

**Comparación del transporte y biodegradación
de hexano entre bacterias y hongos con
diferentes configuraciones de reactores**

Tesis que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias (Ingeniería Química)
presenta:

M. C. SONIA LORENA ARRIAGA GARCIA

Director de Tesis

Dr. SERGIO REVAH MOISEEV

México, D. F., Julio 2005



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
División de Ciencias Básicas e Ingeniería

**Comparación del transporte y biodegradación
de hexano entre bacterias y hongos con diferentes
configuraciones de reactores**

Tesis que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias (Ingeniería Química)
presenta:

M. C. SONIA LORENA ARRIAGA GARCIA

Director de Tesis

Dr. SERGIO REVAH MOISEEV

México, D. F., Julio 2005



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
División de Ciencias Básicas e Ingeniería

**Comparación del transporte y biodegradación
de hexano entre bacterias y hongos con
diferentes configuraciones de reactores**

Tesis que presenta

SONIA LORENA ARRIAGA GARCÍA

Para obtener el grado de

Doctor en Ciencias (Ingeniería Química)

Julio 2005

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de tratamiento de emisiones gaseosas de la UAM-I bajo la asesoría de:
Dr. Sergio Revah M.

Los experimentos de dos fases se realizaron en el Departamento de Biotecnología de la Universidad de Lund en Suecia,
bajo la dirección de:
Dr. Benoit Guieysse

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología otorgó una beca-crédito doctoral para la realización de este trabajo.

Agradezco al Dr. Sergio Revah por su apoyo y discusiones tan acertadas y valiosas para la realización de este trabajo.

A los miembros del jurado por sus sugerencias:

Dr. Gerardo Saucedo Castañeda (UAM-I)
Dr. Ernesto Favela Torres (UAM-I)
Dr. Sergio Revah Moiseev (UAM-I)
Dr. Roberto Leyva Ramos (UASLP)
Dr. Leobardo Serrano Carreon (IBT-UNAM)

Dedico este trabajo a mi Madre por impulsarme a seguir adelante y confiar en mí.

A mi esposo por brindarme su confianza y paciencia.

A mis hermanas, sobrinos y cuñados por su cariño.

A la "*Bandera*" por su valiosa amistad y apoyo.

A todos mis compañeros del W-107 y PPU-4 por respetar mi forma de trabajo.

Miembros del Jurado:

Dr. Gerardo Saucedo Castañeda (UAM-I)

Dr. Ernesto Favela Torres (UAM-I)

Dr. Sergio Revah Moiseev (UAM-I)

Dr. Roberto Leyva Ramos (UASLP)

Dr. Leobardo Serrano Carreon (IBT-UNAM)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA
DIVISION DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA



Casa abierta al tiempo

**COMPARACIÓN DEL TRANSPORTE Y BIODEGRADACIÓN
DE HEXANO ENTRE BACTERIAS Y HONGOS CON DIFERENTES
CONFIGURACIONES DE REACTORES**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA QUÍMICA)

PRESENTA:

M. C. SONIA LORENA ARRIAGA GARCIA

ASESOR:

DR. SERGIO REVAH MOISEEV

MÉXICO, D. F.

JULIO 2005

INDICE	
Lista de Tablas	iv
Lista de Figuras	v
Nomenclatura	vii
RESUMEN	1
PREFACIO	3
1 CONTAMINACION DEL AIRE	6
1.1 Compuestos orgánicos volátiles (COVs)	8
1.1.1 Alcanos	10
1.2 Tecnología de tratamiento de aire contaminado	12
1.2.1 Métodos biológicos para el tratamiento de aire contaminado	15
1.2.1.1 Bioreactor de lecho escurrido (BLE)	20
1.2.1.2 Biofiltración	21
1.2.1.2.1 Modelado matemático y permeabilidad de biofiltros	22
1.2.1.3 Bioreactor con células suspendidas	25
1.3 Biodegradación de compuestos hidrofóbicos	26
2 OBJETIVOS E HIPÓTESIS	32
Objetivo general	32
Objetivos particulares	32
Hipótesis	32
3 MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 Reactivos químicos	33
3.2 Microorganismos y medio mineral	33
3.2.1 Consorcio bacteriano (E1)	34
3.2.2 Consorcio fúngico (E2)	34
3.2.3 Aislamiento de cepas fúngicas	35
3.3 Experimentos	35
3.3.1 Soporte	36
3.3.2 Sistema experimental: Biofiltro	39
3.3.3 Columnas	40
3.3.4 Reactor de tanque agitado de dos fases (RCTA)	41
3.3.5 Expresión de resultados	42

3.4	Métodos analíticos	43
3.4.1	Estimación de la cinética microbiana	43
3.4.2	Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad de solventes	44
3.4.3	Determinación del coeficiente de partición	45
3.4.4	Análisis cuantitativo de la biomasa	46
3.4.5	Análisis cualitativo de la biomasa	47
3.4.6	Medición del carbono orgánico e inorgánico	48
3.4.7	Mediciones en fase gas	48
3.4.7.1	Concentración de hexano y pentano	48
3.4.7.2	Producción de dióxido de carbono	49
3.4.7.3	Identificación y cuantificación de subproductos	49
4	RESULTADOS	51
4.1	Consortio bacteriano (E1)	51
4.1.1	Biofiltración	51
4.1.2	Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula E1	56
4.1.3	Cinéticas de degradación	57
4.2	Consortio fúngico (E2)	58
4.2.1	Biofiltración	58
4.2.2	Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula E2	63
4.2.3	Cinéticas de degradación	63
4.2.4	Aislamiento e identificación de cepas fúngicas	64
4.2.5	Cinéticas de consumo de hexano con fuentes alternas de nutrientes	65
4.2.6	Pruebas preliminares de los hongos en biofiltros	66
4.3	Biodegradación de hexano por <i>Fusarium solani</i> (E3)	68
4.3.1	Biofiltración	69
4.3.2	Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula E3	74
4.3.3	Cinéticas de degradación	75
4.4	Reactores de dos fases	76
4.4.1	Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad	76
4.4.2	Biofiltro con <i>Fusarium solani</i> y aceite de silicona (E4)	78
4.4.3	Reactor continuo de tanque agitado	80
4.5	Permeabilidad y difusividad efectiva de los sistemas de biofiltración	81
5	DISCUSION	83

5.1	Sistemas de biofiltración y reactores de una y dos fases	83
5.1.1	Desempeño de reactores de una fase	83
5.1.2	Desempeño de reactores de dos fases	88
5.1.3	Velocidades específicas de consumo en lote y reactores	92
5.1.4	Efecto de la adición de medio mineral sobre el desempeño de los reactores	96
5.1.5	Efecto de la carga sobre la capacidad de eliminación	97
5.2	Coefficiente de partición de hexano en la biopelícula bacteriana, mixta y fúngica	99
5.3	Permeabilidad, difusividad efectiva y caída de presión en los reactores	102
5.4	Modelo matemático del biofiltro	104
5.4.1	Desarrollo y solución de modelo	105
6	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	120
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	124
	Anexo A. Diagrama de flujo de experimentos realizados	134
	Anexo B. Cálculos y curvas de calibración	136
	Anexo B.1. Curva de calibración hexano	136
	Anexo B.2. Curva de calibración pentano	137
	Anexo B.3. Curva de calibración para dióxido de carbono	137
	Anexo B.4. Curva de calibración para Cl y COT	138
	Anexo B.5. Cálculos para la producción de CO ₂ y consumo de O ₂	139
	Anexo B.6. Curva de calibración para subproductos	140
	Anexo B.7. Modelo Gompertz	140
	Anexo B.8. Isotermas de adsorción de hexano sobre perlita	142
	Anexo B.9. Parámetros del modelo de Gompertz y porcentaje de mineralización para las cinéticas de los hongos crecidos con fuentes alternas de nutrientes	143
	Anexo B.10. Gráficas obtenidas para los experimentos de toxicidad, biodegradabilidad y pruebas de partición de los solventes utilizados	144
	Anexo B.11. Análisis cuantitativo de la biomasa por análisis termogravimétrico	146
	Anexo C. Artículos y presentaciones en congresos	147

Lista de Tablas

Tabla 1.1. Tipos de contaminantes emitidos a la atmósfera.	7
Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas de hexano y pentano.	12
Tabla 1.3. Clasificación de reactores biológicos.	14
Tabla 1.4. Biodegradabilidad de algunos compuestos tóxicos.	19
Tabla 1.5. Estudios sobre biodegradación de compuestos hidrofóbicos.	27
Tabla 3.1. Composición química del medio mineral.	34
Tabla 4.1. Características fisicoquímicas de la perlita.	52
Tabla 4.2. Condiciones y resultados del biofiltro E1.	54
Tabla 4.3. V_{max} obtenidas en experimentos en lote para reactor E1.	57
Tabla 4.4. Condiciones y resultados del Biofiltro E2.	61
Tabla 4.5. V_{max} obtenidas en experimentos en lote para E2.	64
Tabla 4.6. Resultados de las columnas fúngicas.	68
Tabla 4.7. V_{max} obtenidas en experimentos en lote para E3.	76
Tabla 4.8. Pruebas de toxicidad, biodegradabilidad y partición.	77
Tabla 4.9. Parámetros físicos de los sistemas de biofiltración.	82
Tabla 5.1. Resultados experimentales de los reactores de una y dos fases.	84
Tabla 5.2. V_{max} obtenidas en los reactores operados.	92
Tabla 5.3. V_{max} obtenidas en experimentos en lote.	94
Tabla 5.4. Carga crítica y CE_{max} de los reactores.	98
Tabla 5.5. Coeficientes de partición de muestras de E1, E2, y E3.	100
Tabla 5.6. Parámetros experimentales de los sistemas de biofiltración.	111
Tabla B.9.1 Parámetros del modelo de Gompertz para cinéticas con <i>Cladosporium</i> y <i>Fusarium solani</i> , crecidos en fuentes alternas de nutrientes.	143

Lista de Figuras

Figura 1.1. Tecnologías de tratamiento biológicas y no biológicas.	13
Figura 1.2. Diagramas de reactores biológicos.	15
Figura 1.3 Mecanismo del sistema de biofiltración.	22
Figura 3.1. Diagrama de flujo de experimentos realizados.	36
Figura 3.2. Diagrama experimental del biofiltro.	40
Figura 3.3. Diagrama esquemático del RCTA de dos fases.	41
Figura 4.1. Fotografía de perlita.	51
Figura 4.2. CE hexano y producción de CO ₂ para experimento E1.	53
Figura 4.3. Efecto de la carga de hexano sobre la CE para E1.	55
Figura 4.4. Fotomicrografías del biofiltro bacteriano (E1).	55
Figura 4.5. Coeficiente de partición de hexano para muestras del reactor E1.	56
Figura 4.6. CE de hexano y producción de CO ₂ para el biofiltro E2.	59
Figura 4.7. Cromatograma de subproductos de degradación para E2.	60
Figura 4.8. Efecto de la carga de hexano sobre la CE para E2.	62
Figura 4.9. Fotomicrografías obtenidas por MEB para E2.	62
Figura 4.10. Coeficientes de partición de hexano para E2.	63
Figura 4.11. Fotografías de hongos aislados.	65
Figura 4.12. Cinéticas de degradación de hexano por hongos aislados.	66
Figura 4.13. Capacidad de eliminación de hexano en columnas fúngicas.	67
Figura 4.14. Evolución de la CE de hexano a través del tiempo biofiltro E3.	69
Figura 4.15. MEB fotomicrografías de experimento E3.	70
Figura 4.16. Efecto de la carga sobre la CE de hexano en E3.	71
Figura 4.17. Evolución de la CE de pentano y hexano en E3.	73
Figura 4.18. Efecto de la carga en la CE de pentano en E3.	74
Figura 4.19. Coeficientes de partición de hexano en E3.	75
Figura 4.20. ER y CE para E4 con 5% de aceite de silicona y <i>Fusarium</i> .	79
Figura 4.21. MEB fotomicrografías para biofiltro de dos fases E4.	79
Figura 4.22. Efecto de la carga sobre la CE de hexano en E4.	80
Figura 4.23. Eficiencia de remoción y CE del RCTA.	81
Figura 5.1. Esquemmatización de los modelos de Ottengraf.	106
Figura 5.2. Ajuste matemático para reactor bacteriano E1.	112

Figura 5.3. Ajuste matemático para reactor mixto E2.	113
Figura 5.4. Ajuste matemático para reactor mixto E2.	114
Figura 5.5. Ajuste matemático para el reactor fúngico E3.	117
Figura 5.6. Ajuste matemático para el reactor fúngico E3.	118
Figura A.1. Diagrama de flujo de la primera parte experimental.	134
Figura A.2. Diagrama de flujo de la segunda parte experimental.	135
Figura B.1. Curva de calibración de hexano (GC).	136
Figura B.2. Curva de calibración de pentano (GC).	137
Figura B.3. Curva de calibración para la medición de carbono orgánico total.	139
Figura B.4. Curva de calibración subproductos de degradación.	140
Figura B.5. Isotermas de adsorción de hexano sobre perlita.	142
Figura B.6. Curvas de los experimentos de partición de hexano.	144
Figura B.7. Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad de solventes orgánicos.	145
Figura B.8. Contenido de biomasa de muestras del biofiltro TGA	146

Nomenclatura

a	Área transversal del lecho, m^2
A_s	Área interfacial por unidad de volumen del lecho del reactor, $m^2 \cdot m^{-3}$
B	Biomasa, $mg \cdot g^{-1}$ soporte seco
BLE	Bioreactor de lecho escurrido
B	Biofiltro
CE	Capacidad de eliminación de hexano en el reactor, $g \cdot m^{-3} \cdot reactor \cdot h^{-1}$
CE_{gas}	Capacidad de eliminación de hexano en el reactor, $g \cdot m^{-3} \cdot gas \cdot h^{-1}$
C_{gas}	Concentración en la fase gas, $g \cdot m^{-3}$
$C_{liquida}$	Concentración en la fase líquida, $g \cdot m^{-3}$
C_H^g	Concentración de hexano en la fase gas, $g \cdot m^{-3}$
C_{Hent}^g	Concentración de hexano a la entrada del reactor, $g \cdot m^{-3}$
C_{Hsal}^g	Concentración de hexano a la salida del reactor, $g \cdot m^{-3}$
C_H^b	Concentración de hexano en la biopelícula, $g \cdot m^{-3}$
C_H^{org}	Concentración de hexano en la fase orgánica, $g \cdot m^{-3}$
CFC	Clorofluorocarbonos
CI	Contenido de carbono inorgánico en lixiviados del biofiltro, $g \cdot m^{-3}$
COT	Contenido de carbono orgánico total en lixiviados y biomasa, $g \cdot m^{-3}$ y g
D_{ef}	Coefficiente de difusión efectivo de hexano en la biopelícula, $m^2 \cdot s^{-1}$
D_H^{Agua}	Difusividad molecular de hexano en agua, $m^2 \cdot s^{-1}$
D_p	Diámetro de partícula, m
EBRT	Tiempo de residencia del lecho vacío, min^{-1}
ER	Eficiencia de remoción, %
E1	Biofiltro inoculado con consorcio bacteriano, pH7
E2	Biofiltro preferentemente fúngico, pH 4 y antibacteriales
E3	Biofiltro inoculado con <i>Fusarium solani</i> , pH4 y antibacteriales
E4	Biofiltro inoculado con <i>Fusarium solani</i> y 5% de aceite de silicona, pH 4
g	Aceleración de la gravedad, $m \cdot s^{-2}$
h	Altura del reactor, m
H	Altura adimensional del reactor, h/H_0

%H	Porcentaje de humedad de la muestra, %
k	Permeabilidad intrínseca del lecho, m ²
k ₀	Constantes de velocidad cinética de orden cero, g.m ⁻³ .h ⁻¹
k ₁	Constante de velocidad cinética de primer orden, g.m ⁻³ .h ⁻¹
K ₀	Parámetro del modelo en el régimen limitado por la reacción de orden cero $K_0 = A_s k_0 \delta$
K ₁	Parámetro del modelo en el régimen limitado por la reacción de primer orden $K_1 = \frac{A_s D_c}{\delta} \phi_1 \tanh \phi_1$
L	Carga de entrada de hexano, g.m ⁻³ _{reactor} .h ⁻¹
L _l	Longitud del lecho (cm)
m	Coefficiente de partición, adimensional
m _H ^b	Coefficiente de partición de hexano en la biopelícula, adimensional
m _H ^l	Coefficiente de partición hexano-agua (constante de Henry), adimensional
m _H ^{org}	Coefficiente de partición de hexano en la fase orgánica, adimensional
m _{H₂O}	Masa de agua añadida a la probeta, g
m _G	Coefficiente de partición global, adimensional
m _{perlita humedad}	Masa de perlita humedad, g
m _{perlita seca}	Masa de perlita seca, g
MTBE	Metil-terbutil-éter
MEB	Microscopía electrónica de barrido
N _H	Flujo difusional de hexano, g.m ⁻² .h ⁻¹
N' _{Re}	Número de Reynolds de partícula, adimensional
Q _g	Velocidad de flujo de gas, m ³ .h ⁻¹
r _H	Velocidad de biodegradación de hexano
RCTA	Reactor continuo de tanque agitado
t	Factor de tortuosidad
t _R	Tiempo de residencia medio del gas, min ⁻¹
TLPB	Bioreactor de dos fases (Two liquid phase bioreactor)

U_g	Velocidad superficial de aire, $m \cdot h^{-1}$
V_l	Volumen del reactor, m^3
$V_{\text{espacio vacío}}$	Volumen de espacio vacío del lecho, m^3
V_{max}	Velocidad específica de consumo de hexano, $mg_{\text{hexano}} \cdot g^{-1}_{\text{biomasa}} \cdot h^{-1}$ o $mg_{\text{hexano}} \cdot g^{-1}_{\text{proteína}} \cdot h^{-1}$
V_{total}	Volumen total de perlita, m^3
$W_{100^\circ C}$	Peso de la muestra a $100^\circ C$, g
$W_{550^\circ C}$	Peso de la muestra a $550^\circ C$, g
x_l	Fracción en masa de agua en la muestra (humedad), adimensional
x_b	Fracción en masa de biomasa en la muestra (1-%H/100), adimensional
α	Fracción de micelio aéreo
(1- α)	Fracción de micelio superficial
β	Constantes de proporcionalidad
ε	Porosidad
ε_G	Hold up del gas, $m^3_{\text{gas}} \cdot m^3_{\text{total}}$
ρ	Densidad del fluido, $g \cdot cm^{-3}$
$\rho_{\text{empaquetado}}$	Densidad de empaque de la perlita, $g \cdot m^{-3}$
ρ_w	Densidad del agua, $g \cdot cm^{-3}$
λ	Espesor de la porción de biopelícula activa, m
δ	Espesor total de la biopelícula, m
μ	Viscosidad del fluido, $g \cdot cm^{-1} \cdot s^{-1}$

RESUMEN

El tratamiento de contaminantes hidrofóbicos en biofiltros es a menudo limitado por la transferencia de masa de la fase gas a la fase acuosa donde comúnmente se encuentran los microorganismos. En este trabajo se estudió el transporte y la degradación de hexano como contaminante hidrofóbico modelo, en reactores de lecho fijo y tanque agitado de una y dos fases mediante el uso de bacterias y hongos.

Los experimentos de degradación de hexano se llevaron a cabo en reactores de lecho fijo de 2.5 L empacados con Perlita y alimentados con cargas de hexano de $140 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$. Los experimentos E1 y E2 partieron de un consorcio mixto que trataba gasolina sintética previamente aclimatado con hexano a pH 7 y pH 4, respectivamente. Mediante el control del pH y adición de antibacteriales se favoreció el predominio de poblaciones bacterianas (E1) y fúngicas (E2). Las Capacidades de Eliminación (CE) obtenidas con los biofiltros E1 y E2 fueron alrededor de 60 y $100 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$, respectivamente. La máxima CE obtenida con el biofiltro E2 alcanzó valores de $150 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$, este valor es mayor que los que hasta el momento se han reportado con sistemas bacterianos. La adición de inhibidores bacterianos al reactor E2 no tuvo un efecto significativo (10%) sobre la CE del biofiltro, indicando el predominio de la actividad fúngica. La biomasa en el biofiltro fúngico fue de $187 \text{ mg.g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$, sin caídas de presión importantes ($26.5 \text{ mm de H}_2\text{O.m}^{-1}_{\text{reactor}}$).

Se aislaron dos cepas fúngicas del reactor E2 identificados como *Cladosporium sp.* y *Fusarium solani*. Experimentos preliminares en columnas (0.230 L), mostraron CE de hexano de $40 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ para *Cladosporium sp.* y $45 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ para *Fusarium solani*. El contenido de biomasa de estos experimentos fue de $30 \text{ mg.g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$, demostrando el potencial de estos hongos para la degradación de hexano.

Fusarium solani fue seleccionado para llevar a cabo la biofiltración de hexano y pentano (E3), los datos experimentales de caída de concentración a lo largo del reactor sirvieron para ajustar el modelo matemático del biofiltro. El sistema E3 sostuvo CE de $90 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ en estado estable por más de 50 días con un máximo de $135 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$. Experimentos en lote de muestras del biofiltro en diferentes días de operación, mostraron limitaciones de transporte de masa y el predominio fúngico. Se midieron las velocidades específicas de consumo en experimentos en lote en medio líquido de muestras de los biofiltros (E1, E2 y E3). Las velocidades específicas de consumo

obtenidas en medio líquido fueron alrededor de 3 veces menores que las obtenidas en medio sólido (biofiltros). Estas pruebas indicaron que la presencia de una fase líquida limita el transporte de contaminantes hidrofóbicos a los microorganismos.

Para los experimentos de dos fases, se seleccionó aceite de silicona debido a que no fue tóxico, ni biodegradado por *F. solani*, además de su alta afinidad por hexano. Los experimentos de dos fases se llevaron a cabo en un reactor de tanque agitado (RTA) y en un biofiltro. La CE máxima en función del tiempo de residencia del gas (CE_{gas}) fue de $900 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas.h}^{-1}}$ en el RTA y en el reactor control (sin aceite de silicona) de $376 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas.h}^{-1}}$. La adición de 5% de aceite de silicona a un biofiltro fúngico (E4) mejoró la CE de $150 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas.h}^{-1}}$ (E2 y E3) a $277 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas.h}^{-1}}$ (ER 100%) con máximas de $554 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas.h}^{-1}}$.

Los resultados confirmaron que el uso de poblaciones fúngicas presenta ventajas sobre las bacterias para la degradación de contaminantes hidrofóbicos. La adición de aceite de silicona al biofiltro y RTA incrementó el transporte de masa de hexano a los microorganismos y así las velocidades de consumo.

Se midió el coeficiente de partición de hexano en muestras de los biofiltros (E1, E2 y E3) y la porosidad del lecho. Los resultados indicaron que el transporte de hexano a los microorganismos es dependiente del tipo de biopelícula (bacteriana, mixta y fúngica). Los valores del coeficiente de partición mostraron que el transporte de hexano a una biopelícula fúngica es 10 veces mayor que a una biopelícula bacteriana y 100 veces mayor que el transporte de hexano en agua. Se calculó la permeabilidad del lecho y la difusividad efectiva de hexano en las biopelículas, estos parámetros disminuyeron conforme aumentó el contenido de biomasa en los reactores. Lo cual indicó que el control del contenido de biomasa en un biofiltro es un parámetro de operación importante.

Se plantea el uso de un modelo matemático basado en el modelo de Ottengraf y van den Oever (1986) para describir el perfil de concentración de hexano en el biofiltro. El modelo incluyó parámetros medidos experimentalmente: área superficial, espesor de biopelícula, difusividad efectiva y coeficiente de partición para el caso del biofiltro fúngico (E3). Los modelos que mejor ajustaron los datos experimentales fueron el de cinética de orden cero y de primer orden limitados por reacción con un error menor al 11%.

PREFACIO

En las últimas décadas los cambios científicos, políticos y sociales han tenido impacto en la calidad del aire, provocando que las regulaciones ambientales sean cada vez más estrictas.

El crecimiento rápido de la población y el fenómeno de concentración de las actividades industriales y del parque vehicular alrededor de áreas urbanas delimitadas, contribuyen a agudizar el problema de la contaminación atmosférica. En México la calidad del aire es una preocupación permanente, ya que los signos más evidentes de contaminación, como la menor visibilidad y el incremento en molestias y enfermedades asociadas, son cotidianos en las principales ciudades del país.

Los contaminantes emitidos continuamente a la atmósfera por la actividad humana tienen efectos regionales y globales. Los principales contaminantes regionales de las ciudades industrializadas son las partículas suspendidas (PS) y los compuestos orgánicos o inorgánicos volátiles (COVs y CIVs). Se pueden mencionar diferentes efectos globales causados por la contaminación del aire: la afectación de los bosques y ecosistemas acuáticos debido a las lluvias ácidas (como sucedió en el Norte de Europa y está sucediendo actualmente en China), el cambio climático, además de la reducción de la capa de ozono estratosférico que ya afecta severamente la Antártica y otras partes del mundo.

Nuestra atención se enfocará en los COVs, que en presencia de luz solar son estos precursores del ozono troposférico. El ozono tiene efectos nocivos en la salud, humana, afecta otros seres vivos y deteriora materiales en el medio ambiente como en las especies vegetales y en los cultivos, interviene en la actividad fotosintética, en el crecimiento y en el metabolismo general de las plantas y los animales.

Las fuentes de emisión de COVs a la atmósfera son las móviles que engloban al autotransporte con combustión interna y las fuentes fijas generadas por la industria (pinturas, petroquímica, solventes, curtidurías, tintorerías, imprentas, lavado de componentes eléctricos), oficinas y hogares. Estas fuentes también incluyen las emisiones de actividades como son: rellenos sanitarios, tratamiento de aguas residuales, plantas de composteo, entre otros.

Los residuos industriales gaseosos han sido tradicionalmente tratados por métodos fisicoquímicos incluyendo absorción, adsorción sobre carbón activado, incineración, condensación y procesos de oxidación. Las tecnologías recientes para el

control de COVs son a menudo costosas, especialmente cuando la concentración de contaminante es baja. El tratamiento biológico de aire contaminado representa una alternativa de tratamiento eficaz, que fue esporádicamente utilizada desde los años cuarentas pero se acentuó a finales de los años ochentas. Los tres diseños más importantes de bioreactores utilizados en las tecnologías de limpieza biológica son los biofiltros, biolavadores y filtros de escurrimiento. Comparadas con las tecnologías físico-químicas, donde los componentes son algunas veces simplemente transferidos de una fase a otra, los tratamientos biológicos presentan la ventaja de degradar completamente los contaminantes a productos inocuos o menos contaminantes a una temperatura y presión normales.

Enfocaremos nuestra atención a la biofiltración, uno de los métodos biológicos de tratamiento de gas más utilizados (Devinny y col., 1999). El principal cuello de botella de los sistemas de biofiltración se presenta cuando se tratan corrientes de aire que contienen contaminantes hidrofóbicos. La etapa que limita el proceso y que justifica las reducidas tasas de degradación para compuestos hidrofóbicos (van Groenestijn y Hesselink., 1993; Kennes y Veiga., 2001), es la baja transferencia de masa del contaminante de la fase gas a la fase líquida donde se encuentran los microorganismos. En nuestro grupo de investigación se han desarrollado dos líneas principales de investigación sobre biofiltros. Una es en la degradación de MTBE (metil terbutil éter) por cometabolismo con alcanos (pentano y hexano) y otra es en la degradación de compuestos ligeramente hidrofóbicos (tolueno) por medio de hongos. El antecedente directo que se tiene al presente trabajo, son los resultados obtenidos para la biofiltración de tolueno por medio del hongo *Paecilomyces variotii* (García-Peña y col., 2001), en el cual se comprobó que el uso de hongos mejoraba el transporte y las velocidades de consumo de compuestos hidrofóbicos como tolueno. No obstante, es necesario conocer el mecanismo de transporte y biodegradación de compuestos hidrofóbicos de manera de proponer alternativas para un tratamiento más eficiente. De esta manera la línea de investigación del laboratorio se ha encaminado a tratar compuestos aun más hidrofóbicos que el tolueno como son el hexano y el pentano. Se quiere, a través de estos estudios, mejorar las eficiencias globales de remoción, ampliando el conocimiento sobre las limitaciones de transporte y los mecanismos de biodegradación de compuestos hidrofóbicos mediante diferentes sistemas biológicos. Por lo que el objetivo de este estudio implica llevar a cabo la degradación de hexano con biopelículas

bacterianas, mixtas y cepas puras de hongos en varios tipos de reactores, incluyendo biofiltros y reactores de tanque agitado de una fase y evaluando el efecto de adicionar una fase suplementaria de carácter hidrofóbico.

1 CONTAMINACIÓN DEL AIRE

La explotación intensiva de los recursos naturales y el desarrollo de grandes concentraciones industriales y urbanas en determinadas zonas, son fenómenos que, por incontrolados, han dado lugar a la saturación de la capacidad asimiladora y regeneradora de la naturaleza y pueden llevar a perturbaciones irreversibles del equilibrio ecológico, cuyas consecuencias a largo plazo no son fácilmente percibibles. La contaminación atmosférica hoy en día es un problema ambiental muy agudo, cuya toma de conciencia se ha incrementado en los últimos años como consecuencia del avance de la tecnología y la previsión de que las cada vez mayores emisiones de contaminantes a la atmósfera alteren el equilibrio natural existente entre los distintos ecosistemas, afecten la salud de los humanos y a los bienes materiales o, incluso, provoquen cambios catastróficos en el clima terrestre (Semarnat, 2003).

La atmósfera terrestre es finita y su capacidad de autodepuración, aunque todavía no es muy conocida, ha demostrado (O_3 en la estratosfera, calentamiento global, etc.) tener sus límites. La emisión a la atmósfera de sustancias contaminantes en cantidades crecientes como consecuencia de la expansión demográfica mundial y el desarrollo de la industria, ha provocado que estas sustancias a concentraciones elevadas en el aire atenten contra la salud de los humanos. Podemos definir la contaminación atmosférica como la presencia en el aire de sustancias y formas de energía en concentraciones que alteran la calidad del mismo, de modo que implique riesgos, daños o molestias graves para la salud de personas, medio ambiente en general, incluyendo animales, plantas, microorganismos, edificios y otros materiales hechos por el hombre (Manahan, 1991).

Las alteraciones en la composición del aire atmosférico son originadas de fuentes naturales y antropogénicas. Dentro de las fuentes naturales podemos mencionar los granos de polen, esporas de hongos y las erupciones de los volcanes como: cenizas, partículas, compuestos volátiles, dióxido de azufre, NO_x , CH_4 (Vesilind y col., 1990). La contaminación proveniente de fuentes antropogénicas se ha incrementado exponencialmente con la revolución industrial. Estas pueden ser divididas en dos tipos:

- Fuentes móviles originadas por el transporte de material o personas: automóviles, aviones, embarcaciones, camiones, ferrocarril, etc.
- Fuentes fijas: generadas por la industria de energía eléctrica y actividades industriales como: la química, maderera, textil, alimentaría, procesadora de

productos vegetales y animales, metalúrgica, curtidorías, tintorerías, imprentas, lavado de componentes, entre otras. Además, esta fuente incluye la emisión de plantas de tratamiento de agua residual, plantas de composteo, rellenos sanitarios, etc.

En la Tabla 1.1 se muestran los contaminantes más importantes que se emiten a la atmósfera.

Tabla 1.1. Tipos de contaminantes más importantes emitidos a la atmósfera

Tipo de contaminante	Compuesto
PST (Partículas suspendidas totales)	Partículas fracción respirable, plomo
CIV (Compuestos inorgánicos volátiles)	H ₂ S, SO ₂ , CS ₂ , NH ₃ , NO _x
COV (Compuestos orgánicos volátiles)	Hidrocarburos (HC), compuestos aromáticos, alcoholes, aldehídos, cetonas
Gases de invernadero	CO ₂ , CH ₄ , O ₃ (Ozono), CFC (Clorofluorocarbono)

En el inventario de 1998 de la SEMARNAT, se reportó que el transporte es la principal fuente de contaminación con el 70% (95% del CO, 70% de los NO_x, 43% de los hidrocarburos) del volumen total de las emisiones a la atmósfera. Las fuentes naturales contribuyeron con el 17% del total de las emisiones (80% PST). El sector de servicios emitió un poco menos del 5% (90% HC) y la industria un porcentaje inferior al 3% (70% SO₂, 11% NO_x).

Actualmente en México existen normas ambientales para la emisión de partículas suspendidas totales y óxidos de nitrógeno. Para el caso de los COVs existen algunas normas, las cuales se explicaran en la sección siguiente.

1.1 Compuestos orgánicos volátiles (COVs)

Los compuestos orgánicos volátiles, son líquidos o sólidos que contienen carbono orgánico, cuyas presiones de vapor a temperatura ambiente son mayores a 0.01 psia (0.0007atm) y cuyos puntos de ebullición en condiciones atmosféricas están debajo de 100°C (De Nevers, 1998). Dentro de los COVs se encuentran una amplia variedad de grupos funcionales como los hidrocarburos alifáticos, aromáticos y clorados, los aldehídos y cetonas, los ésteres, los ácidos orgánicos y los alcoholes.

Los COVs constituyen el segundo tipo más extenso y diverso de emisiones atmosféricas, después de las partículas suspendidas totales (Thalaso y Pineda-Olmedo, 2002). Estos se utilizan ampliamente como combustibles líquidos (gasolina, diesel), solventes o productos intermedios en la industria química (Cárdenas y col., 2003).

Los efectos producidos por los COVs dependen principalmente de la concentración y tipo de contaminante, del tiempo de exposición y de las fluctuaciones temporales en las concentraciones de contaminantes, así como de la sensibilidad de los receptores y el sinergismo entre contaminantes (EPA, 1990). Actualmente, la mayoría de los COVs no representan *per se* un potencial significativo para afectar la salud en forma adversa; sin embargo, ellos contribuyen a la formación de ozono y de esta manera a producir sus efectos negativos. La contaminación por ozono troposférico causa efectos perjudiciales en la salud humana, en el medio ambiente como en las especies vegetales y en los cultivos. Además, afecta la actividad fotosintética, en el crecimiento y en el metabolismo general de las plantas y los animales. Debido a su gran variedad, no se conocen completamente los efectos de los COVs, pero se sabe que algunos son tóxicos y carcinógenos como el benceno (EPA, 1990).

La exposición por periodos largos a concentraciones altas de COV puede provocar edemas y hemorragias bronquio alveolares. Los efectos cardiovasculares se expresan como extrasístoles o taquicardia ventricular. Los efectos gastrointestinales dependen de la dosis ingerida, pero pueden producir desde gastritis tóxica hasta estenosis pilórica. Los efectos hematológicos son los más ampliamente documentados, dado que los componentes celulares de la sangre son muy susceptibles a estas sustancias produciendo anemia (EPA, 1990).

A continuación se listan las normas que establecen los límites máximos permisibles para la emisión de COVs a la atmósfera:

La Norma Oficial Mexicana (NOM-044-ECOL-1003) establece que los límites máximos permisibles para la emisión de hidrocarburos (HC), provenientes del escape de motores nuevos que usan diesel como combustible y que se utilizarán para la propulsión de vehículos automotores con peso bruto vehicular mayor de 3,857 kilogramos es de 1.3 g/bhp-h (Gramos de contaminante por caballo de fuerza de potencia al freno por hora).

La NOM-050-ECOL-1993, establece los niveles máximos permisibles de emisión de gases contaminantes provenientes del escape de los vehículos automotores en circulación que usan gas licuado de petróleo, gas natural u otros combustibles alternos como combustible. Para vehículos modelo 1994 en adelante la concentración máxima permisible de HC es de 200 ppm.

La NOM-075-ECOL-1995, establece los niveles máximos permisibles de emisión a la atmósfera de compuestos orgánicos volátiles provenientes del proceso de los separadores de agua-aceite de las refinerías de petróleo. Se deberá controlar como mínimo el 95% de las emisiones de COVs en separadores agua-aceite, realizándose a través del uso de cubiertas de techo fijo o flotante. La norma considera a los COVs como las sustancias químicas constituidas principalmente por hidrocarburos volátiles que participan en reacciones fotoquímicas en la atmósfera contribuyendo a la formación de ozono.

La NOM-121-ECOL-1997, establece los límites máximos permisibles de emisión a la atmósfera de COV's provenientes de las operaciones de recubrimiento de carrocerías nuevas en planta de automóviles (85 g.m^{-2}), unidades de uso múltiple de pasajeros y utilitarios (90 g.m^{-2}); carga y camiones ligeros (100 g.m^{-2}), así como el método para calcular sus emisiones. Esta norma considera a los COVs como cualquier compuesto orgánico que participa en reacciones fotoquímicas atmosféricas. Se excluyen los compuestos orgánicos que tienen una reacción fotoquímica imperceptible como los compuestos: metano, etano, cloroformo de metilo, diclorometano y compuestos fluorados (hidrocarburos lineales y cíclicos), acetona, metilciclohexano y paraclorobencentrifloruro.

La NOM-123-ECOL-1998, establece el contenido máximo permisible de COVs, en la fabricación de pinturas de secado al aire base disolvente para uso doméstico y los procedimientos para la determinación del contenido de los mismos en pinturas y recubrimientos. La norma establece una concentración máxima permisible de 450 g.L^{-1} para pinturas del tipo de: esmalte arquitectónico, esmalte doméstico, esmalte alquidático y pintura de aceite. Además, considera a los COVs como cualquier compuesto químico

orgánico volátil, que participa en las reacciones fotoquímicas en la atmósfera y que con los óxidos de nitrógeno en presencia de calor y luz solar forman ozono.

Dentro de los COVs, se encuentran algunos alcanos. Los cuales son de interés desde el punto de vista de la contaminación y para los fines de este estudio.

1.1.1 Alcanos

Los hidrocarburos (HC) alifáticos son compuestos que contienen átomos de carbono e hidrogeno y cuyos átomos de carbono están unidos en cadenas abiertas (Morrison y Boyd, 1992) o cíclicas. Los HC de cadena abierta son conocidos como alcanos, los compuestos que contienen de uno a cuatro átomos de carbono son gases a temperatura ordinaria, siendo estos los más importantes desde el punto de vista de la contaminación atmosférica, ya que favorecen las reacciones fotoquímicas. En el año 2000 fueron emitidas 475 000 ton de hidrocarburos a la atmósfera en la ZMVM (Zona Metropolitana del Valle de México)(Semarnat, 2002). Dentro de estos compuestos podemos incluir al metano, propano, butano, pentano, hexano, etc.

La problemática ambiental del metano esta directamente relacionada con el cambio climático. El metano contribuye en un 20% al recalentamiento global de la tierra (Semarnat, 2002). Aunque el nivel de metano en la atmósfera es muchísimo menor en comparación al CO₂ (1.72 ppm vs. 354 ppm), su concentración actual está aumentando al doble de la velocidad que el CO₂, además, absorbe 21 veces más el calor que el CO₂. El metano es emitido principalmente en el proceso digestivo de rumiantes, arrozales, quema de biomasa, rellenos sanitarios, en la descomposición anaerobia de aguas residuales, minas de carbón y por fugas en la industria del petróleo.

Otros alcanos de interés debido a sus altas emisiones a la atmósfera son el pentano y hexano. Estos son emitidos por la industria petroquímica, de extracción de aceites (hexano) y de fabricación de poliestireno (pentano). El hexano es un hidrocarburo hidrofóbico y es producido en el proceso de destilación del petróleo, es usado como solvente en la industria de extracción de aceites vegetales y es recuperado después de la extracción. Sin embargo, la recuperación de este solvente no es del 100% y el resto es emitido a la atmósfera, formando parte así de la contaminación por COVs. En el año 1995, la EPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos) reportó que fueron emitidos a la atmósfera 3.3 L de hexano por tonelada métrica de aceite de soya procesado, siendo el límite máximo permisible de 0.83 L por tonelada. De

interés particular deberían ser las emisiones de hexano al aire, ya que la mezcla de hexano en aire puede ser explosiva si se llega al límite de explosividad situado en 1.1 y 7.5% en volumen. Además, de la emisión de hexano en la industria de extracción de aceite, se emite hidrógeno (proceso de hidrogenación), H₂S (torta del filtrado) y algunas veces, etanol cuando se utilizan mezclas de hexano-etanol en el proceso de extracción. Además, debido a que el hexano utilizado no es completamente puro se pueden encontrar algunos isómeros como isohexano y metilciclopentano (EPA, 1998).

El n-hexano es uno de los 189 contaminantes más peligrosos del aire listados en el Título III del Acta de Aire Limpio de 1990 (CAAA90) propuesta por la EPA. La inhalación de los vapores puede causar dolor de cabeza, náuseas, vómito, desvanecimiento, somnolencia, irritación del tracto respiratorio, narcosis y pérdida de la conciencia. El contacto con la piel o los ojos, puede provocar irritación, además, tiene un efecto desengrasante en la piel, produciendo sequedad. Según la NIOSH (Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional de E.U. 2004), el límite de exposición ocupacional (exposición de 8 horas) recomendado para hexano es de 50 ppm.

El pentano es un componente principal de los aerosoles, es utilizado como materia prima para la producción de plásticos (poliestireno) y compuestos clorinados. Así como solvente en las reacciones de polimerización y como aditivo de combustibles de automóviles y aviones. El límite de explosividad de pentano en aire es de 1.4 a 8% en volumen. La exposición a concentraciones altas de pentano puede provocar narcosis y edema pulmonar. El límite de exposición ocupacional recomendado por la NIOSH es de 120 ppm.

Las propiedades físicas y químicas más importantes de hexano y pentano son:

Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas de hexano y pentano (Card, 1998).

Propiedad	Compuesto	
	Pentano	Hexano
Fórmula molecular	C ₅ H ₁₂	C ₆ H ₁₄
Peso molecular, g.mol ⁻¹	72.17	86.20
Densidad a 25°C, g.cm ⁻³	0.63	0.66
Punto de ebullición a 760 mmHg, °C	36.10	69
Presión de vapor a 25°C, mmHg	420	156
Solubilidad, en agua, mg.L ⁻¹	38.5	9.5
Constante de Henry a 25°C, adimensional	29.77	30.4
Coefficiente de partición octanol-agua, Log K _{ow}	3.45	3.9

1.2 Tecnologías de tratamiento de aire contaminado

Los residuos gaseosos de COVs pueden ser tratados por métodos fisicoquímicos o biológicos, el criterio usado para la selección de alguno de ellos se basa en considerar la velocidad de flujo de aire, la concentración del contaminante y las propiedades fisicoquímicas del compuesto a ser tratado según se muestra en la Figura 1.1.

