



Revista AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica

Volúmen 1, número 3, año 2007 ISSN 0718-378X
PP

EFFECTO DE COMPONENTES DEL SISTEMA DE EMULSIONES MÚLTIPLES EN EL CONSUMO DEL CONTAMINANTE MTBE POR UN CONSORCIO MICROBIANO

EFFECTS OF COMPONENTS OF MULTIPLES EMULSIONS SYSTEM IN THE MTBE
CONTAMINANTES BY MICROBIAL CONSORTIUM

Pimentel-González D. J.
Campos-Montiel R. G.
Cisneros-Ortiz M. E.
Monroy-Hermosillo O. A.
Vernon-Carter E. J.

ABSTRACT

The use of water-in-oil-in-water (W1/O/W2) emulsions has been proposed in environmental studies for treating water systems polluted with contaminants in low concentrations, where other treating techniques are not effective. For example it has been proposed that a microbial consortium capable of degrading methyl tert-butyl ether (MTBE) be entrapped in a W1/O/W2 emulsion for treating water contaminated with MTBE. However a proper selection of the materials (emulsifying agents, oil phase) making up the W1/O/W2 emulsion must be carried out in order to ensure that the microbial consortium does not consume these materials, interfering with the degradation of MTBE. The objective of this study was to determine the consumption of potential materials for making up the W1/O/W2 multiple emulsions, in the presence and absence of MTBE, by the microbial consortium. Potential materials proposed for making up the multiple emulsions W1/O/W2 are Span 80 as the primary lipophilic emulsifier, mesquite gum (*Prosopis laevigata*) and polyacrylic acid as the secondary hydrophilic emulsifiers, and light mineral oil as the intermediate oil phase. Each of these compounds was used by separate at a concentration of 0.2 % in microcosms with and without MTBE. Production of CO₂ was quantified as a measure of the compounds consumption. In the absence of MTBE, results indicate that Span 80 was used as carbon source by the microbial consortium, showing significantly higher ($P < 0.05$) production of CO₂ than that observed for mesquite gum and mineral oil. CO₂ production was non-significantly ($P > 0.05$) different when MTBE was present with Span 80 than when it was not, but was significantly higher ($P < 0.05$) CO₂ production when it was incorporated to mesquite gum or polyacrylic acid than when it was not. Thus, the use of Span 80 in the formulation of W1/O/W2 multiple emulsions entrapping a microbial consortium for degrading MTBE is not recommended, as Span 80 is consumed by the microbial consortium, and it inhibits the consumption of MTBE.

KEYWORDS: MTBE, microcosms, multiple emulsion, microbial consortium, emulsion materials.

II-Pimentel-México-1

EFFECTO DE COMPONENTES DEL SISTEMA DE EMULSIONES MÚLTIPLES EN EL CONSUMO DEL CONTAMINANTE MTBE POR UN CONSORCIO MICROBIANO

Pimentel-González D. J. ⁽¹⁾

Profesor Titular "A" T. C. UAEH. Organizadora del 2º Encuentro académico sobre aprovechamiento de sistemas biológicos, 2005. UAEH. Miembro de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, A.C. desde 2005. 2 Publicaciones internacionales y 8 Publicaciones nacionales en artículos en extenso de congresos. 25 Presentaciones en Congresos, Simposio y Talleres en los últimos 5 años. 1 Publicación con ISBN o arbitraje internacional. 5 tesis de licenciatura asesoradas.

Campos-Montiel R. G. ⁽²⁾

Profesor Titular "A" T. C. UAEH. 23 Publicaciones con ISBN o arbitraje internacional. 24 Memorias en extenso eventos nacionales o internacionales. 53 Presentaciones en Congresos, Simposia y Talleres en los últimos 5 años. Experiencia profesional en la DGCOH de la Ciudad de México y en la Comisión Nacional del Agua. Coordinador de Posgrado del Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UAEH. Coordinador tutor de la licenciatura de ingeniería en Alimentos de la UAEH.

Cisneros-Ortiz M. E. ⁽³⁾

Técnico Académico T.C. en Instituto de Ingeniería-UNAM; PRIDE C. Asesora de 5 estudiantes de servicio social y 10 de licenciatura. Participación en proyectos de DGAPA y CONACyT. Organización de 2 congresos internacionales (VII Taller y Simposio Latinoamericano sobre Digestión Anaerobia (Congreso internacional IWA), 2002 y XXVII AIDIS, 2002). 2 publicaciones en revista nacional y 4 en revistas internacionales. 38 memorias en congresos y 7 capítulos de libros nacionales.

