



UNIVERSIDAD DEL MAR

Campus Puerto Ángel

**“TRATAMIENTO DE VAPORES DE METANOL EN UN BIOFILTRO FÚNGICO DE
Fusarium solani EMPACADO CON ANILLOS DE CERÁMICA Y PERLITA”**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

L.C.A. Alexandra Sánchez Velásquez

Director

Dr. Aitor Aizpuru

Puerto Ángel, Oaxaca 2023

DEDICATORIA

A mí

AGRADECIMIENTOS

En este espacio quiero expresar mis agradecimientos a: el Consejo Nacional de Humanidades y Ciencias Tecnológicas (CONAHCYT) por otorgarme los recursos financieros para la realización de este posgrado.

Al Dr. Aitor Aizpuru, quien además de ser un gran profesor, fue el guía para llevar a cabo esta investigación. Sin su paciencia, dedicación, compromiso y sentido del humor, este proceso no hubiera sido tan grato; gracias por la orientación.

A mi comité tutorial, la Dra. Susana García y la M.C. Belem Espinosa, también les extiendo mi gratitud, por el tiempo empleado al seguimiento de este escrito, por las correcciones y consejos que permitieron que este trabajo mejorara.

A la Universidad del Mar por proporcionarme las instalaciones adecuadas para mi desarrollo profesional, así como por tener a profesores de calidad quienes también fueron partícipes de mi desarrollo académico.

A mi esposo Omar López, por ser mi amigo y compañero de aventuras. Sin ti, el impulso para tomar este rumbo de mi vida no hubiera sido posible; por compartirme de tu conocimiento y experiencia; gracias también por motivarme y apoyarme en mis demás actividades extracurriculares, por acompañarme a mis partidos. Así mismo, a mi mamá y mis hermanas por mantenerse siempre al pendiente de mí, por animarme y cuidarme a distancia.

A mi gran equipo de Básquet (Getze, Lili, Xhuna, Fati y Osva); gracias por aceptarme en su grupo y por compartir sus triunfos y derrotas conmigo. Extrañaré compartir la cancha a su lado.

Y por supuesto, a mis compañeros de laboratorio (Laura, Alejandro, Juanito y Jorge), que más que compañeros llegamos a formar un lazo de amistad y cariño; ustedes son la razón por la cual la vida fue más agradable. Gracias por todos esos días llenos de cafeína, pan y buenas charlas, los extrañaré mucho ♥.

A todos,

Gracias

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de una cepa fúngica, *Fusarium solani*, para remover vapores de metanol (MeOH), en un sistema de biofiltración. El biofiltro fue operado durante 192 días englobados en seis fases, cada una diferenciada por alguna modificación en la carga de entrada (IL), el tiempo de retención en el lecho vacío (TRLV), el flujo del gas (Q) y/o medio mineral (MM) probado. Además se realizaron dos pruebas de robustez, la primera fue incrementando drásticamente la IL hasta $263.1 \pm 22 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ alcanzando así la CE máxima obtenida durante todo el experimento de $222.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. La segunda prueba fue mantener al sistema sin riego durante tres días consecutivos, teniendo fuertes afectaciones en la CE.

El uso de anillos de cerámica permitió una baja caída de presión, debido a su buena resistencia mecánica y alto grado de vacío. La baja caída de presión fue constante en todas las fases, aun cuando se realizó una mezcla de empaques, añadiendo perlita al biofiltro. También es posible, que la presencia de moscas haya contribuido a mantener limitado el crecimiento fúngico.

La fuente de nitrógeno y su concentración en el MM también fue un factor importante. Se demostró que la CE mejoró al emplear una fuente más disponible para los hongos como el NH_4^+ (amonio) en lugar de NO_3^- (nitratos).

Finalmente, con la cuantificación de CO_2 y el cálculo de la mineralización, se probó que existió una degradación importante del contaminante.

Palabras clave: *Fusarium solani*, metanol, anillos de cerámica, perlita, amonio, nitratos.

ACRÓNIMOS

ε	Espacio vacío
$\rho_{aparente}$	Densidad aparente (g L^{-1})
ρ_{real}	Densidad real (g L^{-1})
AC	Anillos de cerámica
ATP	Adenosín trifosfato
CE	Capacidad de eliminación ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
Ce	Concentración de entrada (g m^{-3})
CEBB	Capacidad de eliminación basada en biomasa ($\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
CI	Carbono inorgánico
CO	Carbono orgánico
COT	Carbono orgánico total
COVs	Compuestos orgánicos volátiles
CRA	Capacidad de retención de agua (%)
EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
ER	Eficiencia de remoción (%)
Euc-NR	Nitrato reductasa asimilatoria eucariota
FID	Detector de ionización de llama (siglas en inglés)
IL	Carga de entrada ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
MeOH	Metanol
MM	Medio mineral (MM1, MM2, MM3; se emplearon 3 medios)
NiR	Nitrito reductasa
NRasa	Nitrato reductasa
NOM	Norma oficial mexicana

NO _x	Óxidos de nitrógeno
NRasa	Nitrato reductasa
PCO ₂	Producción de dióxido de carbono (g m ⁻³ h ⁻¹)
Q	Flujo de aire (L min ⁻¹)
RCF	Fuerza centrífuga relativa (siglas en inglés)
SO _x	Óxidos de azufre
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
TCD	Detector de conductividad térmica (siglas en inglés)
TRLV	Tiempo de retención en el lecho vacío (min)

ÍNDICE

RESUMEN	IV
ACRÓNIMOS	V
I. ÍNDICE DE TABLAS	X
II. ÍNDICE DE FIGURAS	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Compuestos orgánicos volátiles	1
1.2. Metanol.....	2
1.3. Tratamientos de COVs	4
1.3.1. Tratamiento fisicoquímico	5
1.3.2. Tratamiento biológico	6
1.3.2.1. Biolavador.....	6
1.3.2.2. Biofiltro de lecho escurrido	7
1.3.2.3. Biofiltro de lecho fijo.....	7
1.4. Microorganismos en biofiltros	8
1.4.1. <i>Fusarium solani</i>	9
1.5. Biofiltración fúngica.....	9
1.5.1. Desventajas.....	9
1.5.2. Ventajas	10
2. ANTECEDENTES	11
2.1. Biofiltración de metanol	11
2.2. <i>Fusarium solani</i> en biofiltración	12
3. OBJETIVOS	13
3.1. Objetivo general	13
3.2. Objetivos específicos.....	13

4. JUSTIFICACIÓN	14
5. HIPÓTESIS	14
6. METODOLOGÍA	15
6.1. Activación, conservación y reproducción de la cepa fúngica de <i>Fusarium solani</i>	15
6.2. Inoculación	15
6.3. Soportes inorgánicos para la inmovilización de microorganismos	16
6.3.1. Densidad aparente	16
6.3.2. Espacio vacío (ϵ).....	16
6.3.3. Densidad real.....	17
6.3.4. Capacidad de retención de agua.....	17
6.4. Características del biofiltro.....	17
6.5. Medio mineral	19
6.6. Mediciones analíticas en el biofiltro	20
6.6.1. Cuantificación de la fase gaseosa.....	20
6.6.1.1. Cuantificación de metanol	20
6.6.1.2. Cuantificación de CO ₂	21
6.6.2. Soporte microbiano	21
6.6.2.1. Cuantificación de humedad	21
6.6.2.2. Cuantificación de biomasa.....	22
6.6.3. Análisis de pH y cuantificación de materia orgánica en lixiviados	22
6.7. Condiciones operacionales del biofiltro	22
6.8. Parámetros de caracterización y desempeño del biofiltro	25
6.8.1. Eficiencia de remoción.....	26
6.8.2. Carga y capacidad de eliminación.....	26

6.8.3.	Producción de CO ₂ (PCO ₂).....	27
6.8.4.	Mineralización y balance de carbono.....	27
6.9.	Análisis estadístico	28
7.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	29
7.1.	Soporte microbiano	29
7.2.	Cepa fúngica.....	30
7.3.	Capacidad de eliminación del biofiltro y eficiencia por módulos.....	31
7.3.1.	Carga aplicada y capacidad de eliminación del biofiltro	31
7.3.1.1.	Importancia del nitrógeno en el medio mineral	38
7.3.2.	Eficiencia de remoción global y por módulos.....	44
7.4.	Presencia de moscas	47
7.4.1.	Descripción de las especies de moscas	48
7.5.	Producción de CO ₂ y mineralización.....	52
7.6.	Contenido de biomasa, humedad y caída de presión en el lecho filtrante....	57
7.6.1.	Capacidad de eliminación basada en biomasa (CEBB)	63
7.7.	Análisis de lixiviados	64
7.8.	Balance de carbono	72
8.	CONCLUSIONES	75
9.	RECOMENDACIONES.	77
10.	REFERENCIAS	78

I. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos fisicoquímicos de compuestos orgánicos volátiles	5
Tabla 2. Composición de los tipos de medio mineral.	19
Tabla 3. Condiciones operacionales del biofiltro.....	23
Tabla 4. Condiciones de riego del biofiltro con medio mineral.....	25
Tabla 5. Características del soporte microbiano	29
Tabla 6. Balance de carbono en diferentes días de operación del biofiltro.....	72

