpos de agua superficiales, el aire y/o la biota del ecosistema. Otras propiedades que se pueden alterar en los suelos son: textura, densidad aparente, distribución del tamaño de poro, consistencia y color, esto ocurre por la propiedad aceitosa del petróleo que aglutina las partículas del suelo, genera estructura más gruesa, cubre la superficie de las partículas y el espacio poroso, disminuye la aireación del suelo y el color de la matriz cambia a más oscuro (Li *et al.*, 1997). Concentraciones tóxicas de petróleo en el suelo pueden inhibir el crecimiento y cambiar las proporciones de las diferentes poblaciones de la mesofauna (nematodos, protozoarios y rotíferos) y de la microfauna (bacterias, hongos, actinomicetos y algas); con la consecuente pérdida de la biodiversidad de comunidades microbianas importantes en los ciclos biogeoquímicos, y la productividad del ecosistema (Rhodes y Hendricks, 1990). Los efectos de la contaminación por hidrocarburos en el mar pueden ser muy variados (Anadón, 2006), entre ellos se encuentran:

- La filtración de la luz se ve disminuida, lo cual afecta la capacidad de fotosíntesis.
- Efectos mecánicos (asfixia, obturación del sistema digestivo, pérdida de la permeabilidad en las plumas de las aves, afectaciones a la piel de sirenios, cetáceos y otros organismos acuáticos, entre otros).
- Toxicidad (cáncer, lesiones cutáneas, mutagenicidad, alteraciones fisiológicas, etc.)



En general los efectos tóxicos de los hidrocarburos sobre los organismos vivos dependen de la concentración y el tiempo de exposición. Los componentes del petróleo con mayor efecto tóxico son los hidrocarburos aromáticos, algunos de ellos actúan como tóxicos agudos y otros, como el benceno, o el 3,4- benzopireno, tienen actividad carcinogénica (Albert, 1990; Jenssen, 1994). El *benceno* es un compuesto clasificado por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer como carcinógeno del Grupo 1, lo que significa que existe suficiente evidencia científica para probar una relación positiva entre la exposición al tóxico y el desarrollo del cáncer. Específicamente, se ha encontrado que los trabajadores expuestos al benceno, tienen una mayor probabilidad de desarrollar leucemia aguda que la población en general. Asimismo, se sabe que el benceno tiene efectos hematológicos, inmunológicos y sobre el sistema nervioso central (INE, 2006).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) aparecen como producto de la combustión de compuestos orgánicos y se encuentran presentes en pequeñas fracciones en el petróleo. Las estufas a carbón y a madera y las chimeneas a madera producen HAPs por la combustión incompleta del combustible a baja temperatura. En cuanto al sector industrial, la producción de coque y el craqueo catalítico del petróleo son procesos en los que se emiten HAPs. El negro de humo, pigmento utilizado ampliamente en la fabricación de llantas, es otra fuente industrial de HAPs. Las actividades de quema agrícola, incendios forestales, combustión al cielo abierto de llantas y basura son importantes emisores de los HPAs. También se desprenden mediante volatilización del petróleo en descargas y derrames. Las fuentes móviles donde se emiten incluyen a los automóviles a gasolina y diesel, a los vehículos con motores a dos tiempos como motocicletas y podadoras, el desgaste de llantas, los aviones y los barcos (INE, 2006). Entre los HAPs existen algunos que son mutagénicos y otros que son carcinógenos. Los factores de toxicidad de los HAPs incluyen la capacidad de adsorción del compuesto, el número de átomos de carbono de la molécula (la potencia carcinógena es baja para aquellas moléculas que contienen menos de cuatro anillos de benceno), la presencia de grupos epoxi (los epóxidos producen cáncer) y de grupos metilo.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos más comunes son: Naftaleno, Antraceno, Acenaphteno, Acenaphtyleno, Fluoreno, Fenantreno, Fluoranteno, Pyreno, entre otros. Se encuentran en altas concentraciones en muchos sitios industriales particularmente aquellos asociados con la producción de petróleo, gas e industrias de preservación de maderas (Wilson y Jones, 1993). La toxicidad de los hidrocarburos para los seres humanos es inversamente proporcional a la viscosidad. La inhalación de productos de alta viscosidad como grasas y aceites (150-250 centipoises), no presenta riesgo, no obstante, los productos de menos de 30 centipoises¹ de viscosidad afectan al pulmón, causando neumonía. Bastan de 10 a 20 $\mu\text{L}/\text{L}$ para eliminar a algunas especies de fauna marina. La ingestión de productos de destilación del petróleo en cantidades de 1 mL/ Kg de peso corporal ocasiona vómito, irritación de las membranas mucosas, depresión del sistema nervioso central, cianosis, taquicardia, albuminuria, hematuria, daños hepáticos y arritmias cardíacas. La ingestión de 10 mL/ Kg de peso corporal produce la muerte (Albert, 1990).

¹ Unidad métrica de la viscosidad absoluta: 1 poise = 100 centipoise = 1 g/(cm s) = 0.1 Pa s. El agua tiene una viscosidad de 1.0020 cp a 20°C (este valor casi redondo es una coincidencia).



2.2 Uso de estrategias para la limpieza de derrames de hidrocarburos

Una vez analizados los efectos de los hidrocarburos vertidos en el medio ambiente, es evidente que se requieren mecanismos de respuesta inmediatos para la recuperación de hidrocarburo libre, y para esto existen varias técnicas (Fig. 2), entre las cuales se pueden citar:

1. Barreras (botavaras) (booms) (Fig. 3)
2. Desnatadores (skimmers). Se puede realizar mediante el empleo de mecanismos para recolectar el hidrocarburo de un área muy grande de agua.
3. Dispersión química
4. Barreras protectoras
5. Prender fuego al derrame: es sumamente complicado debido a la capa tan delgada de hidrocarburo que se forma y la superficie. La fracción volátil se evapora rápidamente y hace imposible ponerla en ignición sin tomar en cuenta medidas especiales.
6. Gelificado. Aplicando agentes gelificadores en aerosol con un monto certero de energía mezclada causa la formación de gel o coagulantes. Los agrupamientos resultantes pueden recolectarse fácilmente.
7. Hundimiento. Mediante el mezclado de granos finos sólidos equitativamente con arena de alta densidad, se provoca el hundimiento del derrame al fondo del lecho marino.
8. Absorción. El hidrocarburo flotante puede ser separado debido a la aplicación de químicos absorbentes.

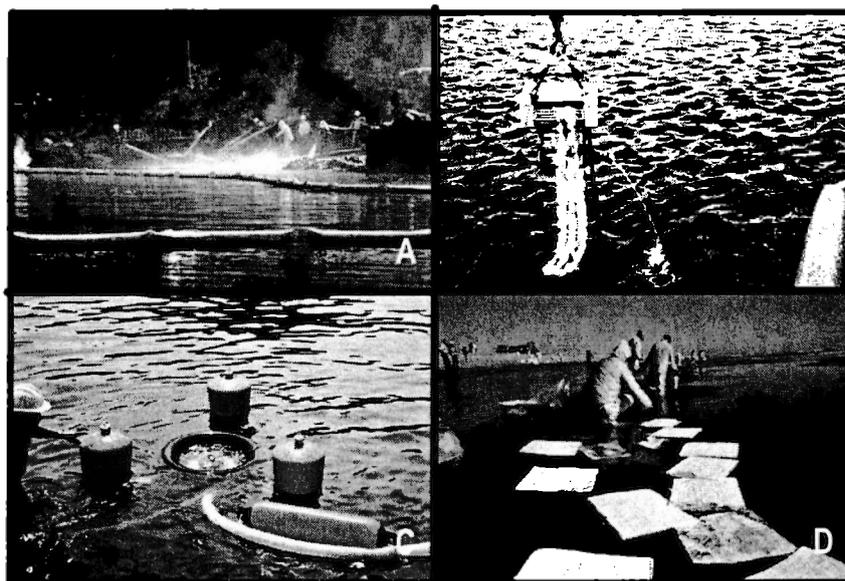


Figura 2. Mecanismos de respuesta inmediata a derrames de hidrocarburos. A) botavaras de contención (boomers); B) desnatadores (oleophilic skimmers) oleofílicos; C) desnatadores por succión (suction skimmers) y D) uso de absorbentes. (US EPA, 2005)

Tecnologías como el proceso de incineración, la desorción térmica, extracción con vapor o la vitrificación resultan demasiado costosas y/o ecológicamente incompatibles para considerarse como una solución viable. Los problemas asociados a estas técnicas son emisiones tóxicas al aire, a los mantos freáticos y al subsuelo ocasionadas por los componentes del petróleo. (Choi y Cloud, 1992; Setti *et al.*, 1999; Inagaki, *et al.*, 2000; Schmidt, 2000; Inagaki *et al.*, 2002).

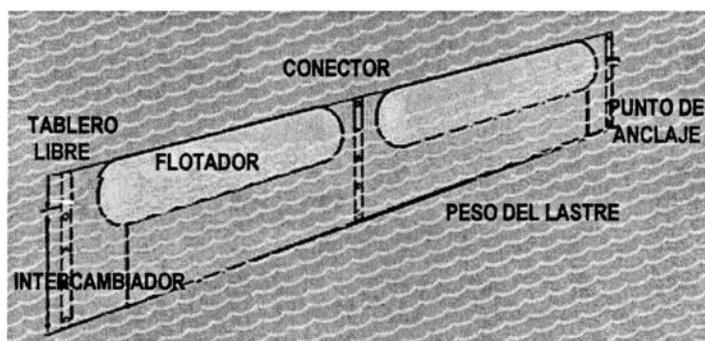


Figura 3. Principales elementos de una barrera de contención (Michel *et al.*, 1994)

2.3 Absorbentes

No obstante la variedad de técnicas de limpieza existentes, muchos de los métodos descritos arriba tienen usos limitados, probando ser en ocasiones sumamente costosos de acuerdo a las condiciones regionales y otros parámetros que influyen finalmente a la hora de elegir. Pero en realidad para alcanzar un costo accesible para la prevención de un derrame, la selección de los materiales debe basarse en factores como: eficiencia en la remoción del hidrocarburo, costos relativamente bajos, que sea un producto ambientalmente amigable, que esté disponible localmente, y que tenga la habilidad para reutilizarse. (Hashar *et al.*, 2000)

Los absorbentes de derrames se han usado históricamente para contener petróleo vertido en el mar (por ejemplo, el caso del *Exxon Valdez*). Estos absorbentes pueden ser clasificados dentro de tres grupos: productos minerales inorgánicos, productos orgánicos sintéticos y productos orgánicos vegetales.

2.3.1 Productos minerales inorgánicos

Entre los productos minerales inorgánicos se incluyen perlita, vermiculitas, dolomita y grafito entre otros. Estos materiales no muestran una flotabilidad adecuada y su capacidad de absorción de petróleo es por lo general baja. Se han hecho pruebas con zeolitas naturales, las cuales son minerales de aluminosilicatos con una estructura porosa con propiedades fisicoquímicas tales como: son buenas intercambiadoras de cationes, catalisis y absorción. De acuerdo a los resultados de Mazekeikiene *et al.*, (2005), que empleó zeolitas para absorción de hidrocarburos, encontró que los mejores resultados alcanzados fueron con un



filtro de 0.63 mm de talla de partícula de medio de zeolita. Se filtró un total de 2.25 mg/ L de hidrocarburos ligeros.

La perlita es un mineral de origen volcánico inerte, que expandido a través del calor resulta en un producto en forma de grano de arena, de fácil manipulación y, su vertido es fácil de realizar. Cuando la perlita es molida y calentada a más de 900°C ocurre una expansión (de 4-20 veces su volumen original) de manera similar a palomitas de maíz. El agua contenida en la perlita es evaporada durante el proceso de calentamiento formando una infinidad de pequeñas burbujas conectadas entre sí. Estas burbujas son responsables de su bajo peso y de las excelentes propiedades físicas de la misma (Schumacher, 2005).

La vermiculita es una mica, formada esencialmente por silicatos hidratados de aluminio y de magnesio. Es un absorbente mineral que puede ser impregnado con un buen desempeño para productos a base de petróleo, así como con ácidos y álcalis fuertes. Para productos químicos volátiles no es muy recomendado. Sin embargo, la vermiculita posee un peso elevado, y es imposible de incinerar, acarreado una disposición final más cara (Kaefy do Brasil, LTDA., 2005).

2.3.2 Productos sintéticos

Algunos productos sintéticos, tales como el propileno, poliuretano, foam, polietileno teraftalato (PET) y teflón, son ampliamente utilizados en la limpieza de derrames de hidrocarburos debido a su bajo costo y disponibilidad. Las capacidades de absorción de estos absorbentes son altas por lo regular, y varían dependiendo del tipo de absorbente sobre un rango de 0.26-86 g de petróleo por unidad de masa (g) de absorbente. Y aunque una porción significativa del petróleo puede ser recuperada de algunos absorbentes, tales como el grafito exfoliado, ya que pueden reusarse por algunos ciclos, la disposición eventual de estos absorbentes con el petróleo residual permanece como un aspecto importante.

2.3.3 Productos orgánicos vegetales-residuos lignocelulósicos

Los productos orgánicos vegetales son por lo regular fibras naturales, tales como kenaf, algodón, y algodoncillo de seda. Estos absorbentes son preferidos ya que son en su mayor parte biodegradables y seguros para su disposición. Los residuos lignocelulósicos o fibras naturales constituyen la biomasa de cultivos forrajeros de gramíneas y leguminosas; y tienen la capacidad de absorber diversas sustancias orgánicas tales como los hidrocarburos, que lo retienen en su estructura interna. Las fibras naturales se caracterizan por la diversidad de características inherentes a su origen, siendo clasificadas en: origen animal, como la seda; y vegetal, como el lino, el sisal, el algodón, entre otras (Sabe y Jog, 1999). Las fibras vegetales se agrupan en cinco tipos, dependiendo de la parte del vegetal de la cual fueron retiradas, y pueden ser clasificadas como (Young, 1997):

1. Fibras de gramíneas: retiradas de las plantas monocotiledóneas, teniendo como ejemplo los cereales (trigo, avena, cebada, arroz y otros); junco, bambú y bagazo de caña.
2. Fibras de hojas: retiradas mediante la compresión de las hojas, por ejemplo: sisal, henequén.



3. Fibras del tallo: retiradas de las astas de las plantas, teniendo como ejemplos el lino, la juta, el cañamo y el kenaf.
4. Fibras de simientes y frutos: por ejemplo, algodón, paja, y la esponja de *Luffa cylindrica*.
5. Fibras de maderas: son fibras provenientes del xilema de los vegetales (angiospermas y gimnospermas). Por ejemplo: eucaliptos, abetos, pinos, etc.

Algunos residuos habituales de este tipo lo constituyen: las turbas o musgos del género *Sphagnum* (incluido en productos comerciales tales como *Spillsorb*, *Sphagsorb*; *Benefit*; *Peatsorb*, *Sphagnum recurvum* (lituano), *Elcosorb* (finlandés), *Biomatrix*), absorbentes provenientes de carbón activado (*USVR VIP*), absorbentes minerales de diatomitas y cristales de cuarzo (*Qualisorb gold 628*), fibras basadas en *Salvinia herzogii* (*Supersorb*, brasileña), algunas fibras textiles orgánicas (algodón, kenaf, foam), y residuos de forrajes. (*Biomatrix*, 2005; *Spillsorb*, 2005). Adria Brown y West Bloomfield (1992) usaron granos enteros de maíz secos en su estado natural para remover derrames de petróleo, empleándolos posteriormente como fuente de combustible.

Otros estudios fueron realizados por Choi y Cloud (1992) sobre "hierba de hilo lechosa" (*milkweed*) y fibra de algodón. Cuando fueron comparados los resultados de esos estudios se observó que estos absorben más eficientemente hidrocarburo que el polipropileno (absorbente sintético). El kenaf, de acuerdo a los mismos autores, se encontró que es comparable al polipropileno cuando absorbe petróleo de alta viscosidad. Absorbentes naturales como la hierba de hilo lechosa, el algodón y el kenaf poseen características hidrofóbicas sin tratamientos previos debido a la presencia de ceras en la superficie y pueden ser empleados tanto para derrames en agua como en suelo. Estos productos naturales mostraron una mayor capacidad de absorción/adsorción que el polipropileno. De acuerdo a Choi y Cloud, estos absorbentes si son usados eficientemente, pueden ser más eficientes que los productos sintéticos.

Schrader (1993) comparó las capacidades impregnantes de algunos absorbentes inorgánicos, orgánicos y sintéticos. Los absorbentes inorgánicos demostraron tener la menor capacidad de absorción, mientras que los sintéticos tuvieron la más alta. Los absorbentes orgánicos, incluyendo al kenaf, tuvieron capacidades de absorción de moderadas a altas. El polipropileno de alta eficiencia tuvo la más alta capacidad de impregnación (14 a 21 gramos de petróleo por gramos de absorbente), pero una menor tasa de reusabilidad cuando se comparó con polipropileno convencional y lana.

Choi y Moreau (1993) estudiaron las capacidades de absorción de varios absorbentes fibrosos tanto naturales como sintéticos. Estas pruebas fueron realizadas en un baño simulado de agua de mar conteniendo hidrocarburo. Los absorbentes naturales, tales como la hierba de hilo lechosa, kapok, algodón y lana mostraron capacidades de absorción más altas que los absorbentes sintéticos tales como el poliéster, polipropileno, rayón, nylon 6, nylon 66, y acetato.

Choi y Kwon (1993) reemplazaron los absorbentes sintéticos por telas que contenían algodón para su empleo en limpieza de derrames de hidrocarburos. Los resultados indicaron que con crudo ligero, las capacidades de absorción de algodón pinchado que contiene a los absorbentes fueron ligeramente más grandes que aquellos absorbentes hechos de fibras de polipropileno 100% puras. Si es necesario, puede añadirse una pequeña porción de fibra de polipropileno dentro de los entretejimientos para aumentar las propiedades de fuerza mecánicas y mantener la integridad de la fabricación. Los absorbentes contenidos fueron reusables después de una simple compresión mecánica para remover el hidrocarburo.



2.3.3.1 Principales constituyentes de los residuos lignocelulósicos

Los residuos lignocelulósicos (fibras vegetales) se encuentran compuestos básicamente por: celulosa, hemicelulosa, lignina, y constituyentes menores. En general, la proporción de celulosa varía entre 60-80%, la de lignina se encuentra en torno al 5-20%, en cuanto a que otras mezclas varían cerca de 20%, excepto algunas especies de algodón, en donde la celulosa puede llegar hasta el 95% (Saheb y Jog, 1999), IPT, 1988; Chand *et al.*, 1988; Fengel e Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

Los constituyentes menores incluyen compuestos orgánicos de diversas funciones químicas, y en menor cantidad, compuestos inorgánicos. Los principales constituyentes varían dentro de una porción relativamente grande y son dependientes del tipo de fibra. Las propiedades de cada constituyente contribuyen para las características específicas del compuesto orgánico como un todo.

La celulosa, principal componente de la pared celular de una fibra, es un polisacárido lineal constituido por un único tipo de unidad de azúcar. Es un componente mayoritario, permaneciendo aproximadamente en la mitad de las maderas (coníferas). La celulosa (Fig. 4) puede ser caracterizada como un polímero de alta tasa molar, constituido por moléculas de β -D-glucosa, que se ligan entre sí a través de dos carbonos, 1 y 4, dando origen a un polímero lineal (IPT, 1988; Morrison y Boyd, 1981; Fengel y Wegener, 1989; Franz y Blaschek, 1990)

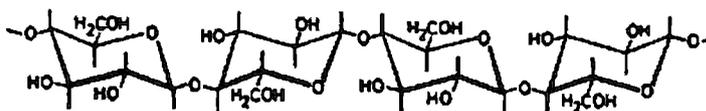


Figura 4. Estructura química de la molécula de celulosa (Fengel y Wegener, 1989)

Las moléculas de celulosa tienden a formar enlaces de hidrógeno intramoleculares (entre unidades de glucosa de la misma molécula) e intermoleculares (entre unidades de glucosa de moléculas adyacentes). Un primer tipo de interacción es responsable de una cierta rigidez de las cadenas unitarias, y un segundo tipo, de la formación de la fibra vegetal. Así que las moléculas de celulosa se encuentran formando las microfibrillas, las cuales forman las fibrillas, que a su vez, se ordenan para formar sucesivas paredes celulares de fibras (Fig. 5) (Sjöström, 1993).

BIBLIOTECA

296131



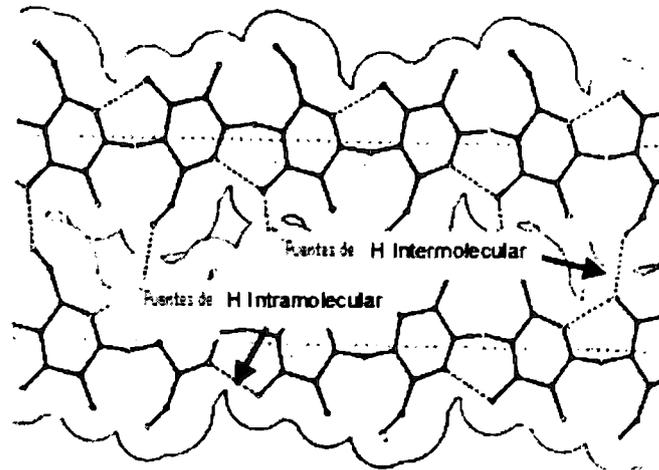


Figura 5. Puentes de hidrógeno en las moléculas de celulosa (Fengel y Wegener, 1989).

La celulosa exhibe regiones cristalinas (altamente ordenadas) y amorfas (altamente ramificadas y desordenadas). Materiales gaseosos, agua y otros líquidos pueden penetrar fácilmente en las fibrillas y las microfibrillas debido a los numerosos capilares y pequeños orificios encontrados en las regiones amorfas de la pared celular. El polímero es accesible al agua y a agentes químicos a través de las regiones amorfas y a través de las superficies de las regiones cristalinas. (Balázs y Eastop, 1999)

Las fibras de celulosa sufren entrecruzamiento, cuando son puestas en contacto con ciertas sustancias químicas. El ejemplo más común es el entrecruzamiento intercrystalino de celulosa cuando entra en contacto con moléculas de agua. Cuando una fibra completamente seca es expuesta a una humedad relativa de alrededor del 100%, su diámetro puede aumentar en torno de un 20-25%, debido a la absorción de agua. El mismo fenómeno sucede cuando esta fibra es colocada e inmersa en un recipiente conteniendo agua, aumentando su diámetro de forma similar.

El hinchamiento y el entrecruzamiento de las fibras dificultan las medidas para la determinación de densidad, puesto que gran parte de los solventes utilizados para este fin reaccionan con las fibras y pueden liberar gases, hecho que produce que la determinación de la densidad aparente se vuelva limitada. Una extensión del entumecimiento final en agua varía de fibra a fibra y de acuerdo con el agente de entumecimiento (Browning, 1963; Sjöström, 1993; Fengel y Wegener, 1989).

Otras sustancias químicas pueden entrecruzar a la celulosa de modo intercrystalino, tales como el metanol, etanol, anilina, benzaldehído y nitrobenzeno. Normalmente, cuanto mayor sea la polaridad de un agente entumecedor, mayor será la extensión de este fenómeno, pero el agua es la que causa el mayor entumecimiento, siendo aumentado su poder por la adición de ácidos, bases y sales inorgánicas, bases orgánicas (Browning, 1963).

Con referencia a la estructura química, se observa que los grupos hidroxilos confieren una hidrofiliidad a la celulosa. Por otro lado, la estructura física de celulosa es responsable por algunas de sus propiedades. La celulosa, aunque insoluble en agua, posee grandes afinidades con esta sustancia. Cuando se encuentra seca, absorbe humedad hasta alcanzar un equilibrio con la atmósfera. Cuando la absorción



prosigue hasta el punto de saturación y la humedad relativa se ve disminuida progresivamente, la cantidad de agua absorbida también decrece de forma progresiva, pero los nuevos valores de equilibrio para una humedad relativa dada son ligeramente más altos que los de la curva de absorción. Este fenómeno también puede ocurrir con otros líquidos tales como los agentes usados para entrecruzamiento. (Fig. 6) (IPT, 1988; Morrison y Boyd, 1981; Browning, 1963; Sjöström, 1993; Fengel y Wegener, 1989).

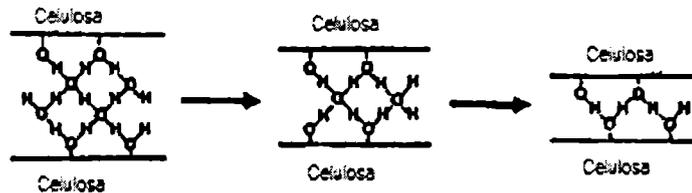


Figura 6. Expansión-Contracción de cadenas de celulosa a través de Absorción-Desorción del agua (Fengel y Wegener, 1989).

Las moléculas de celulosa se alinean formando las microfibrillas, las cuales forman las fibrillas que a su vez, se ordenan para formar paredes celulares sucesivas de fibras. Las fibras son constituidas de regiones cristalinas (altamente ordenadas) y amorfas (desordenadas). Estas regiones no poseen fronteras bien definidas, mas bien parece haber una transición de un arreglo ordenado a uno amorfo por lo cual estas cadenas presentan una orientación menor (Sjöström, 1993; Fengel y Wegener, 1989).

La hemicelulosa constituye una mezcla de polisacáridos de baja masa molecular que varía entre 25'000 a 35'000 Daltons, y se encuentra en estrecha asociación con la celulosa y la lignina en los tejidos vegetales. Las proporciones de los diferentes componentes de hemicelulosa de madera y fibras varían grandemente conforme a cada especie de árbol. Una mayor parte de las celulosas pueden ser extraídas mediante tratamiento con soluciones alcalinas y acuosas. Las soluciones salinas de hidróxido de sodio y potasio son las más empleadas para la extracción de hemicelulosas (Azuma *et al.*, 1985; IPT, 1988; Fengel, 1982; Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

Las hemicelulosas componen cerca del 20-30% de las fibras, y se asemejan estructuralmente a la celulosa, pero, difieren de ésta por que se encuentran constituidas de varios tipos de unidades de azúcar (poliosas), además de ser polímeros ramificados de cadena más corta (Morrison y Boyd, 1981; Lewin y Goldenstein, 1991). La hemicelulosa es el componente responsable por la biodegradación, absorción de humedad y degradación térmica de la fibra (Browning, 1963; Fengel y Wegener, 1989).

La lignina es una sustancia macromolecular componente de la madera, o sea un polímero amorfo de composición química compleja que confiere firmeza y rigidez estructural a un conjunto de fibras de celulosa, actúa como un agente permanente de enlaces entre las células. Las moléculas de lignina difieren de los polisacáridos, por estar constituidas de un sistema aromático compuesto por unidades de fenilpropano. Hay mayor proporción de lignina en coníferas que en otras plantas, y existen diferencias estructurales entre la lignina encontrada en las coníferas y en los demás vegetales (Chand *et al.*, 1988, IPT, 1988; Fengel y Wegener, 1989).



