



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabajo de Tesis Doctoral

***Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos
policíclicos aromáticos mediante oxidación química***

Lic. Marina Peluffo

Directora: Dra. Janina A. Rosso

Codirectora: Dra Verónica C. Mora

2016

El presente trabajo, para optar al grado de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de la Plata, fue realizado en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Universidad Nacional de La Plata, bajo la dirección de la Dra. Janina A. Rosso y la codirección de la Dra. Verónica C. Mora.

Agradecimientos

A mi directora Janina por confiar en mí para realizar este trabajo, por ayudarme y aconsejarme, pero principalmente por su predisposición y paciencia de este último año.

A mi codirectora Verónica por su ayuda en los primeros años y por su enseñanza a lo largo del doctorado.

A CONICET por otorgarme la beca para poder realizar esta tesis doctoral.

A la Jefatura de Gabinetes por otorgarme la beca para realizar la estadía en España.

Al INIFTA y CINDEFI por darme el espacio físico para poder llevar a cabo mi trabajo.

Al grupo IMPROQUIMA de Madrid: A Aurora por recibirme y estar siempre dispuesta a las consultas. A Arturo, Inma, José por hacerme sentir parte del grupo. A Fer, David y Sergio por ser mis compañeros y amigos.

A Pablo por darme su amor y ser mi compañero incondicional. Por apoyarme, aconsejarme y por ayudarme siempre que lo necesité.

A mi mamá y mis hermanos por su confianza, apoyo y el amor que me brindan.

A mi tíos, mi abuela, y resto de mi familia por alentarme y acompañarme en la distancia.

A mis compañeras de laboratorio del CINDEFI: NN, Lina, ViVi, Sabri, Lau, Pauli, BiBi por las sonrisas y alegría compartida y por el aliento que me dieron este año.

A Tere e Irma por escucharme y aceptarme en su grupo de trabajo.

A Rocio por estar disponible en cualquier momento y darme una mano cuando lo necesitaba.

A Marian y Marti por escucharme, aconsejarme y darme su cariño y amistad.

A mis compañeros del INIFTA de la casita y del primer piso: Paula, Marce y Magda, por su interés y el apoyo que me dieron este último año.

A mis padres

Índice

1. Introducción

| | |
|--|----|
| 1.1. Contaminación de suelos..... | 15 |
| 1.1.1. Características generales del suelo..... | 15 |
| 1.1.2. Contaminación de suelos con hidrocarburos policíclicos aromáticos..... | 17 |
| 1.2. Procesos de biorremediación..... | 23 |
| 1.2.1. Atenuación natural..... | 23 |
| 1.2.2. Bioaumentación..... | 24 |
| 1.2.3. Bioestimulación..... | 24 |
| 1.2.4. Ventajas y limitaciones de las técnicas de biorremediación..... | 27 |
| 1.3. Técnicas de oxidación química..... | 28 |
| 1.3.1. Reacción de Fenton y sus modificaciones..... | 29 |
| 1.3.2. Anión persulfato..... | 33 |
| 1.3.3. Permanganato de potasio..... | 37 |
| 1.3.4. Ventajas y limitaciones de las técnicas de oxidación química..... | 38 |
| 1.4. Combinación de procesos de biorremediación y técnicas de oxidación química..... | 38 |
| 1.5. Referencias..... | 41 |

2. Hipótesis y objetivos

3. Materiales y Métodos

| | |
|---|----|
| 3.1. Suelos utilizados..... | 63 |
| 3.2. Cálculo de las dosis de los oxidantes..... | 64 |
| 3.3. Ensayos sobre la persistencia de los oxidantes estudiados..... | 65 |
| 3.3.1. Estudio de la estabilidad de soluciones de persulfato de sodio y persulfato de amonio..... | 65 |
| 3.3.2. Persistencia de persulfato en presencia del Suelo I..... | 65 |
| 3.3.3. Persistencia de persulfato de sodio y peróxido de hidrógeno en presencia del Suelo II..... | 67 |
| 3.4. Descripción general de los tratamientos ensayados..... | 67 |
| 3.4.1. Bajo contenido de humedad..... | 67 |
| 3.4.2. Alto contenido de humedad..... | 67 |

| | | |
|----------|--|----|
| 3.5. | Preparación de los sistemas..... | 68 |
| 3.5.1. | Contaminación con fenantreno..... | 69 |
| 3.5.2. | Contaminación con fenantreno y pireno..... | 72 |
| 3.5.3. | Contaminación con 4 hidrocarburos policíclicos aromáticos..... | 73 |
| 3.6. | Análisis químico y físico de los sistemas..... | 76 |
| 3.6.1. | Porcentaje de humedad (%H)..... | 76 |
| 3.6.2. | Medida de pH del suelo..... | 77 |
| 3.6.3. | Medida de la conductividad eléctrica..... | 77 |
| 3.6.4. | Determinación de la concentración de persulfato..... | 77 |
| 3.6.4.1. | Medida de la concentración de persulfato por espectrofotometría..... | 77 |
| 3.6.4.2. | Medida de persulfato por valoración iodométrica..... | 78 |
| 3.6.5. | Determinación de la concentración de peróxido de hidrógeno..... | 79 |
| 3.6.6. | Determinación de la concentración micelar crítica del surfactante dodecilsulfato sódico..... | 79 |
| 3.6.7. | Determinación de la concentración de surfactante..... | 80 |
| 3.6.8. | Determinación de la concentración de hidrocarburos por HPLC-UV..... | 81 |
| 3.6.8.1. | Determinación de la concentración de fenantreno en los sistemas BH..... | 81 |
| 3.6.8.2. | Determinación de concentración de hidrocarburos en los SB ₁ y SB ₂ | 81 |
| 3.6.8.3. | Determinación de concentración de hidrocarburos en los SB ₃ y SB ₄ | 82 |
| 3.6.9. | Análisis y cuantificación de intermediarios de reacción..... | 83 |
| 3.6.10. | Medida de hierro mediante absorción atómica..... | 83 |
| 3.7. | Análisis microbiológico del suelo..... | 84 |
| 3.7.1. | Bacterias heterótrofas cultivables..... | 84 |
| 3.7.2. | Bacterias degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos..... | 84 |
| 3.8. | Análisis molecular..... | 85 |
| 3.8.1. | Extracción de ADN de los microorganismos presentes en el suelo..... | 85 |
| 3.8.2. | Amplificación del gen 16S rRNA mediante técnicas de PCR..... | 85 |
| 3.8.3. | Electroforesis en gel con gradiente desnaturizante..... | 86 |
| 3.8.4. | Cálculo del Índice de Shannon..... | 87 |
| 3.9. | Análisis estadístico..... | 87 |
| 3.10. | Referencias..... | 88 |

4. Persistencia en suelos de los oxidantes estudiados

| | |
|---|-----|
| 4.1. Introducción..... | 93 |
| 4.2. Estudio de la estabilidad de soluciones de persulfato de sodio y persulfato de amonio..... | 94 |
| 4.3. Persistencia de persulfato en presencia del Suelo I..... | 94 |
| 4.4. Persistencia de persulfato de sodio y peróxido de hidrógeno en presencia del Suelo II..... | 97 |
| 4.5. Discusión..... | 97 |
| 4.6. Conclusiones..... | 99 |
| 4.7. Referencias..... | 101 |

5. Estrategias de remediación de un suelo contaminado con fenantreno utilizando persulfato

| | |
|---|-----|
| 5.1. Introducción..... | 105 |
| 5.2. Efecto de la concentración de persulfato de sodio..... | 107 |
| 5.3. Efecto de la adición de Fe (II)..... | 110 |
| 5.4. Efecto del contratién de la sal de persulfato (Na^+ vs. NH_4^+)..... | 111 |
| 5.5. Efecto del agregado de oxidante en aplicaciones sucesivas..... | 113 |
| 5.6. Efecto de la humedad del suelo..... | 115 |
| 5.7. Discusión..... | 117 |
| 5.8. Conclusiones..... | 122 |
| 5.9. Referencias..... | 123 |

6. Estrategias de remediación de un suelo contaminado con fenantreno y pireno utilizando permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno y persulfato de sodio

| | |
|---|-----|
| 6.1. Introducción..... | 129 |
| 6.2. Oxidación química utilizando permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno y persulfato de sodio..... | 130 |
| 6.3. Activación de persulfato de sodio y peróxido de hidrógeno mediante el agregado de Fe (II) y EDTA..... | 131 |
| 6.4. Diferentes estrategias para la activación de persulfato de sodio..... | 133 |
| 6.5. Activación térmica de persulfato de sodio..... | 135 |
| 6.6. Análisis de la estructura de las comunidades bacterianas en los SB ₁ | 137 |

| | |
|---|------------|
| 6.7. Discusión..... | 139 |
| 6.8. Conclusiones..... | 146 |
| 6.9. Referencias..... | 148 |
| | |
| 7. Estrategias de remediación de un suelo contaminado con hidrocarburos policíclicos aromáticos mediante la combinación de oxidantes químicos, activantes y surfactantes | |
| | |
| 7.1. Introducción..... | 153 |
| 7.2. Estudio de la atenuación natural y el efecto de la bioestimulación mediante el agregado de un surfactante..... | 153 |
| 7.3. Ensayos utilizando Peróxido de Hidrógeno como oxidante..... | 155 |
| 7.3.1. Efecto de la concentración de hierro..... | 155 |
| 7.3.2. Influencia del tipo de Fe agregado (sulfato férrico ó nZVI)..... | 158 |
| 7.3.3. Influencia de la concentración de Peróxido de Hidrógeno..... | 160 |
| 7.3.4. Efecto del agregado de surfactante en el medio de reacción..... | 162 |
| 7.3.5. Efectividad del uso de peróxido de hidrógeno como oxidante..... | 165 |
| 7.4. Ensayos utilizando Persulfato de Sodio como oxidante..... | 167 |
| 7.4.1. Efecto del tipo de hierro agregado (distintas estados de especiación).... | 167 |
| 7.4.2. Efecto del agregado de surfactante..... | 169 |
| 7.4.3. Efecto del agregado de ácidos húmicos (AH)..... | 170 |
| 7.4.4. Efecto de la concentración de hierro..... | 172 |
| 7.4.5. Efectividad del uso de persulfato de sodio como oxidante..... | 173 |
| 7.5. Recuentos de bacteria heterótrofas totales..... | 175 |
| 7.6. Productos de degradación..... | 175 |
| 7.7. Discusión..... | 177 |
| 7.8. Conclusiones..... | 186 |
| 7.9. Referencias..... | 188 |
| | |
| 8. Conclusiones Generales | |
| | |
| Anexo I..... | 201 |
| Anexo II..... | 202 |



Capítulo 1

Introducción



1. Introducción

1.1. Contaminación de suelos

1.1.1. Características generales del suelo

El suelo se define como la parte superior de la corteza terrestre. Está compuesto por partículas minerales, organismos vivos, materia orgánica, agua y sales (**Figura 1.1**). La mayoría de los componentes provienen de la meteorización de rocas, descomposición de restos vegetales y acción de microorganismos, formando uno de los recursos naturales más importantes del planeta. El suelo es un medio altamente complejo, formado, principalmente por tres fases: sólida (50%), líquida y gaseosa (Brock y Madigan, 2000):

- **Fase sólida:** Es la fase más estable del suelo. Está constituida por componentes inorgánicos (como silicatos, óxidos e hidróxidos y otros compuestos cuya presencia, ausencia y abundancia condiciona el tipo de suelo y su evolución) y orgánicos (como microorganismos y sustancias húmicas).
- **Fase líquida:** Está formada por una disolución acuosa de las sales y los iones más comunes, originada por la alteración de los minerales y la materia orgánica.
- **Fase gas:** Presenta gran variabilidad en su composición. Tiene contenido en O_2 y CO_2 , como consecuencia del metabolismo respiratorio de los seres vivos del suelo. Es responsable de reacciones de oxidación en el suelo.

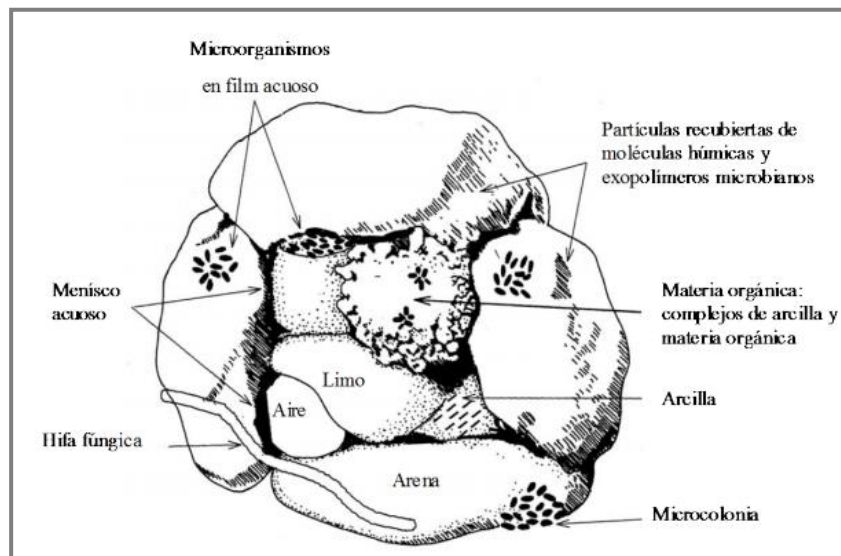


Figura 1.1. Esquema de la disposición en el espacio de los agregados constituyentes de un suelo (Atlas, R., Bartha, R., 1998).

Estas tres fases se pueden organizar de formas muy diferentes, adquiriendo diversas proporciones para dar lugar a diferentes tipos de suelos (arcillo, limoso, franco, franco arenoso, etc.).

Además, el suelo puede clasificarse mediante el tamaño de las partículas que forman su fase sólida: grava (mayor de 2 mm), arena (2,0 a 0,2 mm), arena fina (0,2 a 0,02 mm), limo (0,02 a 0,002 mm) y arcilla (menor a 0,002 mm).

Las propiedades del suelo se pueden clasificar en físicas, químicas y biológicas:

- Físicas: Determinan el comportamiento fluido dinámico del tipo de suelo. En este grupo se encuentra la textura, la estructura, el color, la permeabilidad, la porosidad, el drenaje y la humedad.
- Químicas: Son las propiedades asociadas a la capacidad amortiguadora del suelo. Estas son la capacidad de intercambio catiónico, el pH y la concentración de sales.
- Biológicas: Están asociadas a la presencia de materia orgánica y presencia de vida animal.

El suelo es fundamental e irremplazable; coordina el crecimiento de las plantas de los ecosistemas terrestres y mantiene los ciclos biogeoquímicos, ya que los microorganismos del suelo degradan virtualmente todos los componentes orgánicos, inclusive los compuestos xenobióticos y polifenólicos persistentes.

La materia orgánica del suelo (MOS) es una mezcla heterogénea que incluye tejidos de origen animal y vegetal, sus productos de descomposición parcial resultantes de las transformaciones microbiológicas y químicas del proceso de humificación, material orgánico de alto peso molecular (como por ejemplo polisacáridos y proteínas) y sustancias simples (como aminoácidos, lípidos y monosacáridos). La materia orgánica puede clasificarse en dos tipos según su origen: no húmicas (carbohidratos, proteínas, grasas, taninos, etc.) y húmicas (que se produce por la degradación química y enzimática (microbiana) de los materiales no húmicos).

Las sustancias húmicas (SH) son un conjunto de sustancias coloreadas, de alto peso molecular, que se clasifican en base a su solubilidad en agua como ácidos húmicos (AH, solubles a valores de pH mayores a 2), ácidos fúlvicos (AF, solubles en soluciones acuosas independientemente del pH) y huminas (insolubles en agua) (Karanfil y col., 1996).

Las SH están compuestas por aproximadamente 50 % de carbono, entre un 35 - 45% de oxígeno, 5% de hidrógeno, 3% de nitrógeno y azufre (MacCarthy, 2001). Los principales grupos funcionales presentes incluyen grupos ácidos carboxílicos, OH fenólicos y quinonas.

Estos grupos funcionales pueden retener metales y compuestos orgánicos polares y no polares debido a las interacciones hidrofóbicas-hidrofílicas (Warren y Haack, 2001).

El rol de las SH en el suelo luego de un proceso de contaminación depende de algunos factores como de la naturaleza y cantidad de contaminante presente en suelo, pero además, del tiempo de exposición a la contaminación. Cuando se trata de una contaminación crónica, los compuestos orgánicos pueden adsorberse fuertemente a las SH, limitando su biodisponibilidad.

Cuando el suelo entra en contacto con una corriente de agua la fracción de la SH soluble (los AF y los AH si el pH es mayor a 2) se disuelve en la solución arrastrando a la fase acuosa los compuestos con los que se encuentran unidos.

1.1.2. Contaminación de suelos con hidrocarburos policíclicos aromáticos

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) son compuestos formados por la fusión de dos o más anillos bencénicos, que pueden disponerse de manera lineal, angular o en forma de cluster (Dhote y col., 2010). Por definición contienen solamente átomos de carbono e hidrógeno. Se han identificado aproximadamente 130 PAH, pero los más estudiados son los 16 (con 2 - 6 anillos) que ha listado la EPA (Agencia de Protección Ambiental, de los Estados Unidos) como contaminantes prioritarios (Lemaire y col., 2013), los cuales pueden observarse en la **Figura 1.2**.

Los PAH se clasifican en dos grupos dependiendo del peso molecular: bajo (BPM, como fenantreno y antraceno) o alto (APM, como pireno y benzo(a)pireno). Esta clasificación se presenta en la **Figura 1.2**.

Estos compuestos son moléculas neutras, térmicamente estables y que se degradan lentamente por acción de los microorganismos (Harvey, 1997). Son altamente hidrófobos (medido por la constante de partición octanol/agua, K_{OW}), poco solubles en agua y se adsorben en la materia orgánica del suelo, ver **Tabla 1.1**.

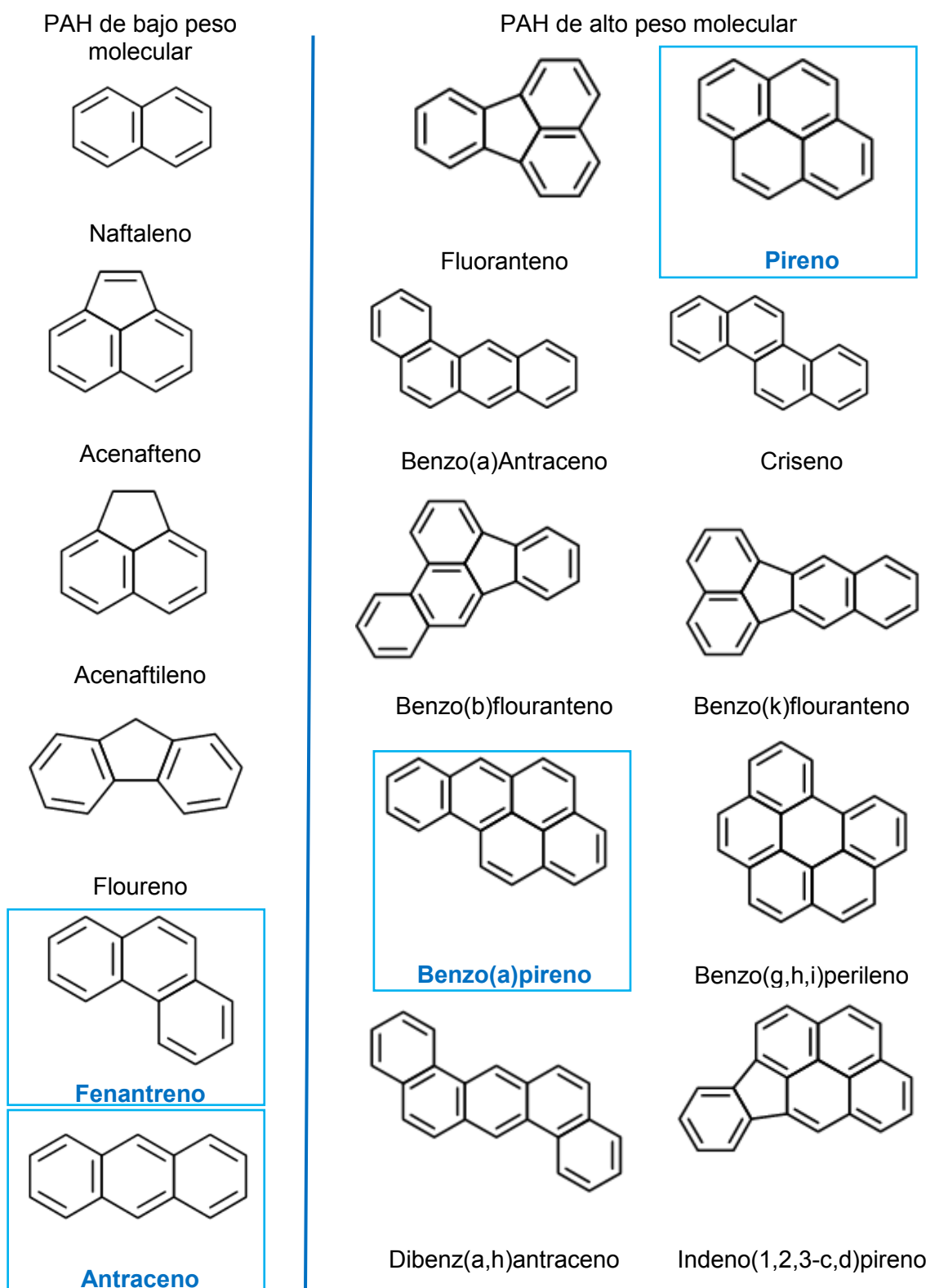


Figura 1.2. Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos de bajo y alto peso molecular, listados entre los 16 PAH prioritarios según la EPA. Los PAH encuadrados fueron los utilizados en esta tesis.

La contaminación con PAH en el ambiente puede originarse por procesos naturales como incendios forestales, emisiones volcánicas y diagénesis (Baek y col. 1990; Menzie y col. 1992; Wang y col. 2007). Sin embargo, en los sitios más urbanizados e industrializados, la mayoría de estos compuestos llegan al ambiente por fuentes antropogénicas (**Figura 1.3**) como la incineración de carbón, madera; combustión de gasoil, petróleo y los procesos industriales (Mostert y col. 2010). Otra fuente de PAH proviene de los derrames accidentales de petróleo o combustibles (da Silva y Bicego, 2010).

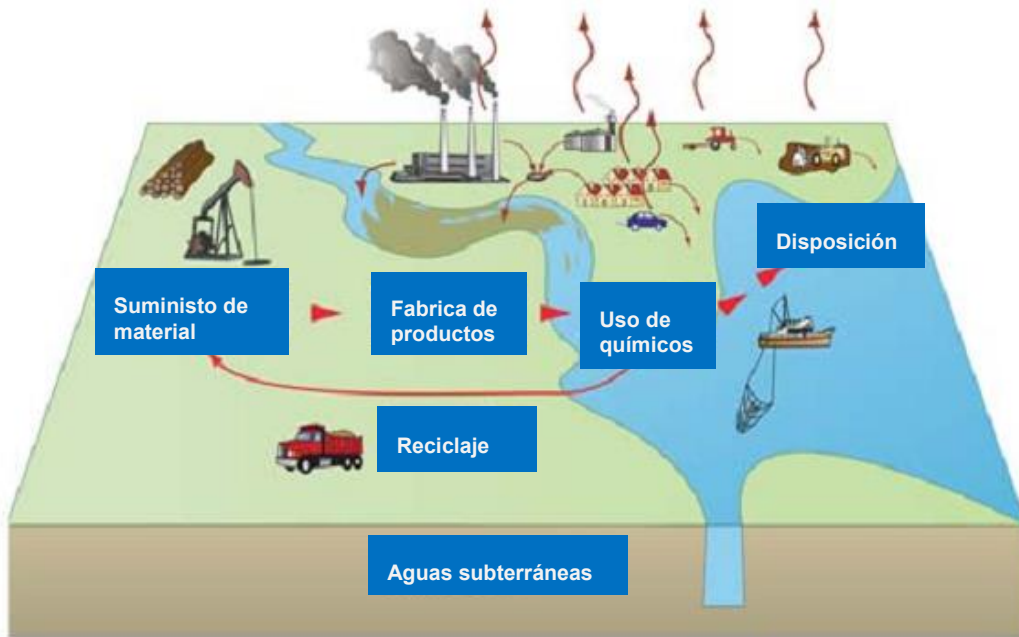


Figura 1.3. Diagrama de la transferencia de los PAH en el medio ambiente, www.sepa.org.uk.

Sin importar cuál es el origen de los PAH en el ambiente, los seres humanos y animales están siempre expuestos a estas mezclas de contaminantes. Los PAH pueden acumularse en la cadena trófica y presentan toxicidad por inhalación, contacto o ingestión (Eisler, 1987; Samburova y col., 2016). Como se mencionó anteriormente, su baja solubilidad en agua (**Tabla 1.1**) los convierte en altamente liposolubles, favoreciendo su absorción a través del tracto intestinal de los mamíferos y su rápida distribución en los tejidos, principalmente en el tejido adiposo (Twiss y col. 1999). Los PAH de alto peso molecular como benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e indeno(1,2,3-c,d)pireno presentan un alto potencial carcinogénico y mutagénico, debido a que forman aductos con el ADN luego de su activación biológica (Goldman y col. 2001). Los aductos de ADN son lesiones promutagénicas que pueden conducir a mutaciones en los oncogenes o genes supresores de tumores, si no son reparados o eliminados (Hollstein y col., 1991; Vineis y Husgafvel-Pursiainen, 2005). Dentro

de los 16 PAH prioritarios listados por la EPA, el benzo(a)pireno es el que presenta mayor factor carcinogénico (Juhász y Naidu 2000; Schneider y col. 2002; Luch y Baird 2010), ya que fue clasificado como Grupo 1 por la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer (IARC) (Staniszewska y col. 2013). Algunos de ellos pueden causar problemas respiratorios, alteración de la función pulmonar y causar bronquitis (Tsapakis y Stephanou, 2005). Por todas estas causas, el tratamiento y eliminación de estos contaminantes es considerado una prioridad.

Tabla 1.1. Características de los hidrocarburos policíclicos aromáticos estudiados en esta tesis.

| | Antraceno | Fenantreno | Pireno | Benzo(a)Pireno |
|-------------------------------------|-----------|------------|--------|----------------|
| Número de anillos | 3 | 3 | 4 | 5 |
| Peso Molecular (g/mol) | 178 | 178 | 202 | 250 |
| Solubilidad (mg/L) | 0,07 | 1,0 | 0,16 | 0,0038 |
| Log K _{ow} | 4,46 | 4,45 | 5,32 | 6,04 |
| Punto Ebullición (°C) | 340 | 332 | 393 | 496 |
| Punto Fusión (°C) | 216.2 | 101 | 156 | 178,1 |
| Densidad (g/cm ³) | 0,9800 | 1,283 | 1,271 | 1,4 |
| Factor carcinogénico ^(a) | 0,01 | 0,001 | 0,001 | 1 |

(a)(Nisbet y LaGoy, 1992)

En el año 1993 se promulgó la Ley Nacional 24.051 de Residuos Peligrosos, cuyo Decreto reglamentario (número 831/93) cita las concentraciones de distintos contaminantes permitidas en suelos con distintos usos: agrícola, residencial e industrial. En la **Tabla 1.2** se pueden observar los niveles guías de calidad de suelo para los PAH utilizados en esta tesis.

Tabla 1.2. Niveles guías de calidad de suelos para los PAH estudiados permitidos para los distintos usos (Ley 24.051 de residuos peligrosos, Decreto 831/93).

| Contaminante | CAS | Uso Agrícola | Uso Residencial | Uso Industrial |
|----------------|----------|--------------|-----------------|----------------|
| Antraceno | 120-12-7 | * | * | * |
| Fenantreno | 85-01-8 | 0,1 ppm | 5 ppm | 50 ppm |
| Pireno | 129-00-0 | 0,1 ppm | 10 ppm | 100 ppm |
| Benzo(a)pireno | 50-32-8 | 0,1 ppm | 1 ppm | 10 ppm |

* No figura en la lista de Residuos peligrosos de dicha Ley.

Como ya se mencionó, las SH pueden retener compuestos orgánicos no polares como los PAH debido a las interacciones hidrofóbicas-hidrofílicas. La adsorción de los PAH en las SH aumenta (y la biodisponibilidad disminuye) cuando la hidrofobicidad y el peso molecular aumentan (Wilcke, 2000). La adsorción inicial de los contaminantes, que es reversible, continúa con una difusión lenta a la matriz del suelo que da lugar a un proceso de envejecimiento y una posterior contaminación crónica (Abu y Smith 2006). Este proceso depende de varios factores: la composición y estructura del contaminante y la distribución en los poros. En algunos modelos recientes que se estudiaron las relaciones entre la adsorción de los contaminantes al suelo y el proceso de biodegradación, se propuso un mecanismo en dos etapas individuales: partición en, o sobre, los componentes húmicos y la difusión tridimensional a los microporos del suelo (Bogan y Trbovic 2003). Luo y colaboradores (Luo y col., 2012) propusieron que los PAH pueden ser adsorbidos inicialmente en la superficie externa del suelo mediante la unión con los ácidos húmicos, luego con el tiempo comenzarían a difundir entre los poros inaccesibles dentro de la matriz carbonosa del suelo. Los PAH que han estado muchos años en la matriz del suelo, se vuelven difícilmente extraíbles debido a la baja biodisponibilidad, limitando los procesos de biorremediación (Chung y Alexander, 1998; Hatzinger y Alexander, 1995; Luo y col., 2012).

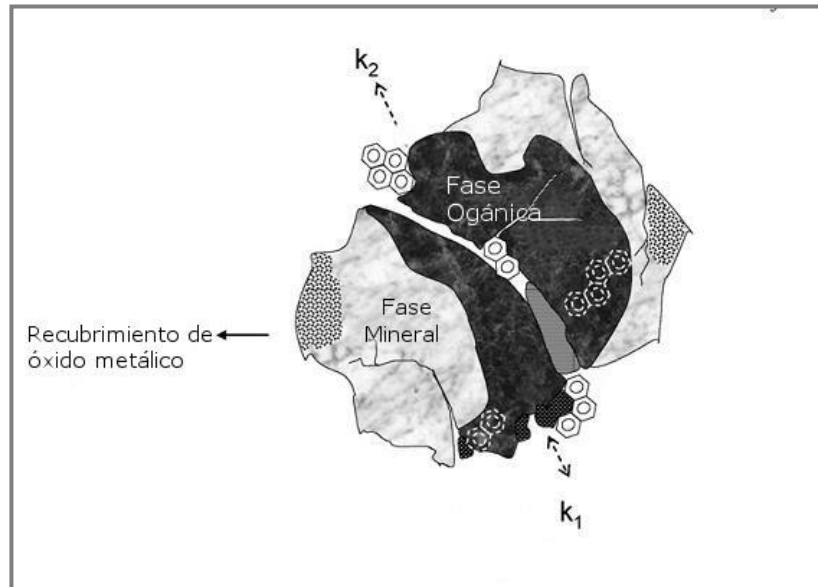


Figura 1.4. Modelo conceptual de una partícula de suelo contaminada con PAH (Jonsson y col. 2007).

En la **Figura 1.4** se muestra la distribución de los PAH de distinto peso molecular en una partícula de suelo. Los PAH se adsorben a la materia orgánica, comienzan a penetrar en las cavidades y difunden en las distintas fracciones del suelo. Debido a que las partículas del suelo no son homogéneas, hay diferentes afinidades por los contaminantes (Jonsson y col. 2007).

Las propiedades químicas y la persistencia en el medio ambiente de los PAH dependen en parte del tamaño que presentan, pero también de la manera en que sus anillos se unen entre sí (Kanaly y Harayama, 2000). Generalmente, cuando el peso molecular y la angularidad aumentan resulta en un incremento de la hidrofobicidad de la molécula y de su estabilidad química (Harvey, 1997; Leach, 1989). Estos dos factores contribuyen a la persistencia de los PAH en el ambiente, principalmente de los más pesados y con mayor número de anillos. Varios autores han demostrado la relación entre la persistencia en el ambiente y el mayor número de anillos bencénicos que constituyen a los PAH (Bossert y Bartha 1986; Heitkamp y Cerniglia 1987; Banerjee y col. 1995; Nam y col. 2001; Husain, 2008; Taylor y Jones, 2001). Por ejemplo, se demostró que la degradación de PAH de BPM (2-3 anillos aromáticos) es más fácil y rápida, con respecto a los PAH de APM (4-6 anillos aromáticos) (Taylor y Jones, 2001). En concordancia con lo anteriormente expuesto Husain, reportó que el tiempo de vida medio de los PAH BPM en el ambiente, variaba entre 16 y 126 días, mientras que para PAH de APM variaba entre 229 y 1400 días, teniendo en cuenta tanto procesos de biodegradación, como volatilización, foto-oxidación y oxidación química (Husain, 2008). Sin embargo, cuando no se aplica ningún tipo de tratamiento y solo la atenuación natural es responsable de la desaparición de los

contaminantes, la persistencia de los PAH en el suelo puede ser de 5 y 9 años, para los BPM y APM respectivamente (Yap y col. 2011).

Como consecuencia del incremento de la contaminación de aguas y suelos con hidrocarburos se han desarrollado una serie de estrategias con la necesidad de eliminar o reducir al mínimo estos contaminantes. No existe un único procedimiento a aplicar, y la elección de la estrategia a seguir depende del sistema afectado y las características físico y químicas de los contaminantes, como así también de su viabilidad económica y del tiempo estimado para su desarrollo (Reddy y Chinthamreddy, 1999).

Debido a la persistencia de los PAH resulta necesaria la aplicación de tratamientos de remediación para acelerar los procesos de descontaminación de suelos afectados.

1.2. Procesos de biorremediación

Los procesos de biorremediación en suelos contaminados involucran un grupo de técnicas que incluyen la atenuación natural (por los microorganismos endógenos), el bioaumento (por microorganismos exógenos) y la bioestimulación (por el agregado de sustancias exógenas como compost, urea, ácidos húmicos, surfactantes, entre otros) (Haritash y Kaushik 2009; Covino y col. 2010; Sayara y col. 2010). Estas técnicas que se utilizan ampliamente en el tratamiento de contaminantes orgánicos, incluido los PAH. Presentan la ventaja de ser económicas y ambientalmente amigables, debido a que no tienen un impacto negativo en la calidad suelo a remediar (Juhasz y col. 2000; Kanaly y Harayama 2000; Madueño y col. 2011).

1.2.1. Atenuación natural

La atenuación natural se define como la reducción de las concentraciones de los contaminantes sin la intervención del hombre. Sanchez y colaboradores (Sanchez y col. 2000), definieron a la atenuación natural como un conjunto de procesos biológicos, químicos y físicos que ocurren de manera natural y llevan a la contención, transformación o destrucción de compuestos químicos indeseables en el ambiente. En este conjunto de procesos se incluyen la combinación de sorción, volatilización, dilución y dispersión, además de la biodegradación por la biota autóctona del suelo.

La atenuación natural es la manera menos invasiva para el tratamiento del suelo contaminado (Hanser y col. 2014). Sin embargo, el tiempo necesario y las elevadas

concentraciones de los contaminantes pueden ser dos factores que afecten y limiten en gran medida este proceso. Según la USEPA (USEPA 1999) los principales procesos que ocurren durante la atenuación natural son: la biodegradación, la oxidación abiótica y la lixiviación del agua.

1.2.2. Bioaumentación

El bioaumentación se define como la inoculación de microorganismos (bacterias u hongos) o un grupo de microorganismos (consorcios) en un área contaminada. Muchas veces es la mejor opción en el tratamiento de suelos contaminados con PAH (Festa y col. 2013). Este proceso depende tanto de la estabilidad del anillo bencénico como de otros factores relacionados a la hidrofobicidad de la molécula que tiende a que estos compuestos queden adsorbidos en el suelo, como la materia orgánica (Niqui Arroyo y col. 2011). Las rutas de degradación involucran la formación de PAH oxigenados (oxi-PAH) (Biache y col. 2015, Moody y col. 2001). Por ejemplo Moody y colaboradores, estudiaron las rutas de degradación de FEN y ANT por *Mycobacterium sp*: cepa PYR-1 y demostraron que con ambos contaminantes se formaban productos como quinonas, alcoholes y ácidos (Moody y col. 2001). Algunos de los productos formados durante la degradación pueden ser tóxicos para algunos microorganismos inhibiendo la posterior eliminación de los contaminantes (Kazunga y col., 2001). Sin embargo, la presencia de un grupo de microorganismos genera numerosas interacciones permitiendo superar este inconveniente. En un consorcio microbiano hay interacciones sintróficas, donde las distintas cepas se relacionan para lograr la degradación del contaminante, a partir de rutas metabólicas que pueden o no compartir pasos hasta lograr la mineralización de los PAH a dióxido de carbono y agua.

El bioaumentación ofrece un tratamiento ambientalmente amigable y de bajo costo para los sitios contaminados, sin embargo suele necesitar más tiempo que otras tecnologías. Una desventaja es que en suelos con contaminación crónica la biorremediación puede estar fuertemente limitada por varios factores como la biodisponibilidad de los contaminantes y la competencia en la degradación con la biota endógena (Lladó y col. 2013).

1.2.3. Bioestimulación

El proceso de bioestimulación introduce nutrientes orgánicos o inorgánicos a sitios contaminados, los cuales favorecen el crecimiento de los microorganismos autóctonos

(Pankrantz, 2001). Si bien el agregado de nutrientes exógenos puede disminuir la biodegradación de los contaminantes debido a que los microorganismos consumen inicialmente estas sustancias bioestimuladoras, Sarkar y colaboradores han propuesto que el aumento de las poblaciones microbianas puede incrementar la degradación con respecto a la atenuación natural (Sarkar y col. 2005).

Varias fuentes de nutrientes como fertilizantes inorgánicos, urea, compost, aserrín, estiércol, entre otros, han sido reportados en bibliografía como bioestimulantes (Williams y col. 1999; Namkoong y col. 2002; Puglisi y col. 2007; Sayara y col. 2010).

La biodisponibilidad que presentan los contaminantes es un factor importante que puede afectar el porcentaje de degradación en suelos o sedimentos afectados, debido a que los microorganismos solo pueden atacar al contaminante cuando se encuentran disueltos. El uso de surfactantes ha sido estudiado por varios investigadores debido a su capacidad para aumentar la biodisponibilidad favoreciendo la degradación de los contaminantes.

Los surfactantes son agentes tensioactivos que reducen la tensión superficial de un líquido y disminuyen la tensión interfacial entre dos líquidos inmiscibles. Pueden encapsular los contaminantes de naturaleza orgánica a partir de la formación de micelas de tamaño micro y nanométrico, lo cual genera la dispersión a la fase acuosa. Esto último, es de particular importancia en los sistemas en los que se combinan surfactantes con oxidantes químicos (S-ISCO), debido a que los contaminantes se disolverán e ingresarán a la fase acuosa donde estarán más disponibles para la reacción con los radicales (Wang y col., 2013).

Los surfactantes pueden clasificarse en aniónicos como el dodecilsulfato sódico (Giannis y col. 2007; Mesbaiah y col. 2014), no aniónicos como tween-80 y/o triton X-100 (Peng y col. 2011; Shi y col. 2015) y catiónicos aunque no suelen utilizarse comúnmente (Yan y col., 2015). Además, algunas bacterias han sido reportadas como productoras de biosurfactantes (Christofi y Ivshina, 2002). La **Figura 1.5** muestra un sistema compuesto por un surfactante y un PAH en un sistema formado por agua y suelo. El surfactante puede encontrarse tanto en la fase acuosa (disuelto como monómeros o formando micelas) como adsorbido en el suelo. Debido a la baja solubilidad que presentan las moléculas de PAH, se encuentran preferentemente en el suelo, pero la presencia del surfactante permite que se solubilicen en la fase acuosa.

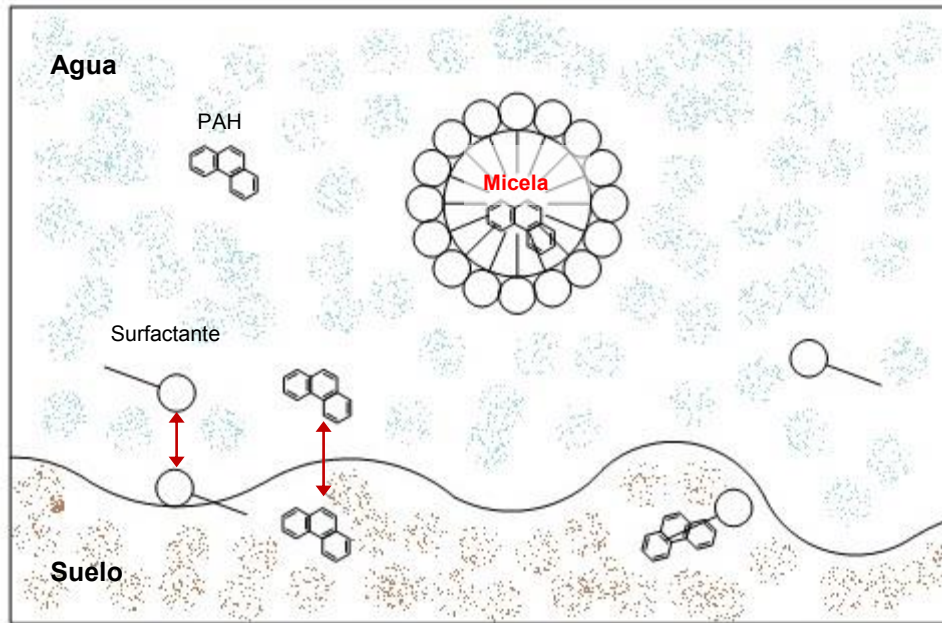


Figura 1.5. Diagrama de un sistema agua/suelo contaminado al cual se le agrega surfactante. PAH representa un hidrocarburo policíclico aromático.

Además del incremento en la solubilidad y biodisponibilidad de los hidrocarburos, los surfactantes presentan otras ventajas como: la fácil distribución, bajo costo y que pueden ser utilizados por los microorganismos como sustrato primarios (Robles-González y col. 2008).

Dentro de las limitaciones que presentan estos compuestos se puede mencionar, que la degradación preferencial del surfactante por microorganismos endógenos compite por la degradación del contaminante y por lo tanto, pierde la característica principal por el cual se los utiliza (aumentar la biodisponibilidad de los hidrocarburos). Algunos estudios, han sugerido la precipitación de los surfactantes aniónicos y la sorción de los no iónicos en el suelo puede ocurrir en sistemas compuestos por suelo y agua (tipo sistemas batch) (Edwards y col. 1994; Sun y col. 1995; Ko y col. 1998). La mayor dificultad se observó en los surfactantes no iónicos, que presentan una fuerte capacidad de retención de los PAH. Esto podría afectar en gran manera la remediación incrementando tanto el tiempo necesario para remediar como la eficiencia del proceso.

Por último, ciertos surfactantes pueden presentar toxicidad en los microorganismos autóctonos del suelo, lo cual reduce notablemente la biodegradación de los contaminantes (Sandbacka y col. 2000; Martiensen y Schirmer 2007).

El agregado de materia orgánica, como ácidos húmicos, ha sido considerado recientemente como una estrategia válida de bioestimulación (Plaza y col. 2009; Yang y col. 2011). La importancia de utilizar surfactantes naturales (ácidos húmicos) con respecto a los sintéticos, radica en la toxicidad que estos últimos presentan.

Los ácidos húmicos, al igual que los surfactantes, pueden favorecer la biodegradación de los PAH al incrementar la solubilidad y la transferencia de masa por difusión, promoviendo la disponibilidad de los contaminantes a los microorganismos. Varios autores han propuesto que los ácidos húmicos pueden formar micelas actuando como surfactantes, lo cual favorece la biodisponibilidad de los contaminantes (Fava y Piccolo 2002; Holman y col. 2002; Conte y col. 2005; Giannis y col. 2007). Conte y colaboradores (Conte y col. 2001), encontraron que los ácidos húmicos exógenos reducen notablemente la adsorción de los contaminantes orgánicos en los suelos contaminados y Chefetz y colaboradores (Chefetz y col. 2000), encontraron resultados similares al utilizar pireno como modelo de PAH .

1.2.4. Ventajas y limitaciones de las técnicas de biorremediación

Como se mencionó anteriormente una de las principales ventajas de utilizar técnicas de biorremediación es su bajo costo y que son ambientalmente amigables. Sin embargo, existen varias limitaciones al momento de elegir una estrategia para el saneamiento de suelos contaminados con PAH.

Los PAH de bajo peso molecular, son fácilmente degradados por microorganismos endógenos o exógenos. Sin embargo, los PAH de alto peso molecular, son altamente hidrofóbicos y resistentes a la degradación microbiológica (Juhász y Naidu, 2000; Yi y Crowley, 2007, Realp y col. 2008). Por ejemplo, Realp y colaboradores (Realp y col. 2008) utilizaron biopilas para la remediación de suelo contaminado con creosota. Los PAH de 2 y 3 anillos fueron completamente degradados (98%), los PAH de 4 anillos presentaron una importante degradación, mientras que los PAH de 5 anillos aromáticos presentaron una degradación leve debido a su baja y recalcitrante biodisponibilidad.

La alta concentración de PAH en suelos puede generar un proceso tóxico en la biomasa, disminuyendo o inhibiendo la degradación biológica (Biache y col. 2013; Manzetti 2013; Wang y col. 2014a). Además, en suelos donde la contaminación es crónica, los PAH tiene la tendencia a unirse a la materia orgánica del suelo e inhibir la disponibilidad y biodegradación (Kulik y col. 2006;).

Otra gran limitación de los procesos de biorremediación es que son procesos lentos que requieren demasiado tiempo (Coppotelli y col. 2008; de Souza e Silva y col. 2009; Singh y col. 2009).

1.3. Técnicas de oxidación química

Las técnicas de oxidación química se basan en la adición de oxidantes fuertes para producir la degradación de contaminantes recalcitrantes presentes en aguas o suelos en especies químicas menos dañinas o idealmente, en dióxido de carbono y agua.

En función del lugar donde se aplican, se pueden distinguir dos tipos de tecnologías: *in situ* o *ex situ* (Reddy y Chinthamreddy, 1999). Las primeras se realizan en la zona contaminada, requieren de un flujo de aire o agua a través del suelo para hacer llegar el agente descontaminante a la zona contaminada, por lo que son utilizados en suelos con buenas condiciones de permeabilidad. Permiten que se utilice el espacio durante la recuperación, pero son difíciles de llevar a la práctica por la dificultad que resulta de poner en contacto el agente oxidante con toda la masa de suelo contaminada.

Las tecnologías *ex situ* se realizan extrayendo el suelo del terreno para tratarlo. Pueden clasificarse en tecnologías: (i) *on site*, que tratan el suelo en la misma zona, o (ii) *off site*, que llevan el suelo extraído a una planta para su tratamiento. Tienen gran eficacia y rapidez, pero suelen ser más costosas.

Entre los oxidantes químicos más utilizados se encuentran el peróxido de hidrógeno (Gan y col. 2013; Pardo y col. 2014), el persulfato de sodio (Liao y col. 2014; Chen y col. 2015), el permanganato de potasio (de Souza e Silva y col. 2009) y el ozono (Rivas y col. 2009). En la **Tabla 1.3** pueden verse algunas características importantes de los oxidantes utilizados en la tesis. Además, la oxidación química puede ser combinada con procesos de biorremediación con el objetivo de mejorar los rendimientos en la degradación (Nam y col. 2001; Kulik y col. 2006; O'Mahony y col. 2006; Sutton y col. 2014).

A continuación se describen detalladamente los oxidantes estudiados.

Tabla 1.3. Características de los oxidantes químicos utilizados para el tratamiento de contaminantes orgánicos.

| Oxidante | Fórmula Química | Forma comercial | Persistencia estimada ^(a) | Activante agregado | Especies reactivas |
|------------------------------|---|-----------------|--------------------------------------|--|---|
| Permanganato de potasio (PM) | KMnO ₄ | Polvo | >3 meses | Ninguno | MnO ₄ ⁻ |
| Peróxido de hidrógeno (PH) | H ₂ O ₂ | Líquido | horas - días | Ninguno, Fe (II) Fe (III) Fe (nZVI) | HO [•] (O ₂ ^{•-} , HO ₂ [•]) |
| Persulfato de sodio (PS) | Na ₂ S ₂ O ₈ | Polvo | días- semanas | Ninguno Fe (II) Fe (III) Fe (nZVI) Calor luz UV H ₂ O ₂ OH ⁻ | SO ₄ ^{•-} (S ₂ O ₈ ²⁻ , HO [•]) |

(a)(Huling y Pivetz, 2006)

1.3.1. Reacción de Fenton y sus modificaciones

El reactivo de Fenton fue descubierto por Henry John Horstman Fenton. Se basa en la reacción de peróxido de hidrógeno (PH) y las sales de hierro (II). Barb y colaboradores (Barb y col. 1949; 1950; 1951) propusieron una serie de reacciones químicas que se conocen como el “mecanismo clásico de Fenton”, las cuales se presentan a continuación, donde k corresponde a la constante de velocidad a 25°C.



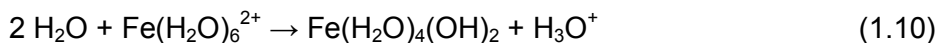
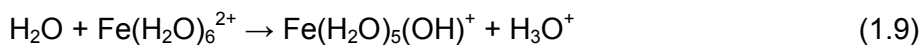


* Corresponde a la constante de acidez

En esta serie de reacciones (1.1 - 1.7) se pueden observar la formación de especies transientes que son fuertemente oxidantes. La más importante es el radical hidroxilo (HO^{\bullet}) que presenta un potencial de reducción de 2,8 V (Rivas 2006; Petri y col. 2011a). En esta secuencia, Fe (II) y Fe (III) representan todas las especies presentes en solución correspondientes a cada estado de oxidación.

El reactivo de Fenton ha sido utilizado como un agente oxidante de contaminantes orgánicos en residuos industriales desde 1960 (Bautista y col. 2008). Sin embargo, su interés para el tratamiento de suelos contaminados comenzó en 1990 (Watts y col. 1991; Ravikumar y Guroi 1994; Kakarla y Watts 1997). Marten y Frankenberg (Martens y Frankenger, Jr., 1995), fueron los primeros en utilizar el reactivo de Fenton en suelos contaminados con PAH.

La reacción de Fenton tiene una fuerte dependencia con el pH. La descomposición óptima del peróxido de hidrógeno ocurre a pH ácidos cercanos a 3 (Jung y col. 2009). La importancia de trabajar en condiciones ácidas es consecuencia de la especiación del hierro en solución acuosa (Pignatello y col. 2006). En medio ácido el Fe (II) se encuentra predominantemente formando el complejo hexacuoferoso ($\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$), que se hidroliza como se menciona a continuación:



Los ligandos acuosos $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$, $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})^+$ y $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2$, se abreviarán en adelante como Fe^{2+} , FeOH^+ y $\text{Fe}(\text{OH})_2$, respectivamente. En la **Figura 1.6** se puede ver que la mayoría del ion ferroso se encuentra en la forma de Fe^{2+} por debajo de pH 3.

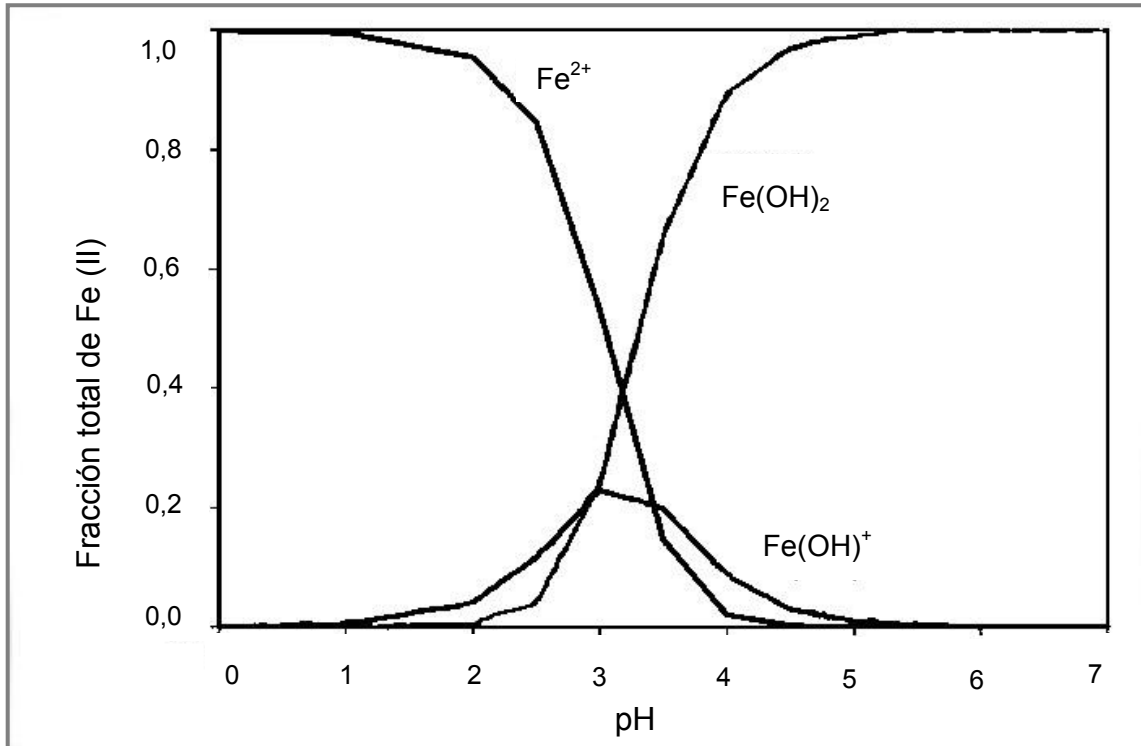


Figura 1.6. Especies en equilibrio de Fe (II) en agua, fuerza iónica 0,1 M NaClO₄, 25 °C (Pignatello y col., 2006).

Al igual que las soluciones de Fe (II), las soluciones de Fe (III) se encuentran formando complejos octaédricos con moléculas de agua y/o HO⁻ (por ejemplo Fe(H₂O)₆³⁺ y Fe(H₂O)₅(OH)²⁺). Los complejos acuosos Fe(H₂O)₆³⁺ y Fe(H₂O)₅(OH)²⁺ se abreviarán en adelante como Fe³⁺ y FeOH²⁺, respectivamente. En la **Figura 1.7** se muestran las distribuciones de las especies férricas. El ion férrico comienza a precipitar a partir de valores de pH mayores a 3 - 4., dependiendo de la concentración del Fe (III) y la temperatura.

A pH 3, se encuentra que la concentración de Fe²⁺ disponible en solución es máxima frente a la de los hidratos de Fe (III) de naturaleza coloidal (Pignatello y col. 2006): el Fe (III) descompone el peróxido de hidrógeno y se reduce a Fe (II) (reacción 1.2) y así continúa la formación de radicales hidroxilo (Osgerby, 2006).

La mezcla de soluciones formadas por Fe (II) y H₂O₂ se conoce normalmente como "Reactivo de Fenton". Sin embargo, cuando el Fe (II) se reemplaza por distintas formas o estados de especiación del hierro, o cuando se utilizan agentes complejantes, se denomina "Reactivo Tipo Fenton" (Lemaire y col. 2013).

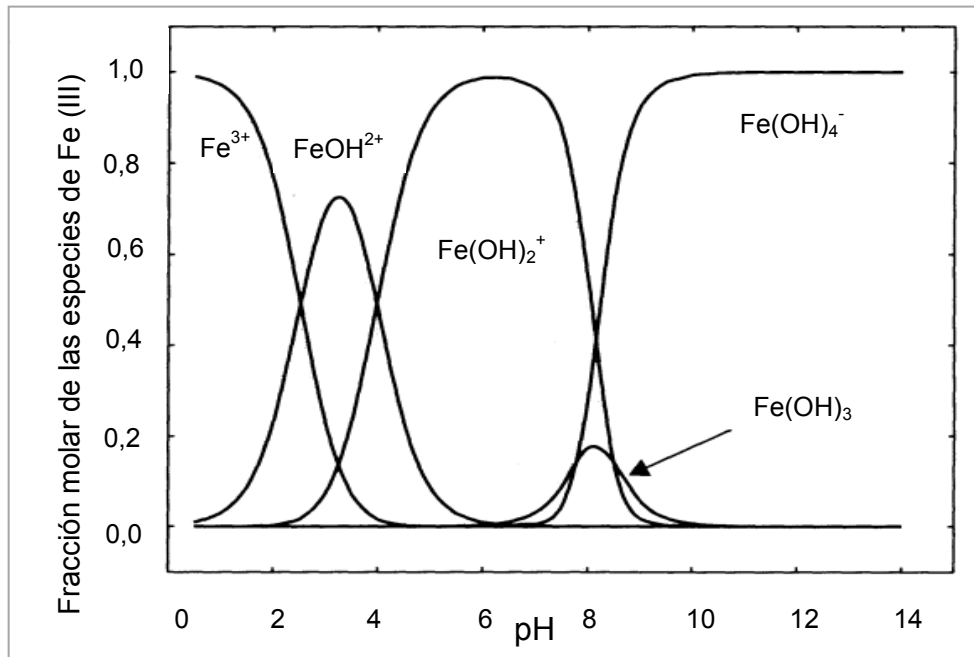


Figura 1.7 Efecto del pH en la especiación de Fe (III), fuerza iónica 0.7 mM NaCl (Millero y Pierrot, 2001).

Los agentes quelantes se caracterizan por ser multidentados y presentar una estructura cíclica a la que se unen iones metálicos para formar anillos heterocíclicos. La afinidad del quelante por el metal puede definirse por las constantes de formación del complejo (Venny y col. 2012). El uso de agentes complejantes se ha propuesto por varios autores para superar dos grandes limitaciones que presenta el reactivo de Fenton: el medio ácido en el que hay que trabajar y disminuir en lo posible la reacción del activante libre (Fe^{+2}) con los radicales hidroxilos (**reacción 1.3**) (Venny y col. 2012). Algunos de los ligandos más estudiados son: ácido cítrico, ácido oxálico, ácidos málico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Nam y col. 2001; Sillanpää y Pirkanniemi 2001; Ferrarese y col. 2008; Rastogi y col. 2009).

Dentro de las reacciones tipo Fenton, una de las más estudiadas ha sido la activación de peróxido de hidrógeno con Fe (III). Al igual que los complejantes, el agregado de Fe (III) en lugar de Fe (II) tiene como objetivo limitar la **reacción 1.3**. En este caso, la primera reacción que ocurre es la descrita por la **reacción 1.2** donde el Fe^{3+} reacciona con H_2O_2 para dar Fe^{2+} y radicales HO^{\bullet} . A continuación el Fe^{2+} generará HO^{\bullet} a partir de H_2O_2 (**reacción 1.1**) y luego las reacciones que ocurren son las mismas que las mencionadas para Fe (II).

Varios investigadores han propuesto el uso de nanopartículas de Fe cero valente (nZVI) como activador del peróxido de hidrógeno, debido a que no presentan toxicidad, son abundantes, fáciles de obtener y económicas (Oh y Shin 2013; Fu y col. 2014). Se ha demostrado su eficiencia en el tratamiento de sustancias tóxicas como insecticidas organofosforados, metil ter-butyl éter y diclorodifeniltricloroetano (Doong y Chang 1998; Bergendahl y Thies 2004; Bremner y col., 2006; Boussahel y col., 2007). El Fe (nZVI) puede

liberar Fe (II) en presencia de peróxido de hidrógeno el cual permitirá posteriormente la formación de los radicales hidroxilos (**reacción 1.11**).



Debido a que el hierro es un componente natural y uno de los elementos más abundantes en el suelo, se podría considerar que el agregado de Fe en tratamientos de suelos contaminados no sería necesario. Tyre y colaboradores (Tyre y col. 1991), demostraron que este oxidante se activa en presencia de algunos minerales como goetita ($\alpha\text{-FeOOH}$), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), magnetita (Fe_2O_3) y ferrihidrita ($\alpha\text{-Fe}_{10}\text{O}_{15}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$).

Se ha investigado, también, la activación del peróxido de hidrógeno mediante el empleo de otros metales de transición (diferentes del Fe) tales como Cu (II), Co (II), Mn (II), Ag (I) (Gabriel y col. 2004; Nichela y col. 2013). Sin embargo, debido a la potencial toxicidad que presentan algunos de estos metales se ha discontinuado su uso (B.G. Petri y col., 2011).

1.3.2. Anión persulfato

Uno de los oxidantes más estudiados en la remoción de contaminantes es el anión persulfato (Tsitonaki y col. 2010; Vicente y col. 2011; Rodriguez y col. 2014). El anión persulfato es un oxidante fuerte con un potencial de reducción (E^0) de +2,1 V (**reacción 1.12**). Las sales se encuentran combinadas con cationes como sodio, amonio y potasio, presentando solubilidades de 55,6 gr/100ml, 58,2 g/100ml y 5,29 g/100ml, respectivamente (todas a 20°C). Si bien el anión persulfato presenta un potencial de oxidación alto, la velocidad de reacción con contaminantes es lenta.



