

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 649**

51 Int. Cl.:

C02F 1/28 (2006.01)
B09C 1/00 (2006.01)
C02F 1/70 (2006.01)
E21B 43/38 (2006.01)
C02F 101/10 (2006.01)
C02F 101/36 (2006.01)
C02F 103/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2015** **PCT/IB2015/052783**
87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2015** **WO15162527**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2015** **E 15724053 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019** **EP 3134349**

54 Título: **Procedimiento de limpieza de aguas contaminadas por disolventes clorados, nitratos y sulfatos**

30 Prioridad:

23.04.2014 IT RM20140209

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.04.2020

73 Titular/es:

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "LA SAPIENZA" (33.3%)
Piazzale Aldo Moro, 5
00185 Roma, IT;
IEG TECHNOLOGIE GMBH (33.3%) y
SERSYS AMBIENTE S.R.L. (33.3%)

72 Inventor/es:

PETRANGELI PAPINI, MARCO;
MAJONE, MAURO;
BARIC, MASSIMILIANO y
PIERRO, LUCIA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 751 649 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de limpieza de aguas contaminadas por disolventes clorados, nitratos y sulfatos

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al campo de la limpieza del agua y, en particular, a un procedimiento para limpiar aguas contaminadas por disolventes clorados, nitratos y sulfatos. Más particularmente, el procedimiento utiliza polihidroxialcanoatos como fuente de carbono fermentable, incluso junto con hierro de valencia cero para degradar disolventes clorados, nitratos y sulfatos.

Técnica anterior

Contaminación de aguas subterráneas por disolventes clorados

- 10 Los disolventes clorados (CS) son uno de los contaminantes más frecuentes que se detectan en la caracterización de sitios contaminados. Los CS son moléculas de hidrocarburo sustituidos con cloro, cada uno de ellos contiene al menos un átomo de cloro. Pueden ser saturados (haluros de alquilo), no saturados (haluros de alqueno) o aromáticos (haluros de arilo). Entre los haluros de alquilo, los más comunes son los derivados de etano y metano, como 1,1,1- y 1,1,2-tricloroetano (TCA), 1,1- y 1,2-dicloroetano (DCA), diclorometano y triclorometano (cloroformo).
- 15 Entre los haluros de alqueno, los más comunes son los derivados de etileno, como tetracloroetileno (PCE), tricloroetileno (TCE) (también conocido como trielina), 1,2-dicloroetileno (DCE) y cloroetileno, mejor conocido como cloruro de vinilo (VC). Entre los haluros de arilo, los más comunes son los derivados de benceno, como clorobenceno y hexaclorobenceno.

- 20 Los CS, emitidos por una fuente primaria, tienden a moverse por gravedad en el área no saturada hacia el acuífero subyacente, con un componente predominante de movimiento vertical. Una vez que alcanzan la superficie del acuífero, ya que están compuestos de compuestos más densos que el agua y se caracterizan por una pobre solubilidad, forman una fase líquida separada, generalmente conocida con el acrónimo DNAPL (líquido de fase no acuosa densa), y tienden, por gravedad, a migrar hacia las capas profundas, estratificando en las áreas con menor permeabilidad de una manera generalmente impredecible. Por lo tanto, durante los eventos de contaminación, los
- 25 CS ocurrirían como fase residual, atrapados por mecanismos fisicoquímicos y/o físicos dentro de la matriz porosa del suelo y no movibles por gravedad, y como porciones continuas acumuladas en las capas impermeables (reserva). Por lo tanto, el flujo continuo del agua subterránea causará, después de los procedimientos de solubilización, la formación de la denominado columna de contaminación, lo que llevaría a cada CS a alejarse de la fuente activa de contaminación. Cuando se disuelven en fase acuosa, los valores bajos de K_{OC} (coeficiente de partición carbono orgánico-agua del suelo) permiten que los CS sean moderadamente móviles dentro de los
- 30 acuíferos. Como consecuencia, los CS a menudo se comportan como fuentes duraderas y de liberación lenta.

Además, los CS pueden sufrir diferentes reacciones químicas o biológicas y los productos de dichas reacciones pueden resultar aún más tóxicos que el compuesto de inicio.

Las principales reacciones están sumariadas en la siguiente tabla 1:

35

Tabla 1

Reacción	Ejemplo
1. SUSTITUCIÓN a) Solvólisis, hidrólisis b) Sustitución nucleofílica	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Br} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{HBr}$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Br} + \text{HS}^- \leftrightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH} + \text{Br}^-$
2. DESHIDROHALOGENACIÓN	$\text{CCl}_3\text{CH}_3 \leftrightarrow \text{CCl}_2\text{CH}_2 + \text{HCl}$
3. OXIDACIÓN a) α -Hidroxilación b) Oxidación de alosil c) Epoxidación	$\text{CH}_3\text{CHCl}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CH}_3\text{CCl}_2\text{OH} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ $\text{CH}_3\text{CHCl}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CH}_3\text{CHClCl} + \text{O}^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ $\text{CHClCCl}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CHClOCCl}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$
4. REDUCCIÓN a) Hidrogenólisis b) Dihalo-Eliminación c) Acoplamiento	$\text{CCl}_4 + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{CHCl}_3 + \text{Cl}^-$ $\text{CCl}_3\text{CCl}_3 + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{CCl}_2\text{CCl}_2 + 2\text{Cl}^-$ $2\text{CCl}_4 + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{CCl}_3\text{CCl}_3 + 2\text{Cl}^-$

En los sitios contaminados con CS, los fenómenos de transformación biológica, esencialmente procesos de descloración reductiva como la hidrogenólisis y la eliminación de dicloro, generalmente resultan más relevantes que las químicas. Todos estos procedimientos que ocurren naturalmente en suelos y acuíferos y actúan sin la interferencia humana reduciendo la masa, toxicidad, movilidad, volumen o concentración de contaminantes, se refiere a "Atenuación Natural".

Por el contrario, en el caso de los CS, los mecanismos químico-físicos de atenuación (dispersión, dilución, adsorción y volatilización) solo causan una disminución de la tasa de migración, pero no cambian la masa total de los contaminantes introducidos, mientras que los mecanismos biológicos de atenuación pueden variar significativamente tanto en la cantidad como la calidad de los contaminantes. En este último caso, existe un peligro particular por la posibilidad de formar productos de degradación, más tóxicos y móviles que los de inicio, aumentado así el riesgo asociado con la introducción de disolventes clorados en el medio ambiente.

El movimiento de CS a través del suelo y el subsuelo depende, por consiguiente, de las características hidrogeológicas y microbiológicas del sitio involucrado y de las características químico-físicas del compuesto único. Por lo tanto, el proceso complejo de transporte de CS a través del subsuelo está influenciado por varios factores y mecanismos ampliamente descritos en la literatura (McCarty P.L. and Semprini L. 1994. Ground-water treatment for chlorinated solvents. Handbook of Bioremediation, R. S. Kerr, Ada, pp. 87-116).

Tecnologías para limpieza de CS

Entre las tecnologías para la limpieza de los CS, las que requieren grandes recursos energéticos para el tratamiento se definen como "demandantes de energía". Entre estas tecnologías, se mencionan bombear y tratar, introducción de aire, aireación del suelo, enjuague del suelo in-situ y desorción térmica in-situ.

En particular, bombear y tratar consiste en detectar y bombear la columna de contaminación general, tratarla en una planta adecuada ex-situ y, generalmente descargarla, como cuerpo de superficie con un alto desperdicio de recursos y energía. En consecuencia, esta es una tecnología que opera solo en el área saturada y en los contaminantes de fase disuelta. Por otro lado, la introducción de aire (AS) y aireación del suelo (SVE) explotan la volatilidad de los CS al movilizarlos en una corriente gaseosa, que luego usualmente se trata en el sitio. Son tecnologías aplicadas para la eliminación de fases residuales tanto en las áreas no saturadas (SVE) como saturadas (AS).

El enjuague del suelo se utiliza para eliminar los contaminantes que se encuentran tanto en el área no saturada y saturada como fase residual mediante el flujo de agua, eventualmente el agregado de compuestos adecuados, a través de las porciones de suelo o acuífero contaminado para la movilización de los contaminantes que luego son interceptados por sistemas de bombeo y tratamiento apropiados.

La desorción térmica *in situ* se utiliza para promover la volatilización de contaminantes volátiles y semivolátiles y permitir su captura a través de sistemas de aspiración similares a los utilizados en la aireación del suelo.

Además de estas tecnologías, también se utilizan enfoques en base a la posibilidad de oxidar o reducir químicamente los CS mediante la adición de productos químicos adecuados capaces de promover tales procesos. La oxidación química *in situ*, que consiste en la inyección de compuestos oxidantes fuertes dentro del acuífero, eventualmente con la adición de catalizadores de oxidación, es aplicable a los compuestos orgánicos no saturados que son propensos a la degradación oxidativa; en particular, el permanganato tiene una alta eficiencia de eliminación en presencia de: alquenos clorados (VC, DCE, TCE, PCE), IPA (naftalenos, fenantreno, pireno), fenoles, BTEX, mientras que en presencia de DNAPL, los tiempos de reacción resultan extremadamente largos. Además de la oxidación, existen procesos de reducción química *in situ* que, a través del monitoreo de las condiciones reducción-oxidación de la matriz contaminada mediante la adición de compuestos químicos, inducen la degradación del CS a través de la descloración reductiva abiótica.

Son particularmente interesantes las tecnologías que explotan procesos espontáneos, a las que se hace referencia como atenuación natural, que ocurren en suelos y acuíferos y reducen de manera natural y espontánea la masa, movilidad, toxicidad, volumen o concentración de los contaminantes. Dichos procesos, básicamente de naturaleza biológica, son más rápidos que las reacciones abióticas y contribuyen principalmente a la reducción en masa de algunos tipos de contaminantes. Dichos procesos se derivan de la combinación de fenómenos químico-físicos, en los que la presencia de agentes naturales provoca la descomposición, transformación, inmovilización o transferencia de fase del contaminante (adsorción, volatilización, intercambio iónico en presencia de arcillas, reacciones de reducción-oxidación con metales, precipitación, etc.); fenómenos mecánicos, relacionados con el transporte y la dispersión del contaminante, que provocan una reducción de su concentración por dilución; fenómenos biológicos, conectados a la actividad de microorganismos de origen natural en el medio ambiente, que pueden eliminar, los compuestos contaminantes al degradarlos.

En las técnicas en base a la atenuación natural, se explota la capacidad de microorganismos específicos para utilizar estos contaminantes generalmente como sustrato primario, específicamente como fuente de energía y nutrientes. La degradación de un contaminante también puede ocurrir por casualidad a través de cometabolismo, es decir, por medio de enzimas específicas para un sustrato primario, que transforman accidentalmente un sustrato cometabólico sin ningún beneficio energético.

Se sabe que los hidrocarburos alifáticos halogenados pueden someterse a biodegradación bajo diversas condiciones ambientales (Elfantroussi, S., H. Naveau, and S. N. Agathos. 1998. Anaerobic dechlorinating bacteria. *Biotechnology Progress* 14(2):167-188; McCarty, P. L. 1993. In situ bioremediation of chlorinated solvents. *Current Opinion in Biotechnology* 4(3):323-330; McCarty, P. L. 1999. Chlorinated organics. Chapter 4 in Anderson, W. C., R. C. Loehr, and B. P. Smith (eds.) *Environmental Availability in Soils, Chlorinated Organics, Explosives, Metals*. Annapolis, Md.: American Academy of Environmental Engineers; McCarty P. L. and Semprini L. 1994. Ground-water treatment for chlorinated solvents. *Handbook of Bioremediation*, R. S. Kerr, Ada, pp. 87-116; Semprini, L. 1997a. In situ transformation of halogenated aliphatic compounds under anaerobic conditions. Pp. 429-450 in Ward, C. H., J. A. Cherry, and M. R. Scalf (eds.) *Subsurface Restoration*. Chelsea, Mich.: Ann Arbor Press; Semprini, L. 1997b. Strategies for aerobic co-metabolism of chlorinated solvents. *Current Opinion in Biotechnology* 8(3):296-308 ; C.A. Schanke, L.P. Wackett, Environmental reductive elimination reactions of polychlorinated ethanes mimicked by transition-metal coenzymes, *Environ Sci Technol*, 26 (1992) 830-833).

El mecanismo principal de biodegradación bajo condiciones anaeróbicas se conoce como "descloración reductiva" e implica una serie de reducciones escalonadas; en cada etapa el contaminante pierde un átomo de cloro, que se libera en la forma de Cl⁻ y se reemplaza por hidrógeno. Para apoyar dicho proceso, se requiere la presencia de material orgánico biodegradable, que indirectamente actúa como donante de electrones mediante la producción de hidrógeno molecular o acetato, que son los donantes reales. Sin embargo, en los acuíferos generalmente no se encuentra una gran cantidad de sustancia orgánica, y además la reacción de descloración reductiva del contaminante compite con otros aceptores de electrones derivados de hidrógeno o acetato (Smatlak C.R., Gosset J.M. and Zinder S.H. (1996). Comparative kinetics of hydrogen utilization for reductive dechlorination of tetrachloroethene and methanogenesis in an anaerobic enrichment culture. *Environ. Sci. Technol.* 30, pp. 2850-2858; Yang, Y., and P. L. McCarty. 1998. Competition for hydrogen within a chlorinated solvent dehalogenating mixed culture. *Environmental Science and Technology* 32(22):3591- 3597).

Una concentración insuficiente de donantes de electrones es la razón principal de una descloración a menudo incompleta de hidrocarburos alifáticos halogenados.

Al reducir el grado de cloración, los etenos clorados se vuelven más fácilmente biodegradables bajo condiciones aeróbicas. TCE, DCE, VC se oxidan cometabólicamente a dióxido de carbono, ácido clorhídrico y agua por bacterias que crecen en metano, tolueno, amoníaco, etileno, propano. VC es el único que también se degrada a través de un procedimiento metabólico.

Sin embargo, el cometabolismo aeróbico de los compuestos alifáticos clorados está sujeto a muchas limitaciones. En primer lugar, la reacción necesita oxígeno molecular, que podría estar ausente en aguas subterráneas altamente contaminadas. Un sustrato primario como donador de electrones también es esencial; además, dicho sustrato debería existir a una concentración relativamente alta para soportar, además de la reacción de descloración, la actividad de los microorganismos (Anderson, J. E., and P. L. McCarty. 1997. Transformation yields of chlorinated ethenes by a methanotrophic mixed culture expressing particulate methane monooxygenase. *Applied and Environmental Microbiology* 63(2):687-693.; Semprini, L. 1997a. In situ transformation of halogenated aliphatic compounds under anaerobic conditions. Pp. 429-450 in Ward, C. H., J. A. Cherry, and M. R. Scalf (eds.) *Subsurface Restoration*. Chelsea, Mich.: Ann Arbor Press; Semprini, L. 1997b. Strategies for aerobic co-metabolism of chlorinated solvents. *Current Opinion in Biotechnology* 8(3):296-308). Debido a estos requisitos, la atenuación natural de los compuestos alifáticos clorados a través del cometabolismo aeróbico es limitada.

Si los procesos químicos, físicos y biológicos, que ocurren naturalmente en el suelo, causan una atenuación general del estado de contaminación, en los momentos y modos permitidos con el uso del sitio, es posible dejar que la descontaminación evolucione, monitoreando su curso. La Atenuación Natural Monitorizada, MNA consiste en un programa de monitoreo a largo plazo, para determinar la naturaleza y el alcance espacial de los contaminantes, lo que permite delinear una tendencia de evolución temporal interpretada en base a patrones de transformación y transporte.

Tecnologías de limpieza pasiva

En los últimos años, las tecnologías de remediación que no requieren un suministro de energía externo significativo para operar estaban bien establecidas. Los procesos de biorremediación *in situ*, como la Atenuación Natural Mejorada y las Barreras Reactivas Permeables, pertenecen a este tipo de tecnologías.

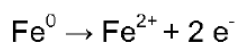
Barreras Reactivas Permeables

Las Barreras Reactivas Permeables PRB consisten en una instalación de material reactivo adecuado ubicado dentro del sistema acuífero ortogonalmente a la dirección del flujo, a través del cual el agua contaminada atraviesa la barrera debido al gradiente hidráulico natural y, cuando se pone en contacto con el medio reactivo, se establecen procesos químico-físicos y/o biológicos, que permiten degradar, inmovilizar o adsorber el contaminante.

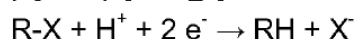
Los PRB representan una remediación *in situ* y una tecnología pasiva, ya que no requieren un suministro de energía externo, mientras que explotan el gradiente hidráulico natural del acuífero, para permitir el flujo a través de los medios reactivos. Se caracterizan por costes de gestión limitados y permiten tratar pasivamente la columna de

contaminación durante varios años, porque los medios reactivos se degradan lentamente y la barrera puede restaurarse o reemplazarse periódicamente. Una ventaja adicional consiste en el uso completo de la superficie natural corriente arriba del área contaminada, que puede mantenerse productiva durante todo el período de tratamiento.

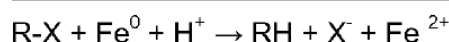
- 5 En caso de contaminación por disolventes clorados, el medio reactivo más utilizado es el hierro granular de valencia cero. El hierro de valencia cero crea un entorno extremadamente reductor y permite realizar de forma abiótica la deshalogenación reductora de hidrocarburos alifáticos clorados mediante la producción de etileno y/o etano, como productos finales no tóxicos. El procedimiento de degradación implica la corrosión de hierro de valencia cero por los hidrocarburos halogenados como la suma de las reacciones anódicas (oxidación) y catódicas (reducción), que tienen
- 10 lugar sobre la superficie del metal.



(Reacción anódica)



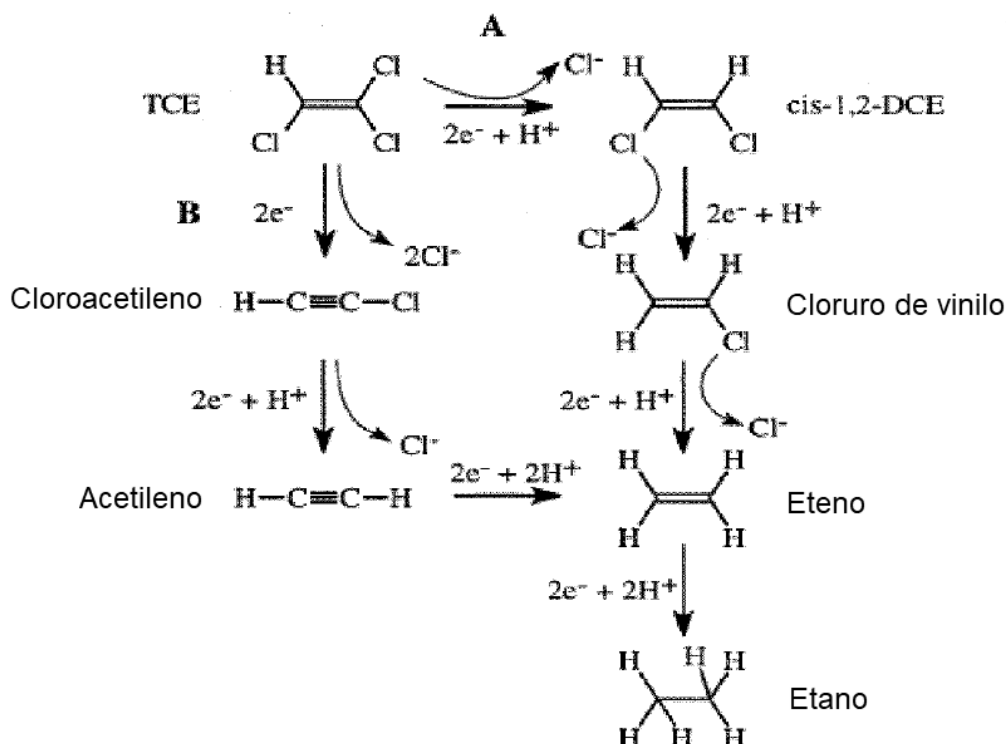
(Reacción catódica)



(Reacción neta)

El par de reducción oxidación, que consiste en hierro metálico e ión Fe^{2+} en solución, tiene un potencial $E^0 = -0,440$ V y, en presencia de un donante de protones, como el agua, puede reducir la mayoría de los haluros de alquilo, de los cuales los potenciales estándar estimados, se relacionan con la media reacción de reducción, oscilan entre +0,5 y +1,5 V a pH = 7.

15



Atenuación Natural Mejorada (ENA)

- 20 La ENA se basa en la oportunidad de estimular la actividad degradante de las poblaciones microbianas que se encuentran en el sitio, asegurando el establecimiento de un ambiente favorable para su crecimiento (Bioestimulación de microorganismos autóctonos, de origen natural en el sitio) o inoculando cepas microbianas particulares (alóctonas) seleccionadas de acuerdo con sus capacidades metabólicas específicas (biocrecimiento).

En particular, los compuestos halogenados orgánicos pueden degradarse mediante Bioestimulación, por medio de procesos metabólicos y cometabólicos, ya sea en un entorno aeróbico o anaeróbico, agregando sustratos de carbono fácilmente fermentables, que a menudo resultan ser el factor limitante en los procesos de atenuación natural.

5 Sin embargo, la biorremediación anaeróbica representa una tecnología de eliminación "parcial" ya que es poco probable que permita la limpieza completa debido a factores limitantes como cinética lenta, en particular durante las etapas finales del proceso, problemas de bioincrustación debido al crecimiento de microorganismos cerca de las áreas donde se agregan al acuífero donantes de electrones o la presencia de condiciones ambientales adversas (pH, Eh, OD, temperatura) o la abundancia de diferentes aceptores de electrones, que pueden competir con
10 disolventes clorados (como SO₄²⁻).