La mayoría de las ligninas contienen cantidades variables de ciertos ácidos carboxílicos aromáticos en forma de éster. La constitución de la lignina no es la misma en todas las plantas, puesto que no es una sustancia química definida, más bien es una clase de compuestos correlacionados. Asimismo, esta macromolécula no puede ser descrita como una combinación simple de algunas unidades monoméricas ligadas por algunos tipos de ligandos, como en el caso de las celulosas y hemicelulosas (IPT, 1988; Sjöström, 1993). Los componentes inorgánicos están constituidos, generalmente, por sulfatos, fosfatos, oxalatos, carbonatos, y silicatos de metales alcalinos y alcalino-ferrosos (Na, K y Mg) y silicio, por lo general conocidos como cenizas (Rowell *et al.*, 2000). Por lo general, la proporción de cenizas en las fibras es de cerca del 0.5%, aunque valores considerablemente más altos pueden presentarse en algunas especies. La determinación de la proporción de cenizas es siempre hecha por incineración para la remoción de los compuestos orgánicos, pudiendo ocurrir pérdida de todos los compuestos volátiles. (Ramos *et al.*, 1993; Gordon, 1975).

Los demás componentes varían, y se encuentran sustancias pécticas, proteínas y otras sustancias orgánicas pueden ser encontradas en maderas, siendo su presencia gobernada por factores climáticos o características de las plantas (Fengel y Wegener, 1989).

2.3.3.2 Fibras de madera

La madera es una sustancia dura y resistente que constituye el tronco de los árboles y se ha utilizado durante miles de años como combustible y como material de construcción. Entre las especies que más se emplean para producir insumos, se encuentran las de pino (*Pinus spp*) y abeto. Como resultado de estos procesos, se genera una gran cantidad de residuos de fibra de madera, comúnmente denominados "aserrín". El aserrín, por tanto, constituye un residuo de biomasa secundaria generado de los procesos de aserrado de la madera, carpintería y de la industria de la madera en general.

La madera, la celulosa y el carbono, biomasa vegetal, fueron citados por primera vez en 1997, como materiales que se pueden emplear como absorbentes en un estudio de absorción de hidrocarburos del petróleo (Baermann, 1997). Annunciado *et al.*, (2005) emplearon fibra de madera (aserrín) como absorbente para hidrocarburos, teniendo una capacidad de absorción de 5.499 g de P/ g de aserrín; y Nenkova *et al.*, (2004) emplearon lignina hidrolizada técnicamente (THL) producida durante la hidrólisis de madera y aserrín y corteza que se genera durante la manufactura mecánica de la madera, midiendo demanda química de oxígeno (DQO), obteniendo que los productos de fibra de madera muestran una alta tasa y grado de purificación en condiciones estáticas en aguas altamente contaminadas, y que la THL posee mayor capacidad absorbente que el aserrín y que la corteza.

2.3.3.3 Forraje de gramíneas y leguminosas

El cultivo de plantas forrajeras se ocupa de producir alimentos para las industrias ganaderas del mundo. Estos cultivos son segados, secados y almacenados en forma de heno; troceados y almacenados sin secar en forma de ensilaje; o consumidos directamente por el ganado en forma de pasto o forraje recién cortado. En las regiones tropicales y subtropicales, la mayor parte del ganado consume el forraje en forma



de pastos. En regiones de clima templado, los forrajes suelen almacenarse en forma de heno o ensilado para ser empleados en invierno.

Los forrajes de leguminosas más comunes en las zonas templadas incluyen la alfalfa y los tréboles blanco, púrpura, fresa, pardo, encarnado, estrellado, montano y varias especies más del género *Trifolium*. Entre las herbáceas se encuentran el heno, el dactilo o jopillo, la espiguilla o poa, el bromo liso o cebadilla perenne y otras especies. Los cultivadores de plantas forrajeras suelen cultivar una o más leguminosas junto con una herbácea. Las bacterias de los nódulos radiculares de las leguminosas transforman el nitrógeno atmosférico en una forma asimilable para ellas por medio de un proceso llamado fijación del nitrógeno, enriqueciendo el suelo también para las herbáceas, lo que reduce la necesidad de fertilizantes e incrementa la producción y calidad del forraje.

En el caso de la alfalfa, ésta se siembra en el norte y centro de México, con excepción de una pequeña área en los valles centrales de Oaxaca en el sur de México. La mayoría de la alfalfa es usada para corte y acarreo o para heno, la proporción de alfalfa manejada como heno ha permanecido en 26%, siendo importante en dos estados norteros: Chihuahua y Sonora. El contenido promedio de materia seca (MS) del forraje de alfalfa en experimentos es de $21,9 \pm 0,6$ %, y de 83 % de MS en heno de alfalfa. Considerando estos contenidos de MS, los rendimientos comerciales de alfalfa serían de 15,8 toneladas/ha*año con un 28 por ciento de pérdidas en el campo al hacer el heno. (Amándola *et al.*, 2005).

2.3.3.4 Residuos lignocelulósicos absorbentes comerciales

Por lo general, los residuos de productos agrícolas son de bajo costo económico, y algunos de ellos son fáciles de conseguir. Aunado a eso, existen productos celulósicos en forma fibrosa que pueden ser transformados fácilmente en capas, almohadillas y laminas tejidas (Fanta *et al.*, 1987).

Los absorbentes orgánicos naturales se encuentran constituidos por materiales de origen vegetal, como la turba ("peat moss" o *Sphagnum*), especies del género *Salvinia* y otras fibras vegetales. Esos materiales presentan un bajo costo de producción debido a su abundancia, en general pueden ser reaprovechados o incinerados en hornos sin producción de gases tóxicos, pueden absorber de 3-15 veces su peso en petróleo y son biodegradables.

Fibras vegetales como el kapok (*Ceiba pentandra*), la hierba de hilo lechosa y el algodón presentan un mejor potencial como absorbentes en la remediación de derrames de petróleo en comparación con materiales sintéticos disponibles. Estas fibras naturales pueden absorber petróleo de 1.5 -3 veces más que las fibras comerciales como el polipropileno. El Kapok, el kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) y la fibra lechosa poseen propiedades hidrofóbicas debido a que poseen grandes cantidades de cera presentes en la superficie de la fibra (Johnson *et al.*, 1973; Choi e Choi, 1992; Choi *et al.*, 1993).

Estudios realizados muestran que fenoles, hidrocarburos poliaromáticos y clorados, así como materiales pesados pueden ser absorbidos por la lignina (O'Neil *et al.*, 1987; Keane y Ghoshal, 2001). Por otra parte, hay un número considerable de estudios que involucran a la turba como material absorbente en la recuperación de diversos tipos de hidrocarburos, entre los que se encuentran: Viraraghavan y Slough (1999) y Leboeuf y Weber (2000). Pruebas en laboratorios demostraron una remoción de petróleo



derramado en agua formando un espesor de 1.3 cm cercana al 99% (Ghaly y Pyke, 2001). Estas turbas, o absorbentes basados en la capacidad de absorción (absorbencia ≈ 4.5359 Kg/ Kg agua) de un musgo del género *Sphagnum* (Biomatrix, 2005), han sido empleadas para casos de remediación de sitios contaminados, y/o en derrames de hidrocarburos en ríos o mares. Por ejemplo, *Cansorb*, un absorbente 100% natural y seguro ambientalmente, del mismo género de plantas, posee un alto contenido de ácido húmico. El resultado es un producto que es oleofílico e hidrofóbico a la vez. Debido a su estructura fibrosa y a su procesamiento, este producto es capaz de absorber hidrocarburos rápidamente y encapsularlos. Se puede aplicar por tanto para derrames en agua como en suelos. (Annapolis Valley Peat Moss Co. Ltd., 2000).

Un ejemplo del uso de absorbentes basados en *Sphagnum* fue en el caso del buque-tanque Arrow, que arrojó 16 mil toneladas de petróleo en Chebaducto Bay, Canadá, o en el caso de un derrame de crudo en el Río Saint Lawrence, Canadá, que cubrió un área de 1500 ft- 2000 ft, lográndose una eficiencia en la remoción de un 95% (Spillsorb, 2005), aplicándose también en la remediación de derrames de hidrocarburos en instalaciones de PEMEX (Cadereyta). Otros productos comerciales con características similares, son *Peatsorb*, *Naturasorb*, *Sphagsorb* (cuyo poder calorífico es de 3880 Kcal/ kg); *Spillsorb*, entre otros. Por otra parte, en el Centro de Investigación y Calidad Ambiental (CICA), del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, se hicieron pruebas fisicoquímicas a un producto comercial basado en el musgo *Sphagnum* en diferentes sustratos. Se encontró que esta matriz biológica tiene una alta capacidad de absorción y encapsulamiento de diferentes hidrocarburos; este producto absorbe cerca de 4 g de hidrocarburo / g de absorbente (Bremauntz *et al.*, 2005).

Otras mezclas de turba con bentonita pueden absorber hasta un 99% de pentaclorofenol, un contaminante altamente tóxico para el medio ambiente (Viraraghavan y Slough, 1999). Residuos como metales pesados, pesticidas e hidrocarburos fueron absorbidos por complejos de proteínas y polisacáridos (USA, 1997).

Se han desarrollado filtros con una matriz formada por productos naturales (plantas, líquenes, esponjas, etc) y absorbentes activos (ácido húmico, almidón, carbón activo, entre otros) para la clarificación de bebidas y en la remoción de metaloides y metales pesados (Germany, 2000). Un coque de petróleo fue empleado con éxito en la recuperación de diversos contaminantes líquidos y gaseosos, incluyendo la recuperación de petróleo y derivados (Environmental & Energy Enterprises, 2002; Carbon'01, 2001). Otros materiales naturales, como algodón, látex, etc. han sido utilizados en la recuperación de diversas sustancias orgánicas (Russia, 2002; ADSOCA, 2003). Otro producto lignocelulósico comercial es el *Heggsorb*, basado en desperdicios celulósicos reciclados, específicamente empleado para absorber hidrocarburos en agua (hasta 18 veces su peso) (OCBP Ltd., 2002). La biomasa seca de *Salvinia herzogii* se muestra eficiente en la absorción de petróleo, con un desempeño superior a un absorbente comercial (turba). Sus hojas secas forman un excelente material de contención de derrames terrestres y acuáticos llegando a absorber 14.5 g de P/ g de biomasa (Ribeiro *et al.*, 2000; Costa *et al.*, 2001)

Vaisis (2005), recopiló las propiedades físicas y de absorción de algunos productos comerciales: Qualisorb gold 628, Sphag-sorb, USVR-VIP, Benelftesorb-extra y un producto local (lituano) (*Sphagnum recurvum*). (Tabla 2).



Tabla 2. Características comparativas de algunos absorbentes. (Vaisis, 2005)

Absorbente Características	Sphagsorb	Qualisorb gold 628	Belneftesorb extra	Bioabsorbente <i>Sphagnum recurvum</i>	USVRVIP (nombre comercial)
Densidad (g/cm ³)	0.199	0.400	0.254	0.175	0.0066
Absorción de agua después de 24 h (g de agua/ g de absorbente)	3.92	-	1.05	14.1	1.01
Absorción de diesel de la superficie del agua (g de diesel/ g de absorbente)	3.74	-	3.54	8.4	51.4
Absorción de petróleo de la superficie del agua (g de petróleo/ g de absorbente)	4.00	-	2.84	7.2	51.6
Absorción máxima total de diesel [g de diesel/ g de absorbente]	5.50	1.44	4.90	9.9	55.0
Absorción máxima total de petróleo [g de petróleo/ g de absorbente]	5.60	1.50	4.40	7.9	60.0

El Qualisorb gold 628 está constituido de una diatomita natural y cristales de cuarzo. El absorbente USVR-VIP, es un polvo muy ligero producido de carbón activado; y de todos los absorbentes es el que presentó la mayor capacidad de absorción (55 g de Diesel/ g de absorbente y 51.6 g de Petróleo/ g de absorbente). Sphag-sorb y Belneftesorb son similares en origen (ambos son musgos del género *Sphagnum*), y poseen después del absorbente USVR-VIP la mayor capacidad de absorción, siendo productos orgánicos vegetales.

Wiggers *et al.*, (2005) emplearon seis tipos de absorbentes naturales: *Clorosea speciosa* st. Hill conocida en Brasil como "paina" *Luffa cylindrica*, una esponja vegetal; aserrín, "sisal" (*Agave sislaene*), fibras de coco y desperdicios fibrosos vegetales. De acuerdo a sus resultados, la paina mostró la mayor capacidad absorbente (85.997 g de P/ g de absorbente; las fibras de aserrín y de coco mostraron resultados similares ((5.499 y 5.605 g e P/ g de absorbente respectivamente); mientras que los desperdicios vegetales y las fibras de luffa presentaron las menores capacidades de absorción (2.679 g y 4.581 g de P/ g de absorbente), con buena capacidad de flotación en agua destilada, a excepción del sisal.



2.4 Tratamientos biológicos para sitios contaminados y biodegradabilidad

Junto con las técnicas de respuesta rápida de contención de derrames, tales como las barreras de contención o los absorbentes (sintéticos, vegetales, minerales), existen tratamientos o técnicas aplicables para la remediación de un determinado espacio natural, (una vez ejercida la remoción de la parte superficial del hidrocarburo contaminante), en los cuales merecen especial atención los procesos de degradación biológica ya que son útiles para muchos tipos de residuos orgánicos. Son procesos naturales que no suponen un impacto adicional sobre los ecosistemas y que se pueden realizar a un bajo coste. En muchos casos, pueden llevarse a cabo en el sitio contaminado *in situ*, con lo cual se elimina la necesidad de transportar materiales peligrosos.

Los tratamientos biológicos o de biorremediación, se basan en la acción de microorganismos o plantas sobre los productos contaminantes; y son técnicas que constituyen una excelente alternativa para la limpieza de sitios contaminados por hidrocarburos, por su metodología sencilla y aplicable a grandes áreas; son efectivas, económicas, amigables con el ambiente, y pueden ser aplicadas *in situ* (Frankenberger *et al.*, 1992). De acuerdo al Concilio de Seguridad Nacional de Estados Unidos (*Nacional Safety Council*, NSC por sus siglas en inglés) la biorremediación consiste en el empleo de organismos vivos, principalmente bacterias para limpiar derrames de hidrocarburos o remover otros contaminantes del suelo, agua, y aguas residuales (Fig. 7).

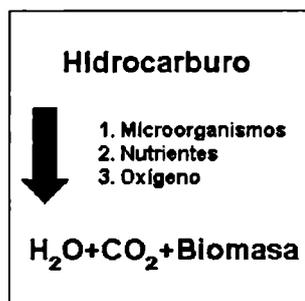


Figura 7. Principios de Biorremediación. Fuente: Schmidt, 2000

Los microorganismos, ya sean levaduras, hongos, bacterias y otros organismos como protozoos, que se encuentran adaptados a suelos contaminados por hidrocarburos, pueden usar el petróleo como fuente de carbono y de energía. La degradación biológica o **biodegradación** es un proceso natural en donde los microorganismos alteran y destruyen las moléculas hidrocarbonadas, lo cual puede resultar en la liberación de productos inocuos y biodisponibles tales como dióxido de carbono (CO_2) y agua, así como la formación de biomasa celular como productos finales o en su defecto intermediarios que pueden ser o no menos tóxicos que el hidrocarburo original (Ercolli y Gálvez, 2001), sin embargo, en muchos casos las velocidades de reacción suelen ser demasiado lentas (Brawn *et al.*, 1989), por lo que es necesario estimular la biodegradación ajustando los factores que gobiernan la actividad microbiana del suelo.

La biodegradación es un término empleado para describir los distintos procesos microbianos, tales como son la mineralización, destoxificación, cometabolismo o activación; donde los compuestos orgánicos son degradados por la acción de los microorganismos; y se debe principalmente a los microorganismos



quimioheterótrofos, todos aquellos que utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía. A través de enzimas rompen los compuestos orgánicos en una serie compleja de reacciones acopladas de oxidación-reducción, llamado este proceso **catabolismo**; este se puede dividir en dos: **fermentación** y **respiración**, que se distinguen por el uso de aceptores finales de electrones, en el primer caso emplean compuestos orgánicos, y en el segundo inorgánicos. La respiración es aerobia cuando se utiliza como aceptor final de electrones el oxígeno (O_2) y anaerobia cuando se emplea por ejemplo el nitrato (NO_3^-) o el sulfato (SO_4^{2-}). La energía que se obtiene del catabolismo la utiliza la célula para realizar reacciones biosintéticas, este proceso se denomina **anabolismo**. Debido a que la respiración aerobia es más eficiente que la respiración anaerobia, se prefieren los sistemas aerobios, mientras que el metabolismo fermentativo no es tomado en cuenta. Teóricamente, como resultado del metabolismo aerobio, hay producción de dióxido de carbono, agua y biomasa cuando se llega a la mineralización completa de los hidrocarburos (Fig. 8). La degradación de materiales orgánicos en ambientes naturales se realiza principalmente por bacterias y por hongos; sin embargo es el segundo grupo el que se emplea principalmente en pruebas de biodegradabilidad. Las bacterias representan un grupo diverso de organismos procarióticos con amplia distribución en la biosfera; su rápido metabolismo y crecimiento (reproducción por fisión binaria), su plasticidad genética y su habilidad para adaptarse rápidamente a varios ambientes, las hace ser altamente eficientes en procesos de biorremediación (Baker y Herson, 1994). En la biodegradación de hidrocarburos participan bacterias con alta capacidad degradativa, entre las que destacan las que pertenecen a: *Brevibacterium*, *Spirillum*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. mendocina*, *P. aureofasciens*), *Serratia* (*S. rubida*), entre otras (Escalante, 2002).



Figura 8. Biodegradabilidad aerobia en el suelo. US EPA, 1996.

Los microorganismos denominados **endógenos**, son aquellos que se encuentran formando parte del ecosistema que se pretende descontaminar. Para estimular el crecimiento de estos microorganismos, y forzar la degradación de los contaminantes, es necesario establecer unas condiciones de temperatura, oxigenación y contenido de nutrientes determinadas.

Cuando en el ecosistema no esté disponible la actividad biológica que se requiere para degradar la contaminación producida, pueden incorporarse microorganismos de otra procedencia cuya eficacia haya sido probada anteriormente. En este caso, se habla de microorganismos **exógenos**. Cuando esto sucede, se tiene que asegurar que las condiciones de este nuevo emplazamiento permitirán el desarrollo de la microflora incorporada.



El metabolismo microbiano es la suma de todas las transformaciones químicas que suceden en una célula u organismo, son una serie de reacciones catalizadas enzimáticamente que conforman las vías metabólicas (Fernández *et al.*, 2004). En esta actividad celular se pueden lograr cuatro funciones:

- Obtención de energía (capturándola de la energía solar o degradando compuestos ricos en energía).
- Conversión de moléculas externas (nutrientes) en moléculas necesarias o propias de la célula.
- Polimerización de precursores monoméricos en proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, polisacáridos, etc.
- Sintetizar y degradar biomoléculas necesarias para funciones celulares específicas.

En cuanto a las **pruebas de laboratorio**, que se deben revisar, hay que tener en cuenta los siguientes aspectos, aplicables tanto a organismos exógenos como endógenos:

1. Examen de las rutas metabólicas implicadas, incluyendo formación de metabolitos intermedios o finales.
2. Requerimiento de sustratos como fuente de carbono, nitrógeno, fósforo y azufre.
3. Establecimiento de los valores óptimos de temperatura, pH y concentración de oxígeno.
4. Toxicidad de sustratos
5. Inducción de enzimas catabólicas, mediante crecimiento sobre un sustrato relacionado estructuralmente con el/los contaminantes.
6. Degradación de un compuesto, simultáneamente al crecimiento del microorganismo sobre otro sustrato compatible metabólicamente (co-metabolismo o metabolismo concurrente).
7. Existencia de mezclas de sustratos incompatibles metabólicamente.
8. Utilización de sondas biológicas adecuadas para detectar la presencia de microorganismos específicos o sus actividades.

En el caso de microflora endógena, se requiere determinar la presencia de dichos microorganismos, su número y su actividad metabólica por procedimientos convencionales de laboratorio. Puede ser conveniente poner a punto cultivos enriquecidos, empleando muestras del sitio contaminado, con objeto de disponer de material adecuado para realizar los estudios de laboratorio a nivel microcosmos (Martín *et al.*, 2004).

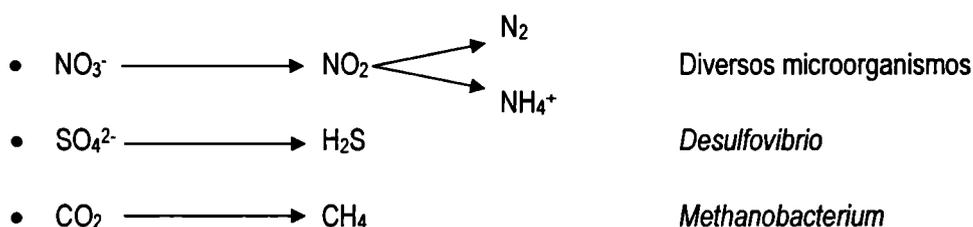
Para el caso de los experimentos con microcosmos, estos deben plantearse con material recogido del sitio contaminado y simular condiciones aerobias, anaerobias o microaerófilas (Martín *et al.*, 2004). Estos experimentos proporcionarán los datos cinéticos necesarios para el tratamiento a gran escala, fundamentalmente los siguientes:

1. Tasas de degradación o desaparición de sustratos.
2. Datos sobre la existencia y la estabilidad de metabolitos y su toxicidad para otros organismos.
3. Existencia de concentraciones de sustrato umbral, por debajo de las cuales las tasas de degradación biológica son muy lentas o despreciables.
4. Capacidad de inducir la degradación utilizando análogos de sustratos y metabolitos.
5. Estabilidad del sistema durante un tiempo de operación prolongado.



Las reacciones de oxidación son las de mayor importancia en la biodegradación de hidrocarburos en condiciones aerobias y están catalizadas por las monooxigenasas, dioxigenasas, lacasas y peroxidasas (Ércoli *et al.*, 1995 y 2000). En reacciones quimiotróficas, una porción del sustrato es oxidado para obtener energía y otra parte es asimilado dentro de la masa celular. En la respiración aerobia, el oxígeno no solamente es el aceptor de electrones sino también participa en la activación de los sustratos vía reacciones de oxigenación (Díaz, 2004). La degradación de hidrocarburos alifáticos saturados es un proceso básicamente aerobio, el oxígeno es necesario para iniciar el ataque microbiano a la molécula, mientras que la degradación de hidrocarburos alifáticos insaturados puede efectuarse en forma aerobia y anaerobia, al igual que los hidrocarburos aromáticos (Ércoli *et al.*, 1995).

El paso inicial en la degradación de los hidrocarburos por bacterias generalmente es una reacción de oxigenación, que consiste en la introducción de oxígeno dentro de la molécula por medio de una oxigenasa, produciendo de esta manera metabolitos más solubles en agua que pueden ser degradados en reacciones de deshidrogenación e hidroxilación. La ruta de biodegradación más común de los hidrocarburos alifáticos, por ejemplo un alcano, es la incorporación enzimática directa de oxígeno molecular, produciendo un ácido graso que finalmente se transforma en dióxido de carbono y agua a través de la β -oxidación. En el caso de los hidrocarburos aromáticos, como el benceno, la transformación inicial más común es la hidroxilación que involucra la incorporación de oxígeno molecular, por medio de monooxigenasas o dioxigenasas, produciendo eventualmente catecol que es más fácil de mineralizar (Aboul-Kassim y Simoneit, 2001), ya que la ruta central involucra una serie de reacciones que dan como resultado intermediarios del ciclo de Krebs (Díaz, 2004) (Fig. 14). En general los HAPs con dos o tres anillos se degradan más rápidamente que los que tienen cuatro o cinco anillos. Es importante mencionar que la biodegradación anaerobia de los hidrocarburos también se llega a presentar, sin embargo, es mucho más lenta (Aboul-Kassim y Simoneit, 2001). El metabolismo anaerobio se trata de un proceso donde el receptor final del hidrógeno es una sustancia mineral oxidada. Una gran cantidad de microorganismos son capaces de oxidar por completo a la glucosa en ausencia de oxígeno, a condición de que en el medio haya nitrato. Además del nitrato, también puede utilizar sulfatos o CO_2 . (Scriban, 1985). Algunos ejemplos son:



Sin embargo, en este último caso se emplea el término de fermentación metanogénica. La degradación del sustrato orgánico, fuente del hidrógeno puede no ser completa y habrá formación de otras sustancias (ácidos orgánicos). El metabolismo respiratorio entraña una degradación completa del sustrato y a consecuencia una considerable liberación de electrones (y protones). Por el contrario, la fermentación corresponde a una oxidación incompleta y se traducirá en una liberación menor de electrones. Además, sólo cuando el oxígeno molecular es el receptor final, la reducción será **exotérmica**; si es alguna otra sustancia el receptor y en particular con los receptores minerales es **endotérmica**. Se observa, que la naturaleza de la vía utilizada condiciona el rendimiento energético de la degradación del sustrato, lo que queda expresado en las siguientes ecuaciones globales:



- Respiración aerobia:
$$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \qquad \qquad \qquad 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + 668,000 \text{ cal}$$
- Respiración anaerobia:
$$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 12\text{KNO}_3 \qquad \qquad \qquad 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + 12\text{KNO}_2 + 429,000 \text{ cal}$$

A continuación se describen brevemente algunas técnicas de remediación de tipo biológico:

- **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; Spinelli, *et al.*, 2005).
- **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; Spinelli, *et al.*, 2005)
- **Composteo.** El composteo es un proceso controlado, mediante el cual los contaminantes orgánicos pueden convertirse en subproductos inocuos estables. El material contaminado se mezcla en pilas, con sustancias orgánicas sólidas biodegradables, como pajas, aserrín, estiércol y desechos agrícolas. Estos materiales son adicionados como agentes de volumen, para mejorar el balance de nutrientes (C/N) para la actividad microbiana, y para asegurar la generación del calor necesario para el proceso. Los sistemas de composteo incluyen biopilas, tambores rotatorios, tanques circulares y recipientes abiertos (Van Deuren *et al.*, 1997; Volke y Velasco, 2003; Spinelli, *et al.*, 2005,).
- **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; Spinelli, *et al.*, 2005).
- **Fitorremediación.** Es un proceso que utiliza especies vegetales para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos o sedimentos (Van Deuren *et al.*, 1997; Van Deuren *et al.*, 2002; Spinelli, *et al.*, 2005).
- **Biorreactores.** Es la tecnología más adecuada para casos en que los peligros potenciales de descargas y emisiones sean serios. Permite la combinación controlada y eficiente de procesos químicos, físicos y biológicos, que mejoran y aceleran la biodegradación (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.

