

“EVALUACIÓN DE NUEVOS SISTEMAS ANFIFÍLICOS CON POSIBLE APLICACIÓN EN LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS”

Lady Catalina Cabana Saavedra

Directora

Dra. Mariana A. Fernández.

Comisión de tesis

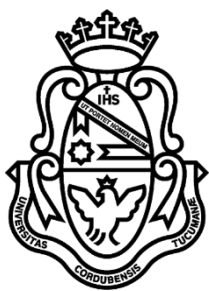
Dra. Fabiana Alovero.

Dr. Rafael G. Oliveira.

Dra. Raquel V. Vico.

Evaluadora externa

Dra. Bibiana Beatriz Nerli



“Evaluación de nuevos sistemas anfifílicos con posible aplicación en la remediación de suelos contaminados”

Lady Catalina Cabana Saavedra

Tesis doctoral para optar el grado de
Doctor en Ciencias Químicas

Instituto de Investigaciones en Físico-Química
Departamento de Química Orgánica
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba
Córdoba-Argentina
2018

Directora: Dra. Mariana A. Fernández.

Comisión evaluadora de tesis:

Dra. Fabiana Alovero.

Dr. Rafael G. Oliveira.

Dra. Raquel V. Vico.

Evaluadora Externa: Dra. Bibiana Beatriz Nerli

Índice general

Índice General	V
Resumen de Ecuaciones	X
Listado de abreviaturas	XIV
Prólogo	XIX

Capítulo 1

Introducción General

1.1 INTRODUCCIÓN	5
1.1.1 Contaminación de suelos y agua por Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	5
1.1.1.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs)	5
1.1.2 La matriz sólida suelo	8
1.1.3 Tecnologías de remediación de suelos y sedimentos contaminados con Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	10
1.1.4 Uso de surfactantes como tecnología de remediación de suelos y sedimentos contaminados con HAPs	12
1.1.4.1. Surfactantes	13
1.1.4.1.1. Aplicaciones	15
1.1.4.1.2. Morfología	16
1.1.4.2. Surfactantes Gémini	17
1.1.4.2.1 Características de los surfactantes gémini	19
1.1.4.3 Mezclas de surfactantes	19
1.1.4.3.1 Mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos	20
1.1.4.4. Solubilización micelar de compuestos orgánicos hidrofóbicos en mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos	21
1.1.5. Extracción de HAPs desde matrices sólidas empleando surfactantes	22
1.1.6. Efecto de los surfactantes sobre la biodegradación de HAPs por microorganismos específicos	23
1.2 OBJETIVO GENERAL DEL TRABAJO DE TESIS	24
1.3 REFERENCIAS	25

Capítulo 2

Caracterización de la mezcla de Tween 80 - didecamido cistina de sodio

2.1 INTRODUCCIÓN	35
2.1.1 Determinación de la concentración micelar crítica	37
2.1.1.1. Tensión Superficial	37
2.1.2 Determinación del Número de Agregación	38
2.1.3 Determinación del Tamaño de los agregados	40
2.1.4 Determinación de la morfología de los agregados	40
2.1.5 Modelos de agregación	41
2.1.5.1 Mezclado de dos surfactantes	41
2.1.5.2 Surfactantes completamente miscibles	41
2.1.5.2.1 Mezclado ideal	41

2.1.5.2 Situación Intermedia	42
2.1.5.3 Surfactantes inmiscibles	43
2.2 OBJETIVO	45
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
2.3.1 Sistemas en estudio	46
2.3.2 Caracterización de los sistemas micelares	47
2.3.2.1 Determinación de la Concentración Micelar Crítica	47
2.3.2.2 Determinación del Número de Agregación	49
2.3.2.3 Determinación del Tamaño y la Morfología	50
2.3.2.4 Micropolaridad de la interfase micelar	54
2.3.3 Aplicación de los Modelos de agregación	55
2.4 CONCLUSIONES	58
2.5 REFERENCIAS	59

Capítulo 3

Solubilización de hidrocarburos aromáticos policíclicos de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante el empleo de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes

3.1 INTRODUCCIÓN	65
3.1.1. Determinación de la eficacia de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes para solubilizar HAPs	67
3.1.2. Determinación de la afinidad de los HAPs por las micelas de surfactantes	68
3.1.3. Determinación de la afinidad de los HAPs por las micelas de surfactantes	70
3.2 OBJETIVO	71
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
3.3.1 Sistemas en estudio	75
3.3.2 Solubilización de HAPs en surfactantes individuales.	75
3.3.2.1 Efecto de los surfactantes no iónicos en la solubilización de HAPs	76
3.3.2.2 Efecto de los surfactantes aniónicos en la solubilización de HAPs	77
3.3.2.2.1 Efecto del surfactante aniónico Laurato de sodio en la solubilización de HAPs	80
3.3.2.2.2 Efecto del surfactante aniónico gémuni en la solubilización de HAPs	81
3.3.2.3 Comparación del efecto de los diferentes sistemas individuales sobre la solubilización de los HAPs	83
3.3.2.4 Efecto de la carga del surfactante para solubilizar HAPs	88
3.3.3 Solubilización de HAPs en mezclas de surfactantes	90
3.3.3.1 Efecto de la mezcla de T80 - SDDC en la solubilización de HAPs	91
3.3.3.2 Efecto de la mezcla de T80 - LS en la solubilización de HAPs	96
3.3.3.3 Efecto de la mezcla de T20-LS en la solubilización de HAPs	100
3.3.3.4 Comparación del efecto de las distintas mezclas estudiadas en la solubilización de HAPs	102
3.4 CONCLUSIONES	104
3.5 REFERENCIAS	106

Capítulo 4

Solubilización de mezclas binarias de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante el empleo de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes

4.1 INTRODUCCIÓN	109
4.1.1. Cuantificación de la eficacia de los surfactantes y las mezclas de surfactantes para solubilizar mezclas de HAPs	113
4.1.2. Efecto de la interacción de los surfactantes en la solubilización de mezclas de hidrocarburos aromáticos policíclicos	114
4.1.3 Solubilización teórica de mezcla de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes	115
4.1.4 Determinación de la afinidad de la mezcla de los hidrocarburos aromáticos policíclicos por las micelas de surfactantes y de mezclas de surfactantes	116
4.2 OBJETIVO	117
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	118
4.3.1 Sistemas en estudio	119
4.3.2 Solubilización de mezcla de HAPs en surfactantes individuales.	119
4.3.2.1 Efecto del surfactante no iónico en la solubilización de mezclas de HAPs	119
4.3.2.2 Efecto del surfactante aniónico en la solubilización de HAPs	125
4.3.3 Comparación del efecto de los diferentes surfactantes puros sobre la solubilización de las mezclas de HAPs	128
4.3.4 Solubilización de mezcla de HAPs en mezcla de surfactantes	133
4.4 CONCLUSIONES	137
4.5 REFERENCIAS	138

Capítulo 5

Extracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos desde matrices sólidas empleando surfactantes individuales y mezclas de surfactantes

5.1 INTRODUCCIÓN	143
5.1.1. Suelo	144
5.1.1.1. Composición del suelo	144
5.1.1.2. Modelos de suelo	145
5.1.2 Eficacia de los surfactantes para extraer HAPs desde matrices sólidas	145
5.2 OBJETIVO	146
5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	147
5.3.1 Sistemas en estudio	148
5.3.2 Adsorción de T80 en las matrices sólidas tratadas y pérdida de SDDC por precipitación	148
5.3.2.1 Adsorción de Tween 80 en las matrices sólidas	149
5.3.2.2. Precipitación de SDDC en las matrices sólidas	149
5.3.3. Desorción de HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidas empleando surfactantes	150
5.3.4. Desorción de HAPs desde sílica gel	155
5.3.5. Desorción de HAPs desde suelo arenoso	158
5.3.6 Comparación de la desorción de los HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidos empleando surfactantes	156
5.4 CONCLUSIONES	164
5.5 REFERENCIAS	165

<i>Capítulo 6</i>	<i>Efecto de los surfactantes sobre la disponibilidad de los contaminantes a microorganismos específicos</i>
-------------------	--

6.1 INTRODUCCIÓN	171
6.1.1. Características de los microorganismos halófilos	173
6.1.1.1. Generalidades del género Halomonas spp.	174
6.1.2 Metodologías de bibliografía reportadas para evaluar la eficacia de los surfactantes sobre la disponibilidad de los HAPs a microorganismos	175
6.2 OBJETIVO	176
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	177
6.3.1 Sistemas en estudio	177
6.3.2 Ensayo de biodegradación de HAPs por turbidez	177
6.3.2.1 Puesta a punto de condiciones experimentales	177
6.3.2.2 Biodegradación de naftaleno	177
6.3.2.3 Biodegradación de fenantreno	179
6.3.3 Ensayos de biodegradación de HAPs por determinación de viabilidad	181
6.3.3.1 Biodegradación de naftaleno	181
6.3.3.2 Biodegradación de fenantreno	182
6.3.4 Comparación de las metodologías utilizadas	184
6.4 CONCLUSIONES	189
6.5 REFERENCIAS	190

<i>Capítulo 7</i>	<i>Conclusiones Generales</i>
-------------------	-------------------------------

7.1 Conclusiones Generales	197
----------------------------	-----

<i>Capítulo 8</i>	<i>Sección Experimental</i>
-------------------	-----------------------------

8.1 REACTIVOS	205
8.1.1 Solventes	205
8.1.2 Surfactantes	205
8.1.3 Contaminantes	205
8.1.4 Sondas moleculares	205
8.1.5 Matrices sólidas	205
8.2 EQUIPAMIENTO	206
8.3 METODOLOGÍAS UTILIZADAS	206
8.3.1 Preparación de soluciones de surfactantes	206
8.3.2 Determinación de la CMC	207
8.3.2.1 Tensión Superficial	207
8.3.3 Determinación del Número de Agregación	207
8.3.4 Determinación del tamaño y morfología de los agregados	207
8.3.5 Micropolaridad de la interfase micelar	208
8.3.6 Ensayos de solubilización de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes no iónico-aniónico en solución acuosa	208

8.3.7 Ensayos de solubilización de mezclas de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes no iónico-aniónico en solución acuosa	209
8.3.8 Ensayos de extracción de contaminantes desde matrices sólidas	211
8.3.8.1 Enriquecimiento de las matrices sólidas con HAPs	211
8.3.8.2 Determinación de la adsorción de T80 y precipitación de SDDC en matrices sólidas	211
8.3.8.3 Determinación del porcentaje de recuperación de HAPs desde matrices sólidas empleando surfactantes	214
8.3.8.4 Cuantificación de HAPs extraídos desde Sílica y/o Suelo	215
8.3.9 Ensayos de biodegradación	217
8.3.9.1 Microorganismo, condiciones de cultivo y conservación	217
8.3.9.2 Preparación de surfactantes y contaminantes utilizados para los estudios de biodegradación	218
8.3.9.3 Preparación de los ensayos de biodegradación de Hidrocarburos aromáticos policíclicos	219
8.3.9.4 Determinación de Halomonas titanicae KHS3 por turbidez	219
8.3.9.4.1. Estudios con naftaleno	219
8.3.9.4.2 Estudios con fenantreno	220
8.3.9.5. Determinación de Halomonas titanicae KHS3 por medidas de viabilidad	220
8.3.9.6. Procesamiento de datos para efectuar comparaciones entre los tratamientos	221
8.4 REFERENCIAS	222

Resumen de Ecuaciones

$$2.1 \quad \frac{I}{I_0} = \exp\left(-\frac{[Q]}{[M]}\right)$$

$$2.2 \quad [M] = \frac{[S] - [\text{Monómero libre}]}{N_A}$$

$$2.3 \quad \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \frac{[Q]N_A}{[S]_{\text{Total}} - [\text{CMC}]}$$

$$2.4 \quad \frac{1}{\text{CMC}} = \frac{\alpha_1}{f_1 \text{CMC}_1} + \frac{1 - \alpha_1}{f_2 \text{CMC}_2}$$

$$2.5 \quad \frac{1}{\text{CMC}_{\text{ideal}}} = \frac{\alpha_1}{\text{CMC}_1} + \frac{1 - \alpha_1}{\text{CMC}_2}$$

$$2.6 \quad \frac{X_1^2 \ln\left(\frac{\alpha_1 C_{12}}{X_1 C_1}\right)}{(1 - X_1)^2 \ln\left[\frac{(1 - \alpha_1) C_{12}}{(1 - X_1) C_2}\right]} = 1$$

$$2.7 \quad \beta = \frac{\ln\left(\frac{\alpha_1 C_{12}}{X_1 C_1}\right)}{(1 - X_1)^2}$$

$$2.8 \quad f_1 = \exp[\beta(1 - X_1)^2]$$

$$2.9 \quad f_2 = \exp[\beta(X_1)^2]$$

$$2.10 \quad \text{CMC}_i^M = \frac{\text{CMC}_i}{\alpha_i}$$

$$3.1 \quad \text{RSM} = \frac{S - S_{\text{CMC}}}{C_S - \text{CMC}}$$

$$3.2 \quad S_{\text{HAP},t} = S_{\text{HAP},a} + S_{\text{HAP},m}$$

$$3.3 \quad S_{\text{HAP}}^* = \frac{S_{\text{HAP},t}}{S_{\text{HAP},a}}$$

$$3.4 \quad K_m = \frac{X_m}{X_a}$$

$$3.5 \quad X_m = \frac{\text{RSM}}{(1 + \text{RSM})}$$

- 3.6
$$X_a = S_{CMC} + V_m$$
- 3.7
$$K_m = \frac{RSM}{(1 + RSM)S_{CMC}V_m} = \frac{X_m}{X_a}$$
- 3.8
$$S_{HAP}^t = S_{HAP,1} + S_{HAP,2} + S_{HAP,ac}$$
- 3.9
$$S_{HAP,1}^{exp} = S_{HAP,1} + S_{HAP,ac}$$
- 3.10
$$S_{HAP,2}^{exp} = S_{HAP,2} + S_{HAP,ac}$$
- 3.11
$$S_{HAP,1}^{exp} = RSM_1 [\text{surfactante}_1] + b_1$$
- 3.12
$$S_{HAP,2}^{exp} = RSM_2 [\text{surfactante}_2] + b_2$$
- 3.13
$$r = \frac{S_{HAP}^{exp}}{S_{HAP}^{teórica}}$$
- 3.14
$$R = \frac{RSM_{HAP}^{exp}}{RSM_{HAP}^{teórica}}$$
- 3.15
$$V_N = N_A(27,4 + 26,9(N_c - 1))$$
- 3.16
$$V_{NT} = \left[\frac{(C_s - CMC)}{N_A} \right] n_a V_N$$
- 4.1
$$S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.\ a}^{exp} = S_{HAPs\ 1-12;\ s.\ a} + S_{HAPs\ 2-12;\ s.\ a} + S_{HAPs\ 1-12;\ Ac.} + S_{HAPs\ 2-12;\ Ac.}$$
- 4.2
$$S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.ab}^{exp} = S_{HAPs\ 1-12;\ s.\ ab} + S_{HAPs\ 2-12;\ s.\ ab} + S_{HAPs\ 1-12;\ Ac.} + S_{HAPs\ 2-12;\ Ac.}$$
- 4.3
$$S_{mezcla\ HAPs,\ s.\ a.}^t = S_{HAP\ 1-12,\ s.\ a.} + S_{HAP\ 2-12,\ s.\ a.} + S_{HAPs\ 1-12;\ Ac.} + S_{HAPs\ 2-12;\ Ac.}$$
- 4.4
$$S_{HAP1,\ s.\ ab.}^t = S_{HAP1,\ s.\ a} + S_{HAP1,\ s.\ b} + S_{HAP1,\ Ac.}$$
- 4.5
$$S_{HAP2,\ s.\ ab.}^t = S_{HAP2,\ s.\ a} + S_{HAP2,\ s.\ b} + S_{HAP2,\ Ac}$$
- 4.6
$$X_{mHAP1} = \frac{RSM_{HAP1}}{RSM_{HAP1} + RSM_{HAP2} + 1}$$
- 4.7
$$K_{mHAP1} = \frac{RSM_{HAP1}}{S_{CMC} V_m (1 + RSM_{HAP1} + RSM_{HAP2})}$$
- 4.8
$$K_{mHAP2} = \frac{RSM_{HAP2}}{S_{CMC} V_w (1 + RSM_{HAP2} + RSM_{HAP1})}$$
- 5.1
$$Rec_e = \frac{n_s}{n_m} \times 100$$

5.2
$$Rec_t = Rec_{e1} + Rec_{e2} - Rec_{ac}$$

5.3
$$E = \frac{Rec_e}{Rec_t}$$

8.1
$$UFC/mL = R \times 10^x \times 10$$

8.2
$$Abs_f = \frac{Abs_{tx}}{Abs_{t0}}$$

8.3
$$Log UFC/mL_f = \frac{Log UFC/mL_{tx}}{Log UFC/mL_{t0}}$$

Listado de Abreviaturas

A

Ace	Acenafteno
An	Antraceno
AG	Surfactante gémini aniónico basado en grupo de cabeza de fosfato
Abs _f	Absorbancia final
Abs _{tx}	Absorbancia a tiempo x
Abs _{t0}	Absorbancia a tiempo inicial

B

b ₁ y b ₂	Ordenadas al origen de las ecuaciones de solubilidad del HAP en una solución acuosa de surfactante 1 y 2
TTAB	Bromuro de tetradeciltrimetilamonio
B	Parámetro de interacción entre los tensioactivos

C

C _s	Concentración de surfactante a la cual la solubilidad del contaminante es evaluada
CMC	Concentración Micelar Crítica
CMC _i	Concentración Micelar Crítica ideal
CMC _{exp}	Concentración Micelar Crítica experimental
CPB	Bromuro de cetilpiridino
[Surfactante] _T	Concentración de surfactante total
[Contaminante] _T	Concentración de contaminante total
[surfactante] _{adsorbido}	Concentración de surfactante adsorbido
[surfactante] _{precipitado}	Concentración de surfactante precipitado
C ₁₂ E ₆	Éter monododecílico de hexaetilenglicol
C	Controles
[Q]	Concentración de <i>quencher</i>
[M]	Concentración micelar

D

DLS	Dispersión Dinámica de la Luz
DO	Densidad óptica
D	Momento dipolar

E

EPA	Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos
E	Constante dieléctrica
E	Efecto de mezclado entre los dos surfactantes

F

Fen	Fenantreno
Flu	Fluoreno
F	Fluoróforo
α_{T80}	Fracción molar de Tween 80
α_{T20}	Fracción molar de Tween 20
$\alpha_{\text{no iónico}}$	Fracción molar del surfactante no iónico

H

HAPs	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
h	Horas
H	<i>Halomonas titanicae</i> KHS3

I

I_0	Intensidad de fluorescencia en ausencia de quencher
I	Intensidad de fluorescencia en presencia de quencher

K

K_m	Coefficiente de partición micela-agua del hidrocarburo
$K_{o/w}$	Coefficiente de partición octanol-agua del hidrocarburo

L

LS	Laurato de sodio
Log $K_{o/w}$	Logaritmo de la constante de partición del HAP entre octanol y la fase acuosa
λ_{em}	Longitud de onda de emisión de fluorescencia
λ_{exc}	Longitud de onda de excitación de fluorescencia
λ_{max}	Longitud de onda del máximo de absorbancia

M

MeOH	Metanol
MC	Medio común

N

Naf	Naftaleno
N_A	Número de agregación
n_a	Número de avogadro
N_c	Número total de átomos de carbono de la cadena hidrocarbonada del surfactante
n_s	Número de moles del contaminante en la fase acuosa
n_m	Número de moles del contaminante en la matriz sólida

P

Pir	Pireno
Π	Pi
β	Parámetro de interacción entre dos surfactantes
%Rec _e	Porcentaje de recuperación experimental
%Rec _t	Porcentaje de recuperación teórico
Rec _{e1y2}	Porcentaje de recuperación empleando surfactante 1 y 2
Rec _{ac}	Porcentaje de recuperación en ausencia de surfactante

Q

Q	<i>Quencher</i>
---	-----------------

R

RSM	Remediación aumentada por surfactantes- Relación de Solubilización Molar
RSM*	Relación de Solubilización Molar relativa
Relación 1:3	Relación de las intensidades de emisión de fluorescencia
R	Parámetro utilizado para determinar experimentalmente la solubilidad del HAP en una solución donde se encuentren los dos surfactantes
R	Parámetro obtenido experimentalmente para determinar la eficacia de una mezcla de surfactantes para solubilizar el HAP
Rec _e	Porcentaje de recuperación experimental
Rec _t	Porcentaje de recuperación teórico

S

SDDC	(Ácido 3,3–disulfanedil bis (2- decamidó propanoico)), nombrado de manera simplificada como Didecamido cistina de sodio
S	Solubilidad del contaminante
S_{CMC}	Solubilidad del contaminante a la CMC
$S_{HAP, t}$	Solubilidad aparente total del HAP en las soluciones de surfactantes individuales o en una mezcla
$S_{HAP, a}$	Cantidad de HAP presente en la fase acuosa
$S_{HAP, 1}$	Cantidades de HAP que puede solubilizar cada surfactante por separado por encima de la CMC
$S_{HAP, m}$	Cantidad de HAP presente en la fase micelar
S^*_{HAP}	Solubilidad relativa
$S^t_{HAP, m}$	Solubilidad teórica
$S^{exp}_{HAP, 1}$	Solubilidad experimental del HAP en un surfactante por encima de la CMC
S buffer	Solubilidad que presenta cada contaminante en fase acuosa (<i>buffer</i>)
S_{T20}	Capacidad para solubilizar HAPs por parte del Tween 20
S_{T80}	Capacidad para solubilizar HAPs por parte del Tween 80
SDS-TX100	Mezcla Dodecilsulfato de sodio – Tritón X 100
SDS	Dodecilsulfato de sodio
SAXS	Dispersión de rayos-X de bajo ángulo
Si-OH	Silones

T

T80	Tween 80
T20	Tween 20
Γ	Tensión superficial
T80-LS	Mezcla Tween 80-Laurato de sodio
T80-SDDC	Mezcla Tween 80-Di Decamido cistina de sodio
T20-LS	Mezcla Tween 20-Laurato de sodio
T	Tratamientos
TX-100	Tritón X 100
TK	temperatura de Krafft
TN	Tratamientos utilizando naftaleno como contaminante
TF	Tratamiento utilizando fenantreno como contaminante

U

UV-Vis	Ultravioleta-Visible
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

V

V_w	Volumen molar del agua
V_N	Volumen del núcleo micelar
V_{NT}	Volumen total que ocupan los núcleos de las micelas

X

X_m	Fracción molar en la fase micelar
X_a	Fracción molar en la fase acuosa

Prólogo

El presente trabajo de tesis, estuvo enfocado al estudio de nuevos sistemas anfifílicos con posible aplicación en la remediación de suelos contaminados. El interés de esta investigación radica en que, en general la contaminación de suelos y agua por compuestos orgánicos hidrofóbicos es un problema ambiental de gran actualidad, y la eliminación de estos compuestos se vuelve difícil a causa de su baja solubilidad en agua, que resulta en una fuerte adsorción en el sólido (suelo) y significa un riesgo para la salud humana y el medio ambiente. En este contexto, una posible solución a este problema es aplicar tecnologías modernas de remediación. Un proceso de remediación empleando soluciones acuosas puede hacerse más eficiente incorporando metodologías capaces de movilizar mayor cantidad de contaminantes desde la superficie de los suelos a la solución, con el consecuente aumento de la disponibilidad a los microorganismos capaces de metabolizarlos. La remediación aumentada por surfactantes y mezclas de surfactantes ha sido sugerida como una estrategia prometedora para lograr estos objetivos.

Para este estudio se utilizaron surfactantes no iónicos Tween 20 y Tween 80 y los surfactantes aniónicos Laurato de sodio y Didecamido cistina de sodio, utilizándose también mezclas de tipo aniónico-no iónico de los mismos. En el **capítulo 1** se presenta una introducción general que permitirá al lector conocer las propiedades generales de los compuestos y sistemas empleados que facilitarán la comprensión de los resultados obtenidos.

En el **capítulo 2** de esta tesis, se describió la caracterización de la mezcla Tween 80 (T80)-didecamido cistina de sodio (SDDC) mediante diferentes técnicas. Para ello se determinó la Concentración Micelar Crítica (CMC), el número de agregación, el tamaño y la morfología de los agregados a diferentes composiciones de la mezcla. Además se aplicaron los diferentes modelos de agregación existentes para tratar los resultados obtenidos, con el objetivo de determinar qué tipo de mezclado se observa entre los surfactantes, y así intentar predecir la capacidad de solubilización de la mezcla.

El **capítulo 3**, se centró en ampliar los estudios de solubilización en agua de contaminantes por efecto de diferentes sistemas micelares formados por surfactantes individuales o mezclas de surfactantes no iónicos-aniónicos, lo cual representa un primer

paso hacia el estudio de la movilización de estos compuestos desde los suelos y sedimentos, para su posterior aplicación en técnicas de remediación en suelos contaminados.

En el **capítulo 4**, se analizó la selectividad de los mismos surfactantes ó mezclas de surfactantes para la solubilización en agua de más de un contaminante, es decir, para la solubilización de mezclas de contaminantes. A partir de los resultados anteriores en solución acuosa se eligió el surfactante gémuni, y la mezcla T80-SDDC, para los estudios de desorción de contaminantes desde sólidos, dado que este es el sistema más novedoso. Se utilizaron matrices sólidas como modelos de suelo para realizar ensayos, dado que si bien esta mezcla mostró ser efectiva para aumentar la solubilidad en agua de algunos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) estudiados, eso no garantiza la misma efectividad para desorber contaminantes que interaccionan fuertemente con las matrices sólidas. Este estudio fue desarrollado en el **capítulo 5**.

El **capítulo 6**, estuvo enfocado a la utilización de los mismos surfactantes (T80, gémuni y la mezcla T80-SDDC) sobre la disponibilidad de los contaminantes a un microorganismo capaz de metabolizar a los contaminantes estudiados.

Se intentó de esta manera, aprovechar el sinergismo entre ambos surfactantes en una posible aplicación ambiental.

En el **capítulo 7**, se exponen las conclusiones generales de este trabajo de tesis doctoral y finalmente en el **capítulo 8** se describieron los materiales, métodos y procedimientos llevados a cabo durante el desarrollo de los diferentes estudios.



Capítulo 1: Introducción General

**A veces sentimos que lo que hacemos es tan solo una gota en el mar,
pero el mar sería menos si le faltara una gota.**

Madre Teresa de Calcuta



Índice

Índice	4
1.1 Introducción	5
1.1.1 Contaminación de suelos y agua por Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.	5
1.1.1.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs).	5
1.1.2 La matriz sólida suelo	8
1.1.3 Tecnologías de remediación de suelos y sedimentos contaminados con HAPs	10
1.1.4 Uso de surfactantes como tecnología de remediación de suelos y sedimentos contaminados con HAPs.....	12
1.1.4.1. Surfactantes.....	13
1.1.4.1.1. Aplicaciones.....	15
1.1.4.1.2. Morfología	16
1.1.4.2. Surfactantes gémuni.....	17
1.1.4.2.1. Características de los surfactantes gémuni.....	19
1.1.4.3. Mezclas de surfactantes	19
1.1.4.3.1. Mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos	20
1.1.4.4. Solubilización micelar de compuestos orgánicos hidrofóbicos en mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos	21
1.1.5. Extracción de HAPs desde matrices sólidas empleando surfactantes.....	22
1.1.6. Efecto de los surfactantes sobre la biodegradación de HAPs por microorganismos específicos	23
1.2 Objetivo general del trabajo de tesis	24
1.3 Referencias.....	25

1.1 Introducción

1.1.1 Contaminación de suelos y agua por Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.

La contaminación de suelos y agua por compuestos orgánicos hidrofóbicos es un problema ambiental de gran actualidad. La eliminación de este tipo de compuestos desde los suelos se vuelve difícil a causa de su baja solubilidad en agua, que resulta en una fuerte adsorción en el suelo (sólido) y significa un riesgo para la salud humana, a través de su bio-acumulación y su efecto sobre la cadena alimentaria. Esta adsorción de los contaminantes orgánicos en el suelo, además, limita su disponibilidad a la población microbiana capaz de degradarlos.

1.1.1.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son una clase importante de tales contaminantes orgánicos. Están formados por dos o más anillos de benceno condensados en forma lineal, o en disposiciones angulares agrupadas, cada uno con diferente toxicidad. Se ha demostrado que muchos de los HAPs son potencialmente mutagénicos tanto para humanos como para la biota en general lo que ha planteado una preocupación considerable.¹

Los HAPs son algunos de los contaminantes más cancerígenos presentes en el medio ambiente, ya que la exposición a unos pocos microgramos de ciertos HAP puede producir tumores cancerígenos en algunos organismos.² Todos los vertebrados, incluidos los peces, las aves y los mamíferos, son propensos a desarrollar cáncer debido su exposición a los HAPs, y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) y otros organismos han declarado que varios HAPs son posibles ó probables carcinógenos humanos.¹

La EPA ha enumerado 17 HAPs en su lista de contaminantes prioritarios, como se muestra en la Tabla 1.1. Estos han sido identificados como los que generan mayor preocupación con respecto a la exposición potencial y efectos adversos para la salud en los seres humanos. De hecho, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer³ clasifica algunos HAPs como, posiblemente, o probablemente carcinogénicos para los humanos (Grupo 1, y 2a: carcinógenos probables para el ser humano, Grupo 2b: carcinógenos posibles para el ser humano, Grupo 3: no poseen clasificación carcinogénica para humanos).³ Estos contaminantes representan una seria amenaza para la salud y el bienestar de los seres humanos. El efecto más significativo sobre la salud que se espera como consecuencia de la exposición durante un tiempo prolongado por inhalación a los HAP, es un incremento en el riesgo de cáncer de pulmón, debido a la volatilidad de estos compuestos.⁴ Por

ejemplo, naftaleno, un HAP con bajo peso molecular es conocido por ser uno de los más tóxicos, mientras que muchos HAPs con alto peso molecular son considerados como potenciales carcinógenos, por ejemplo benzo (a) pireno.⁵

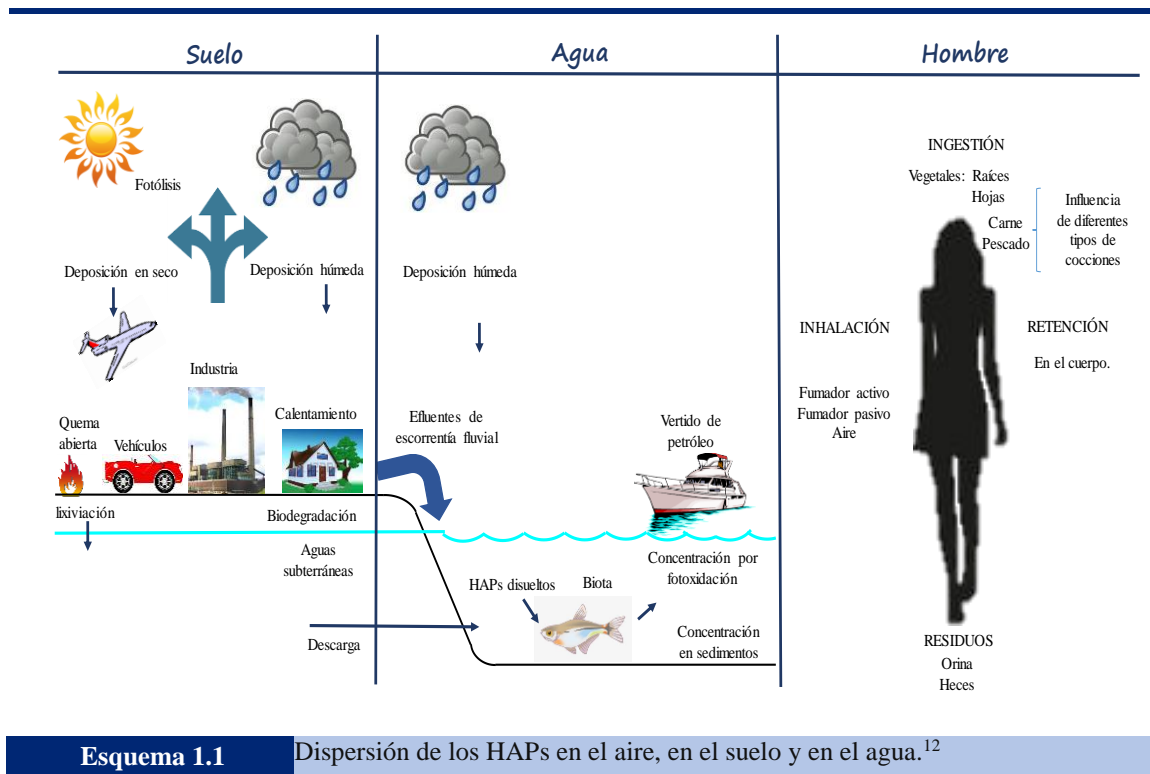
Los HAPs por lo general son más tóxicos en presencia de luz ultravioleta, debido a que puede sufrir transformaciones en el medio ambiente, especialmente bajo la influencia de varios tipos de radiaciones o reaccionando con otras moléculas. Así, estos contaminantes se exponen a la luz en presencia de oxígeno y puede oxidarse tanto en la atmósfera como en el agua.⁶ Estos compuestos tienen de moderada a alta toxicidad para los organismos acuáticos y las aves. Sin embargo, en el suelo es poco probable que ejerzan efectos tóxicos en los invertebrados terrestres, excepto cuando el suelo está altamente contaminado. Los mamíferos pueden absorber HAPs por diversas rutas, por ejemplo, inhalación, contacto con la piel, y la ingestión.^{7,8} Por otra parte, las plantas pueden absorber los HAPs de los suelos a través de sus raíces y trasladarlos a otras partes de la planta. Las tasas de absorción están relacionadas generalmente con la concentración, solubilidad en agua, y su estado fisicoquímico, así como el tipo de suelo.⁹

Tabla 1.1		
Lista de HAPs designados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. ³		
Compuestos (IUPAC)	Peso Molecular (g/mol)	Carcinogenicidad
Naftaleno	128,2	Grupo 2B
Acenaftileno	152,2	--
Fluoreno	166,2	Grupo 3
Acenafteno	154,2	--
Fenantreno	178,2	Grupo 3
Antraceno	178,2	Grupo 3
Fluoranteno	202,3	Grupo 3
Pireno	202,2	Grupo 3
Criseno	228,3	Grupo 2B
Benzo(a)Antraceno	228,3	Grupo 2A
Benzo(b)Fluoranteno	252,3	Grupo 2B
Benzo(k)Fluoranteno	252,3	Grupo 2B
Benzo (a)Pireno	252,3	Grupo 2A
Dibenzo(a,h)Antraceno	278,3	Grupo 2A
Indeno(c,d)Pireno	276,3	Grupo 2B
Indeno(1,2,3c,d)Pireno	276,3	Grupo 2B
Benzo(g,h,i)Perileno	276,3	Grupo 3

Estos contaminantes se encuentran en la naturaleza distribuidos en diversos entornos. Debido a que los HAPs se producen de forma natural, como incendios forestales, generalmente se presentan en mezclas. Por eso rara vez, o nunca, se encuentra una zona con sólo uno o dos HAPs. La multitud de HAPs en un área, cada uno con su propia toxicidad, hace que sea difícil comparar el riesgo de una región a otra.^{1,10}

Estos compuestos son formados principalmente a partir de la incineración de residuos sólidos, y como resultado de la combustión incompleta de los combustibles fósiles. Los HAPs están ampliamente distribuidos en el medio ambiente ya sea de forma natural, por ejemplo, a partir de incendios forestales, volcanes, síntesis bacteriana y de algas, filtraciones de petróleo, y erosión de rocas sedimentarias que contienen hidrocarburos del petróleo, o por actividades antropogénicas, como fuentes puntuales grandes que incluyen la combustión incompleta (como los incineradores y algunos procesos industriales). Fuentes puntuales más pequeñas incluyen fuentes dispersas (como emisiones de automóviles, humo de estufas a leña, escapes de aviones a reacción, humo de cigarrillos y cigarrillos y barbacoas en el patio trasero) (Esquema 1.2) y pueden persistir durante prolongados períodos de tiempo.^{11,12} Es importante mencionar que la combustión incompleta, ya sea por fuentes naturales o antropogénicas, se ha identificado como el principal contribuyente de los HAPs al medio ambiente.¹²

En el esquema 1.1 se muestra la dispersión de estos HAPs a través del aire y se observa que se distribuyen a través de entornos terrestres y acuáticos, como resultado de varios procesos. Allí también se muestran algunos de estos procesos en forma amplia y cómo se incorporan, dispersan, y degradan los HAPs en el medio ambiente.¹²

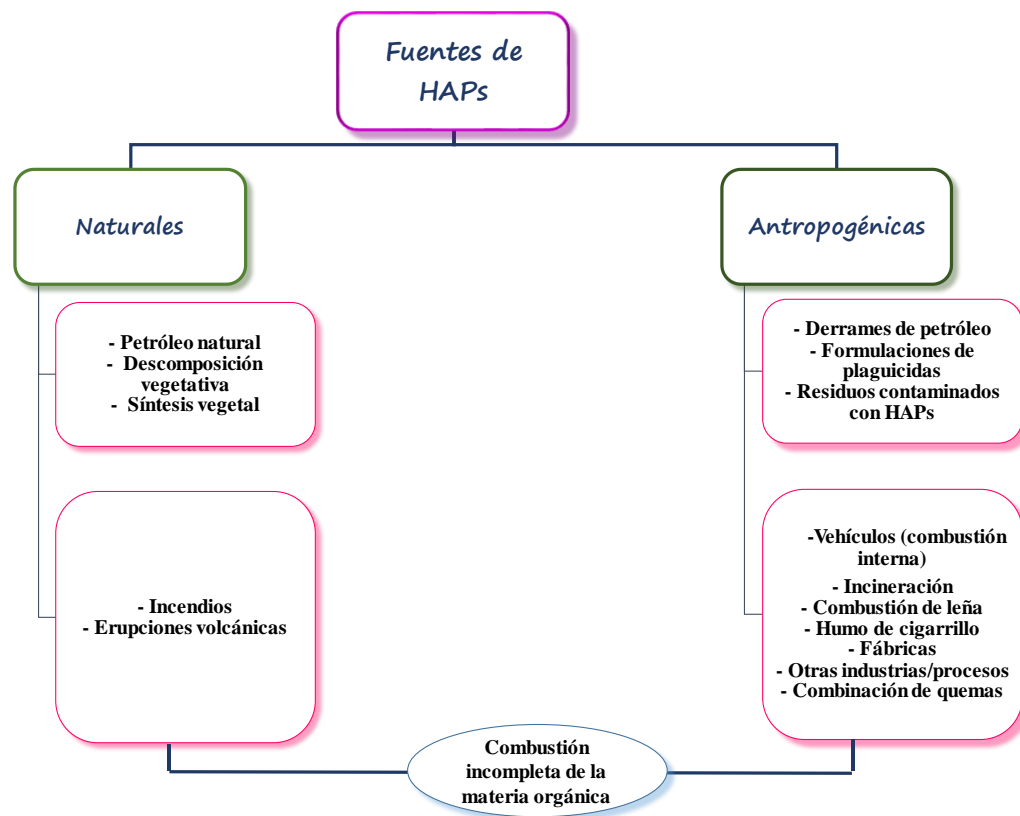


Esquema 1.1 Dispersión de los HAPs en el aire, en el suelo y en el agua.¹²

La presencia de HAPs en el suelo plantea una amenaza potencial, ya que como se mencionó, estos compuestos tienen una baja solubilidad acuosa, están fuertemente adsorbidos en suelos o sedimentos, lo que los hace persistir en el sólido durante largos períodos de tiempo, y de esta manera

presentan menor biodisponibilidad a microorganismos. La toxicidad de tales compuestos ha motivado el desarrollo de diversas tecnologías capaces de removerlos y degradarlos para remediar el suelo y el agua contaminada.¹³ Estas tecnologías deberían mejorar la eficacia de desorción de los contaminantes desde los suelos, la movilidad y biodisponibilidad en fase acuosa.^{14,15}

El coeficiente de partición octanol-agua de los HAPs también es importante para determinar la adsorción de los hidrocarburos en el suelo. El coeficiente de partición octanol-agua ($K_{o/w}$) está relacionado con la solubilidad de un compuesto orgánico en agua.¹⁶ A medida que aumenta $K_{o/w}$, disminuye la solubilidad acuosa y hay evidencia que muestra que aumenta la tendencia de adsorción en un suelo particular. Otros factores, como la conductividad del suelo, también tienen una influencia significativa en la distribución de los HAPs.¹²



Esquema 1.2 Fuentes naturales y antropogénicas de los HAPs.¹²

1.1.2 La matriz sólida suelo

El suelo es un sistema muy complejo y heterogéneo compuesto por una matriz sólida, líquida y gaseosa, siendo un sector clave de los ecosistemas terrestres.^{17,18} Los suelos han sido considerados como el "biomaterial más complejo del planeta",¹⁹ actuando, por ejemplo, como hábitat de

organismos vivos, fuente de nutrientes, sumidero de carbono, y regulador hidrológico de la calidad y cantidad del agua.^{17,19} El suelo en condiciones óptimas contiene aproximadamente 45% de material sólido inorgánico, 5% de materia orgánica, y 50% de poros, que están ocupados por una proporción igual de agua y aire.²⁰ Los gránulos de suelo están formados por estructuras tridimensionales de secuencias repetitivas de grupo ortosilicato, donde el silicio comparte alguno o todos los átomos de oxígeno con el silicio del tetraedro vecino. Los átomos de oxígeno no compartidos dejan poros en los gránulos, estando mayoritariamente como silanoles (Si-OH), parte de los silanoles se encuentran deprotonados presentando carga negativa que se contrarresta con contraiones catiónicos. Dado esto, la superficie del suelo presenta una densidad de carga negativa.²¹

El suelo generalmente puede adsorber una gran cantidad de moléculas inorgánicas en sus poros, dando como resultado que estos poros aumenten el área superficial del suelo.^{22,23}

De acuerdo con el tamaño de las partículas, la fracción inorgánica del suelo se puede clasificar en tres tipos principales: arena (60-2000 μm), limo (2 a 60 μm) y arcilla (menor de 2 μm). La distribución del tamaño de las partículas define la textura del suelo, con diferentes proporciones de arena, limo y arcilla, y su disposición y tipos de enlaces definen su estructura. La textura y la estructura tienen una influencia importante en los índices físicos del suelo.²⁴

Los componentes orgánicos del suelo incluyen residuos de plantas y animales en diversas etapas de descomposición. Estos componentes, aunque normalmente están presentes en cantidades mucho más pequeñas que los componentes inorgánicos, pueden alterar significativamente las propiedades de un suelo.²⁴

Los experimentos que involucran el suelo requieren grandes cantidades de sólidos, los cuales necesitan un tratamiento previo extensivo: es necesario hacer un muestreo y caracterizar el contenido de las sales, la materia orgánica, pH, etc.²⁵ Por esta razón, se buscan modelos de suelo para simplificar el estudio evitando esta etapa. En este trabajo se utilizó la sílica gel como un modelo de suelo por su similitud con la porción inorgánica del mismo ya que está constituida por secuencias repetitivas de grupos ortosilicato. También se utilizó un suelo, adquirido comercialmente, con características de granular, arenoso y poroso.

Estas matrices sólidas poseen sitios de unión similares a los de un suelo natural, por lo que pueden utilizarse como modelos, para estudiar la interacción de los contaminantes con sólidos.

1.1.3 Tecnologías de remediación de suelos y sedimentos contaminados con HAPs

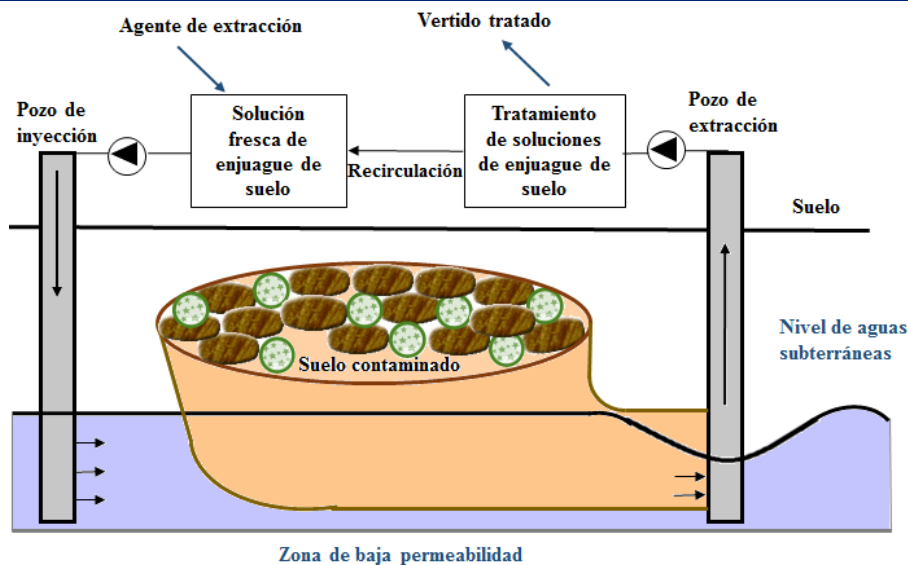
Una posible solución al problema de contaminación por HAPs es aplicar tecnologías de remediación. Tecnologías térmicas, fisicoquímicas y biológicas y combinaciones de ellas han sido probadas para la remediación de suelos, como se muestran en la Tabla 1.2.²⁶

Tabla 1.2	Descripción general de las tecnologías de remediación de suelos contaminados. ²⁶
Clasificación	
Fisicoquímica	Extracción de contaminantes con solvente (agua y solventes orgánicos, agentes tensioactivos, ciclodextrinas, aceite vegetal), extracción con fluido supercrítico, o subcrítico.
Biológica	Biorremediación utilizando agricultura, compostaje, tratamiento aeróbico y anaeróbico, y fitorremediación.
Química	Oxidación química con diversos oxidantes (por ejemplo, reactivo de Fenton, ozono, peroxiácidos, KMnO_4 , H_2O_2), degradación fotocatalítica.
Térmica	Incineración, desorción térmica.
Electrocinética	Aplicación de un potencial eléctrico de corriente continua de bajo nivel.

En la literatura se encuentran referencias de estas tecnologías, particularmente la oxidación, biorremediación y fitorremediación, específicamente para suelos contaminados con HAPs.²⁷⁻³⁰ A continuación, se resumen estas técnicas, que van desde las tecnologías más comúnmente aplicadas como la extracción con solventes, a otras nuevas y emergentes como la remediación electrocinética.

Extracción con solvente: Con esta metodología, los HAPs se eliminan del suelo usando un solvente individual o una mezcla de solventes. De esta manera se puede movilizar una buena cantidad de contaminantes desde la superficie de los suelos a la solución, con el consecuente aumento de la disponibilidad de los contaminantes a los microorganismos capaces de degradarlos usando estos compuestos como como única fuente de carbono y energía. Las dos etapas implicadas en la extracción de un compuesto a partir de una matriz sólida son la desorción del contaminante desde el sitio de unión en la matriz sólida, seguido por su elución en el fluido de extracción.³¹ Típicamente, mezclas de agua con solventes, o con agentes tensioactivos se utilizan para extraer o lavar el suelo contaminado con HAPs.^{22,32} Los avances en este campo incluyen el uso de agentes de extracción no tóxicos y biodegradables, tales como ciclodextrinas^{33,34} y aceite vegetal,^{35,36} así como la utilización de fluidos supercríticos y subcríticos por la dilución del sólido al líquido de extracción.³⁷ La fase líquida que contiene los contaminantes desorbidos se elimina o se somete a otros tratamientos químicos o bioquímicos para su completa desintoxicación. La eficiencia de este proceso en sitios reales depende en gran medida de las características del suelo (heterogeneidad del suelo, naturaleza del contaminante etc.).³⁸ Mousset y colaboradores³⁹ utilizaron tecnologías

tradicionales de bombeo y tratamiento, para el lavado y enjuague del suelo con agentes de extracción como ciclodextrina.³⁹ En el esquema 1.3 se representa esquemáticamente el proceso de lavado de suelos contaminados por el uso de diversos agentes como surfactantes, biosurfactantes, ciclodextrinas, etc. El contaminante movilizado puede recuperarse en pozos de extracción. Los surfactantes pueden usarse en mezclas, o con aditivos tales como alcohol y/o sales como cloruro de sodio. También se pueden agregar polímeros o espumas para controlar la movilidad de los contaminantes. Los surfactantes deben recuperarse y reutilizarse para que el proceso sea económico.^{40,41}



Esquema 1.3

Esquema del proceso de lavado del suelo contaminados utilizando agentes (como surfactantes, biosurfactantes, ciclodextrinas, etc.) para la extracción de contaminantes.⁴¹

Oxidación química: las reacciones de oxidación se pueden utilizar para la remediación de suelos contaminados con HAPs inyectando un oxidante en el suelo. Se han investigado diferentes tipos de oxidantes, siendo los más estudiados el reactivo de Fenton,⁴² o el ozono.⁴³ Otros oxidantes menos comunes son los peroxiácidos,⁴⁴ permanganato de potasio,⁴⁵ peróxido de hidrógeno y persulfato de sodio o hierro activado.⁴⁶

Remediación electrocinética: el principio de este método es la aplicación de un potencial eléctrico de corriente continua de bajo nivel a través de electrodos, que se colocan en el suelo contaminado. Los contaminantes iónicos son transportados al electrodo con carga opuesta mediante electromigración. Además, el flujo electrosmótico proporciona una fuerza motriz para el movimiento de contaminantes solubles. Aunque la tecnología es conocida y utilizada desde hace más de una década, su aplicación a la eliminación de contaminantes hidrofóbicos y fuertemente

adsorbidos como los HAPs, especialmente en suelos de baja permeabilidad, es reciente.⁴⁷ En estos casos se utilizan agentes solubilizantes para aumentar la eficacia de eliminación de los HAPs.^{48,49}

Biorremediación: una de las tecnologías de tratamiento que ha ganado una amplia aprobación para el tratamiento de suelos contaminados con HAPs es la biorremediación, que es la manera natural de reciclaje de desechos por la descomposición de la materia orgánica o inorgánica en nutrientes utilizando organismos vivos, ya sea en presencia de oxígeno (biodegradación aeróbica) o en ausencia de oxígeno (biodegradación anaeróbica).⁵⁰

De hecho, la biorremediación se considera un tratamiento seguro, ecológico y económico, sin la propagación de los contaminantes a otro medio. Convencionalmente, se han empleado técnicas que incluyen el tratamiento tanto *in situ* (cultivo de la tierra, bioestimulación, compostaje y fitorremediación) como *ex situ* (biorreactores).⁵¹ En los tratamientos *in situ*, la actividad de los organismos degradantes es en gran medida influenciada por la fluctuación de las condiciones climáticas. El uso de biorreactores en los tratamientos *ex situ* en cambio ofrece un mejor control de temperatura y presión para mejorar el proceso de degradación de los contaminantes en el suelo.

Resulta esencial para la biorremediación de suelos contaminados con HAPs incrementar su biodisponibilidad a los microorganismos mediante el aumento de la solubilidad de estos contaminantes en agua y el aumento en la desorción de los mismos.

Dentro de los ejemplos que se puede mencionar, Chang y colaboradores⁵² llevaron a cabo un estudio a escala de laboratorio en el que se utilizó el método anaeróbico, en el cual añadieron concentraciones conocidas de fenantreno, pireno, antraceno, fluoreno y acenafteno a muestras de suelo. Después de un período de incubación de 90 días a 30 °C, se encontró una degradación significativa de los HAPs. Los resultados muestran que la biodegradación fue mayor en presencia de bacterias en condiciones sulfato-reductoras que en condiciones metanogénicas y a su vez que en condiciones reductoras de nitratos. Las bacterias sulfato-reductoras constituyen un importante grupo degradador de HAP. Por otro lado, Ambrosoli y colaboradores⁵³ lograron la remoción entre un 30-60% de HAPs en diferentes suelos contaminados, inoculando con una población mixta de microorganismos obtenida a partir de un arrozal.

1.1.4 Uso de surfactantes como tecnología de remediación de suelos y sedimentos contaminados con HAPs

Es bien conocido que el uso de tecnologías fisicoquímicas de remediación es una de las metodologías más usadas en la remediación de suelos, y entre éstas se encuentra el lavado de suelos con soluciones acuosas o la extracción mediante el empleo de solventes orgánicos.⁵⁴ Recientemente se ha buscado diseñar procesos de remediación utilizando metodologías capaces de movilizar los

contaminantes desde la superficie de los suelos donde están fuertemente adsorbidos hacia el seno del medio acuoso adyacente, para que los microorganismos puedan degradarlos. La remediación aumentada por surfactantes fue utilizada en el desarrollo de esta tesis, ya que la misma ha sido sugerida como una estrategia prometedora para lograr los objetivos propuestos. Los surfactantes son capaces de incrementar la solubilidad de compuestos orgánicos insolubles en agua por partición dentro de los corazones hidrofóbicos de las micelas,⁵⁵⁻⁵⁷ además presentan la capacidad para mantener suspendidos estos contaminantes en solución (no necesariamente los solubiliza), y así evitar que se vuelvan a depositar.⁵⁸ De esa forma se pueden movilizar los contaminantes desde la superficie de los suelos o sedimentos a una solución acuosa.⁵⁶ Además, es conocido que en algunos casos pueden estimular la degradación microbiana, como ya se mencionó.^{59,60}

1.1.4.1. Surfactantes

Los surfactantes poseen una estructura química característica que consiste en una porción hidrofóbica y otra hidrofílica (Esquema 1.4). Una de las características más destacadas de los surfactantes es que cuando alcanzan una cierta concentración, llamada concentración micelar crítica (CMC), las moléculas de surfactante se asocian y forman micelas. Dicho agregado puede contener varias decenas y aún centenas de moléculas. Una micela es una estructura que satisface lo mejor posible las interacciones hidrofílicas y el efecto hidrofóbico, reduciendo el área de contacto de las zonas no polares del anfífilo con la fase acuosa y manteniendo solvatados los grupos hidrofílicos al mismo tiempo.⁶¹

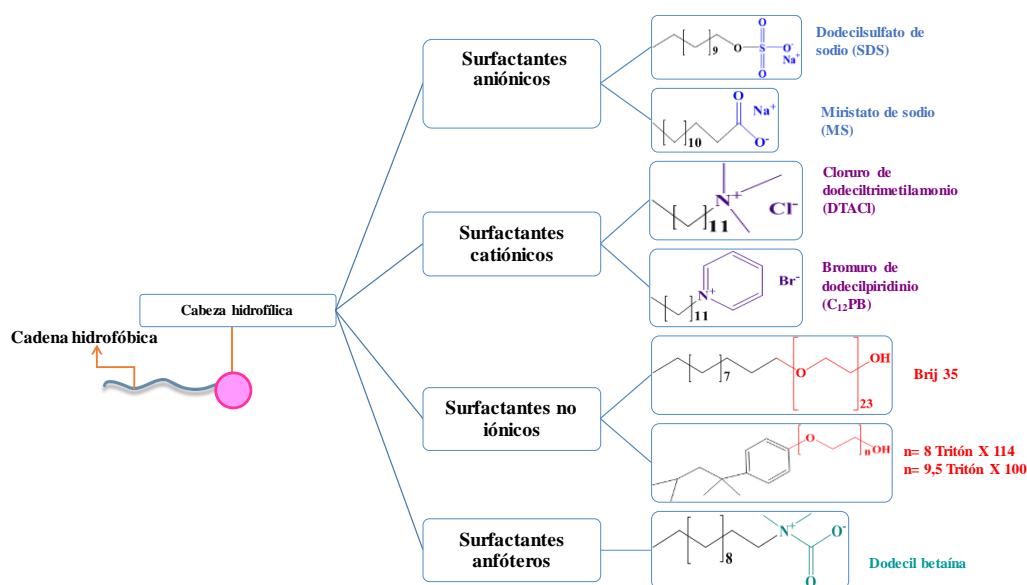
Las diferencias en el largo de la cadena hidrofóbica, sin embargo, sí pueden afectar las propiedades y el comportamiento de los surfactantes. Estos efectos pueden alterar la solubilidad, el empaquetamiento, y la adsorción en superficies.⁶²

Los agregados supramoleculares, que se forman por encima de la CMC según el surfactante que se utiliza y el tipo de agregado, tendrán diferente grado de penetración del agua. La región entre el corazón y los grupos hidrofílicos, donde existe cierto grado de penetración de agua, es llamada palizada. La zona externa se encuentra en la región de las cabezas polares, y es llamada capa de hidratación. Es precisamente esa diferente polaridad de las porciones de un agregado, la responsable de la solubilización de compuestos con diferentes características. Es decir, la cadena carbonada del surfactante tiene afinidad preferente por los compuestos apolares, como los HAPs, pues también son hidrofóbicos. Los compuestos apolares se van a solubilizar en el corazón interno mientras que a medida que la polaridad de los compuestos aumenta se solubilizarán en la palizada, en la capa de hidratación o podrían interactuar con la superficie de la micela. Las características de los surfactantes también pueden modificar la zona de solubilización de un sustrato en una micela o agregado supramolecular.⁶³

La clasificación química de los surfactantes se basa en la naturaleza de la porción hidrofílica; a partir de ésta, se definen cuatro grupos generales de surfactantes:

- 1. Aniónicos**, con la porción hidrofílica portando una carga negativa, tal como carboxilato ($\text{RCOO}^- \text{M}^+$), sulfonato ($\text{RSO}_3^- \text{M}^+$), o sulfato ($\text{ROSO}_3^- \text{M}^+$). A este tipo pertenecen los detergentes sintéticos como los alquil benceno sulfonatos, los jabones (sales de sodio de ácidos grasos), los agentes espumantes como el lauril sulfato, los humectantes del tipo sulfosuccinato, los dispersantes del tipo lignosulfonatos, etc.
- 2. Catiónicos**, con la porción hidrofílica llevando una carga positiva, por ejemplo, los haluros de amonio cuaternario ($\text{R}_4\text{N}^+ \text{X}^-$). La gran mayoría de estos surfactantes son compuestos nitrogenados. La fabricación de estos surfactantes es mucho más cara y es por esta razón que no son tan utilizados, salvo en caso de aplicaciones particulares, como cuando se hace uso de sus propiedades bactericidas o por su facilidad de adsorción sobre sustratos biológicos o inertes que poseen una carga negativa.
- 3. No iónicos**, donde la cadena hidrofílica no tiene carga, pero poseen grupos altamente polares como el polioxietileno ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$)_n, azúcares o grupos similares. El grupo hidrofóbico es generalmente un alquilo o alquil benceno y a veces una estructura de origen natural como un ácido graso, sobre todo cuando se requiere una baja toxicidad.
- 4. Anfótericos**, (zwiteriónicos), en los cuales la molécula tiene una carga negativa y una carga positiva en el grupo polar (a diferencia del contraión, M^+ o X^-) como las sulfobetainas, $\text{RN}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$.⁶³

Esta clasificación se muestra en el esquema 1.4.



Esquema 1.4

Representación esquemática de los monómeros de surfactantes y ejemplos de los diferentes tipos de surfactantes.

Un surfactante muestra diferentes propiedades en solución acuosa cuando existe como moléculas individuales que cuando alcanza su concentración de micelización (CMC). La CMC puede determinarse midiendo alguna propiedad, como tensión superficial, conductividad, entre otras.

¿Cómo se forman las micelas en solución acuosa? Cuando los surfactantes se agregan al agua, las moléculas de agua alrededor de los grupos hidrofóbicos crean una estructura tipo hielo o clatrato, lo que hace que disminuya la entropía de las moléculas de agua. A medida que aumenta la concentración y aumenta el número de moléculas de surfactante, las mismas se encuentran y comienzan a asociarse, lo que provoca que la estructura del hielo o clatrato se colapse y libere agua. Cuando se libera agua, la entropía de las moléculas del agua aumenta (la disminución de la entropía causada por la asociación de hidrocarburos es significativamente menor que el aumento de entropía del agua), y esta energía desencadena la micelización.

1.1.4.1.1. Aplicaciones

Las aplicaciones de los surfactantes en la ciencia y en la industria son múltiples y variadas. Desde procesos primarios como la recuperación y purificación de materias primas en las industrias minera y petrolera, hasta la mejora en la calidad de los productos terminados, como pinturas, cosméticos, productos farmacéuticos y alimentos. En la Tabla 1.3 se muestra una lista de algunas de las principales áreas de aplicación.

Tabla 1.3	Algunas de las principales aplicaciones modernas de los surfactantes. ⁶³
Industriales	Uso doméstico
Aplicaciones en cultivos agrícolas	Adhesivos
Materiales de construcción	Líquidos de limpieza
Aditivos de cemento	Cosméticos
Fluidificación del carbón	Desinfectantes
Aditivos de recubrimiento y nivelación	Alimentos y bebidas
Electrodeposición	Limpieza y lavado del hogar
Polimerización en emulsión	Pinturas
Artes gráficas	Productos farmacéuticos
Limpieza industrial	Productos fotográficos
Procesamiento de pieles	Jabones, shampoos, cremas
Lubricación	Ceras y abrillantadores
Agentes desmoldantes	
Flotación de mineral	
Fabricación de papel	
Recuperación de petróleo	
Tintas de impresión	
Preparaciones de superficie	
Textiles	
Impermeabilización	

Para muchas de las aplicaciones indicadas en la Tabla 1.3, las propiedades deseadas varían significativamente con el tipo de surfactante. Por esa razón, características tales como solubilidad, capacidad de reducción de tensión superficial, concentración micelar crítica (CMC), poder detergente, control de la humectación y la capacidad de formación de espuma pueden hacer que un surfactante determinado funcione bien en algunas aplicaciones y no tan bien en otras.⁶³

1.1.4.1.2. Morfología

Cuando la concentración de surfactante en una solución acuosa es mayor que la CMC, las micelas y los surfactantes monomoleculares (monómeros) coexisten en la solución, y es allí donde se mantiene un equilibrio dinámico a medida que los monómeros se asocian y se disocian. Así el valor de CMC se aproxima a la solubilidad de los monómeros. El número promedio de moléculas de surfactante en una micela es llamado número de agregación.⁶²

Los surfactantes muestran diferentes formas autoensambladas cuando la concentración del surfactante aumenta, llegando a formar cristales líquidos que tienen estructuras o propiedades ópticas muy diferentes a las de las micelas.

Para las soluciones acuosas de sustancias anfifílicas con concentración superior a la CMC, se produce una separación en dos fases por debajo de un punto crítico de temperatura. Una de las fases que se forma contiene una pequeña cantidad de monómeros de surfactante en un gran volumen de agua, mientras que la otra está formada por cristales hidratados. Este punto crítico de temperatura es la temperatura a la cual se marca el límite inferior de intervalo de temperaturas en el que las moléculas anfifílicas pueden asociarse para formar micelas. Esta temperatura es llamada temperatura de Krafft para los surfactantes aniónicos, mientras que para los surfactantes no iónicos se denomina punto nube.

En la Figura 1.1 se muestra que ocurre con una solución de surfactante, los cambios de fase que presenta en función de la temperatura y la concentración. Generalmente, cuando la temperatura es inferior a T_c (la temperatura de transición de fase entre sólidos hidratados y un soluto en una concentración mayor que la CMC), los surfactantes son sólidos hidratados insolubles (o hidratos de cristal) que tienen una estructura de bicapa o lamelar. Cuando la temperatura es más alta que la T_c , el surfactante se encuentra solubilizado. En esas condiciones a medida que aumenta la concentración, la organización del soluto comienza a cambiar desde micelas esféricas a micelas en forma de varilla, y a concentraciones más altas aún las moléculas tensioactivas comienzan a alinearse y orientarse, formando cristales líquidos (cristales líquidos liotrópicos). En general, los cristales líquidos hexagonales se forman primero por la alineación de micelas en forma de varilla, mientras que a concentraciones más altas comienzan a formarse cristales líquidos lamelares. Estos cristales

líquidos normalmente muestran anisotropía óptica, pero a veces forman cristales líquidos cúbicos que muestran un comportamiento isotrópico similar al de las micelas esféricas y en forma de varilla.

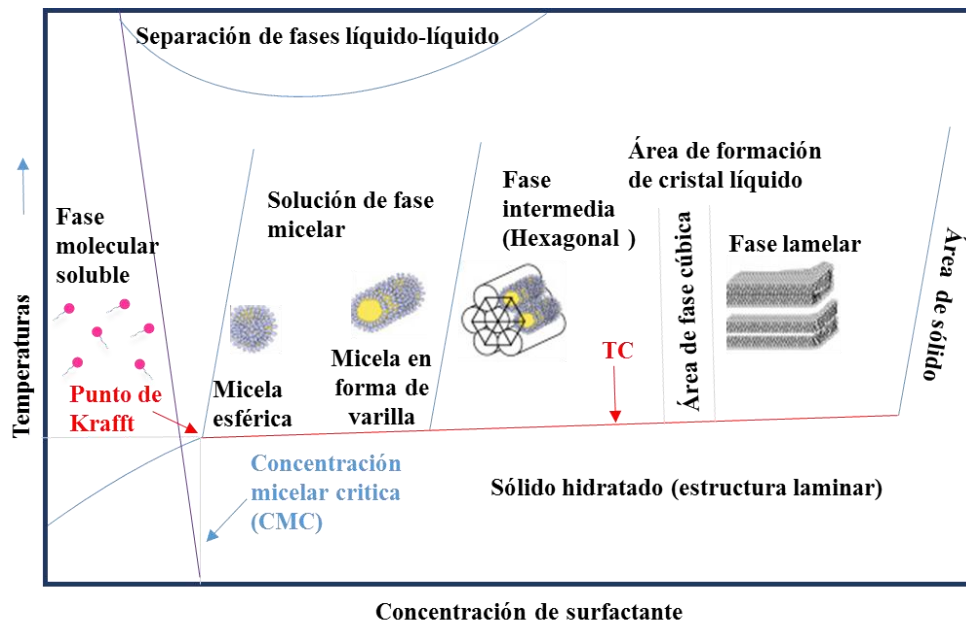


Figura 1.1

Dependencia de las condiciones de fase de una solución acuosa de surfactante con la temperatura y la concentración de surfactante.⁶⁴

1.1.4.2. Surfactantes gémuni

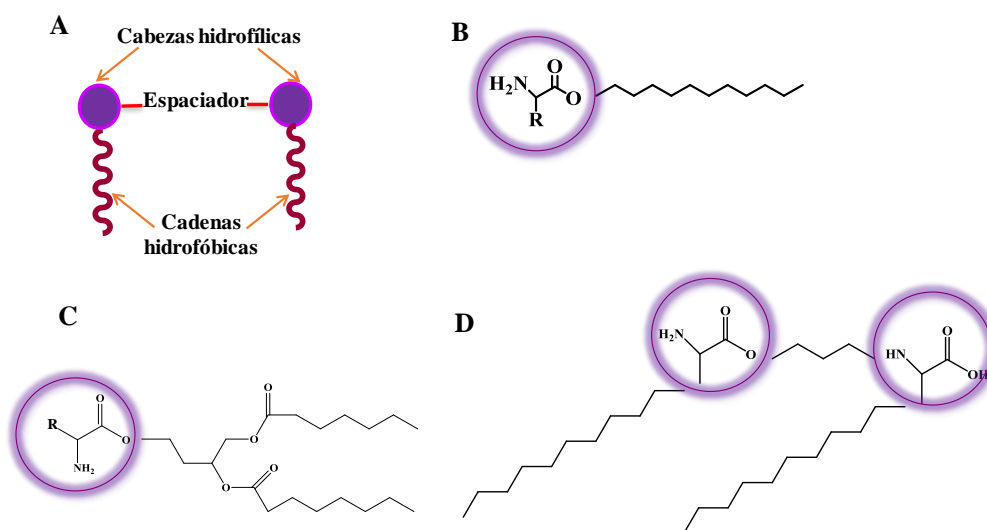
Se han llevado a cabo numerosas modificaciones estructurales en el diseño de los surfactantes para aumentar la hidrofobicidad, en un esfuerzo por mejorar su eficacia. Los surfactantes gémuni o diméricos son una familia de moléculas que constan de dos cadenas hidrofóbicas y dos grupos cabeza hidrofílicos conectados a través de un grupo espaciador relativamente corto (rígido o flexible) cerca de los grupos cabeza. Estos surfactantes han generado un gran interés tanto desde el punto de vista industrial como académico (Esquema 1.5A), siendo reportados por primera vez por Bunton y colaboradores en 1971⁶⁵ pero llamados '*geminis*' por Menger y Littau recién en 1993.⁶⁶

En los últimos veinte años, se ha realizado un gran esfuerzo para diseñar y sintetizar una gran variedad de surfactantes gémuni cambiando la estructura iónica y química de los grupos cabezas, el tipo y la longitud de la cadena espaciadora, y el largo de la cadena hidrofóbica.⁶⁷⁻⁷⁰ Hay varias revisiones sobre la síntesis, estructura y propiedades de los surfactantes gémunis, cuyos grupos hidrofílicos contienen carboxilatos, sulfonatos, fosfatos, grupos amonio cuaternario, azúcares y aminoácidos, entre otras funciones estructurales.⁶⁷⁻⁷⁰

Las primeras y más extensas investigaciones se han centrado en surfactantes gémunis catiónicos con grupos cabeza de amonio cuaternario y colas lineales de hidrocarburos. Estos surfactantes

presentaron un fácil diseño,⁷¹ y dada su particular estructura, fueron mucho más eficientes (menos cantidad de surfactante necesaria para lograr la misma actividad) que un surfactante convencional.⁷² Debido a que son sales de amonio cuaternario, son moléculas muy estables que presentan bajos porcentajes de degradación química y biológica. Esto constituye un riesgo toxicológico para los organismos acuáticos, lo que los hace ecotoxicológicamente inaceptables ambientalmente.⁷³ Debido a esto, algunas investigaciones se centraron en la síntesis de géminis a partir de compuestos naturales, por ejemplo aminoácidos. La introducción de aminoácidos en la estructura de las nuevas moléculas de surfactante da como resultado notables propiedades de biocompatibilidad y aporta una gran variedad de funcionalidades químicas, obteniéndose nuevos surfactantes solubles en agua, no tóxicos si se administran por vía oral, no irritantes, biodegradables, con un mínimo impacto acuático. Todas estas características garantizan su desarrollo comercial definitivo en el sector alimentario y cosmético resaltando así su potencial para aplicaciones bioquímicas.^{70,73,74}

Los aminoácidos y las cadenas alifáticas largas se pueden combinar para generar tres tipos de estructuras anfifílicas principales: estructuras lineales, que consisten en un aminoácido que lleva al menos una cola hidrofóbica (Esquema 1.5B),^{75,76} estructuras con glicerolípidos (Esquema 1.5C), que pueden considerarse análogos de mono, diglicéridos y fosfolípidos, y que consisten en una cabeza polar y uno o dos restos hidrofóbicos unidos entre sí mediante un esqueleto de glicerol,^{75,77} y diméricos o géminis (Esquema 1.5D), con dos cabezas polares (es decir, dos restos de aminoácidos) unidas por un espaciador y dos colas hidrofóbicas.^{78,79}

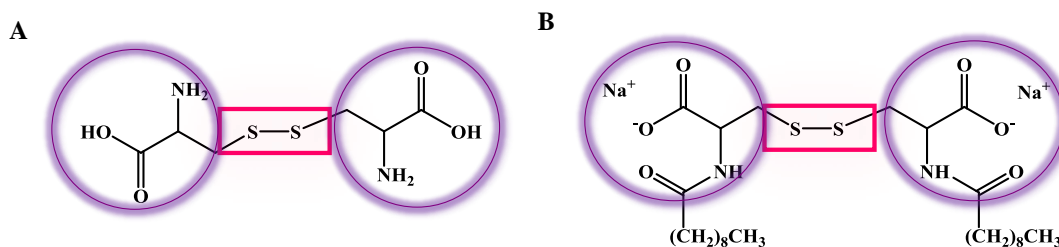


Esquema 1.5

Representación esquemática de un monómero de surfactante gémini (A) y ejemplos de los diferentes posibles tipos de surfactantes derivados de aminoácidos.⁷³

La cistina, que consiste en un dímero de dos aminoácidos cisteína unidos por un enlace disulfuro (S-S), ofrece un material potencialmente útil para el diseño de surfactantes géminis (Esquema

1.6A).⁸⁰ El surfactante gémuni con el cual se desarrolló este trabajo de tesis fue sintetizado a partir del aminoácido cisteína y el ácido decanoico, como se muestra en el esquema 1.6B.