En el caso de los disolventes clorados, varios estudios (Scholz-Muramatsu H., Neumann A., Meßmer M., Moore E. and Diekert, G. 1995. Isolation and characterization of Dehalospirillum multivorans gen. nov., sp. nov., a tetrachloroethene-utilizing, strictly anaerobic bacterium. Arch. Microbiol. 163, 48-56. Gerritse J., Renard V., Pedro Gomes T. M., Lawson P.A., Collins M. D. and Gottschal J. C. 1996. Desulfotobacterium sp. strain PCE1, an anaerobic
15 bacterium that can grow by reductive dechlorination of tetrachloroethene or ortho-chlorinated phenols. Arch. Microbiol., Vol. 165, pp. 132-140. Wild A., Hermann R. and Leisinger R. 1996. Isolation of an anaerobic bacterium which reductively dechlorinates tetrachloroethene and trichloroethene. Biodegradation 7, 507-511. Maymo-Gatell X, Chien Y.T., Gosset J.M. and Zinder S.H. (1997). Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. Science 276, pp. 1568-1571. Holliger C., Hahn D., Harmsen H., Ludwig W., Schumacher W., Tindall B., Vazquez F., Weiss N. and Zehnder A.J.B. 1998. Dehalobacter restrictus gen. nov. and
20 sp. nov., a strictly anaerobic bacterium that reductively dechlorinates tetra- and trichloroethene in an anaerobic respiration. Arch. Microbiol. 169, 313-321.; Chang Y.C., Hatsu M., Jung, K. Yoo, Y.S. and Takamizawa, K. 2000. Isolation and characterization of a tetrachloroethylene dechlorinating bacterium, Clostridium bifermentans. DPH-1. J. Biosci. Bioeng. 89, 489-491) demostraron la posibilidad de utilizar cepas microbianas específicas (pertenecientes a las familias Desulfotobacterium, Dehalobacter, Clostridium, Dehalospirillum o Dehalococcoides) capaces de llevar a cabo una deshalogenación de dichos compuestos hasta su transformación no tóxica de etileno y etano. Dichos microorganismos actúan bajo condiciones específicas, prefiriendo realmente un ambiente reductor. Además, requieren sustratos donadores de electrones para realizar la descloración reductiva de compuestos orgánicos halogenados.

30 Fuentes de carbono de liberación lenta

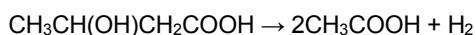
Las diferentes tecnologías desarrolladas para apoyar a largo plazo la actividad biológica, generalmente difieren en función del tipo de sustrato orgánico que se utiliza como donante de electrones y las formas en que se introduce en el acuífero.

El hidrógeno molecular, directamente disponible o derivado de la fermentación de otros sustratos primarios es el principal donante de electrones utilizado por los microorganismos desclorantes (DiStefano T.D., Gossett JM and Zinder S.H. (1992). Hydrogen as an electron donor for dechlorination of tetrachloroethene by an anaerobic mixed culture. Appl. Environ. Microbiol. 58, pp. 3622-3629; Smatlak, C. R., J. M. Gossett, and S. H. Zinder. 1996. Comparative kinetics of hydrogen utilization for reductive dechlorination of tetrachloroethene and methanogenesis in an anaerobic enrichment culture. Environmental Science and Technology 30:2850-2858; Komatsu T., Momonoi K.,
40 Matsuo T. and Hanaki K. (1994). Biotransformation of cis-1,2-dichloroethylene to ethylene and ethane under anaerobic conditions. Water Sci. Technol., Vol.30, pp. 75-84).

La descloración reductiva *in situ* también puede apoyarse mediante la introducción de otros donantes de electrones solubles, como por ejemplo ácidos orgánicos fácilmente biodegradables (lactato, butirato o propionato). La disolución en el agua de tales compuestos provoca el transporte de estos por el flujo natural del acuífero; por consiguiente, deben introducirse continuamente en el subsuelo para promover reacciones de descloración reductiva a largo plazo. Dicho inconveniente se puede resolver introduciendo, dentro de una región específica del acuífero, polímeros lentamente biodegradables y completamente insolubles tales como polilactatos, polialcoholes y polihidroxialcanoatos.

El polihidroxibutirato (PHB) es un polihidroxialcanoato, altamente biodegradable por microorganismos (bacterias y también hongos) que existen en el suelo, las aguas residuales urbanas e industriales, los estuarios de los ríos. Dichos microorganismos usan PHB como una forma de acumulación de nutrientes, con el fin de explotarlos durante los periodos de necesidad. Para este objetivo, contienen enzimas de secreción adecuadas (despolimerasas) que se adhieren a las partículas poliméricas y catalizan su demolición a moléculas simples solubles en agua. Estas moléculas, a su vez, pueden capturarse y acumularse dentro de las células, donde se degradan. El proceso para
55 usar PHB puede tener lugar tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, produciendo los mismos intermedios, principalmente acetoacetil-CoA y acetil-CoA, que ingresan a las vías metabólicas de los microorganismos. En el caso de una degradación completa, las diferentes condiciones conducen a diferentes productos finales, H₂O + CO₂ en ambiente aeróbico y CO₂ + CH₄ en ambiente anaeróbico.

La reacción biológica de la degradación de PHB comprende dos etapas: la primera es la hidrólisis rápida de PHB a hidroxibutirato (HB) seguido de la β -oxidación de HB a acetato e hidrógeno:



Dicha reacción es realizada por microorganismos acetogénicos productores de hidrógeno (OPHA) que se desarrollan y crecen exclusivamente bajo condiciones anaeróbicas. Por lo tanto, la fermentación de PHB no se lleva a cabo directamente mediante la descloración de microorganismos, que, por el contrario, explotan los productos de descomposición del polímero al usarlos como donantes de electrones, estableciendo así una relación sintrófica con las diversas poblaciones bacterianas. En un sistema real, puede ocurrir el desarrollo de mecanismos de competencia para explotar acetato e hidrógeno, entre microorganismos de descloración y metanógenos acetoclásticos (Aulenta F., Fuoco M., Canosa A., Petrangeli Papini M. and Majone M. 2008. Use of poly-P-hydroxy-butyrate as a slow-release electron donor for the microbial reductive dechlorination of TCE. Water Science and Technology, 57 (6), pp. 921-925).

Contaminación del agua por nitratos y tecnologías de limpieza

Los nitratos son sales de ácido nítrico y representan un nutriente vegetal esencial absorbido por las plantas del suelo. Son compuestos ampliamente de origen natural y tienen una alta solubilidad en agua. Se originan en la naturaleza de la materia viva que sigue a los procesos de degradación, principalmente por microorganismos, que conducen a la producción de compuestos simples. Los nitratos representan la forma de nitrógeno más fácilmente absorbible por el sistema de raíces de la planta; una vez absorbidos, los nitratos se utilizan para sintetizar sustancias complejas esenciales para la estructura y función de la planta (proteínas, ácidos nucleicos). Los nitratos son, por lo tanto, un componente natural de las frutas, verduras y cereales.

Por lo tanto, los nitratos son de origen natural en el suelo, las aguas y plantas. Su presencia en alimentos y aguas depende en gran medida de las técnicas agrícolas que se adopten y en particular, del tipo de fertilización y las formas en que se lleva a cabo esta última. Los nitratos son la forma más oxidada entre los compuestos de nitrógeno y por lo tanto representan la etapa final de las transformaciones bioquímicas en nitrógeno en presencia de oxígeno; el nitrógeno suministrado al suelo bajo formas orgánicas (urea, fertilizantes y acondicionadores orgánicos del suelo) o amoníaco bajo condiciones favorables (disponibilidad de agua y altas temperaturas) también se convierte rápidamente en nitratos. Por lo tanto, el nitrógeno suministrado por medio de fertilizantes asegura una alta productividad, pero es fácilmente arrastrado en forma nítrica por las aguas de lluvia y riego. Esto ocurre principalmente si las cantidades de fertilizante que se distribuyen son excesivas en relación con las necesidades reales de los cultivos y las capacidades de retención del suelo, especialmente en presencia de suelos altamente permeables y abundantes precipitaciones.

La contaminación por nitratos de las aguas superficiales y subterráneas se debe aún más a las fugas de los sistemas de alcantarillado, la mala gestión de los lodos derivados de los tratamientos de los sistemas de suministro de agua, la eliminación inadecuada de los lodos zootécnicos y el uso indebido de fertilizantes nitrogenados en la agricultura. Todos estos factores causaron, con el tiempo, un aumento excesivo de la cantidad de nitrógeno en el subsuelo y, como consecuencia, una contaminación de los acuíferos. En la actualidad, los nitratos representan uno de los principales problemas del agua destinada al consumo humano. En cuanto a los daños ambientales causados por una liberación indebida de nitratos en el medio ambiente, ahora se confirma que una alta concentración de nitrato conduce a fenómenos de eutrofización de los cursos de agua, lagunas y lagos, con el consiguiente desequilibrio del ecosistema acuático y el desarrollo del mucílago marino. La adición de enlaces de nitrógeno en el medio ambiente puede alterar la composición de las especies debido a la sensibilidad de organismos específicos a los efectos de los compuestos de nitrógeno.

Desde el punto de vista de la salud humana, el consumo de agua que contiene altas concentraciones de nitratos, o el consumo de alimentos preparados con este tipo de agua, puede conducir a problemas toxicológicos. Sin embargo, hay que señalar que, cuando se combinan con aminos derivadas de los procesos degradantes de las proteínas, pueden producir nitrosaminas, que se consideran agentes cancerígenos y otras sustancias con actividad mutagénica en el ADN. Los nitritos pueden enlazar la hemoglobina sanguínea dificultando la oxigenación de la misma. Cuando se encuentran en altas concentraciones, deben por lo tanto considerarse como tóxicos.

Los posibles efectos debido a una ingesta sostenida de nitratos están relacionados con la aparición de enfermedades como la metahemoglobinemia, como el síndrome del bebé azul. Además, el nitrato en las aguas se puede convertir naturalmente en nitrito, que puede provocar tumores en el sistema gastrointestinal y el hígado. Además, la absorción de altas concentraciones de nitrógeno puede causar problemas a la glándula tiroidea y provocar un déficit de vitamina A.

La ósmosis inversa, el intercambio iónico y la electrodialisis se consideran las mejores tecnologías disponibles para el tratamiento de aguas contaminadas por nitratos. Sin embargo, estas tecnologías no resuelven el inconveniente relacionado con el exceso de nitratos en las aguas; de hecho, se producen flujos de aguas concentradas, que deben tratarse necesariamente por medio de otras tecnologías, y plantean el problema de su suministro debido a su alto

contenido de sal. Además, su uso conduce a graves inconvenientes y complicaciones para el uso directo *in situ* dirigido a la descontaminación de aguas subterráneas.

Las metodologías tecnológicas alternativas para el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas con nitratos son la reducción química, la desnitrificación biológica y la adsorción física.

- 5 El principal problema de la reducción química es la producción estequiométrica de amoníaco (o ion de amonio), que debe eliminarse necesariamente mediante un tratamiento adicional. A este respecto, es posible utilizar hidrógeno molecular combinado con un catalizador metálico para degradar el amoníaco a nitrógeno molecular gaseoso, completamente inofensivo. De manera práctica no se utiliza un proceso de reducción química *in situ* que requiera un tratamiento adicional para la eliminación de amoníaco.
- 10 La desnitrificación biológica es de origen natural cuando bacterias específicas usan nitrato como aceptor final de electrones en los procesos de respiración en ausencia de oxígeno. La desnitrificación consiste en una serie de reacciones. El nitrato se convierte en nitrógeno mediante la producción de varios intermedios de reacción, como se muestra a continuación:



- 15 La desnitrificación puede ocurrir tanto bajo condiciones heterótrofas como autótrofas. En el primer caso, se requiere la presencia simultánea de un sustrato de carbono. En la vía autótrofa existe la necesidad de la presencia de azufre o hidrógeno como donantes de electrones para apoyar la cascada metabólica. Las bacterias desnitrificantes son ubicuas en el medio ambiente, por esta razón tales procedimientos tienen lugar espontáneamente en los acuíferos, el suelo y también, más parcialmente, en las aguas superficiales. Se pueden usar diferentes tipos de sustrato para aplicaciones *in situ* con el fin de apoyar la actividad desnitrificante biológica y promover el desarrollo de cepas microbianas específicas.

- Los tratamientos *in situ* son los procesos más rentables disponibles actualmente para la eliminación de nitratos de las aguas subterráneas. Entre los diferentes tratamientos *in situ*, una metodología muy prometedora son las barreras reactivas permeables (PRB). La reducción química generalmente se apoya mediante el uso de hierro de valencia cero, como medio reactivo de barrera. También se conoce la eliminación de iones de nitrato de las aguas mediante el uso de metales, en particular hierro de valencia cero, mediante el uso de hierro granular comercial e hierro a nanoescala (G. C.C. Yang, Hsiao-Lan Lee, Chemical reduction of nitrate by nanosized iron: kinetics and pathways, Water. Res., 39 (2005), pp. 884-894). Es bien conocida la eficiencia de ZVI para reducir el nitrato, en donde ZVI elimina muy rápidamente el nitrato a valores bajos de pH (Y.H. Huang, T.C. Zhang Effect of low pH on nitrate reduction by iron powder Water Res., 38 (2004), pp. 2631-2642), pero estos valores de pH son poco reproducibles dentro de los acuíferos e inconsistentes en presencia de ZVI, lo que generalmente crea un ambiente fuertemente básico. Otro inconveniente es la producción casi estequiométrica de amoníaco, que representa otro contaminante del agua, y por lo tanto necesita un tratamiento adicional (F. Cheng, R. Muftikian, Q. Fernando, N. Korte Reduction of nitrate to ammonia by zero-valent iron, Chemosphere, 35 (11) (1997), pp. 2689-2695). Sin embargo, se sabe que a pH alcalino la tasa de eliminación es menor, pero no se observa la producción de amoníaco. El hidrógeno derivado de la corrosión del hierro es potencialmente capaz de soportar la actividad desnitrificante biológica en un ambiente anóxico (Fenglian Fu, Dionysios D. Dionysiou, Hong Liu, The use of zero-valent iron for groundwater remediation and wastewater treatment: A review, Journal Haz. Mat., Disponible en línea 7 Enero 2014, Yi An, Tielong Li, Zhaohui Jin, Meiying Dong, Qianqian Li, Shuaima Wang, Decreasing ammonium generation using hydrogenotrophic bacteria in the process of nitrate reduction by nanoscale zero-valent iron, Sci. Tot Env, 407, (2009), 21, pp. 5465-5470; B. Gu, D.B. Watson, L. Wu, D.H. Phillips, D.C. White, J. Zhou Microbiological characteristics in a zero-valent iron reactive barrier Environ. Monitoring Assessment, 77 (2002), pp. 293-309).

- La desnitrificación biológica se considera la estrategia más rentable entre las diversas técnicas convencionales. La desnitrificación heterotrófica es conocida (M.A. Gomez, J. Gonzalez-Lopez, E. Hontoria-Garcia, Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in denitrifying submerged filter, J. Haz. Mat., B, 80 (2000), pp. 69-80; C. Della Rocca, Vi. Belday, S. Meriç, Overview of in-situ applicable nitrate removal processes, Desalination, 204, 1-3, 5 (2007), pp. 46-62) que utiliza compuestos orgánicos como fuente de carbono para la actividad biológica o inmovilizando microorganismos sobre soportes inertes. También es posible inyectar en el subsuelo cepas microbianas autóctonas para promover la eliminación de contaminantes. Los polímeros biodegradables y/o solubles en agua se conocen como fuentes de carbono (PHV, PHV, PCL) que se utilizan en entornos confinados como los acuarios (A. Boley, W.R. Müller, G. Haider Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems Aquacul. Eng., 22 (2002), pp. 75-85; Weizhong Wu, Feifei Yang, Luhua Yang, Biological denitrification with a novel biodegradable polymer as carbon source and biofilm carrier, Biores. Tech., 118, (2012), pp. 136-140).
- 55 Till, B.A., Weathers, L.J., Alvarez, P.J.J. Fe(O)- supported autotrophic denitrification. Environmental Science and Technology, 32 (5), pp. 634-639, 1998 describen que ZVI, al producir hidrógeno después de la reacción con agua, puede apoyar indirectamente la actividad de bacterias desnitrificantes autótrofas.

Sulfatos

- El sulfato representa uno de esos compuestos básicamente siempre detectable dentro de las aguas, tanto subterráneas como superficiales. Los sulfatos en las aguas tienen diferentes orígenes posibles, ya sea naturales o debido a la interferencia humana, como por ejemplo la disolución de yesos y anhídridos en contacto con aguas subterráneas, la circulación en acuíferos con cierto contenido de arcilla, actividades antrópicas, el suministro de aspersión de mar en zonas costeras. Además, el sulfato es uno de los principales componentes disueltos del agua de lluvia. Existe principalmente en sedimentos evaporados como yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) o anhídrido (CaSO_4). Los sulfatos de origen natural se derivan en gran medida de la transformación de los sulfuros naturales. Otros minerales principales son kieserita ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), epsomita ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), anglesita (PbSO_4) y sulfato de sodio (Na_2SO_4). Un importante portador de difusión de sulfatos en el medio ambiente son las emisiones gaseosas de óxidos de azufre (SO_2 , SO_3), causadas, por ejemplo, por el uso de combustibles para uso energético o producciones industriales. Entre los sulfatos con mayor interés industrial, el sulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) se usa en la industria del vidrio, en trabajos de tintes y en la fabricación de celulosa, el sulfato de amonio [$2(\text{NH}_4)\text{SO}_4$] se usa como fertilizante, el sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) se aplica en la industria de papel y textil, el sulfato de calcio ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) se usa en el campo de la construcción y finalmente el sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) se usa como fungicida y en los procesos de electrotipificación. Los aniones de sulfato son químicamente estables en soluciones acuosas aireadas, mientras que bajo condiciones anóxicas se reducen química o microbiológicamente a azufre elemental (a pH 7) o iones de sulfuro de hidrógeno (HS^-). Las llamadas bacterias reductoras de sulfato (SRB) pueden metabolizar naturalmente el sulfato contenido en las aguas, produciendo sulfuro de hidrógeno gaseoso (H_2S) como subproducto metabólico, que es tóxico para los seres humanos incluso a bajas concentraciones.
- El sulfato es uno de los aniones menos tóxicos; sin embargo, a altas concentraciones (más de 600 mg/l) puede provocar efectos laxantes, cuando se combina con calcio y magnesio, deshidratación e irritación gastrointestinal.
- El sulfato confiere al agua un sabor amargo o medicinal si excede una concentración de 250 mg/l, lo cual es desagradable de beber. Los altos niveles de sulfato también pueden resultar corrosivos para los sistemas hidráulicos, especialmente para tuberías de cobre.
- Por lo general, se adoptan tres metodologías principales para eliminar los sulfatos de las aguas, en particular para purificarlas: ósmosis inversa, destilación e intercambio iónico. Los filtros de carbón, los suavizantes de agua y los filtros de sedimentación no pueden eliminar el sulfato. Los suavizantes solo convierten el sulfato de calcio o magnesio en sulfato de sodio, que es más laxante.
- La ósmosis inversa (RO) es un sistema para tratar el agua, que elimina la mayoría de los elementos disueltos y productos químicos, como el sulfato, del agua empujando el agua a través de una superficie plástica similar al celofán, conocida como "membrana semipermeable". En general, puede eliminar entre el 93 % y el 99 % del sulfato contenido en el agua potable, dependiendo del tipo de dispositivo.
- El intercambio iónico es el procedimiento más conocido para eliminar grandes cantidades de sulfato del agua, sin embargo generalmente no se usa para tratar los suministros domésticos individuales. Es un procedimiento en el que un elemento o producto químico se reemplaza por otro. Los sistemas de intercambio iónico para la eliminación de sulfato explotan un tipo diferente de resina del que se usa generalmente para suavizar el agua, incluso si tienen un principio de funcionamiento similar.
- En la literatura existen pocas evidencias sobre el posible uso de ZVI para la eliminación parcial de sulfato de aguas subterráneas contaminadas.
- Se conoce la desnitrificación heterótrofa biológica, que utiliza compuestos orgánicos como fuente de carbono para la actividad biológica y también se sabe que el hierro de valencia cero puede soportar la actividad de las bacterias desnitrificantes autótrofas.
- Como se describió previamente, se conoce el uso de barreras reactivas permeables (PRB) para la eliminación de nitrato de aguas subterráneas por medio de hierro de valencia cero como medio reactivo de barrera, y se describió el uso de ZVI para la eliminación de sulfato.
- Además, se sabe que el hidrógeno derivado de la corrosión del hierro puede soportar la actividad desnitrificante biológica en un entorno anóxico.
- Se divulgó el acoplamiento de una fuente de carbono de liberación lenta dentro de una Barrera Reactiva Permeable; en particular el hierro de valencia cero fue acoplado con PHB. Específicamente, se estableció que la fermentación de PHB, al formar ácidos grasos volátiles a alta concentración y la consecuente reducción de pH, causa un aumento significativo de la reactividad del hierro de valencia cero, lo que resulta en una cinética de degradación más rápida hacia los disolventes clorados.
- En particular, se confirmó que la hidrólisis y la fermentación de PHB ocurren debido a microorganismos autóctonos. La producción de ácidos grasos volátiles (VFA) conduce a una reducción del pH. El efecto combinado del ambiente ácido y la presencia de ácidos grasos volátiles disueltos, además de la reactividad del hierro de valencia cero, aumenta también la durabilidad del mismo, ya que los fenómenos de precipitación sobre la superficie del material reactivo en base a mezclas de hidróxidos de Fe(II) y Fe(III) se reducen (Baric et al., 2012, Coupling of

polyhydroxybutyrate (PHB) and zero valent iron (ZVI) for enhanced treatment of chlorinated ethanes in permeable reactive barriers (PRBs) Chem. Ing. J., 195-196, 22-30).

En el campo de la limpieza ambiental, específicamente de aguas subterráneas, se siente particularmente la necesidad de desarrollar procedimientos, arreglos y plantas que puedan al mismo tiempo limpiar de varios contaminantes, así como mejorar la eficiencia del procedimiento de limpieza, aumentando la facilidad de aplicación y reduciendo los costes operativos.

Dentro del alcance de un ensayo sobre el uso de Barreras Reactivas Permeables con hierro de valencia cero y/o PHB corriente arriba de la fuente de contaminación para la limpieza de este, los mismos inventores encontraron sorprendentemente que dicho procedimiento puede usarse para la eliminación concurrente de sulfatos, además de nitratos, y compuestos clorados.

Al mismo tiempo, se observó que el PHB no solo tiene el efecto de liberar ácidos grasos volátiles que estimulan la actividad de descloración biológica, como se divulga en "PHB and zero valent iron (ZVI) for enhanced treatment of chlorinated ethanes in permeable reactive barriers (PRBs)" Chem. Ing. J., 195-196, 22-30, 2012, pero sorprendente e inesperadamente aumenta la movilidad de los disolventes clorados y consecuentemente reduce la tasa de agotamiento de las fuentes secundarias duraderas. Por lo tanto, el PHB actúa como acondicionador del suelo capaz de movilizar contaminantes y promover la degradabilidad biológica de los mismos.

También se demostró que la presencia de PHB permitió aumentar significativamente la solubilización de las fuentes de disolventes clorados en la fase DNAPL.

Dicho efecto no era deducible de la técnica anterior conocida, ya que las evidencias experimentales sobre el uso de VFA para mejorar la solubilización de DNAPL o el uso de fuentes de liberación de carbono para este objetivo no estaban disponibles en la literatura.