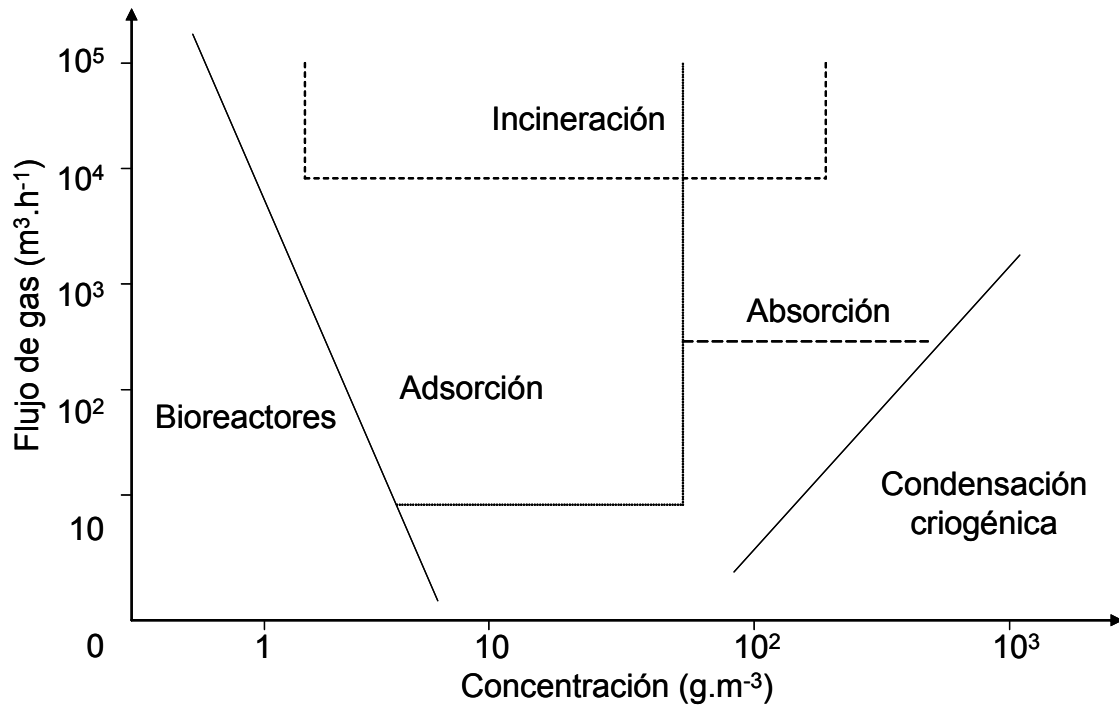


Figura 1.1. Aplicación de varias tecnologías biológicas y no biológicas para el control de contaminación del aire basado en el flujo de aire y la concentración del contaminante (Kennes y Veiga, 2001).

A continuación se describe de manera general los métodos de tratamiento de aire contaminado:

1. **Fisicoquímicos:** estos métodos son aplicados principalmente cuando el flujo y concentración del contaminante son altas. Son métodos destructivos como la incineración o de recuperación como la adsorción, absorción, condensación, tecnología de plasma y separación por membranas.
2. **Biológicos:** Son utilizados para tratar corrientes de contaminantes con flujos de aire altos y concentraciones del contaminante bajas. Dentro de estos métodos se encuentran los biofiltros, biolavadores, reactores con células en suspensión, etc.

El tratamiento de COVs por medio de tecnologías fisicoquímicas en general genera costos energéticos muy altos y en algunos casos se produce contaminación secundaria [NO_x] (Kennes y Veiga, 2001). Las tecnologías fisicoquímicas para el control de COVs son a menudo costosas, especialmente en casos donde la concentración del

contaminante es baja y el flujo alto. Una de las alternativas de tratamiento prometedoras por su bajo costo y bajo impacto ambiental se basa en los tratamientos biológicos (Fig. 1.1), los cuales están basados en la capacidad de los microorganismos para transformar algunos contaminantes orgánicos e inorgánicos a compuestos menos tóxicos (Revah y Morgan-Sagastume, 2005). La ventaja más importante de los métodos biológicos sobre los fisicoquímicos es que el proceso biológico puede llevarse a cabo a temperaturas cercanas a la ambiente y presión atmosférica. Dentro de los sistemas biológicos se encuentran: Biofiltros, biofiltro de lecho escurrido, biolavadores, bioreactores de membrana, bioreactores fotoquímicos, bioreactores con células suspendidas, etc. Estos se describen en la Tabla 1.3 y son esquematizados en la Figura 1.2.

Tabla 1.3. Clasificación de reactores biológicos para el tratamiento de aire

Biomasa	Fase líquida	Reactor
Fija sobre un soporte	Estacionaria	Biofiltro (A)
Fija sobre un soporte	Fluyendo	Biofiltro de lecho escurrido (B) Contactores biológicos rotatorios (C)
Suspendida	Fluyendo	Biolavador (D)
Suspendida o fija	Estacionaria	Crecimiento suspendido Reactores de 2-fases (E)
Fija sobre una membrana	Fluyendo	Membrana (F)

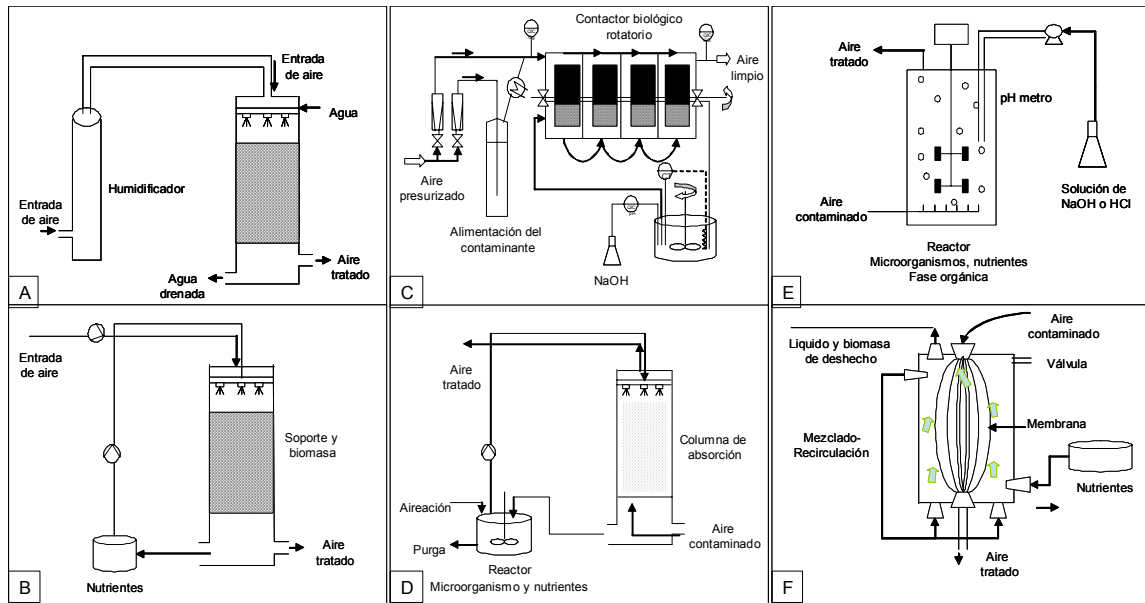


Figura 1.2. Diagrama de reactores biológicos para el tratamiento de aire contaminado.

1.2.1 Métodos biológicos para el tratamiento de aire contaminado

El primer reporte de sistemas de tratamiento biológico de aire estuvo relacionado con el tratamiento de olores de agua residual mediante lecho de suelo (Leson y Winer, 1991). Durante los años 1960-1970, se mostró que la reacción biológica era el principal mecanismo para la eliminación de contaminantes, y las primeras aplicaciones comerciales se establecieron en Holanda, Oeste de Alemania y en Estados Unidos. Las primeras aplicaciones consistieron en biofiltros abiertos a la atmósfera, para el tratamiento de olores de una gran variedad de fuentes tales como: plantas de tratamiento de desperdicios, composteo, industria de alimentos y farmacéutica. Posteriormente, los estudios se enfocaron en encontrar soportes adecuados para los filtros biológicos, de manera de mejorar el desempeño del sistema y tener mayor control y estabilidad en el proceso. A partir de los años 80's (Ottengraf y van den Oever, 1983), se profundizó en el estudio de los fundamentos de sistemas de tratamiento biológico de aire, de manera que se han implementado nuevos sistemas satisfactoriamente (Bohn, 1992). Los mejoramientos en esta técnica han permitido incrementar las velocidades de degradación y eficiencias de remoción de los contaminantes, extender el número de aplicaciones y reducir los costos de inversión y operación.

La eliminación de compuestos volátiles del aire requiere primero que los contaminantes gaseosos sean transferidos de la corriente de aire a la fase acuosa donde los microorganismos, creciendo suspendidos o sobre un soporte, biodegradan los contaminantes. El proceso incluye interacciones físicas, químicas y biológicas, las cuales resultan en la transformación de los contaminantes a productos finales como dióxido de carbono, agua, sulfato y nitrato (Revah y Morgan-Sagastume, 2005).

Dentro de los factores que afectan el desempeño de los reactores biológicos se encuentran los siguientes:

I. El contenido de agua es uno de los principales parámetros que afecta tanto la física como la biología de un sistema de tratamiento biológico. El agua es indispensable para los microorganismos ya que estos no pueden estar activos sin su presencia (Madigan y col., 1998). Exceso o deficiencias de agua en el reactor afectan la transferencia del contaminante del aire a la biopelícula y sus propiedades físicas (Cox y col., 1996). Demasiada agua en el reactor provoca caídas de presión altas, puede causar limitaciones difusionales para compuestos con baja solubilidad, interferir en el flujo de la corriente de aire principal provocando zonas anaerobias (Morgan-Sagastume y col., 2001). En el caso contrario, bajos contenidos de agua en la biopelícula reducen la capacidad de degradación microbiana. El secado puede provocar grietas y acanalamiento en el caso de los biofiltros, de tal modo que disminuye su desempeño (Gostomski y col., 1997; Morales y col., 2003). Además, en el caso de biofiltros fúngicos el secado provoca la esporulación del hongo y su liberación al ambiente dando lugar a problemas más agudos.

II. Debido a que todos los microorganismos requieren de nutrientes para su crecimiento, actividad enzimática, transporte a la membrana y sobre todo para la biodegradación de los contaminantes, tales nutrientes necesitan ser agregados al reactor. La célula microbiana contiene carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno como elementos principales. Estos elementos deben ser disponibles para los microorganismos, además de elementos traza como: azufre, fósforo, potasio, magnesio, calcio, hierro, manganeso y vitaminas las cuales son requeridas por algunas especies. Los nutrientes pueden ser proporcionados por soportes orgánicos, sin embargo, cuando se usan soportes sintéticos e inertes la adición de nutrientes es necesaria. Algunos autores han mostrado que la adición de nitrógeno puede mejorar y mantener las

velocidades de remoción de un biofiltro (Morales y col., 1998; Jorio y col., 2000). Sin embargo, la adición continúa de nutrientes debe ser controlada ya que puede causar crecimiento excesivo de biomasa provocando el taponamiento del reactor (Morgan-Sagastume y col., 2001; Delhoménie y col., 2003).

III. El efecto del pH es muy importante en la actividad microbiana, ya que mediante el control del pH se puede favorecer o inhibir el predominio de microorganismos específicos. Por ejemplo, las bacterias crecen en general a pH neutros y los hongos lo hacen a pH ácidos (Madigan y col., 1998). Los cambios en el pH puede dañar el ecosistema microbiano por lo que es necesario mantener el valor de pH constante. La mayoría de los biofiltros trabaja a pH neutros; sin embargo, muchos de los contaminantes que son biotransformados en biofiltros generan compuestos ácidos (por ejemplo en la degradación de alcanos). Por lo que el control de pH es controlado mediante la adición de compuestos (piedra caliza, cáscaras de ostra, hidróxido de calcio, etc.) o agregando agua o una solución amortiguadora que permita lixiviar los subproductos de degradación en el biofiltro y mantener el pH deseado (Devinny y col., 1999).

IV. La temperatura es otro factor que afecta la actividad microbiana y el desempeño de un bioreactor. La mayoría de los sistemas biológicos son operados bajo condiciones mesofílicas, a menudo a temperatura ambiente, debido a que muchos microorganismos crecen bajo estas condiciones (Kennes y Veiga, 2001). Si la temperatura decrece el metabolismo de la célula podría hacerse más lento, reduciendo la velocidad de consumo de los contaminantes. La temperatura afecta el sistema de acuerdo al tipo de microorganismo con el cual se este trabajando (psicrófilo, mesófilo, termófilo). Los efectos físico-químicos que puede provocar una temperatura elevada están directamente ligados con el coeficiente de partición (concentración del compuesto en la fase gas/ concentración en el agua) o solubilidad del contaminante, una temperatura alta provoca que la transferencia del contaminante y del oxígeno a la biopelícula sea menos efectiva. Este efecto sería más importante para compuestos con coeficientes de Henry altos como los compuestos hidrofóbicos. Entre otros problemas, una temperatura alta en el reactor provoca además secado en el caso de los biofiltros (Morales y col., 2003).

V. La carga del contaminante es otro parámetro importante que afecta la velocidad de degradación y la transferencia del contaminante. La carga del contaminante depende del flujo de aire y concentración del contaminante. El tamaño de un biofiltro será grande, cuando se tratan corrientes de aire con velocidades de flujo altas (tiempos de residencia cortos) o para el caso de contaminantes recalcitrantes o cuando se tratan altas concentraciones de contaminante. Sin embargo, bajo estas características los costos de operación de los biofiltros incrementan y como regla general la tecnología de biofiltración es útil para tratar concentraciones menores de 5 g.m^{-3} (Kennes y Veiga., 2001). Cuando la concentración del contaminante es alta, se pueden tener problemas de inhibición por sustrato para el microorganismo. Además, cargas altas (tiempos de residencia cortos y concentración del contaminante alta) traen consigo bajas eficiencias de remoción y acumulación de intermediarios tóxicos (Devinny y Hodge, 1995).

VI. Otro factor limitante está relacionado con las propiedades fisicoquímicas del compuesto a degradar (adsorptividad, solubilidad, estructura molecular y potencial biodegradable). Los compuestos orgánicos de más fácil remoción en biofiltros son los compuestos solubles de bajo peso molecular y con estructuras de enlace simples. Existen compuestos con estructuras moleculares a las que los microorganismos no han sido expuestos (compuestos xenobióticos). Estos son resistentes a la biodegradación (recalcitrancia) o son biodegradados incompletamente. Además, la biodegradación de estos compuestos requieren más energía para ser degradados y esta energía no siempre está disponible en los microorganismos. En la Tabla 1.4 se reportan las velocidades de degradación de algunos compuestos (Revah y Morgan-Sagastume, 2005).

Tabla 1.4. Biodegradabilidad de algunos compuestos tóxicos.

Biodegradabilidad	Compuesto
Rápida	Alcoholes ^{a,b} , aldehídos ^a , cetonas ^{a,b} , éteres ^a , esteres ^{a,b} , ácidos orgánicos ^{a,b} , aminas, tioles, amonio, terpenos, sulfatos
Lenta	Hidrocarburos ^{a,b} , fenoles ^a
Más Lenta	Hidrocarburos halogenados ^{a,c} , hidrocarburos poliaromáticos

^aMoléculas ramificadas son menos biodegradables

^bLa velocidad de biodegradación en biofiltros sigue este orden
alcoholes>esteres>cetonas>aromáticos>alcanos

^cBiodegradabilidad decrece con el incremento de número de halógenos

VII. El tratamiento eficaz de aire contaminado en un bioreactor depende del tipo de microorganismos presentes. La diversidad microbiana incluye bacterias, levaduras y hongos. La actividad de la población microbiana en determinados sistemas puede ser dependiente del contaminante que entra y de las condiciones ambientales que prevalecen (pH, humedad, etc.). Los microorganismos crecen a expensas de la energía derivada de la transformación del contaminante. En el caso de COVs, los organismos heterótrofos obtienen energía de la oxidación de la molécula orgánica y parte del carbón es incorporado a la biomasa. La selección de la población microbiana es determinada por las características del contaminante a ser tratado (Devinny y col., 1999). La concentración de biomasa y adaptación de los microorganismos es un factor importante para el arranque rápido del bioreactor. Sin embargo, hay compuestos que son difíciles de degradar (Tabla 1.4) y requieren que el reactor sea inoculado con cepas especializadas o consorcios para inicializar la degradación (van Groenestijn y Hesselink, 1993; Devinny y col., 1999). Recientemente, el uso de hongos en sistemas de biofiltración ha sido reportado para el tratamiento de compuestos hidrofóbicos (García-Peña y col., 2001; Spigno y col., 2003).

VIII. Otro parámetro importante en la degradación de COVs, es la cantidad de necesaria para oxidar al contaminante. En la mayoría de los casos la concentración de oxígeno necesaria para oxidar el contaminante esta en exceso (Deshusses y col., 1996).

Pero puede ser limitante cuando se trabaja con altas cargas de substrato, biopelículas gruesas y cuando el contaminante es altamente soluble (alcoholes) no así para los contaminantes hidrofóbicos. La razón por la cual puede llegar a presentarse limitación de oxígeno es por que el coeficiente de partición de oxígeno (adimensional) el cual es de 33.5, indica que el oxígeno esta presente en mayor cantidad en la fase gas que en el agua (Pirt, 1975). El coeficiente de difusión de oxígeno en agua es cerca de $2.1 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, mientras que para un COV los coeficientes de difusión tiene valores entre 0.8 a $1.3 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (Cussler, 1997). Debido a que los coeficientes de difusión de oxígeno y COVs no son significativamente diferentes, en el siguiente análisis se asume que los coeficientes difusivos de oxígeno y COV son idénticos. Si la cantidad estequiométrica de oxígeno necesaria para degradar el COV tratado (usando la concentración interfacial del COV gas/ líquida) es mayor que la concentración de $8.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (concentración de oxígeno en la interfase), el oxígeno podría ser consumido en la biopelícula antes que el COV sea tratado. Otro tipo de limitación de oxígeno puede generarse cuando la permeabilidad del lecho es baja, por lo que debido a la compactación del lecho ocurre una mala distribución del aire generando así zonas anaerobias. En estos casos, el reempacado del biofiltro y adición de medio es requerido, de manera de maximizar (área interfacial) la transferencia de oxígeno. El enriquecimiento del aire con oxígeno para evitar las limitaciones de oxígeno, en algunos casos mejora el desempeño del biofiltro. Sin embargo, esto, hace que el proceso sea más costoso a escala industrial. A continuación, se describirán de manera general algunos sistemas de tratamiento biológico.

1.2.1.1 Bioreactor de lecho escurrido (BLE)

En este tipo de reactor el proceso de absorción del gas y recirculación del líquido ocurre simultáneamente gracias a una flora microbiana inmovilizada sobre un material de empaque, que debe tener un área específica relativamente baja. La fase gas y líquida fluyen a contra o cocorriente a través de una columna empacada. Algunas ventajas de este tipo de reactores son:

- 1.- Fácil eliminación de los productos de reacción por lavado
- 2.- Fácil control del proceso biológico
- 3.- Buena capacidad de adaptación de la biomasa activa

4.- Más apropiado para procesos que generan acidez o productos inhibitorios

La principal desventaja de este reactor radica en la necesidad de disolver los contaminantes gaseosos en una fase acuosa. Otro problema específico del filtro de lecho escurrido es el desarrollo excesivo de biomasa sobre la superficie del soporte, la cual reduce progresivamente el volumen del lecho y puede causar caídas de presión altas (Devinny y col., 1999).

Los reactores de lecho escurrido han sido utilizados principalmente para el tratamiento de COVs solubles debido a que en este tipo de reactores el contenido de agua es alto y el contaminante primeramente debe ser transferido a la fase acuosa, por lo que el tratamiento de compuestos hidrofóbicos estaría limitado por problemas de transferencia gas-líquido (Elmirini y col., 2001). Sin embargo, van Groenestijn y col., (1999) estudiaron la remoción de un compuesto altamente hidrofóbico (hexano) mediante un BLE cuya fase líquida consistió en una emulsión (aceite/agua) de manera de incrementar el transporte de este compuesto a la biopelícula, en este caso las tasas de remoción obtenidas fueron mayores que las obtenidas en BLE convencionales.

1.2.1.2 Biofiltración

Es la tecnología de tratamiento biológico de gas más utilizada debido a sus bajos costos de operación y al control simple del proceso. Se basa en la habilidad que tienen muchos microorganismos (bacterias, hongos, levaduras) para degradar una variedad de compuestos orgánicos y algunos inorgánicos. Consiste en pasar una corriente de gas contaminado a través de un medio poroso donde se encuentran inmovilizados los microorganismos. Los contaminantes y nutrientes son tomados por los microorganismos y mediante el metabolismo celular se rompe la cadena hidrocarbonada de los compuestos para generar productos de cadena más corta y proveer a los microorganismos con carbono adicional y energía para su crecimiento y reproducción (Deshusses y col., 1995). Bajo condiciones aerobias los microorganismos son capaces de biocatalizar la reacción del contaminante y del oxígeno para producir principalmente dióxido de carbono, calor, agua y biomasa. El tratamiento se lleva a cabo a temperatura ambiente y no genera corrientes secundarias de aire contaminado.

El perfil del contaminante en un biofiltro puede describirse por múltiples procesos como: el transporte externo de masa del contaminante y oxígeno de la fase gas a la

interfase gas-líquido, equilibrio interfacial descrito por la Ley de Henry, difusión en la biopelícula y células, reacción enzimática y retrodifusión de los productos de degradación (Fig. 1.3).

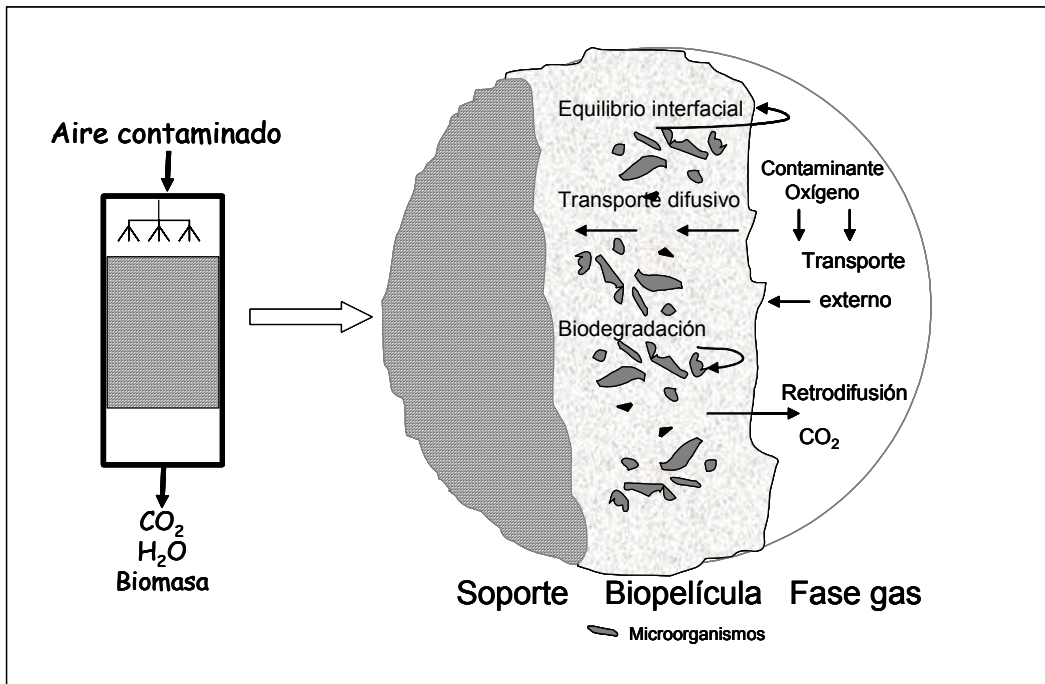


Figura 1.3. Mecanismos del sistema de biofiltración.

El proceso de biofiltración es simple y requiere poca energía, ha sido usado por muchos años para el control de olores en el tratamiento de agua contaminada y para el control de emisión de solventes (Cárdenas y col., 2003). Actualmente los biofiltros son utilizados para el tratamiento de una gama cada vez más amplia de contaminantes. Entre estos podemos mencionar los compuestos aromáticos (benceno, tolueno, xileno), compuestos halogenados y algunos alifáticos.

1.2.1.2.1 Modelado matemático y permeabilidad de biofiltros

Una interesante área de estudio en el tratamiento de contaminantes del aire esta enfocada al modelado matemático de biofiltros. Este proporciona herramientas útiles para predecir el desempeño del biofiltro así como para su escalamiento. El modelado de

biofiltros comenzó desde los años 80s basado en el trabajo sobre modelos de biopelículas sumergidas (Jennings y col., 1976; Ottengraf, 1977). La teoría de biopelículas sumergidas ha sido la base para el modelado actual de biofiltros, ya que a partir de este se han desarrollado varios modelos (Ottengraf., 1983; Shareefdeen y Baltzis., 1994; Devinny y col., 1999; Desshuses y col., 1995). En el modelo de Ottengraf se emplean balances de masa básicos y cinéticas de reacción simples. Por su sencillez este modelo es comúnmente referenciado (Van Lith y col., 1990; Dharmavaram, 1991, Elmirini y col., 2001, Pineda y col., 2000).

La dificultad de modelar un biofiltro se debe a la complejidad de los procesos fundamentales que envuelve como son los físico-químicos y microbiológicos. Por mencionar algunas dificultades: no existe una buena descripción física de la biopelícula, no se tiene una comprensión clara de la transferencia del contaminante a la biopelícula, no es bien conocida la cinética intrínseca del contaminante en el biofiltro. A pesar de esto, con el incremento de la capacidad computacional, la tendencia se ha dirigido al desarrollo de modelos más complejos (Aizpuru y col., 2002; Spigno y col., 2003). Como es sabido el sistema de biofiltración es heterogéneo y los parámetros requeridos por los modelos entre más complejos sean son más difíciles de obtener experimentalmente. Entre estos parámetros se encuentran: el área superficial, el espesor de biopelícula, el coeficiente de partición y la difusividad efectiva en biopelículas, además de los parámetros cinéticos.

Durante el crecimiento microbiano en un lecho empacado, k (permeabilidad intrínseca) varía con respecto a cambios en la fracción vacía del lecho (volumen de poros y volumen ínter partícula); cambios en el volumen (ocupado por el agua, sólidos insolubles y microorganismos) debido a la adsorción o desorción de agua, producción de agua por reacción, consumo de substrato y a la producción de biomasa. El volumen total del lecho también puede cambiar debido al empacado o hinchamiento. Estos cambios afectan al diámetro de partícula y a la tortuosidad del lecho. No obstante, si la fase sólida (soporte), volumen total del lecho, y contenido de agua permanecen constantes, la reducción de la porosidad del lecho sólo se debe al incremento de biomasa que reduce el volumen ocupado por la fase gaseosa. De manera que k es una medida indirecta del crecimiento de los microorganismos en el lecho. Haciendo esta consideración, las siguientes ecuaciones permiten calcular la permeabilidad relativa intrínseca en el biofiltro. Para calcular la permeabilidad relativa intrínseca Auria y col. (1993), plantean que en el flujo de fluidos a través de un lecho poroso existen

fenómenos cinéticos y viscosos. La caída de presión, (ΔP), a través del lecho está ligada a la velocidad superficial del fluido por medio de la ecuación de Ergun (Geankoplis, 1993):

$$\left(\frac{\Delta P}{L_l}\right) = \alpha U_g + \beta U_g^2 \quad (1.1)$$

donde ΔP : Caída de presión entre la entrada y la salida del lecho poroso, en cm.

L_l : Longitud del lecho, cm

Q_g : Velocidad de flujo del gas, $\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$

A : Área transversal del lecho, cm^2

$U_g = Q_g/A$: Velocidad superficial del fluido, $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$

α y β : Constantes de proporcionalidad

El primer término de la ecuación anterior representa la caída de presión debido a los efectos viscosos y el segundo término está ligado a la inercia del fluido.

El flujo del fluido a través del soporte puede describirse con el número de Reynolds de partícula:

$$N'_{\text{Re}} = \frac{\rho U_g D_p}{\mu} \quad (1.2)$$

donde:

N'_{Re} : Número de Reynolds de partícula, adimensional

ρ : Densidad del fluido, $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$

D_p : Diámetro promedio de partícula, cm

μ : Viscosidad del fluido, $\text{g} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Si el gas fluye en régimen laminar, es decir, $N'_{\text{Re}} < 1$, la ecuación de Ergun se reduce a la ecuación de Darcy:

$$\left(\frac{\Delta P}{L_l}\right) = \alpha U_g = \left(\frac{1}{K}\right) U_g \quad (1.3)$$

donde K es la conductividad hidráulica.

Cabe mencionar que esta ecuación es válida para líquidos con densidad constante. Sin embargo, si el fluido es un gas (caso de estudio), la ecuación puede usarse tomando en consideración una densidad promedio del gas entre la entrada y la

salida. La conductividad hidráulica puede relacionarse con la permeabilidad relativa intrínseca (k) definida como:

$$k = \frac{K\mu}{\rho_w g} \quad (1.4)$$

donde,

ρ_w : Densidad del agua, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$

g : Aceleración de la gravedad, $\text{cm}\cdot\text{s}^{-2}$

La ecuación de Darcy ha sido justificada teóricamente en modelos simples, donde la permeabilidad intrínseca se ha definido como:

$$k = \frac{\varepsilon^3 D_p^2}{72 \cdot t^2 \cdot (1 - \varepsilon)^2} \quad (1.5)$$

donde,

t : Factor de tortuosidad (1.58 para esferas)

ε : Fracción vacía en el lecho

D_p : es el diámetro de partícula, cm

1.2.1.3 Bioreactor con células suspendidas

En este tipo de reactores el contaminante es burbujeadado al seno del líquido que contiene los microorganismos suspendidos. Para el caso del tratamiento de aire contaminado por lo general los reactores pueden ser tanques o columnas con diferentes configuraciones de aeración tales como flujo ascendente, columnas de burbujeo, cilindro seccionado y reactores de tanque agitado (Shuler y Kargi, 1992). Estos sistemas están diseñados para optimizar la transferencia de masa de las burbujas de aire al seno del líquido donde la biodegradación ocurre y para permitir el control de las condiciones de la población microbiana. Una variante de este tipo de reactores, consiste en la adición de una sustancia hidrofóbica (aceite) a las células en suspensión, de manera de formar una emulsión que permita incrementar el transporte de masa. Por lo que una interesante aplicación estaría enfocada a la degradación de compuestos hidrofóbicos.

Estos reactores son conocidos como bioreactores líquidos de dos fases TLPBs (por sus siglas en inglés two liquid phase bioreactors), los cuales fueron utilizados desde los años 70s para la bioconversión de substratos tóxicos a productos de interés comercial (Wubbolts y col., 1996). Consisten de una fase acuosa y una fase líquida

inmiscible en agua, sin embargo, existen al menos 4 fases presentes: fase hidrofóbica, fase acuosa, fase gas, y las células (Van der Meer y col., 1992). En este tipo de reactores una segunda fase que es un solvente orgánico inmiscible y biocompatible actúa como un depósito del substrato tóxico (o hidrofóbico) y mediante su apropiada selección, puede ocurrir la transferencia del substrato a las células (niveles sub-inhibitorios) mediante un equilibrio de partición y una demanda metabólica de las células (Daugulis, 1997).

Los TLPBs han sido aplicados principalmente para tratar contaminantes en fase líquida (Guieysse y col., 2001), pero en trabajos recientes se han utilizado TLPBs para tratar benceno y tolueno en fase gas (Yeom y Daugulis., 2000; Davison y Daugulis, 2003). A continuación me enfocaré a describir los resultados que hasta el momento se han reportado para el tratamiento de contaminantes hidrofóbicos.

1.3 Biodegradación de compuestos hidrofóbicos

La biodegradación involucra el rompimiento de compuestos químicos el cual generalmente es catalizado por microorganismos, dando lugar a la producción de biomasa celular, compuestos menos complejos y finalmente agua, dióxido de carbono o sulfatos y nitratos. La biodegradación y la tasa a la cual ocurre depende de: condiciones ambientales, el número y tipo de microorganismos presentes, además de la estructura química del contaminante (Walter y Crawford., 1997).

Existen muchos compuestos en la naturaleza que son químicamente inertes, como es el caso de los alcanos que son moléculas desprovistas de oxígeno (Morrison y Boyd., 1992). Algunos microorganismos tienen la habilidad de catalizar reacciones de oxidación usando el oxígeno molecular, a partir de esto se inician secuencias de reacciones que llevan a establecer las rutas catabólicas (Dagley, 1975). El paso inicial de la oxidación de los hidrocarburos alifáticos o alcanos implica la incorporación de uno de los átomos del oxígeno molecular, esta reacción la realiza una monooxigenasa. La cual algunas veces es llamada hidroxilasa cuando catalizan la formación de un grupo hidroxilo (OH) en los compuestos orgánicos. Esta enzima contiene una variedad de cofactores como los grupos hemo, flavina, cobre y manganeso cuya función es “activar” al oxígeno alterándolo hasta su estado monoatómico. Por lo que los alcanos son usualmente activados por la oxidación del grupo terminal para dar lugar a un alcohol, el cual es posteriormente oxidado por una enzima llamada alcohol deshidrogenada y una

aldehído deshidrogenasa. Esta ruta da como resultado la producción de un ácido graso que posteriormente entra al ciclo de la β -oxidación (van Beilen y col., 2003).

La biodegradación de compuestos hidrofóbicos como los alcanos (hexano y pentano) ha sido poco estudiada. Debido a la baja solubilidad estos compuestos no son fácilmente removidos mediante sistemas de tratamiento biológico. La transferencia del contaminante de la fase gas a la biopelícula es un factor que limita el tratamiento de estos compuestos. Desde el punto de vista físico los compuestos con alta solubilidad en agua (coeficientes de partición < 0.01 ; $m=[C_{\text{gas}}].[C_{\text{líquida}}]^{-1}$) son más fácilmente transferidos a la biopelícula que los compuestos con baja solubilidad ($m>1$). Sin embargo, a pesar de las limitaciones de transporte, existen algunos estudios sobre la biodegradación de compuestos ligeramente o altamente hidrofóbicos los cuales se listan a continuación:

Tabla 1.5. Estudios sobre biodegradación de compuestos hidrofóbicos.

Autor	Compuesto	Sistema biológico	CE_{max}, g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹
Mohseni y col., 2000	α -pineno	B-bacteriano	45
Delhomenie y col., 2001	Tolueno	B-bacteriano	100
García-Peña y col., 2001		B-fúngico	350
Barton y col., 1997	Pentano/ isobutano	BLE-consorcio	50
Chungsyng y col., 2001	Pentano/ estireno	BLE-consorcio	30
Dupasquier y col., 2002	Pentano/ MTBE	B-bacteriano	12
Budwill y col., 1999	n-hexano	*B-bacteriano	35
Groenestijn y Lake., 1999		*BLE-consorcio	80
Paca y col., 2002		B-consorcio	7
Spigno y col., 2003 Kibazohi		B-fúngico	150
y col., 2004		B-consorcio	60

CE= Capacidad de Eliminación; B=Biofiltro; BLE =Biofiltro de Lecho Esgurrido;

*Reactores de 2 fases (aceite de silicona-agua)

De acuerdo con los estudios reportados en la Tabla 1.5, parecería que el transporte gas-líquido no fuera una etapa limitante del proceso debido a las tasas de remoción considerables que se han obtenido. Sin embargo, si enfocamos nuestra atención a las limitaciones de transporte de la fase gas a la biopelícula, Miller y Allen, (2004) realizaron un estudio para determinar el coeficiente de partición y la difusividad de α -pineno en una biopelícula bacteriana. En este estudio se comprobó claramente que los parámetros medidos son hasta de un orden de magnitud diferente a los que comúnmente se toman en cuenta para modelar los sistemas de biofiltración que son los del contaminante en agua. Lo anterior indica que los componentes que forman la biopelícula (sustancias hidrofóbicas) ayudan a incrementar la absorción del compuesto (transporte) y así es posible obtener tasas de degradación importantes para contaminantes hidrofóbicos (Davison y col., 2000). En esta línea, podemos decir que el transporte, y por tanto, mayor degradación del contaminante, está influenciado por el tipo y características de la biopelícula (fúngica, bacteriana y mixta).

Primeramente abordaremos el uso de hongos en sistemas de biofiltración. Anteriormente se creía que el uso de hongos estaba limitado debido a las bajas tasas de crecimiento de estos en comparación con las bacterias (Rittmann y McCarty, 2001). Sin embargo, recientemente se han llevado a cabo estudios de biofiltración mediante biopelículas fúngicas, en los cuales se han obtenido CE mayores que las obtenidas en sistemas bacterianos (García-Peña y col., 2001; Aizpuru y col., 2005). García-Peña y col., (2001) obtuvieron CE para tolueno hasta 6 veces mayores que las obtenidas cuando se utilizan bacterias (Elmirini y col., 2001). Otro estudio llevado a cabo por Spigno y col., (2003) mostró que la CE de hexano el cual es 100 veces menos soluble que tolueno, se veía favorecida al utilizar *Aspergillus niger*. Si analizamos las características de los hongos, podemos decir que contienen en su pared celular proteínas como las hidrofobinas, las cuales ayudan a vencer la tensión superficial del agua y permiten al hongo crecer en forma aérea al exterior (hifas), de tal manera que pueden tomar directamente el contaminante de la fase gas sin una transición del contaminante por la fase líquida (Wöesten y col., 1999; van Groenestijn y Liu., 2002). Además, por su tipo de crecimiento los hongos ofrecen una ventaja sobre las bacterias, ya que poseen relaciones de área superficial/espesor de biopelícula mayores que la de bacterias que forman biopelículas planas y espesas. Por otro lado, los hongos soportan condiciones de trabajo poco favorables, como son pH bajos y actividades de agua entre

0.8-0.9, siendo estas características comúnmente encontradas en biofiltros (Devinny y col., 1999). Por sus particularidades los hongos probablemente incrementen el transporte del contaminante a la biopelícula y presenten una nueva alternativa para el tratamiento de compuestos hidrofóbicos. Sin embargo, cabe mencionar, que existen inconvenientes al trabajar con hongos en biofiltros, ya que presentan velocidades de crecimiento más lentas que la de las bacterias y en condiciones de secado las esporas pueden ser liberadas al ambiente provocando otro tipo de contaminación (Rittmann y McCarty, 2001).

Por otro lado debido a que los biofiltros son sistemas abiertos y el aire que pasa a través de ellos contiene una gran cantidad de aerosoles, cenizas y diferentes tipos de células como: esporas de una gran variedad de microorganismos. Es difícil mantener una cepa pura por largos periodos de operación en un biofiltro (Devinny y col., 1999) y la posibilidad de limpiar el aire que entra al reactor traería consigo el incremento de los costos de operación haciendo este proceso poco viable. Estudios recientes han demostrado que el predominio de poblaciones fúngicas en un reactor puede obtenerse mediante el control de pH, humedad y adición de nutrientes (van Groenestijn y Liu., 2002). Estos autores estudiaron la degradación de α -pineno (compuesto ligeramente hidrofóbico) utilizando un biofiltro preferentemente fúngico. Para favorecer el crecimiento fúngico el pH fue mantenido a 3.5 por medio de la adición continua de medio mineral. En este estudio se obtuvieron CE ligeramente menores que las obtenidas cuando se utilizan cepas fúngicas puras, pero más altas que las reportadas en sistemas bacterianos. La estrategia de mantener poblaciones preferentemente fúngicas en un biofiltro podría traer ventajas ya que nos permitiría comprobar si se incrementan las velocidades de remoción de compuestos hidrofóbicos al utilizar hongos y, además, disminuir los gastos que implicaría mantener una cepa pura en un sistema de biofiltración.

El uso de biofiltros de dos fases (fase orgánica-microorganismos), puede ser otra alternativa para el tratamiento de compuestos hidrofóbicos como el hexano. Debido a que la fase orgánica (aceite) podría incrementar el transporte del contaminante a la biopelícula y así favorecer su degradación, como ha sido reportado por otros autores mediante el uso de bacterias (Budwill y col., 1999; van Groenestijn y Lake., 1999). Para el caso de biofiltros con hongos y aceite, hasta el momento no se ha reportado ningún estudio para la degradación de hexano, ni de otros compuestos hidrofóbicos.

Otra alternativa relativamente nueva para el tratamiento de aire contaminado con compuestos hidrofóbicos, implica la utilización de reactores de dos fases TLPBs, que es una tecnología que es capaz de sobrepasar el potencial de aplicación de un biofiltro (Daugulis, 1997). Los TLPBs han sido aplicados principalmente para tratar contaminantes en fase líquida (Guieysse y col., 2001), pero en trabajos recientes se han utilizado TLPBs para tratar benceno y tolueno en fase gas (Davison y Daugulis, 2003). Para el caso de tolueno, estos autores, obtuvieron CE de $1270 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$, las cuales son alrededor de 4 veces mayores que las obtenidas en biofiltros bacterianos ($270 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$), inclusive son mayores que las obtenidas al utilizar hongos (Auria y col., 2000; García-Peña y col., 2001).

Lo anterior indica que el uso de TLPBs presenta una alternativa de tratamiento eficaz para COVs hidrofóbicos, ya que a partir de su uso se estaría incrementando el transporte del contaminante debido a la naturaleza hidrofóbica del aceite, la alta absorción del contaminante hidrofóbico en el aceite, el incremento del área interfacial. Además, debido al mayor contacto entre las células (adhesión), la cual provocaría que los microorganismos consuman directamente el contaminante de la fase oleosa y no ocurra una transición del contaminante a la fase acuosa. Por lo que el uso de este tipo de reactores sería atractivo para la remoción de contaminantes hidrofóbicos como lo han publicado otros autores (Yeom y Daugulis y col., 2000, Davison y Daugulis., 2003). Para el caso de hexano hasta el momento no existe ningún reporte sobre el uso de estos sistemas para su degradación.

Se han reportado varios modelos para predecir la remoción de contaminantes en biofiltros (Ottengraf & Van de Oever, 1983; Devinny y col, 1991; Shareefdeen y Baltzis, 1994). Estos modelos generalmente incorporan mecanismos de transporte y reacción, los cuales requieren del conocimiento de parámetros físicos y biológicos (equilibrio gas-líquido, coeficientes de transferencia de masa y difusión; cinética, concentración de biomasa y rendimientos). En algunos casos se han reportado modelos que consideran el sistema en estado estable (Ottengraf y van den Oever., 1983) o bien en condiciones transientes (Deshusses y col., 1996). Todos los modelos matemáticos requieren la determinación de varios parámetros como: coeficientes de difusión y de Henry, constantes cinéticas de biodegradación, área interfacial, espesor de biopelícula y densidad de biopelícula, los cuales son difíciles de medir experimentalmente. Estos parámetros son generalmente obtenidos de la literatura o ajustados por medio de modelos matemáticos o datos experimentales. Hasta el momento solo se ha reportado

un modelo que incorpora parámetros medidos experimentalmente como el espesor de biopelícula, área superficial, densidad de biopelícula activa y total y coeficiente de mantenimiento (Pineda y col., 2000). Este modelo ajustó los datos experimentales (CE vs. Carga) con un error de 9.7%, para el caso de la biofiltración de tolueno utilizando vermiculita como soporte y un consorcio microbiano. Generalmente los modelos matemáticos consideran a la biopelícula como una fase acuosa y predicen remociones despreciables para compuestos poco solubles en agua (Ottengraf y van den Oever, 1983; Devinny y col., 1991). Para compuestos hidrofóbicos, sin embargo, la aproximación del coeficiente de partición (Ley de Henry) y difusividad efectiva del contaminante en agua no puede ser válida debido a la presencia de material orgánico (lípidos, polímeros, etc) en la biopelícula. Estas sustancias probablemente alteran las características fisicoquímicas del líquido y facilitan el transporte de compuestos hidrofóbicos a la biopelícula (Miller y Allen, 2004). Si esto se comprobara podríamos explicar por que se obtienen capacidades de remoción altas de compuestos hidrofóbicos en biofiltros, además de poder explicar los efectos de la concentración de biomasa, humedad y concentración del contaminante hidrofóbico en la biopelícula.