Esquema 1.6 Estructura de A) cisteína B) surfactante gémuni utilizado en esta tesis doctoral (SDDC).

1.1.4.2.1. Características de los surfactantes gémuni

Muchos científicos han estudiado una variedad de propiedades de los surfactantes gémuni derivados de aminoácidos, como la tensión superficial, CMC, el comportamiento de las fases con la temperatura y la temperatura de Krafft.⁷⁰

La CMC es una característica importante de los surfactantes ya que regula varias propiedades de la actividad superficial como la solubilización, su interacción con las membranas biológicas, entre otras. Los surfactantes gémuni tienen mayor eficiencia en la reducción de la tensión superficial y mayor actividad de superficie que los surfactantes convencionales con cadenas de igual longitud lo que se refleja en menores valores de CMC.^{81,82} Yoshimura y colaboradores,⁸³ investigaron los valores de CMC de surfactantes gémuni obtenidos a partir de cisteína y encontraron que el valor de CMC disminuyó al aumentar el número de carbonos de 10 a 12 en la cadena hidrofóbica.^{83,84}

Como ya se mencionó, el valor de la CMC y la forma de los agregados, son parte de las características de los surfactantes. Sin embargo, estos no son los únicos parámetros, también es posible caracterizar un agregado determinando el número de agregación, y el tamaño. Estas propiedades se explican con detalle en el capítulo 2.

1.1.4.3. Mezclas de surfactantes

En la mayoría de las aplicaciones prácticas se utilizan mezclas de surfactantes en lugar de los surfactantes individuales, a fin de mejorar las propiedades de los sistemas. Además, muchas veces, con las mezclas de surfactantes, se requiere la utilización de menores cantidades de los mismos.⁸⁵ En los últimos años hay un gran interés por el empleo de mezclas de agentes tensioactivos en aplicaciones científicas e industriales debido a sus capacidades mejoradas de solubilización, suspensión, dispersión y transporte.⁸⁶⁻⁸⁸

Las mezclas de surfactantes presentan la posibilidad de producir efecto sinérgico en algunas propiedades de los sistemas mixtos. El efecto sinérgico se da en aquellos casos en los que los

surfactantes interaccionan de tal modo que se obtienen mejores propiedades químicas y de actividad superficial que con los surfactantes individuales y se atribuye a la formación de micelas mixtas.⁸⁸ Algunas propiedades en las que se puede observar efecto sinérgico en una mezcla de surfactantes son la tensión superficial y la CMC.⁸⁹

1.1.4.3.1. Mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos

Se han investigado en detalle varios sistemas mixtos que contienen surfactantes cargados de manera similar, por ejemplo catiónicos- catiónicos,^{90,91} aniónicos- aniónicos,⁹² o sin carga como no iónicos- no iónicos,⁹³ y otros con cargas opuestas entre los surfactantes que conforman la mezcla, por ejemplo iónicos-no iónicos y aniónicos-catiónicos.^{94,95} En la mayoría de los estudios de adsorción y micelización se busca obtener información de los sistemas micelares mixtos y un parámetro que resulta útil es el parámetro de interacción β , utilizado para cuantificar desviaciones de la idealidad. Se ha encontrado interacción muy débil en sistemas mixtos de surfactantes con cargas similares, mientras que los surfactantes con carga opuesta poseen en general interacciones más fuertes.⁹⁶

La cantidad de surfactante requerida para aplicaciones en remediación puede reducirse mediante el uso de la mezcla de dos o más surfactantes que pueden formar agregados micelares mixtos, los cuales, como ya se mencionó exhiben en muchos casos propiedades mejoradas respecto a los agregados de los componentes individuales.⁹⁷

En general, las mezclas de tipo aniónico- no iónico resultan más apropiadas para ser usadas en la remediación de suelos contaminados que las mezclas de tipo catiónico- no iónico ya que los surfactantes catiónicos se adsorben fuertemente en el suelo por presentar esta carga negativa.

Los estudios reportados de mezclas de surfactantes gémuni y surfactantes convencionales han revelado en muchos casos efecto sinérgico en la micelización y en la eficacia de la reducción de la tensión superficial. Este es un resultado muy importante para los futuros usos de los surfactantes gémuni en formulaciones comerciales.⁹⁸ Por ejemplo, Du y colaboradores,⁹⁹ han analizado el comportamiento de micelización de mezclas formadas por un surfactante gémuni aniónico con un surfactante no iónico convencional en medio acuoso. Estos autores caracterizaron la mezcla, encontrando que la CMC de la misma a diferentes proporciones de ambos surfactantes fue menor que la de los surfactantes puros, lo que indica un efecto sinérgico. También, observaron que los valores del parámetro de interacción β para las micelas mixtas fueron negativos, indicando una interacción atractiva entre las moléculas en la mezcla de surfactantes, en tanto que los valores del número de agregación del sistema micelar mixto eran más grandes que los del surfactante gémuni aniónico, pero inferiores a los obtenidos para el surfactante no iónico convencional. La micropolaridad de las micelas medida por la relación de bandas del espectro de fluorescencia del

pireno, disminuyó con el aumento de la fracción molar del surfactante gémini presente en la mezcla.⁹⁹

1.1.4.4. Solubilización micelar de compuestos orgánicos hidrofóbicos en mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos

Como se muestra en la Figura 1.2, la mejora de la solubilidad de los compuestos orgánicos se produce a una concentración de surfactante superior a CMC.¹⁰⁰

Durante la solubilización micelar, los solutos polares se acumulan cerca de la superficie de la micela, los solutos anfífilicos se acumulan en la interfase entre la micela y el agua y los solutos apolares se acumulan en el núcleo hidrofóbico de las micelas. La solubilidad del contaminante, referida como la cantidad total de soluto presente en la fase micelar y en la fase acuosa, incrementa linealmente con el incremento de la concentración de surfactante por encima de su CMC (Figura 1.2).^{14,100} En particular, el incremento de la solubilidad en agua de los HAPs en micelas es causado casi enteramente por la partición del mismo en los agregados.¹⁰¹

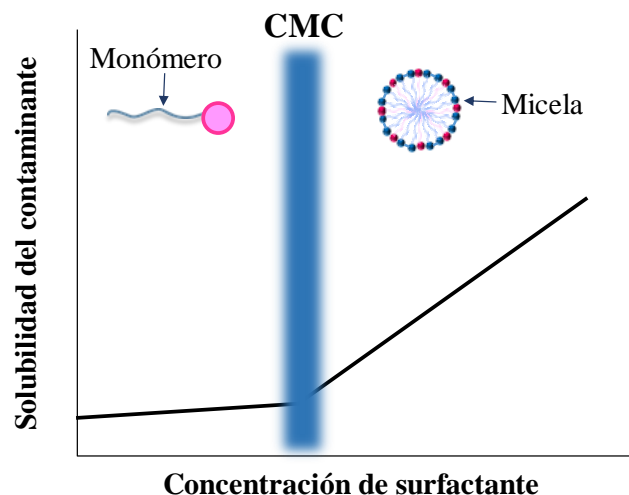


Figura 1.2

Diagrama esquemático donde se muestra la relación entre la solubilidad del contaminante en función de la concentración de surfactante.⁴⁰

La solubilización de HAPs en soluciones acuosas donde esté presente un surfactante individual ha sido muy estudiada y hay también reportes de comparaciones de los sistemas individuales con mezclas de surfactantes.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Por ejemplo, en comparación con el uso del surfactante puro Tritón X-100, la solubilidad aparente de fenantreno en micelas mixtas formadas por TX-100 y SDS aumentó, dependiendo de la relación molar de SDS, en la mezcla.¹⁰⁵

Cabe señalar que, el mezclado de surfactantes es también una forma alternativa de mejorar la biocompatibilidad del sistema de surfactantes para la remediación de suelos. Por ejemplo, la presencia de una pequeña cantidad de SDS en un sistema mixto de surfactantes aniónico-no iónico

promovió la desorción de fenantreno de suelos contaminados, presentando los mejores resultados las soluciones de surfactantes mixtos en comparación con la solución de TX-100 individual, estando la degradación positivamente relacionada con la fracción molar de SDS en solución. Sin embargo, la biodegradación se inhibió con una relación mayor de SDS en las soluciones de mezclas, la cual podría ser debido a la utilización preferente de SDS por microorganismos degradadores de fenantreno como fuente de carbono y energía.¹⁰⁶ Es por esto que nos centramos en el estudio de la solubilización de HAPs en soluciones acuosas empleando nuevos sistemas anfifílicos mixtos.

1.1.5. Extracción de HAPs desde matrices sólidas empleando surfactantes

En estudios llevados a cabo utilizando surfactantes en presencia de suelos se han encontrado problemas de precipitación de surfactantes aniónicos y de adsorción de surfactantes no iónicos, lo cual lleva a la necesidad de utilizar concentraciones más altas de los detergentes. En estos casos se incrementan los costos del proceso de remediación.^{107,108}

La efectividad de los surfactantes para extraer HAPs desde matrices sólidas depende de los equilibrios del sistema. Considerando un sistema compuesto por un surfactante no iónico, un surfactante aniónico, un HAP y una matriz sólida, los surfactantes pueden existir como monómeros disueltos en la solución, o estar adsorbidos en los suelos (surfactante no iónico), o como moléculas precipitadas en el medio (surfactante aniónico) o como micelas. Las moléculas de HAPs pueden estar solubilizadas en las micelas, solubilizadas en la solución, adsorbidas en la matriz sólida, o adsorbidas en asociación con los surfactantes no iónicos.

En el desarrollo de esta tesis se utilizó como surfactante no iónico T80, y para este surfactante, se encontró que a bajas concentraciones, los monómeros de T80 se acumulan principalmente en la interfase suelo-agua, causando repulsión entre la fase sólida y el grupo hidrofílico de la molécula de T80, promoviendo así la desorción de los contaminantes. A medida que aumenta la concentración de T80, el disolvente interfacial (agua) en contacto con el suelo se reemplazará gradualmente por moléculas de T80, lo que conducirá a una tensión superficial más baja.¹⁰⁹ Cuando la concentración de T80 aumenta aún más, y por encima de la CMC, se forman micelas esféricas o elipsoidales. En los sistemas suelo-agua, los núcleos hidrofóbicos de las micelas T80 pueden competir fuertemente con las partículas del suelo para la partición de contaminantes hidrofóbicos. Los contaminantes orgánicos solubilizados en la fase acuosa tienen una mejor movilidad y, por lo tanto, muestran una mejor disponibilidad para los tratamientos posteriores (lavado del suelo, enjuague, etc.).⁹⁷

Teniendo en cuenta las ventajas de las mezclas de surfactantes, se conoce que una mezcla apropiada de surfactantes puede inhibir la adsorción de surfactantes iónicos a la superficie del suelo,

por lo que la pérdida de agente tensioactivo causado por la adsorción sobre el suelo en un sistema mixto es relativamente baja.¹¹⁰ Por ejemplo, un estudio mostró que la menor adsorción se obtuvo cuando TX-100 y Dodecibenceno sulfonato de sodio (DBSS) se encontraban formando una mezcla en una relación molar de 1:9. Tal valor era mucho menor que la pérdida por adsorción de TX-100 y DBSS individuales.⁵⁷

Previamente en el laboratorio también se estudió la mezcla Tween 80 -Laurato de sodio. En dicho trabajo se observó efecto sinérgico para la solubilización de naftaleno en agua.¹¹¹ Se encontró que la mezcla de surfactantes también logró extraer gran cantidad de contaminantes desde matrices sólidas comparadas con los surfactantes individuales.²¹

Es conocido que los detergentes se usan para lisar células en muchos casos, con lo cual se esperaría que disminuya la biodegradación. Sin embargo, numerosos estudios^{112,113} han demostrado un efecto positivo del empleo de surfactantes en la biodegradación de este tipo de contaminantes, como se menciona en el capítulo 6 .

1.1.6. Efecto de los surfactantes sobre la biodegradación de HAPs por microorganismos específicos

En algunos suelos contaminados, a pesar de existir un número adecuado de microorganismos degradadores y una disponibilidad de nutrientes adecuados, los contaminantes no se encuentran biodisponibles para ser degradados. Este problema se torna más relevante al aumentar la hidrofobicidad de los mismos, siendo particularmente relevante para los HAPs. El uso de surfactantes aparece como una solución posible debido a su capacidad para formar micelas, incrementando de esta manera la movilización y la biodisponibilidad de los compuestos orgánicos hidrofóbicos, como ya se mencionó. Riojas González y colaboradores¹¹⁴ reportaron que los ácidos grasos C16 y C18 y los surfactantes Tritón X-100, y Brij-35, estimulan el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* oxidando el hexadecano presente en el medio. En el caso específico de los HAPs, la aplicación de surfactantes ha mostrado resultados contradictorios. Por un lado, numerosos autores han observado un mejoramiento de la biodegradación de HAPs mediada por surfactantes tanto en medio líquido¹¹⁵ como en suelos,⁵⁷ pero por otro lado, se ha reportado falta de efecto e incluso inhibición de la biodegradación para HAPs en general.⁵⁷

Varios investigadores^{52,116} han citado que la combinación de nutrientes con surfactantes puede incrementar también la biodisponibilidad de los contaminantes a los microorganismos. Por todo lo anteriormente mencionado, resulta de gran interés estudiar si la utilización de los surfactantes utilizados en este trabajo puede producir un efecto favorable sobre la disponibilidad de los contaminantes a microorganismos específicos.

1.2 *Objetivo general del trabajo de tesis*

En base a los conocimientos y antecedentes expuestos anteriormente, y en particular a la necesidad de remediar de suelos contaminados con HAPs, el presente trabajo de Tesis tuvo como *objetivo general* proponer la utilización de nuevos sistemas anfifílicos mixtos como aditivos mejoradores de la remediación de suelos contaminados, haciendo especial énfasis en HAPs como contaminantes. Se prestó especial atención al sistema mixto de surfactantes conformado por un surfactante no iónico comercial, Tween 80, y el surfactante gémuni aniónico sintetizado en el grupo de investigación, Didecamido cistina de sodio (Esquema 1.6B).

Se plantearon como *objetivos específicos*:

- ✚ Caracterizar los agregados formados por un surfactante no-iónico Tween 80, un surfactante gémuni aniónico sintetizado en nuestro laboratorio Didecamido cistina de sodio y la mezcla formada entre estos dos surfactantes. Las mezclas se analizaron evaluando distintas composiciones de los compuestos anfifílicos a diferente concentración total de surfactante.
- ✚ Analizar los posibles incrementos en la solubilidad en agua de HAPs por efecto de surfactantes individuales tipo aniónico, gémuni aniónico y no iónico, teniendo estos resultados como base para el posterior análisis de las mezclas de surfactantes. También, en base a los resultados anteriores se planteó analizar la presencia de efecto sinérgico para la solubilización de los HAPs por parte de las mezclas de surfactantes.
- ✚ Evaluar la selectividad de los surfactantes de diferente naturaleza en mezclas binarias o individualmente hacia la solubilización de mezclas de HAPs, y por otro lado analizar la selectividad de la mezcla de los mismos surfactantes hacia la solubilización en agua de mezclas de contaminantes.
- ✚ Evaluar la capacidad de la mezcla de surfactantes formada por Tween 80 y SDDC, para extraer contaminantes (naftaleno y fenantreno) desde matrices sólidas.
- ✚ Estudiar el efecto de los surfactantes no iónico Tween 80, gémuni aniónico SDDC y la mezcla de ambos sobre la disponibilidad de contaminantes (naftaleno y fenantreno) a microorganismos específicos capaces de degradar los contaminantes.

1.3 Referencias

- (1) Sparling, D. W. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; 2016.
- (2) Armstrong, B.; Hutchinson, E.; Unwin, J.; Fletcher, T. *Environ. Health Perspect.* **2004**, *112*, 970–978.
- (3) IARC (International Agency for Research on Cancer). *Monogr Eval Carcinog Risks Hum* **2010**, *92*, 765–771.
- (4) Kim, K. H.; Jahan, S. A.; Kabir, E.; Brown, R. J. C. *Environ. Int.* **2013**, *60*, 71–80.
- (5) Shi, Q.; Godschalk, R. W. L.; van Schooten, F. J. *Mutat. Res.* **2017**, *774*, 12–24.
- (6) Fernandez, M.; l'Haridon, J. *Environ. Mol. Mutagen.* **1994**, *24*, 124–136.
- (7) Dong, C. Di; Chen, C. F.; Chen, C. W. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2012**, *9*, 2175–2188.
- (8) Veltman, K.; Huijbregts, M. A. J.; Rye, H.; Hertwich, E. G. *Integr. Environ. Assess. Manag.* **2011**, *7*, 678–686.
- (9) Beyer, J.; Jonsson, G.; Porte, C.; Krahn, M. M.; Ariese, F. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2010**, *30*, 224–244.
- (10) Kaiser, J. *Science.* **1997**, *275*, 1879–1880.
- (11) World Health Organization (WHO). Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Drinking-Water. *Backgr. Doc. Dev. WHO Guidel. Drink. Qual.* **1998**, *2*, 1–27.
- (12) Abdel-Shafy, H. I.; Mansour, M. S. M. *Egypt. J. Pet.* **2016**, *25*, 107–123.
- (13) Wei, J.; Huang, G.; Zhu, L.; Zhao, S.; An, C.; Fan, Y. *Chemosphere* **2012**, *89*, 1347–1353.
- (14) Zhu, L.; Feng, S. *Chemosphere* **2003**, *53*, 459–467.
- (15) Lamichhane, S.; Bal Krishna, K. C.; Sarukkalige, R. *Chemosphere.* **2017**, *196*, 46-61.
- (16) Schwarzenbach, R.P.; Gschwend, P.M.; D. M. I. *Environ. Org. Chem.* **1993**, *4*, 180-185.
- (17) Bradl, H. B. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *277*, 1–18.
- (18) Patinha, C.; Armienta, A.; Argyraki, A.; Durães, N. *Inorganic Pollutants in Soils*; Armando C. Duarte ed; Elsevier Inc.; Alveiro, Portugal, **2018**.
- (19) Young, I. M.; Crawford, J. *Science.* **2004**, *304*, 1634–1637.
- (20) Kalev, S. D.; Toor, G. S. *Green Chem. An Incl. Approach* **2017**, 339–357.

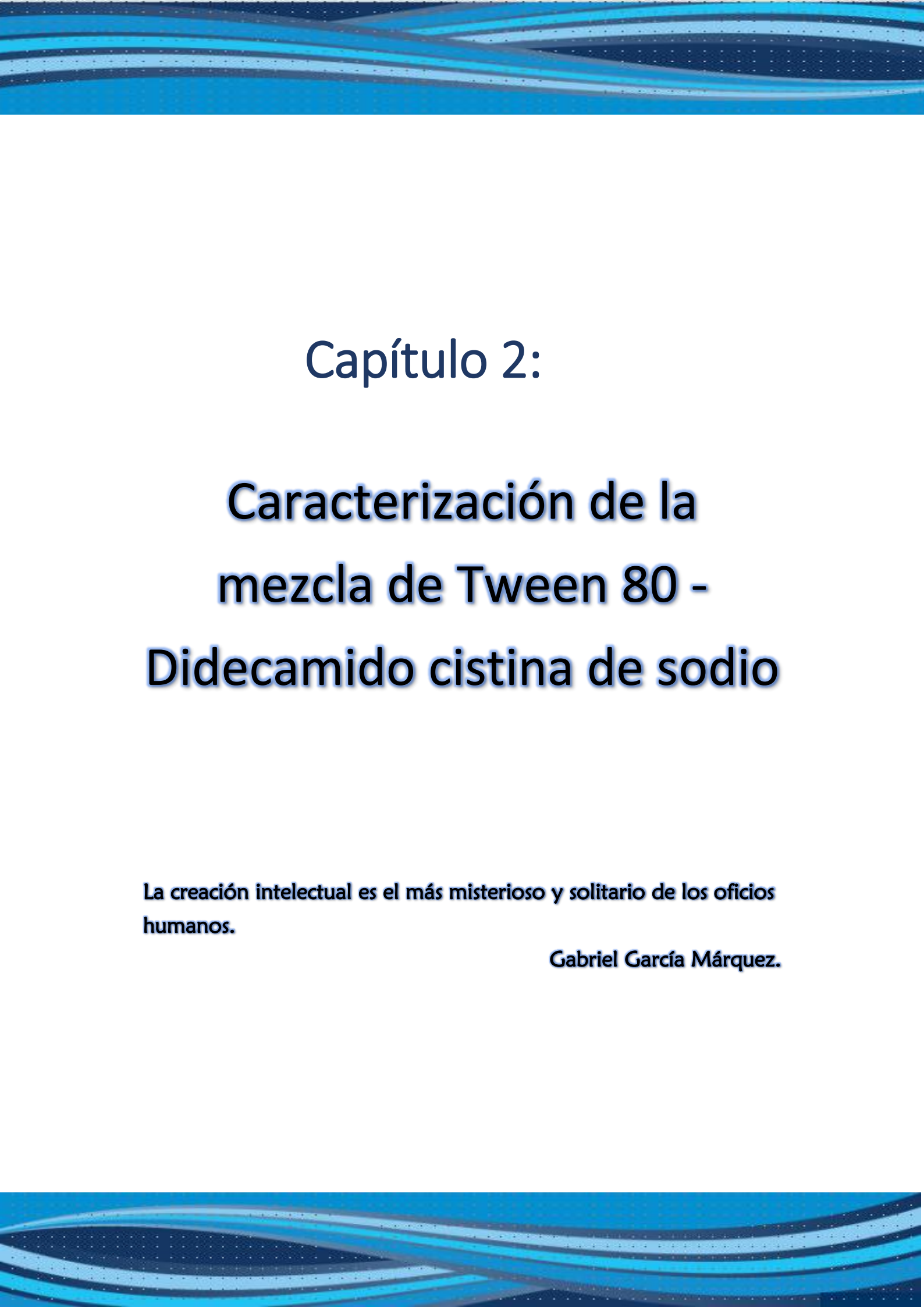
- (21) Sales, P. S.; Fernández, M. A. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*, 10158–10164.
- (22) Zhou, W.; Zhu, L. *Environ. Pollut.* **2007**, *147*, 66–73.
- (23) Li, F.; Zhu, L. *Bioresour. Technol.* **2012**, *123*, 42–48.
- (24) Mohamed, A.-M. O.; Paleologos, E. K.; *The Soil System*; 1ed.; Elsevier Inc. New York, USA **2018**.
- (25) Paria, S. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2008**, *138*, 24–58.
- (26) Gan, S.; Lau, E. V.; Ng, H. K. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *172*, 532–549.
- (27) Rivas, F. J. *J. Hazard. Mater.* **2006**, *138*, 234–251.
- (28) Chaudhry, Q.; Blom-Zandstra, M.; Gupta, S.; Joner, E. J. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2005**, *12*, 34–48.
- (29) Atkinson, R.; Arey, J. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4605–4638.
- (30) Newman, L. A.; Reynolds, C. M. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2004**, *15*, 225–230.
- (31) Kubatova, A.; Jansen, B.; Vaudoisot, J. F.; Hawthorne, S. B. *J. Chromatogr. A* **2002**, *975*, 175–188.
- (32) Ahn, C. K.; Kim, Y. M.; Woo, S. H.; Park, J. M. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *154*, 153–160.
- (33) Rababah, A.; Matsuzawa, S. *Chemosphere* **2002**, *46*, 39–47.
- (34) Viglianti, C.; Hanna, K.; De Brauer, C.; Germain, P. *Environ. Pollut.* **2006**, *140*, 427–435.
- (35) Gong, Z.; Wilke, B. M.; Alef, K.; Li, P.; Zhou, Q. *Chemosphere* **2006**, *62*, 780–787.
- (36) Gong, Z.; Alef, K.; Wilke, B. M.; Li, P. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *143*, 372–378.
- (37) Berset, J. D.; Ejem, M.; Holzer, R.; Lischer, P. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *383*, 263–275.
- (38) Atteia, O.; Del Campo Estrada, E.; Bertin, H. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **2013**, *12*, 379–389.
- (39) Mousset, E.; Oturan, M. A.; Van Hullebusch, E. D.; Guibaud, G.; Esposito, G. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2014**, *44*, 705–795.
- (40) Mulligan, C. N.; Yong, R. N.; Gibbs, B. F. *Eng. Geol.* **2001**, *60*, 371–380.
- (41) Trellu, C.; Mousset, E.; Pechaud, Y.; Huguenot, D.; van Hullebusch, E. D.; Esposito, G.; Oturan, M. A. *J Hazard. Mat.* **2016**, *306*, 149-174.
- (42) Flotron, V.; Delteil, C.; Padellec, Y.; Camel, V. *Chemosphere* **2005**, *59*, 1427–1437.

- (43) Masten, S. J.; Davies, S. H. R. *J. Contam. Hydrol.* **1997**, 28, 327–335.
- (44) Scott Alderman, N.; N’Guessan, A. L.; Nyman, M. C. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 146, 652–660.
- (45) Brown, G. S.; Barton, L. L.; Thomson, B. M. *Waste Manag.* **2003**, 23, 737–740.
- (46) Ferrarese, E.; Andreottola, G.; Oprea, I. A. *J. Hazard. Mater.* **2008**, 152, 128–139.
- (47) Saberi, N.; Aghababaei, M.; Ostovar, M.; Mehrnahad, H. *J. Environ. Manage.* **2018**, 217, 897–905.
- (48) Reddy, K. R.; Ala, P. R.; Sharma, S.; Kumar, S. N. *Eng. Geol.* **2006**, 85, 132–146.
- (49) Maturi, K.; Reddy, K. R. *Chemosphere* **2006**, 63, 1022–1031.
- (50) Folwell, B. D.; McGenity, T. J.; Price, A.; Johnson, R. J.; Whitby, C. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **2016**, 108, 214–221.
- (51) Kuppusamy, S.; Thavamani, P.; Venkateswarlu, K.; Lee, Y. B.; Naidu, R.; Megharaj, M. *Chemosphere* **2017**, 168, 944–968.
- (52) Chang, B.; Shiung, L.; Yuan, S. *Chemosphere* **2002**, 48, 717–724.
- (53) Ambrosoli, R.; Petruzzelli, L.; Minati, J. L.; Marsan, F. A. *Chemosphere* **2005**, 60, 1231–1236.
- (54) Zhou, W.; Zhu, L. *System. Environ. Pollut.* **2007**, 147, 66–73.
- (55) Panda, M. . K.-D. *J. Mol. Liq.* **2013**, 187, 106–113.
- (56) Iglesias, O.; Sanromán, M. A.; Pazos, M. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, 53, 2917–2923.
- (57) Mao, X.; Jiang, R.; Xiao, W.; Yu, J. *J Hazard Mat.* **2015**, 285,419-435.
- (58) Adamson, A. W.; Gast, A. P. *Physical Chemistry of Surfaces*, Sixth Edit.; J. W. & S., Ed.; Toronto CANADA, **1997**.
- (59) Pedetta, A.; Pouyte, K.; Herrera Seitz, M. K.; Babay, P. A.; Espinosa, M.; Costagliola, M.; Studdert, C. A.; Peressutti, S. R. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2013**, 84, 161–167.
- (60) Lu, X. Y.; Zhang, T.; Fang, H. H. P. *Microbiol. Biotechnol.* **2011**, 89, 1357–1371.
- (61) Maggio, B. *Introducción a la Biofísico-Química*; Truccone, E. G., Ed.; Córdoba, Argentina, **1988**.
- (62) Rosen, M. J.; Tracy, D. J. Gemini Surfactants. *J. Surfactants Deterg.* 3 ed.; Wiley-Interscience: Hoboken,NJ, USA **1998**.

- (63) Myers, D. *Surfaces, Interfaces, and Colloids*; Wiley-Vch New York, USA; Vol. 4, **1990**.
- (64) Nakama, Y. *Surfactants*; Elsevier Inc., Oporto, Portugal, **2017**.
- (65) Bunton, C. A.; Robinson, L.; Stam, M. F.; Schaak, J. *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 2346–2350.
- (66) Menger, F. M.; Littau, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10083–10090.
- (67) Song, L. D.; Rosen, M. J. *Langmuir* **1996**, *12*, 1149–1153.
- (68) Kalhapure, R. S.; Akamanchi, K. G. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2013**, *105*, 215–222.
- (69) Pal, N.; Saxena, N.; Mandal, A. *Colloid Polym. Sci.* **2017**, *295*, 2261–2277.
- (70) Liu, J.; Xie, Y.; Xu, H. **2018**, 455–460.
- (71) Wang, Y.; Han, Y.; Huang, X.; Cao, M.; Wang, Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *319*, 534–541.
- (72) Zana, R. *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, *248*, 203–220.
- (73) Pérez, L.; Pinazo, A.; Pons, R.; Infante, M. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *205*, 134–155.
- (74) Pinazo, A.; Manresa, M. A.; Marques, A. M.; Bustelo, M.; Espuny, M. J.; Pérez, L. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2016**, *228*, 17–39.
- (75) Morán, C.; Infante, M. R.; Clapés, P.; Fernandez-Mayoralas, A.; Martin-Lomas, M.; Molina-Grima, E.; Valencia, G. *Carbohydr. Res.* **1998**, *305*, 383.
- (76) Rosa, M.; Infante, M. R.; Miguel, M. G.; Lindman, B. *Langmuir* **2006**, *19*, 5588–5596.
- (77) Pinazo, A.; Infante, M. R.; Chang, C. H.; Franses, E. I. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **1994**, *87*, 117–123.
- (78) Castillo, J. A.; Clapés, P.; Infante, M. R.; Comas, J.; Manresa, A. *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, *57*, 691–698.
- (79) Colomer, A.; Pinazo, A.; Manresa, M. A.; Vinardell, M. P.; Mitjans, M.; Infante, M. R.; Pérez, L. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 989–1002.
- (80) Lewis, D. M. *J. Soc. Dye Colour.* **1990**, *106*, 270–276.
- (81) Pérez, L.; Infante, M. R.; Pons, R.; Morán, C.; Vinardell, P.; Mitjans, M.; Pinazo, A. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2004**, *35*, 235–242.
- (82) L. Pérez, A. Pinazo, M.T. García, M. del Carmen Moran, M. R. I. *New. J. Chem.* **2004**, *28*, 1326–1334.
- (83) Yoshimura, T.; Sakato, A.; Esumi, K. *J. Oleo Sci.* **2013**, *62*, 579–586.

- (84) Morán, M. C.; Pinazo, A.; Pérez, L.; Clapés, P.; Angelet, M. *Green Chem.* **2004**, *3*, 233–240.
- (85) Zhao, B.; Zhu, L.; Li, W.; Chen, B. *Chemosphere* **2005**, *58*, 33–40.
- (86) Kabir-ud-Din; Shafi, M.; Bhat, P. A.; Dar, A. A. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *167*, 575–581.
- (87) Cui, X.; Jiang, Y.; Yang, C.; Lu, X.; Chen, H.; Mao, S.; Liu, M.; Yuan, H.; Luo, P.; Du, Y. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 7808–7816.
- (88) Lakra, J.; Tikariha, D.; Yadav, T.; Das, S.; Ghosh, S.; Satnami, M. L.; Ghosh, K. K. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2014**, *451*, 56–65.
- (89) Holland, P. *Proceedings of the ACS Symposium Series on Mixed Surfactant Systems*, American C.; P. M. Holland, D. N. R., Ed.; Washington DC., **1992**; Vol. 501.
- (90) Bakshi, M. S.; Singh, J.; Singh, K.; Kaur, G. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2004**, *237*, 61–71.
- (91) Szymczyk, K.; Zdziennicka, A.; Jańczuk, B.; Wójcik, W. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2005**, *264*, 147–156.
- (92) Tsubone, K. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *261*, 524–528.
- (93) Islam, M. N.; Kato, T. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *289*, 581–587.
- (94) Ghosh, S.; Das Burman, A.; De, G. C.; Das, A. R. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 11098–11112.
- (95) Ghosh, S.; Ray, G. B.; Mondal, S. *Fluid Phase Equilib.* **2015**, *405*, 46–54.
- (96) Parekh, P.; Varade, D.; Parikh, J.; Bahadur, P. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2011**, *385*, 111–120.
- (97) Cheng, M.; Zeng, G.; Huang, D.; Yang, C.; Lai, C.; Zhang, C.; Liu, Y. *Chem. Eng. J.* **2017**, *314*, 98–113.
- (98) Shang, Y.; Liu, H.; Hu, Y.; Prausnitz, J. M. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2007**, *294*, 203–211.
- (99) Du, X.; Lu, Y.; Li, L.; Kou, J.; Yang, Z. *Acta Physico-Chimica Sin.* **2007**, *23*, 173–176.
- (100) Edwards, D. A.; Luthy, R. G.; Liu, Z. *Environ. Sci. Technol.* **1991**, *25*, 127–133.
- (101) Grimberg, S. J.; Nagel, J.; Aitken, M. D. *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 1480–1487.
- (102) Yeom, I. T.; Ghosh, M. M.; Cox, C. D.; Robinson, K. G. *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 3015–3021.
- (103) Deshpande, S.; Wesson, L.; Wade, D.; Sabatini, D. A.; Harwell, J. H. *Water Res.* **2000**, *34*,

- 1030–1036.
- (104) Hill, A. J.; Ghoshal, S. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 3901–3907.
- (105) Zhou, W.; Zhu, L. *J. Hazard. Mater.* **2004**, *109*, 213–220.
- (106) Yu, H.; Zhu, L.; Zhou, W. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *142*, 354–361.
- (107) Thibaut, A.; Misselyn-Bauduin, A.; Grandjean, J.; Broze, G.; Jérôme, R. *Langmuir* **2000**, *16*, 9192–9198.
- (108) Rodríguez-Cruz, M. S.; Sanchez-Martin, M. J.; Sanchez-Camazano, M. A. *Chemosphere* **2005**, *61*, 56–64.
- (109) Cheng, M.; Zeng, G.; Huang, D.; Yang, C.; Lai, C.; Zhang, C.; Liu, Y. *Chem. Eng. J.* **2017**, *314*, 98–113.
- (110) Zhou, W.; Zhu, L. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2005**, *255*, 145–152.
- (111) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, *84*, 1700–1707.
- (112) Chen, K.; Zhu, Q.; Qian, Y.; Song, Y.; Yao, J.; Choi, M. M. F. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2013**, *98*, 361–367.
- (113) Rodrigues, A.; Nogueira, R.; Melo, L. F.; Brito, A. G. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **2013**, *83*, 48–55.
- (114) Riojas González, H. H.; Torres Bustillos, L. G.; Mondaca Fernández, I.; de Jesús Balderas Cortes, J.; Gortáres Moroyoqui, P. *Química Viva* **2010**, *3*, 120–145.
- (115) Cuny, P.; Faucet, J.; Acquaviva, M.; Bertrand, J. C.; Gilewicz, M. *Lett. Appl. Microbiol.* **1999**, *29*, 242–245.
- (116) Coulon, F.; Delille, D. *Oil Gas Sci. Technol.* **2003**, *58*, 469–479.



Capítulo 2:

Caracterización de la mezcla de Tween 80 - Didecamido cistina de sodio

La creación intelectual es el más misterioso y solitario de los oficios humanos.

Gabriel García Márquez.

Índice

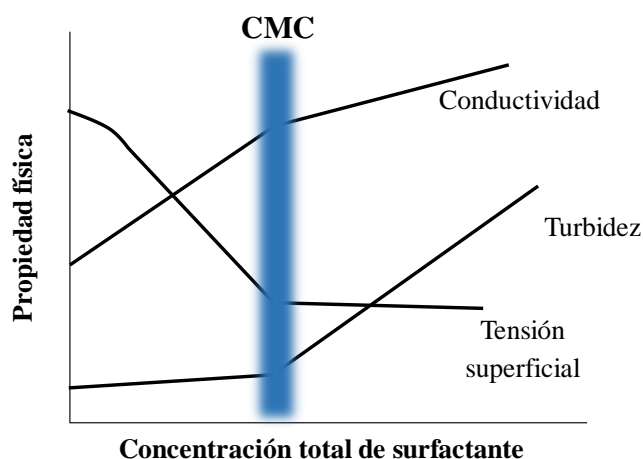
Índice	33
2.1 INTRODUCCIÓN	36
2.1.1 Determinación de la concentración micelar crítica.....	38
2.1.1.1. Tensión Superficial.....	38
2.1.2 Determinación del Número de Agregación	39
2.1.3 Determinación del tamaño de los agregados	41
2.1.4 Determinación de la morfología de los agregados.....	42
2.1.5 Modelos de agregación	42
2.1.5.1 Mezclado de dos surfactantes	42
2.1.5.2 Surfactantes completamente miscibles	43
2.1.5.2.1 Mezclado ideal.....	43
2.1.5.2 Situación intermedia	43
2.1.5.2 Surfactantes inmiscibles	44
2.2 OBJETIVO	46
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
2.3.1 Sistemas en estudio.....	47
2.3.2 Caracterización de los sistemas micelares	48
2.3.2.1 Determinación de la Concentración Micelar Crítica.....	48
2.3.2.2 Determinación del Número de Agregación	50
2.3.2.3 Determinación del Tamaño y la Morfología.....	52
2.3.2.4 Micropolaridad de la interfase micelar	55
2.3.3 Aplicación de los Modelos de agregación	57
2.4 CONCLUSIONES	59
2.5 REFERENCIAS.....	60

2.1 Introducción

Los surfactantes son compuestos de gran interés, tanto desde el punto de vista científico como por su utilización en el ámbito de la industria. La formación de micelas es una de las consecuencias físico-químicas de la naturaleza anfifílica de los surfactantes y tiene un significativo impacto en la aplicación de los mismos en diferentes áreas tecnológicas. La habilidad que poseen las moléculas de surfactantes para formar espumas las hace muy útiles para muchas aplicaciones.^{1,2} En las aplicaciones de surfactantes en general se utilizan mezclas de diferentes moléculas tensioactivas como ya se mencionó. Es conocido que estas mezclas poseen en muchos casos mejores propiedades químicas y de actividad superficial que los surfactantes individuales^{3,4} por lo cual se requiere la utilización de menores cantidades de los mismos.

El conocimiento de la estructura de los agregados micelares en dispersión coloidal es básico para tener una comprensión clara de sus propiedades físico-químicas y, con ello, de numerosos fenómenos con los que las mismas se pueden relacionar, como son los procesos de solubilización, transporte, y catálisis.

En el estudio de las propiedades de solución de los surfactantes, una de las primeras características que se dió a conocer es que tales materiales podían cambiar dramáticamente en intervalos pequeños de concentración.^{5,6} En la medida de propiedades como la tensión superficial, la conductividad eléctrica, o la dispersión dinámica de la luz en función de la concentración de surfactante se obtienen curvas de cada propiedad que normalmente exhiben discontinuidades relativamente agudas a una concentración relativamente baja (Figura 2.1). Estos cambios sirven de evidencia de la formación de agregados en soluciones de surfactantes que ocurren a concentraciones por encima de aquella a la que se produce el cambio, llamada concentración micelar crítica (CMC). En general, para determinar la CMC se evalúa como cambia una propiedad físico-química del sistema o de alguna molécula que se agregue al mismo (conocida como molécula prueba o sonda) con la concentración. El valor de la CMC es el parámetro más utilizado para caracterizar un surfactante o mezcla, ya que por encima de ella es donde los agregados poseen la mayoría de las propiedades útiles en sus aplicaciones.⁷

**Figura 2.1**

Representación esquemática de los cambios en las diferentes propiedades físicas de los surfactantes en los alrededores de la CMC.⁷

A lo largo de los últimos años, se han usado multitud de métodos para la determinación de la CMC obteniéndose resultados más o menos concordantes entre sí. Los métodos utilizados se pueden dividir en dos grupos, que se describen a continuación:⁸⁻¹¹

Métodos invasivos: implican la introducción de moléculas que pueden interferir en las características de los agregados, por ejemplo, la solubilización de sondas para medir cambios espectrales en fluorescencia. Estas sondas suelen tener un marcado carácter apolar, ello las lleva a situarse en el interior de estos agregados para protegerse del medio acuoso. De este modo, la incorporación de la molécula prueba podría modificar tanto el número de moléculas necesarias para formar un agregado como la concentración a la cual se genere esta agregación espontánea, por eso en general las moléculas prueba se utilizan a muy bajas concentraciones para evitar inconvenientes.⁷

Métodos no invasivos: no modifican ni la estructura ni la concentración de formación espontánea de agregados. En estos métodos se incluyen técnicas como la tensión superficial, conductividad, resonancia magnética nuclear, entre otras.⁷

Los métodos no invasivos, usados de manera correcta, permiten obtener valores de CMC más reales.¹² Sin embargo, los métodos invasivos son también muy útiles porque aportan información sobre la polaridad del microentorno en que se encuentra la sonda y/o su movilidad. La elección de la técnica a utilizar dependerá del estudio y de la disponibilidad de equipamiento específico que se requiera.

Otros factores claves importantes para realizar una caracterización más completa, además de la determinación de la CMC del sistema, son propiedades tales como el tamaño, morfología de los agregados y número de agregación.

Algunas de las técnicas más frecuentemente utilizadas para determinar el tamaño de los agregados son la dispersión dinámica de luz (DLS) y la dispersión de rayos-X de bajo ángulo (SAXS) ya que no son invasivas, ni destructivas. Además, el uso combinado de SAXS y DLS puede proporcionar información complementaria en cuanto al tamaño del sistema micelar.

Por otra parte, la determinación del número de agregación de un sistema micelar se realiza generalmente mediante la atenuación o *quenching* de fluorescencia.

Posteriormente, se detallará cada una de las técnicas mencionadas y condiciones utilizadas para la caracterización durante este trabajo de tesis.

2.1.1 Determinación de la concentración micelar crítica.

2.1.1.1. Tensión Superficial

La tensión superficial de un líquido (γ) puede definirse, como la propiedad de un líquido evidenciada por la aparente presencia de una fina membrana elástica a lo largo de la interfaz entre el líquido y una fase de vapor, lo que resulta en una contracción de la interfaz y una reducción del área interfacial total. Termodinámicamente, puede definirse, como la cantidad de energía que se necesita para aumentar su superficie en una unidad de área.⁵ Para el agua pura a 20°C el valor de tensión superficial es de 72,8 mN/m. En soluciones acuosas, los surfactantes disminuyen la tensión superficial de la interfase agua-aire.¹³ Al adsorberse en la superficie, reducen las interacciones entre las moléculas de agua, por lo que se necesita menos energía para expandir la superficie. Mientras más moléculas de surfactante se acumulen en la interfase, la tensión superficial alcanza su valor mínimo. A partir de esta concentración, definida como concentración micelar crítica (CMC), las moléculas que se agreguen ya no se adsorben en la superficie, sino que se incorporan a la solución formando agregados. Este comportamiento se ve reflejado en el hecho de que la γ permanecerá prácticamente constante y en su valor mínimo. El valor de la CMC se determina a partir de la intersección de las dos rectas que se definen en el gráfico de γ en función del logaritmo de la concentración de surfactante.

Para determinar el rendimiento de un surfactante en la disminución de la tensión superficial de una solución deben tenerse en cuenta dos aspectos: (1) la concentración del surfactante en el seno de la solución, requerida para producir una reducción de γ determinada, y (2) el valor mínimo de γ que puede obtenerse. Estos dos valores pueden definirse como la *eficiencia* y *eficacia* del surfactante, respectivamente.

La opción de disminuir 20 mN/m como un valor estándar de tensión superficial determina la eficiencia de la adsorción. Cuando se habla de la eficacia de adsorción del surfactante, ésta se define como el mínimo valor de γ obtenido independientemente de la concentración surfactante. En el caso

de una solución acuosa, la eficiencia sería la concentración de surfactante requerida para que γ sea aproximadamente 53 mN/m y se simboliza como C_{20} (muchas veces se usa su logaritmo ya que es el valor que se saca directamente del gráfico). Mientras menor sea este valor, más eficiente será el surfactante ya que se requieren menores cantidades de anfífilo para producir el mismo efecto.

La eficacia, en cambio, es tal vez menos arbitraria debido a que no se elige un valor de γ sino que se considera la γ_{\min} para un surfactante, y está determinada por uno de dos factores: (1) el límite de solubilidad del surfactante o la temperatura de Krafft (TK) del compuesto o (2) la concentración micelar crítica. En cualquiera de los dos casos se alcanza la máxima cantidad posible de surfactante adsorbido en la superficie, la cual será alcanzada a la máxima concentración posible de surfactante libre en el seno de la solución. Este valor puede determinarse gráficamente, ya que corresponde a la porción del gráfico donde γ se mantiene constante o, lo que es equivalente, la pendiente es nula.

En muchos casos, la eficiencia y la eficacia para una serie de surfactantes no poseen la misma tendencia. Esto se debe principalmente a que la eficiencia está más relacionada con la cadena hidrofóbica del surfactante y la transferencia de la misma desde el seno de la solución a la interfase. Así, el cambio en la cabeza polar de una serie de surfactantes homólogos no afecta considerablemente el valor de C_{20} . Por otro lado, la eficacia está más relacionada con los tamaños de las porciones hidrofóbicas e hidrofílicas del surfactante, ya que el máximo de moléculas que se pueden adsorber en la interfase depende del área que cada molécula ocupa. Dicha área puede determinarse aproximadamente a partir del área seccional de la cadena hidrofóbica y de la cabeza polar. Para una serie de surfactantes homólogos convencionales (con cadenas simples, sin ramificaciones), se observa generalmente que el tamaño de la cabeza polar es determinante, mientras que se observan pocas variaciones al modificar el largo de la cadena hidrofóbica.^{7,14}

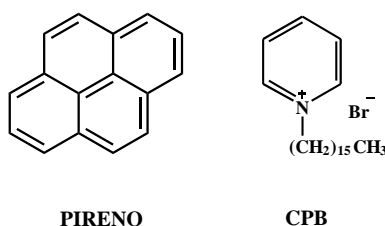
2.1.2 Determinación del Número de Agregación

Otra característica importante de los sistemas micelares corresponde al número de moléculas de surfactante que conforman cada agregado, magnitud definida como número de agregación, N_A . Este parámetro no sólo aporta información acerca del tamaño y forma micelar, sino que además influye en la determinación de la estabilidad y posibles aplicaciones prácticas del sistema en estudio.¹⁵ Entre los factores externos que afectan el número de agregación de un sistema micelar se encuentran la presencia de aditivos orgánicos, el tipo y la concentración de electrolitos adicionados, la temperatura, pH, etc. Cabe mencionar que los valores determinados son siempre aproximados.^{7,16}

En muchos casos, para determinar el número de agregación se utiliza la técnica de atenuación o *quenching* de fluorescencia de una sonda totalmente incorporada a la micela, con un desactivador hidrofóbico. El fenómeno de *quenching* de fluorescencia se refiere a procesos que provocan una

disminución de la intensidad de fluorescencia de una sustancia dada. El *quenching* puede ser el resultado de varios mecanismos. Estos mecanismos incluyen reacciones de los estados excitados, transferencia de energía, formación de complejos y *quenching* por colisiones.^{17,18} El *quenching* de fluorescencia provee evidencia de interacciones moleculares.

Una de las formas más comunes para determinar el número de agregación es utilizar como sonda el pireno (en el caso del pireno, se debe impedir la formación de excímeros, por lo cual en el desarrollo de esta tesis se mantuvo la concentración de pireno suficientemente baja impidiendo la formación de los mismos), y como *quencher* el bromuro de cetilpiridinio (**CPB**).



Es conocido que si a una solución conteniendo una concentración determinada de micelas definida como $[M]$, se le agrega una concentración conocida de *quencher*, $[Q]$, el cual debe ser seleccionado de manera que sólo se encuentre en la fase micelar y no en el agua, entonces las moléculas de Q , se van a distribuir al azar en las micelas disponibles. Si además se agrega al sistema una molécula luminiscente o fluoróforo (sonda fluorescente) que también se asocie con las micelas, la misma se particionará en micelas con y sin Q . Se selecciona la estadística de Poisson para describir la distribución de fluoróforo y Q en el sistema micelar. Si la sonda sólo fluoresce en ausencia del quencher, entonces el cociente de intensidades de fluorescencia en presencia y ausencia de quencher (I e I_0 respectivamente) se puede expresar como en la ecuación 2.1:

$$\frac{I}{I_0} = \exp\left(-\frac{[Q]}{[M]}\right) \quad \text{Ecuación 2. 1}$$

Por otro lado, la concentración de micelas, $[M]$, puede expresarse como en la ecuación 2.2

$$[M] = \frac{[S] - [\text{Monómero libre}]}{N_A} \quad \text{Ecuación 2. 2}$$

Donde $[\text{Monómero libre}]$ puede aproximarse a la CMC y N_A corresponde al número de agregación. Combinando las ecuaciones 2.1 y 2.2 y reordenando se obtiene la ecuación 2.3:

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \frac{[Q]N_A}{[S]_{\text{Total}} - [\text{CMC}]} \quad \text{Ecuación 2. 3}$$

Así graficando $\ln\left(\frac{I_0}{I}\right)$ frente a la concentración del *quencher* $[Q]$, a una concentración de surfactante y fluoróforo constantes, se obtiene una recta de cuya pendiente se puede obtener N_A .¹⁹

2.1.3 Determinación del tamaño de los agregados

Entre las diversas técnicas utilizadas para determinar el tamaño de los agregados, se pueden utilizar: SAXS y DLS, como ya se mencionó. Estas técnicas son ciertamente las más utilizadas y tienen la ventaja de que son no invasivas ni destructivas. Además, el uso combinado de SAXS y DLS proporciona información comparativa.

Por un lado, la técnica de SAXS o dispersión de rayos-X de bajo ángulo es una técnica de dispersión de luz estática sensible al contraste de densidad electrónica. En SAXS se mide la intensidad media de los rayos-X dispersados en función del ángulo de dispersión. La curva de intensidad medida muestra información sobre el radio de giro, el tamaño medio, la distribución de tamaños, la forma y la densidad de número de los dispersores. Está establecido que la intensidad en función del ángulo de dispersión depende del contraste de densidad electrónica de la micela comparada al solvente.²⁰

SAXS es una técnica poderosa que permite medir partículas en una gran gama de tamaños desde 1-100 nm. Las partículas deben estar presentes en una forma dispersada. Por lo general, las moléculas anfifílicas se agregan formando autoensamblados. SAXS es una técnica ideal para analizar el fenómeno de agregación de estas moléculas.²¹

Por otra parte, DLS también conocida como espectroscopia de correlación de fotones²² o dispersión de luz cuasi-elástica,²³ ha surgido como una técnica simple, y fácil de utilizar. Además, la misma no es invasiva ni destructiva, y requiere una preparación mínima de la muestra. Se basa en el hecho de que, al incidir un haz láser sobre las partículas de la muestra que se encuentran en movimiento, la intensidad de la radiación dispersada variará en el tiempo, ya que la posición de las partículas en la muestra, que cambia constantemente, determina la magnitud y el carácter constructivo o destructivo de la interferencia de la luz dispersada en un punto del espacio, lo que se relaciona con la velocidad del movimiento de las partículas y, por tanto, con su tamaño. La técnica DLS es sensible al contraste del índice de refracción entre los agregados y el disolvente. DLS permite determinar el tamaño medio de partícula y la distribución del tamaño en un amplio intervalo de unos pocos nanómetros hasta varias micras. Sin embargo, la información de la forma no es fácil de obtener a partir de esta técnica. Por lo tanto, sólo una combinación de DLS y SAXS produce una caracterización más completa.

2.1.4 Determinación de la morfología de los agregados

La técnica de SAXS, puede también ser utilizada para obtener información útil sobre rasgos morfológicos de los agregados que por lo general pertenecen a la región de micro al nanómetro. A pesar del gran número de estudios, la naturaleza y la forma de las micelas en muchos casos no ha podido ser establecida. Sin embargo, con las mediciones de SAXS se pueden comparar los resultados obtenidos con los diferentes modelos sugeridos, con la intención de identificar la morfología de los agregados formados.

Los factores de forma y estructura están relacionados con la forma de la partícula y con las interacciones entre las partículas, respectivamente. En este estudio, se determinó la forma de los agregados micelares teniendo en cuenta modelos geométricos que pueden contener el núcleo hidrofóbico y una corona polar con diferentes densidades electrónicas.

2.1.5 Modelos de agregación

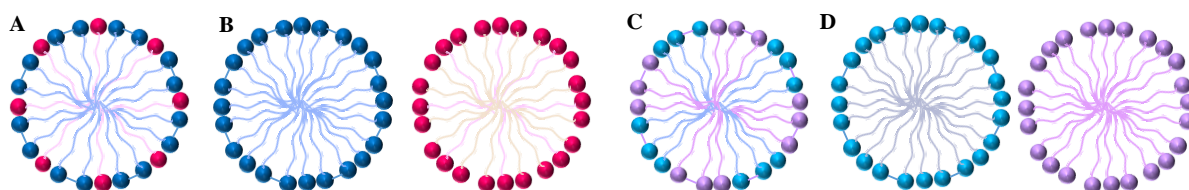
Las técnicas anteriormente mencionadas son aplicables también cuando se utiliza una mezcla de surfactantes. Sin embargo, estas mezclas son sistemas complejos, y es necesario analizar de varias maneras el mezclado de surfactantes.

En los últimos años se han desarrollado diferentes Modelos de Agregación para explicar la interacción de dos surfactantes en una mezcla.

2.1.5.1. Mezclado de dos surfactantes

En este capítulo se desarrollarán los posibles modelos de agregación y se aplicarán los mismos a la mezcla estudiada, teniendo en cuenta la miscibilidad de los surfactantes utilizados (Esquema 2.1)

24,25



Esquema 2.1

Representación esquemática de las formas de mezclado de surfactantes. A) Surfactantes completamente miscibles. B) Surfactantes completamente inmiscibles. C) Surfactantes parcialmente miscibles en una sola micela con demezclado intramicelar. D) Surfactantes parcialmente miscibles en dos micelas mixtas, con mezclado parcial.²⁴

Para cada una de estas situaciones se han desarrollado modelos matemáticos para calcular la CMC del sistema, las cuales se detallan a continuación.

2.1.5.2. Surfactantes completamente miscibles

2.1.5.2.1. Mezclado ideal

Cuando los surfactantes son completamente miscibles, se forma una única micela mixta, y mezclado completamente al azar. Utilizando la teoría de la solución regular, se propuso un método para calcular los valores de la CMC de una mezcla a partir de los valores de CMC de los surfactantes puros (ecuación 2.4):²⁶⁻²⁹

$$\frac{1}{\text{CMC}} = \frac{\alpha_1}{f_1 \text{CMC}_1} + \frac{1-\alpha_1}{f_2 \text{CMC}_2} \quad \text{Ecuación 2. 4}$$

Donde α_1 es la fracción molar del surfactante 1, f_1 y f_2 son los coeficientes de actividad de los surfactantes 1 y 2, y CMC_1 y CMC_2 son las CMC de los surfactantes puros 1 y 2. En soluciones diluidas y cuando la mezcla se comporta de manera ideal (no hay interacción entre los surfactantes) los coeficientes de actividad son 1 por lo que la ecuación 2.4 se simplifica a la ecuación 2.5.

$$\frac{1}{\text{CMC}_{\text{ideal}}} = \frac{\alpha_1}{\text{CMC}_1} + \frac{1-\alpha_1}{\text{CMC}_2} \quad \text{Ecuación 2. 5}$$

2.1.5.2. Situación intermedia

Hay muchos casos en los cuales los valores de CMC experimental que se obtienen para una mezcla de dos surfactantes indican un mezclado donde los surfactantes que componen la mezcla son completamente miscibles, pero se observa un desvío de la idealidad de los valores de las CMC experimentales. Esta desviación puede deberse a que los valores experimentales son menores que los ideales, en cuyo caso se dice que la mezcla presenta sinergismo, es decir que los surfactantes interactúan favorablemente. Por el contrario, si la CMC experimental es mayor que la ideal se dice que la mezcla presenta antagonismo. Un parámetro que se utiliza para cuantificar dicha desviación de la idealidad es el parámetro de interacción β como ya se mencionó en el capítulo 1, el cual puede calcularse mediante el uso de las ecuaciones 2.6 y 2.7:^{16,26,30}

$$\frac{X_1^2 \ln\left(\frac{\alpha_1 C_{12}}{X_1 C_1}\right)}{(1-X_1)^2 \ln\left[\frac{(1-\alpha_1) C_{12}}{(1-X_1) C_2}\right]} = 1 \quad \text{Ecuación 2. 6}$$

$$\beta = \frac{\ln\left(\frac{\alpha_1 C_{12}}{X_1 C_1}\right)}{(1-X_1)^2} \quad \text{Ecuación 2. 7}$$

Donde, α_1 es la fracción molar estequiométrica del surfactante 1, X_1 es la fracción molar del surfactante 1 en la micela, C_1 , C_2 y C_{12} son las CMC de los surfactantes 1 y 2 puros y de la mezcla

a esa α_1 , respectivamente. Para calcular X_1 a partir de la ecuación 2.6 debe utilizarse un método iterativo. Si la mezcla es ideal, β es igual a cero. Por otro lado, valores negativos de β indican interacciones atractivas entre los surfactantes, mientras que los valores positivos indican fuerzas repulsivas. Mientras más grande sea el valor absoluto de β , mayores los desvíos con respecto al caso ideal, podría estimarse que mayores son las interacciones.¹⁶

Para obtener valores de β válidos deben cumplirse ciertas condiciones:¹⁶

- ✚ Los dos surfactantes deben tener estructuras similares y estar libres de impurezas.
- ✚ Debe mantenerse la fuerza iónica constante, ya que las ecuaciones 2.6 y 2.7 no tienen en cuenta los efectos de contraión.
- ✚ Como la ecuación 2.6 contiene el término $X_1^2 / (1 - X_1)^2$, el cual cambia muy rápidamente cuando X_1 se aproxima a 0 ó a 1, es recomendable usar mezclas con α que presenten X_1 entre 0,2 y 0,8. De lo contrario, pequeños errores experimentales (por ejemplo en la determinación de las CMC) pueden originar grandes desviaciones en el valor de β .^{31,32}

En la mayoría de los trabajos se observa que β varía al variar la fracción molar de los surfactantes en la mezcla y se utiliza un promedio de los β calculados para analizar los resultados.^{31,33,34} Esta variación de β con la fracción molar es indicio de que alguno de los requerimientos antes mencionados no se cumple, pero sirve al menos para realizar estimaciones.

El valor del parámetro de interacción β puede relacionarse con los coeficientes de actividad mediante las ecuaciones 2.8 y 2.9:

$$f_1 = \exp [\beta (1 - X_1)^2] \quad \text{Ecuación 2. 8}$$

$$f_2 = \exp [\beta (X_1)^2] \quad \text{Ecuación 2. 9}$$

Así, otra manera de estimar el valor de β es emplear su dependencia con los coeficientes de actividad y reemplazar las ecuaciones 2.8 y 2.9 en la ecuación 2.4^{35,36}

2.1.5.2. Surfactantes inmiscibles

En el caso de completo demezclado de los surfactantes, las micelas se forman cuando uno de los surfactantes supera el valor de su CMC. Así experimentalmente se deberían observar dos CMC, que se pueden calcular mediante la ecuación 2.10 para cada surfactante³⁷

$$CMC_i^M = \frac{CMC_i}{\alpha_i} \quad \text{Ecuación 2. 10}$$

Donde CMC_i , corresponde a la CMC de cada surfactante puro.

En el desarrollo de esta tesis se emplearon tres mezclas de surfactantes tipo aniónico- no iónico, una de ellas ya había sido caracterizada previamente en el grupo de investigación (Tween 80-Laurato de sodio),³⁸ y para comparar se utilizó una mezcla similar (Tween 20-Laurato de sodio) donde se modificó el largo de cadena hidrocarbonada en el surfactante no iónico. La tercera mezcla corresponde a la formada por T80 y un surfactante gémmini aniónico. En este capítulo de tesis se describirán los resultados de la caracterización del sistema mixto formado por el surfactante no iónico T80 y el surfactante gémmini aniónico (Ácido 3,3–disulfanediil-bis-(2-decamido propanoico)), nombrado de manera simplificada como Didecamido cistina de sodio (SDDC). Este es un sistema novedoso ya que el surfactante gémmini ha sido sintetizado previamente en el grupo de investigación. El mismo es derivado de fuentes naturales y renovables (del aminoácido cistina (dímero de la cisteína) y del ácido graso decanoato de sodio). Es esperable que debido a su naturaleza, presente una considerable velocidad de biodegradación, tenga menor CMC, y mayor actividad de superficie, comparado con el análogo que posee una cisteína y una sola cadena hidrocarbonada, y esto podría resultar ventajoso para la solubilización de los HAPs.

2.2 Objetivo

El objetivo de esta parte del trabajo de tesis fue caracterizar los agregados formados por un surfactante no-iónico T80, el surfactante gémuni aniónico sintetizado en nuestro laboratorio (SDDC) y la mezcla formada entre estos dos surfactantes.

Posteriormente este sistema será utilizado para solubilizar contaminantes comunes de suelos.

2.3 Resultados y discusión

Se determinaron las concentraciones micelares críticas (CMC) de las distintas mezclas formadas por T80-SDDC mediante tensión superficial, el número de agregación por *quenching* de fluorescencia, y la micropolaridad de los agregados a partir de medidas de fluorescencia de pireno. Se analizó además el tamaño mediante dispersión dinámica de luz y se realizaron medidas de SAXS (dispersión de rayos-X de bajo ángulo) obteniéndose información acerca del tamaño y la morfología de los agregados. También se analizaron los resultados experimentales utilizando los diferentes modelos de agregación existentes.

2.3.1 Sistemas en estudio

Se utilizaron dos tipos de surfactantes, un no iónico y otro de tipo aniónico (Tabla 2.1).

El surfactante del tipo no iónico estudiado fue el monooleato de polioxietilensorbitano (20) conocido comercialmente como T80. No es tóxico para el ser humano y es altamente biodegradable. Se utiliza en la industria de alimentos (especialmente en helados), como emulsificador de medicamentos de administración parenteral, por ejemplo para el antiarrítmico amiodaron, y también suele ser parte del adyuvante empleado en vacunas europeas y canadienses contra la influenza.³⁹

El surfactante de tipo aniónico estudiado fue SDDC. Como ya se mencionó este es un surfactante gémico sintetizado previamente en el grupo de investigación, es derivado del aminoácido cistina y del ácido graso decanoato de sodio, y debido a su naturaleza debería presentar una buena velocidad de biodegradación. Los estudios realizados con este surfactante se hicieron a 30°C para estar por encima de la temperatura de Krafft (TK).

Además, se caracterizó la mezcla entre ambos surfactantes. El sistema T80-SDDC, es novedoso.

2.3.2 Caracterización de los sistemas micelares

2.3.2.1. Determinación de la Concentración Micelar Crítica

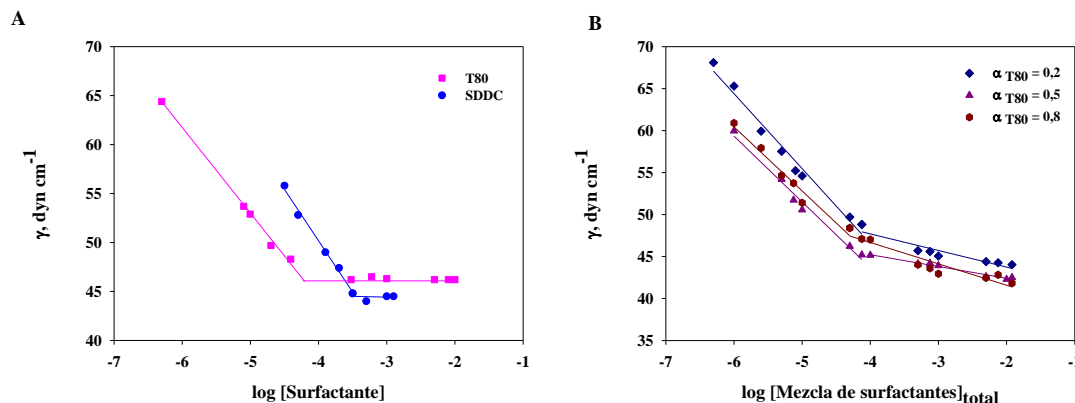


Figura 2.2.

Valores de γ en función de (A) el logaritmo de la concentración total de surfactante puro y (B) el logaritmo de la concentración total de la mezcla de surfactantes a las diferentes α_{T80} . Cada valor es el promedio de tres determinaciones. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0 °C.

Tabla 2.1

Estructura de los distintos surfactantes empleados en el estudio.

Surfactante	Estructura
Tween 80, T80	<p style="text-align: center;">$w + x + y + z = 20$</p>
Didecámido cistina de sodio, SDDC	

Se realizaron medidas de tensión superficial (γ) para determinar la CMC de los surfactantes puros y las mezclas de surfactantes. En el caso de la mezcla T80-SDDC, se determinó la CMC para diferentes fracciones molares de T80 (α_{T80}) en la mezcla. En la Figura 2.2 se muestran los valores de γ en función del logaritmo de la concentración total de surfactante a las diferentes α_{T80} estudiadas, allí se pueden definir dos rectas a partir de cuya intersección se determina la CMC, como ya fuera explicado.

La primera región puede explicarse considerando que algunas de las moléculas de surfactante se encuentran en el seno de la solución mientras que otras se acomodan en la superficie de la misma, disminuyendo así la γ . Una vez que se alcanza la CMC las moléculas, en lugar de acomodarse en la superficie, forman agregados en la solución y por ende la tensión superficial ya no varía.

A partir de estos gráficos, puede observarse que el valor de tensión superficial al que se obtiene la CMC es menor para el surfactante gémini (43 mN/m), mientras que para el T80 se mantiene constante alrededor de 46 mN/m, indicando que el SDDC es más eficaz para reducir la tensión superficial, a pesar de que su valor de CMC es mayor.

A todas las fracciones estudiadas se observa un único quiebre, lo cual indica la formación de un único agregado. La CMC de estos agregados se encuentra intermedia entre las CMC de los dos surfactantes puros T80 y SDDC, excepto el valor a $\alpha_{T80} = 0,8$ que es menor que la CMC de T80 (Tabla 2.2). Esto estaría indicando interacción entre los dos surfactantes, probablemente del tipo atractivo, ya que el surfactante gémini está cargado y el T80 no tiene carga.

- a. Valores de CMC experimental a 30,0°C, pH= 9,16
- b. Valores de eficiencia del surfactante ($\gamma_{H_2O} = 74,5$ mN/m)
- c. Valores de eficacia (mínimos de tensión superficial).