Las tecnologías más empleadas en la remediación de suelos en México, son: la biorremediación, la oxidación química, el lavado, la separación física (Fig. 9).



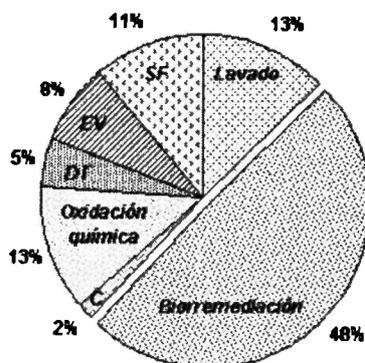


Figura 9. Tecnologías de remediación para suelos utilizadas en México por empresas autorizadas. El porcentaje indica cuales son las tecnologías más empleadas. SF: separación física; EV: extracción de vapores; DT: desorción térmica; C: centrifugación. Fuente: SEMARNAT 2002.

2.5 Biodisponibilidad de los contaminantes

Uno de los aspectos fundamentales a tener en consideración, con respecto a la capacidad de biodegradar contaminantes orgánicos e hidrofóbicos en suelos, es el de la biodisponibilidad (Northcotto y Jones, 2000; Reid *et al.*, 2000). La biodisponibilidad engloba factores físicos, químicos y biológicos del entorno, y difiere para cada organismo (Martín *et al.*, 2004).

La disponibilidad de un compuesto orgánico en agua se reduce, temporalmente, cuando se une a partículas suspendidas o sedimentos; la biodisponibilidad de un metal en un sedimento o en un suelo puede aumentar cuando el pH disminuye; en el aire, los hidrocarburos aromáticos policíclicos que están ligados pueden resultar inaccesibles a las superficies respiratorias, por ejemplo pulmones de mamíferos, al contrario que los hidrocarburos gaseosos.

Los términos libre o ligado, aplicado a los residuos orgánicos que contaminan un sitio determinado, establecen la diferencia entre la porción del compuesto que puede ser extraída del suelo –por lo general por un solvente orgánico- sin alterar la estructura química del compuesto y la porción no extraíble de dicho compuesto. A continuación se incluyen las definiciones propuestas por Weller *et al.*, (1998) para intentar sistematizar los diversos tipos de interacciones de los compuestos orgánicos en la matriz del suelo:

1. **Residuo ligado covalentemente.** Es el compuesto original o un metabolito principal unido covalentemente a la matriz.
2. Residuos solubles ligados covalentemente. Son aquellos que se extraen conjuntamente con la matriz por un procedimiento específico sin que se pierda el enlace covalente.
3. Residuos adsorbidos. Son compuestos originales o metabolitos principales que están ligados a la matriz por interacciones no covalentes reversibles.

4. Residuos inmovilizados (atrapados). Son compuestos originales o metabolitos principales que se retienen en la matriz por efectos esféricos y que se comportan como residuos ligados a no ser que se modifique la estructura de la matriz.

Por lo general, cuando se aplica el término residuo ligado se hace referencia a los ligados covalentemente, a los adsorbidos y a los atrapados. Una vez que el contaminante orgánico entra en contacto con el suelo, puede experimentar diversas interacciones. Incluso la fracción extraíble puede resultar adsorbida en la fase sólida del suelo, y en consecuencia, presentar una disminución de su biodisponibilidad y por tanto del potencial de biodegradación. La biodisponibilidad de un compuesto orgánico puede ser evaluada con dos perspectivas distintas, química o biológica.

Aspectos biológicos de la valoración de la biodisponibilidad. Para que la biodegradación se realice se deben cumplir dos requisitos:

1. El compuesto debe ser accesible al organismo u organismos de que se trate.
2. El compuesto como tal debe ser biodegradable.

Tanto la biodisponibilidad como la biodegradabilidad pueden ser valoradas por métodos biológicos y existe un buen número de ensayos estándar empleando microbios. Estos métodos incluyen: mineralización de análogos marcados con ^{14}C hasta $^{14}\text{CO}_2$ (biodegradación), determinación del efecto contaminante sobre la demanda biológica de oxígeno (biodisponibilidad) o sobre las variaciones de la remoción de carbono orgánico disuelto (biodisponibilidad).

A la hora de valorar la biodisponibilidad de un contaminante, no sólo hay que tener en cuenta la especificidad de los organismos, sino también el objetivo concreto de la valoración, que puede ser tanto la predicción del potencial de descontaminación biológica en un determinado emplazamiento contaminado, como la determinación de riesgo toxicológico o la evaluación de la posibilidad de bioacumulación.

2.6 Hidrocarburos del petróleo

El petróleo es una mezcla muy compleja de composición variable, de hidrocarburos de muchos puntos de ebullición y estados sólido, líquido y gaseoso, que se disuelven unos en otros para formar una solución de viscosidad variable.

El petróleo contiene:

- Hidrocarburos saturados o parafinas.
- Hidrocarburos etilénicos u olefinas.
- Hidrocarburos acetilénicos.
- Hidrocarburos cíclicos ciclánicos.
- Hidrocarburos bencénicos o aromáticos.
- Compuestos oxigenados (derivados de hidrocarburos etilénicos, por oxidación y polimerización)
- Compuestos sulfurados (tiofeno, etc.)
- Compuestos nitrogenados cíclicos (piridina, etc)



En el petróleo natural, además de hidrocarburos, existen nitrógeno, azufre, oxígeno, colesteroles, productos derivados de la clorofila y de las heminas (porfirinas) y, como elementos, trazas, vanadio, níquel, cobalto y molibdeno.

Los porcentajes de composición del petróleo son: carbono (80-87%), hidrógeno (10-15%), azufre (0-10%), nitrógeno (0-1%), oxígeno (0-5%) y algunos metales pesados como: aluminio, cobre, hierro, níquel y vanadio (Botello, 1996).

La composición química del petróleo es muy variable, hasta el punto de que los cuatro tipos fundamentales de hidrocarburos: parafinas (hidrocarburos saturados), olefinas (hidrocarburos insaturados), naftenos (hidrocarburos cíclicos saturados o cicloalcanos.), e hidrocarburos aromáticos, no solamente son diferentes de un yacimiento a otro, sino también las diversas sustancias que es preciso eliminar más o menos completamente: gas, azufre (que junto con el sulfhídrico, mercaptanos y tioalcoholes pueden alcanzar un 3%), agua más o menos salada, compuestos oxigenados y nitrogenados, indicios o vestigios de metales etc.

La escala API (de *American Petroleum Institute*), que es la forma de expresar la densidad relativa de un petróleo o derivado medida en grados, varía inversamente con la densidad relativa, o sea, cuanto mayor la densidad relativa, menor el grado API. El grado API es mayor cuando el petróleo es más liviano. Los petróleos con grado API mayor a 30 se consideran livianos, entre 22 y 30 API, son medianos, abajo de 22 API, son pesados; con grado API igual o inferior a 10, son petróleo extra pesados. Cuanto mayor el grado API, mayor el valor del petróleo en el mercado. (Petrobrás, 2006).

Para el caso de México, la producción de petróleo se define y se distribuye de la siguiente manera (PEMEX, 2005): el **petróleo crudo**. Excluye la producción de condensados y la de líquidos del gas natural obtenidos en plantas de extracción de licuables. El petróleo crudo producido se considera pesado o ligero según los siguientes criterios:

Pesado: petróleo crudo con densidad API igual o inferior a 27. La mayor parte de la producción de este tipo de petróleo crudo proviene de yacimientos de la Sonda de Campeche.

Ligero: petróleo crudo con densidad API superior a 27 y hasta 38. Este tipo de petróleo crudo se produce en su mayoría en la Sonda de Campeche.

Superligero: petróleo crudo con densidad API superior a 38. Este tipo de petróleo crudo se produce en yacimientos de la Región Sur.

2.6.1 Mecanismos de asimilación de hidrocarburos por los microorganismos

Se considera que el contacto microbiano con los hidrocarburos puede ocurrir por tres mecanismos principales (Morgan y Watkinson, 1989).

1. Incorporación de microgotas más pequeñas que la célula misma.
2. Transporte de macrogotas
3. Absorción de compuestos en la fase soluble



La absorción de hidrocarburos como microgotas es el mecanismo más común recurrido utilizado por los microbios unicelulares, produciendo biosurfactantes, como se había comentado anteriormente. Pero muchos microorganismos degradadores de hidrocarburos tienen una parte hidrofóbica en la superficie celular, la cual se asocia con la absorción de gotas de hidrocarburo. Goswami y Singh (1991) observaron dos cepas de *Pseudomonas sp.* Capaces de degradar el n-hexadecano por un proceso de "pseudosolubilización" (con la formación de microemulsiones), absorbiendo este hidrocarburo.

Kappeli y Finnerty (1979) descubrieron un sistema de transporte activo por *Acinetobacter H01-N en n-hexadecano*, donde las gotas de hidrocarburo eran encapsuladas en la membrana de la vesícula y después eran utilizadas por la bacteria en sus procesos vitales.

2.7 Cogeneración

La recuperación, reutilización y/o transformación de los residuos vegetales en insumos útiles a los sectores productivos es una opción con posibilidades, en la medida que las alternativas surjan como consecuencia de un diagnóstico objetivo de la problemática ambiental de cada sector. Las alternativas seleccionadas, deben ser adecuadas técnicamente a las características locales, viables económicamente y sustentables ecológicamente. Sobre estas bases es posible validar, adecuar y promover tecnologías de alternativa que representen una solución efectiva y ajustada a cada realidad.

Las alternativas que se han manejado con mayor o menor resultado para la reutilización y/o reconversión han sido:

- Los residuos como fuente de alimento animal,
- Los residuos como fuente energética,
- Los residuos orgánicos como fuente abonos.

Una de las posibilidades para hacer más sostenible el manejo de residuos, como se citaba anteriormente, es el uso de los residuos como fuente energética. La cogeneración se define como la producción secuencial de energía eléctrica y/o mecánica y de energía térmica aprovechable en los procesos industriales a partir de una misma fuente de energía primaria, la cual puede ser obtenida de varias fuentes, entre ellas residuos orgánicos o biomasa, y es una alternativa como método de conservación de energía para la industria, acorde con las políticas de globalización económica regional y a la política internacional orientada a lograr un desarrollo sustentable. (CONAE, 2004). Involucra un sinnúmero de tecnologías, pero siempre incluye un generador eléctrico y un sistema de recuperación de calor. La cogeneración es conocida también como "energía total".

A través de la utilización de calor, se puede mejorar la eficiencia energética en una planta cogeneradora hasta en un 90% o más. Además, la electricidad generada mediante la planta cogeneradora por lo general se emplea localmente, por lo tanto las pérdidas en transmisión y distribución de energía se vuelven apenas perceptibles. La cogeneración además ofrece ahorros de energía en un rango que va del 15-40% en comparación con plantas convencionales de energía. Debido a que el transporte de electricidad sobre



grandes distancias es más sencillo que el transporte de calor, las instalaciones para realizar la cogeneración se sitúan por lo general tan cerca como sea posible del lugar en donde se consume el calor.

2.7.1 Beneficios de la cogeneración

La cogeneración representa beneficios a nivel de empresa como nacional, desde el punto de vista país, se refleja en un ahorro de la energía primaria, petróleo, gas natural, carbón mineral y biomasa al hacer un uso más eficiente de los energéticos. El procedimiento es más ecológico, ya que durante la combustión el gas natural libera menos dióxido de carbono (CO₂) y óxido de nitrógeno (NOX) que el petróleo o el carbón. El desarrollo de la cogeneración podría evitar la emisión de 127 millones de toneladas de CO₂ tan solo en la Unión Europea en 2010, de 258 millones de toneladas en 2020. Asimismo, se reducen las emisiones contaminantes al medio ambiente por quemar menos combustible.

Los beneficios en el sector industrial son la reducción de la facturación energética en los costos de producción y como consecuencia aumenta la competitividad de la empresa; así como, la autosuficiencia, continuidad y calidad del suministro de energía eléctrica, con lo que se obtiene confiabilidad en su proceso.

Una manera de realizar procesos de cogeneración es el empleo de biomasa vegetal para la producción de procesos alternativos de energía. La biomasa contribuye con más del 14% de la demanda de energía mundial. En países industrializados puede llegar a representar hasta el 35% del suministro de energía primaria. Constituye una fuente versátil de energía que puede ser rápidamente almacenada y transformada en electricidad y calor. También tiene el potencial de ser empleada como materia prima para la producción de combustible.

Algunos argumentos importantes para emplear biomasa como fuente de energía son:

- Políticas ambientales. El ciclo de vida de la biomasa, al ser un material renovable tiene un efecto neutral en la emisión de CO.
- La biomasa puede emplearse fácilmente en calentadores para producir calor directo, o para generar electricidad. La cogeneración con carbón es una opción atractiva sin necesidad de hacer inversiones adicionales.

Entre las fuentes principales de biomasa se encuentran las siguientes: foresta de baja rotación (Eucalipto), desperdicios de madera (residuos boscosos, aserrín y residuos industriales/construcción), cultivos de azúcar, maíz, trigo, cultivos lignocelulósicos, herbáceos, cultivos aceitosos (girasol), residuos de la agricultura (paja), basura sólida municipal, y residuos industriales (por ejemplo, los de alimentos).

El proceso de combustión de biomasa puede representarse de la siguiente manera:

Combustión



Biomasa + Oxígeno (aire) = dióxido de carbono + agua + calor.



El poder calorífico de la biomasa depende en gran medida, de la biomasa considerada y de su humedad. Así normalmente estos valores de poder calorífico de la biomasa se pueden dar en base seca o en base húmeda. Por lo general, se puede considerar que el poder calorífico de la biomasa puede oscilar entre los 3000-3500 kcal. /Kg. Para los residuos lignocelulósicos, los 2000-2500 kcal. /Kg. para los residuos urbanos y finalmente los 1000 Kcal./Kg para los combustibles líquidos provenientes de cultivos energéticos.²

La mayor parte de la biomasa y desperdicios de la agricultura que sirven para generar energía proviene de la combustión de la madera. Existe una tendencia constante para mejorar la eficiencia de la combustión a más de 30% y una reducción en las emisiones contaminantes.

Estas características, conjuntamente con el bajo contenido en azufre de la biomasa, la convierte en un producto especialmente atractivo para ser aprovechado energéticamente.

Cabe destacar que desde la perspectiva ambiental, el aprovechamiento energético de la biomasa no contribuye al aumento de los gases de efecto invernadero, dado que el balance de emisiones de CO₂ a la atmósfera es neutro. En efecto, el CO₂ generado en la combustión de la biomasa es re absorbido mediante la fotosíntesis en el crecimiento de las plantas necesarias para su producción y, por lo tanto, no aumenta la cantidad de CO₂ presente en la atmósfera.

Las fuentes y productos energéticos se pueden medir por su masa o peso, o incluso su volumen, pero el factor esencial es el contenido de energía de esas fuentes y productos. El valor de la energía debe evaluarse con respecto a parámetros energéticos, utilizando siempre unidades normalizadas. Esta normalización en el registro y presentación de unidades originales es una labor esencial que han de realizar los encargados de compilar las estadísticas de energía y forestales para que se puedan analizar o comparar distintas cantidades. Se recomienda que para la notificación internacional, y siempre que sea posible en los procedimientos nacionales de contabilidad, se utilice en las estadísticas de energía y forestales el Sistema Internacional de Unidades, cuya abreviatura oficial es SI. Se introducen las dos relaciones básicas siguientes para la evaluación de la bioenergía, teniendo en cuenta que tanto el poder calorífico como la densidad dependen principalmente de la humedad del combustible de madera.

Energía = masa x poder calorífico (1)

Masa = volumen x densidad (2)

A modo de comparación, se presentan algunos datos sobre el poder calorífico de algunos hidrocarburos, sustancias orgánicas y subproductos agrícolas (tabla 3)³.

² Secretaria de Energía, Argentina. 2004. Energías Renovables 2004. Dirección Nacional de Promoción, Subsecretaría de Energía Eléctrica. Republica Argentina. Disponible en: www.energía3.mecon.gov.ar/contenidos/archivos/publicaciones/folleto%20biomasa.pdf

³ Red Proteger: Higiene, control y seguridad. 2007-02-28. Disponible en: http://www.redproteger.com.ar/poder_calorifico.htm



Tabla 3. Datos energéticos de algunos hidrocarburos y sustancias orgánicas.

Material	MJ/Kg	Material	MJ/Kg
Acumuladores de auto (batería)	2.3809	Algodón	16.5-20.4
Aceites	2.3809	Almidón	16.2
Aceite mineral	45.8-46.0	Aserrín de roble	19.775
Aceite oliva	39.6	Aserrín de pino	22.506
Aceite de semilla de algodón	39.78	Azúcar de caña	
Alcohol etílico	1.4286	Paja de cereales	16-17
Celulosa	16-12	Ciclohexano	43.45
Diesel	19581	Biodiesel (B-20) Oilfox Company	18946.57
Etanol	26.81	Gasolina	43.7
Lignina	23.4-25.1	Paja	15.6
Petróleo	2.309	Turba	16.7-21.6
Tolueno	40.52	Cáscaras de arroz	13.4
Bagazo	8.4-10.5	Cáscaras de café	16.7
Mazorcas de maíz	16.7	Cáscaras de arroz	13.4
Carbón vegetal	13.8	Residuos de origen municipal	19.7

1 Kilocaloria (Kcal) = 4,187 KJ = 3,968 BTU

Es importante tener en cuenta el **poder calorífico**: el biocombustible es un material para quemar o para utilizar como fuente térmica de energía. Se puede medir la cantidad de energía térmica almacenada mediante el valor térmico o calorífico. El **poder calorífico superior (PCS)** o **poder calorífico bruto (PCB)** mide la cantidad total de calor que se producirá mediante la combustión. Sin embargo, una parte de ese calor permanecerá en el calor latente de la evaporación del agua existente en el combustible durante la combustión. El **poder calorífico inferior (PCI)**, o **poder calorífico neto (PCN)**, excluye el calor latente. Por consiguiente, el valor térmico más bajo es la cantidad de calor disponible realmente en el proceso de combustión para captarlo y utilizarlo. Cuanto mayor sea el contenido de humedad de un combustible mayor será la diferencia entre el PCB y el PCN y menor será la energía total disponible (Fig. 10). Estos parámetros se expresan generalmente en megajoules/ kilogramo (MJ/Kg) o kilojoules/ kilogramo (KJ/Kg).



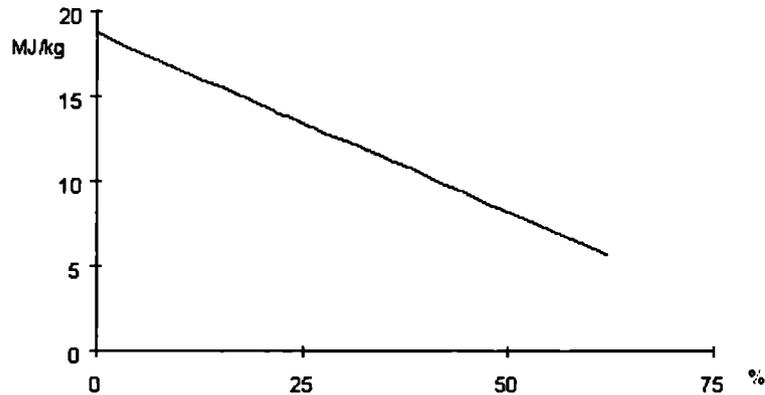


Figura 10. Efecto de la humedad (referida al producto en húmedo) sobre el valor térmico

Por otra parte, los valores energéticos de los subproductos agrícolas (agrocombustibles) se determinan por el contenido de humedad y de ceniza. Generalmente, los datos correspondientes a esas fuentes de energía no se compilan directamente, sino que derivan de la relación cultivo/desecho o producto final/desecho. Dada la importancia del uso de bagazo (residuos fibrosos de la caña en la producción de azúcar a partir de la caña de azúcar) se esbozarán para este caso posibles procedimientos de estimación. El bagazo se utiliza como combustible principalmente para satisfacer las necesidades de energía de industria del azúcar, pero en muchos países productores de azúcar se venden los excedentes al público. El poder calorífico de un producto comercial a base de Sphagnum es de 9460 B.T.U. /lb⁴ (10013.1048 MJ/Kg)⁵ (Spillsorb, 2005), de una muestra de musgo completamente seca. Considerando que se encuentra empaquetado para su venta con un por ciento de humedad del 60%, el poder calorífico neto por libra de musgo húmedo es de 3022 B.T.U. Este producto ha sido probado conjuntamente con diferentes tipos de hidrocarburos, y se ha demostrado que cuando se forma la matriz Sphagnum-hidrocarburo, la capacidad calorífica en B.T.U.s aumenta considerablemente. Como ejemplo, se muestra el Spillsorb encapsulado conjuntamente con el petróleo crudo Bow River Alberta, con 95% de saturación, muestra un poder calorífico de aproximadamente 17400 B.T.U.

⁴ Libra (lb.) (Pound, por sus siglas en inglés). Medida de peso del sistema inglés. 1 lb = 454 g; 1 Kg.=2.2 lb.

⁵ B.T.U. Acrónimo de British Thermal Unit. Es el monto de calor necesario para calentar el agua 1° Fahrenheit (F).



3. JUSTIFICACIÓN

En México se generan grandes volúmenes de desechos derivados de la producción de la industria petrolera. En la actualidad, se tiene un estimado de producción de petróleo crudo de 3'383 barriles diarios, y de 3'824 barriles de hidrocarburos líquidos; y de diesel, de unas 303 mil barriles diarios (PEMEX, 2005). Durante el 2005, se derramaron un total de 3 mil 180 toneladas (22,596 barriles) de hidrocarburos (PEMEX, 2005).

El suelo y subsuelo, principales focos de contaminación por hidrocarburos, junto con los cuerpos de agua, constituyen un recurso natural difícilmente renovable que desempeña funciones entre las que destaca su papel como medio filtrante durante la recarga del manto acuífero y la protección de los mismos, también están integrados al escenario donde ocurren los ciclos biogeoquímicos, hidrológicos y las redes tróficas, además de ser el espacio donde se realizan las actividades agrícolas, ganaderas y soporte de la vegetación (Saval, 1995).

Se han producido derrames accidentales que han ocasionado graves impactos en perjuicio de la población, del medio ambiente y en las mismas instalaciones. Los hidrocarburos son generalmente absorbidos por el suelo, lo que a la postre contamina tanto los cultivos, ecosistemas de la región, y los mantos freáticos. Se tienen diferentes hidrocarburos, tales como petróleo, diesel, aceites gastados, etc., que son empleados en los procesos industriales; y en diversas cantidades, desde los pequeños talleres hasta las grandes paraestatales (PEMEX, CFE), en las cuales suceden derrames ocasionales de estos combustibles, por ejemplo en gasolineras, ductos, buques, etc. Considerando el gran número de talleres de cambio de aceite, en donde es vertido por lo general al drenaje sin ningún tratamiento previo; o en el caso de las estaciones de servicio de diesel, en donde se tienen medidas de seguridad insuficientes, por lo que generalmente suceden derrames del combustible, sin haber ningún tratamiento previo al igual que con los aceites.

Es importante contar con sistemas eficientes y económicos para la recuperación rápida y eficiente de los hidrocarburos libres, que permitan minimizar o evitar el impacto ambiental. Se ha observado y existen reportes de la capacidad de residuos vegetales para absorber diferentes compuestos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos, presentando la ventaja de ser naturales, biodegradables, no tóxicos y no contaminantes *per se*. Aparte se han hecho estudios de poder calorífico de algunos residuos orgánicos; presentando la capacidad de emplearse como mecanismos de cogeneración de energía. Basándose en lo anterior el presente trabajo propone el uso de absorbentes vegetales como sistemas de recuperación de aceites, diesel y petróleo libres; asimismo, se pretende evaluar la disposición final más sustentable.



4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar diferentes residuos lignocelulósicos como absorbentes de petróleo, aceite gastado y diesel; y su posible disposición.

4.2 Objetivos específicos

- Establecer la capacidad de diferentes residuos lignocelulósicos de absorber petróleo, aceite gastado y diesel.
- Seleccionar entre los residuos estudiados el de mayor eficiencia de recuperación de hidrocarburos libres. .
- Establecer la biodegradabilidad de los sistemas residuo-hidrocarburo, como opción de disposición final
- Evaluar el uso del sistema residuo-hidrocarburo como combustible (capacidad calorífica), para evaluar su uso como fuente de energía alternativa

5. HIPÓTESIS

1. Los residuos lignocelulósicos de alfalfa, aserrín, avena, cebada y maíz tienen la capacidad de absorber hidrocarburos.
2. Los hidrocarburos de las matrices de residuos lignocelulósicos son biodegradables
3. Las matrices de residuos lignocelulósicos-pueden ser utilizadas para la cogeneración de energía.



6. METODOLOGÍA

6.1 Estrategia Experimental

La estrategia experimental para la realización de este proyecto se dividió en cinco etapas:

6.1.1 Pruebas de absorción y selección de residuos lignocelulósicos.

En esta etapa, se evaluaron cinco residuos lignocelulósicos o fibras vegetales (avena forrajera, alfalfa forrajera, aserrín, cebada forrajera, y forraje de maíz) como absorbentes de hidrocarburo, utilizando inicialmente petróleo como modelo. De los cinco residuos se seleccionaron los dos más eficientes, a los cuales se les determinó la capacidad de absorción y cinéticas de absorción con tres tipos de hidrocarburos: petróleo (Pet), diesel (D) y aceite gastado (AG).

6.1.2 Determinación de bacterias y hongos totales e hidrocarbonoclastas en los residuos.

Se cuantificaron y aislaron los microorganismos endógenos de las fibras vegetales elegidas, capaces de degradar hidrocarburos; esto se realizó por cuenta de microorganismos viables por dilución en placa.

6.1.3 Obtención del inóculo para la bioestimulación de las pruebas de biodegradabilidad

Para la preparación del inóculo, las bacterias endógenas aisladas de las fibras vegetales se inocularon en medio mineral, por separado para AG, D y Pet, agregándoles dos gotas de cada hidrocarburo. Se realizó lo mismo con unas cepas bacterianas proporcionadas por el IMP. Posteriormente, se conjuntaron ambos consorcios para hacer un cultivo mixto, el mismo que se empleó para las pruebas de biodegradabilidad.

6.1.4 Determinación de biodegradabilidad

Para establecer la posibilidad de tratar la matriz absorbida por biodegradación, se estableció una prueba de biodegradabilidad probando el efecto de la bioestimulación: humedad, adición de nutrientes en función de una relación carbono:nitrógeno:fósforo y de bioaumentación; así como el efecto de la dilución de la matriz absorbida con residuo limpio (25:75, 50:50 y 75:25), esto debido a la alta concentración o absorción de HC en la matriz lo que puede dificultar la actividad microbiana.