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacciones fotoquímicas del metanol para producir ozono	3
Figura 2. Porcentajes de emisión de vapores de metanol por fuentes fijas industriales	4
Figura 3. Esquema del biofiltro.....	18
Figura 4. Cultivo de <i>Fusarium solani</i>	31
Figura 5. Carga de entrada promedio y desviación estándar por fase operatoria.	32
Figura 6. Evolución de la carga de entrada (IL) y la capacidad de eliminación (CE)	33
Figura 7. Capacidad de eliminación (CE) promedio al estado estacionario	43
Figura 8. Eficiencia de remoción en la mitad y salida del biofiltro.	45
Figura 9. Etapas de crecimiento de la mosca A	49
Figura 10. Etapas de crecimiento de la mosca B.	50
Figura 11. Evolución de la producción de CO ₂ (P _{CO2}) y mineralización de metanol.	53
Figura 12. a) Humedad y b) biomasa en el módulo superior e inferior del biofiltro ..	58
Figura 13. a) Humedad y b) biomasa total contenida por módulo y tipo de soporte ..	61
Figura 14. Análisis del lixiviado semanal y del recirculado del biofiltro	65
Figura 15. Destino relativo del carbono eliminado.....	74

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica puede ser de origen natural o provocada por actividades humanas. Los principales (pero no los únicos) contaminantes gaseosos del aire son el ozono (O₃), los óxidos de azufre (SO_x) y de nitrógeno (NO_x), monóxido de carbono (CO) y Compuestos Orgánicos Volátiles (Cárdenas *et al.* 2003).

Los Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) son particulares en el sentido que pueden provocar una toxicidad directa e indirecta a la salud humana. Los daños directos producen problemas respiratorios, irritación de ojos, garganta, mareos y pueden provocar efectos psiquiátricos (irritabilidad, dificultad de concentración, etc.) a largo plazo, así como daños renales, hepáticos o al sistema nervioso central. También cabe destacar que algunos COVs se han reportado como potenciales cancerígenos. A nivel de daños indirectos, los COVs pueden combinarse con los óxidos de nitrógeno, en presencia de luz solar, generando smog fotoquímico, cuyo principal componente es el ozono (Gobierno de España, 2021).

Ante este tipo de contaminantes se han desarrollado tecnologías de remoción que se emplean para disminuir o tratar las emisiones de los COVs. Dentro de la amplia gama de tratamientos los métodos biológicos han sobresalido debido a que pueden ser utilizados para una amplia gama de contaminantes (Ramírez-López, *et al.* 2010). En la presente investigación será evaluado el desempeño del hongo *Fusarium solani* para tratar un COV como el metanol.

1.1. Compuestos orgánicos volátiles

Para la Directiva de la Unión Europea (DIRECTIVE 2004/42/CE) un compuesto orgánico volátil es aquel “compuesto orgánico que tiene un punto de ebullición inicial, igual o menor a 250 °C medidos a una presión estándar de 101.3 kPa”.

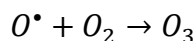
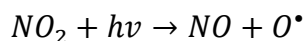
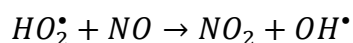
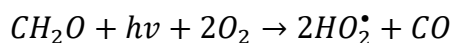
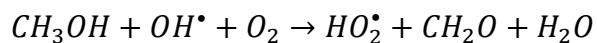
Por otro lado, dentro de la normatividad mexicana, los COVs se definen como “cualquier compuesto químico orgánico volátil que participa en reacciones fotoquímicas en la atmósfera y que con los óxidos de nitrógeno en presencia del calor

y la luz solar forman ozono” (NOM-123-SEMARNAT-1998; NOM-121-SEMARNAT-2000).

Ciertos COVs se generan de manera natural. La fuente principal de estas emisiones proviene del follaje de la vegetación terrestre (árboles, arbustos, pastos, helechos y musgos), mientras que las fuentes de menor emisión son los océanos y el suelo. Los árboles constituyen la mayor parte de las emisiones biogénicas de los COVs comprendiendo cerca del 75 % del total, liberándose en la atmósfera en forma de isoprenos e isoterpenos. Algunos isoprenos son emitidos por las hojas caducas de los árboles, mientras que los isoterpenos son dominantes en los bosques coníferos (Guenther *et al.* 2006). Los COVs son también emitidos por fuentes industriales y por productos de uso cotidiano como aquellos empleados en interiores, pinturas, revestimientos, muebles, linóleo, etc. (Arulneyam y Swaminathan, 2003; Morales *et al.* 2017).

1.2. Metanol

El metanol (MeOH), de fórmula CH_3OH , tiene las siguientes propiedades físicas y químicas: peso molar de 32 g mol^{-1} , temperatura de ebullición a 1 atm a $65 \text{ }^\circ\text{C}$, densidad de 0.787 kg L^{-1} (agua=1), presión de vapor de 128 hPa (a $20 \text{ }^\circ\text{C}$), capacidad calorífica de $42.59 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, además es altamente soluble en agua (Asinger, 1986; Ott *et al.* 2012; Afeefy, 2021). Por tal motivo y dadas las definiciones de COV antes mencionadas, el metanol es un COV puesto que su punto de ebullición es inferior a los 250°C a una presión estándar, como lo señala la Directiva de la Unión Europea. Además, las reacciones químicas que se producen en la atmósfera son acordes a la definición de las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-123-SEMARNAT-1998 y NOM-121-SEMARNAT-2000). La figura 1 muestra la serie de reacciones de oxidación y fotólisis que se producen a partir del MeOH para la formación de O_3 (Tie *et al.* 2003).



**Figura 1. Reacciones fotoquímicas del metanol para producir ozono
(Tie *et al.*, 2003)**

Según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés) en el 2023, el metanol fue el COV más emitido a la atmósfera en ese país, con cerca de 43 823.06 toneladas al año, cantidad que abarca tanto emisiones antropogénicas móviles como fijas. De ese total, el 61.2 % de las emisiones son causadas por fuentes fijas.

Las fuentes fijas son más fáciles de tratar por liberar emisiones siempre focalizadas en un mismo lugar, en el cual se puede instalar un sistema de tratamiento. Dentro de las industrias involucradas en las emisiones puntuales de vapores de metanol, destaca la industria papelera con emisiones aproximadas de 20 636.87 toneladas anuales, seguido de las industrias química y los productos de madera con 2 427.33 y 2 364.07 toneladas respectivamente; otras industrias como textiles, minería, equipos de transporte, residuos peligrosos, maquinaria, imprenta, etc., también están involucradas, aunque en menor medida. (EPA, 2023). El porcentaje equivalente a cada industria relacionada con las emisiones de vapor está representado en la Figura 2.

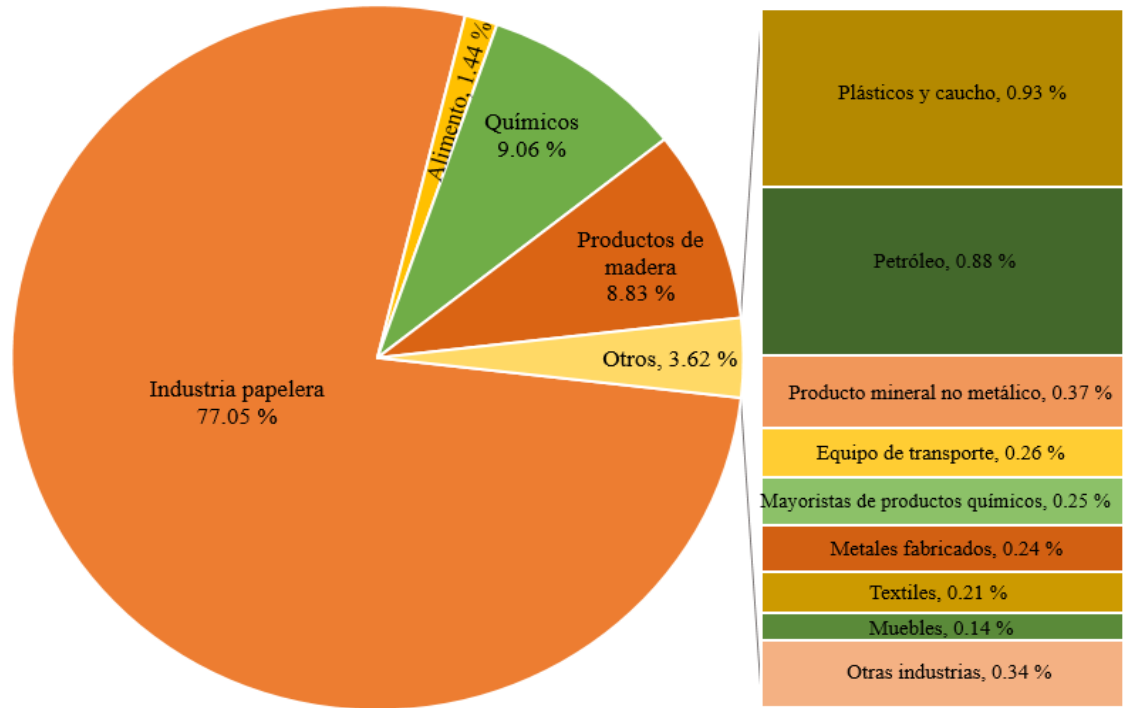


Figura 2. Porcentajes de emisión de vapores de metanol por fuentes fijas industriales) (EPA, 2023)

Nota: Otras industrias abarca computadoras/equipos electrónicos, fabricación miscelánea, terminales de granel de petróleo, residuos peligrosos, bebidas, metales primarios, producto textil, impresión, maquinaria, utilidades eléctricas y minería de metales. Todas las anteriores con aportación inferior al 0.1 % de las emisiones de metanol.