En el caso del T80 se han encontrado valores reportados similares a los obtenidos en esta tesis. Aunque no ha sido determinada la CMC del T80 a esta temperatura por tensión superficial, por ejemplo en la literatura se informa un valor de $2,77 \times 10^{-5}$ M a 23°C. La diferencia en los valores está probablemente relacionada con el cambio de temperatura, dado que el efecto de la temperatura sobre los valores de CMC de los surfactantes en solución acuosa resulta ser bastante complejo. El efecto hidrofóbico se considera responsables de la formación de micelas. El aumento de la temperatura modifica la hidratación de los grupos hidrófilos del surfactante favoreciendo la micelización y, por otro lado, rompe la estructura del agua alrededor de los restos hidrofóbicos, inhibiendo así la formación de micelas. Por lo tanto, la combinación de estos dos efectos opuestos determina si la CMC aumenta o disminuye en un intervalo de temperatura específico. En cuanto a T80, los valores de CMC aumentan con la temperatura, lo que significa que el desorden del agua estructurada alrededor de la porción hidrofóbica juega un papel principal e influye en el valor de la CMC. Debe recordarse que las partes hidrofóbicas de T80 son todas alifáticas pero con un doble enlace. Ha sido descrito que el desplazamiento de la carga electrónica de C9 a C10 en moléculas de T80 desarrolla

Tabla 2.2		Valores de CMC, eficiencia y eficacia para la mezcla T80-SDDC		
α_{T80}	CMC _{exp.} , 10^{-4} M ^a	C ₂₀ , 10^{-5} M ^b	γ_{CMC} , mN/m ^c	
0,0	3,5 ± 0,3	3,69	43,86	
0,2	1,0 ± 0,1	0,73	43,35	
0,5	0,57 ± 0,01	0,41	50,93	
0,8	0,26 ± 0,01	0,53	48,15	
1,0	0,49 ± 0,02	0,74	46,42	

sitios deficientes y ricos en electrones que afectan a los dipolos de agua o su sistema ensamblado. Tales arreglos modifican las interacciones T80-agua, T80-agua-T80 y agua-T80-agua.⁴⁰

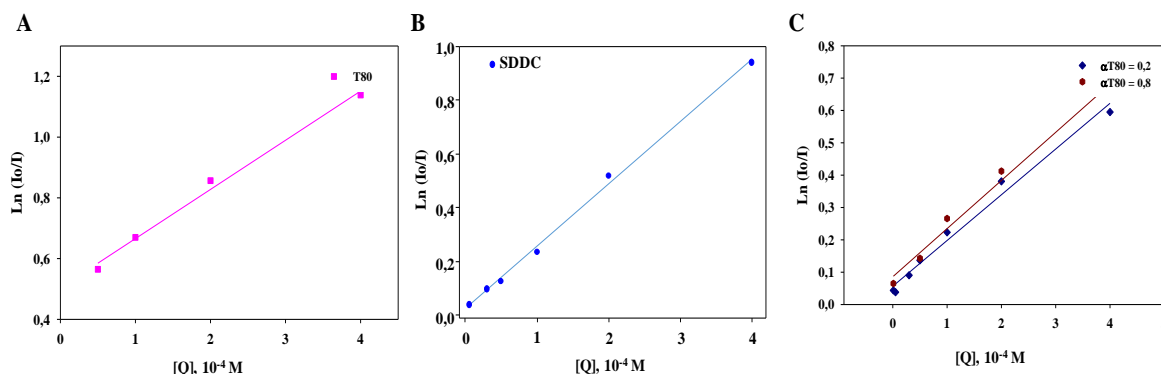
El cambio de CMC observado en las mezclas T80-SDDC es similar a otros casos reportados en la literatura. Por ejemplo, Wang⁴¹ estudió las mezclas formadas por surfactantes gémmini α,ω -bis-(bromuro de dodecildimetilamonio) alcanodiilo con la estructura $C_{12}C_S C_{12}Br_2$ (donde S indica el número de carbonos en el espaciador 3, 6 y 12), con un surfactante convencional no iónico Tritón X-100 (TX-100), encontrando una disminución de CMC al aumentar la α_{TX-100} . Con los tres surfactantes gémmini se observó que los valores de CMC disminuían con α_{TX-100} inferiores a 0,4. Las variaciones para $C_{12}C_3C_{12}Br_2$ y $C_{12}C_6C_{12}Br_2$ son mucho más significativas que para $C_{12}C_{12}C_{12}Br_2$. Los autores explican esto diciendo que mientras se intercalan las moléculas de surfactante no iónico entre los monómeros de surfactante gémmini, se reduce la repulsión electrostática entre los grupos polares del gémmini. Esta reducción promoverá la micelización. Cuando α_{TX-100} es inferior a 0,4, la repulsión electrostática entre los grupos cabeza del surfactante gémmini es muy alta. La reducción de la repulsión electrostática inducida mediante la adición de TX-100 puede, por lo tanto, promover la formación de micelas en mayor medida. En nuestro caso se observa un comportamiento similar.

La eficiencia y eficacia se caracterizan por el valor de la concentración de surfactante a la que se reduce la tensión superficial del agua en 20 mN/m (C_{20}) y por el valor de la tensión superficial en la CMC (γ_{CMC}) respectivamente, como ya se mencionó.⁷ Estos valores se muestran en la Tabla 2.2. Allí se observa que el surfactante gémmini es menos eficaz que T80 en tanto que en la mezcla a $\alpha_{T80}=0,8$ se encuentra la máxima eficacia. En cuanto a la eficiencia, se encontró que SDDC resultó mejor que el T80, y este valor no fue mejorado en las mezclas, lo cual muestra que el surfactante gémmini es el más eficaz para reducir la γ .

2.3.2.2. Determinación del Número de Agregación

El número de agregación de las micelas se determinó mediante *quenching* o atenuación de la fluorescencia de pireno por cloruro de cetil piridinio (CPB). Para ello, las intensidades de fluorescencia de pireno, medidas en ausencia y presencia de *quencher* (I_0 e I respectivamente), se graficaron en función de la concentración de CPB de acuerdo a la ecuación 2.3.

Graficando $\ln\left(\frac{I_0}{I}\right)$ en función de la concentración de quencher, a concentración de surfactante y fluoróforo constantes, se obtiene una recta de cuya pendiente se puede obtener N_A . Como se puede observar en la Figura 2.3, los gráficos presentan una tendencia lineal, excepto para $\alpha_{T80}=0,5$ la cual no pudo ser evaluada, ya que no se obtuvieron valores reproducibles.


Figura 2.3.

Determinación del número de agregación (N_A) de (A) T80 (B) SDDC y (C) la mezcla de surfactantes a las diferentes α_{T80} . $T = 30,0^\circ\text{C}$, $[\text{Pireno}] = 2 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{Surfactante o mezcla}]_{\text{total}} = 2.0 \times 10^{-2} \text{ M}$, $Q = \text{CPB}$.

Tabla 2.3

Caracterización de los agregados en la mezcla T80- SDDC.^a

α_{T80}	N_A^b	Diámetro, nm		I_3/I_1^c
		SAXS ^c	DLS ^d	
0,0	$22,9 \pm 0,5$	3,8	- ^f	$1,18 \pm 0,01$
0,2	$15,0 \pm 1,0$	4,4	- ^f	$1,18 \pm 0,01$
0,5	N.D.	6,0	- ^f	$1,25 \pm 0,03$
0,8	$29,0 \pm 0,2$	7,6	10,6	$1,13 \pm 0,02$
1,0	$44,0 \pm 0,3$	8,8	11,2	$1,09 \pm 0,01$

Los valores obtenidos de N_A se detallan en la Tabla 2.3. Para $\alpha_{T80} = 0,2$, el número de agregación fue menor que el obtenido para SDDC puro. Para $\alpha_{T80} = 0,5$, como ya se mencionó, los valores no fueron reproducibles. Este hecho podría estar relacionado con la solubilización selectiva de pireno en los diferentes surfactantes, tal como ya ha sido descrito.⁷ Con el incremento adicional en α_{T80} , N_A aumentó nuevamente, acercándose al valor de T80 puro. En la literatura se observan valores reportados del número de agregación del T80, encontrándose dispersión en los mismos, que se informan en el intervalo de 22-350 moléculas con radios micelares asociados de 2,1- 4,05 nm, por lo que podemos considerar que nuestras medidas se encuentran dentro del intervalo reportado.⁴²⁻⁴⁵

En el caso de las micelas mixtas, se ha encontrado en la literatura que N_A depende mucho del tipo de surfactante gémuni que conforma la mezcla. Por ejemplo, en mezclas de surfactantes gémuni catiónicos y un surfactante no iónico (TX-100), se observa que la disminución del número de agregación a α_{TX-100} inferiores a 0,8 es más marcado para la micela mixta que contiene el surfactante gémuni con un espaciador más corto.^{41,46} Los cambios de N_A observados en las micelas mixtas con la composición de las mezclas estaría entonces relacionado con cambios de repulsión electrostática entre los grupos cabeza polar del surfactante gémuni y la repulsión estérica entre los grupos hidrofílicos del surfactante no iónico.

N.D.: No determinado, ^a Todas las soluciones se realizaron en buffer pH 9,16 a $30,0^\circ\text{C}$

^b Valores de número de agregación (N_A)

^c Diámetros calculados considerando radios equivalentes, R equiv.

^d Radios hidrodinámicos

^e Valores de relación de intensidades de las bandas vibrónicas 3 y 1 (I_3/I_1) de pireno, Pireno = $2,0 \times 10^{-6}$ M

^f El valor de radio hidrodinámico no pudo ser determinado probablemente por ser estructuras de tamaño inferior al límite de detección.

2.3.2.3. Determinación del Tamaño y la Morfología

El tamaño de los agregados se determinó mediante DLS y mediciones de SAXS, en la Tabla 2.3 se muestran los resultados obtenidos por ambas técnicas.

Con respecto a las mediciones mediante DLS, no se logró observar el tamaño a fracciones molares menores a 0,8 ($\alpha_{T80} = 0, 0,2$ y $0,5$) ya que la intensidad de las señales no era suficiente. Esto estaría indicando que el agregado que se está formando es muy pequeño, se podría decir que las fluctuaciones son de mayor frecuencia para estas partículas más pequeñas, debido a que se mueven rápidamente y no es posible determinar su tamaño.⁴⁷

Por otro lado, los surfactantes individuales y las mezclas fueron analizadas por SAXS, ya que esta metodología permite medir partículas en la gama de tamaños de 1-100 nm. Con esta técnica se analizan moléculas anfifílicas, y la agregación de las mismas. Estos estudios se realizaron en colaboración con el Dr. Rafael Oliveira, CIQUIBIC-CONICET, Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba en la línea SAXS 1 del Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón, Campinas, Brasil. Se realizaron dos tipos de estudios, uno en el cual se varió la composición de la mezcla a una concentración de surfactante total constante y otro en el cual se determinaron soluciones a diferentes concentraciones totales de surfactante manteniendo constante la fracción molar.

En la Figura 2.4 se muestran las intensidades de dispersión de rayos-X experimentales $I(q)$, de cada sistema de surfactantes, individuales y mezclas, a una concentración total de surfactante constante, de 8×10^{-3} M. Estas curvas se analizaron con diferentes geometrías (factores de forma) y factores de forma. Los perfiles de dispersión observados tienden a ser horizontales a baja q (vectores de dispersión o scattering), sugiriendo la formación de micelas. El mínimo de la curva se desplaza a valores de q mayores para SDDC, lo que indica micelas de menor tamaño. El valle correspondiente a T80 puro se encuentra a menor q , indicando micelas de mayor tamaño. Las mezclas muestran un desplazamiento proporcional de q (sin ensanchamiento), lo cual sugiere, micelas monodispersas mixtas. A partir de estos experimentos, fue posible establecer la forma y el tamaño de los agregados ajustando los datos a diferentes modelos.

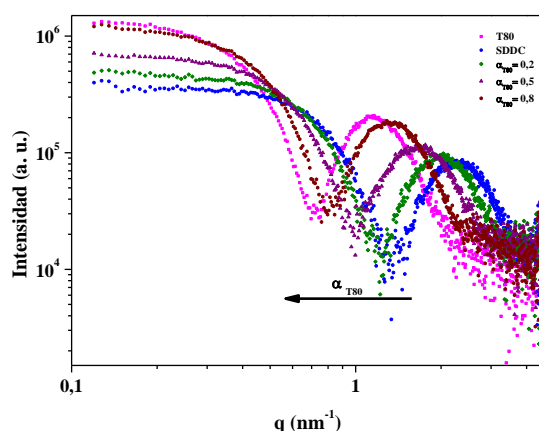


Figura 2.4. Curvas experimentales de SAXS de soluciones acuosas de surfactantes individuales y las mezclas a diferentes fracciones molares de T80 (α_{T80}). [Surfactante]_{total} = 8×10^{-3} M. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0°C.

Los perfiles de dispersión de los surfactantes individuales fueron evaluados con el programa SASFIT, la Figura 2.5, muestra los datos de SAXS experimentales y calculados (FIT). En ambos casos se obtuvieron micelas del tipo elipsoides triaxiales.

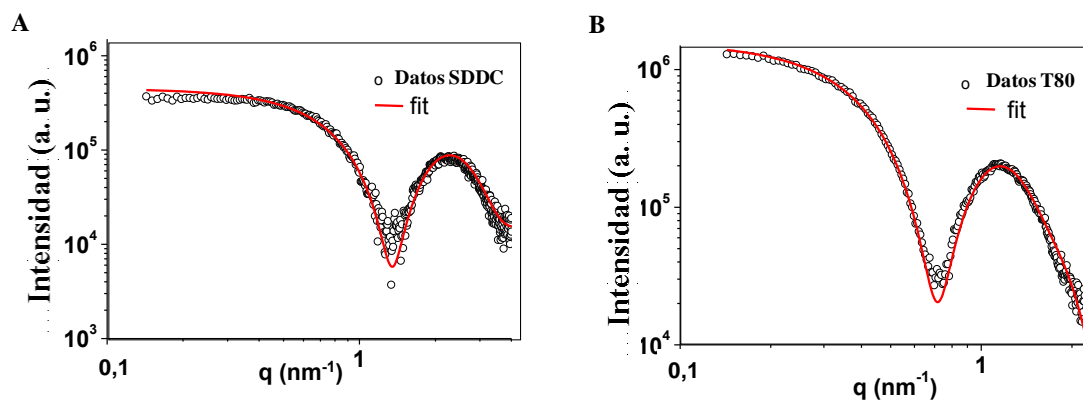
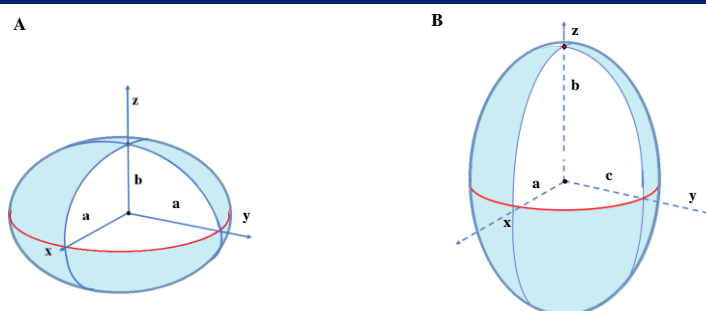


Figura 2.5. Ajuste de datos SAXS con un modelo de elipsoide triaxial: (A) surfactante gémini, (B) T80.

Los ejes del agregado elipsoidal calculados para este modelo micelar se muestran en la Tabla 2.4 (Esquema 2.2). Los valores de los radios equivalentes (R_{equi}) obtenidos a partir de estos resultados concuerdan bien con los determinados por DLS a $\alpha_{T80} = 0, 8$ y $1,0$ (Tabla 2.3) y permiten conocer valores no accesibles mediante esta última técnica. Los valores de DLS son ligeramente más altos ya que esta técnica mide radios hidrodinámicos.

Tabla 2.4		Resumen de los principales datos estructurales de la mezcla T80-SDDC obtenidos por SAXS.				
α_{T80}	a ^a	b ^a	c ^a	Capa externa ^b	R _{equiv} ^c	
0,0	2,46 (prolato)	1,86	1,43	0,21	1,9	
0,2	2,83 (prolato)	2,22	1,67	0,36	2,2	
0,5	3,47 (oblato)	3,47	2,21	1,43	3,0	
0,8	4,64 (prolato)	3,98	2,86	1,61	3,8	
1,0	5,71 (prolato)	4,72	3,35	2,18	4,4	

^a a-c son los ejes (expresados como radios) del elipsoide. ^b Grosor de la cabeza polar del anfífilo (está incluido en a-c como un valor constante). ^c R_{equiv} es el radio de una esfera con el mismo volumen que el elipsoide. En el caso particular de $\alpha_{T80} = 0,5$, los dos semiejes principales convergen en un solo valor (micela de tipo oblato).



Esquema 2.2. Diferentes formas de elipsoides: (A) Oblato y (B) Prolato.

Por otro lado, se analizaron las curvas de SAXS obtenidas aumentando la concentración total de ambos surfactantes a una fracción molar constante ($\alpha_{T80} = 0,5$). En la Figura 2.6 se observa que las curvas de SAXS no se ven afectadas por el aumento de la concentración de surfactantes que conforman la mezcla, obteniéndose el mínimo en todos los casos al mismo valor del vector de scattering, cuando se está por encima de la CMC. A concentraciones por debajo de este valor no se observa la formación de agregados y se indica en el gráfico como monómero.

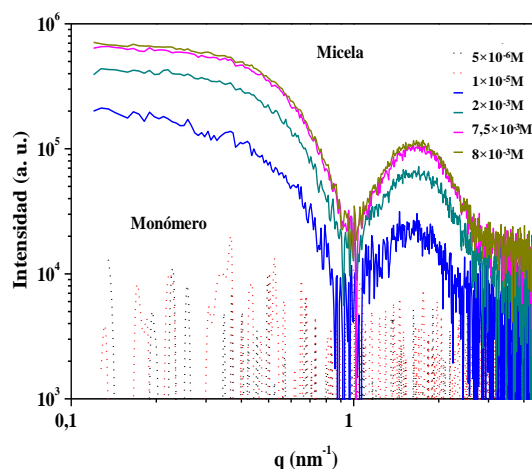


Figura 2.6. Curvas de SAXS variando la concentración total de surfactante T80-SDDC a fracción molar 0,5 ($\alpha_{T80} = 0,5$).

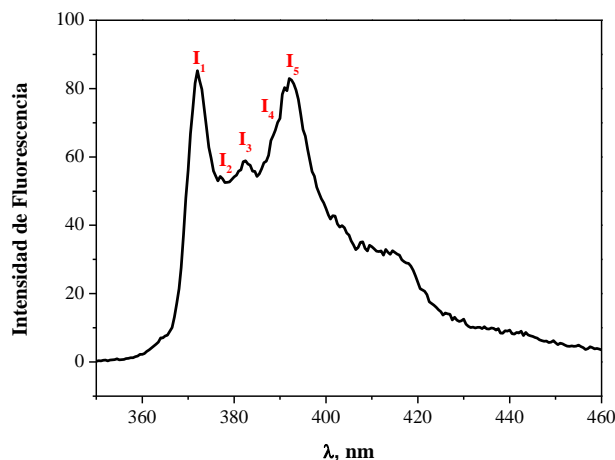
Karjiban y colaboradores, a partir de simulaciones de dinámica molecular a nivel atómico, y considerando un autoensamblado de T80 que comprende 30 moléculas de surfactante en agua, encontraron una micela con forma de elipsoide prolato, en buen acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo.⁴⁸ Por otra parte, es conocido que los surfactantes gémuni en solución acuosa pueden formar estructuras de variada morfología, como micelas esféricas, elipsoidales, en forma de varillas y similares a gusanos, así como vesículas y formas tubulares.⁴⁹ Estas propiedades de los surfactantes gémuni son el fundamento de sus aplicaciones como emulsionantes, dispersantes, agentes de recubrimiento e inhibidores de la corrosión.⁵⁰ Falsini y colaboradores, por ejemplo, determinaron la forma y el tamaño de un surfactante gémuni catiónico, α , ω -bis (*N*-dodecil-*N,N*-dimetil amonio) por SAXS, encontrando micelas elipsoidales de tamaño pequeño.⁵¹ Por otro lado, se observó que los tamaños de los agregados micelares son más dependientes de la longitud de la cadena alquílica que de la longitud del espaciador para un surfactante gémuni catiónico.⁵²

Bergström y Garamus⁵³ estudiaron surfactantes catiónicos con distinto largo de cadena alquílica como, bromuro de hexadeciltrimetil amonio (CTAB), bromuro de dodeciltrimetil amonio (DTAB) y bromuro de didodecildimetil amonio (DDAB) y mezclas entre ellos. Los autores observaron diferencias significativas en el comportamiento del crecimiento de los distintos agregados con respecto a la composición del surfactante en las mezclas. DTAB formó micelas esféricas oblatas con $[\text{NaBr}] = 0,1 \text{ M}$, pero la posterior adición de CTAB dio lugar a un cambio de morfología obteniéndose micelas esféricas alargadas de tipo prolato. Las micelas presentaron un tamaño similar para la mezcla CTAB/DTAB, mientras que la mezcla DDAB/DTAB creció sólo en la dirección longitudinal. Las micelas DDAB/DTAB se transformaron posteriormente en elipsoidales alargadas, siguiendo esta transformación hasta formar una estructura de dos capas. En nuestro sistema se observan agregados de tipo elipsoide en todas las condiciones salvo a $\alpha_{\text{T80}} = 0,5$ donde el elipsoide es de tipo oblato (dos ejes mayores iguales).

Los resultados obtenidos de los experimentos a partir de SAXS ayudaron a establecer la forma y el tamaño de las micelas en detalle.

2.3.2.4. Micropolaridad de la interfase micelar

La micropolaridad de la interfase micelar en surfactantes puros y en las mezclas de surfactantes se determinó utilizando el espectro de emisión de fluorescencia de pireno como sonda de polaridad, debido a que éste es sensible al entorno químico en el cual se encuentra.⁵⁴ El espectro de emisión del monómero de pireno presenta cinco bandas de emisión de fluorescencia características cuando es excitado a 335 nm como se muestra en la Figura 2.7.


Figura 2.7.

Espectro de emisión de fluorescencia del monómero de pireno en presencia de una solución que contiene el surfactante SDDC a 3×10^{-3} M. Pireno = $2,0 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{\text{excitación}}$ 335 nm. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M) a 30,0 °C.

Cuando el monómero de pireno se solubiliza en diferentes solventes, la relación de la intensidad de fluorescencia para las bandas vibrónicas I_3 e I_1 de pireno (I_3/I_1) es claramente diferente. La relación de estas dos bandas depende del momento dipolar (D) y de la constante dieléctrica (ϵ) del solvente en el cual se encuentre la sonda.⁵⁴

El valor que adquiere la relación I_3/I_1 en el máximo aporta información importante acerca del entorno químico en el cual se encuentra el pireno en el interior de las micelas. En la Tabla 2.3. se muestran los valores obtenidos para la relación I_3/I_1 .

De la tabla se desprende que la relación I_3/I_1 fue mayor para el surfactante gémuni aniónico que para el T80, lo que implica una interfase menos polar en el primer caso (el valor de esta relación es de 0,63 en agua).⁵⁵ Este es el comportamiento esperado ya que, en el primer caso, SDDC, el valor del surfactante aniónico presenta interfases menos polares que los de los no iónicos.⁵⁴ Por ejemplo, el valor de la relación I_3/I_1 fue de 1,20 para pireno en el surfactante aniónico dodecil sulfato de sodio y de 0,93 en el no iónico Brij-35.⁵⁵ Estos valores son muy parecidos a los obtenidos en este trabajo para los surfactantes puros. Sin embargo, en el caso del T80 su cabeza polar tiene varios grupos hidroxilo que proporcionan una mayor polaridad a la interfase que en el caso del Brij-35. De hecho, el valor observado para esta relación en T80 y en las mezclas concuerda con los obtenidos para algunos alcoholes, por ejemplo para 1-pentanol y 2-propanol (1,07 y 1,10 respectivamente).⁵⁴ Por lo tanto, podríamos considerar que la constante dieléctrica o la permitividad (ϵ) de soluciones de la mezcla T80-SDDC es más cercana a la de solventes polares simples como los alcoholes mencionados (ϵ entre 15 o 20), pero no tan alto como el valor correspondiente a agua ($\epsilon = 78,54$), ni tan bajo como el valor de hidrocarburos ($\epsilon \sim 2$).⁵⁶

2.3.3 Aplicación de los Modelos de agregación

En primer lugar, se determinó si la mezcla T80- SDDC formaba micelas mixtas de tipo ideal. Los valores de CMC ideales pueden calcularse empleando la ecuación 2.4 a partir de los valores CMC de los dos componentes puros y considerando que los coeficientes de actividad son iguales a 1 ya que las soluciones son diluidas (ecuación 2.5).²⁹ Los valores de CMC ideales calculados a las diferentes fracciones molares de la mezcla se presentan en la Tabla 2.5 y Figura 2.8.

^a CMC experimental determinada por tensión superficial.

^b CMC ideal calculada a partir de la ecuación 2.5.

^c β calculado a partir de las ecuaciones 2.6 y 2.7.

A partir de los resultados de la Tabla 2.5 puede observarse que los valores de CMC_{exp} son inferiores a los valores CMC_{ideal} a todas las fracciones molares de la mezcla, lo que indica una desviación negativa del comportamiento ideal para la formación de micelas mixtas. Es posible estimar la desviación negativa de la CMC experimental y la CMC ideal, y por lo tanto la no idealidad del sistema mixto de surfactantes, calculándose el parámetro de no idealidad β , un indicador del grado de interacción entre los dos surfactantes que forman la mezcla, empleando la ecuación 2.7.

El valor de β es proporcional a la energía libre de mezclado de los surfactantes. Como ya se mencionó un valor de β negativo implica que la interacción entre los surfactantes en la mezcla es atractiva (sinergismo), sin embargo, si β es positivo, la mezcla de surfactantes resulta en

α_{T80}	Valores de CMC de la mezcla T80-SDDC experimental y calculados		
	$CMC_{exp}, 10^{-4} M^a$	$CMC_{ideal}, 10^{-4} M^b$	β^c
0,0	$3,5 \pm 0,3$	3,5	
0,2	$1,0 \pm 0,1$	1,57	
0,5	$0,57 \pm 0,01$	0,86	-2,5
0,8	$0,26 \pm 0,01$	0,59	-5,9
1,0	$0,49 \pm 0,02$	0,49	

interacciones repulsivas. Los valores de β que fue posible calcular para las mezclas estudiadas se muestran en la Tabla 2.5. La obtención de valores negativos de β en mezclas formadas por un surfactante aniónico y otro no iónico ha sido reportada previamente en varios casos,³⁵ y en general, este comportamiento se explica teniendo en cuenta que la auto-repulsión electrostática entre las cabezas cargadas de igual signo presentes en los surfactantes aniónicos, y la auto-repulsión estérica en las micelas de los no iónicos debido al gran tamaño de las cabezas hidrofílicas, pueden debilitarse por la dilución de los surfactantes en las micelas mixtas. Debido a esto, en general, la formación de micelas mixtas se ve favorecida en este tipo de mezclas. La repulsión electrostática entre las cabezas de los surfactantes aniónicos es reemplazada por interacciones atractivas de tipo ión-dipolo entre los grupos hidrofílicos de los dos tipos de surfactantes, lo cual provoca una desviación de la idealidad.³⁵ Sin embargo, es importante mencionar que en la teoría de la solución no ideal existen algunas

suposiciones y aproximaciones que impiden considerar estrictamente los valores β calculados de esa manera, por lo tanto, sólo son útiles para fines estimativos.¹⁶

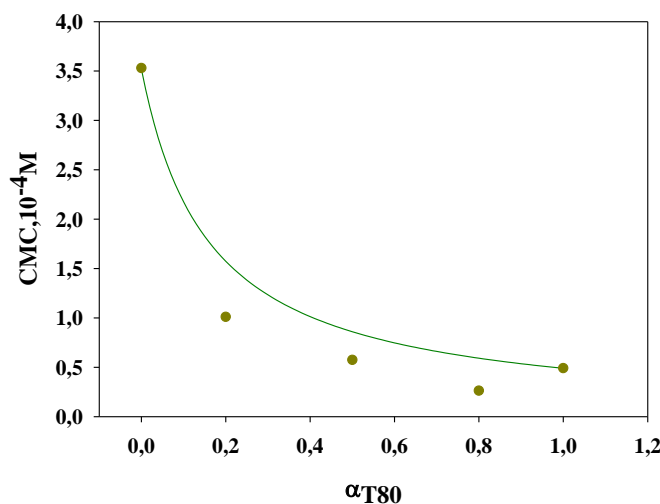


Figura 2.8. Valores de CMC experimentales de la mezcla T80-SDDC (●). La línea representa la CMC ideal calculada de acuerdo a la ecuación 2.5.

Los valores de β obtenidos para las mezclas en este trabajo son comparables a los valores reportados para mezclas de TX-405-SDS, Brij-35-SDS, Brij-58-SDS, y TX-100-SDS (también mezclas de surfactantes no iónicos-aniónicos). En estos casos, los valores de β encontrados fueron -3,5, -2,6, -2,1 y -1,5 respectivamente a $\alpha_{\text{no iónico}} = 0,5$.⁵⁷ Para mezclas de un surfactante gémmini catiónico (G6) y tres surfactantes convencionales, Brij-35, bromuro de cetiltrimetil amonio (CTAB) y lauril sulfato de sodio (SDS), en combinaciones binarias equimolares (G6-Brij-35, G6-CTAB y G6-SDS) también se observaron valores negativos de β (sinergismo).⁵⁸ Otro ejemplo son mezclas de un surfactante gémmini catiónico, dicloruro de etano-1,2-diil bis (*N,N*-dimetil-*N*-hexadecilamonioacetoxi) con diferentes surfactantes, cloruro de cetilpiridinio (CPC), cloruro de hexadeciltrimetil amonio (CTAC), SDS, dodecil benceno sulfonato de sodio (SDBS), y los surfactantes no iónicos Brij-58 y Tritón X-100. En todos estos sistemas binarios los valores de β fueron negativos indicando una interacción sinérgica entre los surfactantes en las mezclas.⁵⁶

El hecho de que la mezcla T80-SDDC se comporte como una mezcla no ideal, formándose micelas mixtas no ideales, permitiría predecir un posible efecto sinérgico para la solubilización de HAPs por parte de esta mezcla, en base a las propiedades de muchos de los sistemas antes mencionados.

2.4 Conclusiones

Se estudiaron las propiedades de soluciones formadas por mezclas de un surfactante comercial, T80, y un surfactante gémmini aniónico SDDC, sintetizado en nuestro laboratorio. Las micelas mixtas presentan forma de elipsoide triaxial. Los resultados obtenidos revelan la formación de agregados de tamaño pequeño, que presentan propiedades intermedias con respecto a los dos surfactantes puros. La mezcla que posee un menor contenido del surfactante gémmini ($\alpha_{T80} = 0,8$) posee las mejores propiedades de autoagregación (menor CMC).

Las mezclas muestran un comportamiento no ideal según lo indicado por los valores de CMC obtenidos que son menores que lo predicho por la teoría de la solución regular, y el parámetro de interacción β negativo. Este valor implicaría interacciones atractivas entre ambos surfactantes, debido probablemente a que la auto-repulsión electrostática presente en los surfactantes aniónicos, y la auto-repulsión estérica en las micelas de los no iónicos, que pueden debilitarse por la dilución de los surfactantes en las micelas mixtas.

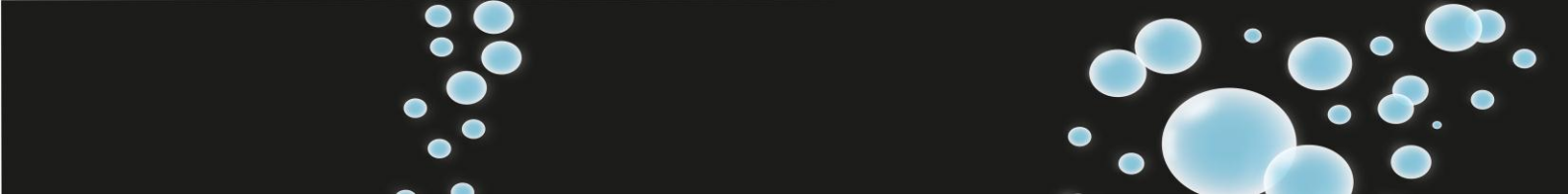
Los resultados obtenidos pueden ser usados para entender el comportamiento de los surfactantes en el sistema y proveen información valiosa para las posibles aplicaciones que se discutirán en los siguientes capítulos.

2.5 Referencias

- (1) Al-Wardian, A.; Glenn, K. M.; Palepu, R. M. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2004**, *247*, 115–123.
- (2) Velychkivska, N.; Bogomolova, A.; Filippov, S. K.; Starovoytova, L.; Labuta, J. *Colloid Polym. Sci.* **2017**, *295*, 1419–1428.
- (3) Kartal, Ç.; Akbaş, H. *Dye. Pigment.* **2005**, *65*, 191–195.
- (4) Akbaş, H.; Kocaoğlu, S.; Boz, M.; Dikmen, A. *Colloid Polym. Sci.* **2016**, *294*, 1439–1451.
- (5) Myers, D. *Surfaces, Interfaces, and Colloids*; Willey-Vch New York, USA; **1999**; Vol. 4.
- (6) Pang, J.; Zhao, T.; Xin, X.; Chen, Y.; Tan, Y.; Xu, G. *J. Surfactants Deterg.* **2016**, *19*, 1015–1024.
- (7) Myers, D. *Surfactant Science and Technology*, 3. ed.; Wiley: Hoboken, NJ, USA **2006**.
- (8) Poša, M.; Guzsavány, V.; Csanádi, J. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2009**, *74*, 84–90.
- (9) Coello, A.; Meijide, F.; Núñez, E. R.; Tato, J. V. *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 9–15.
- (10) Abdul Rub, M.; Azum, N.; Asiri, A. M. *J. Chem. Eng. Data* **2017**, *62*, 3216–3228.
- (11) Ćirin, D. M.; Poša, M. M.; Krstonošić, V. S. *Chem. Cent. J.* **2011**, *5*, 89–96.
- (12) Danielsoon H.; Sjvall J.; *Sterols and Bile Acids*; Elsevier Science Publishers: Amsterdam, **1987**.
- (13) Misra, P. K.; Panigrahi, S.; Dash, U.; Mandal, A. B. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *345*, 392–401.
- (14) Chen, Y.; Shan, G.; Pan, P. *Colloid Polym. Sci.* **2017**, *295*, 2207–2215.
- (15) Pérez, L.; Pinazo, A.; Pons, R.; Infante, M. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *205*, 134–155.
- (16) Rosen, M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3. ed.; Wiley-Interscience: Hoboken, NJ, USA **2004**.
- (17) Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed.; Springer: New York, **2006**.
- (18) Carnero Ruiz, C.; Hierrezuelo, J. M.; Molina-Bolívar, J. A. *J. Lumin.* **2017**, *192*, 188–195.
- (19) Turro, N. J.; Yekta, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 5951–5952.
- (20) Kostorz, G. *J. Appl. Crystallogr.* **1991**, *24*, 444–456.
- (21) Dwivedi, D.; Lepková, K. *Application and Characterization of Surfactants*; Najjar, R., Ed.; InTech: Australia, **2017**.
- (22) Long, J.; Li, L.; Jin, Y.; Sun, H.; Zheng, Y.; Tian, S. *SSep. Purif. Technol.* **2016**, *160*, 11–17.
- (23) Serdyuk, A. A.; Mirgorodskaya, A. B.; Kapitanov, I. V.; Gathergood, N.; Zakharova, L. Y.; Sinyashin, O. G.; Karpichev, Y. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2016**, *509*, 613–622.
- (24) Nordstierna, L.; Furó, I.; Stilbs, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6704–6712.

- (25) Hofmann, M. J.; Motschmann, H. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, *532*, 472–475.
- (26) Holland, P. M.; Rubingh, D. N. *J. Phys. Chem.* **1983**, *87*, 1984–1990.
- (27) Koneva, A. S.; Ritter, E.; Anufrikov, Y. A.; Lezov, A. A.; Klestova, A. O.; Smirnova, N. A.; Safonova, E. A.; Smirnova, I. *Colloids Surfaces A. Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, *532*, 472–475.
- (28) Holland, P. M.; Rubingh, D. N. *Mixed Surfactant Systems*; Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, **1992**; Vol. 501.
- (29) Clint, J. H. *Surfactant Aggregation*; Springer Netherlands: Dordrecht, **1992**.
- (30) Chen, Z.-X.; Deng, S.-P.; Li, X.-K. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *318*, 389–396.
- (31) Joshi, T.; Mata, J.; Bahadur, P. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2005**, *260*, 209–215.
- (32) Chen, C.; Hailing, Z.; *Minerals* **2017**, *7*, 87–94.
- (33) Varade, D.; Joshi, T.; Aswal, V. K.; Goyal, P. S.; Hassan, P. A.; Bahadur, P. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2005**, *259*, 103–109.
- (34) Moore, S. E.; Mohareb, M.; Moore, S. A.; Palepu, R. M. *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *304*, 491–496.
- (35) Zhou, Q.; Rosen, M. J. *Langmuir* **2003**, *19*, 4555–4562.
- (36) Das, S.; Oldham, E. D.; Lehmler, H.-J.; Knutson, B. L.; Rankin, S. E. *J. Colloid Interface Sci.* **2018**, *512*, 428–438.
- (37) Barthélémy, P.; Tomao, V.; Selb, J.; Chaudier, Y.; Pucci, B. *Langmuir* **2002**, *18*, 2557–2563.
- (38) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, *84*, 1700–1707.
- (39) Cheng, M.; Zeng, G.; Huang, D.; Yang, C.; Lai, C.; Zhang, C.; Liu, Y. *Chem. Eng. J.* **2017**, *314*, 98–113.
- (40) Szymczyk, K.; Taraba, A. *Chem. Phys.* **2017**, *483*, 96–102.
- (41) Wang, X.; Wang, J.; Wang, Y.; Ye, J.; Yan, H.; Thomas, R. K. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *286*, 739–746.
- (42) Amani, A.; York, P.; de Waard, H.; Anwar, J. *Soft Matter* **2011**, *7*, 2900–2909.
- (43) de Campo, L.; Yaghmur, A.; Garti, N.; Leser, M. E.; Folmer, B.; Glatter, O. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *274*, 251–267.
- (44) Mahajan, R. K.; Chawla, J.; Bakshi, M. S.; Kaur, G.; Aswal, V. K.; Goyal, P. S. *Colloid Polym. Sci.* **2004**, *283*, 164–168.
- (45) Glenn, K. M.; Moroze, S.; Bhattacharya, S. C.; Palepu, R. M. *J. Dispers. Sci. Technol.* **2005**, *26*, 79–86.
- (46) Kumari, S.; Saha, S. K. E. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119*, 9751–9763.
- (47) Thevenot, C.; Vincent, B.; Hage-Ali, S.; Thomas, S.; Rouxel, D. *Int. J. Polym. Anal. Charact.*

- 2017, 22, 649–658.
- (48) Karjiban, R. A.; Basri, M.; Rahman, M. B. A.; Salleh, A. B. *APCBEE Procedia* **2012**, 3, 287–297.
- (49) Owen, T.; Butler, A. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 678–687.
- (50) Brycki, B. E.; Kowalczyk, I. H.; Szulc, A.; Kaczerewska, O.; Pakiet, M. *Application and Characterization of Surfactants*; Najjar, R., Ed.; InTech: Poznan, Poland, **2017**.
- (51) Falsini, S.; Ciani, L.; Arcangeli, A.; Di Cola, E.; Spinuzzi, F.; Ristori, S. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2015**, 472, 101–108.
- (52) Bhadani, A.; Okano, T.; Ogura, T.; Misono, T.; Sakai, K.; Abe, M.; Sakai, H. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2016**, 494, 147–155.
- (53) Bergström M., L.; Garamus, V. M. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, 381, 89–99.
- (54) Kalyanasundaram, K.; Thomas, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2039–2044.
- (55) Torres, M. F.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *J. Phys. Org. Chem.* **2016**, 29, 665–671.
- (56) Ansari, W. H.; Fatma, N.; Panda, M. *Soft Matter* **2013**, 9, 1478–1489.
- (57) Zhou, W. *J. Hazard. Mater.* **2004**, 109, 213–220.
- (58) Siddiqui, H.; Kamil, M.; Panda, M. *Chinese J. Chem. Eng.* **2014**, 22, 1009–1015.



Capítulo 3:

**Solubilización de
Hidrocarburos Aromáticos
Policíclicos mediante el
empleo de surfactantes
individuales y mezclas de
surfactantes**

No vale la pena llegar a la meta si uno no goza del viaje.

Roger Martínez González



Índice

Índice	66
3.1 Introducción	67
3.1.1. Determinación de la eficacia de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes para solubilizar HAPs	68
3.1.2. Determinación de la afinidad de los HAPs por las micelas de surfactantes	70
3.1.3. Efecto de la interacción de los surfactantes en la solubilización de HAPs	71
3.2 Objetivos	74
3.3 Resultados y discusión	75
3.3.1 Sistemas en estudio	75
3.3.2 Solubilización de HAPs en surfactantes individuales	76
3.3.2.1. Efecto de los surfactantes no iónicos en la solubilización de HAPs	77
3.3.2.2. Efecto de los surfactantes aniónicos en la solubilización de HAPs	80
3.3.2.2.1. Efecto del surfactante aniónico LS en la solubilización de HAPs	80
3.3.2.2.2. Efecto del surfactante aniónico gémuni en la solubilización de HAPs.....	81
3.3.2.3. Comparación del efecto de los diferentes sistemas individuales sobre la solubilización de los HAPs	83
3.3.2.4. Efecto de la carga del surfactante para solubilizar HAPs	88
3.3.3 Solubilización de HAPs en mezclas de surfactantes.....	90
3.3.3.1. Efecto de la mezcla de T80 - SDDC en la solubilización de HAPs.....	91
3.3.3.2. Efecto de la mezcla de T80 - LS en la solubilización de HAPs.....	96
3.3.3.3. Efecto de la mezcla de T20-LS en la solubilización de HAPs.....	100
3.3.3.4. Comparación del efecto de las distintas mezclas estudiadas en la solubilización de HAPs	102
3.4 Conclusiones	104
3.5 Referencias.....	106

3.1 Introducción

Dentro de las tecnologías de remediación se pueden emplear surfactantes como una estrategia prometedora.¹ Esta es una de las técnicas más promisorias para la eliminación de un contaminante adsorbido en el suelo, implicando el uso de soluciones acuosas de surfactantes por encima de sus concentraciones micelares críticas (CMC). De esta manera pueden obtenerse, mayores concentraciones de sustancias poco solubles en fase acuosa de manera eficiente.² Algunos estudios también han mostrado la potencialidad del uso de la solubilización micelar para limpiar contaminantes residuales adsorbidos en sedimentos.³

En estudios previos realizados en nuestro laboratorio se observó que T80 mostró ser mejor que otros agentes tensioactivos no iónicos, por ejemplo Brij-35 y TX-100, para solubilizar fenantreno.^{1,4} Otros autores han reportado que T80 en general es más biodegradable y menos tóxico que muchos tensioactivos aniónicos y catiónicos, y ha sido ampliamente utilizado en la biorremediación de HAPs.⁵⁻⁷

Aunque la mayor parte de los estudios de solubilización se han realizado en soluciones de un surfactante individual, las micelas mixtas también se han utilizado para aumentar la solubilidad en agua de compuestos orgánicos poco solubles. Zhou ha informado acerca de la capacidad potencial de agentes tensioactivos aniónicos-no iónicos mezclados para mejorar la solubilidad de pireno en agua.⁸ Las mezclas de surfactantes en su mayoría se han utilizado para el estudio de las propiedades interfaciales y para aumentar la solubilidad en agua de compuestos orgánicos poco solubles.⁹

En muchos casos, cuando se mezclan deliberadamente diferentes tipos de surfactantes, se observa sinergismo, es decir, la condición en donde las propiedades de la mezcla son mejores que las alcanzables con los componentes individuales por sí mismos. Por ejemplo, la adición de surfactante no iónico a una solución de surfactante aniónico puede reducir significativamente su CMC como se observó en el capítulo anterior y también puede aumentar significativamente el tamaño de la micela,¹⁰ lo que podría resultar en un aumento en el grado de solubilización.

Como ya se ha mencionado, la remediación mejorada por surfactantes (SER por sus siglas en inglés) es una de las técnicas más promisorias para la solubilización de HAPs, en la cual la solubilidad del soluto orgánico está enormemente reforzada por la presencia de agentes tensioactivos.¹¹

La SER está basada en dos procesos fundamentales, por un lado, la solubilización de los compuestos orgánicos hidrofóbicos mediante su partición en los núcleos hidrófobos de las micelas de surfactantes o mezclas de surfactantes^{12,13} y, por otro lado, la movilización del contaminante adsorbido desde el suelo hacia el seno de una solución acuosa.¹

Hay algunos informes sobre la solubilización de HAPs por sistemas de surfactantes mixtos.^{3,12,14,15} Micelas mixtas gémini-surfactante convencional también pueden aumentar la solubilidad en agua de compuestos orgánicos pero estas mezclas han sido escasamente exploradas en el ámbito de la remediación de contaminantes.¹²

En este capítulo se estudiará el primero de los procesos (solubilización de los contaminantes) utilizando mezclas de surfactante gémini y surfactantes convencionales sobre la solubilización de HAPs.

3.1.1. Determinación de la eficacia de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes para solubilizar HAPs

Como ya se mencionó, a bajas concentraciones los surfactantes en solución acuosa en general existen sólo en forma de monómeros, sin afectar así la solubilización de los contaminantes, y conforme aumenta su concentración, llegan a un punto donde la superficie interfacial se satura y las moléculas se aglomeran en micelas aumentando así la solubilización de contaminantes debido a la incorporación de las mismos dentro de las micelas.

Generalmente se suele determinar la eficacia de remediación como la capacidad de solubilización de surfactantes y mezclas de surfactantes hacia los contaminantes.¹⁶ Una manera de determinar la efectividad de los surfactantes es a través de la relación de solubilización molar (RSM), que se define como el número de moles de compuesto orgánico solubilizado por mol de surfactante añadido a la solución. La RSM es adimensional¹² y se puede calcular como se muestra en la ecuación 3.1.

$$RSM = \frac{S - S_{CMC}}{C_s - CMC} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

En esta ecuación, S es la solubilidad del HAP a alguna concentración de surfactante por encima de la CMC, S_{CMC} es la solubilidad del HAP cuando la concentración del surfactante es igual a la CMC y puede ser aproximada a la solubilidad del compuesto orgánico en agua, C_s es la concentración de surfactante a la cual S es evaluada y CMC es la concentración micelar crítica del surfactante. La RSM se obtiene de la pendiente que resulta de representar gráficamente la concentración de contaminante solubilizado frente a la concentración de surfactante, como se muestra en la Figura 3.1.

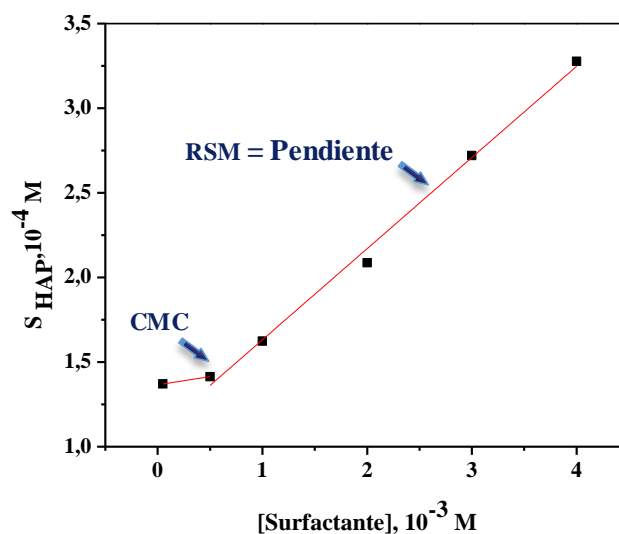
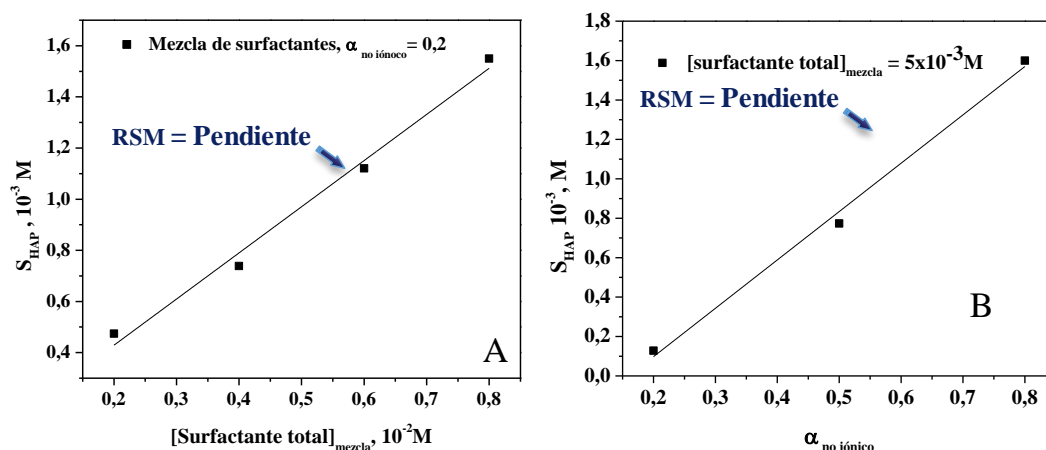


Figura 3.1 Solubilidad de un contaminante en soluciones acuosas de un surfactante

De manera similar a lo expresado para soluciones constituidas por un surfactante individual, se utiliza la relación de solubilización molar (RSM, ecuación 3.1), para cuantificar la eficacia de una mezcla de surfactantes para solubilizar un dado soluto. En el caso de mezclas de surfactantes, en la Ecuación 3.1 el término CMC hace referencia a la CMC de la mezcla y C_s es la concentración total de surfactante a la cual es evaluada la solubilidad del HAPs.

La RSM puede ser determinada para mezclas al igual que para los surfactantes individuales, a partir de un gráfico de solubilidad del HAP en función de la concentración de surfactante total por encima de la CMC de la mezcla. Sin embargo, el hecho de emplear una mezcla binaria de surfactantes para solubilizar un HAP plantea la posibilidad de evaluar su eficacia de diferentes maneras. Una de ellas consiste en analizar la eficacia de la mezcla manteniendo constante la proporción molar entre los surfactantes y variando la concentración total de surfactante. Otra manera consiste en mantener constante la concentración total de surfactante y variar la proporción molar entre los surfactantes. En las Figuras 3.2A y 3.2B se muestra la eficacia de una mezcla de surfactantes no iónico-aniónico para solubilizar un contaminante de las dos maneras mencionadas anteriormente.


Figura 3.2

Eficacia de la mezcla de surfactantes aniónico-no iónico para solubilizar un contaminante. (A) En la mezcla se mantuvo constante la fracción molar del surfactante no iónico ($\alpha_{no\ ionico} = 0,2$) y se varió la concentración de surfactante total. (B) En la mezcla se mantuvo constante la concentración de surfactante total y se varió la fracción molar de surfactante no iónico ($\alpha_{no\ ionico}$).

Cuanto mayor sea el valor RSM más eficiente será la mezcla para solubilizar un HAPs. De este modo se utiliza el parámetro RSM para comparar la eficacia de distintos surfactantes o mezclas de surfactantes para solubilizar un dado HAPs, o evaluar un único surfactante o mezcla sobre una variedad de HAPs.

3.1.2. Determinación de la afinidad de los HAPs por las micelas de surfactantes

La cantidad de HAP solubilizada por una solución micelar ($S_{HAP,t}$) es la solubilidad aparente total del HAP en las soluciones de surfactantes individuales o en una mezcla a una determinada concentración de surfactante total. Esta solubilidad aparente es igual a la cantidad de HAP presente en la fase acuosa ($S_{HAP,a}$) más la cantidad de HAP presente en la fase micelar ($S_{HAP,m}$) como se muestra en la ecuación 3.2.

$$S_{HAP,t} = S_{HAP,a} + S_{HAP,m} \quad \text{Ecuación 3. 2}$$

Ahora, si se divide la solubilidad total del HAP por la solubilidad en la fase acuosa se obtiene un valor que es igual al número de veces que la solubilidad es aumentada con respecto a la solubilidad en agua, este valor es llamado solubilidad relativa (S^*_{HAP}).

$$S^*_{HAP} = \frac{S_{HAP,t}}{S_{HAP,a}} \quad \text{Ecuación 3. 3}$$

A partir de un gráfico de S^*_{HAP} en función de la concentración de surfactante se puede determinar la RSM relativa (RSM*), la cual da una medida del factor de incremento en la solubilidad del HAP por un determinado surfactante. Esto permite realizar comparaciones respecto al efecto de los

surfactantes sobre la solubilidad de los diferentes HAPs, independientemente de su solubilidad en agua.

Una alternativa para describir la solubilización es en términos del coeficiente de partición micela-agua del hidrocarburo (K_m), dada por la ecuación 3.4.

$$K_m = \frac{X_m}{X_a} \quad \text{Ecuación 3. 4}$$

Donde K_m corresponde a la relación de la fracción molar del compuesto orgánico en la fase micelar, X_m y en la fase acuosa X_a . El valor de X_m en términos de RSM se puede escribir como se expresa en la ecuación 3.5

$$X_m = \frac{RSM}{(1+RSM)} \quad \text{Ecuación 3. 5}$$

y X_a está dada, como se muestra en la ecuación 3.6

$$X_a = S_{CMC} V_m \quad \text{Ecuación 3. 6}$$

siendo V_m el volumen molar del agua = 0,01807 L mol⁻¹ a 30°C.^{9,12} Con estas expresiones, K_m se puede expresar como

$$K_m = \frac{RSM}{(1+RSM)S_{CMC} V_m} = \frac{X_m}{X_a} \quad \text{Ecuación 3. 7}$$

El coeficiente de partición (K_m) de un HAP entre micelas y agua se puede determinar tanto en un surfactante individual como en una mezcla de surfactantes. El corazón no polar del interior de las micelas es el responsable de la solubilización. Cuanto más hidrofóbico es el hidrocarburo, mayor será su tendencia a asociarse con la micela, produciéndose un incremento en su solubilización. La diferencia en la capacidad de solubilización entre los surfactantes en general puede ser atribuida a su estructura molecular.

3.1.3. Efecto de la interacción de los surfactantes en la solubilización de HAPs

Para determinar el efecto de la interacción de los surfactantes en la solubilización de los HAPs se pueden comparar los resultados experimentales obtenidos en las mezclas con los calculados a partir de un modelo que pueda determinar de manera teórica la solubilidad de dichos compuestos en la solución que contenga ambos surfactantes de manera individual. Este modelo supone que en la mezcla no existe interacción entre ambos surfactantes, es decir, solo existen micelas puras de cada uno de ellos. A partir de la desviación de los datos de solubilización del HAP en la mezcla de surfactantes determinada experimentalmente con respecto a la solubilidad del HAP calculada usando el modelo teórico, se puede evaluar el efecto de mezclado de los surfactantes en la solubilización de los HAPs. Entonces, cuando la solubilidad experimental y teórica del HAP son iguales para una

determinada mezcla, no hay efecto de mezclado entre los surfactantes para la solubilización de dicho contaminante. Cuando la solubilidad experimental del HAP en la mezcla es diferente a la teórica, ya sea mayor o menor, hay efecto de mezclado entre ambos surfactantes. Si el efecto de mezclado aumenta la solubilidad del HAP en mayor medida que su solubilidad teórica, la mezcla muestra efecto sinérgico en la solubilización de dicho contaminante, en caso contrario la mezcla muestra efecto inhibitorio.^{15,17-20}

Cuando la mezcla de surfactantes se comporta con cada surfactante actuando independientemente, la cantidad de HAP solubilizada por una solución que contiene ambos surfactantes debería ser igual a la suma de las cantidades de HAP que puede solubilizar cada surfactante por separado ($S_{HAP,1}$ y $S_{HAP,2}$) más la cantidad de HAP que se solubiliza en fase acuosa ($S_{HAP,Ac}$). Esto se determina como se expresa en la ecuación 3.8.

$$S_{HAP}^t = S_{HAP,1} + S_{HAP,2} + S_{HAP,Ac} \quad \text{Ecuación 3.8}$$

Experimentalmente es posible determinar la solubilidad del HAP en una solución acuosa de los surfactantes 1 y 2 por separado por encima de la CMC, y esos valores responden a las expresiones de las ecuaciones 3.9 y 3.10.

$$S_{HAP,1}^{exp} = S_{HAP,1} + S_{HAP,Ac} \quad \text{Ecuación 3.9}$$

$$S_{HAP,2}^{exp} = S_{HAP,2} + S_{HAP,Ac} \quad \text{Ecuación 3.10}$$

Las $S_{HAP,1}^{exp}$ y $S_{HAP,2}^{exp}$ dependen linealmente de la concentración de surfactante presente en la solución, por lo cual la ecuación de solubilización del HAP en la solución de surfactante 1 ó 2 se puede formular como lo indican las ecuaciones 3.11 y 3.12

$$S_{HAP,1}^{exp} = RSM_1 [surfactante_1] + b_1 \quad \text{Ecuación 3.11}$$

$$S_{HAP,2}^{exp} = RSM_2 [surfactante_2] + b_2 \quad \text{Ecuación 3.12}$$

RSM_1 y RSM_2 corresponden a las relaciones de solubilización molar para cada surfactante por separado, b_1 y b_2 son las ordenadas al origen de las ecuaciones de solubilidad del HAP en una solución acuosa de los surfactantes 1 y 2 respectivamente y $[surfactante_1]$ y $[surfactante_2]$ corresponden a las concentraciones molares de los surfactantes presentes en dichas soluciones.

Consecuentemente, conociendo las ecuaciones de solubilidad del HAP en soluciones acuosas de los dos surfactantes se puede calcular la solubilidad teórica del HAP en la mezcla de dichos surfactantes y construir un gráfico de solubilidad teórica a partir del cual se puede determinar la RSM teórica de la mezcla (RSM_{HAP}^t).

Luego, para evaluar el efecto que provoca el mezclado de surfactantes en la solubilización de HAPs es necesario determinar la solubilidad experimental del HAP en dicha mezcla y compararla

con la solubilidad teórica. Para esto se puede utilizar el parámetro r ó R utilizando las ecuaciones 3.13 y 3.14 que se muestran a continuación.

$$r = \frac{S_{HAP}^{exp}}{S_{HAP}^t} \quad \text{Ecuación 3. 13}$$

$$R = \frac{RSM_{HAP}^{exp}}{RSM_{HAP}^t} \quad \text{Ecuación 3. 14}$$

Para determinar el parámetro r es necesario determinar experimentalmente la solubilidad del HAP (S_{HAP}^{exp}) en una solución donde se encuentren los dos surfactantes a una determinada concentración y dividir ese valor por la solubilidad teórica del HAP en dicha mezcla (S_{HAP}^t). Por otro lado, el cálculo del parámetro R se realiza determinando experimentalmente la eficacia (RSM_{HAP}^{exp}) de una mezcla de surfactantes para solubilizar el HAP y dividiendo ese valor por la eficacia teórica de dicha mezcla (RSM_{HAP}^t). Tanto r como R son válidos, pero el parámetro R describe de manera más completa el comportamiento de la mezcla.

Cuando el valor de R o r es diferente a 1 se dice que hay efecto de mezclado en la solubilización del HAP en la mezcla de surfactantes. Si el valor de R o r es mayor que 1, la mezcla de surfactantes produce efecto sinérgico en la solubilización del HAP, es decir, la solubilización que se logra por la mezcla es mayor que la obtenida de la suma de las solubilidades en las micelas de surfactante por separado; si el valor de R o r es menor que 1, la mezcla produce efecto inhibitorio. ⁸

3.2 *Objetivos*

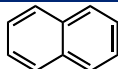
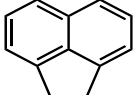
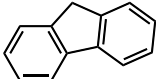
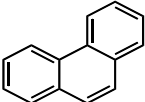
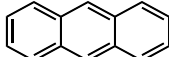
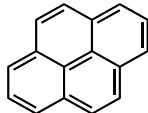
En base a los antecedentes existentes para la solubilización de contaminantes orgánicos por efecto de agentes tensioactivos, y dada su importancia para el medio ambiente, resulta de gran interés en esta parte analizar los posibles incrementos en la solubilidad en agua de HAPs por efecto de surfactantes individuales tipo aniónico, gémini aniónico y no iónico, teniendo estos resultados como base para el posterior análisis de las mezclas de surfactantes.

El segundo objetivo planteado fue estudiar los sistemas mixtos de surfactantes en busca de efecto sinérgico para la solubilización de los HAPs. Para ello se analizaron los posibles incrementos en la solubilización en agua de algunos HAPs por efecto de las mezclas de surfactantes de tipo aniónico-no iónico, incluyendo un surfactante gémini dentro de los aniónicos utilizados.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Sistemas en estudio

Los HAPs que se evaluaron fueron Naftaleno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, y Pireno, estos son contaminantes orgánicos con diferente cantidad de anillos en su estructura y por ende diferente peso molecular, salvo antraceno y fenantreno que son isómeros. (Tabla 3.1).

Tabla 3.1		Estructuras de los distintos contaminantes empleados en el estudio.		
HAP	Estructura	Peso molecular (g/mol)	Solubilidad en agua, 10 ⁻⁴ M	
Naftaleno		128,2	2,500	
Acenafteno		154,2	0,240	
Fluoreno		166,2	0,114	
Fenantreno		178,2	0,066	
Antraceno		178,2	0,003	
Pireno		202,3	0,007	

Se utilizaron cuatro tipos de surfactantes, entre ellos, dos de tipo no iónico y dos de tipo aniónico (Tabla 3.2).

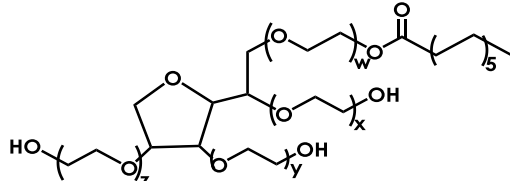
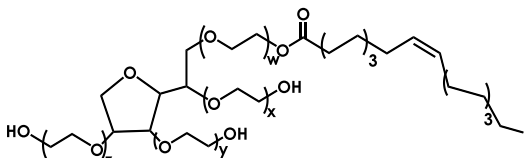
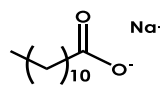
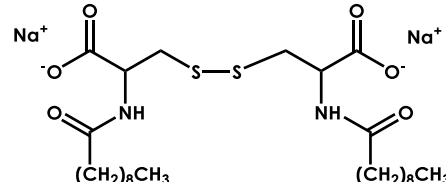
Los surfactantes no iónicos estudiados fueron:

Monooleato de polioxietilensorbitano (20): conocido comercialmente como T80 y el Monolaurato de polioxietilensorbitano (20): conocido comercialmente como Tween 20 (T20). Este último es un surfactante cuya estabilidad y relativa ausencia de toxicidad permiten que sea usado como detergente y emulsionante en numerosas aplicaciones domésticas, científicas, alimentarias, industriales y farmacológicas. Es un aditivo alimentario aprobado por la Unión Europea, para uso en alimentos e identificado como E 432.²¹

Los surfactantes aniónicos estudiados fueron:

Laurato de sodio (LS), el cual es la sal sódica de un ácido graso que se considera inocuo ya que se encuentra presente en grasas y aceites comestibles. Además, los ácidos grasos de cadena par C8 a C18 pueden ser metabolizados en el cuerpo humano para producir energía.²² y por otro lado se

trabajó con el surfactante gémuni ya descrito en el capítulo 2, el llamado Didecamido cistina de sodio (SDDC).

Surfactante	Estructura
Tween 20, T20	 $w + x + y + z = 20$
Tween 80, T80	 $w + x + y + z = 20$
Laurato de sodio, LS	 Na^+
Didecamido cistina de sodio, SDDC	 $(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$

Luego de analizar el efecto de los mencionados surfactantes individuales sobre la solubilización de los diferentes contaminantes se procedió a estudiar el efecto de las mezclas de los mismos surfactantes.

Los sistemas mixtos de surfactantes fueron:

T80 – LS, este sistema ya fue caracterizado por el grupo de investigación,²³ y lo que se hizo fue ampliar el estudio con nuevos HAPs.

T20 – LS, es un sistema novedoso, no se han encontrado antecedentes acerca de estudios con esta mezcla, y se planteó para efectuar comparaciones, evaluando el efecto que produce el cambio en el largo de la cadena hidrofóbica del surfactante no iónico en la mezcla.

T80 – SDDC, caracterizada en el capítulo 2.

3.3.2 Solubilización de HAPs en surfactantes individuales

Se determinó la eficacia de los surfactantes no iónicos T80 y T20, y los aniónicos LS y SDDC para solubilizar HAPs en medio acuoso. La relación de solubilización molar se calculó a partir de la pendiente de un gráfico de solubilidad del sustrato en función de la concentración de surfactante

(ecuación 3.1). La solubilización del contaminante en solución de surfactante se determinó como se describe en la sección experimental (8.3.6).

En la Tabla 3.3. se muestran algunas de las propiedades fisicoquímicas de los surfactantes utilizados.

Tabla 3.3 Propiedades fisicoquímicas de los surfactantes utilizados.					
Surfactante	Peso molecular (g/mol)	CMC (mM)	$V_N, \text{Å}^3$ ^c	$V_{NT}, 10^{24} \text{Å}^3$ ^d	Tipo de carga
T20	1227,7	0,12 ^a	10374	3,55	No iónico
T80	1310,0	0,04 ³³	20143	5,50	No iónico
LS	222,3	16,0 ³³	27415	0,77 ^d	Aniónico
SDDC	592,3	0,35 ^b	6171	3,18	Gémini aniónico

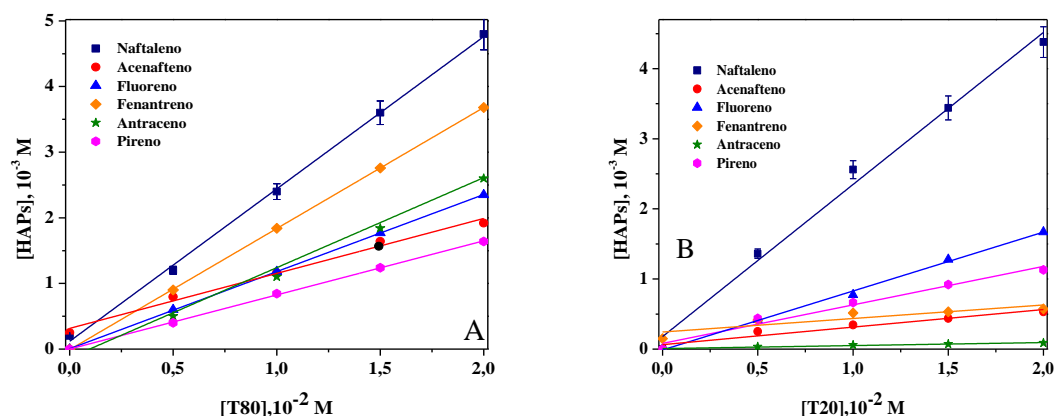
^a Concentración micelar crítica, buffer pH 9,16 a 25°C. ^b Concentración micelar crítica, buffer borato de sodio pH 9,16, 30,0 °C ^c Volumen del núcleo micelar calculado utilizando la ecuación 3.15. ^d Es el volumen total que ocupan los núcleos de las micelas cuando la concentración de surfactante es 2×10^{-2} M y se calculó utilizando la ecuación 3.16

El interior de la micela de los surfactantes actúa como una pseudo-fase hidrofóbica. La incorporación de diferentes compuestos hidrófobos a la misma se lleva a cabo de acuerdo a su carácter polar/no polar. Este fenómeno se llama solubilización micelar. Es conocido que en la mayoría de los casos la solubilidad acuosa de los HAPs aumenta al estar en presencia de micelas o de micelas mixtas.²³

3.3.2.1. Efecto de los surfactantes no iónicos en la solubilización de HAPs

Los surfactantes no iónicos se han utilizado ampliamente en la remediación de suelos y medios acuosos contaminados con HAPs.^{5,24,25} La capacidad de solubilización de los surfactantes no iónicos hacia los HAPs se muestra en la Figura 3.3, donde se observan los gráficos de solubilidad de naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, y pireno en función de la concentración de los surfactantes no iónicos estudiados.

En todos los casos la solubilidad aumenta de manera lineal con la concentración de surfactante no iónico a concentraciones superiores a la CMC. Es conocido que el aumento en la solubilidad de los HAPs en soluciones micelares de surfactantes no iónicos se da principalmente por la partición de los HAPs en las micelas. El volumen del núcleo micelar es importante y puede ser determinante en la eficacia de los surfactantes no iónicos para solubilizar este tipo de contaminantes. Se supone que el efecto de los monómeros de los tensioactivos es insignificante.


Figura 3.3.

Solubilización de naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, y pireno en soluciones acuosas de los surfactantes no iónicos (A) T80 (B) T20. Temperatura 25,0°C. Buffer pH 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M). Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

En la Tabla 3.4 se presentan los valores de RSM obtenidos a partir de los gráficos de la Figura 3.3, y la solubilidad que presenta cada contaminante en fase acuosa (buffer). Cada error se corresponde con la desviación estándar asociada a la pendiente obtenida por el método de cuadrados mínimos.

Tabla 3.4 Valores de RSM en soluciones acuosas (buffer) de surfactantes no iónicos ^a.

HAP	S buffer, 10 ⁻⁵ M ^b	HAPs	
		T80	T20
Naftaleno	17,8 ^c	0,24 ± 0,02 ²³	0,20 ± 0,01
Acenafteno	2,4	0,077 ± 0,005	0,019 ± 0,001
Fluoreno	0,94	0,114 ± 0,003	0,085 ± 0,004
Fenantreno	0,46 ^c	0,184 ± 0,003 ²³	0,100 ± 0,003
Antraceno	0,26	0,010 ± 0,007	0,003 ± 0,001
Pireno	0,14 ^c	0,080 ± 0,003 ²³	0,047 ± 0,001

^a. Buffer borato de sodio pH 9,16, 25,0°C

^b. Solubilidad del HAP en buffer borato de sodio pH 9,16 a 25,0 °C

^c. Datos determinados previamente en el grupo de investigación.²³

Lo primero que hay que decir, es que la solubilidad de los contaminantes en buffer sin surfactante en general disminuyó a medida que aumentó el peso molecular.

La solubilidad acuosa de los HAPs aumentó linealmente con la concentración del surfactante debido a la incorporación de los HAP en el interior micelar.

A partir de la Tabla se infiere que T80 es más eficiente que T20 para solubilizar los HAPs, lo cual concuerda con reportes previos donde se observan resultados semejantes.⁴ El T80 posee la cadena más larga, lo cual hace que la región hidrofóbica de las micelas sea más grande, y por lo tanto, sea más efectivo al momento de incluir un compuesto en la micela. Además presenta un valor menor de CMC (Tabla 3.3). La tendencia de solubilización que siguen los compuestos es la misma

en ambos surfactantes siendo el orden creciente de solubilización el siguiente: Antraceno < Acenafteno < Pireno < Fluoreno < Fenantreno < Naftaleno.

Los valores de eficacia (RSM) del T80 para la solubilización de HAPs, son coincidentes con valores encontrados en la literatura. Para naftaleno, Mohamed y Mahfoodh reportaron un valor de 0,192,²⁶ en tanto para fenantreno, fluoreno y pireno se han informado valores de 0,19, 0,13 y 0,086 respectivamente.²⁷ Con respecto al T20, las RSM reportadas son 0,14, 0,095, y 0,067²⁷ para fenantreno, fluoreno y pireno respectivamente, los valores de RSM obtenidos en este trabajo son similares a los descriptos en la literatura.