Las condiciones para la bioestimulación de los sistemas establecieron de acuerdo a lo reportado para tratamiento de hidrocarburos en biopilas por Rojas *et al.*, (2006). Las condiciones de los sistemas de biotratamiento son los siguientes (Tabla 4).

Tabla 4. Condiciones de los sistemas de biotratamiento

Variables			
Contenido de humedad (mL de agua/ g de matriz absorbida)	10	20	40
Relación C:N:P	100:3:0.5		
Relación residuo:hidrocarburo	25:75	50:50	75:25

6.1.5 Determinación de poder calorífico de las matrices absorbidas.

Se determinó la capacidad calorífica de las fibras vegetales e hidrocarburos por separada, y de las matrices absorbidas por calorimetría, con el fin de establecer la factibilidad de su disposición como combustible y usarlo en cogeneración de energía.

6.2 Pruebas de absorción y selección de residuos lignocelulósicos

6.2.1 Residuos e hidrocarburos

Para la realización de estas pruebas se utilizaron 5 residuos: maíz (*zacate*), avena forrajera, paja de alfalfa, cebada forrajera y aserrín (Tabla 5). Los residuos orgánicos vegetales fueron cortados, tamizados con un tamaño de partícula de 2.36 mm y de 1 mm de diámetro, y posteriormente secados a 80°C por 24 h en una estufa VWR 1310.

Se utilizaron tres tipos de hidrocarburos: diesel, petróleo y aceite automotriz gastado. El diesel fue obtenido de un distribuidor autorizado por PEMEX, y el petróleo tipo "Istmo" fue donado por el Instituto Mexicano del Petróleo; el aceite lubricante gastado se obtuvo en un taller de cambio de aceite.



Tabla 5. Especificaciones de los materiales absorbentes.

<i>Tipo de fibras</i>	<i>Forma</i>	<i>Especificación</i>	<i>Tamaño de partícula (mm)</i>
Maíz	Trozos	Fibra celulósica	2.6
Avena	Trozos	Fibra celulósica	2.6
Cebada	Trozos	Fibra celulósica	2.6
Alfalfa	Trozos	Fibra celulósica	1
Aserrín	Polvo	Material celulósico	1

6.2.1 Humedad de los residuos

Para la determinación de la humedad, los residuos se picaron empleando una picadora "picalica" doméstica. Se pesaron 0.4 g de fibra vegetal (maíz, avena, cebada, alfalfa y aserrín). La muestra se colocó en una estufa modelo VWR 1310 a 80 °C durante 24 h. Posteriormente las muestras se dejaron enfriar dentro de un desecador, y una vez a temperatura ambiente se pesaron en una balanza analítica digital OHAUS 6A200D. El % de humedad se determinó con la fórmula (1). La prueba se realizó por triplicado.

$$\% \text{ Humedad del suelo} = (\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) / \text{Peso inicial} * 100 \quad (1)$$

6.2.2 Determinación de cenizas

Se colocaron entre 0.2 y 0.4 g de cada residuo ya picado en un crisol a peso constante. A continuación se incineraron en una mufla Lingberg 51894 a 550°C por 2 h. Después se colocaron dentro de un desecador para su enfriamiento (aproximadamente una hora). Se pesaron las muestras nuevamente. La cuantificación de ceniza se realizó por diferencia de pesos.

6.3 Capacidad de absorción de petróleo de los residuos y efecto de la humedad

Esta prueba tuvo como objetivo determinar la eficiencia de los diferentes residuos para absorber hidrocarburos. Se pesaron 0.4 g de muestra, en peso seco y peso húmedo, de maíz, avena, cebada, alfalfa y aserrín sobre una charola de aluminio. Se vertió petróleo sobre las muestras, hasta que el residuo no lo retuviera más. Posteriormente se pesaron las muestras con el hidrocarburo y se determinaron los gramos de hidrocarburo retenido por gramo de residuo (Fig. 11).



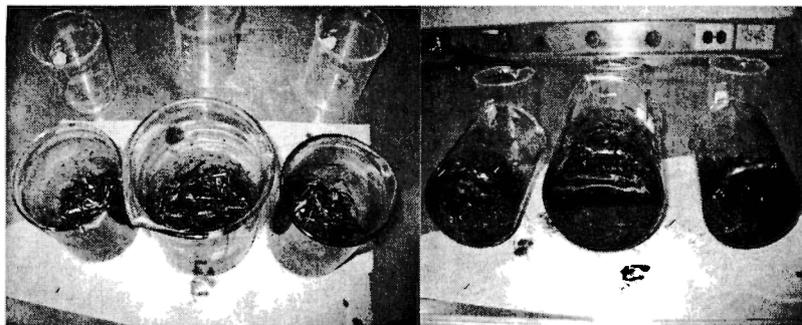


Figura 11. Capacidad de absorción de los hidrocarburos

6.4 Cinética de absorción de petróleo, aceite lubricante gastado para coches gastado y diesel por los residuos lignocelulósicos

Para realizar esta prueba, el residuo se colocó en bolsas que los contuvieran, las cuales fueron introducidas en el hidrocarburo durante diferentes tiempos, con el fin de determinar su capacidad de absorción, y las cinéticas de absorción. Previo a la prueba se hizo la selección del material para contener el residuo. Los materiales comparados fueron: filtro para café marca "Santa Fe", producido por Rockline Industries; tela tipo "peyón", y mosquitero plástico. Se determinó su capacidad de absorción de la siguiente manera: se cortaron y pesaron 3 tamaños distintos de cada material, y se impregnaron con el hidrocarburo hasta alcanzar el punto de saturación y se pesaron los materiales con el hidrocarburo impregnado.

Una vez seleccionado el mejor material para la realización de la cinética de absorción se procedió de la siguiente forma: se elaboraron bolsas de peyón, de 7 x 7 cm, tipo similar a las empleadas para el té. Se pesaron las bolsas y se les agregaron 4 g de residuos lignocelulósicos, para posteriormente sellarlas con una grapa. La bolsa con el residuo se introdujo en un vaso de precipitado que contenía 500 mL del hidrocarburo a probar: petróleo, diesel o aceite gastado. Las bolsas se sumergieron durante 5 intervalos de tiempo: 30, 60, 90, 120 y 150 seg. Transcurrido el tiempo se retiraron, se dejó escurrir el exceso o hidrocarburo externo de la bolsa y se pesó la matriz absorbente-hidrocarburo sobre un papel aluminio en una balanza analítica OHAUS 6A200D.

6.5 Aislamiento de bacterias heterótrofas e hidrocarbonoclastas de los residuos lignocelulósicos

Para la cuenta de bacterias se utilizó agar nutritivo (Bioxon), y caldo nutritivo (Becton Dickinson, código 234000); para los hongos se empleó medio papa dextrosa agar (PDA) (Difco, USA), 39 g de PDA en 1 L de agua destilada, con rosa de bengala (50 mg/ L) para delimitar el crecimiento de los hongos y estreptomycin (0.12 U/ L) como inhibidor del crecimiento de bacterias. Para la cuenta y aislamiento de bacterias y hongos hidrocarbonoclastas, se utilizó medio mineral basal (MMB) con petróleo como fuente de carbono y energía, el cual fue añadido mediante un círculo papel filtro estéril impregnado, que

se colocó en el interior de la tapa de las cajas Petri, (Ridgway *et al.*, 1990;, Vecchioli *et al.*, 1990;; Karlson y Frankenberger, 1989).

Para la preparación del medio mineral basal (MMB) se disolvieron los componentes de la tabla 6, en el orden señalado en un litro de agua destilada. Se ajustó el pH a 7.0. Para obtener el medio de cultivo sólido se adicionaron 15 g de agar noble (Difco, USA). Una vez esterilizado el medio, y encontrándose este a aproximadamente 50°C, se añadió un mL de solución mineral estéril (Tabla 7).

Tabla 6. Medio mineral basal

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 hexahidratado	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	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
Solución mineral*		1.0 mL

Tabla 7. Solución mineral

	Componente	Cantidad
Agua destilada		1 L
Cloruro de calcio dihidratado	$\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5.1 g
Cloruro de manganeso monohidratado	$\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.66 g
Cloruro de sodio	NaCl	1.0 g
Cloruro férrico sextahidratado	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.0 g
Cloruro de calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1 g
Cloruro de cobre	CuCl_2	0.01 g
Cloruro de zinc	ZnCl_2	0.08 g
Cloruro de aluminio	AlCl_3	0.05 g
Acido bórico	H_3BO_3	0.01 g
Molibdato de sodio dihidratado	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.04 g



Las poblaciones microbianas en los residuos orgánicos vegetales se determinaron por el método de dilución en placa; con el fin de determinar indirectamente el potencial de biodegradación del mismo residuo. Se pesó 1 g de residuo, se suspendió en 9 mL de agua destilada estéril y se agitó con la ayuda de un Vortex. De la suspensión obtenida se realizaron una serie de diluciones sucesivas de 1 mL en 9 mL de agua destilada estéril, cada dilución se agitó antes de realizar la siguiente. Posteriormente se inoculó con 0.1 mL de la dilución seleccionada en el centro de la superficie de la placa y se expandió con una varilla de vidrio previamente esterilizada (inmersa en alcohol y pasándola por la flama del mechero permitiendo su enfriamiento), asegurando una distribución homogénea por toda la superficie del medio. Una vez inoculadas las cajas Petri se incubaron en forma invertida a 30°C. La cuenta de las unidades formadoras de colonias se realizó a las 24 horas para las heterótrofas y a los 4 o 5 días para las bacterias hidrocarbonoclastas, hongos totales e hidrocarbonoclastas.

El número de microorganismos se reportó como unidades formadoras de colonias por gramo de residuo (2).

$$\text{UFC/g} = (\text{NC} * 1/\text{FD} * 1/\text{V}) / \text{VM} \quad (2)$$

Donde:

UFC/ mL = unidades formadoras de colonias/ g

NC = número de colonias en una caja

FD = factor de dilución que corresponde a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inocula la caja (10^{-2} a 10^8)

V = volumen inoculado en la caja (0.1 mL)

VM = peso de la muestra

A partir de las diluciones en placa se seleccionaron colonias bien definidas y diferentes para el aislamiento de las bacterias provenientes de los residuos alfalfa y aserrín.

6.5.1 Obtención de inóculos de bacterias hidrocarbonoclastas

Para determinar la biodegradabilidad, además del aporte bacteriano de los residuos orgánicos vegetales y para los sistemas bioaumentados, se obtuvo un consorcio bacteriano con capacidad de degradar hidrocarburos. Las cepas del consorcio fueron proporcionadas por el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP). Asimismo, se unieron y propagaron los microorganismos hidrocarbonoclastas aislados de los dos residuos lignocelulósicos.

La propagación del inóculo se realizó en frascos Wheaton de 250 mL y con 100 mL de MMB, con hidrocarburo como fuente de carbono y energía (O, D y P) los cuales se inocularon con 10 mL del consorcio de bacterias hidrocarbonoclastas (obtenido del IMP). Los inóculos se incubaron durante 2 días. Las condiciones de la incubación fueron: temperatura 28°C, agitándose cuatro veces al día (Fig. 12, 13 y 14).



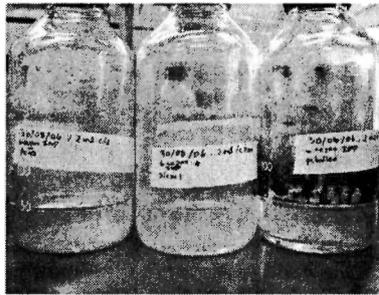


Figura 12. Obtención de inóculos de bacterias hidrocarbonoclastas..

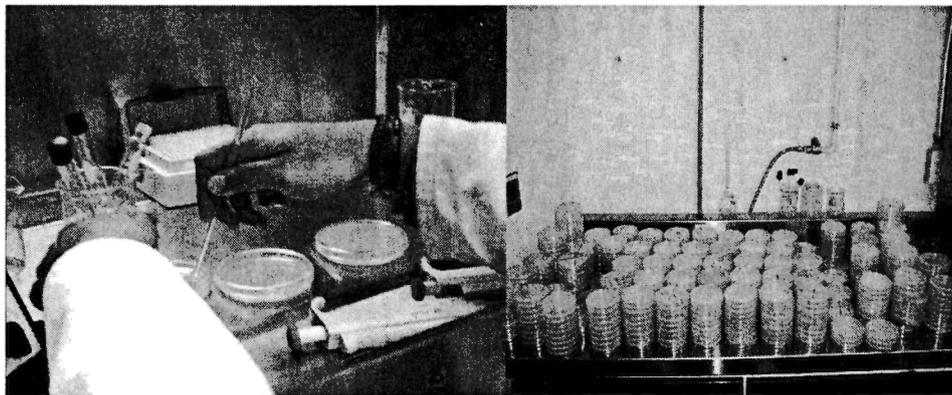


Figura 13. Determinación de bacterias aerobias por cuenta en placa

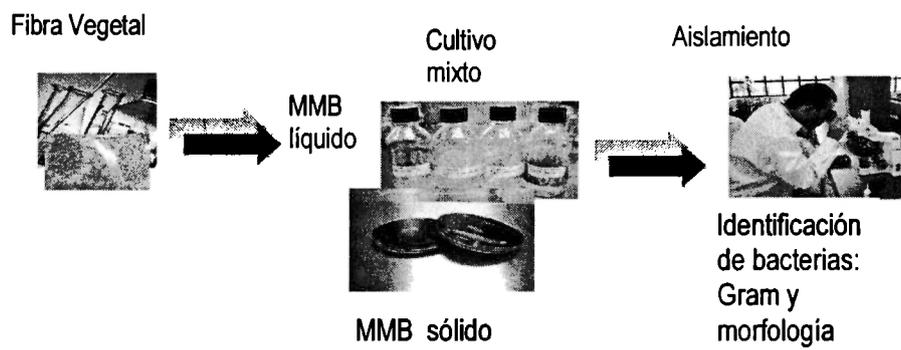


Figura 14. Metodología para el aislamiento de bacterias heterótrofas hidrocarbonoclastas



6.5.2 Caracterización morfológica micro y macroscópica de los microorganismos aislados

La identificación de bacterias de los residuos lignocelulósicos se realizó por tinción de Gram y microscopia y caracterización de la morfología de las cepas (cocos y bacilos) y de las colonias (Fig. 15).

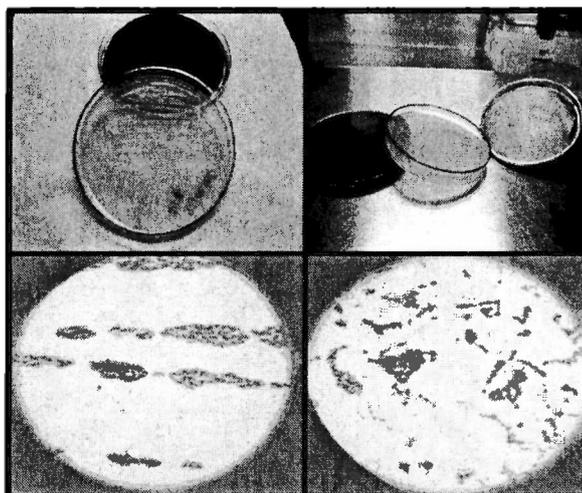


Figura 15. Selección y purificación de colonias bacterianas.

6.6 Disposición de la matriz absorbida por biodegradación

Para las pruebas de biodegradabilidad, se analizaron tres proporciones de matriz absorbida residuo limpio (R:H): proporción 25:75, 50:50 y 75:25 y con tres tratamientos: bioestimulado (B), no bioestimulado (NB) y abiótico (AB). En el tratamiento B las condiciones para la bioestimulación de los sistemas se establecieron en base a lo reportado, para el tratamiento de suelos contaminados en biopilas con residuos lignocelulósicos, por Rojas *et al.*, (2006), la cual era de (C:N:P) 100:3:0.5 Como fuente de nitrógeno se utilizó urea ((NH₂)₂CO) y de fósforo difosfato de potasio (K₂HPO₄), recomendados en un estudio de biopilas realizado en el IMP (Rojas *et al.*, 2005); para la determinación de humedad se hizo una prueba preliminar de absorción de agua, y se estableció aplicar para la proporción 25:75 10 mL, 20 mL para la 50:50 y 40 mL para 75:25. A los controles abióticos únicamente se les agregó ázida de sodio (se preparó una solución de 0.45 g/ mL) para inhibir el crecimiento de microorganismos. (Tabla 8)

6.7 Determinación de las condiciones de cultivo (relación C:N:P y % de humedad) para los sistemas bioestimulados

Los sistemas se realizaron en botellas de vidrio de 450 mL con tapa de rosca metálica. Se adicionaron 20 g de residuo lignocelulósico impregnado con los 3 tipos de hidrocarburos (P, D y O). Para agregar el residuo, primero se colocaron los gramos de paja de alfalfa o aserrín, posteriormente se vertió el hidrocarburo. Se homogeneizó el residuo con el hidrocarburo mediante una espátula, y se agregaron finalmente el volumen de agua, los nutrientes y el inóculo. Para inhibir el crecimiento bacteriano, se agregó 0.45 g/mL de ázida de sodio en el caso de los controles abióticos. (Tabla 8) A continuación las botellas se sellaron. Cada sistema contenía un recipiente forrado con aluminio, con 10 mL de solución 0.2 M de NaOH, para medir la cantidad de CO₂ producto de la respiración de los microorganismos.

Una vez montadas las unidades por triplicado en los microcosmos, se incubaron a 28°C en obscuridad durante dos meses. Durante el tiempo de experimentación se determinó la producción de CO₂ a los 4, 7, 9, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 31, 34, 38, 41, 45, 48, 52, 55, 57 y 60 días en cada frasco. La microflora microbiana al día 5 y 60 de incubación, inicio y final. Así como los hidrocarburos totales de petróleo al final del tratamiento

Tabla 8. Proporciones de nutrientes de los sistemas de biodegradación

Denominación o clave	Proporción residuo impregnado:limpio	Tipo de HC	Tipo de Residuo	Contenido de hidrocarburo		Contenido de N (g) (100:3)	Contenido de P (g) (100:0.5)	mL de agua empleados por proporción
				mL de HC	G de HC			
25:75-A-P-B	25:75	Petróleo	Alfalfa	57.30	52.95	7.6	0.5	10
50:50-A-P-B	50:50	Petróleo	Alfalfa	38.22	35.31	5.1	0.3	20
75:25-A-P-B	75:25	Petróleo	Alfalfa	19.11	17.66	2.5	0.2	40
25:75-A-D-B	25:75	Diesel	Alfalfa	31.42	26.30	3.8	0.3	10
50:50-A-D-B	50:50	Diesel	Alfalfa	20.94	17.53	2.5	0.2	20
75:25-A-D-B	50:50	Diesel	Alfalfa	10.47	8.77	1.3	0.1	40
25:75-A-O-B	25:75	Aceite	Alfalfa	57.76	51.29	7.3	0.5	10
50:50-A-O-B	50:50	Aceite	Alfalfa	38.51	34.20	4.9	0.3	20
75:25-A-O-B	75:25	Aceite	Alfalfa	19.25	17.10	2.4	0.2	40
25:75-W-P-B	25:75	Petróleo	Aserrín	64.80	59.88	8.6	0.5	10
50:50-W-P-B	50:50	Petróleo	Aserrín	43.25	39.96	5.7	0.4	20
75:25-W-P	75:25	Petróleo	Aserrín	21.63	19.98	2.9	0.2	40
25:75-W-D-B	25:75	Diesel	Aserrín	33.21	27.80	4.0	0.3	10
50:50-W-D-B	50:50	Diesel	Aserrín	22.14	18.53	2.7	0.2	20
75:25-W-D-B	75:25	Diesel	Aserrín	10.47	8.77	1.3	0.1	40
25:75-W-O-B	25:75	Aceite	Aserrín	70.43	62.54	9.0	0.6	10
50:50-W-O-B	50:50	Aceite	Aserrín	46.95	41.70	6.0	0.4	20
75:25-W-O-B	75:25	Aceite	Aserrín	23.48	20.85	3.0	0.2	40



Simbología:

A=alfalfa; W=aserrín; P=petróleo, D=diesel, O=aceite gastado

B=biotestimulado, NB=no bioestimulado, AB=abiótico



Figura 16 . Determinación de la actividad microbiana (CO_2) por titulación ácido-base (Alef, 1998).

6.8 Evolución de dióxido de carbono

Para la determinación de CO_2 , se sacaban los recipientes que contenían la solución 0.2M de NaOH, ésta se vertía en un matraz erlenmeyer de 25 mL, a continuación se le colocaban tres gotas de solución indicadora (fenolftaleína), y se realizaba la prueba de titulación con una solución 0.2 M de HCl, hasta conseguir el vire. Se llenaban nuevamente los recipientes con la solución de NaOH, y se volvían a colocar dentro de los frascos. Las botellas o frascos se dejaban abiertas por cinco minutos para permitir un intercambio de atmósfera y favorecer las condiciones aerobias de los tratamientos. (Fig. 16).

Calculo de los resultados. En el proceso de respiración, una parte del hidróxido de sodio se combina con el CO_2 y otra parte queda libre; por tanto se trata de determinar la cantidad de NaOH libre (en la titulación se utilizan "X" mL de HCl 0.2 M, se cuantifican la cantidad de moles contenidos en 10 mL de NaOH (Cantidad de moles= $(0.002)\cdot X\cdot 0.0002$). Por cada mL de 0.2 M NaOH, se tienen 44 mg de CO_2 . Al multiplicar esta cantidad, por los moles de NaOH, se obtienen la cantidad de CO_2 resultante de la respiración por parte de los microorganismos en cada sistema.



6.9 Extracción de hidrocarburos

Después de los dos meses de tratamiento, se cuantificaron los hidrocarburos totales por gravimetría después de extracción Soxhlet: se colocaron 3.5 g de muestra (matriz residuo-hidrocarburo). Se mezclaron con sulfato de sodio anhidro en una relación residuo:sulfato 1:1 y se colocaron en un dedal de extracción. Posteriormente se colocó cada cartucho conteniendo las muestras dentro de la columna extractora de un equipo Soxhlet Glas-Col (Fig. 17) Se adicionaron 145 ± 5 mL de diclorometano en cada matraz "bola" y se colocaron suficientes perlas de ebullición para evitar la proyección del solvente al calentarse. La temperatura se mantuvo en 50°C. Cada muestra se mantuvo en reflujo constante durante 8 h. Posteriormente se pasaron los matraces a un rotavapor Braüm y se concentró el extracto orgánico eliminando el solvente. Una vez obtenido el concentrado, para su cuantificación se pesaron los matraces nuevamente, y por diferencia de pesos se determinó la cantidad de hidrocarburo que fue recuperado de cada una de las muestras. La diferencia de pesos que resultó corresponde al contenido total de HTPs. (3).

$$\text{HTPs (g de HTP/g de residuo)} = (R_b - R_a) * (FC) / (P * FH) \quad (3)$$

Donde:

HTPs (mg/Kg de m.s.) = hidrocarburos totales del petróleo en mg/ Kg de muestra seca

R_a = peso (mg) del recipiente vacío a peso constante

R_b = peso (mg) del recipiente con el extracto orgánico concentrado

P = cantidad de muestra extraída (g).

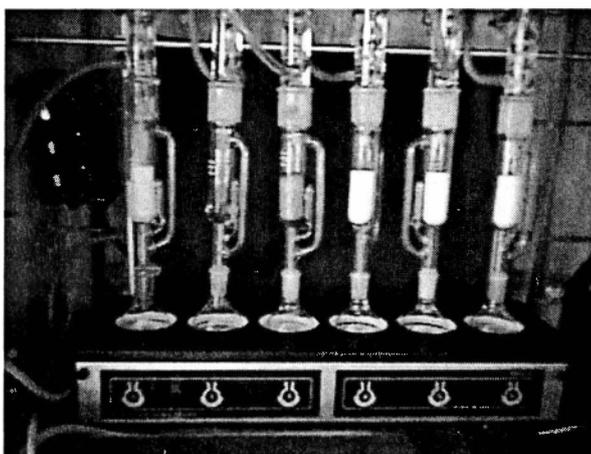


Figura 17. Equipo de extracción Soxhlet

6.9. Determinación de la capacidad calorífica de las matrices residuo—hidrocarburo.

La determinación del poder calorífico (o capacidad calorífica) se realizó con un calorímetro Shimadzu DSC-60, que emplea un ambiente inerte (con nitrógeno). Se determinó la capacidad calorífica del aserrín y la alfalfa, del diesel, el petróleo y el aceite gastado, así como las matrices absorbidas de los dos residuos con los tres hidrocarburos.

- Alfalfa con diesel (A-D), Alfalfa con aceite gastado (A-O), y alfalfa con petróleo (A-P)
- Aserrín con diesel (W-D), aserrín con aceite gastado (W-O) y alfalfa con petróleo (W-P).

Antes de cada análisis, las muestras (matrices absorbidas, hidrocarburo y residuos), se calentaron dentro del recipiente que las contenía a 45 C, introduciéndolas en un baño a la temperatura indicada, durante dos horas, posteriormente se pesaron de 0.5 a 1 mg de cada una de las muestras, colocadas en una celda de aluminio y analizadas en el equipo ya mencionado. El protocolo de operación del calorímetro se detalla a continuación: primero se abrió el horno en donde se colocaron las celdas de aluminio, colocando éstas del lado derecho, y la celda de referencia del lado izquierdo. Se encendió el controlador de flujo de nitrógeno FC-60^a, abriendo el canal 2 del aparato, y se puso un flujo de 100 mL de N₂/ min. En el software controlador del Calorímetro, se establecieron las condiciones de medición: la velocidad de calentamiento fue de 10°C/ min hasta alcanzar los 500°C. Esta temperatura se mantuvo constante durante 20 min.

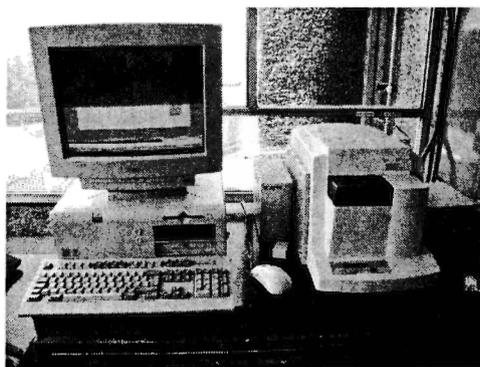


Figura 18. Equipo para determinación de capacidad calorífica Shimadzu DSC-60

6.10. Análisis estadístico

Es importante definir algunos términos que se utilizan en el análisis estadístico para facilitar la interpretación de los resultados. El término “tratamiento” se usa para denominar los distintos procesos cuyos efectos van a ser medidos o comparados (Cochran y Cox, 1991). Para que un experimento sea



estadísticamente confiable se realizan repeticiones de los tratamientos (Kuehl, 2001). De acuerdo con lo anterior se llevaron a cabo tres tratamientos: bioestimulado (B), no bioestimulado (NB) y abiótico (AB).