1.3. Tratamientos de COVs

Los métodos para el control de COVs se pueden clasificar en fisicoquímicos y biológicos. La elección del método de control de la contaminación debe tomar en cuenta aspectos como las características del contaminante, de la corriente contaminada, la eficiencia de remoción requerida, posibilidad de recuperar y reutilizar el contaminante y los requerimientos de potencia, de suministros y de mantenimiento (Cárdenas *et al.* 2003).

1.3.1. Tratamiento fisicoquímico

Existen algunos métodos fisicoquímicos empleados para el tratamiento de COVs como lo son la adsorción, absorción, incineración térmica u oxidación catalítica, los cuales se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos fisicoquímicos de compuestos orgánicos volátiles
(Cárdenas *et al.* 2003)

Tratamiento	Método
Incineración	Proceso en el cual el gas contaminado es capturado por un sistema industrial de ventilación, precalentado, mezclado y oxidado a altas temperaturas que da como resultado principalmente CO ₂ y vapor de agua. Puede existir incineración térmica o catalítica.
Absorción	Método de transferencia de masa donde los COVs contenidos en el flujo de aire son impulsados a un líquido absorbente. El absorbente empleado dependerá de las características del COV a remover.
Adsorción	Proceso donde las moléculas de COVs son transferidas de la fase gaseosa a la superficie sólida del adsorbente.
Condensación	La remoción del contaminante se lleva a cabo por el cambio de fase gas a líquido, por aumento de presión o enfriamiento.

A pesar de la amplia gama de tratamientos fisicoquímicos para los COVs, éstos generan contaminación secundaria o subproductos no deseados como son: los productos de combustión y los COVs no tratados que son transferidos a otra fase. Además, la inversión, operación y mantenimiento requieren grandes costos iniciales (Khan *et al.* 2000; Cárdenas *et al.* 2003), por lo que, de manera alternativa, se puede optar por el empleo de métodos biológicos para el tratamiento de aire contaminado.

1.3.2. Tratamiento biológico

Los procesos biológicos son normalmente usados para el tratamiento de grandes volúmenes de aire (rango de 100 a 100 000 m³ h⁻¹), con bajas concentraciones de COVs. Los costos operativos son bajos en comparación con los tratamientos fisicoquímicos. Una ventaja más es que se producen pocos desechos secundarios, contrariamente a lo que ocurre en procesos fisicoquímicos (Mudliar *et al.*, 2010; Detchanamurthy y Gostomsky, 2012). El contaminante es empleado por los microorganismos para convertirlo en sustancias menos peligrosas como el CO₂, H₂O y biomasa (Ferdowsi *et al.*, 2017).

Los tratamientos biológicos se consideran como tecnologías verdes ya que no requieren un uso intensivo de energía, no emplean sustancias peligrosas para su operación ni requieren condiciones extremas de trabajo. Los sistemas que se emplean son los biolavadores, biofiltros de lecho escurrido y biofiltros de lecho fijo, éstos dependen de las condiciones proporcionadas para los microorganismos y del flujo de la fase líquida (Cárdenas *et al.* 2003).

1.3.2.1. Biolavador

Los biolavadores son sistemas idóneos para compuestos que son muy solubles en agua y en concentraciones inferiores a los 5 g m⁻³. Se caracterizan por tener dos componentes principales, el primero es una torre de absorción en donde se lleva a cabo la solubilización de los contaminantes, el segundo es un biorreactor en el cual los contaminantes son degradados por microorganismos en suspensión (Cabrera *et al.*, 2019).

La separación de los procesos de absorción y de biodegradación en dos reactores distintos permite tener un mejor control, pudiendo ajustar el flujo y el pH de la solución acuosa, evitando así la acumulación de productos dañinos para los microorganismos. Sin embargo, algunas desventajas se presentan como el requerimiento de dos equipos, que conlleva grandes costos de operación y mantenimiento y la generación de residuos como lodos (Cárdenas *et al.* 2003; Yuwono *et al.* 2004; Cabrera *et al.*, 2019).

1.3.2.2. Biofiltro de lecho escurrido

Este sistema biológico, al igual que el biolavador, es idóneo para compuestos solubles en agua y preferentemente para contaminantes con concentraciones inferiores a los 5 g m⁻³. En este tipo de biorreactor, no son necesarios dos equipos, y se realiza la absorción y la biodegradación en un solo lecho empacado que recibe continuamente una recirculación de medio mineral. La biopelícula se encuentra fijada en un material de empaque y está rodeada por una solución acuosa. Los contaminantes son primeramente absorbidos en la fase acuosa para después ser degradados por los microorganismos. Los biofiltros de lecho escurrido pueden presentar deficiencias como altos costos de inversión, operación y mantenimiento, el crecimiento excesivo de la biomasa puede provocar que el sistema se sature y que se requiera que el material de empaque sea reemplazado regularmente. Por otro lado, sus principales ventajas son similares a las descritas en el biolavador, ya que existe una recirculación de líquido que ayuda al apartamiento de los productos dañinos de reacción y el ajuste de pH ayuda a tener un mejor control del proceso biológico (Cárdenas *et al.* 2003; Yuwono *et al.* 2004).

1.3.2.3. Biofiltro de lecho fijo

Los biofiltros son reactores en los que una corriente de aire húmedo y contaminado atraviesa un lecho empacado húmedo donde se encuentra fija la película microbiana. Los gases contaminados son transportados desde la fase gaseosa hacia la fase acuosa donde está la biopelícula microbiana, tras lo cual ocurre la oxidación biológica de los COVs (Mudliar *et al.* 2010). La diferencia con el biofiltro de lecho escurrido es que no se proporciona una recirculación ininterrumpida de solución acuosa. Generalmente, la corriente del gas se humidifica antes de ingresar al biofiltro, y suele haber un riego intermitente de solución acuosa mineral para mantener el contenido de humedad de la biopelícula y aportar los nutrientes esenciales a la actividad microbiana.

Este sistema ha sido el sistema biológico más comúnmente empleado para el tratamiento de emisiones gaseosas de COVs (Cruz-García *et al.*, 2019). La efectividad dependerá del material de soporte por las características que pueda aportar (porosidad,

resistencia a la compactación, capacidad de retención de agua y la capacidad que tengan de albergar al microorganismo) (Cabrera *et al.*, 2019). Este tipo de biorreactor puede ser usado para tratar compuestos poco solubles en agua, dado que el contenido de agua en el empaque es mínimo. Sin embargo, se presentan algunas desventajas en este sistema, como lo es el poco o nulo control de las condiciones de reacción, ya que generalmente los microorganismos no son resistentes a un cambio radical en el flujo del gas (Cárdenas *et al.* 2003; Yuwono *et al.* 2004; Cabrera *et al.*, 2019). Otra limitante radica en que dado que la biodegradación se lleva a cabo en la fase acuosa, la velocidad de la transferencia de masa puede no ser la adecuada para la eliminación del contaminante (Ferdowsi *et al.*, 2017). Además, en estos sistemas puede ocurrir la obstrucción del empaque debido al exceso de biomasa, generando zonas muertas donde no pasa el aire y con ello caminos preferenciales, seguido por una disminución de la eficiencia y un deterioro del medio filtrante (Mudliar *et al.*, 2010; Detchanamurthy y Gostomsky, 2012).

A pesar de los inconvenientes, este sistema presenta ventajas como una alta superficie de contacto entre el gas y los microorganismos, el sistema de operación es sencillo, no requiere grandes costos de inversión y puede ser conveniente para operarse con intermitencia (Cárdenas *et al.* 2003; Cabrera *et al.*, 2019).

1.4. Microorganismos en biofiltros

En el proceso de biofiltración de los COVs se han encontrado levaduras, bacterias y hongos filamentosos. Aunque los microorganismos más investigados son las bacterias, los hongos también han adquirido un papel fundamental en el tratamiento de COVs al reportarse una capacidad de eliminación igual o mayor que las bacterias. Un biofiltro fúngico puede contribuir a obtener mejores tasas de degradación que aquellos sistemas que operan con bacterias (Revah *et al.* 2011; Detchanamurthy y Gostomsky, 2012). En particular, hongos como *Fusarium solani* (*F. solani*) han sido reportados en la degradación de COVs hidrófobos e hidrófilos (Morales *et al.* 2017; Vergara-Fernández *et al.* 2020).

1.4.1. *Fusarium solani*

Fusarium solani es un hongo filamentoso que comúnmente se encuentra en el suelo y en material vegetal en donde actúa como descomponedor. Está relacionado con enfermedades humanas, animales y vegetales. En los humanos se asocia con micosis invasiva en personas inmunocomprometidas o inmunodeprimidas, así como infecciones cutáneas. En la vegetación también es patógeno de plantas económicamente importantes para el sector agrícola como los guisantes, cucurbitáceas, papas, etc. (Gupta *et al.* 2000; Zhang *et al.* 2006).