El efecto hidrofóbico se manifiesta en una variedad de situaciones que implican compuestos anfifílicos, tales como el autoensamblaje en micelas y monocapas en superficies hidrófobas. La fuerza motriz es la interacción de hidrocarburos, o restos de hidrocarburos con agua, forzando de este modo el resto hidrocarbonado a un medio ambiente libre de agua. Este efecto, es también relevante en la comprensión de las propiedades de las micelas.^{28,29}

Para analizar este efecto es necesario calcular el volumen de la cadena lipofílica dentro del núcleo hidrocarbonado (V_N , Å³), para lo cual es preciso conocer el número de agregación N_A y el tipo de molécula, ya que los volúmenes varían para cada tipo de surfactante. Se hace la suposición de que las micelas de dichos surfactantes son esféricas, y teniendo en cuenta esto se puede calcular el volumen del núcleo de las micelas con la ecuación 3.15.²⁹

$$V_N = N_A(27,4 + 26,9(N_c - 1)) \quad \text{Ecuación 3. 15}$$

Donde N_A es el número de agregación, 27,4 y 26,9 corresponden a una constante para surfactantes individuales²⁹ y N_c es el número total de átomos de carbono de la cadena hidrocarbonada del surfactante. Para determinar este volumen, se usaron los valores de N_A de 35 y 44 para T20 y T80 respectivamente. El valor de T20 fue tomado de la literatura,²¹ mientras que el valor de T80 fue determinado en este trabajo como se describe en el capítulo 2. A partir de este cálculo se obtuvieron los valores de V_N de 10374 Å³ y 20143 Å³ para T20 y T80 respectivamente (Tabla 3.3). Asimismo, se pudo determinar el volumen total que ocupan los núcleos de las micelas en dicha solución (V_{NT}), relacionado a la cantidad de micelas presentes en una solución cuando en la misma se encuentra presente una determinada cantidad de surfactante.

El volumen total que ocupan los núcleos de las micelas en dicha solución (V_{NT}), se puede calcular utilizando la ecuación 3.16²⁸

$$V_{NT} = \left[\frac{(C_S - CMC)}{N_A} \right] n_a V_N \quad \text{Ecuación 3. 16}$$

Donde C_S corresponde a la concentración de surfactante en la solución, CMC es la concentración micelar crítica, N_A es el número de agregación del surfactante, n_a es el número de Avogadro

($6,022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), y V_N es el volumen del núcleo de la micela que fuera calculado con la ecuación 3.15. Cuando la concentración de surfactante es $2 \times 10^{-2} \text{ M}$ el volumen total que ocupan los núcleos de las micelas (V_{NT}) es $3,55 \times 10^{24} \text{ \AA}^3$ y $5,50 \times 10^{24} \text{ \AA}^3$ para T20 y T80, respectivamente (Tabla 3.3).

El surfactante no iónico T80, presentó un mayor número total de átomos de carbono en la cadena hidrocarbonada, mayor V_{NT} de fase micelar y resultó ser el más eficiente para la solubilización de HAPs.

3.3.2.2. Efecto de los surfactantes aniónicos en la solubilización de HAPs

Los surfactantes aniónicos, son llamados así debido a que la carga eléctrica presente en el grupo hidrofílico es negativa. En general, en una comparación general de surfactantes, los surfactantes no iónicos son mejores agentes solubilizantes que los aniónicos debido a su menor CMC. Sin embargo, los surfactantes aniónicos debido a la repulsión de carga en las superficies de los suelos y sedimentos también aniónicas, son potencialmente más resistentes a la adsorción en suelos arenosos y arcillosos que los surfactantes no iónicos. Este hecho hace interesante el estudio de los surfactantes aniónicos sobre la solubilización de HAPs, y así mismo contribuye al conocimiento de este tema ya que hay un número limitado de investigaciones que han informado sobre la solubilización de los HAP por parte de este tipo de surfactantes.²⁶

3.3.2.2.1. Efecto del surfactante aniónico LS en la solubilización de HAPs

Se determinó la capacidad de solubilización del surfactante aniónico, LS para solubilizar naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, y pireno. La solubilidad de los mismos aumenta de manera lineal a medida que aumenta la concentración del surfactante debido a la partición de los compuestos en las micelas de manera semejante a lo observado con los surfactantes no iónicos (Figura 3.4).

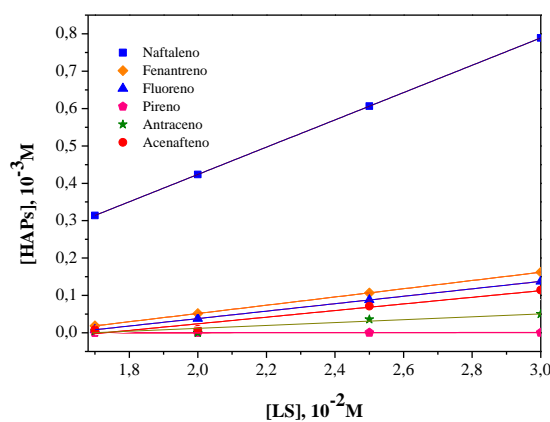


Figura 3.4. Solubilización de naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, y pireno en soluciones acuosas de surfactante aniónico, LS a 25,0°C. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M) Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Los valores de RSM obtenidos para la solubilización de los HAPs por efecto del LS se muestran en la Tabla 3.5. Cada error corresponde a la desviación estándar asociada a la pendiente obtenida por el método de cuadrados mínimos. De esta tabla se infiere que el incremento en la solubilidad aparente de los HAPs sigue la tendencia: antraceno < pireno < acenafteno ≈ fluoreno ≈ fenantreno < naftaleno. Los compuestos con tres anillos fusionados, a excepción de antraceno, presentaron solubilidades aparentes similares en LS. Antraceno en cambio, resultó el compuesto menos afectado por el surfactante. La eficacia del surfactante para solubilizar HAPs está relacionada con distintos sitios de solubilización de los analitos en los distintos tipos de micelas, para este caso se podría inferir que los contaminantes están situados en el centro de la micela. Se puede pensar que la carga que presenta la región hidrofílica de las micelas del surfactante aniónico, tiene un papel crucial a la hora de establecer la región en donde se solubilizará preferentemente el HAP, teniendo en cuenta el efecto de repulsión que se origina por los electrones π (π) del mismo (dicho efecto se revierte cuando se emplean surfactantes catiónicos).²⁷ En relación a esto, el volumen total que ocupan los núcleos de las micelas (V_{NT}) en donde va a ser efectiva la solubilización del HAP en un surfactante aniónico es menor en comparación con el de los surfactantes no iónicos, y por ende la solubilización comparada con la obtenida en presencia de un surfactante no iónico, debería ser menor, tal como expresan los resultados.

Tabla 3.5		Valores de RSM en soluciones acuosas (buffer) de los surfactantes aniónicos estudiados LS y SDDC	
HAPs	S buffer, 10^{-5} [M]	RSM	
		LS ^a	SDDC ^b
Naftaleno	17,8 ^a	$0,017 \pm 0,002^{23}$	$0,054 \pm 0,0021$
Acenafteno	2,4	$0,009 \pm 0,001$	
Fluoreno	0,94	$0,0100 \pm 0,0006$	
Fenantreno	0,46 ^a	$0,0110 \pm 0,0004^{23}$	$0,009 \pm 0,0001$
Antraceno	0,256	$0,0004 \pm 0,0001$	
Pireno	0,14 ^a	$0,0038 \pm 0,0003^{23}$	$0,004 \pm 0,00001$

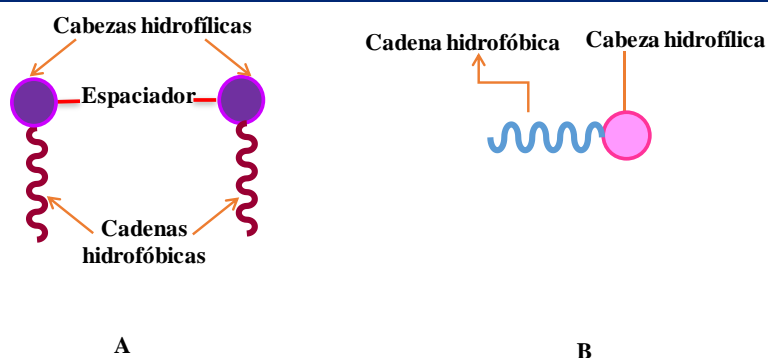
^a Estudios realizados en buffer borato de sodio pH 9,16, 25 °C, ^b estudios realizados en buffer pH 9,16 a 30 °C.

3.3.2.2.2. Efecto del surfactante aniónico gémini en la solubilización de HAPs

Se han realizado numerosos estudios sobre la solubilización de HAP por efecto de surfactantes, pero la mayoría de los mismos se han centrado en la utilización de surfactantes convencionales que contienen un monómero único con una sola cola hidrofóbica y un único grupo cabeza hidrofílico o polar (Esquema 3.1.B). Recientemente se introdujeron nuevos tipos de surfactantes tales como los surfactantes gémini. Estos comprenden más de un grupo hidrofílico e hidrofóbico (aniónicos, catiónicos, no iónicos, zwitteriónicos), que están unidos por un espaciador (Esquema 3.1.A).

En este estudio se utilizó el surfactante gémini SDDC como otro surfactante aniónico que podría resultar eficiente para solubilizar HAPs en soluciones acuosas debido a su menor CMC. Dado que este surfactante se sintetizó en el laboratorio, y no se disponía de grandes cantidades del mismo, se

estudió sólo la solubilización de algunos de los HAPs, tomando como referencia un hidrocarburo de dos, tres y cuatro anillos.



Esquema 3.1 Representación esquemática de los monómeros de surfactantes (A) surfactante gémmini (B) surfactante convencional.

En la Figura 3.5, se muestran gráficos de solubilidad de naftaleno, fenantreno y pireno en solución acuosa de surfactante gémmini, el dato de la [SDDC]=0 corresponde a la solubilidad en buffer a 30 °C.

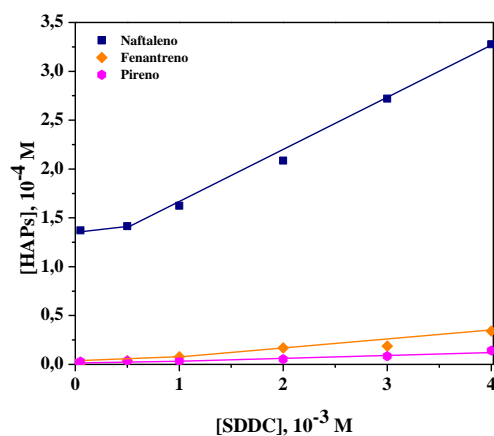


Figura 3.5. Solubilidad de naftaleno, fenantreno, y pireno en solución acuosa del surfactante gémmini aniónico SDDC. Buffer pH 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M) a 30,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones

En presencia de SDDC se observó una intensificación de la solubilidad aparente de naftaleno, fenantreno, y pireno. La misma se cuantificó determinando las RSM correspondientes de cada contaminante en este surfactante (Tabla 3.5). Como en los otros casos estudiados, se observó que las solubilidades aparentes de los HAP mejoraron en gran medida con respecto al agua con la aplicación del surfactante.

Wei y colaboradores³⁰ también observaron un incremento en la solubilización de naftaleno, fenantreno, y acenafteno por efecto de un surfactante gémmini catiónico a concentraciones por encima de la CMC. De nuevo, esto indica que la solubilización está relacionada con la micelización.¹²

La comparación de estos valores con los obtenidos con LS indica que el SDDC resulta más eficiente para solubilizar naftaleno que LS, en tanto que con fenantreno y pireno se observa una ligera disminución, aunque las diferencias encontradas son muy pequeñas. Particularmente para pireno, la diferencia en el comportamiento observado entre ambos surfactantes es prácticamente despreciable.

La mayor solubilización de naftaleno por parte del SDDC, en comparación con LS, puede atribuirse a la presencia de dos cabezas con carga negativa, que tienen repulsión generalizada con los electrones π (pi) del naftaleno, lo que llevaría a que el HAP se ubique más profundamente en el corazón de las micelas.

3.3.2.3. Comparación del efecto de los diferentes sistemas individuales sobre la solubilización de los HAPs

En la Tabla 3.6 se presenta una comparación de la eficacia de los surfactantes utilizados (RSM) para solubilizar naftaleno, fenantreno y pireno. En todos los casos la solubilización sigue la tendencia naftaleno > fenantreno > pireno. Estos resultados pueden observarse también en la Figura 3.6. El T80 es el más eficiente de los surfactantes para solubilizar HAPs, mientras que el surfactante monoaniónico (LS) presenta la menor capacidad de solubilización de naftaleno, en tanto T20 y SDDC presentan una eficiencia intermedia entre los primeros dos surfactantes. La mayor solubilización se observó para naftaleno, en todos los surfactantes, aunque hay que mencionar que éste es también el contaminante más soluble en buffer. El surfactante gémuni resultó ligeramente más eficiente para aumentar la solubilización de naftaleno en comparación con el otro surfactante aniónico utilizado pero se debe mencionar que estos estudios se realizaron a 30 °C. A pesar de la presencia de las dos colas hidrocarbonadas en el gémuni, los surfactantes no iónicos resultaron ser más efectivos, probablemente debido a sus menores CMCs.

Tabla 3.6. Valores de RSM en soluciones acuosas (buffer) de los surfactantes no iónicos T20, T80 y aniónicos LS, SDDC ^a

HAPs	RSM			
	T80 ²³	T20	LS ²³	SDDC ^b
Naftaleno	0,24 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,017 ± 0,002	0,0539 ± 0,0021
Fenantreno	0,184 ± 0,003	0,10 ± 0,003	0,0110 ± 0,0004	0,0087 ± 0,0001
Pireno	0,080 ± 0,003	0,047 ± 0,001	0,0038 ± 0,0003	0,00356 ± 0,00001

^a Buffer borato de sodio pH 9,16, 25 °C ^b 30 °C

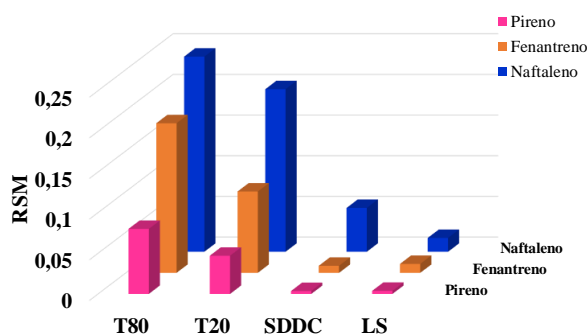


Figura 3.6. Valores de RSM de los surfactantes no iónicos y aniónicos utilizados para solubilizar naftaleno, fenantreno, y pireno en solución acuosa. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M)

Se determinó el valor de solubilidad relativa (S_{HAP}^*) de los HAPs naftaleno, fenantreno, y pireno obtenida en soluciones micelares de los surfactantes no iónicos, monoaniónico y gémuni (Ecuación 3.3). Estos valores indicarían el número de veces en que la solubilidad del hidrocarburo es aumentada por el surfactante, respecto a la solubilidad en agua. Los resultados se muestran en la Figura 3.7.

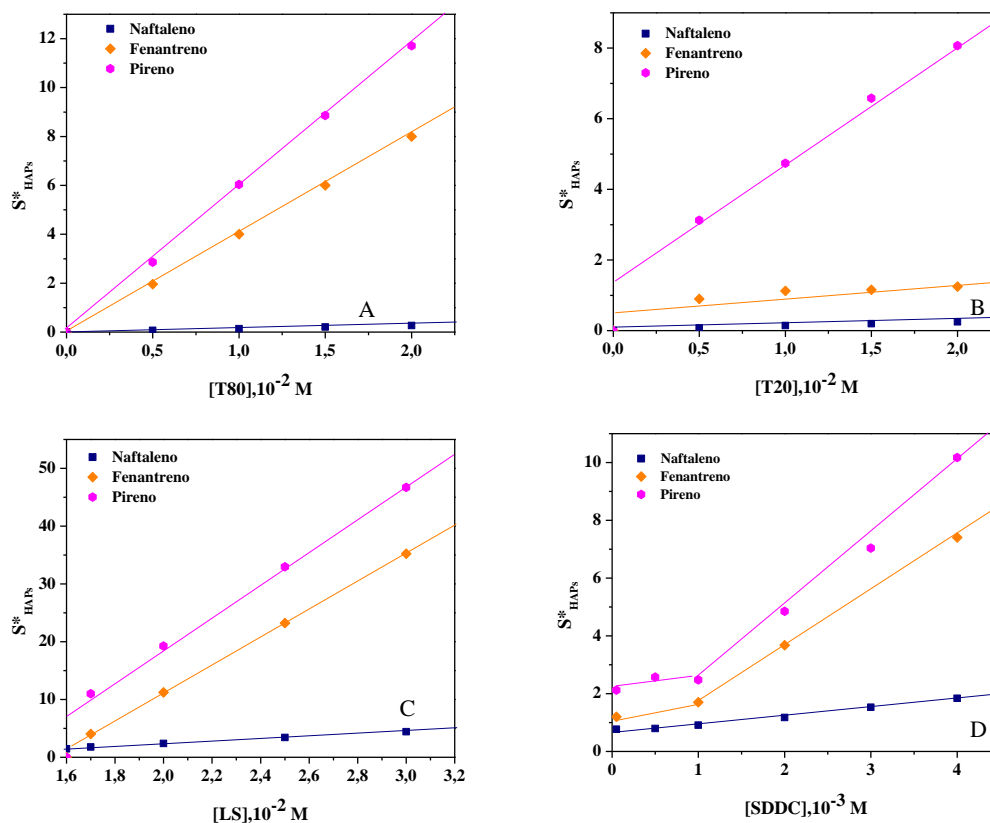


Figura 3.7. Solubilidad relativa de naftaleno, fenantreno, y pireno en solución acuosa de surfactantes (A) T80 a 25,0°C (B) T20 a 25,0°C (C) LS a 25,0°C (D) SDDC a 30,0°C.

A partir de estos gráficos, se obtuvo el valor de RSM*, el cual muestra el factor de aumento de la solubilidad en presencia del surfactante con respecto a la solubilidad en agua. La RSM* sigue la tendencia opuesta a la RSM, en este caso, la tendencia es pireno > fenantreno > naftaleno, la cual es mostrada en la Tabla 3.7 y en la Figura 3.8 para todos los surfactantes estudiados.

HAPs	Valores de RSM* en soluciones acuosas (buffer) de los surfactantes no iónicos T20, T80 y aniónicos LS, SDDC. ^a			
	RSM*, 10 ³			
	T80 ²³	T20	LS ²³	SDDC ^b
Naftaleno	1,3 ± 0,1	1,12 ± 0,05	0,205 ± 0,009	0,30 ± 0,01
Fenantreno	40,0 ± 0,7	2,2 ± 0,6	2,40 ± 0,08	1,9 ± 0,2
Pireno	57 ± 2	33,3 ± 0,9	2,7 ± 0,2	2,50 ± 0,01

^a Buffer borato de sodio pH 9,16, 25 °C, ^b 30 °C

Se observó en todos los casos que a medida que aumenta el peso molecular y disminuye la solubilidad en la fase acuosa (Tabla 3.4), incrementa la afinidad de los HAPs por las micelas.¹ Sin embargo, los HAPs muestran mayor afinidad por las micelas del surfactante no iónico T80, a pesar de que el surfactante gémuni tiene dos cadenas hidrofóbicas, aunque más cortas que la del T80. Además, como ya se mencionó, el surfactante gémuni presenta mayor CMC.

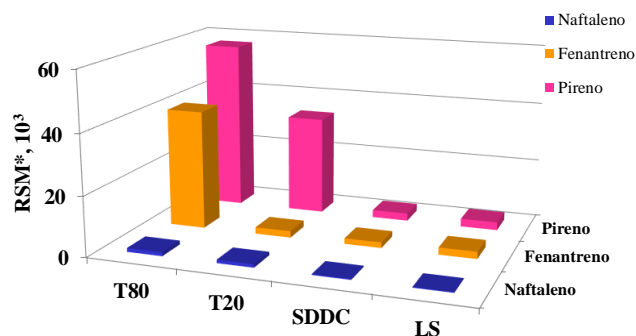


Figura 3.8. Valores de RSM* de los surfactantes no iónicos y aniónicos utilizados para solubilizar naftaleno, fenantreno, y pireno en solución acuosa.

Por otra parte, considerando que el aumento de la solubilidad de los HAPs en soluciones de surfactantes se da principalmente por la partición del contaminante en el núcleo de las micelas, es de esperar que la eficacia de los surfactantes para solubilizar los HAPs dependa fuertemente del tamaño de los polutantes.

Se puede analizar la capacidad de los distintos surfactantes para solubilizar HAPs de diferente tamaño molecular, observando la Figura 3.9, en donde se grafican los RSM* en función del volumen molecular de los HAPs para cada surfactante. Los valores de volumen molecular para los distintos HAPs, fueron tomados de la literatura y son 126,9 Å³, 169,5 Å³, y 186 Å³ para naftaleno, fenantreno, y pireno, respectivamente.^{31,32} Con T80, LS y SDDC se observan buenas correlaciones lineales desde naftaleno hasta pireno. Con T20, en cambio no se observa una buena correlación siendo el valor

obtenido para fenantreno demasiado bajo. De esta manera se deduce que no necesariamente hay una dependencia directa entre el aumento en el volumen molecular de los HAPs y la capacidad de solubilización relativa por parte de las micelas de los surfactantes, aunque, sí existe una tendencia general, donde se observa que cuanto mayor sea el volumen molecular del contaminante, mayor será la eficiencia relativa del surfactante para solubilizarlo.

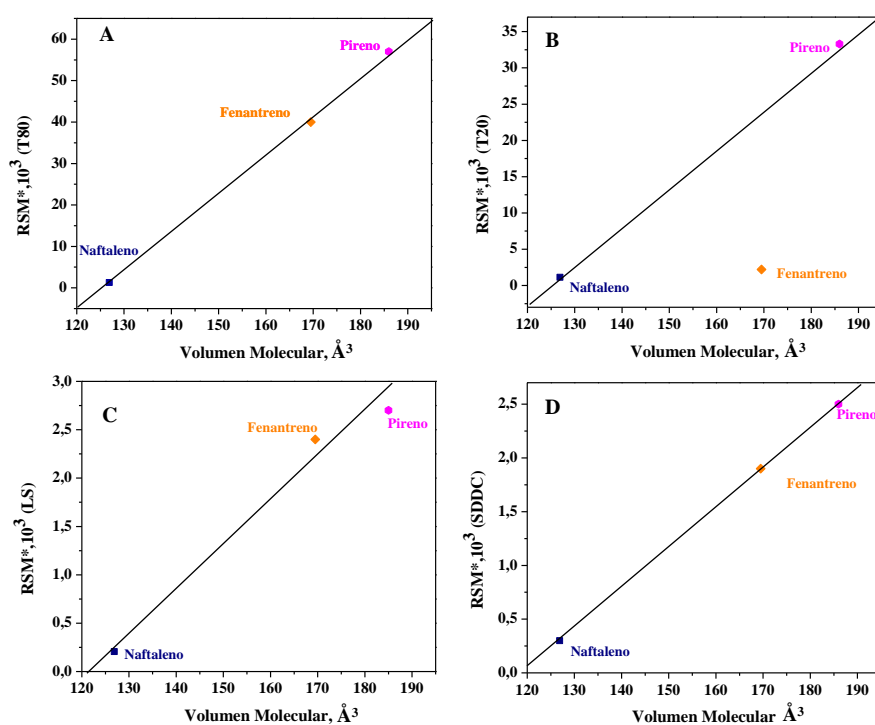


Figura 3.9. Relación entre la eficacia relativa del surfactante (RSM^*) con el tamaño (volumen molecular) de los HAPs (A) T80, (B) T20, (C) LS, (D) SDDC para solubilizar HAPs.

Otra forma de determinar la efectividad de los surfactantes en la solubilización de los HAPs es expresándola en términos del coeficiente de partición micela-agua (K_m), el cual representa el reparto de compuestos orgánicos entre pseudofases no polares y polares, y puede ser calculado mediante la ecuación 3.7. Los valores de K_m calculados para naftaleno, fenantreno y pireno en las soluciones de surfactantes estudiadas se muestran en la Tabla 3.8, expresados como logaritmos. Allí también se incluyen los coeficientes de partición octanol- agua ($K_{o/w}$) para cada hidrocarburo. Este último parámetro ($\log K_{o/w}$) es la constante de partición del HAP entre octanol y la fase acuosa, y se recurre a éste como una medida del carácter hidrofóbico de las moléculas orgánicas.^{16,33}

HAPs	Valores de constantes de afinidad micelar de los hidrocarburos en sistemas micelares				$\log K_{o/w}$ ³⁴
	$\log K_m$				
	T80 ²³	T20	LS ²³	SDDC	
Naftaleno	4,77	3,8	3,74	4,22	3,36
Fenantreno	6,27	5,08	5,12	5,01	4,57
Pireno	6,47	6,25	5,17	5,15	5,18

En general, a medida que aumenta la hidrofobicidad de los analitos, hay más afinidad de los mismos por las micelas de manera casi lineal, es decir, la partición de un compuesto solubilizado dado en la fase micelar aumenta a medida que aumenta el valor de $K_{o/w}$, como ocurre en este caso. Cuanto más hidrofóbico sea el compuesto, mayor será su tendencia a particionar en una fase de polaridad similar y puede producirse un incremento en su solubilidad. Este es el comportamiento habitualmente encontrado en la interacción de compuestos hidrofóbicos con surfactantes. Los valores obtenidos de K_m para los surfactantes estudiados y $K_{o/w}$ en general presentan dependencia lineal cuando se correlacionan varios HAP.³⁵ La correlación de los valores de $\text{Log } K_m$ para la asociación de los diferentes hidrocarburos estudiados con los surfactantes empleados en este trabajo, y los correspondientes valores de $\text{Log } K_{o/w}$ se muestra en la Figura 3.10. En todos los casos se observa una tendencia lineal que comienza con el naftaleno hasta llegar al pireno, similar a lo previamente reportado en otros surfactantes.^{23,36}

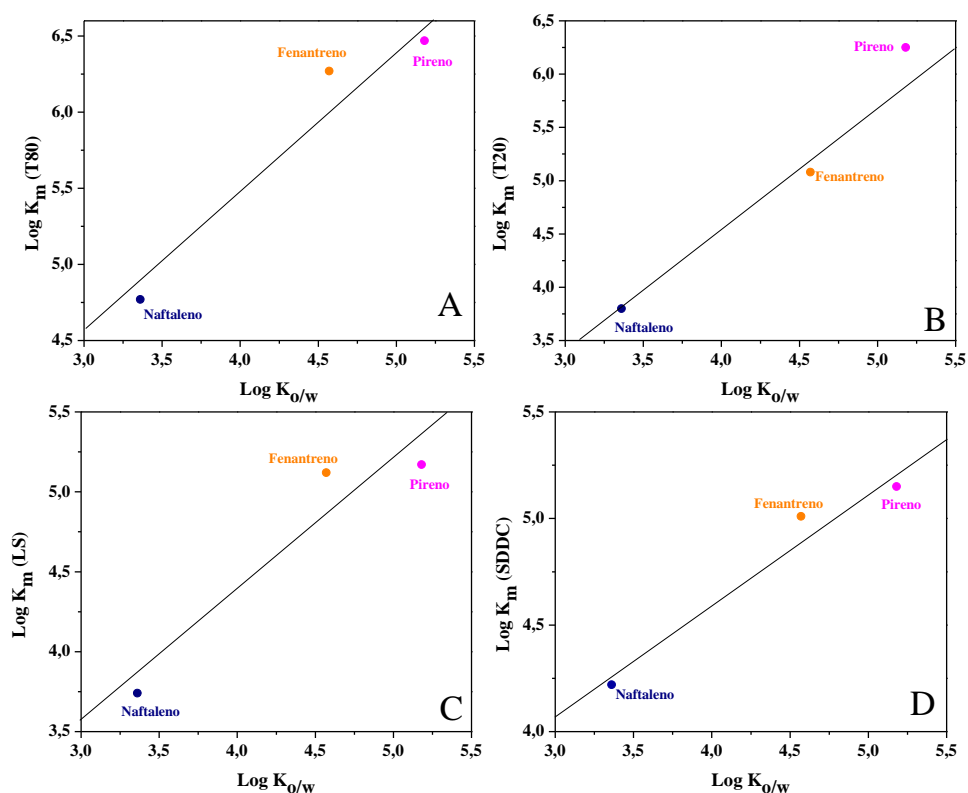


Figura 3.10. Relación entre la afinidad de los hidrocarburos por las micelas de (A) T80, (B) T20, (C) LS, (D) SDDC, y su hidrofobicidad ($\text{Log } K_{o/w}$)

Los valores de K_m para T80 son superiores a los valores correspondientes a los otros surfactantes, indicando una mayor asociación de los hidrocarburos con el surfactante no iónico de mayor largo de cadena. Esto también es comprobado por el hecho que los valores de RSM obtenidos para T80 fueron mayores que para los demás surfactantes. En general, se ha informado que el orden de capacidad

solubilizante para los solutos orgánicos por micelas es surfactantes no iónicos > catiónicos > aniónicos que tienen la misma longitud de cadena no polar.¹² Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los datos de bibliografía.

Es importante obtener información sobre la partición de los compuestos orgánicos en sistemas micelares simples, tal como los valores de K_m , como herramienta útil para poder predecir la partición de estos compuestos en sistemas de surfactantes mixtos.

3.3.2.4. Efecto de la carga del surfactante para solubilizar HAPs

La eficacia de los surfactantes no iónicos (T80, T20), y aniónicos (LS) y gémmini (SDDC) para solubilizar los HAPs naftaleno, fenantreno y pireno, se muestra en las Figuras 3.3, 3.4 y 3.5. Como ya se mencionó la efectividad del T80 para solubilizar los HAPs, es aproximadamente un orden de magnitud superior a la del surfactante aniónico LS. T20 fue un poco menos eficiente que T80, en tanto que el gémmini SDDC, resultó un poco más eficiente en comparación con el otro surfactante aniónico utilizado. A pesar de la presencia de las dos colas hidrocarbonadas en el gémmini, ambos surfactantes no iónicos resultaron ser más efectivos que los no iónicos. Esto concuerda con numerosos estudios que indican que los surfactantes no iónicos son mejores que los aniónicos para solubilizar HAPs en agua.^{12,26}

La eficacia de los surfactantes no iónicos para solubilizar HAPs es proporcional al V_{NT} . En la Tabla 3.3 se observa que el V_{NT} de T80 es mayor que el de T20 y también es más eficiente. Aunque, la eficacia de los surfactantes aniónicos es bastante menor a la que se esperaría teniendo en cuenta los valores V_{NT} de la fase micelar (calculados mediante la ecuación 3.16, Tabla 3.3). Para cada cálculo de V_{NT} se utilizaron como números de agregación N_A , 85³⁷ y 23 para LS y SDDC respectivamente. En la Figura 3.11 se muestran los gráficos de V_{NT} calculados para cada HAPs en función de la eficacia de cada surfactante (RSM) a una concentración de surfactante de 2×10^{-2} M.

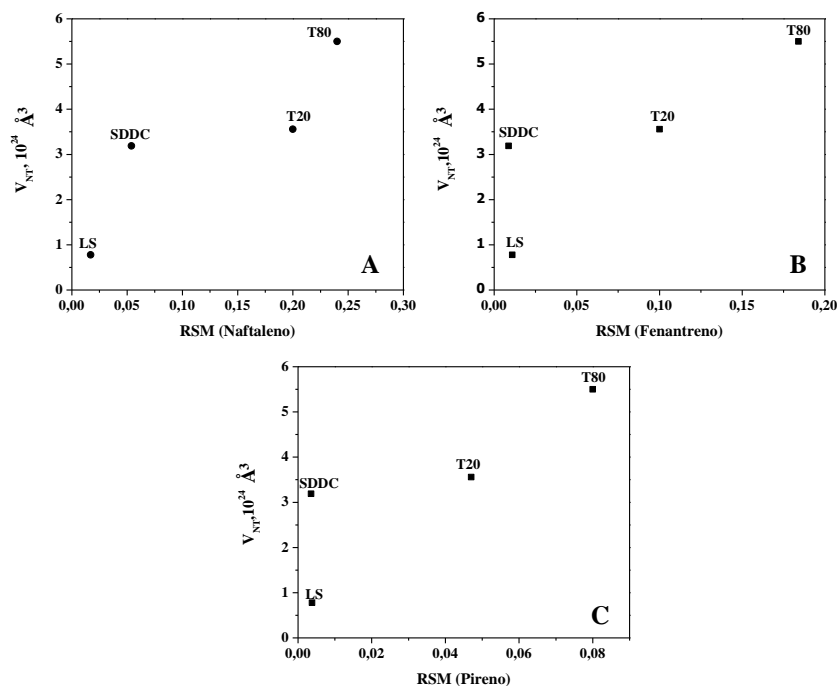
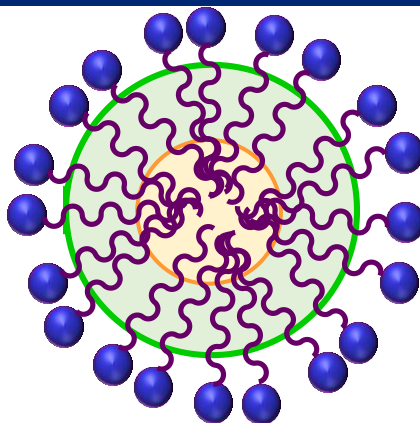


Figura 3.11. Relación entre el V_{NT} en una solución de surfactante de concentración 2×10^{-2} M y RSM para (A) Naftaleno, (B) Fenantreno, y (C) Pireno.

La disposición estructural y la polaridad determinan los sitios de localización de los HAP en los sistemas micelares. Una ligera polaridad de los hidrocarburos aromáticos permite que estos compuestos se ubiquen tanto en la capa exterior como también en el núcleo hidrofóbico de las micelas de surfactante. La superficie de las micelas, el espacio entre los grupos cabeza hidrofílicos, es decir, la capa de empalizada y el núcleo interno de las micelas podrían ser los posibles sitios de localización de los solutos (Esquema 3.2).³⁶ Existen algunos antecedentes que indican que la ubicación de los HAPs en micelas de surfactantes no-iónicos es en el corazón hidrofóbico pero cerca de la interfase, mientras que se sitúan profundamente en el corazón de las micelas de surfactantes aniónicos.³⁸ Dado que el V_{NT} es menor para los surfactantes aniónicos, eso explicaría el menor número de moléculas de HAPs que podrían ingresar a las micelas de estos surfactantes y por lo tanto los menores RSM.

Los tres surfactantes de una sola cadena muestran una correlación relativamente lineal. El surfactante gémini en tanto, queda fuera de la correlación, presentando un V_{NT} mayor que lo que se esperaría para los RSM obtenidos. Esto probablemente esté relacionado con la presencia de las dos cadenas hidrofóbicas.²⁹

**Esquema 3.2**

Representación esquemática de las regiones nucleares de una micela donde se pueden solubilizar los HAPs. En naranja se muestra la región nuclear efectiva de las micelas de los surfactantes aniónicos y en verde la de los surfactantes no-iónicos.²⁷

3.3.3 Solubilización de HAPs en mezclas de surfactantes

En general, los surfactantes aniónicos son propensos a precipitar en contacto con el suelo y los surfactantes no iónicos son más propensos a adsorberse sobre la superficie de suelo, lo que resulta en un alto costo para la remediación debido a la necesidad de usar mayor cantidad de agente tensioactivo. Esto redundaría también en mayor contaminación del medio ambiente. La adsorción de surfactantes no iónicos podría ser evitada con el uso de una combinación de surfactantes no iónicos y aniónicos.³⁹ Por este motivo, muchos estudios recientes⁴⁰⁻⁴² han investigado cómo mejorar la solubilidad de HAPs usando varias combinaciones de surfactantes. En este trabajo de tesis se estudiaron combinaciones de surfactantes no iónico – aniónico comercial, y no iónico – gémini aniónico sintetizado en el grupo de trabajo. Las mezclas de tensioactivos suelen tener ventajas como la presencia de efecto sinérgico en la solubilización de HAPs, mediante la reducción de la CMC a valores más bajos que la de cualquiera de los surfactantes aniónicos o no iónicos individuales. Por ejemplo, Shi y colaboradores²⁵ encontraron que la solubilidad aparente de mezclas de fenantreno, fluoranteno y benzo (a) pireno en micelas mixtas de tipo aniónicas y no iónicas es mayor que en otros surfactantes y sigue el orden Dodecil sulfato de sodio – Tritón X 100 (SDS-TX-100) > Dodecil bencenosulfonato de sodio – Tritón X 100 (DBSS-TX-100). Usando los surfactantes SDS – TX-100 en una proporción de 1:4, Liang encontró que las solubilidades aparentes del naftaleno, fenantreno y fluoreno eran significativamente mayores en comparación con su solubilidad en SDS.⁴³ Del mismo modo, en nuestro grupo de investigación existen algunos antecedentes, donde se encontraron aumentos de solubilidad de naftaleno en un sistema de micelas mixtas T80 - ácido graso con respecto a las micelas de los surfactantes individuales.²³ Ventajas adicionales de los sistemas de surfactantes mixtos es que en algunos casos pueden emplearse en un intervalo más amplio de temperatura, salinidad y pH que los surfactantes individuales.¹

En este trabajo de tesis se determinó la eficacia (RSM) de mezclas de surfactantes constituidas por un surfactante no iónico (T20 ó T80) y un surfactante aniónico (LS ó SDDC) para solubilizar los HAPs naftaleno, fenantreno, pireno, antraceno, y fluoreno en agua. La RSM se obtuvo, como ya fue mencionado, a partir de un gráfico de solubilidad del HAP en función de la concentración total de surfactante y como se describe en la sección experimental 8.3.6. El error adjudicado a la RSM corresponde a la desviación estándar de la misma. La solubilidad experimental del HAP en la solución que contiene la mezcla de surfactantes se determinó como se describe en la sección experimental, mientras que la solubilidad teórica se calculó con la ecuación 3.8. También se determinó el efecto del mezclado de los surfactantes en la solubilización de los HAPs (r o R con las ecuaciones 3.13 y 3.14 respectivamente) como se describe en la sección 3.1.4.

3.3.3.1. Efecto de la mezcla de T80 - SDDC en la solubilización de HAPs

Se determinó la solubilidad de naftaleno, fenantreno y pireno en soluciones acuosas constituidas por diferentes composiciones de T80 y SDDC. Se realizaron dos tipos de experimentos: a) utilizando la mezcla de surfactantes con una concentración total de surfactante de 8 mM, variando la fracción molar de T80 en las mezclas (α_{T80}) y b) variando la concentración total de surfactante a cada fracción molar de T80 estudiada.

En la Tabla 3.9 se muestran los valores de RSM obtenidos para cada mezcla en la solubilización de los HAPs estudiados. Allí se puede observar que los valores obtenidos para naftaleno en las mezclas son superiores a los correspondientes para cada surfactante individual. Para el fenantreno y pireno, por el contrario, se obtuvieron valores intermedios entre cada surfactante individual.

Tabla 3.9.	Valores de RSM en soluciones acuosas (buffer) de la mezcla T80 – SDDC. ^a		
α_{T80}	Naftaleno	Fenantreno	Pireno
0,0	0,054	0,009	0,004
0,2	0,485	0,170	0,018
0,5	0,450	0,154	0,010
0,8	0,409	0,130	0,007
1,0	0,240	0,184	0,080

^a Buffer borato de sodio. pH 9,16, 30 °C.

Con el fin de evaluar el potencial de la mezcla de surfactantes estudiados, se comparó con otros sistemas. Wei y colaboradores analizaron la solubilización de naftaleno en presencia de un surfactante gémini catiónico $C_{12-2-12}$, el no iónico $C_{12}E_{23}$, y sus mezclas.² La solubilización de naftaleno en los surfactantes individuales fue más importante que en los surfactantes usados en este estudio. Los valores de RSM para el surfactante gémini catiónico y el surfactante no iónico fueron 0,168 y 0,395 respectivamente mientras que en este estudio, los RSM para el surfactante gémini SDDC y para el surfactante no iónico T80 fueron 0,054 y 0,240 respectivamente. Sin embargo, la

mezcla equimolar de T80 - SDDC (RSM = 0,450) fue más eficiente que la mezcla $C_{12}E_{23}/C_{12-2-12}$ a la misma composición (RSM = 0,306).

En la Figura 3.12, se puede observar el efecto de los surfactantes individuales y de la mezcla de surfactantes T80-SDDC sobre la solubilización de naftaleno a una concentración total de surfactante de 8 mM, y a diferentes composiciones de la mezcla. Allí, se observa que la mezcla funciona mejor que los surfactantes individuales, produciendo efecto sinérgico, a todas las fracciones molares estudiadas. Cabe aclarar que en dicho gráfico la solubilización de naftaleno por parte de los surfactantes individuales se realizó utilizando la misma concentración de surfactante individuales que se usó en cada mezcla.

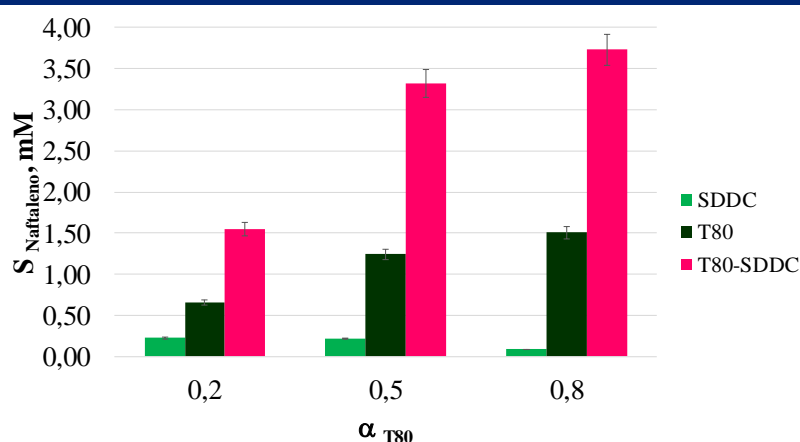


Figura 3.12.

Efecto de los surfactantes individuales y la mezcla de surfactantes $[Surfactante]_{Total} = 8$ mM, $[SDDC] = [S]_T \times (1 - \alpha_{T80})$, $[T80] = [S]_T \times \alpha_{T80}$, sobre la solubilización de naftaleno en soluciones acuosas. Buffer pH 9,16 ($Na_2B_4O_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 25,0 °C para T80 y 30,0 °C para SDDC y la mezcla. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

La mezcla equimolar del surfactante catiónico dibromuro de *N,N'*-bis(dimetildodecil)-1,2-pentanodiamonio (12-5-12) y del surfactante no iónico, hexaetilenglicol monododecil éter, ($C_{12}E_6$) mostró valores de RSM de 0,075 para el naftaleno y de 0,073 para el pireno.⁴⁴ Esto implica que esta mezcla es considerablemente menos eficiente en la solubilización del naftaleno que el sistema aquí estudiado T80-SDDC (RSM = 0,450). Sin embargo, resulta mejor hacia la solubilización del pireno.

Yadav, Parikh, y Kumar estudiaron una mezcla formada por un surfactante gémini aniónico conteniendo una cabeza fosfato (AG) y surfactantes catiónicos convencionales, bromuro de dodeciltrimetilamonio, (DTAB) y bromuro de tetradeciltrimetilamonio, (TTAB).²⁰ Los valores de RSM para la solubilización de pireno mediante mezclas de AG - DTAB y AG - TTAB en la relación molar 0,6 de AG y 0,4 del bromuro de alquilamonio son 0,0124 y 0,0154 respectivamente. Estos valores son comparables con el valor obtenido a la relación equimolar de T80 - SDDC en este estudio (0,010).

Las solubilidades de los HAP se midieron en función de la concentración total de la mezcla de surfactantes T80 - SDDC a diferentes α_{T80} , y luego se calcularon los valores de solubilidad teórica con la ecuación 3.8. En la Figura 3.13 se graficó la solubilidad aparente de naftaleno en función de la concentración total de la mezcla de surfactantes T80 - SDDC a $\alpha_{T80} = 0,2$. Allí se observó efecto sinérgico a todas las concentraciones de surfactante en la mezcla, el cual es más marcado a concentraciones mayores. Con el fenantreno también se observó efecto sinérgico, ya que la solubilidad aparente experimental fue mayor que la solubilidad teórica calculada por la ecuación 3.8, mientras que con pireno no se observó efecto sinérgico.

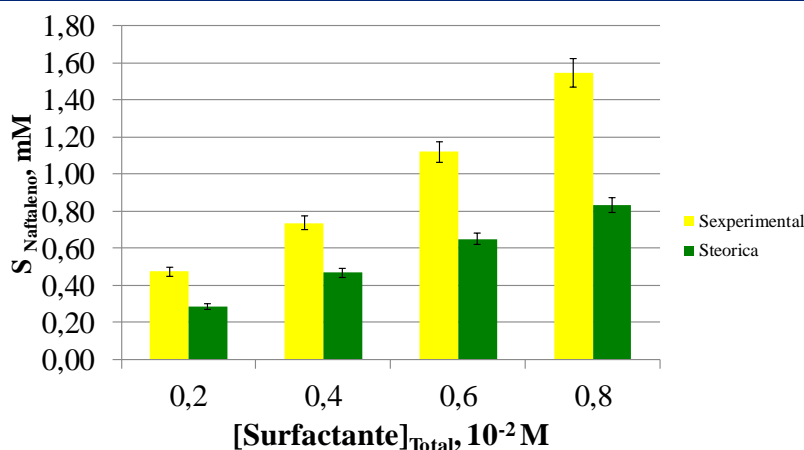


Figura 3.13.

Solubilidad experimental y teórica de naftaleno en soluciones acuosas de la mezcla T80-SDDC a $\alpha_{T80} = 0,2$ variando la concentración total de surfactante en la mezcla. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M) a 30,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

En la Figura 3.14 se muestra el parámetro r en función de α_{T80} para la solubilización de naftaleno, fenantreno y pireno por parte de la mezcla (Ecuación 3.13) Las mezclas aumentaron la solubilidad de cada hidrocarburo con respecto al buffer. Los valores de r calculados fueron superiores a 1 para el naftaleno y el fenantreno, indicando efecto sinérgico, pero inferiores a 1 para el pireno, lo cual estaría indicando efecto inhibitorio.

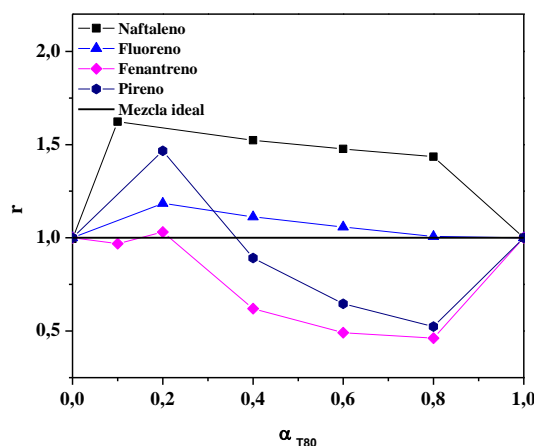


Figura 3.14. Parámetro r vs fracción molar de T80 en la mezcla T80-SDDC, sobre la solubilización de naftaleno, fenantreno y pireno. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01M, NaCl 0,02M), $30,0^\circ\text{C}$. $[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 8 \text{ mM}$. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Utilizando la ecuación 3.14 también se calcularon los valores de R , los cuales fueron superiores a 1 para el naftaleno y el fenantreno, pero inferiores a 1 para el pireno (Tabla 3.10). En el último caso, se observa que las mezclas fueron menos eficientes al aumentar la cantidad de T80 en la mezcla. En la Figura 3.15, se compara la cantidad de HAP solubilizado por los surfactantes individuales y una mezcla equimolar de ambos. Está claro que, en esas condiciones, la mezcla es más eficaz que los surfactantes individuales para solubilizar naftaleno y fenantreno, pero no ocurre lo mismo con pireno. Aunque la interacción entre los tensioactivos es favorable a partir del parámetro β calculado en el capítulo 2, la solubilización del pireno no se ve incrementada en la mezcla, siendo el mejor sistema para este hidrocarburo el T80 individual. Las interacciones hidrofílicas-hidrofílicas entre las moléculas de surfactante que ocurren en la interfase micela mixta-agua podrían afectar a la solubilización del compuesto menos hidrofóbico, en este caso el naftaleno. En cambio, en el núcleo micelar, tienen lugar interacciones hidrofóbicas-hidrofóbicas, que afectan principalmente a la solubilización del pireno, el compuesto más hidrofóbico. La fuerte interacción entre ambos surfactantes, con la formación de una micela más estrechamente empaquetada, podría impedir que el pireno penetre en la fase micelar desde la fase acuosa por difusión, reduciendo finalmente la capacidad de solubilización de la micela.⁴⁵ Se han observado resultados similares en otros sistemas, por ejemplo, para la solubilización de fenantreno en mezclas de T80-LS, donde no se observó sinergismo.²³ Wei y colaboradores tampoco encontraron efecto sinérgico cuando estudiaron la solubilización del pireno en soluciones equimolares de surfactantes gémini mixtos, aunque en esos sistemas los valores de CMC también resultaron más bajos que las CMC ideales y los valores β negativos.^{2,17}

Tabla 3.10. Valores de R para los HAPs a diferentes composiciones de la mezcla T80 – SDDC ^a

α_{T80}	Naftaleno	Fenantreno	Pireno
0,2	1,53	1,81	0,85
0,5	2,30	1,59	0,67
0,8	2,09	1,97	0,57

^a Buffer borato de sodio pH 9,16, 30 °C.

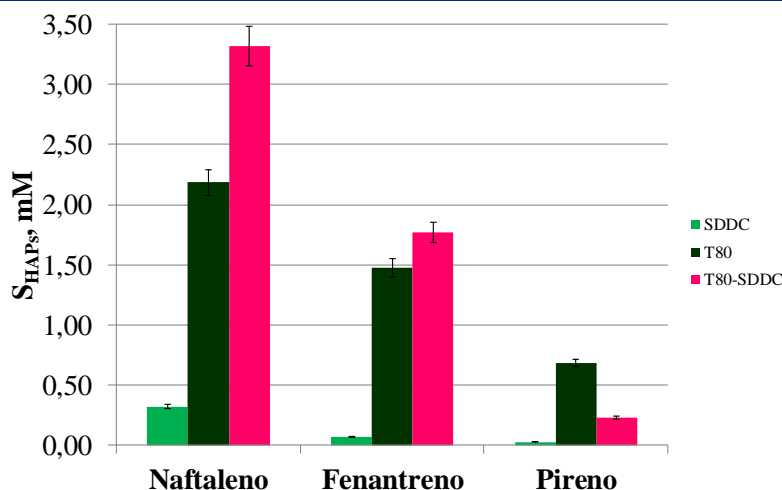


Figura 3.15.

Efecto de surfactantes individuales o mezcla de surfactantes sobre la solubilización de los HAPs en soluciones acuosas, [Surfactante]_{Total}=8 mM, $\alpha_{T80}=0,5$, [SDDC]=[S]_T×(1- α_{T80}), [T80]=[S]_T× α_{T80} . Buffer pH 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

En los sistemas de surfactantes mixtos con un valor β muy negativo, la micela se vuelve densamente empaquetada,¹² lo que puede reducir su capacidad de solubilización. También es conocido que a medida que el compuesto se hace más grande, se asienta más profundamente en el interior de la micela, en comparación con un compuesto más pequeño.⁴⁶ Fatma y colaboradores informaron que en mezclas de un surfactante gémico catiónico (etano-1,2-diil bis (*N,N*-dimetil-*N*-hexadecilamonioacetoxi) dicloruro y surfactantes convencionales, el pireno se incorpora en el núcleo micelar no polar, mientras que un compuesto de menor tamaño, como antraceno, tiene como lugar probable de localización la capa de empalizada.⁴⁷ Por otra parte, en el estudio del efecto de una solución micelar acuosa de trifluoroacetato de dodecilamonio en la solubilización de los HAPs, se encontró un cambio en el sitio de solubilización del hidrocarburo con el incremento en el número de átomos de carbono, confirmando que la relación del tamaño y la hidrofobicidad del hidrocarburo, y la región polar de la micela determina la solubilización.⁴⁸ Teniendo en cuenta los valores negativos de β en este sistema y el gran tamaño del pireno, ambos efectos podrían combinarse para producir una reducción en la solubilización del pireno en las micelas. En la Tabla 3.11 se muestran los valores obtenidos de K_m (ecuación 3.7) para los hidrocarburos en una mezcla equimolar de T80-SDDC. Los valores de K_m son mayores en la mezcla con $\alpha_{T80} 0,5$ que aquellos en SDDC solo. Sin embargo, el valor para el pireno es notablemente bajo, siendo K_m menor en la mezcla que en T80 puro. La afinidad del naftaleno por la micela mixta es mayor que por los tensioactivos individuales, mientras

que para el fenantreno es prácticamente la misma que para las micelas de T80. La constante de asociación de pireno y las micelas mixtas es considerablemente menor que con T80, de acuerdo a la falta de sinergismo encontrada en este sistema.

La variación en el comportamiento observado en los sistemas mixtos estudiados (sinergismo para la solubilización de naftaleno y fenantreno e inhibición para la solubilización de pireno) depende de la microestructura molecular del surfactante (empaquetamiento de moléculas tensioactivas en el núcleo de micelas mixtas) y de la interacción surfactante-soluto en las micelas mixtas.

Tabla 3.11. Relaciones de solubilización molar y constantes de afinidad micelar de los hidrocarburos en sistemas micelares. ^a

HAP	RSM _{T80}	RSM _{SDDC}	Log K _m T80 ²³	Log K _m α _{T80} = 0,5	Log K _m SDDC	Log K _{o/w} ³⁴
Naftaleno	0,240	0,054	4,77	4,99	4,22	3,36
Fenantreno	0,184	0,009	6,27	6,21	5,01	4,57
Pireno	0,080	0,004	6,47	5,61	5,15	5,18

^a Buffer borato de sodio pH 9,16, 30 °C

3.3.3.2. Efecto de la mezcla de T80 - LS en la solubilización de HAPs

Esta mezcla había sido estudiada previamente en el grupo para la solubilización del naftaleno, fenantreno y pireno.²³ En este trabajo de tesis lo que se hizo fue complementar el estudio para la solubilización de nuevos HAPs. Se determinó la solubilidad de fluoreno y antraceno en la misma mezcla, estos experimentos se realizaron variando la fracción molar y manteniendo constante la misma concentración total de surfactante ($[Surfactante]_{Total} = 2,5 \times 10^{-2} M$). En la Figura 3.16 se muestra el efecto de los surfactantes individuales ($[SDDC] = [S]_T \times (1 - \alpha_{T80})$, $[T80] = [S]_T \times \alpha_{T80}$) y de la mezcla de surfactantes sobre la solubilización de antraceno en soluciones acuosas con concentración total de surfactante $2,5 \times 10^{-2} M$ a diferentes fracciones molares de T80 en la mezcla. Allí, se observa un aumento en la solubilidad del contaminante por parte del surfactante no iónico, y una disminución con el aumento de la fracción molar para la solubilización del contaminante por efecto del surfactante aniónico, además, se observa una mejora en la solubilidad por parte de la mezcla que presenta menor proporción de T80 ($\alpha_{T80} = 0,1$), efecto sinérgico. Sin embargo, a mayores fracciones molares no se observa este efecto, siendo T80 el sistema más eficiente para solubilizar antraceno.^{41,42}

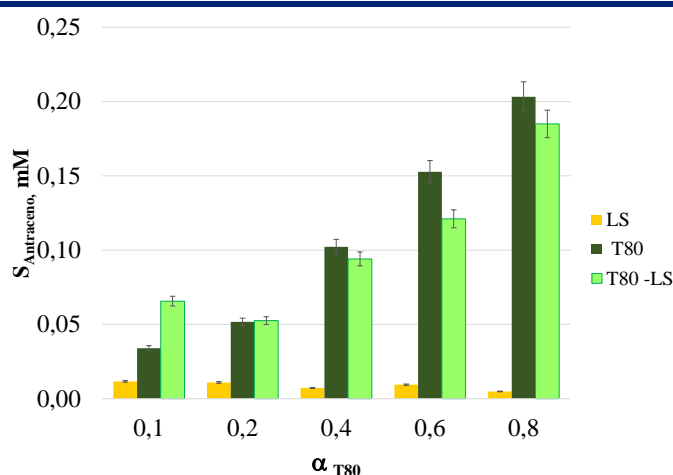


Figura 3.16. Efecto de los surfactantes individuales y la mezcla de surfactantes T80-LS sobre la solubilización de antraceno en soluciones acuosas con $[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{SDDC}] = [\text{S}]_{\text{T}} \times (1 - \alpha_{\text{T80}})$, $[\text{T80}] = [\text{S}]_{\text{T}} \times \alpha_{\text{T80}}$ a diferentes fracciones molares de T80 en la mezcla, Buffer borato de sodio pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 25,0°C, Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Se calculó la solubilidad teórica de antraceno en la mezcla T80 – LS, considerando actividad independiente de cada surfactante, con la ecuación 3.8, (Figura 3.17). La comparación de las pendientes obtenidas experimentalmente, con las calculadas para la mezcla ideal, considerando la aditividad para ambos surfactantes, indica que para este contaminante prácticamente no se observa efecto sinérgico, salvo a $\alpha_{\text{T80}} = 0,1$, donde la solubilidad experimental obtenida es mayor que la solubilidad teórica calculada. Como ya se mencionó, la relación entre la RSM experimental y la calculada es menor o cercana a 1.

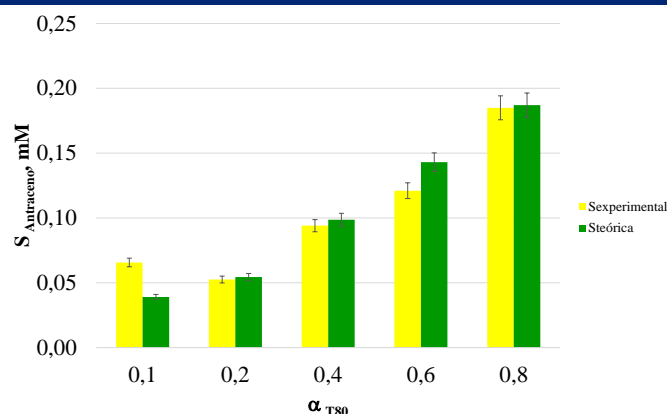


Figura 3.17. Solubilidad experimental y teórica de antraceno calculada según la ecuación 3.8 en soluciones acuosas de la mezcla T80-LS a diferentes fracciones molares de T80 en la mezcla acuosas, $[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$.

Por otra parte, se realizó la misma comparación para fluoreno, pero en este caso, se graficó el parámetro r en función de α_{T80} , para la solubilización de fluoreno y antraceno por parte de esta mezcla (Figura 3.18). En el grupo, se estudió previamente la solubilización de naftaleno, y

fenantreno. Se encontró efecto sinérgico en la solubilización de naftaleno por parte de la mezcla T80-LS, sin embargo, no se encontró para fenantreno. Estos resultados podrían atribuirse a los diferentes sitios de solubilización de los sustratos en las micelas mixtas.²³ La mezcla estudiada resultó eficiente para la solubilización de naftaleno y fluoreno a todas las α_{T80} , siendo más efectiva a bajas α_{T80} . No obstante, esta mezcla no resultó eficiente para solubilizar fenantreno y pireno, con los cuales sólo se observa efecto sinérgico a $\alpha_{T80} = 0,2$. Las diferentes tendencias que se encuentran para la solubilización de los HAPs podrían deberse además a una diferente ubicación de los hidrocarburos, a que los contaminantes de alguna manera alteran el proceso de mezclado.

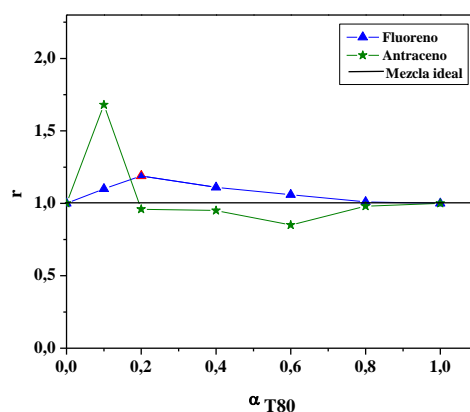


Figura 3.18. Parámetro r vs fracción molar de T80 para fluoreno (▲) y antraceno (★) en la mezcla T80-LS, $[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M) a 25,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

En la Tabla 3.12 se muestran los valores de r para cada contaminante, frente a la fracción de T80 en la mezcla T80-LS. Para fluoreno, se observa que los valores de r no difieren significativamente cuando cambia la composición de la mezcla, encontrando un leve efecto sinérgico a $\alpha_{T80} = 0,2$ (Figura 3.18). Al comparar, fenantreno²³ y antraceno, que son isómeros, se observa que no hay una relación entre solubilidad e isomería estructural por parte de la mezcla T80-LS, debido a que ambos compuestos tienen un comportamiento diferente. Para fenantreno la α_{T80} más efectiva resultó ser $\alpha_{T80} = 0,2$ mientras que para el antraceno esta ocurre a $\alpha_{T80} = 0,1$. Por otra parte, este último compuesto presentó valores mayores de r a todas las fracciones molares en comparación con su isómero.

α_{T80}	Fluoreno	Antraceno	Pireno	Naftaleno ²³	Fenantreno ²³
0,1	1,10	1,68	--	1,62	0,97
0,2	1,19	0,96	1,47	--	1,03
0,4	1,11	0,95	0,89	1,52	0,62
0,6	1,06	0,85	0,65	1,48	0,49
0,8	1,01	0,98	0,52	1,43	0,46

Concentración total de surfactante $2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$, buffer borato de sodio pH 9,16, 25,0°C.

En la Figura 3.19 se muestra el efecto de surfactantes individuales o mezcla de surfactantes sobre la solubilización de los HAPs aquí estudiados en soluciones acuosas, con concentración total de surfactante $2,5 \times 10^{-2}$ M a $\alpha_{T80} = 0,1$. Se observó un efecto sinérgico a esta fracción molar para los HAPs estudiados, comparando la cantidad de HAP solubilizado por los surfactantes individuales y la mezcla a $\alpha_{T80} = 0,1$. En esas condiciones, la mezcla es ligeramente más eficaz que los surfactantes individuales para solubilizar fluoreno, y antraceno.

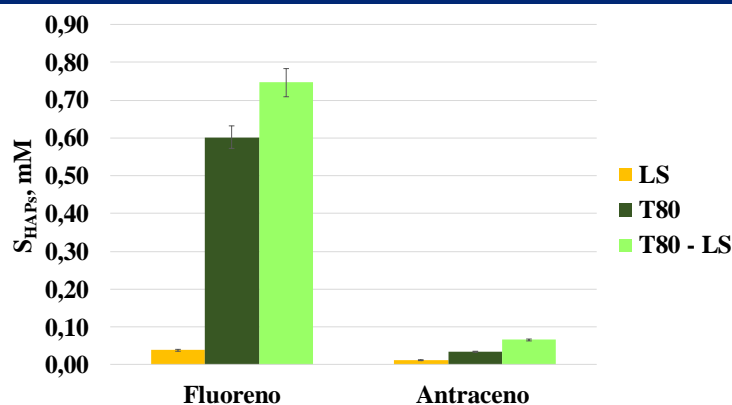


Figura 3.19. Efecto de surfactantes individuales o mezcla de surfactantes sobre la solubilización de los HAPs en soluciones acuosas, $[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 2,5 \times 10^{-2}$ M, $\alpha_{T80} = 0,1$, $[\text{SDDC}] = [\text{S}]_T \times (1 - \alpha_{T80})$, $[\text{T80}] = [\text{S}]_T \times \alpha_{T80}$. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M). Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Las diferencias encontradas en el comportamiento de los HAPs en sistemas mixtos pueden explicarse en términos de diferentes sitios de solubilización para ambos compuestos.

En la Tabla 3.13 se muestran los valores obtenidos de K_m en este estudio y los obtenidos previamente en el grupo para los hidrocarburos en una mezcla de T80- LS a $\alpha_{T80} = 0,2$. Los valores K_m son más altos en la mezcla con $\alpha_{T80} 0,2$ que aquellos en LS solo. No obstante, el valor para naftaleno, fenantreno y pireno, es menor que el valor en T80. La afinidad del antraceno y el fluoreno por la micela mixta es mayor que por las micelas de los surfactantes individuales, mientras que para los demás HAPs hay mayor afinidad por las micelas de T80.

HAP	RSM _{T80}	RSM _{LS}	Log K_m T80	Log K_m $\alpha_{T80} = 0,2$	Log K_m LS	Log $K_{o/w}$ ³⁴
Naftaleno	0,240 ^b	0,017 ^b	4,77 ^b	4,32	4,04 ^b	3,36
Fluoreno	0,114	0,010	4,54	5,01	4,15	4,18
Fenantreno	0,184 ^b	0,011 ^b	6,27 ^b	6,15	5,12 ^b	4,57
Antraceno	0,010	0,0004	5,33	6,10	3,94	4,54
Pireno	0,080 ^b	0,004 ^b	6,47 ^b	6,13	5,18 ^b	5,18

^a Buffer borato de sodio pH 9,16, 25,0°C, ^b Datos determinados previamente en el grupo de investigación.²³

3.3.3.3. Efecto de la mezcla de T20-LS en la solubilización de HAPs

En esta sección se describen los resultados correspondientes al efecto de la mezcla T20-LS sobre la solubilización de los HAPs (naftaleno, fluoreno, fenantreno y pireno). Las soluciones fueron preparadas con concentración total de surfactante ($T20 + LS = 2,5 \times 10^{-2} M$) y diferente fracción molar (α_{T20}) (Tabla 3.14 y Figura 3.21).

Como ya se mencionó, se evaluó el efecto de mezclado de surfactantes en la solubilización de contaminantes, empleando el parámetro conocido como r (ecuación 3.10).

Tabla 3.14.	Valores de r para los HAPs a diferentes composiciones de la mezcla T20 – LS en soluciones acuosas. ^a			
α_{T20}	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno	Pireno
0,2	1,03	1,26	1,04	1,18
0,4	1,16	1,10	1,31	1,25
0,6	1,19	1,04	1,25	1,24
0,8	1,15	0,99	1,33	1,22

^a $[Surfactante]_{Total} = 2,5 \times 10^{-2} M$. Buffer borato de sodio pH 9,16, 25,0 °C.

La comparación entre las solubilidades teórica y experimental del naftaleno obtenidas a partir del análisis de la mezcla de T20 – LS se muestran en la Figura 3.20. Se observa que los valores de solubilidad experimental son mayores que los correspondientes a la solubilidad teórica indicando un ligero efecto sinérgico a partir de $\alpha_{T20} = 0,4$.

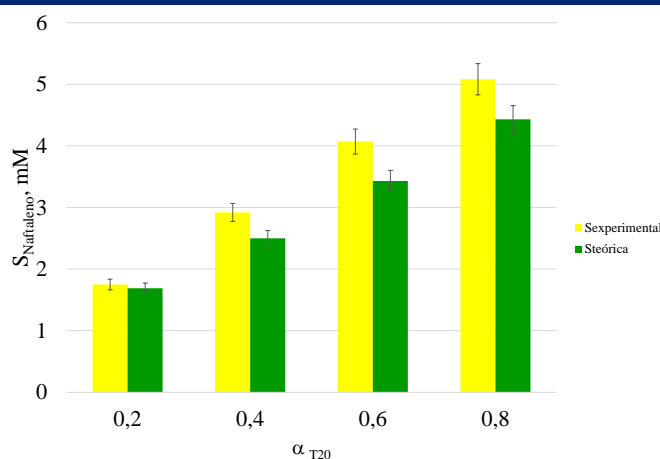


Figura 3.20. Solubilidad experimental y teórica de naftaleno en soluciones acuosas de la mezcla T20-LS a diferentes fracciones molares de T20. $[Surfactante]_{Total} = 2,5 \times 10^{-2} M$.

Como ya se mencionó, en la mezcla de T20-LS se observa efecto sinérgico para naftaleno, fenantreno y pireno a prácticamente todas las α_{T20} . En el caso de fluoreno este efecto se da a baja fracción molar y por encima de $\alpha_{T20} = 0,6$ no se observa. Este incremento en la capacidad de solubilización por las micelas mixtas podría deberse del mismo modo a lo que ocurría en T80-LS a que las repulsiones electrostáticas entre las cabezas polares y el impedimento estérico por parte de

las micelas puras de surfactante, serían reemplazadas luego del mezclado, por interacciones atractivas del tipo ión-dipolo entre los dos grupos hidrofílicos de los surfactantes, haciendo del sistema, más estable.

Cuando hay un aumento de la solubilización de los HAPs, la aplicación de agentes tensioactivos mixtos también aumenta la fracción biodisponible del HAPs. Por ejemplo, una micela mixta de surfactantes aniónico - no iónico (SDS-TX-100 a 1: 9) aumentó la biodegradación de fenantreno en un 165% cuando se comparó con TX-100 solo.⁴⁰ Por lo tanto, la solubilización por efecto de micelas mixtas con la selección de una combinación adecuada de agentes tensioactivos es importante para una solubilización y biodegradación eficiente y eficaz de los HAPs.

En la Figura 3.21 se muestra el parámetro r en función de α_{T20} , para la solubilización de los cuatro HAPs por parte de las mezclas T20-LS. Allí se ve que hay efecto de mezclado: para esta mezcla existe efecto positivo para todos los HAPs a todas las α_{T20} , pero con un incremento no mayor a un 30%.