Sorprendentemente, se demostró que el efecto sobre la solubilización inducida por la fermentación de PHB no se resume simplemente en la capacidad ya probada para estimular la actividad biológica, sino que el acoplamiento de los dos procesos tiene un efecto sinérgico mayor que el derivado de la suma de cada proceso. Esto requirió el diseño de un nuevo procedimiento para la limpieza de aguas contaminadas con sulfatos, nitratos y disolventes clorados.

Las patentes US6679992 y CN103709684 describen otros ejemplos de procedimientos para la limpieza de aguas subterráneas contaminadas con disolventes clorados.

Objeto de la invención

Es un objeto de la presente invención un procedimiento para la limpieza de aguas subterráneas contaminadas con disolventes clorados, nitratos y sulfatos que comprende las siguientes etapas:

- a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación
- b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con polihidroxibutirato (PHB)
- c) devolver el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación

caracterizado porque las etapas de a) a c) se llevan a cabo de manera continua y cíclica hasta el final del proceso de limpieza,

en el que alternativamente a la etapa b) en la etapa b') el agua obtenida en la etapa a) se pone en contacto simultáneamente con polihidroxibutirato (PHB) y una fuente de hierro de valencia cero.

Opcionalmente antes de la etapa b) o b') el agua obtenida de la etapa a) en la etapa e) se pone en contacto con arena.

Opcionalmente después de la etapa b) y antes de la etapa c), el agua obtenida en la etapa b) en la etapa d) se pone en contacto con hierro de valencia cero.

Otras características de la presente invención serían evidentes a partir de la siguiente descripción detallada con referencia a los ejemplos experimentales y los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la tendencia de la concentración de PCE en el afluente y efluente (a) y la proporción C/CO (A) en función de los días de trabajo, columna ZVI Connelly.

La figura 2 muestra la tendencia de la concentración de PCE en el afluente y efluente (b) y la proporción C/CO (B) en función de los días de trabajo, columna ZVI Gotthart.

- La figura 3 muestra la tendencia de la concentración de PCE en el afluente y efluente (c) y la proporción C/CO (C) en función de los días de trabajo, Columna ZVI-PHB.
- La figura 4 muestra la comparación entre las tendencias temporales de la proporción 1,1,2,2-PCE en el afluente y efluente de las tres columnas experimentales.
- 5 La figura 5 muestra las tendencias de la concentración de cloruro y sulfato a lo largo de la columna en función de las alturas de los puertos de muestreo, en relación con los tres aparatos experimentales.
- La figura 6 muestra los perfiles de concentración de PCE y sus subproductos en función del tiempo de residencia.
- 10 La figura 7 muestra los perfiles de concentración de PCE, en diferentes días de trabajo (columna ZVI Connelly).
- La figura 8 muestra los perfiles de concentración de PCE, en diferentes días de trabajo (columna ZVI Gotthart).
- La figura 9 muestra los perfiles de concentración de PCE, en diferentes días de trabajo (columna ZVI-PHB).
- La figura 10 muestra la tendencia de Kobs calculada en función de los días de trabajo.
- 15 La figura 11 muestra la tendencia de Kobs calculada en función de los días de trabajo, siguiendo el cambio de la alimentación.
- La figura 12 muestra las tendencias de VFA y pH en relación con los perfiles en la columna ZVI-PHB.
- La figura 13 muestra la curva F en función de t para calcular el tiempo de residencia.
- La figura 14 muestra los datos experimentales y el sigmoide obtenido de la regresión no lineal.
- 20 La figura 15 muestra la solubilidad teórica y experimental de 1,2-DCA y 1,1,2,2-TeCA.
- La figura 16 muestra la concentración de 1,2-DCA en el efluente de la columna en función del tiempo de operación.
- La figura 17 muestra la concentración de 1,1,2,2-TeCA en el efluente de la columna en función del tiempo de operación.
- 25 La figura 18 muestra la comparación entre las tendencias de concentración de 1,2-DCA en el efluente, en ausencia y presencia de VFA.
- La figura 19 muestra la comparación entre las tendencias de concentración de 1,1,2,2-TeCA en el efluente, en ausencia y presencia de VFA.
- La figura 20 muestra la masa del flujo de salida 1,2-DCA en función de los días de trabajo.
- 30 La figura 21 muestra la masa de salida de 1,1,2,2-TeCA en función de los días de trabajo.
- La figura 22 muestra los perfiles PCE y TCE descritos como proporción C/CO en diferentes momentos de la prueba.
- La figura 23 muestra los perfiles de concentración de NO3 en las diferentes columnas en función de los diferentes tiempos de residencia hidráulica en relación con los diferentes momentos de la prueba: a) Columna Fe, b) Columna Fe/PHB, c) Columna EHC.
- 35 La figura 24 muestra la tendencia del porcentaje de eliminación de nitrato en las tres columnas en función del tiempo de operación de los aparatos experimentales.
- La figura 25 muestra la tendencia de la concentración de VFA en función del tiempo de operación (eje izquierdo); el porcentaje de eliminación de aniones, como la suma de nitrato y sulfato, en función del tiempo de operación. Los datos se refieren solo a la columna Fe/PHB.
- 40 La figura 26 muestra los perfiles de concentración de iones de sulfato a lo largo de las tres columnas, referidos a diferentes tiempos de la prueba. A) columna Fe; b) Columna Fe/PHB, Columna EHC.
- La figura 27 muestra la tendencia del porcentaje de eliminación de iones de sulfato en función del tiempo de operación de los tres aparatos experimentales.
- 45 La figura 28 muestra un esquema de la disposición y la planta.

Descripción detallada de la invenciónDefiniciones

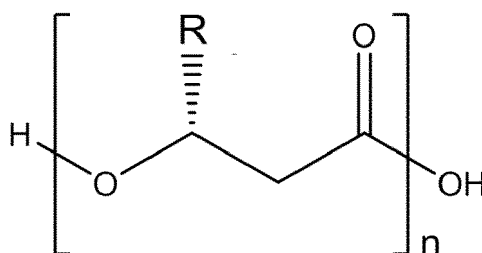
En la presente invención, por acuífero o agua subterránea se entiende aguas existentes en el área saturada del suelo, como por ejemplo los acuíferos artesianos y los acuíferos freáticos.

5 En el contexto de la presente invención, por disolventes clorados se entiende hidrocarburos sustituidos con cloro con al menos un átomo de cloro, saturado (haluros de alquilo), no saturado (haluros de alqueno) o aromático (haluros de arilo), como por ejemplo 1,1,1- y 1,1,2-tricloroetano (TCA), 1,1- y 1,2-dicloroetano (DCA), diclorometano, triclorometano (cloroformo), tetracloroetano (PCE), tricloroetano (TCE) (trielina), 1,2-dicloroetano (DCE) y cloroetano VC (cloruro de vinilo), clorobenceno y hexaclorobenceno.

10 En el contexto de la presente invención, por nitratos se entiende el ion nitrato que tiene la fórmula NO_3^- .

En el contexto de la presente invención, por sulfatos se entiende el ion sulfato que tiene la fórmula SO_4^{2-} .

En el sentido de la presente invención, por polihidroxibutirato PHB se entiende el compuesto que tiene la fórmula:



en la que R, igual o diferente es CH_3 ; CH_2-CH_3 .

15 En el sentido de la presente invención, por pozo de flujo de retorno de extracción de circulación vertical se entiende un pozo vertical provisto de aberturas ubicadas a diferentes alturas, capaces de extraer agua subterránea, transportarla a una tubería externa e, después de cualquier tratamiento, devolverla al pozo en una abertura diferente, creando así un área de recirculación hidráulica en el acuífero.

20 En las patentes se han descrito ejemplos de pozos de flujo de retorno de extracción de circulación vertical: EP 0572818, EP 0543358, EP 0490182, EP 0486976, EP 0472967, EP 04337805, EP 0431384, EP 0418572, EP 0418570, EP 347576, EP4950394, EP 0242665.

El objeto de la presente invención comprende

d) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación

e) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con polihidroxibutirato (PHB)

25 f) devolver el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación

caracterizado porque las etapas desde a) a c) se llevan a cabo de manera continua y cíclica hasta el final del proceso de limpieza,

en el que alternativamente la etapa b) en la etapa b') el agua obtenida en la etapa a) se pone en contacto simultáneamente con polihidroxibutirato (PHB) y una fuente de hierro de valencia cero.

30 Opcionalmente, antes de la etapa b) o b') el agua obtenida de la etapa a) en la etapa e) se pone en contacto con arena.

Opcionalmente, después de la etapa b) y antes de la etapa c) el agua obtenida en la etapa b) en la etapa d) se pone en contacto con hierro de valencia cero.

35 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas contempla a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con PHB c) devolver el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) b) c) de manera continua y cíclica hasta el final del proceso de limpieza.

40 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas contempla a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) simultáneamente con PHB y una fuente de

hierro de valencia cero; c) devolver el agua obtenida en la etapa b') al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) b') c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

5 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas contempla a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con PHB d) transportar el agua obtenida en la etapa b) a un reactor que contiene hierro de valencia cero como medio reactivo c) devolver el agua obtenida en la etapa d) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) b) d) c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

10 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas contempla a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación b') poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) simultáneamente con PHB y una fuente de hierro de valencia cero d) transportar el agua obtenida en la etapa b') a un reactor que contiene hierro de valencia cero como medio reactivo c) devolver el agua obtenida en la etapa d) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) b') d) c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

15 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas comprende las siguientes etapas: a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación, e) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con arena b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa e) con PHB, devolviendo el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) e) b) c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

20 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas comprende las siguientes etapas: a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación, e) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con arena b') poner en contacto el agua obtenida en la etapa e) con PHB y una fuente de hierro de valencia cero, devolviendo el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) e) b') c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

25 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas comprende las siguientes etapas: a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación, e) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con arena b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa e) con PHB, d) transportar el agua obtenida en la etapa b) a un reactor que contenga hierro de valencia cero como medio reactivo c) devolver el agua obtenida en la etapa d) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) e) b) d) c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

30 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas comprende las siguientes etapas: a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación, e) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con arena b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa e) con PHB y una fuente de hierro de valencia cero, d) transportar el agua obtenida en la etapa b) a un reactor que contenga hierro de valencia cero como medio reactivo c) devolver el agua obtenida en la etapa d) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) e) b') d) c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

35 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas comprende las siguientes etapas: a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación, b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con PHB, recircular el agua obtenida en la etapa b) hasta alcanzar los valores deseados, c) devolver el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) b) c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

40 En una realización preferente de la invención, el procedimiento para degradar sulfatos, disolventes clorados y nitratos en aguas subterráneas contaminadas comprende las siguientes etapas: a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación, b') contactar el agua obtenida en la etapa a) con una fuente de PHB y una fuente de hierro de valencia cero, recircular el agua obtenida de la etapa b') hasta alcanzar los valores deseados, c) devolver el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación realizando dichas etapas a) b') c) de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza.

45 Más específicamente en la etapa a) el agua contaminada del acuífero se bombea fuera del acuífero mismo y en la etapa b) se pone en contacto con PHB de tal manera que los microorganismos acetogénicos que ocurren naturalmente en el agua contaminada comienzan a degradar el PHB a acetato e hidrógeno, que se hacen disponibles para los microorganismos que realizan degradación en la etapa c) el agua derivada de la etapa b) se devuelve al acuífero y el procedimiento continúa de manera cíclica hasta obtener la limpieza.

Además, el contacto del agua contaminada con PHB en la etapa b) también determina un aumento de la movilización de disolventes clorados porque PHB actúa como un acondicionador del suelo capaz de movilizar los contaminantes y promover su degradabilidad biológica, así como de los disolventes clorados incluso de especies inorgánicas, como sulfatos y nitratos.

- 5 En el caso de que la etapa b) se reemplace con la etapa b'), la presencia de hierro con valencia cero junto con PHB no solo conduce a un aumento de la movilización de disolventes clorados, sino que el PHB aumenta la actividad de hierro con valencia cero debido a los productos de fermentación de PHB y la disminución del pH provocan una reducción de la precipitación de compuestos que producen pasivación de la superficie del hierro, mejorando así su reactividad a largo plazo, generando así una mayor acción sinérgica de los dos tratamientos abióticos y biológicos.
- 10 En el caso de la etapa d) la presencia de productos de fermentación de PHB y la reducción del pH aumentan la eficiencia del reactor que contiene hierro de valencia cero como medio reactivo, ya que la precipitación de los óxidos de hierro que se acumulan en la superficie del medio reactivo se reduce, contribuyendo a la formación de una capa superficial que provoca una desaceleración de las reacciones de degradación.
- 15 En el caso de la etapa e), la cama de arena actúa como filtro para el agua derivada de la etapa a) al retener los sólidos en suspensión que podrían reducir la porosidad en las etapas b), b') d).

El procedimiento de la presente invención permite mejorar, en cada ciclo, la movilidad y biodisponibilidad de los disolventes clorados contaminantes como se muestra en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Material y procedimientos

- 20 El ensayo se realizó en un laboratorio utilizando sistemas experimentales de flujo continuo.

Se utilizaron dos tipos de hierro: Hierro Connelly ETI CC-1004, comercializado por Connelly GPM, Inc. domiciliado en Chicago, Illinois, y Hierro Gotthart Maier distribuido por Gotthart Maier Metallpulver GmbH, domiciliado en Rheinfelden, Alemania. El área de superficie de hierro se calculó como una media de los valores del área de superficie del mismo tipo de hierro descrito en varios trabajos existentes en la literatura (D.R. Burris, R.M. Allen-King, V.S. Manoranjan, T.J. Campbell, G.A. Loraine, B. Deng, Chlorinated ethene reduction by cast iron Sorption and mass transfer, Journal of Environmental Engineering, (1998) 1012-1019; VanStone N., Przepiora A., Vogan J., Lacrampe-Couloume G., Powers B., Perez E., Mabury S. and Sherwood Lollar B. 2004; Monitoring trichloroethene remediation at an iron permeable reactive barrier using stable carbon isotopic analysis. Journal of Contaminant Hydrology, 78 (4), pp. 313-325). El valor del área de superficie calculada es 1,51 m²/g. Típicamente, los rastros de óxido están presentes en la superficie del hierro, debido a la exposición al aire. También se usaron polihidroxibutirato en polvo (PHB) y un copolímero en forma de pellas que comprenden polihidroxibutirato y polihidroxivalerato P(HB-HV) (que contiene PHV 12 % en peso, Sigma Aldrich).

El ensayo se realizó en modo continuo, utilizando columnas de laboratorio de poli metil metacrilato (PMMA) con forma cilíndrica. El aparato experimental utilizado consistía en tres columnas, denominadas como: Columna ZVI-Connelly, Columna ZVI-Gotthart, Columna ZVI-PHB. Entre estos, dos columnas se llenaron exclusivamente con una mezcla de hierro de valencia cero (Hierro Connelly ETI CC-1004 e Hierro Gotthart Maier) y arena silíceo en una proporción de 50 % peso/peso. La tercera columna (llamada ZVI-PHB) se llenó con una mezcla de ZVI Connelly 10 % peso/peso y 3 % polihidroxibutirato (PHB) en forma de pellas, con un porcentaje muy bajo de PHB en polvo para asegurar el rápido establecimiento de la fermentación anaerobia del polímero. La mezcla ZVI-PHB se probó para evaluar una posible aplicación como fuente de carbono y fuente de liberación controlada de donantes de electrones para estimular, promover y apoyar la actividad biológica de especies de descloración microbiana que ya existen en el sitio. El hierro que se usaba se cribó previamente dentro de un intervalo de tamaño de partícula comprendido entre 2 mm y 200 µm.

En la tabla 2 se enumeran las cantidades relativas de los materiales de relleno de la columna.

Tabla 2

Columna ZVI Gotthart			
Altura de la columna (cm)	Arena silícea 50 % p/p (kg)	Fe Gotthart 50 % p/p (kg)	Tamaño de cribado (µm)
0-6	0,796	0	250-2.000
6-41	3,10	3,12	200-2.000

Columna ZVI Gotthart			
Altura de la columna (cm)	Arena silicea 50 % p/p (kg)	Fe Gotthart 50 % p/p (kg)	Tamaño de cribado (µm)
41-47	0,797	0	250-2.000

(continuación)

Columna ZVI Connolly			
Altura de la columna (cm)	Arena silícea (kg)	Fe Connolly 50 % p/p (kg)	Tamaño de cribado (μm)
0-6	0,785	0	250-2.000
6-41	3,00	3,05	200-2.000
41-47	0,802	0	250-2.000
Columna ZVI + PHB			
Altura de la columna (cm)	Arena silícea (kg)	Fe Connolly 10 % + PHB 3 % p/p (kg)	Tamaño de cribado (μm)
0-10	1,33	0	250-2.000
10-46	3,82	0,450 de Fe + 0,135 de PHB	200-2.000

La caracterización dinámica de fluidos del sistema se realizó mediante el uso de un marcador soluble y conservador a través de una señal gradual. Así, se establecieron los siguientes parámetros dinámicos promedio de fluidos: tiempo de residencia, volumen de poros, porosidad y velocidad lineal. El ion cloruro, una sustancia fácilmente detectable por cromatografía iónica, que no interfiere con el flujo ni interactúa con el agente de carga poroso se usó como marcador. La columna se suministró con una solución acuosa de NaCl a una concentración de 35 mg/l. La solución estaba contenida dentro de una bolsa Tedlar® de colapso automático y se introdujo en la columna a través de una bomba peristáltica, ajustada a un caudal de 0,5 ml min⁻¹. Mediante el uso de un colector de fracciones (Gilson Fraction Control 201-202, Gilson, Inc. Middleton, WI, USA) el efluente de salida se muestreó en 300 tubos diferentes, cada uno lleno con una alícuota de muestra de 2 ml. El análisis de iones cloruro se realizó por cromatografía iónica. La porosidad calculada de la mezcla de hierro y arena resultó ser 0,37 para la columna "ZVI Connolly", 0,33 para la columna "ZVI Gotthart" y 0,4 para la columna Connolly-PHB.

La alimentación de la columna compuesta de agua subterránea, transferida dentro de la bolsa tedlar y agregada con PCE para obtener una concentración de flujo de entrada eficiente para el ensayo (dentro de un intervalo comprendido entre ~ 0,3-1 mg l⁻¹). La tasa de flujo de alimentación se modificó durante el ensayo para investigar diferentes intervalos de velocidad lineal, lo que significa diferentes tiempos de residencia. En particular, se seleccionó un intervalo de velocidad comprendido entre 0,3 y 1,7 m d⁻¹, correspondiente a un intervalo de tiempos de residencia comprendido entre 36 y 6 horas. El aparato experimental se controló tomando muestras de afluentes y efluentes solos (muestreo diario) y tomas de puertos de muestreo laterales (muestreo periódico). El muestreo se realizó bajo condiciones de estado estacionario de los aparatos experimentales. A través del muestreo diario, se pudo evaluar la tendencia del rendimiento del aparato experimental a lo largo del tiempo, mientras que la toma de muestras de los puertos laterales y, por lo tanto, a lo largo de la altura de la columna, permitió monitorear la evolución de la concentración de contaminantes al variar los tiempos de residencia (perfiles de concentración), para evaluar las diferentes cinéticas de degradación de contaminantes y evaluar las vías degradantes.

La determinación de la concentración de compuesto clorado en las muestras tomadas de las columnas, se realizó mediante análisis cromatográfico de gases de la fase gaseosa tomada del vial de espacio de cabeza utilizando un cromatógrafo de gases Dani GC 1000, equipado con columna capilar y detector FID (Detector de ionización de llama) y provisto de automuestreador de espacio de cabeza HSS Dani 86.50.

La determinación de la concentración de etileno y etano en las muestras se realizó por análisis cromatográfico de gases del vial de espacio de cabeza utilizando el modelo Varian 3400 equipado con columna empaquetada y detector FID (detector de ionización de llama). En detalle, se inyectan 500 μl de la fase gaseosa tomada del vial de espacio de cabeza antes de analizarse en el Dani GC1000.

La determinación de los ácidos grasos volátiles en las muestras tomadas de las columnas se llevó a cabo mediante análisis cromatográfico de gases utilizando Master GC-FID. Para cada análisis, se inyectó 1 μl de una solución

preparada de la siguiente manera: 500 µl de muestra filtrada añadida con 50 µl de solución de 0,33 M ácido oxálico, como columna acondicionadora, y 50 µl de solución de ácido acrílico (2 g/l), utilizada como estándar interno.

La determinación de las concentraciones de aniones se llevó a cabo mediante cromatografía iónica utilizando Dionex ICS-1000 IC equipado con un detector de conductividad y provisto de inyector automático Dionex AS40. Cada muestra líquida se diluyó adecuadamente en agua desionizada.

Para las mediciones de pH, se usó un medidor de pH Crison GLP 22 con un microelectrodo de vidrio, diafragma cerámico y electrodo de referencia encapsulado Ag/AgCl.

Por lo tanto, se utilizó el software Scientist (Micromath Scientific Software) para interpolar los datos experimentales y obtener los parámetros cinéticos de la eliminación del compuesto (K_{obs} y K_{sa}).

El tetracloroetileno (PCE), una sustancia seleccionada como contaminante objetivo, se degrada por el hierro de valencia cero a través de reacciones de hidrogenólisis, β -dicloroeliminación e hidrogenación (en paralelo y/o en serie) hasta la producción de compuestos no tóxicos, como el etileno y etano. Suponiendo que la principal vía de degradación de los etenos clorados en ZVI es, desde el punto de vista cinético, la β -dicloroeliminación; los intermedios de acetileno resultan particularmente inestables y se convierten rápidamente en etileno y etano sin acumulación significativa. La producción de cloruro de vinilo (VC), que es una posible reacción intermedia y compuesto cancerígeno verificado, nunca se observó experimentalmente.

Se evaluó la eficiencia del hierro de valencia cero (ZVI) en la eliminación de contaminantes a través de muestreos diarios de efluentes y afluentes de los aparatos experimentales. La reactividad de ZVI es enfatizada al reportar las concentraciones de PCE de flujo de entrada y flujo de salida de cada columna en función de los días de trabajo. (Figuras 1a, 2b, 3c).

Además, se divulgó la tendencia temporal de la proporción entre la concentración de PCE medida en el efluente (C) y la alimentación (C_0) (Figura 1A, 2B, 3C).

Los datos experimentales muestran la extensión de eliminación de PCE a lo largo de cada aparato y además permiten comparar los rendimientos de diferentes sistemas experimentales haciendo que el resultado sea independiente del valor de la concentración medida en el afluente.

Los datos muestran, para los tres sistemas experimentales, una buena reactividad del hierro de valencia cero hacia el tetracloroetileno, independientemente de la concentración del flujo de entrada de contaminantes. Durante el ensayo, la concentración de PCE en la alimentación se incrementó gradualmente para evaluar los posibles efectos sobre el grado de eliminación.