Sin embargo, una mayor activación de persulfato podría darse mediante el empleo de distintos agentes como calor (40 - 90 °C) (Mora y col., 2009), luz UV (Lin y Lee, 2015) y pH alcalino (Furman y col., 2011) (**Figura 1.8**) para producir el radical sulfato ($\text{SO}_4^{\cdot-}$) y otros intermediarios reactivos.

El radical sulfato presenta un elevado potencial de reducción ($E^0 = 2,6 \text{ V}$), y reacciona rápidamente con compuestos orgánicos e inorgánicos (Tsitonaki y col. 2008; Usman y col. 2012)

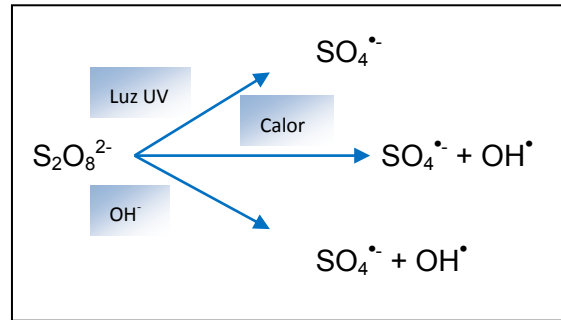


Figura 1.8. Principales especies reactivas que se forman luego de activar el anión persulfato mediante luz, calor y medio alcalino.

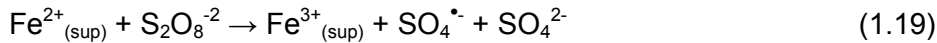
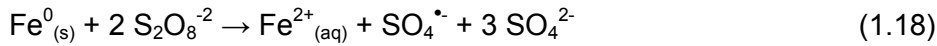
Otro de los mecanismos estudiados para la activación del anión persulfato es la incorporación de metales de transición. El más utilizado ha sido el hierro (II) (**reacción 1.13**) (Kolthoff y Miller, 1951), aunque al igual que con el PH, otros metales como plata, cobre, manganeso, níquel, rutenio, vanadio, cobalto, cerio han sido estudiados como activadores (Anipsitakis y Dionysiou 2004; Liang y col. 2004; Nfodzo y Choi 2011). Sin embargo, los efectos nocivos que presentan el cobalto, plata, cobre, entre otros en la salud limitan su aplicación para el tratamiento de aguas o suelo contaminados (Deng y col. 2014).



El exceso de Fe (II) en el medio puede reaccionar con el radical sulfato (Liang y col. 2004), al igual que ocurre con el radical hidroxilo formado por la oxidación de peróxido de hidrógeno, como puede verse en la **reacción 1.14** (Neta y col., 1988). Otras formas, de terminación de la reacción radicalaria pueden verse en las **reacciones 1.15** y **1.16** (Herrmann y col., 1995). El pH del medio de la reacción es importante en la disponibilidad tanto el Fe (II) como Fe (III), las cuales necesita condiciones ácidas para estar disponible como activante y no precipitar (**Figura 1.3** y **1.4**).

En comparación con lo explicado anteriormente para el caso de PH, cuando se utiliza persulfato de sodio podemos superar dos de las limitaciones más importantes (el exceso de Fe (II) y el pH ácido del medio) mediante la incorporación de complejantes al medio de reacción (Liang y col. 2009). Algunos de los más estudiados son: ácido cítrico, ácido oxálico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o ácido etilendiamindisuccinico (EDDS) (Ji y col. 2014; Zhang y col. 2014).

Así mismo, se ha estudiado la activación del anión persulfato con Fe (nZVI). Oh y colaboradores (Oh y col. 2009) han propuesto que otra manera de liberar lentamente Fe (II) en el medio, es a partir del agregado de Fe (nZVI), **reacción 1.17**.



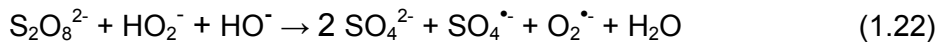
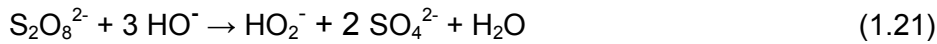
A partir de la formación de Fe (II) (**reacción 1.17**), se produce la activación del anión persulfato (**reacción 1.13**). Este mecanismo requiere de un agregado adicional de persulfato para que oxide al Fe (nZVI) y luego se genere el radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$, como presenta en la **reacción 1.18**.

Posteriormente, Oh y colaboradores (Oh y col. 2010), encontraron que la degradación de alcohol de polivinilo fue óptima cuando se utilizó una relación 1:1 de Fe (nZVI):PS. Esto sugiere que el Fe (nZVI) fue capaz de activar el persulfato independientemente del Fe (II) acuoso, como se plantea en la **reacción 1.19**. Un mecanismo posible podría ser la activación heterogénea del persulfato, que incluye transferencia directa de electrones del Fe (nZVI) o Fe (II) adsorbido en la superficie del hierro particulado o en los minerales del suelo ($\text{Fe}_{(sup)}^{2+}$) al persulfato, generando radicales $\text{SO}_4^{\bullet-}$. En cualquiera de los dos mecanismos planteados, la naturaleza heterogénea de la activación domina la eficiencia del proceso.

La formación de radicales $\text{SO}_4^{\bullet-}$ mediante activación térmica (**reacción 1.20**) tiene una energía de activación de 96 kJ/mol (Mora y col., 2009). Ha sido demostrada experimentalmente en un amplio rango de temperatura: 35 - 130 °C (House 1962; Huang y col. 2002; Cho y col. 2002; Tsitonaki y col. 2008) y se ha empleado para el tratamiento de varios contaminantes, por ejemplo: tricloroetileno y tricloroetano (40 - 60°C) (Liang y col., 2003), metiltert-butileter (40°C) (Huang y col., 2002), alcohol de polivinilo (60°C - 80°C) (Oh y col., 2009) y fenol (70°C) (Mora y col., 2011). La elección de la temperatura es un punto a tener en cuenta, debido a que mejora el incremento en la degradación al solubilizar los contaminantes en fase acuosa (Costanza y col. 2010; Wang y col. 2014b; Qi y col. 2015; Tan y col. 2015). Sin embargo, el aumento de temperatura debe ser moderado de manera de que las características físicas, químicas y biológicas del suelo no se vean alteradas de gran manera.



Otra manera de activar al anión persulfato es a partir del agregado de hidróxido de sodio o potasio con el objetivo de incrementar el valor de pH entre 10 - 12 (Furman y col., 2010; B.G. Petri y col., 2011; Sra y col., 2014). A pH alcalino, el exceso de oxhidrilos reacciona con el anión persulfato para promover la formación de HO_2^- el cual se combina con persulfato para dar el radical sulfato y el radical superóxido. Además, una vez que se forma el radical sulfato puede interaccionar con los oxhidrilos del medio dando lugar a la formación de radical hidroxilo, como se muestra en las **reacciones 1.21 - 1.23**, detalladas a continuación:



Furman y colaboradores (Furman y col., 2010), demostraron que el grado de activación del PS es función de la alcalinidad del medio, ya que la descomposición del anión persulfato aumentó con las concentración de NaOH utilizada. Sin embargo, en condiciones alcalinas la descomposición de PS puede ser tan rápida que podría resultar poco efectiva (Crimi y Taylor, 2007). Otro punto a tener en cuenta en este tipo de activación, es que para obtener condiciones alcalinas en el suelo, se puede involucrar una gran cantidad de base, debido a la capacidad reguladora que presenta el suelo, pero además, por la disminución del pH que se produce como consecuencia del agregado del persulfato.

Por último, la luz ultravioleta (UV) puede proporcionar suficiente energía para producir el clivaje de la unión “peroxo” y dar lugar a la formación de dos radicales sulfato, como se muestra en la **reacción 1.24** (Kolthoff y Miller, 1951; Lin y Lee, 2015).



A partir de lo descrito anteriormente, puede observarse que un punto a tener en cuenta cuando se aplican tratamientos de oxidación química para la remediación de suelos contaminados, es conocer cómo influirá la manera de activar los oxidantes. Por ejemplo, cuando se aplica temperatura para activar el anión persulfato un inconveniente que podría surgir es que los contaminantes podrían volatilizarse o que se podría alterar la biota propia del suelo. Por otro lado, la activación mediante metales parece ser prometedora debido a la presencia de los minerales que contienen hierro en el suelo y que podrían activar de manera efectiva tanto al persulfato como al peróxido de hidrógeno (Do y col. 2010).

1.3.3. Permanganato de potasio

El permanganato de potasio (PM) ha sido empleado para el tratamiento de suelos y aguas contaminadas con compuestos inorgánicos y orgánicos, como alcanos, fenoles, pesticidas, PAH (Vella y col. 1990; Brown y col. 2003; Kao y col. 2008).

La estequiometría y la cinética de la oxidación del permanganato a los sitios contaminados pueden ser complicadas debido a que el manganeso puede participar con varios estados de oxidación y formas minerales. En las **reacciones 1.25 - 1.27** pueden verse las principales reacciones redox del permanganato, con los correspondientes valores de potencial de reducción.



Conocer estas hemi-reacciones es importante principalmente para evaluar la dosis necesaria de oxidante para obtener la mineralización completa del contaminante y para determinar los posibles productos de reacción según las condiciones del medio (Osgerby, 2006).

Se han publicado varios trabajos donde se ha utilizado este oxidante de manera efectiva para remediar suelos contaminados con hidrocarburos (Brown y col., 2003; de Souza e Silva y col., 2009b; Forsey y col., 2010; Lemaire y col., 2013b). Por ejemplo Lemaire y colaboradores (Lemaire y col. 2013b), obtuvieron altos porcentajes de remoción de PAH con PM (75%), al igual que De Souza e Silva (Silva y col., 2009a) donde los porcentajes de eliminación obtenidos fueron de 80-90% para FEN y 50-70% para PIR, utilizando PM. Sin embargo, es importante conocer algunas de las limitaciones que presenta el uso de este oxidante. Dentro de los efectos negativos por el uso de PM en suelo se puede mencionar: (i) la degradación de la materia orgánica (Sirguy y col. 2008), y (ii) un incremento del precipitado de MnO_2 (Siegrist y col. 2002). Esta última observación representa una complicación debido a que el MnO_2 genera obstrucción en el suelo, modificando la permeabilidad y generando condiciones anaeróbicas (Sirguy y col. 2008). Por lo tanto, la concentración final de PM en el suelo debe ser lo menor posible, debido al incremento del consumo de carbono y las alteraciones en la permeabilidad que se produce como consecuencia de las altas concentraciones del oxidante empleadas. Otra desventaja del uso de PM es que es muy persistente en suelo (Huling y Pivetz, 2006), lo cual puede afectar su calidad.

1.3.4. Ventajas y limitaciones de las técnicas de oxidación química

Muchos autores reportaron que la oxidación química podría mejorar la biodegradación de los PAH. Debido a que los estos contaminantes son muy recalcitrantes, aplicar un pretratamiento con oxidantes ha permitido superar esta limitación favoreciendo la biodegradación (Kulik y col. 2006; Rivas 2006) y un tratamiento más completo del suelo (Nam y col. 2001; Kulik y col. 2006; Sirguy y col. 2008). Esto se discutirá en el siguiente inciso (**1.4**).

Las técnicas de oxidación química son prometedoras debido a la alta eficiencia que presentan en períodos cortos de tiempo (Silva y col. 2009). Una de las mayores ventajas es que los oxidantes químicos superan la limitación de la baja solubilidad que presentan los PAH, debido a que los intermediarios oxidados son más polares que los PAH de los que provienen (Sirguy y col. 2008).

Con respecto a la elección del oxidante a utilizar, Yen y colaboradores (Yen y col. 2011), propusieron varias razones por las cuales el uso de persulfato con respecto a PH o PM, sería favorable: (i) el anion persulfato presenta una mayor persistencia en el medio de reacción con respecto al PH, (ii) el uso de persulfato no produce precipitados (como el MnO_2 producido por el agregado de PM), (iii) es incoloro, (iv) la alta solubilidad que presenta permite un amplio rango de acción.

Si bien el uso de agentes quelantes favorece la disponibilidad del hierro para actuar como activante para el PH y persulfato, se pueden mencionar limitaciones importantes que alguno de estos presentan: toxicidad y aumento del consumo de oxidante, el cual está puede estar implicado en la oxidación del quelante, perdiendo su principal función (Georgi y col., 2007; Pardo y col., 2014b).

Además, una problemática que merece ser estudiada en detalle son las alteraciones importantes que ocurren como consecuencia del agregado de oxidantes químicos y que afectan a la calidad del suelo (cambios en el pH y potencial de oxidación), lo cual puede inhibir el crecimiento y desarrollo microbiano (Sutton y col., 2011).

1.4. Combinación de procesos de biorremediación y técnicas de oxidación química

En los **incisos 1.2** y **1.3** se discutieron los procesos de biorremediación y las técnicas de oxidación química, respectivamente. Investigaciones recientes han demostrado que la

combinación de estos dos procedimientos, no solamente es factible sino que provee una mayor eficiencia y eliminación de los contaminantes (Martínez-Pascual y col., 2015).

La aplicación de un pre-tratamiento con oxidantes químicos podría mejorar la eficiencia de la degradación a partir de: (i) disminuir la concentración de los contaminantes a niveles que no sean tóxicos para los microorganismos (Chapelle y col. 2005), (ii) mejorar la biodisponibilidad de los contaminantes (Kulik y col. 2006), (iii) producir intermediarios de reacción más disponibles y biodegradables (Nam y col. 2001), (iv) proporcionar oxígeno para la degradación biológica de los contaminantes (Kulik y col. 2006), o (v) degradar PAH de alto peso molecular, los cuales son difícilmente removidos en los procedimientos de biorremediación (Qiao y col., 2016).

En los tratamientos con oxidantes químicos se utilizan muchas veces grandes cantidades de oxidantes para lograr mineralizar los contaminantes. La presencia de oxidantes afecta las características físicas, químicas y biológicas del suelo: incrementa o disminuye el pH, aumenta la conductividad eléctrica y modifica las condiciones redox, generando un ambiente tóxico para los microorganismos autóctonos del suelo (Sutton y col. 2011). Sin embargo, trabajos recientes indican que si se controlan el tipo y la concentración de los oxidantes, se puede influir en la recuperación del suelo y la resiliencia por parte de los microorganismos endógenos para poder continuar con éxito la biorremediación (Aunola y col., 2006; Sirguy y col., 2008).

Luego del pre-tratamiento químico, la biorremediación puede darse a partir de procedimientos como la bioestimulación o bioaumentación. Con respecto a la bioestimulación, se ha estudiado la incorporación de buffer fosfato (el cual además de controlar los valores del pH aporta fósforo a la biota) posteriormente a la aplicación del tratamiento Fenton (Valderrama y col., 2009). Otros investigadores, demostraron una mayor eficiencia en tratamientos bioestimulados con sales de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) y con sales de fosfato (KH_2PO_4) con respecto a la atenuación natural, que fueron aplicados luego de un tratamiento de Fenton Modificado (PH + Fe(III) + Pirofosfato de sodio como agente quelante) (Venny y col., 2012b). Sin embargo, se ha propuesto que no siempre es necesario la incorporación de sustancias bioestimulantes debido a que los oxidantes químicos atacan la materia orgánica del suelo liberando nutrientes que pueden ser utilizados como fuente de carbono y nitrógeno por la comunidad microbiana (Sirguy y col., 2008; Westersund y col. 2006).

Con respecto al bioaumentación, se han utilizado desde la incorporación de microorganismos con capacidad de degradar el contaminante target (Sahl y col. 2007), hasta la inoculación con la biota endógena (Xie y Barcelona, 2003), luego de aplicar tratamientos con oxidantes como KMnO_4 , PH y MgO_2 .

La combinación de la *delicada* biorremediación con la *agresiva* oxidación química, no solamente es posible sino que puede presentar ventajas con respecto a la aplicación de los tratamientos por separado, como el tiempo necesario para descontaminar el suelo, los costos y la eficiencia. Además, aplicar un proceso de biorremediación posterior a la oxidación química, puede ser favorable no solamente porque mejora la degradación de los PAH sino también porque disminuye la toxicidad del suelo generada por la aplicación oxidantes, para poder alcanzar la posterior revegetación de los suelos (Palmroth y col., 2006; Sirguy y col., 2008).

El balance y la optimización de los procesos requiere un gran estudio para evaluar el impacto de cada procedimiento en las propiedades del suelo, la biota y la dinámica con el contaminante (Sutton y col., 2011).

1.5. Referencias

- Abu, A., Smith, S., 2006. Mechanistic characterization of adsorption and slow desorption of phenanthrene aged in soils. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5409–5414. doi:10.1021/es060489h
- Anipsitakis, G.P., Dionysiou, D.D., 2004. Radical Generation by the Interaction of Transition Metals with Common Oxidants. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3705–3712. doi:10.1021/es035121o
- Aunola, T.A., Goi, A., Palmroth, M.R.T., Langwaldt, J.H., Tuhkanen, T.A., 2006. Removal of PAHs from Creosote Oil Contaminated Soil by Addition of Concentrated H₂O₂ and Biodegradation. *J Adv Oxid Technol* 9, 11–19.
- Atlas, R., Bartha, R., 1998. *Microbial Ecology, Fundamentals and Applications*, Cuarta ed. ed.
- Baek, S.O., Field, R.A., Goldstone, M.E., Kirk, P.W., Lester, J.N., Perry, R., 1990. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. *Water Air Soil Pollut* 60, 279–300.
- Banerjee, D.K., Fedorak, P.M., Hashimoto, a., Masliyah, J.H., Pickard, M. a., Gray, M.R., 1995. Monitoring the biological treatment of anthracene-contaminated soil in a rotating-drum bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43, 521–528. doi:10.1007/BF00218460
- Barb, R., Baxendale, J.H., George, P., Hargrave, K.R., 1951. Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part II.-The ferric ion reaction. *Trans. Faraday Soc.* 47, 591–616. doi:10.1039/tf9555100935
- Barb, W.G., Baxendale, J.H., George, P., Hargrave, K.R., 1950. Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part I.- The ferrous ion reaction. *Trans. Faraday Soc.* 47, 462–500.
- Barb, W.G., Baxendale, J.H., George, P., Hargrave, K.R., 1949. Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. *Nature* 163, 692–694.
- Bautista, P., Mohedano, J.A., Zazo, J.A., Rodriguez, J., 2008. An overview of the application of Fenton Oxidation to industrial wastewater treatment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 83, 1323–1338. doi:10.1002/jctb
- Bergendahl J. A. and Thies, T. P. 2004. Fenton's oxidation of MTBE with zero-valent iron. *Water Res.* 38, 327–334
- Biache, C., Faure, P., Mansuy-Huault, L., Cébron, A., Beguiristain, T., Leyval, C., 2013. Biodegradation of the organic matter in a coking plant soil and its main constituents. *Org. Geochem.* 56, 10–18. doi:10.1016/j.orggeochem.2012.12.002
- Biache, C., Lorgeoux, C., Andriatsihoarana, S., 2015. Effect of pre-heating on the chemical oxidation efficiency: Implications for the PAH availability measurement in contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 286, 55–63. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.12.041

- Bogan, B.W., Trbovic, V., 2003. Effect of sequestration on PAH degradability with Fenton's reagent: Roles of total organic carbon, humin, and soil porosity. *J. Hazard. Mater.* 100, 285–300. doi:10.1016/S0304-3894(03)00134-1
- Bossert, I.D., Bartha, R., 1986. Structure-Biodegradability Relationships of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil 490–495.
- Boussahel, R., Harik, D., Mammari, M., and Lamara-Mohamed, S. 2007. Degradation of obsolete DDT by Fenton oxidation with zero-valent iron. *Desalination* 206, 369–372..
- Brock D. y Madigan M. 2000. *Microbiología* (8va. edición). Prentice Hall Hispanoamericana. S.A. Mexico.
- Brock 1979. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, Englewoods Cliffs, NJ.
- Bremner, D. H., Burgess, A. E., Houlemare, D., and Namkung, K. C. 2006. Phenol degradation using hydroxyl radicals generated from zero-valent iron and hydrogen peroxide. *Appl. Catal. B :Environ.* 63, 1–19.
- Brown, G.S., Barton, L.L., Thomson, B.M., 2003. Permanganate oxidation of sorbed polycyclic aromatic hydrocarbons. *Waste Manag.* 23, 737–740. doi:10.1016/S0956-053X(02)00119-8
- Chapelle, F.H., Bradley, P.M., Casey, C.C., 2005. Behavior of a chlorinated ethene plume following source-area treatment with Fenton's reagent. *Gr. Water Monit. Remediat.* 25, 131–141. doi:10.1111/j.1745-6592.2005.0020.x
- Chefetz, B., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Guthrie, E. a., 2000. Pyrene sorption by natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34, 2925–2930. doi:10.1021/es9912877
- Chen, C.-F., Binh, N.T., Chen, C.-W., Dong, C.-D., 2015. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediments using sodium persulfate activated by temperature and nanoscale zero-valent iron. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 65, 375–383. doi:10.1080/10962247.2014.996266
- Cho, H.J., Jr, R.J.F., Brown, R.A., Skladany, G., 2002. Evaluation of technologies for in situ remediation of 1,1,1-trichloroethane. *Proc. Third Int. Conf. Remediat. Chlorinated Recalcitrant Compd. Monterey* 1249–1256.
- Christofi, N., Ivshina, I.B., 2002. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. *J. Appl. Microbiol.* 93, 915–929. doi:10.1046/j.1365-2672.2002.01774.x
- Chung, N., Alexander, M., 1998. Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils. *Environ. Sci. Technol.* 32, 855–860. doi:10.1021/es970740g
- Conte, P., Agretto, A., Spaccini, R., Piccolo, A., 2005. Soil remediation: Humic acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils. *Environ. Pollut.* 135, 515–522. doi:10.1016/j.envpol.2004.10.006
- Conte, P., Zena, a., Pilidis, G., Piccolo, a., 2001. Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances. *Environ. Pollut.* 112, 27–31. doi:10.1016/S0269-7491(00)00101-9

- Coppotelli, B.M., Ibarrolaza, a., Del Panno, M.T., Morelli, I.S., 2008. Effects of the inoculant strain *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA on soil bacterial community and biodegradation in phenanthrene-contaminated soil. *Microb. Ecol.* 55, 173–183. doi:10.1007/s00248-007-9265-7
- Costanza, J., Otaño, G., Callaghan, J., Pennell, K.D., 2010. PCE oxidation by sodium persulfate in the presence of solids. *Environ. Sci. Technol.* 44, 9445–9450. doi:10.1021/es100997a
- Covino, S., Svobodová, K., Cvanarová, M., D'Annibale, A., Petruccioli, M., Federici, F., Kresinová, Z., Galli, E., Cajthaml, T., 2010. Inoculum carrier and contaminant bioavailability affect fungal degradation performances of PAH-contaminated solid matrices from a wood preservation plant. *Chemosphere* 79, 855–864. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.02.038
- Crimi, M.L., Taylor, J., 2007. Experimental Evaluation of Catalyzed Hydrogen Peroxide and Sodium Persulfate for Destruction of BTEX Contaminants. *Soil Sediment Contam.* 16, 29–45.
- Da Silva, D.A.M., Bicego, M.C., 2010. Polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum biomarkers in São Sebastião Channel, Brazil: assessment of petroleum contamination. *Mar. Environ. Res.* 69, 277–86. doi:10.1016/j.marenvres.2009.11.007
- De Souza e Silva, P.T., da Silva, V.L., Neto, B.D.B., Simonnot, M.O., 2009a. Potassium permanganate oxidation of phenanthrene and pyrene in contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 168, 1269–1273. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.03.007
- De Souza e Silva, P.T., da Silva, V.L., Neto, B.D.B., Simonnot, M.-O., 2009b. Potassium permanganate oxidation of phenanthrene and pyrene in contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 168, 1269–1273. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.03.007
- Deng, J., Shao, Y., Gao, N., Deng, Y., Tan, C., Zhou, S., 2014. Zero-valent iron/persulfate(Fe⁰/PS) oxidation acetaminophen in water. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 11, 881–890. doi:10.1007/s13762-013-0284-2
- Dhote, M., Juwarkar, A., Kumar, A., Kanade, G.S., Chakrabarti, T., 2010. Biodegradation of chrysene by the bacterial strains isolated from oily sludge. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 329–335. doi:10.1007/s11274-009-0180-6
- Do, S.H., Kwon, Y.J., Kong, S.H., 2010. Effect of metal oxides on the reactivity of persulfate/Fe(II) in the remediation of diesel-contaminated soil and sand. *J. Hazard. Mater.* 182, 933–936. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.06.068
- Doong, R. A. and Chang, W. H. 1998. Photoassisted iron compound catalytic degradation of organophosphorous pesticides with hydrogen peroxide. *Chemosphere* 37, 2563–2572.
- Edwards, D. a., Adeel, Z., Luthy, R.G., 1994. Distribution of Nonionic Surfactant and Phenanthrene in a Sediment/Aqueous System. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1550–1560. doi:10.1021/es00057a027
- Eisler, R., 1987. Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.* 85, 1–55.

- Fava, F., Piccolo, A., 2002. Effects of humic substances on the bioavailability and aerobic biodegradation of polychlorinated biphenyls in a model soil. *Biotechnol. Bioeng.* 77, 204–211. doi:10.1002/bit.10140
- Fenton, H.J.H., 1893. The oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J. Chem. Soc. Proc.* 9, 113.
- Fenton, H.J.H., 1894a. The oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J. Chem. Soc. Proc.* 10, 157–158.
- Fenton, H.J.H., 1894b. Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J. Chem. Soc. Trans.* 65, 899–910.
- Ferrarese, E., Andreottola, G., Oprea, I.A., 2008. Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *J. Hazard. Mater.* 152, 128–139. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.06.080
- Festa, S., Coppotelli, B.M., Morelli, I.S., 2013. Bacterial diversity and functional interactions between bacterial strains from a phenanthrene-degrading consortium obtained from a chronically contaminated-soil. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 85, 42–51. doi:10.1016/j.ibiod.2013.06.006
- Forsey, S.P., Thomson, N.R., Barker, J.F., 2010. Oxidation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons by permanganate. *Chemosphere* 79, 628–636. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.02.027
- Fu, F., Dionysiou, D.D., Liu, H., 2014. The use of zero-valent iron for groundwater remediation and wastewater treatment: A review. *J. Hazard. Mater.* 267, 194–205. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.12.062
- Furman, O.S., Teel, A.L., Ahmad, M., Merker, M.C., Watts, R.J., 2011. Effect of Basicity on Persulfate Reactivity. *J. Environ. Eng.* 137, 241–247. doi:10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000323
- Furman, O.S., Teel, A.L., Watts, R.J., 2010. Mechanism of base activation of persulfate. *Environ. Sci. Technol.* 44, 6423–6428. doi:10.1021/es1013714
- Gabriel, J., Baldrian, P., Verma, P., Cajthaml, T., Merhautová, V., Eichlerová, I., Stoytchev, I., Trnka, T., Stopka, P., Nerud, F., 2004. Degradation of BTEX and PAHs by Co(II) and Cu(II)-based radical-generating systems. *Appl. Catal. B Environ.* 51, 159–164. doi:10.1016/j.apcatb.2004.02.011
- Gan, S., Yap, C.L., Ng, H.K., Venny, 2013. Investigation of the impacts of ethyl lactate based Fenton treatment on soil quality for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 262, 691–700. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.09.023
- Georgi, a., Schierz, a., Trommler, U., Horwitz, C.P., Collins, T.J., Kopinke, F.D., 2007. Humic acid modified Fenton reagent for enhancement of the working pH range. *Appl. Catal. B Environ.* 72, 26–36. doi:10.1016/j.apcatb.2006.10.009
- Giannis, A., Gidaracos, E., Skouta, A., 2007. Application of sodium dodecyl sulfate and humic acid as surfactants on electrokinetic remediation of cadmium-contaminated soil. *Desalination* 211, 249–260. doi:10.1016/j.desal.2006.02.097

- Goldman, R., Enewold, L., Pellizzari, E., Tissue, L., Beach, J.B., Bowman, E.D., Krishnan, S.S., Shields, P.G., 2001. Smoking Increases Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Human Lung Tissue Advances in Brief Smoking Increases Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Human 6367–6371.
- Hanser, O., Biache, C., Boulangè, M., Parant, S., Lorgeoux, C., Billet, D., Michels, R., Faure, P., 2014. Evolution of dissolved organic matter during abiotic oxidation of coal tar-comparison with contaminated soils under natural attenuation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 1431–1443. doi:10.1007/s11356-014-3465-8
- Haritash, a. K., Kaushik, C.P., 2009. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *J. Hazard. Mater.* 169, 1–15. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.03.137
- Harvey, R.G., 1997. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons [WWW Document]. Wiley-VCH, New York, N.Y. URL <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0471186082.html> (accessed 5.23.16).
- Hatzinger, P.B., Alexander, M., 1995. Effect of Aging of Chemicals in Soil on Their Biodegradability and Extractability. *Environ. Sci. Technol.* 29, 537–545. doi:10.1021/es00002a033
- Heitkamp, M. a, Cerniglia, C.E., 1987. Effects of chemical structure and exposure on the microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater and estuarine ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 6, 535–546. doi:10.1002/etc.5620060706
- Herrmann, H., Reese, A., Zelner, R., 1995. Time-resolved UV/VIS Diode Array Absorption Spectroscopy of SO_x- (x=3,4,5) Radical Anions in Aqueous Solution. *J. Mol. Struct.* 348, 183–186.
- Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., Harris, C., 1991. p53 mutations in human cancers. *Science (80-)*. 253, 49–53. doi:10.1126/science.1905840
- Holman, H.Y.N., Nieman, K., Sorensen, D.L., Miller, C.D., Martin, M.C., Borch, T., McKinney, W.R., Sims, R.C., 2002. Catalysis of PAH biodegradation by humic acid shown in synchrotron infrared studies. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1276–1280. doi:10.1021/es0157200
- House, D. a., 1962. Kinetics and Mechanism of Oxidations by Peroxydisulfate. *Chem. Rev.* 62, 185–203. doi:10.1021/cr60217a001
- Huang, K.-C., Couttenye, R. a., Hoag, G.E., 2002. Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE). *Chemosphere* 49, 413–420. doi:10.1016/S0045-6535(02)00330-2
- Huling, S., Pivetz, B., 2006. Engineering Issue Paper: In-Situ Chemical Oxidation. *Engineering* 1–60.
- Husain, S., 2008. Literature overview: Microbial metabolism of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. *Remediat. J.* 18, 131–161. doi:10.1002/rem.20165
- Ji, Y., Ferronato, C., Salvador, A., Yang, X., Chovelon, J.M., 2014. Degradation of ciprofloxacin and sulfamethoxazole by ferrous-activated persulfate: Implications for

- remediation of groundwater contaminated by antibiotics. *Sci. Total Environ.* 472, 800–808. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.008
- Jonsson, S., Persson, Y., Frankki, S., van Bavel, B., Lundstedt, S., Haglund, P., Tysklind, M., 2007. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated soils by Fenton's reagent: A multivariate evaluation of the importance of soil characteristics and PAH properties. *J. Hazard. Mater.* 149, 86–96. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.03.057
- Juhasz, a L., Stanley, G. a, Britz, M.L., 2000. Microbial degradation and detoxification of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas maltophilia* strain VUN 10,003. *Lett. Appl. Microbiol.* 30, 396–401. doi:10.1046/j.1472-765x.2000.00733.x
- Juhasz, A.L., Naidu, R., 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 45, 57–88.
- Jung, Y.S., Lim, W.T., Park, J.-Y., Kim, Y.-H., 2009. Effect of pH on Fenton and Fenton-like oxidation. *Environ. Technol.* 30, 183–190. doi:10.1080/09593330802468848
- Kakarla, P.K.C., Watts, R.J., 1997. Depth of Fenton-Like Oxidation in Remediation of Surface Soil. *J. Environ. Eng.* 123, 11–17. doi:10.1061/(ASCE)0733-9372(1997)123:1(11)
- Kanally, R. a, Harayama, S., 2000. Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria MINIREVIEW Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria 182, 2059–2067. doi:10.1128/JB.182.8.2059-2067.2000.Updated
- Kao, C.M., Huang, K.D., Wang, J.Y., Chen, T.Y., Chien, H.Y., 2008. Application of potassium permanganate as an oxidant for in situ oxidation of trichloroethylene-contaminated groundwater: A laboratory and kinetics study. *J. Hazard. Mater.* 153, 919–927. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.09.116
- Karanfil, T., Kilduff, J.E., Schlautman, M. a., Weber, W.J., 1996. Adsorption of organic macromolecules by granular: Activated carbon. 1. Influence of molecular properties under anoxic solution conditions. *Environ. Sci. Technol.* 30, 2187–2194. doi:10.1021/es9505863
- Kazunga, C., Aitken, M.D., Gold, A., Sangaiah, R., 2001. Fluoranthene-2,3- and -1,5-diones are novel products from the bacterial transformation of fluoranthene. *Environ. Sci. Technol.* 35, 917–922. doi:10.1021/es001605y
- Ko, S.-O., Schlautman, M.A., Carraway, E.R., 1998. Partitioning of Hydrophobic Organic Compounds to Sorbed Surfactants. 1. Experimental Studies. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2769–2775. doi:10.1021/es971075e
- Kolthoff, I.M., Miller, I.K., 1951. The Chemistry of Persulfate. I. The Kinetics and Mechanism of the Decomposition of the Persulfate Ion in Aqueous Medium 1. *J. Am. Chem. Soc.* 73, 3055–3059. doi:10.1021/ja01151a024
- Kulik, N., Goi, A., Trapido, M., Tuhkanen, T., 2006. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote

- contaminated soil. *J. Environ. Manage.* 78, 382–391. doi:10.1016/j.jenvman.2005.05.005
- Leach, S., 1989. Physical and chemical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Interstellar Dust Proc. 135th Symp. Int. Astron. Union* 155–171.
- Lemaire, J., Buès, M., Kabeche, T., Hanna, K., Simonnot, M.O., 2013a. Oxidant selection to treat an aged PAH contaminated soil by in situ chemical oxidation. *J. Environ. Chem. Eng.* 1, 1261–1268. doi:10.1016/j.jece.2013.09.018
- Lemaire, J., Buès, M., Kabeche, T., Hanna, K., Simonnot, M.-O., 2013b. Oxidant selection to treat an aged PAH contaminated soil by in situ chemical oxidation. *J. Environ. Chem. Eng.* 1, 1261–1268. doi:10.1016/j.jece.2013.09.018
- Liang, C., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., 2004. Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. I. Activated by ferrous ion with and without a persulfate–thiosulfate redox couple. *Chemosphere* 55, 1213–1223. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.01.029
- Liang, C., Liang, C.P., Chen, C.C., 2009. pH dependence of persulfate activation by EDTA/Fe(III) for degradation of trichloroethylene. *J. Contam. Hydrol.* 106, 173–182. doi:10.1016/j.jconhyd.2009.02.008
- Liang, C.J., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., 2003. Thermally Activated Persulfate Oxidation of Trichloroethylene (TCE) and 1,1,1-Trichloroethane (TCA) in Aqueous Systems and Soil Slurries. *Soil Sediment Contam.* 12, 207–228. doi:10.1080/713610970
- Liao, X., Zhao, D., Yan, X., Huling, S.G., 2014. Identification of persulfate oxidation products of polycyclic aromatic hydrocarbon during remediation of contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 276, 26–34. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.05.018
- Lin, C.C., Lee, L.T., 2015. Degradation of polyvinyl alcohol in aqueous solutions using UV/oxidant process. *J. Ind. Eng. Chem.* 21, 569–574. doi:10.1016/j.jiec.2014.03.020
- Lladó, S., Covino, S., Solanas, a. M., Viñas, M., Petruccioli, M., D'annibale, a., 2013. Comparative assessment of bioremediation approaches to highly recalcitrant PAH degradation in a real industrial polluted soil. *J. Hazard. Mater.* 248-249, 407–414. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.01.020
- Luch, A., Baird, W.M., 2010. Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Compr. Toxicol.* Vol. 14 / 6 1, 85–123.
- Luo, L., Lin, S., Huang, H., Zhang, S., 2012. Relationships between aging of PAHs and soil properties. *Environ. Pollut.* 170, 177–182. doi:10.1016/j.envpol.2012.07.003
- MacCarthy, P., 2001. The principles of humic substances: An introduction to the first principle. *Humic Subst. Struct. Model. Funct.* 166, 738–751. doi:10.1097/00010694-200111000-00003
- Madueño, L., Coppotelli, B.M., Alvarez, H.M., Morelli, I.S., 2011. Isolation and characterization of indigenous soil bacteria for bioaugmentation of PAH contaminated soil of semiarid Patagonia, Argentina. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 65, 345–351. doi:10.1016/j.ibiod.2010.12.008

- Manzetti, S., 2013. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Environment: Environmental Fate and Transformation. *Polycycl. Aromat. Compd.* 33, 311–330. doi:10.1080/10406638.2013.781042
- Martens, D. a., Frankenberger, Jr., W.T., 1995. Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil treated with an advanced oxidative process — Fenton's Reagent. *J. Soil Contam.* 4, 175–90. doi:10.1080/15320389509383491
- Martienssen, M., Schirmer, M., 2007. Use of surfactants to improve the biological degradation of petroleum hydrocarbons in a field site study. *Environ. Technol.* 28, 573–582. doi:10.1080/09593332808618816
- Martínez-Pascual, E., Grotenhuis, T., Solanas, A.M., Viñas, M., 2015. Coupling chemical oxidation and biostimulation: Effects on the natural attenuation capacity and resilience of the native microbial community in alkylbenzene-polluted soil. *J. Hazard. Mater.* 300, 135–143. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.06.061
- Menzie, C. a., Potocki, B.B., Santodonato, J., 1992. Ambient concentrations and exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 26, 1278–1284. doi:10.1021/es00031a002
- Mesbah, F.Z., Mansour, F., Eddouaouda, K., Badis, a, 2014. Surfactant effects on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Desalin. Water Treat.* 37–41. doi:10.1080/19443994.2014.988651
- Millero, F., Pierrot, D., 2001. Speciation of metals in natural waters. *Geochem. Trans.* 2, 56. doi:10.1039/b104809k
- Moody, J.D., Freeman, J.P., Doerge, D.R., Cerniglia, C.E., 2001. Degradation of Phenanthrene and Anthracene by Cell Suspensions of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 1476–1483. doi:10.1128/AEM.67.4.1476-1483.2001
- Mora, V.C., Rosso, J. a., Carrillo Le Roux, G., Mártire, D.O., Gonzalez, M.C., 2009. Thermally activated peroxydisulfate in the presence of additives: A clean method for the degradation of pollutants. *Chemosphere* 75, 1405–1409. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.02.038
- Mora, V.C., Rosso, J. a., Mártire, D.O., Gonzalez, M.C., 2011. Phenol depletion by thermally activated peroxydisulfate at 70°C. *Chemosphere* 84, 1270–1275. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.04.062
- Mostert, M.M.R., Ayoko, G. a., Kokot, S., 2010. Application of chemometrics to analysis of soil pollutants. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 29, 430–445. doi:10.1016/j.trac.2010.02.009
- Nam, K., Rodriguez, W., Kukor, J.J., 2001. Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified Fenton reaction. *Chemosphere* 45, 11–20. doi:10.1016/S0045-6535(01)00051-0
- Namkoong, W., Hwang, E.Y., Park, J.S., Choi, J.Y., 2002. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environ. Pollut.* 119, 23–31. doi:10.1016/S0269-7491(01)00328-1

- Neta, P., Huie, R.E., Ross, A.B., 1988. Rate Constants for Reactions of Inorganic Radicals in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 17, 1027.
- Nfodzo, P., Choi, H., 2011. Triclosan decomposition by sulfate radicals: Effects of oxidant and metal doses. *Chem. Eng. J.* 174, 629–634. doi:10.1016/j.cej.2011.09.076
- Nichela, D. a., Berkovic, A.M., Costante, M.R., Juliarena, M.P., Garc??a Einschlag, F.S., 2013. Nitrobenzene degradation in Fenton-like systems using Cu(II) as catalyst. Comparison between Cu(II)- and Fe(III)-based systems. *Chem. Eng. J.* 228, 1148–1157. doi:10.1016/j.cej.2013.05.002
- Niqui Arroyo, J.L., Bueno Montes, M., Ortega-Calvo, J.J., 2011. Biophysico-Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi:10.1002/9780470944479
- Nisbet, I.C.T., LaGoy, P.K., 1992. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 16, 290–300. doi:10.1016/0273-2300(92)90009-X
- O'Mahony, M.M., Dobson, A.D.W., Barnes, J.D., Singleton, I., 2006. The use of ozone in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil. *Chemosphere* 63, 307–314. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.07.018
- Oh, S.-Y., Kang, S.-G., Chiu, P.C., 2010. Degradation of p-chloroaniline by persulfate activated with zero-valent iron. *Sci. Total Environ.* 408, 3464–3468. doi:10.1016/j.cej.2012.06.120
- Oh, S.Y., Kim, H.W., Park, J.M., Park, H.S., Yoon, C., 2009. Oxidation of polyvinyl alcohol by persulfate activated with heat, Fe²⁺, and zero-valent iron. *J. Hazard. Mater.* 168, 346–351. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.02.065
- Oh, S.-Y., Shin, D.-S., 2013. Treatment of Diesel-Contaminated Soil by Fenton and Persulfate Oxidation with Zero-Valent Iron. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 23, 180–193. doi:10.1080/15320383.2014.808170
- Osgerby, I.T., 2006. ISCO Technology Overview: Do You Really Understand the Chemistry? *Contam. Soils, Sediments Water* 287–308. doi:10.1007/0-387-28324-2_19
- Palmroth, M.R.T., Langwaldt, J.H., Aunola, T. a., Goi, a., Münster, U., Puhakka, J. a., Tuhkanen, T. a., 2006. Effect of Modified Fenton's Reaction on Microbial Activity and Removal of PAHs in Creosote Oil Contaminated Soil. *Biodegradation* 17, 29–39. doi:10.1007/s10532-005-6060-3
- Pankrantz, T.M., 2001. Environmental Engineering Dictionary and Directory., *Journal of Chemical Information and Modeling*. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2014a. Remediation of soil contaminated by NAPLs using modified Fenton reagent: application to gasoline type compounds. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* n/a–n/a. doi:10.1002/jctb.4373
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2014b. Remediation of a biodiesel blend-contaminated soil by using a modified Fenton process. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 12198–12207. doi:10.1007/s11356-014-2997-2

- Peng, S., Wu, W., Chen, J., 2011. Removal of PAHs with surfactant-enhanced soil washing: Influencing factors and removal effectiveness. *Chemosphere* 82, 1173–1177. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.11.076
- Petri, B.G., Watts, R.J., Teel, A.L., Huling, S.G., Brown, R.A., 2011. Fundamentals of ISCO using hydrogen peroxide, SERDP ESTCP Environmental Remediation Technology Ser. doi:10.1007/978-1-4419-7826-4
- Petri, B.G., Watts, R.J., Tsitonaki, A., Crimi, M., Thomson, N.R., Teel, A.L., 2011. Fundamentals of ISCO using persulfate. doi:10.1007/978-1-4419-7826-4
- Pignatello, J.J., Oliveros, E., MacKay, A., 2006. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 36, 1–84. doi:10.1080/10643380500326564
- Plaza, C., Xing, B., Fernández, J.M., Senesi, N., Polo, A., 2009. Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by humic acids formed during composting. *Environ. Pollut.* 157, 257–263. doi:10.1016/j.envpol.2008.07.016
- Puglisi, E., Cappa, F., Fragoulis, G., Trevisan, M., Del Re, A. a M., 2007. Bioavailability and degradation of phenanthrene in compost amended soils. *Chemosphere* 67, 548–556. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.09.058
- Qi, C., Liu, X., Zhao, W., Lin, C., Ma, J., Shi, W., Sun, Q., Xiao, H., 2015. Degradation and dechlorination of pentachlorophenol by microwave-activated persulfate. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 4670–4679. doi:10.1007/s11356-014-3718-6
- Qiao, M., Qi, W., Liu, H., Bai, Y., Qu, J., 2016. Formation of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons from polycyclic aromatic hydrocarbons during aerobic activated sludge treatment and their removal process. *Chem. Eng. J.* 302, 50–57. doi:10.1016/j.cej.2016.04.139
- Rastogi, A., Al-Abed, S.R., Dionysiou, D.D., 2009. Sulfate radical-based ferrous-peroxymonosulfate oxidative system for PCBs degradation in aqueous and sediment systems. *Appl. Catal. B Environ.* 85, 171–179. doi:10.1016/j.apcatb.2008.07.010
- Ravikumar, J.X., Gurol, M.D., 1994. Chemical Oxidation of Chlorinated Organics by Hydrogen-Peroxide in the Presence of Sand. *Environ. Sci. Technol.* 28, 394–400. doi:10.1021/es00052a009
- Realp, E., Antón Doménech, J., Martínez-García, R., Restrepo, C., Lladó, S., Viñas, M., Solanas Cánovas, A.M., 2008. Ensayo piloto de biorremediación por la tecnología de la biopila dinámica para la descontaminación de suelos contaminados por creosotas provenientes de las actividades dedicadas a la preparación de la madera. *Residuos Rev. técnica.*
- Reddy, K.R., Chinthamreddy, S., 1999. Electrokinetic remediation of heavy metal-contaminated soils under reducing environments. *Waste Manag.* 19, 269–282. doi:10.1016/S0956-053X(99)00085-9
- Rivas, F.J., 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: A short review of chemical oxidation based treatments. *J. Hazard. Mater.* 138, 234–251. doi:10.1016/j.jhazmat.2006.07.048

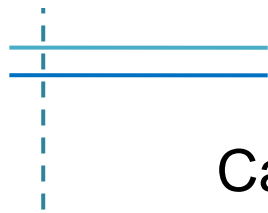
- Rivas, J., Gimeno, O., de la Calle, R.G., Beltrán, F.J., 2009. Ozone treatment of PAH contaminated soils: Operating variables effect. *J. Hazard. Mater.* 169, 509–515. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.03.136
- Robles-González, I. V, Fava, F., Poggi-Varaldo, H.M., 2008. A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments. *Microb. Cell Fact.* 7, 5. doi:10.1186/1475-2859-7-5
- Rodriguez, S., Vasquez, L., Costa, D., Romero, a., Santos, a., 2014. Oxidation of Orange G by persulfate activated by Fe(II), Fe(III) and zero valent iron (ZVI). *Chemosphere* 101, 86–92. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.12.037
- Sahl JW, Munakata-Marr J, Crimi ML, Siegrist RL (2007) Coupling permanganate oxidation with microbial dechlorination. *Water Environ Res* 79:5–12
- Samburova, V., Connolly, J., Gyawali, M., Yatavelli, R.L.N., Watts, A.C., Chakrabarty, R.K., Zielinska, B., Moosmüller, H., Khlystov, A., 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons in biomass-burning emissions and their contribution to light absorption and aerosol toxicity. *Sci. Total Environ.* 568, 391–401. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.026
- Sanchez, M.A., Campbell, L.M., Brinker, F.A., Owens, D., 2000. Attenuation the natural way. A former wood-preserving site offers a case study for evaluating the potential of monitored natural attenuation. *Ind. Wastewater* 5, 37–42.
- Sandbacka, M., Christianson, I., Isomaa, B., 2000. The acute toxicity of surfactants on fish cells, *Daphnia magna* and fish—A comparative study. *Toxicol. Vitro.* 14, 61–68. doi:10.1016/S0887-2333(99)00083-1
- Sarkar, D., Ferguson, M., Datta, R., Birnbaum, S., 2005. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environ. Pollut.* 136, 187–195. doi:10.1016/j.envpol.2004.09.025
- Sayara, T., Sarrà, M., Sánchez, A., 2010. Effects of compost stability and contaminant concentration on the bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting. *J. Hazard. Mater.* 179, 999–1006. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.03.104
- Schneider, K., Roller, M., Kalberlah, F., Schuhmacher-Wolz, U., 2002. Cancer risk assessment for oral exposure to PAH mixtures. *J. Appl. Toxicol.* 22, 73–83. doi:10.1002/jat.828
- Shi, Z., Chen, J., Liu, J., Wang, N., Sun, Z., Wang, X., 2015. Anionic–nonionic mixed-surfactant-enhanced remediation of PAH-contaminated soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 12769–12774. doi:10.1007/s11356-015-4568-6
- Shuttleworth, K.L., Cerniglia, E., 1995. Environmental aspects of PAH biodegradation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 54, 291–302. doi:10.1007/BF02787927
- Siegrist, R.L., Urynowicz, M. a., Crimi, M.L., Lowe, K.S., 2002. Genesis and Effects of Particles Produced during In Situ Chemical Oxidation Using Permanganate. *J. Environ. Eng.* 128, 1068–1079. doi:10.1061/(ASCE)0733-9372(2002)128:11(1068)

- Sillanpää, M., Pirkanniemi, K., 2001. Recent developments in chelate degradation. *Environ. Technol.* 22, 791–801. doi:10.1080/095933322086180322
- Silva, P.T.D.S.E., Silva, V.L. Da, Neto, B.D.B., Simonnot, M.O., 2009. Phenanthrene and pyrene oxidation in contaminated soils using Fenton's reagent. *J. Hazard. Mater.* 161, 967–973. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.04.042
- Singh, A., Kuhad, R.C., Ward, O.P., 2009. Advances in Applied Bioremediation. *Soil Biol.* Vol. 17 17, 361. doi:10.1007/978-3-540-89621-0
- Sirguy, C., Tereza de Souza e Silva, P., Schwartz, C., Simonnot, M.O., 2008. Impact of chemical oxidation on soil quality. *Chemosphere* 72, 282–289. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.01.027
- Sra, K.S., Thomson, N.R., Barker, J.F., 2014. Stability of Activated Persulfate in the Presence of Aquifer Solids. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 23, 820–837. doi:10.1080/15320383.2013.722142
- Staniszewska, M., Graca, B., Beldowska, M., Saniewska, D., 2013. Factors controlling benzo(a)pyrene concentration in aerosols in the urbanized coastal zone. A case study: Gdynia, Poland (Southern Baltic Sea). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 4154–4163. doi:10.1007/s11356-012-1315-0
- Sun, S., Inskeep, W.P., Boyd, S.A., 1995. Sorption of Nonionic Organic compounds in soil-water systems containing a micelle-forming surfactant. *Environmental Sci. Technol.* 29, 903–913.
- Sutton, N.B., Grotenhuis, J.T.C., Langenhoff, A. a. M., Rijnaarts, H.H.M., 2011. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. *J. Soils Sediments* 11, 129–140. doi:10.1007/s11368-010-0272-9
- Sutton, N.B., Langenhoff, A. a. M., Lasso, D.H., Van Der Zaan, B., Van Gaans, P., Maphosa, F., Smidt, H., Grotenhuis, T., Rijnaarts, H.H.M., 2014. Recovery of microbial diversity and activity during bioremediation following chemical oxidation of diesel contaminated soils. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 2751–2764. doi:10.1007/s00253-013-5256-4
- Tan, C., Gao, N., Deng, Y., Li, L., Deng, J., Zhou, S., 2015. Kinetic oxidation of antipyrine in heat-activated persulfate. *Desalin. Water Treat.* 53, 263–271. doi:10.1080/19443994.2013.848414
- Taylor, L.T., Jones, D.M., 2001. Bioremediation of coal tar PAH in soils using biodiesel. *Chemosphere* 44, 1131–1136. doi:10.1016/S0045-6535(00)00344-1
- Tsapakis, M., Stephanou, E.G., 2005. Occurrence of gaseous and particulate polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: Study of sources and ambient temperature effect on the gas/particle concentration and distribution. *Environ. Pollut.* 133, 147–156. doi:10.1016/j.envpol.2004.05.012
- Tsitonaki, A., Petri, B., Crimi, M., Mosbæk, H., Siegrist, R.L., Bjerg, P.L., 2010. In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater Using Persulfate: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 40, 55–91. doi:10.1080/10643380802039303

- Tsitonaki, A., Smets, B.F., Bjerg, P.L., 2008. Effects of heat-activated persulfate oxidation on soil microorganisms. *Water Res.* 42, 1013–1022. doi:10.1016/j.watres.2007.09.018
- Twiss, M.R., Granier, L., Lafrance, P., Campbell, P.G.C., 1999. Bioaccumulation of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl and pyrene by picoplankton (*Synechococcus leopoliensis*, cyanophyceae): Influence of variable humic acid concentrations and pH. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2063–2069. doi:10.1002/etc.5620180926
- Tyre, B.W., Watts, R.J., Miller, G.C., 1991. Treatment of Four Biorefractory Contaminants in Soils Using Catalyzed Hydrogen Peroxide. *J. Environ. Qual.* 20, 832. doi:10.2134/jeq1991.00472425002000040021x
- USEPA(1999)Use of monitored natural attenuation at superfund, RCRA corrective action, and underground storage tank sites vol OSWER Directive number 9200.4-17P.Office of SolidWaste and Emergency Response,Washington, DC
- Usman, M., Faure, P., Ruby, C., Hanna, K., 2012. Application of magnetite-activated persulfate oxidation for the degradation of PAHs in contaminated soils. *Chemosphere* 87, 234–240. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.01.001
- Valderrama, C., Alessandri, R., Aunola, T., Cortina, J.L., Gamisans, X., Tuhkanen, T., 2009. Oxidation by Fenton's reagent combined with biological treatment applied to a creosote-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 166, 594–602. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.11.108
- Vella, P.A., Deshinsky, G., Boll, J.E., Munder, J., Joyce, W.M., 1990. Treatment of Low Level Phenols ($\mu\text{g/L}$) with Potassium Permanganate. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.* 62, 907–914. doi:10.2307/25043934
- Venny, Gan, S., Ng, H.K., 2012a. Inorganic chelated modified-Fenton treatment of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soils. *Chem. Eng. J.* 180, 1–8. doi:10.1016/j.cej.2011.10.082
- Venny, Gan, S., Ng, H.K., 2012b. Modified Fenton oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soils and the potential of bioremediation as post-treatment. *Sci. Total Environ.* 419, 240–249. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.12.053
- Vicente, F., Santos, A., Romero, A., Rodriguez, S., 2011. Kinetic study of diuron oxidation and mineralization by persulphate: Effects of temperature, oxidant concentration and iron dosage method. *Chem. Eng. J.* 170, 127–135. doi:10.1016/j.cej.2011.03.042
- Vineis, P., Husgafvel-Pursiainen, K., 2005. Air pollution and cancer: Biomarker studies in human populations. *Carcinogenesis* 26, 1846–1855. doi:10.1093/carcin/bgi216
- Wang, K., Chen, X.X., Zhu, Z.Q., Huang, H.G., Li, T.Q., Yang, X.E., 2014. Dissipation of available benzo[a]pyrene in aging soil co-contaminated with cadmium and pyrene. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 962–971. doi:10.1007/s11356-013-1960-y
- Wang, W.H., Hoag, G.E., Collins, J.B., Naidu, R., 2013. Evaluation of surfactant-enhanced in situ chemical oxidation (S-ISCO) in contaminated soil. *Water. Air. Soil Pollut.* 224, 1–9. doi:10.1007/s11270-013-1713-z

- Wang, Z., Chen, J., Yang, P., Qiao, X., Tian, F., 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dalian soils: distribution and toxicity assessment. *J. Environ. Monit.* 9, 199–204. doi:10.1039/b617338c
- Wang, Z., Deng, D., Yang, L., 2014. Degradation of dimethyl phthalate in solutions and soil slurries by persulfate at ambient temperature. *J. Hazard. Mater.* 271, 202–209. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.02.027
- Warren, L. a, Haack, E. a, 2001. Biogeochemical controls on metal behavior in freshwater environments. *Earth-Sciences Rev.* 54, 261–320.
- Watts, R.J., Smith, B.R., Miller, G.C., 1991. Catalyzed hydrogen peroxide treatment of octachlorodibenzo-p-dioxin (OCDD) in surface soil. *Chemosphere* 23, 949–955. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Westersund J, Fernandes L, Jones S, Clought H (2006) Stimulating anaerobic reductive dechlorination following chemical oxidation treatment. In: Proceedings of the fifth international conference on remediation of chlorinated and recalcitrant compounds. Battelle, Monterey, pp D-56
- Wilcke, W., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil - a review. *J. Plant Nutr. Soil Sci. Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkd.* 163, 229–248. doi:10.1002/1522-2624(200006)163:3<229::AID-JPLN229>3.0.CO;2-6
- Williams, C.M., Grimes, J.L., Mikkelsen, R.L., 1999. The use of poultry litter as co-substrate and source of inorganic nutrients and microorganisms for the ex situ biodegradation of petroleum compounds. *Poult. Sci.* 78, 956–64.
- Xie, G., Barcelona, M.J., 2003. Sequential chemical oxidation and aerobic biodegradation of equivalent carbon number-based hydrocarbon fractions in jet fuel. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4751–4760. doi:10.1021/es026260t
- Xu, X., Thomson, N.R., 2007. An evaluation of the green chelant EDDS to enhance the stability of hydrogen peroxide in the presence of aquifer solids. *Chemosphere* 69, 755–762. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.05.008
- Yan, J., Gao, W., Qian, L., Han, L., Chen, Y., Chen, M., Xu, B., 2015. Remediation of nitrobenzene contaminated soil by combining surfactant enhanced soil washing and effluent oxidation with persulfate. *PLoS One* 10, 1–14. doi:10.1371/journal.pone.0132878
- Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Lu, S.T., Tao, S., 2011. Effects of soil organic matter on the development of the microbial polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation potentials. *Environ. Pollut.* 159, 591–5. doi:10.1016/j.envpol.2010.10.003
- Yap, C.L., Gan, S., Ng, H.K., 2011. Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. *Chemosphere* 83, 1414–1430. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.01.026
- Yen, C.-H., Chen, K.-F., Kao, C.-M., Liang, S.-H., Chen, T.-Y., 2011. Application of persulfate to remediate petroleum hydrocarbon-contaminated soil: Feasibility and comparison with common oxidants. *J. Hazard. Mater.* 186, 2097–2102. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.12.129

- Yi, H., Crowley, D.E., 2007. Biostimulation of PAH degradation with plants containing high concentrations of linoleic acid. *Environ. Sci. Technol.* 41, 4382–4388. doi:10.1021/es062397y
- Zhang, Y.Q., Xie, X.F., Huang, S. Bin, Liang, H.Y., 2014. Effect of chelating agent on oxidation rate of aniline in ferrous ion activated persulfate system at neutral pH. *J. Cent. South Univ.* 21, 1441–1447. doi:10.1007/s11771-014-2083-4



Capítulo 2

Hipótesis y objetivos



2. Hipótesis y objetivos

La gran persistencia de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) en el medio ambiente, particularmente en suelo, hace necesario que se planteen estrategias para lograr la remoción de manera eficiente, afectando mínimamente la calidad del suelo. En base a lo expuesto, se plantean las siguientes **hipótesis** y **objetivos**:

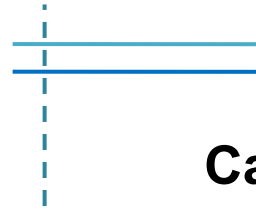
Hipótesis:

- La aplicación de oxidantes en suelos contaminados con PAH, manteniendo la humedad normal de estos suelos, logra la degradación de estos contaminantes.
- La degradación de los PAH es más rápida cuando se utilizan procesos de oxidación química en reactores batch (en una relación suelo:agua 1:2).
- La optimización de las condiciones experimentales (concentración de oxidantes, agregado de oxidante en etapas sucesivas, uso de activantes, uso de surfactantes, entre otras) aumenta la eficiencia del proceso.
- Las características físicas, químicas y biológicas del suelo condicionan la selección del método de degradación más efectivos.

Objetivos:

El **objetivo general** del presente trabajo de tesis es estudiar la aplicación de oxidantes químicos en el tratamiento de suelos contaminados con PAH. Para ello se plantean los siguientes **objetivos específicos**:

- Evaluar la eficiencia de tres oxidantes químicos (persulfato, peróxido de hidrógeno, y permanganato) sobre la eliminación de PAH de suelo contaminado comparando los resultados obtenidos con los de un reactor biótico (sin el agregado de oxidante).
- Estudiar el efecto de distintos porcentajes de humedad en el suelo: normal de la zona (24,9 %), 36,5 % y condiciones saturadas en reactores batch.
- Optimizar las condiciones experimentales de la aplicación de oxidantes considerando tanto la eficiencia en la eliminación de los PAH como la calidad del suelo tratado.
- Encontrar los parámetros relevantes para la elección de un tratamiento por oxidación química según las características principales del suelo a remediar.