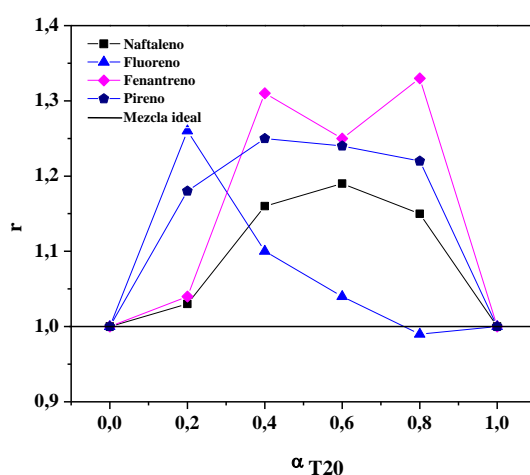


Figura 3.21. Parámetro r vs fracción molar de T20 en la mezcla T20-LS a diferentes fracciones molares de T20 en la mezcla. [Surfactante]_{Total} = $2,5 \times 10^{-2}$ M, buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 25,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

El efecto observado para pireno en la mezcla T20 - LS es comparable a lo encontrado con otras mezclas de surfactantes. El valor máximo de r reportado para este contaminante por Mohamed y Mahfoodh²⁶ para la mezcla T80 - SDS ha sido de 1,3, 2,3 y 1,2 para las fracciones α_{T80} 0,4, 0,5 y 0,6 respectivamente. Por otra parte, el hecho de que se haya encontrado mayor solubilidad relativa a la solubilidad en agua para los compuestos de mayor tamaño molecular en relación a los más pequeños, puede estar asociado a la solubilización de los mismos en distintos sectores de las micelas mixtas, sin embargo la localización exacta donde este proceso ocurre varía con la naturaleza del soluto y del surfactante y en consecuencia, no es fácil de determinar.⁴⁸

3.3.3.4. Comparación del efecto de las distintas mezclas estudiadas en la solubilización de HAPs

Al comparar las mezclas con diferente surfactante aniónico, es decir, T80 – SDDC y T80- LS, se observó efecto sinérgico para la solubilización de naftaleno en todas las α_{T80} en ambas mezclas (Tablas 3.10 y 3.12), encontrando el mayor efecto sinérgico a altas α_{T80} para la mezcla T80-SDDC y a bajas α_{T80} para la mezcla T80-LS. Con respecto al fenantreno, la mezcla T80 – SDDC resultó ser efectiva produciendo efecto sinérgico, mientras que con la mezcla T80-LS no se observó este efecto.²³ En relación al fluoreno se encontró efecto sinérgico por parte de la mezcla T80 – LS, en tanto la solubilización del pireno no mejora con ninguna de las mezclas, siendo para este contaminante más efectiva la utilización de los surfactantes individuales. Wei al igual que en este trabajo, al utilizar una mezcla de surfactante no iónico-gémini aniónico tampoco encontró efecto sinérgico en el estudio de la solubilización del pireno,¹⁷ la mezcla con el surfactante gémini resultó más eficiente en comparación con el otro surfactante aniónico utilizado, sin embargo, a pesar de la presencia de las dos colas hidrocarbonadas en el gémini, no resultó efectiva para este HAPs.

Con respecto a las mezclas que poseen el mismo surfactante aniónico, LS, y diferente surfactante no iónico, se infiere que para naftaleno y fluoreno no se observan cambios demasiado significativos al variar la fracción molar del surfactante no iónico en las mezclas. Se encuentra el mayor efecto sinérgico en la mezcla T20 - LS a $\alpha_{T20} = 0,2$ para fluoreno y 0,6 para naftaleno y en T80 - LS a bajas α_{T80} para estos dos HAPs. Para los dos HAPs de mayor peso molecular, se observa que los perfiles son completamente opuestos en las dos mezclas, encontrándose el mayor efecto sinérgico en la mezcla T20 - LS a $\alpha_{T20} = 0,4-0,8$ (Figura 3.21) y en T80 - LS $\alpha_{T80} = 0,2$ para ambos compuestos (Tabla 3.12). En referencia a fenantreno, se ha encontrado similitud en el comportamiento de la mezcla T20 - LS con la estudiada por B. Zhao y colaboradores,⁴⁹ T80 – SDS, la cual mejoró aún más la solubilidad del fenantreno que otros sistemas mixtos (SDS-TX-100 y SDS-Brij-35). Sin embargo, no ocurre lo mismo con este contaminante en la mezcla T80 – LS. Lo que se infiere a partir de estos resultados, es que la diferencia entre los surfactantes aniónicos LS y SDS cuando están mezclados con T80, produce un efecto en las mezclas. De aquí que el diferente comportamiento podría atribuirse al efecto que tiene la cabeza hidrofílica del surfactante iónico en la formación de las micelas mixtas.

Con respecto al efecto de mezclado, se observa que existe efecto positivo para la mezcla T20 – LS hacia la solubilización de todos los HAPs en todas las α_{T20} , esto no se cumple en la mezcla T80 - LS en donde solamente se encontró efecto sinérgico a todas las fracciones molares para la solubilización de naftaleno y fluoreno. En el caso del fenantreno y pireno sólo se observa un ligero efecto sinérgico a $\alpha_{T80} = 0,2$. Las diferentes tendencias que se encuentran para la solubilización de los HAPs podrían deberse a que el contaminante de alguna manera altera el proceso de mezclado.

La existencia de un efecto no aditivo por parte de la mezcla en la solubilización de los HAPs (sinergismo o inhibición) es un indicativo de que se está produciendo alguna interacción diferencial entre los componentes tensioactivos, lo que conduce a un comportamiento no ideal de las micelas mixtas.⁴⁸

En la Figura 3.22 se comparan los tres sistemas de mezclas estudiados para la solubilización de naftaleno, fenantreno y pireno. Puede observarse que para naftaleno y fenantreno la mezcla más efectiva es la mezcla T80-SDDC mientras que para pireno la mezcla más efectiva es la de T20 - LS, lo cual está indicando que es posible escoger una mezcla que sea efectiva para cada uno de los contaminantes. El efecto de esta última mezcla es similar para todos los contaminantes, por lo cual se puede decir que no es muy selectiva.

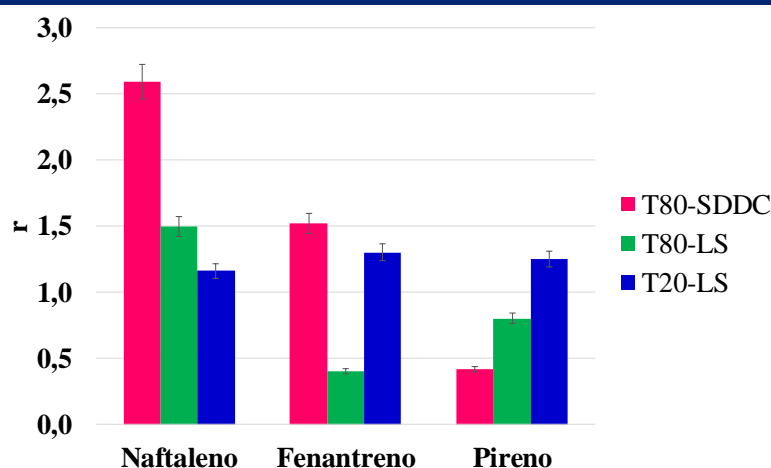


Figura 3.22. Efecto de las mezclas de surfactantes estudiadas sobre la solubilización de los HAPs en soluciones acuosas, $[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 2,5 \times 10^{-2} \text{M}$, a $\alpha = 0,5$ (fracción molar de surfactante no iónico en la mezcla), $[\text{SDDC}] = [\text{S}]_{\text{T}} \times (1 - \alpha_{\text{T80}})$, $[\text{T80}] = [\text{S}]_{\text{T}} \times \alpha_{\text{T80}}$.

Los resultados sugieren que una mezcla de surfactantes aniónico y no iónico podría resultar eficiente para mejorar la solubilización de este tipo de contaminantes.

3.4 Conclusiones

Se ha determinado la capacidad de distintas soluciones de surfactantes puros, no-iónicos: T80 y T20, y aniónicos: SDDC y LS para la solubilización de naftaleno, fluoreno, antraceno, acenafteno, fenantreno y pireno. Los surfactantes solubilizan mayores concentraciones de contaminantes que el agua pura. El mayor incremento en la solubilización se observa para el contaminante más insoluble, pireno. Se encontró una buena correlación entre los coeficientes de partición micela-agua y los coeficientes de partición octanol-agua, lo que indica que la afinidad del HAP por la micela es mayor al aumentar la hidrofobicidad del contaminante, y esto explica el mayor efecto observado para pireno.

El surfactante gémuni resultó más eficiente en comparación con el otro surfactante aniónico utilizado. Sin embargo, a pesar de la presencia de las dos colas hidrocarbonadas en el gémuni, los surfactantes no iónicos resultaron ser más efectivos, siendo el T80 el mejor de los sistemas individuales estudiados.

Se comprobó que la diferencia en el largo de la cadena hidrocarbonada del surfactante no-iónico es un factor que altera la solubilidad de los HAPs, siendo ésta mayor a medida que la longitud de la cadena incrementa, lo cual puede estar relacionado con la menor CMC del surfactante.

En las mezclas se observa el mismo efecto de incremento lineal de la solubilización con el aumento en la concentración total de surfactante, pero sólo se observa efecto sinérgico en la solubilización de naftaleno para todas las mezclas estudiadas.

La mezcla T80 - SDDC resultó ser más eficaz en la solubilización de naftaleno y fenantreno, en comparación con los valores calculados para una mezcla donde cada surfactante se comportará como si estuviera solo. Para el pireno, en cambio, no se observó sinergismo en la solubilización por parte de esta mezcla de tensioactivos. Este diferente comportamiento está probablemente relacionado con diferentes sitios de solubilización de los hidrocarburos en los agregados y a una interacción muy atractiva de ambos tensioactivos en la mezcla, que produce una micela más compacta, impidiendo así la incorporación suficientemente profunda del pireno.

Se encontró efecto sinérgico en la solubilización de naftaleno, fenantreno, pireno, fluoreno, y antraceno por parte de la mezcla de surfactantes T20 - LS y para antraceno y fluoreno por parte de la mezcla T80 -LS. El efecto de mezclado encontrado depende de la fracción molar del surfactante no-iónico empleado en la mezcla. La mezcla T20-LS en todas las proporciones presentó efecto sinérgico para solubilizar todos los HAPs estudiados, pero sin superar el 30% de incremento.

Se determinó que el mayor efecto sinérgico en la solubilización de naftaleno, fluoreno, fenantreno y pireno por las mezclas de surfactantes con LS como surfactante aniónico, corresponden a las α_{T80}

bajas (entre 0,1 y 0,2) para la mezcla T80 – LS y a la α_{T20} = extremas (0,2 y 0,8) para la mezcla T20 – LS.

Los resultados obtenidos pueden atribuirse a la formación de una micela mixta entre los dos surfactantes y a una diferente ubicación de los contaminantes en las distintas regiones de las micelas.

Estos estudios aportan al conocimiento general del funcionamiento de algunos sistemas anfifílicos mixtos en la solubilización de contaminantes, lo cual representa un primer paso en la movilización de estos compuestos desde los suelos y sedimentos para su posterior aplicación en técnicas de remediación en suelos contaminados.

3.5 Referencias

- (1) Lamichhane, S.; Bal Krishna, K. C.; Sarukkalgige, R. *J. Environ. Manage.* **2017**, *199*, 46–61.
- (2) Wei, J.; Huang, G.; Zhu, L.; Zhao, S.; An, C.; Fan, Y. *Chemosphere* **2012**, *89*, 1347–1353.
- (3) Zhou, W.; Zhu, L. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2005**, *255*, 145–152.
- (4) Iglesias, O.; Sanromán, M. A.; Pazos, M. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53*.
- (5) Collina, E.; Lasagni, M.; Pitea, D.; Franzetti, A.; Di Gennaro, P.; Bestetti, G. *Ann. Chim.* **2007**, *97*, 799–805.
- (6) Zhang, D.; Zhu, L. *Environ. Pollut.* **2012**, *164*, 169–174.
- (7) Xu, H. X.; Wu, H. Y.; Qiu, Y. P.; Shi, X. Q.; He, G. H.; Zhang, J. F.; Wu, J. C. *Biodegradation* **2011**, *22*, 335–345.
- (8) Zhou, W. *J. Hazard. Mater.* **2004**, *109*, 213–220.
- (9) Siddiqui, H.; Kamil, M.; Panda, M. *Chinese J. Chem. Eng.* **2014**, *22*, 1009–1015.
- (10) Thakkar, K.; Bharatiya, B.; Ray, D.; Aswal, V. K.; Bahadur, P. *J. Mol. Liq.* **2016**, *223*, 611–620.
- (11) Yadav, T.; Tikariha, D.; Lakra, J.; Satnami, M. L.; Tiwari, A. K.; Saha, S. K.; Ghosh, K. K. *J. Mol. Liq.* **2015**, *204*, 216–221.
- (12) Panda, M. . K.-D. *J. Mol. Liq.* **2013**, *187*, 106–113.
- (13) Peng, S.; Wu, W.; Chen, J. *Chemosphere* **2011**, *82*, 1173–1177.
- (14) Kabir-ud-Din; Shafi, M.; Bhat, P. A.; Dar, A. A. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *167*, 575–581.
- (15) Cheng, M.; Zeng, G.; Huang, D.; Yang, C.; Lai, C.; Zhang, C.; Liu, Y. *Chem. Eng. J.* **2017**, *314*, 98–113.
- (16) Liang, X.; Guo, C.; Wei, Y.; Lin, W.; Yi, X.; Lu, G.; Dang, Z. *Chemosphere* **2016**, *144*, 583–590.
- (17) Wei, J.; Huang, G.; An, C.; Yu, H. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *190*, 840–847.
- (18) Lakra, J.; Tikariha, D.; Yadav, T.; Das, S.; Ghosh, S.; Satnami, M. L.; Ghosh, K. K.

Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp. **2014**, 451, 56–65.

- (19) Panda, M. *J. Mol. Liq.* **2011**, 163, 93–98.
- (20) Yadav, S. K.; Parikh, K.; Kumar, S. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, 514, 47–55.
- (21) Pal, A.; Deenadayalu, N.; Chaudhary, S. *Fluid Phase Equilib.* **2015**, 391, 67–71.
- (22) Blanco, A. *Química Biológica*, 8va. ed.; El Ateneo, **2007**.
- (23) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, 84, 1700–1707.
- (24) Li, J.-L.; Chen, B.-H. *Chem. Eng. Sci.* **2002**, 57, 2825–2835.
- (25) Shi, Z.; Chen, J.; Liu, J.; Wang, N.; Sun, Z.; Wang, X. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, 22, 12769–12774.
- (26) Mohamed, A.; Mahfoodh, A.-S. M. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2006**, 287, 44–50.
- (27) Paria, S. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2008**, 138, 24–58.
- (28) Tanford, C. *Science.* **1978**, 200, 1012–1018.
- (29) Tanford, C. *J. Phys. Chem.* **1972**, 76, 3020–3024.
- (30) Wei, J.; Huang, G.; Li, J.; Wang, X. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2016**, 55, 4811–4819.
- (31) Pearlman, R. S.; Yalkowsky, S. H.; Banerjee, S. *J. Phys. Chem. Ref. data* **1984**, 13, 555–562.
- (32) Dar, A. A.; Rather, G. M.; Das, A. R. *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 3122–3132.
- (33) Yalkowsky, S. H.; Valvani, S. C.; Roseman, T. J. *J. Pharm. Sci.* **1983**, 72, 866–870.
- (34) An, Y.-J.; Carraway, E. R.; Schlautman, M. A. *Water Res.* **2002**, 36, 300–308.
- (35) Edwards, D. A.; Luthy, R. G.; Liu, Z. *Environ. Sci. Technol.* **1991**, 25, 127–133.
- (36) Panda, M.; Fatma, N. *J. Mol. Struct.* **2016**, 1115, 109–116.
- (37) Sierra, M.B. ; Morini, M.A. ; Schulz, P.C.; Junquera, E., A. E. *J. Phys. Chem. B.* **2007**, 111, 11692–11699. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2039–2044.
- (39) Yu, H.; Zhu, L.; Zhou, W. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 142, 354–361.
- (40) Azum, N.; Rub, M. A.; Asiri, A. M. *J. Mol. Liq.* **2014**, 196, 14–20.

- (41) Li, F.; Zhu, L. *Bioresour. Technol.* **2012**, *123*, 42–48.
- (42) Sales, P. S.; Fernández, M. A. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*, 10158–10164.
- (43) Liang, X.; Zhang, M.; Guo, C.; Abel, S.; Yi, X.; Lu, G.; Yang, C.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.* **2014**, *244*, 522–530.
- (44) Patel, U.; Parekh, P.; Sastry, N. V.; Aswal, V. K.; Bahadur, P. *J. Mol. Liq.* **2017**, *225*, 888–896.
- (45) Cabana Saavedra, L. C.; Pachón Gómez, E. M.; Oliveira, R. G.; Fernández, M. A. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, *533*, 41–47.
- (46) Morisue, T.; Moroi, Y.; Shibata, O. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 12995–13000.
- (47) Fatma, N.; Panda, M.; Ansari, W. H. S. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2015**, *467*, 9–17.
- (48) Rosen M., R.; Zhou Q. **2001**, *17*, 3532–3537.
- (49) Zhao, B.; Zhu, L.; Li, W.; Chen, B. *Chemosphere* **2005**, *58*, 33–40.

Capítulo 4:

Solubilización de mezclas de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos mediante el empleo de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes

La única lucha que se pierde es la que se abandona.

Ernesto Guevara

Índice

Índice	113
4.1 Introducción.....	114
4.1.1. Cuantificación de la eficacia de los surfactantes y las mezclas de surfactantes para solubilizar mezclas de HAPs	115
4.1.2. Efecto de la interacción de los surfactantes en la solubilización de mezclas de HAPs ..	116
4.1.3 Solubilización teórica de mezcla de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes	117
4.1.4 Determinación de la afinidad de la mezcla de los HAPs por las micelas de surfactantes y de mezclas de surfactantes.....	118
4.2 Objetivos.....	119
4.3 Resultados y discusión.....	120
4.3.1 Sistemas en estudio.....	120
4.3.2 Solubilización de mezcla de HAPs en surfactantes individuales.....	120
4.3.2.1 Efecto del surfactante no iónico en la solubilización de mezclas de HAPs.....	120
4.3.2.2 Efecto del surfactante aniónico en la solubilización de HAPs	125
4.3.3 Comparación del efecto de los diferentes surfactantes puros sobre la solubilización de las mezclas de HAPs	128
4.3.4 Solubilización de mezcla de HAPs en mezcla de surfactantes	133
4.4 Conclusiones.....	137
4.5 Referencias	138

4.1 Introducción

En el capítulo anterior, se informaron los resultados obtenidos del estudio del efecto de surfactantes individuales y mezclas de surfactantes sobre la solubilización de HAPs. Se encontró que los surfactantes individuales y las mezclas de éstos incrementaban la solubilidad de los HAPs en agua. En este capítulo, se detallará el estudio de la efectividad de los surfactantes individuales y sus mezclas sobre la solubilización de mezclas binarias de HAPs, ya que es conocido que en los suelos se encuentran presentes varios contaminantes simultáneamente. Por lo tanto, resulta muy interesante evaluar si existe selectividad de los surfactantes y sus mezclas hacia algún contaminante en particular.

La mayoría de las investigaciones se han centrado en la solubilización de compuestos individuales por sistemas de tensioactivos únicos, binarios o ternarios.¹⁻⁷ Sin embargo, como ya se mencionó los HAPs, se presentan como mezclas ya que en los suelos y sedimentos hay más de un contaminante presente. Hay algunos estudios sobre cosolubilización de múltiples solutos en soluciones micelares, que han demostrado que el grado de solubilización de los solutos mixtos difiere de sus comportamientos exhibidos en sistemas de un solo componente.⁸⁻¹³ Rouse y colaboradores por ejemplo, encontraron que el fluoreno y el fenantreno compiten por los mismos sitios de solubilización dentro de las micelas formadas con el surfactante aniónico disulfonato de sodio difenilóxido con un resto alquilo de 16 carbonos, debido a una hidrofobicidad similar.⁹ Por otro lado en 2013, Masrat, Maswal y Dar¹⁴ demostraron que la solubilización de naftaleno fue inhibida por pireno en estudios de solubilización en micelas no iónicas, catiónicas y aniónicas, además el grado de inhibición siguió el orden: catiónico < aniónico < no iónico.

Según los resultados del estudio de Sánchez-Trujillo y colaboradores,¹⁵ los HAP de bajo peso molecular (es decir, moléculas formadas por 2 y 3 anillos de benceno) fueron más abundantes que los HAP de alto peso molecular (es decir, moléculas compuestas por más de 4 anillos de benceno), en sitios contaminados con petróleo. Se encontró especialmente naftaleno, fenantreno, fluoreno, y antraceno, lo que indica que los HAP de bajo peso molecular pueden desempeñar un papel importante cuando se evalúa la eficacia de la solubilización mejorada.¹⁶ Hasta el momento, no hay mucha información sobre los efectos de cosolubilización de los HAP dentro de micelas de surfactante. Por lo tanto, es importante investigar la interacción entre los HAP en presencia de surfactantes individuales y mezclas binarias de los mismos para su posible posterior utilización en remediación de suelos contaminados. Además, debido a la reducción de las pérdidas de surfactantes por adsorción o por precipitación,^{17,18} los surfactantes no iónicos y aniónicos se combinan generalmente para producir una solubilización mejorada de los HAP. La estructura micelar mixta

puede tener una influencia importante en el comportamiento de solubilización de los HAP en micelas.¹⁶

4.1.1. Cuantificación de la eficacia de los surfactantes y las mezclas de surfactantes para solubilizar mezclas de HAPs

De manera similar a lo planteado para evaluar la eficiencia de un surfactante o de una mezcla de surfactantes para solubilizar un HAPs, se utiliza la relación de solubilización molar (RSM) como el parámetro más importante para la cuantificación del efecto de los surfactantes en la solubilización de los contaminantes desde mezclas de los mismos. Para este caso se cuantifica la solubilización de cada hidrocarburo por separado.

Experimentalmente es posible determinar por separado la solubilización de los HAPs que forman la mezcla en una solución acuosa de los surfactantes individuales. Para esto, se realiza una pequeña variación a las ecuaciones 3.9 y 3.10, teniendo en cuenta cada uno de los contaminantes estudiados, donde $S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.\ a}^{exp}$ corresponde a la solubilidad de la mezcla de HAPs en las mismas condiciones en el surfactante a, calculada a partir de la suma de las solubilidades experimentales obtenidas de cada HAP.

$$S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.\ a}^{exp} = S_{HAPs\ 1-12;\ s.\ a} + S_{HAPs\ 2-12;\ s.\ a} + S_{HAPs\ 1-12;\ Ac} + S_{HAPs\ 2-12;\ Ac} \quad \text{Ecuación 4. 1}$$

En esta ecuación $S_{HAPs\ 1-12;\ s.\ a}$ corresponde a la solubilidad obtenida experimentalmente para el contaminante 1 desde la mezcla 12, en el surfactante a, más la cantidad solubilizada experimentalmente para el contaminante 2 desde la mezcla 12, en el surfactante a ($S_{HAPs\ 2-12;\ s.\ a}$) más la cantidad del HAP 1 y HAP 2 que se solubiliza en agua ($S_{HAPs\ 1-12;\ Ac}$ y $S_{HAPs\ 2-12;\ Ac}$).

Con respecto a la cuantificación de la eficacia de la mezcla de surfactantes en la solubilización de HAPs desde mezclas de los mismos, se utiliza de manera análoga la ecuación anterior, con la diferencia de que para este caso se tiene en cuenta la solubilidad experimental obtenida para cada HAP por parte de la mezcla de surfactantes, como se muestra en la ecuación 4.2.

$$S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.\ ab}^{exp} = S_{HAPs\ 1-12;\ s.\ ab} + S_{HAPs\ 2-12;\ s.\ ab} + S_{HAPs\ 1-12;\ Ac} + S_{HAPs\ 2-12;\ Ac} \quad \text{Ecuación 4. 2}$$

$S_{HAPs\ 1-12;\ s.\ ab}$ y $S_{HAPs\ 2-12;\ s.\ ab}$ corresponden a la cantidad solubilizada experimentalmente del contaminante 1 desde la mezcla 12 y del contaminante 2 desde la mezcla 12, en la mezcla de surfactantes ab, respectivamente. $S_{HAPs\ 1-12;\ Ac}$ y $S_{HAPs\ 2-12;\ Ac}$ son las cantidades de cada HAPs que se solubiliza en agua.

La RSM puede ser determinada al igual que cuando se trabaja con surfactantes individuales y con mezclas de surfactantes, a partir de la pendiente de un gráfico de solubilidad uno de los contaminantes que conforman la mezcla de HAPs en función de la concentración del surfactante o de la mezcla de surfactantes total, por encima de la CMC. Luego se realizará lo mismo con el otro contaminante. De este modo y teniendo en cuenta la RSM en cada uno de estos casos, es posible evaluar la eficacia de un surfactante o mezcla de surfactantes para solubilizar un contaminante desde una mezcla de contaminantes. En la Figura 4.1A se muestra la eficacia de un surfactante no iónico para solubilizar un contaminante desde una mezcla de HAPs. En la Figura 4.1B se presenta la eficacia de una mezcla de surfactantes aniónico–no iónico variando la fracción molar del surfactante no iónico a una concentración total de surfactante constante para solubilizar un HAP desde una mezcla de contaminantes.

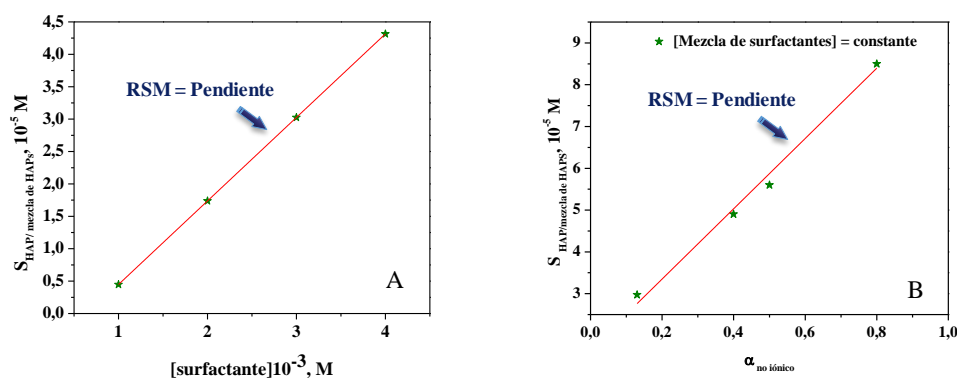


Figura 4.1. Solubilización de (A) un contaminante desde una mezcla de contaminantes en solución acuosa de un surfactante (B) un contaminante desde la mezcla de contaminantes en solución acuosa de la mezcla de surfactantes.

La $S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.\ a}^{exp}$ y la $S_{mezcla\ de\ HAPs,\ s.\ ab}^{exp}$ pueden ser comparadas con la $S_{HAPs,\ s.\ a}^{exp}$ y $S_{HAPs,\ s.\ ab}^{exp}$ respectivamente, determinadas en el capítulo anterior para saber si existe algún tipo de selectividad de los surfactantes hacia la solubilización en agua desde mezclas de los contaminantes.

4.1.2. Efecto de la interacción de los surfactantes en la solubilización de mezclas de HAPs

El efecto que provoca la interacción de los surfactantes en la mezcla se puede estudiar midiendo la solubilización de la mezcla de contaminantes en soluciones que contengan surfactantes individuales o mezcla de surfactantes y luego contrastando estos resultados con los respectivos cálculos teóricos. Este tipo de cálculos se aplica considerando que no hay interacción entre los contaminantes, es decir que sólo hay moléculas puras de los contaminantes en la mezcla estudiada. Se puede evaluar finalmente el efecto de mezclado de los surfactantes en la solubilización de la

mezcla de HAPs a partir de la diferencia obtenida en la solubilidad de los HAPs en surfactante o mezcla de surfactantes determinada experimentalmente con respecto a la solubilidad de la mezcla de HAPs calculada usando los modelos teóricos de solubilización. De esta forma, se puede determinar si hay efecto sinérgico en los sistemas.

4.1.3 Solubilización teórica de mezcla de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes

Para realizar el análisis de la solubilidad teórica de la mezcla de HAPs en surfactantes o en mezcla de surfactantes se propone una forma de cálculo teniendo en cuenta que no hay interacción entre estos contaminantes.

Entonces, se puede calcular el comportamiento teórico de la mezcla de HAPs en soluciones acuosas de surfactantes individuales, es decir, la cantidad de mezcla de contaminantes que debería ser solubilizada por el surfactante si no hay interacción entre los hidrocarburos. Esta debería ser igual a la cantidad del contaminante 1 que puede solubilizar el surfactante a ($S_{HAP1, s. a.}$) más la cantidad del contaminante 2 que pueden solubilizar las micelas de este surfactante a ($S_{HAP2, s. a.}$), más la cantidad del HAP₁ y HAP₂ que se solubiliza en agua ($S_{HAPs 1-12; Ac}$ y $S_{HAPs 2-12; Ac}$) como lo indica la ecuación 4.3 independientemente de que los contaminantes sean parte de una mezcla.

$$S_{mezcla HAPs, s. a.}^t = S_{HAP 1-12, s. a.} + S_{HAP 2-12, s. a.} + S_{HAPs 1-12; Ac} + S_{HAPs 2-12; Ac} \quad \text{Ecuación 4. 3}$$

Con respecto a la solubilización de la mezcla de HAPs en mezcla de surfactantes, se puede calcular la solubilidad teórica de cada contaminante por separado en cada uno de los surfactantes que integran la mezcla de surfactantes ($S_{HAP1, s. ab.}^t$ y $S_{HAP2, s. ab.}^t$), mediante las expresiones 4.4. y 4.5.

$$S_{HAP1, s. ab.}^t = S_{HAP1, s. a.} + S_{HAP1, s. b.} + S_{HAP1, Ac} \quad \text{Ecuación 4. 4}$$

$$S_{HAP2, s. ab.}^t = S_{HAP2, s. a.} + S_{HAP2, s. b.} + S_{HAP2, Ac} \quad \text{Ecuación 4. 5}$$

$S_{HAP1, s. a}$ corresponde a la solubilidad del contaminante 1 en el surfactante a que integra la mezcla de surfactantes, $S_{HAP1, s. b}$ es la solubilidad del contaminante 1 en el surfactante b que integra la mezcla de surfactantes y $S_{HAP1, Ac}$ es la cantidad de contaminante 1 que se solubiliza en agua. De manera similar se calcula la solubilización teórica del HAP₂ solubilizado en la mezcla de surfactantes.

4.1.4 Determinación de la afinidad de la mezcla de los HAPs por las micelas de surfactantes y de mezclas de surfactantes

Como se mencionó en el capítulo anterior, una alternativa para determinar la eficacia de un surfactante en la solubilización de un soluto está en calcular el coeficiente de partición micela-agua (K_m) que representa la afinidad de un determinado soluto dentro de la fase micelar. Sin embargo, cuando existe una mezcla de HAPs, el coeficiente de partición se calcula por separado para cada HAP que compone la mezcla de HAP.¹⁹ Para la solubilización de dos especies HAP₁ y HAP₂, la fracción molar del HAP₁ en la fase micelar, $X_{m\text{HAP}1}$, está dada por¹⁴

$$X_{m\text{HAP}1} = \frac{RSM_{\text{HAP}1}}{RSM_{\text{HAP}1} + RSM_{\text{HAP}2} + 1} \quad \text{Ecuación 4. 6}$$

Donde $RSM_{\text{HAP}1}$, $RSM_{\text{HAP}2}$ son, respectivamente, la relación de solubilización molar de los solutos (HAP₁ y HAP₂). Recordando la ecuación 3.6, para la mezcla de hidrocarburos, la expresión X_a , es decir, fracción molar del compuesto orgánico en la fase acuosa, varía sumándole en este caso los valores de RSM de los hidrocarburos que forman la mezcla. X_a se puede expresar como la ecuación 3.6 siendo V_m el volumen molar de agua igual a 0,01805 L mol⁻¹ a 25 °C.²⁰ Con estas expresiones, $K_{m\text{HAP}}$ para la solubilización de un contaminante en presencia de otro soluto se expresa como en la ecuación 4.7.¹⁴

$$K_{m\text{HAP}1} = \frac{RSM_{\text{HAP}1}}{S_{\text{CMC}} V_m (1 + RSM_{\text{HAP}1} + RSM_{\text{HAP}2})} \quad \text{Ecuación 4. 7}$$

Siendo, como ya se había mencionado $RSM_{\text{HAP}1}$ y $RSM_{\text{HAP}2}$ la relación de solubilización molar de los contaminantes 1 y 2 en la mezcla de HAP en una solución acuosa del mismo surfactante individual respectivamente y S_{CMC} la solubilidad del HAP Abajo estudio a la CMC. Lo mismo ocurre con el coeficiente de partición del HAP₂ en presencia del HAP₁ en la mezcla HAP₁₂, ($K_{m\text{HAP}2}$), dando como resultado, la ecuación 4.8¹⁴

$$K_{m\text{HAP}2} = \frac{RSM_{\text{HAP}2}}{S_{\text{CMC}} V_w (1 + RSM_{\text{HAP}2} + RSM_{\text{HAP}1})} \quad \text{Ecuación 4. 8}$$

4.2 Objetivos

En base a los resultados obtenidos y a los antecedentes expuestos anteriormente, se plantea como objetivo evaluar la selectividad de dos surfactantes de diferente naturaleza iónica hacia la solubilización de mezclas de HAPs, y por otro lado analizar la selectividad de la mezcla de los mismos surfactantes hacia la solubilización en agua de los contaminantes desde sus mezclas.

Como ya se mencionó, es muy importante el análisis de mezclas de contaminantes, ya que en el ambiente (agua, suelo), los mismos rara vez se encuentran de manera aislada.

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Sistemas en estudio

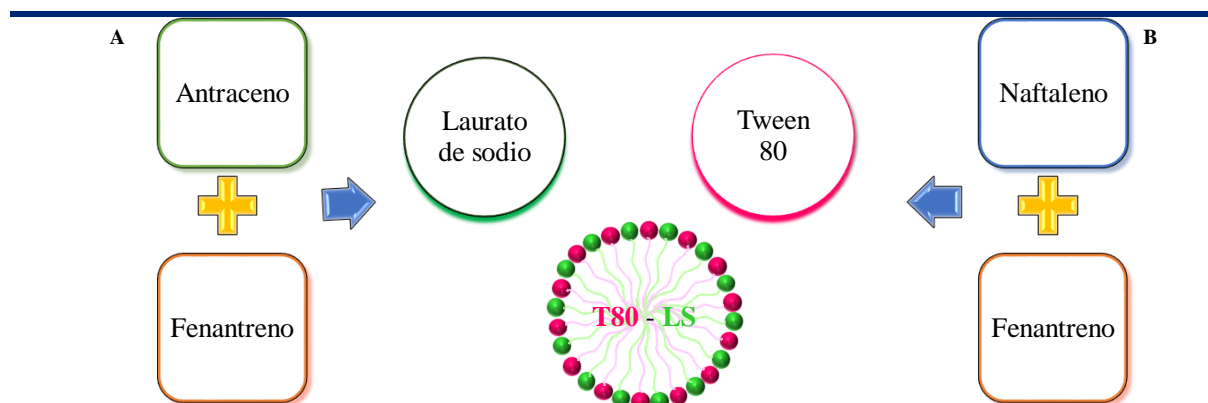
Los HAPs que se evaluaron fueron mezclas binarias de naftaleno- fenantreno y antraceno-fenantreno. Estos contaminantes presentan diferente cantidad de anillos en su estructura y diferente peso molecular (sus estructuras se muestran en la Tabla 3.1).

Se utilizaron dos tipos de surfactantes, entre ellos, uno de tipo no iónico (T80) y uno del tipo aniónico (LS, sus estructuras se presentan en la Tabla 3.2).

Este estudio persigue la búsqueda de obtención de efecto sinérgico en la solubilización de contaminantes desde mezclas de los mismos.

4.3.2 Solubilización de mezcla de HAPs en surfactantes individuales.

Se determinó la eficacia, RSM (ecuación 3.1), del surfactante no iónico T80 y del surfactante aniónico LS en la solubilización de dos tipos de mezclas de HAPs, por un lado, antraceno-fenantreno y por otro lado naftaleno-fenantreno en solución acuosa (Esquema 4.1). La RSM se obtuvo como la pendiente de un gráfico de solubilidad de uno de los contaminantes desde la mezcla de contaminantes, en función de la concentración de surfactante.



Esquema 4.1 Representación esquemática de las mezclas estudiadas (A) mezcla de antraceno -fenantreno (B) mezcla naftaleno -fenantreno en la solubilización de los surfactantes T80 y LS y la mezcla de los mismos.

4.3.2.1. Efecto del surfactante no iónico en la solubilización de mezclas de HAPs

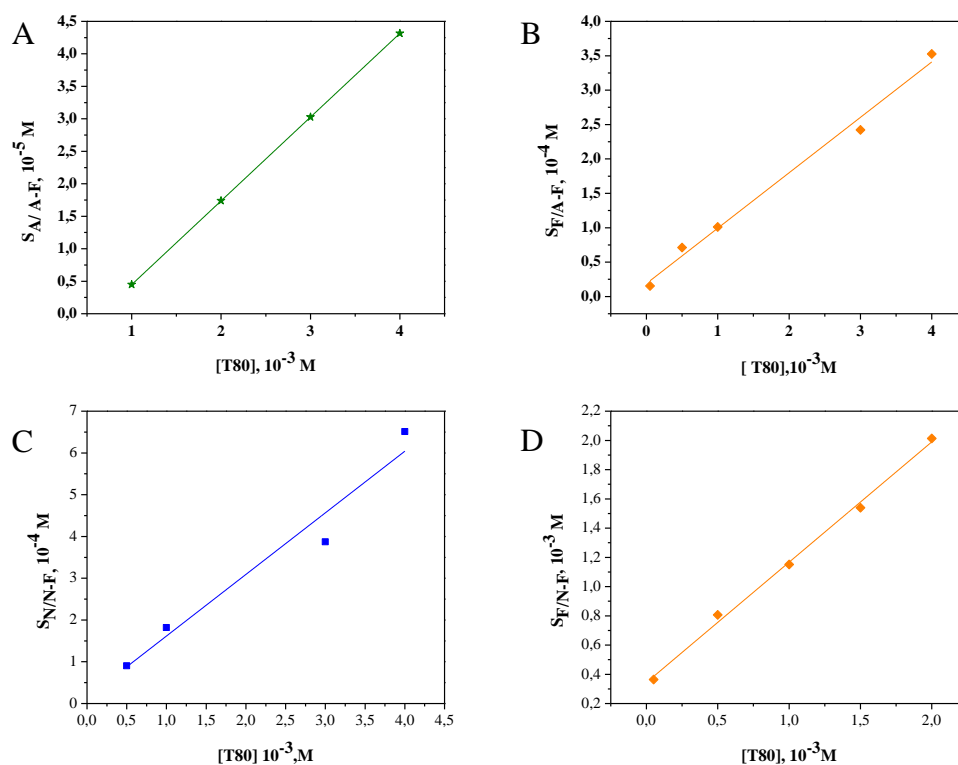
En la Tabla 4.1 se presentan los valores de RSM obtenidos a partir de los gráficos de solubilidad, allí se encuentran los valores para las mezclas antraceno-fenantreno y naftaleno-fenantreno por parte del T80 (Figura 4.2). En dicha Tabla se incluyen a modo de comparación los valores de RSM para

los contaminantes puros en el mismo surfactante. Cada error corresponde a la desviación estándar asociada a la pendiente, obtenida por el método de los cuadrados mínimos.

La solubilidad aparente de los contaminantes aumentó linealmente con la concentración del surfactante no iónico debido probablemente a la incorporación de los HAP en el interior de la micela, como ya se mencionó en el capítulo anterior. Los valores de RSM más altos se obtuvieron para la solubilización de los contaminantes desde la mezcla Naftaleno-Fenantreno. Sin embargo, estos valores en presencia de T80 son mucho menores que los obtenidos en los estudios de solubilidad de los contaminantes individuales, esto se puede deber a una competencia entre los dos contaminantes de la mezcla por los mismos sitios de solubilización dentro de las micelas. Con respecto al fenantreno, solubilizado, se encontró que el valor de RSM con T80 disminuye cuando este contaminante se encuentra formando parte de una mezcla con antraceno o naftaleno. Se observó que fenantreno presenta los valores más bajos de RSM cuando se encuentra mezclado con antraceno por parte de los dos surfactantes (Tabla 4.1).

Tabla 4.1		Valores de RSM en soluciones acuosas de surfactantes individuales. ^a	
HAPs	Mezcla de HAPs	RSM	
		T80	LS, 10 ⁻³
Antraceno	--	0,010 ± 0,003	0,40 ± 0,01
Antraceno	Antraceno – Fenantreno	0,0035 ± 0,0003	0,3 ± 0,2
Fenantreno	--	0,184 ± 0,003	11,0 ± 0,1
Fenantreno	Antraceno – Fenantreno	0,081 ± 0,004	5,3 ± 0,8
Naftaleno	--	0,24 ± 0,02	17,0 ± 0,2
Naftaleno	Naftaleno – Fenantreno	0,15 ± 0,03	44,4 ± 0,6
Fenantreno	Naftaleno – Fenantreno	0,087 ± 0,02	14,0 ± 0,2

^a Todos los experimentos están realizados en buffer borato de sodio pH 9,16 a 25,0 °C


Figura 4.2.

Solubilidad de (A) antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno (A/A-F) (B) fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno (F/A-F) (C) naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno (N/N-F) (D) fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno (F/N-F) en una solución acuosa de surfactante no iónico T80 a 25,0 °C. Buffer pH 9,16 ($Na_2B_4O_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M). Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Guha y colaboradores⁸ fueron unos de los pocos investigadores en estudiar la solubilización mejorada de naftaleno, fenantreno, y pireno desde mezclas binarias y ternarias, en soluciones micelares de Tritón X-100. La solubilidad de naftaleno se redujo ligeramente en la presencia de fenantreno y/o pireno. Un efecto sinérgico se observó sobre la solubilización del fenantreno en presencia de diferentes cantidades de naftaleno. La solubilidad del fenantreno mejoró enormemente en ambas mezclas binarias y en la mezcla ternaria. La solubilidad del pireno en cambio, se redujo ligeramente en presencia de naftaleno, permaneció inalterable en presencia de fenantreno, y se incrementó significativamente en la mezcla ternaria. Los aumentos en los valores de coeficiente de partición obtenidos en aquel trabajo fueron explicados por la partición del solubilizante en la interfase micelar entre el núcleo y el agua, lo que cambia la energía libre interfacial y aumenta efectivamente el volumen del núcleo, llevando a un mayor potencial de solubilización.

Se calculó la solubilidad teórica aplicando la ecuación 4.3, y se comparó con los valores de solubilidad experimental, como se muestra en la Figura 4.3. A partir de este gráfico, se pueden comparar los valores de RSM obtenidos de esta manera en cada uno de los experimentos, es decir,

cuando se estudió el contaminante individual y cuando se estudió el contaminante a partir de la mezcla de los mismos. En esta figura se puede comparar el antraceno y el fenantreno cuando se estudiaron de manera individual, los valores de RSM obtenidos en los experimentos de solubilidad de la mezcla antraceno-fenantreno por efecto del T80 y los valores de solubilidad calculada (teórica) y experimental, se debe recordar que estos dos valores corresponden a la suma de la solubilidad de los HAPs individuales por el T80 y la suma de la solubilidad experimental obtenida para cada uno de los HAP cuando están en presencia del otro por efecto del T80, respectivamente (Ecuaciones 4.3 y 4.1); se puede observar que para los dos contaminantes individuales la solubilidad aparente disminuye cuando éstos están formando la mezcla de contaminantes, y la solubilidad experimental es menos de la mitad de lo que se esperaría que la mezcla solubilizara, según lo calculado. Lo que se observa en la Figura 4.3, para la mezcla naftaleno-fenantreno es una tendencia similar comparada con la anterior mezcla de HAPs, en todos los casos la solubilidad aparente disminuye cuando los contaminantes están mezclados. La explicación de estos resultados podría ser que los dos contaminantes de la mezcla compiten entre sí por una ubicación en el interior de la micela, que conduce a la disminución de la solubilidad de un soluto en presencia de otro de acuerdo con los estudios informados. Se calculó el porcentaje de RSM que se debería solubilizar de cada uno de los HAPs al estar en una mezcla, tomando como 100% el valor de RSM del HAP individual, respecto a lo observado experimentalmente desde las mezclas, estos porcentajes fueron 35%, 44%, 63% y 47% para antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno, fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno, naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno, y fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno respectivamente. Puede observarse que la solubilización de antraceno es la que se ve más inhibida por la presencia de otro hidrocarburo.

Masrat y colaboradores estudiaron la solubilización de una mezcla de naftaleno-pireno por efecto de diferentes surfactantes, encontrando que pueden ocurrir tres fenómenos durante la cosolubilización de naftaleno y pireno dentro de las micelas:¹⁴

1. El naftaleno podría competir con éxito por la región empalizada /capa interfacial y reemplazar al pireno en esta región debido a su naturaleza más polar y menor volumen molecular. Este comportamiento ya ha sido observado en estudios anteriores para naftaleno, el cual compitió exitosamente con fenantreno por la capa empalizada de mezclas multicomponentes en fase no acuosa.²¹ Este no sería el caso observado en nuestros resultados.

2. El pireno al ser más hidrofóbico, podría desplazar al menos hidrofóbico naftaleno del núcleo micelar, reduciendo así su solubilidad dentro de la micela, de acuerdo con estudios previos de algunos colorantes y otros solubilizados.²²⁻²⁴

3. El naftaleno solubilizado en la capa micelar externa (capa de empalizada) estaría disminuyendo la tensión interfacial, permitiendo que el volumen del núcleo aumente y por lo tanto resulte en un aumento en la solubilización del pireno de conformidad con estudios anteriores sobre otros compuestos solubilizados incluyendo algunos HAPs.²²⁻²⁴ Tampoco esto se observa en este sistema.

En el trabajo de Masrat durante la cosolubilización, la solubilización de naftaleno (valores de RSM) fue mayor en Brij-56 que en Brij-30. Una explicación para este hecho fue que naftaleno y pireno se solubilizan predominantemente en el núcleo o interior de la micela, pero cerca de la interfase debido al efecto menos significativo de las interacciones de puentes de hidrógeno entre los grupos oxietilenos presentes en la capa empalizada de la micela y los electrones π de los HAPs. Esto da como resultado una solubilización competitiva de los dos HAP para los mismos sitios de solubilización que conducen a una disminución en el valor de RSM comparados con los de la solubilización de un solo soluto. Esto conduce a la opción de que solo la competencia de dos HAPs solubilizados dentro del núcleo de micelas es significativa. Por lo tanto, debido a la cosolubilización de naftaleno en el núcleo micelar, existe una disminución neta en la solubilización de pireno. Esta disminución es más prominente en Brij-56 debido a su mayor número de agregación (141) y, por lo tanto, a un mayor volumen de núcleo micelar.¹⁴ Esto da como resultado una solubilización competitiva de los dos HAPs para los mismos sitios de solubilización, que conducen a una disminución en el valor de RSM para ambos HAPs comparados con los de la solubilización de solutos individuales. Para el caso del pireno desde la mezcla naftaleno-pireno, el desplazamiento de pireno por naftaleno desde la cubierta hidrofílica externa es de menor magnitud y, por lo tanto, aumenta de forma asociada al volumen de núcleo micelar. Esto lleva a la opción de que sólo la competencia de dos HAP solubilizados dentro del núcleo de las micelas tiene importancia. Por lo tanto, debido a la cosolubilización de naftaleno en el núcleo micelar, existe una disminución neta en la solubilización de pireno. En este trabajo puede estar ocurriendo lo mismo con los HAPs estudiados, dando como resultado una disminución de la solubilización de los HAPs en la mezcla con respecto a la solubilización de los solutos individuales.

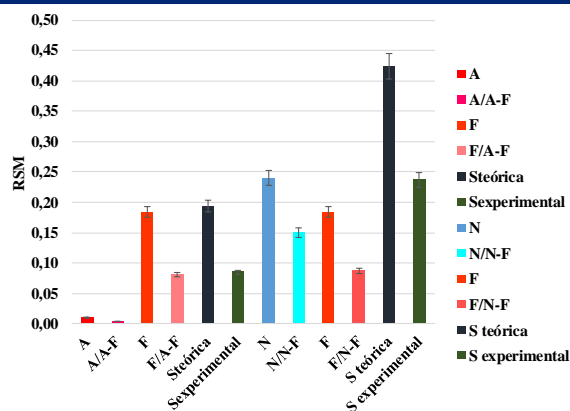


Figura 4.3. Valores de RSM para las mezclas antraceno-fenantreno y naftaleno-fenantreno con sus respectivos valores de solubilidad teórica y experimental calculadas en solución acuosa de T80.

En estudios realizados para la mezclas de naftaleno- fenantreno se ha reportado que la solubilización de fenantreno se redujo en presencia de naftaleno en comparación con los sistemas que contenían fenantreno solo por efecto de los surfactantes no iónicos Brij-35 y T80,²¹ de manera similar a los resultados obtenidos en esta tesis. Se observó que los valores de solubilidad teórica son mayores que la solubilidad experimental indicando un efecto inhibitorio en la solubilización de HAPs desde sus mezclas.

Las mismas conclusiones se obtienen de la comparación de los valores de solubilidad aparente obtenidos para cada uno de los contaminantes y las mezclas estudiadas a una concentración fija de T80 de 3 mM (Figura 4.4), donde se observa que la solubilidad aparente de los HAP disminuye al estar en presencia de una mezcla, como ya se mencionó.

Un detalle a mencionar que se observa claramente de este grafico es que la solubilización de fenantreno se ve más afectada por la presencia de naftaleno que de antraceno, quizás probablemente debido a que antraceno es menos soluble en agua, con lo cual su concentración es menor y por lo tanto compite menos por los sitios de solubilización en la micela.

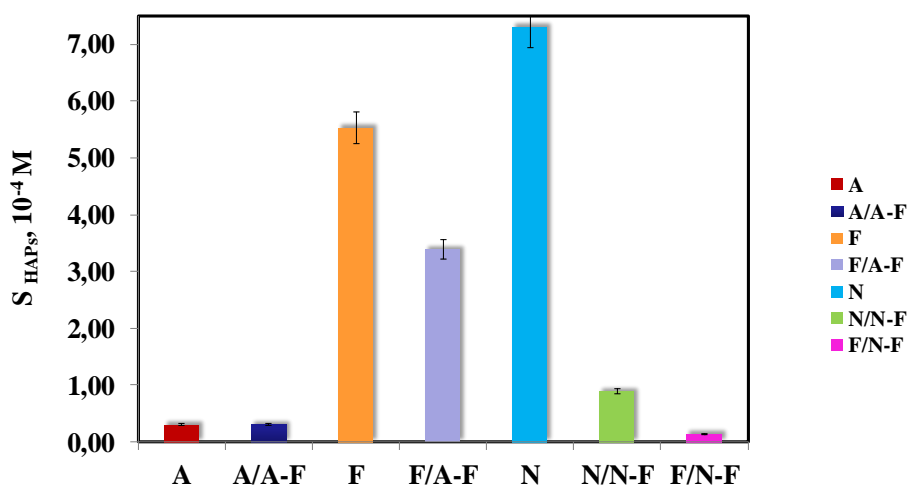


Figura 4.4. Solubilización de los contaminantes estudiados: antraceno, fenantreno, naftaleno y las mezclas antraceno-fenantreno y naftaleno-fenantreno en T80 a una concentración 3 mM. Buffer pH 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 25,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

4.3.2.2. Efecto del surfactante aniónico en la solubilización de HAPs

Se determinó la capacidad de solubilización del surfactante aniónico LS sobre las mismas dos mezclas de contaminantes estudiadas anteriormente antraceno-fenantreno y naftaleno-fenantreno.

Los gráficos de solubilidad aparente de las mezclas en función de la concentración de LS se muestran en la Figura 4.5, a partir de los mismos se obtuvieron los valores de RSM (Tabla 4.1).

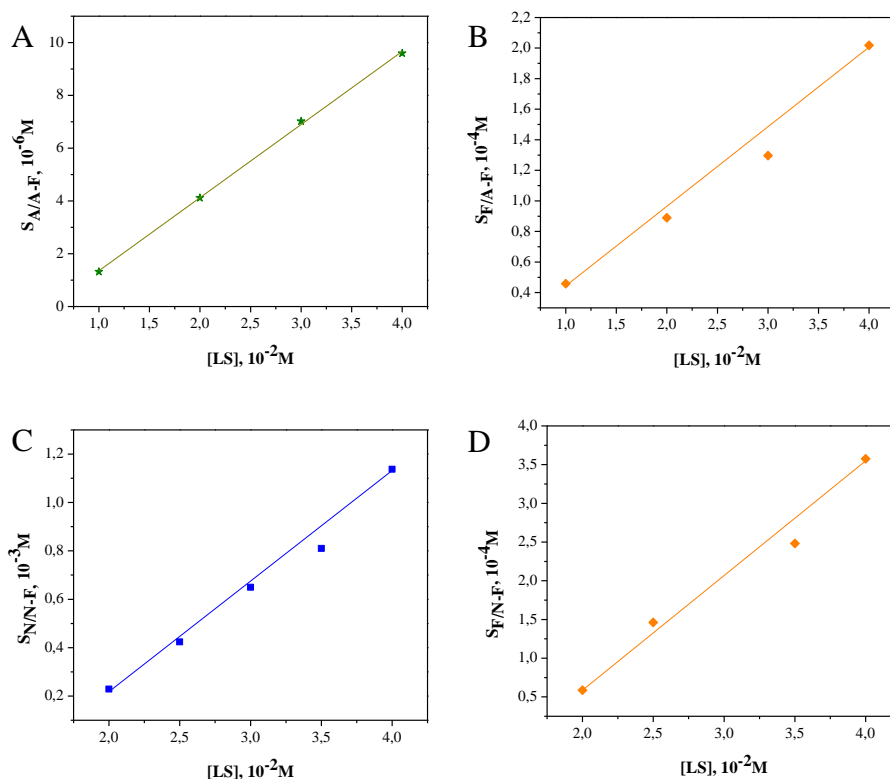


Figura 4.5.

Solubilidad de (A) antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno (B) fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno (C) naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno (D) fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno en solución acuosa de LS. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 25,0 °C. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Los valores de RSM para antraceno y fenantreno desde su mezcla son menores a los reportados en la sección anterior en estudios de solubilidad de contaminantes individuales. Sin embargo, los valores de RSM más altos fueron obtenidos para naftaleno y fenantreno desde la mezcla de ambos, siendo estos valores mayores que los de la solubilización de los contaminantes individuales. (Figura 4.6).

Las diferencias encontradas entre lo calculado a partir de la solubilización de los hidrocarburos por los surfactantes individuales como si estuvieran solos ($S_{\text{mezcla HAPs, s. a.}}^t$) y la calculada a partir de la realmente solubilizada ($S_{\text{mezcla HAPs, s. a.}}^{\text{exp}}$) arrojan diferencias del 73% para antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno, 48% para fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno, 261% para naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno, y 127% para fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno respectivamente.

Los resultados obtenidos de la mezcla antraceno-fenantreno pueden explicarse considerando la situación 1 planteada por Masrat en su trabajo.¹⁴ A continuación, se describen algunos ejemplos de

la literatura donde se utilizaron surfactantes aniónicos para la solubilización de mezclas de HAPs. Rouse y colaboradores,⁹ encontraron en una mezcla de los contaminantes fluoreno-fenantreno, que la solubilidad aparente del fluoreno era significativamente influenciada por un efecto competitivo (inhibidor) con fenantreno, y lo mismo se observó para fenantreno en presencia del surfactante aniónico disulfonato de sodio difenilóxido con un resto alquilo de 16 carbonos. Al parecer estos dos HAPs, con propiedades físicas y termodinámicas similares, competirían hasta cierto punto por un lugar común en la micela. A pesar de la gran diferencia en los puntos de ebullición de fenantreno y fluoreno, sus puntos de fusión son casi los mismos, lo que sugiere que el punto de fusión podría servir como un descriptor del comportamiento de solubilización competitiva.

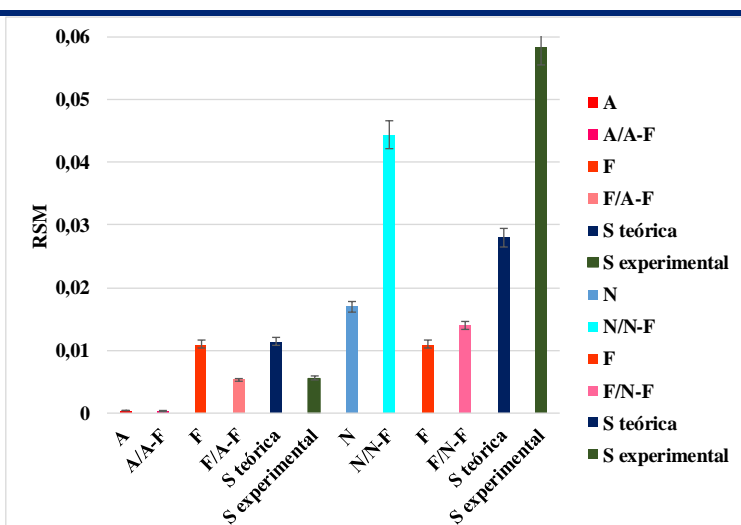


Figura 4.6.

Valores de RSM para las mezclas antraceno-fenantreno y naftaleno-fenantreno con sus respectivos valores de solubilidad teórica y experimental en solución acuosa de LS.

Para una mezcla de HAPs compuesta por naftaleno-pireno, y usando como surfactante aniónico el dodecil sulfato de sodio, se encontró que el naftaleno solubilizado en el núcleo de la micela mostró una drástica disminución en el valor de RSM debido a su sustitución por el pireno en el núcleo, ya que este último es más hidrofóbico. En el caso del pireno, en cambio al estar en contacto con el naftaleno, el valor de RSM aumentó, indicando un ligero aumento en el volumen del núcleo micelar debido a una pequeña cantidad de naftaleno presente en la capa de la empalizada de la micela.¹⁴

Siguiendo con los resultados de nuestro trabajo, a diferencia de los resultados obtenidos por Rouse, se encontró un aumento en los valores de RSM en la mezcla naftaleno-fenantreno en presencia de LS, indicando por el contrario un efecto sinérgico. Este podría estar dado por una disminución de la tensión interfacial de la micela por inclusión de naftaleno en la capa externa lo que originaría un aumento del núcleo micelar, y así una mejor incorporación de fenantreno (más hidrofóbico), en una manera similar a lo descrito en la literatura.²²⁻²⁴

4.3.3 Comparación del efecto de los diferentes surfactantes puros sobre la solubilización de las mezclas de HAPs

A partir de los resultados informados en la Tabla 4.1 se puede hacer una comparación de la eficacia de los surfactantes utilizados evaluando los RSM obtenidos para la solubilización de naftaleno y fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno, así como de antraceno y fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno. En la Figura 4.7 se observan los mismos resultados, pero comparando ambos surfactantes. La tendencia de la solubilización en el T80 fue que naftaleno se solubiliza más desde la mezcla naftaleno-fenantreno que fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno. A su vez, la solubilización de fenantreno fue menor desde la mezcla antraceno-fenantreno y antraceno fue el menos solubilizado. En el caso de LS, se encontró la misma tendencia. El T80 es el más eficiente de los surfactantes para solubilizar HAPs desde sus mezclas, mientras que el surfactante aniónico presenta la menor capacidad de solubilización. En el caso de micelas de un surfactante aniónico, las moléculas de HAP se solubilizarían predominantemente en el interior de las mismas debido a la repulsión entre los electrones π de los HAP y la carga negativa de la cabeza micelar. Como tales, los HAP se solubilizan menos en estas micelas, dando como resultado valores más bajos de RSM.¹⁴

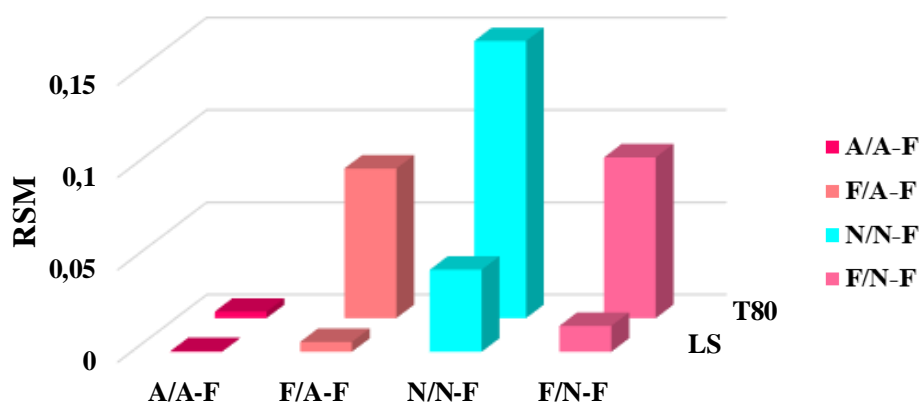


Figura 4.7

Valores de RSM en soluciones acuosas de los surfactantes T80 y LS para la solubilización de los contaminantes desde las mezclas naftaleno-fenantreno, y antraceno-fenantreno. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M).

Al comparar estos valores con los RSM obtenidos para cada contaminante individual, la tendencia es la misma, siendo el T80 el más eficiente de los surfactantes (Figura 4.8). Se encontró la solubilización más alta para los componentes de la mezcla naftaleno-fenantreno.

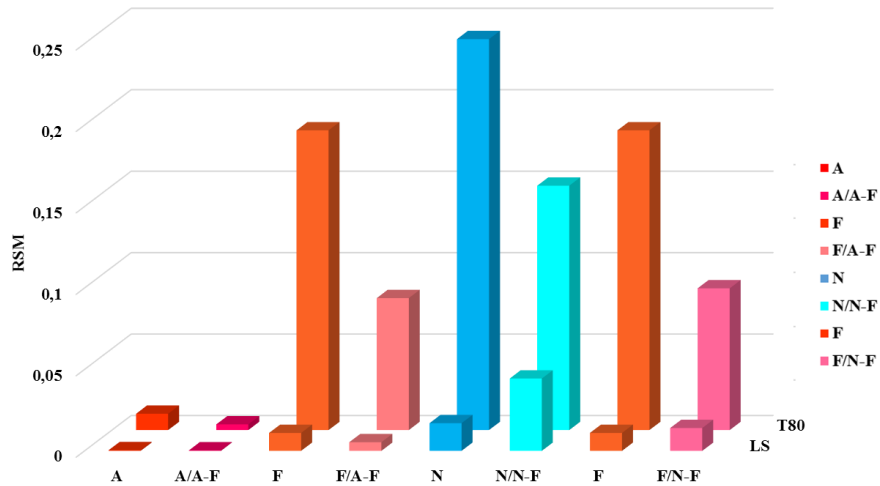


Figura 4.8 Valores de RSM en soluciones acuosas de los surfactantes T80, y LS para la solubilización de los HAPs individuales y las mezclas correspondientes (mezcla antraceno-fenantreno y mezcla naftaleno-fenantreno) Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M).

Se determinó el valor de solubilidad relativa (S_{HAP}^*) de cada hidrocarburo desde las mezclas naftaleno-fenantreno, y antraceno-fenantreno en presencia de soluciones micelares. Este parámetro indica el número de veces en que la solubilidad es aumentada por el surfactante respecto a la solubilidad en agua. En las Figuras 4.9 y 4.10 se muestran las S_{HAP}^* obtenidas para cada hidrocarburo en cada surfactante individual desde las mezclas naftaleno-fenantreno, y antraceno-fenantreno. Para ello los valores de solubilidad obtenidos para cada contaminante desde las mezclas se dividió por su solubilidad en buffer como se indica en la ecuación 3.3.

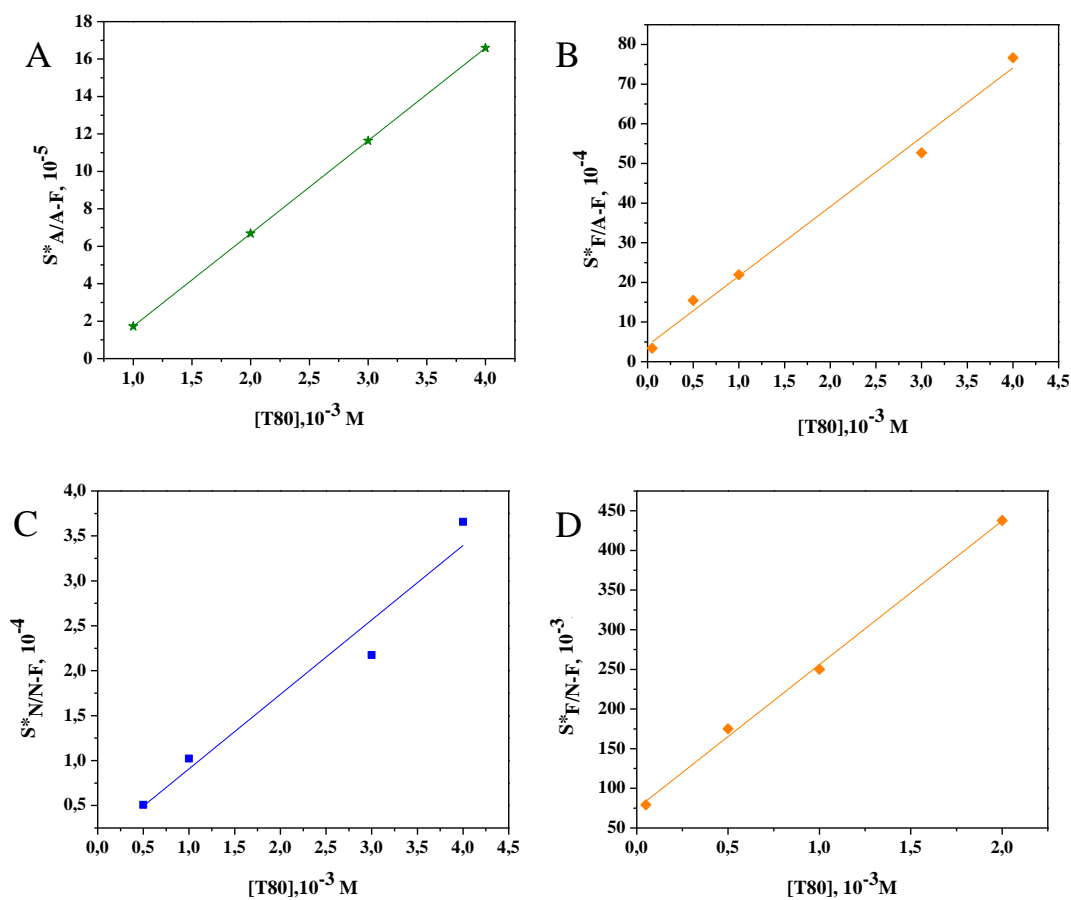


Figura 4.9.

Solubilidad relativa de (A) antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno (B) fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno (C) naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno (D) fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno en solución acuosa de surfactante no iónico T80.

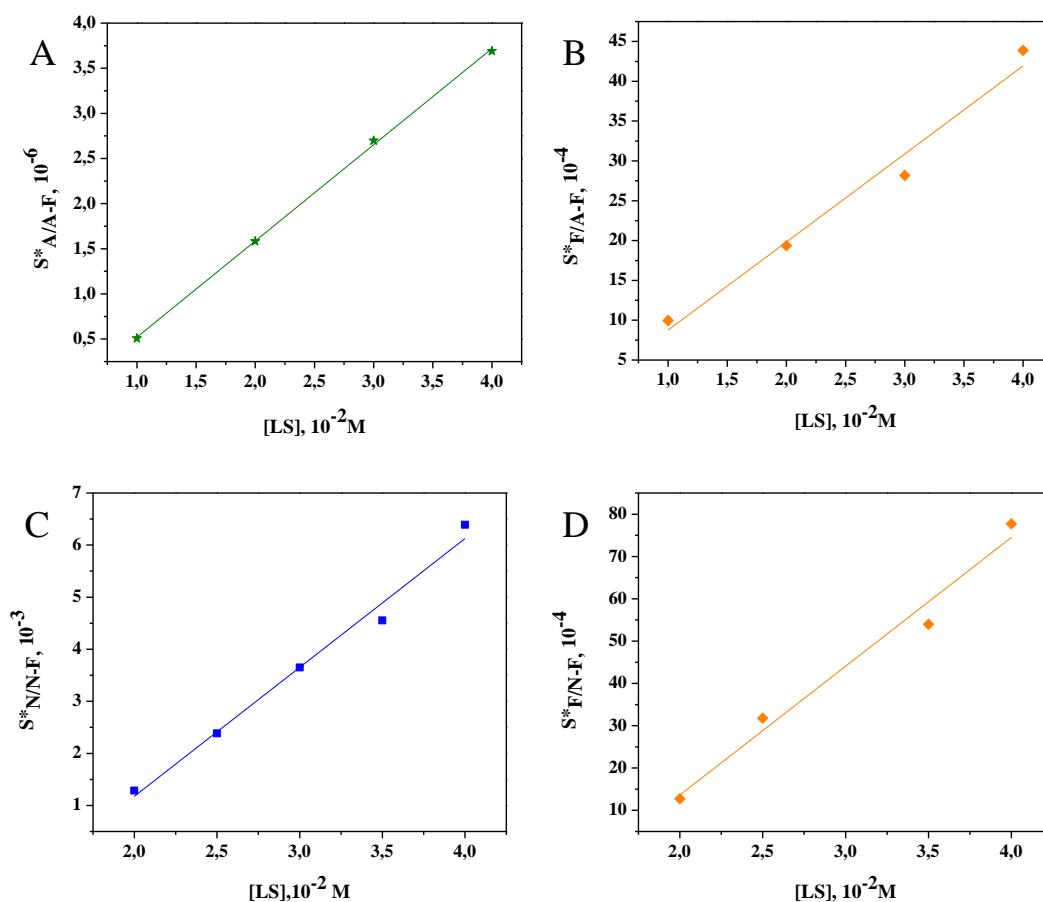


Figura 4.10.

Solubilidad relativa de (A) antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno (B) fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno (C) naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno (D) fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno en solución acuosa de surfactante aniónico LS.

A partir de estos gráficos, se obtuvo el valor de RSM^* , el cual da idea de la afinidad de la mezcla de HAP por la micela. El compuesto que sufre menor incremento en su solubilización con respecto a agua en T80 es naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno, relacionando esto probablemente a que este compuesto es el más soluble en agua. Cuando se usa LS, el compuesto menos solubilizado en cambio es antraceno desde su mezcla con fenantreno, como se muestra en la Tabla 4.2 y en la Figura 4.11 para los surfactantes estudiados. Como puede observarse de la tabla y la figura, fenantreno es el compuesto que se ve favorecido en su solubilización particularmente por T80 cuando está en presencia de otro contaminante.