2 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Estudiar la degradación del compuesto hidrofóbico hexano, mediante el uso de biopelículas bacterianas, mixtas y fúngicas en reactores de lecho fijo y de tanque agitado de una y dos fases.

Objetivos particulares

- Llevar a cabo la degradación de hexano por medio de un consorcio bacteriano, uno fúngico y cepas puras de hongos en biofiltros y experimentos en lote
- Llevar a cabo la degradación de hexano mediante un biofiltro de dos fases por medio de hongos
- Usar un reactor de tanque agitado de una y dos fases (fase oleosa-liquida) para degradar hexano en fase gas por medio de hongos
- Obtener parámetros físicos del sistema de biofiltración experimentalmente: particularmente el coeficiente de partición en la biopelícula, el espesor de biopelícula y la difusividad efectiva
- Integrar los parámetros físicos y cinéticos obtenidos en los sistemas de biofiltración en un modelo matemático simple para evaluar cuales son los pasos que controlan la degradación de compuestos hidrofóbicos en biofiltros

Hipótesis

1. Con el uso de cepas fúngicas en biofiltros se mejora el transporte y la biodegradación de compuestos hidrofóbicos que con el uso de bacterias
2. Es posible mantener el predominio de hongos en un biofiltro mediante el control del pH y adición de agentes antibacterianos
3. Las velocidades de consumo de hexano obtenidas cuando se utilizan reactores de dos fases (fase oleosa-agua) son mayores que las obtenidas con sistemas de una fase
4. Es posible relacionar el espesor de una biopelícula fúngica con el área interfacial e incorporarlos en el modelo matemático del biofiltro.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación se describirán los reactivos químicos y microorganismos utilizados, también se dará una descripción de los experimentos realizados y las metodologías seguidas para la obtención de los resultados de este trabajo.

3.1 Reactivos químicos

Los reactivos utilizados fueron hexano (Tegsiquim, Co. México) con una pureza de 95%. Pentano en aire al 0.35% (Praxair, México). Aceite de silicona 200 [Poly(dimethylsiloxane)] $2 \times 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, hexanol, hexanal, ácido hexanoico, hexadecano, tetradecano, undecano, undecanona, dietil-sebacato y 1-decanol (Sigma-Aldrich, >99%).

3.2 Microorganismos y medio mineral

Los microorganismos utilizados fueron aislados de un reactor que trataba gasolinas sintéticas. Este reactor operó durante 2 años y mediante estudios microbiológicos se mostró que las poblaciones predominantes eran hongos y bacterias (Hernández, 2002).

Los microorganismos quimioheterótrofos utilizan compuestos orgánicos como fuente de energía y de carbono para poder desarrollarse, sin embargo, para mantener una actividad microbiana, es necesario aportar minerales en la forma y cantidades adecuadas (Madigan y col., 1998). En este estudio se utilizó para todos los experimentos, la siguiente composición de medio mineral (García-Peña y col., 2001):

Tabla 3.1. Composición química del medio mineral

Compuesto	Concentración (g.L ⁻¹)
Nitrato de Sodio (NaNO ₃)	6
Fosfato de Potasio (KH ₂ PO ₄)	1.3
Sulfato de Magnesio (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0.38
Sulfato de Calcio (CaSO ₄ .2H ₂ O)	0.25
Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	0.055
Sulfato de Hierro (*FeSO ₄ .7H ₂ O)	0.015
Sulfato de Manganeso (*MnSO ₄ .H ₂ O)	0.012
Sulfato de Zinc (*ZnSO ₄ .7H ₂ O)	0.013
Sulfato de Cobre (*CuSO ₄ .7H ₂ O)	0.0023
Cloruro de Cobalto (*CoCl ₂ .6H ₂ O)	0.0015
Ácido Bórico (*H ₃ BO ₃)	0.0015

*Elementos traza

3.2.1 Consorcio bacteriano (E1)

Se obtuvo un consorcio bacteriano mediante la aclimatación de los lixiviados del reactor que trataba gasolinas sintéticas. Para esto 500 mL del consorcio fueron adaptados al consumo de vapores de hexano durante 45 días, manteniendo una agitación de 150 rpm y una temperatura de 30°C. El pH fue mantenido a 7 para limitar el crecimiento fúngico (van Groenestijn y Liu., 2002). Las células fueron lavadas y resuspendidas en medio mineral fresco (10% v/v) cada 7 días, y se adicionaron 100 µL de hexano. Este consorcio bacteriano se utilizó para arrancar el primer reactor (E1) el cual operó durante 4 meses (Figura 3.2).

3.2.2 Consorcio fúngico (E2)

Al final de la operación del reactor (E1) se observaron algunas poblaciones fúngicas, las cuales se colocaron en un recipiente que contenía medio mineral a pH 4 y vapores de hexano, durante 45 días. Al igual que el consorcio E1, se realizaron lavados

y adiciones de medio mineral fresco cada 7 días. Este consorcio se utilizó para arrancar el segundo reactor mixto E2 (Figura 3.2).

3.2.3 Aislamiento de cepas fúngicas

Durante la operación del reactor E2 fueron tomadas muestras del soporte, las cuales sirvieron para llevar a cabo el aislamiento y la propagación de cepas fúngicas. El aislamiento se llevó a cabo en cajas Petri que contenían: medio mineral a pH 4, 1.5 % de agar y agentes antibacterianos (sulfato de gentamicina 50 g.m⁻³ y cloranfenicol 20 g.m⁻³). Las cajas fueron expuestas a vapores de hexano como única fuente de carbono y energía en un desecador a 30°C. Se monitoreó el crecimiento durante 1 semana y se realizaron resiembras de los hongos en cajas Petri con agentes antibacterianos hasta llegar a su completo aislamiento. Los hongos se conservaron a 5°C en placas que contenían medio mineral, 1.5 % de agar y 5% de extracto de malta (mezcla A).

Para la preparación del inóculo de los reactores fúngicos, las cepas se propagaron en placas que contenían la mezcla A. Después de 4 días de crecimiento se adicionó a las cajas perlas de vidrio, 0.1% de Tween 80 y medio mineral. Las esporas se cosecharon por medio de agitación vigorosa y se realizaron conteos en cámara de Neubauer. Enseguida se prepararon suspensiones que contenían 2x10⁷ esporas.mL⁻¹, las cuales sirvieron para inocular los reactores fúngicos.

3.3 Experimentos

Los experimentos realizados se muestran en la Fig. 3.1 y Anexo A. En las siguientes secciones se detallan las metodologías utilizadas.

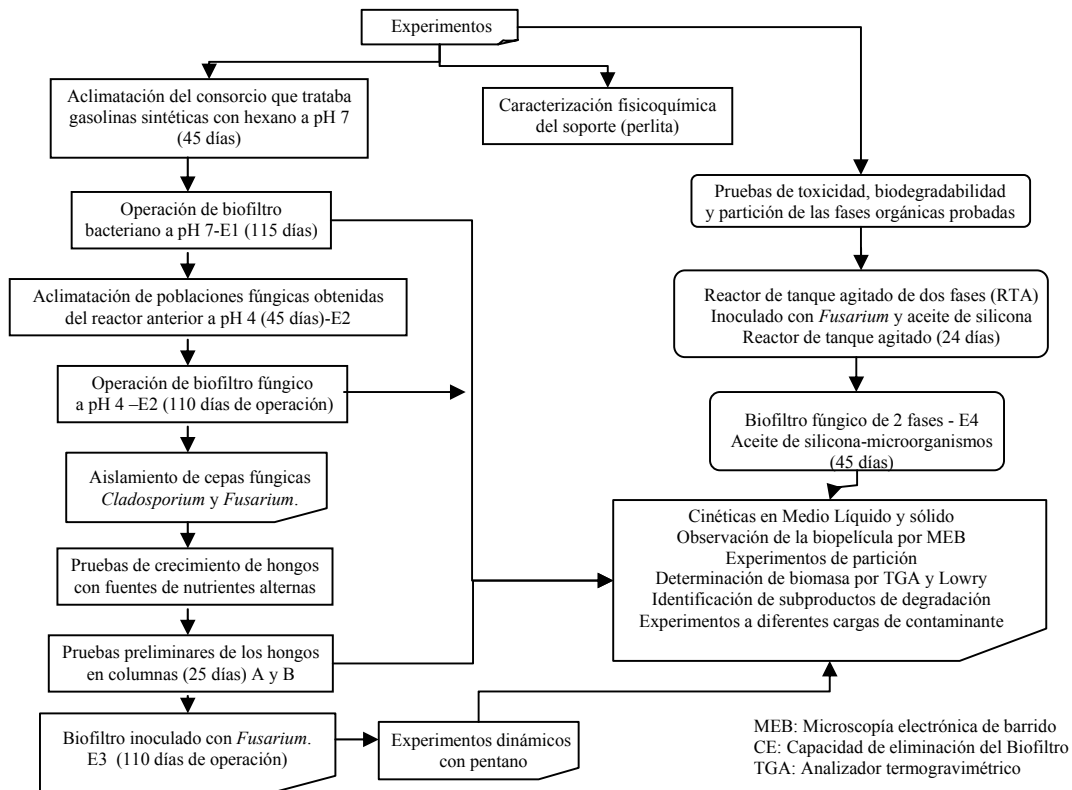


Figura 3.1. Diagrama de flujo experimental. E1-biofiltro bacteriano, E2-biofiltro mixto (preferentemente fúngico), E3-biofiltro inoculado con *F. solani*, E4-biofiltro fúngico de 2 fases, A-columna inoculada con *F. solani*, B-columna inoculada con *Cladosporium sp.*

3.3.1 Soporte

En este estudio se seleccionó como soporte del reactor un mineral volcánico compuesto principalmente por silicato de aluminio. Este material se conoce con el nombre de perlita o agrolita (Hummert, México). Es un material sin contaminantes, ni sales, de baja densidad y tiene un pH neutro. Es físicamente estable y químicamente inerte. Favorece el drenado y la retención óptima de la humedad. Es un material seguro que actúa como aislante para reducir fluctuaciones extremas de temperatura en el reactor. La perlita ha sido utilizada como soporte inerte para experimentos de biofiltración (Cox y col., 1997; Kibazohi y col., 2003).

En este estudio se determinaron algunas propiedades físicas del soporte como: su densidad de empaque, la humedad, la fracción vacía que ocupa la perlita cuando se empaqueta, la distribución granulométrica y la capacidad de adsorción de hexano. Las metodologías utilizadas se describen a continuación.

1. Para determinar la densidad de empaque se utilizó una probeta de polipropileno de 1 L. Se registró el peso de la probeta sola, enseguida se llenó la probeta hasta la marca con partículas de perlita seca (tamaño promedio 4 mm) y se anotó el peso. Cabe mencionar que este experimento es válido sólo cuando la relación de diámetro de partícula a diámetro de la probeta es menor que 1/10. En este trabajo esta relación se cumplió y fue de 0.4/6.

La densidad de empaque se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\rho_{\text{empaque}} = \frac{m_{\text{perlita seca}}}{V_{\text{total}}} \quad (3.1)$$

2. La fracción vacía de un lecho de perlita se determinó llenando una probeta de 1 L con perlita hasta la marca y se registró su peso. Enseguida se agregó agua a la probeta hasta asegurarse de haber llenado todos los huecos sin que tuviera burbujas de aire, se anotó el peso de agua que ocupó el vacío intergranular (fracción vacía del lecho). La fracción vacía se obtuvo mediante la siguiente relación:

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{espacio vacío}}}{V_{\text{total}}} \quad (3.2)$$

3. La humedad de la perlita se midió colocando una muestra de perlita en agua destilada durante 48 horas, tiempo suficiente para asegurar que los poros de la perlita se llenaran de agua. Enseguida se escurrió la perlita, se tomó una muestra y se pesó. Posteriormente, se colocó en una estufa a 100°C durante 48 horas para evaporar el agua absorbida y se registró el peso seco de la perlita. Este experimento se realizó por triplicado y la humedad (H) se calculó mediante la ecuación siguiente:

$$H = \frac{m_{\text{H}_2\text{O}}}{m_{\text{perlita húmeda}}} \quad (3.3)$$

4. La distribución y tamaño de partícula se determinó fraccionando una cantidad conocida de perlita en 3 intervalos de tamizado que corresponden a los tamaños de malla: 4.76 mm, 3.36 mm y 0.68 mm. Cada fracción de perlita fue pesada. La longitud característica (L_n) se denominó a la media entre las mallas por las cuales quedó atrapada la muestra. Mediante una curva de Gauss, se obtuvo que el 86% de la perlita con la cual se empacó el reactor tenía un tamaño de partícula entre 4.76 y 3.36 mm (L_n 4.06). El 11% tuvo un tamaño mayor a 4.76 mm y el 3% se encontró entre 0.68 y 3.36 mm.

5. La capacidad de adsorción de hexano sobre la perlita se determinó colocando diferentes cantidades de perlita seca (0.5 a 2g) en un matraz Erlenmeyer de 125 mL provisto con una tapa mininert de teflón (VICI Precision Sampling, Inc., Baton Rouge, LA). Posteriormente se inyectaron de 1 a 5 μL de hexano y se monitoreó su concentración en la fase gaseosa por 72 horas, el cual fue considerado tiempo suficiente para que el sistema alcanzara el equilibrio (Anexo B.8). Posteriormente, se realizaron balances de masa y se encontró la cantidad de hexano adsorbida en la perlita. Las isothermas de adsorción se ajustaron por el modelo de Langmuir (Froment y Bischoff, 1998).

6. Se determinó la fracción vacía de las muestras de perlita con biomasa del reactor. Los experimentos consistieron en tomar una muestra del biofiltro de una altura conocida H (V_{total} conocido). Posteriormente esta muestra se extrae del reactor y se empaca en una columna de iguales dimensiones que la del biofiltro a la misma altura H . La muestra se pesó y enseguida se le agregó una cantidad de agua necesaria para llenar los huecos completamente hasta la altura H . Se registró el peso ($V_{\text{H}_2\text{O}}$ o $V_{\text{espacio vacío}}$) inmediatamente para evitar la absorción de agua sobre la perlita. La fracción vacía del lecho se calculó por medio de la ecuación 3.2.

3.3.2 Sistema experimental: Biofiltro

Los experimentos piloto se desarrollaron en un reactor que consistió en una columna de vidrio cilíndrica de 1 m de altura con un diámetro interno de 7.2 cm. El reactor se empacó con perlita hasta alcanzar un volumen de 2.4 L (altura del lecho 60 cm). Posteriormente se inoculó haciendo pasar una suspensión del consorcio sobre el soporte por medio de un sistema de aspersión. Aire saturado con hexano fue mezclado con una corriente de aire saturado con agua para obtener una concentración de hexano inicial de $3 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ (carga de $180 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$). La corriente de gas fue introducida por la parte superior del reactor con un flujo de aire de $0.15 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$, el cual fue regulado por medio de un controlador de flujo másico (Controlador de flujo másico 60061; Cole Parmer, Vernon Hills, IL, USA). El tiempo de residencia del lecho vacío EBRT (Empty bed retention time, por sus siglas en inglés) fue de 1 min. Por medio de un sistema de aspersión fino se adicionó medio mineral periódicamente por la parte superior del reactor (Figura 3.2). Para el caso del experimento E2 y E3 se añadieron agentes antibacterianos (sulfato de gentamicina $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ y cloranfenicol $20 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$) al medio mineral para inhibir el crecimiento bacteriano.

Este mismo sistema experimental fue utilizado para llevar a cabo la degradación de hexano en un biofiltro de dos fases (E4). El reactor fue empacado con perlita e inoculado con una emulsión. La emulsión se preparó homogenizando a 5000 rpm y por 8 min, una mezcla que contenía 5% de aceite de silicona, 0.1% de Tween 80 (Sorbitan monooleate, Conamex, Chemicals) y $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de extracto de malta en medio mineral. A esta emulsión se le agregó una suspensión de esporas de *F. solani* de manera de tener una concentración final de 2×10^7 esporas. mL^{-1} , la mezcla final fue homogenizada a 400 rpm y recirculada al reactor.

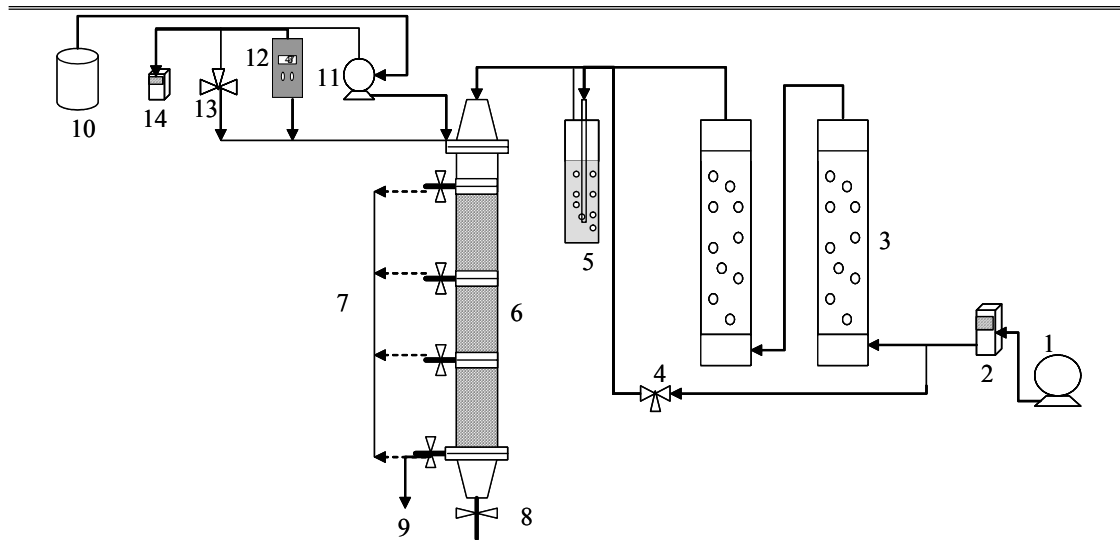


Figura 3.2. Diagrama experimental del sistema de biofiltración. 1, compresor; 2, medidor de flujo másico; 3, humidificador; 4, válvula de aguja; 5, evaporador de hexano; 6, columna empacada; 7, puertos de muestreo; 8, lixiviados; 9, salida; 10, medio mineral; 11, bomba peristáltica; 12, sistema de aspersion; 13, válvula solenoide; 14, temporizador.

3.3.3 Columnas

Una vez finalizada la operación del reactor E2 se procedió al aislamiento de las cepas fúngicas (Sección 3.2.3). Posteriormente se realizaron pruebas preliminares en columnas inoculadas con los hongos que se aislaron, para cuantificar su capacidad de degradación de hexano. Los experimentos fueron desarrollados en columnas de vidrio de 0.230 L, las cuales fueron empacadas con 20 g de perlita previamente inoculada con cada una de las cepas fúngicas. Aire húmedo y saturado con hexano fue introducido al reactor a una velocidad de flujo de $0.08 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ (EBRT de 2.9 min). Los reactores fueron inoculados con una suspensión de esporas preparada en medio mineral, cuya concentración fue de 2×10^7 esporas. mL^{-1} y que además contenía $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de extracto de malta para favorecer la germinación, esto se realizó en una campana estéril rociando la suspensión de esporas sobre el soporte y mezclando manualmente para asegurar la completa absorción del inóculo. La concentración de hexano a la entrada fue de $5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$.

3.3.4 Reactor de tanque agitado de dos fases (RCTA)

Como una alternativa para el tratamiento de contaminantes hidrofóbicos, se propuso el uso de un reactor de tanque agitado de dos fases: microorganismos-fase orgánica. Para lo cual, se utilizó un fermentador de 2 L Multigen (New Brunswick Scientific Co. Inc., New Jersey, USA) equipado con una doble turbina Rushton y operado a 400 rpm a 30 ± 1 °C (Fig. 3.3). El reactor fue cargado con 1350 mL de medio mineral, 150 mL de aceite de silicona (relación fase orgánica/acuosa de 1:9) y con un inóculo fúngico. El reactor fue entonces alimentado con un flujo de gas de $1.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y una concentración de hexano de $3 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ (Carga de $180 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$), el pH fue continuamente ajustado a 4. Un sistema idéntico fue operado en condiciones similares pero sin aceite de silicona el cual sirvió como control. La concentración de biomasa en el reactor fue mantenida constante a $220 \text{ mg}_{\text{proteína}}\cdot\text{L}^{-1}$. Para esto, se realizaron extracciones de muestras del reactor cada 2 días y se adicionó medio mineral fresco. Las muestras se centrifugaron para separar la fase orgánica, biomasa y medio mineral. Posteriormente se cuantificó la biomasa por el método de Lowry (Sección 3.4.4) y se regreso al reactor la fase orgánica.

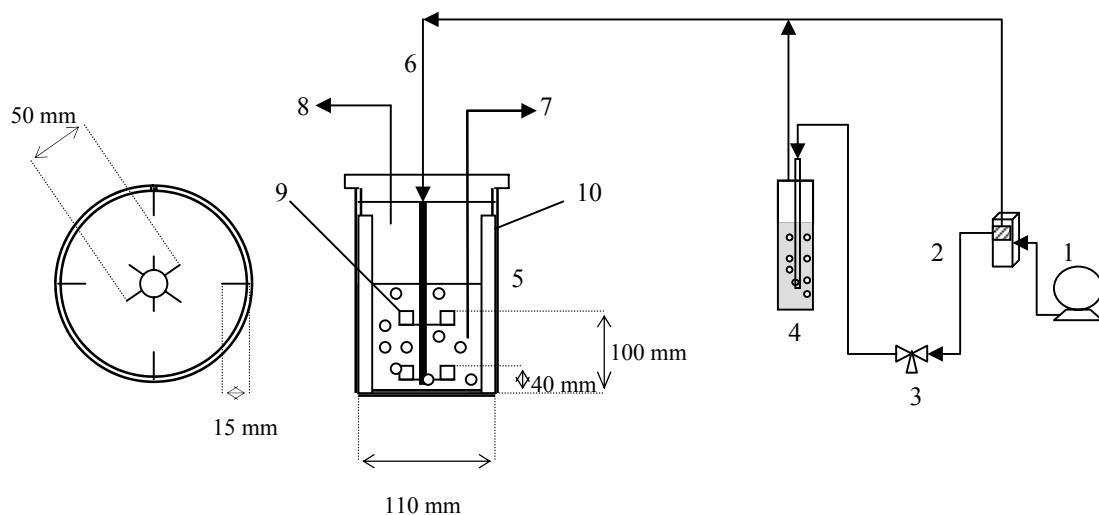


Figura 3.3. Diagrama esquemático de reactor de tanque agitado de dos fases. 1, compresor; 2, medidor de flujo másico; 3, válvula de aguja; 4, evaporador de hexano; 5, reactor de tanque agitado; 6, entrada de aire saturado con hexano; 7, puerto de muestreo; 8, salida; 9, turbina Rushton; 10, baffles.

3.3.5 Expresión de resultados

Los resultados para los biofiltros y reactores de tanque agitado fueron expresados en función del volumen del reactor de acuerdo a la capacidad de eliminación de hexano (CE):

$$CE = \frac{Q_g}{V_{\text{reactor}}} (C_{\text{Hent}}^g - C_{\text{Hsal}}^g) \quad (3.4)$$

y como la CE expresada en función del volumen ocupado por el gas para el reactor de tanque agitado y biofiltro, respectivamente:

$$CE_g = CE \left(\frac{1}{\varepsilon_G} \right) \quad (3.5)$$

$$CE_g = CE \left(\frac{1}{\varepsilon} \right) \quad (3.6)$$

ε_G ($\text{m}^3_{\text{gas}} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$) corresponde a el "hold up" del gas (fracción en volumen ocupada por el gas) y fue determinado experimentalmente dividiendo el volumen ocupado por el gas (reactor en operación) entre el volumen del líquido en el reactor (reactor no agitado y no aireado).

ε es la fracción vacía del lecho para los biofiltros ($\text{m}^3_{\text{gas}} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$).

Para un flujo de $1.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ el "hold up" del gas tiene un valor de $0.133 \text{ m}^3_{\text{gas}} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$ y la fracción vacía del lecho para los reactores empacados con perlita fue de 0.65

$\text{m}^3_{\text{espacio vacío}} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$.

La eficiencia de remoción de hexano y la carga del contaminante se calculan a partir de:

$$\%ER = \frac{(C_{\text{Hent}}^g - C_{\text{Hsal}}^g)}{C_{\text{Hent}}^g} \cdot 100 \quad (3.7)$$

$$L = \frac{Q_g \cdot C_{\text{Hent}}^g}{V_l} \quad (3.8)$$

donde:

V_{reactor} : volumen del reactor, $\text{m}^3_{\text{reactor}}$

V_g : volumen del gas, m^3_{gas}

Q_g : flujo de aire, $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$

C_{Hent}^g y C_{Hsal}^g : Concentración de hexano de entrada y salida, $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$

CE: Capacidad de eliminación de hexano en función del volumen del reactor,
 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$

CE_g : Capacidad de eliminación de hexano en función del volumen ocupado por el gas,
 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{gas}} \cdot \text{h}^{-1}$

ϵ : Fracción vacía del lecho, $\text{m}^3_{\text{gas}} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$

ϵ_G : "hold up" del gas, $\text{m}^3_{\text{gas}} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$

3.4 Métodos analíticos

A continuación se presentan los métodos de análisis usados para el desarrollo de esta investigación. Se describen primero los métodos de análisis microbiano y coeficiente de partición, el método de análisis cuantitativo y cualitativo de la biomasa y se continúa con la técnica de análisis del carbono orgánico e inorgánico en biomasa y lixiviados. Posteriormente, se explican las metodologías usadas para medir las concentraciones en fase gas.

3.4.1 Estimación de las velocidades de consumo

Las velocidades de consumo de hexano se evaluaron en experimentos en lote. Los experimentos se desarrollaron introduciendo 2 g de muestra del biofiltro en recipientes de vidrio de 125 mL equipados con válvulas mininert de teflón (VICI Precision Sampling, Inc., Baton Rouge, LA). Enseguida se añadieron 20 mL de medio mineral y se inyectaron 5 μL de hexano líquido de manera de obtener una concentración experimental en la fase gas de 22.5 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$. En algunos experimentos se agregaron agentes antibacterianos (sulfato de gentamicina, 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y cloranfenicol, 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y un antifúngico (Nistatina, 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) al medio mineral. Otros experimentos se llevaron a cabo con muestras sólidas del reactor (medio sólido). El pH de los experimentos en

medio líquido fue ajustado a 7 o 4 con soluciones 0.1 M de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, respectivamente.

Para el caso de los hongos aislados, se realizaron cinéticas con una suspensión de esporas de concentración de 2×10^7 esporas.mL⁻¹. Estas esporas fueron obtenidas creciendo los hongos con fuentes de nutrientes alternas: glicerol, extracto de malta, extracto de levadura, glucosa y YNB (yeast nitrogen base, fuente rica en sulfato de amonio). Estos experimentos consistieron en crecer los hongos en cajas Petri que contenían la fuente de nutrientes alterna por 4 días, posteriormente se cosecharon las esporas de estas placas como se describió en la Sección 3.2.3. Se prepararon suspensiones de esporas en medio mineral en recipientes de vidrio con tapa mininert y se inyectaron 5 µL de hexano.

Para ambos casos, se monitoreó el consumo de hexano (Sección 3.4.7.1), oxígeno y la producción de dióxido de carbono (Sección 3.4.7.2) a través del tiempo. Por medio de un balance de masa se encontró la cantidad de hexano consumido y se gráfico en función del tiempo. Los valores de este gráfico se ajustaron por el modelo matemático de Gompertz (Anexo B.7) utilizando el paquete computacional Origin v7 (OriginLab Corporation, 1991-2002). Las velocidades volumétricas máximas de consumo de hexano y producción de CO₂ fueron obtenidas por medio de este ajuste matemático. Posteriormente, por medio de los valores de contenido de biomasa y proteína de las muestras, las velocidades de consumo de hexano se expresaron en forma específica.

3.4.2 Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad de solventes

Los experimentos se llevaron a cabo en frascos de 155 mL provistos con septas de butilo y selladas con tapas de aluminio. Se adicionaron 19 mL de medio mineral, 2 mL de solvente y se inocularon con 1 mL de una suspensión de biomasa de *Fusarium solani* ($57 \text{ mg}_{\text{proteína}} \cdot \text{L}^{-1}$). Para el caso de las pruebas de toxicidad el medio mineral contenía además una solución de 1 g.L⁻¹ de glucosa, 0.02 g.L⁻¹ de extracto de levadura y 0.02 g.L⁻¹ de peptona (solución A). Experimentos control sin solvente y con o sin solución A fueron realizados. Los experimentos se colocaron en una parrilla de agitación a 150 rpm y 25°C. La concentración de O₂ y CO₂ fueron monitoreados por GC durante un mes.

3.4.3 Determinación del coeficiente de partición

El coeficiente de partición de hexano en la biopelícula se determinó a través de mediciones del equilibrio entre la concentración de hexano en la fase gas y la fase biopelícula (ec. 3.9). Los experimentos se desarrollaron en matraces de vidrio de 125 mL equipados con una válvula mininert de Teflón. El experimento consistió en colocar 2 g de soporte (perlita y biomasa) de muestras de los reactores (E1, E2, E3) en el recipiente de vidrio, enseguida se inyectaron diferentes volúmenes de hexano (0-3 μL). Los matraces se mantuvieron a una temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ y en una parrilla de agitación a 150 rpm, de manera de permitir el equilibrio entre el hexano en la fase gas y la biopelícula. Se consideró suficiente un tiempo de 72 horas para que el sistema alcanzara el equilibrio gas-biopelícula y las concentraciones de hexano en la fase gas posteriores a este tiempo permanecieron constantes. La concentración de hexano en la fase gas se monitoreo periódicamente (Sección 3.4.7.1) y la concentración de hexano en la biopelícula se calculó por medio de un balance de masa.

$$m_H^b = \frac{C_H^g}{C_H^b} \quad (3.9)$$

donde:

C_H^g es la concentración de hexano en la fase gas, $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$

C_H^b es la concentración de hexano en la biopelícula, $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$

Antes de iniciar los experimentos de partición, la muestra del reactor recibió varios tratamientos. Estos consistieron en inactivar la biopelícula por medio de secado a 100 $^{\circ}\text{C}$ por 24 horas y posteriormente las muestras se esterilizaron tres veces en una autoclave a 120 $^{\circ}\text{C}$ y 15 Lb de presión durante 15 min. Esta muestra posteriormente recibió radiación γ para asegurar que la biomasa estuviese inactiva. También se realizaron experimentos con biomasa húmeda, la cual se inactivó solo por radiación γ . A partir de estos experimentos se pretende obtener el coeficiente de partición de hexano en la biopelícula el cual se utilizará para resolver el modelo matemático.

El coeficiente de partición de hexano en los solventes utilizados (Sección 3.1), fue obtenido realizando balances de masa entre la concentración de hexano en la fase gas y fase orgánica. Estos experimentos se realizaron colocando 2 mL de cada solvente en tubos de 55 mL, estos tubos se cerraron con válvulas mininert y se les inyectó 10, 50,

250, 750, 1250 μL de hexano. Posteriormente los tubos fueron agitados vigorosamente por 1 min en un vortex. Los tubos se colocaron en una parrilla de agitación (150 rpm) por 30 min. Las pruebas fueron realizadas por duplicado en un cuarto a temperatura constante de 25°C.

3.4.4 Análisis cuantitativo de la biomasa

Para determinar el contenido de biomasa en el soporte se utilizó un analizador termogravimétrico (2950 TGA, TA Instruments, New Castle, DE, USA). Aproximadamente 30 mg de muestra fueron calentados a 550 °C en un horno a una velocidad de calentamiento de 10 °C.min⁻¹, utilizando nitrógeno como gas de purga a una velocidad de flujo de 100 mL.min⁻¹. Las mediciones se hicieron por duplicado. El contenido de humedad de la muestra fue considerada como la pérdida en peso a una temperatura menor a 100°C. Las pérdidas en peso de 100 a 550 °C representan el contenido orgánico y los sólidos volátiles en la muestra (biomasa). Se corrió un control con perlita humedecida en medio mineral para determinar las pérdidas debidas al contenido orgánico, estas pérdidas aunque fueron mínimas se consideraron en los cálculos. Además, para el cálculo del contenido de biomasa en las muestras, se despreció el contenido inorgánico de la biomasa, ya que se consideró que tenía un valor bajo. Esto implica que los valores reportados del contenido de biomasa en este trabajo tienen un error alrededor del 2%. El contenido de biomasa fue expresado en miligramos de biomasa por gramo de perlita seca y se determinó por la siguiente ecuación:

$$B = \frac{W_{100^{\circ}\text{C}} - W_{550^{\circ}\text{C}}}{W_{100^{\circ}\text{C}} + W_{550^{\circ}\text{C}}} \cdot 1000 \quad (3.10)$$

La cantidad de biomasa también se determinó indirectamente por su contenido de proteína. Esta fue cuantificada por el método de Lowry (1951) y fue expresada como $\text{mg}_{\text{proteína}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$. Para este análisis se utilizó un Kit de Biorad, el cual, posee un límite máximo de detección de 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. El primer paso fue hacer una curva de calibración usando como estándar albúmina de suero de bovino (ASB). La curva de calibración consistió en preparar soluciones estándar de ASB y la absorbancia se leyó con un espectrómetro (UV/Vis Lambda 11, Perkin Elmer, Alemania) a una longitud de onda de 750 nm. Para las muestras de los biofiltros se pesó una cantidad conocida de

muestra (2 g), se molió y se adicionaron 50 mL de NaOH (0.2 M). Esta muestra se hirvió durante 15 min, se enfrió y se filtró. Posteriormente se tomó una alícuota de 200 µL de la suspensión con células digeridas y se agregaron los reactivos de Folin, 100 µL del reactivo A y 800 µL del reactivo B, se agitó en el vórtex para homogeneizar y se colocó en la oscuridad durante 15 min. Finalmente, se midieron las absorbancias de las muestras en el espectrómetro. Se preparó un blanco de sosa de igual manera.

3.4.5 Análisis cualitativo de la biomasa

La presencia de microorganismos sobre el soporte al final de la operación de los reactores fue observada mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Las muestras se fijaron con solución de glutaraldehído al 2% a pH 7.4, durante 2 horas. Posteriormente se fijaron durante 1 hora en solución al 1% de tetraóxido de osmio (OsO_4) en buffer de fosfato. Las muestras se lavaron con solución amortiguadora de fosfato y se deshidrataron gradualmente con mezclas de 30, 50, 70, 90 y 100% de agua-acetona (Bitton y Marshall, 1980). Posteriormente, las muestras se secaron en un desecador de punto crítico (Samdri-780, Tousimis Research Corp., Rockville MD) y se cubrieron con oro. Las muestras se examinaron en un microscopio electrónico de barrido (JSM-5900 LV, Jeol, Japon) con un voltaje acelerado de 13 kV. El mismo tratamiento se le realizó a la perlita sin microorganismos. Para las muestras del biofiltro de 2 fases (E4), las muestras no pasaron por solución de glutaraldehído se fijaron directamente con tetraóxido de osmio para evitar el arrastre de las partículas de aceite.

Las cepas fúngicas aisladas se enviaron a un cepario Holandés CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) para ser identificadas. Este análisis se realizó mediante el estudio de sus caracteres macro y micro morfológicos (conidias y conidioforos), se observó la apariencia de la colonia que formaba el hongo en placas Petri con determinados medios. Para eso se tomó una muestra del cultivo en agar y se hizo un preparado microscópico montado en agua (las tinciones como azul de algodón lactofenol alteran el tamaño de las estructuras). Los caracteres morfológicos de la cepa fueron utilizados en la tabla sinóptica para el genero *Fusarium*, (Gams y Anderson, 1980).

Se realizaron además tinciones de las muestras de los hongos con azul de algodón lactofenol. Posteriormente, se realizaron visualizaciones en un Microscopio

Óptico con el objetivo de 40X (Nikon, Optimus) y en un microscopio de fluorescencia (Olympus BX50, American INC).

3.4.6 Medición del carbono orgánico e inorgánico

Los experimentos se llevaron a cabo para determinar el carbono acumulado como material biodegradable (polímeros extracelulares e intermediarios) y carbonatos retenidos por equilibrio iónico en el material de empaque al final de la operación. El material biodegradable fue medido tomando 10 g de muestra del reactor y diluyéndolos con 60 mL de agua destilada. 8 mL de esta mezcla fueron introducidos dentro de un frasco de vidrio de 125 mL provisto con una válvula mininert (VICI precision Sampling Inc., Baton Rouge, LA, USA). La evolución de CO₂ fue monitoreada de acuerdo con la Sección 3.4.7.2. El proceso de digestión fue registrado durante 6 días a 30°C. Ninguna fuente de carbono adicional fue introducida al sistema.

El mismo sistema y tamaño de muestra fue utilizado para medir carbonatos. Este experimento consistió en agregar HCl concentrado hasta bajar el pH a 1.0. El CO₂ producido durante esta reacción fue monitoreado (Sección 3.4.7.2) y las mediciones se hicieron por duplicado. El carbono total (CT), así como el carbono inorgánico (bicarbonato), se cuantificaron mediante un analizador de carbono total (TOC-5000A, Shimadzu). En el Anexo B.4 se da una descripción detallada del equipo así como la curva de calibración empleada.

3.4.7 Mediciones en fase gas

Se realizaron mediciones de la concentración de hexano, pentano, dióxido de carbono y oxígeno en la fase gas. Así como de los subproductos de degradación de acuerdo a las metodologías discutidas a continuación.

3.4.7.1 Concentración de hexano y pentano

Se monitorearon por medio de un Cromatógrafo de Gases con detector de ionización de flama, (GowMac, Serie 580; Bridgewater, NJ, USA), equipado con una columna de acero inoxidable de 6ft x 1/8 in x 0.085 (2% Silar 10C, Graphpac GC 80/100; Alltech, Deerfield. IL. USA). Las condiciones de operación fueron: T_{columna} = 180°C,

$T_{\text{detector}} = 210 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y $T_{\text{inyector}} = 190 \text{ }^{\circ}\text{C}$. En los biofiltros (E1-bacteriano, E2-mixto, E3-fúngico y E4-fúngico de 2 fases), columnas (*A-F.solani* y *B-Cladosporium*) y reactor de tanque agitado de dos fases, las concentraciones de entrada y salida fueron medidas tomando muestras gaseosas de 250 μL en jeringa (VICI Precision Sampling, Inc., EU), las mediciones se realizaron por duplicado. Las curvas de calibración utilizadas se muestran en el Anexo B.1 y B.2.

3.4.7.2 Producción de dióxido de carbono

Las concentraciones de CO_2 en los reactores fueron medidas con un Analizador Infrarrojo (3400 analizador de gas; Instrumentos analíticos California, USA), los valores que se reportan corresponden a la diferencia de concentraciones de CO_2 entre la salida y la entrada (ambiente). En el Anexo B.3 se da una descripción detallada de los fundamentos de medición. Para medir el CO_2 producido en los experimentos de lote y de partición, se utilizó un Cromatógrafo de Gases (series 550 Gow-Mac, Bridgewater, NJ, USA) con detector de conductividad térmica (GC-TCD). Dicho equipo está provisto con una columna concéntrica (CTR-1, Alltech, Deerfield, IL, USA), a través de la cual la muestra es arrastrada utilizando una corriente de helio a un flujo de $65 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Las temperaturas del inyector, detector y columna fueron 30, 100 y $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. La columna permite separar nitrógeno, dióxido de carbono y oxígeno. Las áreas son correlacionadas para calcular las cantidades de cada uno de ellos de acuerdo a las expresiones mostradas en el Anexo B.5. En los experimentos en lote, se tomaron muestras gaseosas de 100 μL de la fase gaseosa con jeringa (VICI Precision Sampling, Inc., EU), el análisis se realizó por duplicado.

3.4.7.3 Identificación y cuantificación de subproductos

Los metabolitos volátiles solubles en agua fueron analizados en los condensados de la salida de aire de los reactores. Los subproductos fueron condensados a $-10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ en tubos de 15 mL. Por medio de Cromatografía de Gases-Masas (Hewlett-Packard 5972, USA) los metabolitos fueron identificados y cuantificados (Anexo B.6) en muestras de 0.5 μL usando un Cromatógrafo de Gases FID (Hewlett-Packard 5890, USA) equipado con una columna AT-1000 de $10\ 000 \times 0.53 \text{ mm}$. El programa del horno fue de $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 0.5 min, $5 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ de 100 a $130 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 min y $20 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ de 130 a $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2

min. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador a una velocidad de flujo de $4.6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La temperatura del inyector y detector fueron $150 \text{ }^\circ\text{C}$ y $180 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente.

4 RESULTADOS

4.1 Consorcio bacteriano (E1)

El experimento se llevó a cabo en el reactor descrito en la Sección 3.3.2, el sistema operó por 115 días. El predominio de poblaciones bacterianas se favoreció aclimatando el consorcio mixto (Sección 3.2.1) a pH 7 y manteniendo este mismo pH durante toda la operación del reactor (E1).

4.1.1 Biofiltración

Primeramente se caracterizó la perlita, se midieron: la densidad de empaque, pH, fracción vacía de un lecho empacado con perlita, tamaño de partícula, humedad, capacidad de adsorción de hexano de la perlita humedad y seca (Sección 3.3.1). En la Figura 4.1 se muestra una fotografía de la perlita y sus propiedades se reportan en la Tabla 4.1.



Figura 4.1. Fotografía de Perlita, soporte utilizado en los experimentos de biofiltración.

Tabla 4.1. Características fisicoquímicas de la perlita.

Parámetro	Valor
Fracción vacía	0.64
Densidad de empaque ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	0.116
Humedad (% en peso)	64
Granulometría 86% (mm)	4.76 -3.36
Capacidad máxima de adsorción de hexano	Perlita Seca *1.83
$(\text{mg}_{\text{hexano}}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{perlita}})$	Perlita Humedad *0.5

*En el anexo B.8 se reportan las isotermas de adsorción de hexano sobre perlita.