Capítulo 3

Materiales y Métodos



3. Materiales y Métodos

3.1. Suelos utilizados

En esta tesis se trabajó sobre 2 suelos diferentes. Las características generales se listan en la **Tabla 3.1**

Tabla 3.1. Características de los suelos empleados.

| | I ^(a) | II ^(b) |
|--------------------------------|--|--|
| Procedencia | Suelo prístino de un área cercana a la ciudad de La Plata, Argentina (34°50' S, 58°10' O). | Suelo franco arenoso de Arganda del Rey correspondiente al horizonte BT, España. |
| Carbono orgánico (%) | 4,67 ^(c) | 0,196 ^(c) |
| Carbono total (%) | | 0,198 ^(c) |
| Carbono inorgánico (%) | | 0,002 ^(c) |
| pH | 7,0 | 7,2 |
| Materia Orgánica (%) | 8,05 | 0,365 ^(d) |
| Nitrógeno total (mg/Kg) | 3,890 ^(e) | |
| Fósforo disponible (mg/kg) | 4,0 ^(f) | |
| Conductividad Eléctrica (dS/m) | 3,3 ± 0,3 ^(g) | |
| Fe extraíble con EDTA (ppm) | 109,9 ± 0,9 ^(h) | |
| Fe total (ppm) | 14580 ⁽ⁱ⁾ | 18200 ⁽ⁱ⁾ |

(a) Determinaciones realizadas por el laboratorio de Edafología, Facultad de Agronomía, UNLP

(b) Determinaciones realizadas en la Facultad de Ingeniería Química, Universidad Complutense de Madrid, España

(c) Método de Walkley-Black (carbono orgánico)

(d) Método de NEM 5754

(e) Digestión húmeda y evaluación por el método Micro Kjeldahl

(f) Método n° 1 Bray Kurtz

(g) En un extracto de pasta saturada

(h) Extraído con EDTA y determinado de acuerdo con el método EPA 7950

(i) Método EPA 3050-B

3.2. Cálculo de las dosis de los oxidantes

La concentración de oxidante que se utiliza en el tratamiento de un suelo contaminado es un parámetro importante que se calcula teniendo en cuenta la cantidad de contaminante presente. Se define una *dosis* a la cantidad estequiométrica de oxidante necesaria para mineralizar por completo (a dióxido de carbono y agua) a los contaminantes. Sin embargo, debido a que las especies responsables de la oxidación pueden reaccionar con otros compuestos del suelo (principalmente materia orgánica), la cantidad de reactivo a utilizar debería ser mayor a la calculada según la estequiometría de la reacción a estudiar. Algunos investigadores (Liang y col., 2012) proponen que la concentración de oxidante a aplicar debe calcularse teniendo en cuenta la cantidad que se consume por: (i) el contaminante, (ii) los componentes del suelo que son sensibles a la oxidación y (iii) la descomposición que sufre el mismo oxidante en fase acuosa. Lemaire y colaboradores (Lemaire y col., 2013), proponen que la cantidad de oxidante a utilizar debe ser hasta 10 veces superior a la concentración de los contaminantes presentes para prevenir la pérdida de los radicales como consecuencia de las reacciones con *scavengers*, el impacto negativo sobre el suelo y los costos de los tratamientos.

En esta tesis se utilizaron cuatro oxidantes: Peróxido de hidrógeno (PH), Persulfato de sodio (PS), Persulfato de amonio (PSN) y Permanganato de potasio (PM). En la **Tabla 3.2** se detallan la cantidad de moles necesarios de los oxidantes estudiados para que reaccionen estequiométricamente con los PAH estudiados en esta tesis. En cada ensayo se calculó la *dosis* de cada oxidante a partir de la concentración inicial de cada PAH y los valores listados en esta Tabla. En general se trabajó en un rango de valores de 0,13 a 24 dosis.

Tabla 3.2. Cantidad de moles de persulfato de sodio (PS), persulfato de amonio (PSN), peróxido de hidrógeno (PH) y permanganato de potasio (PM) que se requieren para reaccionar con un mol de fenantreno (FEN), antraceno (ANT), pireno (PIR) y benzo(a)pireno (BAP) para lograr mineralización total.

| | FEN | ANT | PIR | BAP |
|-----|-----|-----|------|-----|
| PS | 33 | 33 | 37 | 45 |
| PSN | 33 | 33 | 37 | 45 |
| PH | 33 | 33 | 37 | 45 |
| PM | 22 | 22 | 24,7 | 30 |

3.3. Ensayos sobre la persistencia de los oxidantes estudiados

3.3.1. Estudio de la estabilidad de soluciones de persulfato de sodio y persulfato de amonio

Se estudió la estabilidad de PS y PSN en solución acuosa utilizando sistemas con concentraciones crecientes de PS (B_w , C_w , D_w , E_w , F_w , G_w) y un sistema con PSN (A_w). Se prepararon en frascos color caramelo de 30 ml y se almacenaron a 25 ± 2 °C durante todo el ensayo. Los detalles de los sistemas se presentan en la **Tabla 3.3**.

Tabla 3.3. Descripción de la preparación de los sistemas en fase acuosa.

| Muestra | [Persulfato] ₀ (g/l) | Tipo de PS |
|---------|---------------------------------|------------|
| A_w | 76,52 | NH_4^+ |
| B_w | 80,22 | Na^+ |
| C_w | 40,12 | Na^+ |
| E_w | 20,05 | Na^+ |
| D_w | 10,02 | Na^+ |
| F_w | 3,90 | Na^+ |
| G_w | 2,00 | Na^+ |

Las medidas de la concentración del anión persulfato se realizaron sobre muestras que se tomaron a las 2 horas, 1, 2, 4, 7 y 14 días, utilizando el método detallado en el **inciso 3.6.4.1**.

3.3.2. Ensayos de persistencia de persulfato en presencia del Suelo I

Para el estudio de persistencia de persulfato se utilizaron 6 sistemas con una concentración de PS de 20 ± 1 g_{PS}/kg_{TS}. Cada sistema se preparó con 10 g de tierra seca y un volumen diferente de agua (2,5; 5; 10; 20; 50 y 100 ml) de manera que tanto el porcentaje de humedad como la [PS] inicial en Fase acuosa (FA) difiriera para cada uno de ellos. Se estudió la concentración de PS luego de 2 horas, 1, 2, 4, 7 y 14 días, a 25 ± 2 °C.

El contenido de humedad es la relación que existe entre la masa de agua contenida en la muestra inicialmente y la masa de la muestra después de ser secada en el horno a una temperatura entre los 105° - 110° C. Se expresa en forma de porcentaje (%H). El contenido de agua en los suelos se evaluó como se detalla en el **inciso 3.6.1**. Cada sistema se analizó por triplicado. En la **Tabla 3.4** se observan los detalles de estos sistemas.

Tabla 3.4. Descripción de preparación de los sistemas suelo/agua.

| Muestra | Humedad (%) | [PS] ₀ (g/ kg _{TS}) | [PS] ₀ (g/l) (Fase acuosa) | Tipo de PS |
|---------|-------------|--|---------------------------------------|------------------------------|
| A | 20 | 19,91 ± 0,01 | 80 | NH ₄ ⁺ |
| B | 20 | 20,6 ± 0,5 | 80 | Na ⁺ |
| C | 33 | 20,53 ± 0,03 | 40 | Na ⁺ |
| E | 50 | 20,55 ± 0,02 | 20 | Na ⁺ |
| D | 67 | 20,65 ± 0,05 | 10 | Na ⁺ |
| F | 83 | 20,76 ± 0,03 | 4 | Na ⁺ |
| G | 91 | 20,5 ± 0,3 | 2 | Na ⁺ |

A continuación se describe la forma de preparación de los sistemas y de la extracción del PS del suelo para la determinación de su concentración. Los sistemas A y B se prepararon de la siguiente manera: en un frasco de vidrio de 100 ml se colocaron 88 g de tierra húmeda (80 g de tierra seca) con 20 ml de solución que contenía 1,6 g de PS (A) ó PSN (B), y se mezcló con espátula para homogenizar. Se sacó muestra a diferentes tiempos para determinar % de humedad y [PS]. Para esta última determinación se tomaron 6,4 g de tierra húmeda (5 g_{TS}) a la cual se le agregó 10 ml de agua bidestilada, se mezclaron con vortex, se dejó decantar durante una hora, se filtró con papel de filtro y luego por membrana de celulosa de 0,45 µm, para luego aplicar el método descrito en el **inciso 3.6.4.1**.

Los restantes sistemas (C, D, E, F y G) se prepararon en frascos individuales para cada tiempo de reacción y fueron sacrificados al momento de la determinación.

En el caso de los sistemas C y D se utilizaron tubos falcon de 50 ml. Se añadieron aproximadamente 5 g de tierra seca con 2,5 o 5 ml (C y D respectivamente) de la solución de PS (20 g_{PS}/kg_{TS}), se mezclaron con espátula para homogenizar. Para analizar la [PS] se le agregaron 5 ml de agua bidestilada a cada sistema y se agitaron con el vortex, se dejaron decantar durante 1 hora, se filtraron con papel de filtro y luego con membrana de celulosa de 0,45 µm.

El sistema E se preparó en frascos color caramelo de 30 ml en los cuales se pusieron 5 g de TS se le añadieron 10 ml de la solución de PS, se mezclaron con espátula para homogenizar y se colocaron en shaker a 200 rpm hasta el momento de la determinación.

Los sistemas F y G se prepararon en frascos de vidrio de 100 ml de capacidad con aproximadamente 5 g de tierra húmeda y 25 o 50 ml (F o G) de la solución de PS, se mezclaron con espátula para homogenizar y se colocaron en shaker a 200 rpm hasta el momento de la determinación.

La estimación de la [PS] en los sistemas E, F y G se realizó dejando decantar cada frasco durante una hora, se filtró con membrana de celulosa de 0,45 µm.

Una vez obtenido el filtrado de todas los sistemas se analizaron como se detalla en el **inciso 3.6.4.1**.

3.3.3. Persistencia de persulfato de sodio y peróxido de hidrógeno en presencia del Suelo II

Se estudió la persistencia en PS y PH en el suelo II. Para ello se prepararon sistemas batch en tubos de PTFE de 50 ml con aproximadamente 5 g de tierra seca y 10 ml de agua (muestras a sacrificio).

La concentración de PH se determinó mediante valoración redox con permanganato de potasio (**inciso 3.6.5**) tomando muestras periódicas durante 40 días. Mientras que la concentración de PS se determinó por valoración iodométrica por retorno (**inciso 3.6.4.2**) durante 87 días.

3.4. Descripción general de los tratamientos ensayados

Se realizaron ensayos utilizando distinto contenido de agua:

- Bajo contenido de humedad (BH).
Contaminación con Fenantreno, tratada con persulfato.
- Alto contenido de humedad (SB).
Contaminación con Fenantreno y Pireno tratada con distintos oxidantes: SB₁
Contaminación con Fenantreno y Pireno tratada con persulfato activado a 65°C: SB₂
Contaminación con 4 PAH tratada con peróxido de hidrógeno: SB₃
Contaminación con 4 PAH tratada con persulfato: SB₄

3.4.1. Bajo contenido de humedad

Estos sistemas se prepararon (por triplicado) en frascos de vidrio de 200 ml, con tapa. Se colocaron aproximadamente 120 - 150 g de tierra y agua en un volumen determinado, de manera que cada sistema tuviera una humedad del 24,9 o 36,5 % (en el **inciso 3.6.1** se detalla el método de determinación del % de humedad). Se colocaron en incubadora a 25 ± 2 °C durante 28 días. En la **Figura 3.1.a** puede verse una imagen de los sistemas BH.

3.4.2. Alto contenido de humedad

Se prepararon sistemas batch con una relación tierra: agua de 1:2.

En el caso de los sistemas SB₁ y SB₂ se trabajó en tubos falcon de 50 ml. Durante el tratamiento se colocaron en agitación en shaker a 200 rpm a 25 ± 2 °C (entre 6 horas y 50 días, según la tanda de experimentos). Los sistemas que requirieron una temperatura mayor (65°C) se colocaron en shaker con baño de agua (Julabo SW22) durante las primeras 6 horas y luego a 200 rpm a 25 ± 2°C hasta finalizar el ensayo.

Los tratamientos fueron preparados por triplicado y para cada tiempo de reacción se preparó un tubo individual que fue sacrificado al momento de la determinación.

Los sistemas SB₃ y SB₄ se prepararon en tubos de PTFE de 50 ml. Se trabajó con 5 g de tierra contaminada y 10 ml de solución acuosa, en tubos individuales (muestras a sacrificio). Para la agitación, los tubos se colocaron en posición horizontal, en un baño de agitación termostaticado Selecta modelo Unitronic Orbital a 200 rpm a 25 ± 2 °C durante 40-50 días. Si bien los sistemas se prepararon por duplicado, se observó muy poca dispersión en ellos en todas las determinaciones realizadas. Esta serie de experimentos se hicieron en el laboratorio INPROQUIMA, perteneciente a la Universidad Complutense de Madrid, España. En la **Figura 3.1.b** puede verse una imagen de los sistemas SB.

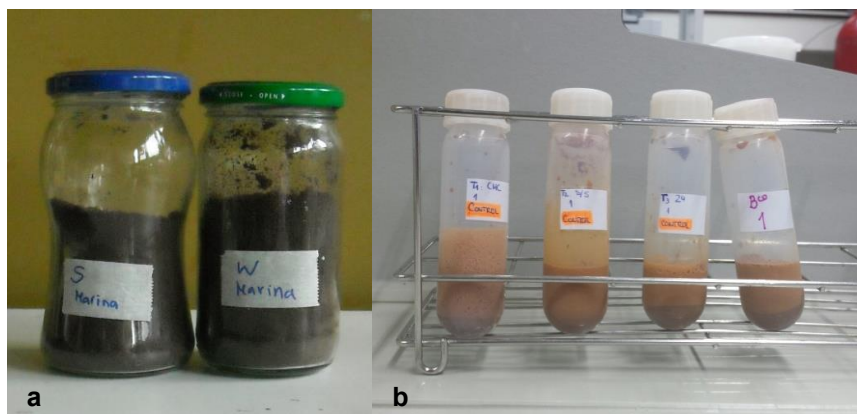


Figura 3.1. Sistemas de bajo porcentaje de humedad (a) y sistemas batch con alto contenido de humedad (b).

3.5. Preparación de los sistemas

Antes de preparar los sistemas, se acondicionó el suelo tamizándolo con mallas de 4 y 2 mm. Además, para los sistemas BH se ajustó la humedad a 24,9 o 36,5% (según el tratamiento), 48 horas antes de ser utilizado.

3.5.1. Contaminación con fenantreno

La contaminación artificial se realizó en frascos de 200 ml de capacidad con aproximadamente 150 g de tierra húmeda (suelo I en la **Tabla 3.1**). Se pesaron aproximadamente 0,012 g de fenantreno (FEN) (para que la concentración fuera ~100ppm), se disolvieron en 2 - 3 ml de acetona y se colocaron con pipeta pequeñas alícuotas (de 100 μ l) sobre cada muestra de suelo, revolviendo cada vez con espátula para homogenizar. Luego de 2 - 4 horas se agregó el oxidante (disuelto en la mínima cantidad de agua para no modificar el porcentaje de humedad de los valores estimados) en pequeñas alícuotas, revolviendo con espátula para homogenizar.

Se utilizaron como oxidantes químicos PS y PSN en diferentes concentraciones. En algunos de los tratamientos (PSsuc y PSNsuc) el agregado de los mismos se realizó en varias etapas. Se estudió el efecto del hierro (sulfato ferroso heptahidratado) y un agente complejante de metales (citrato de sodio). Además, se trabajó con dos valores de porcentaje de humedad de suelo (%H). En la **Tabla 3.5** se presentan las condiciones más relevantes y a continuación se describe detalladamente la preparación de cada sistema.

Tabla 3.5. Descripción de los tratamientos con Baja Humedad (BH).

| Tratamiento | Detalle | % H | [FEN] ₀ /(ppm) | [NaPS]/ g/kg _{TS} | [PSNH ₄] g/kg _{TS} | Dosis utilizada |
|-------------|---------------------|------|---------------------------|-------------------------------|--|-----------------------|
| PS1 | | 24,9 | 140 \pm 10 | 0,86 | - | 0,14 |
| PS2 | | 24,9 | 140 \pm 10 | 4,34 | - | 0,70 |
| PS3 | | 24,9 | 140 \pm 10 | 8,61 | - | 1,39 |
| PS4 | | 24,9 | 140 \pm 10 | 21,0 | - | 3,40 |
| PS5 | | 24,9 | 140 \pm 10 | 41,7 | - | 6,75 |
| PS6 | | 36,5 | 100 \pm 10 | 11,1 | - | 2,68 |
| PS7 | | 36,5 | 100 \pm 10 | 55,3 | - | 12,53 |
| PSsuc | Agregados sucesivos | 24,9 | 100 \pm 10 | 14,9 (a) 19,3 (b) | - | 3,38 (a) 4,37 (b) |
| PS3FeC(B) | Activante (B) | 24,9 | 140 \pm 10 | 8,61 | - | 1,39 |
| PS3FeC(A) | Activante (A) | 24,9 | 140 \pm 10 | 8,61 | - | 1,39 |
| PSN5 | | 24,9 | 100 \pm 10 | - | 38,4 | 9,08 |
| PSNsuc | Agregados sucesivos | 24,9 | 100 \pm 10 | - | 15,1 (a) 57,74 (b) | 3,64 (a) 13,66 (b) |

(a) al día 7

(b) al día 28

Respecto del contenido de agua, se eligieron dos valores: 24,9 y 36,5 % humedad. En la mayoría de los sistemas se eligió trabajar con 24,9 % debido a que es un valor similar al que se encuentra normalmente en el suelo de la zona. El otro valor utilizado (36,5%) en PS6 y PS7 se eligió en base a los resultados obtenidos por Holman y Tsang (Holman y Tsang, 1995), quienes reportaron que para valores de 50 - 70% del contenido de agua en el suelo (correspondiente 28 - 39 % de humedad) mejoraba la biodegradación de los compuestos aromáticos.

A partir de la concentración agregada de FEN se calculó la dosis de oxidante necesaria para mineralizar el FEN completamente, es decir, para 100 ppm de FEN, una dosis de PS corresponde a 4,412 g/kg_{TS}. Para encontrar la cantidad de oxidante apropiada en estos ensayos (ver **inciso 3.2**) se estudió el agregado de distintas concentraciones iniciales de PS, tanto por debajo como por encima de la dosis calculada (PS1, PS2, PS3, PS4 y PS5).

En los sistemas PS3FeC(B) y PS3FeC(A) se utilizó Fe (II) como activante del PS. Varios autores (Liang y col., 2004; Rodríguez y col., 2014; Vicente y col., 2011) investigaron la incorporación de activantes al medio de reacción, como el Fe en distintos estados de especiación, para incrementar la generación de radicales sulfato (SO₄^{•-}). En los sistemas mencionados se utilizó FeSO₄·7H₂O. Además, se empleó un complejante del metal que favoreciera su permanencia en fase acuosa, en este caso citrato de sodio. La relación molar Fe(II)/Citrato/Contaminante fue del 5/25/1 para PS3FeC(B) y 10/50/1 para PS3FeC(A). Esta relación fue escogida en base a los resultados obtenidos por Liang y colaboradores para un contaminante en fase acuosa (Liang y col., 2004). La cantidad de PS que se colocó en estos tratamientos fue de una dosis (como en el PS3). En PS3FeC(B) se utilizó una relación Fe(II)/Citrato/PS baja (1,17/7,46/8,61) g/kg_{TS} y en PS3FeC(A) una relación alta (2,30/14,96/8,61) g/kg_{TS}.

En la mayoría de los datos bibliográficos, se han encontrado referencias en las que el oxidante utilizado para obtener el radical sulfato fue PS. Sin embargo, el uso de PSN podría tener un efecto positivo en la biodegradación, ya que el amonio (NH₄⁺) podría beneficiar el crecimiento bacteriano al aumentar el nitrógeno del suelo. Además, la solubilidad (a 20°C) de la sal de sodio y la de amonio son similares (55,6 g/100 ml y 58,2 g/100 ml, respectivamente) (Osgerby, 2006). Debido a las características mencionadas del PSN, se decidió utilizarlo en algunos de los sistemas.

En el caso de los tratamientos PSSuc y PSNSuc el agregado de oxidante se realizó en varias etapas, con el objetivo de minimizar el impacto sobre el suelo y no se afecte la biodegradación. Cada 48 horas se disolvió una masa de PS o PSN en la mínima cantidad de agua de manera de modificar lo mínimo posible la humedad en el sistema. Cada agregado correspondió a un aumento de la cantidad de oxidante en 5 g/kg_{TS}. Por ejemplo, el primer agregado fue de 0,60 g_{PS} (para PS) o 0,58 g_{PSN} (para PSN), contando con 119,86 o

116,25 g_{TS}, respectivamente. En el caso de PSsuc se realizaron cuatro agregados del oxidante, los días; 1, 3, 5 y 7, obteniendo una concentración de PS de 19,84 g_{PS}/kg_{TS} a los 28 días. Para PSNsuc se realizaron 10 agregados del oxidante, los días: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19. La concentración a los 28 días fue de 54,74 g_{PSN}/kg_{TS}. Los detalles de los agregados sucesivos para PS y PSN se muestran en las **Tablas 3.6** y **3.7**, respectivamente.

Tabla 3.6. Cantidad de PS agregado con el tiempo para el tratamiento PSsuc.

| | | | | |
|-------------------------|------|------|-------|-------|
| Nº de Agregado | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Día de agregado | 1 | 3 | 5 | 7 |
| [PS]/g/kg _{TS} | 5,01 | 9,98 | 14,92 | 19,84 |

Tabla 3.7. Cantidad de PSN agregado con el tiempo para el tratamiento PSNsuc.

| | | | | | | | | | | |
|--------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Nº de Agregado | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Día de agregado | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 19 |
| [PSN]/g/kg _{TS} | 5,01 | 10,03 | 15,09 | 22,21 | 28,00 | 33,79 | 39,58 | 44,65 | 49,71 | 54,74 |

Cabe destacar que las cantidades de oxidante a agregar en PSsuc y PSNsuc fueron calculadas teniendo en cuenta la extracción de muestra del sistema (a los distintos tiempos) para el estudio de las distintas determinaciones.

Con el objetivo de comparar la degradación de FEN por la oxidación química en los distintos tratamientos, se prepararon controles de biodegradación (BioD1 y BioD2) y un control de oxidación química (QuimD). Estos fueron incubados y analizados de igual manera que los tratamientos. El detalle se presenta a continuación:

BioD1: Sin agregado de oxidante químico (control de biodegradación) con un porcentaje de humedad de 24,9.

BioD2: Sin agregado de oxidante químico (control de biodegradación) con un porcentaje de humedad de 36,5.

QuimD: Estéril (control químico). El suelo fue autoclavado a 121 °C a 1,1 atm durante 20 - 30 minutos (Trevors, 1996) y luego tratado con 1 dosis de PS (8,61 g_{PS}/kg_{TS}). El porcentaje de humedad fue de 24,9.

Los sistemas se mantuvieron a 25 ± 2 °C. El muestreo se realizó a los días: 1, 7, 14, 21 y 28. El contenido de humedad se corrigió cuando fue necesario a 24,9 ó 36,5 %, según corresponda, adicionando agua destilada.

3.5.2. Contaminación con fenantreno y pireno

La contaminación con fenantreno (FEN) y pireno (PIR) para el suelo I (descrito en la **Tabla 2.1**) se realizó de la misma manera indicada en el punto anterior (**inciso 3.5.1**) y se conservó en heladera durante 15 meses. El objetivo de preservar la muestra ese tiempo fue el de tener una muestra similar a la de un suelo crónicamente contaminado.

Los sistemas batch (SB₁ y SB₂) se armaron de la manera anteriormente descrita (**inciso 3.4.2.**, Alto contenido de humedad). La concentración real de cada compuesto se determinó antes de comenzar los tratamientos mediante HPLC-UV (ver **inciso 3.6.8**).

Los SB₁ se prepararon con una concentración de (1200 ± 200) ppm de FEN y (2800 ± 100) ppm de PIR. En esta serie de experimentos se utilizaron los siguientes oxidantes: PM, PH y PS. Además, se utilizaron diferentes condiciones que tuvieron como objetivo mejorar la activación de los oxidantes.

La dosis utilizada se calculó como se explicó en el **inciso 3.2**. En la **Tabla 3.8** se listan las características principales de los sistemas SB₁ y a continuación se describen los sistemas SB₁.

Tabla 3.8. Descripción de los Sistemas Batch 1 (SB₁).

| Tratamiento | [Oxidante]/g _{ox} /kg _{TS} | Dosis | Condiciones |
|--------------|--|-------|--|
| sPM | 110 ± 1 | 1,46 | 25 °C |
| sPH | 40 ± 5 | 1,59 | 25 °C |
| sPH/Fe/EDTA | 40 ± 5 | 1,59 | Fe(II)/EDTA = 15 g/kg _{TS} /16 g/kg _{TS} , 25 °C |
| sPS | 267 ± 1 | 1,52 | 25 °C |
| sPS/Fe/EDTA | 267 ± 1 | 1,52 | Fe(II)/EDTA = 15 g/kg _{TS} /16 g/kg _{TS} , 25 °C |
| sPS/Térmico | 267 ± 1 | 1,52 | a 65 °C durante 6 h, luego a 25 °C |
| sPS/Alcalino | 267 ± 1 | 1,52 | NaOH concentrado hasta pH 10, 25 °C |
| sPS/Buffer | 267 ± 1 | 1,52 | buffer KH ₂ PO ₄ /K ₂ HPO ₄ de pH 7, 25 °C |

La activación de los oxidantes se realizó mediante distintas estrategias a partir de la información obtenida de bibliografía. Para los sistemas que utilizaron Fe(II):EDTA se eligió una relación de los componentes de 1:1,2 a partir de informado por otros investigadores (Saelee y Bunyakan, 2012).

En el Capítulo 1, se describieron distintas maneras de activar el anión persulfato, además de la activación por metales. Entre las más eficientes se describieron: la activación mediante el aumento de temperatura y la activación alcalina mediante la aplicación de NaOH. En los tratamientos con activación térmica (PS/Térmico) se trabajó con una temperatura de 65°C durante 6 horas. Pasado ese tiempo se incubó a temperatura ambiente. Para estudiar la

activación alcalina, se trabajó con un sistema batch (PS/Alcalino) al que se le modificó el pH inicialmente (hasta un valor de 10) mediante el agregado de NaOH concentrado.

En ensayos previos, se observó una gran disminución del pH del suelo como consecuencia del agregado de PS o PSN. Con el objetivo de no provocar cambios drásticos en el pH del suelo que afecten los procesos de biodegradación por el agregado de oxidante, se preparó un tratamiento con PS y una solución buffer de fosfato de pH 7 (PS/Buffer).

Para comparar la eficiencia de los tratamientos se preparó un control de biodegradación (BioD3) que se detalla a continuación:

BioD3: Sin agregado de oxidante químico (control de biodegradación)

Los tratamientos fueron preparados por triplicado y para cada tiempo de reacción se preparó un tubo individual que fue sacrificado en un tiempo determinado.

La segunda tanda de ensayos (SB₂) se realizó con diferentes concentraciones iniciales de FEN o de FEN y PIR. Como oxidante se empleó PS en una concentración de (267 ± 3) g/kg_{TS}. Los sistemas se calentaron durante 6 horas a 65 °C en agitación con shaker a 200 rpm. Para el caso de T2, luego de las 6 horas a 65°C, se incubaron a 25 °C en agitación hasta 7 días. Los detalles de la preparación de los sistemas pueden verse en la **Tabla 3.9**.

Tabla 3.9. Descripción de los Sistemas Batch 2 (SB₂).

| Tratamiento | [Fen] ₀ /(ppm) | [Pir] ₀ /(ppm) | Dosis utilizada |
|-------------|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| T1 | 2140 ± 20 | 190 ± 20 | 2,60 |
| T2 | 550 ± 50 | 2040 ± 50 | 2,36 |
| T3 | 2180 ± 10 | - | 2,77 |
| T4 | 550 ± 50 | - | 11,00 |

Para cada tratamiento se estudiaron los controles correspondientes:

CT1: [FEN]₀ = (2140 ± 20) ppm; [PIR]₀ = (190 ± 20) ppm; sin agregado de PS.

CT2: [FEN]₀ = (550 ± 50) ppm; [PIR]₀ = (2040 ± 50) ppm; sin agregado de PS.

CT3: [FEN]₀ = (2180 ± 10) ppm; sin agregado de PS.

CT4: [FEN]₀ = (550 ± 50) ppm; sin agregado de PS.

3.5.3. Contaminación con 4 hidrocarburos policíclicos aromáticos

La contaminación del suelo (suelo II en la **Tabla 3.1**) se realizó de la misma manera descripta anteriormente (**inciso 3.5.1**) con 4 hidrocarburos: fenantreno (FEN), antraceno (ANT), pireno (PIR) y benzo(a)pireno (BaP). La concentración real de cada compuesto se

determinó por HPLC-UV antes de comenzar los tratamientos (ver **Tabla 3.10**). El muestreo de los sistemas se realizó como se explicó en el **inciso 3.4.2**.

Tabla 3.10. Concentración inicial de los PAH determinada por HPLC.

| PAH | Número de anillos | [PAH] ₀ (ppm) |
|-----|-------------------|--------------------------|
| ANT | 3 | 96 ± 6 |
| FEN | 3 | 100 ± 2 |
| PIR | 4 | 100 ± 1 |
| BaP | 5 | 99 ± 1 |

Para el tratamiento de este suelo, se prepararon dos tandas de experimentos con distintos oxidantes: SB₃ (con PH) y SB₄ (con PS). La fase acuosa (FA) de estos sistemas se preparó con oxidante, activante y/o surfactante según el tratamiento a estudiar. El activante utilizado fue hierro en distintos estados de especiación: Fe (II), Fe (III) y Fe (nZVI) (nanopartículas de hierro cero valente). Como surfactante se empleó dodecilsulfato sódico (SDS) (surfactante de tipo aniónico) en la concentración micelar crítica (CMC) en fase acuosa (0,0076 M). Además, en uno de los SB₃ se estudió el efecto en la degradación de los contaminantes por el agregado de ácidos húmicos (AH) comerciales (Acros Organics Humic acid) a la FA. En las **Tablas 3.11** y **3.12** pueden verse las características principales de los sistemas SB₃ y SB₄.

Tabla 3.11. Descripción de los sistemas SB₃ que utilizaron como oxidante PH.

| Tratamiento | [H ₂ O ₂]/(M) | Dosis | Tipo Fe | [Fe] ₀ /(mM) | Condición |
|-------------|--------------------------------------|-------|---------|-------------------------|-------------------------------|
| RPH1 | 0,8333 | 11,36 | - | - | - |
| RPH2 | 0,8333 | 11,36 | III | 1 | - |
| RPH3 | 0,8333 | 11,36 | III | 5 | - |
| RPH4 | 0,8333 | 11,36 | nZVI | 1 | - |
| RPH5 | 0,8333 | 11,36 | nZVI | 5 | - |
| RPH6 | 1,765 | 24,08 | III | 1 | - |
| RPH7 | 0,8333 | 11,36 | III | 1 | [SDS] ₀ = 0,0076 M |
| RPH8 | 0,8333 ^(a) | 11,36 | III | 1 ^(a) | [SDS] ₀ = 0,0076 M |

(a) Se agregó 24 horas después de iniciar el tratamiento.

Tabla 3.12. Descripción de los sistemas SB₄ que utilizaron como oxidante PS.

| Tratamiento | [PS]/(g/kg _{TS}) | Dosis | Tipo Fe | [Fe] ₀ /(mM) | Condición |
|-------------|----------------------------|-------|---------|-------------------------|-------------------------------|
| RPS1 | 100 | 6,31 | II | 1 | - |
| RPS2 | 100 | 6,31 | III | 1 | - |
| RPS3 | 100 | 6,31 | nZVI | 1 | - |
| RPS4 | 100 | 6,31 | II | 1 | [SDS] ₀ = 0,0076 M |
| RPS5 | 100 | 6,31 | nZVI | 1 | [SDS] ₀ = 0,0076 M |
| RPS6 | 100 | 6,31 | II | 1 | [AH] ₀ = 2000 mg/L |
| RPS7 | 100 | 6,31 | nZVI | 5 | |

La mayoría de los sistemas SB₃ tuvieron una concentración de PH de 0,8333 M (correspondiente a 11,36 dosis), mientras que los SB₄ la concentración de PS utilizada fue de 100 g_{PS}/kg_{TS} (correspondiente a 6,31 dosis). La cantidad de PS utilizada fue menor a la que se usó de PH, por dos causas: (i) el PH se descompone a una mayor velocidad que el PS (Liang y col., 2012), y (ii) debido a que las perturbaciones que se producen en el suelo por el agregado de PS son mucho más drásticos que los que se producen por el agregado de PH (Tsitonaki y col., 2010).

Para la activación de los oxidantes se trabajó con distintas especies de Fe: Fe (III), Fe (nZVI) y Fe (II) solo para los tratamientos con PS. Para los tratamientos que se realizaron con Fe (III), se agregó en forma de sulfato férrico, para alcanzar una concentración de 1 mM (RPH1, RPH6, RPH7, RPH8, RPS2) o 5mM (RPH3). En el caso de los sistemas en los que se utilizó Fe (nZVI), se preparó una mezcla acuosa con las nanopartículas a partir del polvo comercial (72.5 ± 7.5% pureza), según indicó el comerciante (dilución 1/5), obteniendo una mezcla 0,2589 M (**Figura 3.2**). Esta suspensión de Fe (nZVI) se utilizó para preparar los sistemas 1 mM (RPH4, RPS3 y RPS5) o 5 mM (RPH5 y RPS7) en la fase acuosa. Para los tratamientos con Fe (II) se incorporó a la fase acuosa del sistema batch una solución de FeSO₄·7H₂O para obtener una concentración 1 mM (RPS1, RPS4 y RPS6).

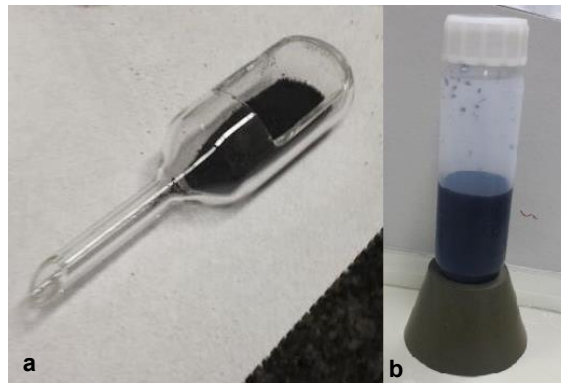


Figura 3.2. Nanopartículas de Fe (nZVI) NANOFER STAR (a) y suspensión de nZVI utilizado en los sistemas (b).

El uso de surfactantes para el tratamiento de suelos contaminados con PAH, ha sido descrito en el Capítulo 1. Se ha mencionado su acción como bioestimulante (Zhou y Zhu, 2005) y además la combinación con procesos de oxidación química (Mesbaiah y col., 2014). En algunos de los tratamientos se estudió la adición del surfactante SDS (un surfactante sintético), que se agregó al mismo tiempo (RPH7) o 24 horas antes del oxidante y activante (RPH8, RPS4 y RPS5). Además, en un tratamiento se utilizaron ácidos húmicos comerciales como surfactantes naturales (RPS6).

Se prepararon dos controles: uno biológico y uno con el agregado de SDS.

BioD4: Sin agregado de oxidante químico (control de biodegradación)

CSDS: Sin el agregado de oxidante químico, y con la aplicación de surfactante en una concentración igual a la utilizada en los tratamientos.

Para el estudio de la degradación de los contaminantes se realizó la extracción tanto en fase acuosa como en la fase tierra, detallado en el inciso **3.6.8.2**.

3.6. Análisis químico y físico de los sistemas

3.6.1. Porcentaje de humedad (%H)

El contenido de agua de los suelos se determinó por gravimetría. Se colocó una muestra de suelo (~5 g) en una placa de Petri (sin tapa) en estufa a 105 ± 5 °C durante un tiempo mínimo de 24 horas y hasta obtener peso constante. Posteriormente se enfrió en desecador hasta temperatura ambiente y se pesó. La diferencia de peso respecto al suelo húmedo se expresó como porcentaje de humedad (%H).

3.6.2. Medida de pH del suelo

La medida de pH se realizó de distintas maneras para los sistemas con baja humedad (BH) y los sistemas batch (SB), como se describe a continuación.

Para la determinación del pH en BH se pesaron aproximadamente 5 g de suelo y se colocaron en un tubo falcon de 15 ml con 5 ml de agua bidestilada, se mezclaron con vortex y con shaker durante 5 minutos. Se dejó en reposo durante 1 hora para que decante. Luego se sumergió el electrodo de vidrio Phoenix Electrode Company en el sobrenadante (Método EPA-9045D). El electrodo se calibró con buffer comercial (Anedra) de pH 4 y 7.

La medida del pH en los SB se realizó en los mismos tubos donde se hicieron los ensayos. En los tiempos de muestreo se sacaron las muestras del shaker (donde estaban en agitación) y se dejaron una hora en reposo para que decante. Pasado este tiempo se realizó la medida colocando el electrodo calibrado en el sobrenadante.

3.6.3. Medida de la conductividad eléctrica

La medida de conductividad en los sistemas BH y SB se realizó con el mismo tubo preparado para la medida de pH sumergiendo la celda en el sobrenadante. La celda utilizada se calibró con una solución de KCl 0,0100 M (Método EPA-9050D).

3.6.4. Determinación de la concentración de persulfato

3.6.4.1. Medida de la concentración de persulfato por espectrofotometría

En un tubo falcon de 15 ml se pesaron aproximadamente 5 g de suelo, se agregaron 5 ml de agua bidestilada. Se mezcló con vortex y luego con shaker durante 5 minutos y se dejó en reposo durante una hora para que decante. Se tomó el sobrenadante y se filtró con membrana de celulosa de 0,45 μm .

Del filtrado se tomaron 100 μl y se colocaron junto con 500 μl de solución NaHCO_3 y KI (0,05 g + 1,0 g en 10 ml de agua bidestilada) en un matraz de 10,00 ml enrasando con agua bidestilada y se mezcló por inversión para homogenizar. Luego de 15 minutos de preparada la mezcla se midió la absorbancia con un espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 entre 200 y 500 nm utilizando celdas de cuarzo de 1,0 cm de camino óptico.

Para el cálculo de la concentración de persulfato se construyó una curva de calibración utilizando patrones de PS realizados por pesada directa (y dilución) y tomando el valor de la

absorbancia a 350 nm (Liang y col., 2008). En la **Figura 3.3** se presenta los espectros de absorción de soluciones patrones de PS y de algunas muestras, a modo de ejemplo.

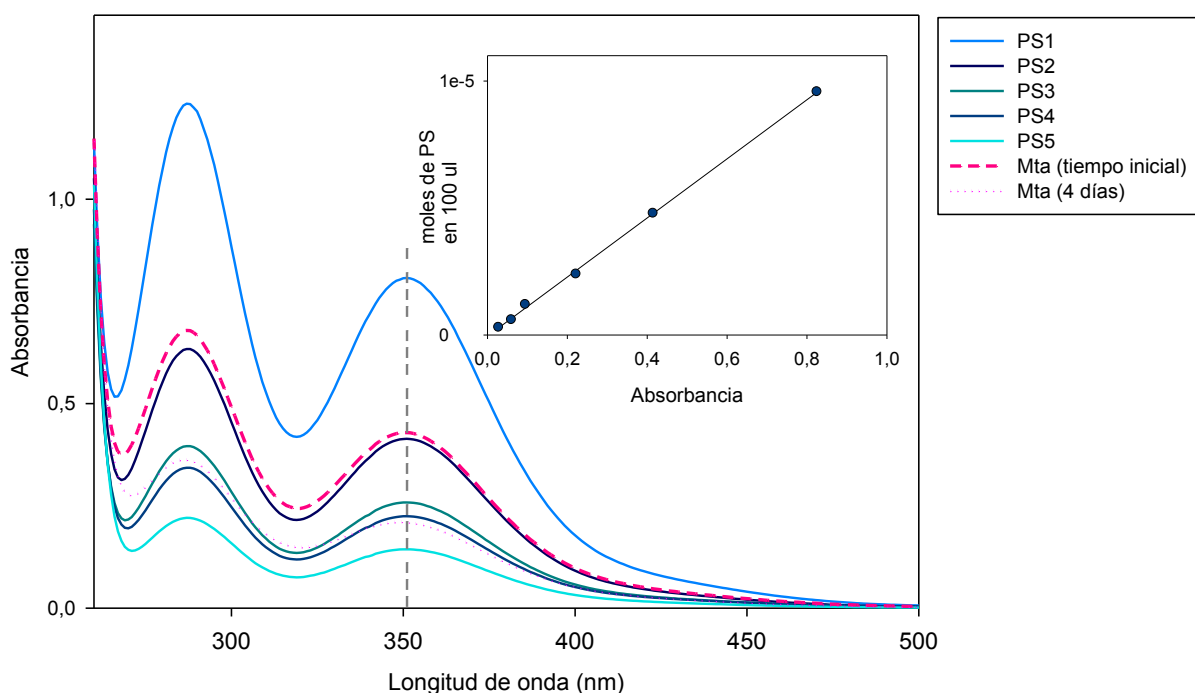
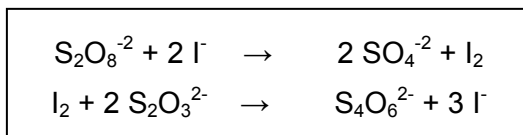


Figura 3.3. Espectros de absorción correspondientes a la determinación de persulfato. Las leyendas PS1, PS2, PS3, PS4, PS5 se corresponden a los patrones de PS de 0,0494; 0,0247; 0,0123; 0,0062 y 0,0031 M respectivamente. Las leyendas Mta se corresponden con espectros de muestra a un tiempo inicial y a los 4 días de comenzado el ensayo.

3.6.4.2. Medida de persulfato por valoración iodométrica

Se realizó por valoración iodométrica por retorno, según se muestra en las siguientes reacciones:



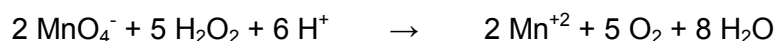
El anión persulfato reacciona con el yoduro de la solución, dando yodo, que se valoró con una solución de tiosulfato de sodio de concentración conocida (Pardo y col., 2015).

Para la valoración se colocaron en un tubo de 100 ml, 4 g de yoduro de potasio, 0,2 g de bicarbonato de sodio, 40 ml de agua bidestilada y 30 µl de la fase acuosa de la muestra. Se mezcló en un agitador durante 15 minutos, pasado este tiempo se le agregó 1 ml de ácido acético 6 N y se procedió a titular mediante un analizador volumétrico y un electrodo ORP (Oxidation Reduction Potencial) de la marca Metrohm, los cuales están conectados a un

ordenador que posee un software (Tiamo®) que indicó las ppm de PS en el punto de equivalencia.

3.6.5. Determinación de la concentración de peróxido de hidrógeno

Se realizó por valoración redox con permanganato de potasio, según muestra la siguiente reacción:



Para ello se colocaron en un tubo de 100 ml 50 µl de muestra perteneciente a los sistemas estudiados con 50 ml de una solución 10 % ácido sulfúrico (para mantener el pH de la reacción ácido y de evitar la descomposición del peróxido de hidrógeno hasta que la valoración haya terminado).

La muestra se valoró con una solución de permanganato de potasio de una concentración aproximada de 0,005 M mediante un analizador volumétrico y un electrodo ORP (Oxidation Reduction Potencial) de la marca Metrohm, los cuales están conectados a un ordenador que posee un software (Tiamo®) que indicó las ppm de PH en el punto de equivalencia.

3.6.6. Determinación de la concentración micelar crítica del surfactante dodecilsulfato sódico

Los surfactantes son moléculas que consisten en una cabeza hidrofílica y una cola hidrofóbica. En soluciones diluidas se encuentran formando monómeros. Sin embargo, cuando la concentración del surfactante excede un valor crítico las colas hidrofóbicas se unen formando un cluster para evitar el contacto con las moléculas de agua, mientras que las cabezas hidrofílicas permanecen en solución (Tsai y col., 2009). Esta organización de un gran número de monómeros se denominan micelas, y la concentración del surfactante en la que se produce este efecto se denomina Concentración Micelar Crítica (CMC) (Paria, 2008). Cuando en la solución hay presencia de contaminantes orgánicos, estos quedan atrapados en la estructura micelar formada por el surfactante, lo cual aumenta la solubilidad del compuesto (Lee y col., 2005).

Se determinó la CMC del SDS a partir de las medidas de tensión superficial en soluciones de diferentes concentraciones del surfactante.

La medida de la tensión superficial en fase acuosa se realizó mediante un tensiómetro KRÜSS K6. Estas se basaron en el método por desprendimiento, donde un anillo de platino se coloca sobre la superficie de la solución estudiada. El anillo está suspendido de una balanza de torsión mediante la cual se mide la fuerza necesaria para separar el mismo de la superficie. Las medidas de tensión superficial se realizaron por triplicado. El equipo se calibró previamente con una solución de agua ultrapura que debe dar un valor de 71 - 72 mN/m.

Para el cálculo de la CMC se realizó un gráfico de tensión superficial vs Log de la concentración (**Figura 3.3**). En concentraciones por debajo de la CMC, la tensión superficial va decreciendo conforme se aumenta mínimamente la concentración de la solución hasta que sufre un cambio abrupto, y luego se mantiene constante. Se puede trazar una recta para cada zona y obtener el valor de la CMC a partir de la intersección de ambas rectas. El valor encontrado fue igual a 0,0076 M, similar a la encontrada en bibliografía (Zhou y Zhu, 2005).

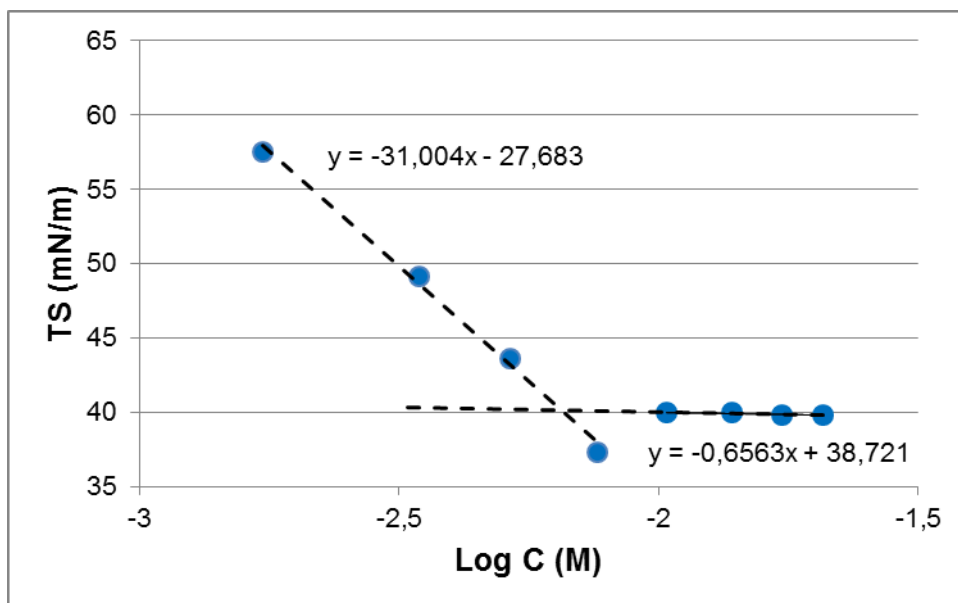


Figura 3.3. Valores de tensión superficial para soluciones de distinta concentración del surfactante dodecilsulfato sódico (SDS).

3.6.7. Determinación de la concentración de surfactante

El análisis de SDS se llevó a cabo por valoración con Hyamina 0,9 mM. Para esto se colocó en 1 ml de muestra con surfactante, 40 ml de agua y 10 ml de una mezcla orgánica de MIBK (Metil isobutil cetona) y etanol 1/1 en un frasco de 100 ml.

Con esta mezcla se obtuvo un sistema con dos fases líquidas. En la zona de la interfase se introdujo un electrodo selectivo de surfactantes aniónicos (6.0507.140 Surfactro de Refill) específico para análisis en dos fases y el electrodo de referencia (Ag/AgCl, 6.0726.100). Para calcular la concentración de la muestra se construyó una curva de calibración a partir de patrones preparados por dilución de una solución madre.

3.6.8. Determinación de la concentración de hidrocarburos por HPLC-UV

3.6.8.1 Determinación de la concentración de fenantreno en los sistemas BH

Para el análisis de la concentración de FEN se realizó una extracción en un tubo falcon de 50 ml, se pesó aproximadamente 1 g de muestra y se agregaron 10 ml de acetato de etilo. Se sonicó durante 1 hora utilizando un baño ultrasónico Teslab Ultrasonic TB04TA, 40 kHz, 160 W (Song y col. 2007). Se centrifugó a 2000 rpm en una centrifuga Presac DSC-16-RV y se filtró el extracto con membrana de nylon de 0,45 μm .

La concentración de FEN en dicho extracto se determinó por HPLC. Se utilizaron dos equipos: HPLC-UV Waters con detector de arreglo de diodos, o HPLC 1050 Hewlett-Packard con detector de longitud de onda múltiple. Se utilizó una columna C18 (Symmetry, tamaño de partícula 5 μm , 4,6 x 150 mm con un flujo constante de 1 ml/min o Restek Pinnacle II, tamaño de partícula 5 μm , 2,1 mm x 250 mm con un flujo constante de 0,5 ml/min) y una mezcla de H_3PO_4 15 mM : metanol (80:20) como solvente de corrida. Se determinó el área utilizando 250 nm como la absorbancia de detección. Para cada determinación se construyeron las curvas de calibración correspondientes.

3.6.8.2. Determinación de concentración de hidrocarburos en los SB₁ y SB₂

Para la determinación de FEN y PIR se separó la fase acuosa (FA) y la fase tierra (FT) mediante centrifugación a 5200 rpm. Se tomó la FA con ayuda de pipeta y se la colocó en un nuevo tubo falcon de 50 ml. Sobre cada fase se le realizó una extracción diferente (detallada a continuación) que luego fue cuantificada por HPLC-UV.

Para la extracción de los hidrocarburos en la FA se agregaron 5 ml de diclorometano al tubo falcon. Se sonicó durante 30 minutos, se retiró el solvente con ayuda de pipeta y se colocó en un frasco caramelo hasta evaporación. Luego se resuspendió en 2 ml de acetato de etilo,

se sonicó durante 10-15 minutos, se filtró con membrana de nylon 0,45 μm y se colocó en vial para su posterior medida.

La FT se mezcló con 10 g de Na_2SO_4 anhidro, se mezcló con espátula y se dejó secar durante una hora. Pasado este tiempo, se homogenizó la muestra con ayuda de mortero. Para realizar la extracción de los PAH se colocaron 15 g de mezcla (preparada anteriormente) en un tubo falcon de 50 ml con 20 ml de acetato de etilo. Se sonicó durante una hora, se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos y se separó el acetato de etilo. Este extracto se filtró con membrana de nylon de 0,45 μm y se guardó en vial. Este procedimiento se realizó 3 veces para extraer la totalidad de FEN y PIR de la muestra en FT, cada vez se colocó la muestra en un nuevo vial.

Los extractos fueron analizados de la misma manera que se detalla para FEN en el **inciso 3.6.8.1**.

3.6.8.3. Determinación de concentración de hidrocarburos en los SB_3 y SB_4

Se separaron la FA y FT utilizando una centrifuga MEDIFRIGER BL-S de Selecta a 7000 rpm.

La FA se colocó en un tubo de PTFE aproximadamente 2,5 ml de la FA y 10 ml de n-hexano. A los sistemas que tenían surfactantes se les agregó NaCl (para romper la emulsión) y se los agitó vigorosamente. Se centrifugó, se filtró con membrana de nylon de 0,45 μm y se colocó en un vial para medir por HPLC. Cabe destacar que no se detectaron concentraciones significativas de PAH en los extractos orgánicos provenientes de la fase acuosa (<1% respecto del extracto orgánico proveniente del suelo) en ninguno de los tratamientos.

La extracción de FEN y PIR de la FT se realizó con un extractor Soxhlet. Se mezcló la totalidad de la tierra con 10 g de sulfato de sodio anhidro, se colocó en un cartucho de papel de celulosa y luego en el cuerpo del Soxhlet. A continuación se agregó 80 ml de una mezcla 1:1 de n-hexano y acetona. El tiempo de reflujo fue de aproximadamente 16 h a 60 - 70 $^{\circ}\text{C}$ (Método EPA 3540C). El extracto obtenido se filtró con membrana de nylon 0,45 μm y se colocó en vial.

Para el análisis de estos extractos se empleó un HPLC (Agilent, mod. 1100) acoplado a un detector de arreglos de diodos Agilent 1290, la columna utilizada fue SB-C18 (2,7 μm tamaño de partícula y 2,1 mm x 100 mm), el solvente de corrida fue una solución acuosa de H_3PO_4 15 mM : acetonitrilo, en una proporción 40:60. Se utilizó un flujo constante de 1 ml/min. Las áreas se registraron a 250 nm (fenantreno y antraceno), 235 nm (pireno) y

295 nm (benzo(a)pireno). Para determinar la concentración de los PAH se realizaron curvas de calibración por pesada directa con cada uno de los PAH ensayados.

3.6.9. Análisis y cuantificación de intermediarios de reacción

El análisis de productos de degradación química se realizó con 20 ml del extracto orgánico obtenido para la cuantificación de los PAH por HPLC (inciso **3.6.8.2**). Este extracto se dejó evaporar y se resuspendió en 5 ml de hexano. Se utilizó un cromatógrafo de gases con espectroscopia de masas con SPME (microextracción en fase sólida) HP 6890 GC 5973 MSD. La columna utilizada fue una HP-5 (30 m x 0,32 mm i.d. x 0,25 μm). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura de inyección 280 °C, gas carrier (He), flujo: 2 ml.min⁻¹, volumen de inyección 8 μl (en modo splitless). La temperatura del horno se fijó inicialmente a 45 °C. Luego como primer paso se aumentó la temperatura a 150 °C a una tasa de 5°C por minuto y como segundo paso a 325 °C a una tasa de 8°C por minuto. El tiempo final de corrida fue de 62,88 minutos. A partir de los resultados obtenidos, se identificó como intermediario de reacción 9,10-Antraquinona (ANQ).

Este producto de degradación fue cuantificado utilizando HPLC (Agilent, mod. 1100, con arreglos de diodos Agilent 1290), a partir del mismo extracto obtenido para la cuantificación de los PAH por HPLC. Para determinar la concentración de ANQ se realizaron curvas de calibración por pesada directa de hidrocarburo. Además, se realizaron patrones con fenantrenodiona con el objetivo de visualizar su presencia.

3.6.10. Medida de hierro mediante absorción atómica

Se determinó la concentración de Fe total en la fase acuosa de sistemas batch (SB₁ y SB₂). Para esto, 10 g de TS (sin contaminar/prístino) con 20 ml de una solución de PS de 267 g_{PS}/kg_{TS} se colocaron frascos de vidrios en shaker a 25 °C y a 65 °C. Las muestras se retiraron luego de 6 horas. La FA se separó mediante centrifugación a velocidad 5000 rpm durante 10 minutos, se filtró con membrana de celulosa de 0,45 μm . Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA 6650. Para la cuantificación de la [Fe total] se realizó una curva de calibración diluyendo un patrón comercial de 1000 ppm de Fe en solución de EDTA de 0,2M.

En el caso de los sistemas SB₃ la cuantificación de la concentración de hierro de la FA se realizó a partir de 0,5 ml de la FA (previamente filtrada con filtro de celulosa de 0,45 μm) con 0,1 ml de HNO₃ concentrado y agua bidestilada hasta llegar a un volumen final de 10 ml. La

solución se midió con un espectrofotómetro de emisión atómica por plasma de microondas MP-AES 4100 Agilent. Para determinar la [Fe total] se utilizó una curva con patrones preparados a partir de una solución madre de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

3.7. Análisis microbiológico del suelo

3.7.1 Bacterias heterótrofas cultivables

El recuento de bacterias heterótrofas se realizó de distinta manera para los sistemas de baja humedad (BH) y para los sistemas batch (SB), los detalles se explican a continuación:

- Sistemas con bajo porcentaje de humedad (BH):

Se tomaron aproximadamente 10 g de tierra húmeda de cada sistema y se resuspendieron en 90 ml de solución fisiológica previamente esterilizada por autoclave. Se agitó en shaker a 250 rpm durante 30 minutos a 30 °C. Se dejó decantar durante 10 minutos y se prepararon diluciones seriadas 1/10 en tubos Eppendorf® con solución fisiológica.

Se sembraron por duplicado 100 μl de cada una de las diluciones en placas con medio de cultivo R2A. La preparación del medio R2A se detalla en el **Anexo I**. Se distribuyó la muestra cuidadosamente utilizando una espátula de Drigalsky. Se incubaron las muestras a (24 ± 2) °C durante 7 días. Pasado ese tiempo se realizó el recuento de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Las placas tomadas como válidas fueron aquellas que presentan entre 30 y 300 UFC. Se calculó el logaritmo de las UFC por ml de muestra (Reasoner y Geldreich, 1985).

- Sistemas batch

Para los recuentos de los sistemas SB se prepararon diluciones seriadas 1/10 del sobrenadante perteneciente a la FA a partir de la que se hicieron los recuentos en el medio de cultivo R2A como se explicó anteriormente para los BH.

3.7.2 Bacterias degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos

El recuento de bacterias degradadoras de PAH se realizó a partir de las diluciones preparadas para el recuento de bacterias heterótrofas totales, detallado anteriormente tanto para los sistemas BH como para los SB (inciso **3.7.1**).

Se emplearon placas de microtitulación de 96 pocillos (Microtiter fondo plano). Como sustrato se utilizaron 20 μ l de una mezcla de PAH en pentano (0,0250 g de fenantreno, 0,0125 g de fluoreno, 0,0125 g de antraceno y 0,0125 g de dibenzotiofeno en 25 ml finales de pentano). El pentano se evapora rápidamente dejando una capa fina de PAH en el fondo de cada pocillo. Finalmente se agregaron 180 μ l de medio mineral líquido (MML) y 20 μ l de la dilución seriadas (1/10) por octuplicado pertenecientes a las muestras (Bogardt y Hemmingsen, 1992).

Las placas sembradas se incubaron a (24 ± 2) °C durante 21 días. Al finalizar este período se registraron los pocillos positivos en los cuales se observó coloración amarillo–naranja a marrón debido a la acumulación de los productos parciales de oxidación de los PAH. El resultado se expresó como Log del NMP de bacterias degradadoras de PAH por gramo de tierra seca (Lors y col., 2010).

3.8. Análisis molecular

3.8.1 Extracción de ADN de los microorganismos presentes en el suelo

La extracción de ADN de los microorganismos presentes en la muestra de suelo se realizó en aproximadamente 1 g de muestra siguiendo los pasos descritos en el manual del Kit comercial E.Z.N.A TM Soil DNA (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA) a los 7, 14 y 28 días de tratamiento. Los extractos de ADN obtenidos se colocaron en tubos estériles adecuados y se guardaron en el freezer a -20°C hasta el momento de la amplificación.

3.8.2 Amplificación del gen 16S rRNA mediante técnicas de PCR

Se utilizó un par de *primers* que amplifican las regiones hipervariables V3-V5 (341F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3') y 907R (5'-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3')) del rDNA 16S (Muyzer y col., 2004).

La reacción de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) contenía 2 - 4 μ l de ADN, 0,12 μ l de polimerasa GoTaq (5UI/ μ l), 6 μ l de buffer 5X recomendado por el fabricante de la GoTaq polimerasa, 2,4 μ l de dNTPs 2,5 mM, 3 μ l de *primer* 907-R 5 μ M y de 341-F 5 μ M, 0,6 μ l de seroalbúmina bovina (BSA) 10 mg/ml y agua bidestilada estéril completando un volumen total de 30 μ L de mezcla de reacción.

La amplificación fue realizada en el Termociclador (Eppendorf Mastercycler thermocycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) usando un programa de PCR que se describe a continuación: un ciclo de desnaturalización inicial que llevó la muestra a 94°C durante 4 minutos, se realizaron luego 10 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos a 62°C siendo ésta la temperatura de annealing, y 1 minuto a 72°C. Luego se realizaron 25 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 s a 57°C, y 1 minuto a 72°C; y el paso final de extensión de 10 minutos a 72°C.

Los productos de amplificación se sometieron a una electroforesis en gel de agarosa 1,2 % con TAE como buffer de corrida, a 100 V durante 30 minutos. Posteriormente el gel se tiñó con bromuro de etidio (10 mg/ml) y los productos de amplificación se visualizaron en un transiluminador UV (National Labnet Company, Modelo TM-26).

3.8.3 Electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante

La electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE) se realizó utilizando el equipo DGGE-2401 (C.B.S Scientific Co., Del mar, CA, USA). El producto de amplificación de la PCR fue sembrado directamente en gel de poliacrilamida 6% (p/v) (acrilamida N,N'-metilen-bisacrilamida, 37,5:1).

El gel contenía un gradiente desnaturalizante lineal de (40 - 75) % (100% del desnaturalizante corresponde a 7M de urea y 40% p/v de formamida). La electroforesis se realizó en buffer TAE 1X (40 mM Tris (pH 8,1), 20 mM de ácido acético, 1mM de Na₂EDTA) a una temperatura de 60°C.

Una pre-corrída fue llevada a cabo a 50 V durante 30 minutos, seguida por la corrída principal a un voltaje constante de 100 V durante 16 horas.

Luego de la electroforesis el gel fue teñido durante 30 minutos con SYBR Gold al cual se fotografió con un sistema de documentación de imágenes (Bio - Rad; Hercules, CA, USA).