Cuando se comparan tratamientos es necesario sustentar las relaciones de diferencia-similitud estadísticamente. La variación producida por factores distorsionantes, tanto conocidos como desconocidos, se denomina error experimental, normalmente solo una pequeña parte de él puede ser atribuido a error en la medición. Los efectos adversos de error experimental pueden reducirse mediante el análisis y diseño experimental adecuados (Box *et al.*, 2000). El bloqueo es un medio para reducir y controlar la varianza del error experimental con el fin de lograr una mayor precisión. (Kuehl, 2001).

Todos los tratamientos fueron tratados estadísticamente con el programa Statistica 6, Se realizó en todos los casos el análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Finalmente, cuando se rechazó la igualdad de medias de tratamientos en el análisis de varianza ($\alpha < 0.05$), se utilizaron el análisis de Fisher y la prueba de Tukey.



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Contenido de humedad y cenizas

El contenido de humedad en los residuos varió del 6% para aserrín al 12% para el caso del maíz. (Fig. 19) Todos los residuos presentaron diferencia significativa ($\alpha \geq 0.05$) en el contenido de humedad, menos entre la cebada y la avena. La cebada junto con el maíz y la avena presentaron el mayor contenido de cenizas (1.12%, 1.07% y 1.21%, respectivamente. y la que presentó el menor contenido fue el aserrín, con el 0.69%.

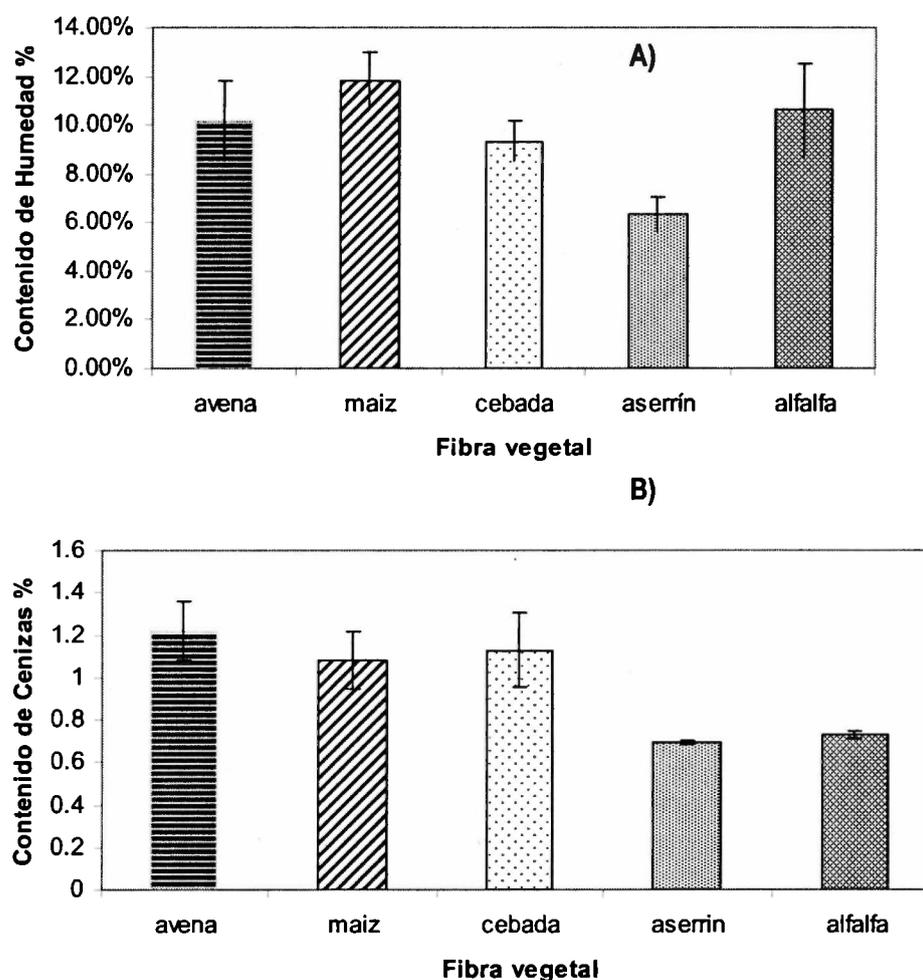


Figura 19. A) Contenido de humedad (%); B) ceniza (%) de los diferentes residuos lignocelulósicos probados.



7.2. Capacidad de absorción de petróleo y efecto de la humedad en la absorción

La capacidad de absorción de los residuos incrementó de forma significativa ($\alpha \geq 0.05$) cuando se encuentran secos, menos para el aserrín que si aumenta, pero no presenta diferencia significativa, esto se debe a la baja humedad del aserrín. De los cuatro residuos, el aserrín presentó la mayor capacidad de absorción, 4.9 g de Petróleo/ g de absorbente (Fig. 20). Capacidad similar a los obtenidos con el producto comercial "Absorb" (Bremauntz *et al.*, 2005), que presenta una capacidad absorbente cercana a los 5 g de petróleo/ g de absorbente, así como la fibra de coco, y tela "luffa", que es de 5.6, y de 4.58 g de petróleo/ g de absorbente, respectivamente (Annunciado *et al.*, 2005). Existe diferencia significativa ($\alpha \geq 0.05$) entre la capacidad de absorber petróleo de los diferentes residuos analizados; el aserrín y la alfalfa fueron las matrices más eficientes y seleccionadas para las pruebas posteriores.

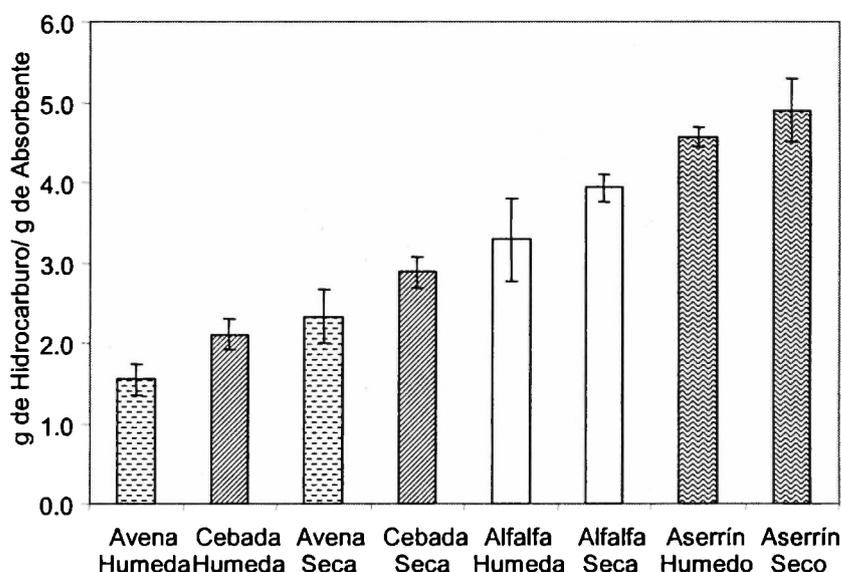


Figura 20. Capacidades de absorción de petróleo de los residuos lignocelulósicos y efecto de la humedad.

7.2.1 Selección del soporte de los residuos (capacidad de absorción del soporte)

Se hicieron pruebas a tres diferentes soportes (tela peyón, papel filtro y tela mosquitero) para contener el residuo lignocelulósico. El soporte con mayor capacidad absorbente fue el papel filtro, seguida de la tela peyón, y la malla para mosquitero presentó la menor capacidad (Fig 21). La tela mosquitero se descartó, debido a que el absorbente, en la mayor parte de los casos, se encuentra en partículas finas, las cuales no lograrían ser retenidas y habría pérdida del absorbente.

El papel filtro presentó una capacidad absorbente igual a la de la alfalfa en peso húmedo (3.29 g de Petróleo/ g de papel filtro); sin embargo, es poco apto para manejarlo como soporte, pues es poco maleable y no tan resistente pudiendo romperse y liberar el absorbente. Así en función de las

características de los soportes y tomando en cuenta el tamaño de las partículas de residuo lignocelulósico, se seleccionó la tela peyón (Fig. 22) como soporte para las pruebas, ya que presentó una capacidad absorbente alta, no permite la pérdida del absorbente y es fácil de manejar y resistente.

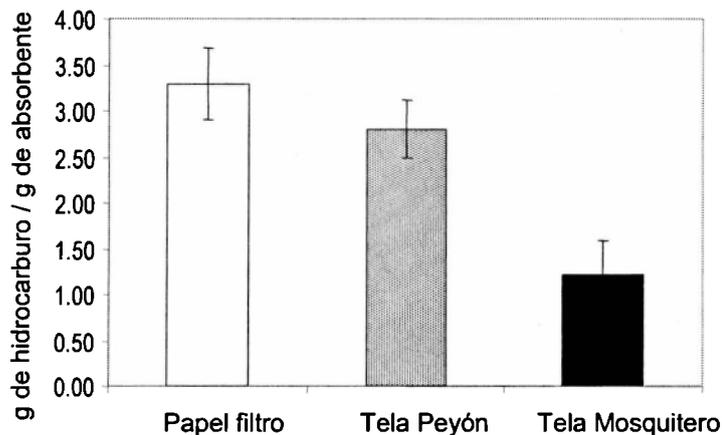


Figura 21. . Capacidad de absorción de petróleo de los soportes.

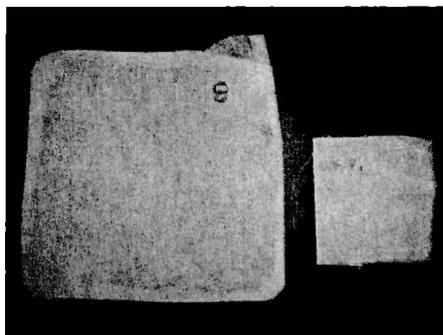


Figura 22. Soporte de los residuos de tela "peyón"

7.3 Cinética de absorción de petróleo, diesel y aceite gastado con los absorbentes en bolsas de peyón.

La mayor absorción de petróleo la presentó el aserrín, alcanzando retener 5.64 g de Petróleo / g de aserrín. Para el caso de la alfalfa, la máxima absorción fue de 4.91 g de Petróleo/ g de absorbente. El resto de los materiales probados presentaron menor absorción de petróleo (de 2.88 y 2.32 g de Petróleo/ g de absorbente) (Fig. 23) No hay diferencias significativas en la capacidad de absorción entre residuos con el mismo hidrocarburo ($\alpha \leq 0.05$), sin embargo se presentaron diferencias significativas en la capacidad de absorción de los residuos para diferentes hidrocarburos.

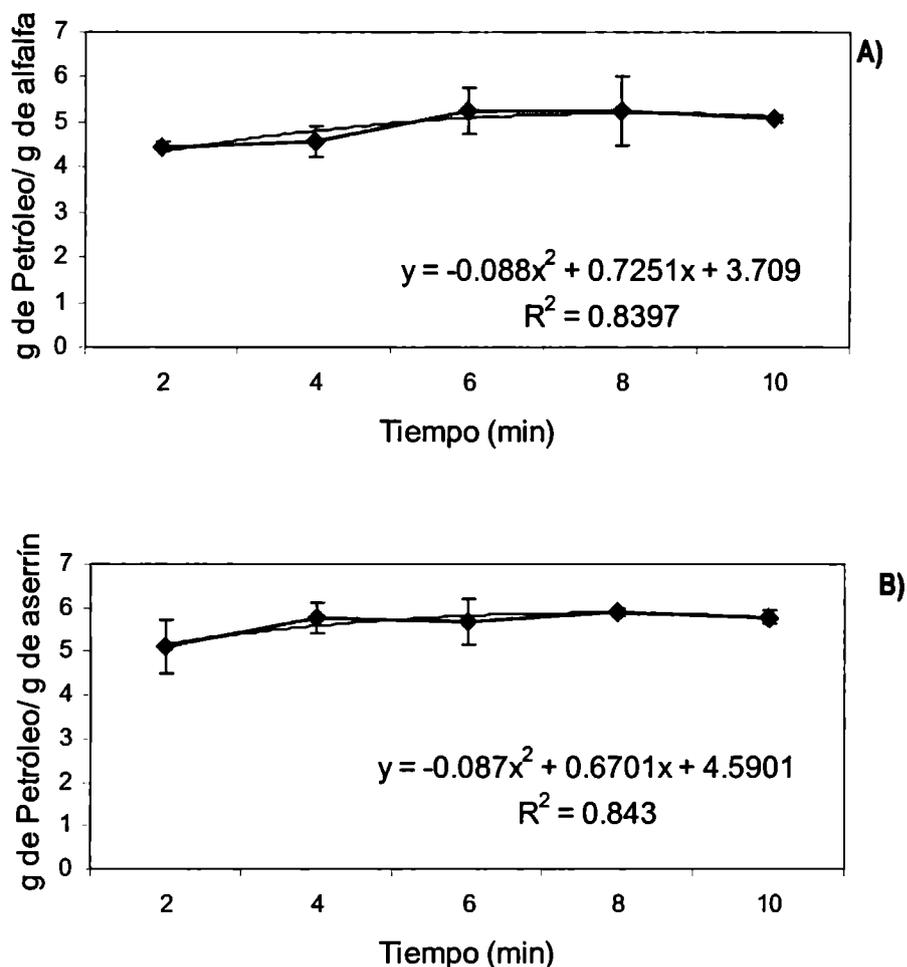


Figura 23. Cinética de absorción de petróleo por alfalfa (A), A; y aserrín (W), B.

Las cinéticas de absorción obtenidas con aserrín como con alfalfa, se ajustan a una ecuación de segundo grado, siendo $y = -0.088x^2 + 0.7251x + 3.709$, con un coeficiente de correlación $R^2 = 0.8397$ (el modelo no explica solo el 16.03% del total de la variación); $y = -0.087x^2 + 0.6701x + 4.5901$, con un coeficiente de correlación $R^2 = 0.843$ (el modelo no explica el 15.7% del total de la variación), respectivamente.



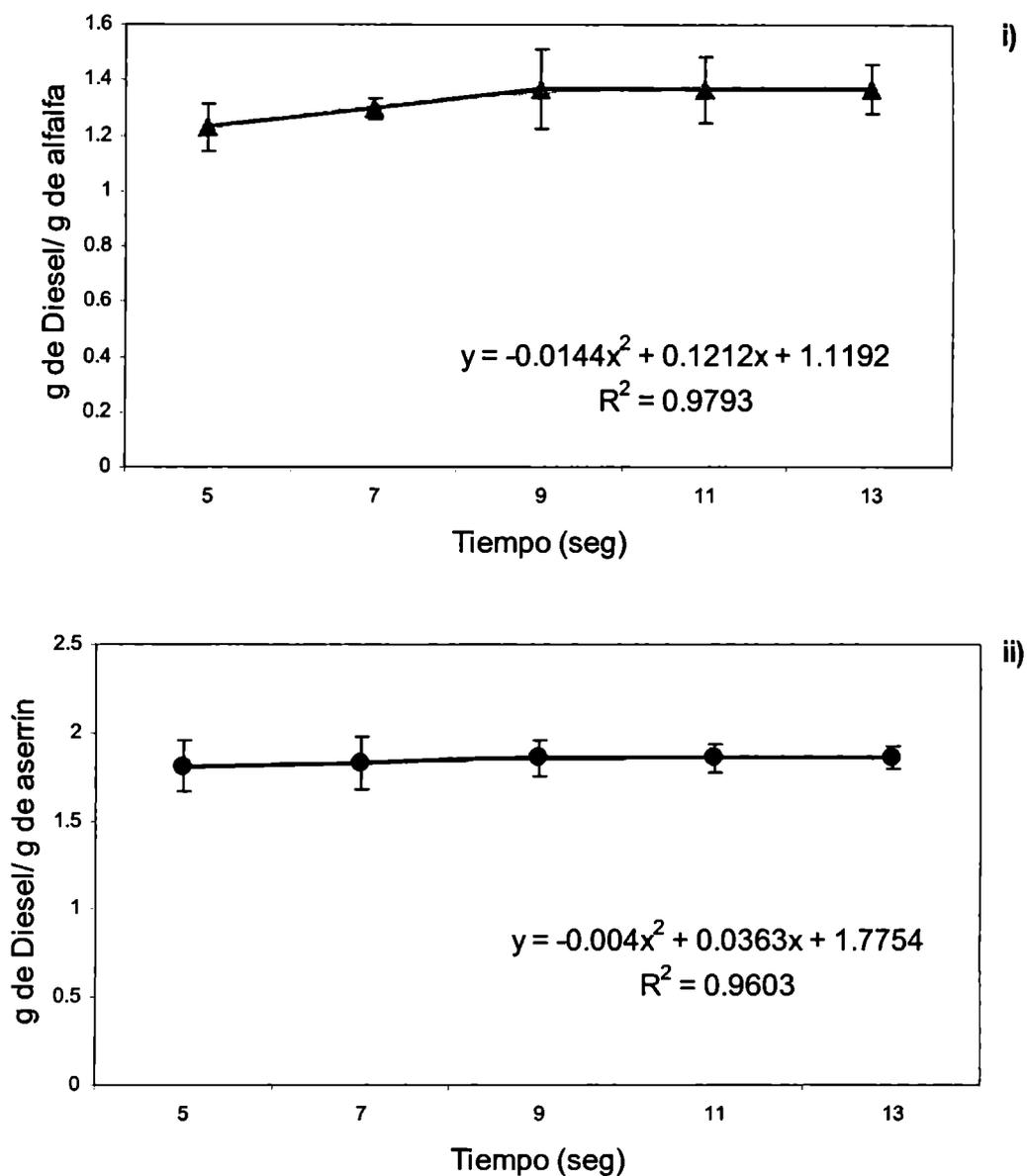


Figura 24. Cinética de absorción de diesel (D) por alfalfa (A), i; y aserrín (W), ii.

Para el caso de absorción de diesel (D) con alfalfa, el tiempo al que se presentó la máxima absorción fue a los 9 segundos con 1.3661 g de D/ g de alfalfa, ajustándose a una ecuación de segundo grado $y = -0.0144x^2 + 0.1212x + 1.1192$ con una $R^2 = 0.9793$ (no explicando el 2.07% de variación). Con aserrín, la máxima absorción 1.854 g de D/ g de aserrín, se alcanzó también a los 9 segundos, con una ecuación de segundo grado $y = -0.004x^2 + 0.0363x + 1.7754$, con una $R^2 = 0.9603$ (no explicando el 3.97% de variación del modelo) (Fig. 24).



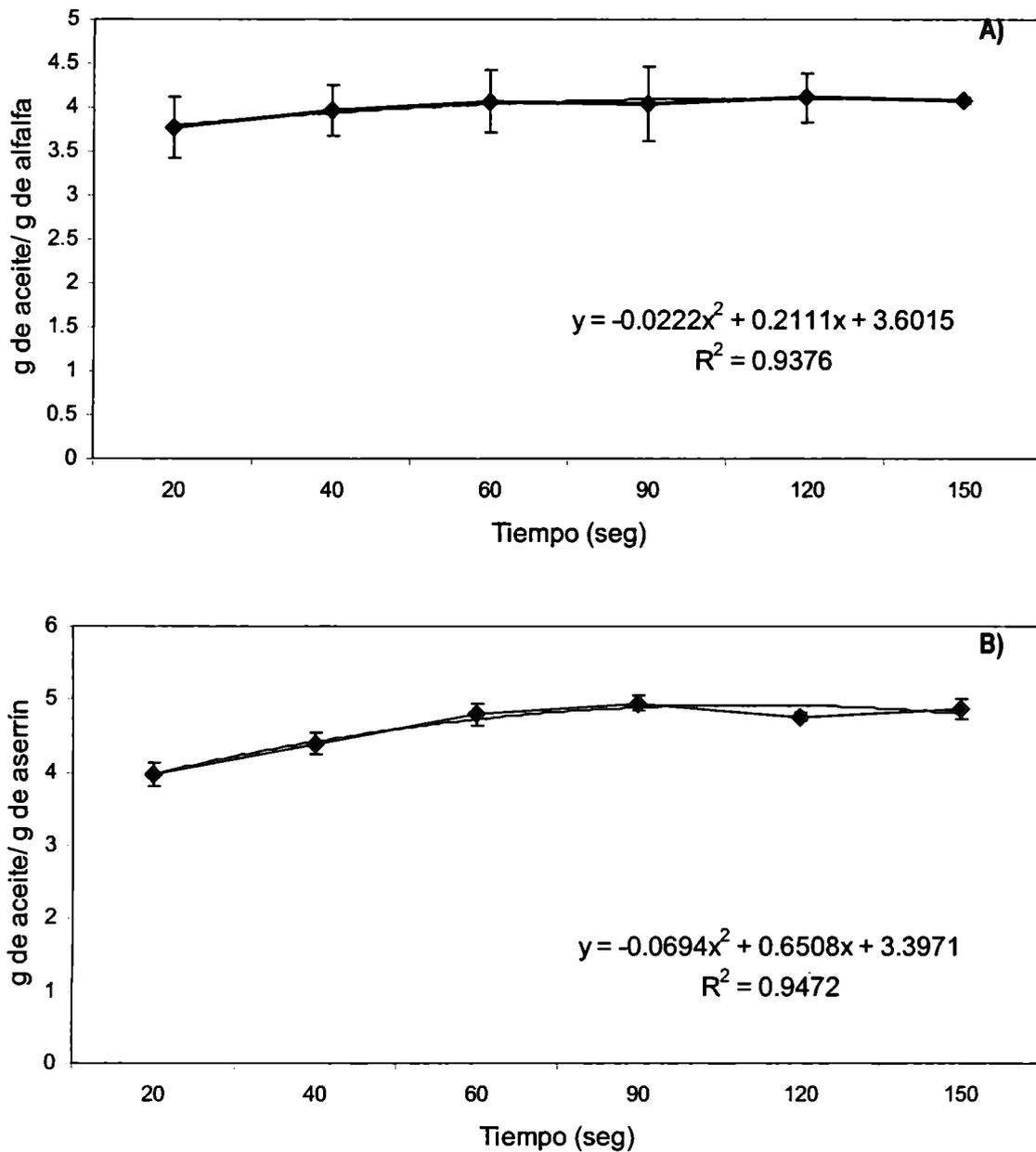


Figura 25. Cinética de absorción de aceite gastado (O) por residuos lignocelulósicos de alfalfa, A; y aserrín, B.

Para el caso del aceite gastado, el tiempo al que se presentó la máxima absorción fue a los 120 segundos con 4.1121 g de O/ g de alfalfa, ajustándose a una ecuación de segundo grado $y = -0.0222x^2 + 0.2111x + 3.6015$, con un $R^2=0.9376$ (no explicando un 6.24% de la variación total del modelo). Con el aserrín, la máxima absorción a los 120 segundos con 4.7638 g de O/ g de aserrín, ajustándose a una ecuación de segundo grado $y = -0.0694x^2 + 0.6508x + 3.3971$, con una $R^2=0.9472$ (5.28% de variación) (Fig. 25).

7.4 Determinación de la microflora y aislamiento de bacterias heterótrofas e hidrocarbonoclastas de los residuos lignocelulósicos

Se aislaron cinco cepas bacterianas a partir de la alfalfa (Tabla 9). Sin embargo, no hubo crecimiento de hongos heterótrofos ni hidrocarbonoclastas a partir de este residuo. El aserrín no contenía ni hongos ni bacterias heterótrofos o degradadores de hidrocarburos viables cultivables. La población de microorganismos heterótrofos de la alfalfa fue de 3.5×10^5 UFC/g, dos órdenes de magnitud mayor que la mínima recomendada por Fahnestock *et al.*, (1998) de 1×10^3 UFC/g para procesos de biodegradación en suelos.

Tabla 9. Características Morfológicas de las cepas aisladas a partir de la alfalfa.

Cepa	Gram	Morfología	Forma	Elevación	Borde	Color	Superficie
AB1	Negativo	Cocos	Irregular	Acuminada	Entero	Blanco	Rugosa
AB2	Negativo	Cocos	Irregular	Acuminada	Entero	Blanco	Rugosa
AB3	Negativo	Cocos	Irregular	Elevada	Entero	Blanco	Lisa
AC2	Positivo	Bacilos	Irregular	Elevada	Lobulado	Transpar.	Rugosa
AC4	Negativo	Bacilos	Circular	Convexa	Entero	Transpar.	Lisa

7.5 Biodegradación de hidrocarburos de las matrices absorbidas.

En las pruebas de biodegradabilidad se determinaron los siguientes parámetros a diferentes tiempos del estudio (2 meses): cuenta microbiana, biodegradación de los tres tipos de hidrocarburos probados y evolución de CO₂.

7.5.1 Cuenta microbiana

Comportamiento de las poblaciones microbianas en los tratamientos bioestimulados (TB).

Con respecto a los tratamientos Bioestimulados (B) y No Bioestimulados (NB), en la primera medición de microorganismos (que fue al quinto día), la cuenta fue muy similar para ambos tratamientos, 4.96×10^7 UFC/g y 3.07×10^7 respectivamente. Sin embargo, al final del tratamiento (transcurridos dos meses), hubo una disminución de tres órdenes de magnitud, en los tratamientos Bioestimulados, encontrándose en 1.6×10^4 UFC/g, mientras que en los tratamientos NB la cuenta se mantuvo en el mismo orden de magnitud, 1.55×10^7 UFC/g. (Fig. 26).



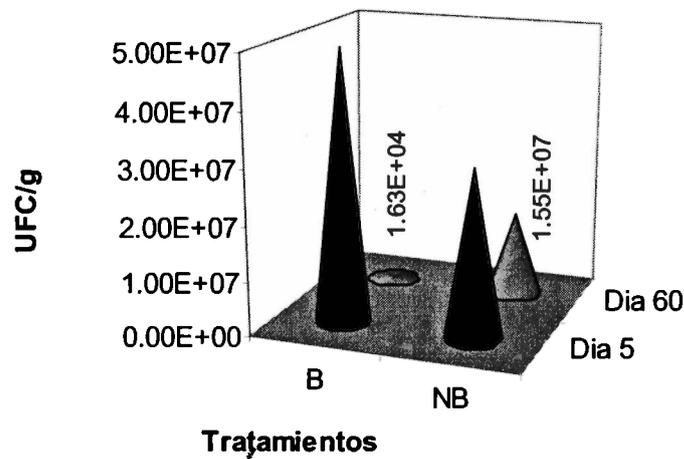


Figura 26. Numero de bacterias al inicio y fin de los tratamientos bioestimulados (B) y no bioestimulados (NB); representa la media de todos los tratamientos.