Durante la operación del biofiltro bacteriano (E1) se obtuvo la CE (ec. 3.4 y 3.5) y la producción de CO_2 como una función del tiempo. La Fig. 4.2 muestra el desempeño del reactor bacteriano. Durante los primeros 25 días de operación no fue adicionado medio mineral al reactor. A partir del día 26 a 50 se adicionó medio cada 14 días, del 51 al 80 cada 7 y del 81-115 cada tercer día. La estrategia de adición de medio mineral que se siguió fue con el objetivo de incrementar la CE y mantenerla en estado estable.

Al inicio de la operación, el reactor mostró un período de sorción de hexano sobre perlita que corresponde a 2.5 g, esta CE no fue seguida por la producción de CO_2 . Posteriormente, se registró un periodo de adaptación de 25 días y a partir del día 26 comenzó a detectarse la actividad biológica mediante el aumento de la CE seguida por el aumento en la producción de CO_2 . La CE incrementó lentamente hasta el día 38, en este período se registraron CE promedio de 60 y máximas de $70 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$, las cuales fueron mantenidas por 18 días. La segunda adición de medio mineral en el día 40 no tuvo un efecto significativo sobre la CE, pero sobre la producción de CO_2 , ya que esta incremento de 30 a $130 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$. La adición de medio cada semana trajo como resultado la estabilización de la CE y producción de CO_2 a 60 y $120 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$, respectivamente. La adición de nutrientes cada tercer día no tuvo efecto sobre el desempeño del reactor.

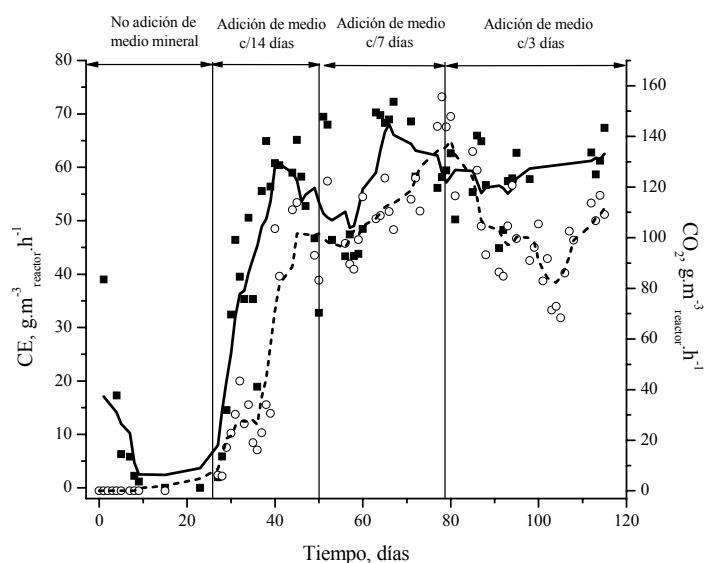
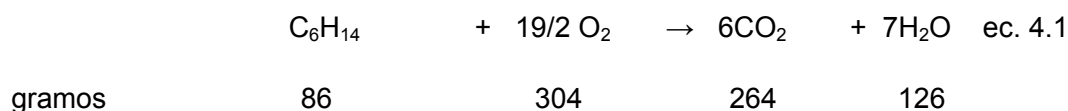


Figura 4.2. Capacidad de eliminación de hexano (○) y producción de CO₂ (■) en función del tiempo. Biofiltro bacteriano E1. Carga de hexano $119 \pm 14 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$.

En la Tabla 4.2 se incluyen los resultados del experimento E1 y los parámetros de operación. El pH fue mantenido a 6.7 y la caída de presión incrementó hasta $11.5 \text{ mm}_{\text{H}_2\text{O}}.\text{m}^{-1} \text{ reactor}$. La biomasa al final de la operación fue de aprox. $84 \text{ mg.g}^{-1} \text{ perlita seca}$ con un contenido de proteína del 8%.

La reacción de mineralización de hexano sin tomar en cuenta la biomasa producida es la siguiente:



Con oxidación completa, según la ec. 4.1, por cada gramo de hexano consumido se producen 3.07 g de CO₂ y se requieren 3.53 g de oxígeno. Mediante la integración de los datos del experimento E1 (Fig. 4.2), se obtiene que 289 g de hexano ($0.86 \text{ gC.g}^{-1} \text{ perlita seca}$) fueron consumidos y 522 g de CO₂ ($0.5 \text{ gC.g}^{-1} \text{ perlita seca}$) fueron producidos durante toda la operación del reactor. Experimentalmente se produjeron 1.8 g de CO₂ por gramo de hexano consumido, por lo tanto el balance de carbono indicó que 59% ($1.8_{\text{experimental}}/3.07_{\text{teórico}}$) del carbono del hexano consumido fue incorporado a

CO₂. El reactor fue empacado con 281 g de perlita seca y la concentración de biomasa al final de la operación del reactor fue de 84 mg_{biomasa}·g⁻¹_{perlita seca}, los gramos de biomasa totales en el reactor fueron 23.6. Si asumimos que las células microbianas contienen un 50% de carbono (Stanier y col., 1986), encontramos que el 5% del carbono del hexano que se consumió fue incorporado a biomasa. Las velocidades de consumo específicas de los biofiltros fueron calculadas de la CE promedio y tuvieron valores de 6.2 mg_{hexano}·g⁻¹_{biomasa}·h⁻¹ y 78.8 mg_{hexano}·g⁻¹_{proteína}·h⁻¹.

Tabla 4.2. Condiciones y resultados del biofiltro bacteriano E1.

Parámetros	E1	
Días de operación	115	
Carga promedio (g·m ⁻³ _{reactor} ·h ⁻¹)	119±14	
pH	6.7±0.5	
ΔP (mm H ₂ O·m ⁻¹ _{reactor})	Inicial	< 1
	Final	11.5
CE promedio (g·m ⁻³ _{reactor} ·h ⁻¹)	56±13	
ER promedio (%)	51±10	
CO ₂ promedio (g·m ⁻³ _{reactor} ·h ⁻¹)	120±19.5	
Mineralización (% de carbono total consumido)	59	
Biomasa al final de la operación ^a (mg·g ⁻¹ _{perlita seca})		84
	(g·m ⁻³ _{reactor})	9833
Contenido de proteína ^a (g _{proteína} ·g ⁻¹ _{biomasa})	0.08	
Velocidad específica de consumo ^a (mg _{Hexano} ·g ⁻¹ _{biomasa} ·h ⁻¹)	6.2	
Velocidad específica de consumo ^a (mg _{Hexano} ·g ⁻¹ _{proteína} ·h ⁻¹)	78.8	

^aMediciones de muestras de biomasa tomadas al final del experimento. Valores promedio obtenidos a partir del arranque del biofiltro (día 25).

A partir del día 99 de operación, se evaluó el efecto de la carga sobre la CE del reactor (Fig. 4.3). El flujo de gas se mantuvo en 2.5 L·min⁻¹ y seis concentraciones de entrada fueron ensayadas (0,2; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 g·m⁻³). A cargas mayores de 120 g·m⁻³_{reactor}·h⁻¹ la CE alcanza un valor máximo de 70 g·m⁻³_{reactor}·h⁻¹ y la carga crítica (ER arriba del 95%) fue de alrededor de 20 g·m⁻³_{reactor}·h⁻¹.

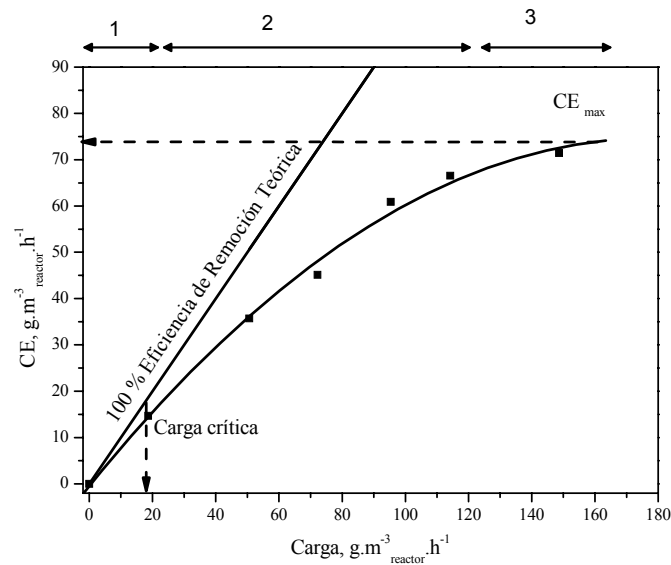


Figura 4.3. Efecto de la carga de hexano sobre la CE. Biofiltro E1 (pH 7). (1) zona limitada por difusión, (2) zona mixta, (3) régimen controlado por reacción.

Al final de la operación del reactor se observó la biopelícula por medio de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). En la Fig. 4.4 se muestran las fotomicrográficas de la perlita con biomasa, en las cuales se observan morfologías bacterianas y exopolímero (formando una malla blanca).

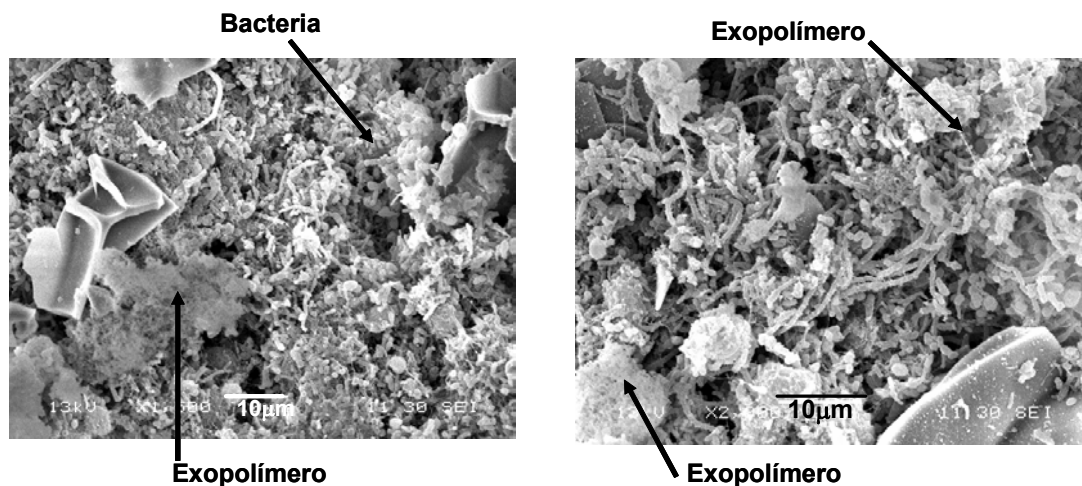


Figura 4.4. Fotomicrográficas del biofiltro bacteriano (E1). Morfologías bacterianas y exopolímero.

4.1.2 Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula E1

El coeficiente de partición de hexano sobre la biopelícula bacteriana se obtuvo de acuerdo al método descrito en la Sección 3.4.3 y en la Fig. 4.5 se muestra la tendencia de los valores experimentales. El experimento se realizó para muestras húmedas (71% humedad) y secas. A continuación se muestran las gráficas obtenidas y el coeficiente de partición calculado (ec. 3.9).

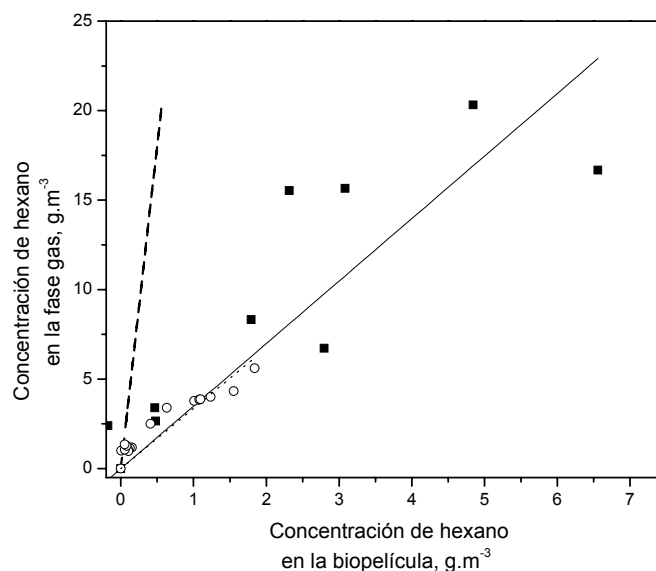


Figura 4.5. Coeficientes de partición de hexano sobre biopelícula bacteriana (E1) húmeda (■), $Y=3.49 (\pm 0.44) \cdot X$, $R^2=0.65$; Partición en biopelícula seca (○), $Y=3.37 (\pm 0.24) \cdot X$, $R^2=0.70$; Partición de hexano en agua (---), $Y=30.4 \cdot X$ (Card, 1998).

El coeficiente de partición de hexano en la biopelícula húmeda (m_H^b) fue 3.49 y en la biopelícula seca 3.37. Estos resultados no son significativamente diferentes (3.6 %) y son alrededor de 9 veces menores que el valor del coeficiente de partición de hexano en agua (30.4).

4.1.3 Cinéticas de degradación

En la Tabla 4.3 se reportan las velocidades de consumo específicas relacionadas con el contenido de biomasa y proteína de las muestras en experimentos en lote. Las tasas de consumo fueron obtenidas para muestras a pH 7 y muestras molidas (pH 7, 5.5 y 4) en medio mineral, estas últimas con el objetivo de ver el efecto del transporte de masa y del pH sobre la velocidad de consumo de hexano.

Tabla 4.3. Velocidades específicas de consumo (V_{\max}) obtenidas en experimentos en lote, expresadas en función del contenido de biomasa y proteína de la muestra para muestras del reactor E1.

Muestra del biofiltro	$\oplus V_{\max}$ Biomasa	$\oslash V_{\max}$ Proteína	Mineralización $[g_{C-CO_2} \cdot g_{C-C_6H_{14}}^{-1}]$, (%)
E1, pH 7	2.5	32.2	51
E1 molida, pH 7	4.2	53.7	60
E1 molida, pH 5.5	3.7	46.6	89
E1 molida, pH 4	2.2	28.0	98

Velocidades específicas de consumo expresadas en $\oplus mg_{\text{hexano}} \cdot g_{\text{biomasa}}^{-1} \cdot h^{-1}$ y

$\oslash mg_{\text{hexano}} \cdot g_{\text{proteína}}^{-1} \cdot h^{-1}$.

*Porcentajes calculados suponiendo mineralización completa de hexano y restando la respiración endógena.

La velocidad de consumo a pH 7 con la muestra molida fue 1.7 veces más grande que el valor obtenido con la muestra integra. La velocidad de consumo a pH 4 fue 48% más baja que la obtenida con la muestra molida a pH 7, reflejando la sensibilidad a pH ácido. Como se puede observar a pH ácidos (5.5 y 4) la producción de CO_2 fue aprox. 35% más importante que a pH 7.

4.2 Consorcio fúngico (E2)

El experimento-E2 fue llevado a cabo de acuerdo a la metodología descrita en la Sección 3.3.2 y fue inoculado con el consorcio fúngico aclimatado E2 (Sección 3.2.2). El objetivo de esta aclimatación fue lograr el predominio de poblaciones fúngicas, mediante el control de pH a 4 y adición de agentes antibacterianos. La biodegradación de hexano fue monitoreada por 109 días.

4.2.1 Biofiltración

El perfil de la CE y evolución de la producción de CO₂ durante el tiempo es mostrado en la Fig. 4.6. A partir del día 15 se adicionó medio mineral cada 3^{er} día, del día 46 al 63 se adicionó medio mineral con agentes antibacterianos (cloranfenicol y sulfato de gentamicina) diariamente. Del día 63-79 se adicionó solamente solución buffer de fosfatos. A partir del día 80 el medio mineral fue adicionado nuevamente cada tercer día.

Al igual que en el experimento E1, inicialmente el reactor mostró una etapa de adsorción de hexano sobre perlita y la CE mejoró lentamente hasta el día 15, cuando se adicionó medio mineral cada 3^{er} día. A partir del día 15 y hasta el 40 la CE y producción de CO₂ incrementaron simultáneamente hasta alcanzar valores de 100 y 200 g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹, con máximos de 110 y 250 g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹, respectivamente. Como se puede observar en la Fig. 4.6 la adición de agentes antibacterianos no tuvo un efecto significativo sobre la CE y producción de CO₂, ya que los valores permanecieron estables a 95 y 200 g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹, durante los días 46 a 63.

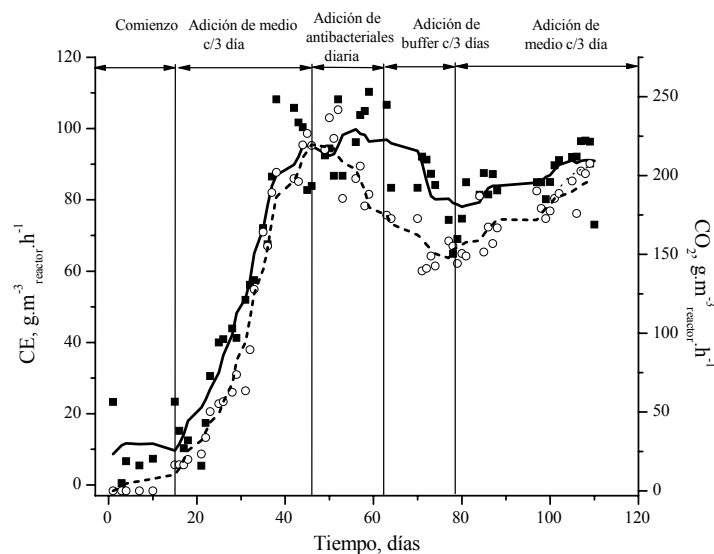


Figura 4.6. Evolución de la CE de hexano (■) y producción de CO₂ (○) sobre el tiempo para el biofiltro E2 (mixto). Carga de hexano en $164 \pm 15 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$.

Durante las 2 semanas siguientes (día 63 a 79), se adicionó solución amortiguadora de fosfatos para mantener el pH a 4 y evitar el crecimiento excesivo de biomasa. La CE y producción de CO₂ cayeron a 70 y $150 \text{ g.m}^{-3}.\text{reactor}.\text{h}^{-1}$, respectivamente. Cuando se adicionó medio mineral nuevamente, a partir del día 80 la CE alcanzó valores de $95 \text{ g.m}^{-3}.\text{reactor}.\text{h}^{-1}$, los cuales habían sido obtenidos previamente (45-63).

El pH fue mantenido a 4 y la caída de presión alcanzó un valor de $26.5 \text{ mm}_{\text{H}_2\text{O}}.\text{m}^{-1}$ reactor (Tabla 4.4). Por medio de la integración de los datos de la Fig. 4.6, se obtiene un consumo de hexano de 440 g ($1.18 \text{ gC}.\text{g}^{-1}.\text{perlita seca}$), y una producción de CO₂ de 1024 g ($0.89 \text{ gC}.\text{g}^{-1}.\text{perlita seca}$). La biomasa se midió al final de la operación y tuvo un valor de $187 \text{ mg}.\text{g}^{-1}.\text{perlita seca}$ con un contenido de proteína de 25%. Si 50% de estos sólidos volátiles son considerados carbono orgánico, 8% del carbono del hexano consumido fue incorporado a biomasa y 76% fue mineralizado a CO₂. El carbono acumulado en la biomasa como material biodegradable representó el 0.41%, en la biomasa se encontraron carbonatos y representaron el 0.13%. En los lixiviados se cuantificó un 0.44% del carbono total (99.8% fue carbono orgánico). La evaluación de las pérdidas de carbono como intermediarios volátiles fue medida en el día de operación 79 y

corresponden a una tasa de producción de $0.02 \text{ gC}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ o 0.032% del carbono del hexano consumido. En la Fig. 4.7 se ilustra un Cromatograma de los compuestos identificados en los condensados de la corriente de aire del reactor. Las composiciones calculadas a partir de la tasa de carbono recuperada son: 30% de hexanol, 23% de hexanal y 47% de ácido hexanoico.

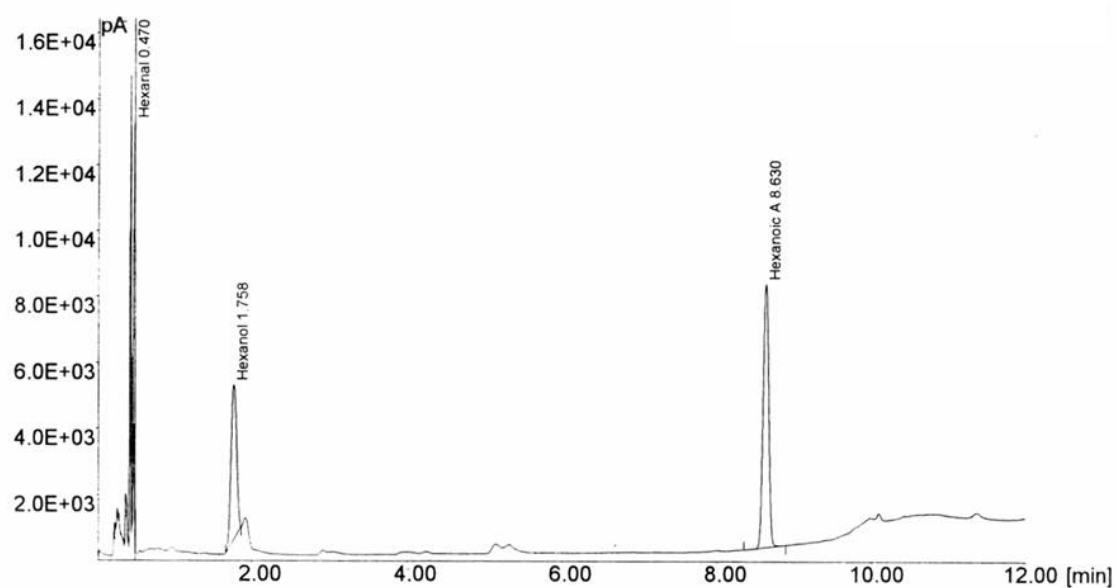


Figura 4.7. Cromatograma de subproductos de degradación cuantificados el día de operación 79 en el biofiltro mixto (E2).

Las velocidades específicas de consumo fueron calculadas de la CE promedio del biofiltro y se obtuvieron valores de $4.4 \text{ mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{biomasa}} \cdot \text{h}^{-1}$ y $17.5 \text{ mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteina}} \cdot \text{h}^{-1}$.

Tabla 4.4. Condiciones y resultados del biofiltro E2.

Parámetros	E2	
Días de operación	110	
Carga promedio ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$)	164 ± 15	
pH	4.1 ± 0.2	
ΔP ($\text{mmH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-1}_{\text{reactor}}$)	Inicial	< 1
	Final	26.5
CE promedio ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$)	93 ± 11	
ER promedio (%)	54 ± 14	
CO_2 promedio ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$)	181 ± 27	
Mineralización (% de carbono total consumido)	76	
Biomasa al final de la operación ^a ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$)	187	
	($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}}$)	20383
Contenido de proteína ^a ($\text{g}_{\text{proteina}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{biomasa}}$)	0.25	
Velocidad de consumo específica ^a ($\text{mg}_{\text{Hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{biomasa}} \cdot \text{h}^{-1}$)	4.4	
Velocidad de consumo específica ^a ($\text{mg}_{\text{Hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteina}} \cdot \text{h}^{-1}$)	17.5	

^a Mediciones de muestras de biomasa tomadas al final del experimento. Valores promedio obtenidos después del arranque del biofiltro (día 15).

El efecto de la carga de hexano sobre la CE fue examinada entre los días 89 a 102 (Fig. 4.8). A cargas más bajas de $60 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$ la eliminación de hexano fue completa y la máxima CE fue de $150 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$.

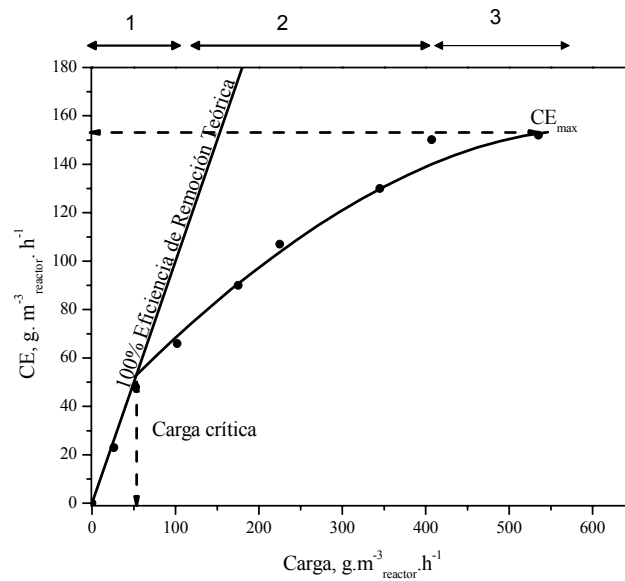


Figura 4.8. Efecto de la carga de hexano sobre la CE. Biofiltro mixto (experimento E2). (1) zona limitada por difusión, (2) zona mixta, (3) régimen controlado por reacción.

En la Fig. 4.8 las fotomicrográficas (MEB) del biofiltro E2, para muestras obtenidas al final de la operación muestran micelio y esporas predominantemente, sin embargo, también hay bacterias.

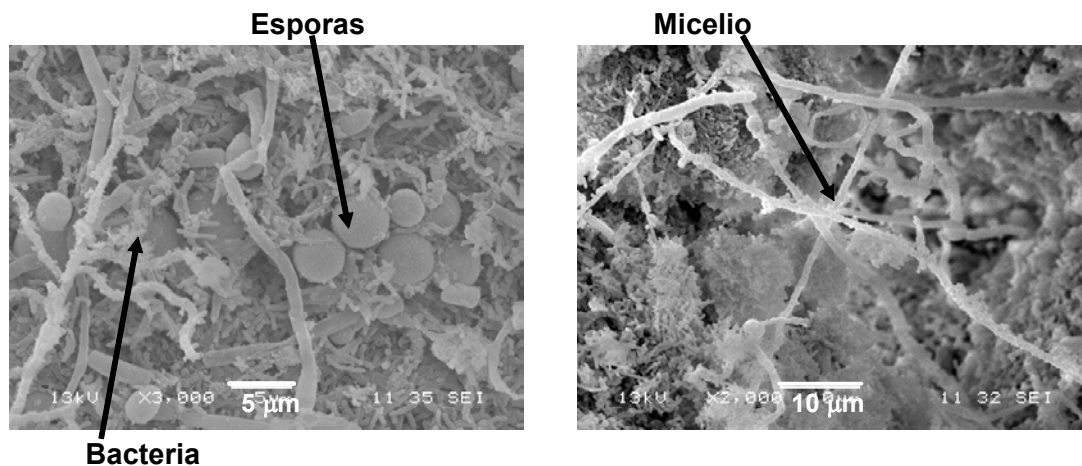


Figura 4.9. Fotomicrográficas obtenidas por MEB para el biofiltro mixto (E2).

4.2.2 Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula E2

El coeficiente de partición para el caso de la biopelícula del biofiltro mixto se determinó por el método descrito previamente (Sección 3.4.3) y se calculó por medio de la ec. 3.13. La Fig. 4.10 muestra las gráficas obtenidas para biopelícula húmeda, seca y la tendencia del coeficiente de hexano en agua (Henry). El coeficiente de partición de hexano en la biopelícula húmeda (m_H^b) tuvo un valor de 3.46 y para la biopelícula seca de 2.28.

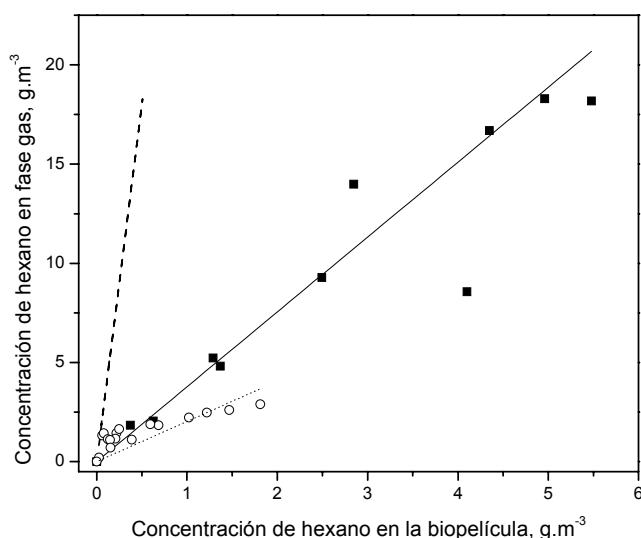


Figura 4.10. Coeficientes de partición de hexano sobre biopelícula mixta (E2) húmeda (■), $Y=3.46(\pm 0.22) \cdot X$, $R^2=0.88$; Partición en biopelícula seca (○), $Y=2.28(\pm 0.16) \cdot X$, $R^2=0.77$; Partición de hexano en agua (---), $Y=30.4 \cdot X$ (Card, 1998).

4.2.3 Cinéticas de degradación

En la Tabla 4.5 se reportan las velocidades de consumo específicas para hexano, relativas al contenido de biomasa y de proteína para muestras con agentes antibacterianos y antifúngico. Si tomamos como referencia de cálculo la velocidad de consumo obtenida sin antibióticos, podemos decir que aprox. el 60% de la actividad

microbiana fue debida a poblaciones fúngicas y el 30% estuvo relacionado con la actividad bacteriana.

Tabla 4.5. Velocidades específicas de consumo obtenidas en experimentos en lote, expresadas en función del contenido de biomasa ($\oplus V_{\max}$) y proteína de la muestra ($\oslash V_{\max}$).

Muestra del biofiltro	$\oplus V_{\max}$ Biomasa	$\oslash V_{\max}$ Proteína	Mineralización $[g_{C-CO_2} \cdot g_{C-C_6H_{14}}^{-1}]$, (+%)
E2, pH 4	1.8	7.5	21
E2con/ antibacterial*, pH 4	1.1	4.4	43
E2 con antifúngico**, pH 4	0.54	2.1	32

Velocidad específica de consumo expresada en $\oplus mg_{\text{hexano}} \cdot g^{-1}_{\text{biomasa}} \cdot h^{-1}$ y $\oslash mg_{\text{hexano}} \cdot g^{-1}_{\text{proteína}} \cdot h^{-1}$.

*Porcentajes calculados asumiendo mineralización completa de hexano y restando la respiración endógena.

**Sulfato de gentamicina y cloranfenicol; ** Nistatina.

4.2.4 Aislamiento e identificación de cepas fúngicas

Al final de la operación del biofiltro mixto (E2) se tomaron muestras para realizar siembras en placas de acuerdo a la metodología descrita en la Sección 3.2.3. Se monitoreó visualmente el crecimiento de los microorganismos en las placas. A los 4 días se registró el crecimiento abundante de un hongo blanco, por lo que se procedió a su reaislamiento utilizando la misma metodología descrita (Sección 3.2.3). A los 10 días del experimento se observó el crecimiento de otro hongo de color verde, de igual manera se volvió aislar. Los hongos crecieron en hexano como única fuente de carbono y energía. Posteriormente estos hongos se tiñeron con azul de algodón lactofenol y se observaron por medio de un microscopio.

En la Fig. 4.11 se ilustran las fotomicrografías del hongo blanco el cual se identificó de acuerdo a sus macro y micro-morfologías como *Fusarium solani* y se

clasificó bajo el número CBS 117476. Los caracteres morfológicos de la cepa fueron utilizados en la tabla sinóptica para el género *Fusarium*, (Gams y Anderson, 1980). Para el caso del hongo verde, hasta el momento solo se ha identificado el género, el cual es *Cladosporium sp.*

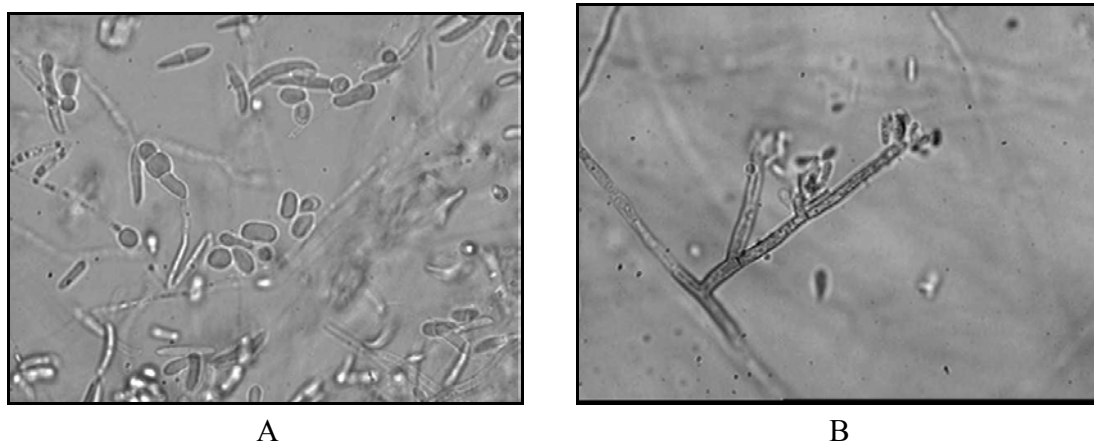


Figura 4.11. Observaciones de los hongos en microscopio de fluorescencia (Olympus BX50, American INC). A) Micro y macroconidias típicas de *Fusarium solani* y B) Conidioforos y conidias de *Cladosporium sp.*

4.2.5 Cinéticas de consumo de hexano con fuentes alternas de nutrientes

Se midió el consumo de hexano de los dos hongos crecidos con fuentes alternas de nutrientes (Sección 3.4.1) con el objetivo de favorecer su crecimiento rápido en sistemas de biofiltración. Posteriormente, a los hongos crecidos en las fuentes alternas de nutrientes se les determinó su capacidad para consumir hexano en sistemas en lote. Las fuentes utilizadas fueron: extracto de levadura, extracto de malta, glucosa, glicerol y YNB (Fig. 4.12).

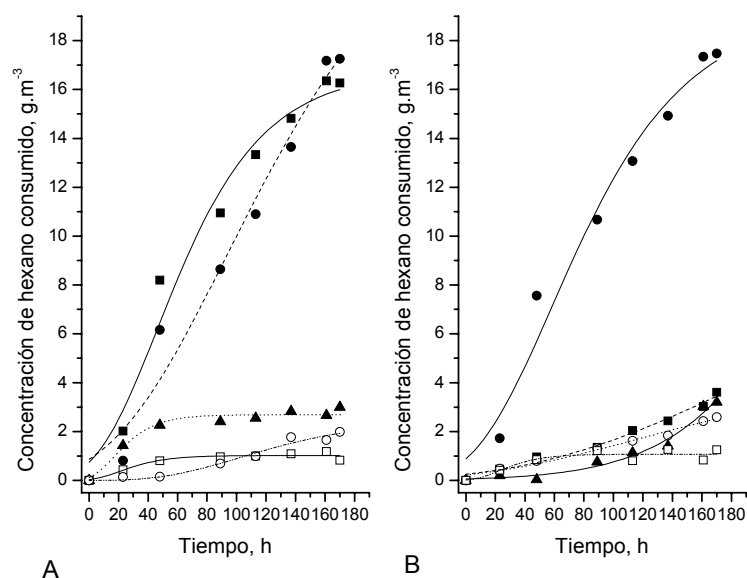


Figura 4.12. Cinéticas de consumo de hexano con los hongos crecidos en fuentes alternas de nutrientes. A) *Cladosporium sp.* con: Glicerol (■), E. malta (●), E. levadura (▲), Glucosa (□), YNB (○). B) *Fusarium solani* con: Glicerol (■), E. malta (●), E. levadura (▲), Glucosa (□), YNB (○).

Como se puede observar en la gráfica anterior y en la Tabla B.9.1 (Anexo B.9), *Cladosporium* fue capaz de degradar y mineralizar hexano cuando se creció en extracto de malta y glicerol, las demás fuentes fueron consumidas en un 10% pero se registró una producción de CO₂ mayor al 100%. Para el caso de *F. solani*, fue capaz de degradar y mineralizar hexano solamente cuando se creció en extracto de malta, para los otros casos se degradó aprox. 15% de hexano y como en el caso anterior la producción de CO₂ fue alta. En el Anexo B.9, se muestra una Tabla con los resultados de las cinéticas de consumo de hexano y mineralización.

4.2.6 Pruebas preliminares de los hongos en biofiltros

De acuerdo a los resultados anteriores se seleccionó extracto de malta como fuente de crecimiento alterna para la producción de biomasa de ambos hongos. Posteriormente, se realizó una prueba preliminar para la degradación de hexano en columnas inoculadas con los hongos aislados (Sección 3.3.3), estos experimentos se

identificaron como: A para el caso de *Fusarium solani* y B para *Cladosporium sp.* (Fig. 4.13).

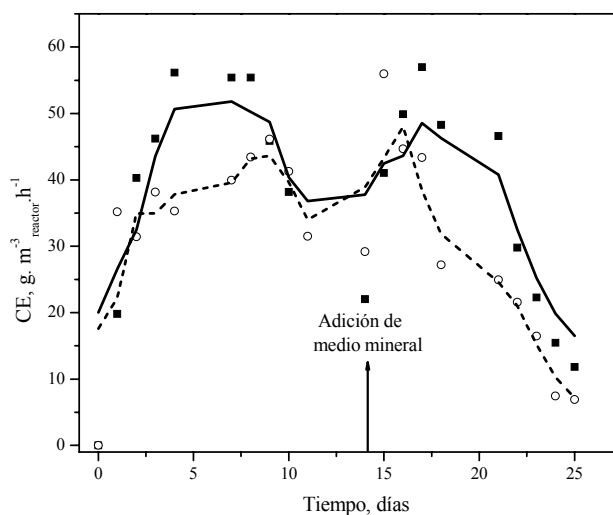


Figura 4.13. Capacidad de eliminación de hexano en biofiltros fúngicos. (■) Experimento A; *Fusarium solani* Carga de hexano $132 \pm 8 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ y (○) Experimento B; *Cladosporium sp.* Carga de hexano $121 \pm 9 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$.

La Figura anterior muestra que el arranque con extracto de malta permitió un crecimiento rápido de la biomasa y un consumo de hexano sin represión catabólica. Durante los primeros 10 días, *F. solani* y *Cladosporium sp.* fueron capaces de mantener CE de 50 y $40 \text{ g.m}^{-3}.\text{reactor}.\text{h}^{-1}$ (% ER de 40 y 35), respectivamente. En el día 14, la CE de hexano disminuyó a $20 \text{ g.m}^{-3}.\text{reactor}.\text{h}^{-1}$ (20%) por lo que se adicionó medio mineral al reactor. La CE aumentó nuevamente a valores previamente obtenidos.

Realizando la integración de los datos de los experimentos A y B y mediante un balance de carbono (Fig. 4.13), para el experimento A el 9.2% del carbono del hexano consumido fue incorporado a biomasa. Considerando que el 50% de los sólidos volátiles son carbono orgánico, 33% fue mineralizado a CO_2 . Para el caso del experimento B, 10.4% del carbono consumido fue incorporado a biomasa y 36% fue mineralizado a CO_2 . La actividad microbiana de los biofiltros fúngicos fue calculada de la CE promedio y se obtuvieron valores de: $18.8 \text{ mg}_{\text{hexano}}.\text{g}^{-1}.\text{biomasa}.\text{h}^{-1}$ y $66.7 \text{ mg}_{\text{hexano}}.\text{g}^{-1}.\text{proteína}.\text{h}^{-1}$ para *F. solani* y $16.8 \text{ mg}_{\text{hexano}}.\text{g}^{-1}.\text{biomasa}.\text{h}^{-1}$ y $56 \text{ mg}_{\text{hexano}}.\text{g}^{-1}.\text{proteína}.\text{h}^{-1}$ para *Cladosporium sp.*

En la Tabla 4.6 se muestran las condiciones de operación y los parámetros medidos para los experimentos en columnas. La biomasa final fue de 33 mg.g^{-1} perлита seca con un contenido de proteína de 28% para el experimento A y 30 mg.g^{-1} perлита seca con un contenido de proteína cercano al 30% para el experimento B.

Tabla 4.6. Condiciones y resultados de los experimentos en columnas con *Fusarium solani* (A) y *Cladosporium sp.* (B).

Microorganismo	A	B
Días de operación	25	25
Carga promedio (g.m^{-3} reactor. h^{-1})	132±8	121±9
CE _{promedio} (g.m^{-3} reactor. h^{-1})	46±14	42±11
ER _{promedio} (%)	36±11	34±9
CO ₂ promedio (g.m^{-3} reactor. h^{-1})	50±15	43±12
Mineralización (%)	33	36
Biomasa final promedio (mg.g^{-1} perлита seca)	33.5	30.0
(g.m^{-3} reactor)	3884	3480
Proteína ^a ($\text{g}_{\text{proteína}}.\text{g}^{-1}$ biomasa)	0.28	0.30
Velocidad de consumo específica ^a ($\text{mg}_{\text{hexano}}.\text{g}^{-1}$ biomasa. h^{-1})	18.8	16.8
Velocidad de consumo específica ^a ($\text{mg}_{\text{hexano}}.\text{g}^{-1}$ proteína. h^{-1})	66.7	56.0

^a Mediciones hechas de muestras tomadas al final del experimento. Valores promedio considerando toda la operación del biofiltro.

4.3 Biodegradación de hexano por *Fusarium solani* (E3)

Debido a que en el experimento anterior el microorganismo que degradó ligeramente mejor el hexano fue *Fusarium solani* y por seguridad¹, se seleccionó este microorganismo para llevar a cabo la degradación de hexano en un biofiltro a escala piloto (Sección 3.3.2). En este sistema las condiciones de operación (pH, carga, adición

¹ El genero *Cladosporium* es patógeno de plantas y humanos (Flickinger y Drew, 1999).

de nutrientes) pueden ser mejor controladas lo que permite obtener datos de concentración de hexano a lo largo del reactor que servirán para el modelo matemático (Sección 5.4).

4.3.1 Biofiltración

El reactor fue inoculado con una suspensión de 2×10^7 esporas.mL⁻¹ de *F. solani* en medio mineral y 5g.L⁻¹ de extracto de malta para favorecer la germinación y el rápido crecimiento de biomasa. El biofiltro E3 operó por 110 días y diferentes periodicidades de medio mineral fueron probadas. Durante los primeros 10 días de operación el inóculo fue recirculado al reactor para favorecer la colonización del soporte. Del día 24 a 45 se adicionó medio mineral cada 3 días, del 45 al 65 diariamente y a partir del día 65 se adicionaron agentes antibacterianos cada 3^{er} día.