Una vez obtenido el gel de DGGE con las muestras de cada sistema, el gel se digitalizó en una cámara-CCD y se analizó utilizando el software GelComparII (AppliedMaths, Kortrijk, Belgium). Se determinaron las densidades ópticas de las bandas. Estos perfiles de densidad sirvieron como base para calcular la matriz de similitud usando el coeficiente de Pearson y la posterior construcción del dendrograma (UPGMA) (Sokal y Michener, 1958). Los números de cada rama representan las correlaciones cofenéticas, las cuales nos muestran cuán bien la estructura jerárquica del dendrograma representa a las verdaderas distancias. La matriz de similitud obtenida utilizando el GelComparII (AppliedMaths, Kortrijk, Belgium) se analizó posteriormente con el paquete estadístico Primer 6 (versión 6.1.13; Primer-E Ltd., United Kingdom).

3.8.4. Cálculo del Índice de Shannon

El índice de Shannon contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza de especies), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (abundancia). Los datos obtenidos del perfil de bandas a través del GelCompar II (curva densitométrica), fueron utilizados para calcular los índices de diversidad de Shannon (H') utilizando el programa Primer6 versión 6.1.6. Para éste análisis cada banda fue tratada como una unidad taxonómica independiente (OTU).

3.9. Análisis estadístico

Los valores de pH, CE, el número de bacterias heterótrofas cultivables y degradadoras de PAH y concentración de hidrocarburos se compararon mediante el test de análisis de varianza (ANOVA) $p \leq 0,05$. Se realizó un análisis de two-way ANOVA post-hoc test Tukey (HSD) utilizando el paquete estadístico XLStat-Pro versión 7.5.2 (Addinsoft SARL, France).

3.10. Referencias

- Bogardt, a. H., Hemmingsen, B.B., 1992. Enumeration of phenanthrene-degrading bacteria by an overlayer technique and its use in evaluation of petroleum-contaminated sites. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2579–2582.
- Holman, H.Y., Tsang, Y.W., 1995. Influence of soil moisture on biodegradation of petroleum hydrocarbons. *situ aeration air sparging, bioventing, Relat. Remediat. Process.* 323–332.
- Lee, M., Kang, H., Do, W., 2005. Application of nonionic surfactant-enhanced in situ flushing to a diesel contaminated site. *Water Res.* 39, 139–146. doi:10.1016/j.watres.2004.09.012
- Lemaire, J., Laurent, F., Leyval, C., Schwartz, C., Buès, M., Simonnot, M.O., 2013. PAH oxidation in aged and spiked soils investigated by column experiments. *Chemosphere* 91, 406–414. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.12.003
- Liang, C., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., 2004. Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. II. Activated by chelated ferrous ion. *Chemosphere* 55, 1225–1233. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.01.030
- Liang, C., Chien, Y.-C., Lin, Y.-L., 2012. Impacts of ISCO Persulfate, Peroxide and Permanganate Oxidants on Soils: Soil Oxidant Demand and Soil Properties. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 21, 701–719. doi:10.1080/15320383.2012.691129
- Liang, C., Huang, C.-F., Mohanty, N., Kurakalva, R.M., 2008. A rapid spectrophotometric determination of persulfate anion in ISCO. *Chemosphere* 73, 1540–1543. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.08.043
- Lors, C., Ryngaert, A., Pèrèi, F., Diels, L., Damidot, D., 2010. Evolution of bacterial community during bioremediation of PAHs in a coal tar contaminated soil. *Chemosphere* 81, 1263–1271. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.09.021
- Mesbaiah, F.Z., Mansour, F., Eddouaouda, K., Badis, a, 2014. Surfactant effects on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Desalin. Water Treat.* 37–41. doi:10.1080/19443994.2014.988651
- Método EPA 9045D: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-2/documents/9045d.pdf>
13/04/16
- Método EPA 9050D: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-2/documents/9050a.pdf>
13/04/16
- Método EPA 3550C: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-2/documents/3550c.pdf>
13/04/16
- Método EPA 3540C: <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/EPA-Method-3540C.pdf>
13/04/16

- Muyzer, G., Brinkhoff, T., Nübel, U., Santegoeds, C., Schäfer, H., Wawer, C., Kowalchuk, G.A., Bruijn, F.J. de, Head, I.M., Akkermans, A.D.L., Elsas, J.D. van, 2004. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. 743–769.
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2015. Remediation of a Biodiesel Blend-Contaminated Soil with Activated Persulfate by Different Sources of Iron. *Water, Air, Soil Pollut.* 226. doi:10.1007/s11270-014-2267-4
- Paria, S., 2008. Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water. *Adv. Colloid Interface Sci.* 138, 24–58. doi:10.1016/j.cis.2007.11.001
- Reasoner, D.J., Geldreich, E.E., 1985. A new medium for the enumeration and subculture of Bacteria from potable water. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1–7.
- Rodriguez, S., Vasquez, L., Costa, D., Romero, a., Santos, a., 2014. Oxidation of Orange G by persulfate activated by Fe(II), Fe(III) and zero valent iron (ZVI). *Chemosphere* 101, 86–92. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.12.037
- Saelee, R., Bunyakan, C., 2012. Degradation Kinetics of Fe-EDTA in Hydrogen Sulfide Removal Process. *ISRN Chem. Eng.* 2012, 8. doi:10.5402/2012/740429
- Song G, Lu C, Lin JM (2007) Application of surfactants and microemulsions to the extraction of pyrene and phenanthrene from soil with three different extraction methods. *Anal Chim Acta* 596: 312–318
- Sokal, R.R., Michener, C.D., 1958. *A Statistical Method for Evaluating Systematic Relationships*. University of Kansas
- Trevors, J.T., 1996. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. *J. Microbiol. Methods* 26, 53–59. doi:10.1016/0167-7012(96)00843-3
- Tsai, T.T., Kao, C.M., Yeh, T.Y., Liang, S.H., Chien, H.Y., 2009. Application of surfactant enhanced permanganate oxidation and biodegradation of trichloroethylene in groundwater. *J. Hazard. Mater.* 161, 111–119. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.03.061
- Tsitonaki, A., Petri, B., Crimi, M., Mosbæk, H., Siegrist, R.L., Bjerg, P.L., 2010. In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater Using Persulfate: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 40, 55–91. doi:10.1080/10643380802039303
- Vicente, F., Santos, A., Romero, A., Rodriguez, S., 2011. Kinetic study of diuron oxidation and mineralization by persulphate: Effects of temperature, oxidant concentration and iron dosage method. *Chem. Eng. J.* 170, 127–135. doi:10.1016/j.cej.2011.03.042
- Zhou, W., Zhu, L., 2005. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by anionic-nonionic mixed surfactant. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 255, 145–152. doi:10.1016/j.colsurfa.2004.12.039



Capítulo 4

Persistencia en los suelos de los oxidantes utilizados



4. Persistencia en suelos de los oxidantes estudiados

4.1. Introducción

El anión persulfato es un oxidante fuerte que reacciona lentamente con los contaminantes. Sin embargo, su activación mediante temperatura, luz UV, medio alcalino o metales de transición genera radicales sulfato ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) que reaccionaran rápidamente con contaminantes (Huang y col., 2005; Tsitonaki y col., 2010; Zhao y col., 2013).

La activación de oxidantes mediante metales como el hierro, presenta particular interés debido a que en el suelo podemos encontrar minerales que lo contienen como: goetita ($\alpha\text{-FeOOH}$), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), magnetita (Fe_2O_3) y ferrihidrita ($\alpha\text{-Fe}_{10}\text{O}_{15}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (Fang y col., 2013; Tyre y col., 1991; Zhao y col., 2015).

Varios investigadores comprobaron la activación de persulfato de sodio (PS) (Do y col., 2010) y de peróxido de hidrógeno (PH) (Goi y col., 2009) mediante los minerales presentes en el suelo. Sin embargo, Ahmad y colaboradores (Ahmad y col., 2010), plantearon que los niveles normales de hierro en el suelo pueden no ser suficiente para reaccionar con el oxidante, lo cual implica una gran limitación.

En primer lugar se estudió la estabilidad del anión persulfato en soluciones acuosas de persulfato de amonio (PSN) y persulfato de sodio (PS) (detallados en el Capítulo 3 **Tabla 3.3**), sin el agregado de activantes.

Luego, con el objetivo de estudiar la activación del anión persulfato y de PH a partir de las especies solubles de Fe presente en el suelo, se prepararon:

- Con el Suelo I: un tratamiento con PSN (24,9 % humedad), varias condiciones con PS donde la variable estudiada fue el porcentaje de humedad (%H, detallados en el Capítulo 3 **Tabla 3.4**). El objetivo de aumentar este parámetro, es que las especies solubles capaces de activar el PS se encuentren en concentraciones decrecientes (conforme aumentaba el porcentaje de humedad).
- Con el Suelo II: en sistemas batch (relación suelo:agua 1:2) un tratamiento con PS y uno con PH. La concentración de los oxidantes utilizada fue 100 g/Kg_{TS} para PS y 56,66 g/Kg_{TS} para PH.

4.2. Estudio de la estabilidad de soluciones de persulfato de sodio y persulfato de amonio

Con el objetivo de estudiar la estabilidad de PS y PSN en solución acuosa, se prepararon sistemas con concentraciones crecientes de PS (B_w , C_w , D_w , E_w , F_w , G_w) y un sistema con PSN (A_w), los detalles experimentales puede verse en la **Tabla 3.3**, del Capítulo 3. La **Figura 4.1** muestra la concentración del anión persulfato para los sistemas estudiados durante 14 días.

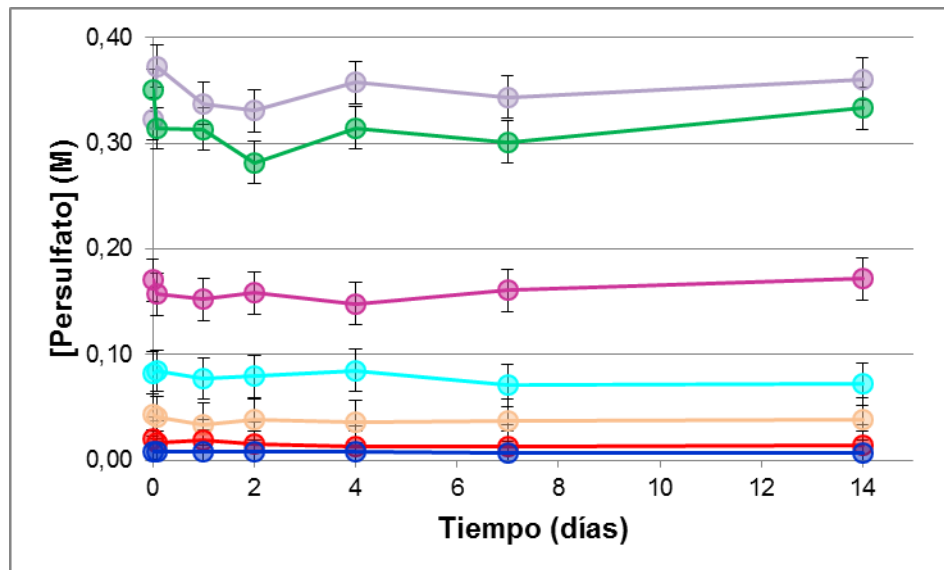


Figura 4.1. Evolución de la concentración de soluciones de persulfato de amonio A_w (\bullet), y soluciones de persulfato de sodio en distintas concentraciones B_w (\bullet), C_w (\bullet), D_w (\bullet), E_w (\bullet), F_w (\bullet) y G_w (\bullet) en el tiempo. Las barras de error representan la desviación estándar.

En todos los sistemas, independientemente de la concentración de PS o PSN utilizada, no se observaron variaciones significativas en la concentración del oxidante utilizado. Solamente una disminución aproximadamente del 5% fue observada luego de 14 días (**Figura 4.1**).

Los valores de pH de todos los sistemas fueron ácidos. Luego del agregado de oxidante se midieron valores menores que 4,5 para todos, los cuales disminuyeron aproximadamente una unidad luego de 14 días.

4.3. Persistencia de persulfato en presencia del Suelo I

Con el objetivo de estudiar la descomposición del anión persulfato en el suelo I (**Tabla 3.1**, Capítulo 3) se realizaron ensayos con PSN (A) y PS (B, C, D, E, F, G). Estos últimos fueron preparados con iguales cantidad de suelo prístino y persulfato pero variando los volúmenes

de agua (por lo que la concentración de anión persulfato en la fase acuosa fue diferente en cada uno). La concentración de persulfato se determinó a distintos tiempos (inicial, 2 horas, 1, 2, 4, 7 y 14 días). Los detalles de estos sistemas pueden verse en la **Tabla 3.4**, del **Capítulo 3**. En el caso de A y B, se prepararon teniendo en consideración el porcentaje de humedad del suelo de la zona (la misma que se utilizó en los tratamientos de BH, descritos en el Capítulo 5 como “Baja Humedad”).

En la **Figura 4.2** se muestra la evolución de la concentración normalizada de persulfato ($[\text{persulfato}]/[\text{persulfato}]_0$) de los sistemas a lo largo de 14 días. A partir de estos datos se estimó el tiempo necesario para reducir la concentración de persulfato a la mitad de la inicial, es decir, el tiempo de vida medio ($t_{1/2}$). La correlación de los $t_{1/2}$ con el porcentaje de humedad se muestra en la **Figura 4.3**.

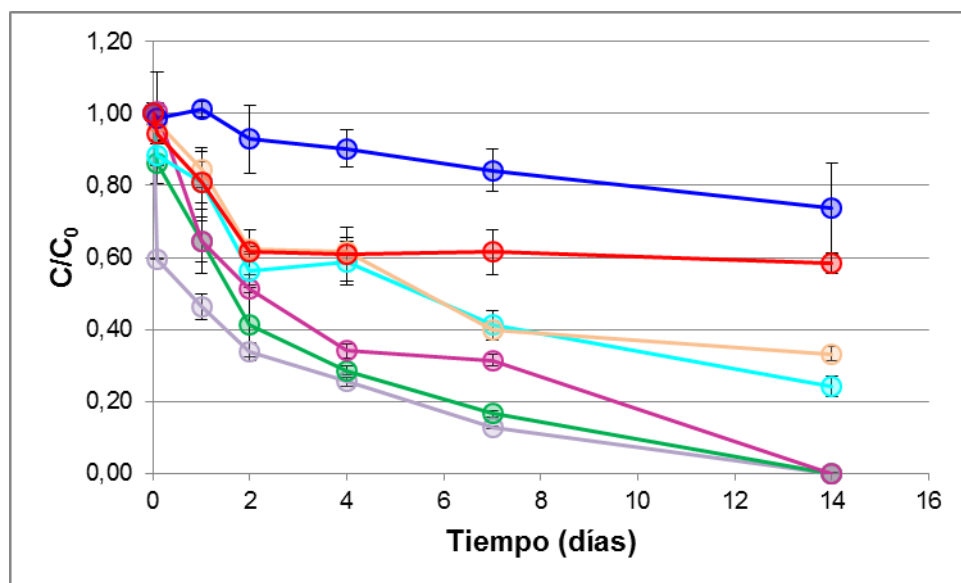


Figura 4.2. Evolución de la concentración de persulfato de amonio para los sistemas A (●), y persulfato de sodio B (●), C (●), D (●), E (●), F (●) y G (●) con el tiempo. Las barras de error representan la desviación estándar.

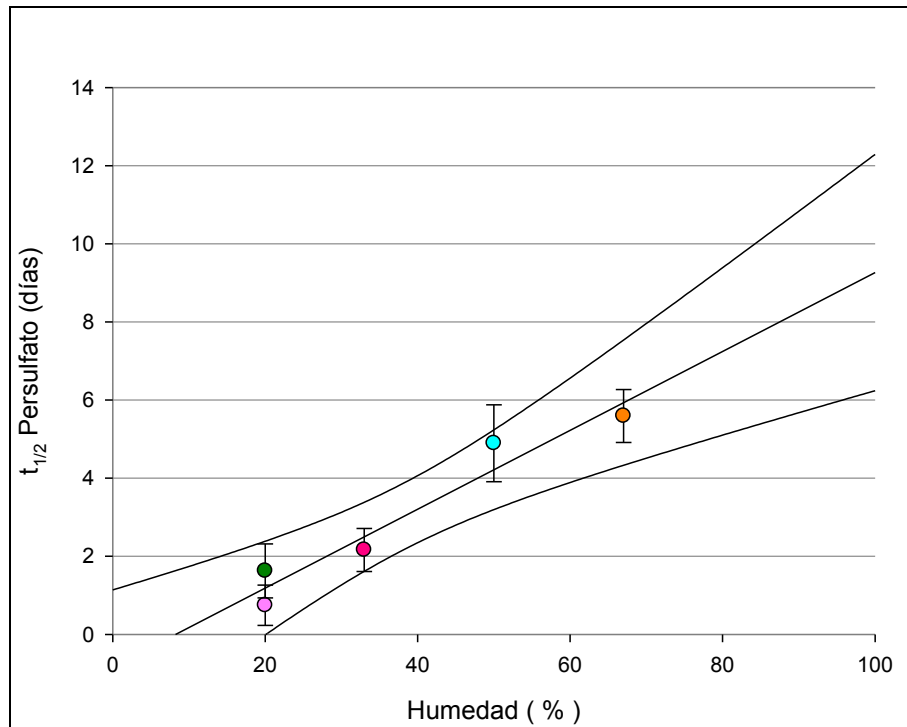


Figura 4.3. Correlación entre el tiempo de vida medio del anión persulfato con el porcentaje de humedad en suelo. Los puntos se corresponden a los sistemas A (●), B (●), C (●), D (●), E (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

La desaparición del anión persulfato en los sistemas de igual concentración (A y B) fue más rápida cuando se utilizó PSN (A). En A, B y C la descomposición del anión persulfato fue completa luego de 14 días. Para D y E (20 y 10 g_{PS}/L, respectivamente) el porcentaje de PS remanente fue de 24 y 33 %, respectivamente. En el caso de F (4 g_{PS}/L) y G (2 g_{PS}/L), que tuvieron el mayor volumen de agua la descomposición fue menor al 50% de la concentración inicial luego de 14 días: 42% para F mientras que para G fue del 27%.

El tiempo de vida medio para cada condición se determinó por interpolación de cada curva de decaimiento (**Figura 4.2**) en el momento en que la descomposición del PS fue del 50%. En el caso de F y G no se incluyeron en los cálculos, debido a que en el momento de finalizar el ensayo no se había alcanzado el 50% de descomposición del oxidante. El tiempo de vida medio del anión persulfato aumentó con el mayor contenido de humedad. La regresión lineal por cuadrados mínimos dio un valor de ordenada al origen de (-0,9 ± 0,8) y una pendiente de (0,10 ± 0,02) con un r² de 0,97.

4.4. Persistencia de persulfato de sodio y peróxido de hidrógeno en presencia del Suelo II

Se estudió la persistencia de los oxidantes utilizados en el Suelo II (**Tabla 3.1**, Capítulo 3) con el objetivo de comprobar que los minerales de hierro presentes en este suelo pueden activar tanto PS como PH. Para ello se utilizaron sistemas batch con una relación suelo:agua 1:2.

La concentración de los oxidantes utilizada fue 56,66 g/kg_{TS} para PH y 100 g/kg_{TS} para PS. Los resultados que se muestran en la **Figura 4.4** se calcularon a partir de los porcentajes de descomposición publicados para este suelo (Pardo y col., 2015, 2014).

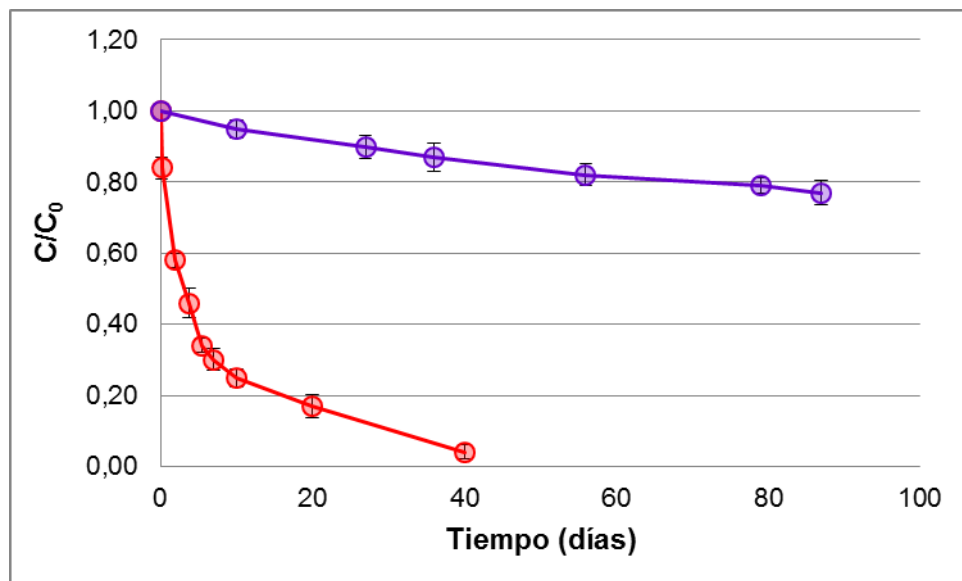


Figura 4.4. Evolución de la concentración de peróxido de hidrógeno (●) y persulfato de sodio (●) con el tiempo. Las barras de error representan la desviación estándar.

Para el sistema con PH se observó una mayor velocidad en la descomposición del oxidante durante los primeros diez días, luego de 40 días el oxidante fue cercano al 98%. En el caso de PS, la persistencia fue mayor con respecto a PH. Luego de 80 días se observó una descomposición solo del 20%. (**Figura 4.4**).

4.5. Discusión

Las soluciones acuosas de persulfato (PS y PSN) presentan gran estabilidad, independientemente de la concentración de la sal utilizada (**Figura 4.1**). Las soluciones son ácidas y el pH disminuye luego de los 14 días, como consecuencia de la descomposición del 5% del persulfato, como describieron otros autores en sistemas similares (Huang y col., 2005; Liang y col., 2008; Tsitonaki y col., 2008).

Sin embargo, se sabe que cuando en el medio de reacción hay presencia de metales (como hierro, cobre, plata, manganeso, cesio o cobalto) (Liang y col., 2004) el anión persulfato se descompone rápidamente en radicales sulfato. Dentro del grupo de metales con capacidad de producir la activación, el hierro es uno de los más estudiados, ya que siempre se encuentra presente en el suelo en forma de minerales como ferrihidrita, goetita, magnetita, entre otros (Petri y col., 2011).

Por lo tanto, la eficiencia de la descomposición del PS, tienen una fuerte dependencia con la cantidad de óxidos de hierro y manganeso presente en el suelo a remediar (Ahmad y col., 2010).

En los dos suelos utilizados en esta tesis se midió la concentración inicial de hierro mediante digestión ácida, encontrándose valores similares, 14580 y 18200 ppm para los Suelos I y II respectivamente (ver **Tabla 3.1**).

En el caso del Suelo I, en todos los tratamientos, con distintos porcentajes de humedad (A, B, C, D, E, F y G), se pudo observar la activación del anión persulfato (**Figuras 4.2**).

Los sistemas A y B, fueron preparados con el mismo %H (el normal del suelo de la zona) pero con un catión diferente, amonio y sodio respectivamente. La descomposición del anión persulfato en estos sistemas fue cercana al 50% luego del primer día (**Figura 4.2**) lo que indica que las condiciones naturales del Suelo I son suficientes para activar eficientemente al anión persulfato.

Cuando se utilizó NH_4^+ , se observó que la descomposición del anión persulfato fue ligeramente mayor. Neta y colaboradores (Neta y col., 1988), estudiaron reacciones entre radicales y distintos compuestos, entre ellas la reacción del radical sulfato y amonio, determinando una constante de velocidad de $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. No se informaron reacciones con el catión sodio. Esto podría ser la razón por la cual, distintos cationes que forman la sal reaccionan con velocidades ligeramente diferentes.

Para los sistemas restantes (B, C, D, E, F y G), el aporte de diferentes cantidades de agua influyó en la descomposición del anión persulfato (distintos %H). En aquellos sistemas que presentaron un mayor volumen de agua la formación del radical sulfato disminuyó notoriamente. Una posible causa de este último resultado, es que la concentración de los posibles activantes se diluyó mediante el agregado de agua. Por lo tanto se decidió estudiar la concentración de hierro en la fase acuosa de los tratamientos D, E, F y G (mediante inyección directa del sobrenadante filtrado, sin extracción con EDTA). Para todas las muestras la cantidad de Fe se mantuvo constante, en una concentración de $0,2 \pm 0,1$ ppm. Estos valores indican que la presencia de Fe en la fase acuosa no fue la responsable de las diferencias observadas en estos sistemas.

Sin embargo, otros compuestos presentes en el suelo podrían ser los responsables de este comportamiento. Por ejemplo se ha mencionado los óxidos de manganeso (Ahmad y col., 2010) y el efecto de minerales de Fe no solubles.

En el caso del Suelo II, los estudios de persistencia se realizaron en sistemas batch (suelo:agua, 1:2) para compararlos con los tratamientos que se describen en el Capítulo 7. Para el sistema con PH se observó una mayor velocidad en la descomposición del oxidante durante los primeros diez días (**Figuras 4.4**). Luego de esta primera etapa, la velocidad disminuye significativamente. A los 20 días de reacción la desaparición del oxidante fue del 81%. Vicente y colaboradores (Vicente y col., 2011) reportaron un comportamiento similar con PH en sistemas donde se utilizaron suelos con distinta cantidad de materia orgánica y diferentes agentes quelantes del hierro. En el caso de PS, se observó una descomposición de ~23% luego del tiempo estudiado (83 días).

Estos resultados de desaparición de los oxidantes estudiados con el tiempo están de acuerdo con lo observado por Liang y colaboradores (Liang y col., 2012). Estos investigadores informaron que la concentración de PH disminuyó más rápidamente que la del PS, debido a los componentes del suelo. Por esta razón cuando se utiliza PH como oxidante se suelen utilizar mayores cantidades con respecto a PS.

La activación de los oxidantes estudiados fue posible en ambos suelos. Cabe destacar que una vez formados los radicales sulfato o hidroxilo, se espera que reaccionen con los contaminantes. Sin embargo, en matrices complejas como el suelo, hay que considerar que parte de los radicales puede perderse por reacciones secundarias con la materia orgánica o los microorganismos del suelo (Richardson y col., 2011). Por esta razón, la elección de la concentración de oxidante utilizado debe contemplar estas pérdidas inespecíficas, además de la cantidad estequiométrica necesaria para degradar completamente el contaminante a tratar (Romero y col., 2009).

4.6. Conclusiones

Cuando realizamos un tratamiento de oxidación química con el objetivo de remover un contaminante, es de particular interés conocer las características físicas, químicas y biológicas del suelo a tratar, como el comportamiento que tendrá el oxidante en ese suelo en particular.

Para el Suelo I, se observó que la velocidad de activación del oxidante depende del contenido de agua (humedad) del sistema.

En los dos suelos utilizados, se observó la descomposición tanto de persulfato como de peróxido de hidrógeno, posiblemente debido a los minerales de hierro presente.

4.7. Referencias

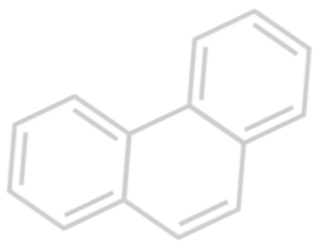
- Ahmad, M., Teel, A.L., Watts, R.J., 2010. Persulfate activation by subsurface minerals. *J. Contam. Hydrol.* 115, 34–45. doi:10.1016/j.jconhyd.2010.04.002
- Do, S.H., Kwon, Y.J., Kong, S.H., 2010. Effect of metal oxides on the reactivity of persulfate/Fe(II) in the remediation of diesel-contaminated soil and sand. *J. Hazard. Mater.* 182, 933–936. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.06.068
- Fang, G.D., Dionysiou, D.D., Al-Abed, S.R., Zhou, D.M., 2013. Superoxide radical driving the activation of persulfate by magnetite nanoparticles: Implications for the degradation of PCBs. *Appl. Catal. B Environ.* 129, 325–332. doi:10.1016/j.apcatb.2012.09.042
- Goi, A., Trapido, M., Kulik, N., 2009. Contaminated Soil Remediation with Hydrogen Peroxide Oxidation. *Int. J. Chem. Biol. Eng.* 144–148.
- Huang, K.C., Zhao, Z., Hoag, G.E., Dahmani, A., Block, P. a., 2005. Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation. *Chemosphere* 61, 551–560. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.02.032
- Liang, C., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., 2004. Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. II. Activated by chelated ferrous ion. *Chemosphere* 55, 1225–1233. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.01.030
- Liang, C., Chien, Y.-C., Lin, Y.-L., 2012. Impacts of ISCO Persulfate, Peroxide and Permanganate Oxidants on Soils: Soil Oxidant Demand and Soil Properties. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 21, 701–719. doi:10.1080/15320383.2012.691129
- Liang, C., Lee, I.-L., Hsu, I.-Y., Liang, C.-P., Lin, Y.-L., 2008. Persulfate oxidation of trichloroethylene with and without iron activation in porous media. *Chemosphere* 70, 426–435. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.06.077
- Neta, P., Huie, R.E., Ross, A.B., 1988. Rate Constants for Reactions of Inorganic Radicals in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 17, 1027. doi:10.1063/1.555808
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2015. Remediation of a Biodiesel Blend-Contaminated Soil with Activated Persulfate by Different Sources of Iron. *Water, Air, Soil Pollut.* 226. doi:10.1007/s11270-014-2267-4
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2014. Remediation of a biodiesel blend-contaminated soil by using a modified Fenton process. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 12198–12207. doi:10.1007/s11356-014-2997-2
- Petri, B.G., Watts, R.J., Teel, A.L., Huling, S.G., Brown, R.A., 2011. Fundamentals of ISCO using hydrogen peroxide, SERDP ESTCP Environmental Remediation Technology Ser. doi:10.1007/978-1-4419-7826-4
- Richardson, S.D., Lebron, B.L., Miller, C.T., Aitken, M.D., 2011. Recovery of phenanthrene-degrading bacteria after simulated in situ persulfate oxidation in contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* 45, 719–725. doi:10.1021/es102420r

- Romero, A., Santos, A., Vicente, F., Rodriguez, S., Lafuente, a. L., 2009. In situ oxidation remediation technologies: Kinetic of hydrogen peroxide decomposition on soil organic matter. *J. Hazard. Mater.* 170, 627–632. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.05.041
- Tsitonaki, A., Petri, B., Crimi, M., Mosbæk, H., Siegrist, R.L., Bjerg, P.L., 2010. In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater Using Persulfate: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 40, 55–91. doi:10.1080/10643380802039303
- Tsitonaki, A., Smets, B.F., Bjerg, P.L., 2008. Effects of heat-activated persulfate oxidation on soil microorganisms. *Water Res.* 42, 1013–1022. doi:10.1016/j.watres.2007.09.018
- Tyre, B.W., Watts, R.J., Miller, G.C., 1991. Treatment of Four Biorefractory Contaminants in Soils Using Catalyzed Hydrogen Peroxide. *J. Environ. Qual.* 20, 832. doi:10.2134/jeq1991.00472425002000040021x
- Vicente, F., Rosas, J.M., Santos, a, Romero, a, 2011. Improvement soil remediation by using stabilizers and chelating agents in a Fenton-like process. *Chem. Eng. J.* 172, 689–697. doi:10.1016/j.cej.2011.06.036
- Zhao, D., Liao, X., Yan, X., Huling, S.G., Chai, T., Tao, H., 2013. Effect and mechanism of persulfate activated by different methods for PAHs removal in soil. *J. Hazard. Mater.* 254-255, 228–235. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.03.056
- Zhao, Y.S., Sun, C., Sun, J.Q., Zhou, R., 2015. Kinetic modeling and efficiency of sulfate radical-based oxidation to remove p-nitroaniline from wastewater by persulfate/Fe₃O₄ nanoparticles process. *Sep. Purif. Technol.* 142, 182–188. doi:10.1016/j.seppur.2014.12.035



Capítulo 5

**Estrategias de remediación de un suelo
contaminado con fenantreno utilizando**



persulfato



5. Estrategias de remediación de un suelo contaminado con fenantreno utilizando persulfato

5.1. Introducción

La biodegradación de los contaminantes en suelo puede estar limitada por la disponibilidad de agua en el medio (Calvo y col., 2009). El agua es de fundamental importancia para mantener un balance adecuado de los nutrientes, lo cual conduce a un óptimo crecimiento y metabolismo microbiano (Riser-Roberts 1998). Además, la cantidad de agua presente en el suelo determina el estado de oxigenación del microambiente del suelo (Baker 1994). Por lo tanto, una disminución del contenido de humedad puede conducir a una disminución de la actividad biológica, mientras que la humectación causa un rápido aumento de la actividad (Ayotamuno y col., 2006).

La degradación aeróbica de los contaminantes mediante los microorganismos propios del suelo puede darse manteniendo un porcentaje de humedad normal del suelo, lo cual asegura un adecuado acceso de oxígeno (Davis y col., 2003). Además, aumentar levemente el porcentaje de humedad puede incrementar la actividad biológica favoreciendo la degradación (Holman y Tsang, 1995). Sin embargo, se requiere de un estudio de la cantidad de agua a agregar para no llegar a condiciones de saturación, donde el porcentaje de degradación aeróbica puede reducirse como consecuencia del menor acceso al oxígeno (Bossert y Bartha, 1984; Hinchey y Leeson, 1996).

Silva-Castro y colaboradores (Silva-Castro y col., 2016), estudiaron la degradación de hidrocarburos mediante los microorganismos autóctonos del suelo en sistemas bioestimulados (con fertilizantes) y llegaron a la conclusión que el porcentaje de humedad es un factor primordial en el proceso de biorremediación. Por lo tanto, el contenido de agua en el sistema debe ser considerado como otra variable a estudiar.

El persulfato de sodio (PS) ha sido utilizado ampliamente en tratamientos de aguas y suelos contaminados con diferentes compuestos orgánicos, incluyendo a los hidrocarburos policíclicos aromáticos (Gan y col., 2009; Nadim y col., 2006). Sin embargo, no se han estudiado en detalle el efecto de muchos de los parámetros de aplicación de los oxidantes.

El objetivo de este capítulo es ampliar la información sobre el efecto del agregado de persulfato sobre la degradación de fenantreno en diferentes condiciones experimentales:

- *Efecto de la concentración de persulfato de sodio.* La elección de la cantidad de oxidante a utilizar no se realiza solamente según la concentración del contaminante

presente en el suelo, sino que hay que tener en cuenta la presencia de otras sustancias que puedan reaccionar con el radical sulfato (por ejemplo: materia orgánica, metales). Sin embargo, el agregado de cantidades altas de oxidante puede traer como consecuencia la perturbación en las características del suelo, produciendo una inhibición de la biodegradación. Por esta razón, se estudió el efecto de la concentración de persulfato tomando la dosis calculada (**inciso 3.2** del Capítulo 3) y dos cantidades por debajo y dos por encima de dicha dosis.

- *Efecto de la adición de Fe (II)*. En el Capítulo anterior, se comprobó que los componentes del suelo a tratar (Suelo I, **Tabla 3.1**) permitieron la activación del anión persulfato. Sin embargo, varios investigadores han utilizado metales, como el hierro en distintos estados de especiación para incrementar la descomposición del oxidante (Liang y col. 2004b; Fu y col. 2014; Rodriguez y col. 2014). Por esta razón, se decidió estudiar el efecto del agregado externo de FeSO_4 , en la activación del PS. Además, se agregó un complejante del metal (citrato de sodio) para evitar su precipitación.
- *Efecto del contratién de la sal de persulfato (Na^+ vs. NH_4^+)*. Tradicionalmente el PS es el elegido como oxidante. Sin embargo el persulfato de amonio (PSN) tiene una solubilidad en agua similar y podría beneficiar el crecimiento bacteriano al aumentar el nitrógeno del suelo. Se estudió el uso de PSN para analizar el efecto en la oxidación química y en la bioremediación.
- *Efecto del agregado sucesivo de persulfato*. Se realizaron agregados en etapas sucesivas de pequeñas cantidades de PS y PSN, con el objetivo de reducir el impacto negativo en el suelo por el agregado del oxidante y así evitar las consecuencias en el proceso de biodegradación facilitando su combinación con la oxidación química.
- *Efecto de la humedad en el suelo*. Holman y Tsang (Holman y Tsang, 1995), estudiaron los efectos de la humedad del suelo en la biodegradación de hidrocarburos derivados del petróleo, e informaron que para valores de 50 - 70% de contenido de agua de suelo (correspondiente 28 - 39 % de humedad) mejoraba la biodegradación de los compuestos aromáticos. Para favorecer la biodegradación combinada con la oxidación química, se realizaron ensayos con PS aumentando el porcentaje de humedad natural del Suelo I (24.9 %) a 36.5%.

La descripción de cada uno de los sistemas estudiados en este capítulo se encuentra en el **inciso 3.5.1** del Capítulo 3. En estos tratamientos se utilizó FEN como modelo de PAH. El Suelo I (**Tabla 3.1**) fue contaminado artificialmente con aproximadamente 120 ± 20 ppm de FEN. La elección de esta concentración se realizó en base a resultados de biodegradación

obtenidos por el grupo, donde la concentración remanente de FEN luego de aplicar un tratamiento de bioaumentación fue aproximadamente 71 ppm (Coppotelli y col. 2010). Esta concentración está por encima de lo permitido por la Ley Nacional 24.051 de Residuos Peligrosos Decreto 831/93 (50 ppm para suelo de uso industrial, 5 ppm para uso residencial y 0,1 ppm para uso agrícola) por lo cual sería interesante aplicar tratamientos de oxidación química con el objetivo de alcanzar las concentraciones permitidas.

El FEN presenta un sistema de tres anillos aromáticos y se encuentra en altas concentraciones en sedimentos, superficie de suelos y sitios contaminados con PAH. Dado que es el PAH de menor tamaño que posee las regiones *Bay* y *K*, características de muchos PAH de alto peso molecular (Zhang y col. 2006), (**Figura 5.1**) es generalmente utilizado como modelo para estudiar el metabolismo de otros PAH con propiedades carcinogénicas (Puglisi y col. 2007). La región *Bay* es una zona entre los carbonos 4 y 5 con impedimento estérico, y la región *K* se encuentra entre los carbonos 9 y 10, un doble enlace con alta densidad electrónica (Waigi y col. 2015). Estas regiones resultan sitios de ataque de enzimas bacterianas y de mamíferos, generando epóxidos capaces de formar aductos con el ADN, con efecto carcinogénico (Pandey y col. 2016).

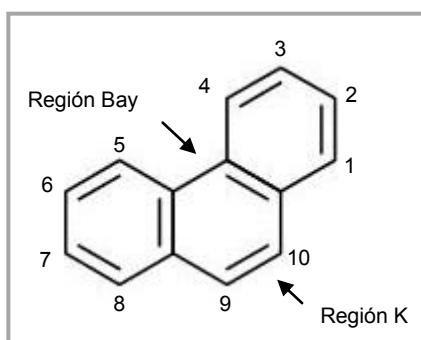


Figura 5.1. Estructura química de la molécula de fenantreno y regiones *Bay* y *K* (Waigi y col. 2015).

5.2. Efecto de la concentración de persulfato de sodio

En primera instancia se estudió la degradación de FEN utilizando distintas concentraciones del oxidante. Para esto se calculó la dosis, cantidad estequiométrica de PS para mineralizar por completo las 120 ± 20 ppm de FEN (contaminación artificial) del suelo. En base a este resultado, se preparó un sistema denominado PS3 con aproximadamente una dosis de PS ($8,61 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{kg}_{\text{TS}}$). Además, se usaron dos concentraciones del oxidante por debajo de la dosis (PS1: $0,86 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{kg}_{\text{TS}}$ y PS2: $4,34 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{kg}_{\text{TS}}$) y dos por encima (PS4: $21,0 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{kg}_{\text{TS}}$ y PS5: $41,7 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{kg}_{\text{TS}}$). La eficiencia en la remoción de FEN de estos sistemas se comparó con dos controles: BioD1 (biodegradación) y QuimD (oxidación química exclusivamente). En las

Figura 5.2 y 5.3 se puede observar el efecto de la concentración de PS sobre el porcentaje de degradación de FEN durante el ensayo.

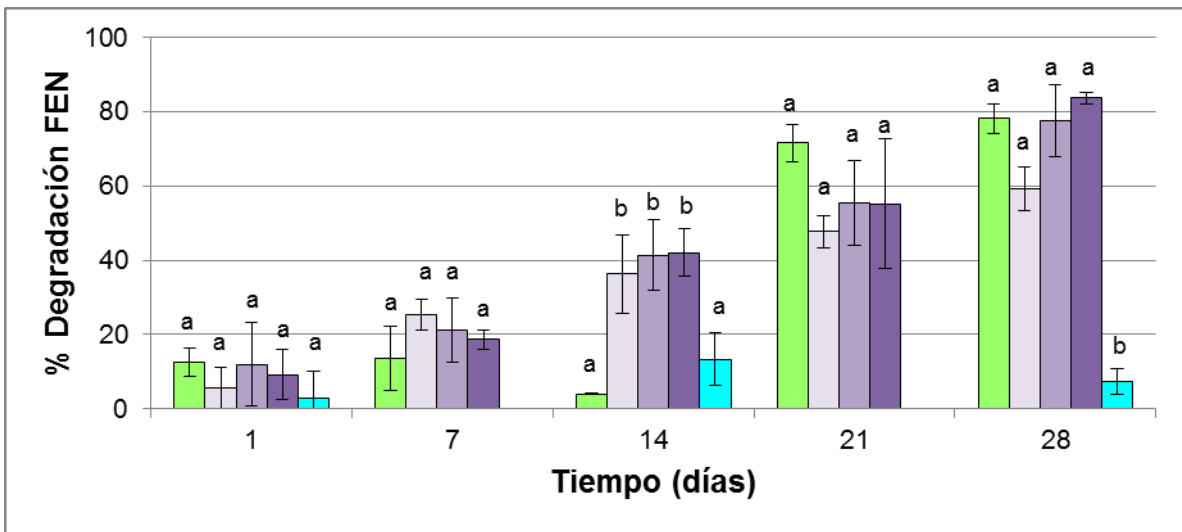


Figura 5.2. Porcentaje de degradación de fenantreno para los controles BioD1 (■) y QuimD (■) y los sistemas PS1 (■), PS2 (■) y PS3 (■) a lo largo del tratamiento. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto al mismo día con el BioD1 a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

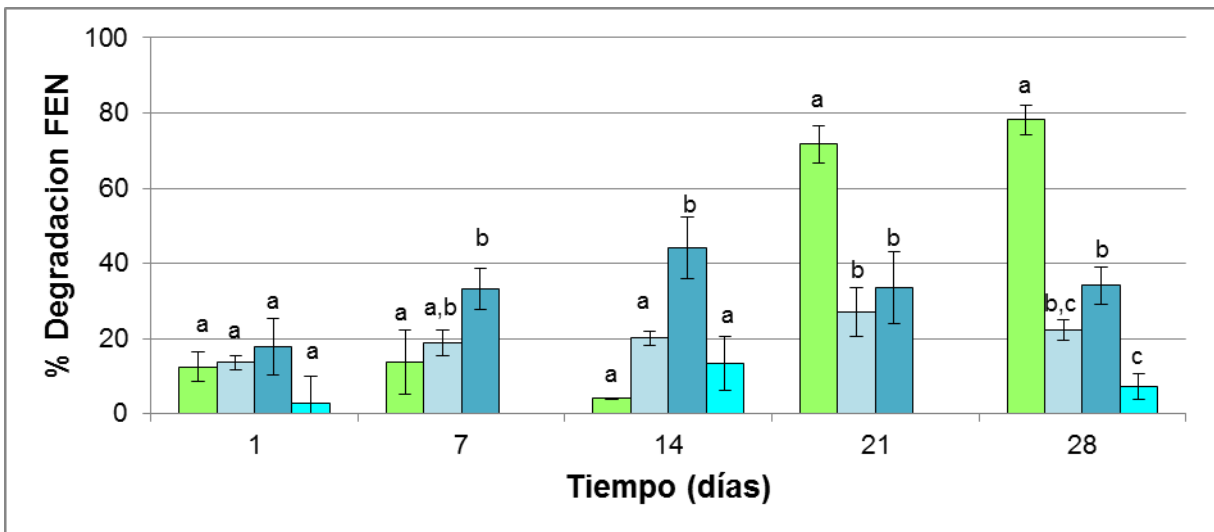


Figura 5.3. Porcentaje de degradación de fenantreno para los controles BioD1 (■) y QuimD (■) y los sistemas PS4 (■), PS5 (■) a lo largo del tratamiento. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto al mismo día con el BioD1 a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

El porcentaje de degradación de FEN para los dos controles estudiados (BioD1 y QuimD) presenta una amplia diferencia luego de 28 días. En el caso de BioD1 la remoción del contaminante comenzó luego de 14 días, alcanzando el 78% de eliminación a los 28 días. Por otro lado, QuimD no mostró una degradación significativa ($p < 0,05$) de FEN a lo largo de todo el tratamiento: solo eliminó el 8% luego de 28 días.

Luego de 7 días, PS5 (correspondiente a la mayor concentración de PS utilizada: 41,7 g_{PS}/kg_{TS}) fue el que presentó un mayor porcentaje de degradación de FEN: 67% (**Figura 5.3**). Sin embargo, la eliminación del contaminante no aumentó con el tiempo de tratamiento: la [FEN] se mantuvo en 64 ± 6 % al finalizar el ensayo.

Los tratamientos restantes (PS1, PS2, PS3 y PS4) mostraron una degradación de aproximadamente el 20% a los 7 días (**Figuras 5.2 y 5.3**). Luego de 14 días de tratamiento, el porcentaje de remoción de FEN para PS1, PS2 y PS3 (~40%) fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que para BioD1 (< 10%). Sin embargo, luego de 28 días se obtuvo un porcentaje de degradación del contaminante similar para PS2, PS3 y el control BioD1 (**Figura 5.1**).

Al final del tratamiento (28 días) la degradación de los sistemas PS2 y PS3 fue similar a la del control BioD1 (~ 80%), PS1 eliminó el 64%, mientras que para los sistemas PS4 y PS5 se obtuvo la menor remoción (22 y 34%, respectivamente) (**Figura 5.3**).

En estos tratamientos también se estudiaron los cambios producidos por el agregado de oxidante en el pH, la conductividad eléctrica (CE) y el número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC). Los resultados se muestran en la **Tabla 5.1**.

Tabla 5.1. Valores iniciales y finales de pH, conductividad eléctrica inicial (CE) y número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) luego de 28 días de incubación, en los sistemas BioD1, PS1, PS2, PS3, PS4, PS5 y QuimD.

| Tratamiento | pH luego del agregado de PS | CE (1:5) luego del agregado de PS (dS/m) | pH final (28 días) | Log de UFC/g _{TS} (28 días) |
|-------------|-----------------------------|--|--------------------|--------------------------------------|
| BioD1 | - | No determinado | 6,0 ± 0,1 | 8,4 ± 0,6 |
| PS1 | 6,5 ± 0,1 | No determinado | 6,4 ± 0,1 | 9,44 ± 0,05 |
| PS2 | 5,3 ± 0,1 | No determinado | 5,6 ± 0,1 | 8,9 ± 0,7 |
| PS3 | 4,6 ± 0,1 | 2,2 ± 0,2 | 5,2 ± 0,1 | 9,2 ± 0,7 |
| PS4 | 3,6 ± 0,1 | 3,4 ± 0,2 | 3,5 ± 0,1 | 6,60 ± 0,01 |
| PS5 | 2,7 ± 0,1 | 5,5 ± 0,2 | 2,9 ± 0,1 | 5,60 ± 0,01 |
| QuimD | 4,7 ± 0,1 | No determinado | 4,8 ± 0,1 | No determinado |

Se observó que el agregado de PS produjo una disminución en el pH de todos los tratamientos con respecto al control BioD1 (donde el pH inicial fue de 7,0 ± 0,1). A medida que aumentó la concentración del oxidante utilizada, los valores de pH disminuyeron considerablemente. Cabe destacar, que la cantidad de PS utilizada en PS1 y PS2, produce una leve disminución en el pH inicialmente que no afecta el número de BHC. Para PS3, el valor inicial de pH fue de 4,6, pero luego de 28 días los valores tienden a normalizarse. Por encima de la dosis (PS4 y PS5), el efecto del oxidante en el suelo comienza a notarse más

drásticamente. El pH no se recupera luego de 28 días, lo cual impacta negativamente en el número de BHC. QuimD presentó un valor de pH similar a PS3 (con igual concentración de PS) que se mantuvo constante a lo largo del ensayo. En todos los sistemas con PS la CE aumenta con la concentración de oxidante, debido al mayor aporte de iones (**Tabla 5.1**).

El número de BHC luego de 28 días en PS1, PS2 y PS3 fue similar al del control BioD1. Sin embargo, para PS4 y PS5 este valor fue dos órdenes de magnitud menor con respecto a BioD1. Inicialmente BioD1 presentó un número de BHC de $7,0 \pm 0,1$, que fue aumentando con el tiempo: a los 7 días fue de $7,7 \pm 0,3$ y a los 28 días de $8,4 \pm 0,6$.

5.3. Efecto de la adición de Fe (II)

Se estudió el efecto en la activación del PS utilizando Fe(II)/Citrato. Como se mencionó anteriormente, el agregado de Fe (II) tiene como objetivo lograr una mayor activación del PS (ver reacciones del **inciso 1.3.2**), mientras que la sal de citrato se agregó para complejar el metal (evitando su precipitación). Se prepararon dos tratamientos PS3FeC(B) y PS3FeC(A) con una relación Fe(II)/Citrato/PS baja y alta, respectivamente, siempre con una concentración de oxidante correspondiente a aproximadamente 1 dosis.

Estos dos tratamientos se analizaron con el tratamiento PS3 (con igual concentración de PS, pero sin Fe (II), ni citrato agregados) y con el control biológico BioD1. En la **Figura 5.4** se muestra el porcentaje de degradación de FEN a lo largo de 28 días de tratamiento.

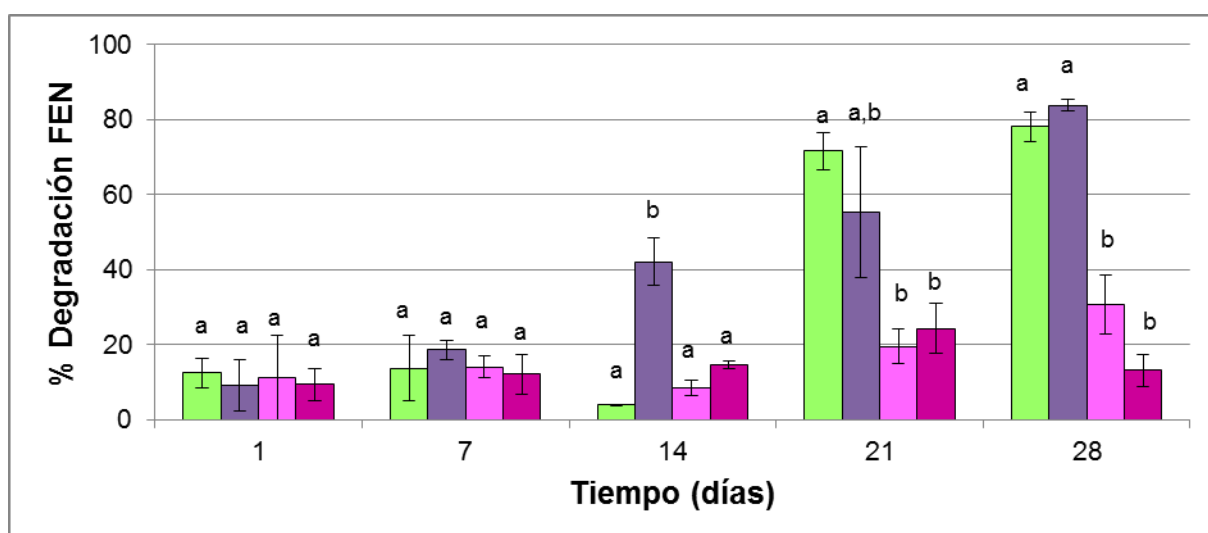


Figura 5.4: Porcentaje de degradación de fenantreno para el control BioD1 (■) y los sistemas PS3 (■), PS3FeC(B) (■) y PS3FeC(A) (■) a lo largo del tratamiento. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto al mismo día con el BioD1 a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

Luego de 7 días no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la concentración residual de FEN para PS3FeC(B), PS3FeC(A), PS3 y BioD1, todos degradaron aproximadamente el 13% de FEN. Sin embargo, después de 14 días, PS3 tuvo la mayor remoción (42%), mientras que en los otros sistemas fue menor del 14%. Luego de 28 días, los tratamientos PS3FeC(B) y PS3FeC(A) solo lograron degradar el 22% y 13% de FEN, respectivamente. Esta degradación fue significativamente menor ($p < 0,05$) con respecto al control BioD1 (78%) y PS3 (93%) (**Figura 5.4**).

Además de estudiar la concentración de contaminante remanente, se estudió la variación del pH, conductividad eléctrica (CE) y número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC), los resultados se muestran en la **Tabla 5.2**.

Tabla 5.2. Valores iniciales y finales de pH, conductividad eléctrica inicial (1:5) y número de bacterias heterótrofas cultivables luego de 28 días de incubación, en los sistemas BioD1, PS3, PS3FeC(B) y PS3FeC(A).

| Tratamiento | pH luego del agregado de PS | CE (1:5) luego del agregado de PS (dS/m) | pH final (28 días) | Log de UFC/g _{TS} (28 días) |
|-------------|-----------------------------|--|--------------------|--------------------------------------|
| BioD1 | - | No determinado | 6,0 ± 0,1 | 8,4 ± 0,6 |
| PS3 | 4,6 ± 0,1 | 2,2 ± 0,2 | 5,2 ± 0,1 | 9,2 ± 0,7 |
| PS3FeC(B) | 5,4 ± 0,1 | 2,7 ± 0,2 | 6,0 ± 0,1 | 8,68 ± 0,05 |
| PS3FeC(B) | 6,0 ± 0,1 | 3,4 ± 0,2 | 7,1 ± 0,1 | 9,40 ± 0,04 |

Para los tres tratamientos estudiados se observó una disminución del pH inicial del suelo (6,6) como consecuencia del agregado de oxidante. Sin embargo, cuando finalizó el ensayo los valores fueron cercanos a los valores normales del Suelo I. Con respecto al número de BHC, no se observaron diferencias significativas en las distintas condiciones analizadas (**Tabla 5.2**).

5.4. Efecto del contraión de la sal de persulfato (Na^+ vs. NH_4^+)

Se comparó la efectividad en la degradación de FEN utilizando el anión persulfato con dos cationes diferentes: sodio (Na^+) y amonio (NH_4^+). Se analizaron tres sistemas: PS3 (8,61 g_{PS}/kg_{TS}), PS5 (41,7 g_{PS}/kg_{TS}) y PSN5 (38,4 g_{PSN}/kg_{TS}), los cuales fueron comparados con el control de biodegradación BioD1. Cabe destacar, que las cantidad de oxidante utilizada de PS5 y PSN5 no son iguales (~9 dosis y ~7 dosis, respectivamente), aunque se decidió compararlos debido a que son los que utilizan concentraciones más parecidas. PS3 se estudió debido a que representa aproximadamente la dosis necesaria para mineralizar

completamente en FEN. En la **Figura 5.5** se muestra el porcentaje de degradación de FEN a lo largo de 28 días para todos los tratamientos.

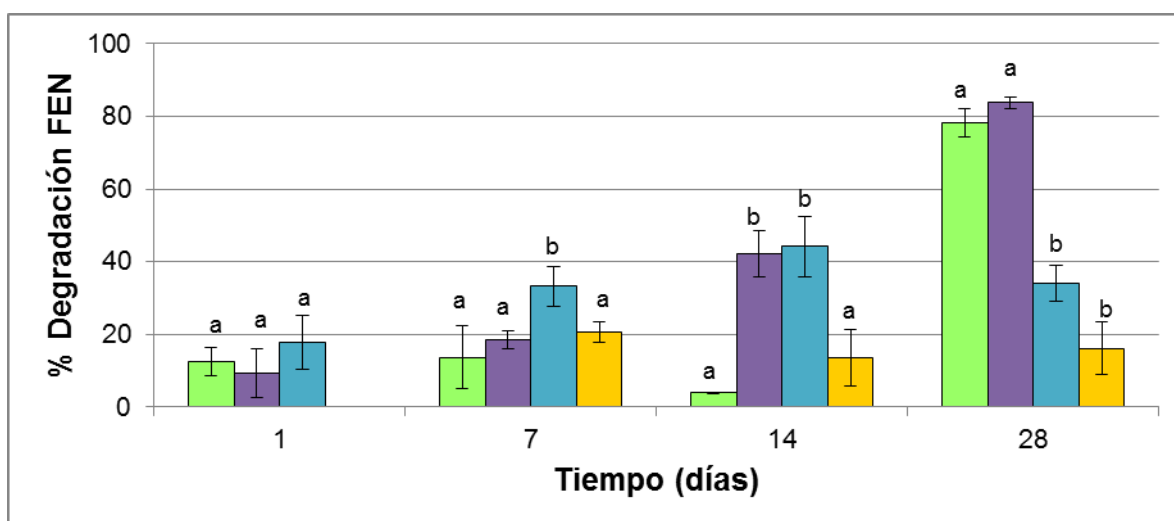


Figura 5.5. Porcentaje de degradación de fenantreno para el control BioD1 (■) y los sistemas PS3 (■), PS5 (■) y PSN5 (■) a lo largo del tratamiento. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto al mismo día con el BioD1 a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

Los porcentajes de degradación de FEN obtenidos para PSN5, no muestran mejores resultados con respecto a PS3 o PS5 (analizados anteriormente). La eliminación de FEN fue aproximadamente del 20% luego de 7 días, similar a PS3 y BioD1, pero no logra mejorar con el tiempo (**Figura 5.5**).

Se estudió la variación del pH, conductividad eléctrica (CE) y número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) al inicio y luego de 28 días de tratamiento. Los resultados se muestran en la **Tabla 5.3**.

Tabla 5.3. Valores iniciales y finales de pH, conductividad eléctrica inicial (1:5) y número de bacterias heterótrofas cultivables luego de 28 días de incubación, en los sistemas BioD1, PS3, PS5 y PSN5.

| Tratamiento | pH luego del agregado de PS | CE (1:5) luego del agregado de PS (dS/m) | pH final (28 días) | Log de UFC/g _{TS} (28 días) |
|-------------|-----------------------------|--|--------------------|--------------------------------------|
| BioD1 | - | No determinado | 6,0 ± 0,1 | 8,4 ± 0,6 |
| PS3 | 4,6 ± 0,1 | 2,2 ± 0,2 | 5,2 ± 0,1 | 9,2 ± 0,7 |
| PS5 | 2,7 ± 0,1 | 5,5 ± 0,2 | 2,9 ± 0,1 | 5,60 ± 0,01 |
| PSN5 | 2,6 ± 0,1 | 6,3 ± 0,2 | 2,9 ± 0,1 | 4,8 ± 0,2 |

En la **Tabla 5.3** puede verse que tanto para PS5 como PSN5 los valores de pH, CE y el número de BHC mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) con PS3 y BioD1. Los valores de pH luego del agregado de PS disminuyen a 2,6 y no logran recuperar el valor neutro

inicial que tiene el Suelo I (6,6). El número de BHC disminuyó 4 órdenes con respecto a BioD1 como consecuencia de la disminución del pH.

5.5. Efecto del agregado de oxidante en aplicaciones sucesivas

A partir de los resultados obtenidos anteriormente sobre el impacto que generó el oxidante en el suelo, se decidió estudiar su aplicación en pequeñas cantidades (secuenciales), con el objetivo de reducir el impacto negativo en la calidad del suelo. Para ello se compararon los tratamientos PSsuc y PSNsuc con agregado en varias etapas (ver **Tabla 3.6** y **3.7**, Capítulo 3) y el control de biodegradación BioD1. En el caso de PSsuc se realizaron cuatro agregados del oxidante, los días; 1, 3, 5 y 7, obteniendo una concentración de PS de 19,84 g_{PS}/kg_{TS} (4,49 dosis finales) a los 28 días. Para PSNsuc se realizaron 10 agregados del oxidante, los días: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19. La concentración a los 28 días fue de 54,74 g_{PSN}/kg_{TS} (13,66 dosis finales). En la **Figura 5.6** se muestra el porcentaje de degradación de FEN a lo largo de 28 días para todos los tratamientos. Se incluyen los resultados de los tratamientos PS5 (41,7 g_{PS}/kg_{TS}) y PSN5 (38,4 g_{PSN}/kg_{TS}) con un único agregado de oxidante, con fines comparativos.