A partir de las tendencias divulgadas se observa cómo la eliminación de contaminantes, después de una primera etapa en la que aproximadamente el 99 %, se estabiliza alrededor de un valor siempre superior al 90 %. De hecho, el valor de la proporción C/C_0 varía alrededor de 0,1, lo que evidencia la alta eliminación de PCE, lo que confirma una buena reactividad ZVI durante todo el período experimental.

Durante la operación de los aparatos experimentales, se observó una tendencia casi sostenida de la proporción C/C_0 , aunque se observa una tendencia ligeramente ascendente de dicha proporción, que es común para los tres aparatos experimentales, lo que sugiere una reducción progresiva, incluso lenta, de la eficiencia de eliminación.

Además, no se observan diferencias sustanciales durante el período indicado, en términos de eficiencia de eliminación entre los dos tipos de ZVI.

Para enfatizar mejor este aspecto, en la Figura 4 se muestra la comparación entre las tendencias temporales de la proporción PCE en el efluente y afluente de las tres columnas experimentales.

Es evidente que las tendencias relativas a los dos sistemas que contienen porcentajes similares de medios reactivos (columna ZVI Connelly y columna ZVI Gotthart) son comparables, como lo sugiere la superposición de las curvas relativas.

Se observan algunas diferencias para la columna que contiene PHB, que muestra una disminución significativa de la eficiencia alrededor del quincuagésimo día de trabajo, y luego exhibe una eliminación prácticamente cuantitativa alrededor del octogésimo día de trabajo. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que dicho sistema contenía, en relación con los otros dos sistemas, un porcentaje significativamente menor de ZVI (10 % versus 50 % p/p), además de la presencia del polímero, cuyos efectos sobre la reactividad del hierro y los fenómenos biológicos se discutirán más adelante.

Durante el trabajo experimental, se monitorizó la composición inorgánica del agua subterránea, caracterizándola en términos de composición aniónica. De hecho, se sabe que ZVI, a lo largo de la intervención de limpieza, generalmente estimada en años, puede experimentar fenómenos de inercia superficial debido a la precipitación de hierro (II) y Fe (III) oxi(hidroxi)dos, así como de otras especies que ya existen en el acuífero, como los carbonatos.

Tal fenómeno (envejecimiento de los medios reactivos) conduce a una reducción, a veces particularmente significativa, de la reactividad de los agentes de carga y, como consecuencia, del rendimiento de instalación.

En la Figura 5 se muestra la concentración de cloruros y sulfatos (los únicos dos aniones detectados en cantidades significativas en el agua probada) en una función de las alturas de los puertos de muestreo en diferentes días de trabajo. Se observa que para los diferentes perfiles, no se produjo una variación significativa de la concentración de cloruros disueltos a lo largo de cada aparato experimental. En este caso, no se detecta aumento de cloruros debido a los fenómenos existentes de descloración reductiva debido a la alta concentración de cloruros en el agua subterránea que se utiliza.

En cuanto a los sulfatos, por otro lado, los resultados experimentales parecen indicar la falta de eliminación en ambos sistemas que contienen hierro solo, mientras que se observa una tendencia decreciente de la concentración de sulfato a lo largo de la columna que también contiene PHB. Este fenómeno llevaría a asumir la presencia de actividad biológica, en particular de microorganismos reductores de sulfato, promovida y apoyada por la liberación de la fuente de carbono y el donante de electrones por el polímero, siguiendo a la fermentación de estos.

En cuanto a los resultados de los perfiles de concentración, realizados mediante muestreos periódicos a lo largo de la altura de la columna, las diferentes alturas de cada puerto de muestreo se indican como el tiempo de residencia correspondiente de la fase líquida dentro del área reactiva de las columnas, calculada conociendo la porosidad de los agentes de carga y el caudal volumétrico de la alimentación. La conversión de la fecha lineal al tiempo de residencia permite establecer los parámetros cinéticos de degradación típicos de los diferentes sistemas experimentales.

Para comprender mejor los perfiles divulgados, se debe tener en cuenta que el primer y el último punto son relativos al afluente y al efluente de la columna, mientras que el segundo (P1) se relaciona con el puerto de muestreo ubicado en la capa de arena existente corriente arriba del área reactiva.

Se deduce que, como se puede observar en los gráficos, los datos relativos al afluente y el puerto P1 se caracterizan por tiempos de residencia iguales a cero, asumiendo como tiempo cero el correspondiente al comienzo del llenado reactivo de la columna.

En pro de ejemplo, en la Figura 6 se muestra el perfil relativo al día 28 de trabajo de la columna ZVI Connelly. La tasa de alimentación se ajustó para obtener una velocidad lineal promedio de aproximadamente $0,5 \text{ m d}^{-1}$. La concentración de flujo de entrada se ajustó a $680 \mu\text{g l}^{-1}$, correspondiente a $4,10 \mu\text{M}$.

Los datos experimentales confirman la vía de degradación de PCE por medio de ZVI descrito en la literatura. Además, se observa una eliminación rápida y alta, que alcanza un valor de alrededor del 95 %, del contaminante considerado (PCE). El etano representa el principal producto final de la degradación reductora.

Durante el ensayo, se realizaron ocho perfiles de concentración para cada aparato experimental, bajo diferentes condiciones operativas.

Cada perfil es representativo de una condición diferente de la velocidad lineal del cruce de la barrera. Las diferentes velocidades de cruce se detectaron previamente dentro de un intervalo que generalmente se encuentra en un sitio real, es decir, $0,3\text{-}1,7 \text{ m d}^{-1}$.

En las Tablas 3, 4 y 5 se divulgan las condiciones experimentales de cada prueba con respecto a los tres aparatos experimentales, columna Connelly ZVI, columna Gotthart ZVI y columna ZVI-PHB, respectivamente.

Tabla 3

Perfil	W^* (ml/min)	τ^* (h)	v^* (m/d)	$[\text{PCE}]_{\text{pulg}}$ ($\mu\text{g/l}$)
Día de trabajo 11	0,68	29,33	0,38	360
Día de trabajo 21	1,16	17,20	0,645	470
Día de trabajo 28	1,04	18,19	0,58	680
Día de trabajo 40	1,46	13,66	0,81	582
Día de trabajo 54	1,48	13,48	0,82	581

(continuación)

Perfil	W* (ml/min)	τ^* (h)	v* (m/d)	[PCE] _{entrada} (µg/l)
Día de trabajo 63	1,88	10,61	1,04	678
Día de trabajo 75	2,31	8,63	1,28	1.002
Día de trabajo 82	3,11	6,41	1,73	810
*W = caudal; τ = tiempo de residencia hidráulica; v = velocidad lineal				

Tabla 4

Perfil	W* (ml/min)	τ^* (h)	v* (m/d)	[PCE] _{entrada} (µg/l)
Día de trabajo 11	0,61	36,66	0,302	325
Día de trabajo 21	1,15	19,45	0,57	568
Día de trabajo 28	1,21	18,48	0,60	638
Día de trabajo 40	1,45	15,42	0,72	503
Día de trabajo 54	1,53	14,62	0,76	624
Día de trabajo 63	1,67	13,39	0,83	868
Día de trabajo 75	2,17	10,31	1,08	957
Día de trabajo 82	3,06	7,31	1,52	856
*W = caudal; τ = tiempo de residencia hidráulica; v = velocidad lineal				

Tabla 5

Perfil	W* (ml/min)	τ^* (h)	v* (m/d)	[PCE] _{entrada} (µg/l)
Día de trabajo 11	0,72	33,44	0,33	351
Día de trabajo 21	1,33	18,10	0,61	524
Día de trabajo 28	1,37	17,57	0,63	733
Día de trabajo 40	1,51	15,94	0,69	888
Día de trabajo 55	1,68	14,33	0,77	676
Día de trabajo 63	1,97	12,22	0,90	733

(continuación)

Perfil	W* (ml/min)	τ^* (h)	v* (m/d)	[PCE] entrada (µg/l)
Día de trabajo 75	2,38	10,11	1,09	1.081
Día de trabajo 82	3,04	7,92	1,39	796
*W = caudal; τ = tiempo de residencia hidráulica; v = velocidad lineal				

- 5 En las figuras 7, 8 y 9 se divulgan los diferentes perfiles de concentración de PCE en términos de concentración normalizada a la concentración inicial, las curvas de interpolación obtenidas de la regresión no lineal de los datos experimentales de acuerdo con el modelo cinético de primer orden, generalmente adoptado para caracterizar las transformaciones de compuestos halogenados orgánicos en hierro de valencia cero también se divulgan:

$$-\frac{d[C]}{dt} = k_{obs} * [C]$$

en el que C representa la concentración del compuesto probado, t el tiempo y K_{obs} una constante cinética aparente (h^{-1}), que depende de la concentración de hierro que se utiliza.

- 10 En las figuras 7, 8 y 9 se observa que las curvas simuladas obtenidas de la regresión no lineal de los datos muestran en todos los casos una buena coherencia con la tendencia experimental de la concentración para cada sistema experimental. Esto confirma la validez de la suposición de la cinética de primer orden como modelo interpretativo de la descloración reductora de PCE por ZVI.

- 15 Los perfiles de concentración así obtenidos se utilizaron para calcular la constante cinética aparente de degradación de K_{obs} y la constante específica (K_{sa}).

La constante cinética aparente de degradación puede, de hecho, expresarse de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$K_{obs} = K_{sa} \rho_{sa}$$

en la que K_{sa} es la constante específica de primer orden en [$h^{-1} m^{-2}$] y ρ_{sa} es la concentración del área superficial de hierro expresada en [$m^2 l^{-1}$].

- 20 De esta ecuación se infiere que K_{obs} depende del porcentaje de hierro en el agente de carga; por lo tanto, el K_{sa} debe calcularse para la extrapolación del comportamiento a varias concentraciones de hierro.

En la Tabla 6 se enumeran los valores de las constantes cinéticas optimizadas mediante regresión no lineal de los datos para los tres aparatos experimentales.

Tabla 6

	ZVI Connelly		ZVI Gotthart		Connelly - PHB	
Día de trabajo	$K_{sa}^* l/(h \cdot m^2)$	$K_{obs}^* h^{-1}$	$K_{sa}^* l/(h \cdot m^2)$	$K_{obs}^* h^{-1}$	$K_{sa}^* l/(h \cdot m^2)$	$K_{obs}^* h^{-1}$
11	$1,63 \cdot 10^{-4}$	$8,8 \cdot 10^{-1}$	$1,47 \cdot 10^{-4}$	$8,8 \cdot 10^{-1}$	$8,9 \cdot 10^{-4}$	$6,1 \cdot 10^{-1}$
21	$9,62 \cdot 10^{-5}$	$5,2 \cdot 10^{-1}$	$8,5 \cdot 10^{-5}$	$5,2 \cdot 10^{-1}$	$6,8 \cdot 10^{-4}$	$4,7 \cdot 10^{-1}$
28	$6,09 \cdot 10^{-5}$	$3,3 \cdot 10^{-1}$	$5,45 \cdot 10^{-5}$	$2,9 \cdot 10^{-1}$	$3,46 \cdot 10^{-4}$	$2,3 \cdot 10^{-1}$
40	$6,91 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-1}$	$6,68 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-1}$	$1,85 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-1}$

(continuación)

Día de trabajo	$K_{sa} \text{ l}/(\text{h}\cdot\text{m}^2)$	$K_{obs} \text{ h}^{-1}$	$K_{sa} \text{ l}/(\text{h}\cdot\text{m}^2)$	$K_{obs} \text{ h}^{-1}$	$K_{sa} \text{ l}/(\text{h}\cdot\text{m}^2)$	$K_{obs} \text{ h}^{-1}$
55	$7,3 \cdot 10^{-5}$	$4,2 \cdot 10^{-1}$	$3,67 \cdot 10^{-5}$	$2,2 \cdot 10^{-1}$	$1,14 \cdot 10^{-4}$	$0,8 \cdot 10^{-1}$
63	$6,10 \cdot 10^{-5}$	$3,5 \cdot 10^{-1}$	$8,18 \cdot 10^{-5}$	$4,9 \cdot 10^{-1}$	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$2,2 \cdot 10^{-1}$
75	$9,33 \cdot 10^{-5}$	$5,4 \cdot 10^{-1}$	$1,40 \cdot 10^{-4}$	$8,4 \cdot 10^{-1}$	$4,45 \cdot 10^{-3}$	3,05
82	$1,3 \cdot 10^{-4}$	$7,8 \cdot 10^{-1}$	$3,1 \cdot 10^{-4}$	1,85	$5,54 \cdot 10^{-3}$	3,8
Valor mínimo	$6,09 \cdot 10^{-5}$	$3,3 \cdot 10^{-1}$	$3,67 \cdot 10^{-5}$	$2,2 \cdot 10^{-1}$	$1,14 \cdot 10^{-4}$	$0,8 \cdot 10^{-1}$
Valor máximo	$1,63 \cdot 10^{-4}$	$8,8 \cdot 10^{-1}$	$3,1 \cdot 10^{-4}$	1,85	$5,54 \cdot 10^{-3}$	3,8
* K_{sa} = constante cinética específica; K_{obs} = constante cinética aparente						

A partir de los datos reportados en la Tabla 6, está claro que los dos sistemas experimentales, que solo contienen una mezcla de arena y ZVI, muestran durante la mayor parte del período experimental una constante aparente, K_{obs} , mayor que la mostrada para el sistema que también contiene PHB. Sin embargo, como se indicó anteriormente, esta constante depende en gran medida de la cantidad de material reactivo que se utiliza, que en este caso es notablemente mayor en los dos sistemas que contienen ZVI solo. Como se esperaba, dicho valor tiende, a lo largo del período de operación de los aparatos, a disminuir, luego se estabiliza a un valor mínimo que generalmente se mantiene bastante constante a lo largo del tiempo. En el caso específico descrito, por otro lado, se observa un claro aumento de la reactividad, comenzando desde un punto específico en adelante, dicho fenómeno se discutirá más ampliamente a continuación.

Si se comparan las constantes cinéticas específicas de los tres sistemas, k_{sa} , se observa que el sistema que contiene PHB revela una reactividad siempre mayor que los otros dos sistemas, incluso durante el período de operación que precede al aumento general de la reactividad. Esto parecería ser atribuible solo a la presencia del polímero, permitiendo obtener, entre los diversos efectos, una mayor reactividad específica de los medios reactivos.

En la Figura 10 se muestra la tendencia de la constante cinética aparente al variar el tiempo de operación de los tres aparatos experimentales. Como se dijo anteriormente, al 57^{vo} día de trabajo de los aparatos experimentales, se observa una variación significativa de la tendencia de la constante cinética aparente. Tal fenómeno es probablemente imputable al cambio de la alimentación, derivado de un piezómetro diferente; esto causó un efecto evidente en la operación del aparato experimental. Como se expone claramente en la Figura 11, todos los sistemas tienen una cinética de degradación significativamente acelerada y la columna ZVI-PHB muestra el aumento más pronunciado. El aumento observado de la reactividad resulta aún más significativo, si se considera que las pruebas analizadas son aquellas realizadas a la velocidad lineal más alta de cruce de columna, correspondiente al tiempo de residencia más corto.

El comportamiento observado no puede ser imputable a una composición inorgánica diferente del agua de alimentación que se utiliza, como se establece en la Figura 5. Los análisis de cloruros y sulfatos, que son los aniones que se producen principalmente, indican una superposición completa de ambas aguas.

Además, la concentración de contaminante parece ser incapaz de explicar los diferentes comportamientos observados.

Una explicación probable es la presencia de microorganismos de descloración existentes a una concentración significativamente mayor en el agua utilizada para alimentar el sistema a partir del 57^{vo} día. La actividad de descloración biológica se resume así a la ya realizada por el hierro de valencia cero.

Además, esta hipótesis explica el mayor aumento de eliminación observado específicamente en la columna que contiene PHB, en la que la presencia del polímero es capaz de soportar y promover la actividad de descloración biológica en un grado significativamente mayor en relación con ZVI solo.

Teniendo en cuenta que la columna ZVI-PHB contiene una concentración de hierro 5 veces menor que los otros dos sistemas, el aumento obtenido de la reactividad del sistema experimental es realmente fundamental. Este comportamiento puede estar relacionado con la liberación de ácidos grasos volátiles (VFA), como los ácidos acético

y butírico, producidos por la fermentación anaeróbica del polihidroxibutirato, promovida por el ambiente reductor creado por la corrosión del hierro de valencia cero.

En la Figura 12 se muestran los perfiles de pH y concentración de los ácidos grasos volátiles globales (la suma de los ácidos acético y butírico) determinados en diferentes días de trabajo en la columna ZVI-PHB.

- 5 De las tendencias de VFA, en relación con diferentes perfiles de concentración, se puede ver que la producción de ácidos comienza inmediatamente después del inicio del sistema. De hecho, justo después de 11 días de trabajo, se observa una producción marcada de ácidos grasos volátiles que alcanzan una concentración máxima, igual a 180 mg l⁻¹, después de 28 días de trabajo de la columna.

A continuación, la concentración tiende a estabilizarse en alrededor de 30 mg l⁻¹.

- 10 Este es el resultado de la rápida fermentación inicial de PHB debido a la presencia de una pequeña fracción en polvo (caracterizada por una superficie específica alta, es decir, una alta tasa de fermentación), que, una vez agotada, deja activa en la fermentación solo la fracción de pella. Esta última, caracterizada por una superficie específica más pequeña, permite una liberación más lenta y controlada de los productos de fermentación.

- 15 La producción de ácidos provoca un aumento de la reactividad del hierro después de efectos simultáneos, como la disminución del pH y la posible complejación del hierro por los ácidos grasos liberados, lo que conlleva una mayor actividad de la superficie de los medios reactivos que previenen o limitan la precipitación de sólidos que pueden hacer inerte la superficie formando capas menos conductoras.

- 20 Desde un punto de vista general, se puede observar que los datos experimentales observados para cada una de las tres condiciones investigadas (hierro Connelly (50 %), hierro Gotthart Maier (50 %) y hierro Connelly (10 %)-PHB (3 %)), fueron cinéticamente bien representables a través de un modelo de primer orden.

Ejemplo 2

Materiales y procedimientos

El ensayo se llevó a cabo en un laboratorio utilizando aparatos experimentales de flujo continuo, implementados específicamente para simular una porción de barrera permeable reactiva.

- 25 El aparato experimental consistió en 3 columnas de laboratorio de poli metil metacrilato (PMMA).

- 30 Se llenaron dos columnas con una mezcla de arena silíceo e hierro de valencia cero (Gotthart Maier, Gotthart Maier Metallpulver GmbH, Alemania) al 50 % en peso. En una de las dos columnas también se agregó una pequeña fracción de PHB como fuente de carbono de liberación lenta. La fracción de PHB que se agregó correspondió en general al 3 % en peso de la mezcla, y estaba compuesta por 0,12 g de polvo y 120 g de pellas. En lo sucesivo, las dos columnas se indicarán como Columna Fe y Columna Fe/PHB, respectivamente. La tercera columna, por otro lado, contenía una mezcla de arena y EHC®, un producto comercial patentado y comercializado por FMC; en los sucesivos se indicará como Columna EHC. El producto se añadió a la mezcla de arena al 1 % en peso.

- 35 En la Tabla 10 se divulga la composición promedio del producto. En detalle, es un material sólido formado por ZVI a microescala, con un alto desarrollo superficial, una fracción orgánica fácilmente biodegradable y parte de nutrientes para el desarrollo de la actividad biológica en el acuífero. Es un producto comercializado para la limpieza de aguas subterráneas, en particular para el tratamiento de etenos y etanos clorados. Por lo general, se usa como suspensión fluida con un alto contenido de sólidos, con una consistencia similar al lodo, y se inyecta adecuadamente en el acuífero, realizando al mismo tiempo una fuerte reducción química de los contaminantes así como una estimulación biológica.

- 40 En la Tabla 9 se divulga la composición de los agentes de carga de las tres columnas:

Tabla 9

	Columna Fe	Columna Fe/PHB	Columna EHC
ZVI (kg)	2,1	2,0	---
Arena (kg)	2,15	2,0	3,0
pellas de PHB (g)	---	120,13	---
Polvo de PHB (g)	---	0,12	---

(continuación)

	Columna Fe	Columna Fe/PHB	Columna EHC
EHC (g)	---	---	30,05

Tabla 10

Característica de EHC®	
Fe % de peso	18-48
Fracción de carbono orgánico % en peso	52-82

5 Cada columna estaba equipada con diez puertos de muestreo laterales provistos de una válvula mininert™ (VICI, Schenkon, CH) conectada a un tubo de acero provisto de aberturas a lo largo de todo el diámetro de la columna, lo que permite un muestreo significativo de la sección completa de la columna. Los aparatos experimentales se alimentaron desde el fondo de manera continua a través de una bomba peristáltica de canales múltiples. Durante los
10 primeros 180 días de trabajo se utilizó un agua subterránea real, derivada de un sitio contaminado. En los siguientes 100 días, se utilizó agua de una red de tuberías a la que se agregó contaminantes de interés, NaCl, Na₂SO₄ y NaNO₃ como contaminantes inorgánicos, y PCE y TCE en lo que respecta a la contaminación orgánica. Al final de esta etapa, la alimentación de los aparatos experimentales se realizó nuevamente con agua subterránea hasta el final del ensayo. Ambas soluciones de alimentación se almacenaron en bolsas de colapso automático, que consisten en Tedlar®, (SKC, Dorset, Reino Unido). Durante el ensayo, se analizaron varias tasas de alimentación para evaluar
15 los efectos de la variación de la velocidad lineal en el rendimiento general de eliminación.

El afluente y el efluente de las diferentes columnas se muestrearon con frecuencia, mientras que el muestreo lateral a lo largo de las alturas de las columnas se realizó periódicamente, con un intervalo temporal más amplio. La posición de cada puerto de muestreo se convirtió en tiempo de residencia hidráulica a través del conocimiento de la tasa de alimentación y la porosidad del relleno, previamente evaluado mediante la realización de una prueba con un
20 marcador conservador.

Cada muestra se analizó sucesivamente para determinar los siguientes parámetros analíticos: concentración de disolventes clorados, concentración de ácidos grasos volátiles, VFA (ácido acético y ácido butírico), concentraciones de aniones inorgánicos y medición del valor del pH.

25 La determinación de la concentración de compuesto clorado en las muestras tomadas de las columnas se realizó mediante análisis cromatográfico de gases de la fase gaseosa tomada del vial de espacio de cabeza utilizando un cromatógrafo de gases Dani GC 1000, equipado con columna capilar y detector FID (Detector de ionización de llama) y provisto de un automuestreador de espacio de cabeza HSS Dani 86.50.