Monroy-Hermosillo O. A. ⁽⁴⁾

Sistema Nacional de Investigadores Nivel (SNI) II. Profesor Titular "C" T. C. UAM-Iztapalapa. Miembro Academia Mexicana de la Ciencia. Socio Numerario de SMBB. Miembro de International Water Association en Digestión Anaerobia. 49 artículos en revistas internacionales. 63 memorias congresos, 9 publicaciones difusión. Director de 6 tesis de licenciatura y 37 proyectos terminales, 4 especialidad, 17 maestría y 2 doctorado. 2 patentes. 6 compilaciones de publicaciones.

Vernon-Carter E. J. ⁽⁵⁾

SNI Nivel III. Profesor Titular "C" T. C. UAM-Iztapalapa. Coordinador Lab. de Docencia (Ingeniería Química, Energía e Hidrología). Miembro y Presidente Comisión Dictaminadora de Ingeniería. Coord. Licenciatura en Ingeniería Química. 85 Publicaciones internacionales, 49 nacionales en revistas referenciadas e indizadas. 21 proyectos terminales, 5 tesis licenciatura, 23 maestría, 13 doctorado. 106 Presentaciones en Congresos (últimos 5 años). 12 Proyectos financiados. 330 Citas.

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco, No. 186 C. P. 09340 Col. Vicentina, Iztapalapa México D. F. (++) (52) (55)58044934, fax (++) (55) (55)58044900, e-mail: diana_j_pg@hotmail.com

RESUMEN

Las emulsiones múltiples agua-en aceite-en agua ($W_1/O/W_2$) en el área ambiental se han propuesto para tratar aguas. Actualmente se ha sugerido entrapar un consorcio microbiano degradador de MTBE en el sistema de emulsiones múltiples, para tratar agua contaminada con metil ter butil éter (MTBE), no obstante, es importante el uso de los materiales adecuados en la formulación de la emulsión debido a que pueden interferir en la degradación de MTBE. El objetivo de este estudio fue observar el consumo de los materiales que componen la emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ en presencia y ausencia de MTBE por el consorcio microbiano. Los materiales que se han propuesto para estabilizar la emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ son goma de mezquite (*Prosopis laevigata*), ácido poliacrílico, aceite mineral ligero y Span 80. Se utilizaron cada uno de los anteriores compuestos por separado en una concentración de 0.2% en microcosmos en ausencia y en presencia de MTBE, se cuantificó CO_2 para advertir el consumo de los compuestos. Los resultados de la primer prueba en ausencia de MTBE mostraron que el Span 80 es utilizado como fuente de carbono por el consorcio microbiano, reflejándose en la alta producción de CO_2 ; la goma de mezquite y aceite mineral, también son biodegradados por el consorcio microbiano, pero significativamente diferente ($P < 0.05$) con respecto al Span 80. En los resultados de la prueba de consumo de compuestos de la emulsión en presencia de MTBE no mostró cambio en la producción de CO_2 en el tratamiento con Span 80; sin embargo, en la goma de mezquite y aceite mineral se incrementa la producción de CO_2 , contribuyendo probablemente a un cometabolismo de estos compuestos con el MTBE. Por lo anterior, el uso de Span 80 para la formulación de emulsiones múltiples $W_1/O/W_2$ para la biodegradación de MTBE por un consorcio microbiano no se recomienda ya que es consumido y no favorece la degradación de MTBE.

PALABRAS CLAVE: MTBE, microcosmos, emulsión múltiple, consorcio microbiano.

INTRODUCCIÓN

La gran mayoría del agua potable proviene de reservas de agua subterránea. Debido a esto, es importante mantener dichas reservas libres de agentes contaminantes para garantizar su disponibilidad. Uno de estos contaminantes es el metil ter-butyl éter (MTBE), oxigenante de la gasolina. La Legislación Mexicana no regula la presencia de MTBE en agua potable, por lo que se consideran los límites establecidos por la Environmental Protection Agency de 20 a 40 mg/L. El MTBE puede ingresar al agua subterránea por medio de fugas o derrames de gasolina al subsuelo provenientes de tanques de almacenamiento en gasolineras y de la tubería de distribución asociada (11). El MTBE tiene alta solubilidad en agua y debido a esta propiedad, posee una alta afinidad a distribuirse en los mantos acuíferos en vez de