A pesar de los efectos adversos a la salud humana y los daños ocasionados en la agricultura, *F. solani* ha sido objeto de diversas investigaciones, como el empleo de este hongo como potencial para la síntesis de nanopartículas de plata (Ingle *et al.*, 2009); para su uso en biorremediación de iones de plata y zinc (El Sayed y El-Sayed, 2020a; El Sayed y El-Sayed, 2020b) y en el tratamiento de compuestos hidrófobos (tolueno, n-hexano, n-pentano, etc.) mediante procesos de biofiltración (Arriaga y Revah, 2005; Morales *et al.* 2017, Vergara-Fernández *et al.* 2020).

1.5. Biofiltración fúngica

El empleo de hongos filamentosos en procesos de biofiltración provoca algunos inconvenientes en la presión dentro del sistema, pero también llega a ofrecer algunas ventajas para la eliminación de COVs. A continuación, se describen algunas desventajas y ventajas de la biofiltración fúngica.

1.5.1. Desventajas

Los inconvenientes que presenta la biofiltración fúngica son variados, sin embargo, destaca la caída de presión y crecimiento excesivo del micelio de los hongos. La caída de presión se presenta por la disminución del espacio libre dentro del biofiltro, originado por el taponamiento causado por los filamentos del hongo. En conjunto esto

provoca un decaimiento en la eficiencia de remoción del compuesto a tratar (Cheng *et al.* 2016; Lu *et al.*, 2019).

1.5.2. Ventajas

Los hongos poseen la característica de ser altamente resistentes ante condiciones extremas, como a) las variaciones de pH, pudiendo mantener su actividad en un rango ácido ($2 < \text{pH} < 7$). Cabe señalar que el pH de un biorreactor puede ser modificado por la misma actividad microbiana (Estrada *et al.* 2013); b) contenido de humedad, a diferencia de un biofiltro bacteriano, la actividad fúngica puede mantenerse aun cuando se presenta una disminución del contenido de agua; así se requiere menos control ante las posibles fallas en el control de humedad o si el sistema de riego presenta interferencias (Jiménez, 2020); y c) resulta muy útil para compuestos hidrófobos debido al aumento del área superficial por el crecimiento de micelio aéreo lo que favorece la transferencia del contaminante a la biomasa (Morales *et al.* 2017).

Dados los beneficios mencionados, se han realizado diversas investigaciones empleando cepas puras o en consorcios de hongos de *Fusarium solani*, (cepa fúngica de interés en esta investigación) para la remoción de contaminantes presentes en el aire.

1.6. Material de soporte

Los materiales de soporte dentro del biofiltro pueden ser orgánicos o inorgánicos, sin embargo, estos últimos se pueden caracterizar mejor durante la experimentación, es decir ofrecen la reducción del número de incógnitas operativas que comúnmente aparecen en la discusión del rendimiento de los biofiltros (Omil *et al.* 2008). Ante esto, los anillos de cerámica por su rugosidad y espacio poroso ofrecen una mayor área para la colonización y formación de biopelícula fúngica.

Otro de los parámetros a considerar en los materiales de soporte es la capacidad de retención de agua, la cual Prado *et al.* (2002) reportan que ésta actúa como reservorio de nutrientes para los microorganismos. La perlita ha sido ampliamente usada en la

propagación de plantas por su capacidad de retener humedad, lo que implica que la liberación del líquido sea lenta y gradual, además es un material inerte, de pH neutro y conseguirla implica bajos costos (Acosta B, 2020). Dadas las razones anteriores, la perlita es un material de soporte comúnmente usado en los procesos de biofiltración.

2. ANTECEDENTES

El metanol al ser el COV de mayor emisión por la actividad industrial, se ha convertido en un objeto de estudio actual para el tratamiento de aire contaminado con este compuesto. A continuación, se describen algunas investigaciones dedicadas al tratamiento de aire contaminado por este compuesto mediante procesos de biofiltración, en donde se evalúan tanto microorganismos como medios de soporte dentro del biofiltro.

2.1. Biofiltración de metanol

Omil *et al.* (2008) realizaron una investigación para tratar vapores de metanol en un reactor de biopelícula tubular seco, empleando anillos de cerámica como soporte de los microorganismos. Reportaron que los anillos de cerámica ofrecen un aporte sustancial para el crecimiento de la biopelícula y por lo tanto para la remoción del metanol, puesto que la experimentación la realizaron con y sin soporte. Además, cuantificaron una capacidad máxima de eliminación de metanol de $116.7 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($2.8 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) manteniendo un tiempo de retención en el lecho vacío de 43.5 s.

En el 2010, Ramírez-López *et al.*, evaluaron las cáscaras de cacahuate como medio de soporte dentro de un biofiltro para tratar vapores de MeOH. Demostraron que las cáscaras son adecuadas como medio de biofiltración obteniendo una eficiencia de remoción del 96 y 92 % para cargas de entrada de 125 y 250 $\text{g MeOH m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. El tiempo de retención en el lecho vacío fue de 19 segundos. Las

cascaras de cacahuete no recibieron un tratamiento o inoculación previa, y que al final del experimento, los nutrientes naturales de la cáscara disminuyeron cerca del 70 %.

Palomo-Briones *et al.* (2018) monitorearon el desempeño de una población microbiana de *Pichia pastoris* en una serie de 3 biofiltros para tratar vapores de metanol. Obtuvieron remociones en promedio de 300.7, 539.7 y 421.7 g m⁻³ h⁻¹ para el primero, segundo y tercer biofiltro, respectivamente, con un tiempo de retención de 60 segundos. La diferencia de remoción fue causada por la contaminación con microorganismos ajenos a la cepa original.

Guerrero *et al.* (2019) encontraron una remoción total de metanol en cargas de entrada de 263 g m⁻³ h⁻¹ y la máxima capacidad de eliminación del sistema se obtuvo a tiempos de residencia en lecho vacío de 90 segundos. En cuanto a formaldehído midieron una capacidad de eliminación (CE) máxima de 330 g m⁻³ h⁻¹. Todo lo anterior en un biofiltro de turba y perlita (como material de soporte) inoculado con *Pichia pastoris*.

En el mismo año Cruz-García *et al.* (2019) evaluaron la eficiencia de remoción de metanol mediante un biofiltro con inóculo proveniente de lodos activados con perlita como soporte del inóculo, obteniendo una capacidad máxima de eliminación de 342.8 g m⁻³ h⁻¹ en un tiempo de retención de 60 segundos. Posteriormente identificaron los microorganismos dentro del sistema encontrando diversidad de bacterias, levaduras y hongos. Los hongos fueron identificados como *Alternaria alternata*, *Talaromyces pinophilus* y *Fusarium solani*.

2.2. *Fusarium solani* en biofiltración

Morales *et al.* (2017) demostraron que el consorcio de *F. solani* y *Rhodococcus erythropolis* presentó mejor degradación de COVs hidrófobos como el benzo[α]pireno, tolueno y formaldehído en comparación de la operación de un biofiltro con una sola especie. En esta investigación se midió la hidrofobicidad superficial de los microorganismos y se reportó que *F. solani* aumenta la solubilidad de los compuestos hidrófobos debido a una proteína llamada hidrofobina.

En 2020, Vergara-Fernández *et al.* evaluaron a *F. solani* y un consorcio de bacterias metanótrofas (*Methylochromium* colección ATCC 33003 y *Methylocystis sp.* ATCC 4924) para la degradación de metano, así como el uso de la biomasa fúngica como potenciador de la biodisponibilidad del metano en la biopelícula de las bacterias. Encontraron que *F. solani* no solo promovió la transferencia de masa del metano a la biopelícula, sino que además contribuyó a la degradación del contaminante.

Jiménez D. (2020) evaluó el potencial de tres hongos para la degradación de vapores de metanol, mediante ensayos en lote, empleando perlita como soporte del inóculo y encontrando que la cepa fúngica de *F. solani* mantuvo una degradación de 11.5 mg MeOH g⁻¹ de soporte h⁻¹ (el experimento se realizó en microcosmos), además *F. solani* resistió a la concentración más alta de metanol a la que fue sometido (17.1 g m⁻³).

La mayoría de los estudios reportan mejoras en la remoción de COVs de naturaleza hidrófoba empleando consorcios de microorganismos que incluyen hongos. Por lo que también es interesante investigar el potencial de cepas fúngicas en el tratamiento de COVs de carácter hidrófobo, como el metanol.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar el desempeño de *Fusarium solani* en el bioproceso de remoción de metanol en un sistema continuo (biofiltro).

3.2. Objetivos específicos

- Hallar condiciones operativas (tiempo de retención en el lecho vacío, carga de metanol, flujo del gas) en las cuales el biofiltro presenta la mejor capacidad de eliminación.
- Determinar la influencia de factores como el pH y aporte nutrimental en la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción del contaminante.
- Estimar el destino del contaminante (CO₂, biomasa, solubilización).

4. JUSTIFICACIÓN

Cientos de productos que afectan nuestra vida diaria se originan a partir del metanol como un componente químico esencial. Los automóviles, camiones, autobuses, barcos, estufas, hornos, etc. utilizan cada vez más el metanol como combustible con bajo contenido de carbono y carbono neto neutro (Methanol Institute, 2021).

Por otro lado, el control de la calidad del aire es cada vez más investigado. Es por esto que se ha elegido al metanol como el contaminante a tratar, puesto que además de provocar daños a la salud, es el COV más emitido, específicamente en fuentes fijas con cerca del 63 % del total de emisiones de este contaminante.