Considerando el tratamiento por residuo, en el caso de la alfalfa, ésta presentó 1.55×10^7 UFC/g (alfalfa bioestimulada) y 2.12×10^4 UFC/g (alfalfa no bioestimulada), respectivamente; y para el caso del aserrín, de 1.55×10^4 UFC/g (aserrín bioestimulado). Cabe aclarar que no se realizaron tratamientos de aserrín no bioestimulados, debido a que este sustrato no contenía ni bacterias ni hongos hidrocarbonoclastas, por lo que como control se tomó en cuenta únicamente la alfalfa. El bajo número de bacterias, no esperado en los sistemas bioestimulados, se puede deber a que la cuenta inicial fue determinada al quinto día de haber sido inoculado, período en el cual los nutrientes adicionados pudieron tener un efecto negativo en la microflora nativa e inoculada, debido a la producción de amonio y por consecuencia aumento del pH de los sistemas. Por otra parte la cuenta alta en los sistemas no bioestimulados se atribuye al aporte microbiano del residuo. Contrario a lo esperado, al final del tratamiento la cuenta de microorganismos fue mayor en los tratamientos no bioestimulados, que en los bioestimulados:(Fig. 27). En los controles abióticos, no hubo crecimiento de microorganismos.

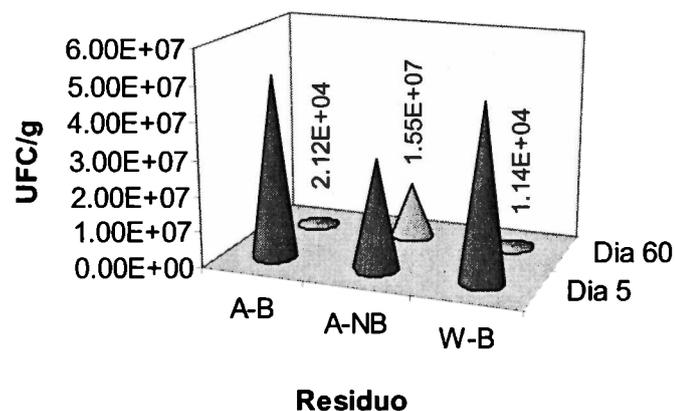


Figura 27. Efecto del tipo de residuo en la cuenta microbiana; lignocelulósico bioestimulado (B) y no bioestimulados (NB) (A, alfalfa; W, aserrín)



En cuanto al efecto de la proporción residuo:hidrocarburo en el crecimiento de microorganismos en los sistemas, en el caso de la alfalfa, la que presentó una mayor cuenta bacteriana fue la proporción 50:50 (2.14×10^7 UFC/g), seguida por la proporción 75:25 con $1.33 \cdot 10^6$ UFC/g. (Fig. 28).

Para el caso del aserrín, la proporción que presentó mayor cuenta bacteriana fue la 75:25 (con 2.3×10^4 UFC/g), continuando la proporción 50:50 (con 1.07×10^4 UFC/g). Se esperaba que hubiera mayor crecimiento en la proporción 75:25, debido a que al haber más biomasa de residuo, se espera un mayor aporte de microorganismos además de un efecto de dilución que hace el sistema menos tóxico y mas degradable.

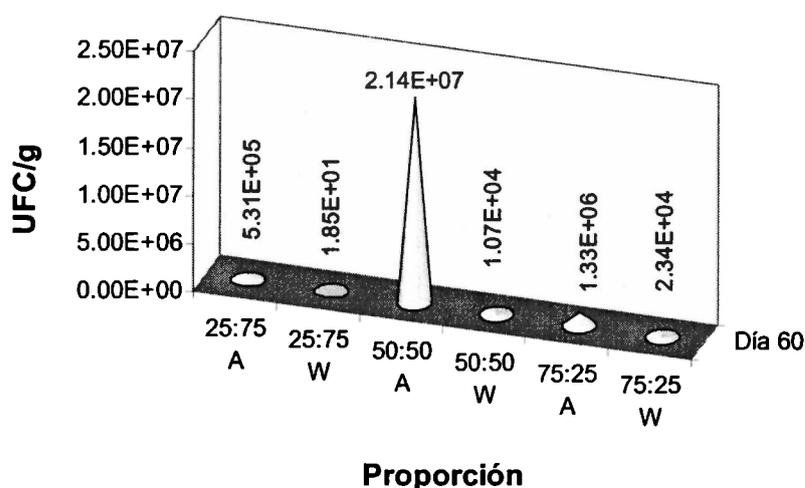


Figura 28. Efecto de la proporción y el residuo en el crecimiento bacteriano aserrín (W) y alfalfa (A)

Considerando B y NB,, conjuntamente con la proporción R:H, la proporción 25:75 al día 60, fue la que presentó el mayor número de microorganismos, siendo la alfalfa con diesel para el caso de los TNB (1.79×10^6 UFC/g), y en TB fue la alfalfa con aceite gastado (1.2×10^2 UFC/G); en proporción 50:50 (día 60) fue 1.24×10^8 UFC/g en TNB, y de 3.2×10^4 en TB. En 75:25, para TNB fue alfalfa con petróleo (5.5×10^6 UFC/g) y para TB, alfalfa con diesel (1.9×10^5 UFC/g). Por tanto, hubo mayor crecimiento de microorganismos en TB con diesel, y con la proporción 75:25. Y para TNB, con petróleo, y con la proporción 50:50 (Fig. 29).

En los sistemas no bioestimulados, el número de microorganismos presentes en el primer conteo presentó una variación de 1.4×10^2 (25:75-A-P-NB) a 7.7×10^7 (50:50-A-D-NB). En el segundo conteo, se observa una disminución de las UFC/ g, fluctuando entre 2×10^5 (75:25-A-O-NB) y 1.24×10^8 (50:50-A-P-NB) (Fig. 30).



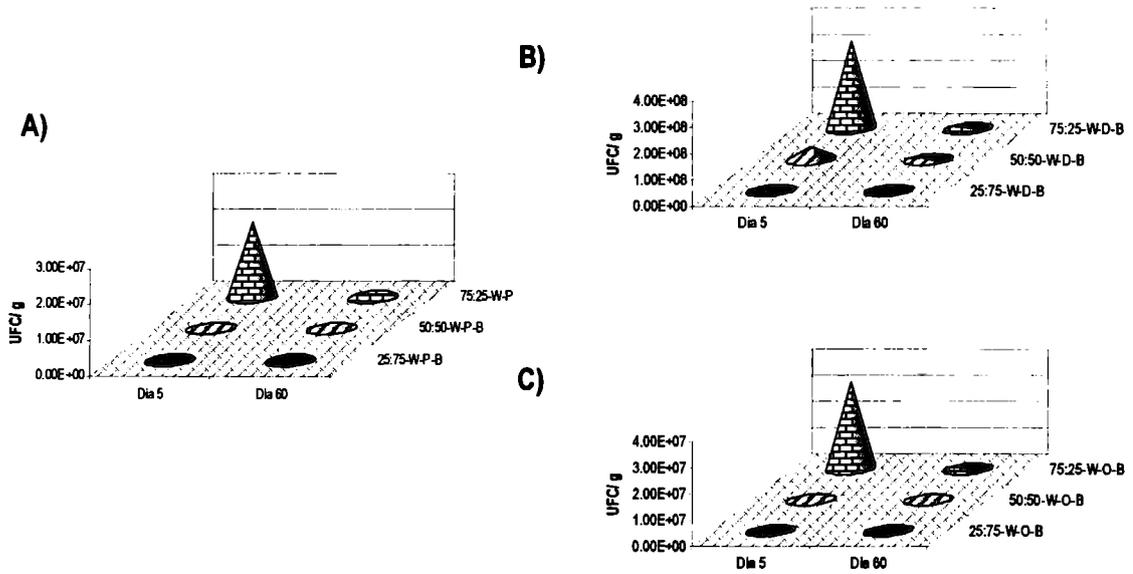


Figura 29. Número de bacterias heterótrofas aerobias al inicio y final del tratamiento en los sistemas con aserrín y bioestimulados. A) con petróleo; B) con diesel; C) con aceite gastado. Simbología: W=aserrín; B=bioestimulado; P=petróleo; D=diesel; O=aceite gastado

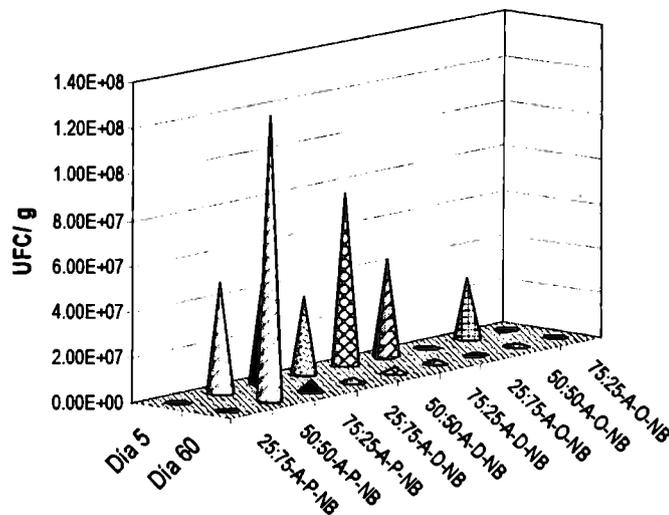


Figura 290. Número de bacterias heterótrofas aerobias en sistemas no bioestimulados. A) con petróleo; B) con diesel; C) con aceite gastado. Simbología: A=alfalfa; B=bioestimulado; P=petróleo; D=diesel; O=aceite gastado.

Los resultados de las poblaciones de bacterias aerobias en los tratamientos disminuyeron, aun cuando se le adicionaron nutrientes tanto al principio como al día 45 de medición. En los microcosmos que se emplearon como control, que no se inocularon cepas hidrocarbonoclastas, hubo crecimiento de microorganismos degradadores de hidrocarburo (entre ellos, hongos), lo que indica que la alfalfa presenta



microorganismos endógenos capaces de biodegradar sustancias complejas como los hidrocarburos probados. Durante el tiempo de tratamiento las comunidades microbianas pueden sufrir cambios en su composición y tamaño, debido a la disponibilidad de nutrientes y necesidades de cada especie (Smith *et al.*, 1998)

7.5.2. Biodegradación de hidrocarburos.

Debido a las variables que se manejaron en los tratamientos: bioestimulado y no bioestimulado, tipo de hidrocarburo, proporción R:H y dos residuos lignocelulósicos, para el análisis de los datos de biodegradación se sacaron promedios por variable. 1) Tipo de Hidrocarburo, comparando todos los tratamientos con Diesel vs. con petróleo vs. con diesel; 2) Proporción residuo:hidrocarburo 25:75 vs 50:50 vs 75:25 ,3) el tipo de residuo aserrín vs. lalfalfa y 4) los bioestimulados (B) vs los no bioestimulados (NB).

Al finalizar la prueba de biodegradabilidad (día 60), el efecto de bioestimular y no bioestimulado dio como resultado que, el primero indujo una mayor tasa de biodegradación, con 27.81% (Fig. 31). Considerando la biodegradación por proporción de residuo:hidrocarburo, la que presentó mayor tasa de degradación fue la mas diluida o que tenía mas residuo limpio, los tratamientos 75:25 (29.93%). En cuanto al % de biodegradación por hidrocarburo, el que presenta la mayor biodegradabilidad fue el petróleo (33%), seguido por el diesel, el menos degradable fue el aceite gastado. Entre la alfalfa y el aserrín, el segundo tuvo mayor biodegradabilidad, con el 28%, mientras que en la alfalfa la biodegradabilidad fue del 27%. En el cado del aserrín aserrín, es posible que los microorganismos exógenos, provenientes del inóculo, se adaptaron mejor que en la alfalfa (que contenía *per se* un alto numero de microorganismos endógenos).

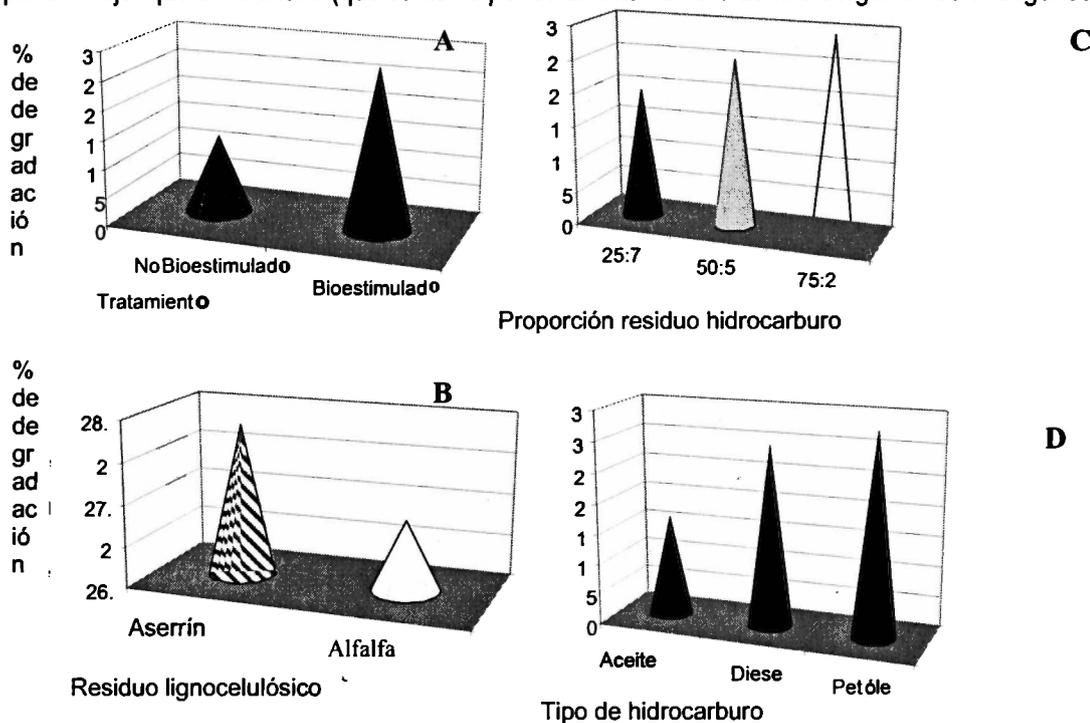


Figura 301. Por ciento de degradación. A) Tratamientos; B) Por residuo lignocelulósico; C) Por proporción residuo:hidrocarburo; D) Por hidrocarburo.



7.5.3. Evolución de CO₂

La producción de CO₂ como indicador de actividad biológica y degradación de hidrocarburos no pudo determinarse en los tratamientos bioestimulados, debido a que se infiere que hubo generación de amonio, por la degradación de la urea, empleada como fuente de nitrógeno. Esta actividad causó problemas en la técnica de titulación, debido a que el pH aumentó hasta llegar a 14 enmascarando la producción de CO₂, imposibilitando la adecuada realización de la técnica citada. El amonio, al ser una base fuerte, enmascaró completamente la producción de carbonatos que se debieron haber producido durante la reacción de la solución de hidróxido de sodio 0.2 M con la de ácido clorhídrico 0.2 M.

En los tratamientos no bioestimulados (TNB) la actividad microbiana medida por la producción acumulada de CO₂ fue diferenciándose de acuerdo al tipo de hidrocarburo contenido. Sin embargo en todos los tratamientos se observó que la producción fue decayendo con el tiempo durante los 60 días de tratamiento (Fig. 32).

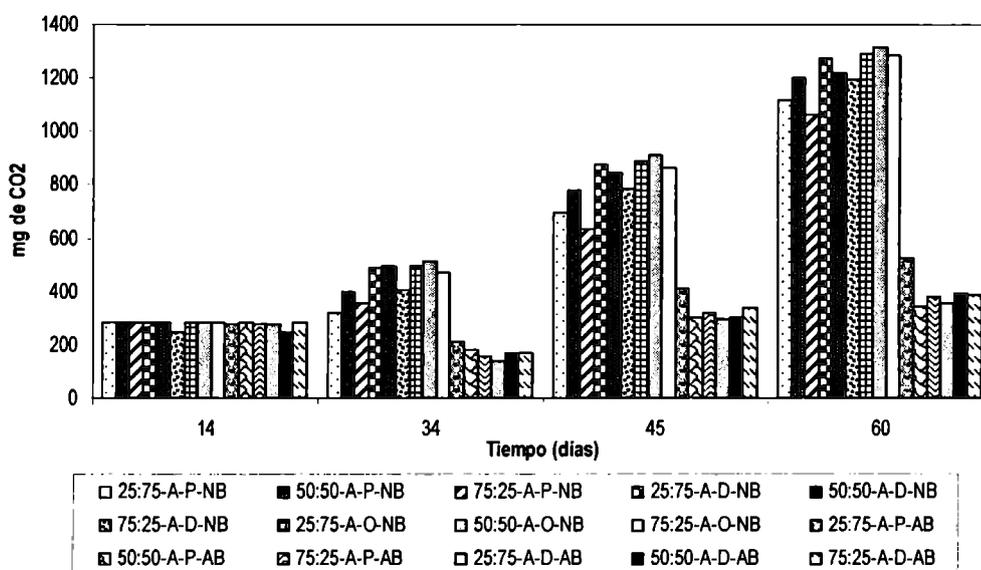


Figura 32. Acumulado de CO₂ en los sistemas NB y AB. La terminología es la siguiente: A=alfalfa; W=aserrín; P=petróleo, D=diesel, O=aceite gastado; B=biotestimulado, NB=no bioestimulado, AB=abiótico

Tomando en cuenta la proporción R:H, la mayor tasa de producción de CO₂ la presentaron las matrices impregnadas con aceite gastado, en las tres proporciones probadas continuando las matrices impregnadas con diesel y las matrices impregnadas con petróleo (Fig. 33). Sin embargo, en cuanto a capacidad de biodegradación, el aceite gastado presentó la menor, continuando el diesel y el petróleo presentando la mayor. No hay correlación positiva entre tasa de producción de CO₂ y capacidad de biodegradación.



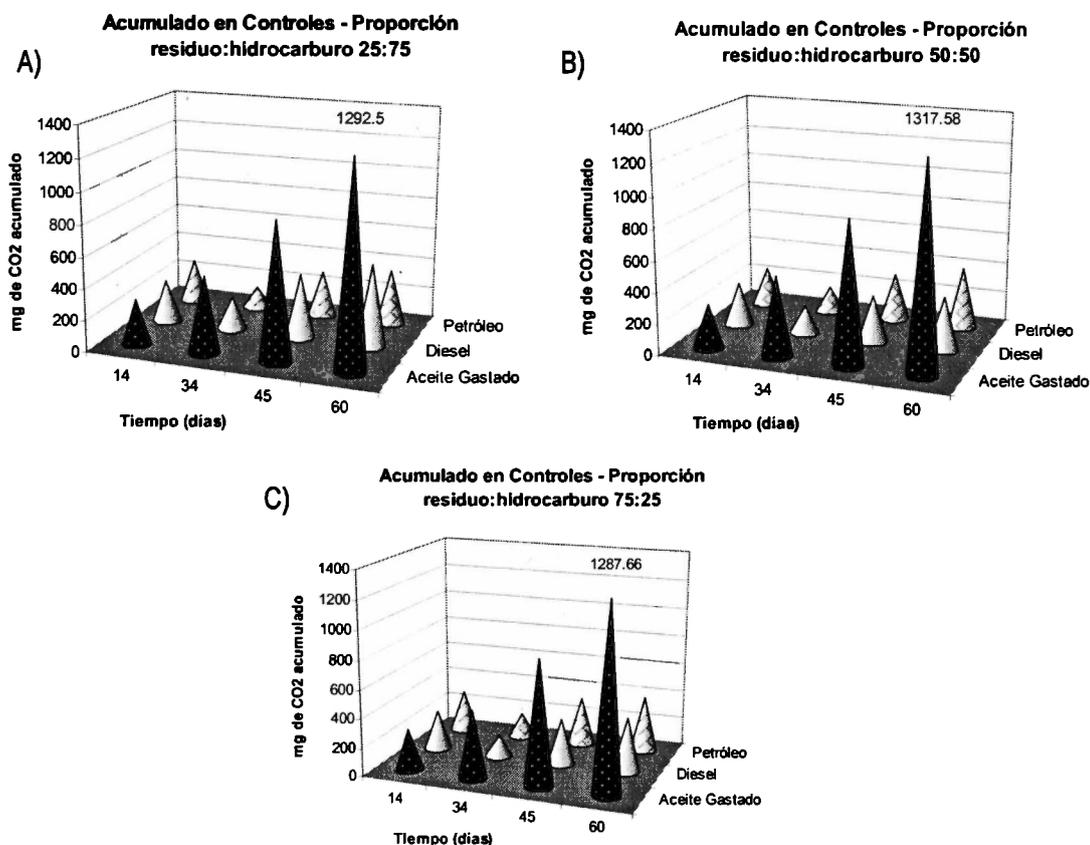


Figura 33. Efecto de las proporciones residuo:hidrocarburo en la evolución de CO_2 en los tratamientos no estimulados

En estudios de degradación biológica de contaminantes orgánicos se ha utilizado la generación de CO_2 acumulado como medida de la actividad microbiana o de la biodegradación de dichos contaminantes (Pineda *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2005). Chokshi y Nelson (2003), Kim *et al.*, (2005) y Plaza *et al.*, (2005) también encontraron que la tendencia de CO_2 acumulado en función del tiempo es lineal. Sin embargo, en este estudio la producción de CO_2 en todos los sistemas no presentó correlación con la biodegradabilidad de los microcosmos. .

No se pudo realizar la comparación de la cantidad de CO_2 producida por los dos tipos de residuo, en específico del aserrín, debido a que únicamente se contaba como testigo o prueba control a la alfalfa, ya que en esta se encontraban microorganismos endógenos, mientras que en el aserrín no.

En cuanto al CO_2 generado por tipo de hidrocarburo en tratamientos no bioestimulados (TNB), el aceite gastado presentó la mayor cantidad (1299 mg/Kg de CO_2), y el petróleo la menor (378.72 mg/Kg de CO_2) (Fig. 34).



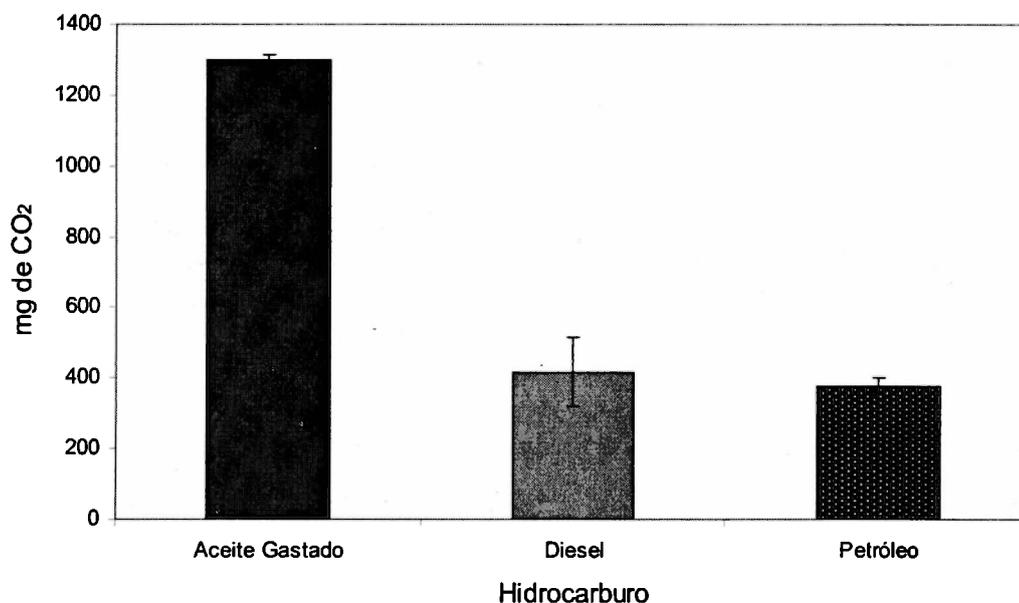


Figura 34. Efecto del tipo de hidrocarburo en la evolución de CO₂ en los tratamientos no bioestimulados .

Aunado a las complicaciones que se presentaron durante el experimento, la baja tasa de remoción de hidrocarburos o biodegradación pudo haber sido ocasionada, entre otros factores, por que el consorcio microbiano no poseía la diversidad enzimática requerida para degradar todas las fracciones de hidrocarburos en el residuo; otra posibilidad es que los absorbentes retienen fuertemente a los hidrocarburos haciéndolos poco biodisponibles para la biodegradación, y finalmente que la concentración de los contaminantes era muy alta (aún en las relaciones con alto contenido de residuo limpio), inhibiendo la actividad microbiana. Cookson (1995) reporta que tanto el diesel como el aceite gastado tienen una baja biodisponibilidad debido a la absorción de minerales y la fracción húmica del suelo, lo cual puede trasladarse al residuo lignocelulósico, sobre todo en el caso de la alfalfa .

La disponibilidad biológica de los contaminantes por parte de las bacterias, provenientes tanto de los residuos como del suelo, es reconocida un factor potencial limitante durante los estudios de biodegradabilidad (Autry y Ellis, 1992). La hidrofobicidad de los compuestos, la absorción del hidrocarburo contaminante dentro de la matriz, o la volatilización de los compuestos (sobre todo los del diesel y el aceite gastado) son los mayores factores limitantes para la biodisponibilidad de los hidrocarburos (Li *et al.*, 1995).

En algunos estudios, se ha demostrado que la adición de cultivos celulares adaptados a la matriz contaminada (bioaumentación) no tienen un efecto importante en la eficiencia global de la remoción de hidrocarburos. Autry y Ellis (1992) observaron un aumento no significativo en la biodegradación de hidrocarburos como resultado de una bioaumentación de la matriz contaminada. Implicando que la limitada biotratibilidad de la matriz no fue ocasionada por la ausencia de bacterias hidrocarbonoclastas. Como reportaron Margesin y Schinner (1997), la adición de microorganismos puede acelerar la fase inicial de biodegradación y puede ser ventajosa cuando los contaminantes tienen efectos tóxicos sobre los microorganismos endógenos. Demque *et al.*, (1997), también reportaron que la bioaumentación con microorganismos exógenos adaptados tiene algunos efectos negativos sobre la biodegradación del diesel en arena contaminada.



7.6 Determinación de capacidad calorífica de las matrices lignocelulósicas

Los hidrocarburos presentaron el mayor poder calorífico con respecto a los residuos y las mezclas, siendo el diesel el mayor (2 Kj/ Kg), seguido por el petróleo (1.3 Kj/g) y por el aceite gastado (0.16 Kj/g). Es probable que el aceite gastado se encontrara completamente quemado, ya que su capacidad calorífica resultante fue menor en relación a la de los otros dos hidrocarburos probados (Fig. 35).