La determinación de los ácidos grasos volátiles en las muestras tomadas de las columnas se llevó a cabo mediante análisis cromatográfico de gases utilizando Master GC-FID. La determinación de las concentraciones de aniones se
30 realizó mediante cromatografía iónica utilizando Dionex ICS-1000 IC equipado con un detector de conductividad y provisto de automuestreador Dionex AS40.

Para las mediciones de pH, se usó un medidor de pH Crison GLP 22 con un microelectrodo de vidrio, diafragma de cerámica y electrodo de referencia encapsulado Ag/AgCl.

35 Por lo tanto, durante el ensayo de la eficacia de un hierro comercial de valencia cero en la eliminación simultánea de disolventes clorados y contaminantes orgánicos, iones de nitrato e iones de sulfato, en la presencia o no de un polímero biodegradable, PHB, que actúa como fuente de carbono fue comparado. El objetivo de PHB era promover y apoyar la actividad biológica de especies bacterianas que ya existen en el agua subterránea. Además, los dos sistemas experimentales se compararon con un producto comercial, EHC, específicamente formulado y distribuido para eliminar disolventes clorados en un acuífero, tanto abióticamente como a través de la estimulación simultánea
40 de la actividad biológica de deshalogenación. Además de la población microbiana de descloración, otras poblaciones, como reductores de sulfato, desnitrificadores, metanógenos y todas aquellas bacterias que operan bajo condiciones similares a las de la descloración reductiva y se benefician de la liberación de sustratos en el acuífero, también están sujetas a estimulación inducida por EHC. Para los tres sistemas implementados, se evaluó la eficacia de los medios reactivos en los términos de porcentaje de aplacamiento y variación del rendimiento durante la
45 operación.

En la figura 22 se muestran las tendencias de las concentraciones normalizadas, la proporción de C a C₀, PCE y TCE en relación con diferentes tiempos experimentales. La columna Fe/PHB a lo largo del ensayo muestra una reactividad mayor que la columna Fe, al eliminar por completo ambos contaminantes, aunque exhibe una pérdida lenta y progresiva de la actividad. La columna EHC, incluso si en primer lugar muestra una reactividad similar a los otros dos sistemas experimentales, exhibe una rápida pérdida de reactividad con el tiempo, de tal manera que después de solo tres meses de trabajo, el sistema parece ser incapaz de eliminar los contaminantes probados, excepto por una pequeña fracción.

En cuanto a la eliminación del ion de nitrato de las aguas, en las figuras 23 y 26 se puede observar que se confirma el aumento del rendimiento de ZVI, si PHB está presente. A lo largo del período experimental, aunque evidencia una reducción lenta y progresiva de la tasa de eliminación, esta última se mantiene siempre bastante alta, asegurando la eliminación del ion de nitrato después de aproximadamente 20 cm de medios reactivos bajo las peores condiciones registradas. Por otro lado, la columna Fe muestra una primera disminución del rendimiento y luego un aumento de la reactividad al aumentar el tiempo operativo.

Con respecto a la columna EHC, se observa una primera alta reactividad, que luego disminuye rápidamente, hasta obtener una eliminación bastante pobre, no se observa más del 40 % de la concentración inicial, como se muestra en la figura 24. Se observa además que ambas columnas que contienen hierro pueden eliminar el nitrato durante el período experimental que se analiza, aunque la columna Fe muestra una ligera inflexión de la eliminación durante la etapa de alimentación con agua de la red de tuberías. Este evento, junto con el anterior, conduciría a asumir la actividad concomitante de microorganismos desnitrificantes dentro del sistema. De hecho, la primera disminución de la reactividad, un fenómeno típicamente observado para ZVI, es seguida por un aumento significativo que podría estar relacionado con el efecto sinérgico de los fenómenos biológicos de eliminación. Se puede suponer que los microorganismos responsables de la desnitrificación, como es de esperar, necesitan un período de inducción requerido para adaptarse a las condiciones experimentales y desarrollar la actividad metabólica completa. Una vez que se establecen los procedimientos biológicos estables, producen una acción sinérgica, junto con ZVI, para la eliminación del ion de nitrato. La disminución del rendimiento de la columna de Fe observada durante el período de operación con el agua de la red de tuberías enfatiza aún más la importancia de la fuente de carbono, específicamente PHB, que está ausente en este sistema experimental. De hecho, el nuevo régimen de alimentación del sistema, probablemente caracterizado por una menor concentración de microorganismos desnitrificantes y principalmente por una menor presencia de sustratos, provoca una marcada reducción de la eliminación del ion de nitrato. Tal efecto no se observa en la columna Fe/PHB probablemente debido a la presencia del polímero que por el contrario asegura la presencia continua de sustrato orgánico requerido para el metabolismo microbiano.

Por lo tanto, PHB además de realizar una acción de mejora en los rendimientos de ZVI, en términos de reactividad y longevidad de los medios reactivos, permite un establecimiento más rápido de la actividad de degradación biológica y evita que la biomasa tenga variaciones de composición del agua a tratar. El ion de nitrito nunca se detectó, lo que confirma que la eliminación del ion de nitrato podría atribuirse a una acción sinérgica entre la actividad abiótica y biótica, respaldada por la presencia de PHB.

Durante el ensayo, también se monitorizó la concentración de iones sulfato a través de muestras de flujo de entrada y flujo de salida, y a través de perfiles de concentración a lo largo de las columnas, para determinar mejor el grado de reactividad hacia dicho compuesto.

Los datos que se muestran en la figura 26 están relacionados con los diferentes perfiles de concentración realizados durante la primera etapa experimental. Se observa que la columna de Fe no muestra una eliminación relevante de iones de sulfato, lo que indica que el hierro de valencia cero bajo las condiciones experimentales adoptadas no puede reducir el sulfato. Por lo tanto, se puede afirmar que no hay reducción abiótica del hierro. Los datos relativos a la columna Fe/PHB muestran, por otro lado, una marcada tendencia al alza de la eliminación de sulfato al aumentar el tiempo de funcionamiento del aparato experimental. Esto puede explicarse suponiendo que la eliminación observada se debe principalmente a la actividad biológica, más que a la abiótica, en particular por las bacterias reductoras de sulfato (SRB). Por lo tanto, el aumento del rendimiento a lo largo del tiempo se debe exclusivamente, como en el caso de la desnitrificación, al período de inducción biológica para establecer las condiciones adecuadas para la actividad biológica y finalmente, para el desarrollo de una biomasa adherida de manera estable al agente de carga de la columna. Por lo tanto, parece claro que la presencia de PHB y sus productos de degradación, como fuente de carbono generalmente puede promover y apoyar la actividad biológica. Además, es probable que la acción de tampón de los ácidos grasos producidos por PHB desarrolle un ambiente más adecuado para el desarrollo de bacterias reductoras de sulfato.

Con respecto a la columna EHC, los datos muestran, después de una etapa de inducción inicial, una eliminación rápida y completa del ion de sulfato (perfil después de 36 días). A continuación, el rendimiento del sistema empeora rápidamente, en la medida en que la eliminación resulta casi totalmente ausente después de solo 78 días. Probablemente la fracción de carbono por fermentación muy rápida, más rápida que PHB, ha establecido rápidamente las condiciones óptimas para el crecimiento de SRB. Sin embargo, dicha fracción orgánica se agota rápidamente de manera similar, por lo que también falla la actividad biológica.

Como se establece en la figura 27, en la siguiente etapa, específicamente la alimentación con agua de la red de tuberías, la eliminación de iones sulfato disminuye significativamente en la columna Fe/PHB. Una carga bacteriana más baja, en particular de los reductores de sulfato, probablemente causó una reducción de la biomasa activa dentro de la columna y, en consecuencia, una menor eliminación de sulfato. Por el contrario, las otras dos columnas corroboran lo observado en la primera etapa. En la tercera etapa, después del reemplazo de la alimentación con agua subterránea, se observa un rápido aumento del rendimiento hasta la eliminación completa en la columna Fe/PHB.

Ejemplo 3

Materiales y procedimientos

El estudio de la movilidad de los contaminantes se realizó a través de un aparato experimental capaz de simular una fuente secundaria típica como fase separada, que se encuentra en escenarios reales de contaminación por DNAPL de los acuíferos.

El aparato experimental está provisto de dos puntos de muestreo ubicados en el lado inferior y superior de la columna (un puerto denominado ENTRADA y un puerto denominado SALIDA) y cuatro puertos laterales. El agente de carga consiste en una cantidad conocida de arena (3,017 kg), cuidadosamente empaquetada para evitar la formación de caminos preferenciales durante el flujo posterior del fluido de alimentación. La columna se alimentó, a través de una bomba peristáltica, con agua destilada derramada dentro de una bolsa de colapso automático Tedlar® (SKC, Dorset, Reino Unido). La tasa de alimentación se ajustó a 0,5 ml/min.

Después de la caracterización a través de la prueba del marcador, se inyectaron 40 ml de una mezcla V/V al 50 % de 1,2-dicloroetano y 1,1,2,2-tetracloroetano, seleccionados como compuestos objetivo para el ensayo, dentro de los medios porosos. Dichos compuestos son representativos de diversos escenarios de contaminación real y representan bien la clase de disolventes clorados.

La fuente residual de contaminación se obtuvo mediante la inyección (clavo) a través de los puertos laterales de una mezcla 50 % V/V de los dos contaminantes dentro de la cama de arena.

El sistema, durante una primera etapa, se alimentó exclusivamente con una fase acuosa tal que simule el flujo natural de un agua subterránea. Sucesivamente, después de repetir la siembra de contaminante, la columna se alimentó con el efluente de un sistema experimental, columna de laboratorio, colocada corriente arriba del presente aparato y que contiene PHB. El efluente se caracterizó por la presencia de ácidos grasos volátiles (VFA), derivados de la fermentación del PHB contenido en el sistema corriente arriba. Los dos sistemas juntos tenían como objetivo simular el posible uso de PHB como un medio capaz de afectar la fuente de contaminación, incluso desde el punto de vista de la movilidad de los componentes de la fase residual.

Con el fin de comprender mejor los resultados experimentales, a continuación se discutirán los resultados derivados de la caracterización dinámica de fluidos del sistema realizada a través de la prueba con un marcador conservador. La prueba del marcador se realizó antes de la inyección de la mezcla simulando la fase residual de DNAPL, utilizando cloruro de sodio (NaCl), con una señalización gradual.

En la figura 15 se muestra la tendencia de la concentración de iones cloruro, que sale de la columna, en función del tiempo (curva de ruptura).

En la figura 16 la curva experimental de la distribución del tiempo de residencia $F(t)$, obtenida divulgando la concentración del marcador, normalizada a la concentración de flujo de entrada (C/C_0) como una función del tiempo, y se muestran las curvas teóricas relativas a un comportamiento ideal de agitación de flujo continuo perfecto (CSTR) y flujo de tapón PFR.

Los datos experimentales muestran que el comportamiento dinámico del fluido del sistema puede considerarse claramente similar al modelo de flujo de tapón con dispersión.

El tiempo de residencia hidráulica (T) se calculó como el área comprendida entre la línea horizontal trazada en correspondencia de $F(t)=1$ y la propia curva F (figura 13) y como punto de inflexión del sigmoide obtenido por regresión no lineal de los datos experimentales (figura 14).

El tiempo de residencia efectivo así calculado es igual, respectivamente, a 16,85 horas y 16,71 horas.

Suponiendo un valor promedio de T de 16,78 horas y conociendo el caudal real Q de la alimentación del marcador (0,63 ml/min), el volumen de los poros (V_0) se calculó mediante la ecuación:

$$V_0 = t_0 * Q$$

El valor calculado (V_0) es igual a 634 ml.

Dado que se conoce el volumen geométrico de la columna (V_c), 1.775 ml, la porosidad (ϵ) podría calcularse:

$$\epsilon = \frac{V_o}{V_c}$$

el valor obtenido fue de 0,36.

- 5 Finalmente, conociendo la longitud (l) de la columna, igual a 36,5 cm, y el tiempo de residencia promedio (t_0) con un caudal de 0,63 ml/min, se calculó la tasa promedio a través de los poros u:

$$u = \frac{L}{t_0}$$

resultando igual a 0,036 cm/min.

- 10 Los valores de solubilidad en agua de dicloroetano y tetracloroetano y la mezcla de los dos compuestos al 50 % V/V se determinaron experimentalmente mediante pruebas por lotes a temperatura ambiente. En particular, en un vial lleno completamente con agua destilada, se inyectó un volumen de compuesto puro (solo o mezclado) en una cantidad suficiente para obtener un precipitado bien detectable y, por lo tanto, una solución saturada. Para cuantificar la fracción solubilizada del compuesto, la solución saturada se analizó mediante cromatografía de gases del espacio de cabeza.

- 15 En la figura 15 y la Tabla 8, los valores de solubilidad obtenidos experimentalmente en diferentes pruebas en comparación con los descritos en la literatura se muestran gráfica y numéricamente.

Tabla 8

	1,2-DCA	1,1,2,2-TeCA
Solubilidad experimental (gl⁻¹)	9,05 ± 0,28	2,99 ± 0,18
Solubilidad en la literatura* (gl⁻¹)	8,52	2,97
Mezcla 50 % V/V	5,5 ± 0,19	1,47 ± 0,09
*CRC 2.001		

- 20 Con respecto a los compuestos individuales, los datos de solubilidad obtenidos experimentalmente son coherentes con los encontrados en la literatura. Además, como se sabe, la solubilidad disminuye al aumentar el número de átomos de cloro; de hecho, el tetracloroetano tiene una solubilidad en agua menor que el dicloroetano.

- 25 Con respecto a la mezcla de los compuestos, se observa un comportamiento diferente, en particular la solubilidad de ambos compuestos disminuye significativamente. Este efecto generalmente se representa en la literatura científica a través de una ecuación en la que la solubilidad en agua de un componente existente en la mezcla en relación con la del componente puro viene dada por el producto de la solubilidad del componente puro multiplicado por la fracción molar del componente en la mezcla.

Sin embargo, es interesante considerar las consecuencias que esto puede tener en vista de una actividad dirigida al tratamiento de la fuente de contaminación. La reducción de la solubilidad conduce a periodos más largos para agotar la fracción residual, un elemento que debe considerarse necesariamente durante el diseño.

- 30 La prueba realizada tiene el objetivo de verificar la movilidad de dos compuestos clorados estándar, DCA y TeCA, que se encuentran como fase separada en presencia y ausencia de un sistema corriente arriba que consiste en una mezcla de ZVI y PHB.

El sistema experimental fue monitorizado constantemente a través de tomas diarias de alícuotas de solución de efluente (puerto de salida) analizadas posteriormente para determinar su contenido de contaminantes. La prueba duró 95 días en su totalidad.

- 35 En las figuras 16 y 17 se divulgan las tendencias de la concentración de DCA y TeCA en función del tiempo de funcionamiento del aparato a partir de la inyección de la mezcla de los dos compuestos.

Los datos muestran una tendencia claramente decreciente a lo largo del tiempo, de la concentración de ambos compuestos clorados, significativamente más rápido para DCA y más lento para TeCA. La mayor solubilidad del dicloroetano afecta tanto su concentración máxima alcanzada durante la prueba, mayor que TeCA, como el tiempo de agotamiento de la fase separada. A flujos iguales de agua subterránea, se solubiliza una mayor cantidad, en términos de masa, de DCA, bien establecida en la figura 16 mediante el logro de un valor mínimo constante justo después de 15 días de trabajo. El valor de concentración particularmente bajo que se obtiene podría ser imputable al agotamiento casi completo de la fuente, específicamente a la presencia de una fracción residual de contaminante que puede ser difícilmente o no alcanzada por el flujo de agua. Por el contrario, se observan valores de concentración significativos de TeCA (figura 17) en el efluente durante un período superior a 40 días; a continuación, se observan concentraciones particularmente bajas incluso en este caso.

En ambos casos, DCA y TeCA, la concentración máxima obtenida resulta notablemente inferior a la solubilidad máxima de los dos compuestos previamente determinados, probablemente debido a la cinética de disolución lenta que generalmente caracteriza a los disolventes clorados.

La tasa del acuífero resulta por lo tanto en uno de los factores de control para la transferencia entre las dos fases. Aunque no fue objeto de pruebas específicas, se puede suponer razonablemente que reducir las tasas de acuíferos puede corresponder a mayores concentraciones. Este hecho no necesariamente podría conducir a una reducción del tiempo de residencia de la fuente, ya que debe evaluarse el producto de la concentración por el caudal además de la cantidad solubilizada para cuantificar la masa eliminada.

La segunda etapa del ensayo contempló así la conexión corriente arriba de la columna, utilizada para simular la fuente, de un aparato que contiene la mezcla de hierro de valencia cero y PHB. El objetivo de la prueba fue verificar los posibles efectos derivados de la presencia de dichos medios compuestos en la movilización de la fuente. Incluso si el contaminante inyectado durante la primera prueba no se agotó por completo, se realizó una segunda inyección que contenía las mismas cantidades de mezcla utilizadas durante la etapa anterior.

En las figuras 18 y 19 se muestran las tendencias de las concentraciones de 1,2-DCA y 1,1,2,2-TeCA, en comparación con las tendencias de la etapa anterior.

Se observa que para DCA el mínimo de la concentración se alcanza dentro de un tiempo claramente mayor que la etapa anterior, aproximadamente 30 días, así como la concentración máxima que se alcanza es mayor.

En cuanto a TeCA, se observan concentraciones significativamente mayores durante todo el período experimental considerado; además, no se observa una clara tendencia decreciente de la concentración, en contraste con las mostradas en la etapa anterior, este hecho llevaría a suponer, por un lado, la presencia de una fase residual cuantitativamente importante, por otro lado que la presencia del compuesto significa que ZVI-PHB ubicado corriente arriba afectaría positivamente la solubilización del compuesto.

Con el fin de evaluar mejor las diferencias entre las dos pruebas, en términos de masa solubilizada de contaminante, para cada compuesto se calculó la masa que fue eliminada gradualmente por el flujo del agua del aparato experimental, a partir de esto, finalmente se estimó el valor total de masa solubilizada de contaminante. Partiendo del conocimiento del caudal de alimentación y las concentraciones individuales determinadas para las diferentes muestras, se evaluó la cantidad diaria de compuesto que fluye hacia afuera del sistema experimental y, a partir de esto, la cantidad total.

Los datos reportados en las figuras 20 y 21 muestran la tendencia de la masa total del compuesto, expresada en g, que cruzó el sistema, referida a cada día de muestreo; cada punto se calcula como la suma de los puntos anteriores e indica la estimación de la masa solubilizada hasta el día de trabajo al que se refiere.

Las tendencias experimentales indican una diferencia entre DCA y TeCA. El DCA se solubiliza rápidamente y luego alcanza más rápidamente un equilibrio que indica que el compuesto, a partir de ese momento, no se solubiliza más significativamente.

Por el contrario, TeCA muestra un aumento significativamente más lento, pero sostenido, de su solubilización que, en ausencia del sistema corriente arriba que libera VFA, tiende a disminuir, mientras que en el segundo caso, sigue aumentando durante el tiempo del experimento. El comportamiento observado para DCA podría interpretarse de acuerdo con dos mecanismos diferentes: por un lado, la masa de la fase separada introducida en el sistema podría agotarse, por otro lado, todavía podría existir una masa residual que apenas es alcanzada por el flujo de agua o es menos soluble debido a las interacciones con el agente de carga que se está utilizando. La segunda hipótesis parece estar más respaldada al comparar el valor de masa estimado al final de la segunda etapa con el teórico agregado como fase separada. En la segunda etapa del ensayo se observa una mayor liberación de contaminante, conectada a una tasa de solubilización más rápida. En este caso la tendencia también alcanza un equilibrio, significativamente mayor que la de la primera etapa, igual a un valor de aproximadamente 37 g de 1,2-DCA solubilizado. Desde un primer análisis, dicho valor parecería ser incorrecto, considerando que en la segunda prueba, se usaron 24 g de DCA, lo que resultó en errores de muestreo o analíticos. Sin embargo, si se tiene en cuenta la suma de la masa total solubilizada durante las dos etapas experimentales, se obtiene un valor muy cercano al derivado de la suma de la masa de DCA utilizada para las dos inyecciones posteriores. Tal resultado parecería

indicar que en la segunda etapa, la fracción residual, no disponible en la primera etapa, se ha solubilizado concomitantemente a la masa inyectada posteriormente.

- Estas observaciones demuestran que la presencia de los medios compuestos corriente arriba de la fuente promueve, tanto en términos cualitativos como cuantitativos, la solubilización de la fase separada, haciendo que el compuesto esté más disponible para un tratamiento adicional corriente abajo de la columna generada. Una consecuencia directa es la reducción del tiempo requerido para el tratamiento de la fuente y por lo tanto para la limpieza de un sitio hipotético. Se pueden hacer consideraciones similares con respecto al TeCA, para lo cual, sin embargo, algunas diferencias deben ser enfatizadas. La más obvia es que, durante el período experimental analizado, la tendencia de la masa de TeCA solubilizada no alcanza el equilibrio, ciertamente causada por la menor solubilidad y una menor cinética de solubilización de este compuesto en relación con el DCA. Además, está claro que la presencia de la barrera corriente arriba de la fuente incluso en este caso acelera notablemente la solubilización del compuesto que la etapa experimental en la que estaba ausente, aunque nuevamente no se obtiene la eliminación completa de la fuente como fase separada.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de limpieza de aguas subterráneas contaminadas con disolventes clorados, nitratos y sulfatos que comprende las siguientes etapas:

a) extraer el agua subterránea contaminada del sitio de contaminación

5

b) poner en contacto el agua obtenida en la etapa a) con polihidroxibutirato (PHB)

c) devolver el agua obtenida en la etapa b) al sitio de contaminación

caracterizado porque las etapas desde a) a c) se llevan a cabo de manera continua y cíclica hasta el final del procedimiento de limpieza,

10

en el que alternativamente a la etapa b) en la etapa b') el agua obtenida en la etapa a) se pone en contacto simultáneamente con polihidroxibutirato (PHB) y una fuente de hierro de valencia cero.

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que antes de la etapa b) o b') el agua obtenida de la etapa a) en la etapa e) se pone en contacto con arena.

3. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que después de la etapa b) y antes de la etapa c) el agua obtenida en la etapa b) en la etapa d) se pone en contacto con hierro de valencia cero.