Aunado a esto, las investigaciones que se han realizado empleando al hongo *Fusarium solani* son variadas y escasas, pero aun así este microorganismo ha demostrado la capacidad de degradar COVs, por lo que la presente investigación aportará información del comportamiento del hongo respecto a las concentraciones de metanol a las que se expondrá.

5. HIPÓTESIS

Fusarium solani fue encontrado entre un consorcio de microorganismos capaces de degradar metanol con una carga de entrada de $342.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Por lo que operar un reactor con condiciones iniciales similares para evaluar la actividad del hongo resulta útil para conocer su aporte como monocultivo. Es por esto que se espera que *F. solani* tenga la capacidad de remover cargas de entrada de metanol iguales o superiores a los $300 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

6. METODOLOGÍA

Los experimentos se realizaron en el laboratorio 2 de Electroquímica, laboratorio 6 de Instrumentación y laboratorio de Microbiología que se encuentran en el edificio del área de Ingeniería Ambiental en la Universidad del Mar, campus Puerto Ángel.

6.1. Activación, conservación y reproducción de la cepa fúngica de *Fusarium solani*.

F. solani se cultivó a partir de una cepa aislada previamente por Jiménez (2020) que se encontraba resguardada en el laboratorio de investigación de la Universidad del Mar, campus Puerto Ángel. El hongo fue activado y conservado en cajas Petri (en condiciones de esterilidad) en medio agar rosa de bengala con cloranfenicol (marca Merck). Este medio permitió el óptimo desarrollo del hongo e inhibió el crecimiento bacteriano no deseado. Posteriormente, se tomó una muestra del hongo y se añadió en matraces que contenían 200 mL de caldo nutritivo (marca BD Bioxon). El cultivo se mantuvo en una incubadora orbital (Prendo INO 650V-9) a una temperatura de 30°C con una agitación de 180 rpm durante una semana.

6.2. Inoculación

La biomasa obtenida en el cultivo se filtró con agua destilada esterilizada, con el fin de eliminar los residuos del caldo nutritivo para posteriormente inocular los anillos de cerámica en condiciones iniciales de esterilidad.

La inoculación se llevó a cabo bajo una campana de flujo laminar con mecheros Bunsen para mantener un ambiente estéril y disminuir el riesgo por contaminación cruzada. Las formaciones por agrupación del crecimiento del hongo en medio líquido fueron separadas lo más posible con ayuda de una espátula. El inóculo se mezcló homogéneamente con 2.4 L de anillos de cerámica de los cuales se destinó 1.2 L para cada módulo del biofiltro.

6.3. Soportes inorgánicos para la inmovilización de microorganismos

Durante las fases I, II, P, II-P y II-S (explicadas más adelante en el apartado 6.7), se emplearon anillos de cerámica (AC), marca BIPRO como soporte de *F. solani* puesto que poseen una superficie adecuada para el desarrollo y crecimiento del hongo y un alto espacio de vacío para prevenir caída de presión por desarrollo excesivo de biomasa dentro del lecho filtrante (Aizpuru *et al*, 2005). En la fase III se agregó perlita (Hydro-Environment) al biofiltro para aportar capacidad de retención de agua a los AC. En este caso se utilizó una relación v/v de 5:1 (AC: perlita). Se mantuvo el volumen de cada módulo (1.2 L), retirando AC y compensando el volumen removido con perlita.

Se determinó la densidad real y aparente, espacio vacío y la capacidad de retención de agua de cada soporte, como lo describe Cruz-García (2018).

6.3.1. Densidad aparente

La densidad aparente ($\rho_{aparente}$) expresada en g L^{-1} (Ecuación 1) es la relación de peso de soporte por unidad de volumen. Para la determinación se empleó una probeta de 250 mL conociendo el peso inicial y se señala en la Ecuación 1 como $P_{probeta}$ (g), posteriormente la probeta se llenó y pesó con el soporte ($P_{probeta+soporte}$, g) hasta que se obtuvo el volumen total del instrumento ($V_{probeta}$, mL).

$$\rho_{aparente} = \frac{P_{probeta+soporte} - P_{probeta}}{V_{probeta}} * 1000 \quad \text{Ecuación 1}$$

6.3.2. Espacio vacío (ϵ)

El grado de vacío (adimensional) relaciona el volumen de vacío presente en un volumen de soporte. Se calculó con base en el volumen de agua necesario para cubrir los espacios vacíos del soporte anteriormente introducido en una probeta (Ecuación 2). Este volumen de agua (mL) fue obtenido por pesado (g), recordando que estos valores son equivalentes por la densidad del agua (ρ_{agua} : 1 g mL^{-1}).

$$\varepsilon = \frac{\text{agua añadida}(g)}{\rho_{\text{agua}} * V_{\text{probeta}}} \quad \text{Ecuación 2}$$

6.3.3. Densidad real

La densidad real (ρ_{real}) expresada en g L⁻¹ corresponde a la densidad que poseen los materiales de soporte, sin contar los espacios vacíos. La ρ_{real} se calculó de la siguiente manera:

$$\rho_{\text{real}} = \frac{\rho_{\text{aparente}}}{1 - \varepsilon} \quad \text{Ecuación 3}$$

6.3.4. Capacidad de retención de agua

Para calcular el porcentaje de la capacidad de retención del agua (CRA, Ecuación 4) se saturó una cantidad de soporte con agua, se pesó y posteriormente, las muestras se sometieron a calor en una estufa hasta obtener un peso constante. Las muestras se mantuvieron aproximadamente 4 horas a una temperatura de 100°C.

$$\%CRA = \frac{P_{\text{soporte saturado}} - P_{\text{soporte seco}}}{P_{\text{soporte saturado}}} * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

6.4. Características del biofiltro

El biofiltro empleado fue con dimensiones de escala de laboratorio, descritas más adelante. Se generó aire contaminado con metanol, iniciando con un compresor de aire (Thomas-pump, AP-40), y dividiendo el flujo de aire en dos corrientes mediante controladores de flujo másico (Aalborg). Una de estas corrientes atravesó un burbujeador lleno de metanol para saturarse con vapores del COV. La otra corriente de aire se humidificó haciéndola pasar por un burbujeador lleno de agua. Finalmente, las dos corrientes se unieron antes de ingresar al biofiltro por la parte superior. Ajustando la proporción de aire que pasa por el burbujeador lleno de metanol se pudo trabajar con diferentes concentraciones de entrada del COV.

El biofiltro fue cilíndrico y de acero inoxidable (Cruz-García, 2018); con una altura total de 0.52 m, dividido en dos módulos de 0.26 m de alto cada uno y un diámetro interno de 0.083 m, teniendo un volumen útil total de empaque de 2.4 L. En la parte superior, se localizaban dos válvulas de entrada, una se empleó para el suministro de medio mineral y la otra se destinó para el paso del flujo de aire a tratar. Para tomar las muestras de aire, se utilizaron las válvulas de muestreo ubicadas cerca de la entrada, en medio y en la salida del biofiltro, mientras que la que se localizó en la parte inferior fue empleada para muestrear los lixiviados (Figura 3).

Inicialmente, dentro de cada uno de los módulos del biofiltro se añadieron 1.2 L con anillos de cerámica previamente inoculados con el hongo *F. solani*.

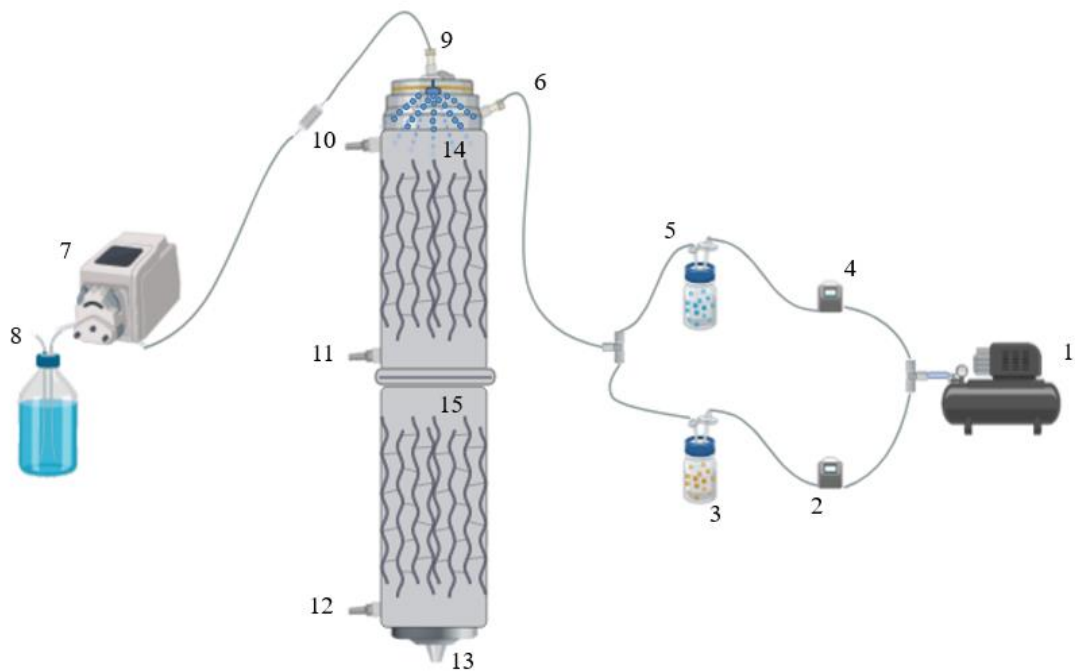


Figura 3. Esquema del biofiltro

1 compresor, 2 controlador de flujo másico, 3 metanol, 4 controlador de flujo másico, 5 humificador, 6 corriente contaminada, 7 bomba peristáltica, 8 reservorio de nutrientes, 9 sistema de riego, 10, 11 y 12 puntos de muestreo, 13 salida de lixiviados, 14 módulo superior, 15 módulo inferior.