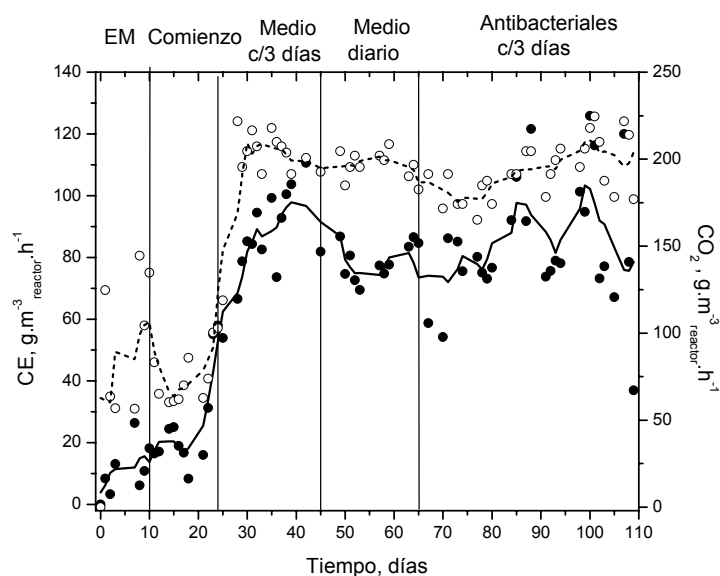


Figura 4.14. Evolución de la CE (●) y producción de CO₂ (○) a través del tiempo en un biofiltro con *Fusarium solani* (E3). Carga de hexano 160 ± 12 g. m⁻³ reactor.h⁻¹.

Al comienzo de operación del reactor se observa la actividad de *F. solani* debida al consumo de extracto de malta, la cual se corroboró por la producción de CO₂ (Fig. 4.14). Después de la primera semana de operación (aclimatación), el hexano comenzó a

ser degradado lentamente con CE alrededor de $30 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ y producciones de CO_2 de $60 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$. La CE y CO_2 incrementaron rápidamente por la adición de nutrientes cada 3^{er} día (24 a 45), durante este período fueron obtenidos valores de $100 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ para la CE y $200 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ para la producción de CO_2 . En el día 24 de operación se midió la velocidad de consumo de hexano en experimentos en lote (Tabla 4.7) y la cantidad de biomasa en el reactor, la cual fue de $28 \text{ mg}_{\text{biomasa.g}^{-1}_{\text{perlita seca}}}$.

En el día 45 se registró un aumento en el pH (6.2) por lo que se añadió medio mineral diariamente para mantener el pH a 4 y un contenido de humedad adecuado. La CE y producción de CO_2 comenzó a decrecer a valores de 70 y $170 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$, respectivamente. Durante este período (45-65), se registró una caída de presión de $50 \text{ mmH}_2\text{O.m}^{-1}_{\text{reactor}}$. A pesar de que visualmente el reactor se observaba colonizado por el hongo, un lixiviado recolectado el día 65 fue observado al microscopio óptico e indicó que las bacterias estuvieron presentes en el biofiltro. Por lo que durante los siguientes días (65-109) se procedió a adicionar antibióticos al reactor cada 3^{er} día para inhibir la actividad bacteriana. La CE y producción de CO_2 incrementaron a los valores obtenidos antes de la adición diaria de medio mineral (25-45). El predominio de *F. solani* en el sistema E3 fue corroborado por MEB al final de la operación (Figura 4.15).

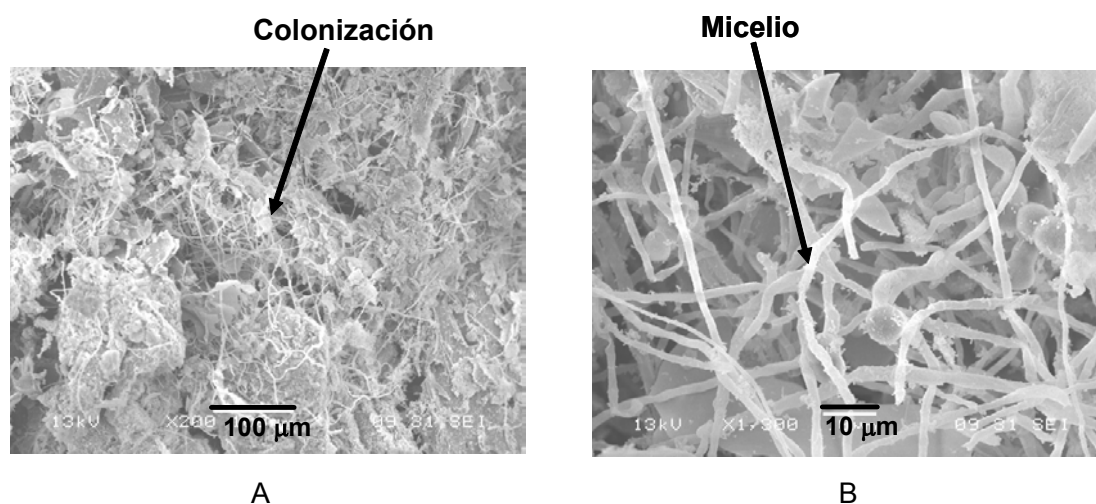


Figura 4.15. MEB fotomicrografías de *Fusarium solani* en el biofiltro, muestras tomadas al final de la operación. A) Colonización del hongo sobre Perlita, B) Crecimiento miceliar.

Mediante la integración de los datos del experimento E3 (Fig. 4.14) 511 g de hexano fueron consumidos y se produjeron 1241 g de CO₂. La cantidad de biomasa al final de la operación fue aprox. 253 mg.g⁻¹_{perlita seca} (28% proteína), y fue encontrado que el 9% del carbono del hexano consumido fue incorporado a biomasa, 79% fue mineralizado a CO₂, 0.45% de la biomasa fue lixiviada, el carbono acumulado en la biomasa como material biodegradable representa el 0.082%, en la biomasa se encontraron carbonatos y representaron un 0.20%. En los lixiviados se encontró un 0.04% del carbono total (93% fue carbono orgánico). La evaluación de las pérdidas de carbono como intermediarios volátiles para E3, fueron medidos en el día de operación 93 y corresponden a un porcentaje de 0.03% del carbono del hexano consumido del cual el 49% fue ácido hexanoico, 29% hexanol y 22% hexanal.

Durante la última semana de operación del reactor E3 se realizaron experimentos a diferentes cargas de hexano (0.5-10 g.m⁻³) manteniendo el flujo de aire constante. En la Fig. 4.16 se muestra que la eliminación de hexano fue completa debajo de la carga crítica que tuvo valores alrededor de 70 g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹, a cargas mayores de 400 g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹ la CE alcanza un máximo de 130 g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹.

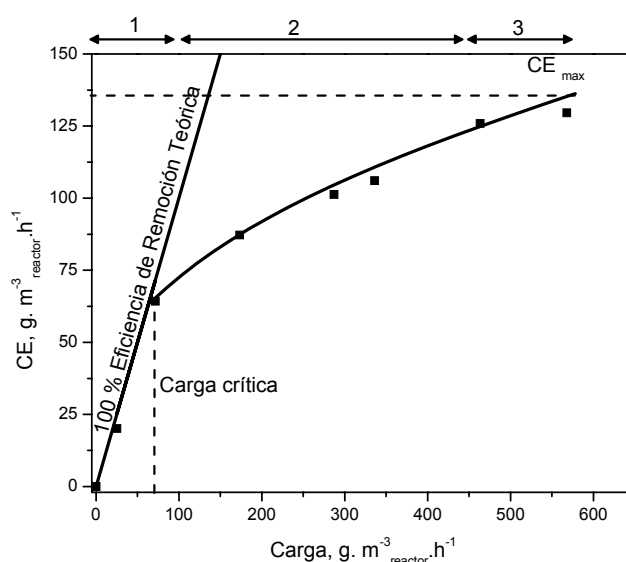


Figura 4.16. Efecto de la carga sobre la CE de hexano. Biofiltro inoculado con *Fusarium solani* (E3). (1) zona limitada por difusión, (2) zona mixta, (3) régimen controlado por reacción.

Después de los experimentos a diferentes cargas de hexano, se realizaron experimentos dinámicos alimentando pentano y mezclas de pentano-hexano al reactor E3 (biofiltro fúngico), durante 120 horas. Lo anterior aunque no fue uno de los objetivos de este trabajo, se realizó solo para ver la capacidad de este hongo para degradar otro tipo de alcano. En la Fig. 4.17-A se muestran la CE en función del carbono eliminado (pentano más hexano) y la producción de carbono debida a la mineralización. En la 4.17-B se muestran las CE de pentano y hexano. Durante las primeras 24 horas se alimentaron mezclas equimolares de hexano y pentano (Carga total $100 \text{ gC}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$), durante las primeras 6 horas la CE de hexano decreció a $10 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$ y enseguida, fueron registradas CE para pentano de $20 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$. Posteriormente la degradación de hexano fue recuperada a valores alrededor de $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$. Al término de las 24 horas de operación, la alimentación de hexano fue interrumpida y pentano fue alimentado durante las 72 horas siguientes, alcanzando tasas de consumo de $55 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$ y máximas de $70 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$. A las 96 horas mezclas de pentano-hexano fueron alimentadas al reactor nuevamente y la CE de pentano decreció rápidamente, no así la del hexano la cual alcanzó valores de CE alrededor de $70 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$ obtenidos antes de iniciar las alimentaciones con pentano. Como se puede observar la mineralización durante las primeras 6 horas de operación fue de 20%, durante la alimentación de pentano fue de 50% y al final de 25%.

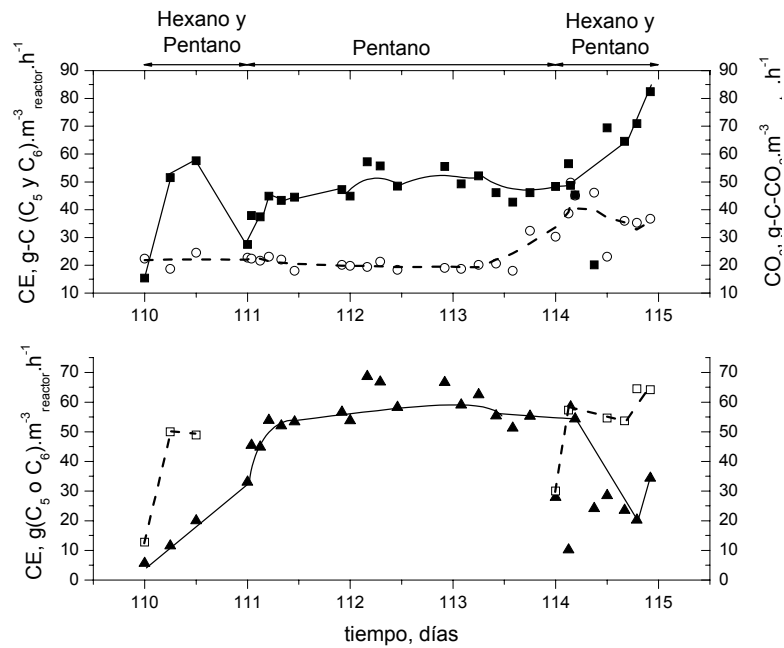


Figura 4.17. A) Evolución de la capacidad de eliminación (CE) en función del carbono de pentano y hexano (■) y producción de carbono como CO₂ (○). B) CE de Pentano (▲) y Hexano (□) a través del tiempo en el biofiltro E3.

Al igual que con hexano, para el caso de pentano se observó el efecto de la carga sobre la CE en el biofiltro E3. En este caso se obtuvo una carga crítica alrededor de 50 g.m⁻³ reactor.h⁻¹ y una CE máxima de 70 g.m⁻³ reactor.h⁻¹ a cargas mayores de 200 g.m⁻³ reactor.h⁻¹ (Fig. 4.18).

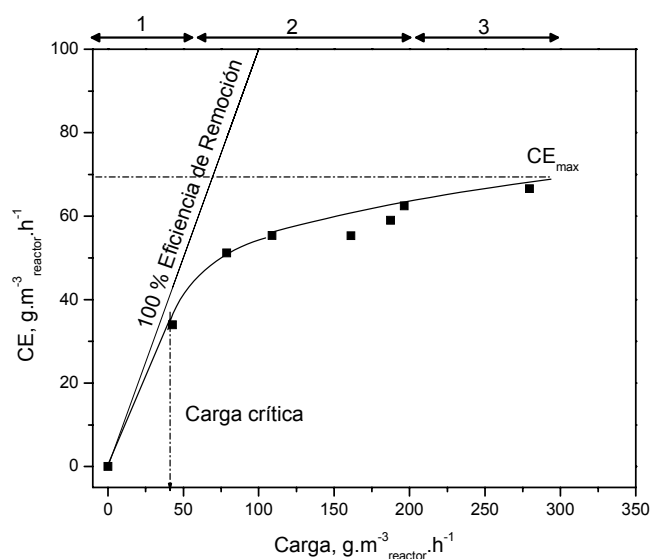


Figura 4.18. Efecto de la carga sobre la CE de Pentano (■), Biofiltro inoculado con *Fusarium solani* (E3). (1) zona limitada por difusión, (2) zona mixta, (3) régimen controlado por reacción.

4.3.2 Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula E3

Los coeficientes de partición obtenidos para la biopelícula crecida con *F. solani* E3 se muestran en la Fig. 4.19. Para el caso de la muestra húmeda fue obtenido un valor de m_H^b de 0.77 y para la muestra seca de 0.28. Estos valores son del orden de 44 y 120 veces menores que el de hexano en agua, respectivamente.

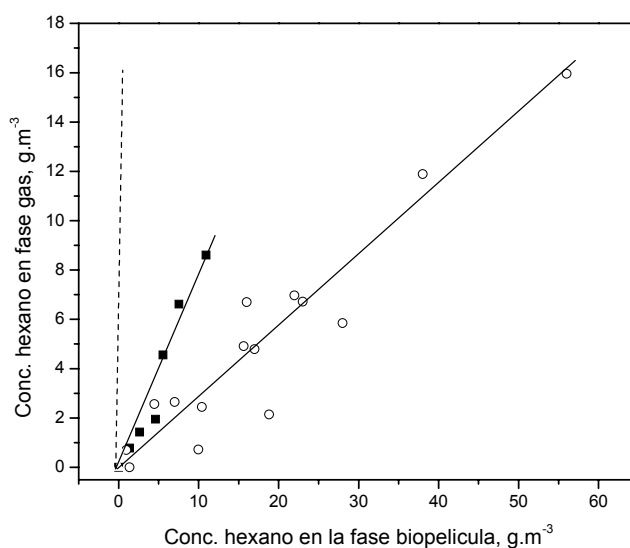


Figura 4.19. Coeficientes de partición de hexano en biopelícula de *Fusarium solani* (E3) para muestra húmeda (■), $Y=0.77(\pm 0.05)\cdot X$, $R^2=0.94$; Partición en biopelícula seca (○), $Y=0.28(\pm 0.02)\cdot X$, $R^2=0.93$; Partición de hexano en agua (---), $Y=30.4\cdot X$ (Card, 1998).

4.3.3 Cinéticas de degradación

Al final de la operación del reactor fueron realizados experimentos en lote para determinar las tasas de consumo específicas de hexano y la contribución del hongo y bacterias en la velocidad de consumo. En la Tabla 4.7, se muestran las velocidades de consumo específicas referidas a biomasa y la mineralización de hexano. Los resultados mostraron que el 95% de la velocidad específica de consumo fue debida a la población fúngica y un 15% estuvo relacionado con la actividad bacteriana. Además, la velocidad de consumo obtenida con muestra sólida del biofiltro fue alrededor de 4 veces mayor que la obtenida cuando se adicionó medio mineral a la muestra. Comparando las muestras sólidas del día 24 con la obtenida al final de la operación, se observa el efecto del contenido de biomasa. La velocidad obtenida al día 24 es 1.8 veces más grande que la obtenida en el día 119.

Tabla 4.7. Velocidades de consumo de hexano y de producción de CO₂ obtenidas en experimentos en lote. Para muestras del reactor sólidas, con medio mineral y antibióticos. Muestra del reactor (RS) al día 24 con un contenido de biomasa de 28 mg_{biomasa}·g⁻¹_{perlita seca} y al día 109 con 253 mg_{biomasa}·g⁻¹_{perlita seca}.

Muestra	V _{max} mg _{hexano} ·g ⁻¹ _{biomasa} ·h ⁻¹	Mineralización [g _{C-CO₂} ·g ⁻¹ _{C-C₆H₁₄}], (*%)
RS con medio mineral	0.84	93
RS con medio mineral y agentes antibacterianos	0.75	66
RS con medio mineral y inhibidor fúngico	0.13	100
RS-24	6.00	76
RS-109	3.24	57

*Porcentajes calculados asumiendo mineralización completa de hexano y restando la respiración endógena.

4.4 Reactores de dos fases

Se realizaron dos experimentos que contenían dos fases (microorganismo-aceite de silicona) en un biofiltro y reactor de tanque agitado. Antes de iniciar con la operación de los reactores de dos fases, se realizaron experimentos con diferentes solventes para seleccionar la fase orgánica más adecuada para llevar a cabo los experimentos. Posteriormente, se operó un biofiltro con 5% de aceite de silicona por 45 días y un reactor de tanque agitado con y sin aceite de silicona por 12 días, ambos reactores se inocularon con *F. solani*

4.4.1 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad

Los experimentos consistieron en realizar pruebas de toxicidad, biodegradabilidad y de partición a una serie de solventes de acuerdo a las metodologías discutidas en la Secciones 3.4.2 y 3.4.3. En el Anexo B.10 se muestran las gráficas obtenidas para estas pruebas, y la Tabla 4.8 resume los resultados obtenidos.

Los experimentos fueron seguidos por la producción de CO₂ durante 30 días. Se consideró tóxico al solvente cuya producción de CO₂ en el recipiente con la solución A era menor a la respiración endógena (RE) y biodegradable si la producción de CO₂ en el frasco sin solución A era significativamente más grande que la RE.

Tabla 4.8. Pruebas de toxicidad, biodegradabilidad y de partición de hexano para *Fusarium solani*.

Solvente	Coeficiente de partición, (m_H^{org}) $\frac{C_{hex}^{gas}}{C_{hex}^{org}}$ *	<i>Fusarium solani</i>	
		Biodegradabilidad	Toxicidad
Aceite de silicona	0.0034±0.000324	X	X
Hexadecano	0.0042±0.000440	√	X
Tetradecano	0.0026±0.000122	√	X
Undecano	0.0038±0.000163	√	X
Dietil-sebacato	0.0115±0.000360	X	√
Undecanona	0.0050±0.000960	X	√
Decanol	0.0073±0.000846	X	√

*Resultados dados como el promedio ± 95 % del intervalo de confianza calculado con 5 puntos.

Como se puede observar en la Tabla 4.8 el único solvente que no fue biodegradado ni tóxico para *F. solani* fue aceite de silicona. Hexadecano, tetradecano y undecano fueron biodegradados y no fueron tóxicos. Dietil-sebacato, undecanona y decanol fueron tóxicos pero no biodegradados. Como lo indica el coeficiente de partición m_H^{org} , la concentración de hexano en el aceite de silicona fue 300 veces mayor que su concentración en la fase gas. A partir de estos resultados se seleccionó como fase orgánica aceite de silicona para llevar a cabo los experimentos de dos fases en un biofiltro (E4) y en un reactor de tanque agitado.

4.4.2 Biofiltro con *Fusarium solani* y aceite de silicona (E4)

El experimento fue desarrollado de acuerdo con la metodología descrita en la Sección 3.3.2, con el objetivo de ver el efecto de la adición de aceite de silicona en el transporte de hexano de la fase gas a la biopelícula (Fig. 4.20). El experimento operó por 45 días, con una carga fija de $190 \pm 16 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$ y adiciones de medio mineral cada 3^{er} día. Como se puede observar el reactor registró un período de adaptación de 10 días con CE alrededor de $30 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$. Después del día 10 la CE alcanzó un máximo de $180 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$ con ER promedio de 85%, el sistema fue capaz de sostener esta CE por 3 semanas y posteriormente el día 30 la CE decreció en un 15% al valor máximo alcanzado. La biomasa al final de la operación fue de $177 \text{ mg}_{\text{biomasa}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$ con un contenido de proteína del 23%. Mediante la integración de los datos del experimento (Fig.4.20) se obtiene que 359 g de hexano fueron consumidos y se produjeron 496.3 g de CO₂ durante toda la operación del reactor. Si los sólidos volátiles se consideran carbono orgánico, el 10% del carbono del hexano consumido fue incorporado a biomasa y el 45% fue mineralizado a CO₂. La velocidad específica en función de la cantidad de biomasa y proteína del biofiltro fúngico fue calculada de la CE promedio y se obtuvieron valores de $10.5 \text{ mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{biomasa}} \cdot \text{h}^{-1}$ y $44.7 \text{ mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteína}} \cdot \text{h}^{-1}$, respectivamente.

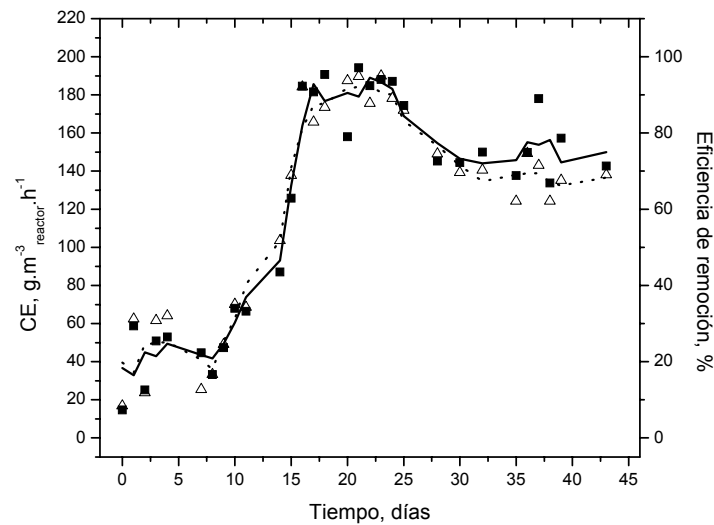


Figura 4.20. Eficiencia de remoción (Δ) y capacidad de eliminación (\blacksquare) a través del tiempo. Biofiltro inoculado con *F. solani* (E4) y con 5% de aceite de silicona. Carga de hexano $190 \pm 16 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$.

En la Figura 4.21 se muestran las fotomicrografías de muestras del reactor tomadas al final de la operación. Se muestra el micelio de *F. solani* alrededor de partículas de aceite de silicona y la adhesión de una hifa y bacterias con el aceite.

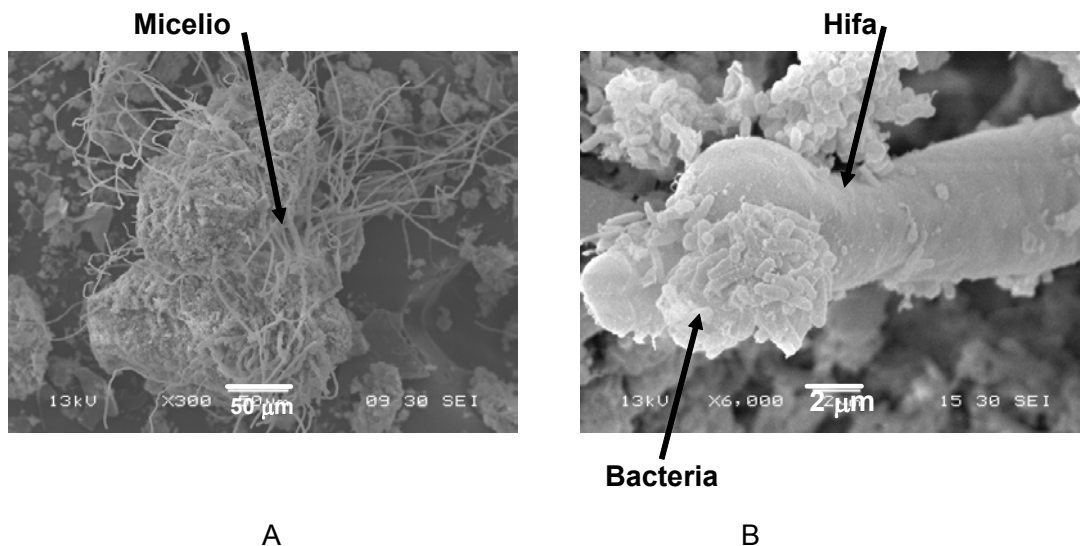


Figura 4.21. MEB fotomicrografías tomadas al final de la operación del reactor fúngico de dos fases. Micelio sobre partículas de aceite (A); hifa y bacterias (B).

El efecto de la carga sobre la CE en el biofiltro E4 fue llevado a cabo durante la última semana de operación (Fig. 4.22). La carga crítica obtenida fue alrededor de $150 \text{ g.m}^{-3} \text{ reactor.h}^{-1}$ y la máxima CE que puede ser alcanzada a cargas mayores de $600 \text{ g.m}^{-3} \text{ reactor.h}^{-1}$ fue de $350 \text{ g.m}^{-3} \text{ reactor.h}^{-1}$.

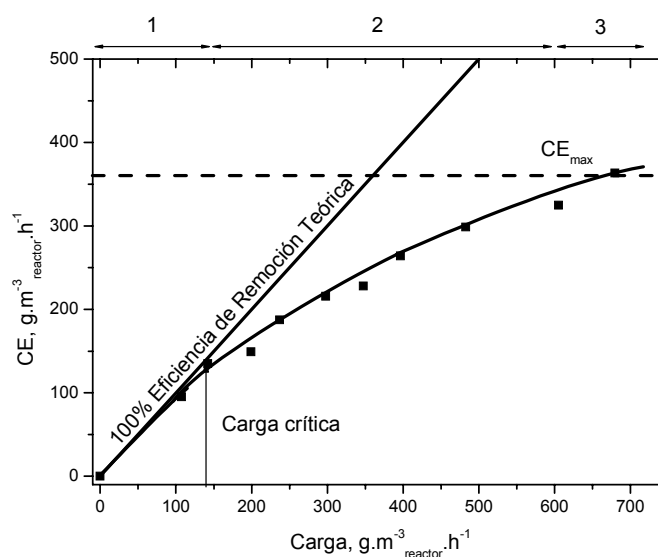


Figura 4.22. Efecto de la carga sobre la CE de hexano en el biofiltro de dos fases con *Fusarium solani* y 5% de aceite de silicona (E4). (1) zona limitada por difusión, (2) zona mixta, (3) régimen controlado por reacción.

4.4.3 Reactor de tanque agitado

Estos experimentos se realizaron de acuerdo a la metodología descrita en la Sección 3.3.4, con el objetivo de comparar el desempeño de un reactor de tanque agitado de una y dos fases (fase oleosa) con un biofiltro. Se llevaron a cabo dos experimentos, el primero (reactor control) operó con células suspendidas en medio mineral y el segundo contenía además aceite de silicona al 10% (v/v). Cada uno de los experimentos operó por 12 días con una carga fija de hexano de $180 \text{ g.m}^{-3} \text{ reactor.h}^{-1}$ y 400 rpm (Fig. 4.23). La concentración de biomasa se mantuvo constante durante toda la operación del reactor a un valor de $220 \text{ mg}_{\text{proteína}} \cdot \text{L}^{-1}$ mediante muestreos de la fase acuosa de 100 mL y adiciones de medio mineral fresco cada 48 horas.

Las eficiencias de remoción y capacidades de eliminación obtenidas en el reactor con aceite de silicona fueron 2 veces mayores que las obtenidas en el reactor control, además fueron sostenidas durante la primera semana de operación. Ambos reactores mostraron la misma tendencia a través del tiempo y en el día 9 la CE decreció un 40%. Las velocidades de consumo específicas obtenidas en el reactor con aceite de silicona y reactor control fueron de $537 \text{ mg hexano} \cdot \text{g}^{-1} \text{ proteína} \cdot \text{h}^{-1}$ y $256 \text{ mg hexano} \cdot \text{g}^{-1} \text{ proteína} \cdot \text{h}^{-1}$, respectivamente.

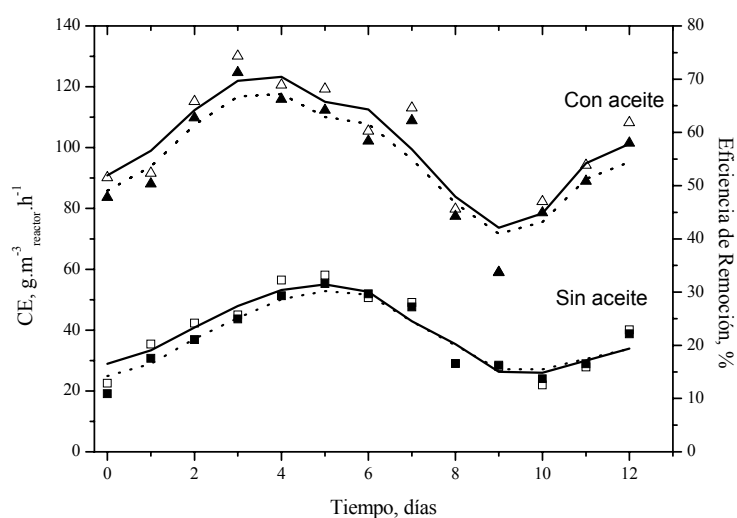


Figura 4.23. Eficiencia de remoción de reactor con 10% de aceite de silicona (Δ) y reactor control sin aceite (\square). Capacidad de eliminación del reactor con 10% de aceite de silicona (\blacktriangle) y del reactor control (\blacksquare). Carga de hexano $183 \pm 4 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$.

4.5 Permeabilidad y difusividad efectiva de los sistemas de biofiltración

A partir de los datos de la fracción vacía del lecho obtenidos de acuerdo a la metodología descrita en la Sección 3.3.1. y de la ecuación 1.5 (Sección 1.2.1.2.1), se obtuvo la permeabilidad del lecho para cada uno de los biofiltros operados.

La difusividad efectiva de hexano de los biofiltros, se obtuvo mediante la correlación propuesta por Neale y Nader, (1973), para medios porosos de esferas impermeables. La difusividad efectiva esta relacionada con la difusividad molecular y la porosidad a través de la relación:

$$\frac{D_{ef}}{D_H^{Agua}} = \frac{2\varepsilon}{3 - \varepsilon} \quad (4.1)$$

La difusividad de hexano en agua se calculó por medio de la correlación de Wilke y Chang, (1955) y se obtuvo un valor de $7.33 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

En la Tabla 4.9 se muestran los valores obtenidos de la fracción vacía del lecho, la permeabilidad calculada por la ec. 1.5., la difusividad efectiva y la caída de presión teórica (ec. 1.3) y experimental.

Tabla 4.9. Parámetros físicos de los sistemas de biofiltración.

Muestra	Biomasa $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	ε	$D_{ef} \times 10^6$ $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$k \times 10^4$, cm^2	K , $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$\Delta P/L_{\text{teórica}}$, $\text{cm} \cdot \text{cm}^{-1}$	ΔP_{exp} , $\text{cm} \cdot \text{cm}^{-1}$
Perlita	0	0.642	3.99	18.93	231.71	3.65×10^{-3}	1×10^{-3}
E1	84	0.451	2.59	2.79	34.16	2.48×10^{-2}	1.15×10^{-2}
E2	187	0.345	1.90	0.88	10.74	7.88×10^{-2}	2.65×10^{-2}
E3	253	0.263	1.41	0.31	3.76	22×10^{-2}	5×10^{-2}
E4	177	0.436	2.49	2.39	29.24	2.90×10^{-2}	1×10^{-2}

$\Delta P/L$ teórica, ecuación de Darcy. ε : Porosidad del lecho. k : Permeabilidad del lecho. K : Conductividad hidráulica.

Como se puede observar la porosidad del lecho y por lo tanto la permeabilidad, disminuyen conforme aumenta el contenido de biomasa en el reactor excepto para el reactor de dos fases. Para el caso del reactor bacteriano (E1), mixto (E2), fúngico (E3) y fúngico de 2 fases (E4) la permeabilidad disminuyó 7, 22, 61 y 8 veces respecto a la permeabilidad inicial de la perlita sola. La difusividad efectiva de hexano en los diferentes sistemas, disminuyó conforme aumentó el contenido de biomasa y es alrededor de 3.5 veces menor que la difusividad molecular de hexano en agua ($7.33 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). En cuanto a los valores de caída de presión teórica obtenida con el modelo de Darcy (ec. 1.3) son del mismo orden de magnitud que los valores obtenidos experimentalmente.

5 DISCUSIÓN

En la primera parte se discutirán los resultados de los sistemas de biofiltración E1, E2, columnas y biofiltros fúngicos (A, B y E3). Se continuará con la discusión del efecto de la adición de medio mineral y la carga de hexano sobre el desempeño de los sistemas. Se continuará con los sistemas de dos fases (E4 y reactores de tanque agitado) y con los valores de permeabilidad y difusividad obtenidos para cada uno de los sistemas de biofiltración. Se terminará con el desarrollo y solución del modelo matemático del biofiltro.

5.1 Sistemas de biofiltración y reactores de una y dos fases

5.1.1 Desempeño de reactores de una fase

Los resultados obtenidos de los sistemas operados se resumen en la Tabla 5.1. En el primer sistema de biofiltración (E1) se comprobó que el tratamiento de hexano por medio de bacterias es factible. El predominio de la población bacteriana fue mantenida mediante el control del pH a 7 y además fueron predominantes las bacterias a este pH ya que poseen velocidades de crecimiento mayores que las de los hongos. Los valores de CE fueron similares al valor reportado por Kibazohi y col., (2004) y dos veces mayor que el reportado por Budwill y Coleman, (1999) y Zhu y col., (2004) para sistemas bacterianos. Las eficiencias de remoción (ER) promedio obtenidas fueron bajas con valores alrededor de 51%, esto debido a la carga alimentada de $120 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}}.\text{h}^{-1}$. Sin embargo, estas ER son comparables a las reportadas en la literatura por otros autores (Morgenroth y col., 1996; Paca y col., 2001).

Para el caso del experimento E2 la CE promedio obtenida fue alrededor de 1.7 veces mayor que la obtenida para el sistema E1 en condiciones estables. Los resultados obtenidos para E2 fueron consistentes con los reportados por Spigno y col., (2003), quien encontró CE entre $100\text{-}150 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}}.\text{h}^{-1}$ con ER del 50%, para la biofiltración de hexano por medio de *Aspergillus niger*.

Tabla 5.1. Resultados obtenidos en los sistemas experimentales de una y dos fases.

Experimento	CE _{promedio}		ER _{promedio} (%)	Mineralización (%) (%)	Y _{x/s}	Contenido de proteína (%)
	g.m ⁻³ _{reactor} .h ⁻¹	g.m ⁻³ _{gas} .h ⁻¹				
Biofiltro bacteriano, E1 pH-7	56±13	86±13	51±10	59	0.082	8
Biofiltro mixto, E2 pH-4	93±11	143±11	54±14	76	0.133	25
Columna (A) <i>Fusarium solani</i>	45±14	69±14	36±11	33	0.152	28
Columna (B) <i>Cladosporium sp.</i>	42±11	65±11	34±9	36	0.174	30
Biofiltro fúngico, E3 pH4 Hexano (<i>Fusarium solani</i>)	84±14	129±14	49±13	79	0.153	28
	Pentano	53±20	82±20	35±19	15	-
Biofiltro 2 fases (<i>Fusarium solani</i> - Aceite de silicona), E4	160±20	246±20	85±10	45	0.156	23
	Sin aceite	49±30	369±30	26±16		
RTA				--	-	--
	Con aceite	100±20	752±20	60±8		

CE: Capacidad de eliminación del reactor en función del volumen del reactor (g.m⁻³_{reactor}.h⁻¹) y volumen ocupado por el gas (g.m⁻³_{gas}.h⁻¹). ER: Eficiencia de remoción de hexano

Y_{x/s}: Rendimiento biomasa sustrato, g_{biomasa producida}.g⁻¹_{hexano consumido}

RTA: Reactor de tanque agitado

Las cepas fúngicas que se aislaron fueron identificadas como *F. solani* y *Cladosporium* sp. a partir de sus caracteres macro y micromorfológicos (Fig. 4.11). *Fusarium solani* pertenece al grupo de los deuteromicetos u hongos imperfectos, es un hongo oportunista fitopatógeno que se encuentra principalmente en las plantas de cereales, algodón, plátanos, cebolla, papas, manzanas y en el aire. *Cladosporium* sp. es un género que pertenece también al grupo de los deuteromicetos, es comúnmente encontrado en el aire, suelos y alimentos. Este hongo es fitopatógeno y además puede causar en el hombre infecciones cutáneas, sinusitis y problemas pulmonares (Flickinger y Drew, 1999). Su cultivo se caracteriza por una coloración verde olivo aterciopelado.

Debido a que los hongos poseen velocidades de crecimiento más lentas que las bacterias, el crecimiento previo de los hongos en fuentes alternas de nutrientes es importante para el desarrollo de biomasa y por lo tanto arranque rápido de un sistema de biofiltración. En este estudio fueron probadas varias fuentes alternas de nutrientes para los hongos (Sección 4.2.5), y su actividad para degradar hexano fue monitoreada mediante el consumo de hexano y producción de CO₂ (Anexo B.9). En este estudio, se seleccionó extracto de malta como fuente alterna de crecimiento para los dos hongos (*Cladosporium* y *F. solani*) debido a que no reprimió el consumo de hexano. El uso de extracto de malta como fuente alterna de crecimiento de *Aspergillus niger* fue reportado por Spigno y col., (2003). En este estudio el extracto de malta mantuvo la CE de hexano más alta que cuando *Aspergillus niger* fue crecido con glucosa, la cual es conocida como represor catabólico (Stanier y col., 1986). Para el caso de *Cladosporium* sp. además del extracto de malta, el glicerol fue capaz de mantener la actividad biológica del hongo para el consumo de hexano. Siendo el glicerol un intermediario del ciclo de los ácidos grasos, puede ser un inductor en la oxidación de hidrocarburos como hexano (Mathews y col., 1999; Stanier y col., 1986). En el caso de extracto de levadura, glucosa y YNB, reprimieron el consumo de hexano y además en estos experimentos se detectaron producciones de CO₂ por arriba del 100% de mineralización. Esto indica que además de la baja producción de CO₂ debida al bajo consumo de hexano, el CO₂ producido (Anexo B.9) en estos experimentos estuvo ligado con el consumo de material biodegradable derivado de la lisis celular (Kennes y Veiga., 2001).

El extracto de malta permitió el arranque rápido sin represión catabólica en el consumo de hexano en experimentos en columnas (A y B). Las velocidades de degradación y ER obtenidas en estos experimentos a pesar del bajo contenido de

biomasa (33.5 y 30 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$) son comparables a las obtenidas por Budwill y Coleman, (1999).

Para el caso del biofiltro (2.5 L) inoculado con *F. solani* al igual que en las columnas, el arranque del reactor fue rápido por el consumo inicial de extracto de malta. A diferencia de los reactores descritos anteriormente en el biofiltro fúngico fueron mantenidas condiciones quasi-estables a través del tiempo (Fig. 4.14). La CE promedio obtenida fue de $84 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$, la cual es 10% menor que la obtenida por Spigno y col., (2003) y la obtenida con el sistema E2 (biofiltro mixto). Los resultados obtenidos con el sistema E2 (mixto) y el biofiltro E3 (*F. solani*) confirman que el tratamiento de hexano es mejorado cuando se utilizan poblaciones fúngicas que al utilizar bacterias (Tabla 5.1) (García-Peña y col., 2001). Esto se debe probablemente a que debido al contenido hidrofóbico de la pared celular de los hongos (hidrofobinas) y a su crecimiento aéreo (mayor área superficial) el hexano sea tomado directamente de la fase gas sin una transición por la fase acuosa (van Groenestijn y Liu., 2002).

Al final de la operación del sistema E3 se alimentó pentano al reactor, durante las primeras 6 horas de alimentación de mezclas de pentano y hexano, se registró una desorción de hexano y adsorción de pentano sobre el material de empaque (Devinny y col., 1999). El sistema fúngico fue capaz de degradar pentano y alcanzar CE de $55 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$ en un período de tiempo corto (122 h). Esta CE es similar a la encontrada por Barton y col., (1997) en un biofiltro de lecho escurrido y 1.8 veces mayor que la obtenida por Chungsyng y col., (2001). En cuanto a la mineralización de pentano, fue en general baja alrededor de 35%, lo cual probablemente este relacionada con la degradación parcial del contaminante. Estos resultados además demuestran la versatilidad de *F. solani* para degradar otro tipo de alcanos.

La mineralización de hexano fue mayor en el biofiltro E3 (79%) que en el biofiltro mixto E2 (76%) y el bacteriano E1 (59%). Los resultados obtenidos probablemente estén relacionados con la producción de una mayor cantidad de intermediarios metabólicos en el sistema bacteriano (no medidos) que en el fúngico. Tanto en E2 como en E3 una cantidad reducida de carbonatos fue recuperada debido al pH ácido y a la producción de intermediarios (Fig. 4.7) identificados como hexanol, hexanal y ac. hexanoíco, que resultaron del catabolismo de hexano (van Beilen y col., 2003). Un porcentaje de carbono alrededor del 1% fue recuperado como biomasa lixiviada y material biodegradable para E2 y biofiltro fúngico E3. Para el caso de los experimentos en columnas se obtuvo una mineralización baja en el caso de *Fusarium* de 33% y para

Cladosporium de 36%. En el caso de la mineralización de pentano obtenida (Tabla 5.1), la cual fue demasiado baja, indica que el pentano fue biotransformado y parte del carbono se encontraba como intermediarios metabólicos pentanol, pentanal y ácido pentanoico. Además, debido al tiempo de operación tan corto, no puede ser descartada la sorción (adsorción/absorción) del pentano sobre la perlita y la biopelícula (hidrofóbica). Aunque el objetivo de esta tesis no fue estudiar a fondo el balance de carbono, en la mayoría de los experimentos se observa que los resultados obtenidos de producción de CO₂ no siguen una tendencia con la velocidad de consumo de hexano. Este comportamiento puede estar relacionado a que las condiciones en el reactor cambian a través del tiempo, el inicio de la operación del biofiltro esta encaminado a la aclimatación de los microorganismos al consumo del COV y a la síntesis de material celular, en esta etapa la producción de CO₂ es en general baja (Fig. 4.2 y 4.6). Una vez que se aclimataron los microorganismos al consumo de hexano, el CO₂ producido aumenta por la biodegradación de hexano, respiración endógena de los microorganismos y además parte del carbono puede estar siendo biotransformado (altas cargas de sustrato-intermediarios). Además de estas situaciones pueden estar presentes otras, con lo anterior quiero exponer que el valor de mineralización reportado en este estudio considera en forma global todas las etapas o cambios que se presentan durante la operación de un biofiltro. Por lo que la mineralización de COVs en biofiltros es dependiente del tiempo (día analizado), poblaciones microbianas (cambian a través del tiempo), condiciones de cultivo y de operación, formación de intermediarios, etc.