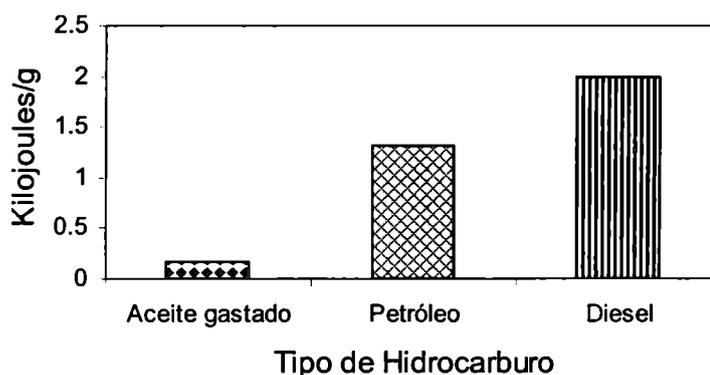


Figura 35. Capacidad calorífica de los hidrocarburos.

En el caso de los residuos lignocelulósicos *per se*, de los dos analizados, el aserrín presentó una mayor capacidad calorífica (0.27 Kj) con respecto a la alfalfa (0.18 Kj/g) (Fig. 36).

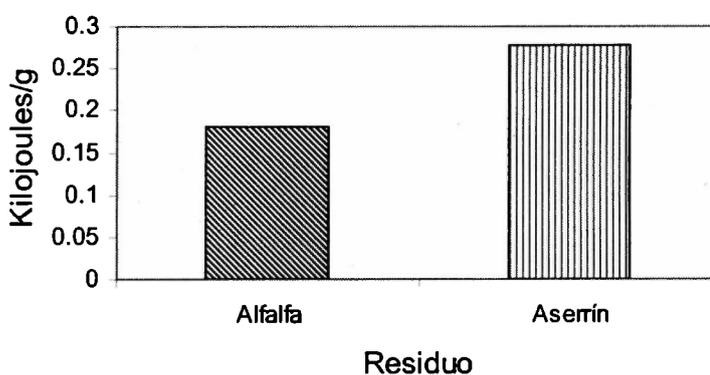


Figura 36. Capacidad calorífica de los residuos lignocelulósicos.



Con respecto a las mezclas de los residuos con los distintos tipos de hidrocarburos, el que presentó la mayor capacidad calorífica fue el aserrín con diesel (1.25 Kj/g), seguida por el aserrín con petróleo (0.93 Kj/g). La mezcla que presentó la menor capacidad calorífica fue alfalfa con diesel (0.066 Kj/g) (Fig. 37).

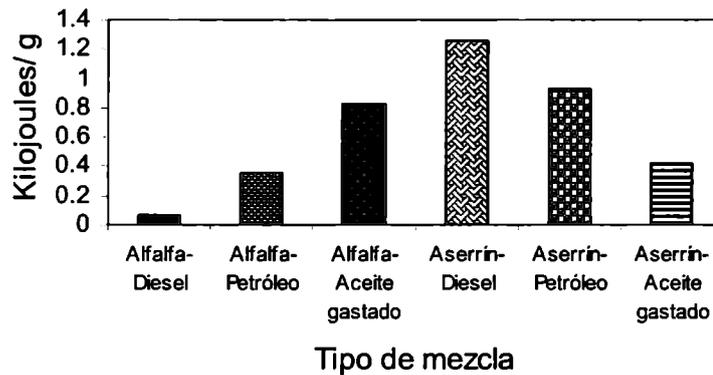


Figura 37. Capacidad calorífica de las mezclas residuo:hidrocarburo.

El diesel combinado con las matrices lignocelulósicas presentó mayor poder calorífico que el petróleo y el aceite gastado, a excepción de la alfalfa con diesel, quizás debido a que el tamaño de la muestra fue menor, perdiéndose una parte del hidrocarburo por volatilización.

El aserrín, tanto solo como combinado con diesel y petróleo, presentó mayor capacidad calorífica que la alfalfa, sin embargo esta última presentó un poder calorífico mayor con el aceite gastado. Cabe destacar que la alfalfa con diesel presentó la menor capacidad calorífica. Es probable que los datos estén subvalorados, ya que de acuerdo a datos proporcionados por la FAO (1993), los datos obtenidos son menores a los proporcionados en dicho informe; y esto puede ser debido a el método empleado para su determinación, calorimetría, en el cual la toma de la muestra se hacía en total ausencia de oxígeno, método diferente al empleado en el reporte citado.

La lignina, uno de los principales constituyentes del aserrín de pino, tiene una capacidad calorífica elevada *per se*, aunado a que mientras menor sea el contenido de humedad y de oxígeno el combustible posee un mayor poder calorífico. El aserrín posee menor contenido de humedad que la alfalfa, o cualquiera de los otros tres residuos analizados. La humedad del combustible va en detrimento de la energía obtenible, pues en la combustión se gasta energía para vaporizarla. Lo mismo ocurre con el oxígeno ligado químicamente, pues impide la reacción exotérmica con el oxígeno del aire. Una biomasa vegetal seca puede presentar un poder calorífico semejante a un carbón de bajo poder calorífico como el lignito (De Juana, 2003; FAO, 1993).

Por tanto, como una opción de disposición, se podrían emplear mezclas de hidrocarburos y matrices lignocelulósicas como una alternativa para la cogeneración de energía.



8. CONCLUSIÓN

- Los residuos secos presentaron una absorción significativamente mayor ($\alpha \geq 0.05$) a cuando se encuentran húmedos, a excepción del aserrín.
- Los residuos más eficientes como absorbentes de hidrocarburos fueron el aserrín y el forraje de alfalfa.
- El aserrín presentó la mayor capacidad absorbente (5.66 g de petróleo/ g de aserrín), seguida por la alfalfa (5.24 g de Petróleo /g de alfalfa).
- Las tasas de absorción de petróleo de la alfalfa y del aserrín fueron de 61.21×10^{-2} g de Petróleo / g de alfalfa/ min y de 22.97×10^{-2} g de Petróleo/ g de aserrín/ min. Se aislaron cinco cepas bacterianas hidrocarbonoclastas a partir de la paja de alfalfa, cuatro Gram negativas, y una Gram positiva.
- Las matrices de aserrín absorbidas presentan mayor tasa de degradación en comparación con las de alfalfa.
- Los sistemas diluidos con residuo limpio presentan mayor tasa de remoción de hidrocarburos.
- De los tres hidrocarburos utilizados, el que tuvo mayor biodegradación fue el petróleo, seguido por el diesel y éste por el aceite gastado.
- La bioestimulación no aumentó la biodegradación de forma significativa ($\alpha \geq 0.05$).
- De los residuos lignocelulósicos, la mayor capacidad calorífica la presentó el aserrín.
- Las matrices de aserrín y de alfalfa, absorbidas de diesel y petróleo, presentan poderes caloríficos específicos altos, adecuados para la cogeneración.
- Debido a que en este estudio la capacidad de biodegradación fue muy baja, se sugiere que la técnica de cogeneración es la mejor alternativa de disposición de las matrices absorbidas.



9. BIBLIOGRAFÍA

- Aboul-Kassim T., Simoneit B. (2001). Microbial transformations at aqueous-solid phase interfaces: A bioremediation approach. In: Aboul-Kassim T., Simoneit B. (Eds). *Pollutant-Solid Phase Interactions – Mechanisms, Chemistry and Modeling*. Pp. 315-425. The Handbook of Environmental Chemistry. Vol. 5 Part. E. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Adria Brown y West Bloomfield. (1992). "Methods for removing oil spills using natural, recyclable absorbent". U.S. Patent 5,160,629.
- Amándola R., Castillo E., y Martínez P. (2005). [en línea]. Perfiles por país del Recurso Pastura/Forraje. en: FAO, [ref: Junio de 2006] Disponible en:
http://www.fao.org/ag/agp/AGPC/doc/Counprof/spanishtrad/Mexico_sp/Mexico2_sp.htm .
- Atlas RM. and Bartha R. (1992). Biodegradation of petroleum in seawater at low temperatures. *Can. J. Microbiol.* 18: 1851-1855.
- Atlas RM. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45: 180-209
- Autry A.R. and Ellis G.M. (1992). Bioremediation: An Effective Remedial Alternative for Petroleum Hydrocarbon-Contaminated soil *Environ. Prog.* 11(4):318-323
- Baerman A. (1997). *Optimierung Umweltvertraeglicher Analysenverfahren fuer Mineraloelkohlenwasserstoffe im Boden*. Hamburg, Germany: UFZ-Ver, 12 p.. *Inorg Analyt. Chem.* Pp. 82-95. 1 CD-ROM
- Azuma J., Nomura T. y Koshijima, T. (1985). Lignin –carbohydrate complexes containing phenolic acids isolated from the culm of baboo. *Agric. Biol. Chem.* 49: 2661-2669
- Biswas S., Chaudhari S.K. y Mukherji S. (2005). Microbial uptake of diesel oil sorbed on soil and oil spill cleanup sorbents. *J Chem. Technol. Biotechnol.* 80:587-593
- Bremauntz M., (2000). Tesis de Maestría: *Biodesulfuración de Petróleo Mediante Catálisis Enzimática*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Bremauntz M., Arriaga A., Eguia A., García JA., Kappusamy I. (2005). Informe de actividades. *Valoración de Absorb como agente de absorción de contaminantes ambientales: I etapa: valoración frente a aceite vegetal comestible y aceite lubricante gastado*. ITESM-CEM, Centro de Investigación en Calidad Ambiental. 25 p.
- Bremauntz M.P., Arriaga A., Eguia A., García J.A., Kappusamy I. (2005). Informe de actividades. *Valoración de Absorb como agente de absorción de contaminantes ambientales: II etapa:*



- valoración frente a petróleo crudo y aguas residuales de un rastro en S.L.P., Méx.*. ITESM-CEM, Centro de Investigación en Calidad Ambiental. 25 p.
- Bremauntz, M.P., Eguía A., García J.A., Olvera M.E., Kappusamy I. (2005). Informe de actividades. *Valoración de Absorb como agente de absorción de contaminantes ambientales: III etapa: Valoración frente a agua residual de la Industria Barcel, Planta Lerma*. ITESM-CEM, Centro de Investigación en Calidad Ambiental 25 p.
- Carbon'01. (2001). An International Conference on Carbon, July 14-19. Lexington, KY, USA Production and utilization of carbonized refuse derived fuel. Chiba City, Japan: University of Kentucky Center for Applied Energy Research Library. Pp. 520-523. 1 CD-ROM
- Carls M.G. *et al.*, (2001). Persistence of oiling in mussel beds after the Exxon Valdez oil spill. *Mar. Environ. Res.* **51**(2): 167-190
- Chand N., Verma S., Rohatgi P. (1987). Impact and Moisture Studies of Sisal-Polyester Composites. *Tropical Sc.* **27**:215-221
- Choi H. y Cloud, R. (1992). Natural sorbents in oil spill clean up. *Environ. Sci. Technol.* **26**: 772-776
- Choi H. and Moreu, J.P. Oil. (1993). Spill sorption behavior of various sorbents studied by sorption capacity measurement and environmental scanning microscope. *Mycrosc. Res. And Tech.* **25**(5):447-455.
- Choi, H., Kwon, H. y Moreau, J.P. (1993). Cotton non-wovens as oil spill clean up sorbents. *Text. Res. Journ.* **63**(4): 211-218.
- Comisión Nacional para el Ahorro de Energía (CONAE). (2004) Disponible en: <http://www.conae.gob.mx>
- Cookson Jr. (1995). *Biorremediation Engineering : design and application*. Mc Graw Hill-New York. 524 pp.
- Biomatrix. [en línea]. (2005). Biomatrix. Disponible en: www.enrud.com/8_bio_matrix.html
- De Juana J., (2003). *Energías Renovables para el Desarrollo*. Paraninfo Thompson Learning.
- Díaz E., (2004). Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolic versatility. *Internat. Microbiol.* **7**:173180
- Ércoli E., Fuentes B., Gilbert M., Galvez J. Arreghini M. (1995). *Tratamiento biológico de lodos de refinería*. Segundo Simpósium de producción de hidrocarburos. Tomo I, pp. 497-506. Instituto Argentino del Petróleo. Mendoza, Argentina



- Ércoli E., Videla P., Calleja C., Galvez J., Cantero J. Diapaola M., Medaura C. y Videla O. (2000). *Biorremediación de suelos por técnica de Acumulación Aireada*. En: IV Jornadas de Preservación de Agua, Aire y Suelo en la Industria del Petróleo y del Gas. IAPG, 2000, Salta, Argentina.
- Ercoli E., Galvéz J. (2000). [en línea]. *Tratamiento biológico ex-situ de residuos semisólidos de oleoductos*. Laboratorio de Bioprocesos; U.N. De Cuyo, Argentina. Disponible en: www.monografias.com/trabajos16/contaminacion-hidrocarburos/contaminacion-hidrocarburos.shtml
- Escalante GR. (2002). Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios. Tesis de Maestría (Biotecnología) UNMSM, Lima, Perú. Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/tesis/salud/Escalante_G_R/Escalante_G_R.htm
- EPA. (1996). Guía del Ciudadano: Medidas biocorrectivas. EPA 542-F-96-023.
- Fanta GF, Abbott T., Burr R., Doane, W. (1987). Ion Exchange reactions of quaternary ammonium halides with wheat straw. Preparation of oil-adsorbents. *Carbohydr. Polym.* 7(2):97-109
- FAO. (2001). Unified wood energy terminology unit (UWET). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/008/j0926s/j0926s00.HTM>
- FAO. (1997). Wood Energy Today for Tomorrow, Part B: Background overview of available data on wood energy in Europe/OECD, FAO/ FOD/ FOPW.
- FAO. (1994). Yearbook Forest Products, FAO/FONP.
- FAO (1993). Estudio Montes 72. El gas Madera como combustible para motores. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)
- Fengel D., Wegener G. (1989). Wood: Chemistry, ultra structure, reactions. Walter de Gruyter, 2^{Ed}. USA. Pp 66-100.
- Fernández L., Rojas N., Morales M., Ayala M. (2004). Proyecto: Fuente de oportunidades de la biotecnología en los procesos petroleros a través de la búsqueda de actividades microbianas. Programa de Biotecnología del Petróleo. Instituto Mexicano del Petróleo.
- Flores N. 2001. "Utilización de lodos residuales en la restauración de suelos contaminados con hidrocarburos". VI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales, Pachuca; México.
- Frankenberger, W.T. (1992). "The Need for a Laboratory Feasibility Study in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons". En: Proceedings of the 2nd Annual West Coast Conference on Hydrocarbon Contaminated Soils and Ground-Water, Chelsea, ML. (1992). 2(16); Lewis: Chelsea, MI, 237-293 pp
- Germany, Ortlepp W. (1993). *Use of waste material from manufacture of cigarette filters as adsorbent for cleaning air, waste gases, water and soil*. Int. B01J020-28. Ger. N. 119:145649. 1 CD-ROM.



- Germany, Franz Oeste D., Haas R. (2000). *Adsorbents containing active substances on matrixes prepared from plants, lichens or sponges and applications in filters for the removal of contaminants*. Int. B01J020-24. Ger. N.135:184976.
- Gordon A. y Millero, F. (1998). Adsorption mediated decrease in the biodegradation rate of organic compounds. *Microbiol. Ecol.* **11**: 289-298.
- Inagaki M., Kawahara A., Aizawa J. y Konno H. (2002). Sorption and recovery of heavy oils using carbonized fir fibres and recycling. *Desalination.* **40**: 105-111
- Inagaki M., Konno H. Toyoda M., Moriya K. y Kihara T. (2000). Sorption and recovery of heavy oils by using exfoliated graphite Part. II Recovery of heavy oil and recycling of exfoliated graphite. *Desalination.* **128**: 213-218
- INE.(2006) [en línea]. 2.1 *Generalidades sobre calidad del aire*. Disponible en: <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/234/cap2.html>
- IPT. Celulose e Pape I. (1988). *Tecnologia de Fabricação de Pasta Celulósica*. Vol.1, 2ª Edição, São Paulo.
- Jenssen, MB. (1994). Review Article: Effects Of Oil Pollution, Chemically Treated Oil, And Cleaning On The Thermal Balance Of Birds. *Environ. Pollut.* **86**: 207-215.
- Johnson R, Manjrekar T., Halligan J. (1973). Removal of oil from water surfaces by sorption on unstructured fibers. *Environ. Sc. And Technol.* **7**: 439-443
- Kaefy Do Brasil LTDA. (2005). Disponible en: http://www.kaefy.com.br/apostila_absorve.htm
- Kim I. (2002). Ten years alter the enactment of the oil pollution act o f 1990: a success or a failure. *Mar policy.* **26**: 197-207
- Kingston P.E. (2002). Long term environmental impact of oil spills. *Spill Sci. Technol. B.* **7**: 53-61;
- Martín M., C, González B., A y Blanco S. M. (2004). Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Rev. Iberoam. Micol.* **21**: 103-120
- Morgan P. and Watkinson R.J. (1994). *Biodegradation of components of petroleum*. En: Biochemistry of microbial degradation. C. Ratledge (Ed.) Kluwer Academia, Dordrecht, The Netherlands. Pp. 1-31
- Mukherji S. y Weber Jr. W. (1998). Mass transfer effects on microbial uptake of naphtalene from complex NAPLs. *Biotech. Bioeng.* **60**:750-760
- Nenkova S., Garvanska R. y JeleV S. (2004). Fibrous-wood sorbent for eliminating oil pollution. *AUTEX Research Journal*



- New Scientist news service. (2003) Prestige oil spill far worse than thought. Disponible en: www.newscientist.com
- Oil Cleaning Bio-Products Ltd. (OCBP). 2002. Petroleum absorbent for oil spills on water. OCBP. Hertfordshire, U.K.
- PEMEX. (2001). Memorias de Labores 2001. PEMEX. 73 p.
- PEMEX (2003). Informe de Desarrollo Sustentable. PEMEX. 2003. 12 p.
- PEMEX (2005). Informe de Desarrollo Sustentable PEMEX 2005, p 22-25
- PEMEX. (2005). Anuario Estadístico 2005. PEMEX. 64 p.
- Petrobrás. (2006). "Glosario". Disponible en: <http://www2.petrobras.com.br/ri/esp/Glossario/Glossario.asp#g>.
- Pezeshki S. R., Hester M. W., Lin Q. and Nyman J. (2000). The effects of oil spill and clean up on dominant US gulf coast marsh macrophytes: a review. *Environ. Pollut.* **108**: 129-139
- Reid B., Jones K., Semple K. (2000). Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments. A perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environ Pollut.* **108**: 103-112
- Riser-Roberts E. (1998). "Remediation of petroleum contaminated soils." Lewis Publishers. 542 pp.
- Rivera C. y Trujillo N. (1998). *Los microorganismos en el proceso de biorremediación de contaminantes orgánicos en el suelo*. Una revisión bibliográfica. Memorias de la XI Reunión científica tecnológica forestal y agropecuaria. p. 246-252, Villahermosa, Tabasco.
- Rhodes AN y Hendricks CW. (1990). A continuous-flow method for measuring effects of chemical on soil nitrification. *Toxicity Assess.* **5**: 77-89.
- Saval S. (1995) Biorremediación de suelos y acuíferos. Situación actual y perspectivas en México. *Sociedad Mexicana de Biotecnol. y Bioing.* **3**: 71-76
- Schrader E.L. 1993. "A practical composition of organic, synthetic and inorganic sorbents", Artículo presentado en el "Clean Gulf 93" y en la Conferencia de la Sociedad Química Americana: Emerging Technology in Hazardous Waste Managements, pp.17
- Scriban R. (1985). Biotecnología. Ed. El Manual Moderno. México. pp. 61-68
- SEMARNAT-INE; Velasco J. y Volke T. [en línea]. (2002). El composteo: alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. *INE*. Disponible en: www.ine.gob.mx/publicaciones/gacetitas/381/volke.html



- Semple K. T. *et al.*, (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollut.* **112**(2): 269-283.
- Setti L., Mazzieri S. and Pifferi P. (1999). Enhanced degradation of heavy oil in an aqueous system by *Pseudomonas* sp in the presence of natural and synthetic sorbents. *Biores. Technol.* **67**:191-199
- Spillsorb, Canadá Inc. [en línea]. (2005). "Spillsorb". [ref. Septiembre de 2005]. Disponible en: <http://www.spillsorb.com/Oil%20Spill%20Absorbent%20-%201%20Intro.htm>
- Schmidt E. (1996). [en línea]. "Oil Spill Intelligence Report". Arlington, MA, U.S.A." Disponible en: <http://fbm590.aims.gov.au/oilmap/>.
- Schmidt W. (2000). "Suelos Contaminados con Hidrocarburos: la Biorremediación como una Solución Ecológicamente Compatible". Cooperación Técnica Alemana.
- Spinelli L., Schnaid F., Selbach P. (2005). Enhancing Bioremediation of Diesel Oil and Gasoline in Soil Amended with an Agroindustry Sludge. *J. of the Air & Wast. Manag Assoc.* **55**(4):421
- Topp G. C. (1993). Soil water content. In: Soil sampling and methods of analysis. Martin R. Carter Editor. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. 541-557 pp.
- Vaisis, V. 2005. Investigation and Evaluation of Biosorbents for oil products. Technologicas Sciences. Environmental Engineering and Landscape Management (04T). Vilnius, 25 p.
- Van Deuren, J., Wang Z. y Ledbetter J. (1997). Remediation technologies screening matrix and reference Guide. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA. Disponible en: <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Weller MG., Simon E., Pfortner P., Dosch M., Niessner R. (1998). *Detection of bound residues by enzyme immunoassay*. En: Pesticide Bound Residues in soil. State Commission for the Assessment of Chemicals used in agriculture. Wiley-VCH, DFG Publ., Report No. 2
- Wiggers D., Annunciado T. y Sydenstriker T. (2005). Fibras Vegetales utilizadas como sorbentes no setor do petróleo. *Universidade Federal do Paraná, Brasil*. 5 p. Disponible en: www.demec.ufpr.br/grupo_de_polimeros/wiggers4raa.pdf
- Wilson SC., y Jones K. C. (1993). Bioremediation Of Soil Contaminated With Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs) A Review. *Environ. Pollut.* **81**: 229-249



10. ANEXOS

Anexo A: Resultados de la determinación de capacidad calorífica de las matrices residuo:hidrocarburo

Los resultados de los análisis de capacidad calorífica se realizaron en el calorímetro Shimadzu DSC-60 se muestran a continuación:

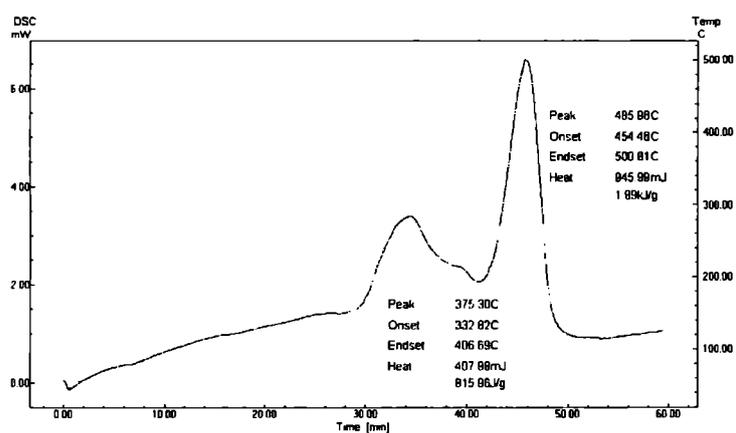


Figura 31. Capacidad calorífica de alfalfa impregnada con aceite gastado.