6.5. Medio mineral

Se pusieron a prueba dos tipos de medio mineral diferentes y una variación de uno de ellos, cuya composición se describe en la tabla 2. El primero (MM1) fue el descrito por Arriaga y Revah (2005). Además, al medio se agregaron 50 mg L⁻¹ de cloranfenicol, para prevenir contaminación bacteriana (Zhang *et al.*, 2020). El pH del medio se ajustó durante la fase I e inicios de la fase II a pH 7 con NaOH 0.1 mol L⁻¹. En la fase V, se modificó la composición del medio mineral (MM2). Este se realizó cambiando la fuente de nitrógeno, manteniendo el mismo aporte total de nitrógeno (2.95 g L⁻¹ de N), reemplazando el NaNO₃ por 11.24 g L⁻¹ de NH₄Cl, misma fuente que la empleada por Marycz *et al.* (2022) y manteniendo un pH de 4.0.

En la fase VI, se cambió por completo el medio mineral (MM3) utilizando el descrito por Marycz *et al.* (2022), la mezcla mantuvo un pH neutro; además, en todo momento, se mantuvieron los 50 mg L⁻¹ de cloranfenicol.

Tabla 2. Composición de los tipos de medio mineral.

MM1		MM2		MM3	
Cantidad (g L ⁻¹)	Compuesto	Cantidad (g L ⁻¹)	Compuesto	Cantidad (g L ⁻¹)	Compuesto
18	NaNO ₃	11.24	NH ₄ Cl	1	NH ₄ Cl,
1.3	KH ₂ PO ₄	1.3	KH ₂ PO ₄	15.2	Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O
0.38	MgSO ₄ 7 H ₂ O	0.38	MgSO ₄ 7 H ₂ O	3	KH ₂ PO ₄
0.25	CaSO ₄ 2H ₂ O	0.25	CaSO ₄ 2H ₂ O	0.5	NaCl
0.055	CaCl ₂	0.055	CaCl ₂		
0.015	FeSO ₄ 7 H ₂ O	0.015	FeSO ₄ 7 H ₂ O		
0.012	MnSO ₄ H ₂ O	0.012	MnSO ₄ H ₂ O		
0.013	ZnSO ₄ 7 H ₂ O	0.013	ZnSO ₄ 7 H ₂ O		
0.0023	CuSO ₄ 7 H ₂ O	0.0023	CuSO ₄ 7 H ₂ O		
0.0015	CoCl ₂ 6 H ₂ O	0.0015	CoCl ₂ 6 H ₂ O		
0.0015	H ₃ BO ₃	0.0015	H ₃ BO ₃		

MM1: medio mineral 1; MM2: medio mineral 2; MM3, medio mineral 3.

6.6. Mediciones analíticas en el biofiltro

Se llevaron a cabo mediciones durante la operación del biofiltro. Se analizó la concentración de metanol y CO₂ en la fase gaseosa; en la fase sólida se cuantificó la biomasa y finalmente en los lixiviados se midió el pH, el Carbono Orgánico Total (COT) y los sólidos suspendidos (SS). Así como también se monitoreó la caída de presión empleando un tubo en U.

6.6.1. Cuantificación de la fase gaseosa

La medición de esta fase se realizó cinco días a la semana, durante aproximadamente 28 semanas. Las muestras de aire se tomaron en la entrada, en medio y en la salida del biofiltro. El gas fue contenido en bulbos herméticos muestreadores de aire de 500 mL. La medición de concentración de metanol y de CO₂ se realizó en un cromatógrafo de gases Marca Agilent Technologies GC, modelo 6890A calibrado previamente. Todas las muestras se cuantificaron por triplicado.

6.6.1.1. Cuantificación de metanol

Las mediciones de la concentración de metanol en la fase gaseosa del biofiltro se realizaron tomando muestras en los puntos de muestreo (Figura 3), y se cuantificó el contaminante mediante un cromatógrafo de gases (Marca Agilent Technologies GC, modelo 6890A) equipado con un detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés) y una columna capilar HP-INNOWAX, manteniendo una temperatura de 250 °C en el puerto de inyección y en el detector, mientras que en el horno se mantuvo una temperatura de 100 °C. Además, se utilizó nitrógeno como gas acarreador con un flujo de 2 mL min⁻¹. El volumen de muestra que se inyectó en el equipo fue de 0.250 mL con una jeringa hermética a gases.

6.6.1.2. Cuantificación de CO₂

Mediante un cromatógrafo de gases Marca Agilent Technologies GC, modelo 6890A, se realizaron las cuantificaciones de CO₂ producido en el biofiltro, con una columna capilar HP-PLOT-Q y un detector de conductividad térmica (TCD, por sus siglas en inglés). Además, se usó nitrógeno como gas acarreador teniendo un flujo de gas de 3 mL min⁻¹. Las condiciones de temperatura fueron de 250°C para el inyector y el detector y 40°C para la columna. El volumen de muestra que se analizó en el equipo fue de 0.250 mL con una jeringa hermética a gases.

6.6.2. Soporte microbiano

Durante los días 92, 126, 164 y 192 se tomaron muestras de los anillos de cerámica y/o la perlita separándolos (en caso de mezcla) por tipo de soporte y por módulo. Además, se procuró que en cada ocasión, la cantidad de soporte extraído fuera la misma. El reemplazo de las muestras tomadas se realizó por la misma cantidad de soporte nuevo estéril. De las muestras obtenidas se determinó la biomasa y humedad presentes en ellas.

6.6.2.1. Cuantificación de humedad

Se realizó un monitoreo del contenido de humedad y biomasa mientras el biofiltro se mantuvo en operación, las muestras se tomaron de cada sección del biofiltro.

La determinación del contenido de humedad (Ecuación 5) se realizó pesando muestras de anillos de cerámica y perlita inoculados y posteriormente se sometieron a un proceso de secado en una estufa a 100°C por 24 h.

$$\%Humedad = \frac{P_{muestra} - P_{seco}}{P_{muestra}} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

6.6.2.2. Cuantificación de biomasa

Con la metodología señalada en la NMX-AA-034-SCFI-2015 se determinó la biomasa total. Las muestras secas obtenidas anteriormente (P_{seco}, g) se sometieron a calor en una mufla a temperatura de 550°C por 2 h, posteriormente y una vez que las muestras estuvieron a temperatura ambiente, fueron pesadas nuevamente ($P_{calcinado}, g$). La diferencia de los pesos arrojó el contenido de biomasa con dimensiones de mg por gramo de soporte (Ecuación 6).

$$Biomasa_{Total}(mg\ g^{-1}) = \frac{P_{seco} - P_{calcinado}}{P_{seco}} * 1000 \quad \text{Ecuación 6}$$

6.6.3. Análisis de pH y cuantificación de materia orgánica en lixiviados

La colección y medición del volumen de lixiviados se realizó semanalmente. De la muestra obtenida, se tomó la lectura de pH (Hanna Instruments, modelo HI 4211). El contenido del COT presente en el líquido fue determinado mediante un analizador (TOC VCSH, SHIMADZU). Una fracción homogénea de 40 mL de las muestras se centrifugó (Hettich Zentrifugen, EBA 21) previamente a 4 420 RCF (fuerza centrífuga relativa, por sus siglas en inglés) durante 10 min y el sobrenadante se diluyó en agua destilada con una relación 1:10, antes de realizar el análisis. La cuantificación de sólidos suspendidos volátiles (SSV) se realizó sobre el material sedimentado de manera análoga a lo reportado en el párrafo 6.6.2.2.

6.7. Condiciones operacionales del biofiltro

Las condiciones ambientales en las que se encontró operando el biofiltro fueron controladas, manteniéndose en un laboratorio cerrado con temperatura de 25 °C y humedad de 38 %.

Durante el experimento se varió la carga de metanol, el flujo del aire, el tiempo de retención dentro del sistema, el medio mineral y el empaque (Tabla 3). Entre cada cambio se esperó a que se alcanzara el estado estacionario, es decir, que existiera una

remoción estable del contaminante, con una variación menor al 10 % en la CE, durante por lo menos 4 días consecutivos (Zhang *et al.*, 2008). A lo largo del experimento, también se modificó el riego con medio mineral (Tabla 4).