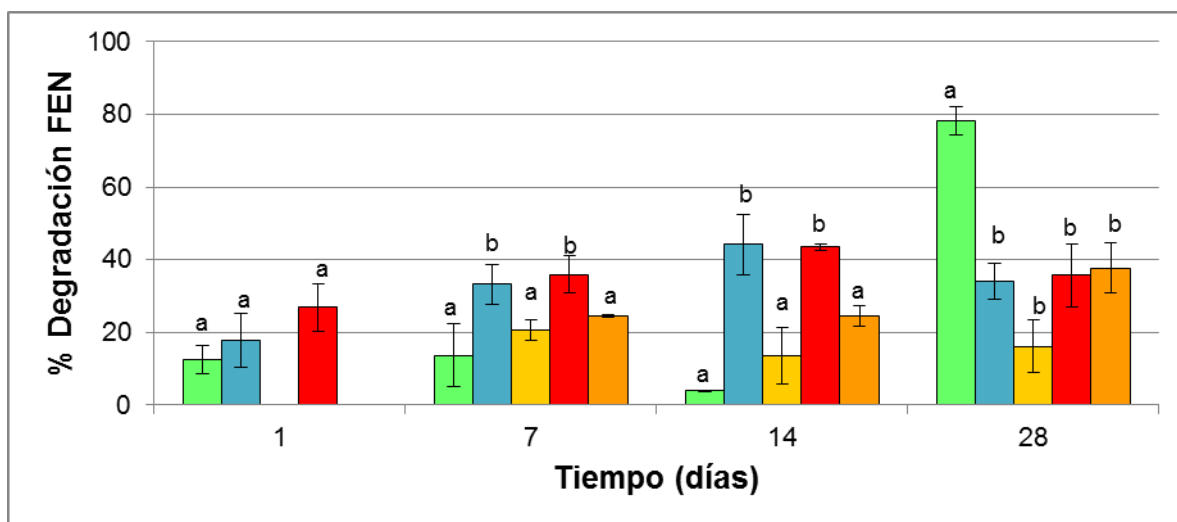


Figura 5.6. Porcentaje de degradación de fenantreno para el control BioD1 (■) y los sistemas PS5 (■), PSN5 (■), PSsuc (■) y PSNsuc (■) a lo largo del tratamiento. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto al mismo día con el BioD1 a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

En la **Figura 5.6** puede observarse que, a los 7 días de tratamiento, PS5 y PSsuc (ambos con Na⁺ como catión) presentaron los mayores porcentajes de degradación de FEN (~ 33%). Mientras que menores porcentajes de eliminación se alcanzaron para PSN5, PSNsuc y

BioD1 (12%). Cabe destacar que en este tiempo la concentración de oxidante en los dos sistemas con agregado sucesivos (PSsuc y PSNsuc) fue menor ($\sim 14 \text{ g}_{\text{OX}}/\text{kg}_{\text{TS}}$) que para PS5 o PSN5 ($\sim 40 \text{ g}_{\text{OX}}/\text{kg}_{\text{TS}}$). A los 14 días se observó un comportamiento similar, donde PS5 y PSsuc lograron remover una mayor concentración del contaminante ($\sim 44\%$) con respecto a los demás sistemas. Luego de 28 días, en los sistemas que utilizaron oxidantes en uno o varios agregados, la degradación de FEN fue significativamente menor ($\sim 40\%$), con respecto al control BioD1 (78%).

Se estudiaron las variaciones en los parámetros químicos y biológicos de los tratamientos: pH, la conductividad eléctrica (CE) y el número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) iniciales y luego de 28 días. Los resultados se muestran en la **Tabla 5.4**.

Tabla 5.4. Valores iniciales y finales de pH, conductividad eléctrica inicial (1:5) y número de bacterias heterótrofas cultivables luego de 28 días de incubación, en los sistemas BioD1, PS5, PSN5, PSsuc y PSNsuc.

| Tratamiento | pH luego del agregado de PS | CE (1:5) luego del agregado de PS (dS/m) | pH final (28 días) | Log de UFC/g _{TS} (28 días) |
|-------------|-----------------------------|--|--------------------|--------------------------------------|
| BioD1 | - | No determinado | $6,0 \pm 0,1$ | $8,4 \pm 0,6$ |
| PS5 | $2,7 \pm 0,1$ | $5,5 \pm 0,2$ | $2,9 \pm 0,1$ | $5,60 \pm 0,01$ |
| PSN5 | $2,6 \pm 0,1$ | $6,3 \pm 0,2$ | $2,9 \pm 0,1$ | $4,8 \pm 0,2$ |
| PSsuc | $4,6 \pm 0,1$ | $4,4 \pm 0,2$ | $3,2 \pm 0,1$ | $5,1 \pm 0,2$ |
| PSNsuc | $4,4 \pm 0,1$ | $4,2 \pm 0,2$ | $2,6 \pm 0,1$ | $5,1 \pm 0,1$ |

(a) un día después del primer agregado.

Las variaciones del pH luego del agregado del oxidante son menos drásticas en los tratamientos sucesivos, debido a la menor concentración de PS al momento de iniciar el ensayo. Sin embargo, luego de 21 días cuando se agregó la totalidad de PS o PSN, las condiciones del suelo se modificaron, el pH disminuyó varias unidades y no se recuperó el valor normal luego de 28 días. Como se observó anteriormente, a los 28 días el número de BHC fue similar para todos los tratamientos, y cuatro órdenes menores que para el BioD1.

Se estudió la evolución del número de BHC para PSsuc, PSN5, PSNsuc y BioD2 a lo largo del ensayo (**Figura 5.7**). El agregado de oxidante en PSN5 (un solo agregado) disminuye considerablemente el número de BHC con respecto al control BioD1 (sin oxidante). Sin embargo, para los agregados sucesivos la disminución se presenta de manera más paulatina, debido a que se agregan pequeñas porciones del oxidante. El impacto del oxidante en la actividad biológica fue similar en PSsuc y PSNsuc, aunque las concentraciones de PS y PSN utilizadas fueron diferentes luego de siete días.

En la **Figura 5.8** se muestra una fotografía con las características de las poblaciones heterótrofas cultivables para el control BioD1 (en una dilución -5) y PSNsuc (en una dilución -3) a los 28 días. En el caso de BioD1 puede observarse una gran diversidad dada por las diferentes colonias con distintas características (color, tamaño, aspecto, forma). Mientras que en PSNsuc la presencia del oxidante, disminuyó no solamente el número de BHC (**Tabla 5.4**) sino también que se perdió diversidad. Cabe destacar, que esta última observación se dio para todos los tratamientos con PS y PSN.

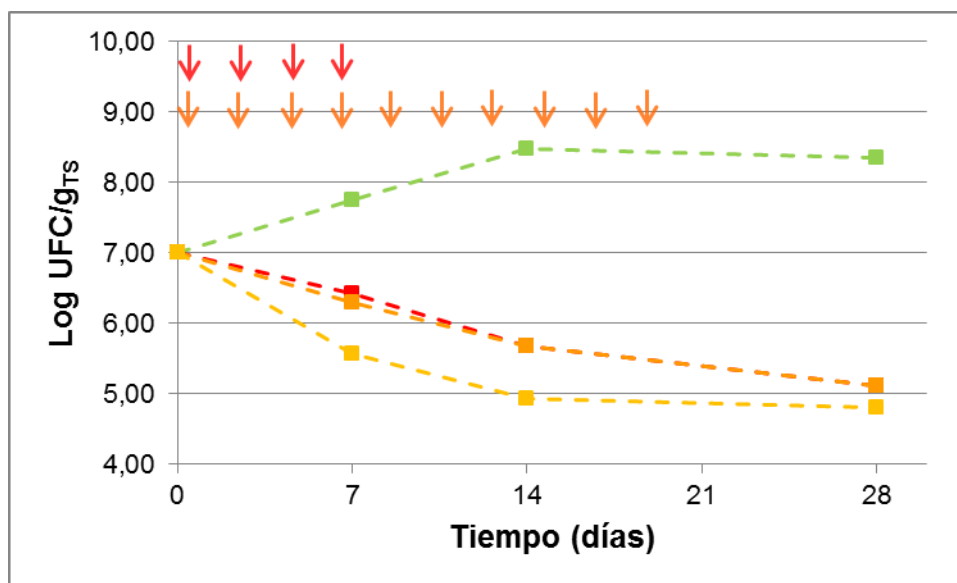


Figura 5.7. Número de bacterias heterótrofas cultivables BioD1 (■) y los sistemas PSN5 (■), PSsuc (■) y PSNsuc (■). Las flechas indican cuando se realizaron los distintos agregados de oxidante.

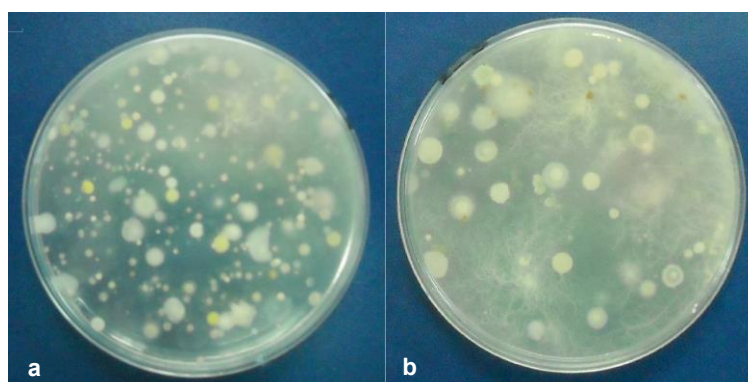


Figura 5.8. Recuentos de bacterias heterótrofas cultivables en placa a los 28 días correspondientes a BioD1 dilución -5 (a) y PSNsuc dilución -3(b).

5.6. Efecto de la humedad del suelo

Con el objetivo de mejorar los porcentajes de degradación, se estudió el efecto de cambiar el porcentaje de humedad normal en el suelo a tratar. Para ello se estudiaron los

tratamientos PS6 (11,1 g_{PS}/kg_{TS}) y PS7 (55,3 g_{PS}/kg_{TS}) con un 36,5% H, los cuales se compararon con PS3 (8,61 g_{PS}/kg_{TS}) y PS5 (41,7 g_{PS}/kg_{TS}) con un 24,9% H. Además, se analizaron controles de biodegradación con los dos porcentajes de humedad utilizados en los tratamientos, BioD1 (24.9% H) y BioD2 (36.5% H). En la **Figura 5.9** se muestra el porcentaje de degradación de FEN a lo largo de 28 días para todos los tratamientos.

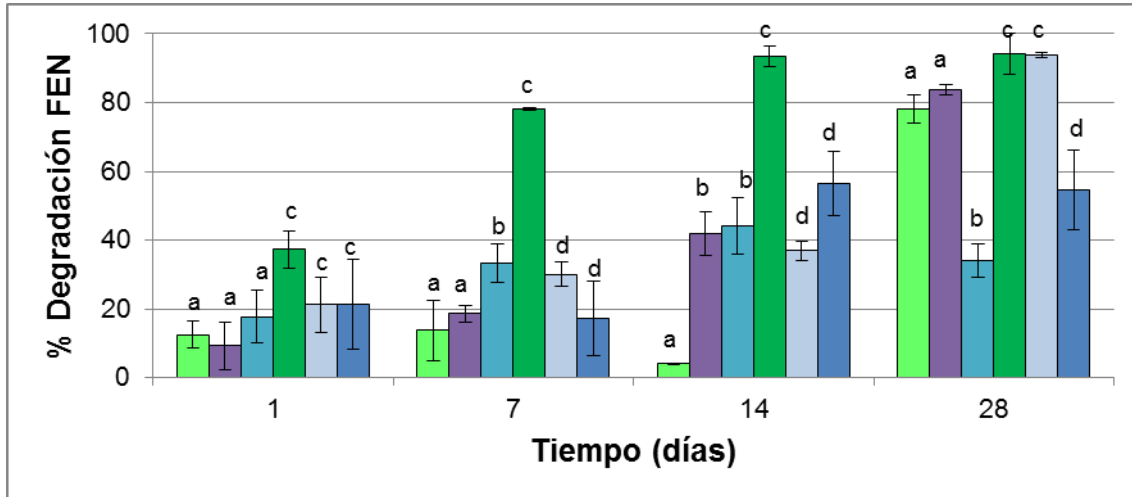


Figura 5.9. Porcentaje de degradación de fenantreno para los controles BioD1 (■) y BioD2 (■); y los sistemas PS3 (■), PS5 (■), PS6 (■) y PS7 (■) a lo largo del tratamiento. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto al mismo día con el BioD1 y BioD2 a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

Luego de 7 días se observó que la degradación para BioD2 (78%) fue significativamente mayor que para BioD1 (13%). Sin embargo, luego de 28 días la remoción en los controles no mostró diferencia entre sí.

En el caso de los tratamientos con oxidante, la eliminación de FEN en PS5, PS6 y PS7 (~ 30%) fue similar luego de 7 días. Después de 28 días PS3 y PS6 fueron los sistemas con mayores porcentajes de eliminación (~ 93%), alcanzando los mismos valores de los controles de biodegradación (**Figura 5.9**).

En la **Tabla 5.6** se muestran los valores de pH y conductividad eléctrica (CE) luego del agregado del oxidante, y el pH y el número de BHT a los 28 días.

Tabla 5.6. Valores iniciales y finales de pH, conductividad eléctrica inicial (1:5) y número de bacterias heterótrofas cultivables luego de 28 días de incubación, en los sistemas BioD1, PS3, PS5, BioD2, PS6 y PS7.

| Tratamiento | pH luego del agregado de PS | CE (1:5) luego del agregado de PS (dS/m) | pH final (28 días) | Log de UFC/g _{TS} (28 días) |
|-------------|-----------------------------|--|--------------------|--------------------------------------|
| BioD1 | - | No determinado | 6,0 ± 0,1 | 8,4 ± 0,6 |
| PS3 | 4,6 ± 0,1 | 2,2 ± 0,2 | 5,2 ± 0,1 | 9,2 ± 0,7 |
| PS5 | 2,7 ± 0,1 | 5,5 ± 0,2 | 2,9 ± 0,1 | 5,60 ± 0,01 |
| BioD2 | - | No determinado | 5,8 ± 0,1 | 8,3 ± 0,2 |
| PS6 | 4,4 ± 0,1 | 6,3 ± 0,2 | 4,7 ± 0,1 | 7,6 ± 0,2 |
| PS7 | 3,5 ± 0,1 | >10 | 2,6 ± 0,1 | 5,4 ± 0,2 |

El agregado de una mayor concentración de oxidante en PS5 y PS7 (con respecto PS3 y PS6) generó un impacto importante en los valores de pH y el número de BHC, independientemente de la humedad del sistema (**Tabla 5.6**).

5.7. Discusión

La eliminación de contaminantes de suelos, sedimentos o aguas mediante los microorganismos autóctonos se conoce como atenuación natural (Hanser y col., 2014). El porcentaje de humedad en el suelo es un parámetro importante para la biodegradación. Por ejemplo, Vidali (Vidali 2001) reportó una mayor biodegradación con un porcentaje de humedad de 25 - 28 %.

Para evaluar este proceso en el Suelo I se trabajó con dos controles de biodegradación con distintos porcentajes de humedad. Para el BioD1 (24,9%, humedad normal del Suelo I) la concentración de FEN comenzó a disminuir luego de 14 días (**Figura 5.2**), correspondiéndose con el aumento en el número de BHC observado en ese tiempo (**Figura 5.7**). Este período, denominado fase Lag, muestra el tiempo necesario para la adaptación de los microorganismos (Couling y col., 2010).

Cuando se aumentó el porcentaje de humedad a 36,5% (BioD2) la biodegradación del contaminante comenzó más rápidamente: a los 7 días se removió el 78% (**Figura 5.9**), con respecto a 14% de BioD1. Esto podría deberse a un acortamiento de la fase Lag, probablemente por un efecto bioestimulador por el agregado de mayor cantidad de agua.

Para evaluar la oxidación química exclusivamente, se trabajó con el control QuimD (esterilizado previamente al agregado de aproximadamente una dosis de PS, 24,9% humedad). En ensayos anteriores (ver Capítulo 4) se comprobó que este tipo de suelo permite

la activación de PS. Sin embargo, este sistema no mostró una eliminación significativa ($p < 0,05$) de FEN a lo largo de todo el tratamiento (**Figura 5.2**).

La materia orgánica está compuesta por una gran diversidad de moléculas (hidratos de carbono, proteínas, aminoácidos, lípidos, ácidos nucleicos, ácidos húmicos, entre otros) que son sensibles a la oxidación. Sirguy y colaboradores (Sirguy y col. 2008), observaron la oxidación de estos componentes del suelo cuando fue oxidado con permanganato de potasio y peróxido de hidrógeno. David Gara y colaboradores (David Gara y col. 2008), observaron oxidación de ácidos húmicos (componentes principales del suelo) en soluciones acuosas con PS. La baja degradación observada en QuimD indica que los radicales sulfato formados participaron en reacciones secundarias, posiblemente con otros compuestos que forman parte del suelo y que no involucraron la oxidación del contaminante.

Cuando se estudiaron los efectos de la concentración de PS sobre la degradación de FEN, se pudo observar dos comportamientos diferentes según la cantidad de PS utilizada, al trabajar con una cantidad de PS por debajo o por encima de 1 dosis. Cuando la concentración de PS fue menor o igual a 1 dosis, se obtuvieron porcentajes de degradación similares a los del control BioD1 a los 28 días. Sin embargo, la eliminación fue mayor a los 14 días de ensayo con respecto al control (**Figura 5.2**). Esto podría considerarse como un efecto estimulador que brinda el oxidante cuando se lo utiliza en concentraciones bajas.

Este efecto estimulador puede asignarse a la oxidación de la materia orgánica del suelo. La reacción de los radicales sulfato con la materia orgánica del suelo genera compuestos de menor peso molecular, los cuales podrían actuar como nutrientes y ser beneficiosos para el desarrollo de las comunidades biológicas del suelo (Bosio y col. 2008).

Por lo tanto, cuando trabajamos con concentraciones menores o iguales a 1 dosis, la oxidación de la materia orgánica permite un mayor crecimiento de la biota, disminuyendo la fase Lag de la curva de crecimiento de las bacterias y favoreciendo una degradación de FEN a tiempos menores que para el control BioD1 (sin estimulación).

Cabe destacar que cuando se utilizaron concentraciones de PS por debajo o igual a 1 dosis (PS1, PS2 y PS3) no se observó disminución importante en los valores de pH luego del agregado de PS (**Tabla 5.1**). La capacidad buffer del suelo permite regular el pH luego del agregado de las soluciones ácidas de persulfato en estos sistemas (Liang y col. 2008). Mantener el pH normal del suelo en estos sistemas permite que la biota se desarrolle normalmente y que el número de BHC no se modifique con respecto a BioD1 (**Tabla 5.1**).

En los tratamientos donde se superó la dosis de PS, se observó mayor degradación de FEN al aumentar la cantidad de oxidante a los 7 días de tratamiento. Sin embargo, la degradación se mantuvo constante después de 28 días (**Figura 5.3**).

Los valores de pH para PS4 y PS5, disminuyeron significativamente luego del agregado de oxidante ($< 3,5$) (**Tabla 5.1**), permaneciendo en esos valores a lo largo de 28 días. La

cantidad de PS agregada fue demasiada y se rompió la capacidad buffer del suelo. La disminución del pH en el suelo luego de aplicar tratamientos de oxidación química con PS ha sido reportado por varios autores (Liang y col. 2004a; Huang y col. 2005). Por lo tanto, en el Suelo I, la capacidad buffer del suelo se rompió cuando se utilizaron concentraciones de PS mayores a 1 dosis. Liang y colaboradores (Liang y col. 2008), obtuvieron resultados similares para tratamientos con PS en experimentos realizados en columnas con suelo contaminado con tricloroetileno, donde los sistemas con mayor concentración de PS mostraron mayores variaciones de pH que aquellos con menor cantidad de PS.

La actividad biológica del Suelo I fue afectada significativamente por los bajos valores de pH. Se observó que el número de BHC para PS4 y PS5 disminuyó más de tres órdenes con respecto a los tratamientos con menor concentración de PS (PS1, PS2 y PS3) y el control BioD1 (**Tabla 5.1**). Laurent y colaboradores obtuvieron resultados similares utilizando el reactivo de Fenton ($65 \text{ g}_{\text{PH}}/\text{kg}_{\text{TS}}$ y $82 \text{ g}_{\text{Fe(II)}}/\text{kg}_{\text{TS}}$) en un suelo contaminado con PAH, donde observaron una correlación entre la disminución de los valores de pH y el recuento de BHC (Laurent y col. 2012). En ambos casos el agregado de oxidante generó un stress ácido que alteró de manera evidente la degradación biológica.

Para mejorar la degradación de FEN en el tratamiento PS3 (aproximadamente 1 dosis), se estudió la aplicación de hierro, para favorecer la activación del oxidante, y un agente quelante para prevenir la precipitación de Fe (II) o Fe (III), manteniendo disponibles al hierro más tiempo en solución (Rastogi y col. 2009). La ventaja de usar citrato, con respecto a otros agentes quelantes, es que es biodegradable y no presenta toxicidad para el medio ambiente (Muller y col. 1997).

La eliminación de FEN en PS3FeC(B) y PS3Fe(A), donde se agregó Fe complejoado con citrato en dos proporciones diferentes (B: baja y A: alta), fue significativamente menor con respecto a PS3 y BioD1. Además, las diferentes relaciones de Fe/Citrato no presentaron diferencias significativas entre sí a lo largo del ensayo (**Figura 5.4**).

El número de BHC en PS3FeC(B) y PS3Fe(A) no mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el control BioD1 y PS3, luego de 28 días (**Tabla 5.2**). A partir de estos resultados, se puede observar que el agregado de Fe (II) y citrato no mejoró la degradación de FEN. Una posible explicación puede ser que el citrato, además de actuar como complejante, puede ser utilizado como fuente de carbono por los microorganismos presentes en el suelo. Por lo tanto, se genera una competencia directa entre el citrato y el FEN por ser degradados. Como consecuencia de la biodegradabilidad que presenta el complejante, el Fe (II) puede: (i) aumentar el consumo de radicales sulfato (Liang y col. 2004b), o (ii) precipitar como consecuencia del pH cercano a la neutralidad que presentan los sistemas (Osgerby, 2006).

Cabe destacar, que en estos tratamientos, la actividad biológica fue compatible con la dosis de oxidante utilizada. Sin embargo, la cantidad de citrato utilizada inhibió la degradación de FEN.

Por lo tanto, para mejorar este tipo de sistema Fe/complejante, se podría plantear el uso de complejantes que no sean biodegradables (como EDTA).

Mantener la variedad y el equilibrio de los nutrientes del suelo es importante durante los procesos de biorremediación. Agregar nutrientes que contengan nitrógeno, fósforo y carbón suele ser una buena estrategia para mejorar la eficiencia del proceso (Calvo y col., 2009). El aumento de la biota puede incrementar la degradación con respecto a la atenuación natural del contaminante (Sarkar y col. 2005).

Varios compuestos nitrogenados han sido reportados en bibliografía como bioestimulantes: fertilizante, urea, compost (Williams y col. 1999; Namkoong y col. 2002). El uso de persulfato de amonio podría tener un efecto bioestimulador por el aporte de iones amonio, y un efecto oxidante por la presencia del anión persulfato.

Sin embargo, en nuestras condiciones experimentales el tratamiento con PSN (PSN5) no se observó el efecto biostimulador esperado: los porcentajes de degradación de FEN fueron menores que para BioD1 (**Figura 5.5**). Además, al igual que para PS5, la disminución en el valor de pH tuvo un efecto negativo en el número de BHC (**Tabla 5.3**) que disminuyó significativamente con respecto al control de biodegradación. La degradación de FEN se observó durante los primeros 7 días, lo cual coincide con la permanencia del oxidante en el medio (resultados discutidos en el Capítulo 4). Luego de este tiempo no se observó una mejora en la eliminación del contaminante.

Por lo tanto, se puede considerar que la degradación de FEN se dio como consecuencia de la oxidación química, una vez consumido el oxidante no hubo biodegradación debido a que la biota fue afectada por los cambios producidos en las propiedades del suelo.

Otra de las causas posibles de la baja eficiencia de este tratamiento, es la reacción de los radicales sulfato con los cationes NH_4^+ (House, 1962).

Debido al impacto negativo que produce el agregado de altas dosis de oxidante en el suelo, la posibilidad de realizar agregados secuenciales, con cantidades menores, puede ser una opción para evitar los cambios drásticos en las propiedades del suelo.

A los 7 días de tratamiento, la degradación de FEN fue similar para PS5 y PSsuc (~ 33 %) y ligeramente superior que para la sal de amonio (PSN5 y PSNsuc, ~20 %) (**Figura 5.6**). Cabe destacar que en este tiempo de reacción la concentración de oxidante en los dos sistemas donde se estudió el agregado de oxidante en etapas sucesivas (PSsuc y PSNsuc) fue aproximadamente tres veces menor (~ 14 $\text{g}_{\text{OX}}/\text{kg}_{\text{TS}}$) que para PS5 o PSN5 (~ 40 $\text{g}_{\text{OX}}/\text{kg}_{\text{TS}}$). La menor eficiencia en el tratamiento con PSN con respecto a PS, puede deberse a que el tiempo de vida medio que presentó PSN fue menor al de PS (Capítulo 4, **inciso 4.3**).

En los tratamientos con agregados sucesivos de oxidante, los valores de pH y el número de BHC (**Figura 5.7**) luego del agregado de oxidante fueron similares a BioD3. Sin embargo, al final del ensayo los valores de pH disminuyeron notoriamente, posiblemente la capacidad buffer del suelo, se rompe luego del agregado de cierta cantidad de PS (en Suelo I, para concentraciones de PS > 4 g_{OX}/kg_{TS}), impactando en el pH, afectando la actividad biológica y por consiguiente la biodegradación.

El agregado de pequeñas dosis de oxidante (tanto de PS como PSN) no mostró tener un efecto positivo en la degradación de FEN luego de 28 días (**Figura 5.6**).

Como ya se mencionó, aumentar el contenido de humedad del sistema puede ser beneficioso para la biota autóctona del suelo, ya que se disminuye la fase Lag asociada a la degradación de FEN. Con la idea de la combinación de la bioremediación con la oxidación química se estudió la aplicación de PS aumentando el porcentaje de humedad de 24,9 a 36,5 %.

A los 7 días de ensayo para PS6 y PS7 el porcentaje de degradación de FEN fue significativamente menor que para BioD2 (~ 20% contra el 78%). Sin embargo, luego de 28 días PS6 tuvo una eliminación del contaminante similar a la del control de biodegradación (~94%), mientras que para PS7 la remoción fue significativamente menor (55%). En este caso se puede concluir que para PS6 con menor concentración de PS, pudo haberse dado un efecto estimulador similar al observado para PS3, debido a que el número de BHC no se vio tan afectada como en el caso de PS7.

Cuando se analizaron los resultados de degradación de FEN (luego de 28 días) en los sistemas con similar dosis de PS agregado, pero distintos porcentajes de humedad (PS3 con PS6 y PS5 con PS7), se observó que para que para PS6 y PS7 (36,5 %H) la remoción de FEN fue significativamente mayor con respecto a PS3 y PS5 (24,9 %H). Los cambios en los valores de pH, CE y el número de BHC fueron similares según la cantidad de oxidante agregado al medio, e independiente de la humedad del suelo.

Un aumento en el contenido de humedad estimuló el proceso de biorremediación en BioD2 con respecto a BioD1, mencionado anteriormente. Diferentes investigadores han reportado rango de valores de capacidad de retención de agua óptimos para el desarrollo de la actividad microbiana. Sin embargo, cuando se utilizó el oxidante el mayor contenido de agua se relacionó con una menor velocidad en la descomposición del anión persulfato (Capítulo 4, **inciso 4.3**) posiblemente por la dilución de los activadores del suelo. Por lo tanto, aplicar un tratamiento utilizando el agua como un parámetro relevante más, debe ser estudiado cuidadosamente, debido a que favorece la biodegradación pero puede dificultar la oxidación química con PS.

5.8. Conclusiones

- Si bien la concentración de PS debe ser escogida según la cantidad de contaminante presente en el suelo a tratar y las reacciones del radical sulfato con los componentes del suelo, el uso en cantidades muy grandes puede conducir a consecuencias drásticas en el suelo, que perjudiquen la posterior biodegradación. Cuando se aplicó concentraciones bajas de PS ($< 8,61 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{Kg}_{\text{TS}}$), se observó un efecto bioestimulador que favorece la posterior biodegradación de FEN.
- El uso de citrato y Fe (II) en los tratamientos con PS, limitó la degradación de FEN. El número de BHC para PS/Fe/citrato (A y B) fueron similares a los de control BioD1, por lo que se puede considerar que el citrato fue utilizado como fuente de carbono. La cantidad de citrato utilizada inhibió la degradación del contaminante. Por lo tanto, cuando se combina procesos de oxidación química con biorremediación, las elecciones de los activantes, complejantes u otros agentes debe ser seleccionada cuidadosamente, de manera de evitar competencias con el contaminante.
- La bioestimulación buscada por el agregado de amonio (como ion acompañante del PS) no logró compensar el impacto negativo en el suelo por el uso de una alta cantidad del anión persulfato.
- La aplicación de agregados sucesivos de oxidante en pequeñas cantidades, no mejoró la eficiencia en la degradación de FEN. Esto puede ser consecuencia de la acidificación del medio (provenientes de PS) que afectó las propiedades del suelo de la misma manera que un único agregado del oxidante en una mayor concentración.
- Un aumento en el contenido de humedad estimuló el proceso de biorremediación en BioD2 con respecto a BioD1. Sin embargo, el mayor contenido de agua se relaciona con una menor velocidad en la descomposición del persulfato (Capítulo 4, **inciso 4.3**). La descomposición del anión persulfato es menor con un mayor porcentaje de humedad, y consecuentemente se observa una menor degradación de FEN.

5.9. Referencias

- Ayotamuno, J.M., Kogbara, R.B., Taleat, M.O., 2006. Bioremediation of a petroleum-hydrocarbon polluted agricultural soil at different levels of water application in Port Harcourt, Nigeria. *J. Food, Agric. Environ.* 4, 1–4.
- Baker, K. H., and Herson, D. S., (1994). "Microbiology and biodegradation," *Bioremediation*, K. H. Baker and D. S. Herson, eds., McGraw–Hill, New York.
- Bosio, G.N., Gara, P.D., Einschlag, F.S.G., Gonzalez, M.C., Del Panno, M.T., Mártire, D.O., 2008. Photodegradation of soil organic matter and its effect on gram-negative bacterial growth. *Photochem. Photobiol.* 84, 1126–1132. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00274.x
- Bossert, I., Bartha, R., 1984. The fate of petroleum in soil ecosystems. Atlas, R.M. (Ed.), *Pet. Microbiol.* 437–473.
- Calvo, C., Manzanera, M., Silva-Castro, G. a., Uad, I., González-López, J., 2009. Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects. *Sci. Total Environ.* 407, 3634–3640. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.008
- Coppotelli, B.M., Ibarrolaza, A., Dias, R.L., Del Panno, M.T., Berthe-Corti, L., Morelli, I.S., 2010. Study of the Degradation Activity and the Strategies to Promote the Bioavailability of Phenanthrene by *Sphingomonas paucimobilis* Strain 20006FA. *Microb. Ecol.* 59, 266–276. doi:10.1007/s00248-009-9563-3
- Couling, N.R., Towell, M.G., Semple, K.T., 2010. Biodegradation of PAHs in soil: Influence of chemical structure, concentration and multiple amendment. *Environ. Pollut.* 158, 3411–3420. doi:10.1016/j.envpol.2010.07.034
- David Gara, P.M., Bosio, G.N., Gonzalez, M.C., Mártire, D.O., 2008. Kinetics of the sulfate radical-mediated photo-oxidation of humic substances. *Int. J. Chem. Kinet.* 40, 19–24. doi:10.1002/kin.20287
- Davis, C., Cort, T., Dai, D., Illangasekare, T.H., Munakata-Marr, J., 2003. Effects of heterogeneity and experimental scale on the biodegradation of diesel. *Biodegradation* 14, 373–384. doi:10.1023/A:1027376318530
- Ferguson, S.H., Franzmann, P.D., Revill, A.T., Snape, I., Rayner, J.L., 2003. The effects of nitrogen and water on mineralisation of hydrocarbons in diesel-contaminated terrestrial Antarctic soils. *Cold Reg. Sci. Technol.* 37, 197–212. doi:10.1016/S0165-232X(03)00041-7
- Fu, F., Dionysiou, D.D., Liu, H., 2014. The use of zero-valent iron for groundwater remediation and wastewater treatment: A review. *J. Hazard. Mater.* 267, 194–205. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.12.062
- Gan, S., Lau, E.V., Ng, H.K., 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Hazard. Mater.* 172, 532–549. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.07.118
- Hanser, O., Biache, C., Boulangè, M., Parant, S., Lorgeoux, C., Billet, D., Michels, R., Faure, P., 2014. Evolution of dissolved organic matter during abiotic oxidation of coal tar-

- comparison with contaminated soils under natural attenuation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 1431–1443. doi:10.1007/s11356-014-3465-8
- Hinchee, R.E., Leeson, A., 1996. *Soil Bioventing: Principles and Practice*.
- Holman HY, Tsang YW. Influence of soil moisture on biodegradation of petroleum hydrocarbons. In: Hinchee RE, Miller RN, Johnson PC, editors. *In situ aeration: air sparging, bioventing, and related remediation processes*. Columbus: Battelle; 1995. pp. 323–332.
- Horel, A., Schiewer, S., 2009. Investigation of the physical and chemical parameters affecting biodegradation of diesel and synthetic diesel fuel contaminating Alaskan soils. *Cold Reg. Sci. Technol.* 58, 113–119. doi:10.1016/j.coldregions.2009.04.004
- House, D. a., 1962. Kinetics and Mechanism of Oxidations by Peroxydisulfate. *Chem. Rev.* 62, 185–203. doi:10.1021/cr60217a001
- Huang, K.C., Zhao, Z., Hoag, G.E., Dahmani, A., Block, P. a., 2005. Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation. *Chemosphere* 61, 551–560. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.02.032
- Laurent, F., Cébron, a., Schwartz, C., Leyval, C., 2012. Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. *Chemosphere* 86, 659–664. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.11.018
- Liang, C., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., 2004a. Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. I. Activated by ferrous ion with and without a persulfate–thiosulfate redox couple. *Chemosphere* 55, 1213–1223. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.01.029
- Liang, C., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., 2004b. Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. II. Activated by chelated ferrous ion. *Chemosphere* 55, 1225–1233. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.01.030
- Liang, C., Lee, I.-L., Hsu, I.-Y., Liang, C.-P., Lin, Y.-L., 2008. Persulfate oxidation of trichloroethylene with and without iron activation in porous media. *Chemosphere* 70, 426–435. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.06.077
- Muller, B., Klager, W., Kubitzki, G., 1997. Metal chelates of citric acid as corrosion inhibitors for zinc pigment. *Corros. Sci.* 39, 1481–1485.
- Nadim, F., Huang, K.C., Dahmani, A.M., 2006. Remediation of soil and ground water contaminated with PAH using heat and Fe(II)-EDTA catalyzed persulfate oxidation. *Water, Air, Soil Pollut. Focus* 6, 227–232. doi:10.1007/s11267-005-9008-z
- Namkoong, W., Hwang, E.Y., Park, J.S., Choi, J.Y., 2002. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environ. Pollut.* 119, 23–31. doi:10.1016/S0269-7491(01)00328-1
- Osgerby, I.T., 2006. ISCO Technology Overview: Do You Really Understand the Chemistry? *Contam. Soils, Sediments Water* 287–308. doi:10.1007/0-387-28324-2_19

- Pandey, P., Pathak, H., Dave, S., 2016. Microbial Ecology of Hydrocarbon Degradation in the Soil: A Review. *Res. J. Environ. Toxicol.* 10, 1–15. doi:10.3923/rjet.2016.1.15
- Puglisi, E., Cappa, F., Fragoulis, G., Trevisan, M., Del Re, A. a M., 2007. Bioavailability and degradation of phenanthrene in compost amended soils. *Chemosphere* 67, 548–556. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.09.058
- Rastogi, A., Al-Abed, S.R., Dionysiou, D.D., 2009. Sulfate radical-based ferrous–peroxymonosulfate oxidative system for PCBs degradation in aqueous and sediment systems. *Appl. Catal. B Environ.* 85, 171–179. doi:10.1016/j.apcatb.2008.07.010
- Riser-Roberts, E., 1998. Optimization of bioremediation. *Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical, and Chemical Processes*. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 219 – 316
- Rodriguez, S., Vasquez, L., Costa, D., Romero, a., Santos, a., 2014. Oxidation of Orange G by persulfate activated by Fe(II), Fe(III) and zero valent iron (ZVI). *Chemosphere* 101, 86–92. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.12.037
- Sarkar, D., Ferguson, M., Datta, R., Birnbaum, S., 2005. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environ. Pollut.* 136, 187–195. doi:10.1016/j.envpol.2004.09.025
- Silva-Castro, G.A., Rodriguez-Calvo, A., Laguna, J., González-López, J., Calvo, C., 2016. Autochthonous microbial responses and hydrocarbons degradation in polluted soil during biostimulating treatments under different soil moisture. *Assay in pilot plant. Int. Biodeterior. Biodegrad.* 108, 91–98. doi:10.1016/j.ibiod.2015.12.009
- Sirguey, C., Tereza de Souza e Silva, P., Schwartz, C., Simonnot, M.O., 2008. Impact of chemical oxidation on soil quality. *Chemosphere* 72, 282–289. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.01.027
- Sutton, N.B., Grotenhuis, J.T.C., Langenhoff, A. a M., Rijnaarts, H.H.M., 2011. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. *J. Soils Sediments* 11, 129–140. doi:10.1007/s11368-010-0272-9
- Tan, C., Gao, N., Chu, W., Li, C., Templeton, M.R., 2012. Degradation of diuron by persulfate activated with ferrous ion. *Sep. Purif. Technol.* 95, 44–48. doi:10.1016/j.seppur.2012.04.012
- Vidali, M. 2001. Bioremediation, an overview. *Pure and Appl. Chem.* 73:63–72.
- Waigi, M.G., Kang, F., Goikavi, C., Ling, W., Gao, Y., 2015. Phenanthrene biodegradation by sphingomonads and its application in the contaminated soils and sediments: A review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 104, 333–349. doi:10.1016/j.ibiod.2015.06.008
- Williams, C.M., Grimes, J.L., Mikkelsen, R.L., 1999. The use of poultry litter as co-substrate and source of inorganic nutrients and microorganisms for the ex situ biodegradation of petroleum compounds. *Poult. Sci.* 78, 956–64.

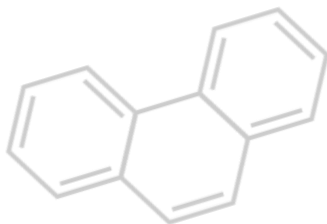

Zhang, X.-X., Cheng, S.-P., Zhu, C.-J., Sun, S.-L., 2006. Microbial PAH-Degradation in Soil: Degradation pathways and contributing factors. *Pedosphere* 16, 555–565. doi:10.1016/S1002-0160(06)60088-X



Capítulo 6



Estrategias de remediación de un suelo contaminado con fenantreno y pireno utilizando permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno y persulfato de sodio



6. Estrategias de remediación de un suelo contaminado con fenantreno y pireno utilizando permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno y persulfato de sodio

6.1. Introducción

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) se pueden clasificar en dos grupos dependiendo de su peso molecular. Estos dos grupos presentan diferencias tanto en sus propiedades químicas como en la persistencia en el ambiente. Para estudiar el efecto de la oxidación química sobre los dos grupos de PAH, se trabajó con un suelo contaminado con 1200 ± 200 ppm fenantreno (FEN) y 2800 ± 100 pireno (PIR) como modelo de PAH de bajo peso molecular (BPM) y alto peso molecular (APM), respectivamente. Además, estos dos PAH son los que se encuentran mayoritariamente en sitios contaminados con hidrocarburos (Silva y col. 2009).

En un suelo contaminado recientemente los hidrocarburos están más disponibles y por lo tanto son más fácilmente oxidables. Sin embargo, luego de que el proceso de contaminación se asienta por un largo periodo de tiempo y no es tratado rápidamente, aplicar técnicas para remediar ese suelo presenta mayor dificultad (Usman y col., 2016). Debido a lo mencionado, se decidió contaminar el Suelo I y reservarlo durante 15 meses con el objetivo de tener una condición similar a una contaminación crónica. Los tratamientos se realizaron en sistemas batch preparados con 10 g de tierra seca contaminada y 20 ml de solución acuosa.

En una primera tanda de ensayos (SB₁) se trabajó con diferentes oxidantes: permanganato de potasio (PM), peróxido de hidrógeno (PH) y persulfato de sodio (PS), todos ellos utilizados en una concentración de aproximadamente 1,5 dosis para lograr la mineralización completa de los contaminantes.

Además, se estudió la posibilidad de utilizar activantes y complejantes del metal para favorecer el proceso de oxidación en los tratamientos con PS y PH. En este caso se utilizó la combinación de una sal de Fe (II) y EDTA. El uso de Fe (II) tiene como objetivo favorecer la reacción de formación de radicales (sulfato e hidroxilo), mientras que el complejante se utilizó para favorecer la disponibilidad del activante en solución acuosa. Los detalles de las condiciones experimentales pueden verse en la **Tabla 3.8** (Capítulo 3).

Para PS se estudió la activación mediante la aplicación de distintas estrategias: acción de la temperatura, medio alcalino mediante la incorporación de NaOH concentrado (pH 10) y medio neutro a partir de un buffer fosfato de pH 7. Los detalles de las condiciones experimentales pueden verse en la **Tabla 3.8** (Capítulo 3).

A partir de los resultados obtenidos, se realizó una segunda tanda de ensayos con suelo contaminado con diferentes concentraciones de los dos contaminantes utilizados (SB_2), utilizando PS activado por acción de la temperatura (**Tabla 3.9**, Capítulo 3).

6.2. Oxidación química utilizando permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno y persulfato de sodio

Se estudió la eficiencia en la remoción de FEN y PIR a partir del uso de diferentes oxidantes en sistemas batch. Para ello se estudiaron tres tratamientos: sPM (1,46 dosis), sPH (1,59 dosis) y sPS (1,52 dosis), los cuales se analizaron con un control de biodegradación BioD3. En la **Figura 6.1** se muestra el efecto de los oxidantes sobre el porcentaje de degradación de FEN y PIR luego de siete días de tratamiento.

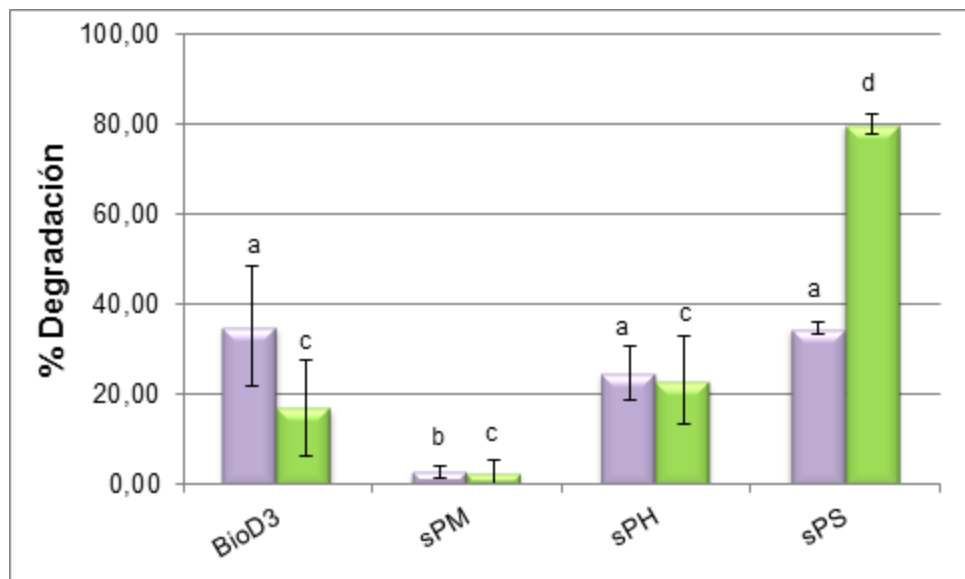


Figura 6.1. Porcentaje de degradación de Fenantreno (■) y Pireno (■) para el control de biodegradación BioD3 y los sistemas batch sPM, sPH y sPS a los 7 días. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto a BioD3 para cada contaminante a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

Luego de siete días de ensayo la degradación de FEN fue similar para BioD3, sPS y sPH (35%, 25% y 34%, respectivamente). Sin embargo, para PIR se observaron diferencias en los porcentajes de remoción en las distintas condiciones estudiadas: en sPS se eliminó el 80%, mientras que para sPH y BioD3 la degradación fue mayor al 17%. En el caso de sPM, la eliminación de FEN y PIR fue menor al 2,5% (**Figura 6.1**).

En la **Tabla 6.1** se presentan los valores de pH, conductividad eléctrica (CE), número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) y número de bacterias degradadoras de

hidrocarburos policíclicos aromáticos (BDPAH), a los siete días de experimento para los estos sistemas.

Tabla 6.1. Valores de pH, conductividad eléctrica CE (1:2), número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) y número de bacterias degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos (BDPAH) luego de 7 días de incubación, en los sistemas BioD3, sPM, sPH y sPS.

| Tratamiento | pH | CE (1:2) (dS/m) | BHC Log UFC/g _{TS} | BDPAH Log NMP/g _{TS} |
|-------------|-----------|--------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| BioD3 | 6,8 ± 0,2 | 0,3 ± 0,2 | 10,4 ± 0,6 | 7,7 ± 0,4 |
| sPM | 9,6 ± 0,2 | 5,8 ± 0,2 | 3,98 ± 0,02 | 4,06 ± 0,03 |
| sPH | 6,8 ± 0,2 | 0,3 ± 0,2 | 11,2 ± 0,7 | 5,0 ± 0,9 |
| sPS | 1,5 ± 0,2 | ≥10 | 4,6 ± 0,4 | 4,06 ± 0,01 |

Para sPH los valores de pH, CE y número de BHC fueron similares al control BioD3, mientras que el número de BDPAH fue dos órdenes menor, lo cual concuerda con la baja degradación de PAH observada. Para sPS y sPM los valores de pH y CE se modificaron en gran medida. En el caso de sPS, se observó la acidificación del medio (al igual que en los sistemas del Capítulo 5 donde se usó PS), mientras que con sPM se observó una aumento del valor de pH (9,6). Esta variación del pH condujo a una disminución de más de cinco órdenes en BHC y de dos órdenes para BDPAH.

6.3. Activación de persulfato de sodio y peróxido de hidrógeno mediante el agregado de Fe (II) y EDTA

Con el objetivo de producir una mayor degradación de los contaminantes, se agregó al medio de reacción Fe (II) y EDTA. Como se mencionó anteriormente (Capítulo 1), el hierro facilita la activación de estos dos oxidantes. El complejante de metal se utilizó para favorecer la permanencia en la solución del metal, independientemente del valor de pH del medio. En este caso se trabajó con EDTA (un complejante no biodegradable) debido a que el citrato de sodio (utilizado en el Capítulo 5) no presentó mejoras en la remoción de FEN, posiblemente debido a su biodegradabilidad. Los sistemas sPS/Fe/EDTA y sPH/Fe/EDTA se compararon con sPS y sPH, respectivamente. Por último, se estudió la eficiencia de remoción de los PAH con el control de biodegradación BioD3. La relación Fe/EDTA utilizada (1:1,2) fue similar a la de varios trabajos de investigación donde se utilizó para la oxidación de otros contaminantes (Liang y col. 2009; Saelee y Bunyakan 2012; Kaur y Crimi 2014).

Los porcentajes de degradación alcanzados por estos tratamientos se muestran en la **Figura 6.2**.

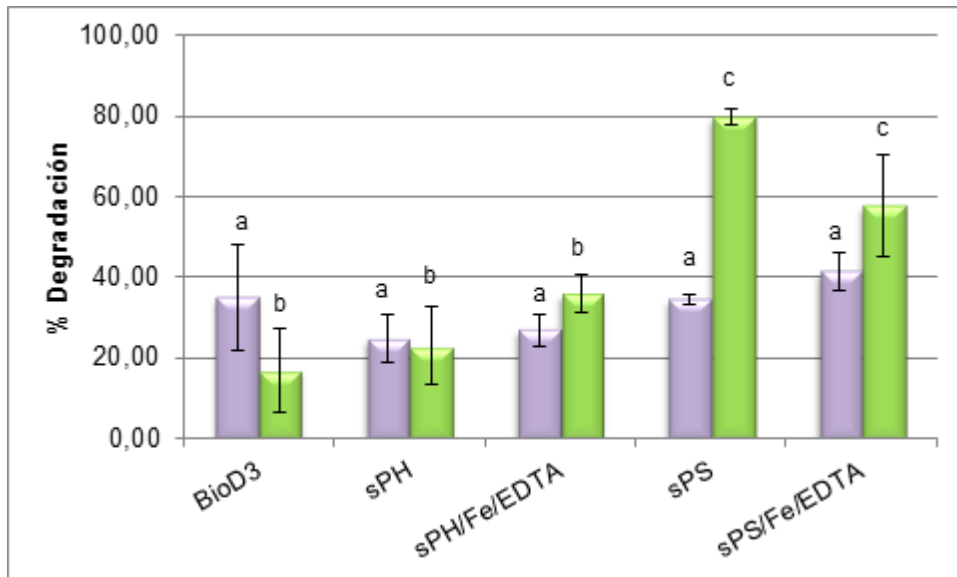


Figura 6.2. Porcentaje de degradación de Fenantreno (■) y Pireno (■) para el control de biodegradación BioD3 y los sistemas batch sPH, sPH/Fe/EDTA, sPS, sPS/Fe/EDTA a los 7 días. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto a BioD3 para cada contaminante a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

En todas las condiciones estudiadas la degradación de FEN no mostró diferencias significativas con respecto al control de biodegradación BioD3, alcanzando aproximadamente el 40% luego de siete días de ensayo. En el caso de PIR, se observó una mayor degradación en los tratamientos con PS (~ 80% para sPS y 60% sPS/Fe/EDTA) con respecto al control BioD3 (17 %). Para PH no se observaron diferencias significativas en ninguna de las dos condiciones estudiadas (sPH y sPH/Fe/EDTA) con respecto al control de biodegradación (~ 20%) luego de siete días.

En la **Tabla 6.2** se pueden observar los parámetros químicos y biológicos estudiados (pH, CE, BHC y BDPAH) a los 7 días de experimento.

Tabla 6.2. Valores de pH, conductividad eléctrica (1:2), número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) y número de bacterias degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos (BDPAH), luego de 7 días de incubación, en los sistemas BioD3, sPH, sPH/Fe/EDTA, sPS y sPS/Fe/EDTA.

| Tratamiento | pH | CE (1:2) (dS/m) | BHC Log UFC/g _{TS} | BDPAH Log NMP/g _{TS} |
|-------------|-----------|--------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| BioD3 | 6,8 ± 0,2 | 0,3 ± 0,2 | 10,4 ± 0,6 | 7,7 ± 0,4 |
| sPH | 6,8 ± 0,2 | 0,3 ± 0,2 | 11,2 ± 0,7 | 5,0 ± 0,9 |
| sPH/Fe/EDTA | 5,2 ± 0,2 | 3,9 ± 0,2 | ≤ 7,80 | 4,06 ± 0,01 |
| sPS | 1,5 ± 0,2 | ≥10 | 4,6 ± 0,4 | 4,06 ± 0,01 |
| sPS/Fe/EDTA | 1,3 ± 0,2 | ≥10 | 4,0 ± 0,1 | 4,4 ± 0,1 |

Los cambios más drásticos en los valores de pH, la CE, el número de BHC y BDPAH se observaron para los tratamientos donde con PS (con o sin el agregado de activante). Al igual que lo descrito anteriormente, el pH del medio se acidifica y la CE aumentó como consecuencia de la incorporación de iones, lo cual tiene un impacto negativo en la actividad biológica (disminuyó más de 5 ordenes). Para sPH/Fe/EDTA se observó una disminución de pH (5,2), de los recuentos biológicos (número de BHC y BDPAH) y un aumento en la CE (3,9) como consecuencia del agregado activante y complejante, con respecto a las condiciones iniciales de suelo.

6.4. Diferentes estrategias para la activación de persulfato de sodio

En el inciso anterior (**inciso 6.3.**) se observó una mejora en la degradación de PIR para los tratamientos con PS. Por lo tanto, se decidió estudiar otras formas de activación del oxidante mencionado con el objetivo de mejorar la eficiencia en la remoción de los contaminantes.

Las formas de activación utilizadas fueron:

Activación Térmica: se calentó durante 6 horas a 65°C y luego se mantuvo a 25°C hasta completar 7 días de ensayo (sPS/Térmico). No se eligió utilizar una temperatura de activación mayor para conservar las características del suelo, de manera que la biota tenga la posibilidad de recuperarse.

Activación Alcalina: agregado de una solución concentrada de NaOH para alcanzar un valor de pH inicial de 10 (sPS/Alcalino).

Además, en uno de los sistemas se utilizó un buffer fosfato de pH 7 con el objetivo minimizar el cambio en el pH producido por el agregado de PS.

Estos tratamientos se compararon con sPS y sPS/Fe/EDTA. Los porcentajes de degradación de FEN y PIR luego de siete días se muestran en la **Figura 6.3**.

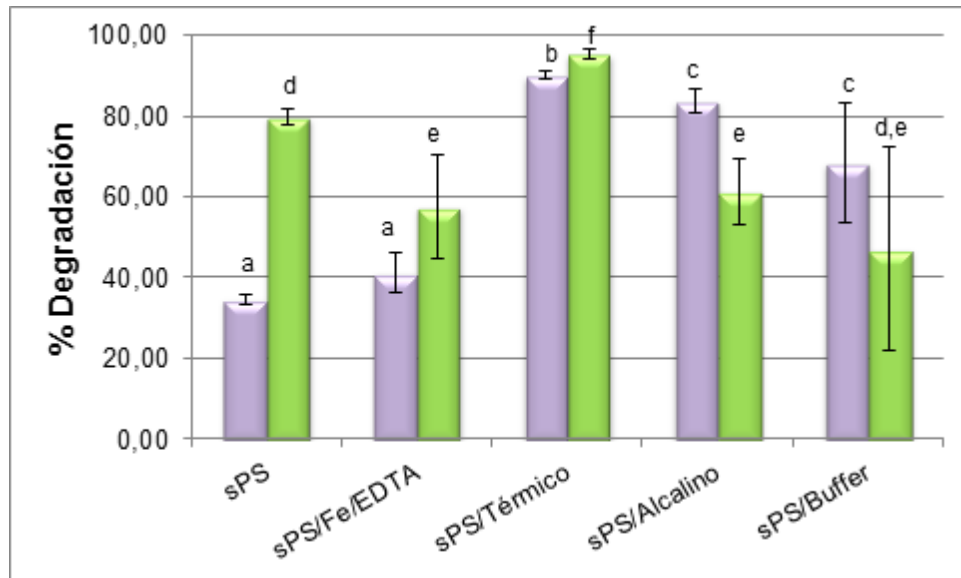


Figura 6.3. Porcentaje de degradación de Fenantroeno (■) y Pireno (■) para los sistemas sPS, sPS/Fe/EDTA, sPS/Térmico, sPS/Alcalino y sPS/Buffer a los 7 días. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto a sPS para cada contaminante a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

La degradación de FEN y PIR fue significativamente mayor para los tratamientos donde la activación del PS fue por medio de la temperatura (sPS/Térmico): 90% y 96%, respectivamente. Además, en sPS/Alcalino se obtuvieron altos porcentajes de degradación, 84% para FEN y 61% para PIR. En el caso del tratamiento sPS/Buffer la remoción de FEN (68%) y PIR (47%). En todos los casos la degradación de los contaminantes fue mayor con respecto a sPS, que solo dispone del hierro en el suelo para poder activarse y generar los radicales sulfato.

En la **Tabla 6.3** se pueden observar los valores de los parámetros químicos y biológicos estudiados luego de siete días de ensayo: pH, CE, número de BHC y BDPAH para las distintas formas de activación de PS.

Tabla 6.3. Valores de pH, conductividad eléctrica (1:2), número de bacterias heterótrofas cultivables (BHC) y número de bacterias degradadoras de hidrocarburos aromáticos (BDPAH) luego de 7 días de incubación, en los sistemas BioD3, sPS, sPS/Fe/EDTA, sPS/Térmico, sPS/Alcalino y sPS/Buffer.

| Tratamiento | pH | CE (1:2) (dS/m) | BHC Log UFC/g _{TS} | BDPAH Log NMP/g _{TS} |
|--------------|-----------|--------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| BioD3 | 6,8 ± 0,2 | 0,3 ± 0,2 | 10,4 ± 0,6 | 7,7 ± 0,4 |
| sPS | 1,5 ± 0,2 | ≥10 | 4,6 ± 0,4 | 4,06 ± 0,01 |
| sPS/Fe/EDTA | 1,3 ± 0,2 | ≥10 | 4,0 ± 0,1 | 4,4 ± 0,1 |
| sPS/Térmico | 1,5 ± 0,2 | ≥10 | 4,94 ± 0,03 | 5,11 ± 0,06 |
| sPS/Alcalino | 2,4 ± 0,2 | ≥10 | 5,5 ± 0,3 | 5,06 ± 0,03 |
| sPS/Buffer | 2,2 ± 0,2 | ≥10 | 4,05 ± 0,05 | 4,06 ± 0,02 |

Todos los parámetros químicos y biológicos de los tratamientos donde el PS se activó de diferentes maneras fueron similares a sPS (sin ninguna activación). Los valores de pH disminuyeron significativamente, debajo de 2,5; y la CE aumento a valores mayores de 10 dS/m. Con respecto a los recuentos bacterianos, tanto el número de BHC como el de BDHA mostraron disminuciones con respecto al control de biodegradación BioD3.

6.5. Activación térmica de persulfato de sodio

Debido a que los mejores porcentajes de eliminación de los PAH se obtuvieron mediante la activación térmica del persulfato, se decidió utilizar el mismo tipo de activación con diferentes relaciones en las concentraciones de FEN/PIR (alta para T1 y baja para T2), y dos concentraciones diferentes de FEN (alta para T3 y baja para T4) (**Tabla 3.9**). Cabe destacar que todos los tratamientos se prepararon con igual cantidad de PS, por lo tanto se trabajó con aproximadamente 2,6 dosis de oxidante para T1, T2 y T3, mientras que para T4 esa cantidad de oxidante correspondió a 11 dosis. Todos los sistemas se realizaron a una temperatura de 65°C durante 6 horas. Para cada uno de los tratamientos estudiados se realizó un control de biodegradación que fue sometido a las mismas condiciones de los tratamientos. Los porcentajes de degradación de FEN y PIR en cada sistema se muestran en la **Figura 6.4**.

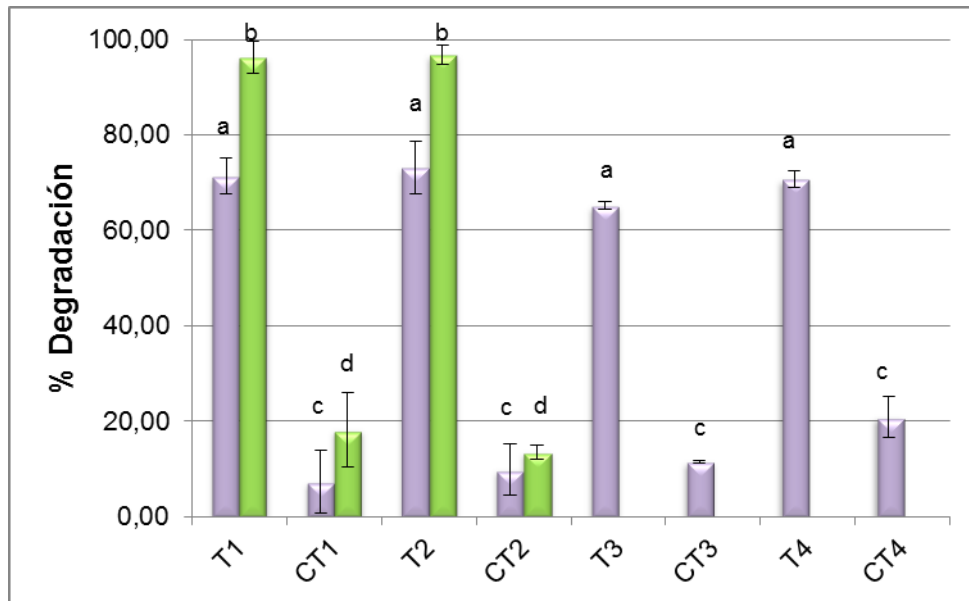


Figura 6.4. Porcentaje de degradación de Fenantreno (■) y Pireno (■) para los tratamientos térmicos T1, T2, T3 y T4 y los controles de biodegradación CT1, CT2, CT3 y CT4 luego de 6 horas a 65°C. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto a FEN (para los controles y tratamientos) y PIR (para los controles y los tratamientos) a un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

En la **Figura 6.4** puede observarse que todos los tratamientos térmicos presentaron mayores porcentajes de degradación de FEN y PIR con respecto a los controles sin oxidante químico. Para todos los tratamientos (T1, T2, T3 y T4) la degradación de FEN fue superior al 65%, mientras que para los controles respectivos (CT1, CT2, CT3 y CT4) fue menor del 20%. Con respecto a PIR, T1 y T2 eliminaron más del 96%, mientras que los CT1 y CT2 menos del 18%.

Para el caso de T2 se estudió el porcentaje de degradación de los PAH en dos tiempos diferentes: T2 6h se calentó a 65°C durante seis horas y T2 7d se calentó a 65 °C durante seis horas y posteriormente se colocó a 25 °C durante siete días. Para estos tratamientos se estudiaron los controles correspondientes CT2 6h y CT2 7d. En la **Figura 6.5** se muestran los porcentajes de degradación para FEN y PIR de los mencionados sistemas.