15

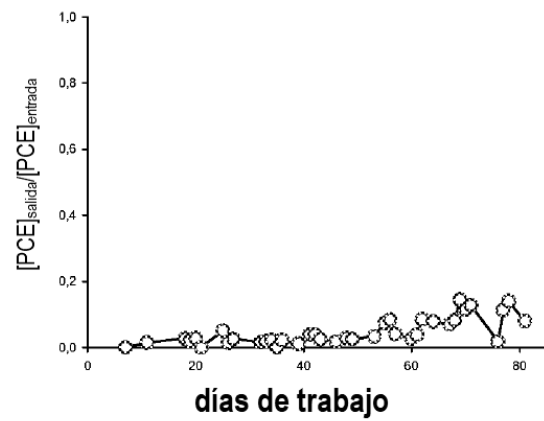
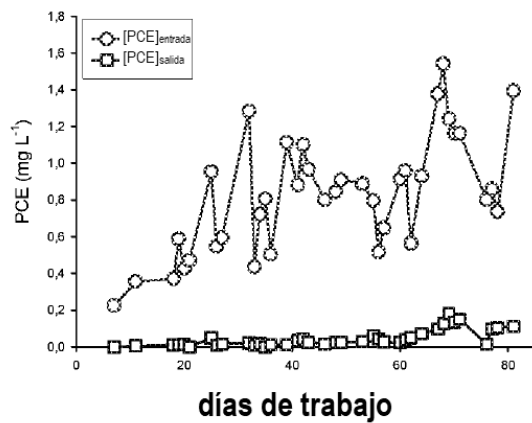


Figura 1

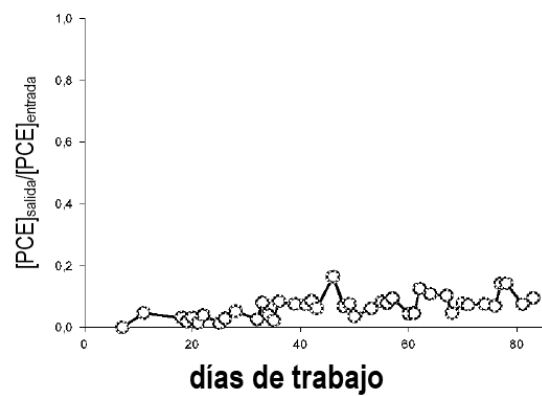
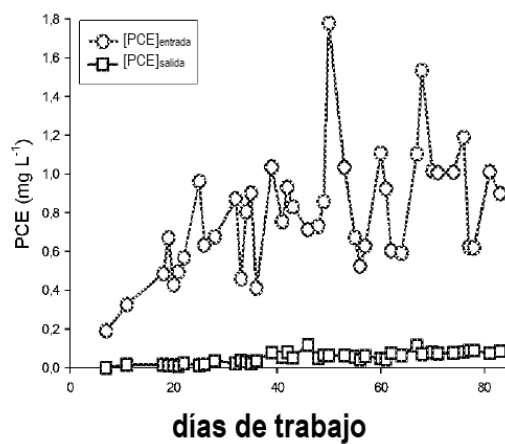


Figura 2

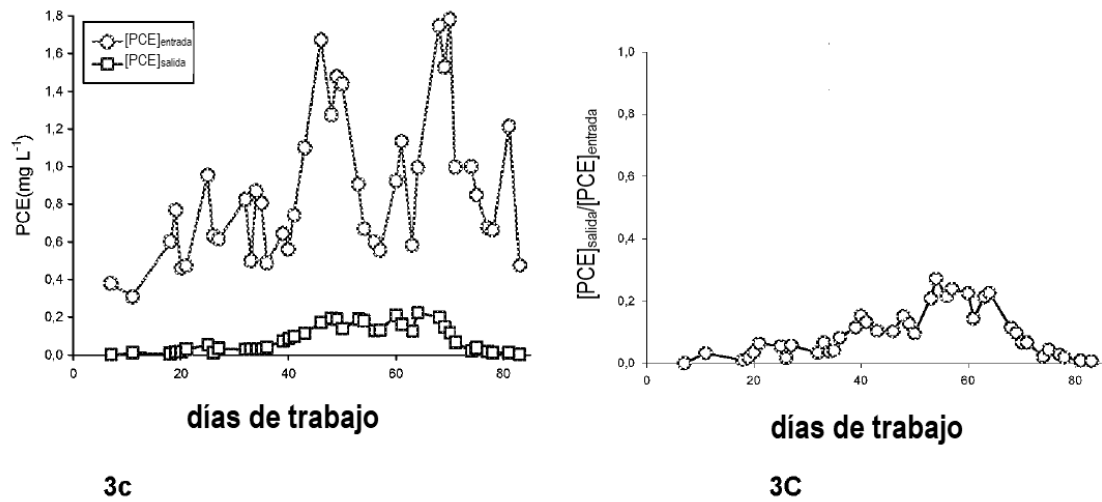


Figura 3

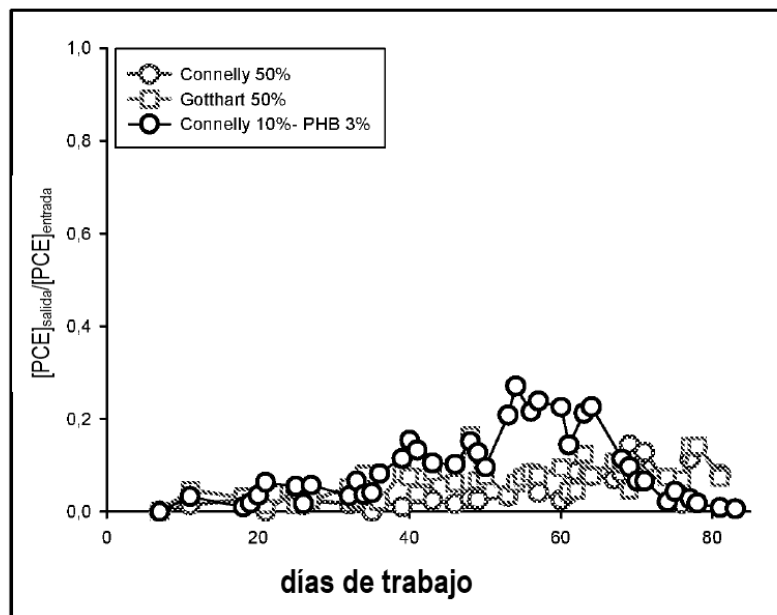


Figura 4

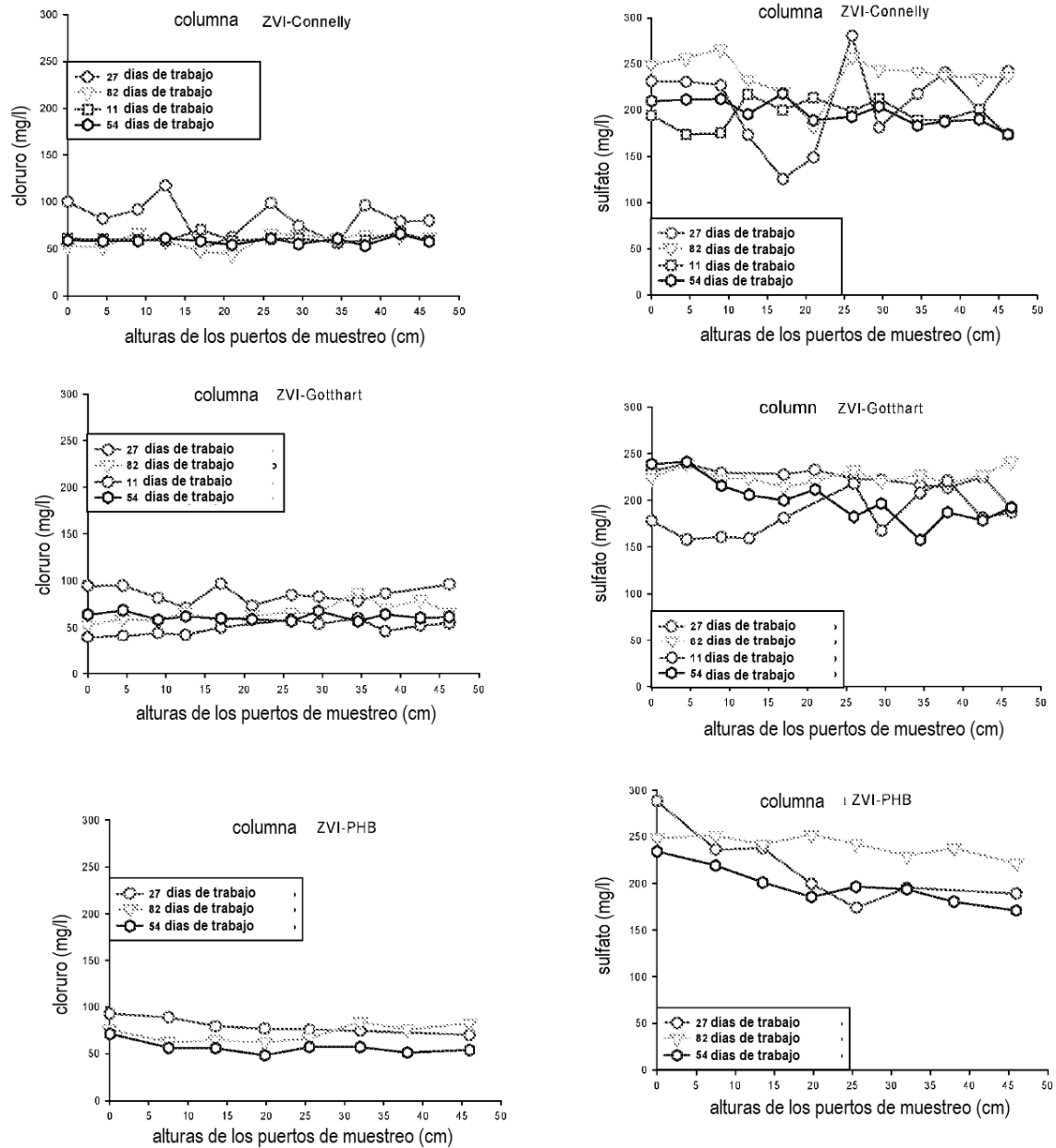
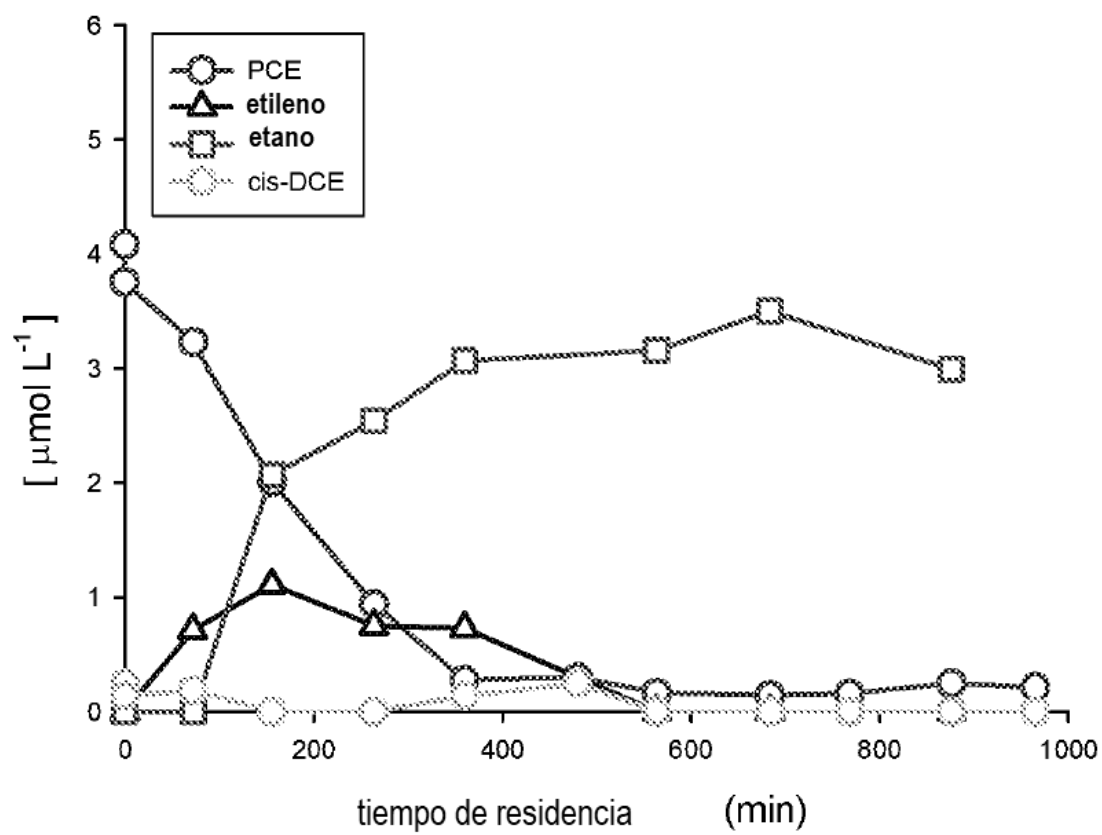