Respecto al rendimiento celular para el experimento E1 fue alrededor de 40% menor que los obtenidos para E2, E3 y E4. Los rendimientos encontrados para los experimentos con hongos (E2, E3 y E4) son comparables con el valor de $0.16 \text{ g}_{\text{biomasa}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{pentano consumido}}$ reportado por Chungsyng y col., (2001) en un reactor de lecho escurrido. Es mayor además, que el valor máximo de $0.093 \text{ g}_{\text{COT}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{hexadecano}}$ reportado para la biodegradación de hexadecano con *Aspergillus niger* por fermentación en estado sólido (Volke-Sepúlveda y col., 2003). Cabe mencionar que los valores de rendimiento celular reportados en la Tabla 5.1, son valores integrados obtenidos del desempeño global del reactor. Debido a que el rendimiento celular depende de la especie y fase (adaptación, crecimiento y estacionaria) en la que se encuentre el microorganismo, del tipo de sustrato consumido, de la disponibilidad de nutrientes y agua, condiciones de cultivo, es difícil evaluar el rendimiento celular en un biofiltro ya que estos parámetros varían a través del tiempo.

Bailey y Ollis., (1986) reportan que el rendimiento celular es afectado indirectamente por el calor producido durante el metabolismo de la especie oxidada. En el consumo de los hidrocarburos (n-alcenos) se produce más calor que en el de las especies parcialmente oxigenadas (glucosa), por lo que el coeficiente de rendimiento expresado como $g_{células} \cdot Kcal^{-1}$ (calor debido a la oxidación de sustrato y material celular), es menor para n-alcenos que para compuestos oxigenados. Los rendimientos celulares además, son comparables a los generados por bacterias anaeróbicas y organismos autótrofos (0.03 a $0.20 g_{biomasa} \cdot g^{-1}_{sustrato consumido}$) y son menores a los obtenidos en cultivos aeróbicos (0.3 a $0.6 g_{biomasa} \cdot g^{-1}_{sustrato consumido}$) creciendo sobre azúcares (Atkinson y Mavituna., 1991).

La biomasa en los experimentos E1, E2, columnas fúngicas y biofiltros fúngicos (E3 y E4) mostró una diferencia significativa en el contenido de proteína (Tabla 5.1). Para E1 fue de 8%, para E2 de 25%, para las columnas fúngicas y E3 fue alrededor del 30%. El contenido de proteína del consorcio bacteriano está por debajo del rango de 40-60% reportado para bacterias (Acevedo y col., 2002). Este resultado indica que la biomasa en el biofiltro bacteriano tuvo una tendencia a formar más exopolímeros que los biofiltros fúngicos, los exopolímeros están constituidos por polisacáridos o glicoproteínas (Kreft y Wimpenny, 2000). Como se muestra en la Figura 4.4, se observa una malla blanca que es característica de la coagulación de los EPS debido al tratamiento de la muestra (Sección 3.4.5). El contenido de proteína encontrado tanto para el biofiltro mixto como para los fúngicos se encuentra dentro del rango reportado comúnmente para hongos que es de 20-45% (Acevedo y col., 2002).

5.1.2 Desempeño de los reactores de dos fases

Para el caso del biofiltro E4 y reactor de tanque agitado (RTA), el uso de aceite de silicona resultó ser una estrategia efectiva para el tratamiento de COVs hidrofóbicos en cuanto al incremento del transporte de masa y por tanto mayor biodisponibilidad de hexano para la degradación por *F. solani*.

La selección adecuada de una fase orgánica es un parámetro esencial para el desempeño de los reactores de 2 fases. Las características más importantes que debe reunir una fase orgánica incluyen: ser biocompatible, no biodegradable, tener una capacidad de absorción del contaminante alta y ser inmiscible (Déziel y col., 1999; Bruce y Daugulis, 1991). En este estudio el aceite de silicona fue la fase orgánica

seleccionada para llevar a cabo los experimentos, debido a que reúne las características anteriormente señaladas y por la alta solubilidad de hexano en el aceite, la cual fue alrededor de 10000 veces más grande que la de hexano en agua (Tabla 4.8). La vulnerabilidad de *F. solani* a los solventes dietilsecabato, decanol y undecano resultó de la naturaleza hidrofóbica de las hifas. Debido a que la toxicidad de los solventes orgánicos esta relacionada con su concentración en la membrana celular, al aumentar la hidrofobicidad de la membrana, se incrementa la toxicidad de los solventes (Vermuë y col., 1993). Sin embargo, la toxicidad depende además de la estructura molecular del solvente usado y de su solubilidad, comúnmente relacionada con el coeficiente de partición octanol-agua (Déziel y col., 1999). Los resultados obtenidos con decanol y undecano parecerían ser contradictorios, si la estructura molecular de los solventes es analizada. No obstante, si la solubilidad de los solventes es comparada podríamos decir que decanol (0.037 g.L^{-1}) es 9221 veces más soluble que undecano ($4.0 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$). Por lo tanto, la concentración de decanol sobre la membrana celular de *F. solani* sería más grande que la alcanzada con undecano y el compuesto llegaría a ser más tóxico (Abraham y Le, 1999). Para validar esto, se realizaron experimentos de toxicidad y biodegradabilidad a concentraciones de decanol más bajas (10 y 100 veces) que su solubilidad en agua (37 mg.L^{-1}). A esas concentraciones, decanol resultó ser no tóxico ni biodegradado por *F. solani*.

Si la CE de los reactores operados, es comparada en función del volumen del reactor, el biofiltro fúngico de dos fases (E4) alcanzó CE mayores (ER ~85%) que las obtenidas con los biofiltros de una fase (E1, E2 y E3) y RTA (una y 2 fases). Además, es mayor que los valores reportados para hexano en biofiltros y biofiltros de lechos escurrido de 1 y 2 fases, cuyos rangos se encuentran entre 10 a $150 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$, con ER entre 40 y 60% (van Groenestijn y Lake, 1999; Budwill y Coleman, 1999). Para el caso de biopelículas fúngicas probablemente debido a su carácter hidrofóbico (coeficiente de partición hexano-hongo) y por tanto su adhesión a la fase oleosa la cual fue confirmada por las fotomicrografías obtenidas por MEB (Fig. 4.21). El hexano fue tomado directamente de la fase gas y por tanto el transporte de masa no limitó el proceso obteniéndose así mayores CE (van Groenestijn y col., 2002).

Sin embargo, la comparación anterior no es del todo correcta, ya que los resultados deben ser comparados en función del tiempo de residencia real del gas (Sección 3.3.5). La CE_{gas} del biofiltro E4 ($246 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas}} \cdot \text{h}^{-1}$) sería al menos 3 veces menor que la obtenida en el RTA (promedio de $752 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas}} \cdot \text{h}^{-1}$ y máxima de $900 \text{ g.m}^{-3}_{\text{gas}} \cdot \text{h}^{-1}$)

fúngico (Tabla 5.1). Estos resultados están relacionados con la ausencia de agitación en un biofiltro, debido a esto el área interfacial de las partículas de aceite se reduce por la coalescencia y por lo tanto se ve limitado el transporte de hexano a los microorganismos. La CE obtenida con el RTA de 2 fases fue mayor que la obtenida en el reactor control, sin aceite de silicona (Tabla 5.1). Esto confirma que la adición de aceite de silicona mejoró en un 60% las velocidades volumétricas de consumo de hexano. Cabe mencionar que además de los experimentos en RTA de 2 fases con *F. solani* se probó la bacteria *P. aeruginosa*. En estos experimentos (no mostrados) se obtuvieron CE_{gas} máximas de $1130 \text{ g.m}^{-3}_{gas} \cdot \text{h}^{-1}$ y $226 \text{ g.m}^{-3}_{gas} \cdot \text{h}^{-1}$, para RTA de dos y una fase (control) respectivamente. La CE_{gas} obtenida con esta bacteria fue 20% mayor que la obtenida con *F. solani*, probablemente esta disminución estuvo relacionada con el efecto de la agitación en la integridad del micelio (Cui y col., 1997).

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que los RTA de dos fases, son capaces de exceder el desempeño de un biofiltro en términos de: tratamiento de gases contaminados con COV's en de flujos de aire grandes y pequeños, soporta fluctuaciones de carga de COV's, utiliza el volumen del reactor completamente, soportan CE mayores que los biofiltros (pequeñas unidades tratan la misma carga de contaminante). Sin embargo, la mejora se debe a la mayor energía suministrada a estos sistemas lo que hace que sean más costosos de operar y más complejos que la tecnología de biofiltración.

Usualmente el paso limitante en el tratamiento de compuestos hidrofóbicos es la transferencia de masa de la fase gas a la biopelícula constituida principalmente por agua. En este estudio el transporte de masa de hexano fue incrementado por medio de la adición de una fase orgánica hidrofóbica (aceite de silicona) la cual permitió que hexano estuviera más disponible para los microorganismos y ser biodegradado. Además, si la solubilidad de oxígeno en el aceite de silicona (250 mg.L^{-1}) es comparada con su solubilidad en agua (8.1 mg.L^{-1}), puede mostrarse que el oxígeno es 33 veces más soluble en el aceite que en el agua. Esto indica, que el transporte de oxígeno a los microorganismos para llevar a cabo la oxidación de hexano fue incrementado por el uso de aceite de silicona y fue posible alcanzar CE más altas en el biofiltro y RTA de dos fases. Hasta este momento no ha sido reportado ningún trabajo para el tratamiento de hexano por medio de biofiltros y RTA fúngicos de dos fases, en los cuales se hayan obtenido CE similares a las alcanzadas en este trabajo inclusive con biofiltros fúngicos (Spigno y col., 2003). Para el caso de tolueno el cual es alrededor de 100 veces más

soluble que hexano, recientemente fueron publicados algunos trabajos donde se propone el uso de reactores de tanque agitado de dos fases (Yeom y Daugulis., 2000; Davison y Daugulis, 2003). En este último estudio, se obtuvieron CE de $233 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$ y fue predicha una CE de $1290 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}}\cdot\text{h}^{-1}$. Los resultados obtenidos en nuestro estudio son ligeramente menores que los obtenidos por Davison y Daugulis (2003), debido a que el hexano es un compuesto más hidrofóbico que tolueno, la relación fase orgánica/fase acuosa utilizada en nuestro caso fue de 1:9 y en su caso de 3.4:6.6, además la agitación utilizada fue 2 veces mayor que la usada en nuestro estudio (400 rpm). La velocidad de agitación es un parámetro bastante importante en el desempeño de un reactor de tanque agitado, debido a que permite el incremento en el área interfacial de la emulsión. Cuando se usan especies fúngicas en un RTA la velocidad de agitación es un parámetro que se tiene que tomar en cuenta, debido a que altas velocidades de agitación pueden provocar problemas en la integridad del micelio (Cui y col., 1997).

La producción de biosurfactantes por medio de especies fúngicas ha sido reportada por Wöesten y col., 1999. Durante la operación del RTA fúngico, probablemente se produjeron biosurfactantes ya que no se observaron dos fases aceite–microorganismos (líquido), si no solo una fase. Lo cual probablemente permitió la adhesión del hongo a las partículas de aceite de silicona y ayudó a incrementar el transporte de hexano y oxígeno a los microorganismos y a estabilizar la emulsión (Desai y Banat., 1997; Rosenberg, 1991). En cuanto a la mineralización alcanzada con el biofiltro fúngico de dos fases E4 fue de 45%, la cual como se pudo observar fue menor que la alcanzada con los biofiltros anteriores (E1, E2 y E3). La producción de CO_2 tan baja se debe probablemente a que la fase oleosa tiene una capacidad de absorción de CO_2 , lo cual aunque no fue cuantificado fue comprobado mediante los experimentos de toxicidad (Anexo B.10). En los cuales, el experimento que contenía aceite de silicona tuvo una producción de CO_2 menor que la producida cuando se utilizaron los otros solventes (undecanona, decanol, hexadecano, tetradecano, etc.), a pesar de que las cantidades de solución A, concentración de microorganismos y medio mineral fueron constantes en todos los experimentos.

5.1.3 Velocidades específicas de consumo en reactores y lote

En la Tabla 5.1, se muestran las velocidades de consumo específicas expresadas en función del contenido de biomasa y de proteína de los reactores operados. Las velocidades de consumo específicas expresadas en términos del contenido de biomasa para el experimento E1 fueron más altas que las obtenidas en E2 y en E3 (día 109). Estos resultados probablemente se deban a que el alto contenido de biomasa en el reactor E2 y E3, el cual fue alrededor de 3 veces mayor que el alcanzado en E1, originó la formación de zonas inactivas y limitaciones de transporte (Morgan-Sagastume y col., 2001; Devinny y col., 1999). Este hecho fue corroborado con los experimentos en columna (A y B), en los cuales el contenido de biomasa fue considerablemente menor ($\sim 30 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{perlita seca}}$) que el alcanzado en los biofiltros y las velocidades de consumo expresadas en función de la biomasa, fueron más altas que las obtenidas para cualquier otro experimento, indicando que la concentración de biomasa en un biofiltro es un parámetro de operación que debe ser controlado.

Tabla 5.2. Velocidades específicas de consumo en función del contenido de biomasa y proteína de los reactores operados.

Experimento		Biomasa	$\oplus V_{\max}$	$\oslash V_{\max}$
		$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{perlita}}$	Biomasa	Proteína
E1-Biofiltro bacteriano		84	6.2	78.8
E2-Biofiltro mixto		187	4.4	17.5
Columna (A) <i>F. solani</i>		33	18.8	66.7
Columna (B) <i>Cladosporium</i>		30	16.8	56
E3- <i>F. solani</i>	día 24	28	6	21.4
	día 109	253	3.24	11.6
E4- <i>F. solani</i> /Aceite		177	10.5	44.7
RTA	Aceite	-	-	537
	Sin aceite	-	-	256

Velocidad específica de consumo de hexano (V_{\max}) expresada en función del contenido de biomasa ($\oplus \text{mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{biomasa}} \cdot \text{h}^{-1}$) y proteína ($\oslash \text{mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteína}} \cdot \text{h}^{-1}$). RTA-reactor de tanque agitado.

En cuanto a la velocidad específica expresada en función del contenido de proteína fue alrededor de 4.3 veces más grande en el experimento E1 que en el E2 y alrededor de 40% mayor que el alcanzado en los experimentos A, B y E4. Este resultado es consistente con el hecho de que las bacterias tienen una actividad catabólica más alta que los hongos. Las velocidades específicas de consumo obtenidas para E1 son consistentes con los resultados reportados por Morales y col., (2004) para la degradación de hexano con un consorcio microbiano. En el cual se obtuvieron velocidades específicas de 26 y 44 $\text{mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteína}} \cdot \text{g}^{-1}$. Además, la V_{max} obtenida con muestra del reactor bacteriano E1 fue mayor que la obtenida en los sistemas fúngicos y refleja la acumulación de sustancias exopoliméricas en E1 principalmente (Fig. 4.4).

Para el caso del RTA fúngico la velocidad específica de consumo fue 2 veces mayor que la obtenida en el reactor control (sin aceite). Morales y col., (2004), obtuvieron un valor de 339 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteína}} \cdot \text{h}^{-1}$ para hexano por cometabolismo con MTBE (Metil-terbutil-eter) mediante un consorcio. Las velocidades de consumo específicas obtenidas con el RTA fueron mayores que los valores obtenidos por estos autores. Además, este resultado indica nuevamente que la adición de aceite de silicona incrementó las velocidades de consumo de hexano debido a que aumentó el transporte de hexano a los microorganismos y así se favorece su biodisponibilidad y biodegradación. Para el caso del biofiltro fúngico de dos fases E4 se obtuvo una velocidad de consumo específica de 44.7 $\text{mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{proteína}} \cdot \text{h}^{-1}$. La cual fue 12 veces menor que la alcanzada en el RTA, fue similar a la encontrada en la columna inoculada con *F. solani*, 1.7 veces menor que la obtenida en E1 y 2.6 veces mayor que la alcanzada en E2. Este resultado está directamente relacionado con la cantidad de biomasa en los reactores, un contenido alto de biomasa en los reactores E2, E3 trajo consigo caídas de presión más altas que las alcanzadas en E1 (Tabla 4.9). Probablemente se originaron zonas inactivas debido al taponamiento del reactor (Kennes y Veiga, 2001).

Las velocidades específicas obtenidas en los experimentos en lote fueron menores que las obtenidas en los sistemas de biofiltración (Tabla 5.3). Si usamos el coeficiente de partición de hexano en agua (30.4) para estimar la concentración en la fase acuosa del experimento en lote, una concentración de hexano de 0.74 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ es encontrada para una concentración inicial de hexano de 22.5 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$. Esta concentración en la fase líquida puede ser comparada con el valor de la constante de saturación de Monod (K_s) para hexano, la cual es de 6 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ según el valor reportado por Spigno y col.,

(2003). La baja concentración de hexano en agua comparada con el valor de K_s , sugiere que las velocidades de consumo tan bajas obtenidas en lote son debidas a limitaciones de transporte por la baja solubilidad de hexano en agua.

Tabla 5.3. Velocidades específicas de consumo obtenidas en los experimentos en lote.

Muestra del biofiltro	$\oplus V_{max}$	$\otimes V_{max}$
	Biomasa	Proteína
E1, pH 7	2.5	32.2
E1 molida, pH 7	4.2	53.7
E1 molida, pH 5.5	3.7	46.6
E1 molida, pH 4	2.2	28.0
E2, pH 4	1.8	7.5
E2con/ antibacterial*, pH 4	1.1	4.4
E2 con antifúngico**, pH 4	0.54	2.1
E3 con medio mineral	0.84	5.25
E3 con medio mineral y agentes antibacterianos*	0.75	4.69
E3 con medio mineral y inhibidor fúngico**	0.13	0.81

*Sulfato de gentamicina y cloranfenicol (agentes antibacterianos); ** Nistatina (antifúngico).

Velocidad específica de consumo de hexano (V_{max}) expresada en función del contenido de biomasa ($\oplus mg_{hexano} \cdot g^{-1}_{biomasa} \cdot h^{-1}$) y proteína ($\otimes mg_{hexano} \cdot g^{-1}_{proteina} \cdot h^{-1}$).

La importancia de limitaciones de transferencia de masa fueron probadas en experimentos en lote para el experimento E1, en los cuales las muestras fueron molidas. Mediante estos resultados se obtiene un factor de efectividad de 0.6, relacionando la velocidad de consumo específica de la muestra molida con la velocidad obtenida para la muestra sin moler a pH 7 (Levenspiel, 1998). Este valor indica que el sistema fue controlado por limitaciones de transporte. El experimento E1 fue susceptible a los

cambios en el pH, la actividad a pH 7 al cual predominan las bacterias fue mayor que la actividad a pH 5.5 y 4.

En el caso de E2 las pruebas de inhibición mostraron que alrededor del 60% de la velocidad de consumo fue debida a las poblaciones fúngicas y 30% a las bacterianas (Tabla 5.3). Para E3 las pruebas con antibióticos indicaron que el 95% de la actividad fue debida a hongos y 15% a poblaciones bacterianas (Tabla 5.3). Debido a que la suma de estos porcentajes es menor y mayor al 100%, respectivamente. Se refleja la inhibición no específica de los agentes antibacterianos o una posible interacción entre las poblaciones fúngicas y bacterianas. Prenafreta-Boldú y col., (2004) reportaron que la adición de microorganismos nativos del suelo a una cepa fúngica pura, mejora las velocidades de remoción de compuestos aromáticos como tolueno y etilbenceno, lo cual confirma el efecto sinérgico. Seigle-Murandi y col., (1996) realizaron experimentos para aislar el hongo *Phanerochaete chrysosporium*, sin embargo nunca pudieron separar este hongo debido a la asociación tan fuerte de una bacteria con este hongo. Posteriormente, ellos reportaron que la bacteria prefería medios complejos y pH de cultivo ácidos, las cuales son condiciones de cultivo preferidas por los hongos. Estos resultados indicaron que la bacteria cooperaba con el hongo *Phanerochaete chrysosporium* para crecer bajo sus condiciones naturales y fue comprobada la simbiosis en la degradación de lignina.

Las fotomicrografías de los experimentos E2 y E3 (Fig. 4.9 y 4.15), mostraron la presencia de hongos y bacterias. Estos resultados confirman que es imposible sostener un cultivo fúngico axénico por largos períodos de operación en un biofiltro, a pesar de que se adicionaron antibióticos y el pH fue controlado. A pesar de eso, el control de estos dos parámetros fue muy importante ya que permitió mantener el predominio de la población fúngica en el experimento E2 y de *F. solani* en E3 (Tabla 5.3).

Las velocidades específicas de consumo de hexano obtenidas con las muestras sólidas de los sistemas de biofiltración, fueron al menos 4 veces más grandes que las obtenidas en experimentos en lote en medio líquido. Esto indicó que la presencia de una fase líquida limitó la transferencia de hexano y oxígeno (compuestos hidrofóbicos) al micelio sumergido y bacterias. Además, este resultado sugiere que el tratamiento de compuestos hidrofóbicos en sistemas de biofiltración es más favorable que otras tecnologías en las cuales la fase acuosa esta en exceso como en los biofiltros de lecho escurrido y biolavadores, donde el contaminante necesita ser absorbido en la fase acuosa para poder ser biodegradado (Devinny y col., 1999).

5.1.4 Efecto de la adición de medio mineral sobre el desempeño de los reactores

La adición continua de medio mineral a los biofiltros tuvo como objetivo incrementar la CE y mantener la velocidad de consumo en condiciones estables. Para los sistemas operados, la adición de medio mineral tuvo un efecto significativo, ya que permitió mantener constante las velocidades de consumo por períodos cercanos a 4 meses, a partir de la adición de nutrientes el pH de operación fue controlado y la adición de agentes antibacterianos pudo llevarse a cabo. Para el caso del experimento E1 la adición de medio cada tercer día no tuvo una diferencia significativa en la CE del reactor que cuando el medio se añadía cada siete días. Para el caso del experimento E2 (biofiltro mixto), la adición de medio mineral con antibióticos no tuvo un efecto significativo (<5%) en la CE del reactor, comprobando así que más del 90% de la CE reportada para el experimento E2 fue debida a las poblaciones fúngicas. La adición de solución amortiguadora en E2 para evitar el crecimiento excesivo de biomasa por la adición de nutrientes, redujo la CE del reactor en un 30%. El efecto negativo en el desempeño del reactor debido a la falta de nutrientes fue reportado por Auria y col., (2000).

Para el caso del biofiltro fúngico E3, la adición de medio mineral cada 3er. día incrementó la CE de hexano pero también el contenido de biomasa en el reactor (253 mg.g^{-1} perlita seca), el cual fue mayor que en los experimentos E1 y E2 (84 y 187 mg.g^{-1} perlita seca). Morgan-Sagastume y col., (2001) indicaron que la adición continua de medio mineral a un biofiltro puede provocar taponamiento debido al crecimiento excesivo de biomasa dando lugar a limitaciones en el transporte de masa del contaminante y a la mala distribución del flujo. Inclusive la adición de medio mineral diariamente en E3, tuvo un efecto negativo sobre la CE ya que esta disminuyó en un 25% al valor promedio obtenido. Altos contenidos de agua en el reactor pueden limitar el desarrollo del micelio aéreo debido al incremento en la tensión superficial del agua que el hongo tiene que vencer para salir al aire y así, tomar el contaminante y el oxígeno de la fase gas (Wöesten y col., 1999). Además, para el caso de compuestos poco solubles como hexano, ambientes con altos contenidos de humedad provocan limitaciones difusionales (van Groenestijn y Hesselink, 1993). El biofiltro E3 mostró sensibilidad al contenido de agua el cual promueve limitaciones de transporte, favorece el crecimiento y contaminación por bacterias (corroborado por microscopía). Lo anterior indicó que es

imposible mantener un solo tipo de población en un biofiltro debido a que son sistemas abiertos y el aire que entra al reactor trae consigo una gran variedad de microorganismos (Devinny y col., 1999). Debido a esto, el predominio de ciertas poblaciones microbianas puede solo ser controlado por las condiciones del proceso. Las cuales incluyen, la preparación de inóculo, aclimatación, pH, humedad, nutrientes y adición de antibióticos, los cuales fueron alcanzados en este trabajo para el caso de los experimentos E2 y E3. Para el caso del biofiltro E4, la adición de nutrientes a partir del día 30 ocasionó que la CE disminuyera en un 15% al valor promedio. Probablemente ocasionado por el arrastre del aceite de silicona durante la adición de nutrientes y a la inestabilidad de la emulsión (aceite en agua).

5.1.5 Efecto de la carga sobre la capacidad de eliminación del reactor

El efecto de la carga sobre la CE de los biofiltros fue mostrada en las Figuras 4.3, 4.8, 4.16 y 4.18. Para estos experimentos, a cargas menores a la carga crítica, la cual es considerada cuando las ER son mayores al 95% (zona 1). La biopelícula en esta zona no está completamente activa y la profundidad de penetración en la biopelícula es más pequeña que el espesor de biopelícula. Este comportamiento es posible a bajas concentraciones del contaminante y en este caso la difusión del contaminante es el mecanismo que controla el proceso. Entre la carga crítica y la CE_{max} (zona 2-Fig. 4.3) se puede observar un régimen intermedio o mixto, en donde la CE incrementa paulatinamente pero a un ritmo menor con el que incrementa la carga, esta zona es limitada por difusión y reacción. A cargas mayores, en donde un incremento de la carga no resulta en un incremento en la CE, la biopelícula llega a ser completamente activa y la difusión no es el paso limitante (régimen 3) (Kennes y Veiga, 2001). Este régimen es conocido como régimen limitado por reacción (Ottengraf y van den Oever., 1983). Cabe mencionar que debido a que los sistemas de biofiltración son heterogéneos los regímenes cambian a través de la altura del reactor y el tiempo, dando lugar a que se presenten diferentes fenómenos (difusión, reacción o ambos) a la vez a lo largo del reactor.

Para E1 una CE_{max} de $74 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$, fue obtenida a cargas mayores de $150 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ (Tabla 5.4). Para E2 se obtiene una CE_{max} de $155 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ para cargas mayores de $400 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ y para el biofiltro fúngico la CE_{max} fue de 135 a cargas mayores de $500 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$. Podemos decir por ejemplo, que para una carga

dada de $60 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$, se obtiene una completa remoción de hexano con el biofiltro E2, E3 y E4 (Cargas críticas mayores de $60 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$) mientras solo el 60% fue removido en el biofiltro bacteriano E1. Lo anterior indica que mediante el uso de hongos se pueden sostener porcentajes de remoción cercanos al 100% con cargas de contaminante más altas que cuando se utilizan bacterias. Este comportamiento, está directamente relacionado con el transporte de masa de la fase gas a la biopelícula, el cual depende del equilibrio gas-biopelícula (equilibrio de partición) y del área superficial. En el caso de biopelículas fúngicas el cociente de área superficial (crecimiento miceliar) a espesor de biopelícula es más grande que el ofrecido por biopelículas bacterianas, las cuales se caracterizan por ser biopelículas planas y espesas (van Groenestijn y col., 2002). Por lo tanto, los experimentos E2, E3 y E4 fueron capaces de sostener CE mayores debido a que el transporte de hexano de la fase gas a la biopelícula fue incrementado por las áreas de contacto más importantes ofrecidas por los hongos. Además, el equilibrio de partición fue más importante en los sistemas fúngicos (E2, E3 y E4) que en el bacteriano (E1), este punto se discutirá más adelante.

Tabla 5.4. Carga crítica y capacidades de eliminación máximas de los reactores.

Experimento	Carga crítica	CE_{max} $\text{g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$	ER_{promedio} (%)
E1	18	74	51 ± 8.9
E2	50	155	54 ± 14
E3	Hexano	70	49 ± 13
	Pentano	45	59 ± 5
E4	145	360	84 ± 10

Para el caso de pentano a pesar del tiempo tan corto de operación y de que la cepa de *F. solani* no fue aclimatada al consumo de este compuesto previamente, se obtuvo una CE_{max} de $70 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$ a cargas mayores de $200 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor.h}^{-1}}$. Valores de CE_{max} como esta, no han sido alcanzados hasta el momento para pentano (Lu y col., 2001). El hecho de que las CE obtenidas para hexano fueron mayores que para pentano, se debe probablemente a que *F. solani* prefiera degradar hexano que pentano, sin embargo esto no se comprobó.

En el biofiltro fúngico de dos fases E4 se obtuvo una carga crítica (ER 100%) de $145 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$, la cual es al menos 2 veces mayor que la obtenida en el biofiltro E3, bacteriano E1 y mixto E2. Este sistema además, fue capaz de alcanzar valores de CE máximos cercanos a $350 \text{ g.m}^{-3}_{\text{reactor}} \cdot \text{h}^{-1}$, los cuales no han sido alcanzados en ningún sistema de biofiltración que se ha reportado para el tratamiento de hexano hasta este momento (van Groenestijn y Lake, 1999; Spigno y col., 2003).

5.2 Coeficiente de partición de hexano en la biopelícula bacteriana, mixta y fúngica

El coeficiente de partición es una medida de la distribución de un soluto entre dos fases, para este caso de estudio la fase gas y biopelícula. La aproximación más general para tratar el fenómeno de distribución (partición) es mediante una extensión de la ley de Henry, bajo condiciones ideales. En este estudio el coeficiente de partición de hexano en las diferentes biopelículas húmedas y secas (bacteriana, mixta y fúngica) fue obtenido mediante el equilibrio gas-biopelícula (Sección 3.4.3).

El coeficiente de partición fue dependiente de la presencia de agua de la biopelícula mixta E2 y fúngica E3, no así para la biopelícula bacteriana (Fig. 4.5, 4.10 y 4.19). Para el caso de la biopelícula mixta (E2) y fúngica (E3) el coeficiente de partición obtenido con la biomasa seca fue alrededor de 1.5 y 2.8 veces menor que el coeficiente de partición de las muestras húmedas, respectivamente (Tabla 5.5). El efecto de la humedad en las biopelículas E2 y E3, esta relacionado con limitaciones de transporte. Los cuales son incrementados con la presencia de agua para el caso de compuestos hidrofóbicos como hexano. Para el caso de una biopelícula fúngica un contenido de humedad alto impide la facilidad para que se desarrolle el micelio aéreo, debido a que la tensión superficial del agua que tienen que vencer las hifas para escapar aéreamente se incrementa (Wöesten y col., 1999).

Tabla 5.5. Coeficiente de partición de las biopelículas húmedas, secas y global.

Biopelícula	$m_{\text{biopelícula húmeda}}$	$m_{\text{biopelícula seca}}$	m_G
E1 (bacterias)	3.49±0.44	3.37±0.24	9.14±0.51
E2 (mixta)	3.46±0.22	2.28±0.25	6.00±0.58
E3 (fúngica)	0.77±0.05	0.28±0.02	0.88±0.06

Coeficiente de partición de hexano en agua: $m_H^l = 30.4$ (Card, 1998).

Coeficiente de partición global: m_G

Si obtenemos un coeficiente de partición global a partir del coeficiente de partición de hexano en agua m_H^l (Henry) y en la biopelícula seca m_H^b , considerando además las fracciones en masa de agua (humedad) y de biomasa en la muestra:

$$\left(\frac{1}{m_G} = \frac{x_1}{m_H^l} + \frac{x_b}{m_H^b} \right) \quad (5.1)$$

Podemos obtener los coeficientes de partición globales m_G con el modelo propuesto (ec. 5.1). Para el caso de la biopelícula fúngica el modelo predice muy bien el valor obtenido experimentalmente (Tabla 5.1). Ya que el coeficiente de partición global (m_G) obtenido para E3 es solo 14% diferente al valor del coeficiente de partición de la muestra húmeda. Para el caso de la biopelícula bacteriana y fúngica los valores del coeficiente global son 2 y 3 veces mayores que el coeficiente de partición obtenido con la biopelícula húmeda. Esta diferencia esta relacionada con el tratamiento térmico que recibieron las muestras, probablemente se produjeron cambios en la disponibilidad de agua y en la matriz de exopolímeros (E1 y E2 mostraron más exopolímero) de manera que la sorción de hexano disminuyó. Además, en el modelo que se propone en este trabajo (ec. 5.1) se consideraron como fenómenos independientes (no interacción) la sorción de hexano en la biopelícula seca y la sorción de hexano en agua (Ley de Henry). Sin embargo, aunque para el caso de la biopelícula fúngica el modelo ofreció una buena aproximación. El mecanismo de sorción de hexano en la biopelícula humedad es diferente al considerado en el modelo, ya que hay interacciones entre el agua y las sustancias que contiene la biopelícula lo que provocó cambios en la partición de hexano más evidentes para la biopelícula bacteriana y mixta.

Si comparamos los coeficientes de partición globales obtenidos en este trabajo y para este tipo de biopelículas exclusivamente con el coeficiente de partición de Henry

para hexano. Los resultados indican que la concentración de hexano al usar una biopelícula fúngica sería alrededor de 100 veces mayor y para una biopelícula mixta y bacteriana alrededor de 4 veces mayor que la concentración de hexano en agua. Este resultado está relacionado con el contenido hidrofóbico de los hongos (*Cladosporium* y *F. solani*) que permitió que se incrementara la sorción (absorción y adsorción) de hexano en la biopelícula y por tanto el transporte. Por lo tanto, los resultados de CE obtenidos con los biofiltros fúngicos fueron mayores que los obtenidos con el bacteriano debido a la importancia del coeficiente de partición en el transporte de masa y a que probablemente se llevó a cabo un transporte directo de la fase gas a la biopelícula sin una transición de hexano en la fase acuosa (van Groenestijn y Liu., 2002). Hasta el momento no se han realizado estudios de equilibrio gas-biopelícula de compuestos hidrofóbicos en biopelículas fúngicas, ni su comparación con biopelículas bacterianas. Miller y Allen, (2004) obtuvieron el coeficiente de partición de α -pineno en muestras de agar y una biopelícula bacteriana. El coeficiente de partición resultó ser alrededor de 100 veces menor que el coeficiente de partición de α -pineno en agua. Este resultado lo atribuyeron al contenido de sustancias poliméricas de la biopelícula las cuales incrementaron la absorción de α -pineno. Para el caso de estudio, el coeficiente de partición de hexano en la biopelícula bacteriana fue 4 veces menor que el de hexano en agua, para la biopelícula mixta fue de 5 veces menor y para la biopelícula fúngica de 108 veces menor. Lo anterior indicaría que las velocidades de consumo obtenidas en experimentos en medio sólido (biofiltros) deben ser más grandes que las obtenidas en los experimentos en lote (medio líquido), debido a la presencia de una fase acuosa la cual limita el transporte de compuestos hidrofóbicos. Los resultados obtenidos en este estudio sustentan lo anterior, ya que se obtuvieron velocidades de consumo específicas mayores en los experimentos de biofiltración que las obtenidas en los experimentos en lote (Tabla 5.2 y 5.3). Acuña y col., (1999), obtuvieron una correlación para extrapolar la velocidad de consumo de tolueno obtenida en experimentos de microcosmos (medio líquido) a la que se podría alcanzar en un biofiltro (medio sólido). Esta correlación fue consistente debido al hecho de que tolueno es alrededor de 100 veces más soluble que hexano. Sin embargo, para el caso de hexano o compuestos más hidrofóbicos esta correlación no funcionaría.

5.3 Permeabilidad, difusividad efectiva y caída de presión en los reactores

La variación de la caída de presión (ΔP) y de la permeabilidad (k) de un sistema de biofiltración, están relacionados con el incremento de biomasa dado que el crecimiento de ésta provoca una reducción de la fracción vacía del lecho. Mientras el soporte no haya sido modificado durante el proceso y el contenido de agua permanezca constante, por ejemplo, con un material inorgánico, como la perlita, es posible estudiar el efecto del crecimiento de la biomasa en la disminución de la permeabilidad relativa intrínseca (Sección 1.2.1.2.1). Considerando que los sistemas de biofiltración se encontraban en régimen laminar y que la humedad de los sistemas permaneció constante, se puede utilizar la correlación descrita por Auria y col., (1993), para predecir la permeabilidad del lecho (Tabla 4.9).

El hecho de que la porosidad y la permeabilidad del lecho disminuyeron conforme aumentó el contenido de biomasa en los reactores se debe al crecimiento de los microorganismos (bacterias y hongos) debido al consumo de hexano y a la producción de exopolímeros que se fueron acumulando en la biopelícula (Fig. 4.4, 4.9, 4.15). En el caso del biofiltro inoculado con *F. solani* (E3), registró la fracción vacía del lecho más baja seguida del biofiltro mixto (preferentemente fúngico). Esto está relacionado a que el crecimiento miceliar provoca taponamientos en el reactor, acanalamiento, obstrucción del paso del flujo, disminución de la permeabilidad y por lo tanto caídas de presión más altas que las alcanzadas en biofiltros bacterianos (van Groenestijn y col., 1993). Kim y Fogler, (2000) señalaron, que la permeabilidad de los medios porosos disminuye con el crecimiento de las bacterias y con la producción de exopolímeros, reduciendo y obstruyendo el espacio entre las partículas. Esta disminución de k redujo el tiempo de residencia efectivo, es decir, disminuyó el tiempo de contacto entre fases (gas – biopelícula) dada la formación de canalizaciones y posibles zonas muertas provocando una mala distribución de flujo. La disminución en la permeabilidad relativa reduce las tasas de transporte del contaminante y del oxígeno a la biopelícula, como se ha demostrado con los coeficientes de difusión efectivos de O_2 y CO_2 en el gas (Auria y col., 1992). Para el caso especial del reactor fúngico de 2 fases E4, aunque la permeabilidad disminuyó respecto a la inicial no fue tan baja como las obtenidas en los biofiltros mixto y fúngico (E2 y E3), a pesar de que los contenidos de biomasa se encontraban dentro del mismo rango. Lo anterior muy probablemente está relacionado

con cambios en la formación de la biopelícula fúngica debido a la adhesión del hongo con el aceite de silicona por ser ambos de naturaleza hidrofóbica.

En cuanto a las difusividades efectivas de hexano obtenidas para cada uno de los sistemas operados (Tabla 4.9), éstas fueron del mismo orden de magnitud que la difusividad de hexano en agua. Miller y Allen, (2004), encontraron resultados similares para el caso de α -pineno. En este estudio la D_{ef} de pineno en la biopelícula, fue del mismo orden de magnitud que la del compuesto en agua. Para este caso de estudio, la difusividad efectiva disminuyó conforme aumentó el contenido de biomasa. Lo que indica nuevamente que altos contenidos de biomasa en el reactor incrementan las limitaciones de transporte del contaminante a la biopelícula (Fan y Leyva-Ramos, 1990).

En cuanto a la caída de presión alcanzada (Tabla 4.9) en los biofiltros, para el caso del experimento E1 fue baja, pero para el experimento E2 y E3 fueron mayores que las reportadas por Kibazohi y col., (2004). Este autor reportó una caída de presión de $8 \times 10^{-3} \text{ cm}_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \text{cm}^{-1}_{\text{reactor}}$ para la biofiltración de hexano usando como soporte perlita y un consorcio bacteriano y para la misma velocidad superficial usada en este trabajo ($\sim 0.85 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$). Las caídas de presión altas obtenidas para el experimento mixto (E2) y fúngico (E3) están relacionadas con el contenido de biomasa, el cual fue más alto en estos experimentos que en el E1-bacteriano. Además, no puede dejarse a un lado el crecimiento micelial de los hongos (van Groenestijn y Liu, 2002; Devinny y col., 1999). La posibilidad de incrementar el crecimiento micelial de los espacios vacíos del lecho manteniendo caídas de presión bajas fueron investigados por Aizpuru y col., (2005), en este estudio se usaron anillos cerámicos los cuales permitieron un importante crecimiento fúngico sin taponamiento del reactor.

Los resultados obtenidos sugieren que la perlita es un soporte que ofrece la oportunidad de utilizarse en procesos de biofiltración generando una caída de presión baja comparada con otros soportes (turba, composta, vermiculita etc.). Además es importante elegir soportes que proporcionen una permeabilidad relativa intrínseca grande como la perlita con respecto a otros por ejemplo, la resina de intercambio iónico (Amberlita IRA-900, Rohm & Haas, Philadelphia, PA) utilizada por Auria y col., (1993) en experimentos de fermentación en estado sólido.

A partir de cambios de porosidad del lecho dado el crecimiento de biomasa, en este estudio se calculó la permeabilidad relativa, la D_{ef} y posteriormente la caída de presión. Como se puede ver en la Tabla 4.9, el método usado para calcular estos parámetros fue acertado ya que los valores arrojados por el modelo en cuanto a la

caída de presión son del mismo orden de magnitud que el medido experimentalmente. Sin embargo, es evidente que hay que tomar en cuenta que los microorganismos no crecen de manera totalmente homogénea en el reactor, lo cual, modifica la permeabilidad relativa y los otros parámetros en diferentes posiciones del reactor. Sin embargo, para este trabajo se hizo la consideración de crecimiento homogéneo.

5.4 Modelo matemático del biofiltro

El modelo matemático que se utilizó en este estudio está basado en el modelo formal de Ottengraf y van den Oever (1983), que se basó en un modelo para la biodegradación de sustratos no adsorbibles en biopelículas sumergidas por Jennings y col. (1976). Ottengraf modificó este modelo para biopelículas gas/líquido e incluyó el estudio de 3 situaciones comunes en biofiltros para el tratamiento de aire contaminado: cinética de primer orden, cinética de orden cero limitado por reacción y cinética de orden cero limitado por difusión. El modelo de Ottengraf permite una solución analítica de las ecuaciones diferenciales obtenidas de balances de masa en la fase gas y en la biopelícula.

Una importante limitación de este modelo es que engloba en una constante parámetros de ajuste importantes como son: el espesor de biopelícula, el área superficial, el coeficiente de partición utilizado es el del gas en agua y no en biopelícula como debería de tomarse en cuenta, la difusividad efectiva se engloba también en una constante, lo único que el autor mide experimentalmente es la constante de velocidad cinética. Sin embargo, el hecho de englobar parámetros importantes en una constante de ajuste enmascaran los fenómenos reales que se llevan a cabo en la biodegradación de compuestos por biofiltración.

Para el caso del modelo que a continuación se presentará, se utilizaron los valores del coeficiente de partición, difusividad efectiva y espesor de biopelícula obtenidos experimentalmente para el caso del biofiltro fúngico. Además se propone un modelo sencillo para hongos mediante el cual se predice a partir de ciertas consideraciones el área superficial a partir del espesor de biopelícula.