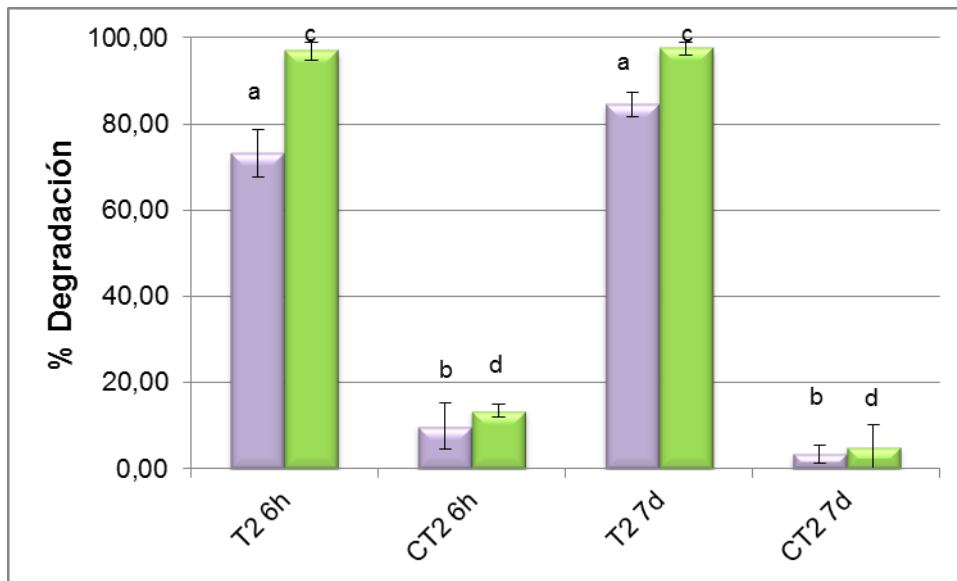


Figura 6.5. Porcentaje de degradación de Fenantreno (■) y Pireno (■) para el tratamiento térmico T2 y el control de biodegradación CT2, luego de 6 horas y 7 días de ensayo. Los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas respecto a FEN y PIR para cada tratamiento con un nivel de 5% (ANOVA two-ways, Tukey test).

En la **Figura 6.5** puede observarse que la degradación de los contaminantes se dio principalmente durante las primeras 6 horas de calentamiento a 65 °C (73 % para FEN y 96 % para PIR). Posteriormente cuando la temperatura del sistema disminuyó a 25 °C, no se observaron diferencias significativas con el tiempo inicial (6 horas). Cabe destacar que la degradación del control fue significativamente menor con respecto al tratamiento con PS (10% para FEN y 14% para PIR).

Debido a que la activación térmica resultó más eficiente con respecto a las otras formas de activación, se decidió estudiar la concentración de hierro en la fase acuosa (mediante inyección directa del sobrenadante filtrado, sin extracción con EDTA). Se determinó la concentración del metal de un tratamiento con PS a 65°C y otro con PS a 25°C. La concentración de hierro fue mayor para el sistema de mayor temperatura registrando una concentración de 1634 ± 75 ppm, con respecto a los 8 ± 2 ppm a 25°C.

6.6. Análisis de la estructura de las comunidades bacterianas en los SB₁

Con el objetivo de conocer la dinámica de las comunidades microbianas del suelo producido por la aplicación de tratamientos de oxidación química, se realizó la extracción del ADN total del suelo, la amplificación con *primers* dirigidos al gen 16S rRNA y la posterior separación de los fragmentos por DGGE, el cual puede observarse en la **Figura 6.6**. Para evaluar la similitud entre las comunidades bacterianas de los distintos sistemas se construyó un

dendrograma a partir de las imágenes digitalizadas de los geles de DGGE. El dendrograma se muestra en la **Figura 6.7**.

A partir de la digitalización de los perfiles de DGGE (**Figura 6.6**) se determinó la diversidad de bandas para cada microcosmo a los 7 días de incubación. Para ello se calculó el índice Shannon (diversidad), los valores obtenidos se muestran en la **Tabla 6.4**.

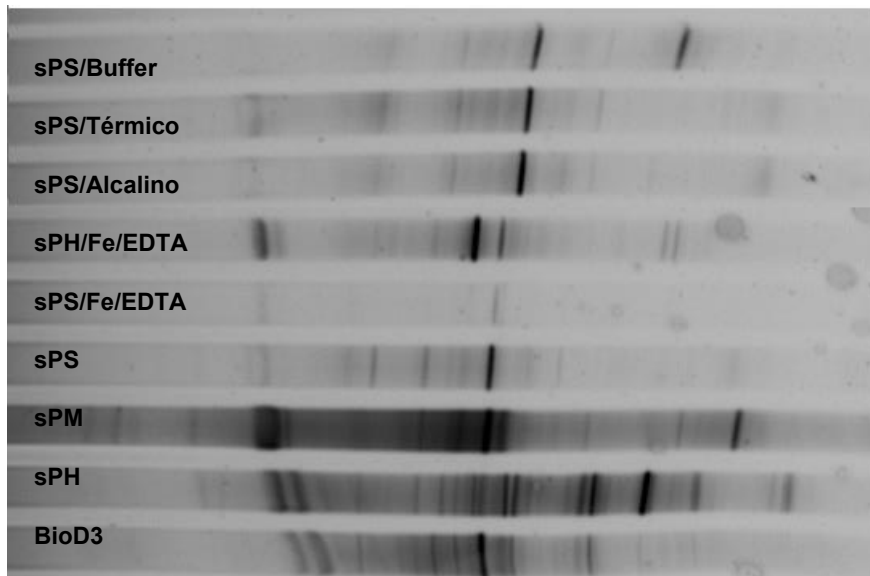


Figura 6.6. Análisis por PCR-DGGE de las poblaciones bacterianas de suelo de los tratamientos BioD3, sPH, sPM, sPS, sPS/Fe/EDTA, sPH/Fe/EDTA, sPS/Térmico, sPS/Alcalino y sPS/Buffer a los 7 días.

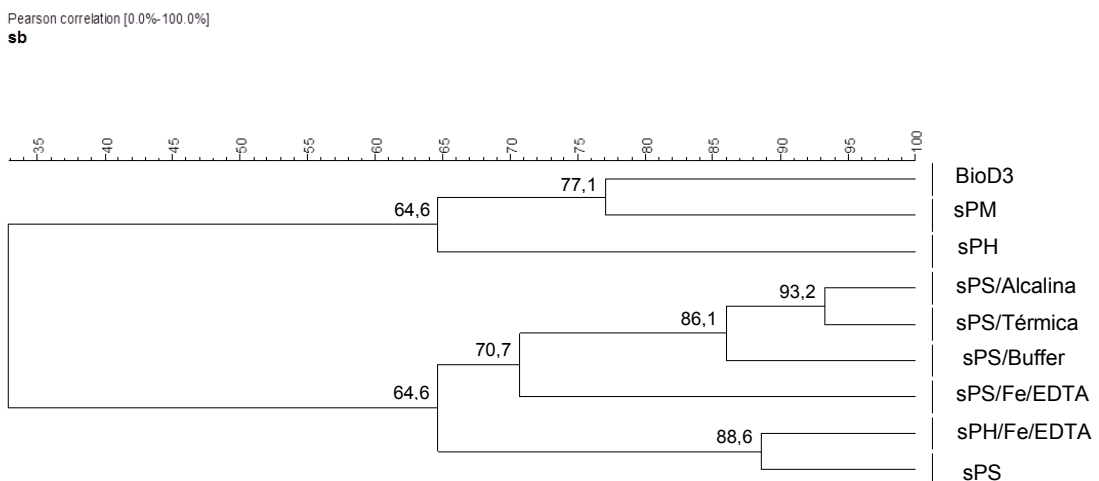


Figura 6.7. Dendrograma construido a partir de los perfiles de bandas obtenidos en el gel de DGGE de BioD4, sPH, sPM, sPS, sPS/Fe/EDTA, sPH/Fe/EDTA, sPS/Activación Térmica, sPS/Activación Alcalina y sPS/Buffer a los siete días. Los cálculos se realizaron utilizando la correlación Pearson.

Tabla 6.4. Diversidad genética (H') de las comunidades bacterianas obtenido para cada tratamiento luego de 7 días.

| Tratamiento | H' (Log) |
|--------------|------------|
| BioD3 | 3,345 |
| sPH | 3,449 |
| sPM | 2,771 |
| sPS | 2,931 |
| sPS/Fe/EDTA | 2,758 |
| sPH/Fe/EDTA | 3,148 |
| sPS/Térmico | 2,907 |
| sPS/Alcalino | 3,26 |
| sPS/Buffer | 2,66 |

En los perfiles de PCR-DGGE de los sistemas estudiados (independientemente del oxidante utilizado) se observaron cambios en la estructura de la comunidad bacteriana luego de 7 días con respecto al control de biodegradación (BioD3). En el caso de sPH se pueden apreciar una gran cantidad de bandas, al igual que BioD3, sin embargo los perfiles son diferentes. En los tratamientos con PM y PS (independientemente de la manera de activar este último) se observó una pérdida de diversidad (dado por el menor número de bandas). Los sistemas sPS/Térmico y sPS/Alcalino presentaron una gran similitud (93,2%) (**Figura 6.6**). En la **Figura 6.7**, se puede observar la formación de un *cluster* que integra todos los tratamientos con un 32 % de similitud. Este a su vez, está formado por dos *subclusters*: uno que está compuesto por BioD3, PM y PH, y un segundo formado por los demás sistemas (sPS/Alcalina, sPS/Térmica, sPS/Buffer, sPS/Fe/EDTA, sPH/Fe/EDTA, sPS).

Al analizar la diversidad con los índices de Shannon no se puede inferir una pérdida de diversidad en las distintas condiciones estudiadas con respecto a Bio3 (**Tabla 6.4**), ya que todos son valores cercanos.

6.7. Discusión

La remediación química utiliza oxidantes fuertes en el tratamiento de suelos afectados con contaminantes orgánicos. Entre los más utilizados están el PM (Forsey y col., 2010), el PH (Ferrarese y col. 2008) y el PS (Liao y col. 2014). Mientras que la oxidación de PM ($E^0 = 1,7$ V) involucra la transferencia directa de electrones, el uso de PH y PS genera radicales HO^\bullet ($E^0 = 2,8$ V) y $SO_4^{\bullet-}$ ($E^0 = 2,6$ V) con alto poder oxidante (Liang y col., 2012).

En los sistemas estudiados se observó que la secuencia de oxidantes que presentó una mayor eficiencia de degradación de los PAH fue: sPS > sPH > sPM (**Figura 6.1**).

La baja eficiencia obtenida con PM puede estar relacionada con el menor potencial de oxidación que presenta, con respecto a los potenciales de los radicales sulfato e hidroxilo. Otra causa de los porcentajes de degradación tan bajos de FEN y PIR para sPM (<2,5 %) se pueden asociar con los cambios en los parámetros químicos (aumento de pH y de CE) los cuales limitan la degradación de carácter biológico (menor número de BHC y BDPAH) con respecto al control sin oxidante químico BioD3 (**Tabla 6.1**).

Si bien los resultados obtenidos con PM, demostraron muy poca remoción de los PAH estudiados (**Figura 6.1**), varios investigadores han encontrado resultados opuestos. Por ejemplo Yen y colaboradores (Yen y col. 2011), obtuvieron un 60% de degradación de hidrocarburos totales utilizando PM después de 150 días de tratamientos en un suelo contaminado con diesel (5000 ppm de hidrocarburos totales) trabajando en una concentración de oxidante de 300 g/kg_{TS} (~3 veces más que la concentración de sPM). De Souza e Silva y colaboradores (Silva y col., 2009) obtuvieron porcentajes altos de eliminación de FEN (entre 80- 90%) y PIR (entre 50-70 %), utilizando PM (menos de dos dosis) luego de 3 días. Sin embargo, los suelos utilizados en los dos experimentos citados presentaron un contenido de materia orgánica menor al 1%, muy diferente del Suelo I (8,05%) utilizado en nuestros ensayos.

Por otro lado, Lemaire y colaboradores (Lemaire y col. 2013), obtuvieron altos porcentajes de remoción de PAH con PM (75%) en un suelo contaminado con 1300 ppm de PAH y con un porcentaje de materia orgánica similar a la del Suelo I (7,15%) luego de 4 días. Sin embargo, la dosis utilizada por Lemaire (7,5, 15 y 30) superó ampliamente a la de sPM (1,46).

En esta tesis no se trabajó con dosis superiores a 1,5 para PM, debido a que con esa dosis de PS y PH se obtuvieron mejores resultados.

Los porcentajes de degradación de FEN y PIR para sPH fueron similares a los obtenidos para BioD3 (25 y 23%, respectivamente) luego de 7 días de ensayo (**Figura 6.1**). En los tratamientos con PH los valores de pH y CE no se modificaron con respecto al control de biodegradación (**Tabla 6.1**), por lo que el impacto en la actividad biológica fue moderado. Los valores de BHC fueron similares a los del control BioD3, mientras que el número de BDPAH fue menor.

La descomposición del PH se produce con una velocidad alta. Si bien en este tratamiento no se realizó agregado externo de Fe, los minerales presentes en el suelo serían capaces de activar al PH, al igual que se observó en experimentos anteriores con PS (Capítulo 4).

Este tratamiento (sPH) se realizó sin modificar el pH del medio (6,8), por lo tanto se podrían plantear estrategias para mejorar su eficiencia. Se puede mencionar el uso de algún

activante (Fe) combinado con un complejante que evite la precipitación del metal como consecuencia de no operar en un pH óptimo como lo requiere el hierro (Rivas 2006; Xu y Thomson 2007; Tijani y col. 2014). Otra opción sería acidificar el medio (3 - 4) para que el Fe (de los minerales del suelo) se encuentre disponible. Esta última opción puede ser perjudicial para los microorganismos del suelo y la posterior biodegradación, por lo tanto se decidió utilizar Fe (II) combinado con EDTA como complejante.

La elección de utilizar EDTA, se basó en resultados anteriores. En el capítulo anterior (Capítulo 5), se estudió la activación de PS con Fe (II) complejado con citrato de sodio (en relaciones Fe(II)/complejante 5:25 y 10:50). Sin embargo, debido a que el citrato de sodio puede ser empleado como fuente de carbono por los microorganismos, no se observó una mejor degradación de FEN con respecto al sistema sin Fe/citrato. Por esta razón, se estudió la incorporación de otro agente quelante que no es biodegradable, el EDTA. La relación Fe (II)/complejante utilizada en este caso fue de 1:1,2 (Liang y col. 2009; Saelee y Bunyakan 2012; Kaur y Crimi 2014).

La degradación de FEN y PIR en el sistemas que se agregó Fe y EDTA (sPH/Fe/EDTA) no mostró mejores rendimientos con respecto sPH luego de 7 días (**Figura 6.2**). Ferrarese y colaboradores (Ferrarese y col., 2008) observaron un resultado opuesto al trabajar con sedimento contaminado con PAH (1600 ppm de PAH de bajo peso molecular y 1200 ppm de PAH de alto peso molecular). Para un sistema con PH/Fe(II)/catecol ($7,33 \text{ g}_{\text{catecol}}/\text{kg}_{\text{sedimento}}$), la eliminación fue del 80% luego de completar la descomposición del PH. Sin embargo, estos autores utilizaron aproximadamente 6 dosis, lo cual supera la utilizada para sPH/Fe/EDTA (1,59).

El uso del complejante para mejorar la disponibilidad del activante (Fe externo o Fe de los minerales del suelo) no mejoró la degradación de PAH, por lo que este parámetro no es el limitante de proceso. Se podría inferir que en un suelo con las características del Suelo I (alto contenido de materia orgánica) la concentración de PH utilizada (1,59 dosis) es baja para lograr una oxidación marcada de los PAH, debido a las reacciones secundarias de los radicales con los componentes del suelo (Ferrarese y col. 2008).

Para sPS, de manera similar a lo observado para los ensayos con baja humedad (BH, Capítulo 5), el uso de PS causó una gran variación en los valores del pH (disminución) y CE (aumento) luego de 7 días de ensayo, con respecto al control biológico (**Tabla 6.1**). La disminución en el pH se debe a la alta concentración de PS utilizada que rompe la capacidad buffer del suelo (Foth, 1990; Liang y col., 2008). Como consecuencia de la acidificación del medio y el aumento de la CE, se observó un impacto negativo en el número de BHC y BDPAH (**Tabla 6.1**).

Para sPS la eliminación de FEN fue similar a BioD3 (35%). Sin embargo, la remoción de PIR fue significativamente mayor (80%) respecto de la del control de biodegradación (17%)

(Figura 6.1). La mayor degradación de PIR con respecto a FEN en sPS puede explicarse con el concepto de aromaticidad, que predice la estabilidad y reactividad de muchas moléculas.

El modelo de Clar, establece que la estructura de resonancia de Kekulé con mayor número de sextetos π es la que mejor caracteriza las propiedades de los PAH. La estructura de Clar para un PAH dado es la estructura de resonancia que presenta el mayor número de sextetos π aislados y con el menor número de dobles enlaces en los anillos (Solà, 2013): por ejemplo, en el caso de FEN donde la estructura 2 es la que presenta mayor reactividad. (Figura 6.6).

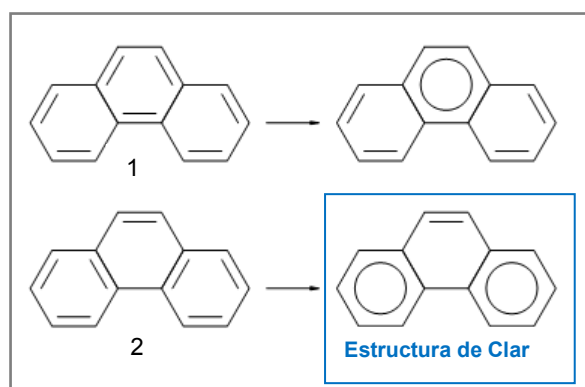


Figura 6.6. Esquema de dos (1,2) de las cinco estructuras de Kekulé posibles para fenantreno. Los sextetos π aromáticos se indican con círculos. La estructura con mayor número de sextetos π aromáticos se denomina estructura de Clar.

En general, los anillos que presentan mayor aromaticidad local (tipo A) son los centros más aromáticos mientras que los otros anillos (tipo B) presentan menor aromaticidad y mayor reactividad química (Portella y col., 2005). Por ejemplo, para el FEN (3 anillos) se observa que los anillos externos presentan mayor aromaticidad local (anillo tipo A) que el anillo central (anillo tipo B) (ver **Figura 6.7.a**). Esto coincide con los cálculos teóricos reportado por varios investigadores (Cyrański y col., 2000; Ruiz-Morales, 2004; Schulman y Disch, 1999). En el caso de PIR (4 anillos) se puede observar la presencia de 2 anillos con sextetos aromáticos (A) y otros dos con menor aromaticidad y mayor reactividad (B) (**Figura 6.7.b**).

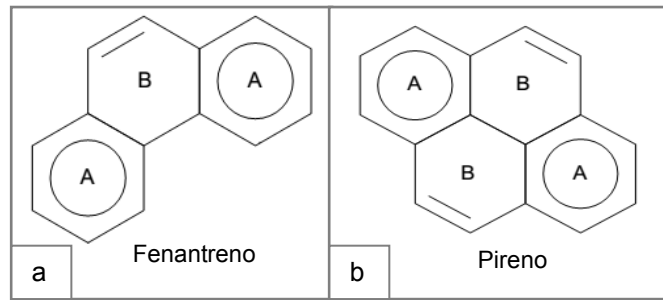


Figura 6.7. Esquema de las estructuras de Clar para fenantreno (**a**) y pireno (**b**). Las letras A indican la presencia de un anillo tipo A (mayor aromaticidad) mientras que las letras B se refieren a los anillos tipo B (menor aromaticidad).

A partir de este análisis se puede predecir que un hidrocarburo aromático con menor cantidad de anillos tipo A presentara mayor reactividad. Además, a igual número de anillos tipo A, la reactividad estará dado por la cantidad de anillos tipo B. Un PAH con mayor número de anillos tipo B será más reactivo. En base a este análisis la reactividad de los PAH estudiados sería **PIR>FEN**, en coincidencia con la degradación que presentaron los PAH en sPS.

Se estudió la activación del anión persulfato mediante distintas estrategias. Al igual que para PH, se utilizó la combinación de Fe y EDTA para mejorar la degradación de FEN y PIR. Nuevamente no se observó un mejor rendimiento con respecto a sPS luego de 7 días (**Figura 6.2**). Esto permite suponer que la disponibilidad de Fe (como activante) no es el limitante del proceso de degradación, ya que el Fe presente en el suelo tratado (Suelo I de la **Tabla 1.1, Capítulo 1**) fue suficiente para activar al PS.

En sPS/Fe/EDTA, los parámetros químicos y biológicos se modificaron con respecto a BioD3: el pH disminuyó significativamente (<1,5) lo cual tuvo un gran impacto en el número de BHC (<4,6) y BDPAH (<4,4), al igual que se observó en los tratamientos con bajo porcentaje de humedad (**Capítulo 5**). Esta inhibición en los cultivos indica que el proceso dominante es una oxidación química de los contaminantes.

Cuando se analizaron otras formas de activación para el anión persulfato, se observó que la activación térmica fue la estrategia más prometedora, la degradación de FEN fue del 90% y PIR del 96% luego de 7 días de experimento (**Figura 6.3**).

En estos sistemas donde se trabajó a 65° C, la mayor eficiencia en la remoción de los PAH puede deberse a que el aumento de la temperatura favorece la formación de radicales sulfato y también la velocidad de todas las reacciones. Además, se observó que la concentración del hierro (propio del Suelo I) en fase acuosa fue mayor a la de los sistemas a 25° C (1634 ppm con respecto a 8 ppm), favoreciendo otra vía de activación del PS.

Al igual que se observó anteriormente, el uso de PS resultó en una disminución del pH (1,5) y aumento de la conductividad eléctrica (>10 dS/m) perjudicando la actividad biológica (el número de BHC y BDPAH disminuyó más de dos órdenes, con respecto a BioD3)

(**Tabla 6.3**). Esto permite inferir que la degradación obtenida tiene principalmente un carácter químico.

En el tratamiento PS/Alcalino se obtuvo un pH mayor a 10 mediante el agregado de una solución de NaOH concentrada, que luego de 7 días de tratamiento disminuyó drásticamente a valores de 2,4 (**Tabla 6.3**). La disminución del pH en este tipo de activación, fue vista también por Waisner y colaboradores, donde el pH disminuyó de un valor inicial de 12 a un valor de 9 luego de 1 día, lo cual podría disminuir la efectividad del tratamiento (Waisner y col., 2008). Chiang y colaboradores (Chiang y col. 2009), obtuvieron un resultado similar en tratamientos con PS en medio alcalino, una mayor degradación de los PAH de bajo peso molecular principalmente de tres o menos anillos.

Trabajar en condiciones alcalinas con soluciones de PS, representa un desafío. Se necesita agregar grandes cantidades de NaOH concentrado para obtener un pH cercano a 10, pero además, este valor debe ser mantenido en el tiempo mediante controles periódicos. Dentro de las causas principales por las que el valor de pH puede sufrir modificaciones, podemos mencionar la capacidad buffer del suelo y el pH ácido que presentan las soluciones de PS.

El impacto en la actividad biológica en este tratamiento fue menor al que se observó para el sistema que solo utilizó persulfato de sodio (sPS). Esto podría deberse a que en los primeros días de tratamiento el impacto del pH en el número de BHC y BDPAH no haya sido significativo, permitiendo la biodegradación y justificando el mayor porcentaje de eliminación FEN con respecto a PIR observado. Si bien no se realizó la medida del pH a lo largo de los siete días de ensayo una posibilidad es que el pH haya disminuido lentamente permitiendo la actividad biológica y la consecuente biodegradación. Sin embargo, la mayor degradación de ambos PAH con respecto al control BioD3 (**Figura 6.4**), permite inferir que además de biodegradación también hubo oxidación química.

Para sPS/Buffer los porcentajes de eliminación de FEN (68%) fueron superior a los de sPS y sPS/Fe/EDTA (~40%), mientras que para PIR la remoción (47%) fue similar a esos tratamientos (**Figura 6.3**). Cabe destacar, que si bien el objetivo de utilizar el buffer fosfato fue el de mantener un pH neutro en el medio de reacción, la gran cantidad de PS utilizada rompió la capacidad reguladora y luego de 7 días, el pH fue de 2,2 (**Tabla 6.3**).

Para este sistema el uso de buffer fosfato pH 7 mejoró solo la eficiencia de eliminación de FEN, sin embargo para PIR la remoción fue similar a la observada en sPS. Esto puede deberse a que el pH inicial cercano a la neutralidad no es el óptimo para mantener disponible al Fe (II) presentes en los minerales del suelo. Por lo tanto, una opción para mejorar la degradación de los PAH podría ser la de utilizar, además del buffer, Fe (II) junto con algún complejante.

La mayor eficiencia en los porcentajes de degradación de PAH obtenida en las diferentes formas de activación persulfato se dieron en el siguiente orden:

sPS/Térmico > sPs/Acalino ~ sPS/Buffer > sPS ~ sPS/Fe/EDTA.

En trabajos publicados donde se estudió la degradación de PAH en suelo mediante la activación de PS con temperatura, medio alcalino, PH y Fe/citrato (Zhao y col. 2013) se informó un orden diferente (térmico > Fe/citrato > PH ≈ medio alcalino) al que observamos en nuestro ensayos. Sin embargo, en esta publicación se utilizaron aproximadamente 15 dosis de oxidante, un valor muy superior al usado en esta tesis A pesar de esta diferencia, se mantiene la activación térmica de PS como la más eficiente.

Por último se estudió la degradación de los FEN y PIR en distintas concentraciones mediante la aplicación de PS activado mediante el aumento de la temperatura.

Al comparar la eficiencia de remoción de los contaminantes se observó que todos los tratamientos térmicos con PS presentaron mayores porcentajes de degradación con respecto a los controles (**Figura 6.4**). La degradación observada para los controles (10 - 20%) puede asignarse a procesos de volatilización, debido a que los sistemas se sometieron a 65 °C durante 6 horas.

Los porcentajes de degradación de FEN fueron similares para todas las condiciones estudiadas, independientemente de su concentración inicial o si en el medio había otro contaminante. Para PIR, se observó el mismo comportamiento. Además, para T1 y T2 la eliminación de PIR fue mayor que para FEN, lo cual se explica con el modelo de Clar, mencionado anteriormente. Para T2 la degradación de los contaminantes se dio principalmente durante las 6 horas que el sistema se activó a 65°C, ya que cuando la temperatura del medio disminuyó a 25°C y se mantuvo así durante 7 días, no se observaron diferencias significativas en la remoción de los dos contaminantes.

Para todos los sistemas, se estudió el impacto en la calidad biológica del suelo luego del uso de los oxidantes y las distintas estrategias utilizadas para mejorar la degradación de los contaminantes.

En los tratamientos con PM y PS la actividad biológica disminuyó como consecuencia del agregado de oxidantes. Los valores de pH menores a dos (por el uso de PS) y mayores a nueve (por el uso del PM), además del MnO₂ residual (de los tratamientos con PM) influyen de manera negativa en los microorganismos autóctonos del suelo (Liang y col. 2012). Los resultados en la actividad biológica del suelo para los tres oxidantes utilizados, coinciden con los encontrados con Liang y colaboradores (Liang y col. 2012).

Sahl y Munakata-Marr (Sahl and Munakata-Marr, 2006) indicaron que los radicales hidroxilos generados por uso de PH contribuyen a la mutagénesis, muerte celular, destrucción del ADN, daños en las proteínas y lípidos que forman las membranas celulares. Para sPH no se

observó este efecto, debido que el número de BHC no se modificó con respecto a BioD3 (**Tabla 6.1**).

Si bien la comunidad microbiana del suelo puede disminuir significativamente por el uso de oxidantes, como PS y PM, algunos investigadores han propuesto que podría esperarse una recuperación de la densidad microbiana con el tiempo (Sahl y Munakata-Marr 2006; Tsitonaki y col. 2008; Sutton y col. 2011). En estos ensayos no se evaluó el número de BHC o BDPAH para comprobar la recuperación mencionada.

El impacto de uso de los oxidantes en el suelo pudo observarse en los perfiles de DGGE obtenidos, principalmente para los sistemas con PS y PM donde se vio una pérdida de la diversidad (**Figura 6.6**).

6.8. Conclusiones

A partir de los resultados se evidenció que:

- El uso de PS y PM produjeron cambios en las condiciones iniciales del suelo (pH y CE), impactando negativamente en la actividad biológica.
- Si bien el uso de PH no alteró las propiedades del suelo de manera significativa, los niveles de degradación obtenidos fueron similares que el control de biodegradación BioD3, por lo tanto no podemos asegurar que la concentración de oxidante utilizada haya participado en la degradación de FEN y PIR.
- Para los tres oxidantes utilizados en la misma dosis (~ 1,5) la eficiencia de degradación de FEN y PIR se dio en el siguiente orden: PS > PH > PM.
- La activación de PS y PH mediante el agregado de Fe (II) y EDTA no presentó mejoras en la degradación de los PAH, respecto de los tratamientos sin la adición de activantes, indicando que la disponibilidad del Fe no es la limitante del proceso.
- Las distintas estrategias de activación de PS permitieron obtener distintos porcentajes de degradación para FEN y PIR. Los mejores porcentajes de degradación se obtuvieron para: sPS/Térmico > sPs/Acalino ~ sPS/Buffer > sPS ~ sPS/Fe/EDTA.
- La preferencia en la oxidación de PIR con respecto a FEN en los tratamientos con PS donde la degradación fue de carácter químico, pueden explicarse mediante las estructuras de Clar.
- Los porcentajes de eliminación de FEN y PIR en los tratamientos térmicos son independientes de la concentración inicial de los contaminantes y de la presencia de

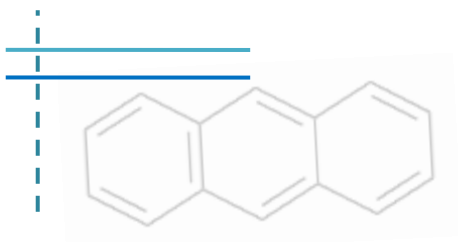
más de uno. Además, la degradación se evidenció durante las primeras 6 horas de tratamiento (cuando el PS se activó a 65°C), sin modificarse con el tiempo (7 días a 25°C).

6.9. Referencias

- Chiang, D., Verdon, M., Pittenger, S., & Smith, G. (2009). Chemical oxidation of broad-spectrum PAH contamination using activated persulfate. Remediation Technology Summit, Atlanta, Georgia.
- Cyrański, M.K., Stępień, B.T., Krygowski, T.M., 2000. Global and Local Aromaticity of Linear and Angular Polyacenes. *Tetrahedron* 56, 9663–9667. doi:10.1016/S0040-4020(00)00919-4
- Ferrarese, E., Andreottola, G., Oprea, I.A., 2008. Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *J. Hazard. Mater.* 152, 128–139. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.06.080
- Forsey, S.P., Thomson, N.R., Barker, J.F., 2010. Oxidation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons by permanganate. *Chemosphere* 79, 628–636. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.02.027
- Foth, H.D., 1990. *Fundamentals of soil science*. Wiley.
- Kaur, K., Crimi, M., 2014. Release of chromium from soils with persulfate chemical oxidation. *Groundwater* 52, 748–755. doi:10.1111/gwat.12116
- Lemaire, J., Buès, M., Kabeche, T., Hanna, K., Simonnot, M.O., 2013. Oxidant selection to treat an aged PAH contaminated soil by in situ chemical oxidation. *J. Environ. Chem. Eng.* 1, 1261–1268. doi:10.1016/j.jece.2013.09.018
- Liang, C., Chien, Y.-C., Lin, Y.-L., 2012. Impacts of ISCO Persulfate, Peroxide and Permanganate Oxidants on Soils: Soil Oxidant Demand and Soil Properties. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 21, 701–719. doi:10.1080/15320383.2012.691129
- Liang, C., Lee, I.-L., Hsu, I.-Y., Liang, C.-P., Lin, Y.-L., 2008. Persulfate oxidation of trichloroethylene with and without iron activation in porous media. *Chemosphere* 70, 426–435. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.06.077
- Liang, C., Liang, C.P., Chen, C.C., 2009. pH dependence of persulfate activation by EDTA/Fe(III) for degradation of trichloroethylene. *J. Contam. Hydrol.* 106, 173–182. doi:10.1016/j.jconhyd.2009.02.008
- Liao, X., Zhao, D., Yan, X., Huling, S.G., 2014. Identification of persulfate oxidation products of polycyclic aromatic hydrocarbon during remediation of contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 276, 26–34. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.05.018
- Portella, G., Poater, J., Solà, M., 2005. Assessment of Clar's aromatic π -sextet rule by means of PDI, NICS and HOMA indicators of local aromaticity. *J. Phys. Org. Chem.* 18, 785–791. doi:10.1002/poc.938
- Rivas, F.J., 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: A short review of chemical oxidation based treatments. *J. Hazard. Mater.* 138, 234–251. doi:10.1016/j.jhazmat.2006.07.048

- Ruiz-Morales, Y., 2004. The agreement between clar structures and nucleus-independent chemical shift values in pericondensed benzenoid polycyclic aromatic hydrocarbons: An application of the Y-rule. *J. Phys. Chem. A* 108, 10873–10896. doi:10.1021/jp040179q
- Saelee, R., Bunyakan, C., 2012. Degradation Kinetics of Fe-EDTA in Hydrogen Sulfide Removal Process. *ISRN Chem. Eng.* 2012, 8. doi:10.5402/2012/740429
- Sahl, J., Munakata-Marr, J., 2006. The effects of in situ chemical oxidation on microbiological processes: A review. *Remediat. J.* 16, 57–70. doi:10.1002/rem.20091
- Schulman, J.M., Disch, R.L., 1999. Aromatic Character of [n]Helicenes and [n]Phenacenes. *J. Phys. Chem. A* 103, 6669–6672. doi:10.1021/jp9910587
- Silva, P.T.D.S.E., Silva, V.L. Da, Neto, B.D.B., Simonnot, M.O., 2009a. Phenanthrene and pyrene oxidation in contaminated soils using Fenton's reagent. *J. Hazard. Mater.* 161, 967–973. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.04.042
- Silva, P.T.D.S.E., Silva, V.L. Da, Neto, B.D.B., Simonnot, M.-O., 2009b. Phenanthrene and pyrene oxidation in contaminated soils using Fenton's reagent. *J. Hazard. Mater.* 161, 967–973. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.04.042
- Solà, M., 2013. Forty years of Clar's aromatic π -sextet rule. *Front. Chem.* 1, 22. doi:10.3389/fchem.2013.00022
- Sutton, N.B., Grotenhuis, J.T.C., Langenhoff, A. a. M., Rijnaarts, H.H.M., 2011. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. *J. Soils Sediments* 11, 129–140. doi:10.1007/s11368-010-0272-9
- Tijani, J.O., Fatoba, O.O., Madzivire, G., Petrik, L.F., 2014. A Review of Combined Advanced Oxidation Technologies for the Removal of Organic Pollutants from Water. *Water, Air, Soil Pollut.* 225, 2102. doi:10.1007/s11270-014-2102-y
- Tsitonaki, A., Smets, B.F., Bjerg, P.L., 2008. Effects of heat-activated persulfate oxidation on soil microorganisms. *Water Res.* 42, 1013–1022. doi:10.1016/j.watres.2007.09.018
- Usman, M., Hanna, K., Haderlein, S., 2016. Fenton oxidation to remediate PAHs in contaminated soils: A critical review of major limitations and counter-strategies. *Sci. Total Environ.* 569-570, 179–190. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.135
- Waisner, S., Medina, V.F., Morrow, A.B., Nestler, C.C., 2008. Evaluation of Chemical Treatments for a Mixed Contaminant Soil. *J. Environ. Eng.* 134, 743–749. doi:10.1061/(ASCE)0733-9372(2008)134:9(743)
- Xu, X., Thomson, N.R., 2007. An evaluation of the green chelant EDDS to enhance the stability of hydrogen peroxide in the presence of aquifer solids. *Chemosphere* 69, 755–762. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.05.008
- Yen, C.-H., Chen, K.-F., Kao, C.-M., Liang, S.-H., Chen, T.-Y., 2011. Application of persulfate to remediate petroleum hydrocarbon-contaminated soil: Feasibility and comparison with common oxidants. *J. Hazard. Mater.* 186, 2097–2102. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.12.129

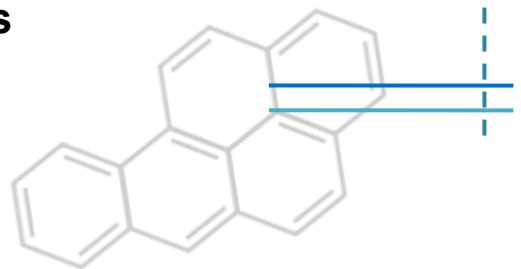
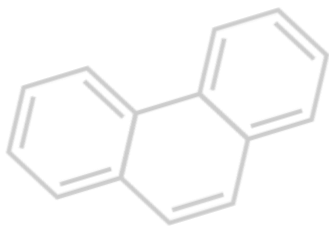
Zhao, D., Liao, X., Yan, X., Huling, S.G., Chai, T., Tao, H., 2013. Effect and mechanism of persulfate activated by different methods for PAHs removal in soil. *J. Hazard. Mater.* 254-255, 228–235. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.03.056



Capítulo 7



Estrategias de remediación de un suelo contaminado con hidrocarburos policíclicos aromáticos mediante la combinación de oxidantes químicos, activantes y surfactantes



7. Estrategias de remediación de un suelo contaminado con hidrocarburos policíclicos aromáticos mediante la combinación de oxidantes químicos, activantes y surfactantes

7.1. Introducción

Con el objetivo de mejorar la eficiencia de la remediación química, se estudió la combinación de oxidantes químicos con otros compuestos que permitan una mejor degradación de los contaminantes. Los tratamientos fueron realizados con el Suelo II (Capítulo 3, **Tabla 3.1**).

En este capítulo se estudió la aplicación de dos oxidantes: peróxido de hidrógeno (PH) y persulfato de sodio (PS) utilizando sistemas batch (SB₃ y SB₄) con tierra contaminada artificialmente con 100 ± 6 ppm de 4 PAH: antraceno (ANT) y fenantreno (FEN) con 3 anillos, pireno (PIR) con 4 anillos y benzo(a)pireno (BaP) con 5 anillos.

A partir de datos bibliográficos se decidió estudiar el efecto en la degradación de los PAH a partir de la incorporación al sistema batch de Fe en diferentes estados de especiación, surfactante y ácidos húmicos. La descripción de estos sistemas se realizó en el **inciso 3.5.3** del Capítulo 3 (Materiales y Métodos, **Tabla 3.11 y 3.12**). Se trabajó con diferentes combinaciones de los reactivos antes mencionados que permitieron estudiar:

- Efecto del tipo de Fe empleado: Fe (II), Fe (III) y nanopartículas de hierro cero valentes Fe (nZVI).
- Efecto de la concentración de Fe (III) (para los tratamientos con PH) y con Fe (nZVI) (solo cuando se utilizó PS como oxidante).
- Efecto de la concentración de peróxido de hidrógeno.
- Efecto del agregado de surfactante.
- Efecto del agregado de ácidos húmicos (solo en los tratamientos con PS).

7.2. Estudio de la atenuación natural y el efecto de la bioestimulación mediante el agregado de un surfactante

Con el objetivo de estudiar la degradación producida por la biota del suelo y la bioestimulación se compararon dos tratamientos: BioD4 (control de biodegradación, con agua milliQ) y CSDS (control de bioestimulación con una solución de SDS en una concentración 0,0079 M). Ambos controles se realizaron sin el agregado de oxidantes ni

activantes exógenos. En la **Figura 7.1** se muestra el porcentaje de degradación de los contaminantes con el tiempo. Se observó una tendencia similar en la remoción de los cuatro PAH para los dos controles estudiados. Luego de 10 días se alcanzó una meseta con una degradación aproximadamente del 15 - 20 % para los dos controles, que no se modificó a lo largo del ensayo. Para ANT y BaP, CSDS presentó un leve aumento de degradación con respecto a BioD4.

Los valores de pH de estos dos sistemas se mantuvieron en un valor de $7,2 \pm 0,4$ a lo largo del ensayo. Esto se corresponde con el pH propio del suelo, ya que el agua milliQ y la solución de SDS presentaron un pH neutro.

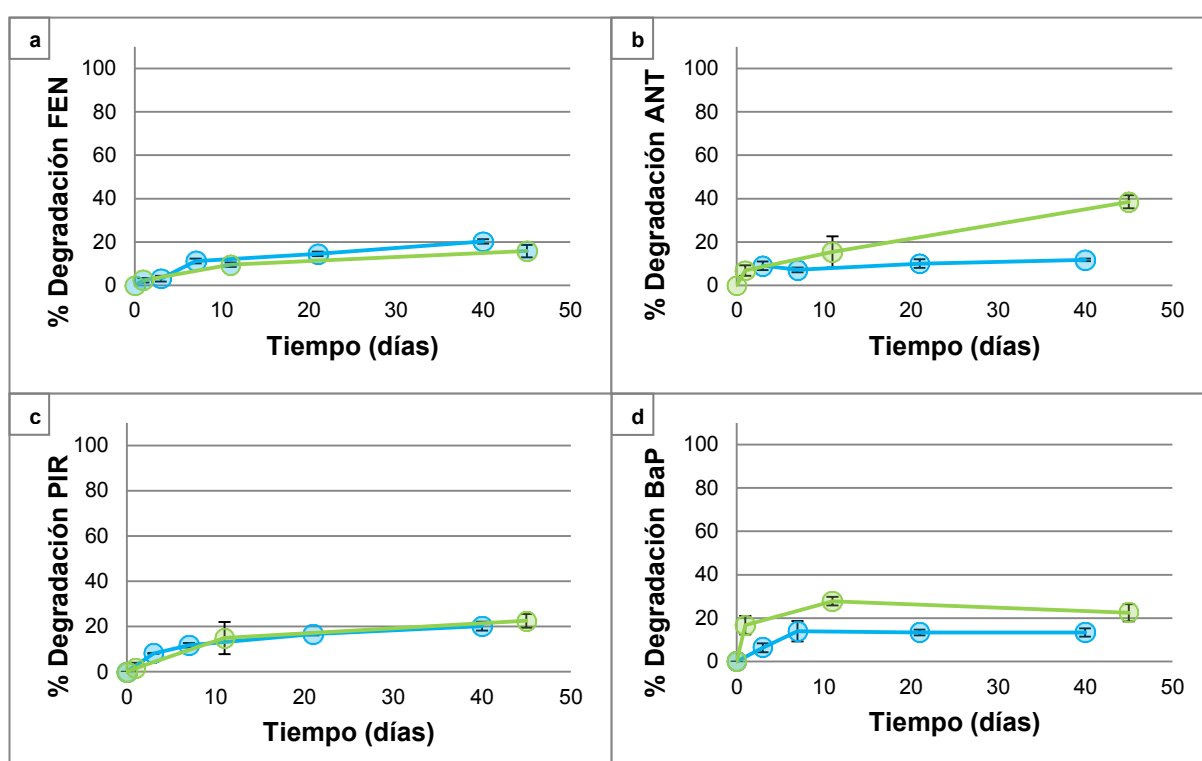


Figura 7.1. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos controles BioD4 (●) y CSDS (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

7.3. Ensayos utilizando Peróxido de Hidrógeno como oxidante

7.3.1. Efecto de la concentración de hierro

Para estudiar el efecto de la concentración del activante (sulfato férrico) de PH en la degradación de PAH, se analizaron dos tratamientos con Fe (III): RPH2 (1 mM) y RPH3 (5 mM). Ambos se compararon con RPH1, al cual no se le realizó agregado de hierro. En todos los tratamientos la concentración de PH fue de 0,8333 M. En la **Figura 7.2** se muestra el porcentaje de descomposición de PH (a), el pH (b) y la concentración de hierro normalizada (c) luego de 45 días.

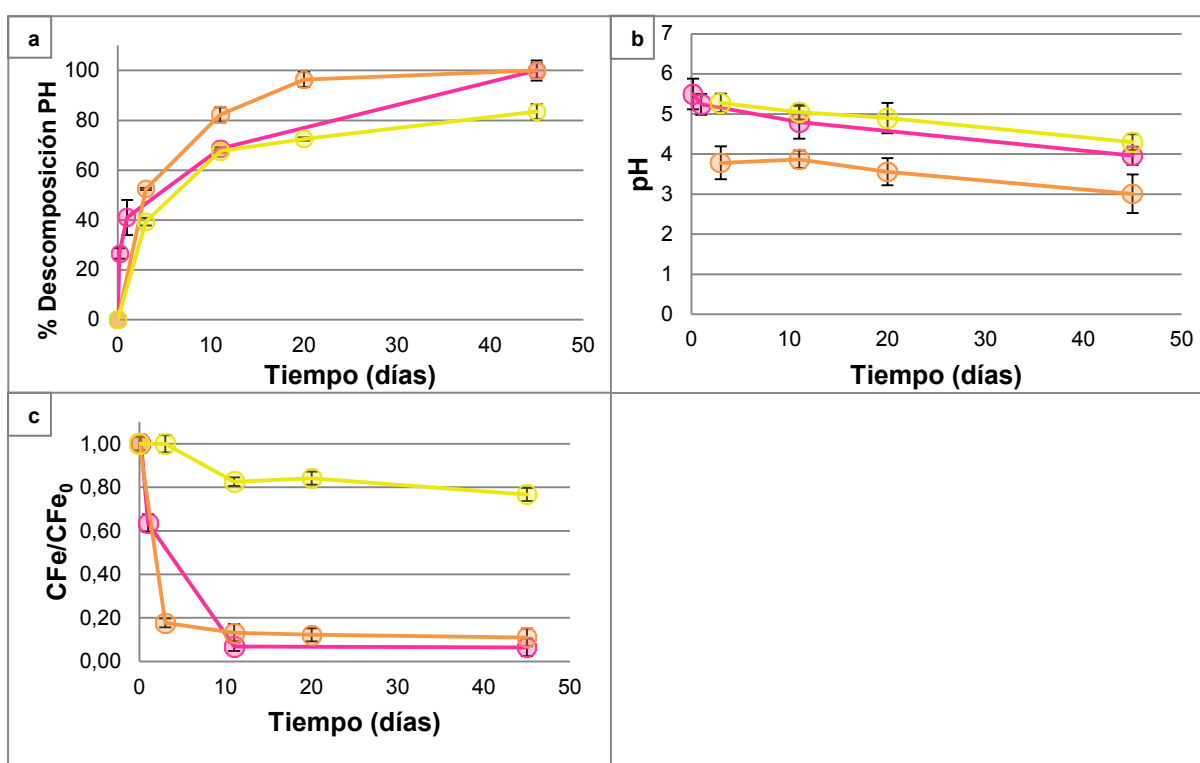


Figura 7.2. Porcentaje de descomposición del peróxido de hidrógeno (a), pH (b) y concentración normalizada de Fe (c) con el tiempo para los tratamientos RPH1 (●), RPH2 (●) y RPH3 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

En la **Figura 7.2.a** se observó aproximadamente el 100% de la eliminación del oxidante luego de 45 días para los tres tratamientos estudiados. Cabe destacar, que para RPH3 (Fe (III) 5 mM) la degradación total del oxidante se produjo en menor tiempo (20 días) que en RPH1 y RPH2.

Para todos los tratamientos el pH inicial disminuyó con respecto al pH original del suelo (7,2) (**Tabla 3.1**, Capítulo 3), lo cual puede deberse a que las soluciones de PH y $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ presentan un pH ligeramente ácido. En el caso de RPH3, se observó un valor de pH más bajo a lo largo de todo el ensayo (entre 3,7 - 3,0) (**Figura 7.2.b**).

En la **Figura 7.2.c** se puede observar la evolución del Fe a lo largo de 45 días de tratamiento, representado como la concentración normalizada de hierro (CFe/CFe_0). Para RPH2 (1 mM) y RPH3 (5 mM) donde el agregado de Fe fue exógeno se observó una disminución rápida de Fe en un corto período del tratamiento, llegando a $0,08 \pm 0,04$ mM y $0,66 \pm 0,04$ mM, respectivamente (a los 11 días). Para RPH1 (sin agregado exógeno de activante) la concentración de Fe al inicio del tratamiento fue de $0,07 \pm 0,04$ mM, esto se correspondió al Fe presente en el suelo que se disolvió en la FA del sistema batch. Luego de 10 días este valor disminuyó en un 20% ($0,06 \pm 0,04$ mM) y se mantuvo constante hasta finalizar el ensayo. La disminución de la concentración de Fe durante los primeros 10 días para RPH1, se correspondió con la mayor velocidad de degradación de PH (67%), que luego evolucionó lentamente hasta alcanzar un 84% a los 45 días.

En el Capítulo 4, se observó la descomposición de PH en el Suelo II (sin contaminar y agregando solamente PH). La determinación de una concentración inicial de Fe en la fase acuosa para RPH1 confirma la presencia de Fe soluble proveniente del suelo y la evolución de la concentración de PH indica que es suficiente para lograr la descomposición de PH sin el agregado de activante de manera externa.

En los tres tratamientos se observó la mayor activación del PH durante los primeros 10 días de reacción, simultáneamente con la disminución de la concentración de Fe (**Figura 7.2.a**).

El comportamiento del hierro según el pH del medio se describió en el **inciso 1.3.1** del Capítulo 1. Se necesita un pH ácido (entre 3 - 4) para tener la mayor cantidad de hierro en solución. A pH mayores el ion férrico comienza a precipitar, perdiéndose su capacidad de actuar como activante. Jung y colaboradores (Jung y col., 2009) estudiaron el efecto del pH en reacciones Fenton y tipo-Fenton, y encontraron que la descomposición de PH es óptima a pH 2,9. Resultados similares obtuvo Osgerby (Osgerby, 2006), quien indicó que en valores de pH entre 2,5 y 3,5, el Fe (III) se reduce a Fe (II), favoreciendo la formación de radicales hidroxilos.

En los tratamientos estudiados se encontró que para RPH1 y RPH2 (con pH mayor a 4) la concentración de Fe se mantuvo en 0,08 y 0,06 mM, respectivamente (aunque la cantidad inicial de Fe era muy diferente) mientras que en RPH3, con pH menor a 4 la concentración de hierro fue de 0,66 mM.

Además, se observó una disminución del pH (1 unidad) durante el tratamiento. Esto podría atribuirse a dos posibles causas:

- La reacción de oxidación de PH con Fe (III) y sus complejos en solución acuosa generan H^+ . (ver **reacciones 1.1 - 1.10**, Capítulo 1).
- Si se considera que por cada mol de los PAH ensayados se genera un mol de H^+ , el ΔpH obtenido por la remoción total de 100 ppm de cada contaminante es aproximadamente 1,2; lo cual coincide con la disminución de pH de la mayoría de los tratamientos.

Se estudió la remoción de los contaminantes utilizados. En la **Figura 7.3** se muestra el porcentaje de degradación de ANT (a), FEN (b), PIR (c) y BaP (d) a lo largo de 45 días.

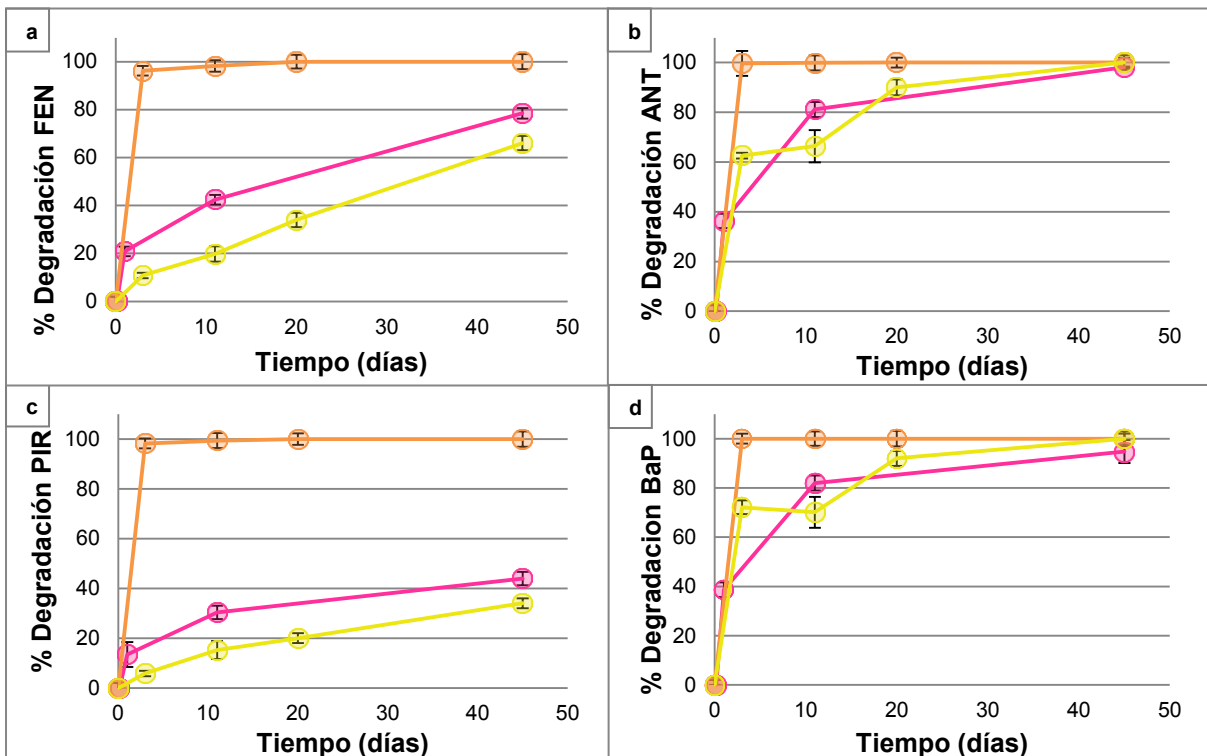


Figura 7.3. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPH1 (●), RPH2 (●) y RPH3 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

Con respecto a la eliminación de los PAH (**Figura 7.3.**) los tratamientos RPH1 y RPH2, sin agregado de Fe y con Fe (III) 1 mM respectivamente, obtuvieron porcentajes de degradación similares para todos los PAH analizados, casi 100% para ANT (**Figura 7.2.b**) y BaP (**Figura 7.2.d**), 71% para FEN (**Figura 7.2.a**) y 37% para PIR (**Figura 7.2.c**). Para RPH3, la degradación de los cuatro PAH fue del 100% luego de tres días.

A partir de los resultados mencionados podemos concluir que cuando se utilizó Fe (III) como activante con PH, se observó que la mayor descomposición del oxidante y que la remoción más eficiente de los contaminantes se dio según el siguiente orden: RPH3 (5 mM) > RPH2

(1 mM) > RPH1 (sin Fe exógeno) (**Figura 7.2 y 7.3**). Esto se justifica debido a dos causas: el mayor aporte del metal y a que el pH en estos tratamientos fue el más cercano al óptimo para que el Fe estuviese disponible para activar al PH.

7.3.2. Influencia del tipo de Fe agregado (sulfato férrico ó nZVI)

Con el objetivo de estudiar la influencia del tipo de hierro agregado sobre la activación del PH y la degradación de hidrocarburos, se prepararon sistemas batch con sulfato de hierro (RPH2 y RPH3 con 1 mM y 5 mM, respectivamente) y con Fe (nZVI) (RPH4 y RPH5 con 1 mM y 5 mM, respectivamente). En todos los tratamientos la concentración de PH fue de 0,8333 M. En la **Figura 7.4** se muestra el porcentaje de descomposición de PH (**a**), la evolución del pH (**b**) y la concentración normalizada de Fe (**c**) luego de 45 días. En la **Figura 7.5** se muestra el porcentaje de degradación de ANT (**a**), FEN (**b**), PIR (**c**) y BaP (**d**) a lo largo de 45 días.

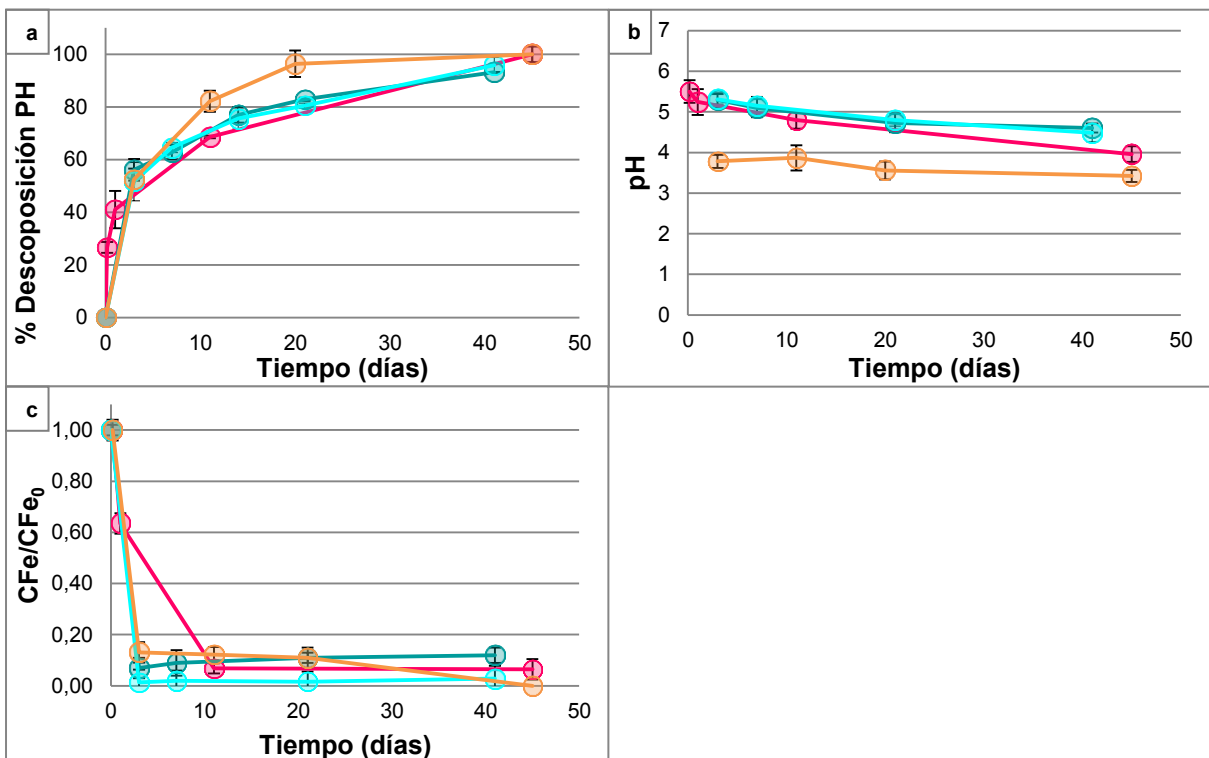


Figura 7.4. Porcentaje de descomposición de peróxido de hidrógeno (a), pH (b) y concentración normalizada de Fe (c) con el tiempo, para los tratamientos RPH2 (●), RPH3 (●), RPH4 (●) y RPH5 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

No se observaron diferencias en el porcentaje de descomposición de PH durante los 45 días en las dos concentraciones de Fe (nZVI) estudiadas (RPH4 y RPH5), a pesar de que en los

sistemas con distintas concentraciones Fe (III), RPH3 (5 mM) mostro una mayor velocidad de desaparición del oxidante.

Los valores de pH durante los 45 días de análisis para RPH4 y RPH5 son similares a los observados para RPH2 (**Figura 7.4.b**). En todos los casos se observó un Δ pH de aproximadamente una unidad a lo largo del tratamiento.

La concentración de Fe en el medio disminuyó rápidamente (3 días) para todas las condiciones estudiadas. Pasado este tiempo, en todos los tratamientos independientemente del tipo de Fe utilizado, se mantuvo en una concentración de Fe similar ($0,09 \pm 0,03$ mM).