Figura 5

**Figura 6**

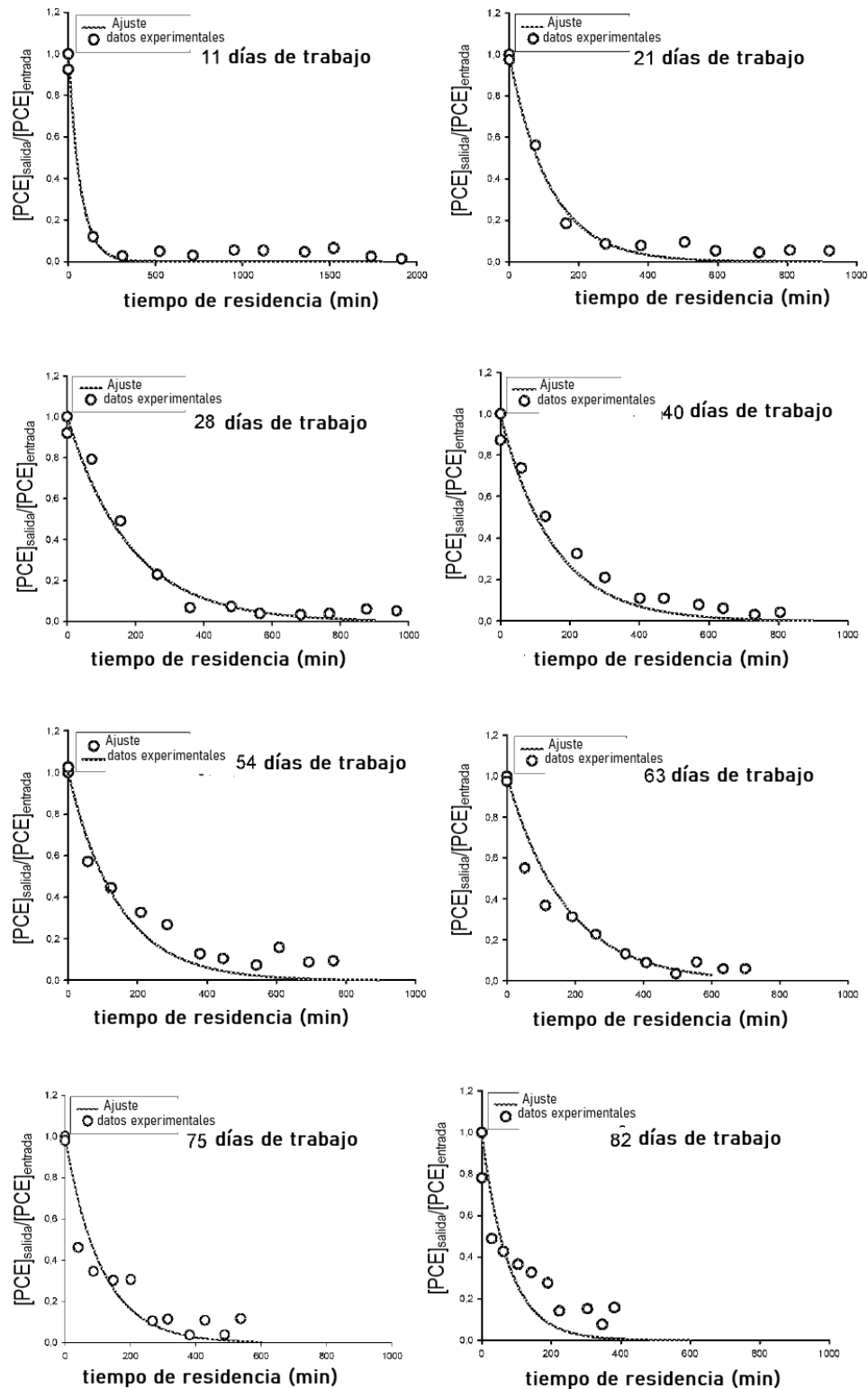


Figura 7

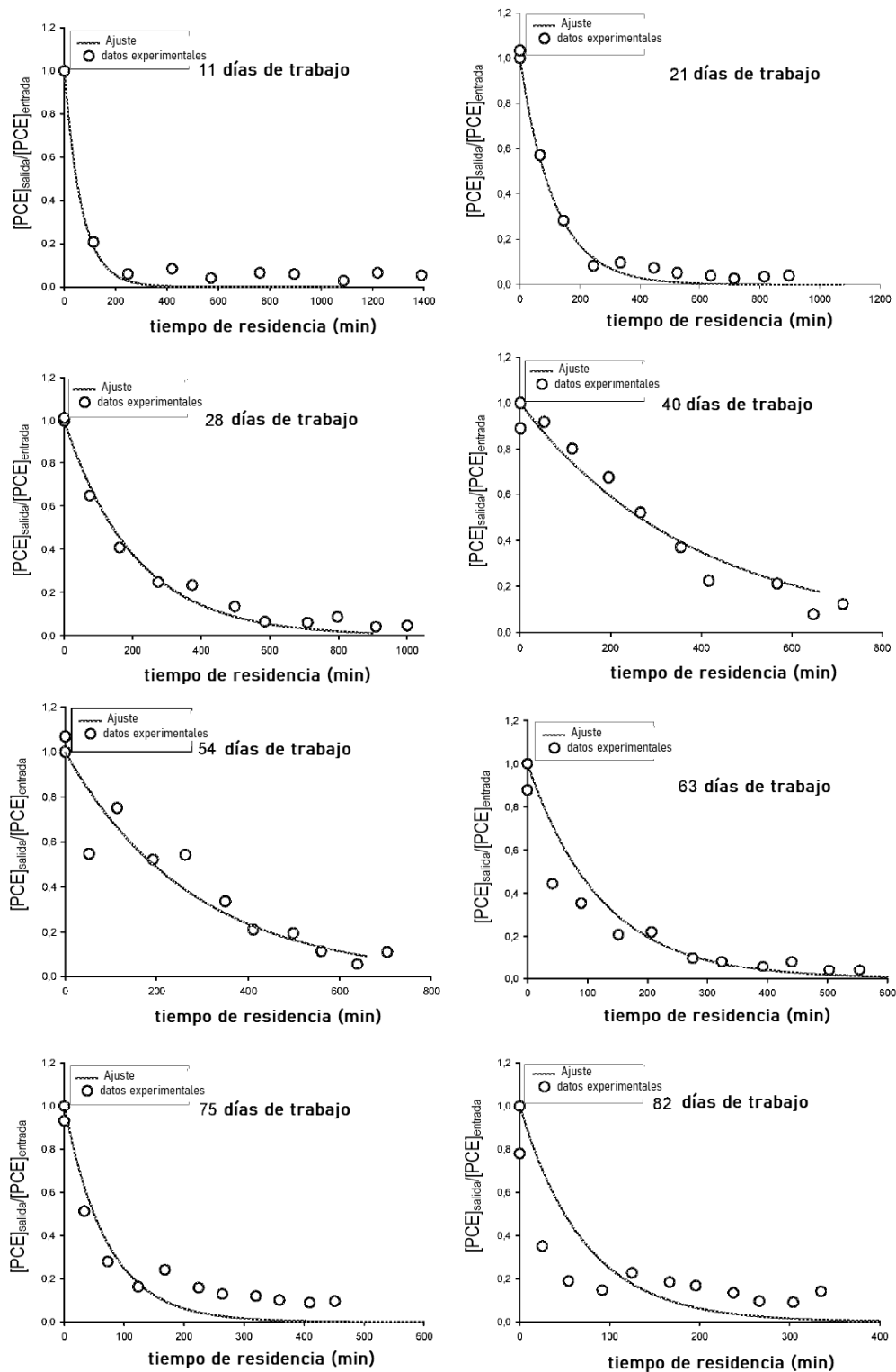


Figura 8

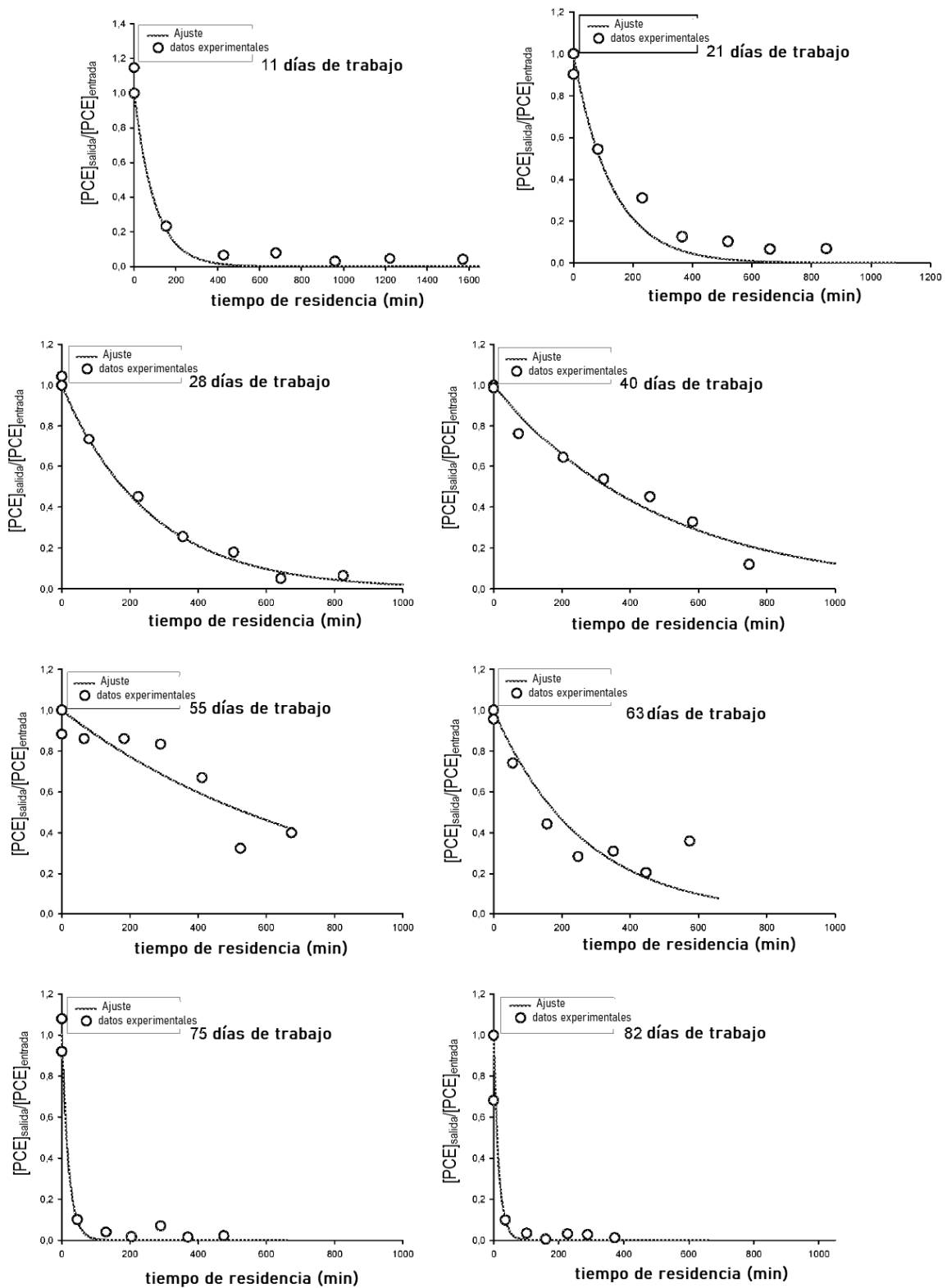


Figura 9

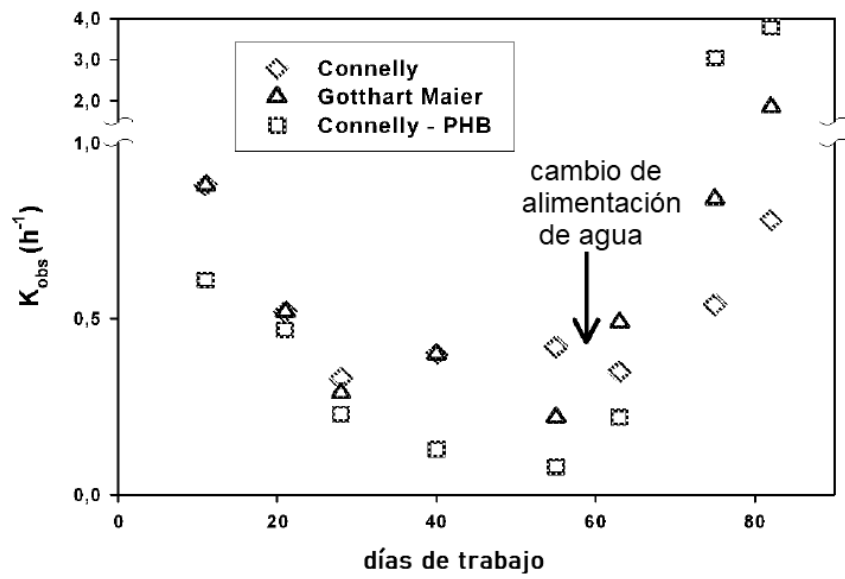


Figura 10

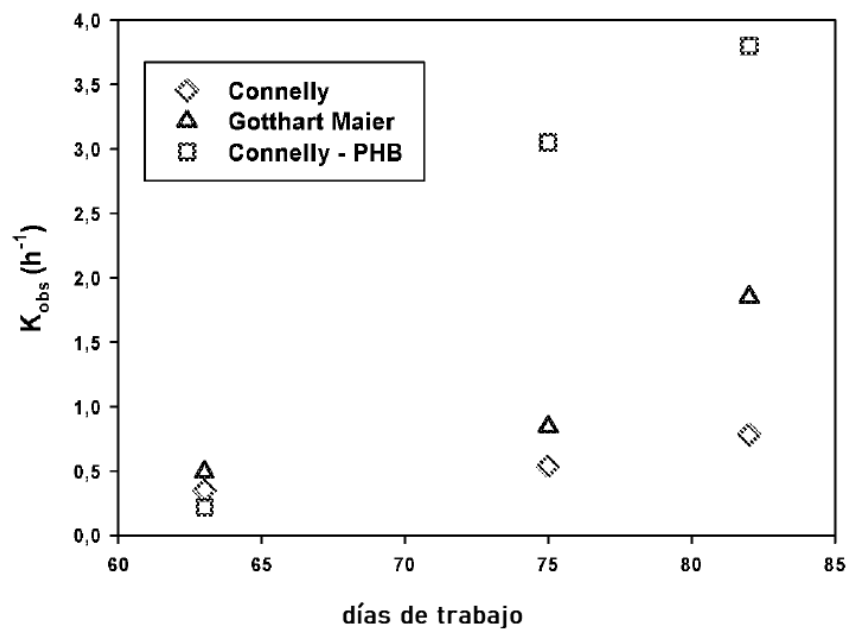


Figura 11

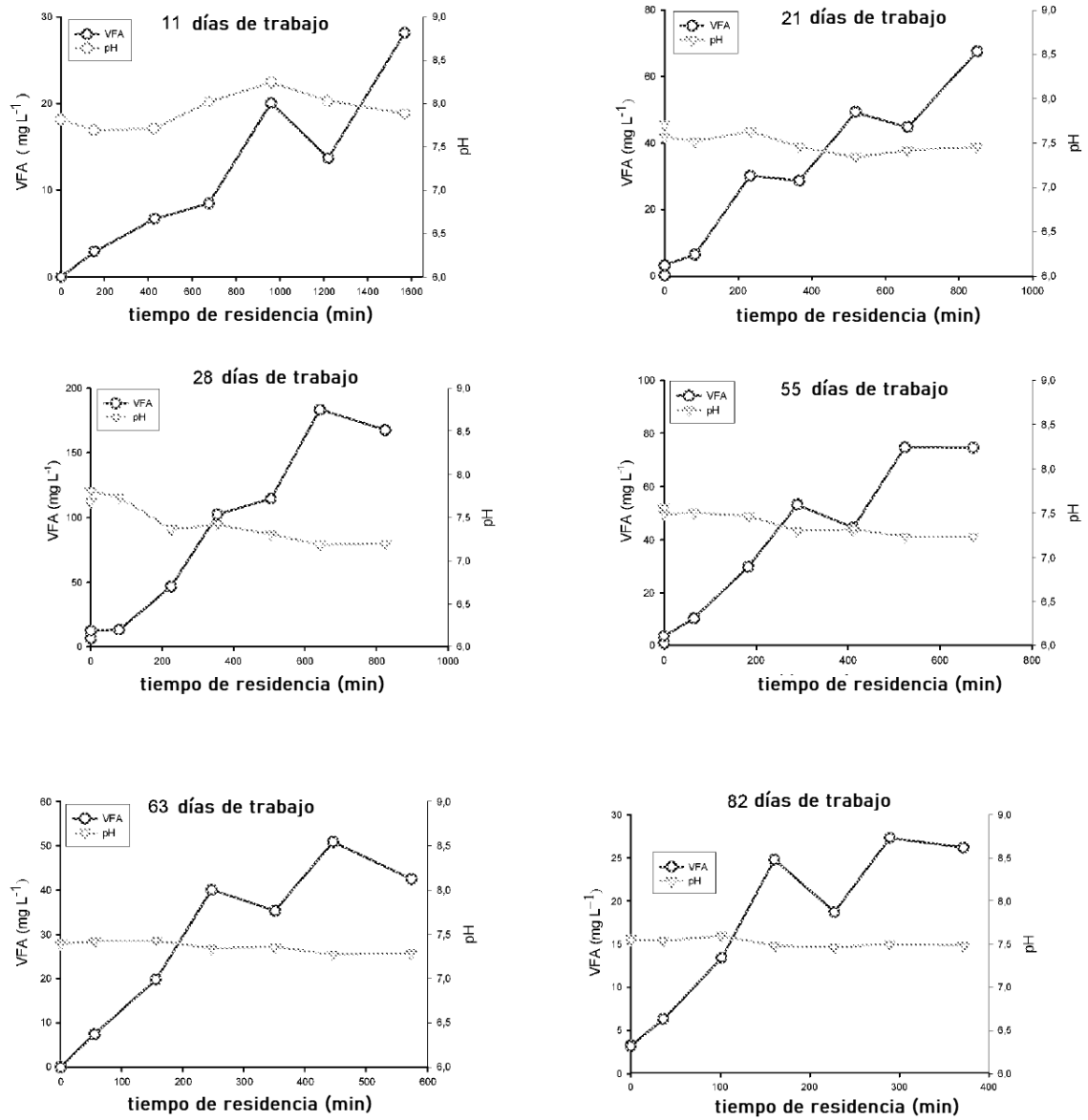


Figura 12

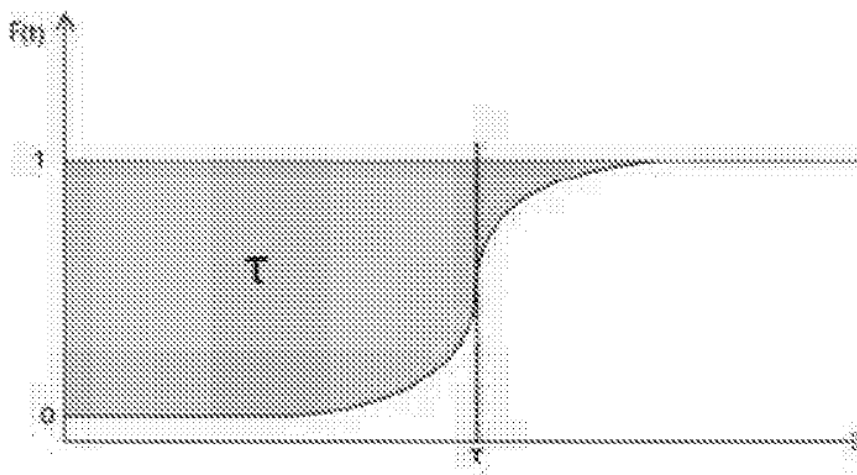


Figura 13

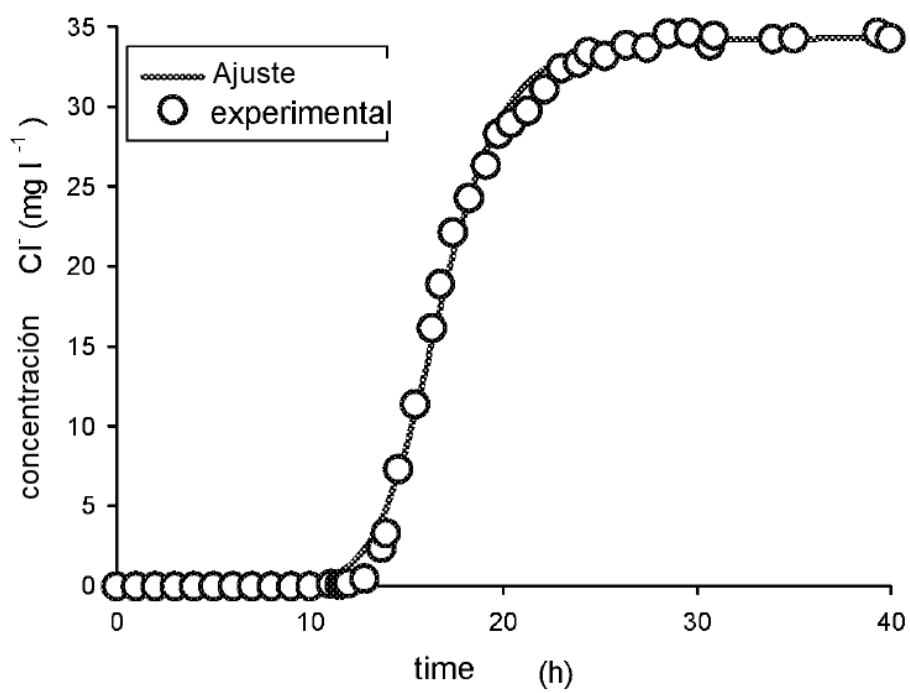


Figura 14

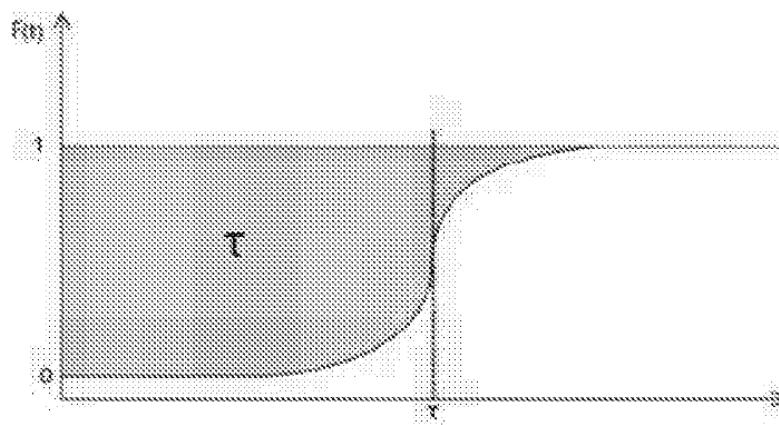


Figura 13

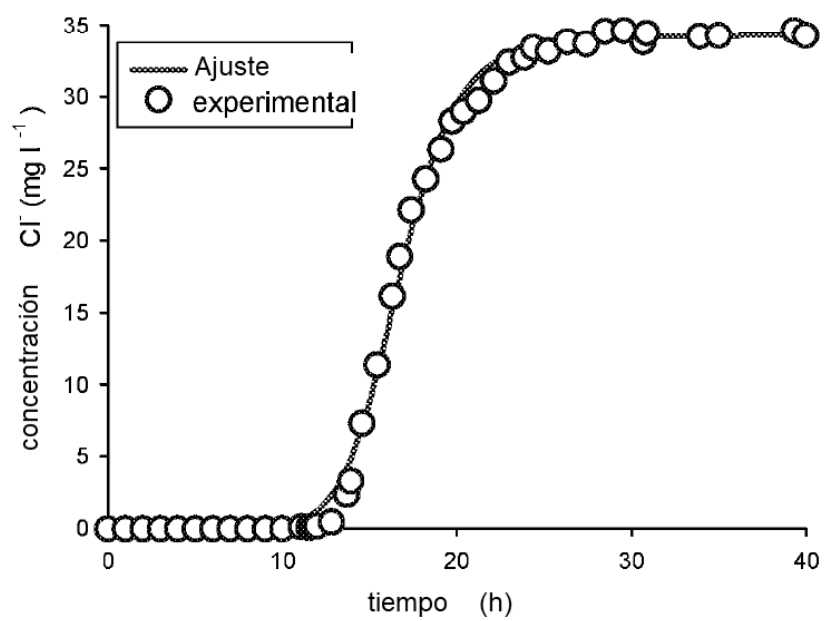


Figura 14

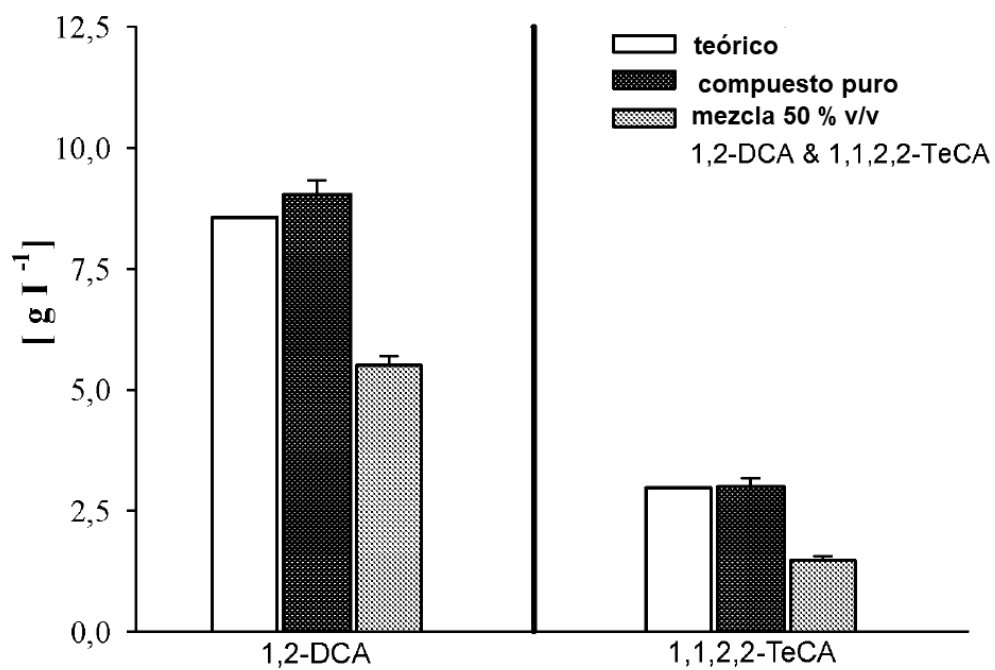


Figura 15

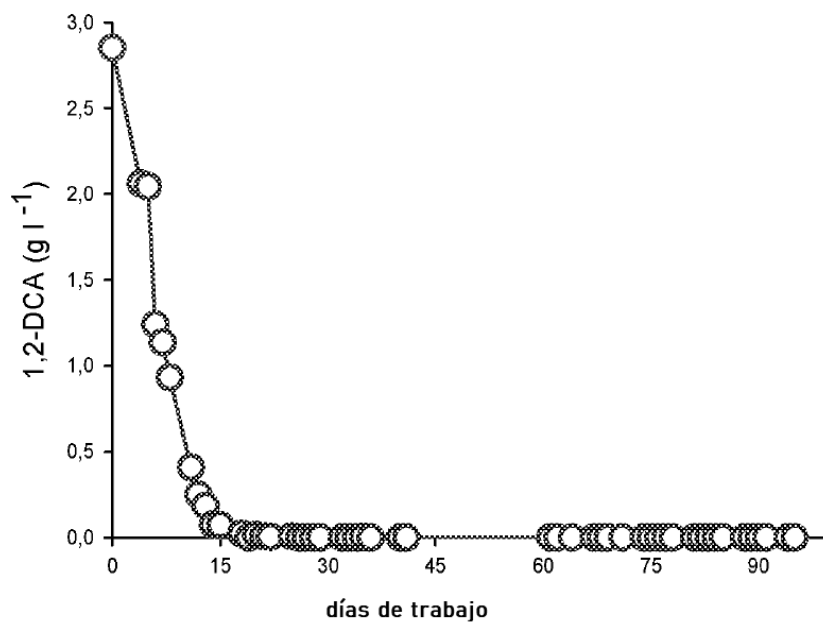


Figura 16

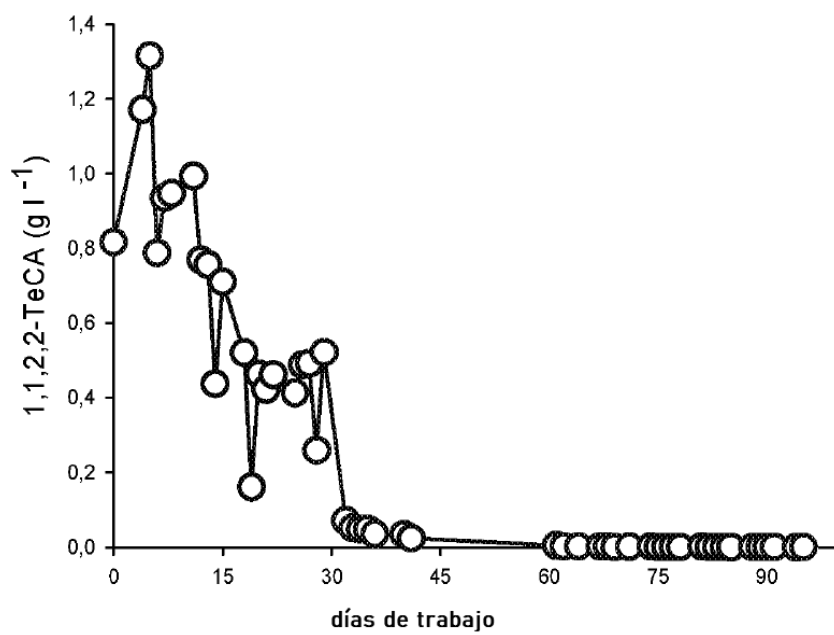


Figura 17

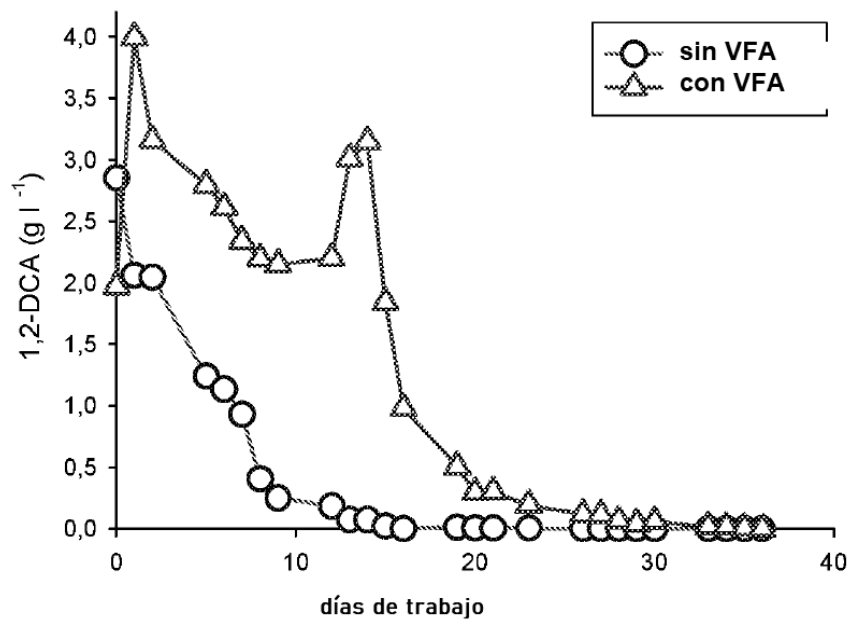