Tabla 4.2. Valores de RSM* en soluciones acuosas de T80, y LS

HAPs	Mezcla de HAPs	RSM*, 10 ³	
		T80	LS
Antraceno	Antraceno– Fenantreno	1,3 ± 1,0	0,11 ± 0,2
Fenantreno	Antraceno– Fenantreno	17,6 ± 0,6	1,1 ± 3,0
Naftaleno	Naftaleno- Fenantreno	0,8 ± 0,1	0,2 ± 1,7
Fenantreno	Naftaleno– Fenantreno	18,9 ± 0,9	0,3 ± 1,1

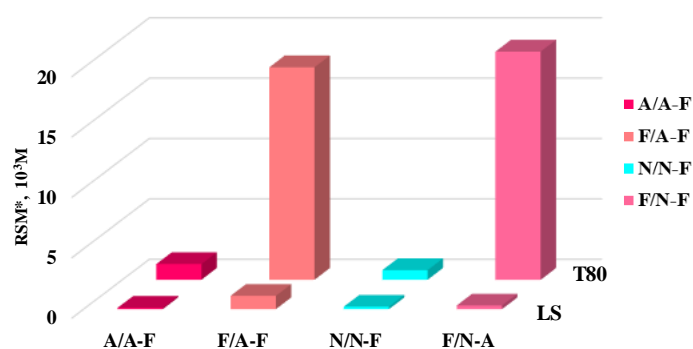


Figura 4.11. Valores de RSM* para la solubilización de los contaminantes desde sus mezclas por distintos surfactantes.

Considerando que el aumento de la solubilidad de las mezclas de HAPs en soluciones de surfactantes se da principalmente por la partición del contaminante en el núcleo de las micelas, es de esperar que la eficacia de los surfactantes para solubilizar los HAPs dependa fuertemente del tamaño de los mismos.

Los valores de K_m calculados para cada contaminante desde las mezclas se muestran en la Tabla 4.3, donde además se incluye los coeficientes de partición octanol - agua ($K_{o/w}$) para cada hidrocarburo. Este último parámetro ($\log K_{o/w}$) es la constante de partición del HAP entre octanol y la fase acuosa, y se recurre a éste como una medida del carácter hidrofóbico de las moléculas orgánicas.²⁵

Tabla 4.3. Valores de constantes de afinidad micelar de los hidrocarburos a partir de sus mezclas en sistemas micelares

HAPs	Mezcla de HAPs	$\log K_m$			$\log K_{o/w}^{25}$
		T80	LS	T80–LS $\alpha_{T80}=0,2^a$	
Antraceno	Antraceno– Fenantreno	6,58	3,90	0,82	4,54
Fenantreno	Antraceno– Fenantreno	6,59	3,62	1,56	4,57
Naftaleno	Naftaleno– Fenantreno	6,55	4,12	3,64	3,36
Fenantreno	Naftaleno– Fenantreno	5,51	4,21	1,13	4,57

^a [T80-LS]=2,3×10⁻² M

Como ya se ha mencionado, la partición de un compuesto dado solubilizado en la fase micelar, en general aumenta a medida que aumenta el valor de $K_{o/w}$. En este caso, ocurrió lo mismo para los contaminantes desde las mezclas solubilizadas por el surfactante no iónico T80; se encontraron los valores más bajos de $\log K_m$ para la mezcla T80-LS. Los valores de $\log K_m$ para T80 son mayores que los valores correspondientes a otros surfactantes, lo que indica mayor asociación de los hidrocarburos con el surfactante no iónico. La mayoría de los valores obtenidos de K_m para los surfactantes estudiados y $K_{o/w}$ tienen una relación lineal cuando se correlacionan varios HAP.⁵ Como los valores de $K_{o/w}$ de los hidrocarburos seleccionados siguen el orden: fenantreno \approx antraceno > naftaleno (Tabla 4.3), se puede inferir que el fenantreno que está presente en ambas mezclas es más propenso a solubilizarse en la región central de la micela que el naftaleno y el antraceno, como lo describió Liang y colaboradores.¹⁶ Ellos encontraron resultados similares utilizando dos mezclas de HAPs, por un lado naftaleno-fenantreno y por otro fenantreno-fluoreno por efecto del Dodecil sulfato de sodio.

Los valores de K_m para T80 son superiores a los valores correspondientes a LS, indicando una mayor asociación de los hidrocarburos con el surfactante no iónico, que además tiene mayor largo de cadena. Esto coincide con lo informado acerca del orden de potencia solubilizante para los solutos orgánicos por micelas, que en general sigue el orden: surfactantes no iónicos > catiónicos > aniónicos que tienen la misma longitud de cadena no polar.²⁶

4.3.4 Solubilización de mezcla de HAPs en mezcla de surfactantes

Como ya fuera mencionado, se cuantificó la eficacia de la mezcla constituida por T80 y LS para la solubilización de dos tipos de mezclas de HAPs, por un lado, antraceno-fenantreno y por otro lado naftaleno-fenantreno en solución acuosa (Esquema 4.1).

La RSM se obtuvo de la pendiente de un gráfico de solubilidad de uno de los contaminantes desde la mezcla de HAPs en función de la concentración de la mezcla de surfactante, como se indica en la sección 4.1.1 (Tabla 4.4). La solubilidad experimental de la mezcla de HAPs en la solución que contiene la mezcla de surfactantes se determinó utilizando las ecuaciones 4.1 y 4.2, y la solubilidad teórica se calculó como se describe en la sección 4.1.3 (ecuaciones 4.4 y 4.5). Los experimentos se realizaron variando la fracción molar y manteniendo constante la misma concentración total de surfactante ($[\text{Surfactante}]_{\text{Total}} = 2,3 \times 10^{-2} \text{M}$).

La solubilidad aparente de los contaminantes aumentó linealmente con la concentración de la mezcla de surfactantes (Figura 4.12). Los valores de RSM más altos se observaron en los contaminantes de la mezcla naftaleno-fenantreno (Tabla 4.4).

HAPs	Mezcla de HAPs	RSM para T80-LS
Antraceno	Antraceno– Fenantreno	$0,119 \pm 0,06$
Fenantreno	Antraceno– Fenantreno	$0,52 \pm 0,06$
Naftaleno	Naftaleno– Fenantreno	$2,4 \pm 0,2$
Fenantreno	Naftaleno– Fenantreno	$1,4 \pm 0,2$

^a. Buffer borato de sodio pH 9,16, 25,0 °C.

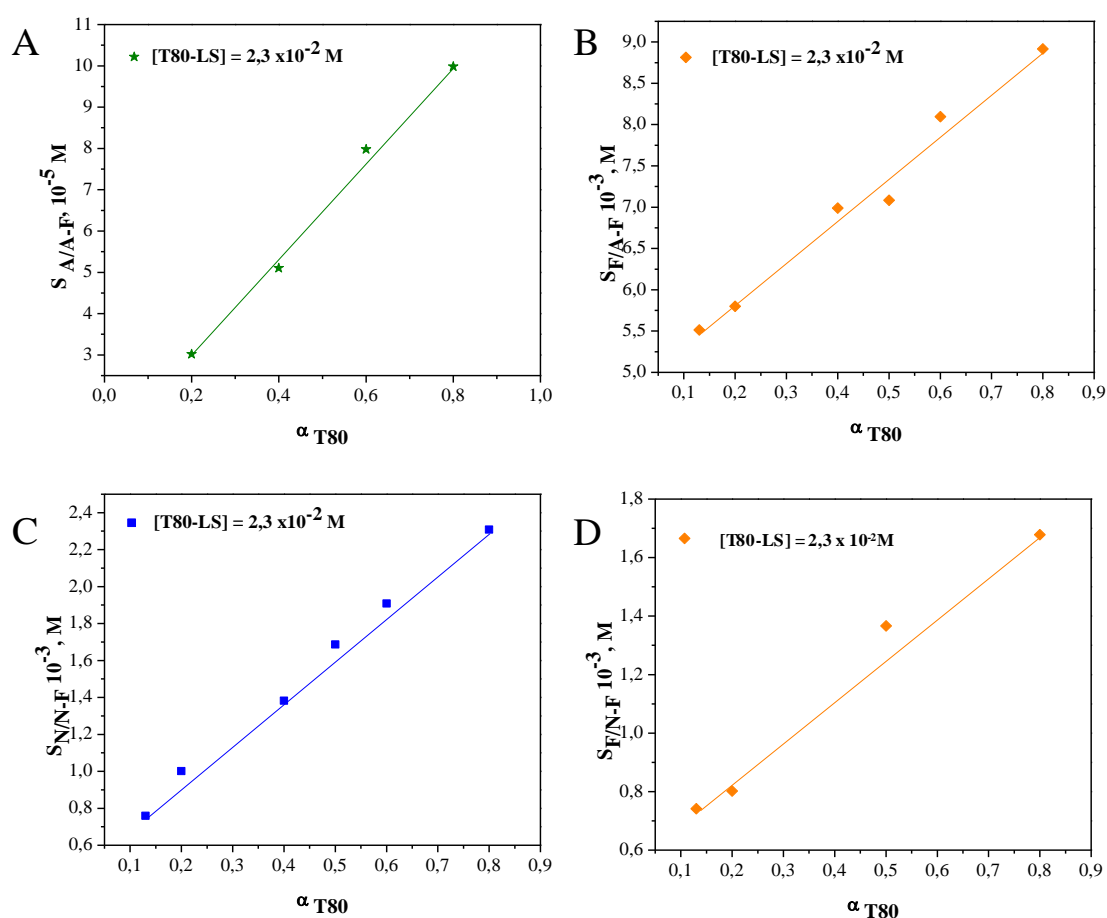


Figura 4.12.

Solubilidad de (A) antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno (B) fenantreno desde la mezcla antraceno-fenantreno (C) naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno (D) fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno solución acuosa de mezcla de surfactantes no iónico-aniónico T80-LS a 25,0 °C. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M). Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

Teniendo en cuenta que en nuestro grupo de investigación existían algunos antecedentes donde se encontró efecto sinérgico para la solubilización de naftaleno y fenantreno por la mezcla T80-LS

a una $\alpha_{T80} = 0,13$,²⁰ se tomaron los valores obtenidos de la solubilización de HAPs desde sus mezclas a esta fracción molar, donde la $[T80] = 3 \text{ mM}$ y la de $[LS] = 20 \text{ mM}$. De esta manera se realizaron comparaciones con los obtenidos a esas mismas concentraciones por los surfactantes individuales, tanto hacia la solubilización de los HAPs individuales como desde sus mezclas, como se muestra en la Figura 4.13.

Allí se observa que los valores de solubilización de cada contaminante desde las mezclas antraceno-fenantreno y naftaleno-fenantreno en presencia de la mezcla de surfactantes son menores que los correspondientes a los contaminantes individuales, indicando que el sistema de surfactantes mixto es menos eficiente para solubilizar estos contaminantes desde sus mezclas.

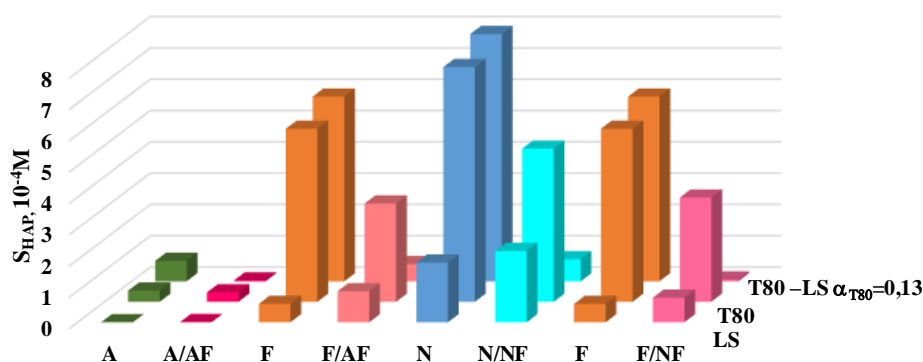


Figura 4.13.

Valores de solubilización de los HAPs individuales y sus mezclas (mezcla antraceno-fenantreno y mezcla naftaleno-fenantreno) en soluciones acuosas de $[T80] = 3 \text{ mM}$, $[LS] = 20 \text{ mM}$ y una mezcla de igual concentración y $\alpha_{T80} = 0,13$. Buffer pH 9,16 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 25,0 °C.

Este efecto inhibitorio observado, es más intenso para el antraceno cuando se encuentra en presencia de fenantreno, y es menos relevante para el naftaleno desde la mezcla naftaleno-fenantreno. Con respecto a fenantreno desde ambas mezclas este efecto es intermedio. Al comparar las dos mezclas de contaminantes estudiadas se observa que la mezcla en la que se observaron los mejores resultados es la mezcla naftaleno-fenantreno. Respecto a la mezcla de surfactantes se observa un efecto inhibitorio cuando los contaminantes están desde mezclas de los mismos.

Liang y colaboradores encontraron que la solubilización de una mezcla naftaleno-fenantreno sufrió un efecto sinérgico durante la cosolubilización en micelas de Tritón X 100- SDS, el cual aumenta y luego disminuye al aumentar las relaciones molares de SDS, alcanzando el valor máximo de incremento (28% para naftaleno y 51% para fenantreno) a una relación molar de mezcla de 4/1,

incluso mayor que la obtenida con TX-100 puro (21% para naftaleno y 38% para fenantreno).¹⁶ Lamentablemente, en este trabajo no se observó el mismo efecto.

Los posibles sitios de solubilización de diferentes solutos dentro de las micelas, asociados con las propiedades fisicoquímicas de los solutos y las características micelares, pueden determinar los efectos de la cosolubilización. Suponiendo que dos solutos podrían solubilizarse tanto en la capa externa como en el núcleo de las micelas, pueden existir dos condiciones: (i) si tienen hidrofobicidad significativamente diferente, los solutos en la región de la cubierta pueden disminuir la tensión interfacial permitiendo que el volumen del núcleo aumente^{8,13} para la solubilización de más de un soluto. Como resultado de esto, aumenta la solubilidad de ambos compuestos, que conforman la mezcla de contaminantes (ii) mientras que, si tienen propiedades similares, como antraceno-fenantreno, su solubilidad puede disminuir debido a la competencia por los mismos sitios de solubilización.

4.4 Conclusiones

La solubilización de los contaminantes desde sus mezclas mediante el surfactante no iónico T80 se reduce en comparación con los sistemas de un solo contaminante, mientras que con el surfactante aniónico LS se aumenta en comparación con los sistemas de un solo contaminante.

La selectividad de los surfactantes hacia un contaminante desde una mezcla de HAPs es mayor cuanto menor es la solubilidad del mismo en el medio.

No se encontró efecto sinérgico por parte de las mezclas de surfactantes, resultando menos eficientes que los surfactantes individuales. Por este motivo no se procedió a estudiar otras mezclas de surfactantes.

4.5 Referencias

- (1) Wei, J.; Huang, G.; Yu, H.; An, C. *Chem. Eng. J.* **2011**, *168*, 201–207.
- (2) Chatterjee, S.; Chatterjee, T.; Woo, S. H. *Chem. Eng. J.* **2010**, *163*, 450–453.
- (3) Ansari, W. H.; Fatma, N.; Panda, M. *Soft Matter* **2013**, *9*, 1478–1489.
- (4) Dar, A. A.; Rather, G. M.; Das, A. R. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 3122–3132.
- (5) Edwards, D. A.; Luthy, R. G.; Liu, Z. *Environ. Sci. Technol.* **1991**, *25*, 128–133.
- (6) Wei, J.; Huang, G.; Zhu, L.; Zhao, S.; An, C.; Fan, Y. *Chemosphere* **2012**, *89*, 1347–1353.
- (7) Zhou, W.; Zhu, L. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2005**, *255*, 145–152.
- (8) Guha, S.; Jaffé, P. R.; Peters, C. A. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 930–935.
- (9) Rouse, J. D.; Morita, T.; Furukawa, K.; Shiau, B.-J. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2008**, *325*, 180–185.
- (10) Lan Chun, C.; Lee, J. J.; Park, J. W. *Environ. Pollut.* **2002**, *118*, 307–313.
- (11) Yang, X.; Lu, G.; Wang, R.; Xie, Y.; Guo, C.; Yi, X.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.* **2015**, *274*, 84–93.
- (12) Liang, X.; Guo, C.; Wei, Y.; Lin, W.; Yi, X.; Lu, G.; Dang, Z. *Chemosphere* **2016**, *144*, 583–590.
- (13) Nagarajan R., Chaiko M.; Ruckenstein E.; *J. Phys Chem* **1984**, *88*, 2916–2922.
- (14) Masrat, R.; Maswal, M.; Dar, A. A. *J. Hazard. Mater.* **2013**, *244*, 662–670.
- (15) Sánchez-Trujillo, M. A.; Morillo, E.; Villaverde, J.; Lacorte, S. *Environ. Pollut.* **2013**, *178*, 52–58.
- (16) Liang, X.; Zhang, M.; Guo, C.; Abel, S.; Yi, X.; Lu, G.; Yang, C.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.* **2014**, *244*, 522–530.
- (17) Cui, X.; Jiang, Y.; Yang, C.; Lu, X.; Chen, H.; Mao, S.; Liu, M.; Yuan, H.; Luo, P.; Du, Y. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 7808–7816.
- (18) Chattopadhyay, S.; Chattopadhyay, D. *Curr. Pollut. Reports* **2015**, *1*, 248–264.
- (19) Yang, X.; Lu, G.; She, B.; Liang, X.; Yin, R.; Guo, C.; Yi, X.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.* **2015**, *260*, 74–82.
- (20) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, *84*, 1700–1707.
- (21) Bernardez, L. A.; Ghoshal, S. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 5878–5887.
- (22) Nagarajan, R.; Ruckenstein, E. *Langmuir* **1991**, *7*, 2934–2969.
- (23) Valero, M.; Castiglione, F.; Mele, A.; da Silva, M. A.; Grillo, I.; González-Gaitano, G.; Dreiss, C. A. *Langmuir* **2016**, *32*, 13174–13186.
- (24) Abe, A.; Imae, S. *Colloid Polym. Sci.* **1987**, *265*, 637–645.
- (25) An, Y.-J.; Carraway, E. R.; Schlautman, M. A. *Water Res.* **2002**, *36*, 300–308.
- (26) Panda, M. *J. Mol. Liq.* **2013**, *187*, 106–113.

Capítulo 5:

Extracción de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos desde matrices sólidas empleando surfactantes individuales y mezclas de surfactantes

Incluso las torres más altas empiezan en el suelo

Proverbio Chino.

Índice

Índice	142
5.1 INTRODUCCIÓN	143
5.1.1. Suelo	144
5.1.1.1. Composición del suelo	144
5.1.1.2. Modelos de suelo	145
5.1.2 Eficacia de los surfactantes para extraer HAPs desde matrices sólidas	145
5.2 OBJETIVOS	147
5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	148
5.3.1 Sistemas en estudio	148
5.3.2 Adsorción de T80 en las matrices sólidas tratadas y pérdida de SDDC por precipitación ...	148
5.3.2.1 Adsorción de Tween 80 en las matrices sólidas.....	149
5.3.2.2. Precipitación de SDDC en las matrices sólidas	149
5.3.3. Desorción de HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidas empleando surfactantes	150
5.3.3.1. Desorción de HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidos empleando surfactantes	150
5.3.3.1.1. Desorción de HAPs desde la sílica gel enriquecida.	151
5.3.3.1.2. Desorción de HAPs desde el suelo arenoso enriquecido.	155
5.3.4. Comparación de la desorción de los HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidos empleando surfactantes	158
5.4 CONCLUSIONES	164
5.5 REFERENCIAS.....	165

5.1 Introducción

La contaminación de distintos compartimientos ambientales es una preocupación mundial y puede decirse que es el principal obstáculo para el desarrollo sostenible. La misma arruina el equilibrio del ecosistema, provoca pérdidas económicas cada vez mayores y causa daños a la salud. La contaminación del suelo se debe principalmente a la falta de las medidas de eliminación de desechos, tales como una descarga industrial inadecuada, residuos de minería, entre otros. La tierra contaminada es un legado mundial de la industrialización, y se requieren grandes inversiones para su remediación.

La descontaminación de suelos crónicamente contaminados por HAPs es uno de los principales objetivos perseguidos por los profesionales dedicados a disminuir los impactos ambientales y la recuperación de los mismos.¹⁻³ Diferentes tecnologías físicas, químicas, biológicas y combinadas han tratado de remediar suelos contaminados por HAPs.^{4,5}

La remediación mejorada por surfactantes ha surgido como una opción prometedora para la eliminación de los HAPs adsorbidos en suelos debido a su eficacia en la desorción.⁶⁻¹¹ Los HAPs pueden ser desorbidos por incorporarse en los núcleos de micelas de tensioactivos que se forman por encima de su concentración micelar crítica.^{12,13} La solubilidad acuosa de los compuestos aumenta con el número creciente de micelas formadas por los surfactantes, el sistema tiene ahora 3 componentes, suelo-agua-micela.¹² Esta remediación se basa en: la solubilización del contaminante por parte de la micela del surfactante y la consiguiente movilización del contaminante adsorbido desde el suelo hacia el seno de la solución.

En algunos casos, los surfactantes también pueden adsorberse en la superficie del suelo, disminuyendo efectivamente su capacidad de desorber HAPs.¹⁴ Se han estudiado mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos y se ha encontrado que las mismas presentan menor adsorción y por el contrario que muestran una serie de aplicaciones científicas e industriales.¹⁵ En comparación con surfactantes individuales, las mezclas de agentes aniónicos y surfactantes no iónicos forman micelas mixtas que en muchos casos potencian la desorción de los HAPs.¹⁶⁻¹⁸ Esto en parte se debe a que la adición de surfactantes no iónicos a soluciones de surfactantes aniónicos puede disminuir la precipitación de estos últimos cuando están en contacto con electrolitos divalentes (por ejemplo Ca^{2+} , Mg^{2+}). Además, la adsorción de surfactantes no iónicos en el suelo puede ser reducida por la presencia de surfactantes aniónicos,¹⁹ dando lugar a la formación de micelas mixtas y, por tanto, mayor eliminación de los contaminantes.^{20,21} Por consiguiente, la remediación de suelos

contaminados por HAPs, mediante el empleo de mezclas de surfactantes aniónicos-no iónicos puede ser más efectiva que la obtenida con los surfactantes individuales.²²⁻²⁵

La utilización eficaz de agentes tensioactivos mixtos para mejorar la solubilización y desorción de los HAPs requiere el conocimiento de los entornos de los surfactantes y una comprensión de sus complejas interacciones.^{26,27} Por esto, con anterioridad en el laboratorio se estudió la mezcla de un surfactante no iónico (T80) con uno aniónico (LS). En dicho trabajo se obtuvo efecto sinérgico para la solubilización de naftaleno en agua.²⁸ Es conocido que en muchos casos generalmente las mezclas de surfactantes muestran efecto sinérgico en la solubilización de HAPs y extraen mayor cantidad de contaminantes desde el suelo que los surfactantes individuales.²⁹

El comportamiento de los surfactantes en el suelo no es bien conocido. La dificultad de establecer un mecanismo de adsorción-desorción se encuentra, por una parte, en la complejidad de la estructura molecular de los surfactantes. Por otra parte, se deriva de la formulación de los surfactantes comerciales, que generalmente son mezclas de homólogos. Teniendo en cuenta lo anterior hemos estudiado la adsorción del surfactante no iónico, T80, y del gémíni aniónico Didecamido cistina de sodio, SDDC, en diferentes modelos de suelos.

La caracterización de la mezcla formada por T80 y SDDC fue previamente desarrollada en el capítulo 2, y en el capítulo 3 se evaluó la solubilización de los HAPs empleando soluciones acuosas de esta mezcla. A partir de eso, en este capítulo se describen los estudios de movilización de HAPs desde matrices sólidas hacia el seno de una solución acuosa empleando los mismos surfactantes y sus mezclas.

5.1.1. Suelo

Los experimentos que involucran el suelo requieren grandes cantidades de sólidos, los cuales a su vez necesitan un tratamiento previo extensivo: es necesario hacer un muestreo y caracterizar el contenido de sales, la materia orgánica, pH, etc.²⁶

5.1.1.1. Composición del suelo

El suelo es un recurso natural valioso que afecta a los ecosistemas de muchas maneras y por lo tanto es un componente integral de la vida en la Tierra. El suelo es responsable de los ciclos de nutrientes, crecimiento de las plantas, el intercambio de gases, almacenamiento de carbono, y la eliminación de residuos. El suelo se compone de una mezcla de rocas erosionadas, nutrientes, organismos vivos, materia orgánica, agua y aire. Como ya se mencionó en el capítulo 1, un suelo en condición óptima contiene aproximadamente 45% de material sólido inorgánico, 5% de materia orgánica, y espacios de poros del 50%, que están ocupados por una proporción igual de agua y aire.³⁰

5.1.1.2. Modelos de suelo

Como ya se mencionó, los experimentos que involucran suelos requieren de grandes cantidades de sólidos con un tratamiento previo extensivo. La sílica gel posee características similares a las de la porción inorgánica de los suelos, ya que es granular y porosa, y está constituida de secuencias repetitivas de grupos ortosilicatos. Los átomos de oxígeno no compartidos en estos grupos presentes en el suelo dejan poros en los gránulos y se contrarresta su carga negativa con contraiones catiónicos como sodio, potasio, magnesio, calcio etc., aunque mayoritariamente forman silanoles (Si-OH) por lo que la superficie del suelo presenta densidad de carga negativa. Es importante que los sitios de unión que presenten los modelos de suelos sean similares a los sitios de unión de la fracción inorgánica de los suelos, así podrán interactuar de manera semejante con los contaminantes.²⁶ Además, la sílica gel es una matriz reproducible donde es posible estudiar sólo el efecto del cambio de diferentes variables en el sistema, sin ninguna modificación en el sólido. Teniendo como referencia algunos antecedentes en donde una mezcla de surfactantes aniónico-no iónico logró producir un efecto sinérgico en la desorción de los HAP a partir de sílica gel como modelo de suelo,³¹ se utilizó este sólido como uno de los modelos de suelos estudiados.

Por otro lado, también se utilizó un suelo comercial, granular, arenoso y poroso, que constituye, un material de referencia y resulta un modelo adecuado de suelo para este tipo de estudios.

5.1.2 Eficacia de los surfactantes para extraer HAPs desde matrices sólidas

La capacidad de la mezcla T80 - SDDC para extraer los HAP a partir de matrices sólidas se evaluó variando diferentes condiciones experimentales, incluyendo varias concentraciones y proporciones de surfactantes, y diferentes cantidades de contaminantes en los sólidos. Para estudiar la eficacia de mezclas de surfactante para extraer contaminantes desde las matrices sólidas, se puede emplear el porcentaje de recuperación (Rec_e) el cual se define como en la ecuación 5.1³¹

$$Rec_e = \frac{n_s}{n_m} \times 100 \quad \text{Ecuación 5. 1}$$

Donde n_s son los moles de HAPs en fase acuosa (buffer o surfactantes) y n_m son los moles de HAPs presentes inicialmente en la matriz sólida estudiada.

Para calcular la capacidad teórica de una mezcla de surfactantes para extraer contaminantes desde las matrices sólidas se hace la suposición de que los surfactantes no interaccionan entre sí, por lo que la cantidad de contaminante que se debería extraer es igual a la suma de la cantidad que se extrae

empleando los surfactantes individuales. De este modo se utiliza la ecuación 5.2 para calcular el porcentaje de recuperación teórico (Rec_t).

$$Rec_t = Rec_{e1} + Rec_{e2} - Rec_{ac} \quad \text{Ecuación 5. 2}$$

Donde Rec_{e1} y Rec_{e2} son los porcentajes de recuperación de contaminante desde los suelos que se obtienen empleando los surfactantes individuales 1 y 2 (T80 y SDDC) respectivamente y Rec_{ac} es el porcentaje que se recupera por el buffer en ausencia de surfactante.

Para medir el efecto que provoca la interacción de los dos surfactantes en la extracción de contaminantes desde matrices sólidas complejas se debe comparar el porcentaje de recuperación experimental (Rec_e) y el porcentaje de recuperación teórico (Rec_t). Para esto se calcula el parámetro E que mide el efecto de mezclado entre los dos surfactantes sobre la recuperación de contaminantes, como se muestra en la ecuación 5.3.³¹

$$E = \frac{Rec_e}{Rec_t} \quad \text{Ecuación 5. 3}$$

Cuando el valor de E es diferente a 1 hay efecto de mezclado y el sistema se comporta de manera no ideal. Para valores de E superiores a 1 se dice que hay efecto sinérgico en la extracción por parte de la mezcla, y para valores de E inferiores a 1, la mezcla muestra un efecto inhibitorio en la extracción de contaminantes.³¹

5.2 Objetivos

El objetivo de esta parte del trabajo de tesis fue evaluar la capacidad de la mezcla de surfactantes formada por T80 y SDDC, para extraer contaminantes (naftaleno y fenantreno) desde matrices sólidas. Si bien esta mezcla logró ser efectiva para la solubilización en agua de estos contaminantes, esto no implica la certeza de un efecto similar para desorber contaminantes desde suelos.

Se utilizaron dos tipos de matrices sólidas: sílica gel y un suelo arenoso, esperando encontrar condiciones favorables para la desorción de contaminantes desde estas matrices, que luego podrían ser probadas en muestras de suelos reales.

5.3 Resultados y discusión

Se determinaron las eficacias (Rec_e) de T80, de SDDC y de la mezcla de ambos para extraer HAPs desde matrices sólidas, las cuales fueron enriquecidas previamente con naftaleno o fenantreno.

5.3.1 Sistemas en estudio

Se utilizaron dos tipos de modelos de suelo: por un lado, sílica gel de marca Merck, con tamaños de partículas comprendidos entre 63-200 μm , pH 7,0 y área superficial de 500 m^2/g ; por el otro, un suelo arenoso de marca Sigma Aldrich con tamaños de partícula de 100 μm , pH 7,2, el cual constituye un material de referencia.

Ambas matrices fueron previamente sometidas a dos tipos de tratamientos: una parte fue lavada y utilizada como control, en tanto que otra parte fue lavada y luego enriquecida con los contaminantes. Las matrices sólo lavadas recibieron el mismo tratamiento que las enriquecidas, con la excepción del agregado final del contaminante. Las primeras, se denominarán como matrices tratadas, en tanto que las segundas se denominarán como enriquecidas.

5.3.2 Adsorción de T80 en las matrices sólidas tratadas y pérdida de SDDC por precipitación

Inicialmente, se determinó la adsorción de T80 y la precipitación de SDDC. La adsorción de tensioactivos no iónicos sobre una superficie hidrófila es un efecto conocido,²⁰ dependiente en parte de la concentración de surfactante.³² A baja concentración de surfactante, los surfactantes no iónicos se encuentran como monómeros y paralelos a la superficie sólida.³³ Con el aumento de la concentración del surfactante, aumenta la adsorción dramáticamente. En general, la adsorción del surfactante en la interfaz sólido/líquido implica la formación de micelas superficiales o hemimicelas a través de asociación o interacción hidrofóbica entre las cadenas hidrocarbonadas de las moléculas adsorbidas.³⁴ La eficacia de los surfactantes disminuye cuando una cantidad significativa de ellos es adsorbida por el suelo, ya que la cantidad de surfactante disponible para solubilizar el contaminante disminuye, por lo tanto, su movilidad a través del medio al que se aplica, se reduce. Además, la adsorción de surfactante aumenta la hidrofobicidad del suelo.

En general, se asume que los surfactantes aniónicos no se adsorben en matrices cargadas negativamente, como es el caso de la sílica gel, ya que existe una repulsión entre la carga negativa del surfactante y la matriz sólida que tiene una densidad de carga negativa que impide la adsorción. Se sabe que los surfactantes aniónicos pueden precipitar cuando se ponen en contacto con la matriz sólida suelo, pero esa precipitación es atribuida a la presencia de sales de calcio y magnesio en el suelo, con las cuales el surfactante intercambia el contraión y se produce la precipitación de la sal

de calcio o magnesio del surfactante. Cuando una solución de SDDC se pone en contacto con la sílica también se observa turbidez, a pesar de que la sílica carece de calcio y magnesio, el origen de este fenómeno aún no se conoce.

5.3.2.1. Adsorción de T80 en las matrices sólidas.

Se determinó la capacidad de las matrices sólidas tratadas (lavadas) para adsorber el surfactante no iónico T80. Para este estudio se utilizaron soluciones de T80 con concentraciones superiores a la CMC, para asegurar que la adsorción sea la máxima posible. En la Tabla 5.1, se muestran los valores obtenidos en este estudio.

Tabla 5.1		Adsorción de T80 y precipitación de SDDC en 5mL de solución de surfactante en contacto con 0,5 g de matriz sólida previamente tratada. ^a			
Matriz sólida	[T80], mM	[SDDC], mM	α_{T80}	Moles de surfactante perdido/g de sólido, 10^{-5} (mol/g) ^b	
				T80	SDDC
Sílica gel	4	0	1,0	4,56 ± 0,05	
	0	4	0,0		3,6 ± 0,9
Suelo	4	4	0,5	1,6 ± 0,2	3,8 ± 0,9
	4	0	1,0	3,37 ± 0,08	
	0	4	0,0		3,0 ± 0,8
	4	4	0,5	1,6 ± 0,4	3,4 ± 0,1

^a Tiempo en contacto entre el surfactante y el sólido= 48h, ^b Moles de T80 adsorbidos por gramo de matriz sólida ó moles de SDDC precipitados por gramo de matriz sólida. El error corresponde a desviación estándar de al menos tres determinaciones.

Se observó que la sílica puede adsorber mayor cantidad de T80 que el suelo arenoso, para los dos casos se observa prácticamente lo mismo, que al T80 le resulta más conveniente estar mezclado, ya que los valores de adsorción obtenidos son menores cuando éste se encuentra en presencia del SDDC que cuando está de manera individual. La pérdida de T80 por adsorción representa menos del 1% cuando este surfactante se encuentra en contacto con sílica.

5.3.2.2. Precipitación de SDDC en las matrices sólidas.

Para conocer la importancia de la precipitación del surfactante gémico SDDC se determinó la cantidad de SDDC que se pierde por precipitación, cuando soluciones acuosas de SDDC por encima de la CMC están en contacto con 0,5 g de las matrices sólidas previamente tratadas por 48 horas. Los resultados de esta pérdida se muestran en la Tabla 5.1.

Los valores obtenidos indican que la pérdida de SDDC por precipitación es similar en las dos matrices sólidas estudiadas. Cuando este surfactante se encuentra formando parte de la mezcla se observan los mismos valores que con el surfactante individual. Por lo tanto, se puede concluir que al SDDC no le afecta la presencia del T80, y la cantidad precipitada es siempre la misma (menos del 1%).

Rodríguez-Cruz y colaboradores³² estudiaron la capacidad de adsorción de los surfactantes dodecil sulfato de sodio (SDS) (aniónico) y Tritón X-100 (no iónico) en 18 suelos con materia orgánica. Encontraron que la pérdida de surfactante fue mayor para el surfactante no iónico Tritón X-100 que se adsorbió, que para el surfactante aniónico SDS. Se encontró que SDS se precipita a través de la interacción hidrofóbica con la materia orgánica del suelo y mediante el intercambio de ligandos y/o la atracción electrostática con caolinita. En cuanto al Tritón X-100, éste es adsorbido por interacción ión dipolo o enlaces de hidrógeno de los átomos de oxígeno de los grupos etoxilo con los minerales del suelo arcilloso. Estos resultados indican la importancia de tener en cuenta las características del suelo (materia orgánica, fracción de arcilla y mineralogía de la arcilla) y la estructura de los surfactantes, cuando se desea predecir la capacidad de adsorción de un determinado suelo.³²

Muherei y colaboradores,¹⁹ estudiaron la capacidad de adsorción y precipitación de los mismos surfactantes SDS, TX-100 y sus mezclas (relación de masas SDS: TX-100 1: 1 y 2: 1) sobre modelos de suelos arenosos, encontrando nuevamente que la pérdida de surfactante es mayor para TX-100, que para SDS. Con respecto a la mezcla de surfactantes, la adsorción de TX-100 en los suelos se redujo en presencia de SDS. Estos resultados estarían indicando que los surfactantes no iónicos (en este caso Tritón X-100) tienden a estar fuertemente adsorbidos al suelo en comparación con la parte arenosa, mientras que el surfactante aniónico no tiene afinidad por las matrices sólidas con densidad de carga negativa.¹⁹ Esta reducción de pérdida de surfactante se atribuye a los menores valores de CMC alcanzados por los surfactantes mixtos¹⁹ y está en concordancia con los resultados obtenidos para T80 y SDDC en este trabajo.

En el caso de la mezcla T80-LS se encontró que la formación de micelas mixtas entre ambos surfactantes también reducía considerablemente la adsorción de T80 y la precipitación de LS en contacto con la sílica gel.³¹

5.3.3. Desorción de HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidas empleando surfactantes

5.3.3.1. Desorción de HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidos empleando surfactantes.

Se analizó la capacidad que tiene el sistema mixto T80-SDDC para extraer contaminantes desde las matrices sólidas empleadas (sílica gel y suelo). Para esto se evaluó la extracción de naftaleno y fenantreno como compuestos representativos de los HAPs, y se analizaron mezclas de surfactantes de diferente composición en búsqueda de efecto sinérgico.

5.3.3.1.1. Desorción de HAPs desde la sílica gel enriquecida.

En la Tabla 5.2 y 5.3 se muestran los resultados de los experimentos realizados con los dos HAPs. Se encuentran los valores del porcentaje de recuperación Rec_e al extraer los HAPs desde sílica gel enriquecida, obtenidos por la ecuación 5.1.

Tabla 5.2		Desorción de naftaleno desde 0,5g de sílica gel enriquecida empleando 5mL de diferentes soluciones de surfactante. ^a			
[T80], mM	[SDDC], mM	α_{T80}	% Rec_e ^b	% Rec_t ^c	E
-	-	-	5 ± 2		
4	-	-	$24,29 \pm 0,09$		
-	16	-	$28,69 \pm 0,06$		
4	16	0,2	88 ± 1	48 ± 1	1,85
10	-	-	22 ± 1		
-	1	-	$14,02 \pm 0,02$		
10	1	0,5	$26,5 \pm 0,8$	$30,5 \pm 0,2$	0,86
16	-	-	25 ± 1		
-	4	-	4 ± 1		
16	4	0,8	37 ± 1	24 ± 1	1,50

^a [Naftaleno] = $(2,61 \pm 0,10)$, 10^{-6} mol/g sílica. Tiempo de contacto entre el surfactante y el sólido 48 h, pH 9,16 ($Na_2B_4O_7$ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0 °C, $[Surfactante]_{total} = 2 \times 10^{-2}$ M. ^b El error corresponde a la desviación estándar de tres determinaciones, ^c los errores se obtuvieron por propagación de errores.

A partir de la Tabla 5.2 se puede observar que, empleando solamente el buffer para la extracción de naftaleno se recuperó el 5% del contaminante presente en la sílica gel.

Además, cuando se utilizó T80 en concentración de 4×10^{-3} M, el Rec_e de naftaleno desde sílica es superior al obtenido cuando se emplea solamente la solución de buffer. Esto estaría indicando que empleando una solución de T80 de esta concentración se mejora la extracción de naftaleno desde la sílica, debido a que las micelas de T80 que existen en la solución acuosa están compitiendo con la matriz sólida por el HAPs.

El Rec_e de naftaleno desde sílica que se obtiene cuando se emplea SDDC en concentración de $1,6 \times 10^{-2}$ M, también es superior al que se obtiene cuando se utiliza solamente buffer.

Con respecto, a la mezcla T80-SDDC en concentraciones 4 mM y 16 mM respectivamente ($\alpha_{T80} = 0,2$) se obtuvo efecto sinérgico en la desorción de naftaleno. Esto se evidencia en el parámetro E definido en la Ecuación 5.3 que fue superior a 1, (Tabla 5.2). Recordemos que este parámetro corresponde a la relación entre el porcentaje de recuperación experimental (Rec_e) y el porcentaje teórico (Rec_t , ecuación 5.2). Para este cálculo se supone que no hay interacción entre los surfactantes, así que cada surfactante podría desorber la misma cantidad que si estuviera solo en la solución. El valor de E de 1,85 estaría indicando la capacidad de la mezcla de surfactantes para desorber mayores cantidades de naftaleno comparado con los surfactantes individuales a las mismas concentraciones.

Cuando se evaluó la eficacia de T80 en concentración de 10 mM para la extracción de naftaleno desde la sílica, el Rec_e fue superior al obtenido cuando se emplea solamente el buffer. Lo mismo ocurrió al emplear SDDC a la misma concentración. El Rec_e de naftaleno desde sílica que se obtiene cuando se emplea la mezcla T80-SDDC a iguales concentraciones (10 mM, $\alpha_{T80}=0,5$) es mayor al que se obtiene cuando se utiliza buffer. Al comparar el Rec_e obtenido para la extracción de naftaleno por los surfactantes individuales y la mezcla a esta concentración, se encontró último caso un valor mayor, sin embargo, el valor de E resultó inferior a 1.

Finalmente se determinó la capacidad de T80 para extraer naftaleno desde sílica gel, a mayor concentración (16 mM). El Rec_e de naftaleno desde sílica es semejante al obtenido cuando se emplea este surfactante a otras concentraciones, indicando que no hay efecto sobre la desorción de naftaleno cuando aumenta la concentración de surfactante. Con respecto al SDDC, en concentración de 4 mM, el Rec_e de naftaleno desde sílica es del orden del obtenido cuando se emplea solamente la solución de buffer. Se utilizó la mezcla T80-SDDC a las mismas concentraciones 16 mM y 4 mM respectivamente ($\alpha_{T80}=0,8$) y se obtuvo un valor superior al obtenido con T80 a la misma concentración. En este caso el valor de E obtenido fue de 1,50, este valor fue superior al obtenido a $\alpha_{T80}=0,5$, pero inferior al de $\alpha_{T80}=0,2$.

Entonces, si se comparan los valores de extracción de naftaleno a las diferentes fracciones molares por parte de la mezcla T80-SDDC (Rec_e), con los valores de cada surfactante individual a las mismas concentraciones como se muestra en la Figura 5.1, se observa que a $\alpha_{T80}=0,2$ se recupera mayor cantidad de naftaleno, con un valor de E de 1,85, indicando que esta mezcla resulta el sistema de surfactantes más eficiente, tanto en el % Rec_e como en la magnitud del efecto sinérgico obtenido.

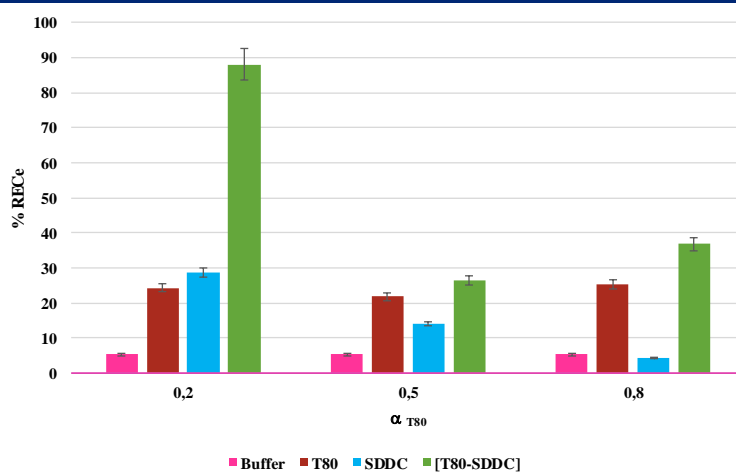


Figura 5.1. Desorción de naftaleno desde sílica a diferentes fracciones molares de la mezcla T80-SDDC. $[Naftaleno]_{sílica\ gel} = 2,61 \pm 0,10 \times 10^{-6} \text{ mol/g}$.

Para los estudios con el otro HAP, fenantreno, se encontró que empleando buffer para la extracción se recuperó sólo el 0,084% del contaminante presente en la sílica. Se muestra que cuando se utilizó T80 solo, pero a baja concentración (10 mM) el Rec_e de fenantreno desde sílica es de 2,4%, siendo éste ligeramente mayor que lo extraído con la solución de buffer (Tabla 5.3).

Con respecto al SDDC, utilizando una concentración de 16 mM, el Rec_e fue superior que con el surfactante no iónico (4 mM) y que con la solución de buffer, esto indica que la cantidad de micelas que se encuentran en la fase acuosa es mayor y también están compitiendo con la matriz sólida por el HAPs. Por último, al evaluar la capacidad de desorción del contaminante desde la mezcla de surfactantes a las mismas concentraciones (4 mM y 16 mM, $\alpha_{T80}=0,2$), se obtuvo un Rec_e de 57%, indicando que la mezcla produce un efecto sinérgico, y es capaz de desorber mayores cantidades de fenantreno comparado con los surfactantes individuales. En estas condiciones se obtiene un valor de E de 2,78, como se muestra en la Tabla 5.3.

Se determinó también la capacidad de la mezcla T80-SDDC a otras fracciones molares (0,5 y 0,8) para extraer fenantreno desde sílica gel.

Con respecto, a $\alpha_{T80}=0,5$, a iguales concentraciones de surfactante (10 mM) se encontró efecto sinérgico, pero este efecto fue menor al compararlo con $\alpha_{T80}=0,2$. A esta concentración el SDDC, logró un porcentaje de recuperación mayor que el surfactante no iónico T80.

Cuando se empleó la mezcla T80-SDDC a concentraciones 16 mM y 4 mM respectivamente ($\alpha_{T80}=0,8$), también se encontró efecto sinérgico, se obtuvo un valor de E de 1,48. En relación a los surfactantes individuales, el T80 logró desorber mayores cantidades de contaminante que el SDDC lo cual era esperable ya que se encontraba a mayor concentración (Tabla 5.3).

Tabla 5.3		Desorción de fenantreno desde 0,5g de sílica gel enriquecida empleando 5mL de diferentes soluciones de surfactante. ^a			
[T80], 10 ⁻² M	[SDDC], 10 ⁻² M	α_{T80}	% Rec_e^b	% Rec_t^c	E
-	-	-	0,08 ± 0,05		
0,4	-	-	2,4 ± 0,9		
-	1,6	-	14,5 ± 0,1		
0,4	1,6	0,2	57,1 ± 0,3	20 ± 1	2,78
1,0	-	-	10 ± 1		
-	1	-	29,2 ± 0,1		
1,0	1	0,5	50,3 ± 0,3	39,1 ± 0,5	1,29
1,6	-	-	23,8 ± 0,8		
-	0,4	-	1,6 ± 1		
1,6	0,4	0,8	37,5 ± 0,5	25 ± 1	1,48

^a [Fenantreno] = (2,45 ± 0,10), 10⁻⁶ mol/g sílica. Tiempo en contacto entre el surfactante y el sólido 48 h, pH = 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0 °C, [Surfactante]_{total} = 2 × 10⁻² M. ^b El error corresponde a la desviación estándar de tres determinaciones, ^c los errores se obtuvieron por propagación de errores.

Al comparar los valores obtenidos de desorción de fenantreno de cada surfactante individual a las mismas concentraciones (Rec_e) con los valores a las diferentes fracciones molares por parte de la mezcla T80-SDDC, como se muestra en la Figura 5.2, se observó que a $\alpha_{T80}= 0,2$ se recupera mayor cantidad de fenantreno, siendo esta proporción la que presentó los mejores resultados ($E= 2,78$). Es decir que a medida que aumenta la concentración de T80 en la mezcla se reduce el porcentaje de recuperación del contaminante por parte de la mezcla. Con respecto a T80 individual, se observó que a mayor concentración de surfactante mayor porcentaje de recuperación, en tanto que al comparar el efecto del SDDC a diferentes concentraciones no se encontró una tendencia clara.

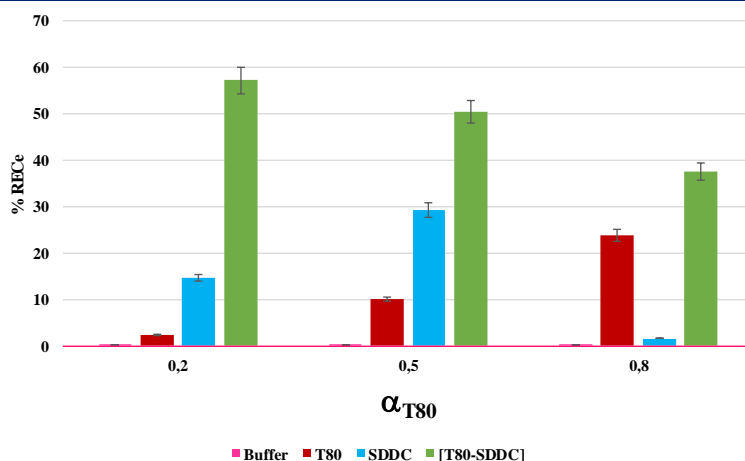


Figura 5.2. Desorción de fenantreno desde sílica gel a diferentes fracciones molares de la mezcla T80-SDDC. $[Fenantreno]_{sílica\ gel} = 2,45 \pm 0,10 \times 10^{-6} \text{ mol/g}$.

Es evidente que, la mezcla de surfactantes a $\alpha_{T80}= 0,2$ es más eficaz que los surfactantes individuales para extraer naftaleno y fenantreno desde sílica gel. Este hecho se contrasta con los estudios previos de solubilización de HAPs en solución acuosa (capítulo 3), dando como resultado que la mezcla a $\alpha_{T80}= 0,2$ no logró ser tan eficiente para la solubilización en agua de estos contaminantes, como lo fue para la extracción de los mismos desde sílica gel. En los ensayos de solubilización en solución acuosa se encontró efecto sinérgico a todas las fracciones molares estudiadas. Por otra parte, el hecho de que se haya encontrado mayor desorción de los compuestos a esta fracción molar puede atribuirse a la formación de micelas mixtas que tiene mayor capacidad de solubilización. Por lo que, hay mayor concentración de surfactante en solución que puede producir una mayor desorción de los contaminantes. Además, las micelas mixtas tienen mayor capacidad de solubilización de los HAPs que las micelas de surfactantes individuales, como se demostró en el capítulo 3 de esta tesis.

5.3.3.1.2. Desorción de HAPs desde el suelo arenoso enriquecido.

Se estudió también la desorción de HAPs, esta vez utilizando como matriz sólida el suelo arenoso, estos resultados se muestran en las Tablas 5.4 y 5.5. Las soluciones de surfactante fueron preparadas en buffer de pH 9,16. El error corresponde a la desviación estándar de 3 determinaciones.

En la Tabla 5.4, se muestran los resultados obtenidos para la desorción de naftaleno desde suelo arenoso empleando buffer, solución de T80 (4 mM), solución acuosa de SDDC (16 mM) o solución acuosa de la mezcla T80-SDDC a una concentración de T80 4 mM y de SDDC de 16 mM ($\alpha_{T80}=0,2$). Empleando sólo buffer para la desorción se recuperó 2,7% del naftaleno presente en el suelo. Puede observarse que cuando se emplea T80 (4 mM), el Rec_e de naftaleno desde suelo es considerablemente superior al obtenido cuando se emplea buffer. Esto indicaría que empleando esa concentración de T80 se puede mejorar la extracción de naftaleno desde suelo. El Rec_e de naftaleno desde suelo que se obtiene cuando se utilizó SDDC (16 mM) es semejante al que se obtiene cuando se usa solamente buffer. Al emplear la mezcla a estas mismas concentraciones ($\alpha_{T80}=0,2$) el Rec_e obtenido fue del 63% altamente superior que con los surfactantes individuales, y la eficacia de esta mezcla fue de 1,68.

Tabla 5.4		Desorción de naftaleno desde 0,5g de suelo enriquecido empleando 5mL de diferentes soluciones de surfactante. ^a			
[T80], mM	[SDDC], mM	α_{T80}	% Rec_e ^b	% Rec_t ^c	E
-	-	-	2,7 ± 0,1		
4	-	-	18 ± 3		
-	16	-	2,4 ± 0,9		
4	16	0,2	63 ± 1	37 ± 1	1,68
10	-	-	23,9 ± 0,1		
-	10	-	23 ± 1		
10	10	0,5	26,6 ± 0,3	43,8 ± 0,2	0,60
16	-	-	79,9 ± 0,1		
-	4	-	9,7 ± 0,1		
16	4	0,8	21,85 ± 0,03	81,9 ± 0,1	0,26

^a [Naftaleno]= (1,21 ± 0,10), 10⁻⁶ mol/g suelo. Tiempo en contacto entre el surfactante y el sólido 48 h, pH 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0 °C, [Surfactante]_{total}= 2×10⁻² M. ^b El error corresponde a la desviación estándar de tres determinaciones, ^c Los errores se obtuvieron por propagación de errores.

Empleando iguales concentraciones de T80 y SDDC (10 mM), se encontró que el Rec_e obtenido fue similar para los dos surfactantes. Se determinó la eficacia de la mezcla T80-SDDC en las mismas concentraciones estudiadas por los surfactantes individuales (10 mM, $\alpha_{T80}=0,5$), encontrándose un valor muy semejante al de los surfactantes solos, y no fue suficiente para obtener efecto sinérgico. Se obtuvo un valor de E de 0,6.

Se evaluó la eficacia de la misma mezcla T80-SDDC en concentraciones 16 mM y 4 mM respectivamente ($\alpha_{T80}=0,8$), se obteniéndose un valor de E de 0,26. A estas mismas concentraciones

los surfactantes individuales T80 y SDDC lograron extraer 80 % y 10 % de naftaleno desde suelo respectivamente. En estas condiciones el T80 logró extraer mayor cantidad de contaminante que la mezcla.

El valor de E es mayor a $\alpha_{T80} = 0,2$ que $\alpha_{T80} = 0,5$ y mayor que $\alpha_{T80} = 0,8$, indicando que cuando las micelas están formadas por menores cantidades de surfactante no iónico y mayor cantidad de surfactante aniónico, éstas resultan beneficiosas provocando un mayor porcentaje de recuperación del contaminante desde el suelo que los surfactantes individuales.

En la Figura 5.3, se muestran los valores obtenidos de extracción de naftaleno desde el suelo arenoso a las diferentes fracciones molares de la mezcla T80-SDDC (Rec_e), con los valores de cada surfactante individual. Como ya se mencionó a $\alpha_{T80} = 0,2$, se obtuvieron los mejores resultados, y se logró extraer más cantidad de naftaleno desde el suelo arenoso que a las demás fracciones. Sin embargo, el mayor porcentaje de recuperación se obtuvo con T80, a alta concentración con lo cual puede concluirse que para este contaminante no es conveniente utilizar la mezcla ya que se obtienen los mejores resultados al utilizar el surfactante no iónico T80 de manera individual.

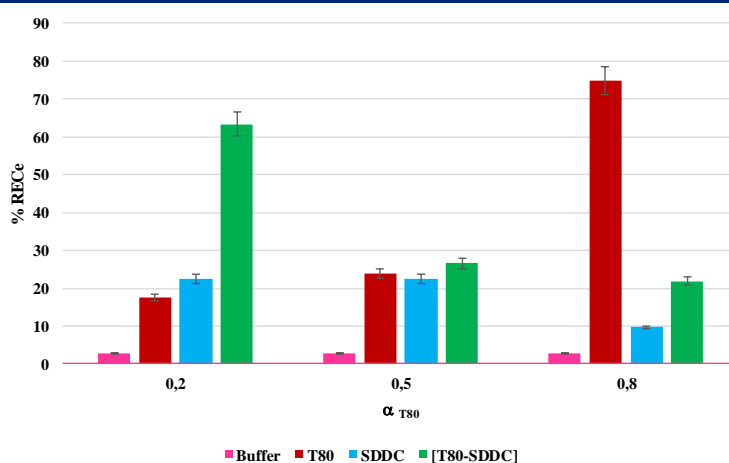


Figura 5.3. Desorción de naftaleno desde suelo arenoso enriquecido con contaminante a diferentes fracciones molares de la mezcla T80-SDDC. $[Naftaleno]_{suelo} = 1,21 \pm 0,10 \times 10^{-6} \text{ mol/g}$.

De manera similar a los experimentos anteriores, se evaluó la capacidad de extracción de fenantreno desde el suelo arenoso, empleando los mismos sistemas. Esos resultados se muestran en la Tabla 5.5.

Tabla 5.5 Desorción de fenantreno desde 0,5g de suelo enriquecido empleando 5mL de diferentes soluciones de surfactante. ^a

[T80], mM	[SDDC], mM	α_{T80}	% Rec _e ^b	% Rec _t ^c	E
-	-	-	1,0 ± 0,1		
4	-	-	8 ± 1		
-	16	-	24 ± 1		
4	16	0,2	95,1 ± 0,5	30,7 ± 0,5	3,09
10	-	-	86 ± 1		
-	10	-	10 ± 1		
10	10	0,5	99,4 ± 0,8	94,7 ± 0,8	1,05
16	-	-	42 ± 1		
-	4	-	1,6 ± 0,1		
16	4	0,8	42,7 ± 0,2	42,7 ± 0,1	1,00

^a [Fenantreno]= (1,59 ± 0,10), 10⁻⁶ mol/g suelo. Tiempo en contacto entre el surfactante y el sólido 48 h, pH 9,16 (Na₂B₄O₇ 0,01 M, NaCl 0,02 M), 30,0 °C, [Surfactante]_{total}= 2×10⁻² M. ^b El error corresponde a la desviación estándar de tres determinaciones, ^c Los errores se obtuvieron por propagación de errores.

En este caso, se encontró que empleando buffer para la extracción se recuperó el 1 % del contaminante presente en el suelo. Cuando se utilizó T80 a una concentración de 4 mM, el Rec_e de fenantreno desde suelo es de 8 %, siendo éste mayor que lo extraído con la solución de buffer. Con respecto, al SDDC a una concentración de 16 mM, el Rec_e fue superior que con el surfactante no iónico (4 mM) y que con la solución de buffer. Por último, al evaluar la capacidad de desorción del fenantreno desde la mezcla de surfactantes a las mismas concentraciones (4 mM y 16 mM, α_{T80} = 0,2), se obtuvo un Rec_e de 95 %. La mezcla extrajo prácticamente todo el fenantreno presente en el suelo, encontrándose un importante efecto sinérgico, con respecto a los surfactantes individuales.

El Rec_e de fenantreno desde suelo que se obtiene cuando se emplea SDDC a una concentración 10 mM, es inferior al que se obtiene cuando se emplea T80 a esta misma concentración. Empleando la mezcla T80-SDDC a las mismas concentraciones, ésta extrajo prácticamente la totalidad de contaminante presente en el suelo, pero la cantidad de contaminante desorbida por T80 solo también es muy alta. En este caso los porcentajes de recuperación experimentales son muy cercanos a los teóricos y el valor de E de 1,05 indica que no hay efecto sinérgico.

Finalmente se estudió la capacidad de extracción de fenantreno desde suelo al aumentar la concentración T80 a 16 mM, la misma disminuyó al compararla con la anterior (T80= 10 mM). Por otro lado, si se compara con la mezcla T80-SDDC a la misma concentración, pero en presencia de SDDC (T80= 16 mM y SDDC= 4 mM), los valores son muy similares. En este caso tampoco se encontró efecto sinérgico (E= 1,0).

En la Figura 5.4, se muestran los valores obtenidos de extracción de fenantreno desde el suelo arenoso a las diferentes fracciones molares de la mezcla T80-SDDC (Rec_e), su comparación con los valores de cada surfactante individual, y se observa que al igual que con el naftaleno los mejores

resultados se obtuvieron a $\alpha_{T80} = 0,2$ y $0,5$. Si bien en ambos casos ($0,2$ y $0,5$) se obtienen Rec_e similares, a $\alpha_{T80} = 0,5$, la cantidad de surfactante gémini, utilizada es menor y éste es el surfactante que resulta más oneroso debido a la necesidad de sintetizarlo en el laboratorio. Analizando los surfactantes individuales con SDDC la tendencia es que, a mayor concentración, menor porcentaje de recuperación, en tanto que con T80 no se observa una tendencia clara ya que aumenta con el aumento de la fracción molar y luego disminuye.

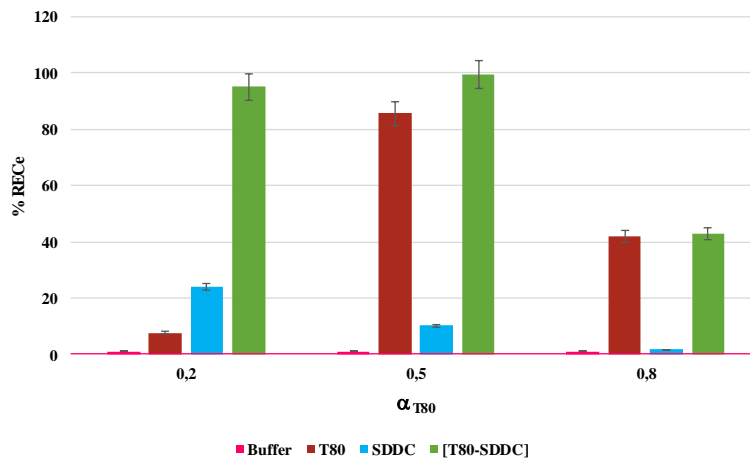


Figura 5.4. Desorción de fenantreno desde suelo arenoso enriquecido con contaminante a diferentes fracciones molares de la mezcla T80-SDDC. $[Fenantreno]_{suelo\ arenoso} = 1,59 \pm 0,10 \times 10^{-6} \text{ mol/g}$.

5.3.4. Comparación de la desorción de los HAPs desde sílica gel y suelo arenoso enriquecidos empleando surfactantes

La Tabla 5.6 resume los resultados obtenidos en la desorción de naftaleno y fenantreno desde matrices sólidas mediada por mezclas de T80-SDDC. Se observó efecto sinérgico para la extracción de estos HAPs encontrando el mayor efecto sinérgico a $\alpha_{T80} = 0,2$, en todos los casos. La mezcla a esta fracción resultó ser el mejor sistema para extraer contaminantes tanto desde sílica gel como desde suelo arenoso. En particular, con respecto a fenantreno, la mezcla T80-SDDC resultó ser efectiva produciendo efecto sinérgico a todas las α_{T80} (desde sílica), siendo la $\alpha_{T80} = 0,2$ aquella donde se observó el efecto más importante.

Tabla 5.6	Desorción de HAPS desde matrices sólidas empleando 5mL de cada una de las soluciones acuosas empleadas.			
	E			
	Naftaleno		Fenantreno	
α_{T80}	Sílica	Suelo	Sílica	Suelo
0,2	1,85	1,68	2,78	3,09
0,5	0,86	0,60	1,29	1,05
0,8	1,50	0,26	1,48	1,00

En las Figuras 5.5 y 5.6 se muestran los mejores resultados (a $\alpha_{T80}=0,2$) de la desorción de los contaminantes (naftaleno y fenantreno) desde sílica gel y suelo respectivamente, empleando la mezcla T80-SDDC. El efecto sinérgico puede ser producido por la formación de micelas mixtas entre ambos surfactantes,³⁵ que podría además reducir la adsorción de T80 en los sólidos. De esta manera se aumenta la concentración de surfactantes en solución que pueden producir la desorción mejorada de los contaminantes. Esto se combina con el hecho de las micelas mixtas tienen mejor poder de solubilización para los contaminantes que los surfactantes individuales, como ya se describió.

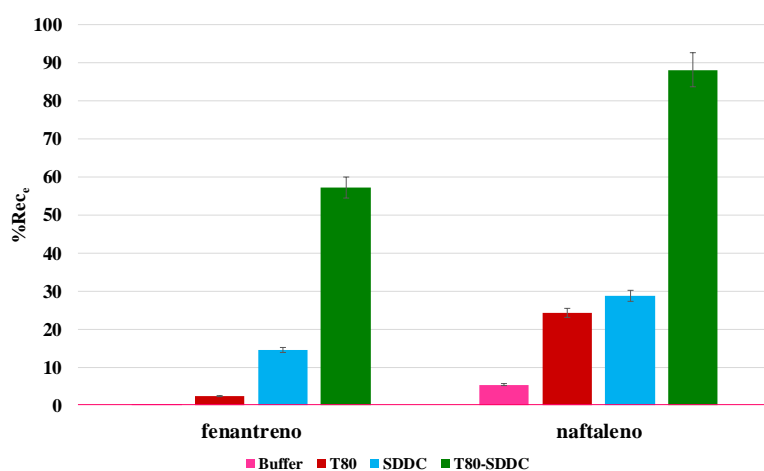


Figura 5.5. Desorción de los contaminantes desde sílica gel enriquecida con contaminantes a $\alpha_{T80}=0,2$ a una $[T80-SDDC] = 20$ mM.

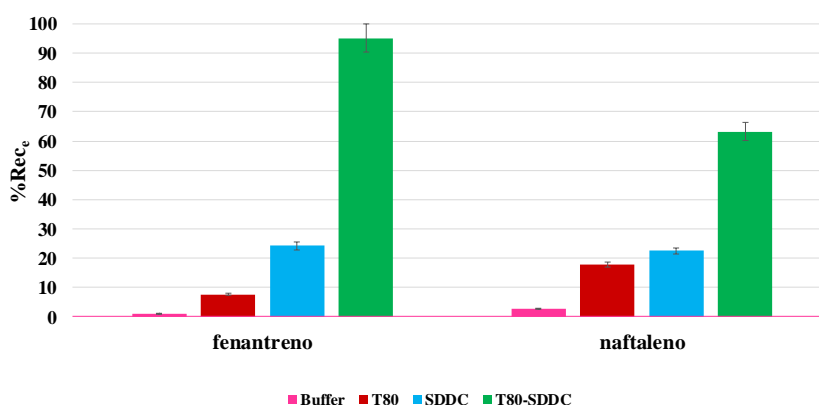


Figura 5.6. Desorción de los contaminantes desde suelo arenoso enriquecido con contaminantes a $\alpha_{T80}=0,2$ a una $[T80-SDDC] = 20$ mM.

Zhou y colaboradores,¹⁵ estudiaron la desorción de fenantreno desde suelos contaminados empleando un biosurfactante, y comparando éste con un surfactante comercial, el T80, se encontró que el biosurfactante (*Sapindus saponina*) podía eliminar eficazmente fenantreno del suelo contaminado con un porcentaje de desorción máxima de aproximadamente 87%. Sin embargo, con T80 se obtuvieron mejores resultados, aproximadamente 92% de desorción y lo explicaron, probablemente debido a una adsorción del biosurfactante en el suelo.¹⁵

Un efecto positivo en la remediación de naftaleno, fenantreno y acenafteno en un sistema agua-suelo-surfactante con un surfactante gémuni catiónico ($C_{12-3-12}$) fue observada por Wei y colaboradores,³⁶ quienes encontraron que el surfactante gémuni puede ser utilizado para aumentar la solubilización de estos contaminantes, produciendo una desorción de los HAPs retenidos en el suelo.³⁶

Ahn y colaboradores,³⁷ investigaron la eficacia de cuatro surfactantes no iónicos diferentes, T40, T80, Brij-30 y Brij-35 sobre el lavado de suelo enriquecido con fenantreno. Brij-30 presentó la más alta eficiencia de lavado para la extracción del contaminante, desorbiendo un 84 % a una concentración de 2 g/L. Esto se atribuyó a la alta capacidad de Brij-30 para solubilizar fenantreno y a su baja adsorción en el suelo. El rendimiento global combinando de ambas etapas de lavado y recuperación de surfactantes resultó mejor con T80 y Brij-30. En otro estudio, otros surfactantes no iónicos así como surfactantes aniónicos tales como dodecil benceno sulfonato de sodio y dodecil sulfato de sodio (SDBS y SDS) también han demostrado ser eficaces para la eliminación de fenantreno desde sólidos.^{7,38}

Con respecto al empleo de mezclas de surfactantes para la desorción de contaminantes desde matrices sólidas, se encontraron reportes en estudios similares. Por ejemplo, se describió la desorción de fenantreno desde suelo contaminado por mezclas de Tritón X-100 (TX-100) con SDS.¹⁰ Estos autores encontraron que la cantidad de TX-100 adsorbida en el suelo fue menor cuando éste estaba formando la mezcla que cuando se encontraba de manera individual, y además disminuyó a medida que la fracción molar de SDS aumentó. Por otra parte, la desorción de fenantreno desde el suelo contaminado fue más efectiva por parte de la mezcla TX-100-SDS que en soluciones de los surfactantes individuales.¹⁰

Wei y colaboradores,³⁹ estudiaron la solubilización aumentada de pireno y su desorción utilizando los mismos surfactantes mencionados en el trabajo anterior (SDS y TX-100) y mezcla de éstos en soluciones salinas. Encontraron que la presencia de solución salina aumentó la solubilización y desorción de pireno a diferentes relaciones de masa de los surfactantes. La adición de solución salina a soluciones de surfactantes individuales y mixtas mejoró el lavado de HAPs desde suelos ricos en caolín, que tienen una baja capacidad de adsorción para TX-100. En otros

trabajos, los mismos autores,⁴⁰ estudiaron la desorción de pireno desde suelos conteniendo diversas composiciones de minerales de arcilla (por ejemplo, montmorillonita y caolín) mediante el uso de los surfactantes TX-100 y SDBS individuales y la mezcla de los mismos. Observaron que en suelos ricos en montmorillonita, la mezcla de TX-100-SDBS fue menos efectiva en la eliminación de pireno que el SDBS individual.

Por otro lado, Ni y colaboradores,⁴¹ utilizaron una mezcla de surfactantes aniónico-no iónico (SDBS y T80) para producir la eliminación de fenantreno y pireno desde suelo contaminado, encontrando que el sistema mixto en una relación [SDBS –T80/2:3] logró mejorar la eficiencia en la degradación de fenantreno y pireno a través de rutas planta-microorganismo en los suelos. Estos resultados pueden explicarse por la menor pérdida por adsorción y la menor tensión interfacial de los sistemas mixtos con respecto al T80, que mejoraron la biodisponibilidad de los HAPs en el suelo y la eficacia de la degradación microbiana.⁴¹

En otro estudio, utilizando una mezcla de surfactantes no iónico-aniónico (TX-100-SDS), para lavar suelos contaminados en China, se observó que la relación 9:1 de los surfactantes presentó el mayor porcentaje de eliminación de HAPs, obteniéndose así un efecto sinérgico con bajo agregado de surfactante aniónico.⁴²

En la Tabla 5.7, se muestra un resumen de algunos reportes donde mejoran la desorción de los HAPs desde matrices sólidas semejantes a las utilizadas en este trabajo mediante el empleo de diversas mezclas de surfactante, en todos los casos se resaltaron los mejores resultados, y fundamentalmente donde se encontró efecto sinérgico. Se realiza una comparación con los resultados obtenidos en esta tesis.