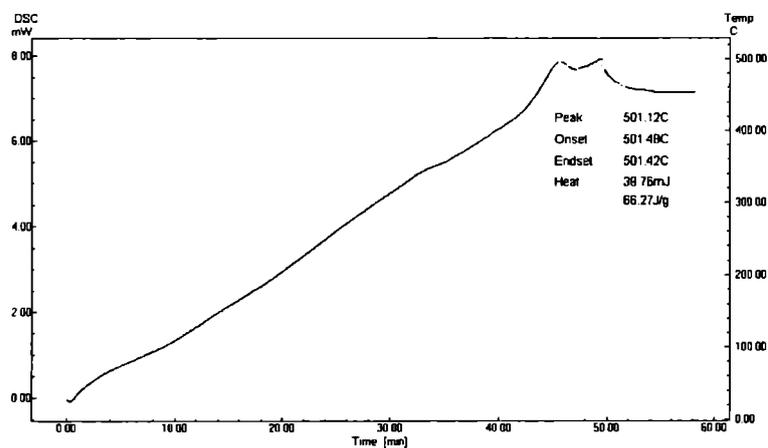


Figura 32. Capacidad calorífica de alfalfa impregnada con diesel



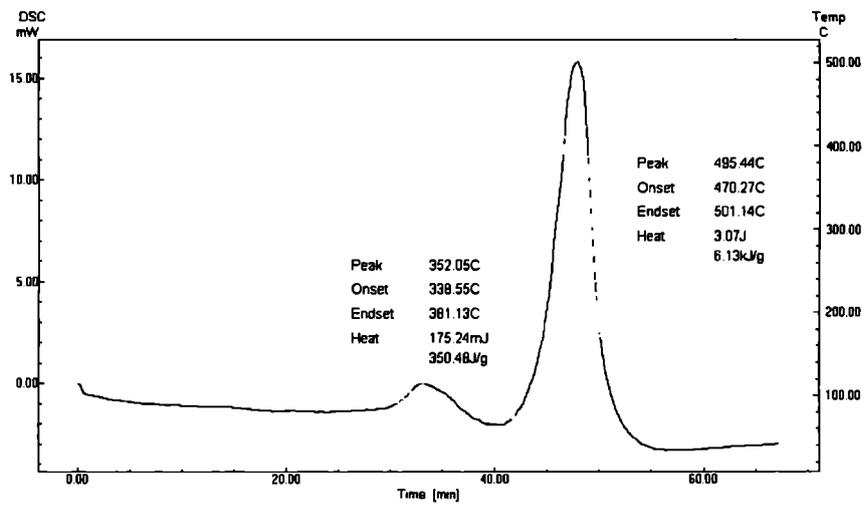


Figura 33. Capacidad calorifica de alfalfa impregnada con petróleo

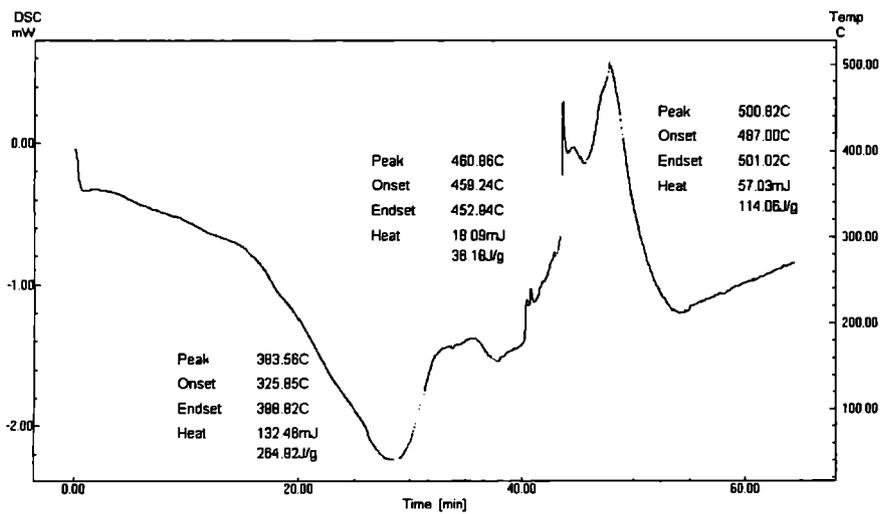


Figura 34. Capacidad calorifica de aserrin impregnado con aceite gastado



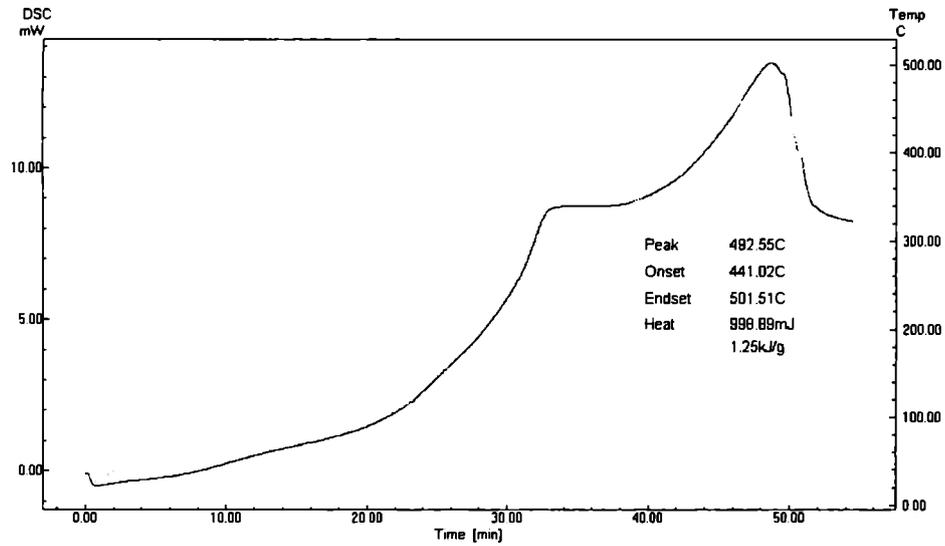


Figura 35. Capacidad calorífica de aserrín impregnado con diesel

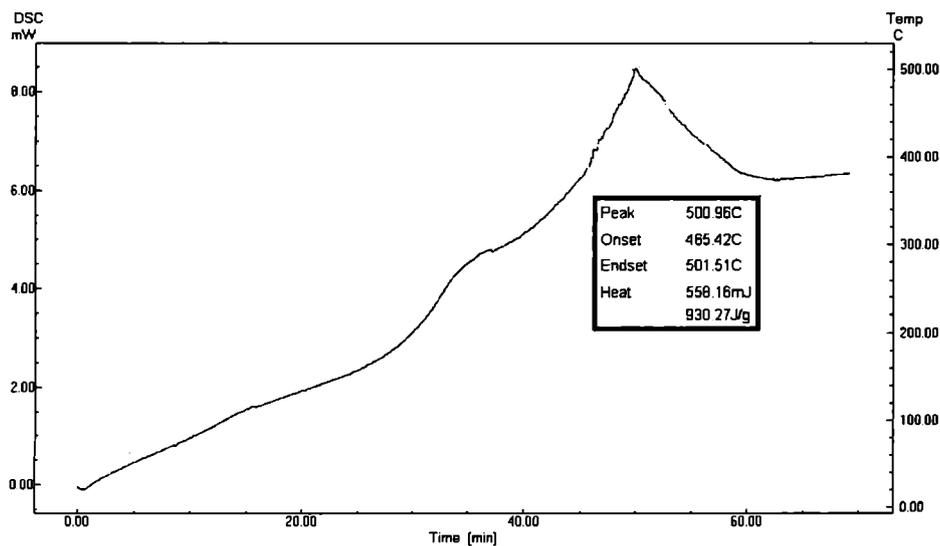


Figura 36. Capacidad calorífica de aserrín impregnado con petróleo

Anexo B: Análisis estadístico de los diferentes parámetros analizados: 1) contenido de humedad, 2) cenizas, 3) capacidad de absorción y 4) degradación de las matrices residuo-hidrocarburo.



1) Contenido de humedad

	SS	GL	MS	F	p
Intercept	911.4189	1	911.4189	4018.643	0.000000
Humedad	31.7090	4	7.9273	34.953	0.000008
Error	2.2680	10	0.2268		

Fisher

	as	alf	avena	maiz	cebada
Media	6.08035	10.36255	7.30924	8.21705	7.00556
as	-	<u>0.000001</u>	<u>0.010152</u>	<u>0.000264</u>	<u>0.038652</u>
alf	<u>0.000001</u>	-	<u>0.000014</u>	<u>0.000255</u>	<u>0.000006</u>
Avena	<u>0.010152</u>	<u>0.000014</u>	-	<u>0.041719</u>	<u>0.452895</u>
Maiz	<u>0.000264</u>	<u>0.000255</u>	<u>0.041719</u>	-	<u>0.010955</u>
Cebada	<u>0.038652</u>	<u>0.000006</u>	<u>0.452895</u>	<u>0.010955</u>	-

Turkey

Media					
as		<u>0.000177</u>	0.061320	<u>0.002017</u>	0.198154
alf	<u>0.000177</u>		<u>0.000247</u>	<u>0.001960</u>	<u>0.000200</u>
Avena	0.061320	<u>0.000247</u>		0.211135	0.930509
Maiz	<u>0.002017</u>	<u>0.001960</u>	0.211135		0.065706
Cebada	0.198154	<u>0.000200</u>	0.930509	0.065706	

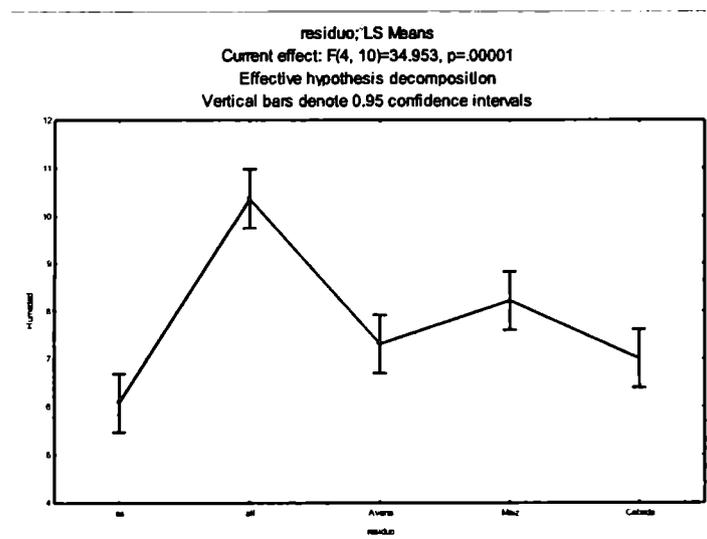


Figura 37.Humedad



2) Cenizas

	SS	GL	MS	F	p
Intercept	244.1121	1	244.1121	1744.823	0.000000
Ceniza	202.8678	4	50.7170	362.506	0.000000
Erros	1.3991	10	0.1399		

Fisher LSD

	as	alf	avena	maiz	cebada
Media	6.08035	10.36255	1.31535	1.19540	1.21695
as	-	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>
alf	<u>0.000000</u>	-	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>
Avena	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	-	0.702737	0.753946
Maiz	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	0.702737	-	0.945127
Cebada	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	0.753946	0.945127	-

Turkey

as	-	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>
alf	<u>0.000176</u>	-	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>
Avena	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>	-	0.994191	0.997323
Maiz	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>	0.994191	-	0.999994
Cebada	<u>0.000176</u>	<u>0.000176</u>	0.997323	0.999994	-

	media	desviación
as	6.08035	0.215953
alf	10.36255	0.215953
Avena	1.31535	0.215953
Maiz	1.19540	0.215953
Cebada	1.21695	0.215953

3) Capacidad de absorción

	SS	GL	MS	F	p
Intercept	243.5207	1	243.5207	2839.998	0.000000
absorcion	29.8602	7	4.2657	49.748	0.000000
Error	1.3719	16	0.0857		

Fisher LSD

	as PH	as PS	alf PH	alf PS	Avena PH	Avena PS	Cebada PH	Cebada PS
as PH	-	0.184951	<u>0.000065</u>	<u>0.009332</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000003</u>
as PS	0.184951	-	<u>0.000005</u>	<u>0.000507</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>
alf PH	<u>0.000065</u>	<u>0.000005</u>	-	<u>0.029108</u>	<u>0.000002</u>	<u>0.001016</u>	<u>0.000150</u>	0.110705
alf PS	<u>0.009332</u>	<u>0.000507</u>	<u>0.029108</u>	-	<u>0.000000</u>	<u>0.000009</u>	<u>0.000002</u>	<u>0.000863</u>
Avena PH	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000002</u>	<u>0.000000</u>	-	<u>0.005092</u>	<u>0.033963</u>	<u>0.000043</u>
Avena PS	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.001016</u>	<u>0.000009</u>	<u>0.005092</u>	-	0.368955	<u>0.033955</u>
Cebada PH	<u>0.000000</u>	<u>0.000000</u>	<u>0.000150</u>	<u>0.000002</u>	<u>0.033963</u>	0.368955	-	<u>0.005091</u>
Cebada PS	<u>0.000003</u>	<u>0.000000</u>	0.110705	<u>0.000863</u>	<u>0.000043</u>	<u>0.033955</u>	<u>0.005091</u>	-



Turkey

as PH		0.851214	<u>0.001420</u>	0.125410	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.000216</u>
as PS	0.851214		<u>0.000258</u>	0.009325	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.000177</u>
alf PH	<u>0.001420</u>	<u>0.000258</u>		0.305669	<u>0.000201</u>	<u>0.017719</u>	<u>0.003030</u>	0.694215
alf PS	0.125410	<u>0.009325</u>	0.305669		<u>0.000175</u>	<u>0.000336</u>	<u>0.000197</u>	<u>0.015253</u>
Avena PH	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.000201</u>	<u>0.000175</u>		0.075021	0.341266	<u>0.000998</u>
Avena PS	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.017719</u>	<u>0.000336</u>	0.075021		0.978892	0.341208
Cebada PH	<u>0.000175</u>	<u>0.000175</u>	<u>0.003030</u>	<u>0.000197</u>	0.341266	0.978892		0.075005
Cebada PS	<u>0.000216</u>	<u>0.000177</u>	0.694215	0.015253	0.000998	0.341208	0.075005	

	media	DS
as PH	4.566171	0.169063
as PS	4.897401	0.169063
alf PH	3.286856	0.169063
alf PS	3.859894	0.169063
Avena PH	1.553256	0.169063
Avena PS	2.328709	0.169063
Cebada PH	2.107667	0.169063
Cebada PS	2.883149	0.169063

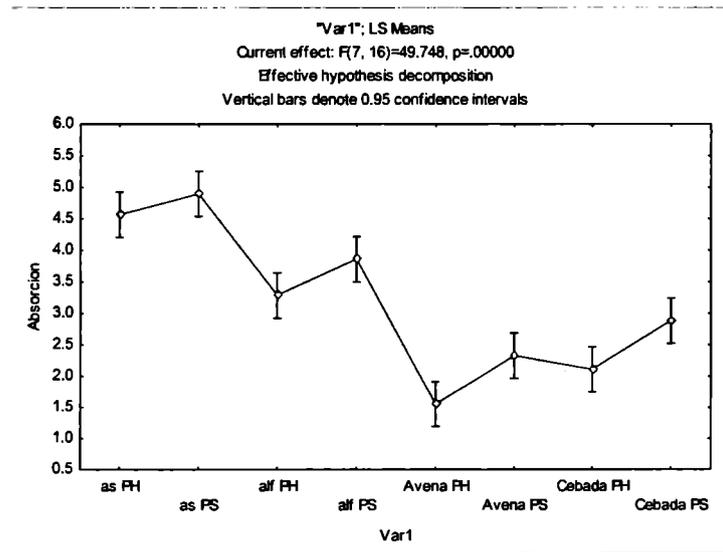


Figura 38. Capacidad de absorción, análisis estadístico



4) Degradación de las matrices residuo-hidrocarburo

Fisher LSD

	25:75-A-P-B	50:50-A-P-B	75:25-A-P-B	25:75-W-P-B	50:50-W-P-B	75:25-W-P-B
25:75-A-P-B		0.297502	0.001642	0.000518	0.041871	0.000865
50:50-A-P-B	0.297502		0.000077	0.000022	0.003132	0.000039
75:25-A-P-B	0.001642	0.000077		0.684985	0.203839	0.819890
25:75-W-P-B	0.000518	0.000022	0.684985		0.097157	0.858464
50:50-W-P-B	0.041871	0.003132	0.203839	0.097157		0.136358
75:25-W-P-B	0.000865	0.000039	0.819890	0.858464	0.136358	
25:75-A-D-B	0.000079	0.000003	0.302031	0.527425	0.024871	0.418881
50:50-A-D-B	0.000557	0.000024	0.703556	0.979873	0.102056	0.878306
75:25-A-D-B	0.046392	0.003552	0.188214	0.088586	0.962666	0.125004
25:75-W-D-B	0.000113	0.000005	0.359810	0.607215	0.032674	0.489532
50:50-W-D-B	0.000181	0.000007	0.446051	0.719842	0.046216	0.591766
75:25-W-D-B	0.157347	0.701017	0.000024	0.000007	0.001082	0.000012
25:75-A-O-B	0.005799	0.000310	0.640713	0.384886	0.415634	0.488407
50:50-A-O-B	0.362921	0.055549	0.017836	0.006460	0.242407	0.010187
75:25-A-O-B	0.863111	0.226391	0.002640	0.000850	0.060702	0.001408
25:75-W-O-B	0.001281	0.000059	0.929188	0.751209	0.174975	0.889545
50:50-W-O-B	0.000229	0.000009	0.495048	0.780821	0.054978	0.648316
75:25-W-O-B	0.013674	0.000826	0.422443	0.230242	0.632195	0.304907

Fisher LSD

	25:75-A-D-B	50:50-A-D-B	75:25-A-D-B	25:75-W-D-B	50:50-W-D-B	75:25-W-D-B
25:75-A-P-B	0.000079	0.000557	0.046392	0.000113	0.000181	0.157347
50:50-A-P-B	0.000003	0.000024	0.003552	0.000005	0.000007	0.701017
75:25-A-P-B	0.302031	0.703556	0.188214	0.359810	0.446051	0.000024
25:75-W-P-B	0.527425	0.979873	0.088586	0.607215	0.719842	0.000007
50:50-W-P-B	0.024871	0.102056	0.962666	0.032674	0.046216	0.001082
75:25-W-P-B	0.418881	0.878306	0.125004	0.489532	0.591766	0.000012
25:75-A-D-B		0.511213	0.022287	0.905513	0.783639	0.000001
50:50-A-D-B	0.511213		0.093123	0.589795	0.701108	0.000007
75:25-A-D-B	0.022287	0.093123		0.029368	0.041710	0.001234
25:75-W-D-B	0.905513	0.589795	0.029368		0.876043	0.000001
50:50-W-D-B	0.783639	0.701108	0.041710	0.876043		0.000002
75:25-W-D-B	0.000001	0.000007	0.001234	0.000001	0.000002	
25:75-A-O-B	0.137804	0.398621	0.389710	0.170596	0.222581	0.000099
50:50-A-O-B	0.001158	0.006896	0.261242	0.001615	0.002483	0.023504
75:25-A-O-B	0.000133	0.000914	0.066934	0.000190	0.000301	0.114438
25:75-W-O-B	0.344644	0.770389	0.161105	0.407518	0.500244	0.000018
50:50-W-O-B	0.722586	0.761561	0.049728	0.813033	0.935768	0.000003
75:25-W-O-B	0.071282	0.239896	0.599443	0.090579	0.122417	0.000271

Fisher LSD

	25:75-A-O-B	50:50-A-O-B	75:25-A-O-B	25:75-W-O-B	50:50-W-O-B	75:25-W-O-B
25:75-A-P-B	0.005799	0.362921	0.863111	0.001281	0.000229	0.013674
50:50-A-P-B	0.000310	0.055549	0.226391	0.000059	0.000009	0.000826
75:25-A-P-B	0.640713	0.017836	0.002640	0.929188	0.495048	0.422443
25:75-W-P-B	0.384886	0.006460	0.000850	0.751209	0.780821	0.230242
50:50-W-P-B	0.415634	0.242407	0.060702	0.174975	0.054978	0.632195
75:25-W-P-B	0.488407	0.010187	0.001408	0.889545	0.648316	0.304907



25:75-A-D-B	<u>0.137804</u>	<u>0.001158</u>	<u>0.000133</u>	<u>0.344644</u>	<u>0.722586</u>	<u>0.071282</u>
50:50-A-D-B	<u>0.398621</u>	<u>0.006896</u>	<u>0.000914</u>	<u>0.770389</u>	<u>0.761561</u>	<u>0.239896</u>
75:25-A-D-B	<u>0.389710</u>	<u>0.261242</u>	<u>0.066934</u>	<u>0.161105</u>	<u>0.049728</u>	<u>0.599443</u>
25:75-W-D-B	<u>0.170596</u>	<u>0.001615</u>	<u>0.000190</u>	<u>0.407518</u>	<u>0.813033</u>	<u>0.090579</u>
50:50-W-D-B	<u>0.222581</u>	<u>0.002483</u>	<u>0.000301</u>	<u>0.500244</u>	<u>0.935768</u>	<u>0.122417</u>
75:25-W-D-B	<u>0.000099</u>	<u>0.023504</u>	<u>0.114438</u>	<u>0.000018</u>	<u>0.000003</u>	<u>0.000271</u>
25:75-A-O-B	-	<u>0.051744</u>	<u>0.009036</u>	<u>0.578837</u>	<u>0.253691</u>	<u>0.735257</u>
50:50-A-O-B	<u>0.051744</u>	-	<u>0.459406</u>	<u>0.014377</u>	<u>0.003091</u>	<u>0.103338</u>
75:25-A-O-B	<u>0.009036</u>	<u>0.459406</u>	-	<u>0.002070</u>	<u>0.000381</u>	<u>0.020738</u>
25:75-W-O-B	<u>0.578837</u>	<u>0.014377</u>	<u>0.002070</u>	-	<u>0.552383</u>	<u>0.373611</u>
50:50-W-O-B	<u>0.253691</u>	<u>0.003091</u>	<u>0.000381</u>	<u>0.552383</u>	-	<u>0.142140</u>
75:25-W-O-B	<u>0.735257</u>	<u>0.103338</u>	<u>0.020738</u>	<u>0.373611</u>	<u>0.142140</u>	-

Diferencias significativas

25:75-A-P-B	0.297502	0.001642	0.000518	0.041871	0.000865	0.000079	0.000557	0.046392	0.000113	0.000181	0.157347	0.005799	0.362921	0.863111	0.001281	0.000229	0.013674
50:50-A-P-B	0.297502	0.000077	0.000022	0.003132	0.000039	0.000003	0.000024	0.003552	0.000005	0.000007	0.701017	0.000310	0.055549	0.226391	0.000059	0.000009	0.000826
75:25-A-P-B	0.001642	0.000077	-	0.684985	0.203839	0.819890	0.302031	0.703556	0.188214	0.359810	0.446051	0.000024	0.640713	0.017836	0.002640	0.929188	0.495048
25:75-W-P-B	0.000518	0.000022	0.684985	-	0.097157	0.858464	0.527425	0.979873	0.088586	0.607215	0.719842	0.000007	0.364886	0.006460	0.000850	0.751209	0.780821
50:50-W-P-B	0.041871	0.003132	0.203839	0.097157	-	0.136358	0.024871	0.102056	0.962666	0.032674	0.046216	0.001082	0.415634	0.242407	0.060702	0.174975	0.054978
75:25-W-P-B	0.000865	0.000039	0.819890	0.858464	0.136358	-	0.418881	0.878306	0.125004	0.489532	0.591766	0.000012	0.488407	0.010187	0.001408	0.889545	0.648316
25:75-A-D-B	0.000079	0.000003	0.302031	0.527425	0.024871	0.418881	-	0.511213	0.022287	0.905513	0.783639	0.000001	0.137804	0.001158	0.000133	0.344644	0.722586
50:50-A-D-B	0.000557	0.000024	0.703556	0.979873	0.102056	0.878306	0.511213	-	0.093123	0.589795	0.701108	0.000007	0.398621	0.006896	0.000914	0.770389	0.761561
75:25-A-D-B	0.046392	0.003552	0.188214	0.088586	0.962666	0.125004	0.022287	0.093123	-	0.029368	0.041710	0.001234	0.389710	0.261242	0.066934	0.161105	0.049728
25:75-W-D-B	0.000113	0.000005	0.359810	0.607215	0.032674	0.489532	0.905513	0.589795	0.029368	-	0.876043	0.000001	0.170596	0.001615	0.000190	0.407518	0.813033
50:50-W-D-B	0.000181	0.000007	0.446051	0.719842	0.046216	0.591766	0.783639	0.701108	0.041710	0.876043	-	0.000002	0.222581	0.002483	0.000301	0.500244	0.935768
75:25-W-D-B	0.157347	0.701017	0.000024	0.000007	0.001082	0.000012	0.000001	0.000007	0.001234	0.000001	0.000002	-	0.000099	0.023504	0.114438	0.000018	0.000003
25:75-A-O-B	0.005799	0.000310	0.640713	0.384886	0.415634	0.488407	0.137804	0.398621	0.389710	0.170596	0.222581	0.000099	-	0.051744	0.009036	0.578837	0.253691
50:50-A-O-B	0.362921	0.055549	0.017836	0.006460	0.242407	0.010187	0.001158	0.006896	0.261242	0.001615	0.002483	0.023504	0.051744	-	0.459406	0.014377	0.003091
75:25-A-O-B	0.863111	0.226391	0.002640	0.000850	0.060702	0.001408	0.000133	0.000914	0.066934	0.000190	0.000301	0.114438	0.009036	0.459406	-	0.002070	0.000381
25:75-W-O-B	0.001281	0.000059	0.929188	0.751209	0.174975	0.889545	0.344644	0.770389	0.161105	0.407518	0.500244	0.000018	0.578837	0.014377	0.002070	-	0.552383
50:50-W-O-B	0.000229	0.000009	0.495048	0.780821	0.054978	0.648316	0.722586	0.761561	0.049728	0.813033	0.935768	0.000003	0.253691	0.003091	0.000381	0.552383	-
75:25-W-O-B	0.013674	0.000826	0.422443	0.230242	0.632195	0.304907	0.071282	0.239896	0.599443	0.090579	0.122417	0.000271	0.735257	0.103338	0.020738	0.373611	0.142140

Turkey

25:75-A-P-B	0.999715	0.111655	0.042950	0.793681	0.066222	0.008131	0.045714	0.819081	0.011224	0.017062	0.989723	0.284154	0.999953	1.000000	0.091513	0.021094	0.483473
50:50-A-P-B	0.999715	0.007914	0.002574	0.183356	0.004221	0.000522	0.002763	0.201250	0.000676	0.000993	1.000000	0.027524	0.860333	0.998186	0.006205	0.001222	0.063721
75:25-A-P-B	0.111655	0.007914	-	1.000000	0.996779	1.000000	0.999748	1.000000	0.995245	0.999949	0.999996	0.002737	1.000000	0.556441	0.161333	1.000000	0.999999
25:75-W-P-B	0.042950	0.002574	1.000000	-	0.953573	1.000000	1.000000	0.942140	1.000000	1.000000	0.000933	0.999975	0.305511	0.065298	1.000000	1.000000	0.998354
50:50-W-P-B	0.793681	0.183356	0.996779	0.953573	-	0.982686	0.651066	0.959031	1.000000	0.727867	0.818160	0.079680	0.999990	0.998800	0.878831	0.993367	0.858097
75:25-W-P-B	0.066222	0.004221	1.000000	1.000000	0.982686	-	0.999991	1.000000	0.977017	0.999999	1.000000	0.001476	0.999999	0.407731	0.098721	1.000000	0.999767
25:75-A-D-B	0.008131	0.000522	0.999748	1.000000	0.651066	0.999991	-	1.000000	0.619717	1.000000	1.000000	0.000272	0.983304	0.084254	0.012974	0.999922	1.000000
50:50-A-D-B	0.045714	0.002763	1.000000	1.000000	0.959031	1.000000	1.000000	-	0.948520	1.000000	1.000000	0.000993	0.999984	0.319065	0.069315	1.000000	0.998720
75:25-A-D-B	0.819081	0.201250	0.995245	0.942140	1.000000	0.977017	0.619717	0.948520	-	0.698188	0.792701	0.088746	0.999979	0.999261	0.897689	0.990636	0.835525
25:75-W-D-B	0.011224	0.000676	0.999949	1.000000	0.727867	0.999999	1.000000	1.000000	0.998188	-	1.000000	0.000319	0.992607	0.110182	0.017820	0.999988	1.000000
50:50-W-D-B	0.017062	0.000993	0.999996	1.000000	0.818160	1.000000	1.000000	1.000000	0.792701	1.000000	-	0.000415	0.998003	0.154006	0.026803	0.999999	1.000000
75:25-W-D-B	0.989723	1.000000	0.002737	0.000933	0.079680	0.001476	0.000272	0.000993	0.088746	0.000319	0.000415	-	0.009921	0.634920	0.970051	0.002143	0.000492
25:75-A-O-B	0.284154	0.027524	1.000000	0.999975	0.999990	0.999999	0.983304	0.999984	0.999979	0.992607	0.998003	0.009921	-	0.844640	0.379003	1.000000	0.999102
50:50-A-O-B	0.999953	0.860333	0.556441	0.305511	0.998800	0.407731	0.084254	0.319085	0.999261	0.110182	0.154006	0.634920	0.844640	-	0.999996	0.496932	0.181581
75:25-A-O-B	1.000000	0.998186	0.161333	0.065298	0.878831	0.098721	0.012974	0.069315	0.897689	0.017820	0.026803	0.970051	0.379003	0.999998	-	0.133875	0.032929
25:75-W-O-B	0.091513	0.006205	1.000000	1.000000	0.993367	1.000000	0.999922	1.000000	0.990636	0.999988	0.999999	0.002143	1.000000	0.496932	0.133875	-	1.000000
50:50-W-O-B	0.021094	0.001222	0.999999	1.000000	0.858097	1.000000	1.000000	1.000000	0.835525	1.000000	1.000000	0.000492	0.999102	0.181581	0.032929	1.000000	-
75:25-W-O-B	0.483473	0.063721	0.999992	0.998354	1.000000	0.999767	0.908837	0.998720	1.000000	0.945040	0.975481	0.024427	1.000000	0.960343	0.599149	0.999966	0.985009