5.4.1 Desarrollo y solución del modelo

El modelo matemático que a continuación se describirá esta basado en el publicado por Ottengraf y van den Oever (1983). Para el desarrollo se consideraran las suposiciones siguientes:

- 1.- No hay gradientes de concentraciones radiales a través del biofiltro y el flujo de aire a través del lecho es considerado flujo tapón
- 2.- La biopelícula cubre uniformemente el material de empaque y el espesor es muy pequeño comparado con el tamaño de la partícula, por lo tanto una geometría plana puede ser asumida para la biopelícula
- 3.- El hexano es el único sustrato que afecta la velocidad de degradación
- 4.- La transferencia de masa en la fase gas puede ser despreciable, por lo tanto se asume que la concentración del contaminante en la interfase de la biopelícula esta en equilibrio con la concentración en la fase gas
- 5.- La concentración de hexano en la fase gas es relacionada con la concentración en la biopelícula mediante un coeficiente de partición de hexano en la biopelícula:

$$m_H^b = C_H^g / C_H^b \quad (5.2)$$

donde C_H^g y C_H^b son las concentraciones de hexano en la fase gas y en la biopelícula, respectivamente. Mediante el coeficiente de partición de hexano en la biopelícula seca y el de hexano en agua (Henry) se obtuvo un coeficiente de partición global m_G (ec. 5.1), que fue el que se utilizó para resolver el modelo.

$$\left(\frac{1}{m_G} = \frac{x_1}{m_H^1} + \frac{x_b}{m_H^b} \right) \quad (5.1)$$

Las diferencias de polaridad de los compuestos (biopelícula y agua) establecieron que el coeficiente de partición de compuestos hidrofóbicos en la biopelícula sea diferente al coeficiente de hexano en el agua.

- 6.- El transporte del contaminante en la biopelícula se lleva a cabo por difusión y se describe por medio de un coeficiente de difusividad efectivo, D_{ef} . Para este caso de estudio, D_{ef} depende de la fracción vacía del lecho.
- 7.- El espesor de la biopelícula es constante con el tiempo
- 8.- Se considera además que el sistema se encuentra en estado estacionario

El perfil del contaminante en un biofiltro se describe por fenómenos de transporte y de reacción, los cuales se llevan a cabo en paralelo o en serie (Fig. 5.1). Para el caso del modelo de Ottengraf se asume un equilibrio en la interfase gas-biopelícula descrito por la Ley de Henry (para este trabajo será el coeficiente de partición en la biopelícula), seguido de la difusión y consumo del contaminante en la biopelícula. Para el caso del régimen limitado por reacción (1) se considera que toda la biopelícula está completamente activa y para el régimen limitado por difusión (2) solo una parte de la biopelícula está activa (λ). Sin embargo, el hecho de que uno de los mecanismos sea el paso que controla el proceso no significa que ambos fenómenos no se estén presentes a la vez.

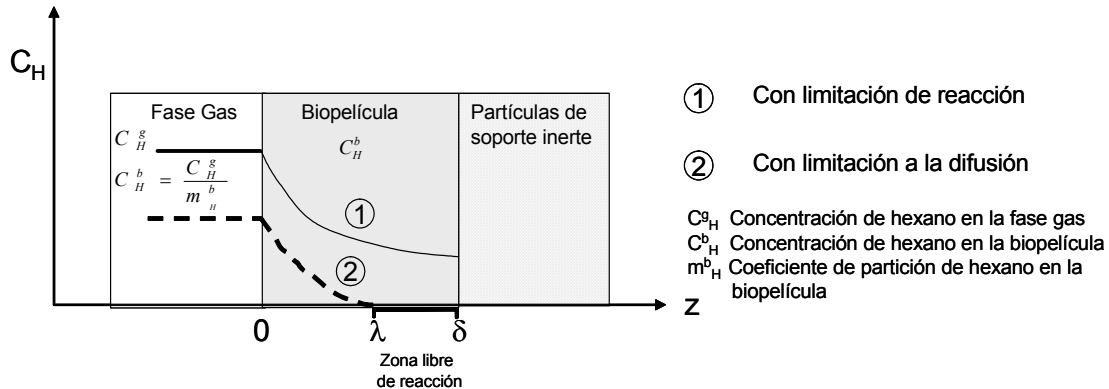


Figura 5.1. Perfil de concentración del contaminante en la biopelícula para régimen limitado por reacción y difusión, situaciones consideradas en el modelo matemático de Ottengraf.

Primeramente, se realizó un balance de masa de hexano en la biopelícula, la concentración de hexano C_H^b es gobernada por la ecuación diferencial siguiente:

$$\frac{dN_H}{dx} + r_H = 0 \quad (5.3)$$

El flux difusivo N_H puede expresarse por medio de la Ley de Fick bajo la consideración que la concentración de hexano en el flujo de aire es baja, de acuerdo a:

$$N_H = -D_{ef} \frac{dC_H^b}{dx} \quad (5.4)$$

En donde N_H es el flux difusivo de hexano a la biopelícula, $g \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$

D_{ef} es la difusividad efectiva de hexano en la biopelícula, $m^2 \cdot h^{-1}$

r_H representa el término de reacción biológica, puede ser representado por orden cero y uno.

C_H^b es la concentración de hexano en la biopelícula, $g \cdot m^{-3}$

Sustituyendo la ec. 5.4 en la ec. 5.3 obtenemos:

$$D_{ef} \frac{d^2 C_H^b}{dx^2} = -r_H \quad (5.5)$$

Transporte del contaminante a la biopelícula = Velocidad de consumo de hexano por microorganismos

Las condiciones límite requeridas para resolver la ecuación anterior son:

$$\begin{aligned} C_H^b &= \frac{C_H^g}{m_H} & \text{en} & & x &= 0 \\ \frac{dC_H^b}{dx} &= 0 & \text{en} & & x &= \lambda \end{aligned} \quad (5.6 \text{ y } 5.7)$$

La primera condición representa el equilibrio de la concentración del contaminante en la interfase biopelícula-gas. La segunda condición implica un flujo igual a cero en la posición λ , en donde λ es el espesor de biopelícula activa.

La ecuación 5.5 se resuelve con las condiciones límite 5.6 y 5.7 y además, considerando cinética de orden cero ($-r_H = k_0$):

$$\frac{C_H^b}{C_H^g / m_H^b} = 1 + \frac{1}{2} \frac{\phi_o^2}{C_H^g / C_{Ho}} \left(\sigma^2 - 2\sigma^2 \frac{\lambda}{\delta} \right) \quad (5.8)$$

donde: $\phi = \delta \sqrt{\frac{k_o m_H^b}{D_e C_{Ho}}}$ (5.9)

Por medio de la ecuación anterior podemos encontrar el valor de λ (espesor de biopelícula activa Fig. 5.1) con la condición siguiente:

$$C_H^b = 0 \quad \sigma = \lambda / \delta$$

$$\lambda = \sqrt{\frac{2D_e C_{Ho}}{k_o m_H^b}} \quad (5.10 \text{ y } 5.11)$$

El balance de masa de hexano a lo largo del biofiltro esta dado por:

$$-U_g \frac{dC_H^g}{dh} = NA_s \quad (5.12)$$

donde U_g es la velocidad superficial de aire, $m \cdot h^{-1}$

A_s es el área interfacial por unidad de volumen del biofiltro, $m^2 \cdot m^{-3}$

El flujo de hexano que se difunde de la fase gas a la biopelícula esta dado por:

$$N = -D_{ef} \left(\frac{dC_H^b}{dx} \right)_{x=0} = -r_H \delta \quad (5.13)$$

i) Sustituyendo la ec. 5.13 en la ec. 5.12 e integrando, obtenemos el perfil de concentración de hexano a lo largo del biofiltro considerando $-r_H = k_o$ (cinética de orden cero) es decir un régimen limitado por reacción:

Ecuación para orden cero limitado por reacción

$$\frac{C_H^g}{C_{Ho}} = 1 - \frac{k_o \delta A_s h}{U_g C_{Ho}} = 1 - \frac{K_o h}{U_g C_{Ho}} \quad (5.14)$$

ii) Para el régimen limitado por la difusión del sustrato en la biopelícula, se obtiene también el perfil de la concentración de hexano en el biofiltro pero considerando un coeficiente de difusión efectivo del sustrato en la biopelícula.

Sustituyendo la ecuación 5.13 y 5.11 en la 5.12 e integrando obtenemos dicho perfil:

$$\text{Ecuación para orden cero limitado por difusión} \quad \frac{C_H^g}{C_{Ho}} = \left(1 - \frac{h}{U_g} \sqrt{\frac{K_o D_{ef} A_s}{2 C_{Ho} m_H^b \delta}} \right)^2 \quad (5.15)$$

iii) Para cinética de primer orden ($-r_H = k_1 C_H$) el balance de masa de hexano en la fase biopelícula esta dado por:

$$\frac{dN_H}{dx} + k_1 C_H = 0 \quad (5.16)$$

Sustituyendo la ecuación 5.6 (Ley de Fick) en la 5.16 se tiene:

$$D_e \frac{d^2 C_H^b}{dx^2} = k_1 C_H \quad (5.17)$$

La ecuación anterior se resuelve con las condiciones límite siguientes:

$$\begin{aligned} C_H^b &= \frac{C_H^g}{m_H^b} & \text{en} & & x &= 0 \\ \frac{dC_H^b}{dx} &= 0 & \text{en} & & x &= \delta \end{aligned} \quad (5.18 \text{ y } 5.19)$$

La solución de la ecuación 5.17 con las condiciones límite anteriores es:

$$\frac{C_H}{C_{Ho}/m_H^b} = \frac{\cosh(\phi_1(1-\sigma))}{\cosh \phi_1} \quad (5.20)$$

donde $\phi_1 = \delta \sqrt{\frac{k_1}{D_e}}$ es el Modulo de Thiele

$\sigma = x/\lambda$ es la coordenada de longitud adimensional en la biopelícula, k_1 es la constante de velocidad de primer orden.

Por medio de la ecuación 5.13 y 5.20 se obtiene:

$$N = \frac{D_e}{\delta} \frac{C_{Ho}}{m_H^b} \phi_1 \tanh \phi_1 \quad (5.21)$$

Del balance de masa en la fase gas se obtuvo la ecuación 5.12:

$$-U_g \frac{dC_H^g}{dh} = NA_s$$

combinando las ecuaciones 5.12 (balance de masa a lo largo del biofiltro) y 5.21 (balance de masa en la biopelícula) se obtiene el perfil de concentración de hexano a lo largo del biofiltro para cinética de primer orden:

$$\frac{C_H^g}{C_{Ho}} = \exp\left(-\frac{hA_s D_e}{m_H^b U_g \delta} \phi_1 \tanh \phi_1\right) \quad (5.22)$$

$$K_1 = \frac{A_s D_e}{\delta} \phi_1 \tanh \phi_1$$

Introduciendo la constante de velocidad de reacción aparente K_1 en la ec. 5.22 se obtiene:

$$\text{Ecuación para primer orden limitado por reacción} \quad \frac{C_H^g}{C_{Ho}} = \exp\left(-\frac{hK_1}{m_H^b U_g}\right) \quad (5.23)$$

Para el ajuste de los datos experimentales de caída de concentración a lo largo del biofiltro (E1, E2, E3) se utilizaron los valores de los parámetros descritos en la Tabla 5.6. La D_{ef} se calculó a través de la correlación de Naele y Nader (1973) la cual es función de la fracción vacía del lecho que fue obtenida experimentalmente de acuerdo a la Sección 4.4.2. El coeficiente de partición global fue calculado de acuerdo a la ec. 5.1 y a la metodología expuesta en la Sección 3.4.3. El espesor de biopelícula para el caso del hongo se midió por MEB y se describe más adelante.

Tabla 5.6. Parámetros experimentales de los sistemas de biofiltración.

Muestra	Coefficiente de partición global, m_G	Espesor de biopelícula, m	$D_{ef} \times 10^{10}$, $m^2 \cdot s^{-1}$	A_s , m^{-1}
E1	9.14	0.0001*	2.59	*2310 \varnothing 88200
E2	6.00	0.0001 2.6×10^{-6}	1.90	+2170 \varnothing 417839
<i>F. solani</i>	0.88	2.6×10^{-6}	1.41	180000

Valores reportados en la literatura para bacterias *Deshusses y col., (1995) y
+Abumaizar y col., (1997).

\varnothing Parámetro de ajuste del modelo.

El modelo ajustó los valores de caída de concentración a lo largo del biofiltro para los sistemas E1, E2 y E3, se seleccionaron los datos de caída de concentración de hexano de diferentes días de operación y representativos del sistema. Se utilizó una hoja de cálculo Excel y el Programa computacional Origin v. 7 (ANOVA) para determinar la caída de concentración predicha por el modelo y error global entre los datos experimentales y predichos por el modelo.

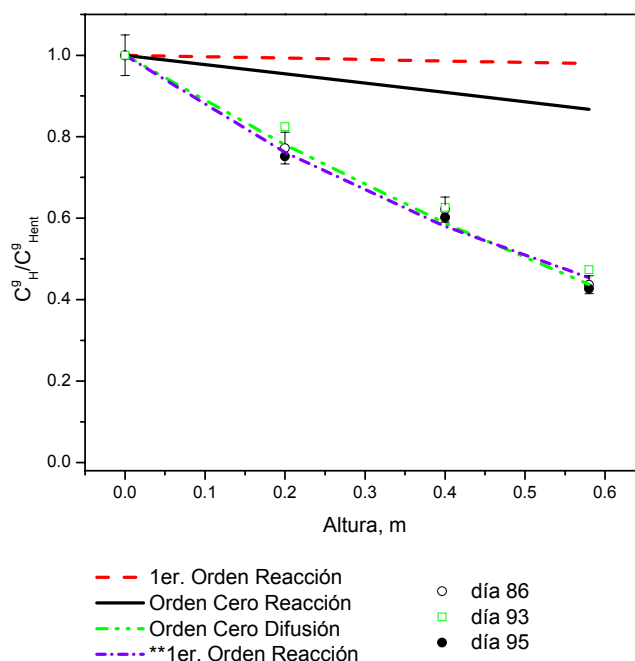


Figura 5.2. Ajuste matemático para la caída de concentración de hexano en el biofiltro bacteriano (E1) para varios días de operación. Modelo (---) para $A_s=2310 \text{ m}^{-1}$, $m_G= 9.14$, $\delta=0.0001 \text{ m}^{-1}$; ** $A_s=88100 \text{ m}^{-1}$.

Como se puede ver en la Figura 5.2, los casos de orden cero y primer orden limitados por reacción, subestiman la caída de concentración obtenida experimentalmente en el biofiltro bacteriano. Para el caso del modelo de orden cero limitado por difusión, un análisis realizado con el paquete computacional Origin v7 indicó que los datos experimentales y los resultados del modelo no son significativamente diferentes con un nivel de confiabilidad de 0.05 y se obtuvo un error de 0.05%. Para este caso, el A_s utilizada fue de 2310 m^{-1} , este valor es consistente con el valor de A_s de 2170 m^{-1} reportado por Abumaizar y col., (1997) para el caso de biopelículas bacterianas.

Debido a la complejidad en la determinación experimental de áreas superficiales y espesores de biopelícula bacterianos, para la siguiente simulación el espesor de biopelícula se mantuvo constante a 0.0001 m y el área interfacial fue el parámetro de ajuste. Para este caso el modelo de 1^{er} orden (error 0.018%) ajustó adecuadamente los resultados para A_s de 88200 m^{-1} . Aunque, hasta el momento no ha sido reportada un A_s de 88200 m^{-1} para el caso de biopelículas bacterianas, teóricamente el modelo de 1^{er}

orden es el que debería de ajustar mejor los datos experimentales. Ya que si tomamos en cuenta que al reactor se estuvieron alimentando concentraciones de 3 g.m^{-3} , según la constante de Henry de hexano en agua 30.4, en la fase líquida habría una concentración de hexano de 0.1 g.m^{-3} . Este valor es alrededor de 60 veces menor que el valor de K_s de 6 g.m^{-3} reportado por Spigno y col., (2004) para hexano. Inclusive si tomamos en cuenta el coeficiente de partición global de hexano en la biopelícula bacteriana (9.14) la concentración de hexano en la biopelícula sería 9 veces menor que el valor de K_s . Lo anterior indica que teóricamente el modelo que debe ajustar mejor los datos experimentales es el de cinética de primer orden debido a que $K_s \gg C_H^b$, según la ecuación de Monod. Sin embargo, es difícil aseverar esto ya que los biofiltros son sistemas heterogéneos y en diferentes zonas del reactor pueden estar ocurriendo limitaciones tanto de transporte como de reacción y más aún variar a través del tiempo. El modelo solo se utilizó para ajustar los datos solamente de esos días de operación porque era cuando se tenía toda la información del sistema: concentración de biomasa, caída de presión, porosidad, coeficiente de partición y difusividad efectiva.

Para el caso del biofiltro mixto (E2), se ajustaron los datos con valores para biopelículas bacterianas y con los valores para la biopelícula fúngica de *F. solani* de manera de ver en donde se podía situar la biopelícula mixta (Fig. 5.3).

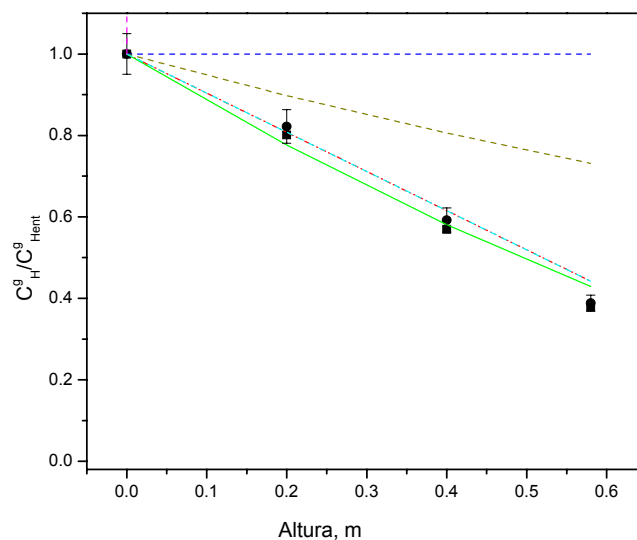


Figura 5.3. Ajuste matemático para el biofiltro E2 (pH 4). Datos experimentales de los días de operación 50 y 56 (■●). Modelo matemático (---).

Para un A_s de 2170 m^{-1} y $\delta=0.0001 \text{ m}^{-1}$, que son parámetros para bacterias. Los modelos que mejor ajustaron los datos experimentales fueron el de orden cero limitado por reacción con un error del 5% y el modelo de orden cero limitado por difusión con un error del 1.9%. El modelo de primer orden subestima la caída de concentración y el error obtenido con este modelo es del 64%. Cuando se utilizan valores para hongos ($A_s= 417 \text{ 839 m}^{-1}$; $\delta=2.6 \text{ }\mu\text{m}$) el modelo que mejor ajustó los datos fue el de orden cero limitado por reacción y el de primer orden con errores del 5 y 35 %, respectivamente. Como se puede observar los modelos que incluyeron los parámetros para biopelículas bacterianas fueron los que ajustaron mejor los datos experimentales del reactor mixto.

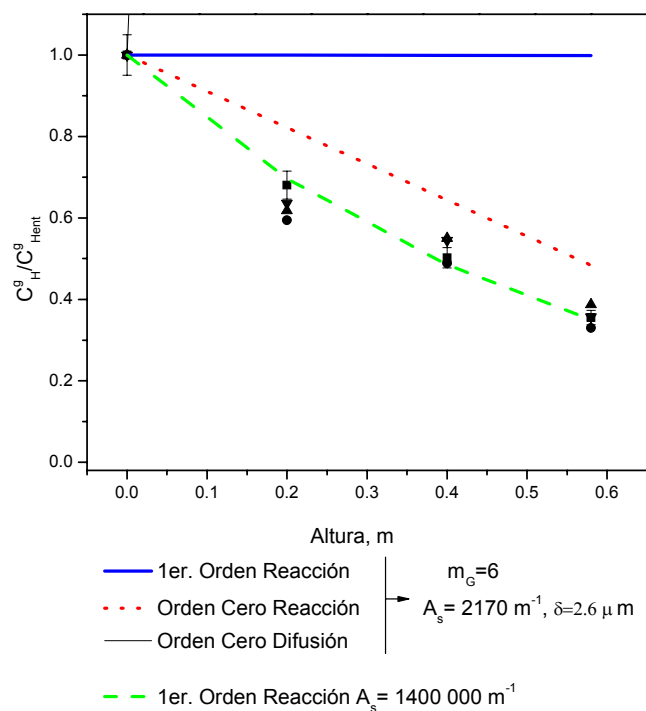
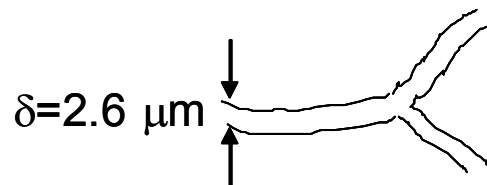


Figura 5.4. Ajuste matemático para el biofiltro E2 (pH 4). Datos experimentales de los días de operación 42, 43, 57 y 58 (■●▲▽). Modelo matemático (---).

Como se puede observar en la Figura 5.4, el modelo matemático de orden cero limitado por reacción ajustó los datos experimentales de los días 42, 43, 57 y 58 con un error del 25%. En este caso el espesor de biopelícula utilizado fue el obtenido por MEB

para el diámetro de una hifa del hongo *F. solani*. Al mantener fijo el espesor de biopelícula y variar el área interfacial A_s el modelo de primer orden fue el que ajustó mejor los datos experimentales con un error del 2% y un valor de A_s de $1\,400\,000\text{ m}^{-1}$, sin embargo este valor no tienen ningún significado físico. Como se puede observar en las 2 simulaciones anteriores, tanto el modelo de primer orden como el de orden cero limitados por reacción ajustaron adecuadamente los datos experimentales, probablemente los dos mecanismos de reacción estén presentes a la vez en diferentes posiciones del reactor.

Para el caso del biofiltro fúngico (*F. solani*), por medio de MEB se midió el diámetro de una hifa y se encontró un valor de $2.6\ \mu\text{m}$, el cual fue considerado como el espesor de la biopelícula fúngica, debido a que los hongos crecen formando micelio superficial y aéreo, no así las biopelículas bacterianas que se caracterizan por ser planas y gruesas. Para este caso además se realizó la siguiente suposición para predecir el área superficial:



Asumiendo que el espesor de biopelícula es igual al diámetro de una hifa ($\delta=d_{hifa}$) Fig. 4.15, que la humedad de la hifa es del 90% (Madigan y col., 2001) y que la densidad de la biomasa es igual a $1\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (Deshusses y col., 1995), podemos calcular la longitud de una hifa si la consideramos como un tubo cilíndrico:

$$L = \frac{V_{biomasa}}{\pi \cdot \left(\frac{d_{hifa}}{2}\right)^2} \quad (5.24)$$

Área superficial de una hifa:

$$a = d_{hifa} \cdot L_{hifa} \cdot \pi \quad (5.25)$$

El área interfacial A_s estará dada por:

$$A_s = \frac{a}{V_{reactor}} \quad (5.26)$$

Ahora si incorporamos un factor α a la ec. 5.26, el cual esta referido a la fracción de micelio aéreo de la biopelícula (crecimiento aéreo) y $(1-\alpha)$ será la fracción de micelio superficial, el área interfacial estará dada por:

$$A_s = \frac{a}{V_{reactor}} \alpha \quad (5.27)$$

Haciendo esta consideración, la fracción de micelio aéreo debe tener un valor de 0.43 para ajustar los datos experimentales correctamente y a partir de esta fracción y del espesor de biopelícula de 2.6 μm encontrado por MEB se obtiene un área interfacial de 180 000 m^{-1} (Figura 5.5). Con estos valores, los datos experimentales no fueron significativamente diferentes a los predichos por el modelo de orden cero y primer orden con un intervalo de confianza de 0.05. El modelo de orden cero ajustó los datos experimentales con un error del 11% y el de primer orden los ajustó con un error del 0.29%.

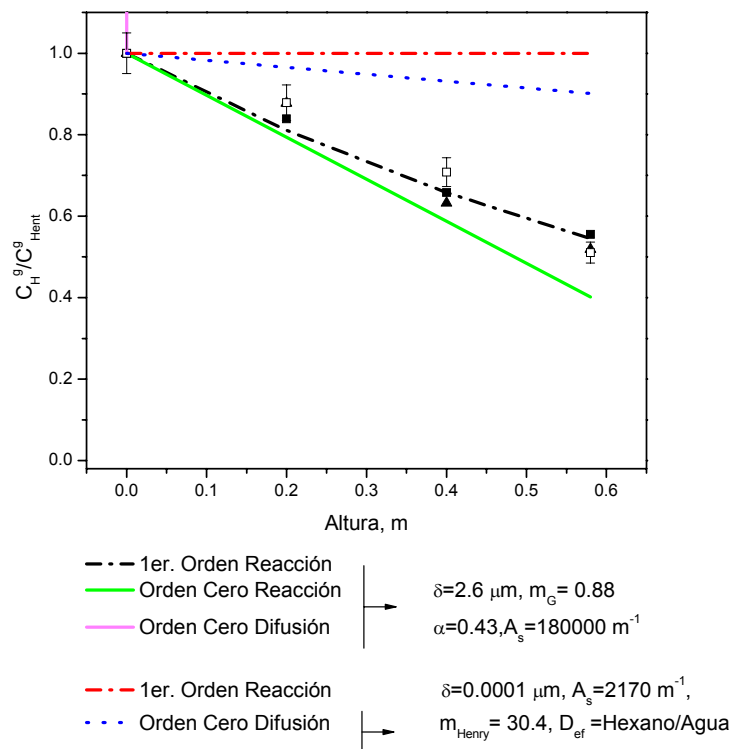


Figura 5.5. Ajuste matemático para el reactor fúngico E3 (*Fusarium solani*). Datos experimentales de los días 64, 65 y 66 (■□▲). Modelo matemático (---).

Esto sugiere que la consideración de espesor de biopelícula como el diámetro de una hifa proporcionó un ajuste bueno de los datos experimentales y el porcentaje de micelio aéreo y micelio superficial presente en la biopelícula es de un 43 y 67%, respectivamente. Además, el modelo sugiere que el consumo de hexano en una biopelícula fúngica sigue una cinética de primer orden u orden cero limitados por reacción. Cabe mencionar que esto es válido solamente para los días 64, 65 y 66, podría variar con el tiempo y con las condiciones de operación (carga del contaminante, actividad biológica, posición en el reactor).

Los datos experimentales de los días 64, 65 y 66 se ajustaron con el modelo matemático que incluyó valores de los coeficientes de partición (30.4) y difusividad efectiva de hexano en agua ($7.33 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), además del espesor de biopelícula ($\delta=0.0001 \text{ m}$) y área interfacial ($A_s=2310 \text{ m}^{-1}$) reportados por Deshusses y col., (1995). Como se puede observar tanto el modelo de orden cero y primer orden limitados por reacción

subestiman la caída de concentración de hexano en el biofiltro con un error del 30 y 40%, respectivamente. Lo anterior indica que es importante medir los parámetros involucrados en este modelo matemático experimentalmente (contaminante/biopelícula) ya que como se observa en la Fig. 5.5 los parámetros utilizados para modelar sistemas de biofiltración que por lo general son los del contaminante en agua, no predicen adecuadamente los resultados que se obtienen en el biofiltro.

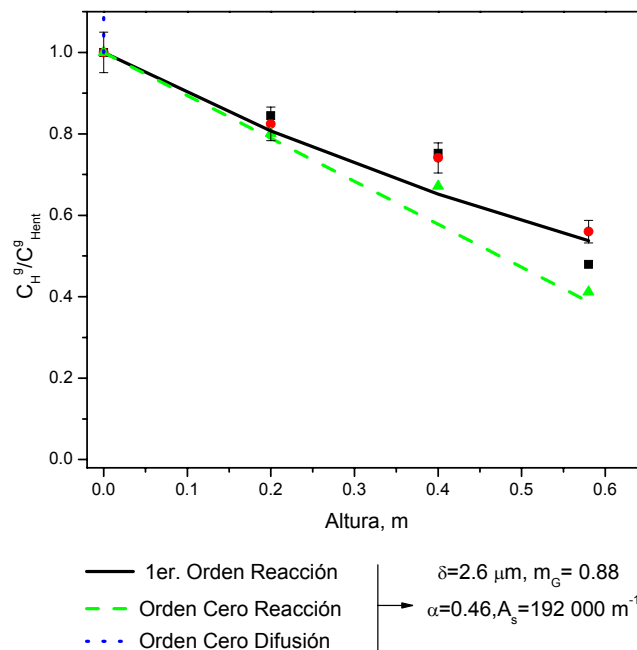


Figura 5.6. Ajuste matemático para el reactor fúngico E3 (*Fusarium solani*). Datos experimentales de los días 31, 33 y 35 (■□▲). Modelo matemático (---).

Para los días 31, 33 y 35 el modelo matemático de orden cero y primer orden limitados por reacción ajustaron los datos correctamente con un error de 12 y 0.12%, respectivamente (Fig. 5.6). Para este caso la fracción de micelio aéreo fue ligeramente mayor que para los días de operación anteriores (Fig. 5.5) y el área interfacial fue 6% mayor que la anterior. Esto indica que al inicio de la operación del biofiltro la biopelícula posee ligeramente una mayor área interfacial y micelio aéreo. Sin embargo, como la diferencia es muy baja se llega a la conclusión de que estos parámetros variarían muy poco a través del tiempo en que se operó el reactor. Como se puede observar el biofiltro fúngico fue el que menos variaciones tuvo a través del tiempo y un estado estable

puede ser considerado (Fig. 4.14). Lo que implica que los modelos de orden cero y primer orden son validos a través de toda la operación del reactor (después del arranque).

6 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos en este estudio confirmaron que el uso de poblaciones fúngicas presenta ventajas sobre las bacterias para la degradación de contaminantes hidrofóbicos como hexano. La adición de aceite de silicona al biofiltro y reactor de tanque agitado (RTA) incrementó el transporte de masa de hexano a los microorganismos y así las velocidades de consumo.

En la primera parte de este trabajo, la posibilidad de usar un biofiltro predominantemente fúngico (E2) para el tratamiento de hexano y su comparación con la biofiltración bacteriana (E1) fue explorada. Debido a que los biofiltros son sistemas abiertos, el predominio de cierta población microbiana como hongos o bacterias, puede solo ser controlada por las condiciones del proceso. Estas incluyen la preparación del inóculo, adición de agentes antibacterianos, aclimatación, pH, humedad, nutrientes, etc. En el caso del biofiltro E2 fue posible mantener el predominio de poblaciones fúngicas por medio del control de pH y adición de agentes antibacterianos.

A pesar de la baja actividad catabólica de los hongos, fueron capaces de soportar CE de hexano más altas que las bacterias. Los biofiltros fúngicos E2 y E3 soportaron velocidades de remoción de hexano más altas debido al crecimiento micelial de los hongos el cual proporciona áreas superficiales mayores y al contenido hidrofóbico del hongo que fue corroborado por el coeficiente de partición hexano – biopelícula. Estas características permitieron probablemente que el hexano fuera transportado directamente de la fase gas a la fase biopelícula sin una transición del contaminante por la fase acuosa. La adición continua de nutrientes en un biofiltro fúngico trajo consigo limitaciones de transporte de hexano a la biopelícula fúngica y el crecimiento excesivo de biomasa, reduciendo así el desempeño del biofiltro.

Los experimentos en lote confirmaron la importancia principal de los hongos en el biofiltro mixto (E2) y fúngico (E3), aunque también se presentaron bacterias. Lo cual sugirió que las interacciones entre los hongos y las bacterias estuvieron presentes. Por otro lado, el crecimiento excesivo de los hongos promovió la producción de zonas inactivas y caídas de presión mayores dando como resultado un decremento sobre la CE de hexano en los biofiltros. El contenido de biomasa en un reactor es un parámetro de operación importante que debe ser controlado adecuadamente.

Los resultados obtenidos de las velocidades de consumo en experimentos en lote fueron menores que las obtenidas en medio sólido (biofiltros). Debido a la presencia de una fase acuosa que limita el transporte de contaminantes hidrofóbicos y oxígeno a la biopelícula. En los experimentos en medio sólido, el contaminante está disponible para los microorganismos en una concentración mayor dada por el contenido hidrofóbico de la biopelícula (equilibrio gas-biopelícula) no así cuando existe un medio líquido (Coeficiente de partición de Henry).

A partir del experimento E2 se pudieron aislar dos cepas fúngicas identificadas como: *Cladosporium* y *F. solani*. Las cuales fueron capaces de degradar hexano como única fuente de carbono y energía. La actividad de estos hongos en la degradación de hexano fue comprobada en experimentos en columnas y en el caso de *F. solani*, fue capaz de sostener CE mayores que las encontradas en el experimento E1 y ligeramente menores que las obtenidas en el sistema E2. Lo cual comprueba nuevamente la hipótesis planteada al inicio de este trabajo de que los hongos favorecen el transporte y así las velocidades de consumo de contaminantes hidrofóbicos.

La adición de aceite de silicona mejoró el transporte de hexano, la biodisponibilidad del contaminante para el microorganismo y así las velocidades de degradación de hexano tanto en el biofiltro de 2 fases (E4) como en el RTA. El desempeño del biofiltro de 2 fases fue superior que el obtenido con los biofiltros bacterianos y fúngicos de una fase (E1, E2 y E3). En el caso del RTA de dos fases fue capaz de exceder el funcionamiento de un biofiltro para el tratamiento de compuestos hidrofóbicos, inclusive al resultado obtenido con el biofiltro de 2 fases fúngico (E4). Sin embargo, el RTA es un sistema más complejo y requiere costos energéticos más altos que un biofiltro. En el RTA la adición de aceite de silicona mejoró las velocidades de consumo en un 60% (RTA control). Las CE de hexano obtenida con los sistemas de dos fases son superiores que cualquier valor que hasta el momento se ha reportado en la literatura para bioreactores convencionales.

Conclusiones

Los valores del coeficiente de partición global de hexano obtenidos mostraron dependencia con el tipo de biopelícula: bacteriana, mixta y fúngica. Estos fueron significativamente más bajos que los que se utilizan comúnmente para modelar sistemas de biofiltración (hexano en agua). Para el caso de la biopelícula fúngica fue alrededor de 100 veces menor que el coeficiente de partición de hexano en agua y alrededor de 10 veces menor que el de hexano en la biopelícula bacteriana, lo cual sugiere que el contenido hidrofóbico de los hongos mejora el transporte de contaminantes hidrofóbicos a la biopelícula y sus velocidades de consumo. La difusividad efectiva disminuyó conforme aumentó el contenido de biomasa, indicando nuevamente que altos contenidos de biomasa en un reactor incrementa las limitaciones de transporte.

La permeabilidad de los biofiltros operados fue función del contenido de biomasa en los reactores. La disminución de este parámetro ocasionó problemas difusionales y mala distribución del flujo del contaminante a través del biofiltro. El modelo matemático de Ottengraf incluyó los valores experimentales obtenidos del coeficiente de partición, difusividad efectiva y espesor de biopelícula para el caso del biofiltro fúngico y se comprobó claramente la diferencia de usar estos parámetros medidos en la biopelícula que los de hexano en agua. El modelo de orden cero y primer orden ajustaron correctamente los datos experimentales del reactor fúngico con un error menor al 11% y estos modelos además, son válidos para toda la operación del reactor debido a que se mantuvo en estado estable. Además, las consideraciones hechas sobre el espesor de biopelícula fúngica, para obtener el área interfacial y la fracción de micelio aéreo y superficial estuvieron de acuerdo con los resultados experimentales obtenidos para el biofiltro fúngico. Para el caso del ajuste de los datos del reactor E1 el modelo de orden cero limitado por difusión y primer orden ajustaron correctamente los datos experimentales con un error menor al 0.5 % para los diferentes días de operación modelados. El modelo matemático de orden cero limitado por reacción ajustó correctamente los datos del reactor mixto E2.

El siguiente reto estará enfocado al estudio de la interacción entre los hongos y bacterias el cual presenta una oportunidad de estudio en biofiltros por ser sistemas abiertos. Otras áreas de oportunidad de los sistemas de dos fases, consisten en explorar otro tipo de fases orgánicas básicamente menos costosas, en la optimización de la relación fase orgánica a acuosa y agitación. Además sería interesante el uso de fases orgánicas y hongos en otro tipo de reactores como: bioreactor de flujo ascendente o biofiltro de lecho escurrido intermitente, etc. Por otro lado, el modelado de los reactores de tanque agitado de 2 fases presenta una oportunidad de estudio a pesar de su mayor complejidad comparada con la de un biofiltro. Un giro importante en el uso de fases orgánicas en la biodegradación de COVs, esta enfocado a la encapsulación de microorganismos que permitiría incrementar el transporte y la degradación de contaminantes hidrofóbicos. La encapsulación de microorganismos en fases oleosas sería una herramienta poderosa para el tratamiento de contaminantes recalcitrantes (MTBE) ya que estos se consumirían gradualmente por los microorganismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham MH, Le J. 1999. The Correlation and Prediction of the Solubility of Compounds in Water Using an Attended Solvation energy Relationship. *J Pharm Sci* 88: 868-880.
- Abumaizar RJ, Smith EH, Kocher W. 1997. Analytical model of dual-media biofilter for removal of organic air pollutants. *J Environ Eng Div* 123: 606-614.
- Acevedo F, Gentina CJ, Illanes A. 2002. *Fundamentos de Ingeniería Bioquímica*. Ed. Universitarias de Valparaíso. UCV. Pag. 12.
- Acuña ME, Pérez F, Auria R, Revah S. 1999. Microbiological and kinetic aspects of a biofilter for the removal of toluene from waste gases. *Biotechnol Bioeng* 63: 175-184.
- Aizpuru A, Dunat B, Christen P, Auria R, García-Peña I, Revah S. 2005. Fungal biofiltration of toluene on ceramic rings. *J Environ Eng* 131:396–402.
- Aizpuru A, Dunat B, Christen P, Auria R, García-Peña I, Revah S. 2005. Fungal biofiltration of toluene on ceramic rings. *J Environ Eng* 131: 396–402.
- Aizpuru A, Malhautier L, Fanlo JL. 2002. Quantitative Structure-Activity Relationship modeling of biofiltration renewal. *J Environ Eng* 128: 959-953.
- Anuario estadístico Pemex, 2002, http://www.pemex.com/estadis_2002.html
- Aquan-Yuen M, Mackay D, Wan YS. 1979. Solubility of Hexane, Phenanthrene, Chlorobenzene, and p-Dichlorobenzene in Aqueous Electrolyte Solutions. *J Chem Eng Data* 24: 30-34.
- Arriaga S, Revah S. 2005. Improving hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter. *Biotechnol Bioeng* 90: 107-115.
- Arriaga, S.; Revah, S. 2005. Removal of n-hexane by *Fusarium solani* with a gas-phase biofilter. *J. Ind. Microbiol. Biot.* En línea.
- Atkinson B, Mavituna F. 1991. *Biochemical engineering and biotechnology handbook*. The nature Press. 2a. Edición.
- Auria R, Frere G, Morales M, Acuña ME, Revah S. 2000. Influence of mixing and water addition on the removal rate of toluene vapors in a biofilter. *Biotechnol Bioeng* 68: 448-455.

- Auria R, Morales M, Villegas E, Revah S. 1993. Influence of Mold Growth on the Pressure Drop in Aerated Solid State Fermentors. *Biotechnol Bioeng* 41:1007-1013.
- Auria R, Palacios J, Revah S. 1992. Determination of the Interparticular Effective Difusión Coefficient for CO₂ and O₂ in Solid State Fermentation. *Biotechnol Bioeng* 39: 898-202.
- Bailey JE, Ollis DF. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2a. Edición. McGraw-Hill.
- Base de datos toxicológicos del sevidor de la NTP (National Toxicology Program), <http://ntp-server-niehs.nih.gov>
- Bohn H. 1992. Consider biofiltration for decontaminating gases. *Chem Eng Prog* 88: 34-40.
- Bruce LJ, Daugulis AJ. 1991. Solvent selection strategies for extractive biocatalysis. *Biotechnol Prog* 7: 116-124.
- Budwill K, Coleman R. 1999. Project report. http://sfm1.biology.ualberta.ca/english/pubs/PDF/PR_1999-1.pdf/
- Card TR. 1998. Fundamentals Chemistry and characteristics of odors and VOCs. In Rafson H, editor. *Odor and VOC Control Handbook*, McGraw Hill. p 2.1.1-2.1.36
- Cárdenas GB, Revah S, Hernández JS, Martínez SA, Gutierrez AV. 2003. Tratamiento biológico de compuestos orgánicos volátiles de fuentes fijas. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT) México. <http://www.ine.gob.mx>
- Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS 117476). 2005. <http://www.cbs.knaw.nl/databases/index.htm>.
- Froment GF, Bischoff KB. 1990. *Chemical reactor analysis and design*. Mc Graw Hill. 2a. Edición. Wiley, John & Sons.
- Cox HHJ, Magielsen FJ, Doddema HJ, Harder W. 1996. Influence of the water content and water activity on styrene degradation by *Exophiala jeanselmei* biofilters. *Appl Microbiol Biotechnol* 45:851–856.
- Cox HHJ, Moerman RE, van Baalen S, van Heiningen WNM, Doddema HJ, Harder W. 1997. Performance of a styrene-degrading biofilter containing the yeast *Exophiala jeanselmei*. *Biotechnol Bioeng* 53: 259-266.

- Cui YQ, Van der Lans RGJM, Luyben KCAM. 1997. Effect of agitation intensities on fungal morphology of submerged fermentation. *Biotechnol Bioeng* 55: 715-726.
- Dagley S. 1975. Microbial degradation of organic compounds in the biosphere. *Am Sci* 63: 681-689,
- Daugulis AJ. 1997. Partitioning bioreactors. *Current Opinion in biotechnology*. 8:169-174.
- Davison BH, Barton JW, Klasson KT, Francisco AB, 2000. Influence of High Biomass Concentrations on Alkane Solubilities. *Biotechnol Bioeng* 68: 279-284.
- Davison CT, Daugulis AJ. 2003. Addressing biofilter limitations: A two-phase partitioning bioreactor process for the treatment of benzene and toluene contaminated gas streams. *Biodegradation* 14: 415-421.
- De Bont JAM. 1998. Solvent-tolerant bacteria in biocatalysis. *Trends Biotechnol* 16: 493-499.
- De Nevers. 1998. *Ingeniería de Control de la Contaminación del aire*. Edit. McGraw Hill PP: 5, 299, 310.
- Delhoménie MC, Bibeau L, Gendron J, Brzezinski R, Heitz M. 2003. A study of clogging in a biofilter treating toluene vapors. *Chem Eng J* 94: 211–222.
- Deront M, Samb FM, Adler NY, Péringier P. 1998. Biomass Growth Monitoring Using Pressure Drop in a Cocurrent Biofilter. *Biotechnol Bioeng* 60: 97-104.
- Desai JD, Banat IM. 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol* 61: 47-64.
- Deshusses MA, Hamer G, Dunn IJ. 1995. Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 1. Dynamic model development. *Environ Sci Technol* 29: 1048-1058.
- Deshusses MA, Hamer G, Dunn IJ. 1996. Transient-state behavior of a biofilter removing mixtures of vapors of MEK and MIBK from air. *Biotechnol Bioeng* 49: 587-598.
- Devigny JS, Deshusses MA, Webster TS. 1999. Boca Raton, FL: Lewis Publishers/CRC Press. pp 81-110.
- Devigny JS, Hodge DS. 1995. Formation of acidic and toxic intermediates in overloaded ethanol biofilters. *J Air Waste Manage Assoc* 45:125-131.
- Déziel E, Comeau Y, Villemur E. 1999. Two-liquid-phase bioreactors for enhanced degradation of hydrophobic/toxic compounds. *Biodegradation* 10: 219-233.