Tabla 5.7 Desorción de HAPS desde matrices sólidas empleando diversas mezclas de surfactante				
Matriz sólida	Contaminantes	Mezcla de Surfactantes	E	Referencia
Suelo arcilloso	Fenantreno	TX-100-SDS $\alpha_{TX-100} = 0,4$	1,75	Zhou y colaboradores, ¹⁰
Suelo arenoso	Fenantreno, Pireno	T80-SDBS $\alpha_{T80} = 0,4$	1,03 1,07	Ni y colaboradores, ⁴¹
Suelo arenoso	Mezcla de HAPs	TX-100-SDS $\alpha_{TX-100} = 0,9$	1,30	Shi y colaboradores, ⁴²
Sílica gel	Naftaleno, Fenantreno	T80- LS $\alpha_{T80} = 0,13$	2,40 1,22	Sales y Fernández, ³¹
Suelo arcilloso	Naftaleno	T80- LS $\alpha_{T80} = 0,13$	1,19	Sales y Fernández, ³¹
Sílica gel	Naftaleno, Fenantreno	T80- SDDC $\alpha_{T80} = 0,2$	1,85 2,78	Esta tesis
Suelo arenoso	Naftaleno, Fenantreno	T80- SDDC $\alpha_{T80} = 0,2$	1,68 3,09	Esta tesis

Al contrastar, los experimentos realizados en este trabajo con los ejemplos empleando mezclas de surfactantes aniónico-no iónico (Tabla 5.7), se encuentra que las mezclas que tienen como surfactante no iónico T80, funcionan mejor a bajas fracciones molares de este surfactante. En antecedentes del grupo de investigación,³¹ se encontraron resultados similares, obteniéndose efecto sinérgico a bajas concentraciones de T80. Por otro lado, cuando se utilizó TX-100 no se encontró una tendencia ya que hay reportes de buen funcionamiento tanto a bajas como a altas fracciones molares del surfactante no iónico. Se observaron tendencias similares con la sílica gel y el suelo, pero con diferencia en los porcentajes de recuperación.

En este trabajo de tesis se obtuvieron valores de E superiores a 1, indicando la presencia de efecto sinérgico por parte de las mezclas. El mismo fue más marcado tanto en sílica como en suelo y para ambos contaminantes a $\alpha_{T80} = 0,2$ como ya se mencionó. Este efecto puede ser a la solubilización aumentada de los contaminantes en presencia de la mezcla de surfactantes.³¹

Como se mencionó anteriormente, los porcentajes de recuperación experimental del naftaleno y el fenantreno fueron buenos, se recuperó el 88 % y el 95 % para naftaleno desde sílica y fenantreno desde suelo, respectivamente. Por otro lado, se realizó la comparación utilizando solo T80 individual, a la misma concentración final de surfactante total de la mezcla T80-SDDC (20 mM), para comprobar que los % obtenidos no se debieran solo a la presencia de mayor concentración de surfactante solo (Figura 5.7).

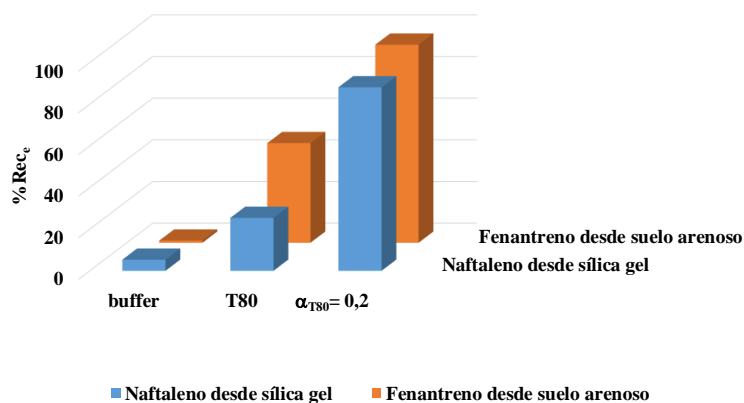


Figura 5.7. Desorción de los contaminantes desde sílica gel y suelo arenoso con T80-SDDC. $[\text{Surfactante}]_{\text{total}} = 20 \text{ mM}$.

En comparación con un solo surfactante, T80, la mezcla mostró un mejor rendimiento. Los porcentajes de recuperación de los contaminantes desde las matrices sólidas empleando T80 a una concentración de 20 mM fueron 25 % para naftaleno desde sílica y 48 % para fenantreno desde suelo, en tanto que empleando la mezcla T80-SDDC, a la misma concentración de surfactante total,

los porcentajes de recuperación fueron de aproximadamente el doble, indicando que efectivamente se produce un efecto sinérgico por la formación de micelas mixtas, que resultan más eficientes que los surfactantes individuales.

5.4 Conclusiones

Se encontró efecto sinérgico en la desorción de fenantreno y naftaleno desde la sílica gel y el suelo arenoso cuando se emplearon mezclas T80-SDDC. Este efecto probablemente es debido a la formación de micelas mixtas que producen una combinación de efectos beneficiosos para desorber los contaminantes desde matrices sólidas y aumentando la capacidad de las micelas mixtas para extraer los HAP, siendo ésta mayor que con los surfactantes individuales.

La mezcla T80-SDDC resultó más eficiente que los surfactantes individuales observándose el mayor efecto a α_{T80} 0,2. Los surfactantes utilizados mostraron un comportamiento similar en las dos matrices sólidas estudiadas, por lo cual los resultados obtenidos pueden ser usados para entender y predecir propiedades de desorción de sistemas mixtos y proveen información valiosa para posibles futuras aplicaciones.

5.5 Referencias

- (1) Enzminger, J. D.; Ahlert, R. *Environ. Technol. Lett.* **1987**, *8*, 269–278.
- (2) Rodrigues, A.; Nogueira, R.; Melo, L. F.; Brito, A. G. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **2013**, *83*, 48–55.
- (3) Boström, C.-E.; Gerde, P.; Hanberg, A.; Jernström, B.; Johansson, C.; Kyrklund, T.; Rannug, A.; Törnqvist, M.; Victorin, K.; Westerholm, R. *Environ. Health Perspect.* **2002**, *110*, 451.
- (4) Rybicki, B. A.; Neslund-Dudas, C.; Nock, N. L.; Schultz, L. R.; Eklund, L.; Rosbolt, J.; Bock, C. H.; Monaghan, K. G. *Cancer Detect. Prev.* **2006**, *30*, 412–422.
- (5) Man, Y. B.; Kang, Y.; Wang, H. S.; Lau, W.; Li, H.; Sun, X. L.; Giesy, J. P.; Chow, K. L.; Wong, M. H. *J. Hazard. Mater.* **2013**, *261*, 770–776.
- (6) Ortega-Calvo, J. J.; Tejada-Agredano, M. C.; Jimenez-Sanchez, C.; Congiu, E.; Sungthong, R.; Niqui-Arroyo, J. L.; Cantos, M. *J. Hazard. Mater.* **2013**, *261*, 733–745.
- (7) Gan, S.; Lau, E. V.; Ng, H. K. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *172*, 532–549.
- (8) Mulligan, C. N.; Yong, R. N.; Gibbs, B. F. *Eng. Geol.* **2001**, *60*, 371–380.
- (9) Dar, A. A.; Rather, G. M.; Das, A. R. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 3122–3132.
- (10) Zhou, W.; Zhu, L. *Environ. Pollut.* **2007**, *147*, 350–357.
- (11) Yang, K.; Zhu, L.; Xing, B. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 4274–4280.
- (12) Yang, X.; Lu, G.; She, B.; Liang, X.; Yin, R.; Guo, C.; Yi, X.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.*, **2015**, *260*, 74–82.
- (13) Liang, X.; Zhang, M.; Guo, C.; Abel, S.; Yi, X.; Lu, G.; Yang, C.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.* **2014**, *244*, 522–530.
- (14) Guo, H.; Zhang, J.; Liu, Z.; Yang, S.; Sun, C. *J. Hazard. Mater.* **2010**, *177*, 1039–1045.
- (15) Zhou, W.; Wang, X.; Chen, C.; Zhu, L. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, *425*, 122–128.
- (16) Wei, J.; Huang, G.; Zhu, L.; Zhao, S.; An, C.; Fan, Y. *Chemosphere* **2012**, *89*, 1347–1353.
- (17) Zhu, L.; Feng, S. *Chemosphere* **2003**, *53*, 459–467.
- (18) Zhao, B.; Zhu, L.; Li, W.; Chen, B. *Chemosphere* **2005**, *58*, 33–40.
- (19) Muherei, M. A.; Junin, R.; Bin Merdiah, A. B. *J. Pet. Sci. Eng.* **2009**, *67*, 149–154.

- (20) Thibaut, A.; Misselyn-Bauduin, A.; Grandjean, J.; Broze, G. *Langmuir* **2000**, *16*, 9192–9198.
- (21) Rouse, J. D.; Sabatini, D. A.; Harwell, J. H. *Environ. Sci. Technol.* **1993**, *27*, 2072–2078.
- (22) Stellner, K. L.; Scamehorn, J. F. *Langmuir* **1989**, *5*, 77–84.
- (23) Shi, Z.; Chen, J.; Yin, X. *J. Air Waste Manage. Assoc.* **2013**, *63*, 694–701.
- (24) Guo, H.; Liu, Z.; Yang, S.; Sun, C. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *170*, 1236–1241.
- (25) Zhang, M.; Zhu, L. *J. Soils Sediments* **2010**, *10*, 1123–1130.
- (26) Paria, S. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2008**, *138*, 24–58.
- (27) Abouseoud, M.; Yataghene, A.; Amrane, A. *Hazard. Mater.* **2010**, *180*, 131–136.
- (28) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, *84*, 1700–1707.
- (29) Lamichhane, S.; Bal Krishna, K. C.; Sarukkalige, R. *J. Environ. Manage.* **2017**, *199*, 46–61.
- (30) Kalev, S. D.; Toor, G. S. *Green Chem. An Incl. Approach* **2017**, 339–357.
- (31) Sales, P. S.; Fernández, M. A. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*, 10158–10164.
- (32) Rodríguez-Cruz, M. S.; Sanchez-Martin, M. J.; Sanchez-Camazano, M. A. *Chemosphere* **2005**, *61*, 56–64.
- (33) Kutzner, S.; Schaffer, M.; Licha, T.; Worch, E.; Börnick, H. *Sci. Total Environ.* **2018**, *643*, 632–639.
- (34) Mishra B.K., Patel S., Dash S., Parida S. K. *Adv. Colloide Interf. Sci.* **2006**, *121*, 77–110.
- (35) Cabana Saavedra, L. C.; Pachón Gómez, E. M.; Oliveira, R. G.; Fernández, M. A. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, *533*, 41–47.
- (36) Wei, J.; Huang, G.; Li, J.; Wang, X. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2016**, *55*, 4811–4819.
- (37) Ahn, C. K.; Woo, S. H.; Park, J. M. *Carbon N. Y.* **2008**, *46*, 1401–1410.
- (38) Deshpande, S.; Shiao, B. J.; Wade, D.; Sabatini, D. A.; Harwell, J. H. *Water Res.* **1999**, *33*, 351–360.
- (39) Wei, Y.; Liang, X.; Tong, L.; Guo, C.; Dang, Z. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2015**, *468*, 211–218.
- (40) Wei, Y.; Liang, X.; Lin, W.; Guo, C.; Dang, Z. *Chem. Eng. J.* **2015**, *264*, 807–814.
- (41) Ni, H.; Zhou, W.; Zhu, L. *J. Environ. Sci.* **2014**, *26*, 1071–1079.
- (42) Shi, Z.; Chen, J.; Liu, J.; Wang, N.; Sun, Z.; Wang, X. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 12769–12774.



Capítulo 6:

Efecto de los surfactantes sobre la disponibilidad de los contaminantes a microorganismos específicos

**Cuando creíamos que teníamos todas las respuestas, de pronto,
cambiaron todas las preguntas.**

Mario Benedetti



Índice

Índice	170
6.1 Introducción	171
6.1.1 Características de los microorganismos halófilos	173
6.1.1.1. Generalidades de <i>Halomonas spp.</i>	174
6.1.2 Metodologías de bibliografía reportadas para evaluar la eficacia de los surfactantes sobre la disponibilidad de los HAPs a microorganismos	175
6.2 Objetivos	176
6.3 Resultados y discusión	177
6.3.1 Sistemas en estudio	177
6.3.2 Ensayo de biodegradación de HAPs por turbidez	177
6.3.2.1. Puesta a punto de condiciones experimentales	177
6.3.2.2. Biodegradación de naftaleno	177
6.3.2.3. Biodegradación de fenantreno	179
6.3.3 Ensayos de biodegradación de HAPs por determinación de viabilidad	181
6.3.3.1. Biodegradación de naftaleno	181
6.3.3.2. Biodegradación de fenantreno	182
6.3.4 Comparación de las metodologías utilizadas	184
6.4 Conclusiones	189
6.5 Referencias	190

6.1 Introducción

Es conocido que la biorremediación de suelos contaminados es beneficiosa tanto por razones ambientales como económicas. Sin embargo, uno de los factores importantes que limitan la biorremediación de suelos contaminados con HAPs es la baja biodisponibilidad de los contaminantes a microorganismos capaces de degradarlos. En general se cree que el uso de agentes tensioactivos puede ser un medio para superar el problema.¹ De esta manera la fracción disponible de HAPs podría aumentarse por la solubilización micelar producida por los surfactantes. Por lo tanto, se plantea que la biodegradación puede ser mejorada por los surfactantes y así se podrían remediar suelos contaminados con HAPs. Numerosos estudios,²⁻⁵ han demostrado un efecto positivo del empleo de surfactantes en la biodegradación de este tipo de contaminantes.

Para una mejor comprensión del papel que juegan los surfactantes en la biodisponibilidad, es esencial comprender los efectos del surfactante en las interacciones entre las partículas del suelo, la solución del suelo, los contaminantes y los microorganismos.⁶ Por este motivo se llevaron a cabo estudios como los reportados en capítulos anteriores de esta tesis, respecto a la solubilización en agua y desorción desde suelos de HAPs por parte de algunos surfactantes. Hay informes acerca de que la adsorción de HAPs en matrices sólidas es dependiente de las especies contaminantes y dependiente de los compuestos solubles en biosurfactantes,ⁱ que apunta a una interacción directa entre las micelas con las membranas celulares.^{7,8} El efecto del surfactante sobre la biodisponibilidad de HAPs puede describirse a partir de dos procesos principales: (1) el surfactante puede mejorar la desorción de HAPs desde el suelo a la solución, en la que estarán directamente disponibles para los microorganismos; y (2) afectar el proceso de incorporación de nutrientes como los HAPs por el microorganismo desde el suelo, mediante la interacción del contaminante con la superficie de la célula microbiana.

Estudios previos han informado de la influencia de agentes surfactantes sintéticos⁹⁻¹¹ y biosurfactantes^{12,13} en la biodisponibilidad y la biodegradación de HAPs mediante la mejora de la desorción y/o solubilización de los HAPs en agua. La mejora de los surfactantes en el proceso de desorción de contaminantes y los mecanismos correspondientes han sido muy estudiados.¹⁴⁻¹⁶ Sin embargo, la información disponible acerca de la mejora de la biodisponibilidad de HAPs a microorganismos específicos utilizando agentes tensioactivos en solución y en el suelo es limitada.

ⁱ **Biosurfactante:** son compuestos anfifílicos, sintetizados a partir de plantas y microorganismos, que presentan en general menor toxicidad y mayor biodegradabilidad que los surfactantes sintéticos.⁶⁰

Algunos experimentos de bioadsorción en base a la utilización de biomasa muerta o inactiva, por lo general se realizan para evaluar las interacciones entre los contaminantes y la superficie de la célula,¹⁷⁻²¹ mientras que el proceso dinámico y cuantitativo debe ser evaluado para células vivas. Zhong y colaboradores^{22,23} comenzaron a centrarse en la interacción entre surfactantes y microorganismos, especialmente en las propiedades de la superficie celular. Estudios de Zhao y colaboradores²⁴ revelaron el efecto de un biosurfactante ramnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, sobre la hidrofobicidad de la superficie celular medida por adherencia microbiana a los hidrocarburos, prueba de agregación de sal y prueba de unión de poliestireno y la biodegradación de fenantreno por dos bacterias termófilas, *Bacillus subtilis* BUM y *P.aeruginosa* P-CG3. La inoculación mixta de estas dos cepas al biosurfactante, redujo significativamente la hidrofobicidad de la superficie celular del BUM hidrofóbico y se obtuvo como resultado un periodo de latencia notable en la biodegradación. Sin embargo, ambas cepas aumentaron significativamente la hidrofobicidad de la superficie celular y mejoraron la biodegradación para *P.aeruginosa* P-CG3 hidrofílico. En ausencia de ramnolípidos, una inoculación mixta de *Bacillus subtilis* BUM y *P.aeruginosa* P-CG3 eliminó 82,2% de fenantreno en 30 días y el principal contribuyente de la biodegradación fue *Bacillus subtilis* BUM (biodegradante rápido), mientras que el crecimiento de *P.aeruginosa* P-CG3 (biodegradante lento) fue suprimido.

La biodegradación de 15 HAPs por especies tales como *Bacillus stratosphericus* y *Pseudomonas aeruginosa*, entre otras, aumentaron un 29 % después del uso de un biosurfactante (es decir, la degradación potenciada por biosurfactantes de los HAPs fue del 86 % mientras que del 57 % en los controles sin adición de biosurfactantes y nutrientes después de la incubación durante 45 días).²⁵ Un resultado similar, con una mayor eficiencia, se encontró en la biodegradación de otros 16 HAPs por bacterias Gram positivas. En estos estudios se observó una mayor reducción en la concentración de los HAP en suelo altamente contaminado modificado con biosurfactante (78,7 % de degradación). También, se demostró que el biosurfactante produjo un aumento en el crecimiento de bacterias Gram positivas que degradan HAP, lo que puede vincularse con una reducción significativa en los HAPs.²⁶ Se encontró que *Acinetobacter lwoffii* RAG-1 (bacteria Gram negativa) logró degradar casi todo el fenantreno (99,5 %) en presencia de ramnolípidos.²⁷ Del mismo modo, más del 95 % del antraceno se degrada en presencia de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) y T80 y más del 90 % de naftaleno es degradado en presencia de CTAB por una cepa bacteriana aislada del suelo contaminado con petróleo en el sur de Argelia.²⁸

La biodegradación de HAP de alto peso molecular aumentó 7,6 veces, mientras que esta biodegradación fue de 2,8 veces, para los HAPs de bajo peso molecular, en presencia del surfactante no iónico, Tritón X-100 por la especie bacteriana *Achromobacter xylosoxidans*,²⁹ demostrando que el surfactante es eficaz para el tratamiento biológico de HAPs de alto peso molecular.

Los microorganismos de los géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Esfingomonas*, *Acinetobacter*, *Halomonas*, *Rhodococcus* y *Micobacterias* han sido identificados como degradadores de HAPs. Además, se ha demostrado que funcionan tanto para HAPs de bajos como de altos pesos moleculares.^{7,30,31}

En este trabajo, el surfactante no iónico T80 y el surfactante gémini aniónico SDDC fueron usados para evaluar sus efectos sobre la biodegradación de naftaleno y fenantreno mediada por *Halomonas titanicae* KHS3 mediante dos metodologías. Estos resultados podrían proporcionar un nuevo enfoque hacia un mejor entendimiento de cómo la presencia del surfactante puede afectar la biodegradación de HAPs.

6.1.1 Características de los microorganismos halófilos

Se ha encontrado que los microorganismos halófilos, es decir aquellos que sobreviven en medios ricos en sales minerales, son capaces de crecer usando compuestos aromáticos como única fuente de carbono.

A pesar de esto, no todos los microorganismos halófilos se pueden utilizar en ensayos de biodegradación.³² En la Tabla 6.1 se presentan diferentes grupos de microorganismos y sus características.

Denominación	Características
No halófilos	Crecimiento óptimo a una concentración de NaCl inferior a 0,2 M (1 % P/V)
Halotolerantes	Microorganismos no halófilos capaces de crecer en medios con hasta 2,5 M (15 % P/V) de NaCl
Halófilos débiles (bacterias marinas)	Crecimiento óptimo en medios con 0,2-0,5 M (1-3 % P/V) de NaCl
Halófilos moderados	Crecen de forma óptima entre una concentración de NaCl de 0,5-2,5 M (3-15 % P/V) de NaCl
Halófilos extremos	Tienen un crecimiento óptimo entre 2,5-5,2 M (15-32 % P/V) de NaCl*

*El límite superior (5,2 M) constituye la concentración de saturación del NaCl.

Entre los halófilos, el género *Halomonas* constituye uno de los grupos de microorganismos utilizados para ensayos de biodegradación. Este género está formado en su mayoría por microorganismos halófilos moderados (Tabla 6.1), pudiéndose encontrar algunos halotolerantes como las especies, *H.elongata*,³³ *H.campaniensis*³⁴ o *H.desiderata*.³⁵ Existen microorganismos haloalcalófilos como *H.pantellerensis*,³⁶ *H.boliviensis*³⁷ o *H.campisalis*.³⁸

6.1.1.1. Generalidades de *Halomonas spp.*

Como ya se mencionó anteriormente, las bacterias del género *Halomonas* son halófilos que pertenecen a la familia *Halomonadaceae*, un grupo de Gammaproteobacterias. Las especies de este género son bacilos o cocobacilos quimioheterótrofos Gram negativos, catalasa positivos y no formadores de esporas. Estos microorganismos han demostrado una variedad de características que los hacen interesantes para aplicaciones biotecnológicas. Utilizan el oxígeno como aceptor final de electrones, aunque algunos de sus miembros pueden crecer en anaerobiosis en presencia de nitrato e incluso nitrito. Esta capacidad ha permitido el uso de distintas cepas del género *Halomonas* en biorreactores para tratamiento de aguas contaminadas.³⁹ En cuanto a los procesos de biorremediación, varias especies de *Halomonas* han sido utilizadas en la biodegradación de hidrocarburos aromáticos^{40,41} y otros compuestos tóxicos.

Hay antecedentes de la utilización de dos bacterias (*Halomonas spp.* y *Nesterenaconia sp.*), aisladas e identificadas en ambientes salinos en Argentina que fueron evaluadas por su capacidad para crecer en presencia de gasoil, combustible derivado del petróleo, y para responder quimiotácticamente a mezcla de hidrocarburos mostrando ser buenos biodegradadores de los mismos.⁴²

La cepa utilizada en esta tesis para los ensayos de biodegradación fue *Halomonas titanicae* KHS3, aislada a partir de agua de mar contaminada del puerto de Mar del Plata, por la Dra. Karina Herrera Seitz de la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP) quien nos cedió una muestra de la misma iniciando así una colaboración.⁴² Este microorganismo tiene la capacidad de crecer usando petróleo como única fuente de carbono y energía. Son bacilos muy móviles, fuertemente quimiotácticosⁱⁱ a los HAPs y petróleo, tal como se desprende de un estudio en placas de agar blando.⁴³

La cepa aislada KHS3 fue colocada inicialmente en el género *Halomonas* basándose en la secuencia de su gen 16S ARN (*Halomonas titanicae* cepa S6-2-2 y *Halomonas sp.* MBEE15). La secuencia del genoma mostró *Chromohalobacter salexigens* DSM 3043 y *Halomonas elongata* DSM2581 como vecinos más cercanos para *Halomonas sp.* KHS3. En cuanto a la motilidad y la quimiotaxis, se identificaron varias copias de genes que codifican para algunas proteínas flagelares, así como otros genes implicados en la síntesis flagelar y rotación.⁴³

ⁱⁱ **Quimiotaxis:** Fenómeno en el cual las bacterias y otros organismos uni o pluricelulares dirigen sus movimientos de acuerdo con la concentración de ciertas sustancias químicas en su medio ambiente

6.1.2 Metodologías de bibliografía reportadas para evaluar la eficacia de los surfactantes sobre la disponibilidad de los HAPs a microorganismos

Hay varios estudios en los cuales se evaluó la capacidad de los surfactantes sobre la disponibilidad a microorganismos específicos, mediante diversas metodologías experimentales. En estudios de González y colaboradores, la metodología que usaron para determinar el crecimiento de las células fue mediante cambios en la absorbancia de los cultivos por espectrofotometría a 600 nm. Las mediciones se realizaron a las 0, 24, 48, 72, 96 y 168 h del periodo de incubación, y a partir de estos valores se determinó la densidad bacteriana durante el proceso de degradación de HAP.⁴⁴ D'ippólito y colaboradores, también determinaron el crecimiento celular midiendo la densidad óptica de los cultivos a 600 nm (DO_{600}) en diferentes intervalos de tiempo.⁴²

Zhang y colaboradores, utilizaron una metodología por recuento de colonias viables. Ellos incubaron la cepa *Klebsiella oxytoca* con el agregado de pireno, con y sin diferentes concentraciones de T80 a 28 °C en agitación constante. En este caso, los tratamientos de control utilizados se prepararon sin pireno para explicar la utilización de T80 por la cepa. Los recuentos de células viables se realizaron cada 3 días a lo largo del experimento.⁴⁵

Otros estudios utilizaron cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para evaluar el impacto de un biosurfactante producido *in situ* en la biodegradación de los HAPs. Los autores usaron las especies *Bacillus stratosphericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, y *Pseudomonas aeruginosa* para degradar pireno, naftaleno y fenantreno entre otros. Luego adicionaron *n*-hexano, para separar la fase acuosa y la fase orgánica. Después de la centrifugación, el sobrenadante se decantó y el extracto orgánico se pasó a través de sulfato de sodio anhidro y los residuos se analizaron por HPLC.²⁵

En este trabajo de tesis se utilizaron las dos primeras metodologías descriptas, como se detalla en el capítulo 8.

6.2 *Objetivos*

El objetivo fue estudiar el efecto de los surfactantes T80 (no iónico), y SDDC (gémuni aniónico) y la mezcla de ambos, sobre la disponibilidad de contaminantes (naftaleno y fenantreno) a microorganismos específicos. Aunque esta mezcla logró ser efectiva para la solubilización en agua de estos hidrocarburos, así como para la extracción de estos contaminantes desde matrices sólidas, como se mostró en los capítulos anteriores, esto no asegura la presencia de un efecto similar sobre la disponibilidad de los mismos contaminantes a un microorganismo capaz de degradarlo (*Halomonas titanicae* KHS3).

Esta cepa se usó para este estudio esperando encontrar condiciones favorables para la biodegradación de contaminantes con participación de los surfactantes, que los hagan disponibles al microorganismo, con la hipótesis futura de aplicar estos sistemas en la recuperación de suelos contaminados.

6.3 Resultados y discusión

6.3.1 Sistemas en estudio

Se presentan a continuación los resultados obtenidos utilizando dos metodologías para evaluar los efectos de T80, SDDC y la mezcla de éstos, sobre la disponibilidad de los contaminantes, naftaleno y fenantreno (sus estructuras se muestran en la Tabla 3.1), a un microorganismo específico (*Halomonas titanicae* KHS3).

Estos estudios se realizaron en colaboración con las Dras. Fabiana Alovero y Ana Apas del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba y UNITEFA-CONICET.

6.3.2 Ensayo de biodegradación de HAPs por turbidez

6.3.2.1. Puesta a punto de condiciones experimentales

Buscando las condiciones más favorables para la degradación de este contaminante, inicialmente se realizaron ensayos de biodegradación de naftaleno agregando los cristales de este contaminante en el medio H₁ (ver sección experimental) con diferentes concentraciones de cada surfactante. Se mantuvieron los cultivos en baño termostático a 30 °C con agitación. Dado que de esta manera no se observó variación de la turbidez de los cultivos en evaluación, se modificaron las condiciones, solubilizando el contaminante en el surfactante o la mezcla de surfactantes antes de agregarlo al medio, para proporcionarle a la cepa el contaminante más disponible. Las concentraciones de surfactante por encima de la CMC en ningún caso superaron el 0,05 % V/V agregado en el medio de cultivo, como se menciona en bibliografía, estas concentraciones se utilizaron por encima de la CMC.^{45,46} Además, se modificó la temperatura a 37 °C con agitación, como se encontró reportado.^{42,47} Los datos obtenidos fueron transformados (Abs_t) para independizarse de la absorbancia inicial de cada tratamiento (ver metodología 8.3.9).

6.3.2.2. Biodegradación de naftaleno

En la Figura 6.1A se muestran los resultados obtenidos de los cambios en la absorbancia de cultivos de crecimiento de *Halomonas titanicae* KHS3, en presencia de naftaleno (contaminante) previamente solubilizado en SDDC (TN1), en T80 (TN2) y la suspensión bacteriana sin el agregado de contaminantes ni surfactantes (TN5, *Halomonas* en el medio de cultivo). Los cultivos exhiben mayores valores de absorbancia en presencia de naftaleno solubilizado en T80 y valores más bajos en presencia del contaminante solubilizado en SDDC.

El surfactante gémuni aniónico (TN1) estaría produciendo un efecto tóxico a la cepa, inhibiendo su crecimiento. En TN2, por el contrario, se evidencia un efecto favorable mediado por el T80.

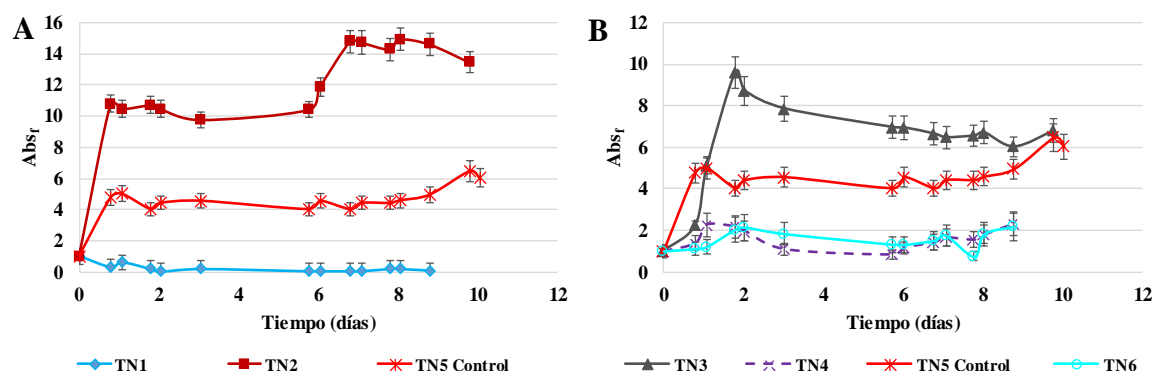


Figura 6.1.

Variación de la absorbancia de cultivos de *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de naftaleno en (A) solubilizado en surfactantes individuales (B) solubilizado y sólido en mezcla de surfactantes T80-SDDC a $\alpha_{T80}=0,5$. Concentración de surfactante total 1mM. TN1: naftaleno solubilizado en SDDC, TN2: naftaleno solubilizado en T80, TN3: naftaleno solubilizado en mezcla de surfactantes, TN4: mezcla de surfactantes, TN5: control de inóculo, TN6: naftaleno sólido en la mezcla de surfactantes.

El comportamiento de la cepa, frente a naftaleno sólido, como cristal, mostró que la mezcla T80-SDDC (TN6) no contribuye al aumento en la absorbancia del cultivo, resultando ineficaz para solubilizarlo, dificultando la disponibilidad del sustrato para *Halomonas titanicae* KHS3 (Figura 6.1B). Sin embargo, con naftaleno previamente solubilizado en la mezcla de surfactantes (TN3) se observó un incremento de la absorbancia comparado con el que se observa en la mezcla de surfactantes sin contaminante (TN4) (Figura 6.1B). Esto estaría evidenciando una mayor disponibilidad del sustrato, razón por la cual, en los ensayos posteriores, se usó el contaminante solubilizado. Estos resultados sugieren que la cepa utiliza el naftaleno como fuente de carbono.

Comparando los tratamientos que contienen naftaleno previamente solubilizado en SDDC (TN1) o T80 (TN2) con la mezcla T80-SDDC (TN3) (Figura 6.2), se observa una menor pendiente en la curva cuando el tratamiento contiene SDDC formando parte de la mezcla (TN3) respecto de naftaleno previamente solubilizado por T80 (TN2), atribuido a la inhibición producida por SDDC (TN1). La mezcla de surfactantes es menos tóxica que el TN1 para la cepa, ya que los surfactantes estarían formando micelas mixtas, reduciendo el SDDC disponible y generando un aumento en los valores de absorbancia, respecto de TN1.

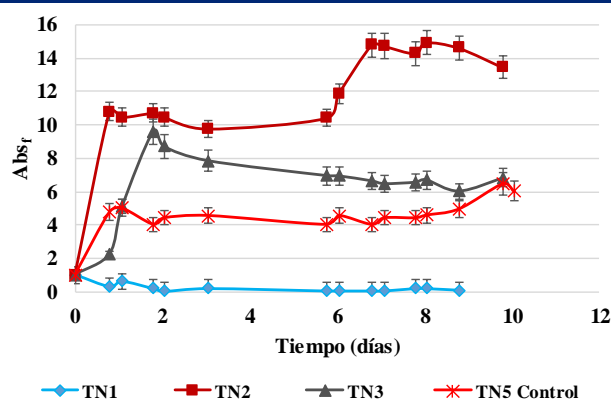


Figura 6.2. Variación de la absorbancia de cultivos de *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de naftaleno solubilizado en los surfactantes individuales y la mezcla de surfactantes T80-SDDC a $\alpha_{T80}=0,5$. Concentración de surfactante total 1mM. TN1: naftaleno solubilizado en SDDC, TN2: naftaleno solubilizado en T80, TN3: naftaleno solubilizado en mezcla de surfactantes, TN5: control de inóculo.

6.3.2.3. Biodegradación de fenantreno

En base a los resultados previamente obtenidos con naftaleno, en este ensayo, se incorporó como control adicional el efecto que genera el SDDC en ausencia de hidrocarburo (TF7) sobre el crecimiento de la cepa. En la Figura 6.3, se analizaron las variaciones en la absorbancia del cultivo en presencia de fenantreno previamente solubilizado en SDDC (TF1) o en T80 (TF2). Tal como se observó al solubilizar el naftaleno en SDDC (Figura 6.1A y 6.2), la cepa fue inhibida al exponerla a fenantreno solubilizado en SDDC. Por el contrario, con T80, muestra un comportamiento similar al control de inóculo (TF5).

El análisis de esta gráfica reflejó que en los tratamientos que tienen presente SDDC (TF1 y TF7) el crecimiento de la cepa está inhibido comparado con los demás tratamientos y con el control.

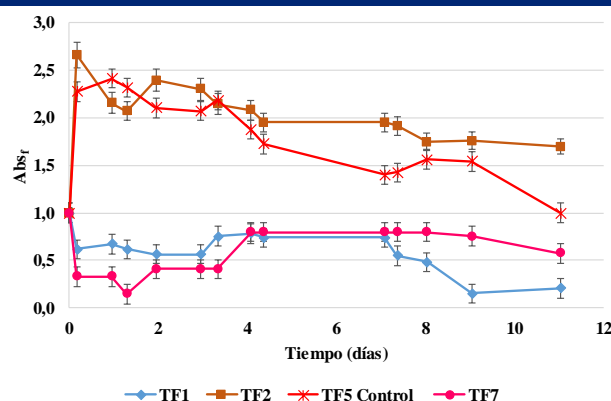


Figura 6.3. Variación de la absorbancia de cultivos de *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de fenantreno solubilizado en los surfactantes individuales y en [SDDC]= 0,5 mM. TF1: fenantreno solubilizado en SDDC, TF2: fenantreno solubilizado en T80, TF5: control de inóculo, TF7: SDDC.

Se analizó si los cambios en los valores de absorbancia de la *Halomonas titanicae* KHS3, se debía al uso de fenantreno como fuente de carbono y energía solubilizado en la mezcla T80-SDDC (TF3) o simplemente a la mezcla de surfactantes en ausencia de hidrocarburo (TF4), (Figura 6.4A). Ambos tratamientos muestran valores superiores al control (TF5), siendo TF3 menor que TF4.

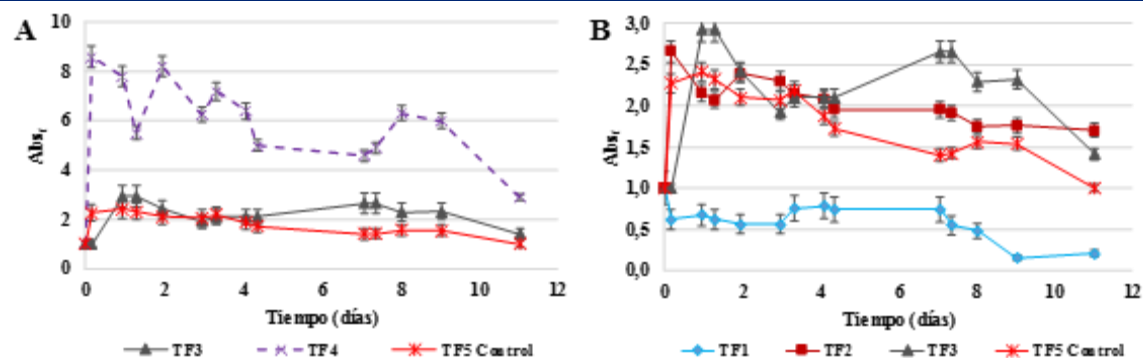


Figura 6.4.

Variación de la absorbancia de cultivos de *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de fenantreno (A) en la mezcla T80-SDDC (B) en los surfactantes individuales y la mezcla T80-SDDC a $\alpha_{T80} = 0,5$. TF1: fenantreno solubilizado en SDDC, TF2: fenantreno solubilizado en T80, TF3= fenantreno solubilizado en la mezcla, TF4: mezcla de surfactantes, TF5: control de inóculo.

Del análisis comparativo de las curvas de crecimiento de la *Halomonas titanicae* KHS3 con el agregado de fenantreno previamente solubilizado en SDDC (TF1), T80 (TF2), mezcla T80-SDDC (TF3) y el control (TF5) (Figura 6.4B), se observó nuevamente un efecto inhibitorio por parte del SDDC y una menor toxicidad del mismo cuando está formando parte de una mezcla (TF3). Las curvas de crecimiento TF2 y TF3 presentaron un comportamiento similar a la curva del control TF5, durante los primeros cuatro días de ensayo y luego su comportamiento fue diferente para cada uno de los tratamientos.

A partir de los ensayos realizados con naftaleno y fenantreno, podríamos concluir que los valores más altos de los cambios de absorbancia se obtuvieron cuando se utilizó naftaleno previamente solubilizado en T80, lo cual estaría relacionado con una mayor degradación del contaminante solubilizado en ese surfactante. En todos los casos el surfactante gémini no resultó eficiente, sugiriéndose que inhibe el crecimiento de la *Halomona titanicae* KHS3. Con respecto a la mezcla de surfactantes, se evidenció un crecimiento superior al control de inóculo, no obstante, sin alcanzar los niveles exhibidos por naftaleno solubilizado en T80, probablemente por la cantidad de SDDC presente en la mezcla que resulta tóxica para *Halomona titanicae* KHS3. En cuanto al uso de fenantreno como contaminante, no se observaron grandes diferencias para fenantreno solubilizado en los diferentes sistemas comparado con la curva de control de crecimiento de control de la cepa.

Con el fin de corroborar el comportamiento observado en los experimentos anteriores (turbidez), y tener un estudio más completo de la biodegradación, se realizaron experimentos de recuento de

viales, por exposición de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3, a los contaminantes y surfactantes en estudio.

6.3.3 Ensayos de biodegradación de HAPs por determinación de viabilidad

Se determinó la viabilidad de la cepa por recuento de unidades formadoras de colonias en medio sólido (Log UFC/mL), luego de diferentes tiempos de exposición a cada uno de los tratamientos. En estos estudios, TN6 fue excluido debido a que el contaminante (naftaleno) está en forma sólida.

6.3.3.1. Biodegradación de naftaleno

En la Figura 6.5, se muestra el comportamiento de la cepa en presencia de naftaleno solubilizado en SDDC (TN1) y en T80 (TN2), comparado con los surfactantes sin contaminante SDDC (TN7) y T80 (TN8) y con control de inóculo (TN5). Los resultados muestran que el único tratamiento que superó el crecimiento del control fue TN2. Los tratamientos que contienen SDDC (TN1 y TN7) están inhibiendo el crecimiento de la cepa, o erradicando el inóculo a partir de una semana de exposición. Por el contrario, los tratamientos con T80 (TN2 y TN8) estimularon el crecimiento de la cepa. En consecuencia, se observó un efecto favorable con T80. En las primeras 24 horas, *Halomonas titanicae* KHS3 presenta mayores valores de recuento que TN5 en cultivos conteniendo naftaleno solubilizado en T80 y valores más bajos en presencia de SDDC, con y sin contaminante.

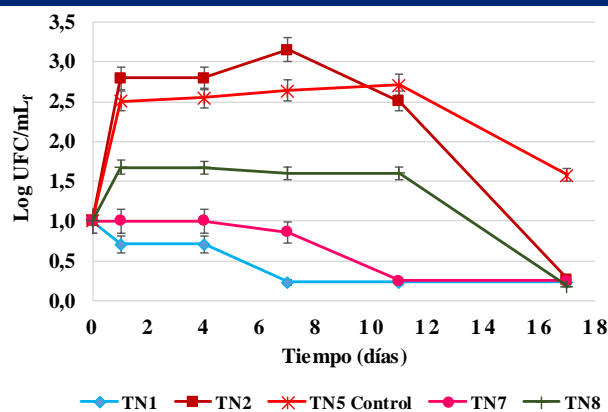


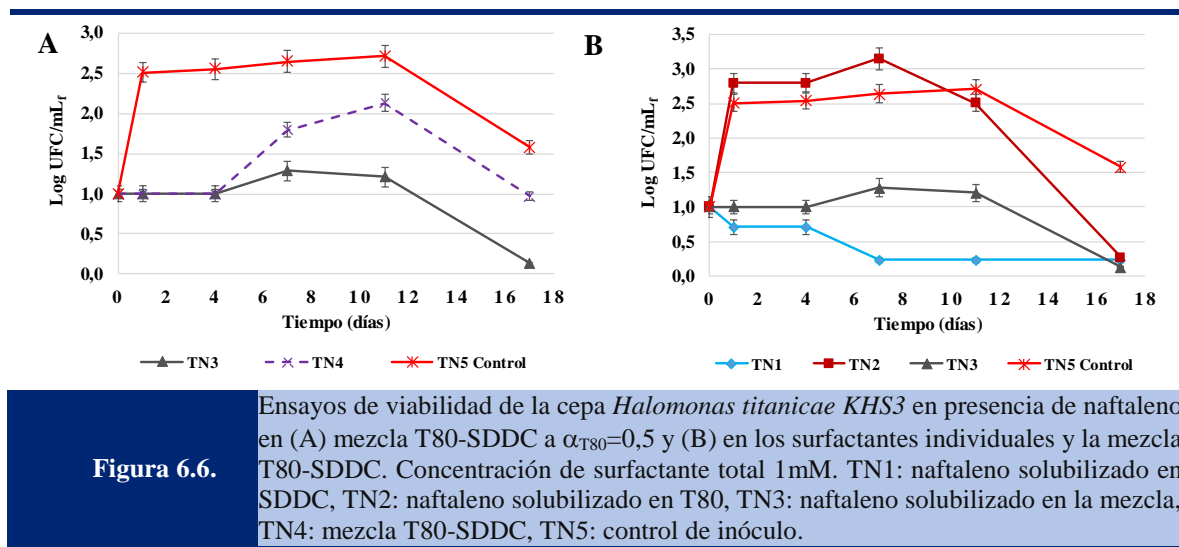
Figura 6.5.

Ensayos de viabilidad de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de naftaleno solubilizado en los surfactantes individuales y los surfactantes individuales sin contaminante. TN1: naftaleno solubilizado en SDDC, TN2: naftaleno solubilizado en T80, TN5: control de inóculo, TN7: SDDC, TN8: T80.

Para definir si *Halomonas titanicae* KHS3 utiliza la mezcla de surfactantes (TN4) como nutrientes, se comparan esos resultados con los obtenidos en presencia del hidrocarburo solubilizado en la mezcla T80-SDDC (TN3), y se muestran en la Figura 6.6A. Allí puede apreciarse que en ambos tratamientos la cepa se mantuvo estable, durante los primeros 4 días luego se observó crecimiento y

finalmente la viabilidad comenzó a descender. Esto estaría indicando que la cepa está muriendo, en ambos tratamientos. Por su parte el crecimiento del control (TN5) superó a los tratamientos y comenzó a disminuir el recuento hacia el final del experimento.

El crecimiento de la cepa con la mezcla de surfactantes (TN4) fue mayor que el exhibido con naftaleno solubilizado en la mezcla T80-SDDC (TN3). En estos casos, SDDC en la mezcla estaría formando micelas mixtas, y por lo tanto estaría menos disponible para producir efecto tóxico a la cepa, permitiendo el crecimiento de la misma, aunque no sea tan pronunciado como en el control.



Si se comparan ahora, los tratamientos conteniendo el naftaleno previamente solubilizado en los surfactantes individuales SDDC y T80 (TN1 y TN2) o en la mezcla de ambos (TN3), claramente se observa que naftaleno solubilizado en T80 es la mejor de las condiciones ensayadas (Figura 6.6B).

6.3.3.2. Biodegradación de fenantreno

Por otra parte, se realizaron los mismos estudios, utilizando fenantreno. En la Figura 6.7 se muestra el crecimiento de *Halomonas titanicae* KHS3 expuesta a fenantreno solubilizado en SDDC (TF1), en T80 (TF2), los surfactantes sin el agregado del contaminante (TF7 y TF8 corresponden a SDDC y T80, respectivamente) y el control (TF5). La curva de crecimiento del control exhibió los recuentos más altos. Tal como se describió anteriormente, el surfactante SDDC estaría produciendo un efecto tóxico sobre la cepa en estudio.

Por un lado, el comportamiento de TF1 y TF7 fue similar a lo observado con naftaleno, donde la presencia de SDDC estaría provocando inhibición o incluso muerte del inóculo a partir de las 24 horas de exposición y los siete días, respectivamente.

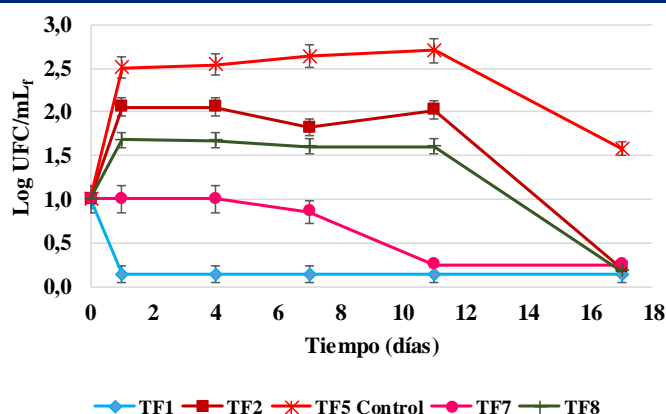


Figura 6.7.

Ensayos de viabilidad de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de fenantreno en los surfactantes individuales y la mezcla T80-SDDC a $\alpha_{T80}=0,5$. Concentración de surfactante total 1Mm. TF1: fenantreno solubilizado en SDDC, TF2: fenantreno solubilizado en T80, TF5: control de inóculo, TF7: SDDC, TF8: T80.

Además, el efecto de la exposición del cultivo a fenantreno solubilizado en la mezcla de surfactantes (TF3), se comparó con la mezcla de surfactantes en ausencia del hidrocarburo (TF4), como se muestra en la Figura 6.8A. En TF3 y TF4 se observa un crecimiento menor que en el control (TF5) y un comportamiento similar entre ellos. Los resultados obtenidos podrían deberse a que la cepa a que la presencia de SDDC produce un efecto inhibitorio inicial. El incremento en el recuento de células viables observado a los 7 días se podría atribuir a que la cepa inhibida por la presencia de SDDC durante la primera etapa del estudio comenzó a utilizar los escasos nutrientes adicionados al medio mínimo mientras el control los utilizó desde las primeras horas del experimento.

Comparando las curvas de crecimiento de la *Halomonas titanicae* KHS3 con el agregado de fenantreno previamente solubilizado en SDDC (TF1), T80 (TF2), mezcla T80-SDDC (TF3) y el control de inóculo (TF5) (Figura 6.8B), se observó, tal como se descubrió con naftaleno, un efecto inhibitorio por parte del SDDC y una menor toxicidad del mismo cuando está formando parte de la mezcla (TF3). La curva de crecimiento del TF2 presentó un comportamiento favorable sin superar a la del control (TF5).

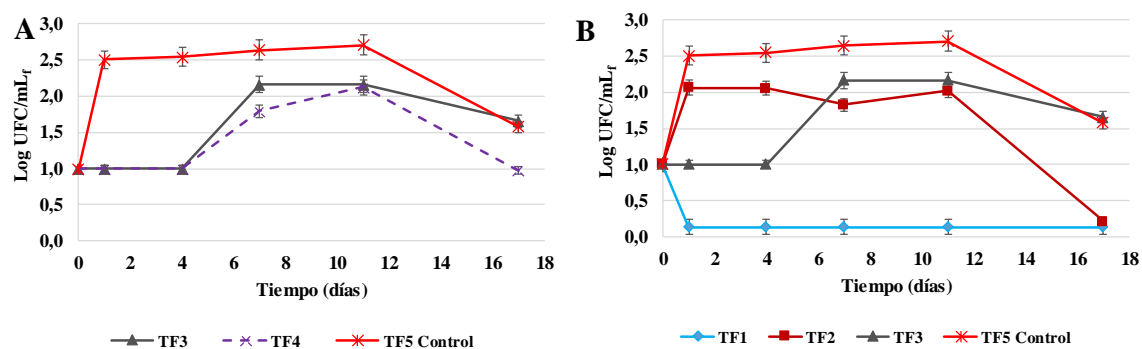


Figura 6.8.

Ensayos de viabilidad de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3 en presencia de fenantreno en mezcla T80-SDDC a $\alpha_{T80}=0,5$. Concentración de surfactante total 1Mm. TF1: fenantreno solubilizado en SDDC, TF2: fenantreno solubilizado en T80, TF3: fenantreno solubilizado en la mezcla, TF4: mezcla T80-SDDC, TF5: control de inóculo.

Al analizar conjuntamente los resultados obtenidos en ensayos de biodegradación de naftaleno y fenantreno mediada por *Halomonas titanicae* KHS3, empleando los distintos surfactantes y la mezcla de éstos, evaluadas por la metodología de recuento de viables a distintos tiempos de exposición, surge que únicamente el naftaleno solubilizado en T80 (TN2) alcanza y/o logra superar ligeramente el desarrollo exhibido por el control. Esto podría explicarse porque el naftaleno al ser de menor tamaño que fenantreno presenta una mayor solubilidad, lo cual lo hace más disponible para la cepa. Cuando el contaminante está en presencia del SDDC, se inhibe el crecimiento de la cepa, mientras que con la mezcla T80-SDDC se observa un leve crecimiento, pero sin alcanzar el nivel del control.

En todos los casos después de las 250 horas de exposición (11 días aproximadamente), la viabilidad celular disminuyó hasta la próxima medición a los 17 días, lo que podría deberse a que en el sistema cerrado, en el que no hubo renovación de ninguno de los componentes del medio, se consumieron los nutrientes adicionados a este medio mínimo.

6.3.4 Comparación de las metodologías utilizadas

A modo de screening preliminar se iniciaron los estudios con el método turbidimétrico por ser una metodología accesible, menos laboriosa, y haber sido utilizada en bibliografía específica del área. Por otro lado, los ensayos de viabilidad en el tiempo son más confiables a los fines de determinar el efecto de la presencia de los contaminantes sobre el crecimiento de la cepa seleccionada.

En general los resultados obtenidos en los ensayos de viabilidad corroboran el comportamiento observado por turbidimetría de la cepa frente a los diferentes sistemas.

A modo de resumen, en la Figura 6.9, se compararon los resultados de tratamientos con naftaleno solubilizado en SDDC, en T80 y en la mezcla de los surfactantes con el control obtenidos por las dos metodologías. En ambos casos se observó un efecto favorable en contacto con naftaleno solubilizado en T80, dado que presenta mayores valores de absorbancia y recuento de células viables que en el control. Esto podría ser porque la cepa estaría utilizando el naftaleno como fuente de carbono. Se confirmó el efecto tóxico de SDDC en *Halomonas titanicae* KHS3, dado que reduce los valores en las dos metodologías estudiadas respecto del inicio del ensayo. Por el contrario, la mezcla T80-SDDC permitió un aumento en los parámetros evaluados, sin alcanzar al control. Lo observado podría atribuirse a la presencia de SDDC en la mezcla.

En todos los ensayos de viabilidad el experimento duró 17 días, se encontró que la viabilidad disminuyó a partir de las 250 horas de exposición (11 días aproximadamente) hasta la próxima medición a los 17 días.

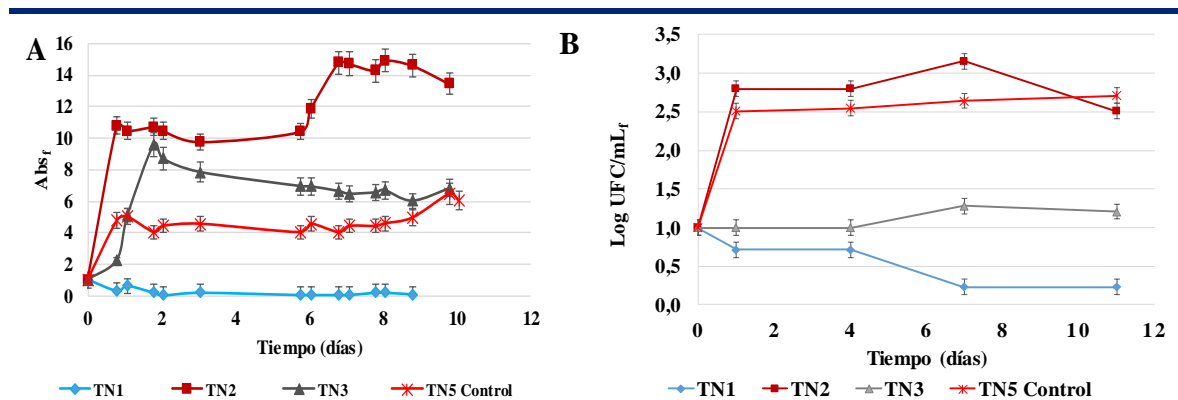


Figura 6.9. Comparación del crecimiento de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3 con naftaleno solubilizado en SDDC, T80, y la mezcla T80-SDDC utilizando la metodología (A) turbidez (B) medidas de viabilidad. TN1: naftaleno solubilizado en SDDC, TN2: naftaleno solubilizado en T80 TN3: naftaleno solubilizado en mezcla T80-SDDC, TN5: control de inóculo.

En el caso de fenantreno, se comparan los tratamientos que contienen fenantreno solubilizado en los dos surfactantes individuales con el control, como se muestra en la Figura 6.10. Por las dos metodologías se confirmó que SDDC resulta tóxico para la cepa, tal como se describió en ensayos anteriores. El microorganismo no evidencia utilización del contaminante que contiene el medio previamente solubilizado, dado que el incremento en la curva de crecimiento TF2 respecto al crecimiento de bacterias detectables frente a la masa de levadura presentó un comportamiento similar a la del control determinado por turbidez, y con la metodología de recuento de viables los valores fueron menores que el control.

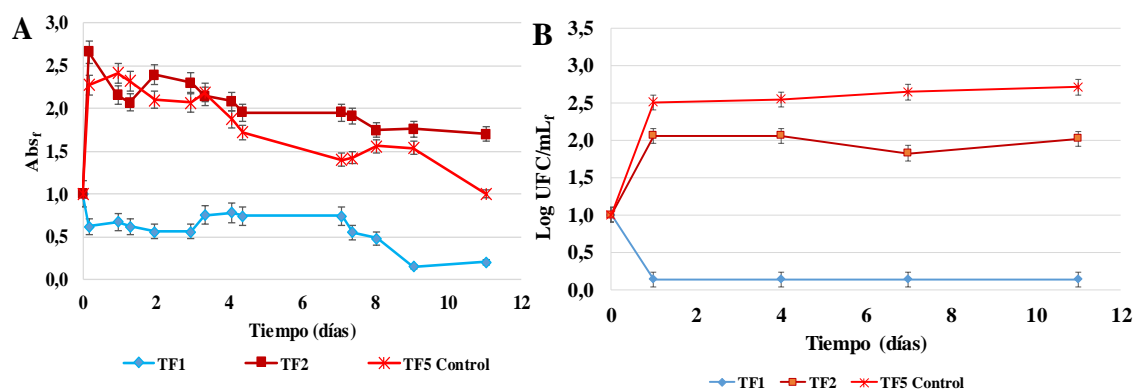


Figura 6.10.

Comparación del crecimiento de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3 con fenantreno en T80 y SDDC utilizando la metodología (A) turbidez (B) medidas de viabilidad. TF1: fenantreno solubilizado en SDDC, TF2: fenantreno solubilizado en T80, TF5: control.

En la Figura 6.11, se comparan los resultados de ambas metodologías exponiendo el cultivo de *Halomonas titanicae* KHS3 a fenantreno solubilizado en SDDC (TF1), T80 (TF2) y T80-SDDC a $\alpha_{T80} = 0,5$ (TF3). Se encontró un comportamiento similar del tratamiento TF1 utilizando ambas metodologías. Sin embargo, con respecto al TF2 y TF3 se encontraron comportamientos diferentes en las dos metodologías. Esta diferencia se puede deber a que cuando se realizaron los ensayos turbidimétricos se cuantificaron valores mayores de turbidez, los cuales serían interferentes que aumentan la cuantificación, sin correlación con el crecimiento de la cepa, mostrando en la Figura 6.11B un comportamiento más real de la cepa con el fenantreno solubilizado en T80 y en la mezcla de surfactantes.

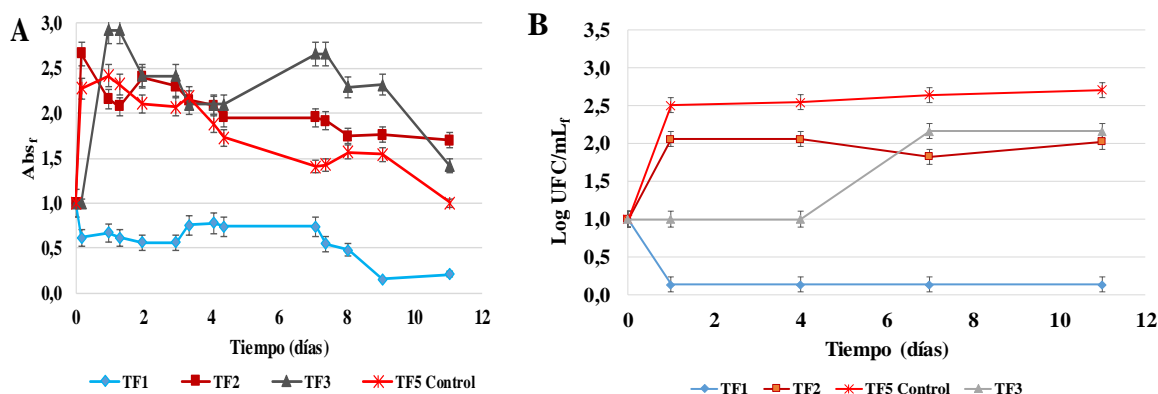


Figura 6.11.

Comparación del crecimiento de la cepa *Halomonas titanicae* KHS3 con fenantreno solubilizado en los surfactantes individuales y la mezcla T80-SDDC utilizando la metodología (A) turbidez (B) medidas de viabilidad. TF1: fenantreno solubilizado en SDDC, TF2: fenantreno solubilizado en T80, TF3: fenantreno solubilizado en la mezcla T80-SDDC TF5: control de inóculo.

Continuando con las comparaciones, el análisis de los tratamientos TF3, TF4, y TF5 de las Figuras 6.4A y 6.8A nos lleva a concluir que lo inicialmente observado por turbidez no se condice con los valores obtenidos por recuento de células viables. El aumento de la absorbancia en TF4

observado por turbidimetría no era crecimiento de la *Halomonas titanicae* KHS3, como se muestra en la Figura 6.8. En ninguno de esos tratamientos se observó recuento de células viables mayor que el control a lo largo del periodo evaluado.

Los efectos positivos producidos por el T80 incrementando la disponibilidad del naftaleno pueden atribuirse a que la fracción disponible de este HAP puede incrementarse mediante la solubilización micelar de los surfactantes. Algunos de los estudios que han encontrado efecto positivo con el uso de surfactantes en la biodegradación son, por ejemplo, el realizado por Swaathy y colaboradores⁴⁸ que encontraron que el uso de un biosurfactante facilitó la degradación del antraceno superando el 95 % de degradación en un plazo de 22 días.⁴⁸

También se demostró que la cepa *Arthrobacter* Sphe3 podía degradar fenantreno y pireno hasta un 99,03 % en presencia de los surfactantes no iónicos T20 y T80.⁴⁹ La velocidad de degradación del fenantreno por *Pseudomonas putida* fue mayor en presencia de Brij-30 (0,5 g/L) que en su ausencia.⁴ Otros estudios,^{50,51,52} también informaron que tanto las bacterias (especie de *Esfingomonas* y especie de *Pseudomonas*) como los hongos (micorrizas arbusculares) promueven la degradación de los HAPs en presencia de ramnolípidos. Por otra parte, Pan y colaboradores⁵³ observaron una degradación significativa (desde una concentración inicial de 400 mg/L a una concentración final de 0,001 mg/L) de fenantreno por *Sphingomonas polyaromaticivorans* cuando la concentración de los surfactantes Tergitol (TMN3) y Brij-30 fue 40 g/L.⁵³ Además, Machate y colaboradores⁵⁴ encontraron en un humedal una alta eficiencia de remoción (99,9 %) del fenantreno con el uso de T80, lo que demuestra el papel sinérgico de los microbios, las plantas (especies *Typha* y *Scirpus lacustris*) y los surfactantes en la remoción de los HAPs.⁵⁴

Lamentablemente en los estudios llevados a cabo en esta tesis, sólo se observó un crecimiento mayor que el control en el tratamiento que contenía naftaleno solubilizado en T80. Sin embargo, nuestros estudios se enfocaron en evaluar el crecimiento del microorganismo y de manera indirecta la degradación de los HAPs, pero no fue posible, por el complejo medio de trabajo, cuantificar de manera directa el contenido de HAPs al final de cada tratamiento. El surfactante SDDC es evidentemente tóxico para la cepa estudiada. Efectos similares han sido reportados, dando como resultado un efecto adverso de los surfactantes sobre la biodegradación de los HAP.^{6,55,56,57} Por ejemplo, la velocidad de degradación del naftaleno y el fenantreno en presencia de una cepa bacteriana aislada del suelo contaminado con petróleo en el sur de Argelia se redujo después del uso de T80.²⁸ Sin embargo, en aquel caso se observó una velocidad de crecimiento positiva de la biomasa bacteriana, que podría ser el resultado del consumo de HAP como fuente de carbono por las bacterias.

Ghosh y Mukherji⁵⁵ encontraron que Tritón X-100 (TX-100 1,19 g/L) y pireno (0,1 g/L) tienen un efecto tóxico sobre la *Pseudomonas aeruginosa*. La inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* podría deberse a los metabolitos tóxicos que se generan mediante la utilización de TX-100. Por otro lado, cuando se utilizó la mezcla Dodecil sulfato de sodio; Tritón X-100 (SDS:TX-100), y la proporción de la mezcla se incrementó a más de 1:9, se redujo la biodegradación completa del fenantreno en las soluciones de la mezcla.²²

Un efecto negativo de Brij-30 en los HAP de mayor peso molecular fue también observado para bacterias degradadoras.⁵⁶ Además, Brij-30 impidió la proliferación de *Actinobacterias* y *Bacteroidetes* en suelos contaminados con HAP.⁵⁷ Rodrigues y colaboradores⁵ encontraron que Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB 0,27 mM) tuvo un efecto negativo en la biodegradación de fluoranteno y antraceno, mediante la *Pseudomonas putida* ATCC 17514, y el uso de Dodecil sulfato de sodio (SDS 0,35 mM) redujo la biodegradación del fluoranteno con *Pseudomonas putida* hasta un 50 %, lo que llevó a una reducción drástica en el crecimiento de la biomasa.⁵ La biodegradación de fenantreno por parte de la *Pseudomonas putida* también se redujo en presencia de Brij-35 y T80.⁵⁸ Pei y colaboradores estudiaron la degradación de fenantreno por las especies de *Esfingomonas* GF2B, que fue sólo del 33,5 % en presencia de T80 en un plazo de 10 días, mientras que la degradación aumentó hasta el 83,6 % en ausencia de T80.⁵¹ Otro estudio mostró aumentos en la degradación del fenantreno por *Esfingomonas* GY2B en presencia de T80, que podría ser el resultado de la especie bacteriana. Sin embargo, se observó un efecto tóxico en las especies de *Esfingomonas* GY2B en presencia de Tritón X-100 y Brij-30 durante la degradación del fenantreno.⁵⁹ Todas estas observaciones muestran que la biodegradación de HAP no sólo depende de los tipos de microorganismos, sino también en gran medida de los surfactantes utilizados.

6.4 Conclusiones

Se estudió la biodegradación de naftaleno y fenantreno empleando *Halomonas titanicae* KHS3 por dos metodologías diferentes, turbidez y viabilidad celular que arrojaron resultados similares.

En cuanto a la metodología por turbidez, se obtuvieron los valores más altos de crecimiento microbiano cuando se utilizó naftaleno solubilizado en T80, lo cual podría estar relacionado con una mayor degradación de naftaleno. El surfactante gémuni no resultó eficiente, por algún mecanismo estaría inhibiendo el crecimiento de la *Halomona titanicae* KHS3. La mezcla evidenció un crecimiento superior al control, no obstante, no alcanzó los niveles exhibidos por naftaleno solubilizado en T80, probablemente por la cantidad de SDDC presente en la mezcla que le resulta tóxica a la *Halomonas titanicae* KHS3.

Los resultados obtenidos por medidas de viabilidad mostraron tendencias de valores similares de crecimiento microbiano cuando se utilizó naftaleno o fenantreno, aunque los valores más altos de recuento de viables se obtuvieron cuando la cepa está en presencia de naftaleno solubilizado en T80. Por el contrario, en todos los demás tratamientos los recuentos más altos correspondieron al control. Las diferencias entre las dos metodologías podrían deberse a la presencia de algunos metabolitos producidos de la degradación de los contaminantes en presencia de los surfactantes que tienen absorbancia a la longitud de onda de trabajo y producirían una sobreestimación del desarrollo bacteriano evaluado por turbidez.

La cepa *Halomonas titanicae* KHS3 fue capaz de utilizar el naftaleno como única fuente de carbono, sin embargo, no se observó lo mismo con fenantreno, lo cual no hace de ésta un buen candidato para su uso en procesos de biorremediación de ambientes salinos contaminados con HAPs.

Los resultados encontrados en los capítulos anteriores, donde la mezcla T80-SDDC logró ser efectiva para la solubilización en agua de estos hidrocarburos, así como para la extracción de estos contaminantes desde matrices sólidas, indicaría que esta mezcla es potencialmente utilizable en el lavado de suelos contaminados. Sin embargo, desde el punto de vista biológico, en las condiciones experimentales en que se trabajó, no se obtuvieron buenos resultados con la mezcla, debido a que el SDDC provocó inhibición en el crecimiento de la cepa utilizada, pero eso no cierra la posibilidad de que esta mezcla pueda ser útil en biodegradación mediada por otra especie, dado que en bibliografía se reporta una amplia gama de microorganismos utilizados para la degradación de HAPs que podrían ser explorados.

6.5 Referencias

- (1) Mao, X.; Jiang, R.; Xiao, W.; Yu, J. *J Hazard Mater*, **2015**, 205, 419-435.
- (2) Chen, K.; Zhu, Q.; Qian, Y.; Song, Y.; Yao, J.; Choi, M. M. F. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2013**, 98, 361-367.
- (3) Li, F.; Zhu, L. *Bioresour. Technol.* **2012**, 123, 42-48.
- (4) Pantsyrnaya, T.; Delaunay, S.; Goergen, J. L.; Guseva, E.; Boudrant, J. *Chemosphere* **2013**, 92, 192-195.
- (5) Rodrigues, A.; Nogueira, R.; Melo, L. F.; Brito, A. G. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **2013**, 83, 48-55.
- (6) Volkering, F. Breure A. M., Rulkens W., *Biodegradation* **1998**, 8, 401-417.
- (7) Johnsen, A. R.; Wick, L. Y.; Harms, H. *Environ. Pollut.* **2005**, 133, 71-84.
- (8) Cecotti, M.; Coppotelli, B. M.; Mora, V. C.; Viera, M.; Morelli, I. S. *Sci. Total Environ.* **2018**, 634, 224-234.
- (9) Mulligan, C. N.; Eftekhari, F. *Eng. Geol.* **2003**, 70, 269-279.
- (10) Yu, H.; Zhu, L.; Zhou, W. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 142, 354-361.
- (11) Funada, M.; Nakano, T.; Moriwaki, H. *J. Hazard. Mater.* **2018**, 351, 232-239.
- (12) Sponza, D. T.; Gök, O. *Bioresour. Technol.* **2010**, 101, 914-924.
- (13) Bezza, F. A.; Chirwa, E. M. N. *J. Hazard. Mater.* **2017**, 321, 218-227.
- (14) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, 84, 1700-1707.
- (15) Sales, P. S.; Fernández, M. A. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, 23, 10158-10164.
- (16) Cabana Saavedra, L. C.; Pachón Gómez, E. M.; Oliveira, R. G.; Fernández, M. A. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, 533, 41-47.
- (17) Chan, S. M. N.; Luan, T.; Wong, M. H.; Tam, N. F. Y. *Environ. Toxicol. Chem.* **2006**, 25, 1772-1779.
- (18) Xiao, L.; Qu, X.; Zhu, D. *Environ. Sci. Technol.* **2007**, 41, 2750-2755.
- (19) Chen, B.; Wang, Y.; Hu, D. *J. Hazard. Mater.* **2010**, 179, 845-851.
- (20) Jia, H.; Nulaji, G.; Gao, H.; Wang, F.; Zhu, Y.; Wang, C. *Environ. Sci. Technol.* **2016**, 50, 6310-6319.