retenerse en el contenido orgánico del suelo, lo que en caso de existir fugas, los acuíferos son impactados directamente. El primer caso de contaminación de acuíferos por MTBE (600 mg/L) fue reportada en 1996 en Santa Mónica, California (11). El problema de fugas de tanques subterráneos es añejo, ya que en una nota publicada en 1993 por Environmental Science and Technology (3), se informó que más de 170 000 tanques subterráneos tenían fugas en EUA, o sea, más del 37% del total evaluado. En México, el MTBE en la gasolina está presente desde 1989, y aún cuando se sabe que es un contaminante potencial, se le ha dado muy poca importancia para investigar el impacto ocasionado en los acuíferos. El MTBE es considerado un importante contaminante debido a su toxicidad y a que es clasificado como una sustancia neurotóxica (6). Las oficinas gubernamentales estadounidenses encargadas del agua afirman que el MTBE es fácilmente detectable a muy bajos niveles y su remoción es extremadamente difícil y costosa. Se han sugerido alternativas para la remediación de contaminación con MTBE en agua subterránea (2), pero estos estudios abordan concentraciones de MTBE moderadamente altas (>1000 mg/L). Las técnicas fisicoquímicas usuales para limpiar acuíferos contaminados (inyección de aire, filtros de carbón activado, etc.) son costosas y relativamente ineficientes para eliminar el MTBE. Esta es la razón por la cual el proceso de biorremediación podría ser particularmente interesante (4), aunque también presenta algunas desventajas en la práctica, ya que existe una alta demanda de energía para la degradación de MTBE que se refleja por la baja eficiencia de producción de biomasa (5).

Se ha reportado el entrapamiento de un consorcio microbiano degradador de MTBE en un sistema de emulsiones múltiples agua-en aceite-en agua ($W_1/O/W_2$) cinéticamente estables donde se realiza un proceso de transporte del contaminante hacia la fase acuosa interna, donde se observa el consumo de MTBE, sin embargo, la producción de CO_2 es significativamente mayor a lo que correspondería el consumo total de MTBE suministrado, lo que trae como consecuencia la disminución en la eficiencia de degradación de MTBE, debido a la presencia de una fuente alterna de carbono, por lo que para incrementar la biodegradación de MTBE, por el consorcio microbiano atrapado en la emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ se sugirió utilizar materiales que no interfieran con la eficiencia de biodegradación de MTBE (9).

En el presente estudio, se evaluó el consumo de los componentes de la emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ en presencia y ausencia de MTBE por el consorcio microbiano degradador de MTBE.

METODOLOGÍA

Se trabajó con los componentes de la emulsión: biopolímero goma de mezquite (*Prosopis laevigata*) y el polímero sintético (PS) ácido poliacrílico (Pemulen TR-1®, de Noveon Inc., Ohio, E.U.A.) como estabilizantes de la emulsión múltiple $W_1/O/W_2$; aceite mineral ligero (Marcol GX, México), como fase oleosa; monooleato de sorbitán Span 80 (Canamex Químicos, México) como emulsificante lipofílico y MTBE 98% (Aldrich Chemicals, E.U.A.). Todos los demás químicos usados en este estudio fueron de grado reactivo.

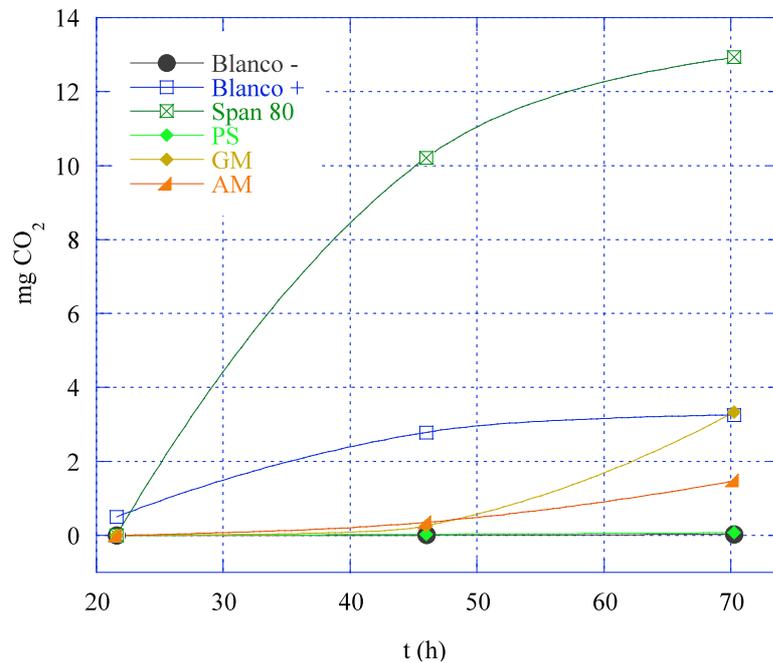
El consorcio microbiano (CM) fue previamente aislado de capas superiores de suelos contaminados con gasolina (México, D. F.). El CM fue suspendido en un medio mineral