- Elmrini H, Kerdouss F, Jorio H, Heitz M. 2001. Biofiltration of air contaminated with toluene. *Environ Technol* 22: 927-940.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1990. Amendments to the Clean Air Act. <http://www.epa.gov>; http://www.epa.gov/air/oaq_caa.html/
- Environmental Protection Agency (EPA). 1995. Emission Factor Documentation for AP-42, Section 9.11.1 Vegetable Oil Processing Final Report. <http://www.epa.gov/ttn/chief/ap42/ch09/final/c9s11-1.pdf>
- Environmental Protection Agency (EPA). 1998. Vegetable Oil Production: Industry Profile-Preliminary Final Report. EPA Contract Number 68-D4-0099 RTI Project Number 7018-54.
- Fan LS, Leyva-Ramos R, Wisecarver K, Zehner BJ. 1990. Difusión of phenol through a biofilm grown on activated carbon particles in a draft-tube three-phase fluidized-bed bioreactor. *Biotechnol Bioeng* 35: 279-286.
- Fernández, A. 2001. La contaminación del aire, cómo abatir este problema de salud. Aspectos de salud ambiental y situación general Gestión de la calidad del aire en México. <http://www.ine.gob.mx>
- Flickinger MC, Drew SW. 1999. Encyclopedia of Bioprocess Technology - Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation. Volumen 1-5. John Wiley & Sons <http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=678>
- Gams W, Anderson TH, Domsch KH. 1980. Compendium of Soil Fungi. Two volumes. Academic Press, New York.
- García-Peña EI, Hernández S, Favela-Torres E, Auria R, Revah S. 2001. Toluene biofiltration by the fungus *Scedosporium apiospermum* TB1. *Biotechnol Bioeng* 76: 61-69.
- Geankoplis CJ. 1993. Transport processes and unit operations. 3ra. edición. Prentice Hall.
- Gostomski PA, Sisson JB, Cherry RS. 1997. Water Content Dynamics in Biofiltration: The Role of Humidity and Microbial Heat Generation. *J Air & Waste Manage Assoc* 47: 936-944.
- Guieysee B, Cirne MdDTG, Mattiasson B. 2001. Microbial degradation of phenanthrene and pyrene in a two-liquid phase-partitioning bioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol* 56: 796-802.

- Haluk B, Zbigniew L. 2002. Internal and external mass transfer in biofilms grown at various flow velocities. *Biotechnol Prog* 18: 55-61.
- Hernández-Flores AL. 2002. Control de vapores de gasolina por biofiltración. Tesis de maestría.
- Höhener P, Duwig C, Pasteris G, Kaufmann K, Dakhel N, Harms H. 2003. Biodegradation of petroleum hydrocarbon vapors: laboratory studies on rates and kinetics in unsaturated alluvial sand. *J Contam Hydrol* 66: 93-115.
http://www.epa.gov/ttn/ecas/regdata/IPs/Vegetable%20Oil_IP.pdf
- Jennings PA, Snoeyink VL, Chian ESK. 1976. Theoretical model for a submerged biological filter. *Biotechnol Bioeng* 18: 1249-1273.
- Jorio H, Bibeau L, Heitz M. 2000. Biofiltration of Air Contaminated by Styrene: Effect of Nitrogen Supply, Gas Flow Rate, and Inlet Concentration. *Environ Sci Technol* 34: 1764-1771.
- Kan E, Deshusses MA. 2003. Development of foamed emulsion bioreactor for air pollution control. *Biotechnol Bioeng* 84: 240-244.
- Kennes C, Thalasso F. 1998. Waste gas biotreatment technology. *J Chem Technol Biotechnol* 72: 303-319.
- Kennes C, Veiga MC. 2001. Bioreactors for waste gas treatment. Kluwer Academic Publishers The Netherlands. Pp. 47-98, 215-254.
- Kibazohi O, Yun S, Anderson WA. 2004. Removal of hexane in biofilters packed with perlite and a peat-perlite mixture. *World J Microb Biot* 20: 337-343.
- Kim DS, Fogler HS. 2000. Biomass Evolution in Porous Media and Its Effects on Permeability Under Starvation Conditions. *Biotechnol Bioeng* 69: 47-56.
- Kreft JU, Wimpenny JWT. 2001. Effect of EPS on biofilm structure and function as revealed by an individual-based model of biofilm growth. *Wat Sci Tech* 43: 135-141.
- Leson G, Winer AM. 1991. Biofiltration: an innovative air pollution control technology for VOC emissions. *J Air Waste Manage Assoc* 41, 1045-1054.
- Levenspiel O. 1998. Chemical reaction engineering. John Wiley and Sons. p 688.
- Lu C, Li MR, Wey I. 2001. Removal of pentane and styrene mixtures from waste gases by a trickle-bed air biofilter. *J Chem Technol Biotechnol* 76: 820-826.

- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 1998. Brock Biología de los Microorganismos 8a. Ed. Prentice Hall.
- Manahan SE. 1991. Environmental chemistry. Lewis Publishers. Pag. 219.
- Mathews CK, van Holde KE, Ahern KG. 1999. Biochemistry 3ra. Edición Benjamin Cummings Publisher.
- Miller AJ, Allen DG. 2004. Transport of hydrophobic pollutants through biofilms in biofilters. Chem Eng Sci 59:3515-3525.
- Mohseni M, Allen DG. 2000. Biofiltration of mixtures of hidrophilic and hydrophobic volatile organic compounds. Chem Eng Sci 55:1545-1558
- Morales M, Hernández S, Cornabé T, Revah S, Auria R. 2003. Effect of drying on biofilter performance: Modeling and experimental approach. Environ Sci Technol 37: 985-992.
- Morales M, Revah S, Auria R. 1998. Start-Up and the effect of gaseous ammonia additions on a biofilter for the elimination of toluene vapors. Biotechnol Bioeng 60: 483-491.
- Morales M, Velásquez E, Jan J, Revah S, González U, Razo-Flores E. 2004. Methyl tert-butyl ether biodegradation by microbial consortia obtained from soil samples of gasoline-polluted sites in Mexico. Biotechnol Lett 26: 269-275.
- Moretti EC. 2002. Reduce VOC and HAP emissions. Chem Eng Prog 6: 30-40.
- Morgan-Sagastume F, Sleep BE, Allen DG. 2001. Effects of biomass growth on gas pressure drop in biofilters. J Environ Eng 127:388-396.
- Morgenroth E, Schroeder ED, Chang DPY, Scow KM. 1996. Nutrient limitation in a compost biofilter degrading hexane J Air Waste Manage Assoc 46: 300-308.
- Morrison RT, Boyd R, Boyd RK. 1992. Organic Chemistry. Prentice Hall. 6a. Edición.
- Muñoz R, Guieysse B, Mattiasson B. 2003. Phenanthrene biodegradation by an algal-bacterial consortium in two-phase partitioning bioreactors. Appl Microbiol Biotechnol 61: 261-267.
- Neale GH, Nader WK. 1973. Prediction of transport processes within porous media: Diffusive flow processes within a homogeneous swarm of spherical particles. AIChE J 19:112-119.

- NIOSH. National Institute for Occupational Safety and Health. 2004. Pocket Guide to Chemical Hazards. Publication No. 97-140.
<http://www.cdc.gov/niosh/npg/npgdname.html>
- Ottengraf SPP, van den Oever, AHC. 1983. Kinetics of organic compounds removal from waste gases with a biological filter. *Biotechnol Bioeng* 25: 3089-3102.
- Ottengraf SPP. 1977. Theoretical model for a submerged biological filter. *Biotechnol Bioeng* 19:1411- 1416.
- Paca J, Koutsky B, Maryska M, Halecky M. 2001. Styrene degradation along the bed height of perlite biofilter. *J Chem Technol Biotechnol* 76: 873-878.
- Pelczar MJ, Reid R, Chan EC. 1982. *Microbiología*. 4a. Edición. Mc Graw Hill.
- Pineda J, Auria R, Pérez-Guevara F, Revah S. 2000. Biofiltration of toluene vapors using a model support. *Bioprocess Eng* 23: 479-486.
- PNUMA. *Perspectivas del medio ambiente mundial GEO-3*. Grupo Mundi. España. 2002.
- Pirt JS. 1975. *Principles of microbe and cell cultivation*. Halsted Press, John Wiley & Sons, New York.
- Prenafeta-Boldú FX, Ballestedt H, Gerritse J, Grotenhuis, JTC. 2004. Bioremediation of BTEX hydrocarbons: Effect of soil inoculation with the toluene-growing fungus *Cladophialophora* sp. strain T1. *Biodegradation* 15:59-65.
- Revah S, Morgan-Sagastume JM. 2005. Methods for odor and VOC control en *Biotechnology for Odour and Air Pollution*. Shareefdeen Z., Singh A. Eds. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. p. 29-64.
- Revah S, Ortíz, I. 2004. Sección II: El desarrollo de bioprocesos para el tratamiento de aire contaminado emitido por fuentes fijas. pp. 625-655. En Bolívar, F.G. *Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna*. El Colegio Nacional, México, D.F.
- Rittman BE, McCarty PL. 2001. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. p. 26.
- Rosenberg M. 1991. Basic and applied aspects of microbial adhesion at the hydrocarbon: water interface. *Crit Rev Microbiol* 18: 159-173.

- Banerjee S, Yalkowsky SH, Valvani SC. 1980. Water Solubility and Octanol/Water Partition Coefficients of Organics. Limitations of the Solubility-Partition Coefficient Correlation, *Environ Sci Technol* 14: 1227-1229.
- Schwedt G. 2001. *The Essential Guide to Environmental Chemistry*. Wiley. pag.31.
- Seigle-Murandi F, Guiraud P, Croizé J, Falsen E, Eriksson KEL. 1996. Bacteria are omnipresent on *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall. *Appl Environ Microbiol* 62: 2477-2481.
- SEMARNAT, INE. 2003. Dirección General de Investigación sobre la Contaminación Urbana, Regional y Global. Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero, México, D.F.
- SEMARNAT, INE. Dirección General de Calidad del Aire y Registro de Contaminantes. 2002. México, D.F. Aire-Cambio Climático y Efecto de Invernadero. <http://portal.semarnat.gob.mx/semarnat/portal>
- Shareefdeen Z, Baltzis BC. 1994. Biofiltration of toluene vapor under steady-state and transient conditions: theory and experimental results. *Chem Eng Sci* 49:4347-4360.
- Sharon RT, Leonard WL. 1992. Vapor-Phase Partitioning of Volatile Organic Compounds: A Regresión Approach. *Environ Tox Chem* 11: 1377-1388.
- Shuler ML, Kargi F. 1992. *Bioprocess engineering – basic concepts*. Prentice Hall, Englewood Cliffs.
- Spigno G, Pagella C, Fumi MD, Molteni R, De Faveri DM. 2003. VOCs removal from waste gases: gas-phase bioreactor for the abatement of hexane by *Aspergillus niger*. *Chem Eng Sci* 58: 739-746.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998. Edición 20, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL. 1986. *Microbiología*. Ediciones Repla. 4a. Edición. pag. 245.
- Stewart PP. 1998. A Review of Experimental Measurements of Effective Diffusive Permeabilities and Effective Diffusion Coefficients in Biofilms. *Biotechnol Bioeng* 59: 261-272.

- Thalasso F, Pineda-Olmedo R. 2002. Biofiltración: Tratamiento Biológico de Aire Contaminado. XXX Aniversario de Biotecnología. Avance y Perspectiva vol.21.
- Van Beilen JB, Li Z, Duetz WA, Smits THM, Witholt B. 2003. Diversity of Alkane Hydroxylase Systems in the Environment. *Oil Gas Sci Technol* 58: 427-440.
- van der Meer AB, Beenackers AACM, Burghard R, Mulder NH, Fok JJ. 1992. Gas/liquid mass-transfer in a four-phase fermentor: effects of organic phase hold-up and surfactant concentration. *Chem Eng Sci* 47: 2369-2374.
- van Groenestijn JW, Hesselink PGM. 1993. Biotechniques for air pollution control. *Biodegradation* 4: 283-301.
- van Groenestijn JW, Lake ME. 1999. Elimination of alkanes from off-gases using biotrickling filters containing two liquid phases. *Environ Prog* 18: 151-155.
- van Groenestijn JW, Liu JX. 2002. Removal of alpha-pinene from gases using biofilters containing fungi. *Atmos Environ* 36: 5501-5508.
- Vermuë M, Sikkema J, Verheul A, Bakker R, Tramper J. 1993. Toxicity of homologous series of organic solvents for the gram-positive bacteria *Arthrobacter* and *Nocardia* sp. and the gram-negative bacteria *Acinetobacter* and *Pseudomonas* sp. *J Biotechnol Bioeng* 42: 747-758.
- Vesilind PA, Perirce J, Weiner RF. 1990. *Environmental Pollution and Control*. 3a. Edición. p.249.
- Volke-Sepúlveda TL, Gutiérrez-Rojas M, Favela-Torres E. 2003. Biodegradation of hexadecane in liquid and solid-state fermentations by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technol* 87: 81-86.
- Walter MV, Crawford RF. Overview: Biotransformation and Biodegradation. pp. 707-708. In Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., Walter, M.V. *Manual of Environmental Microbiology*. ASM Press, Washington, D.C., E.U.A., 1997.
- Woertz JR, Kinney KA, McIntosh NDP, Szaniszlo PJ. 2001. Removal of toluene in a vapor-phase bioreactor containing a strain of the dimorphic black yeast *Exophiala lecanii-corni*. *Biotechnol Bioeng* 75:550-558.

- Wöesten HAB, van Wetter M-A, Lugones LG, van der Mei HC, Busscher HJ, Wessels JGH. 1999. How a fungus escapes the water to grow into the air. *Curr Biol* 9: 85-88.
- Wubbolts MG, Favre-Bulle O, Witholt B. 1996. Biosynthesis of Synthons in Two-Liquid-Phase Media. *Biotechnol Bioeng* 52: 301-308.
- Yeom SH, Daugulis AJ. 2000. Development of a novel bioreactor system for treatment of gaseous benzene. *Biotechnol Bioeng* 72: 156-164.
- Zarook SM, Shaikh AA. 1997. Analysis and comparison of biofilter models. *Chem Eng J* 65: 55-61.
- Zhu X, Suidan MT, Pruden A, Yang Chunping, Alonso C, Kim BJ, Kim BR. 2004. Effect of substrate Henry's constant on biofilters performance. *J Air Waste Manage Assoc* 54: 409-418

Anexo A. Diagramas de flujo de experimentos realizados

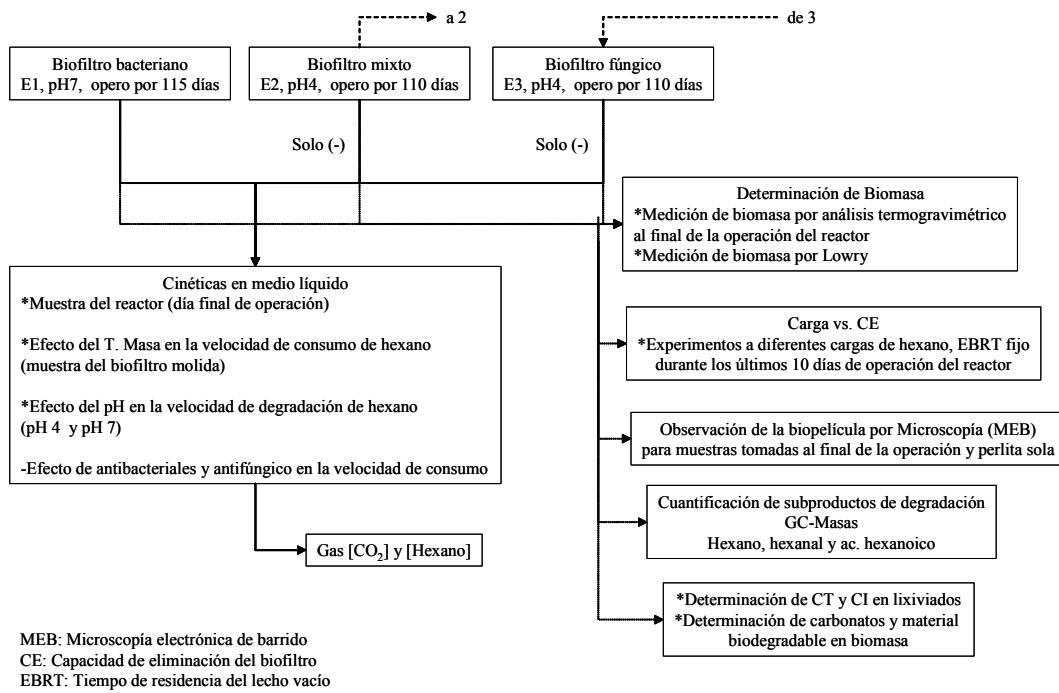


Figura A.1. Diagrama de flujo de la primera parte de experimentos realizados.

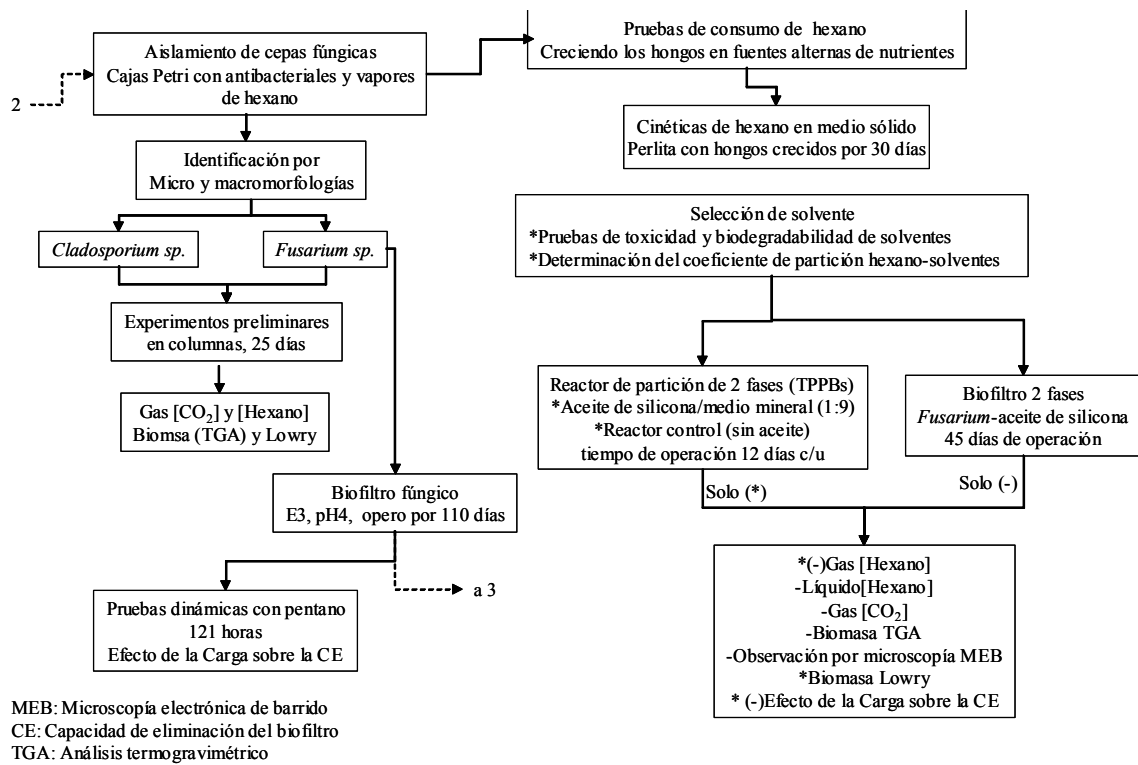


Figura A.2. Diagrama de flujo de la segunda parte de experimentos realizados.

Anexo B. Cálculos y curvas de calibración

Para cuantificar el hexano, pentano y el CO₂ se realizaron curvas de calibración. A un bulbo de 580 mL se inyectaron de 0-2 μL ó de 2-10 μL del compuesto a medir, posteriormente se deja equilibrar el bulbo con la sustancia en un cuarto a temperatura de 30°C durante 15 min. Enseguida se toman muestras de 100 y 200 μL del espacio vacío (headspace) y se inyectan al cromatógrafo. Los datos de área bajo la curva determinados en el cromatógrafo y concentración conocida añadida en el bulbo se ajustaron por medio de una línea recta.

Anexo B.1. Curva de calibración hexano

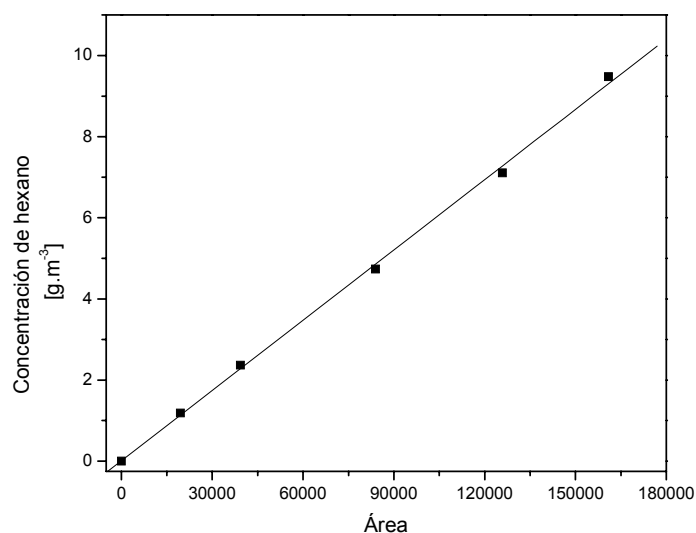


Figura B.1. Curva de calibración de hexano (GC). $y=0.010+5.775 \times 10^{-5}X$. $R^2=0.999$.

Anexo B.2. Curva de calibración pentano

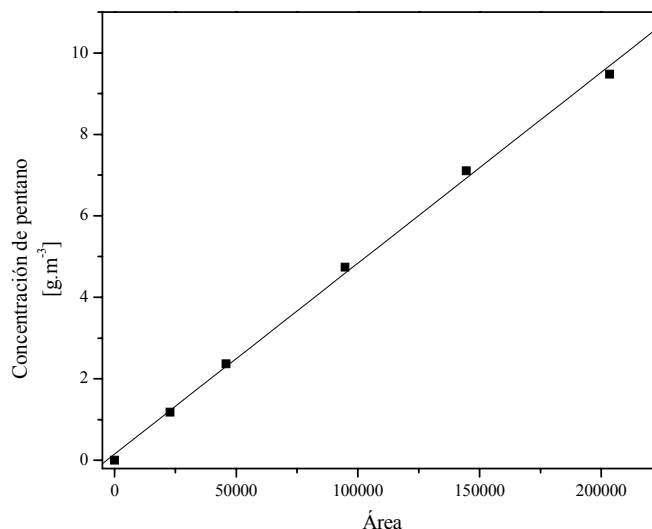


Figura B.2. Curva de calibración de pentano (GC). $y=0.152+4.686 \times 10^{-5}X$. $R^2=0.999$.

Anexo B.3. Curva de calibración para dióxido de carbono

El analizador infrarrojo (3400 analizador de gas; Instrumentos analíticos California, USA) no dispersivo contiene una bomba la cual introduce la muestra a la celda de medición. Un rayo de energía infrarroja pasa a través de la celda de muestreo y es selectivamente atenuado por la cantidad de CO₂ presente en la muestra. El resto de la energía no absorbida pasa entonces hacia una cámara que contiene un detector de microflujos con capacidad para medir la concentración de CO₂ basándose en la absorción infrarroja. El tiempo de respuesta es aproximadamente de 10 segundos y la velocidad de bombeo de la muestra de 1 L.min⁻¹. La cantidad de dióxido de carbono producido se calcula por la siguiente ecuación:

$$CO_2[g.m^{-3}.h^{-1}] = \frac{(ppm_{CO_2sal} - ppm_{CO_2amb}) \times P_{atm} \times Q \times XPM_{CO_2}}{V_{reactor} \times R \times T} \quad (B.1)$$

El equipo se calibra (cada semana) mediante el suministro de una corriente de nitrógeno a "zero" y con un estándar de CO₂ de 2000 ppm a una lectura de 100%.

Anexo B.4. Curva de calibración para CI y COT

El Carbono inorgánico y Carbono orgánico total, se cuantificaron mediante un analizador de carbono total (TOC-5000A, Shimadzu). El equipo analiza por separado el contenido de carbono total (CT) y el carbono inorgánico (CI). El contenido de carbono orgánico se obtiene mediante la diferencia entre estas dos mediciones. La muestra en la que se analiza el CT, es acarreada por un flujo de aire extrapuro ($150 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) a una cámara de combustión que opera a 680°C , aquí la muestra es oxidada a CO_2 y transportada a un recipiente de reacción de carbono inorgánico. Posteriormente es enfriado, secado, pasado por un depurador de halógenos y finalmente analizado mediante un detector de infrarrojo. El área del CO_2 detectado es proporcional a la concentración de carbono en la muestra. La muestra en la que se cuantifica el CI, pasa al recipiente de reacción de carbono inorgánico, donde sólo el componente inorgánico es transformado a CO_2 , este es detectado por el analizador de infrarrojo. El CO_2 detectado es convertido a un pico cuya área es proporcional a la concentración de carbono en la muestra. Se requiere la construcción de dos curvas de calibración, una para el carbono total y otra para el inorgánico. La de CI se hizo a partir de una solución de 1000 ppm de bicarbonato y carbonato de sodio, mientras que la de CT (1000 ppm), se hizo con biftalato de sodio (Shimadzu Co.). El analizador genera la regresión lineal para cada curva de calibración.

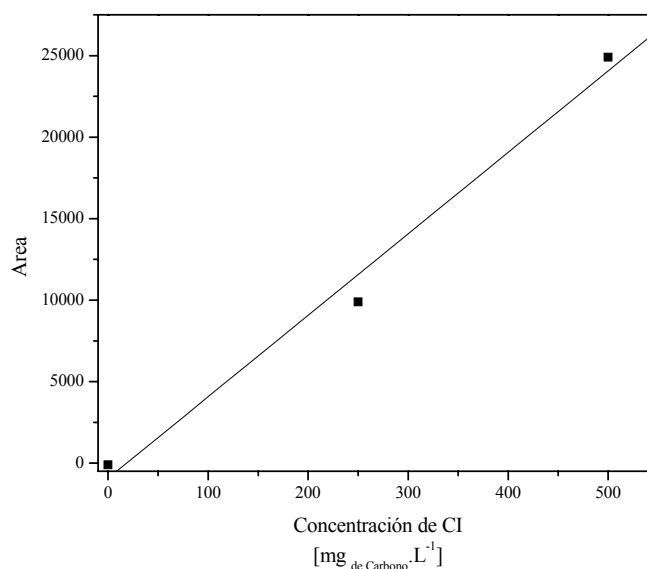


Figura B.3. Curva de calibración para la medición de Carbono orgánico total. $Y = -933.33 + 50X$. $R^2 = 0.993$.

Anexo B.5. Cálculos para la producción de CO_2 y consumo de O_2

Se utilizó un estándar de composición: CO_2 , 9.98%; O_2 , 21% y N_2 , 69.02% (el N_2 funciona como estándar interno). Se inyectó un volumen de 250 μL del estándar varias veces en el cromatógrafo de gases de conductividad térmica. Las áreas de oxígeno A_{O_2} , de nitrógeno A_{N_2} , de dióxido de carbono, A_{CO_2} y del aire, A_{aire} se relacionaron de acuerdo con las siguientes expresiones, para calcular los porcentajes de CO_2 y oxígeno en las muestras.

$$\%O_2 = \frac{A_{O_2}}{A_{N_2}} \quad \%CO_2 = \frac{A_{CO_2}}{A_{N_2}} \frac{(A_{N_2} + A_{O_2})}{A_{aire}} \quad (B.2)$$

Los valores de 80.05 y 75.34 fueron obtenidos de la calibración. Los porcentajes obtenidos con estas relaciones fueron convertidos a concentración ($g \cdot m^{-3}$) utilizando la ley de gases ideales.

Anexo B.6. Curvas de calibración para subproductos

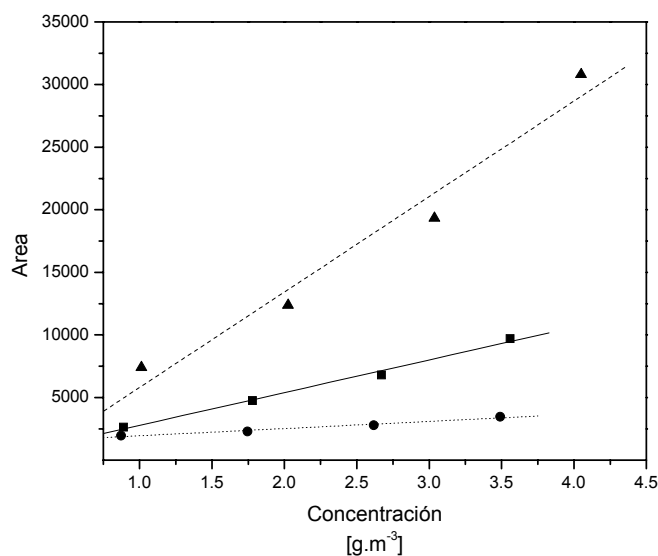


Figura B.4. Curva de calibración hexanol (■) $y=162+2615.2X$, $R^2=0.996$; hexanal (●), $R^2=0.989$ $y=1378+571.8X$; ácido hexanoico (▲), $r^2=0.982$ $y=-1820.5+7624.3X$.

Anexo B.7. Modelo Gompertz

El modelo sigmoideal Gompertz es utilizado en biología, botánica, zoología y ecología para describir el crecimiento de plantas, árboles, microorganismos, animales y seres humanos cuyo comportamiento se caracteriza por curvas en forma en "S", es decir, que incrementan su tasa de cambio monótonamente a partir de un punto fijo hasta alcanzar un punto de inflexión después del cual la tasa de cambio decrece hasta aproximarse asintóticamente a un valor final. Otra característica es que no son simétricas con respecto a su punto de inflexión (Ratkowsky, 1983).

$$Sc = A \cdot e^{(-B \cdot e^{-Kt})} \quad (B.3)$$

Donde, Sc y t son las variables y A, B y K son los parámetros del modelo.

Si obtenemos la derivada de la ec. B.3:

$$\frac{dSc}{dt} = \underline{A} \cdot B \cdot K \cdot \underline{e^{-B \cdot e^{-Kt}}} \cdot e^{-Kt} \quad (\text{B.4})$$

Si despejamos de la ec.B.3 el término $-Be^{-Kt}$ obtenemos:

$$-B \cdot e^{-Kt} = \ln\left(\frac{Sc}{A}\right) \quad (\text{B.5})$$

Por lo tanto la tasa de cambio de Sc puede ser expresada como:

$$\frac{dSc}{dt} = Sc \cdot K \cdot \ln\left(\frac{Sc}{A}\right) \quad (\text{B.6})$$

La segunda derivada de la ec.B.3 sería:

$$\frac{d^2Sc}{dt^2} = -A \cdot B \cdot K^2 \cdot e^{-Be^{-Kt}} + A \cdot B^2 \cdot K^2 \cdot e^{-Kt} \cdot e^{-Be^{-Kt}} = -K \frac{dSc}{dt} + B \cdot K \cdot e^{-Kt} \frac{dSc}{dt} \quad (\text{B.7})$$

$$\frac{d^2Sc}{dt^2} = -K \left(1 + \ln\left(\frac{Sc}{A}\right)\right) \frac{dSc}{dt} \quad (\text{B.8})$$

En el punto de inflexión dSc/dt es cero y por lo tanto Sc se expresa por:

$$Sc = e^{-1} \cdot A \quad (\text{B.9})$$

Si evaluamos la ec.B.6 por medio de la ec.B.8 obtenemos la máxima tasa de consumo (producción):

$$V_{\max} = \left. \frac{dSc}{dt} \right|_{Sc=e^{-1} \cdot A} = A \cdot K \cdot \frac{\ln e}{e} = 0.368 \cdot A \cdot K \quad (\text{B.10})$$

En este estudio se utiliza como una herramienta matemática el modelo Gompertz para ajustar los datos experimentales de la producción de CO_2 y el consumo de substrato (hexano o pentano) a fin de obtener los parámetros del modelo **A** y **K**. Los cuáles permitirán predecir las velocidades de consumo de hexano o producción máxima de CO_2 .

En la ec. B.3., **t**: es el tiempo, **Sc**: es la concentración de substrato consumida ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$), la cuál esta dada por la diferencia de concentraciones entre el $t=0$ y $t=t$. **A** es la

máxima concentración consumida o producida, cuando $t \rightarrow \alpha$ el valor de **A** es igual a la concentración inicial de sustrato ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) o la concentración final de CO_2 . **B**: es un parámetro asociado a las condiciones iniciales (adimensional). El parámetro **K** (h^{-1}) es la tasa de consumo de sustrato. V_{max} es la tasa máxima de consumo de sustrato o de producción de CO_2 . El ajuste matemático por medio de este modelo se realizó utilizando el programa computacional Origin v7.

Anexo B.8. Isotermas de adsorción de hexano sobre perlita

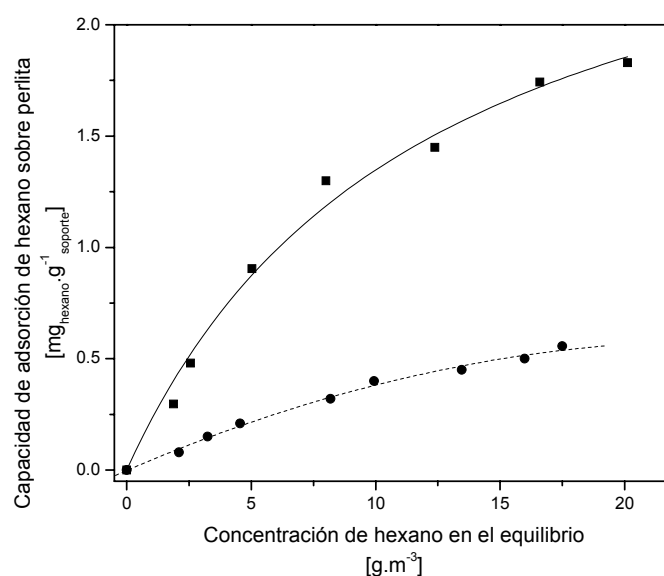


Figura B.5. Isotermas de adsorción de hexano sobre perlita húmeda (●) y seca (■).

Anexo B.9. Parámetros del modelo de Gompertz y porcentaje de mineralización para las cinéticas de los hongos crecidos con fuentes alternas de nutrientes.

Tabla B.9.1 Parámetros del modelo de Gompertz para *Cladosporium* y *Fusarium solani*, crecidos en fuentes alternas de nutrientes.

Experimento		A	B	K	V_{max} g.m ⁻³ .h ⁻¹	Mineralización, (%*)
Cladosporium	Glicerol	16.77	46.10	0.02	0.154	84.5
	E. Malta	25.08	93.56	0.01	0.120	99.7
Cladosporium sp.	E. Levadura	2.69	17.34	0.06	0.064	--
	YNB	2.51	101.63	0.19	0.018	84.9
	Glucosa	1.08	22.76	0.06	0.024	--
Fusarium	Glicerol	1.95	0.964	3.31	2.50	--
	E. Malta	19.27	58.19	0.02	0.137	91.7
Fusarium solani.	E. Levadura	1.39	0.692	4.14	2.120	--
	YNB	4.63	117.28	0.01	0.016	77.2
	Glucosa	0.90	1.24	2.39	0.791	--

*Porcentajes calculados asumiendo mineralización completa de hexano y restando la respiración endógena.(--) Mineralización mayor al 100%.

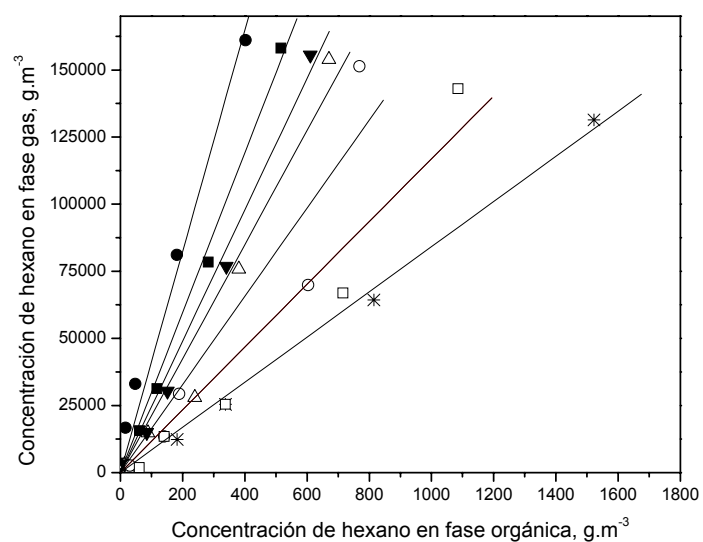
Anexo B.10. Gráficas obtenidas para los experimentos de toxicidad, biodegradabilidad y pruebas de partición de los solventes utilizados.

Figura B.6. Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente de partición de hexano en fases orgánicas m_H^{org} (C_H^g / C_H^{org}). Para aceite de silicona 0.0034 (■); tetradecano 0.0024 (●); hexadecano 0.0047 (Δ); undecano 0.0041 (▼); dietil-sebacato 0.0119 (*); undecanona 0.0061 (○); dodecano 0.0086 (□).

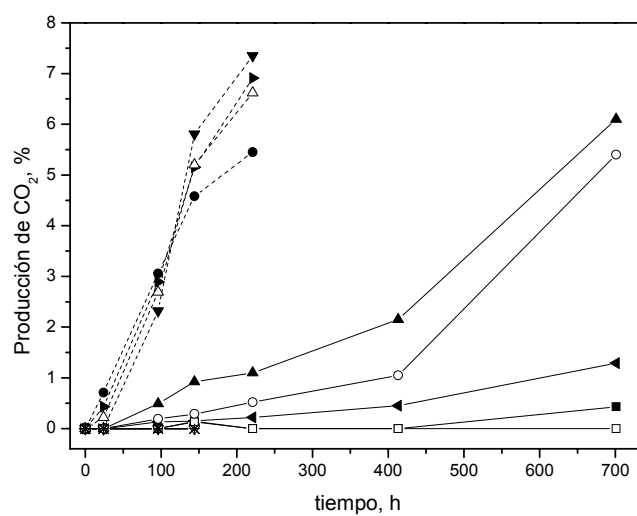


Figura B.7. Pruebas de biodegradabilidad y toxicidad. Aceite de silicona (■); Solución A+ aceite de silicona (●); hexadecano (▲); solución A+hexadecano (▼); tetradecano (◀); Solución A+ tetradecano (▶); Respiración endógena (□); undecano (○); Solución A+undecano (Δ); Solución A+dietilsebacato (▽); dietil-sebacato (+); Solución A+undecanona (x); undecanona (+); Solución A+dodecanol (--); decanol (l).

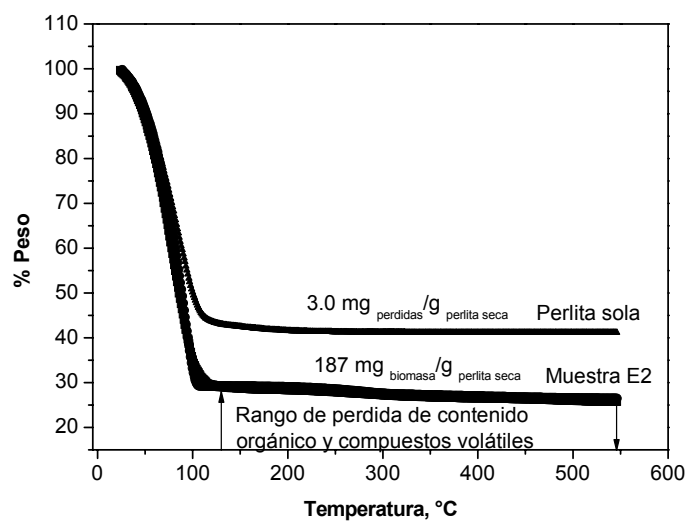
Anexo B.11. Análisis cuantitativo de la biomasa por análisis termogravimétrico

Figura B.8. Pérdidas del contenido orgánico para muestras de perlita sola y muestra del biofiltro E2.

Anexo C. Artículos y presentaciones en congresos como resultado de esta tesis

1.Arriaga S, Revah S. 2005. Improving hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter. *Biotechnol. Bioeng* 90: 107-115.

2.Arriaga S, Revah S. 2005. Removal of n-hexane by *Fusarium solani* with a gas phase bioreactor. *J. Ind. Microbiol. Biot.* En línea. DOI: 10.1007/s10295-005-0247-9.

3.Arriaga S, Muñoz R, Hernández S, Guieysse B, Revah S. 2005. Gaseous hexane biodegradation by *Fusarium solani* in two liquid phase packed-bed and stirred tank bioreactors. Submitted to *Environmental Science and Technology*.

4.Arriaga S, Muñoz R, Hernández S, Guieysse B, Revah S. 2005. Treatment of n-hexane in a fungal packed bed and stirred tank bioreactors containing two phases. *Biotechniques for Air Pollution Congress*. 5-7 October 2005. La Coruña Spain. Proceedings. Aceptado para presentación oral.

5.Arriaga S, Hernández S, Revah S. 2005. Efecto del uso de aceite de silicona en la degradación de hexano en un reactor fúngico de lecho empacado. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 18-23 Septiembre, Mérida, Yucatán. Aceptado para presentación oral.

6.Arriaga S, Revah S. 2004. Biodegradation of hexane vapors by a fungal consortium. *Air & Waste Management Association 97th Annual Conference & Exhibition*, June 22-25, Indianapolis, Indiana. Proceedings. Aceptado para presentación oral.

7.Arriaga S, Revah S. 2004. Removal of n-alkanes by *Fusarium* sp. using a gas phase bioreactor. 7th Bienal ISEB Symposium, June 18-21, Chicago, Illinois. Presentación oral.

8.Arriaga S, Aizpuru A, Pierre C, Revah S. 2003. Treatment of hexane vapors by biofiltration: comparison between bacterial and fungal consortium. 10th National Symposium of Biotechnology and Bioengineering, September 8-12, Puerto Vallarta, Jalisco. Presentación oral.

9.Arriaga S, Pierre C, Revah S. 2003. Treatment of hexane vapors by biofiltration: comparison between bacterial and fungal consortium. 7th Latinamerican course of Biotechnology and 38th International Course of Biochemical Engineering. October 12-17, Valparaíso, Chile. Poster.

10.García-Peña I, Arriaga S, López A, Hernandez S, Revah S. 2003. Biofiltration of hydrophobic compounds by fungal strains. In Situ and On-Site Bioremediation Symposium. June 2-5, Orlando, Florida. Proceedings. Poster.