- (21) Wang, H.; Lou, J.; Gu, H.; Luo, X.; Yang, L.; Wu, L.; Liu, Y.; Wu, J.; Xu, J. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*, 13378–13388.
- (22) Yuan, X.; Ren, F.; Zeng, G.; Zhong, H.; Fu, H.; Liu, J.; Xu, X. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *76*, 1189–1198.
- (23) Zhong, H.; Zeng, G. M.; Liu, J. X.; Xu, X. M.; Yuan, X. Z.; Fu, H. Y.; Huang, G. H.; Liu, Z. F.; Ding, Y. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *79*, 671–677.
- (24) Zhao, Z.; Selvam, A.; Wong, J. W.-C. *Bioresour. Technol.* **2011**, *102*, 3999–4007.
- (25) Bezza, F. A.; Nkhalambayausi Chirwa, E. M. *Chemosphere* **2016**, *144*, 635–644.
- (26) Blyth, W.; Shahsavari, E.; Morrison, P. D.; Ball, A. S. *J. Environ. Manage.* **2015**, *162*, 30–36.
- (27) Yu, H.; Huang, G.-H.; Xiao, H.; Wang, L.; Chen, W. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21*, 10536–10549.
- (28) Mesbaiah, F. Z.; Mansour, F.; Eddouaouda, K.; Badis, A. *Desalin. Water Treat.* **2016**, *57*, 5995–6000.
- (29) Dave, B. P.; Ghevariya, C. M.; Bhatt, J. K.; Dudhagara, D. R.; Rajpara, R. K. *Mar. Pollut. Bull.* **2014**, *79*, 123–129.
- (30) Kaczorek, E.; Sałek, K.; Guzik, U.; Dudzińska-Bajorek, B. *Biotechnol.* **2013**, *30*, 173–182.
- (31) Smulek, W.; Zdarta, A.; Pacholak, A.; Zgoła-Grześkowiak, A.; Marczak, Ł.; Jarzębski, M.; Kaczorek, E. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2017**, *150*, 209–215.
- (32) Kushenr D.J., Kameran M. *Physiology of Halophilic Eubacteria. In Halophilic Bacteria*, CRC Press.; Rodriguez-Valera (ed): Boca Raton, **1988**.
- (33) Vreeland, R. H.; Litchfield, C. D.; Martin, E. L.; Elliot, E. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **1980**, *30*, 485–495.
- (34) Romano, I.; Giordano, A.; Lama, L.; Nicolaus, B.; Gambacorta, A. *Syst. Appl. Microbiol.* **2005**, *28*, 610–618.
- (35) Berendes, F.; Gottschalk, G.; Heine-Dobbernack, E.; Moore, E. R. B.; Tindall, B. J. *Syst. Appl. Microbiol.* **1996**, *19*, 158–167.
- (36) Romano, I.; Nicolaus, B.; Lama, L.; Manca, M. C.; Gambacorta, A. *Syst. Appl. Microbiol.* **1996**, *19*, 326–333.
- (37) Quillaguaman, J. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2004**, *54*, 721–725.

- (38) Mormile, M. R.; Romine, M. F.; Garcia, M. T.; Ventosa, A.; Bailey, T. J.; Peyton, B. M. *Syst. Appl. Microbiol.* **1999**, *22*, 551–558.
- (39) Pedetta, A.; Pouyte, K.; Herrera Seitz, M. K.; Babay, P. A.; Espinosa, M.; Costagliola, M.; Studdert, C. A.; Peressutti, S. R. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2013**, *84*, 161–167.
- (40) Garcia, M. T. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2004**, *54*, 1723–1728.
- (41) Ogato, T.; Kifle, D. *Hydrobiologia* **2014**, *738*, 21–33.
- (42) D’Ippolito, S.; De Castro, R. E.; Herrera Seitz, K. *Rev Argent Microbiol* **2011**, *43*, 107–110.
- (43) Gasperotti, A. F.; Studdert, C. A.; Revale, S.; Herrera Seitz, M. K. *Genome Announc.* **2015**, *3*, 15-20.
- (44) González, N.; Bautista, L. F.; Molina, C.; Simarro, R.; Vargas, C.; Flores, R. *Real Soc. Española Química* **2013**, *109*, 182–187.
- (45) Zhang, D.; Zhu, L.; Li, F. *Bioresour. Technol.* **2013**, *142*, 454–461.
- (46) Franzetti, A.; Di Gennaro, P.; Bestetti, G.; Lasagni, M.; Pitea, D.; Collina, E. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *152*, 1309–1316.
- (47) Mnif, S.; Chamkha, M.; Sayadi, S. *J. Appl. Microbiol.* **2009**, *107*, 785–794.
- (48) Swaathy, S.; Kavitha, V.; Pravin, A. S.; Mandal, A. B.; Gnanamani, A. *Biotechnol. Reports* **2014**, *4*, 161–170.
- (49) Aryal, M.; Liakopoulou-Kyriakides, M. *Water, Air, Soil Pollut.* **2013**, *224*, 4173-4175.
- (50) Chang-Zheng, C., Zeng, C., Wan, X., Chen, D., Zhang, J., Shen, P., *J. Microbiol. Biotechnol* **2008**, *18*, 63–66.
- (51) P. E. I. X; Zhang X., Wang S., L.I.N.Y.; Zhou L., *Pedosphere* **2010**, *20*, 771–779.
- (52) Zhang, J., Yin, R., Lin, X.G., Liu, W.W., Chen, R.R., Li, X.Z. *J. Health Sci.* **2010**, *56*, 257–266.
- (53) Pan, T.; Deng, T.; Zeng, X.; Dong, W.; Yu, S. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 431–437.
- (54) Machate, T., Noll, H., Behrens, H., Kettrup, A., *Water Res.* **1997**, *31*, 554–560.
- (55) Ghosh, I.; Mukherji, S. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **2016**, *108*, 67–75.
- (56) Lladó, S.; Covino, S.; Solanas, A. M.; Viñas, M.; Petruccioli, M.; D’annibale, A. *J. Hazard. Mater.* **2013**, *248*, 407–414.
- (57) Lladó, S.; Covino, S.; Solanas, A. M.; Petruccioli, M.; D’annibale, A.; Viñas, M. *J. Hazard.*

Mater. **2015**, 283, 35–43.

- (58) Doong, R.; Lei, W. *J. Hazard. Mater.* **2003**, 96, 15–27.
- (59) Liu, S.; Guo, C.; Liang, X.; Wu, F.; Dang, Z. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2016**, 129, 210–218.
- (60) Akbari, S.; Abdurahman, N. H.; Yunus, R. M.; Fayaz, F.; Alara, O. R. *Biotechnol. Res. Innov.* **2018**, sept., in press.

Capítulo 7:

Conclusiones Generales

La mayoría de las ideas fundamentales de la ciencia son esencialmente sencillas y, por regla general pueden ser expresadas en un lenguaje comprensible para todos.

Albert Einstein

7.1 Conclusiones generales



En el presente trabajo de Tesis se estudió la posible utilización de nuevos sistemas anfifílicos mixtos como aditivos mejoradores para la remediación de suelos contaminados.

Al caracterizar una mezcla formada por un surfactante no iónico comercial (T80) y un surfactante gémmini aniónico sintetizado en el laboratorio (SDDC), se encontró que las micelas mixtas presentan forma de elipsoide, son agregados de tamaño pequeño que presentan propiedades intermedias con respecto a los dos surfactantes puros. La mezcla que posee un menor contenido del surfactante gémmini ($\alpha_{T80} = 0,8$) posee las mejores propiedades tensioactivas (menor CMC). Las mezclas muestran un comportamiento no ideal según lo indicado por los valores de CMC obtenidos que son menores que los de los surfactantes individuales, y un parámetro de interacción β negativo, que implica interacciones atractivas entre ambos surfactantes, debido probablemente a que la auto-repulsión electrostática presente en los surfactantes aniónicos, y la auto-repulsión estérica en las micelas de los no iónicos, pueden debilitarse por la dilución de los surfactantes en los agregados mixtos, y es indicio de sinergismo.

La mezcla de T80-SDDC, resultó ser más eficaz en la solubilización de naftaleno y fenantreno, en comparación con valores calculados para una mezcla de iguales proporciones, pero considerando la ausencia de interacción entre los surfactantes y por lo tanto el comportamiento es individual. Para el pireno, en cambio, no se observó sinergismo en la solubilización por parte de la mezcla de tensioactivos. Este diferente comportamiento está probablemente relacionado con diferentes sitios de solubilización de los hidrocarburos en los agregados y con una interacción fuertemente atractiva de ambos tensioactivos en la mezcla, produciendo una micela más compacta, que impediría la incorporación suficientemente profunda del compuesto más hidrofóbico, pireno.

Se observó que la capacidad de solubilización de los hidrocarburos se modificó por el uso de diferentes mezclas variando el surfactante aniónico, y el no iónico. Se encontró efecto sinérgico en la solubilización de naftaleno, fenantreno, pireno, fluoreno, y antraceno por parte de las mezclas de surfactante: T80-LS y T20-LS. Se completó el estudio de solubilización de HAPs en la mezcla T80-LS, con la adición de antraceno y fluoreno al resto de los compuestos estudiados previamente por el grupo de investigación, encontrándose efecto sinérgico en la solubilización de todos los HAPs. La mezcla T20-LS también presentó sinergismo en todas las proporciones, pero sin superar el 30% de incremento. El efecto de mezclado encontrado depende de la fracción molar del surfactante no iónico empleado, lo cual sugiere que el HAP en cuestión, altera la formación de la micela mixta.

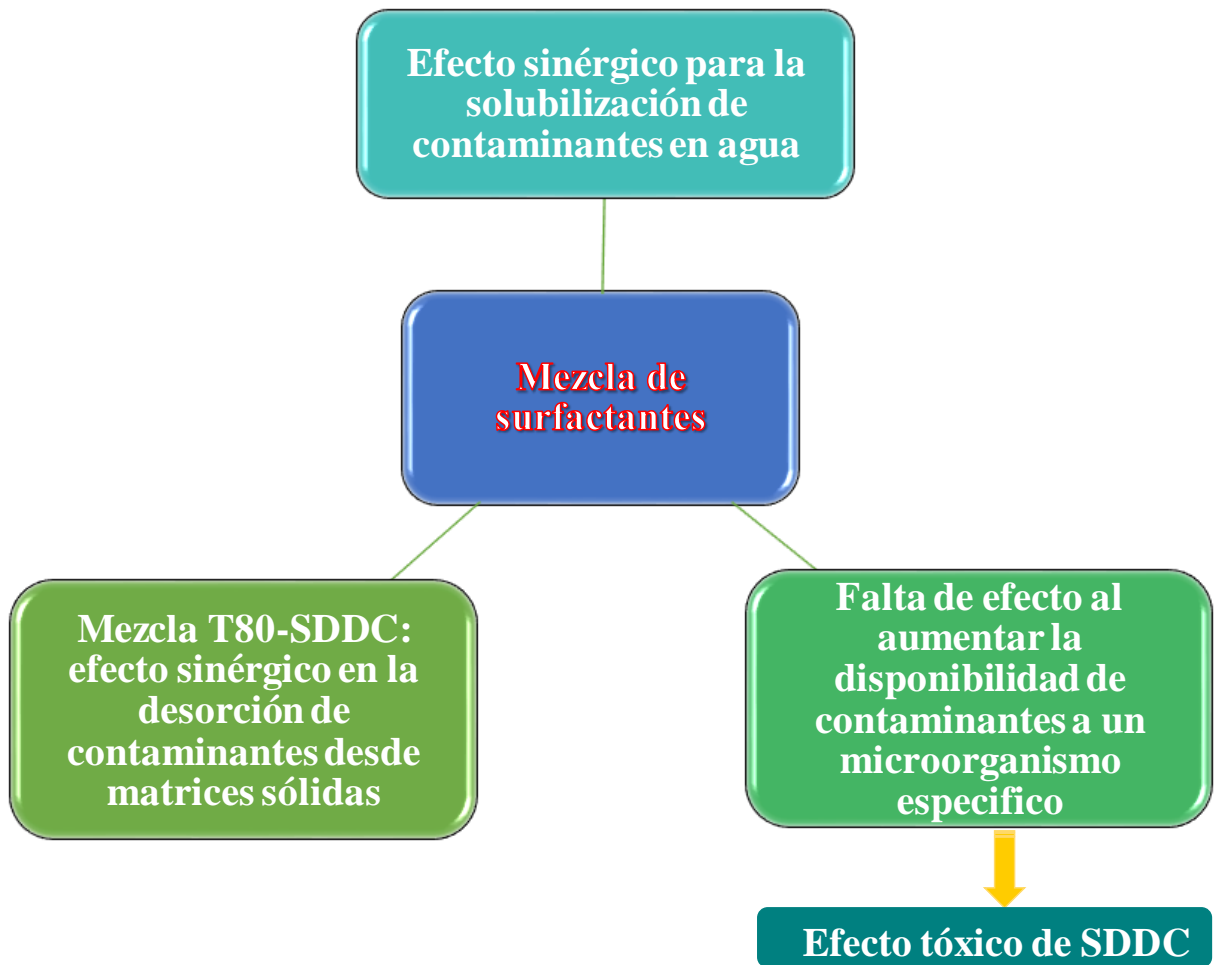
En los estudios de selectividad de la mezcla de T80-LS hacia un contaminante particular desde una mezcla de HAPs, se demostró que cuanto menor es la solubilidad del hidrocarburo en el medio acuoso, mayor es la eficiencia de la mezcla de detergentes. A medida que el contaminante se hace más soluble en agua, los surfactantes son menos eficientes para extraerlo desde mezclas de HAPs. La mezcla de surfactantes T80-LS es muy poco efectiva para solubilizar contaminantes desde sus mezclas y por esto no se estudiaron otras combinaciones de surfactantes.

En estudios de desorción de contaminantes desde sólidos se encontró efecto sinérgico en la extracción de fenantreno y naftaleno desde la sílica gel y el suelo arenoso cuando se empleó la mezcla T80-SDDC. Este efecto probablemente es debido a la formación de micelas mixtas que son capaces de extraer los HAPs, siendo más eficientes que los surfactantes individuales. En el caso de la mezcla T80-SDDC se observó el mayor efecto a $\alpha_{T80}=0,2$.

El efecto de la mezcla de surfactantes sobre la disponibilidad de los contaminantes (naftaleno y fenantreno) a microorganismos específicos que fuera evaluado por dos metodologías diferentes, arrojó resultados similares. Los valores más altos de crecimiento microbiano se obtuvieron cuando se utilizó naftaleno solubilizado en T80, lo cual podría estar relacionado con una mayor disponibilidad de naftaleno al microorganismo, mediada por este surfactante.

Los resultados encontrados en los capítulos 3 y 5, donde se muestra que la mezcla T80-SDDC logró ser efectiva para la solubilización en agua de HAPs, y para la extracción de estos contaminantes desde matrices sólidas, indicaría que la misma tiene potencialidad para su uso en el lavado de suelos contaminados. Sin embargo, desde el punto de vista biológico, para la biodegradación, en las condiciones experimentales implementadas, no se obtuvieron buenos resultados con T80-SDDC, debido a que el surfactante gémini provocó inhibición en el crecimiento de la cepa utilizada. No obstante, queda abierta la posibilidad de que esta mezcla pueda ser útil en biodegradación mediada por alguna otra especie, dado que en bibliografía se reporta una amplia gama de microorganismos utilizados para la degradación de HAPs, que podrían ser explorados. Un resumen de estas conclusiones se muestra en el esquema 7.1.

Los resultados obtenidos proveen información valiosa para posibles futuras aplicaciones, aportando con ellos, nuevos conocimientos que podrían posteriormente ser utilizados en la remediación de suelos contaminados.



Esquema 7.1 Representación esquemática de las conclusiones generales .



Capítulo 8:

Sección Experimental

**La vida no es la que uno vivió, sino la que uno recuerda, y
cómo la recuerda para contarla.**

Gabriel García Márquez.



Índice

Índice	203
8.1 Reactivos.....	205
8.1.1 Solventes.....	205
8.1.2 Surfactantes.....	205
8.1.3 Contaminantes	205
8.1.4 Sondas moleculares.....	205
8.1.5 Matrices sólidas	205
8.2 Equipamiento	206
8.3 Metodologías Utilizadas	206
8.3.1 Preparación de soluciones de surfactantes.....	206
8.3.2 Determinación de la CMC	207
8.3.2.1. Tensión Superficial.....	207
8.3.3 Determinación del Número de Agregación	207
8.3.4 Determinación del tamaño y morfología de los agregados.....	207
8.3.5 Micropolaridad de la interfase micelar	208
8.3.6 Ensayos de solubilización de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes no iónico-aniónico en solución acuosa	208
8.3.7 Ensayos de solubilización de mezclas de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes no iónico-aniónico en solución acuosa	209
8.3.8 Ensayos de extracción de contaminantes desde matrices sólidas	211
8.3.8.1. Enriquecimiento de las matrices sólidas con HAPs.....	211
8.3.8.2. Determinación de la adsorción de T80 y precipitación de SDDC en matrices sólidas.....	211
8.3.8.3. Determinación del porcentaje de recuperación de HAPs desde matrices sólidas empleando surfactantes	214
8.3.8.4. Cuantificación de HAPs extraídos desde sílica gel y/o suelo	215
8.3.9 Ensayos de biodegradación.....	217

8.3.9.1. Microorganismo, condiciones de cultivo y conservación	217
8.3.9.2. Preparación de surfactantes y contaminantes utilizados para los estudios de biodegradación	218
8.3.9.3. Preparación de los ensayos de biodegradación de HAPs.....	219
8.3.9.4. Determinación de <i>Halomonas titanicae</i> KHS3 por turbidez	219
8.3.9.4.1. Estudios con naftaleno	219
8.3.9.4.2. Estudios con fenantreno	220
8.3.9.5. Determinación de <i>Halomonas titanicae</i> KHS3 por medidas de viabilidad	220
8.3.9.6. Procesamiento de datos para efectuar comparaciones entre los tratamientos	221
Para comparar los efectos de cada tratamiento se graficaron los log UFC/mL _t en función del tiempo de exposición a cada tratamiento.	222
8.4 Referencias.....	223

8.1 Reactivos

8.1.1 Solventes

Las soluciones acuosas fueron realizadas con agua purificada en un equipo Millipore. El metanol utilizado grado HPLC (J. T. Baker o Merck), éter etílico grado HPLC (Merck) y *n*-hexano grado HPLC (Dorwil) fueron controlados por espectrofotometría UV-Visible. Las soluciones se prepararon en buffer de pH= 9,16 (0,01 M de Na₂B₄O₇ y 0,02 M de NaCl) para que pudieran compararse con un estudio previo del grupo de investigación.¹ Las soluciones madre de los HAPs se prepararon en metanol a una concentración alrededor de 0,25M.

8.1.2 Surfactantes

Los surfactantes Tween 80 (Riedel De Haen), Tween 20 (Anedra) y Laurato de sodio (Sigma Aldrich) fueron controlados por espectrofotometría UV-Visible y RMN-¹H y utilizados sin purificación adicional. Didecamido cistina de sodio (SDDC) fue sintetizado en el laboratorio siguiendo los métodos de literatura² para la reacción de cistina con cloruro de decanoilo por la Lic. Erica Pachón Gómez.³

8.1.3 Contaminantes

Los contaminantes naftaleno (N), fenantreno (F), pireno (P), antraceno (A), fluoreno, acenafteno, se adquirieron todos en Sigma Aldrich con una pureza superior al 98 %, fueron controlados por espectrofotometría UV-Visible y utilizados sin purificación adicional.

8.1.4 Sondas moleculares

El pireno (Sigma Aldrich) fue controlado por RMN-¹H y fluorescencia y utilizado como se recibió. Bromuro de cetilpiridinio (CPB) (Sigma Aldrich 98 %) fue controlado mediante RMN-¹H y utilizado sin purificación adicional.

8.1.5 Matrices sólidas

Las matrices sólidas utilizadas fueron sílica gel 60 (Merck) y un suelo arenoso (Sigma Aldrich), las cuales fueron pre-tratadas lavándolas con un solvente orgánico. La sílica gel 60 se lavó con éter etílico, mientras que para el suelo se utilizó *n*-hexano. Se eliminó el solvente dejando secar durante 3 días a temperatura ambiente en una campana, se aplicó vacío, y luego se aplicó nitrógeno gaseoso por 1 hora hasta obtener un peso constante.

8.2 Equipamiento

Para medir la tensión superficial se utilizó un tensiómetro Cole Parmer modelo Surface Tensiomat 21, equipado con un anillo de Pt-Ir. Para mantener la temperatura constante se utilizaron baños termostáticos Haake. Las medidas de fluorescencia se realizaron en un espectrofluorímetro Perkin Elmer LS 55. Las medidas de dispersión dinámica de luz se realizaron en dos equipos: el Delsa™ Nano C y el Submicron Partide Sizer NIOCOMP™ a una temperatura de 30°C. Las mediciones de SAXS se realizaron en la línea SAXS-1 en el Laboratorio Brasileño de Luz Sincrotrón, Campinas, Brasil. Para los experimentos de solubilización donde se necesitaba agitar a temperatura controlada, se utilizó un baño termostático con agitación marca Grant OLS 200 se controló la temperatura. Para las medidas de espectrofotometría UV-Visible se utilizó un equipo Shimadzu modelo Multispec-1501 con arreglo de diodos. El sonicador utilizado fue un equipo de marca Testlab modelo Tb02. Se utilizó un pHmetro de marca Thermo Scientific modelo OrionStar A211 equipado con un electrodo combinado Orion sistema Ross; antes de utilizarlo fue calibrado a $(25,0 \pm 0,1)$ °C con *buffers* estándares a pH 4,00, 6,99 y 9,16. Para los ensayos de biodegradación se utilizó un autoclave VZ, un baño termostático Vicking modelo Dubnoff, una estufa para cultivo marca Bioelec y espectrofotómetro UV- visible Thermo electron modelo evolution 300BB de doble haz.

8.3 Metodologías Utilizadas

8.3.1 Preparación de soluciones de surfactantes

Para la realización de las soluciones de los surfactantes puros, se preparó una solución *stock* concentrada, pesando la cantidad necesaria de surfactante y disolviéndolo en buffer a pH 9,16. Cuando fue necesario (especialmente para los surfactantes aniónicos) se sonicó la solución para favorecer la solubilización. Una vez que la solución alcanzó temperatura ambiente se enrasó y se utilizó la solución *stock* para preparar una serie de soluciones de diferentes concentraciones de manera de abarcar un amplio intervalo por encima y por debajo de la CMC.

En el caso de las mezclas, para las soluciones más concentradas, se pesó el T80 necesario para obtener la fracción molar y concentración deseadas y se agregó un volumen adecuado de solución *stock* de LS o SDDC. Luego se completó el volumen con agua milli-Q. Este procedimiento se realizó para las soluciones donde la masa de T80 era lo suficientemente grande como para reducir errores de pesada. Cuando esto no fue posible, se utilizó una solución *stock* de T80 en lugar de pesar el mismo. Los estudios se realizaron variando la fracción molar de los surfactantes. También se realizaron estudios donde se varió la concentración total de los surfactantes que formaron la mezcla,

manteniendo constante la fracción molar de los surfactantes. Las medidas se realizaron a $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ a excepción de las que contenían el surfactante gémini SDDC, donde la temperatura se mantuvo a $(30,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ para estar por encima de la temperatura de Kraft de SDDC.²

8.3.2 Determinación de la CMC

8.3.2.1. Tensión Superficial

La tensión superficial de las soluciones se midió por el método de Du Nöuy usando un tensiómetro de anillo de Pt-Ir⁴ a $25,0^\circ$ y $30,0^\circ$ C. La temperatura se mantuvo constante haciendo circular agua termostatzada a través de una camisa de vidrio que contenía la solución. La CMC se determinó midiendo la tensión superficial de las soluciones de surfactante o la mezcla de surfactante en un amplio intervalo de concentración y observando el punto de inflexión en la gráfica de la tensión superficial frente al logaritmo de la concentración de surfactante o la mezcla de surfactantes. El valor de la tensión superficial se midió cuando se obtuvo una lectura estable para una concentración de surfactante dada, que se repitió al menos en tres mediciones consecutivas que compartieron casi el mismo valor. El tiempo de espera entre una medida y la otra dependió de la solución, y para determinarlo se fue variando el mismo hasta observar que dos medidas consecutivas daban lugar a un mismo valor de tensión superficial dentro del error.

8.3.3 Determinación del Número de Agregación

La determinación del número de agregación se realizó midiendo la extinción de fluorescencia, con una celda de cuarzo de longitud de 1 cm. Las concentraciones de la sonda (pireno) y el surfactante se mantuvieron constantes ($[\text{Pireno}] = 2,0 \times 10^{-6}$ M, $[\text{Surfactante}]_{\text{total}} = 2,0 \times 10^{-2}$ M) y la concentración del *quencher* fue variada (*quencher* = bromuro de cetilpiridinio, CPB). Las soluciones finales (sonda, inhibidor y surfactante o mezcla de surfactantes) se agitaron durante cinco horas a $30,0^\circ$ C en un baño termostatzado para asegurar el correcto reparto de la sonda y el quencher dentro de las micelas. El porcentaje de metanol en esas soluciones fue 0,4 % V/V. La longitud de onda de excitación fue 335 nm y los espectros fueron registrados en el rango de 350-500 nm. Los anchos de la rendija de excitación y emisión corresponden a 3,0 nm. El pireno forma excímeros debido a la autoasociación, por lo que la concentración de pireno se mantuvo lo suficientemente baja como para evitar su formación.⁵

8.3.4 Determinación del tamaño y morfología de los agregados

Los tamaños de los agregados se determinaron empleando DLS, los diámetros hidrodinámicos aparentes de los agregados sólo pudieron determinarse para el T80 puro y para la mezcla a fracción

molar de T80 igual a 0,8 ($\alpha_{T80} = 0,8$). En mezclas donde la cantidad de SDDC fue más grande, los agregados resultaron demasiado pequeños para ser detectados por esta técnica. Las soluciones se filtraron con membranas de PTFE de 0,45 μm antes de las mediciones. Los diámetros hidrodinámicos aparentes se obtuvieron usando el algoritmo CONTIN. El índice de polidispersidad de las mediciones siempre estuvo por debajo de 0,2.

La determinación del tamaño y la morfología de los agregados se realizó por SAXS, para estas medidas la longitud de onda del fotón incidente fue $\lambda = 1,5 \text{ \AA}$ y la distancia nominal del detector fue de 1m. La intensidad se expresa como una función del módulo del vector de dispersión $q = (4\pi \sin 2\theta/2) / \lambda$, siendo el ángulo de dispersión de 2θ . Llevamos a cabo dos tipos de experimentos: a) se midieron los sistemas a una concentración constante de surfactante de 8 mM, variando la fracción molar de T80 en las mezclas (α_{T80}); b) los sistemas se midieron a una mezcla de surfactante equimolar constante ($\alpha_{T80} = 0,5$), variando la concentración total de surfactante. Las muestras se colocaron en celdas para líquidos con ventanas de mica (paso óptico de 1mm) y la temperatura se mantuvo a 30° C. Se utilizó un detector de rayos-X Pilatus 300 K de Dectris para registrar los patrones bidimensionales de SAXS. La contribución del buffer fue restada como fondo del perfil SAXS y la señal resultante fue integrada radialmente usando Fit 2D. El perfil de dispersión se equipó con varios modelos *core-shell* para micelas que emplean el software libre SASfit.

8.3.5 Micropolaridad de la interfase micelar

Se midió el espectro de fluorescencia de pireno monomérico en agua y la relación de intensidad de fluorescencia (I_3 / I_1) del primer pico vibrónico (I_1 , 373 nm) y el tercero (I_3 , 384 nm). La longitud de onda de excitación fue de 335 nm. La concentración de pireno en las soluciones fue $2,0 \times 10^{-6} \text{ M}$.

8.3.6 Ensayos de solubilización de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes no iónico-aniónico en solución acuosa

Los ensayos de solubilización se realizaron agregando 0,2 mL (200 μL) de una solución muy concentrada de contaminante (entre 0,1 y 0,2 M) en un solvente orgánico (metanol), luego se evaporó el solvente con N_2 gaseoso en la mayoría de los casos, con excepción de los experimentos realizados con $8,4 \times 10^{-5}$ o 1×10^{-6} moles de HAPs, en los cuales el solvente fue evaporado con evaporador rotatorio quedando un film delgado de sólido en las paredes del recipiente, de manera que la cantidad de HAP esté en un amplio exceso respecto a su posible solubilidad en dicho medio. Se adicionaron 5 mL de la solución de surfactante individual o mezclas a diferentes concentraciones de surfactante total, agitando durante 48 horas a 25,0 °C o 30,0 °C para el caso del surfactante gémuni y su mezcla. Las medidas a cada concentración de surfactante o mezcla se realizaron por triplicado. Luego se

procedió a cuantificar la cantidad de contaminante solubilizada por dicha solución. Para esto se separó el contaminante sólido no disuelto de la solución de surfactante mediante una filtración. El sobrenadante obtenido en muchos casos presentó una elevada concentración de contaminante que no pudo cuantificarse por espectrofotometría UV-visible utilizando cubetas de 1 cm de paso óptico, por lo que se extrajo una alícuota y se preparó una dilución. Ésta contenía 50 % de metanol para asegurar que no precipite el contaminante solubilizado. Se midió la absorbancia de esta dilución utilizando como blanco una solución que no contenía contaminante, pero con la misma concentración de surfactante o mezcla de surfactantes y 50 % de metanol. Se tomó el valor de absorbancia a la λ determinada y se relacionó con su correspondiente curva de calibración. Ésta última se construyó con un mínimo de cinco estándares, los cuales tenían concentraciones variables del contaminante, la misma concentración de surfactante que la dilución del sobrenadante y 50 % de metanol. Las longitudes de onda más adecuadas para cuantificar los diferentes analitos fueron: 260, 267, 252, 335, 289 y 376 nm para el fluoreno, naftaleno, fenantreno, pireno, acenafteno y antraceno, respectivamente.

8.3.7 Ensayos de solubilización de mezclas de HAPs en surfactantes individuales y mezclas de surfactantes no iónico-aniónico en solución acuosa

Del mismo modo en que se llevaron a cabo los experimentos de solubilización de HAPs en soluciones acuosas de surfactante o mezcla, se realizaron los ensayos de solubilización de mezclas de HAPs, esta vez agregando la solución de la mezcla de HAPs en exceso en un solvente orgánico, con el mismo procedimiento anterior y cuantificando por UV-vis. Para las mezclas de HAPs las longitudes de onda más adecuadas para cuantificar sin que absorbiera el otro contaminante que forma parte de la mezcla fueron: 286,9 nm para naftaleno en la primera derivada desde la mezcla naftaleno-fenantreno, 296,2 nm para fenantreno desde la mezcla naftaleno-fenantreno por espectros de primera derivada (Figura 8.1) y 357 nm para antraceno desde la mezcla antraceno-fenantreno en el espectro de absorbancia (Figura 8.2). En este último caso, para fenantreno se recurrió a la primera derivada a 295 nm (Figura 8.3). A estas longitudes de onda se encuentran los puntos de cruce por cero (cero crossing) del otro contaminante presente en la mezcla.

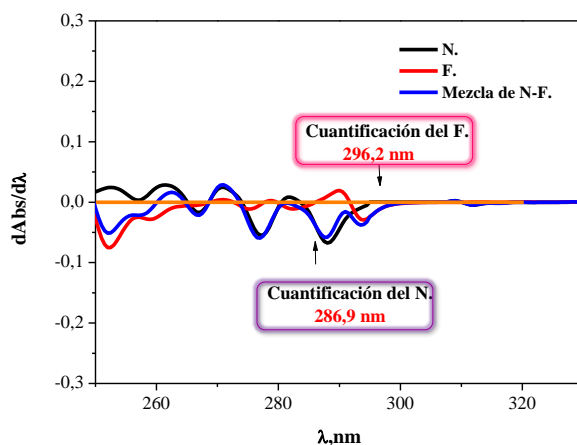


Figura 8.1. Espectro de primera derivada de naftaleno, fenantreno y su mezcla.

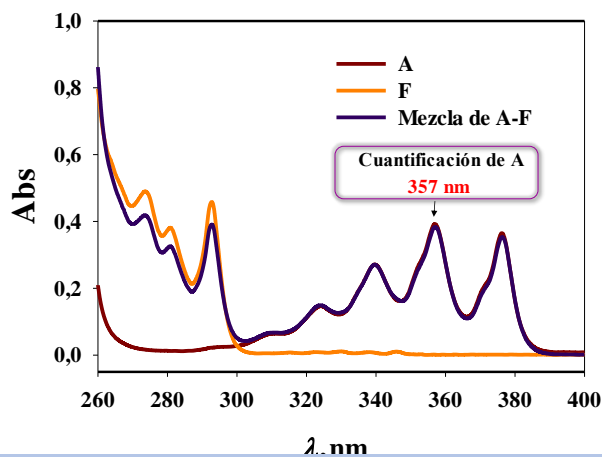


Figura 8.2. Espectro de absorbancia para antraceno, fenantreno y su mezcla.

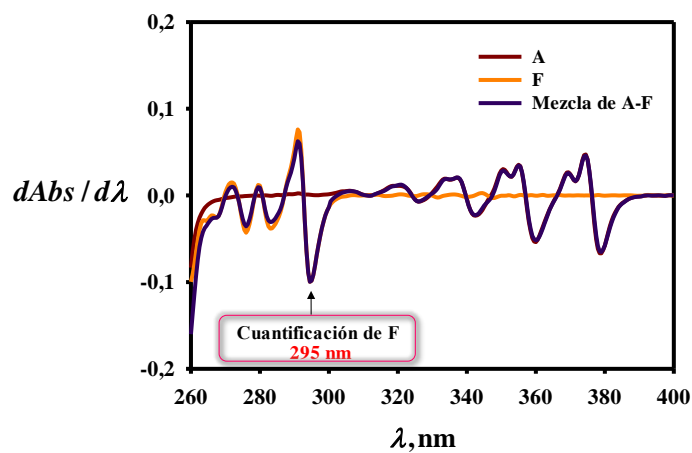


Figura 8.3. Espectro de primera derivada de antraceno, fenantreno y su mezcla.

8.3.8 Ensayos de extracción de contaminantes desde matrices sólidas

8.3.8.1. Enriquecimiento de las matrices sólidas con HAPs

La metodología para contaminar las matrices sólidas con HAPs, consistió en colocar una cantidad conocida de sílica gel 60 o suelo (20 g de matriz sólida) en un Erlenmeyer de 250 mL y agregar 50 mL de una solución del contaminante, naftaleno o fenantreno según el caso, de concentración conocida en solvente orgánico (éter etílico para sílica gel 60 y *n*-hexano para suelo). Se eliminó el solvente dejando secar esta mezcla durante 3 días a temperatura ambiente en una campana, se aplicó vacío, y luego se aplicó nitrógeno gaseoso por 1 hora hasta obtener un peso constante. Finalmente se tomó una alícuota de 0,5 gramos de la matriz enriquecida, se le adicionaron 5 mL de metanol, y se agitó por 48 horas para garantizar la extracción total del HAP presente en la matriz sólida (esto se hizo por triplicado). Luego se separó la matriz sólida del sobrenadante por centrifugación o filtración y se cuantificó por espectroscopia de absorción UV-visible. La cuantificación de la concentración de los contaminantes en el sobrenadante de metanol por espectroscopia UV-visible se realizó a 268,6 nm para naftaleno y a 250 nm para fenantreno. Se hizo una dilución del sobrenadante para que la absorbancia estuviera en el rango 0,0-1,0 y se emplearon curvas de calibración que abarcaron un amplio intervalo de concentraciones de los HAPs.

8.3.8.2. Determinación de la adsorción de T80 y precipitación de SDDC en matrices sólidas

La cuantificación de la concentración de T80 que quedó remanente en el sobrenadante luego de la adsorción en las matrices sólidas se realizó por medidas directas de absorción UV-visible. Para esto lo primero que se hizo fue determinar la longitud de onda en la cual se debió cuantificar el T80. Se realizó una curva de calibración a diferentes concentraciones de T80 y se encontró que a 232,5 nm se puede cuantificar el T80, como se muestra en la Figura 8.4. Se preparó una dilución apropiada del sobrenadante, donde el rango de absorbancia estuviera entre 0,0-1,0 y se emplearon curvas espectrales que abarcaban un amplio intervalo de concentraciones de T80 para hacer la curva de calibración.

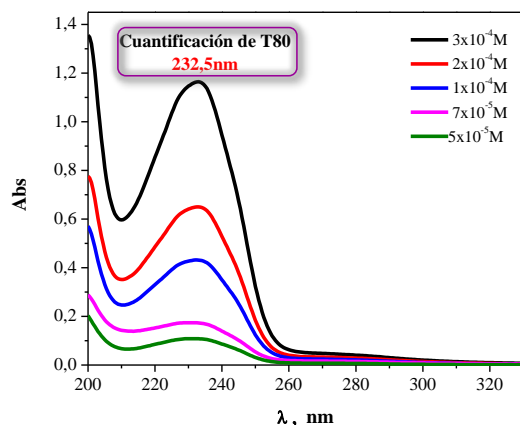


Figura 8.4. Espectro de absorbancia para T80 a diferentes concentraciones desde 5×10^{-5} M hasta 3×10^{-4} M.

Se analizó la cantidad de SDDC que precipitaba al estar en contacto con las matrices sólidas. Para ello, se realizaron curvas espectrales a diferentes concentraciones de SDDC (de 5×10^{-5} M hasta 4×10^{-3} M) pero en el espectro de absorción no se obtuvo una señal adecuada para su cuantificación, por lo cual se realizaron espectros de primera derivada, y se encontró que a 269 nm se podía cuantificar el SDDC, como se observa en la Figura 8.5.

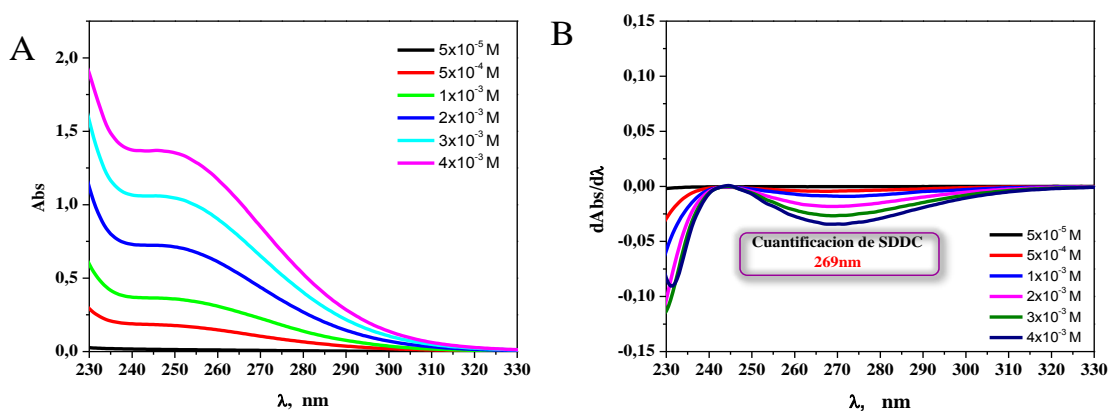


Figura 8.5. Espectros de (A) absorbancia para el SDDC a diferentes concentración desde 5×10^{-5} M hasta 4×10^{-3} M (B) primera derivada para SDDC en el mismo intervalo de concentraciones.

Para analizar la mezcla T80-SDDC, lo primero que se realizó fue tomar espectros de absorción UV-visible de soluciones de los surfactantes individuales y la mezcla de surfactantes, buscando una longitud de onda en la cual se pudiesen cuantificar los surfactantes que conforman la mezcla. Para esto debió recurrirse a espectros de primera derivada, y allí se encontraron longitudes de onda adecuadas. T80 se cuantificó a 245,6 nm sin que le afecte la presencia del SDDC, y SDDC se cuantificó a 269nm sin interferencia de T80, esto se muestra en la Figura 8.6.

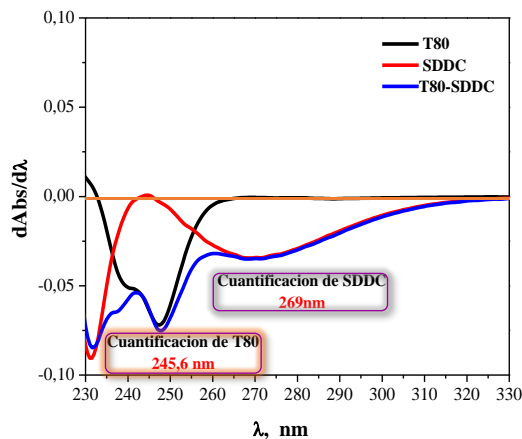


Figura 8.6. Espectros de primera derivada para T80 a 2×10^{-4} M, SDDC de 2×10^{-3} M y la mezcla T80-SDDC a $\alpha_{T80} = 0,1$ a $30,0$ °C. Concentración de surfactante total 2,2 mM.

Se comprobó que esas longitudes de onda eran las correctas, para eso se construyeron curvas de calibración a partir de curvas espectrales donde se mantuvo fija la concentración de uno de los surfactantes y se varió la concentración por debajo y varias veces por encima de la CMC del otro surfactante que conforma la mezcla, como se muestra en la Figura 8.7.

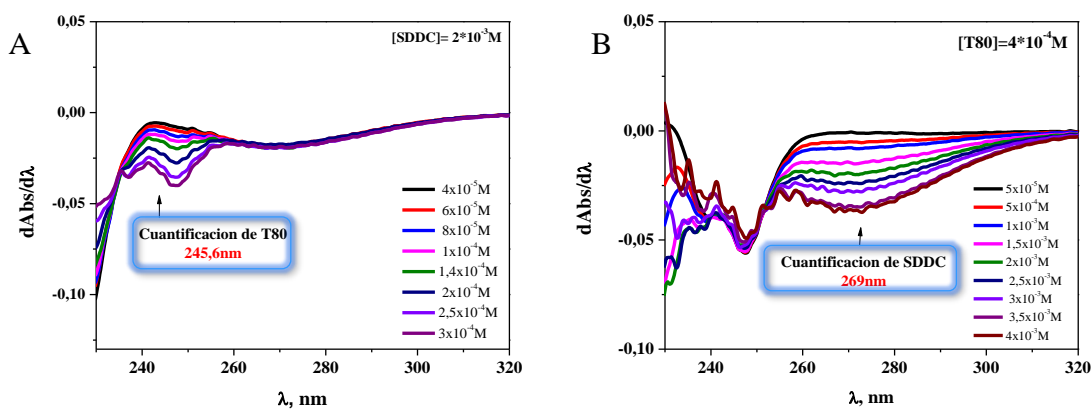


Figura 8.7. Espectros de primera derivada para (A) diferentes concentraciones de T80 con una concentración constante de SDDC de 2×10^{-3} M (B) diferentes concentraciones de SDDC con una concentración constante de T80 de 4×10^{-4} M

De este modo, se construyó una curva de calibración para cuantificar T80 con la señal del espectro de primera derivada a 245,6 nm a partir de los datos de la Figura 8.7A. Para esto se prepararon soluciones de T80 en un amplio intervalo concentraciones, Figura 8.8A. De manera similar, se construyó una curva de calibración para cuantificar SDDC en el espectro de primera derivada a partir de la señal de 269 nm (Figura 8.7B), como se muestra en la Figura 8.8B.

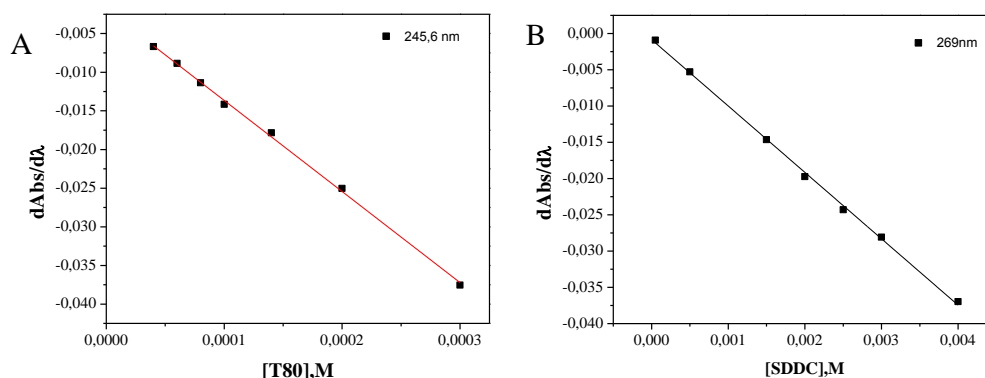


Figura 8.8. Curvas de calibración de (A) T80 a concentraciones variables con una concentración constante de SDDC de 2×10^{-3} M (B) SDDC a concentraciones variables con una concentración constante de T80 de 4×10^{-4} M

Finalmente, utilizando estas curvas de calibración, se determinó la cantidad de T80 que quedó adsorbido en la sílica gel 60 y el suelo, cuando está presente el surfactante individual. Para esto se utilizó una matriz sólida que no fue previamente enriquecida con HAPs pero que fue sometida al mismo tratamiento sin el agregado del contaminante (HAPs), la cual es llamada matriz sólida previamente tratada, es decir, que fue lavada con solvente orgánico previamente. La metodología que se llevó a cabo fue colocar en un tubo de centrifuga 0,5 gramos de matriz previamente tratada, que podría ser sílica gel 60 o suelo, adicionarle 5 mL de solución de T80 preparado en buffer a pH 9,16 y agitarla por 48 horas en un baño termostático a 30° C. Luego se separó la matriz sólida del sobrenadante por centrifugación en el caso del SDDC o filtración en el caso del T80 y se cuantificó la concentración del surfactante que quedó remanente en el mismo por espectrofotometría de absorción UV-visible a 245,6 nm como ya se discutió. Estos ensayos se realizaron por triplicado. Del mismo modo como ya fuera descrito, se determinó la cantidad de surfactante gémini SDDC que se precipitó, al estar solo la cantidad de T80 que se adsorbió cuando éste forma parte de la mezcla de surfactantes y la cantidad que se precipitó de SDDC cuando está formando la mezcla T80-SDDC.

8.3.8.3. Determinación del porcentaje de recuperación de HAPs desde matrices sólidas empleando surfactantes

Se determinó el porcentaje de recuperación de naftaleno y fenantreno que se logró extraer desde las matrices sólidas enriquecidas cuando se emplearon soluciones de buffer, T80, SDDC y la mezcla T80-SDDC. Para esto, se colocaron 0,5 gramos de matriz sólida enriquecida, la cual previamente fue enriquecida con una cantidad conocida del HAP, se adicionaron 5 mL de una solución (buffer, T80, SDDC o mezcla T80-SDDC en buffer a pH 9,16), se colocó el tubo en agitación por 48 horas a 30 °C, se filtró el sobrenadante con filtros de 2 μ m y se cuantificó la concentración del contaminante

presente en el mismo mediante espectrofotometría de derivadas, utilizando las curvas de calibración previamente realizadas. Estos experimentos se realizaron por triplicado.

8.3.8.4. Cuantificación de HAPs extraídos desde sílica gel y/o suelo

Se cuantificaron los HAPs extraídos desde matrices sólidas por espectrofotometría de derivadas. Esta técnica se utilizó debido a que la concentración de los contaminantes se encontraba por debajo del límite de detección de la curva de calibración obtenida con el espectro normal y además por la interferencia de los surfactantes que absorben en la misma región. Con la misma fue posible encontrar la longitud de onda adecuada para cuantificar.

Lo primero que se hizo fue determinar la longitud de onda a la cual se iban a cuantificar los HAPs, en presencia de los surfactantes. Para ello se derivaron los espectros de absorción de las soluciones de naftaleno, de fenantreno, de T80 y de SDDC, como se muestra en las Figuras 8.9A y 8.9B. A estas soluciones se les adicionó un 50 % de metanol. Se encontró que es posible cuantificar naftaleno en presencia de T80 y SDDC empleando la segunda derivada del espectro de absorción a 286,8 nm, ya que a esa longitud de onda el T80 y el SDDC no presentan señal. Además, se observó que fenantreno en presencia de T80 y SDDC podría cuantificarse empleando la segunda derivada del espectro de absorción a 293 nm ya que a esa longitud de onda los surfactantes no absorben.

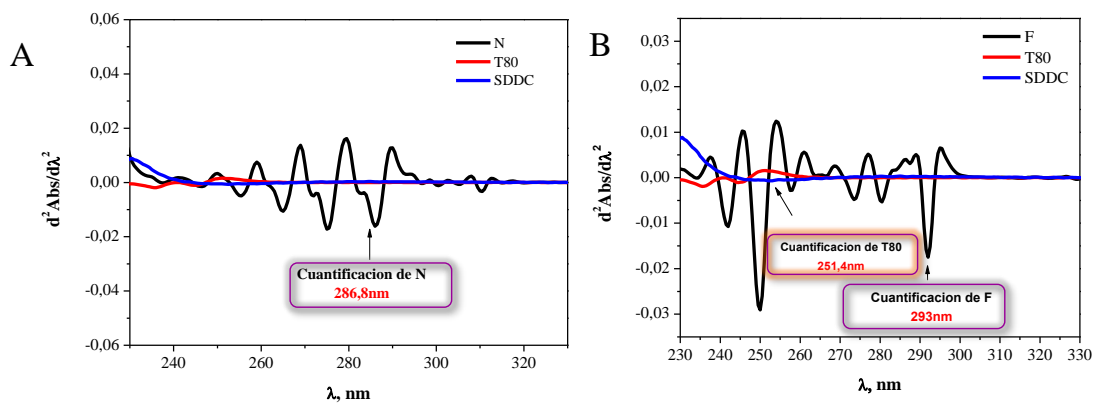


Figura 8.9.

Espectros de segunda derivada de (A) [Naftaleno] = $1,5 \times 10^{-4}$ M, [T80] = 4×10^{-4} M, y [SDDC] = 4×10^{-3} M (B) [Fenantreno] = $1,6 \times 10^{-6}$ M, [T80] = 4×10^{-4} M, y [SDDC] = 4×10^{-3} M

Se comprobó que esas longitudes de onda eran las correctas, para eso se construyeron curvas espectrales de segunda derivada donde se varió la concentración de los HAPs, como se muestra en la Figura 8.10.

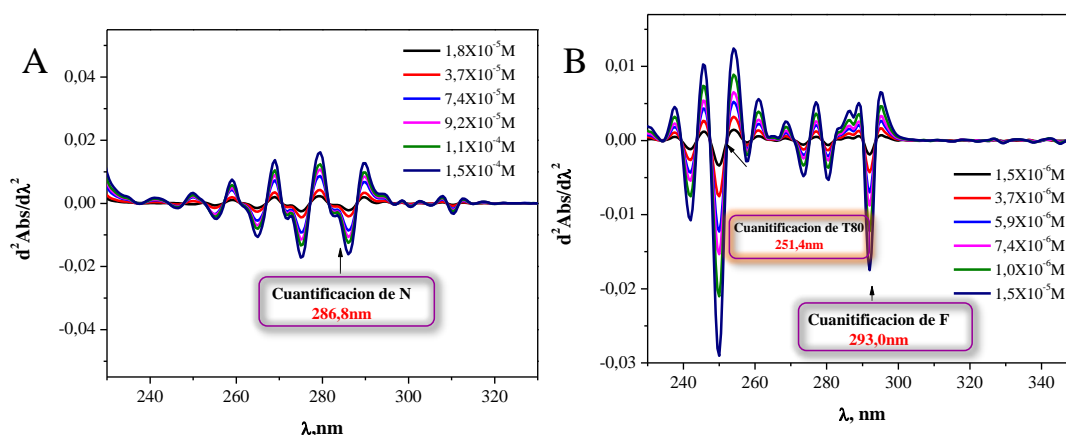


Figura 8.10. Curvas espectrales de (A) Naftaleno y (B) Fenantreno en solución de T80 con un 50 % de metanol

A partir de estos datos, se realizó una curva de calibración para cuantificar naftaleno con la señal de la segunda derivada del espectro de absorción a 286,8 nm. Para esto, se prepararon soluciones de naftaleno en un amplio intervalo de concentraciones (0 a $1,5 \times 10^{-4} \text{ M}$) y a cada concentración de naftaleno se le adicionaron diferentes concentraciones de T80. Esto se muestra en la Figura 8.11A, es necesario resaltar que en este gráfico hay superpuestas varias curvas de calibración y sin embargo los puntos no tienen prácticamente dispersión, entonces las longitudes de onda elegidas son las correctas.

También se construyó, una curva de calibración para cuantificar fenantreno con la señal de la segunda derivada de los espectros de absorción a 293 nm. Para esto se prepararon soluciones de fenantreno (0 a $2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$) y a cada concentración de fenantreno se le adicionaron diferentes concentraciones de T80 (Figura 8.11B). También se observó en este caso, que a pesar de que son varias curvas de calibración, los puntos no tienen prácticamente dispersión, entonces las longitudes de onda elegidas son las correctas. Se comprobó la validez de las determinaciones, preparando soluciones de concentraciones conocidas de los HAPs en presencia de T80, SDDC, y se cuantificó la concentración de naftaleno o fenantreno utilizando las curvas de calibración mencionadas anteriormente y obteniendo muy buenos resultados.

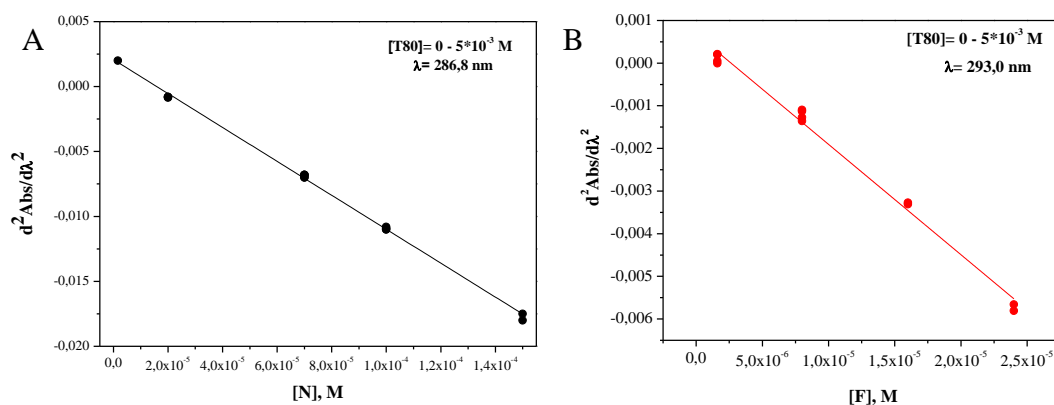


Figura 8.11.

Curvas de calibración de (A) Naftaleno a 286,8 nm en soluciones acuosas que contienen [T80] variables que van desde 0 a 5×10^{-3} M y (B) Fenantreno a 293,0 nm en soluciones acuosas que contienen [T80] variables que van desde 0 a 5×10^{-3} M. Las soluciones contienen 50 % de metanol.

Teniendo en cuenta esto, para calcular los porcentajes de recuperación de los HAPs desde las matrices sólidas, empleando soluciones de T80, SDDC, y T80-SDDC, se cuantificó la concentración de los contaminantes en el sobrenadante empleando los espectros UV-visible de derivadas. Se realizó una solución del sobrenadante, luego se le adicionó el 50 % de metanol, se tomó el espectro de absorción y se emplearon las correspondientes curvas de calibración para conocer la concentración del HAP.

8.3.9 Ensayos de biodegradación

8.3.9.1. Microorganismo, condiciones de cultivo y conservación

La cepa utilizada en esta tesis para los ensayos de biodegradación de HAPs, fue *Halomonas titanicae* KHS3. Fue cedida en el marco de una colaboración por la Dra. Karina Herrera Seitz de la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP). Esta cepa se aisló a partir de agua de mar contaminado (ambiente salino) del puerto de Mar del Plata, seleccionada por su capacidad para crecer usando gasoil y diferentes compuestos aromáticos como única fuente de carbono y energía.⁶

La cepa fue conservada a -70°C en solución fisiológica estéril con 10 % de glicerol como crioprotector y activada, transfiriendo 1 mL de “crioval” a 5 mL de Caldo Nutritivo (Britania). Luego de incubación “overnight” a 37°C , se sembró por estrías en Agar Nutritivo (Britania), incubando 24 horas a 37°C . Este último es el cultivo activo para utilizar en los ensayos de biodegradación.

El medio de cultivo empleado (g/L de agua destilada), para llevar a cabo el ensayo fue un medio salino basal (H_1), formado por: K_2HPO_4 (1,12 g), KH_2PO_4 (0,48 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,20 g), MgSO_4 (1 M; 0,10 mL), adicionado con 3 % de NaCl, y 0,025 % P/V de extracto de levadura. Se preparó el medio para esterilizar en autoclave 15 min a 121°C (1 atm), excluyendo el MgSO_4 . Este

procedimiento de preparación fue necesario dado que $MgSO_4$ precipita durante el proceso de autoclavado. Luego de esterilizar el H_1 , se adicionó la solución de $MgSO_4$ (1 M) del medio bajo condiciones asépticas, esterilizada por filtración (0,22 μm) obteniendo el medio H_1 estéril.

Se trabajó en colaboración con las Dras. Fabiana Alovero y Ana Apas del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba y UNITEFA-CONICET.

8.3.9.2. Preparación de surfactantes y contaminantes utilizados para los estudios de biodegradación

La preparación de soluciones de surfactantes, ya se mencionó en la sección 8.3.1, con la diferencia de que, en este caso, los surfactantes se disolvieron en el medio salino basal (H_1 , sin el agregado de NaCl, ni extracto de levadura). Las concentraciones de surfactante por encima de la CMC en ningún caso superaron el 0,05 %V/V agregado en el medio de cultivo, como se menciona en bibliografía. Los valores de concentración para cada surfactante se muestran en la Tabla 8.1.^{7,8}

Con respecto a los contaminantes, se proporcionaron al medio en dos estados diferentes. Los primeros ensayos de biodegradación con naftaleno se realizaron agregando los cristales de este contaminante al cultivo microbiano. Sin embargo, debido a que en este estado, el naftaleno no estaba libremente disponible para la cepa, finalmente se optó por trabajar con los contaminantes, naftaleno y fenantreno, solubilizados en cada uno de los surfactantes y en una mezcla de ellos, disueltos en el medio salino basal (H_1), como se describió en la sección 8.3.6.

Los distintos tratamientos diseñados en los ensayos, se resumen en la Tabla 8.1, las letras que siguen a la T (N ó F) indican el contaminante que se está usando.

Tabla 8.1	Descripción de los tratamientos preparados
Tratamientos	
T(N ó F) 1	HAP solubilizado en SDDC ($[Surfactante]_{total} = 0,5 \text{ mM}$). ^a
T(N ó F) 2	HAP solubilizado en T80 ($[Surfactante]_{total} = 0,5 \text{ mM}$)
T(N ó F) 3	HAP solubilizado en T80-SDDC, $\alpha = 0,5$ ($[Surfactante]_{total} = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$)
T(N ó F) 4	T80-SDDC, $\alpha = 0,5$ ($[Surfactante]_{total} = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$)
T(N ó F) 5	Control de inóculo- <i>Halomonas titanicae</i> KHS3 sin el agregado de contaminantes ni surfactantes. ^b
T(N ó F) 6	Naftaleno sólido (0,0214 g) + T80-SDDC $\alpha = 0,5$ ($[Surfactante]_{total} = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$)
T(N ó F) 7	SDDC ($[Surfactante]_{total} = 0,5 \text{ mM}$)
T(N ó F) 8	T80 ($[Surfactante]_{total} = 0,5 \text{ mM}$)

^a. La concentración de los HAPs solubilizados es aproximadamente 0,4mM.

^b. La suspensión de células de *Halomonas titanicae* KHS3 corresponde al 8% del volumen final del cultivo (DO_{600nm} entre 0,08-0,1).

8.3.9.3. Preparación de los ensayos de biodegradación de HAPs

El crecimiento de *Halomonas titanicae* KHS3, en los ensayos de biodegradación, se midió por dos metodologías. Inicialmente por turbidimetría,⁹ usando un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 600 nm. Posteriormente se implementó una técnica más laboriosa, que insume más material y tiempo, destinada a corroborar los resultados encontrados inicialmente. Para ello se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL) de la cepa en estudio expuesta a los diferentes tratamientos.

Indistintamente de la metodología usada para determinar el crecimiento de *H.titanicae*, la parte experimental se llevó a cabo en matraz de Erlenmeyers de 125 mL de capacidad, que contenían en común, 50 ml de caldo H₁ a pH 7, bajo agitación (100 rpm) y a 37 °C (Figura 8.12).

A partir de un cultivo “*overnight*” se estandarizó la suspensión de células en solución fisiológica frente a 0,5 de la escala de McFarland¹⁰ (corresponde a $\approx 1 \times 10^8$ UFC/mL). La densidad bacteriana se corroboró por espectrofotometría UV-visible, ajustando la absorbancia a 600 nm entre 0,08-0,1. Se sembraron alícuotas que corresponden al 8 % del volumen final del cultivo en los erlenmeyers destinados a los distintos tratamientos.



Figura 8.12. Tratamientos estudiados con sus respectivos controles en el caldo H₁. Baño termostatzado con agitación.

8.3.9.4. Determinación de *Halomonas titanicae* KHS3 por turbidez

8.3.9.4.1. Estudios con naftaleno

En este caso los Tratamientos con Naftaleno (TN) se dividieron en seis ensayos, conteniendo caldo H₁, como medio en común, y se etiquetaron de la siguiente manera, TN1 (Naftaleno solubilizado en SDDC), TN2 (Naftaleno solubilizado en T80), TN3 (Naftaleno solubilizado en la mezcla de ambos surfactantes), TN4 (mezcla de ambos surfactantes), TN5 (cepa sin Tratamiento =

control del inóculo), TN6 (Naftaleno sólido); cada uno de estos TN presentaron sus controles respectivos (C), que contenían lo mismo que cada uno de los ensayos sin el agregado de la cepa (Figura 8.13). El experimento duró 10 días en total. Se tomaron alícuotas representativas a diferentes tiempos, y el crecimiento de *Halomonas titanicae* KHS3, se determinó por medidas de densidad óptica a 600nm (DO₆₀₀) en un espectrofotómetro UV- Visible.

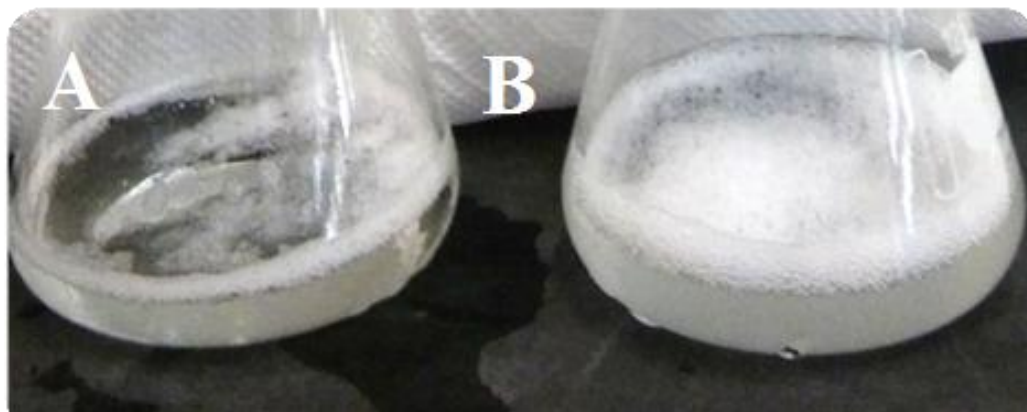


Figura 8.13. Experimento de biodegradación por medición de densidad óptica (DO₆₀₀) de la cepa de *Halomonas titanicae* KHS3, Ejemplo de uno de los tratamientos estudiados (A) control del tratamiento (B) tratamiento de uno de los estudios de biodegradación

8.3.9.4.2. Estudios con fenantreno

El procedimiento en este ensayo, se llevó a cabo de la misma manera que para el Naftaleno, pero usando Fenantreno como contaminante. En este caso se etiquetaron los tratamientos como TF, y se adicionó el Tratamiento F7 para estudiar el comportamiento de *Halomonas* en presencia únicamente del surfactante SDDC. En este caso, no se trabajó con el Fenantreno sólido, debido a que estudios previos realizados con Naftaleno, reflejaron que en estas condiciones el contaminante no es estaba disponible para la cepa.

8.3.9.5. Determinación de *Halomonas titanicae* KHS3 por medidas de viabilidad

Para determinar la viabilidad de la cepa, se dividieron los tratamientos de manera similar a los ensayos descritos anteriormente y se identificaron de acuerdo al contaminante en cuestión. Esta vez, se adicionó, un tratamiento más, T8 correspondiente al T80 y el experimento duró 17 días.

A diferentes tiempos se extrajeron alícuotas de cada tratamiento para efectuar recuento de viables por siembra en superficie. Para ello, 100 µL de cada tratamiento fueron sometidos a diluciones sucesivas (factor 10) en solución fisiológica estéril y posterior siembra de 100 µL en Agar Nutritivo distribuyendo con espátula de Drigalsky. Luego de 24 horas de incubación a 37 °C se efectuaron los recuentos de colonias. Se consideraron válidas las placas conteniendo entre 25 y 250 colonias (Figura 8.14), promediando los duplicados.

Los recuentos obtenidos se expresaron como Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL), usando la ecuación 8.1

$$\text{UFC/mL} = R \times 10^x \times 10 \quad \text{Ecuación 8. 1}$$

Donde R es el número de colonias desarrolladas en la placa, “x” es el factor de dilución correspondiente a la placa en la cual se efectuó el recuento y factor 10 es necesario para expresar el resultado por mililitro dado que la alícuota sembrada fue 0,1 mL (100 µL).

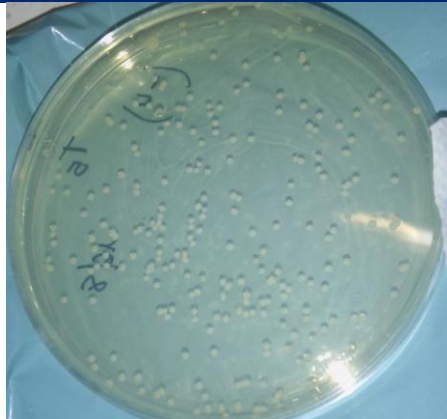


Figura 8.14. Placas válidas conteniendo entre 25 y 250 colonias para los experimentos de viabilidad por UFC/mL de la cepa de *Halomonas titanicae* KHS3 utilizada en los estudios de biodegradación.

8.3.9.6. Procesamiento de datos para efectuar comparaciones entre los tratamientos

Debido a las diferencias en los valores absolutos de absorbancia inicial de los diferentes tratamientos estudiados por el método de turbidez, los datos obtenidos a lo largo de los experimentos se normalizaron relacionando cada uno de ellos con el valor inicial, utilizando la ecuación 8.2, obteniendo un valor de absorbancia final (Abs_f)

$$Abs_f = \frac{Abs_{tx}}{Abs_{t0}} \quad \text{Ecuación 8. 2}$$

En donde, Abs_{tx} está dada por el dato obtenido de absorbancia en tiempo x y Abs_{t0} es el valor de absorbancia a tiempo inicial, para cada tratamiento evaluado.

Teniendo en cuenta el procesamiento de datos para los ensayos por turbidez, se utilizó el mismo procedimiento para los ensayos de viabilidad, mediante la ecuación 8.3, obteniendo un valor de Log UFC/mL final (Log UFC/mL_f)

$$\text{Log UFC/mL}_f = \frac{\text{Log UFC/mL}_{tx}}{\text{Log UFC/mL}_{t0}} \quad \text{Ecuación 8. 3}$$

En donde, Log UFC/mL_{tx} está dado por el dato obtenido de recuento en tiempo x y UFC/mL_{t0} es el valor de recuento a tiempo inicial, para para cada tratamiento evaluado.

Para comparar los efectos de cada tratamiento se graficaron los log UFC/mL_t en función del tiempo de exposición a cada tratamiento.

8.4 Referencias

- (1) Sales, P. S.; de Rossi, R. H.; Fernández, M. A. *Chemosphere* **2011**, *84*, 1700–1707.
- (2) Fan, H.; Han, F.; Liu, Z.; Qin, L.; Li, Z.; Liang, D.; Ke, F.; Huang, J.; Fu, H. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *321*, 227–234.
- (3) Cabana Saavedra, L. C.; Pachón Gómez, E. M.; Oliveira, R. G.; Fernández, M. A. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, *533*, 41–47.
- (4) Zakharova, L.; Valeeva, F.; Zakharov, A.; Ibragimova, A.; Kudryavtseva, L.; Harlampidi, H. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *263*, 597–605.
- (5) Basu Ray, G.; Chakraborty, I.; Moulik, S. P. *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *294*, 248–254.
- (6) Gasperotti, A. F.; Studdert, C. A.; Revale, S.; Herrera Seitz, M. K. *Genome Announc.* **2015**, *3*, 15–20.
- (7) Franzetti, A.; Di Gennaro, P.; Bestetti, G.; Lasagni, M.; Pitea, D.; Collina, E. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *152*, 1309–1316.
- (8) Mnif, S.; Chamkha, M.; Sayadi, S. *J. Appl. Microbiol.* **2009**, *107*, 785–794.
- (9) D'Ippolito, S.; De Castro, R. E.; Herrera Seitz, K. *Rev Argent Microbiol* **2011**, *43*, 107–110.
- (10) Madigan, Martinko. J.M.; Parker, J. *Biología de los Microorganismos*, 10a ed.; Prentice Hall, Madrid, España **2015**.