enriquecido con sales (MM) que contenía principalmente K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, KNO_3 , base nitrogenada de levaduras y elementos traza. El MTBE (140 mg/L) fue la única fuente de carbono en un reactor con un volumen de operación de 1.5 L a temperatura ambiente (25°C) y se mantuvo con agitación de 130 rpm (7). Se efectuó la propagación de biomasa en un matraz de procultivo de capacidad de 1 L. Posteriormente la biomasa fue resuspendida en MM para preparar los microcosmos para efectuar los experimentos con una concentración de biomasa de 50 mg_{proteína}/L_{MM} (8). Los microcosmos consistieron en botellas serológicas de 125 mL selladas con válvulas Mininert (Sypelco, Sigma-Aldrich Canadá LTD, Oakville, ON, Canadá), en un agitador rotatorio (130 rpm, 30°C). Cada botella contenía 10 mL de MM con el consorcio microbiano. El MTBE fue inyectado directamente en la fase líquida en la botella usando una micro-jeringa para dar una concentración final de 148mg_{MTBE}/L (1.46 mg_{MTBE}/botella). La eficiencia de degradación de MTBE y de los componentes de la emulsión fue estimada usando las mediciones de dióxido de carbono (CO₂) en la fase gaseosa a través del tiempo. El CO₂ fue cuantificado por medio de cromatografía de gases (Gow-Mac Series 550, E.U.A.), con una columna Alltech CTR1 (concéntrica de 6' X ¼ exterior y 6 X 118 interior, Alltech Inc., Kentucky, E.U.A.) y detector de conductividad térmica, como gas acarreador se utilizó Helio, con flujo de 65 mL/min, con presión de 40 PSI. Las condiciones de operación fueron: temperatura de la columna, 40°C; detector, 150°C; e inyector, 30°C; se ajustó el voltaje a 115 mA. Se tomaron muestras de la fase gaseosa del frasco a las 24 h de inyectado el MTBE, y cada 24 h, de un volumen de 200 mL con una micro-jeringa para gases (VICI Precision Sampling, Inc. Pressure-Lok ®, Alltech Inc., Kentucky, E.U.A.) de 250 mL de capacidad. El primer experimento consistió en observar el consumo de los componentes de la emulsión en ausencia de MTBE por el consorcio microbiano, donde se colocó en cada microcosmos cada uno de los compuestos de la emulsión en un porcentaje de 0.2%, se compararon los resultados contra dos testigos, uno con MTBE (+) y otro sin MTBE (-). La segunda prueba fue similar a la anterior, pero además se adicionó a todos los microcosmos MTBE (2 mL), con la finalidad de observar que compuesto favorece o inhibe la degradación de MTBE por el consorcio microbiano.

RESULTADOS

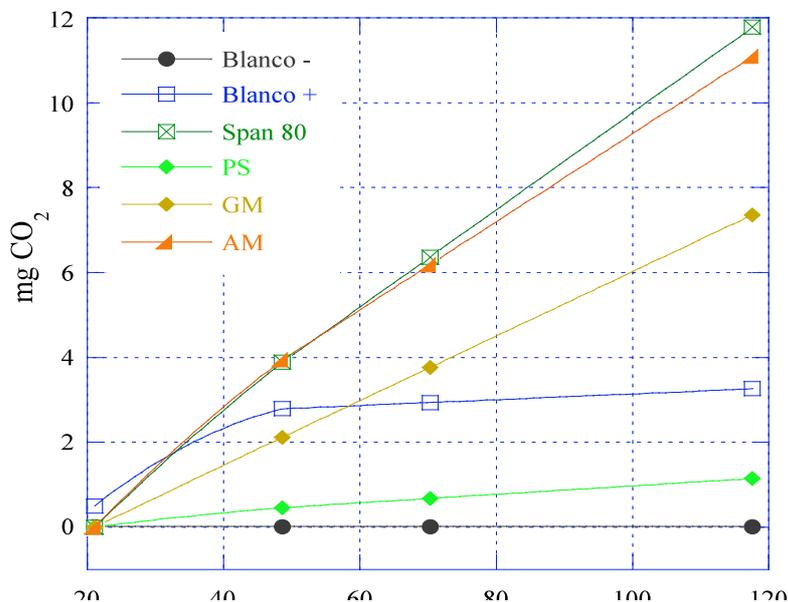
En la prueba de consumo de los componentes de la emulsión, el emulsificante lipofílico Span 80, goma de mezquite y aceite mineral son fácilmente biodegradados por el consorcio microbiano y fueron utilizados como fuente de carbono, reflejándose en la producción de CO₂ que se aprecia en la figura 1, aunque con el Span 80, se aprecia más facilidad de degradación, probablemente por la compleja estructura que presentan la goma de mezquite y el aceite mineral. En contraste, con el polímero sintético no se observó producción de CO₂, por lo que no es asimilable por el CM.