Tabla 3. Condiciones operacionales del biofiltro

Fase	Tiempo (d)	IL ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$)	Ce (g m^{-3})	Q (L min^{-1})	TRLV (min)	Empaque	MM
I	0-21	101.6 ± 3.9	1.7 ± 0.1	2.4	1	AC	MM1
II	22- 83	135.3 ± 11.0	2.3 ± 0.2				
P	84	263.1 ± 23.7	4.4 ± 0.4				
II-P	85-97	136.7 ± 5.2	2.3 ± 0.1				
II-S	98-126	133.8 ± 6.5	2.2 ± 0.1				
III	127-149	136.9 ± 8.1	2.3 ± 0.1	1.6	1.5	AC + perlita	MM2 MM3
IV	150-170	131.5 ± 10.2	3.3 ± 0.3				
V	171-178	138.7 ± 6.7	3.5 ± 0.2				
VI	179-192	138.9 ± 11.6	3.5 ± 0.3				

IL: Carga de entrada; Ce: Concentración de entrada; Q: flujo de aire; TRLV: Tiempo de retención en el lecho vacío; AC: anillos de cerámica y MM: medio mineral.

La carga de entrada (IL, Ecuación 7) inicial de metanol fue de $101.6 \pm 3.9 \text{ g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ (Fase I, días 0-21, Tabla 3). A partir de la fase II, se aumentó la carga, manteniéndola constante en todo el experimento con un promedio de $135.97 \pm 8.47 \text{ g m}^{-3} \text{h}^{-1}$, a excepción de un pulso en el cual se aumentó la carga por un día (día 84). Así, durante la fase II (días 22-126), se probó el impacto de dos perturbaciones en el desempeño del sistema. La primera perturbación fue el pulso en la carga de entrada (que aumentó a $263.1 \pm 23.7 \text{ g m}^{-3} \text{h}^{-1}$) en el día 84 (fase P). De esta manera, se evaluó la robustez del biofiltro en los días posteriores al aumento de carga (Fase II-P). La segunda perturbación fue un periodo de 2 días sin aporte de medio mineral (en el día 96 y 97), tras el cual se pudo evaluar la robustez del biofiltro ante una falla del sistema de riego o una disminución de la humedad y de los nutrientes en el lecho filtrante (Fase II-S).

Para la Fase III, se sustituyó parte del empaque de anillos de cerámica por perlita (ver sección 6.3). Durante las fases I a III, el flujo de aire (Q) fue de 2.4 L min^{-1} , de manera que se obtuvo un tiempo de retención en el lecho vacío (TRLV) de 1 minuto. A partir de la fase IV, se cambió el tiempo de residencia a 1.5 minutos, disminuyendo el flujo de aire a 1.6 L min^{-1} . Es importante mencionar, que entre las fases II y III (exceptuando

el pulso), y las fases siguientes (IV, V y VI), la IL se mantuvo estable al igual que la concentración, pero una vez que el TRLV aumentó de 1 a 1.5 min, la concentración de entrada incrementó proporcionalmente. Así, al aumentar el TRLV, ajustando el flujo de aire que pasaba por el humidificador, se mantenía el aporte de la misma cantidad de contaminante (flujo de aire en el saturador de metanol), pero diluyéndolo en un flujo total de aire menor, aumentando así la concentración de entrada de metanol (de 2.3 a 3.4 g m⁻³). Las Fases V y VI están relacionadas con un cambio de composición del MM.

El aporte de nutrientes se realizó de manera diaria, excepto en el periodo sin riego donde se probó el impacto de una falta de riego durante 2 días consecutivos. Durante el inicio de la primera etapa (fase I, días 1-15) se añadió glicerol (1 g L⁻¹) al MM1 como fuente de carbono adicional de fácil consumo, para promover el desarrollo de la biopelícula. Para evitar el desprendimiento inicial de biomasa durante la formación de la biopelícula por arrastre durante el riego con medio mineral, este fue inicialmente moderado, y realizado una sola vez al día a razón de 140 mL durante 1 min, recirculando 500 mL de MM1 con renovación cada semana (hasta el día 47). A partir del día 48, con una biopelícula más adherida al soporte, se realizó un riego diario con medio fresco, a razón de dos periodos de 2 minutos al día (12:00 am y 12:00 pm) para que se mantuviera la saturación de humedad en el empaque. El riego total diario fue de 350 mL cuando el TRLV era de 1 min, y se disminuyó proporcionalmente a 215 mL al aumentar el TRLV a 1.5 min (a partir de la Fase IV), de manera que se consideró el menor arrastre de medio mineral en presencia de un menor flujo de aire. Adicionalmente, para limpiar el lecho filtrante de posibles subproductos de la degradación de metanol, se realizó una recirculación semanal con MM fresco durante 30 min a partir del día 60.

En cuanto al pH del MM1, para favorecer la actividad fúngica, éste fue inicialmente ajustado a 7 y progresivamente acidificado a 5.4 (a partir del día 63) y finalmente dejado en su valor no ajustado de 4.2 (a partir del día 87). Los valores de pH de los otros medios fueron mantenidos sin ajustarse.

Tabla 4. Condiciones de riego del biofiltro con medio mineral

Fase	Día	Medio mineral	Modalidad de riego
I	1-15	MM1 con glicerol (1 g L ⁻¹) Ajustado a pH 7	1 min d ⁻¹ (140 mL), 500 mL recirculados, renovación semanal
I, II	16-47	MM1, ajustado a pH 7	4 min d ⁻¹ (350 mL d ⁻¹)
II	48-59		4 min d ⁻¹ (350 mL d ⁻¹) +
	60-62		1 recirculado de 500 mL semanal por 30 min
	63-86		MM1, ajustado a pH 5.4
	87-94		Sin riego
95-97			
II, III	98-149*	MM1, pH 4.2	4 min d ⁻¹ (350 mL d ⁻¹) +
IV	150-169	MM2, pH 4.0	1 recirculado de 500 mL semanal por 30 min
V	170-178		4 min d ⁻¹ (215 mL d ⁻¹) +
VI	179-192		MM3, pH 7.0

*En los días 121, 122 y 123 se realizó un recirculado de MM de 30 minutos al día, para lavar posibles subproductos generados en el lecho durante la falta de riego.

6.8. Parámetros de caracterización y desempeño del biofiltro

Las variables y parámetros empleados para caracterizar la operación del biofiltro son la carga de entrada (IL) y el tiempo de retención en el lecho vacío (TRLV), los cuales se describen en la Ecuación 7 y 8 respectivamente.

$$IL = \frac{Q}{V_R} C_e \quad \text{Ecuación 7}$$

$$TRLV = \frac{V_R}{Q} \quad \text{Ecuación 8}$$

Dónde: Q: flujo del aire (m³ h⁻¹), V_R: volumen del lecho de soporte (m³) y C_e: concentración de entrada (g m⁻³).

Para evaluar el funcionamiento y la eficacia del biofiltro, se emplearon cálculos para conocer la eficiencia de remoción, la capacidad de eliminación y la producción de CO₂, así como el balance de carbono y mineralización para conocer el destino del contaminante. Estos cálculos se describen a continuación.

6.8.1. Eficiencia de remoción

La eficiencia de remoción (ER) que se encarga de medir el porcentaje de eliminación del metanol alcanzado en el biofiltro está en relación con la concentración del contaminante entrante (C_e , g m⁻³) y saliente (C_s , g m⁻³), y se calculó de la siguiente manera:

$$\%ER = \frac{C_e - C_s}{C_e} * 100 \quad \text{Ecuación 9}$$

A partir de las mediciones de concentración de metanol a la mitad del biofiltro (salida del primer módulo, C_m , g m⁻³), se pudo también estimar la ER obtenida únicamente en el módulo superior:

$$\%ER (mod\ sup) = \frac{C_e - C_m}{C_e} * 100 \quad \text{Ecuación 10}$$

La ER observada en el módulo inferior se puede deducir de las ecuaciones anteriores:

$$\%ER (mod\ inf) = \frac{C_m - C_s}{C_e} * 100 = \%ER - \%ER (mod\ sup) \quad \text{Ecuación 11}$$

6.8.2. Carga y capacidad de eliminación

La capacidad de eliminación (CE) expresada en g m⁻³ h⁻¹, señala la velocidad de transformación del contaminante por unidad de volumen del empaque, por lo que está en función del volumen del lecho de soporte (V_R , m³) con respecto al caudal total del gas (Q , m³ h⁻¹).

$$CE = \frac{(C_e - C_s) Q}{V_R} \quad \text{Ecuación 12}$$

6.8.3. Producción de CO₂ (PCO₂)

La producción de CO₂ (PCO₂) expresada en g m⁻³ h⁻¹ indica la existencia de actividad microbiana, por lo que es un factor importante en un biofiltro. Se calcula en relación de la concentración de CO₂ en el aire de entrada ($C_{CO_2\text{ entrada}}$, g m⁻³) y salida ($C_{CO_2\text{ salida}}$, g m⁻³) del biofiltro, el volumen del lecho de soporte y del caudal total del gas (Ecuación 13).

$$PCO_2 = \frac{C_{CO_2\text{ salida}} - C_{CO_2\text{ entrada}}}{V_R} * Q \quad \text{Ecuación 13}$$

6.8.4. Mineralización y balance de carbono

Para el cálculo del porcentaje de mineralización se empleó la Ecuación 14, la cual establece la relación de los gramos de dióxido de carbono experimentalmente medidos (gCO_{2exp}) por los gramos de CO₂ teóricamente alcanzables en caso de mineralización total del metanol consumido (gCO_{2teorico}). Los gCO_{2teorico} se calculan con base en la relación estequiometría de la Ecuación 15.

$$\% \text{ mineralización} = \frac{g_{CO_2\text{ exp}}}{g_{CO_2\text{ teorico}}} * 100 \quad \text{Ecuación 14}$$



Dastous *et al.*, (2008) reportan que teóricamente, si se excluye la formación de otros productos y en particular de biomasa, se pueden producir un máximo de 1.38 g de CO₂ g⁻¹ de metanol degradado (88 g de CO₂ a partir de 64 g de metanol); a partir de la relación estequiométrica de la Ecuación 15. Por lo tanto, el porcentaje de mineralización indica la proporción de metanol que se dirige efectivamente hacia la formación de CO₂

En realidad, el balance de carbono ofrece tres vías de transformación (Ecuación 16) donde se encuentra el CO₂ mineralizado en la fase gaseosa, el carbono acumulado como biomasa y el carbono eliminado en los lixiviados.

$$C_{\text{sustrato consumido}} = C_{CO_2} + C_{\text{biomasa}} + C_{\text{lixiviado}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Para cuantificar el carbono del metanol removido ($C_{\text{sustrato consumido}}$) se integra el valor de CE respecto al tiempo de operación, el resultado se multiplica por el volumen del lecho de empaque y por el carbono presente en el metanol (12 g C en cada 32 g de metanol), quedando una expresión de g de carbono tratado.