Figura 18

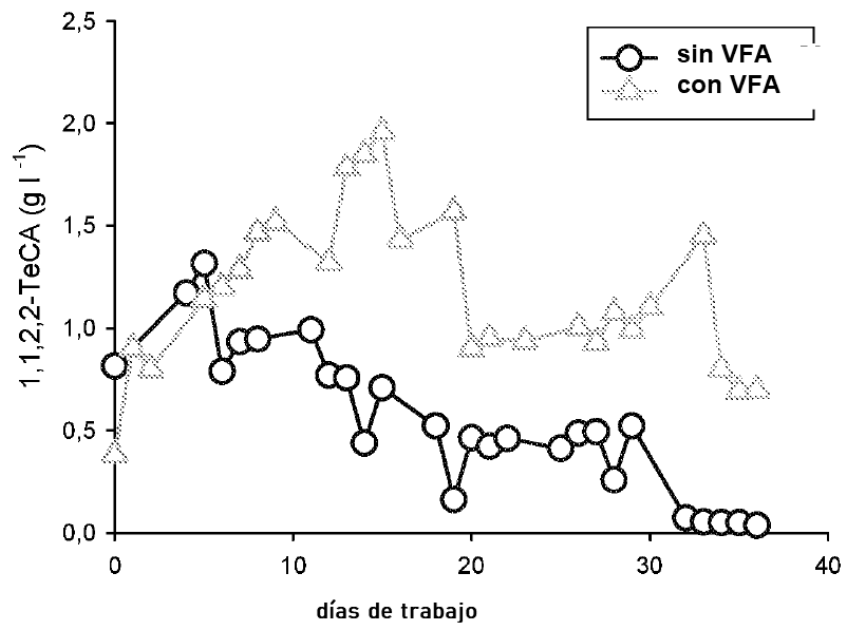


Figura 19

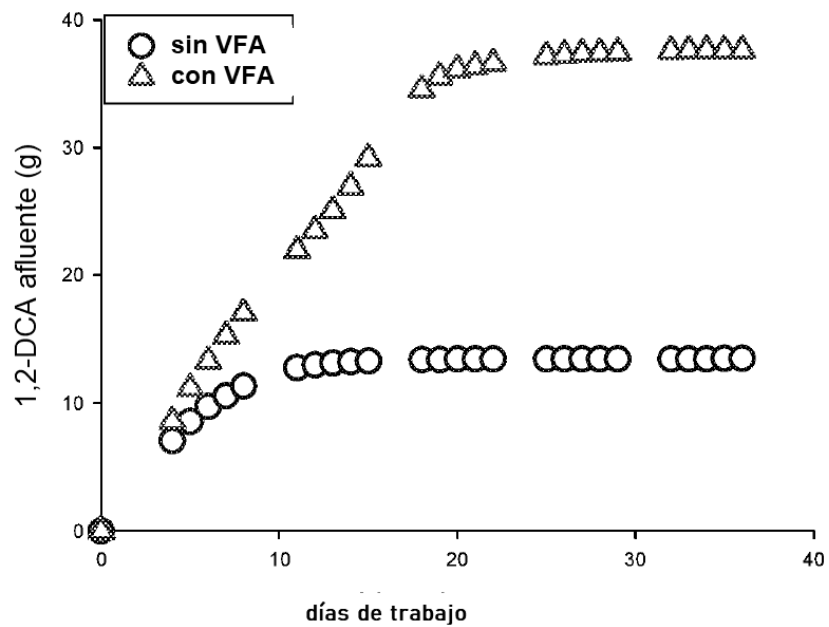


Figura 20

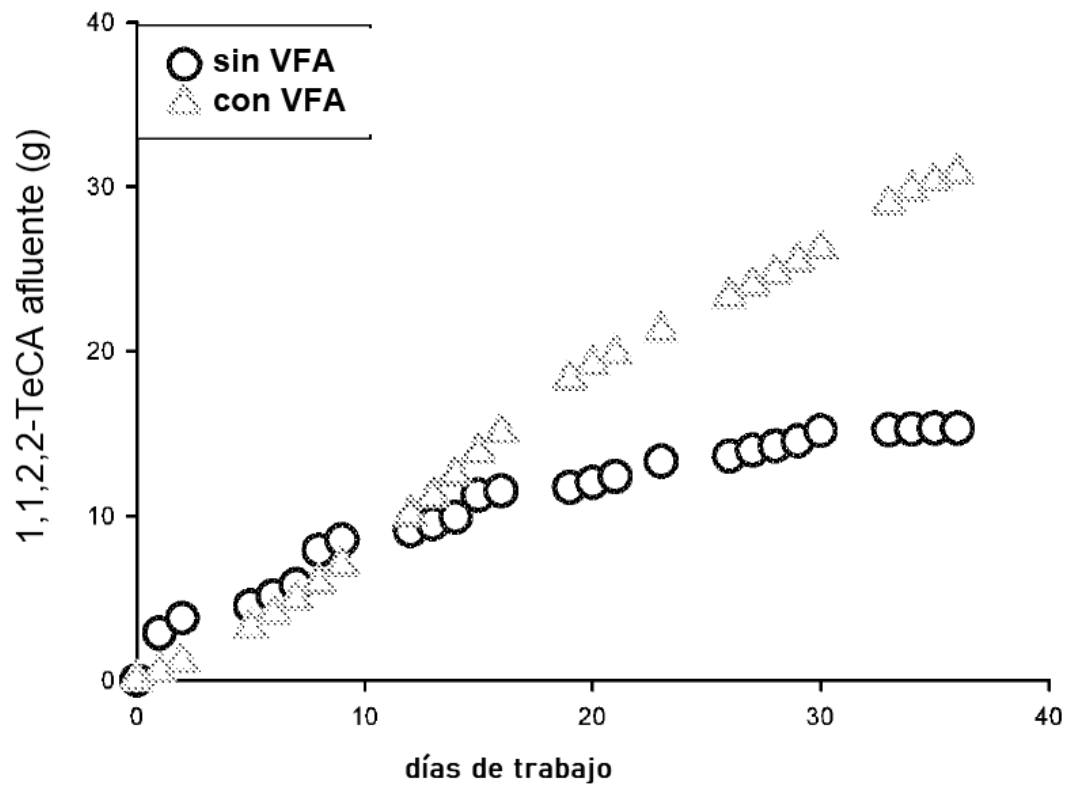
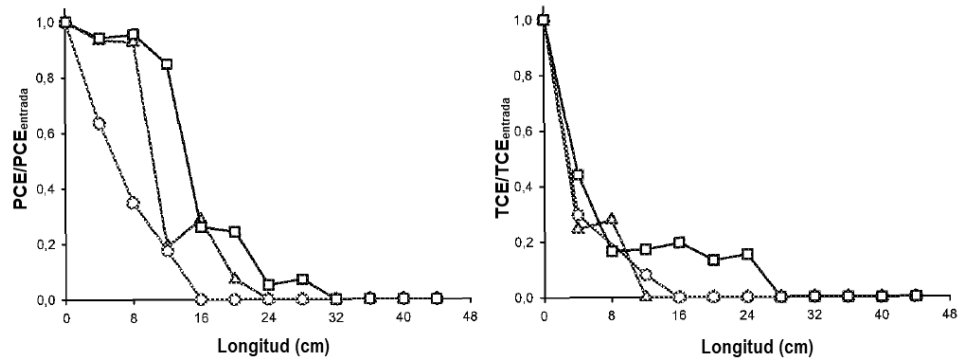
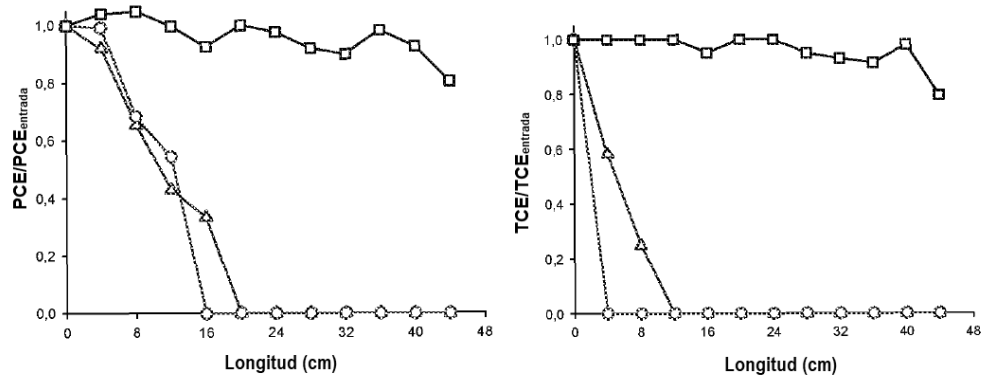


Figura 21

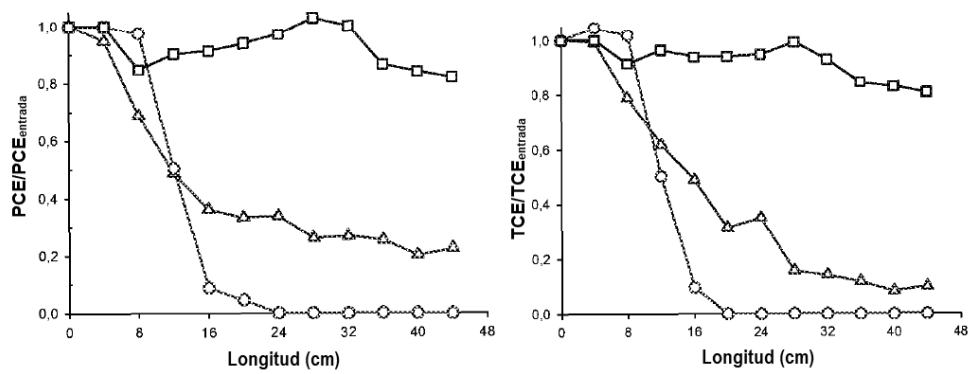
después de ensayo de 1 mes



después de ensayo de 3 mes



después de ensayo de 1 año



 Columna Fe
  Columna Fe/PHB
  Columna EHC

Figura 22

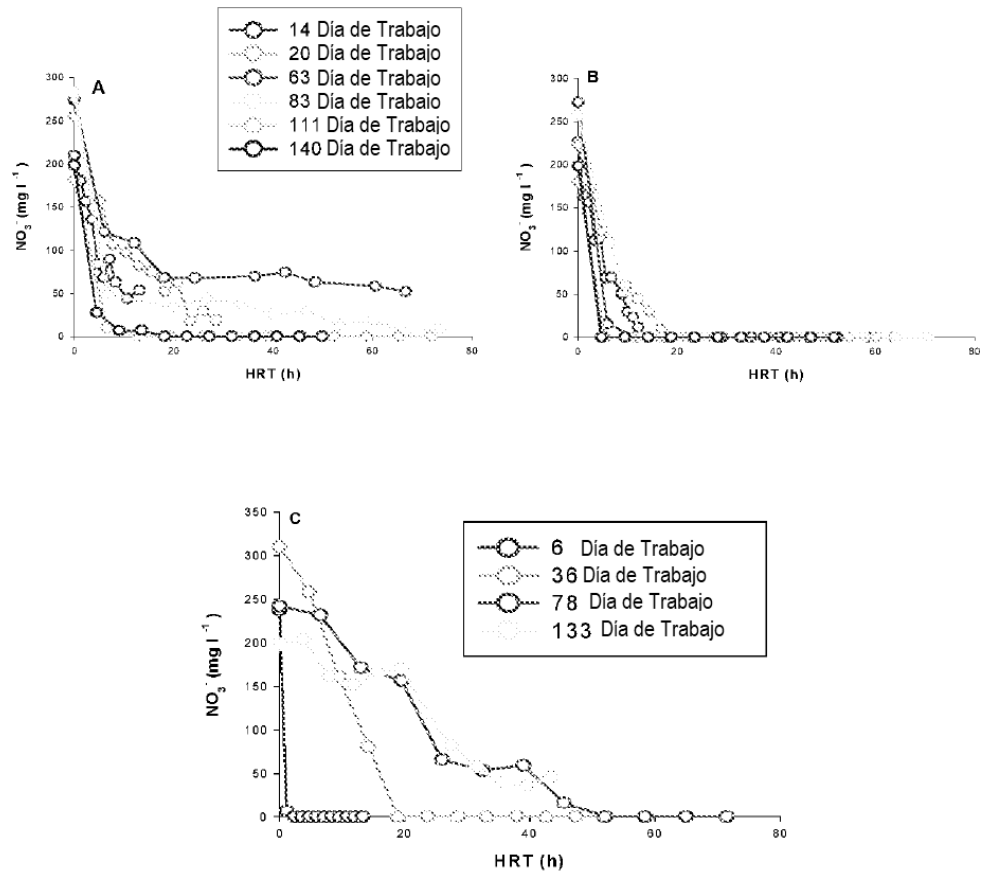


Figura 23

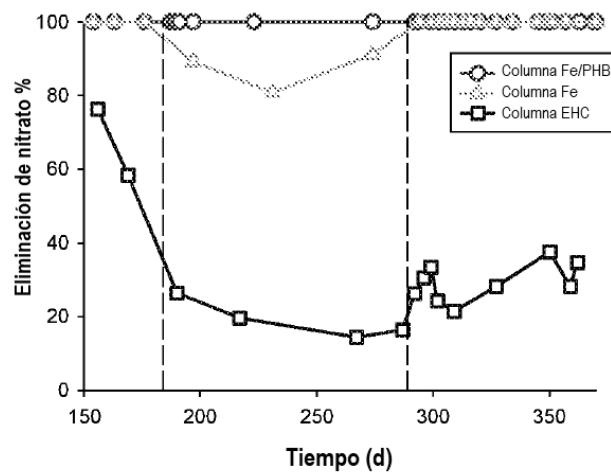


Figura 24

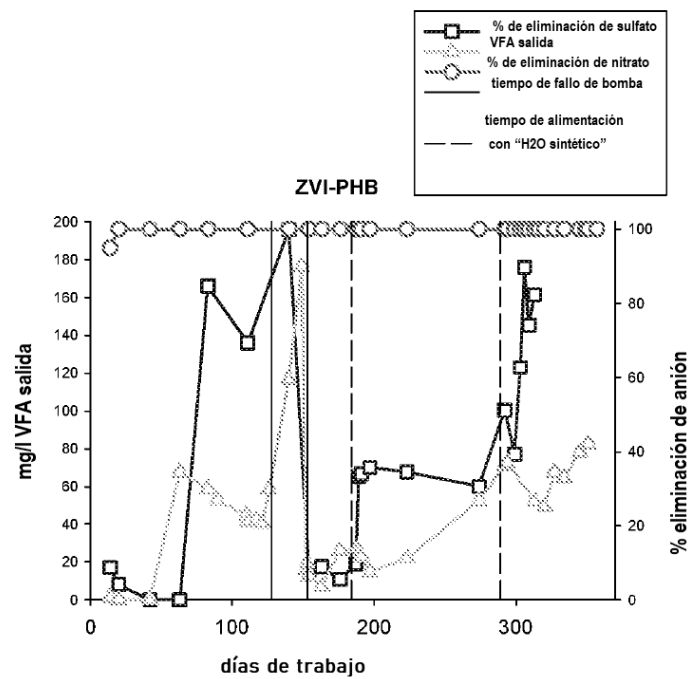


Figura 25

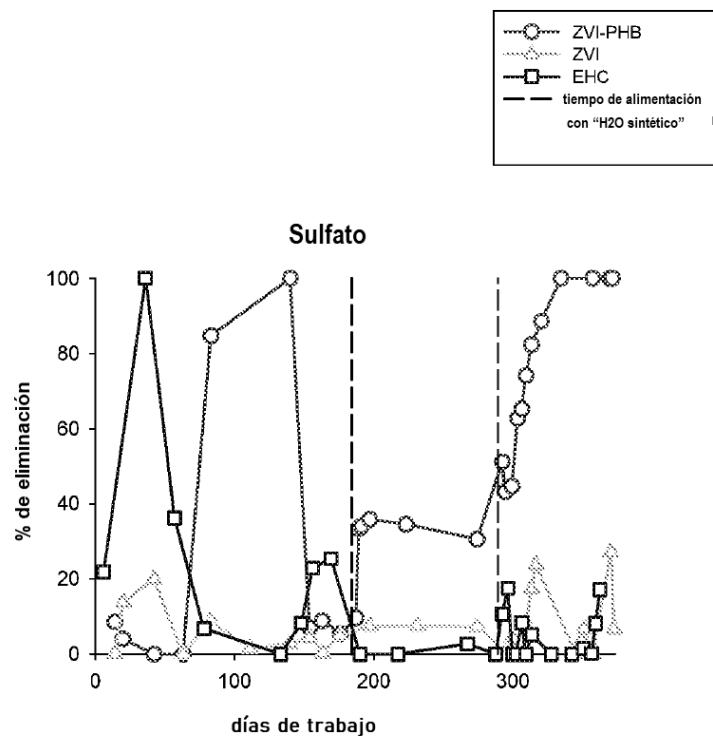


Figura 27

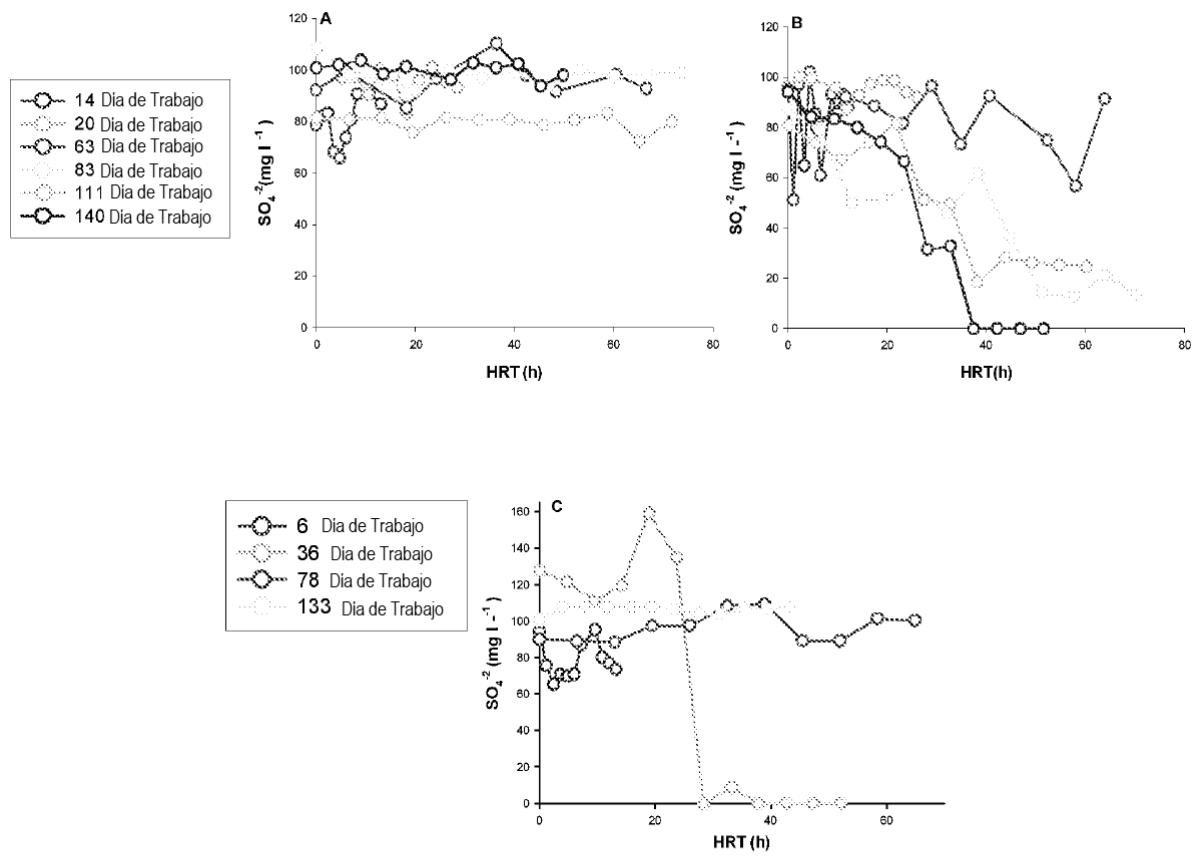


Figura 26

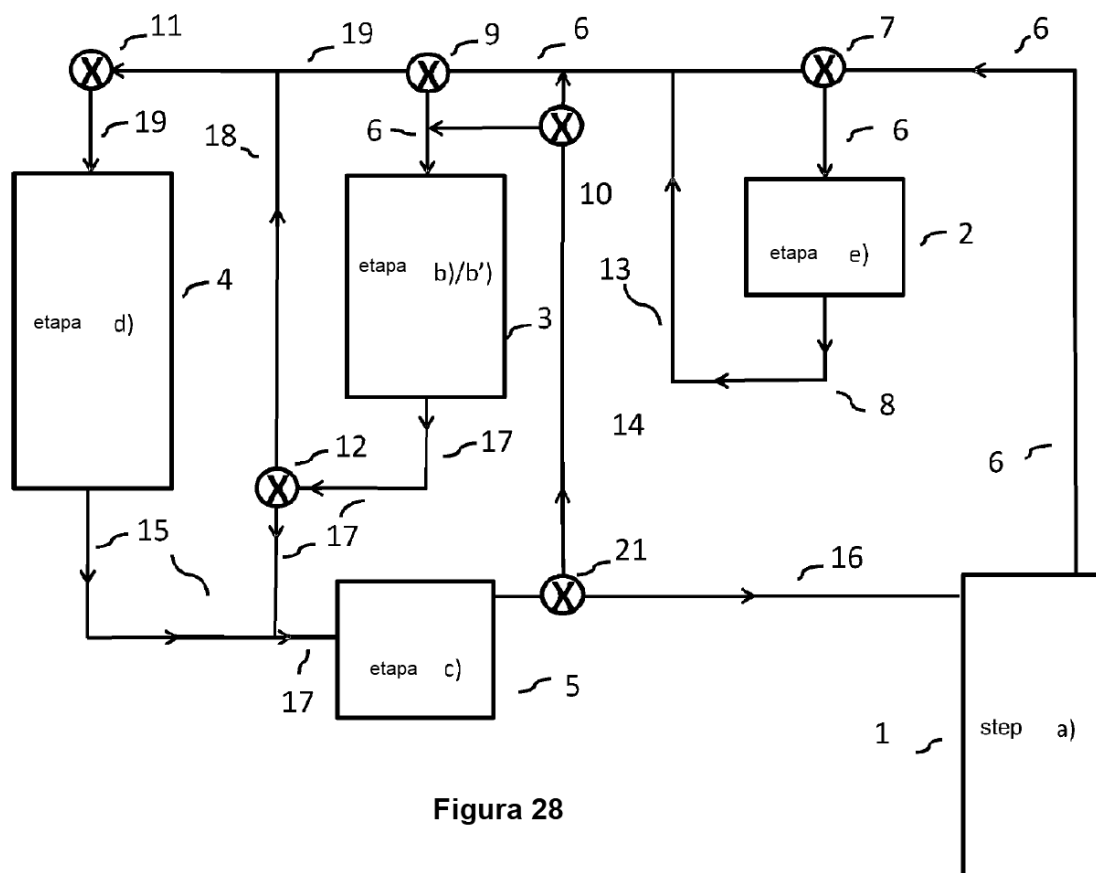


Figura 28