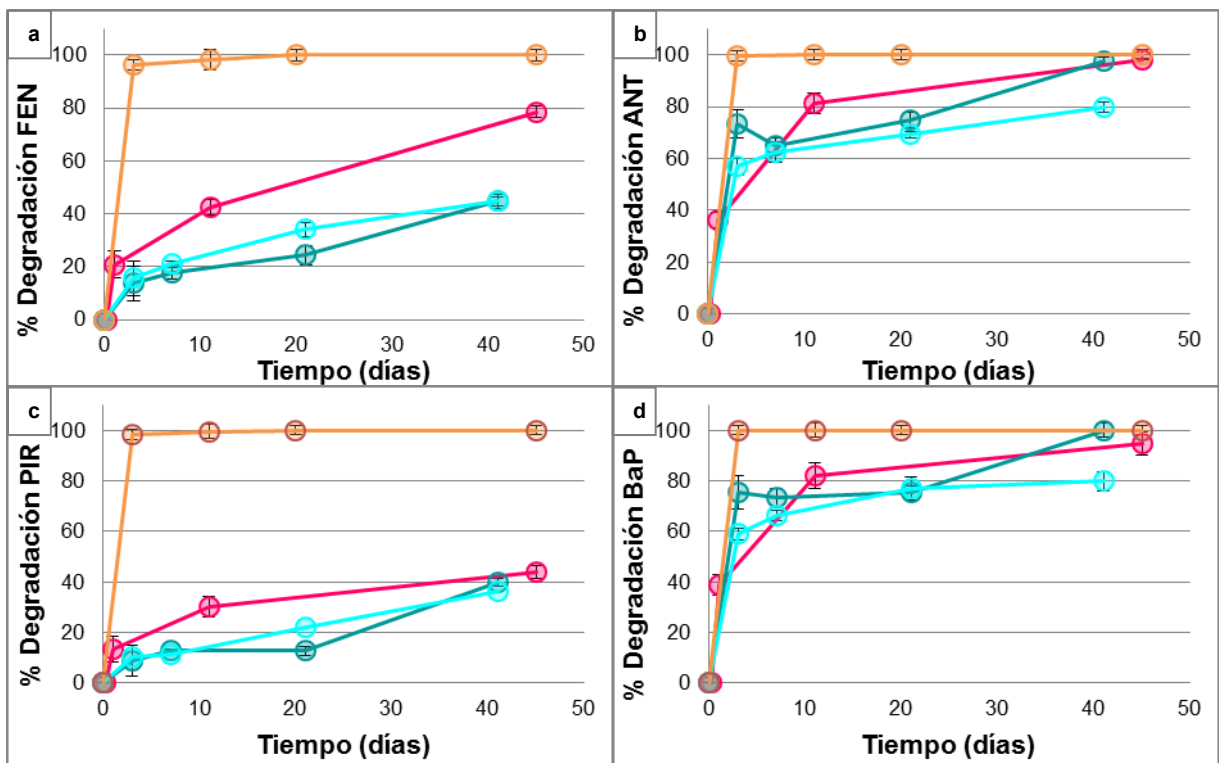


Figura 7.5. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPH2 (●), RPH3 (○), RPH4 (●) y RPH5 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

La remoción de FEN (**Figura 7.5.a**) fue aproximadamente 45% para los sistemas con Fe (nZVI) (RPH4 y RPH5). Para ANT (**Figura 7.5.b**) y para BaP (**Figura 7.5.d**) la eliminación fue aproximadamente el 100% para RPH4, sin embargo para RPH5 (con mayor concentración de Fe (nZVI)) se obtuvo una menor degradación (~80%). La eliminación del PIR (**Figura 7.5.c**) fue similar en RPH4 y RPH5 (~40%).

En el caso de los sistemas con Fe (III) se observó una mayor eliminación para el sistema con mayor concentración del metal (RPH3) y pH por debajo de 4.

Sin embargo, al utilizar Fe (nZVI) como activante no se observó mejora en la degradación de los PAH cuando se aumentó la concentración del activante. Cabe destacar que el pH del medio en estos ensayos fue mayor a 4 durante todo el tratamiento.

Las distintas concentraciones de Fe (nZVI) utilizadas no mostraron diferencias en la descomposición de PH. Una concentración elevada de Fe (nZVI) puede llevar a la formación de agregados entre las nanopartículas y ácidos húmicos, disminuyendo la concentración libre de Fe (nZVI) y consecuentemente la formación de Fe (II) (Baalousha y col., 2008). Esto podría justificar la similitud que se observa en la descomposición de PH para las distintas concentraciones de Fe (nZVI).

7.3.3. Influencia de la concentración de Peróxido de Hidrógeno

En el Capítulo 4 (**inciso 4.3**) se estudió, la persistencia de PH y PS en el Suelo II. Debido a que el PH presentó descomposición más rápida con respecto a PS, se decidió estudiar la aplicación de una mayor concentración de PH. Se prepararon dos tratamientos en los que se utilizaron dos concentraciones diferentes de PH: 0,8333 M y 1,765 M (RPH2 y RPH6, respectivamente) ambos con Fe (III) 1 mM como activante.

En el caso del tratamiento RPH2 la dosis de oxidante utilizada fue aproximadamente 12 veces mayor que la cantidad estequiométrica necesaria para lograr la mineralización total de los PAH ensayados, mientras que el tratamiento RPH6 se superó 24 veces la dosis. En la **Figura 7.6** se muestra el porcentaje de degradación de PH (**a**), el pH (**b**) y la concentración de hierro normalizada (**c**) durante 45 días.

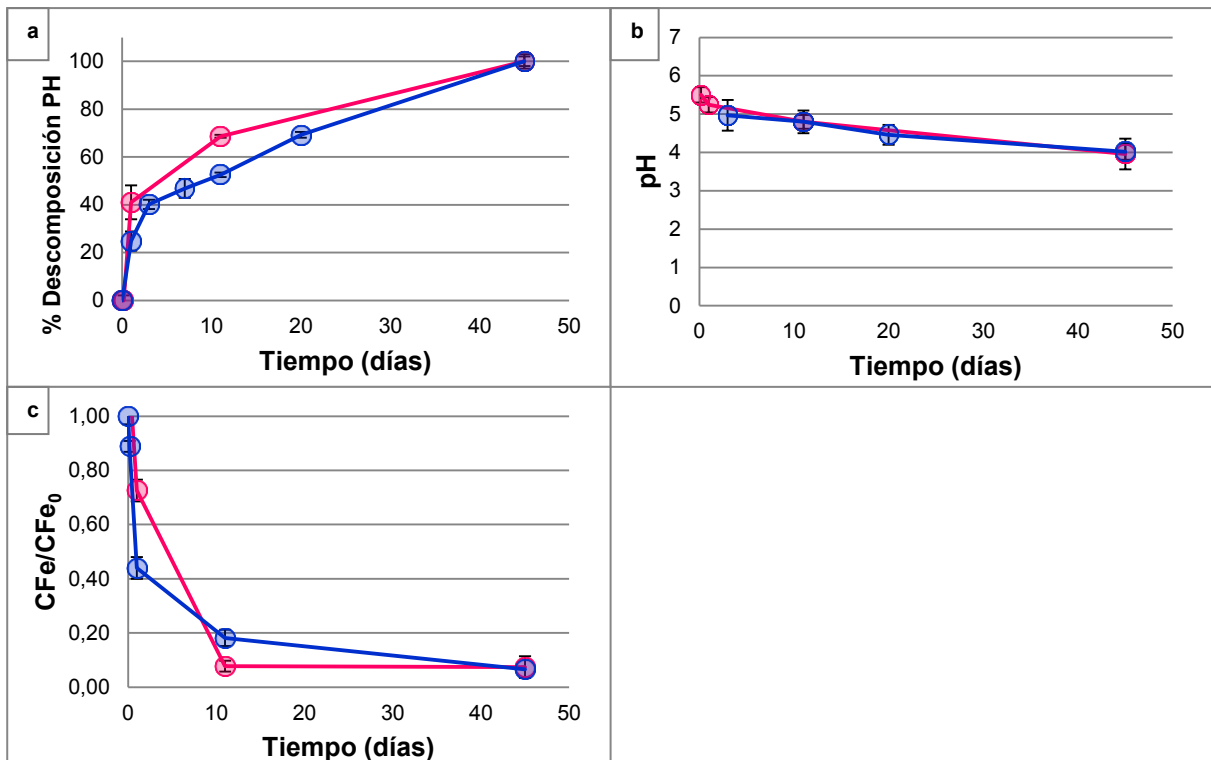


Figura 7.6. Porcentaje de descomposición de peróxido de hidrógeno (a), pH (b) y concentración normalizada de Fe (c) con el tiempo para los tratamientos RPH2 (●) y RPH6 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

En RPH6 (con el doble de la dosis de PH que RPH2), se espera que el consumo de oxidante sea menor, debido a que la materia orgánica, el pH, la concentración de metales y la concentración de contaminantes del medio (todos capaces de reaccionar con PH) fueron iguales en los dos tratamientos (Romero y col., 2009). Sin embargo, para las dos condiciones estudiadas la descomposición del oxidante fue similar y completa luego de 45 días (**Figura 7.6.a**).

Los valores de pH (**Figura 7.6.c**) disminuyen a lo largo del ensayo de manera similar para los dos sistemas (5,5 - 4,0). La concentración de Fe en ambos casos es semejante, a los 10 días el hierro remanente es de $0,10 \pm 0,06$ mM (**Figura 7.6.c**).

En la **Figura 7.7** se muestra el porcentaje de degradación de ANT (a), FEN (b), PIR (c) y BaP (d) luego de 45 días.

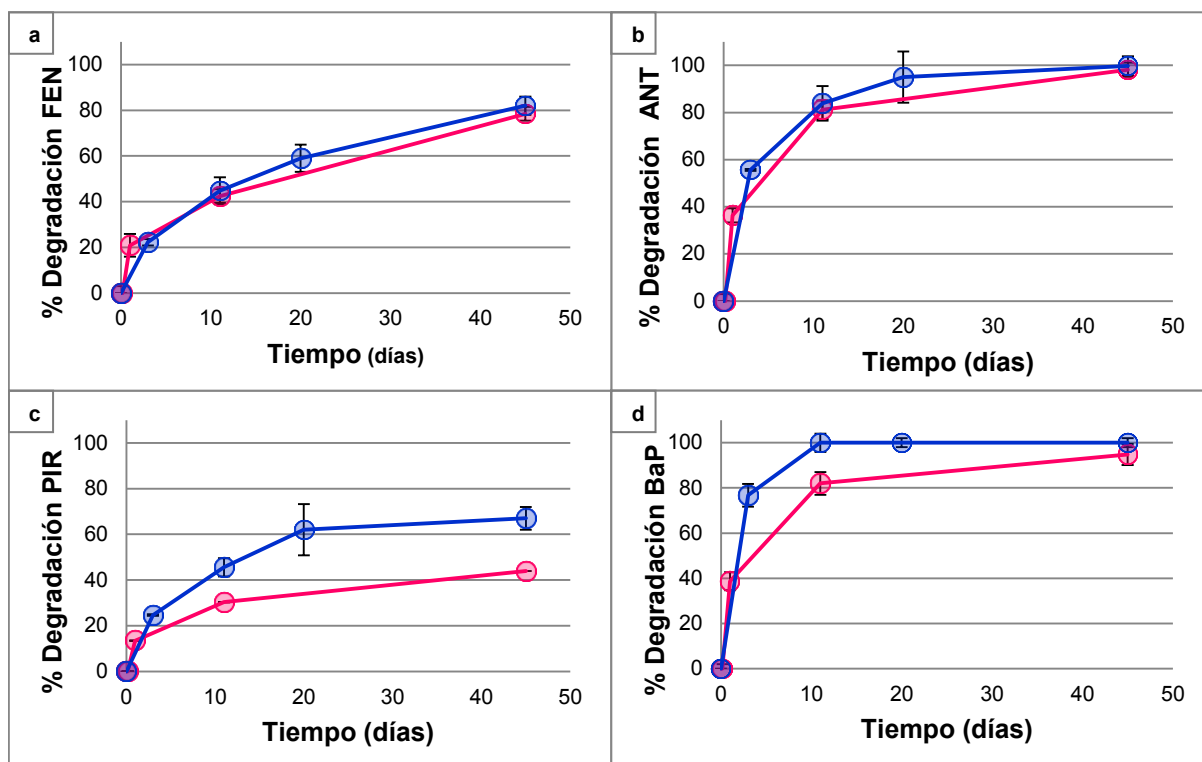


Figura 7.7. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para RPH2 (●) y RPH6 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

La eliminación de FEN (79%) y ANT (100%) fue similar para los dos sistemas (**Figura 7.7.a y 7.7.b**). En el tratamiento con mayor concentración de oxidante (RPH6) se obtuvo una mejor remoción en el caso de PIR (**Figura 7.7.c**), alcanzando el 67% con respecto al 44% que obtuvo RPH2. En el caso del BaP (**Figura 7.7.d**), la degradación en RPH6, mostró una mayor velocidad de eliminación con respecto a RPH2: a los 10 días se obtuvo un porcentaje de degradación del 100%.

A partir de estos resultados, se puede observar que el agregado de una mayor cantidad de PH no logró obtener mejores degradaciones de FEN, ANT y BaP. Sin embargo, para PIR se obtuvo un leve aumento en la remoción, que puede justificarse por la mayor cantidad de oxidante.

7.3.4. Efecto del agregado de surfactante en el medio de reacción

Se utilizó un surfactante (SDS) para combinar la bioestimulación con la oxidación química. Inicialmente, se estudió la estabilidad del surfactante en fase acuosa en presencia de PH y Fe, para lo cual se preparó una solución de SDS (0,0076 M) en la concentración micelar crítica (CMC) a la cual se le agregó posteriormente PH (0,8333 M) y Fe (1 mM). Se midió la

tensión superficial y la concentración del surfactante a distintos tiempos. El pH durante los 30 días de reacción fue ácido ($2,3 \pm 0,3$).

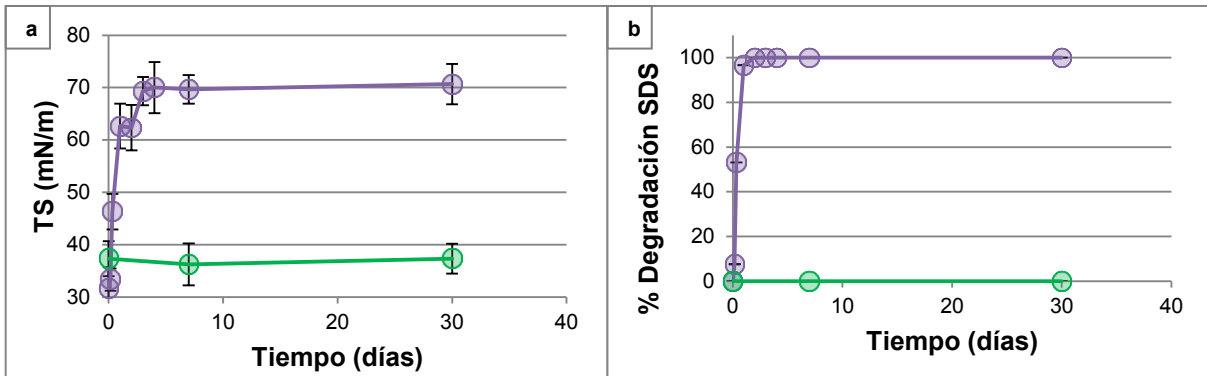


Figura 7.8. Evolución de la tensión superficial (a) y porcentaje de degradación de SDS (b) para una solución con SDS, PH y Fe (●) y una solución control con SDS (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

En la **Figura 7.8 (a y b)** se puede observar que luego de 8 horas (0,33 días) hubo un cambio abrupto en las características del surfactante (tensión superficial y porcentaje de degradación del surfactante) cuando se agregó el oxidante y el activante a la solución, con respecto a la solución que tuvo solamente SDS. Así mismo, en la **Figura 7.9** se puede evidenciar a simple vista que la solución de surfactante presentó modificaciones de aspecto y color por la presencia del oxidante y activante.

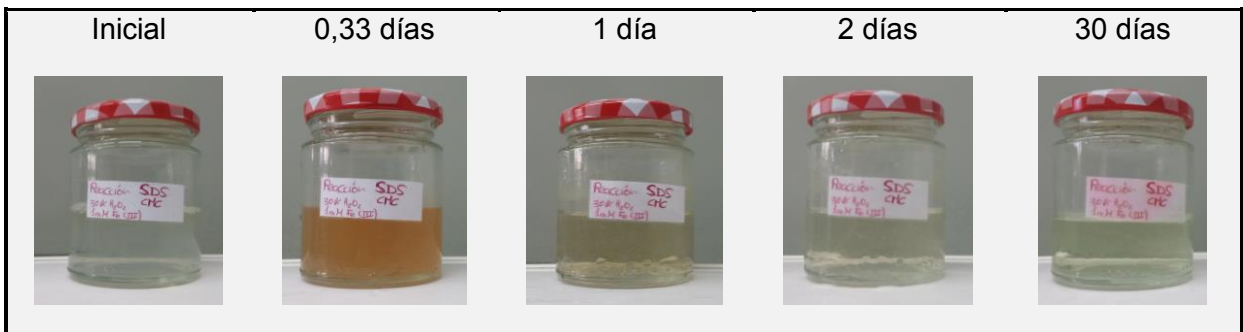


Figura 7.9. Aspecto de la solución de surfactante en presencia de PH y Fe a distintos tiempos.

Se compararon dos tratamientos: RPH7 (donde el surfactante se agregó en simultáneo con el oxidante y activante) y RPH8 (donde el surfactante se agregó 24 horas antes), ambos con una sal de Fe (III) 1 mM y la concentración inicial de PH fue de 0,8333 M. Estos se analizaron junto con RPH2 (que presenta la misma concentración de PH y Fe (III), pero sin surfactante). En la **Figura 7.10** se muestra el porcentaje de descomposición de PH (a), el pH (b) y la concentración de hierro normalizada (c), a lo largo de los 45 días de tratamiento. En

la **Figura 7.7** se muestra el porcentaje de degradación de ANT (**a**), FEN (**b**), PIR (**c**) y BaP (**d**) durante 45 días.

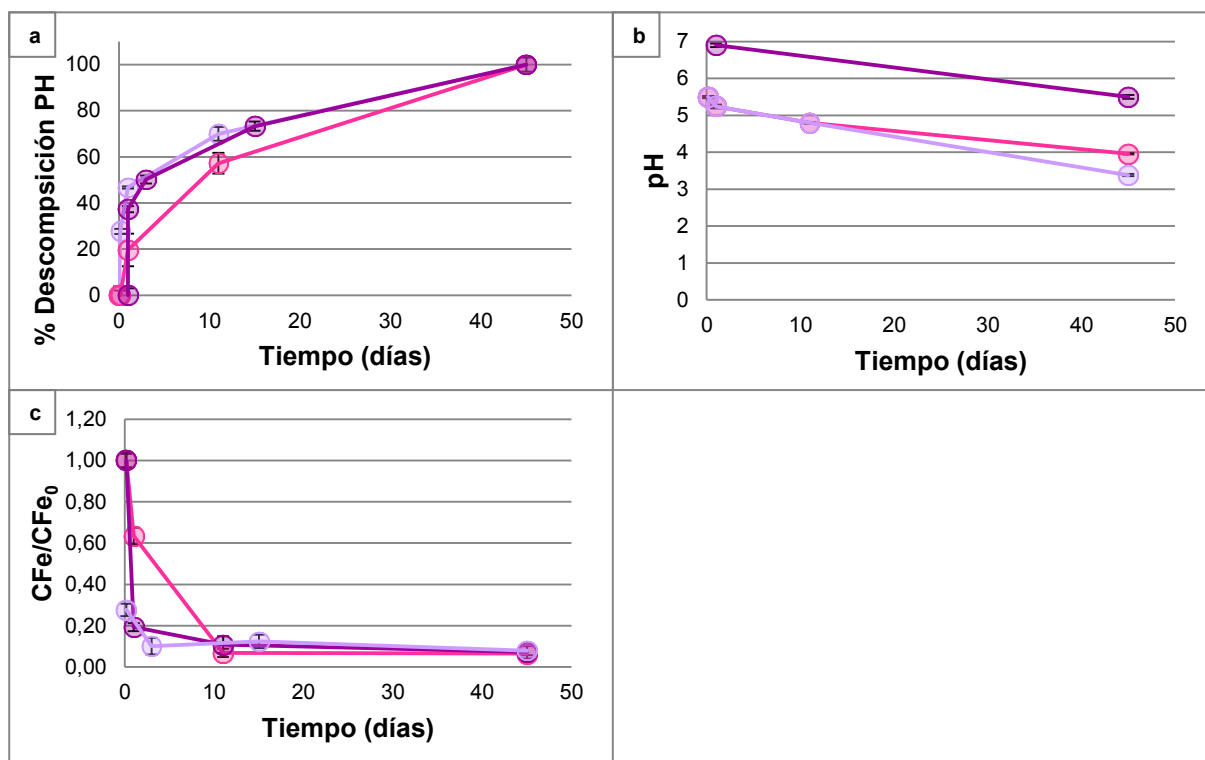


Figura 7.10. Porcentaje de descomposición de peróxido de hidrógeno (a), pH (b) y concentración normalizada de Fe (c) con el tiempo para los tratamientos RPH2 (●), RPH7 (●) RPH8 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

Se observó que la presencia en el medio de reacción de SDS produjo una mayor descomposición de PH en los primeros días, con respecto a RPH2 (sin SDS) (**Figura 7.10.a**). Aunque en RPH7 se agregaron al mismo tiempo el SDS, PH y Fe (III) y en RPH8 se agregó SDS y 24 horas después el PH y Fe (III), esta diferencia no influyó en la descomposición del oxidante.

Para RPH2 y RPH7 los valores de pH a lo largo de la reacción fueron similares (de 5,5 a 3,5). El sistema RPH8 presentó un valor de pH de 6,9 antes del agregado de PH y Fe y disminuyó a valores de 5,5 al final del tratamiento (**Figura 7.10.b**). La concentración de Fe (**Figura 7.10.c**) disminuyó rápidamente en las distintas condiciones estudiadas, luego de 10 días la concentración de Fe fue de $0,09 \pm 0,02$ mM días.

La **Figura 7.11** muestra el porcentaje de degradación de los PAH durante 45 días de tratamiento. La eliminación de FEN (**Figura 7.11.a**), ANT (**Figura 7.11.b**) y BaP (**Figura 7.11.d**) fue igual para los tres tratamientos: 78%, 98% y 100%, respectivamente. En el caso de PIR (**Figura 7.11.c**) el agregado de SDS mejoró la degradación, ya que para

RPH7 y RPH8 se obtuvo una remoción mayor del 80%, mientras que para RPH2 solo del 44%, luego de 45 días.

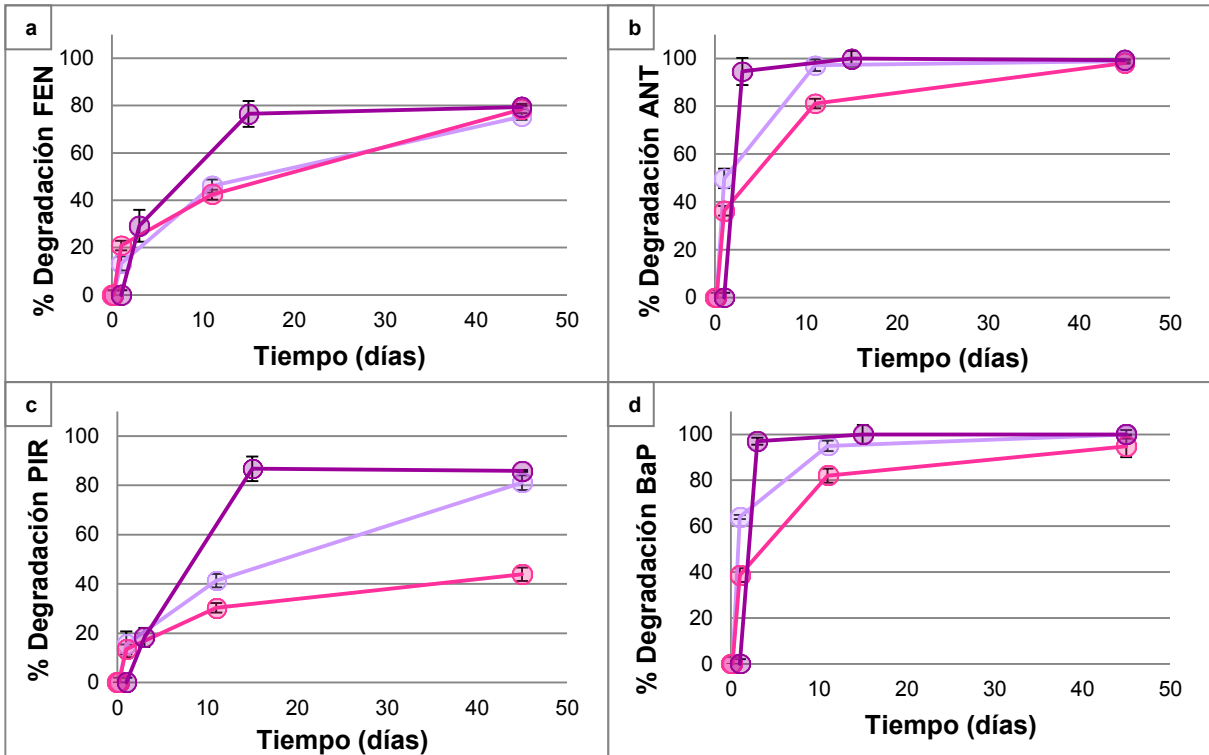


Figura 7.11. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPH2 (●), RPH7 (●) RPH8 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

El uso de surfactantes mejoró el proceso de oxidación química, posiblemente al favorecer la solubilización de los contaminantes en la fase acuosa. La velocidad de degradación para todos los hidrocarburos estudiados fue mayor para RPH8 > RPH7 >RPH2. Sin embargo, luego de 45 días de ensayo la remoción de FEN, ANT y BaP fue similar para los tres tratamientos. La eliminación de PIR fue mayor para RPH7 y RPH8 (> 80%) con respecto a RPH2 (~ 44%). Cabe destacar que para RPH8, donde el surfactante se agregó 24 horas antes que el oxidante y el hierro, se observó una degradación más rápida para todos los hidrocarburos: a los 15 días se obtuvo eliminación total para ANT y BaP, 76% para FEN y 86% para PIR.

7.3.5. Efectividad del uso de peróxido de hidrógeno como oxidante

Se evaluó la eficiencia de los distintos tratamientos estudiados graficando el porcentaje de degradación de los cuatro PAH, luego de 45 días de tratamiento (**Figura 7.12**).

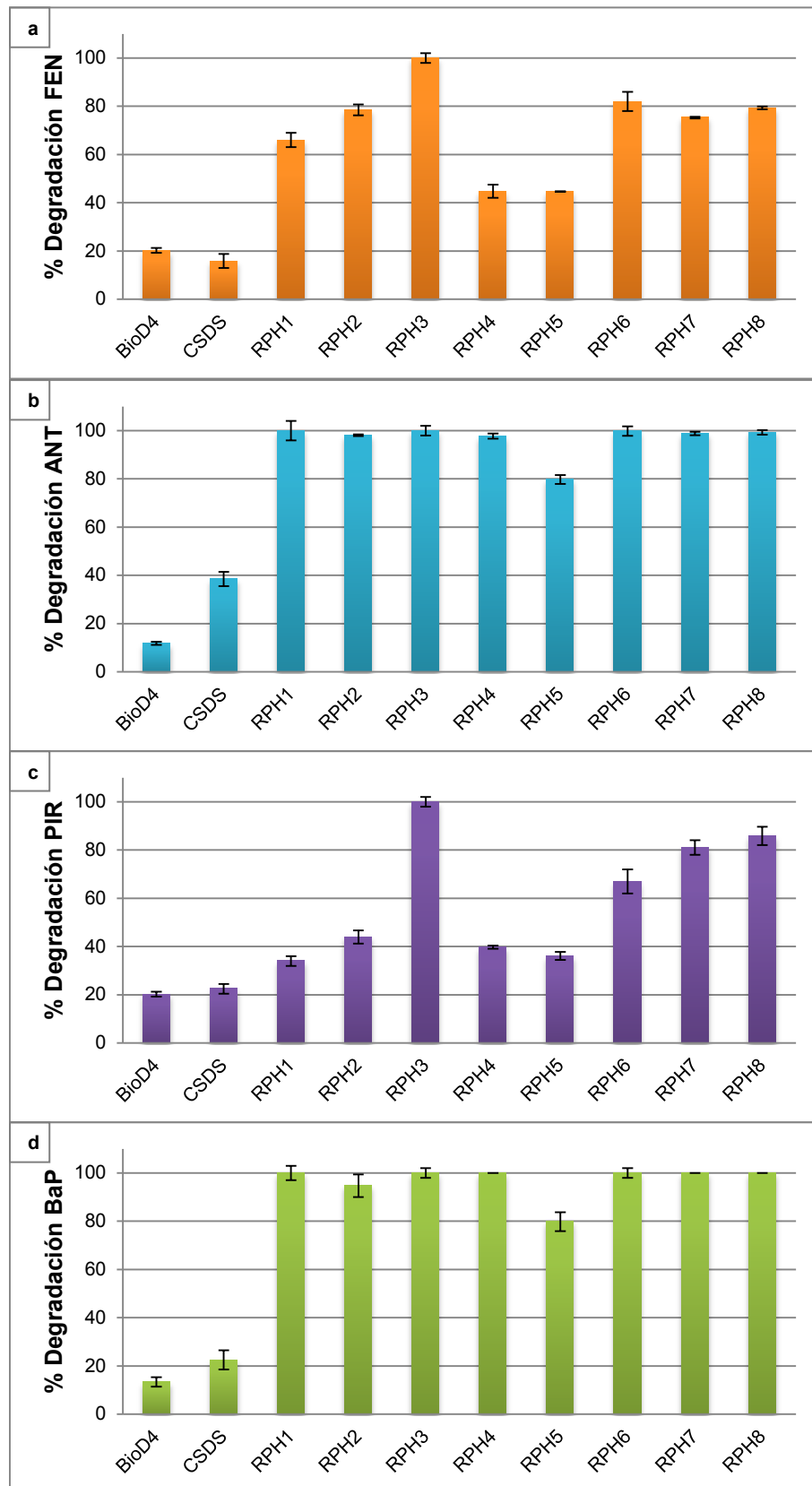


Figura 7.12. Porcentaje de degradación de los contaminantes FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) luego de 45 días para los tratamientos SB₃. Las barras de error representan la desviación estándar.

En todos los sistemas la remoción de ANT y BaP fue cercana al 100% (**Figura 7.12 b y d**, respectivamente), a excepción de RPH5 (Fe nZVI 5mM, solo el 80%). Por otro lado, FEN y PIR (**Figura 7.12 a y b**, respectivamente) fueron los hidrocarburos más recalcitrantes en todas las condiciones estudiadas. Los mejores resultados para PIR fueron obtenidos para los tratamientos con surfactante (RPH7 y RPH8) y para RPH3.

El tratamiento en el que se observó la mayor eficiencia fue RPH3 (Fe (III) 5 mM): la remoción de todos los contaminantes fue completa luego de tres días (**Figura 7.12**). Cabe destacar que para todas las condiciones estudiadas con PH los porcentajes de degradación de los cuatro PAH fueron mayores que para el control de biodegradación BioD4.

7.4. Ensayos utilizando Persulfato de Sodio como oxidante

7.4.1. Efecto del tipo de hierro agregado (distintos estados de especiación)

Se estudió la descomposición del anión persulfato (PS) mediante el agregado de Fe en distintos estados de especiaciones con el objetivo de aumentar la eficiencia de degradación de los PAH. Se analizaron sistemas batch con Fe II (RPS1), Fe III (RPS2) y Fe nZVI (RPS3) todos en una concentración de Fe agregada de 1 mM y con una concentración de 100 g_{PS}/kg_{TS} de PS cada uno. En la **Figura 7.13** se muestra el porcentaje de descomposición de PS (**a**) y el pH (**b**) a lo largo del ensayo. El porcentaje de degradación luego de 50 días de los PAH se muestra en la **Figura 7.14**: ANT (**a**), FEN (**b**), PIR (**c**) y BaP (**d**).

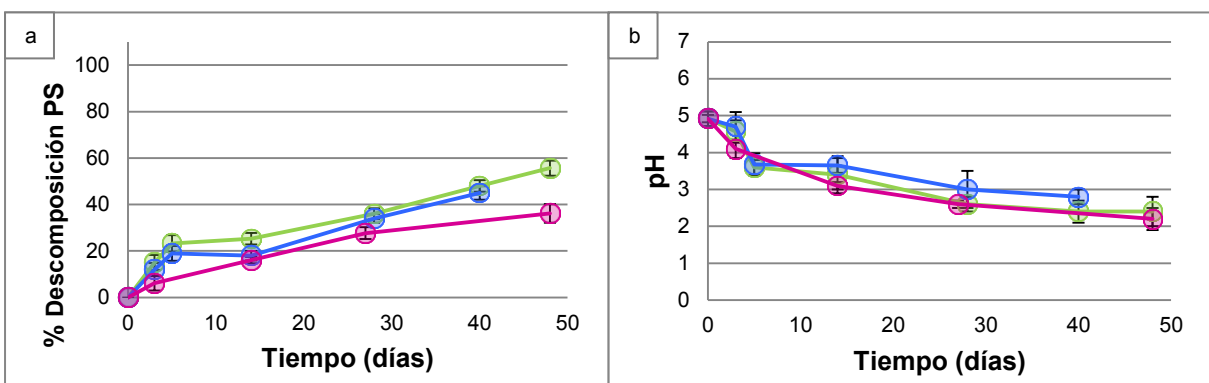


Figura 7.13. Porcentaje de descomposición de PS (**a**) y evolución del pH (**b**) con el tiempo para los tratamientos RPS1 (●), RPS2 (●) y RPS3 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

El consumo de PS (**Figura 7.13.a**) fue cercano al 55% para los tratamientos RPS1 (con Fe (II)) y RPS2 (con Fe (III)), mientras que para el tratamiento RPS3 (con Fe nZVI) fue del 36% al finalizar el ensayo. Liang y colaboradores (Liang y Lai, 2008), observaron el mismo efecto cuando compararon en la descomposición de PS en presencia de Fe (II) y Fe (nZVI). Estos investigadores observaron la presencia de una fase Lag para la descomposición del anión persulfato en presencia de Fe (nZVI), mientras que cuando hubo presencia de Fe (II) la descomposición de PS fue gradual. Esta fase Lag se atribuyó a la liberación lenta de Fe (II) a partir del Fe (nZVI).

Con respecto a la evolución del pH a lo largo del tratamiento, los tres sistemas presentaron un comportamiento similar, comenzando en un valor de 5 y finalizando aproximadamente en 2. Esto se corresponde a lo observado en los Capítulos 5 y 6 para tratamientos con PS.

Como se muestra en la **Figura 7.14**, para todos los tratamientos se observó aproximadamente el 100% de degradación de ANT, PIR y BaP luego de 40 días. Sin embargo, para FEN hubo diferencias: el sistema que presentó mayor degradación fue RPS3 (86%), mientras que para RPS1 y RPS2 fue del 50%.

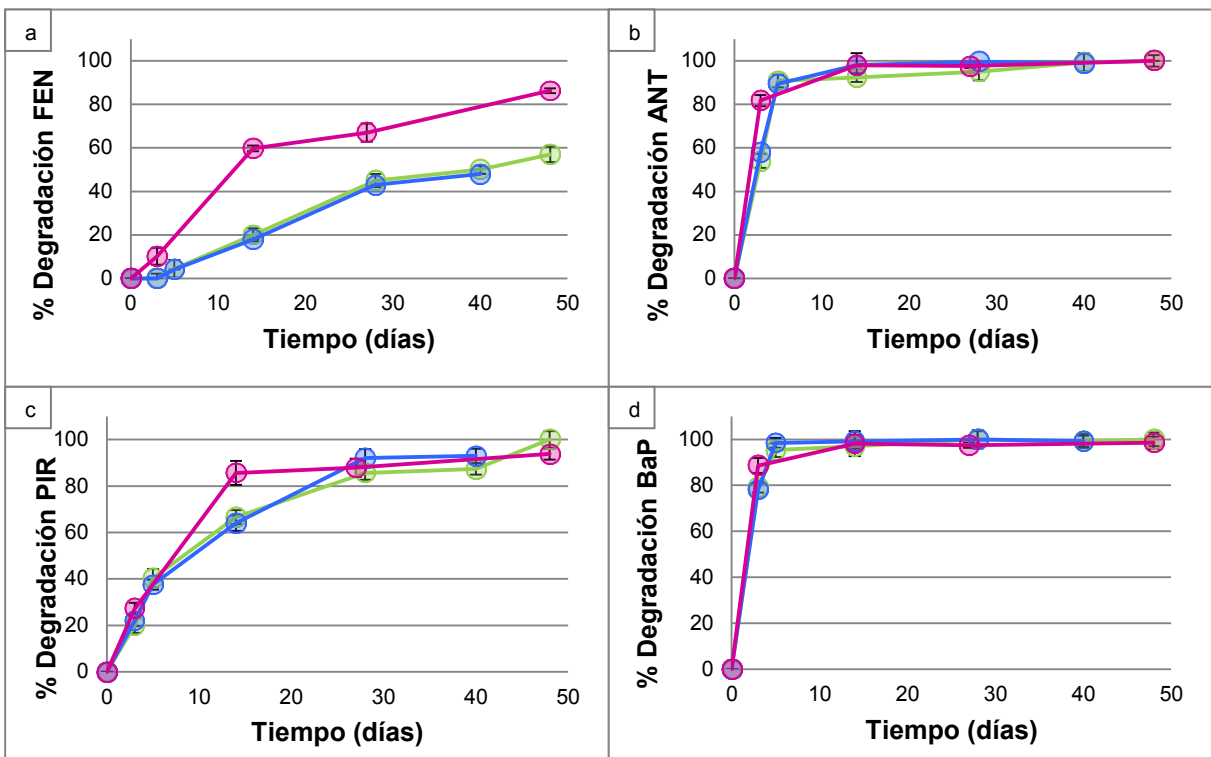


Figura 7.14. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPS1 (●), RPS2 (●) y RPS3 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

Si bien la descomposición de PS fue menor en RPS3, la degradación de FEN fue mayor con respecto a RPS1 y RPS2 (**Figura 7.13.a**). Otros investigadores, han encontrado resultados similares al comparar la degradación de distintos contaminantes en tratamientos donde utilizaron PS con Fe (II) y nanopartículas de Fe (nZVI). Por ejemplo, para la degradación de biodiesel en suelos (Pardo y col., 2015) y para tricloroetileno (Al-Shamsi y Thomson, 2013b) y 2,4-diclorofenol (Li y col., 2015) en aguas subterráneas contaminadas.

7.4.2. Efecto del agregado de surfactante

Al igual que los tratamientos con PH (**inciso 7.3.4**), se estudió el efecto de agregado de surfactantes (SDS) al medio de reacción. En este caso se compararon dos tratamientos a los cuales se les agregó SDS 24 horas antes del agregado de oxidante y activante: RPS4 con Fe (II) y RPS5 con Fe (nZVI). Además, estos dos sistemas se analizaron junto con dos sistemas con PS utilizando la misma concentración y tipo de activante pero sin el surfactante: RPS1 (Fe (II)) y RPS3 (Fe nZVI). La concentración de PS en los tratamientos fue de 100 g_{PS}/kg_{TS}. En la **Figura 7.15** se muestra el porcentaje de descomposición de PS (**a**) y el pH (**b**) después de 50 días. Los porcentajes de degradación de los contaminantes utilizados a lo largo del ensayo pueden verse en la **Figura 7.16**: ANT (**a**), FEN (**b**), PIR (**c**) y BaP (**d**).

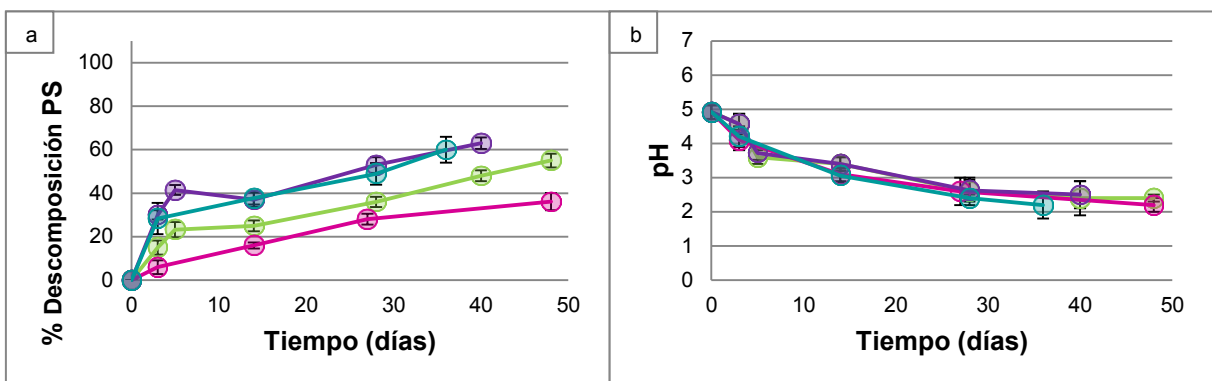


Figura 7.15. Porcentaje de descomposición de PS (a) y evolución del pH (b) con el tiempo para los tratamientos RPS1 (●), RPS3 (●), RPS4 (●) y RPS5 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

El agregado del surfactante aumentó levemente la descomposición de PS, al igual que se observó cuando se utilizó PH como oxidante (RPH7 y RPH8, del **inciso 7.3.4**). Los tratamientos RPS4 y RPS5 tuvieron un porcentaje de descomposición de PS mayor al 60%;

mientras que sin SDS, en RPS1 y RPS3 se obtuvo el 55% y 36%, respectivamente (**Figura 7.15.a**).

Con respecto a los valores de pH, no se observaron diferencias en los valores obtenidos a lo largo de 45 días en las cuatro condiciones estudiadas (**Figura 7.15.b**). Al inicio el pH fue cercano a 5, mientras que al finalizar el ensayo el valor fue de 2 unidades.

Para todos los tratamientos se observó una degradación total de ANT y BaP (luego de 3 días de reacción) y mayor al 93% para PIR (luego de 30 días). La remoción de FEN fue menor para los tratamientos con Fe (II) independientemente de la presencia de SDS (~57%), mientras que RPS3 (con Fe nZVI y sin SDS) degradó el 86% y RPS5 el 95 % (**Figura 7.16**).

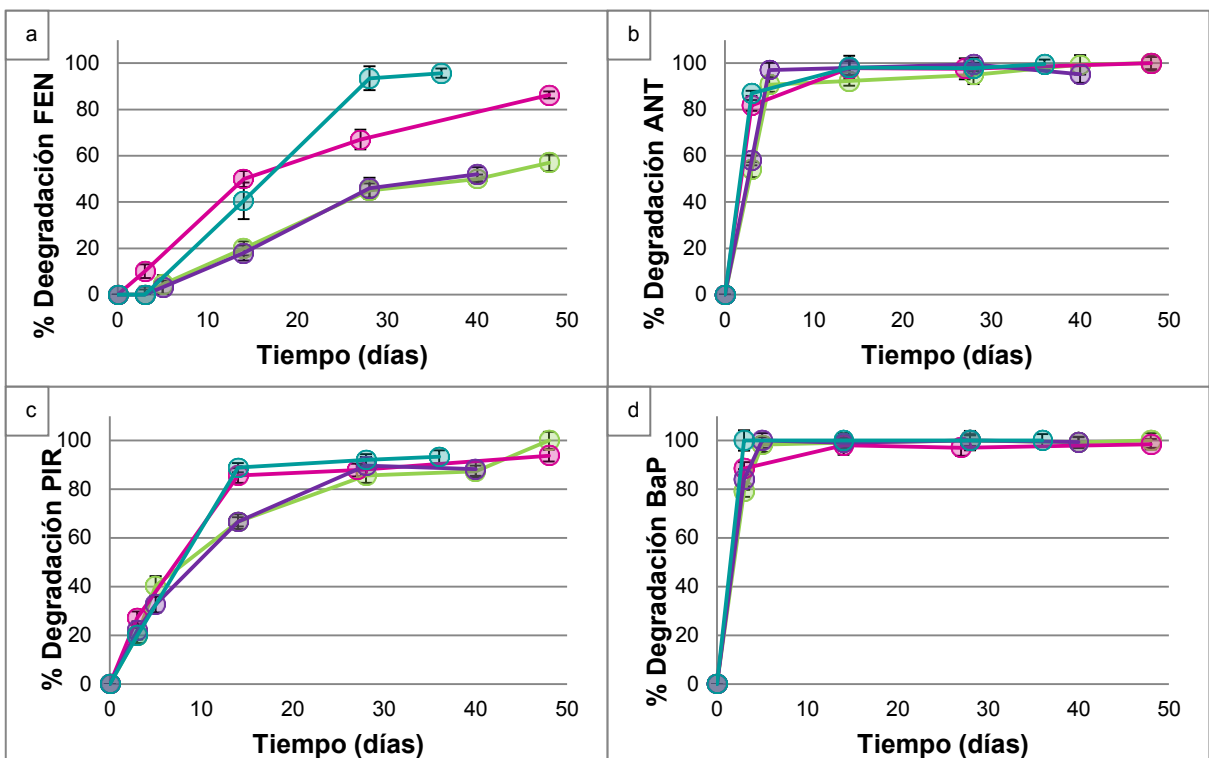


Figura 7.16. Porcentaje de degradación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPS1 (●), RPS3 (●), RPS4 (●) y RPS5 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

7.4.3. Efecto del agregado de ácidos húmicos (AH)

Se estudió el efecto del agregado de ácidos húmicos (AH) exógenos en la remediación de los PAH. Para esto se preparó en sistema con PS, Fe (II) 1 mM y 2000 ppm de AH (RPS6) y se comparó con el tratamiento RPS1, de igual composición pero sin el agregado de AH. La concentración de PS en los tratamientos fue de 100 g_{PS}/kg_{TS}. En la **Figura 7.16** se muestra el porcentaje de descomposición de PS (a) y el pH (b) a lo largo de 50 días. En la

Figura 7.17 se muestra el porcentaje de degradación de ANT (a), FEN (b), PIR (c) y BaP (d) después de 50 días.

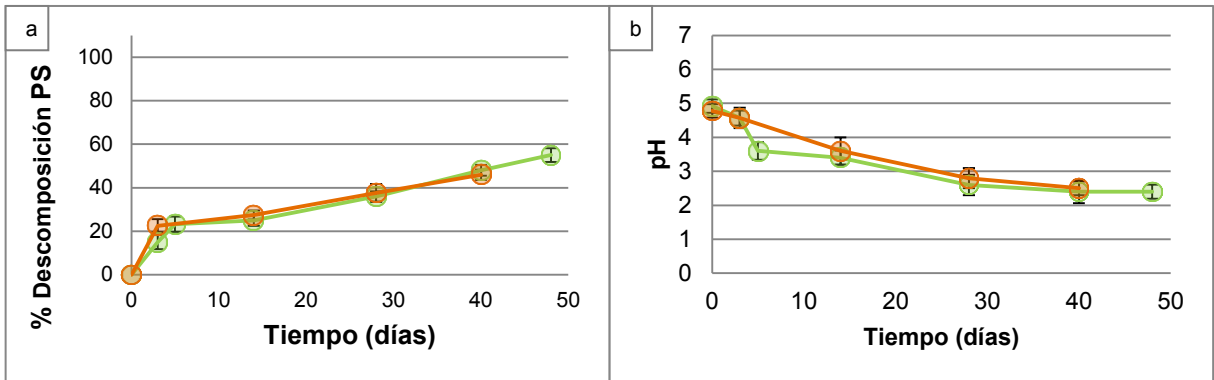


Figura 7.17. Porcentaje de descomposición de PS (a) y evolución del pH (b) con el tiempo para los tratamientos RPS1 (●) y RPS6 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

En las Figuras 7.17.a y 7.17.b puede verse que la incorporación de ácidos húmicos no modificó los valores de pH ni la descomposición de PS con respecto al tratamiento sin agregado externo de AH (RPS1).

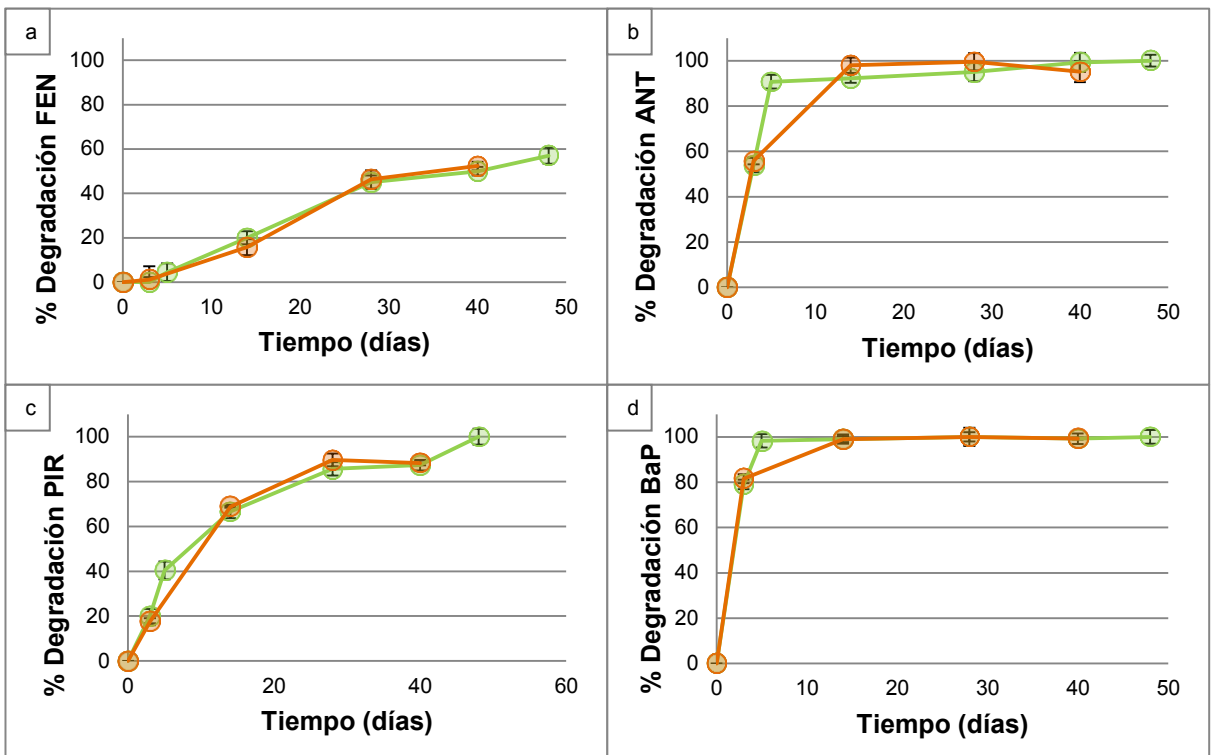


Figura 7.18. Porcentaje de descomposición de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPS1 (●) y RPS6 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

Con respecto a los porcentajes de degradación de los PAH estudiados, el agregado de AH en RPS6, no modificó ni la velocidad ni el porcentaje de remoción de los contaminantes con respecto a RPS1. Esto puede observarse en las **Figuras 7.17.a** (FEN), **7.18.b** (ANT), **7.18.c** (PIR) y **7.18.d** (BaP).

7.4.4. Efecto de la concentración de hierro

Se estudió el efecto de incrementar la concentración de Fe (nZVI) en el medio para beneficiar la remoción de los PAH. A partir de los resultados obtenidos anteriormente en el **inciso 7.4.1**, se eligió agregar una mayor concentración de Fe (nZVI), que fue el activante que mostró mayor eficiencia con respecto a Fe (II) o Fe (III). Se analizó un sistema con una concentración 5 mM de Fe (nZVI) (RPS7), el cual se comparó con un sistema con una concentración cinco veces menor (RPS3), ambos con la misma concentración de PS (100 g_{PS}/kg_{TS}). En la **Figura 7.19** se muestra el porcentaje de descomposición de PS (**a**) y el pH (**b**) después de 50 días. En la **Figura 7.20** se muestra el porcentaje de degradación de ANT (**a**), FEN (**b**), PIR (**c**) y BaP (**d**) a lo largo de 50 días.

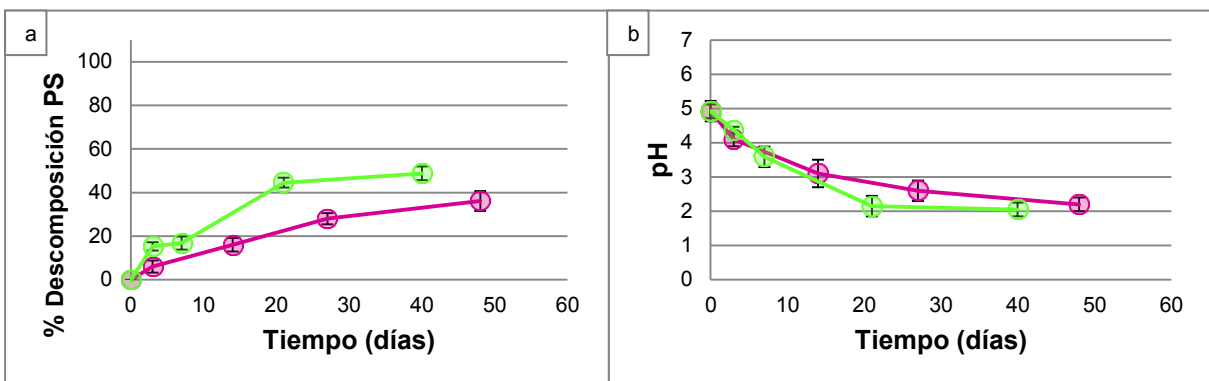


Figura 7.19. Porcentaje de descomposición de PS (a) y evolución del pH (b) con el tiempo para los tratamientos RPS3 (●) y RPS7 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

En la **Figura 7.19.a**, se puede observar un mayor descomposición de PS para el tratamiento que donde se utilizó una mayor concentración de Fe (nZVI) (RPS7). Liang y Lai (Liang y Lai, 2008), observaron un efecto similar: una mayor activación de PS con una mayor concentración de Fe (nZVI). Los valores de pH después de 45 días no mostraron diferencias en los dos sistemas estudiados (**Figura 7.19.b**): en ambos se evidenció una caída del pH de 3 unidades (de 5 a 2).

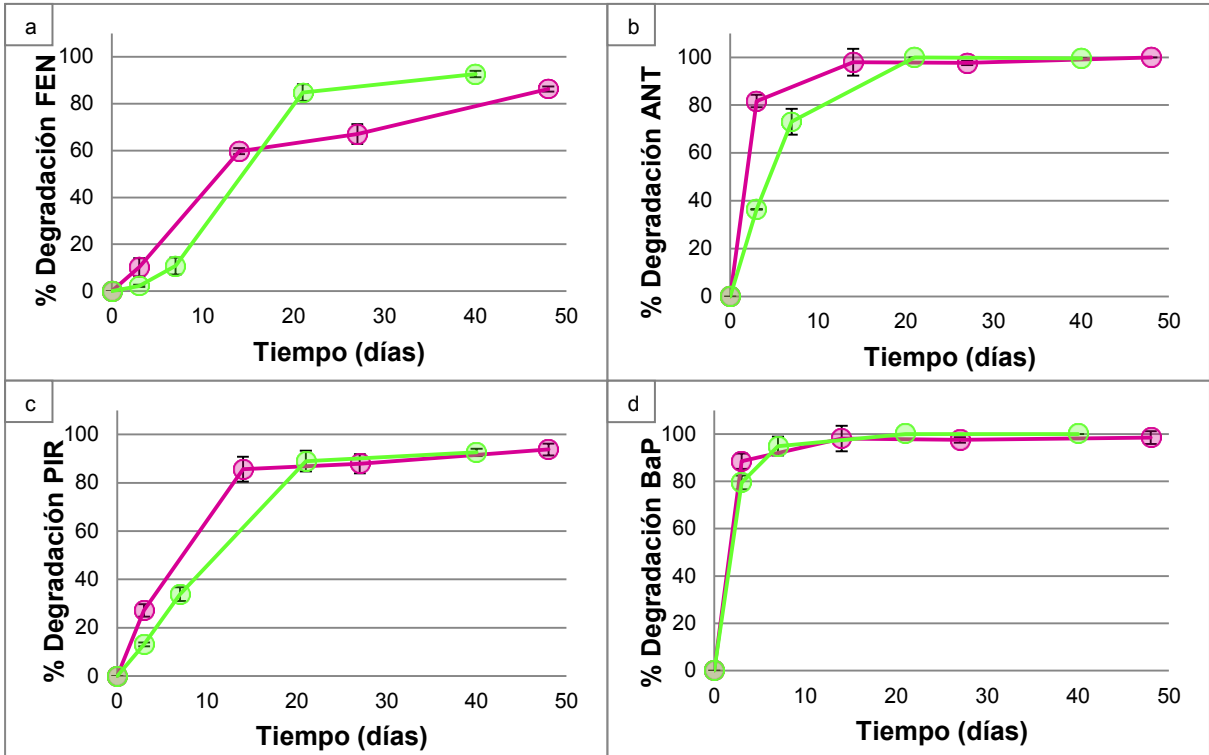


Figura 7.20. Porcentaje de eliminación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPS3 (●) y RPS7 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

Para todos los tratamientos se observó una degradación completa de ANT, BaP y mayor del 93% para PIR. (**Figura 7.20**). En el caso de FEN se obtuvo una degradación ~ 90% para los dos tratamientos luego de 40 días.

7.4.5. Efectividad del uso de persulfato de sodio como oxidante

Al igual que para los sistemas con PH, se evaluó la eficiencia de las distintas condiciones ensayadas cuando se utilizó PS como oxidante. Para ello se graficó el porcentaje de degradación de los cuatro PAH, luego de 45 días de tratamiento (**Figura 7.21**).

Para ANT y BaP la remoción fue mayor al 98% para todas las condiciones analizadas. También se obtuvo una alta eliminación para PIR (> 90%). El PAH que mostró ser más recalcitrante fue FEN, solo RPS3, RPS5 y RPS7 lograron remover más del 80%. Cabe destacar que para todas las condiciones estudiadas los porcentajes de degradación de los cuatro PAH fue mayor que para el control de biodegradación BioD4.

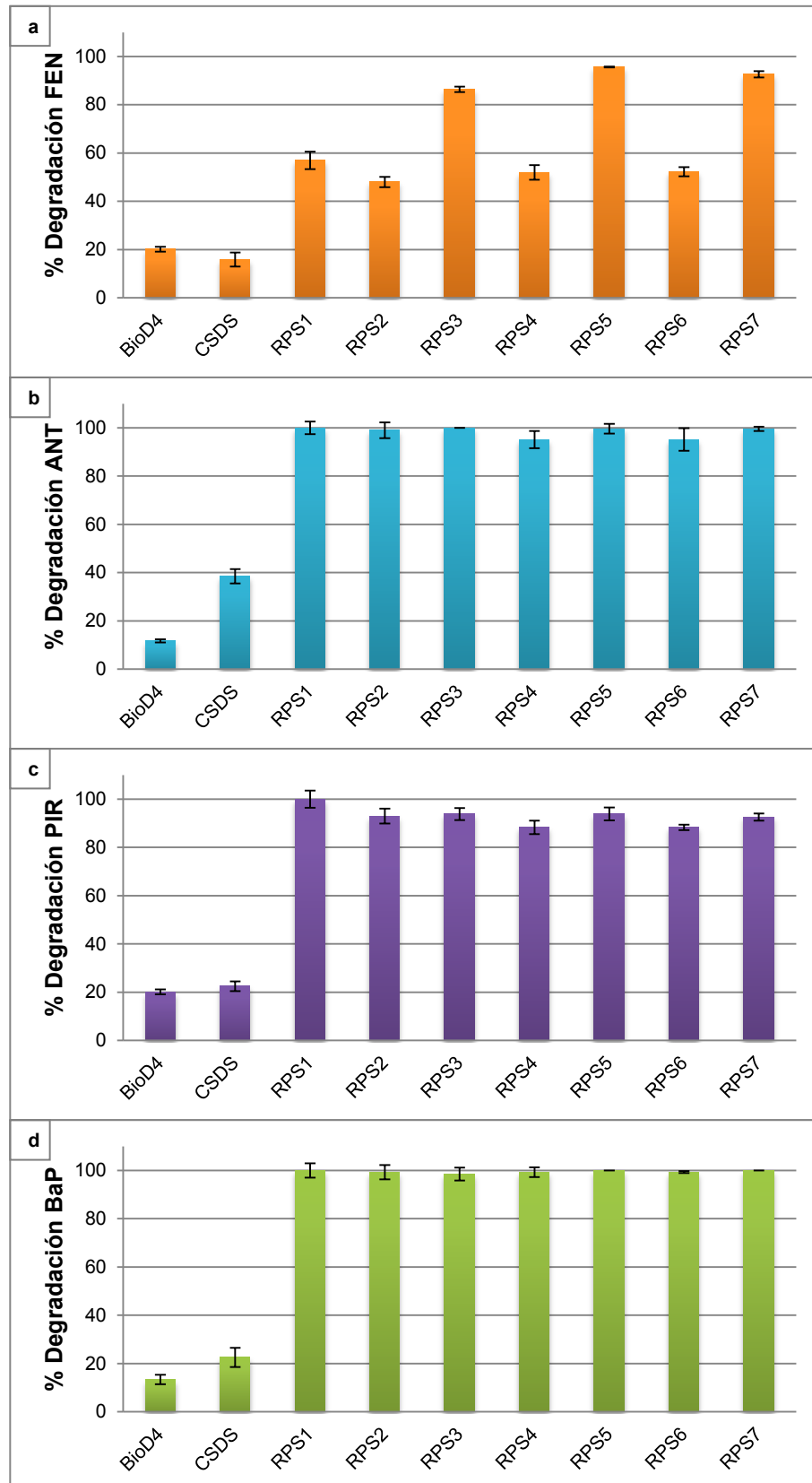


Figura 7.21. Porcentaje de degradación de los contaminantes FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) luego de 45 días para los tratamientos SB₄. Las barras de error representan la desviación estándar.

7.5. Recuentos de bacteria heterótrofas totales

Se estudiaron las poblaciones cultivables de bacterias heterótrofas totales luego de 45 - 50 días de tratamiento. Los resultados se muestran en la **Tabla 7.1**, expresados como el logaritmo de las unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de suelo seco.