Fig. 1. Prueba de consumo de los compuestos de la emulsión múltiple por el consorcio microbiano en ausencia de MTBE. (PS= Polímero sintético; GM=Goma de mezquite; AM= Aceite mineral).



En el segundo experimento, no se observó diferencia en el consumo de Span 80 con MTBE por el CM, esto puede deberse a que el Span 80 es más fácilmente asimilable que el MTBE. Por otra parte, se puede advertir en la goma de mezquite y aceite mineral, que la presencia de MTBE promueve el consumo de estos compuestos, que, en la primera prueba no se apreció una producción significativa de CO_2 , se sugiere la existencia de un cometabolismo del MTBE con estos materiales. En el tratamiento de polímero sintético con MTBE, se observa una producción de CO_2 , debido a la presencia de MTBE, pero comparado con el testigo +, se puede apreciar que la producción de CO_2 es menor, esto puede explicarse por la probable inhibición de consumo de MTBE en presencia de polímero sintético (Fig. 2).

Fig. 2. Prueba de consumo de los compuestos de la emulsión múltiple por el consorcio microbiano en presencia de MTBE. (PS= Polímero sintético; GM=Goma de mezquite; AM= Aceite mineral).



CONCLUSIONES

El desarrollo de una emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ para entrapar un consorcio microbiano degradador de MTBE se puede obtener por medio de la elección adecuada de los materiales. El estudio realizado en este trabajo contribuye al análisis de los materiales a utilizar previo a la formulación de las emulsiones múltiples. El sistema de emulsiones múltiples con el consorcio microbiano sugiere una alternativa de aplicación potencial para el tratamiento de aguas contaminadas con MTBE. Se recomienda utilizar compuestos que favorezcan el consumo de MTBE por como el aceite mineral, polímero sintético y goma de mezquite, sin embargo el uso de Span 80 para este tipo de sistemas no se sugiere porque no contribuye a que el consorcio microbiano consuma MTBE.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALLOUCHE, J., TYRODE, E., SADTLER, V., CHOPLIN, L., SALAGER, J. 2003. Single and two step emulsification to prepare a persistent multiple emulsion with a surfactant – polymer mixture. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42:3982-3988.
2. DAVIDSON, J. A. 1997. MtBE Fate and transport –the latest data. Workshop on fate, transport and remediation of MtBE – 7th Annual West Coast Conference on Contaminated Soils and Groundwater, March 10-13, 1997, Mandalay Bay Resort, Oxnard, CA.
3. Environmental Science and Technology. 1993. Bulletin. 27:210.
4. FAYOLLE, F., VANDECASTEELE, J.-P., MONOT, F. 2001. Microbial degradation and fate in the environment of methyl tert-butyl ether and related fuel oxygenates. A mini review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:339-349.
5. FORTIN, N. Y., MORALES, M., NAKAGAWA, Y., FOCHT, D. D., DESHUSSES, M. A. 2001. Methyl tert-butyl ether (MTBE) degradation by a microbial consortium. *Environmental Microbiology.* 3 (6): 407-416.
6. HEI. 1996. The Potential Health effects of oxygenates added to gasoline. A review of the current literature. A especial report of institute's oxygenation evaluation committee. (Health Effects Institute).
7. LÓPEZ, M. A. Caracterización cinética y propagación de consorcios microbianos capaces de eliminar metil tert-butil éter (MTBE). México, 2005. Tesis Maestría-Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, 2005.

8. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. Y RANDALL, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Missouri. J. Biol. Chem.* 193:265-275.
9. PIMENTEL-GONZÁLEZ, D. J., REVAH-MOISEEV S., VERDE-CALVO, R., VERNON-CARTER, E. J. Evaluación de la biodegradación de MTBE por un consorcio microbiano en un sistema de emulsión múltiple. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Mérida, Yuc. 18-23 septiembre 2005.
10. USEPA. 1993. Assessment of potential health risks of gasoline oxygenated with methyl tertiary butyl ether (MtBE). Office of Research and Development EPA/600/R-93/206, November 1993. Washington D.C. U.S.A.
11. USEPA. 1999. Achieving Clean Air and Clean Water: the Report of the Blue Ribbon Panel on Oxygenates in Gasoline. US Government Printing Office. EPA/420/R-99/021. Washington D.C. U.S.A.