Tabla 7.1. Número de bacterias heterótrofas totales para los controles BioD4 al inicio y al final del tratamiento y para CSDS, SB₃ y SB₄ luego de 45 - 50 días de tratamiento.

| Tratamientos | Log UFC/g _{TS} | pH |
|---------------------------|-------------------------|-------|
| Suelo sin contaminar | 6,45 ± 0,05 | 7,2 |
| BioD4 (tiempo cero) | 6,31 ± 0,08 | 7,0 |
| BioD4 (45 días) | 6,42 ± 0,15 | 6,6 |
| CSDS (45 días) | 6,09 ± 0,04 | 6,9 |
| SB ₃ (45 días) | ≤ 4 | < 4,5 |
| SB ₄ (45 días) | ≤ 4 | ~ 2 |

En la **Tabla 7.1** puede observarse una correspondencia entre la reducción del pH del medio y el recuento de las bacterias heterótrofas cultivables para los dos oxidantes utilizados (PH y PS). En el caso de los controles (BioD4 y CSDS) el número de bacterias heterótrofas cultivables son similares a las que se obtuvieron en el suelo sin contaminar.

7.6. Productos de degradación

Durante el proceso de remediación de suelos contaminados con PAH, pueden originarse hidrocarburos policíclicos aromáticos oxigenados (oxy-PAH). Estos compuestos se definen como PAH con uno o más oxígenos carboxílicos unidos a la estructura del anillo aromático (Lundstedt y col., 2014). En la **Figura 7.22** se presentan las estructuras de algunos de estos compuestos.

Se estudiaron los cromatogramas obtenidos mediante HPLC para identificar los productos de reacción generados en los distintos tratamientos. Se encontró un pico con tiempo de retención (6,823 minutos) diferente a los de los PAH ensayados, cuya área aumentó con el tiempo de tratamiento. Se observaron otros picos en algunos de los sistemas, pero con áreas pequeñas que imposibilitaron su cuantificación. En la **Figura 7.23** se muestra un cromatograma tipo, a modo de ejemplo.

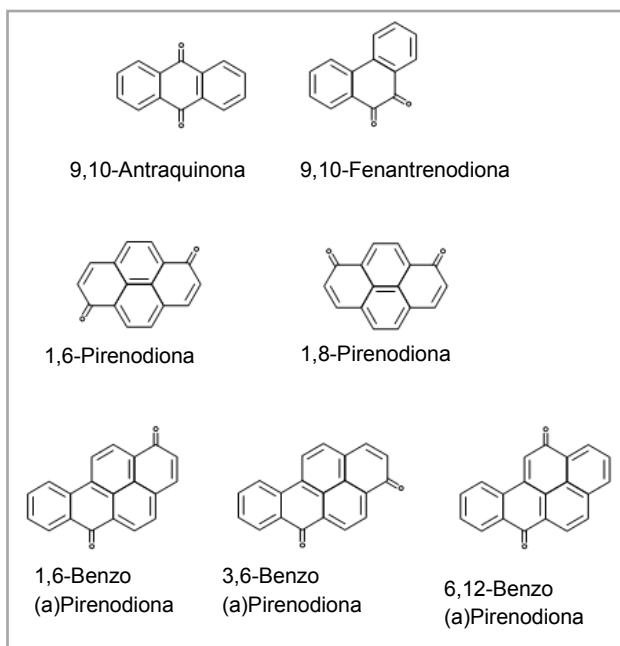


Figura 7.22. Quinonas que se obtienen por oxidación de los ANT, FEN, PIR y BaP (Sutton y col., 2011; Yu, 2002).

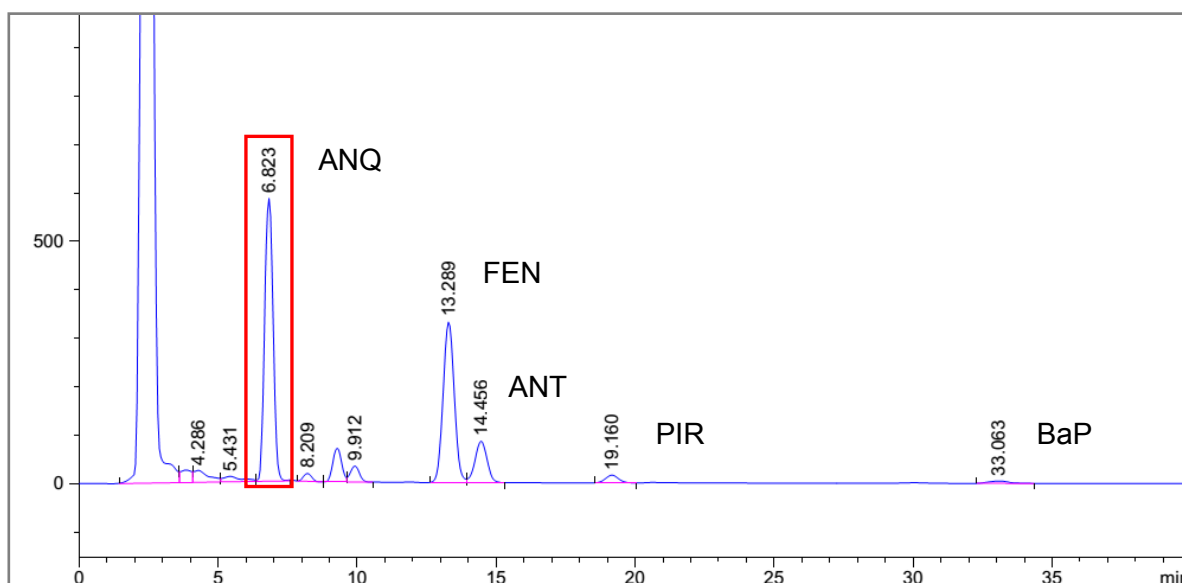


Figura 7.23. Cromatograma del tratamiento RPS5 a 250 nm luego 5 días de tratamiento, a modo de ejemplo. Cabe destacar PIR y BaP se cuantificaron determinando las áreas a 235 y 295 nm, respectivamente.

Para identificar los compuestos responsables de estos picos, se inyectaron patrones de dos sustancias reportadas como productos de degradación en sistemas similares: 9,10-antraquinona (ANQ) (Lee y col., 1998; Liang y col., 2012; Qiao y col., 2016) y 9,10-fenantrenodiona (Amellal y col., 2006). En la mayoría de las muestras ensayadas (todas excepto RPH3) se detectó la presencia de ANQ. No se encontró evidencia de la presencia de 9,10-fenantrenodiona.

Para la mayoría de los tratamientos se observó un incremento en la concentración de ANQ con el tiempo. Este incremento se corresponde con la disminución de los contaminantes. Los valores de concentración de ANQ obtenidos al final de los tratamientos donde se utilizó PH se presentan en la **Tabla 7.2**. Para los sistemas con PS también se identificó la presencia de ANQ, pero no se realizó la cuantificación.

Tabla 7.2. Concentración del producto antraquinona (ANQ) luego de 45 días, para los tratamientos con PH.

| Sistema | RPH1 | RPH2 | RPH3 | RPH4 | RPH5 | RPH6 | RPH7 | RPH8 |
|-----------|--------|--------|------|--------|---------|---------|----------|--------|
| ANQ (ppm) | 28 ± 5 | 71 ± 8 | ND* | 33 ± 3 | 44 ± 16 | 34 ± 13 | 137 ± 12 | 98 ± 5 |

*ND: no determinado

Cabe destacar que el hecho de no detectar un compuesto como producto de reacción no implica que no se haya formado. Puede ocurrir que durante el tratamiento se forme y se degrade, afectando su detección. Este pareciera ser el caso de la ANQ en el tratamiento RPH3, donde se observa una rápida descomposición de los PAH (se completó el 100% de degradación luego de 3 días), por lo que ANQ podría haberse formado y rápidamente degradado.

7.7. Discusión

Atenuación natural

En esta serie de ensayos, SB₃ y SB₄, se evaluaron distintas estrategias para el tratamiento del Suelo II contaminado con 4 PAH: fenantreno, antraceno, pireno y benzo(a)pireno.

En primer lugar se estudió la atenuación natural de este suelo, en sistemas batch (BioD4). El porcentaje de degradación de los contaminantes para BioD4 fue menor al 20 % para cada uno de los PAH luego de 45 días. Esto podría justificarse debido al bajo valor de recuentos de bacterias heterótrofas totales a lo largo del ensayo. Yang y colaboradores (Yang y col., 2011) informaron que la actividad biológica de los microorganismos disminuyó cuando la materia orgánica del suelo se encontró en baja proporción (1,1% en comparación con 4,5% y 7,1% de Carbono Orgánico Total (TOC)). Por lo que el bajo recuento de bacterias heterótrofas cultivables a lo largo del ensayo (6,4 Log UFC/g_{TS}, **Tabla 7.1**) para el control BioD4 puede relacionarse con el bajo contenido de materia orgánica del Suelo II.

Efecto de los oxidantes en la actividad biológica del Suelo II

En el caso de los sistemas con oxidantes químicos, se observó una disminución de dos órdenes de magnitud de la biota para los dos oxidantes estudiados ($< 4 \text{ Log UFC/g}_{\text{TS}}$, **Tabla 7.1**).

Según Buyuksonmez y colaboradores, (Buyuksonmez y col., 1998), tanto los oxidantes utilizados como los radicales formados durante la reacción, actúan como biocidas disminuyendo la biota normal de suelo. Los radicales pueden atacar los componentes de las membranas celulares (Slater, 1984). Laurent y colaboradores (Laurent y col., 2012) estudiaron sistemas con dos concentraciones diferentes de PH (baja y alta), y encontraron que a mayores concentraciones de PH el número de bacterias cultivables disminuyó al iniciar el tratamiento con respecto a un control, sin embargo luego de 6 semanas los tratamientos presentaron recuperación de la biota.

En trabajos en los que se aplicó PS, también se han reportado disminuciones importante en el número de bacterias cultivables con el aumento de la concentración del oxidante (Mora y col., 2014; Tsitonaki y col., 2008). Además, el agregado de los oxidantes produjo un marcado descenso en el pH del sistema, afectando de manera notoria la degradación biológica.

Por lo tanto, para los ensayos SB₃ y SB₄ podría descartarse el aporte de la biodegradación, debido principalmente al bajo número de BHC que presenta el Suelo II inicialmente, pero además debido a la disminución que se observó luego de 45 días por el agregado de oxidantes químicos. Como se mencionó anteriormente, el efecto de los radicales libres y el estrés ácido (por la disminución del pH) genera un impacto negativo sobre la biota endógena del suelo. Como los ensayos se realizaron a 50 días, no se evaluó la posible recuperación de la biota posterior a la desaparición del oxidante químico en el medio.

Adición de Fe como activante

En el Capítulo 4, se comprobó que en el Suelo II, la descomposición tanto de PH como de PS se daba de manera eficiente. Si bien esto permite justificar la descomposición del PH observada para RPH1 (sin agregado de Fe externo), cabe destacar que la desaparición del oxidante en los otros tratamientos con agregado externo de Fe (III o nZVI, 1 mM) no se observaron diferencias importantes. RPH3 (Fe III 5 mM) fue el único tratamiento que mostró una descomposición más rápida (**Figura 7.2.a**).

De los tratamientos realizados con PH como oxidante químico, solo RPH3 (Fe (III) 5 mM) mantuvo un pH óptimo por debajo de 4 (**Figura 7.2.b**). Esto se correspondió con la mayor descomposición del oxidante (**Figura 7.2.a**), lo cual tuvo un efecto importante en la

degradación de los PAH estudiados, principalmente PIR y FEN que mostraron ser los más recalcitrantes en otras condiciones estudiadas.

Resulta interesante comparar la eficiencia de la degradación de los hidrocarburos con los dos oxidantes, utilizando Fe (III) como activante en la misma concentración, es decir en los sistemas RPH2 y RPS2. Los resultados se muestran en la **Figura 7.24**.

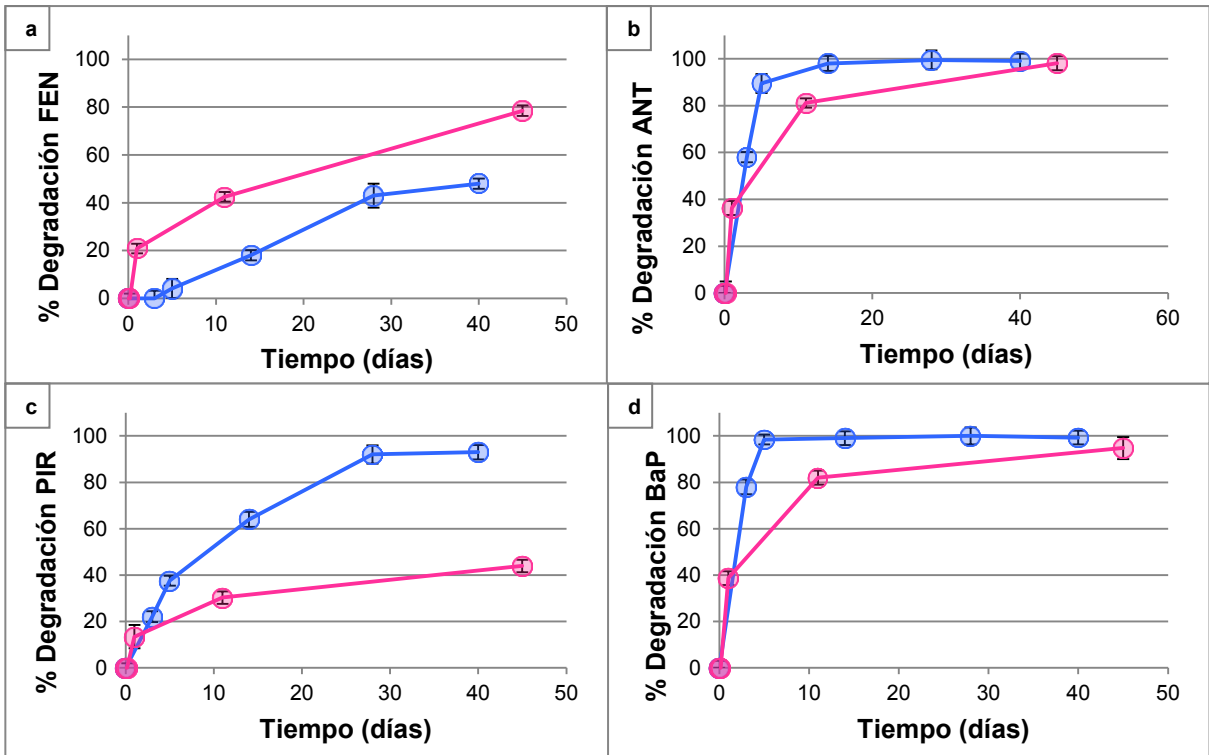


Figura 7.24. Porcentaje de eliminación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPH2 (●) y RPS2 (●). Las barras de error representan la desviación estándar.

Luego de 45 días puede observarse que la degradación de ANT y BaP fue cercana al 100% (**Figura 7.24.b y d**). Cabe destacar, que la velocidad de degradación de estos dos PAH fue mayor cuando se utilizó PS. Para los otros hidrocarburos se observan diferencias con los oxidantes utilizados. Para PH la degradación de FEN es mayor que para PS (78 % contra el 48%, respectivamente **Figura 7.24.a**), mientras que para PIR la degradación en RPS2 (93%) fue mayor que para RPH2 (43%) (**Figura 7.24.d**).

Además, se evaluó el efecto que tuvo el uso de Fe (nZVI) en dos concentraciones (1 y 5 mM) para PH y PS, sobre la degradación de los contaminantes.

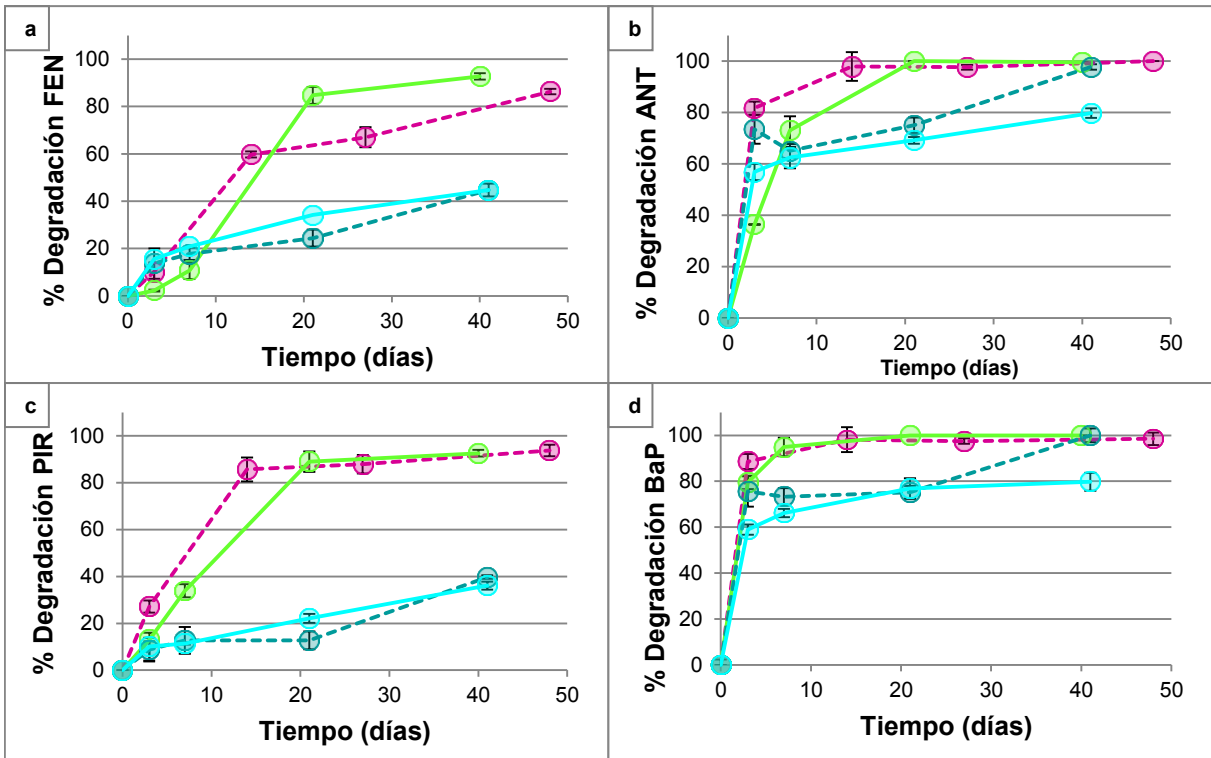


Figura 7.25. Porcentaje de eliminación de FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) con el tiempo para los tratamientos RPH4 (- - - ● - - -), RPH5 (- ● -), RPS3 (- - - ● - - -) y RPS7 (- ● -). Las barras de error representan la desviación estándar.

Al usar Fe (nZVI) como activante, las diferencias observadas en la remoción de los contaminantes fueron dadas por el oxidante utilizado y fueron independientes de la concentración de Fe. La eliminación de ANT y BaP es cercana al 100 % luego de 45 días para todas las condiciones estudiadas (**Figura 7.25.b y d**). Con PS, la eliminación de FEN y PIR fue mayor que cuando se utilizó PH como oxidante (**Figura 7.25.a y c**), posiblemente debido al menor pH que presentan los sistemas con PS.

Agregado de SDS

En la bioestimulación se introducen nutrientes orgánicos o inorgánicos a sitios contaminados, los cuales favorecen el crecimiento de los microorganismos autóctonos (Pankrantz, 2001). En algunas ocasiones, también se utilizan surfactantes para incrementar la movilidad de los contaminantes orgánicos en el suelo y de esta manera mejorar la biodisponibilidad.

El uso de surfactantes ha sido informado como un método eficiente por varios investigadores (Chen y col., 2001; Martienssen y Schirmer, 2007; Zhou y Zhu, 2007).

Sin embargo, Ortega y colaboradores (Ortega-Calvo y col., 2013) demostraron que los surfactantes pueden tener un efecto positivos o negativos en la remoción de contaminantes

dependiendo del suelo a tratarse. En suelos contaminados con creosota la presencia de surfactante inhibió la degradación, mientras que en suelos provenientes de plantas de gas la eliminación se favoreció. Estas diferencias observadas en la biodegradación de los PAH puede ser consecuencia de dos efectos: (i) el incremento de la biodisponibilidad y (ii) el aumento en la degradación de otros PAH presente en el suelo, como metabolitos provenientes de la degradación de alguno de los contaminantes (López y col., 2008).

Esto podría explicar el leve aumento en el porcentaje de degradación de ANT (39%) y BaP (22,5%) en CSDS, con respecto a BioD4 (**Figura 7.1.b**). Sin embargo, para FEN y PIR no se observaron diferencias, con respecto al control sin agregado de surfactante u oxidantes, solo se degradó ~ el 20 % (**Figura 7.1.a y c**).

Cuando se combinan surfactantes con oxidantes en un mismo medio, un punto importante a estudiar es si son compatibles (es decir, si habrá reacción entre ellos). Por esta razón, estudiar el comportamiento del SDS con los oxidantes utilizados en solución es de gran importancia. Se observó que el surfactante cambió sus características luego de 4 horas de estar en contacto con el oxidante y el activante, perdiendo su propiedad más importante: su capacidad para formar micelas y aumentar la solubilidad de los compuestos orgánicos para incrementar la degradación de los PAH (**Figuras 7.8 y 7.9**).

Adicionalmente, la presencia de SDS en el sistema produjo una mayor descomposición de PH y PS. Como consecuencia de esto, se pierden radicales y el surfactante en reacciones secundarias.

Se observó una mayor velocidad de degradación de los PAH cuando el surfactante se agregó con anterioridad al oxidante y activante (RPH8) con respecto a RPH7 donde se agregaron todos los reactivos juntos (**Figura 7.11**). Esta diferencia podría deberse a que la aplicación del surfactante 24 horas antes del agregado de PH y Fe mejoró la solubilización de los contaminantes en fase acuosa, produciendo una oxidación más rápida y beneficiando la degradación de los contaminantes. En contraste, cuando el agregado se realiza en simultáneo con los otros reactivos, el surfactante está expuesto a los radicales formados y puede reaccionar con ellos al igual que la materia orgánica del suelo o los PAH contaminantes.

Saxe y colaboradores (Saxe y col., 2000), informaron resultados similares en sistemas contaminados con FEN, ANT y Fluoranteno (< 30 ppm para cada PAH) cuando se aplicaron tratamientos con el reactivo de Fenton y surfactantes no iónicos (Tritón X-100 y Igepal CA-720).

En el caso de los tratamientos con PS y SDS (RPS4 con Fe II y RPS5 con Fe nZVI), donde el surfactante se agregó 24 horas antes que el oxidante y el hierro, se observó una mejor eficiencia en la degradación de FEN con respecto a los tratamientos análogos, sin SDS

(RPS1 y RPS3) (**Figura 7.16.a**). No se observaron diferencias en la remoción de ANT, PIR y BaP para las dos condiciones.

El uso de surfactantes parece ser prometedor, sin embargo ciertos surfactantes pueden presentar toxicidad en los microorganismos endógenos del suelo, lo cual reduce notablemente la biodegradación de los contaminantes (Fava y Piccolo, 2002; Martienssen y Schirmer, 2007; Sandbacka y col., 2000). El agregado de materia orgánica, como ácidos húmicos, ha sido considerado recientemente como una estrategia válida de bioestimulación (Plaza y col., 2009; Yang y col., 2011). Además, se ha propuesto que los AH podrían mejorar la degradación de los contaminantes, a partir de la actividad redox que presentan por la presencia de grupos quinonas (Fukushima y Tatsumi, 1999; Kappler y col., 2004) que favorecen la reducción del Fe (III) a Fe (II) en solución acuosa, con lo que se favorece la activación del PS.

Conte y colaboradores (Conte y col., 2005) estudiaron la propiedad de los AH de actuar como surfactantes en suelos contaminados con PAH y tiofenos, y compararon su efecto con surfactantes artificiales como SDS y Tritón X-100. Para todos se observó la eliminación de los contaminantes, lo cual demuestra que los AH fueron eficaces. Por lo tanto, su uso es recomendado principalmente por no presentar efectos tóxicos como se mencionó anteriormente. Otros investigadores (Bogan y Trbovic, 2003; Conte y col., 2001), obtuvieron un efecto negativo al utilizar AH en la degradación de contaminantes. Una posible explicación de este comportamiento se debe a la presencia de sitios hidrófobos en su estructura, que puede inmovilizar el contaminante e inhibir su eliminación (Bogan y Trbovic, 2003; Conte y col., 2001).

Zhang y colaboradores (Zhang y col., 2005), estudiaron la degradación de ANT utilizando como oxidante ozono, encontraron una disminución en la efectividad del tratamiento ISCO en el sistema con un agregado exógeno de AH comerciales en una concentración de 2000 ppm (similar a la concentración de AH agregada en RPS6).

Si bien el agregado al medio de AH aporta materia orgánica, la descomposición del PS no se vio modificada en RPS6 (con AH y Fe II 1mM) con respecto a RPS1 (con Fe II 1mM), sin AH (**Figura 7.17.a**). Además, para RPS6 no se observó una mayor eficiencia en la degradación de los PAH estudiados. Por lo que se puede inferir que en la concentración estudiada (2000 ppm) los ácidos húmicos comerciales utilizados no actuaron como surfactantes mejorando la solubilidad de los PAH.

Análisis de la efectividad de las distintas condiciones estudiadas

La mayor eficiencia en la degradación de los cuatro PAH estudiados se observó para los tratamientos: RPH3 (Fe III 5mM), RPH8 (Fe III 1 mM + SDS), RPS3 (Fe nZVI 1 mM) y RPS5

(Fe nZVI 1 mM + SDS) (**Figura 7.26**). Cabe destacar que en estos tratamientos el pH del medio se mantuvo dentro de los valores óptimos para favorecer la disponibilidad de Fe en solución.

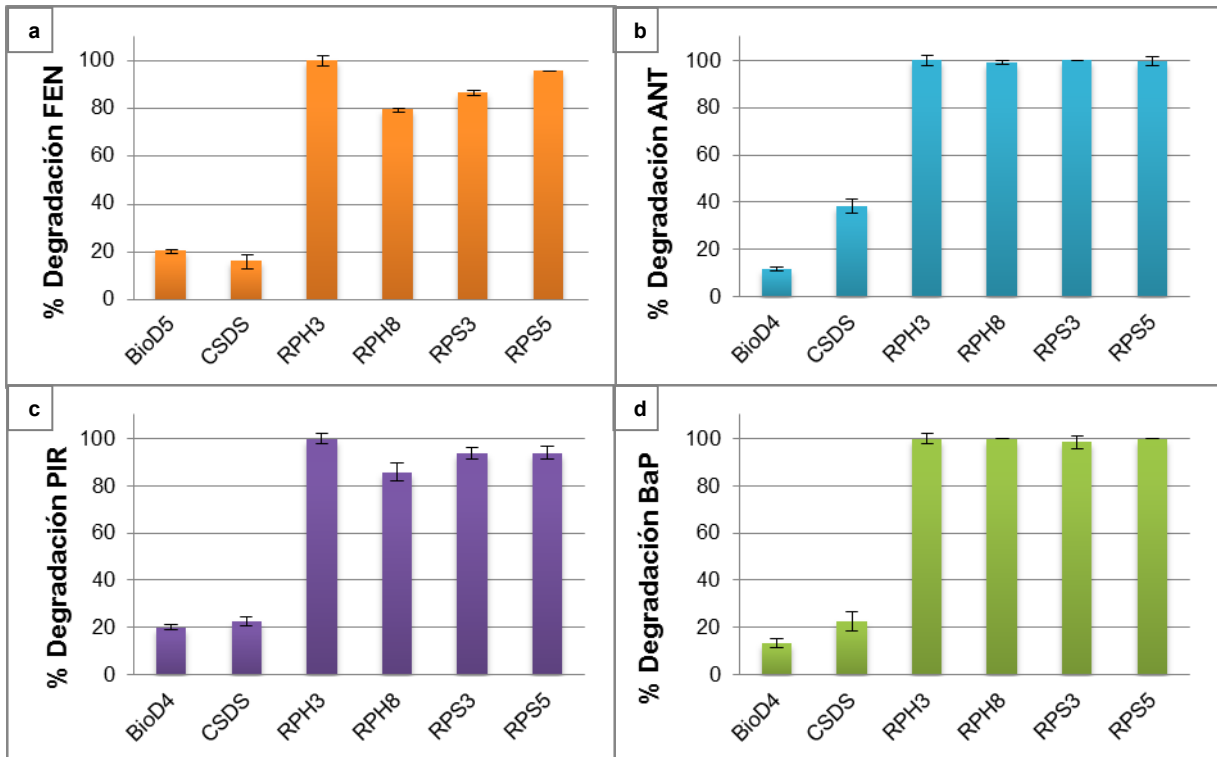


Figura 7.26. Porcentaje de degradación de los contaminantes FEN (a), ANT (b), PIR (c) y BaP (d) luego de 45 días para los controles BioD4 y CSDS y para los tratamientos RPH3, RPH8, RPS3 y RPS5. Las barras de error representan la desviación estándar.

Modelo de Clar

La mayor degradación de los PAH de mayor peso molecular puede ser explicada por distintas teorías. Según Bogan y Trbovic (Bogan y Trbovic, 2003) la mayor reactividad de los PAH que presentan mayor peso molecular podría justificarse por las interacciones que se generan con los componentes del suelo. Estos investigadores propusieron que los PAH de menor peso molecular (3 - 4 anillos) interactúan con los ácidos húmicos y fúlvicos de la materia orgánica natural, a partir de interacciones hidrófobas, y luego difunden a los microporos del suelo donde están menos accesibles a la oxidación. Por otro lado, los más pesados quedan en la superficie, expuesto a los tratamientos de oxidación química.

Con este análisis se puede explicar la mejor degradación del BaP respecto del resto de los PAH estudiados. Sin embargo, esta propuesta no justifica la marcada diferencia en la eficiencia de degradación de FEN y ANT, ambos con el mismo PM e igual cantidad de anillos.

Para justificar este comportamiento se puede utilizar el modelo de Clar, que fue mencionada en el Capítulo 6 para FEN y PIR. Este modelo analiza las diferencias de reactividad que tienen los PAH a partir del concepto de aromaticidad. El modelo de Clar, establece que la estructura de resonancia de Kekulé con mayor número de sextetos π es la que mejor caracteriza las propiedades de los PAH. En general, los anillos que presentan mayor aromaticidad local (tipo A) son los centros más aromáticos mientras que los otros anillos (tipo B) presentan menor aromaticidad y mayor reactividad química. A continuación se analizan las estructuras de Clar para los cuatro PAH estudiados en este capítulo.

Para el FEN (3 anillos) se observa que los anillos externos presentan mayor aromaticidad local (anillo tipo A) que el anillo central (anillo tipo B) (ver **Figura 7.27.a**). Esto coincide con cálculos teóricos realizados por varios investigadores (Cyrański y col., 2000; Portella y col., 2005; Schulman y Disch, 1999).

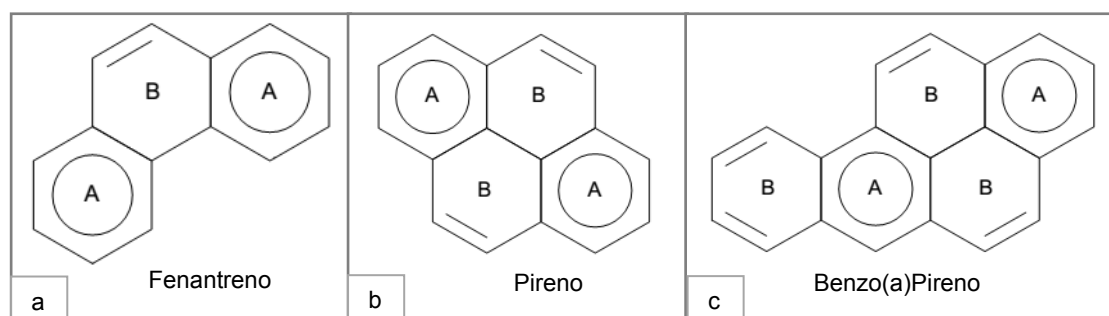


Figura 7.27. Esquema de las estructuras de Clar para fenantreno (a), pireno (b) y benzo(a)pireno (c). Las letras A indican la presencia de un anillo tipo A (mayor aromaticidad) mientras que las letras B se refieren a los anillos tipo B (menor aromaticidad).

En el caso de PIR (4 anillos) se puede observar la presencia de 2 anillos con sextetos aromáticos (A) y otros dos con menor aromaticidad, con mayor reactividad (B) (**Figura 7.27.b**). El BaP muestra dos posibles estructuras resonantes que son equivalentes. Ambas presentan 2 anillos aromáticos (A) y 3 anillos con menor aromaticidad (B) (**Figura 7.27.c**).

El caso de ANT, que al igual que FEN presenta 3 anillos aromáticos, es diferente: hay tres estructuras resonantes que tienen solamente un sexteto de Clar localizado en uno de los tres anillos. Estas tres estructuras son equivalentes en las reglas de Clar, por lo que la mejor manera de representarla es una superposición de estas tres estructuras, donde una flecha indica la migración del sexteto, como se muestra en la **Figura 7.28**.

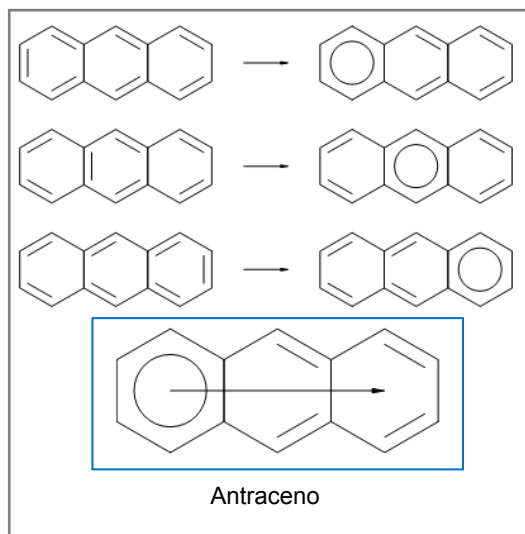


Figura 7.28. Esquema de tres de las cuatro estructuras de Kekulé posibles para antraceno. Los sextetos π aromáticos se indican con círculos. La estructura de Clar presenta un sexteto π migrante.

En la **Tabla 7.3** se puede observar la cantidad de anillos de tipo A y tipo B que presentan los PAH estudiados. Un hidrocarburo aromático con menor cantidad de anillos tipo A presentará mayor reactividad. Además, a igual número de anillos tipo A, la reactividad estará dada por la cantidad de anillos tipo B. Un PAH con mayor número de anillos tipo B será más reactivo. De esta manera se podría predecir la reactividad de los PAH de la siguiente manera:



Tabla 7.3. Clasificación de los anillos aromáticos de ANT, FEN, PIR y BaP en cuanto a su aromaticidad según el modelo de Clar.

| PAH | Nº de anillos | Anillos tipo A | Anillos tipo B |
|-----|---------------|----------------|----------------|
| ANT | 3 | 1 | 2 |
| FEN | 3 | 2 | 1 |
| PIR | 4 | 2 | 2 |
| BaP | 5 | 2 | 3 |

La variación de la eficiencia de degradación de los 4 PAH en los tratamientos con PS puede explicarse según la teoría de Clar. Sin embargo, no se observó el mismo comportamiento para los tratamientos con PH.

Productos de degradación

Distintos investigadores han estudiado la formación de intermediarios de reacción de los PAH mediante procesos de remediación químicos y biológicos (Arias y col., 2008),

denominados comúnmente hidrocarburos policíclicos aromáticos oxigenados (oxy-PAH). La degradación química involucra el ataque con especies como el oxígeno singulete, peróxidos, radicales hidroxilos, que son formados durante los procesos fotoquímicos (Yu, 2002) y en presencia de oxidantes químicos. Mientras que en la degradación biológica de los PAH, las reacciones son catalizadas por enzimas presentes en microorganismos (como bacterias, hongos) en procesos intra o extracelulares (Kanaly y Harayama, 2000; Turki, 2009). Varios autores han reportados estos compuestos que incluyen quinonas, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos y compuestos de cadena corta, en tratamientos ISCO con PH, PS, PM (Forsey y col., 2010; Lee y col., 2001; Liao y col., 2014).

Un punto importante a tener en cuenta es la toxicidad que los oxy-PAH pueden presentar debido a que presentan menor polaridad que los PAH de los que derivan, y exhiben una gran movilidad en los ambientes contaminados (Weigand y col., 2002).

En la mayoría de los tratamientos con PH (a excepción de RPH3) y PS, se ha encontrado 9,10-antraquinona (ANQ) en distintas concentraciones como intermediario de reacción (**Figura 7.23**). A partir del modelo de Clar se puede plantear que la oxidación de ANT podría producir dos reacciones, una donde la oxidación tiene lugar en el anillo central o en el anillo inicial o final. Sin embargo, la estructura de Clar que presenta mayor estabilidad es la que da lugar a la formación de la ANQ.

Este intermediario fue reportado en bibliografía como intermediario de reacción en procesos de oxidación química de los PAH en suelo y en agua (Liu y col., 2006). Al igual que los resultados obtenidos, Gan y colaboradores observaron que la aparición de ANQ se correspondía con la disminución de ANT en suelo en tratamientos Fenton (Gan y col., 2013). Liao y colaboradores, informaron la presencia de ANQ en tratamientos con PS (Liao y col., 2014). Forsey y colaboradores (Forsey y col., 2010) informaron la formación de ANQ a partir de la oxidación con PM a partir de ANT.

7.8. Conclusiones

- En el suelo se evidenció una disminución cercana a dos órdenes de magnitud en el número de bacterias heterótrofas cultivables de todas las condiciones estudiadas con oxidantes, con respecto al suelo inicial o el control de biodegradación BioD4.
- Dentro de los activantes utilizados el que mostró mayor eficiencia con PH fue el Fe (III) en una concentración de 5 mM (RPH3), mientras que para PS el mejor fue el Fe (nZVI) (RPS3, RPS5 y RPS7). Cabe destacar que el pH en estos tratamientos fue

el óptimo para mantener el Fe (independientemente de su estado de especiación) en solución para actuar como activante.

- En cuanto a la adición de surfactantes artificiales (SDS), los mejores resultados se obtuvieron cuando éste se agregó con anterioridad al oxidante y activante, y cuando el oxidante elegido fue PH. En los tratamientos con PS, no se observaron diferencias en cuanto a la degradación de los PAH.
- A partir de los resultados obtenidos puede observarse que el tratamiento que mostró mayor eficiencia fue RPH3 (PH/Fe (III) 5mM), donde se observó que todos los PAH se degradaron completamente luego de 3 días de reacción. Además, no se evidenció la presencia de intermediarios de reacción química, lo cual sería un efecto positivo, ya que algunos de ellos pueden presentar una mayor toxicidad que el PAH que le da origen.

7.9. Referencias

- Al-Shamsi, M. a., Thomson, N.R., 2013. Treatment of a Trichloroethylene Source Zone using Persulfate Activated by an Emplaced Nano-Pd–Fe₀ Zone. *Water, Air, Soil Pollut.* 224, 1780. doi:10.1007/s11270-013-1780-1
- Amellal, S., Boivin, A., Perrin Ganier, C., Schiavon, M., 2006. High sorption of phenanthrene in agricultural soils. *Agron. Sustain. Dev.* 26, 99–106. doi:10.1051/agro:2006002
- Arias, L., Bauzá, T., Tobella, J., Joaquim, V., Magdalena, G., 2008. A microcosm system and an analytical protocol to assess PAH degradation and metabolite formation in soils. *Biodegradation* 19, 425–434. doi:10.1007/s10532-007-9148-0
- Baalousha, M., Manciualea, A., Cumberland, S., Kendall, K., Lead, J.R., 2008. Aggregation and surface properties of iron oxide nanoparticles: influence of pH and natural organic matter. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1875–1882. doi:10.1897/07-559.1
- Block, P. A., Brown, R. A., and Robinson, D. 2004. Novel activation technologies for sodium persulfate in situ chemical oxidation. In *Proceedings of the Fourth International Conference of Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds 2004*, Monterey, CA, May 24–27, 2004 (A. R. Gavaskar and A. S.C. Chen, Eds.), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- Bogan, B.W., Trbovic, V., 2003. Effect of sequestration on PAH degradability with Fenton's reagent: Roles of total organic carbon, humin, and soil porosity. *J. Hazard. Mater.* 100, 285–300. doi:10.1016/S0304-3894(03)00134-1
- Buyuksonmez, F., Hess, T.F., Crawford, R.L., Watts, R.J., 1998. Toxic Effects of Modified Fenton Reactions on *Xanthobacter flavus* FB71. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3759–3764.
- Chen, G., Strevett, K. a, Vanegas, B. a, 2001. Naphthalene, phenanthrene and surfactant biodegradation. *Biodegradation* 12, 433–42. doi:10.1023/A:1015068930512
- Conte, P., Agretto, A., Spaccini, R., Piccolo, A., 2005. Soil remediation: Humic acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils. *Environ. Pollut.* 135, 515–522. doi:10.1016/j.envpol.2004.10.006
- Conte, P., Zena, a., Pilidis, G., Piccolo, a., 2001. Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances. *Environ. Pollut.* 112, 27–31. doi:10.1016/S0269-7491(00)00101-9
- Cyrański, M.K., Stępień, B.T., Krygowski, T.M., 2000. Global and Local Aromaticity of Linear and Angular Polyacenes. *Tetrahedron* 56, 9663–9667. doi:10.1016/S0040-4020(00)00919-4
- Fava, F., Piccolo, A., 2002. Effects of humic substances on the bioavailability and aerobic biodegradation of polychlorinated biphenyls in a model soil. *Biotechnol. Bioeng.* 77, 204–211. doi:10.1002/bit.10140

- Forsey, S.P., Thomson, N.R., Barker, J.F., 2010. Oxidation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons by permanganate. *Chemosphere* 79, 628–636. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.02.027
- Fukushima, M., Tatsumi, K., 1999. Light acceleration of iron(III) reduction by humic acid in the aqueous solution. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 155, 249–258. doi:10.1016/S0927-7757(98)00818-8
- Gan, S., Yap, C.L., Ng, H.K., Venny, 2013. Investigation of the impacts of ethyl lactate based Fenton treatment on soil quality for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 262, 691–700. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.09.023
- Jung, Y.S., Lim, W.T., Park, J.-Y., Kim, Y.-H., 2009. Effect of pH on Fenton and Fenton-like oxidation. *Environ. Technol.* 30, 183–190. doi:10.1080/09593330802468848
- Kanally, R. a, Harayama, S., 2000. Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria MINIREVIEW Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria. *J. Bacteriol.* 182, 2059 – 2067. doi:10.1128/JB.182.8.2059-2067.2000.Updated
- Kappler, A., Benz, M., Schink, B., Brune, A., 2004. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 47, 85–92. doi:10.1016/S0168-6496(03)00245-9
- Laurent, F., Cébron, a., Schwartz, C., Leyval, C., 2012. Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. *Chemosphere* 86, 659–664. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.11.018
- Lee, B.D., Hosomi, M., Murakami, A., 1998. Fenton oxidation with ethanol to degrade anthracene into biodegradable 9, 10-anthraquinone: A pretreatment method for anthracene-contaminated soil. *Water Sci. Technol.* 38, 91–97. doi:10.1016/S0273-1223(98)00611-8
- Lee, B.D., Iso, M., Hosomi, M., 2001. Prediction of Fenton oxidation positions in polycyclic aromatic hydrocarbons by Frontier electron density. *Chemosphere* 42, 431–435. doi:10.1016/S0045-6535(00)00061-8
- Li, R., Jin, X., Megharaj, M., Naidu, R., Chen, Z., 2015. Heterogeneous Fenton oxidation of 2,4-dichlorophenol using iron-based nanoparticles and persulfate system. *Chem. Eng. J.* 264, 587–594. doi:10.1016/j.cej.2014.11.128
- Liang, C., Chien, Y.-C., Lin, Y.-L., 2012. Impacts of ISCO Persulfate, Peroxide and Permanganate Oxidants on Soils: Soil Oxidant Demand and Soil Properties. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 21, 701–719. doi:10.1080/15320383.2012.691129
- Liang, C., Lai, M.-C., 2008. Trichloroethylene Degradation by Zero Valent Iron Activated Persulfate Oxidation. *Environ. Eng. Sci.* 25, 1071–1078. doi:10.1089/ees.2007.0174
- Liao, X., Zhao, D., Yan, X., Huling, S.G., 2014. Identification of persulfate oxidation products of polycyclic aromatic hydrocarbon during remediation of contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 276, 26–34. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.05.018

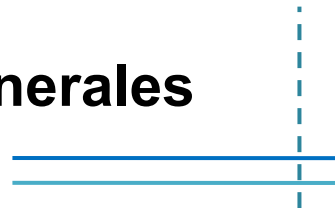
- Liu, J., Huang, J., Su, L., Cao, X., Ji, Y., 2006. Degradation of anthracene, pyrene and benzo[a]anthracene in aqueous solution by chlorine dioxide. *Sci. China, Ser. B Chem.* 49, 565–572. doi:10.1007/s11426-006-2036-3
- López, Z., Vila, J., Ortega-Calvo, J.J., Grifoll, M., 2008. Simultaneous biodegradation of creosote-polycyclic aromatic hydrocarbons by a pyrene-degrading *Mycobacterium*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 78, 165–172. doi:10.1007/s00253-007-1284-2
- Lundstedt, S., Bandowe, B. a M., Wilcke, W., Boll, E., Christensen, J.H., Vila, J., Grifoll, M., Faure, P., Biache, C., Lorgeoux, C., Larsson, M., Frech Irgum, K., Ivarsson, P., Ricci, M., 2014. First intercomparison study on the analysis of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (oxy-PAHs) and nitrogen heterocyclic polycyclic aromatic compounds (N-PACs) in contaminated soil. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 57, 83–92. doi:10.1016/j.trac.2014.01.007
- Martienssen, M., Schirmer, M., 2007. Use of surfactants to improve the biological degradation of petroleum hydrocarbons in a field site study. *Environ. Technol.* 28, 573–582. doi:10.1080/09593332808618816
- Mora, V.C., Madueño, L., Peluffo, M., Rosso, J. a., Del Panno, M.T., Morelli, I.S., 2014. Remediation of phenanthrene-contaminated soil by simultaneous persulfate chemical oxidation and biodegradation processes. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 7548–7556. doi:10.1007/s11356-014-2687-0
- Ortega-Calvo, J.J., Tejada-Agredano, M.C., Jimenez-Sanchez, C., Congiu, E., Sungthong, R., Niqui-Arroyo, J.L., Cantos, M., 2013. Is it possible to increase bioavailability but not environmental risk of PAHs in bioremediation? *J. Hazard. Mater.* 261, 733–745. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.03.042
- Osgerby, I.T., 2006. ISCO Technology Overview: Do You Really Understand the Chemistry? *Contam. Soils, Sediments Water* 287–308. doi:10.1007/0-387-28324-2_19
- Pankrantz, T.M., 2001. Environmental Engineering Dictionary and Directory., *Journal of Chemical Information and Modeling.* doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2015. Remediation of a Biodiesel Blend-Contaminated Soil with Activated Persulfate by Different Sources of Iron. *Water, Air, Soil Pollut.* 226. doi:10.1007/s11270-014-2267-4
- Plaza, C., Xing, B., Fernández, J.M., Senesi, N., Polo, A., 2009. Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by humic acids formed during composting. *Environ. Pollut.* 157, 257–263. doi:10.1016/j.envpol.2008.07.016
- Portella, G., Poater, J., Solà, M., 2005. Assessment of Clar's aromatic π -sextet rule by means of PDI, NICS and HOMA indicators of local aromaticity. *J. Phys. Org. Chem.* 18, 785–791. doi:10.1002/poc.938
- Qiao, M., Qi, W., Liu, H., Bai, Y., Qu, J., 2016. Formation of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons from polycyclic aromatic hydrocarbons during aerobic activated sludge treatment and their removal process. *Chem. Eng. J.* 302, 50–57. doi:10.1016/j.cej.2016.04.139

- Romero, A., Santos, A., Vicente, F., Rodriguez, S., Lafuente, a. L., 2009. In situ oxidation remediation technologies: Kinetic of hydrogen peroxide decomposition on soil organic matter. *J. Hazard. Mater.* 170, 627–632. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.05.041
- Sandbacka, M., Christianson, I., Isomaa, B., 2000. The acute toxicity of surfactants on fish cells, *Daphnia magna* and fish—A comparative study. *Toxicol. Vitr.* 14, 61–68. doi:10.1016/S0887-2333(99)00083-1
- Saxe, J.K., Allen, H.E., Nicol, G.R., Al, S.E.T., 2000. Fenton Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons 17.
- Schulman, J.M., Disch, R.L., 1999. Aromatic Character of [n]Helicenes and [n]Phenacenes. *J. Phys. Chem. A* 103, 6669–6672. doi:10.1021/jp9910587
- Slater, T.F., 1984. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* 222, 1–15.
- Sutton, N.B., Grotenhuis, J.T.C., Langenhoff, A. a. M., Rijnaarts, H.H.M., 2011. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. *J. Soils Sediments* 11, 129–140. doi:10.1007/s11368-010-0272-9
- Tsitonaki, A., Smets, B.F., Bjerg, P.L., 2008. Effects of heat-activated persulfate oxidation on soil microorganisms. *Water Res.* 42, 1013–1022. doi:10.1016/j.watres.2007.09.018
- Turki, A., 2009. Microbial polycyclic aromatic hydrocarbons degradation in soil.
- Weigand, H., Totsche, K.U., Kögel-Knabner, I., Annweiler, E., Richnow, H.H., Michaelis, W., 2002. Fate of anthracene in contaminated soil: Transport and biochemical transformation under unsaturated flow conditions. *Eur. J. Soil Sci.* 53, 71–81. doi:10.1046/j.1365-2389.2002.00427.x
- Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Lu, S.T., Tao, S., 2011. Effects of soil organic matter on the development of the microbial polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation potentials. *Environ. Pollut.* 159, 591–5. doi:10.1016/j.envpol.2010.10.003
- Yu, H., 2002. Environmental Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Photochemistry and Phototoxicity. *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 20, 10.1081/GNC–120016203. doi:10.1081/GNC-120016203
- Zhang, H., Ji, L., Wu, F., Tan, J., 2005. In situ ozonation of anthracene in unsaturated porous media. *J. Hazard. Mater.* 120, 143–148. doi:10.1016/j.jhazmat.2004.12.019
- Zhou, W., Zhu, L., 2007. Efficiency of surfactant-enhanced desorption for contaminated soils depending on the component characteristics of soil-surfactant-PAHs system. *Environ. Pollut.* 147, 66–73. doi:10.1016/j.envpol.2006.08.018



Capítulo 8

Conclusiones generales



En el presente trabajo de tesis se estudiaron diferentes estrategias para mejorar la eficiencia de tratamientos con oxidantes químicos en dos suelos contaminados con PAH, entre las que se pueden mencionar:

- Tratamientos con distinta cantidad de agua (24,9 %H, 36,5 %H y condiciones saturadas en sistemas batch)
- Tres oxidantes químicos (PS, PH y PM)
- Diferentes estrategias de activación de los oxidantes utilizados (PS y PH)
- Presencia de complejantes (biodegradables y no-biodegradables)
- Efecto de surfactantes (sintéticos y naturales)

En base al análisis de los resultados obtenidos, las observaciones se pueden agrupar dependiendo de las características del suelo y de los contaminantes.

Con respecto al tipo de suelo

En los dos suelos utilizados se evidenció la descomposición del anión persulfato y el peróxido de hidrógeno, posiblemente como consecuencia de la presencia de hierro en forma de minerales. Si bien la cantidad de hierro presente en ambos suelos fue similar, la eficiencia en la degradación de los PAH presentó resultados diferentes entre ellos.

El Suelo I presenta un alto contenido de materia orgánica (8,05 %) y un elevado número de bacterias heterótrofas cultivables por lo que se plantearon dos tipos de ensayos. Por un lado se trabajó con porcentajes de humedad similares al normal del suelo, poniendo especial interés en favorecer el proceso de biodegradación. Además, se ensayaron estrategias más agresivas utilizando oxidantes en sistemas batch, para superar las limitaciones de la biorremediación (tiempo de tratamiento y ataque a contaminantes más recalcitrantes).

- A partir de los resultados de los controles biológicos (sin el uso de oxidantes químicos) se observó que el proceso de atenuación natural mejoró al aumentar el porcentaje de humedad del suelo. Es decir, un leve aumento en el contenido de agua de los sistemas favoreció la biodegradación.
- Al analizar los tratamientos donde se aplicaron oxidantes químicos se observó que los radicales formados pueden reaccionar con los componentes del suelo, disminuyendo la eficiencia de la reacción con los contaminantes *target*.

- La aplicación de PS en concentraciones moderadas ($<8,61 \text{ g}_{\text{PS}}/\text{kg}_{\text{TS}}$) se pudo asociar a un efecto estimulante de los microorganismos autóctonos, cuando se realizó manteniendo la humedad natural del suelo. Al utilizar concentraciones más altas, o agregados sucesivos de PS (donde la cantidad de oxidante se va acumulando), las características del suelo se alteran de manera significativa afectando la biota, y por lo tanto la biodegradación.
- Al utilizar PS, la adición de Fe complejoado con citrato presentó menor eficiencia que el tratamiento con el oxidante únicamente. En estos sistemas, el complejante biodegradable compite con el contaminante para ser utilizado por los microorganismos autóctonos del suelo como fuente de carbono. Sin embargo, cuando se utilizó EDTA (no biodegradable) como complejante (en sistemas batch) la eficiencia de degradación no mostró diferencias significativas con el tratamiento análogo con PS únicamente.
- El uso de PM en sistemas batch, no logró remoción de los PAH, lo que se asignó a la reacción del oxidante con la materia orgánica natural del suelo, afectando la reacción de oxidación de los contaminantes.
- Se observó una fuerte dependencia de la efectividad de los tratamientos con PH y PS con el valor del pH del medio debido a que este parámetro domina la disponibilidad del Fe, independientemente si se lo incorporó de manera exógena o si solamente se considera el hierro de los minerales del suelo.
- Para PS, se obtuvieron los mayores porcentajes de degradación de los contaminantes, principalmente cuando la activación se realizó mediante el aumento de temperatura. Se obtuvo una degradación $>$ al 90% para FEN y PIR luego de 7 días de tratamiento (6 horas a 65°C y luego a 25°C). El incremento de temperatura favorece la formación de radicales y produce una mayor velocidad de todas las reacciones. Adicionalmente, en estos sistemas se determinó una mayor concentración de hierro en la fase acuosa, lo que favoreció en gran medida la activación del anión persulfato.

El Suelo II se caracteriza por un bajo número de bacterias heterótrofas cultivables que se corresponde con su bajo contenido de materia orgánica (0,365%). Por esta razón se utilizó solamente condiciones saturadas en sistemas batch, donde se priorizó la oxidación química como forma de remediación.

- Los mayores porcentajes de remoción se obtuvieron en los sistemas donde el pH del medio fue cercano al óptimo para que el activante (Fe (II), Fe (III), Fe (nZVI))

estuviese disponible. Cuando se utilizó como oxidante PH, el mejor resultado fue para RPH3 (con Fe (III) 5 mM) que degradó el 100% de los contaminantes luego de 3 días. Cuando se utilizó PS, el mejor tratamiento fue RPS3 (con Fe(nZVI) 1mM) con el que se obtuvo una remoción de más del 80 % para FEN y más del 93% para ANT, PIR y BaP luego de 45 días.

- El uso de surfactante resultó interesante, principalmente cuando éste se agregó con anterioridad al oxidante. Al utilizar SDS se mejoró la degradación de PAH para los sistemas con PH y Fe (III), donde se eliminó más del 80% para FEN y PIR y el 100% para ANT y BaP a los 45 días. En el caso de los sistemas con PS y SDS solo se obtuvieron mejoras cuando el activante utilizado fue Fe (nZVI), con una degradación mayor al 93% para cada uno de los contaminantes, al final del tratamiento.

Se puede concluir que de las características del suelo, la más relevante para seleccionar el proceso de remediación a aplicar es el contenido de materia orgánica. Este parámetro suele estar asociado al desarrollo de los microorganismos autóctonos del suelo, que es la base de los procesos de biorremediación.

Con respecto a los contaminantes

Este estudio pudo evidenciar que para el tratamiento de suelos contaminados con PAH de bajo peso molecular, los procesos basados en la biorremediación son una buena estrategia. Sin embargo, para contaminantes que son más recalcitrantes (como el PIR o BaP), la biodegradación resulta difícil y por lo tanto hay que aplicar un tratamiento más agresivo, como la oxidación química.

La eficiencia de los tratamientos con PS (en sistemas batch) se pudo relacionar con el modelo de Clar para la aromaticidad de los PAH, con el siguiente orden de efectividad:

ANT>BaP>PIR>FEN



Anexos



ANEXO I: Reactivos utilizados

Listado de los reactivos utilizados, en orden alfabético, indicando calidad y marca.

Acetato de etilo, calidad Pro-análisis Cicarelli
Acetona, calidad HPLC, Fisher Scientific UK
Acetona, calidad HPLC, Sintorgan
Ácidos Húmicos: Acros, 45-70 % technical
Ácido sulfúrico (H₂SO₄), ≥95% Analytical reagent grade, Fisher Scientific UK.
Antraceno (C₁₄H₁₀), 99 % Aldrich
Antraceno (C₁₄H₁₀), 99% pureza, Carlo Erba
Benzo(a)pireno (C₂₀H₁₀), ≥96% pureza (HPLC), Sigma
Bicarbonato de sodio (NaHCO₃), Panreac Química SA
Dibenzotiofeno (C₁₂H₈S), > 99.5% pureza, Carlo Erba,
Diclorometano calidad HPLC, Cicarelli
Dodecilsulfatosódico reagent ≥99.0% pureza, Sigma-Aldrich
Etilendiaminotetraacetato disódico (Na₂EDTA), Anedra
Fenantreno (C₁₄H₁₀), ≥ 99.5% pureza, Aldrich
Fenantreno (C₁₄H₁₀), ≥ 99.5% pureza, Carlo Erba
Fluoreno (C₁₃H₁₀), > 99.5% pureza Carlo Erba
n-Hexano, 99%, calidad HPLC, Anedra
n-Hexano, 99%, calidad HPLC, Scharlau
Hidróxido de sodio en perlitas (NaOH), Pro-análisis (A.C.S) Cicarelli
Hierro granular Fe (0), 10-40 mesh, ≥ 99.99% trace metal basis, Sigma-Aldrich
Ioduro de potasio (KI), Fisher Scientific UK
Metanol, calidad HPLC J.T.Baker
Nanopartículas de Fe zerovalente, NANOFER STAR
Permanganato de potasio (KMnO₄), Anedra
Permanganato de potasio (KMnO₄) para análisis ACS, PA Panreac
Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂), 30% p/v (100 vol) (H₂O₂), Biopack
Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂), ≥35 % (RT) Sigma-Aldrich
Persulfato de sodio (PSNa) ≥ 98% pureza , Merk Grade
Pireno (C₁₆H₁₀), 98% pureza , Aldrich
Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), Carlo Erba
Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), Fisher Scientific UK.
Sulfato férrico (Fe₂(SO₄)₃), 75 % pureza, Panreac
Sulfato ferroso heptahidratado (FeSO₄·7H₂O), Fisher Scientific UK

ANEXO II: Medios de cultivo

Medio Mineral Líquido (Vecchioli y col., 1990)

Composición en g.l⁻¹ de agua bidestilada

5 g NaCl

1 g K₂HPO₄

1 g (NH₄)H₂PO₄

1 g (NH₄)₂SO₄

0,2 g MgSO₄

3 g KNO₃

El pH se ajusta a 7,2 con una solución de NaOH o HCl 10% y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Mezcla de PAH en pentano

La mezcla contiene 0,005 g de fenantreno, 0,005 g de fluoreno, 0,005 g de antraceno y 0,005 g de dibenzotiofeno cada 13 ml de solvente (pentano).

Solución Fisiológica 0,85% (P/V)

Composición en 100 ml de agua bidestilada

0,85 g NaCl

Medio de Cultivo R2A (Reasoner y Geldreich, 1985)

Composición en g.l⁻¹ de agua bidestilada

0,5 g Extracto de Levadura

0,5 g Proteasa peptona

0,5 g Casamino

0,5 g Glucosa

0,5 Almidón soluble

0,3 Ácido pirúvico

0,3 g K₂HPO₄

0,005 g MgSO₄

15 g Agar Agar polvo

El pH se ajusta a 7,2 con una solución de NaOH o HCl 10 % y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Buffer TAE 40X (para DGGE)

Composición en 0.5 l

96,8g TRIS

22,85 ml Acético Glacial

7,445g EDTA

500 ml Agua destilada

Solución de acrilamida –bisacrilamida 40% (para DGGE)

Composición en 1 l

389,30g Acrilamida

10,70g Bisacrilamida

Solución desnaturizante 0% (para DGGE)

Composición en 1 l

25 ml de TAE pH 7,4 1X

150 ml de solución acril-bisacrilamida 40%

825 ml de agua destilada

Solución desnaturizante 80%

Composición en 1 l

25 ml TAE pH 7,4 1X

150 ml Solución de acril-bisacrilamida 40 %

338 g Urea

320 ml Formamida

505 ml Agua destilada