En cuanto a la producción de CO_2 , se empleó el parámetro PCO_2 y se realizó una integración similar a la anterior, el resultado se multiplicó por el volumen del lecho de empaque y por la masa de carbono por masa de CO_2 (12 g C en cada 44 g de CO_2). El resultado se expresa en gramos de carbono recuperados en forma de CO_2 (C_{CO_2}).

En la fase líquida también se calculó la cantidad de carbono total absorbido, considerando la suma de los valores de COT obtenidos en los lixiviados, ponderados por el volumen recuperado semanalmente. También se consideró el carbono inorgánico presente, es decir los carbonatos y bicarbonatos, para tener una cantidad total de carbono disuelto en los lixiviados. En cuanto a sólidos suspendidos volátiles, se calculó la cantidad total de materia orgánica recuperada, considerando como Bailey y Ollis (1986) que el 50% de la materia orgánica seca es carbono. $C_{\text{lixiviado}}$ corresponde a la cantidad de carbono presente en los lixiviados, tanto en forma disuelta como en sólidos suspendidos.

En cuanto al carbono presente en el empaque del biofiltro como biomasa (C_{biomasa}), se tomó en cuenta los mg de biomasa total del soporte, considerando igualmente que el 50% de ese peso corresponde al carbono (Bailey y Ollis, 1986).

6.9. Análisis estadístico

Se empleó el software MINITAB con análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, ya que ésta suele emplearse para conocer la existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre tres o más grupos (Flores-Ruiz *et al.*, 2017). La prueba se aplicó para diferentes parámetros como IL y CE, con un intervalo de confianza de 0.95. Cuando se probó la diferencia entre únicamente dos grupos, se usó la prueba t de Student, con un mismo intervalo de confianza de 0.95. En ambos casos

un valor de $P < 0.05$ indica que se observa una diferencia significativa entre grupos para el parámetro analizado.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La caracterización del soporte microbiano y el análisis por cada condición operatoria probada en el biofiltro, la eficiencia de remoción, producción de CO_2 , humedad, biomasa y algunos otros datos obtenidos se muestran a continuación.

7.1. Soporte microbiano

En la tabla 5, se presentan los datos obtenidos para la caracterización del soporte microbiano (anillos de cerámica y perlita).

Tabla 5. Características del soporte microbiano

Parámetro	Valor	
	AC	Perlita
Densidad aparente (ρ_{aparente} , g L^{-1})	551	132
Grado de espacio vacío (ϵ)	0.80	0.64
Densidad real (ρ_{real} , g L^{-1})	2 222.80	336.5
Capacidad de retención de agua (CRA, %)	19	59

AC: anillos de cerámica

Los valores obtenidos son similares a los reportados para la perlita por Cruz-García (2018) y Jiménez (2020) (ρ_{aparente} : 146.50 y 135.44 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, ϵ : 0.60 y 0.64, ρ_{real} : 366.27 y 372.20 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CRA: 58 y 64.60 %, respectivamente). Por otro lado, Aizpuru *et al.* (2005) reportan, para los anillos de cerámica, valores similares de ρ_{aparente} : 600 g L^{-1} , ϵ : 0.74, y CRA: 19%. El valor de la ρ_{real} calculado a partir de los datos anteriores es igualmente similar, arrojando 2 307.69 g L^{-1} .

Los dos soportes son muy diferentes entre sí, mientras los AC ofrecen mayor espacio vacío que disminuye la probabilidad de la caída de presión, la perlita aporta mayor capacidad de retención de agua, lo que se traduce en mayor contenido de humedad y nutrientes dentro del biofiltro benéficos para el hongo.

Para soportes de diferentes densidades, puede resultar más útil expresar la capacidad de retención de agua en g de agua por litro de soporte (o de lecho filtrante), con la finalidad de tener un parámetro más comparable que no dependa de la densidad del soporte.

Retomando la definición de la CRA (%) (Ecuación 4) y considerando que el peso de soporte saturado corresponde a la suma del peso del soporte seco y del peso de agua que contiene (P_{agua}), tenemos:

$$\% \text{ CRA} = \frac{P_{\text{soporte saturado}} - P_{\text{soporte seco}}}{P_{\text{soporte saturado}}} * 100 = \frac{P_{\text{agua}}}{P_{\text{soporte seco}} + P_{\text{agua}}} * 100$$

$$\text{Lo que conlleva a: } \frac{100}{\% \text{ CRA}} = \frac{P_{\text{soporte seco}}}{P_{\text{agua}}} + 1$$

Realizando las operaciones matemáticas correspondientes, obtenemos la ecuación del peso de agua como:

$$P_{\text{agua}} = \frac{1}{\frac{100}{\% \text{ CRA}} - 1} \times P_{\text{soporte seco}} \quad \text{Ecuación 17}$$

Aplicando para 1 L de AC seca (551 g) y 1 L de perlita seca (132 g) con sus respectivas CRA, se encuentra que estos soportes pueden almacenar hasta 129.2 y 190.0 g de agua por litro de empaque, respectivamente. Los datos obtenidos serán empleados más adelante cuando se hable sobre humedad en el material de soporte.

7.2. Cepa fúngica

Los cultivos de la cepa no mostraron contaminación visual y se mantuvieron axénicos. Como se puede observar en la Figura 4a, se realizaron cultivos en caja Petri para observar las colonias formadas. Estas colonias cultivadas en agar rosa de bengala con cloranfenicol presentaron características morfológicas idénticas a las descritas por

Jiménez (2020), con textura algodonosa y coloración blanca. Por otro lado, el cultivo realizado en caldo nutritivo (marca BD Bioxon) mostró una agrupación del hongo en forma de pellet (Figura 4b).

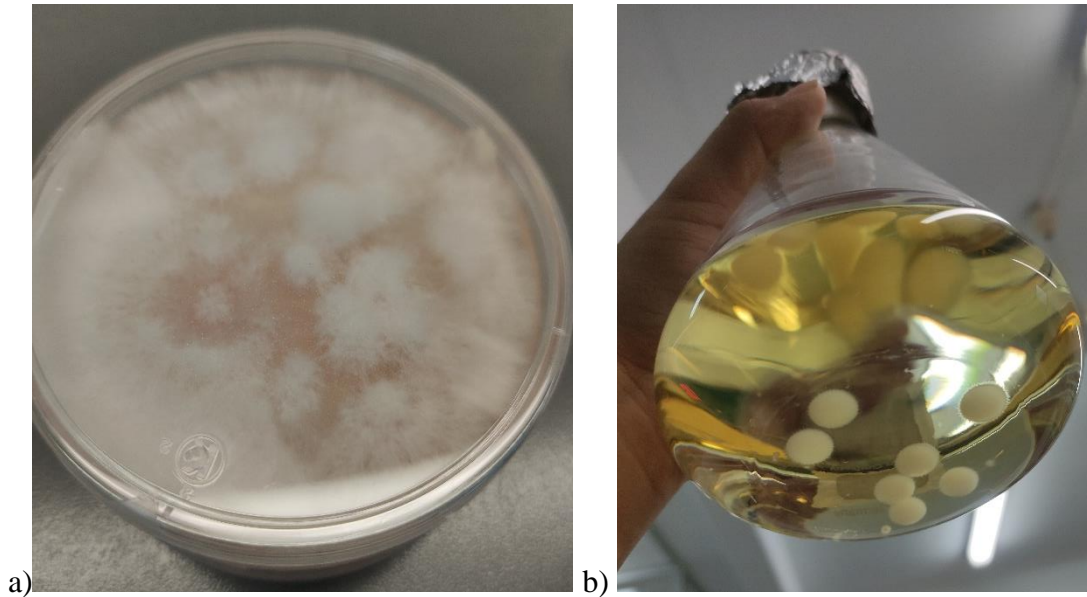


Figura 4. Cultivo de *Fusarium solani* en a) agar rosa de bengala con cloranfenicol, en b) caldo nutritivo

7.3. Capacidad de eliminación del biofiltro y eficiencia por módulos

El biofiltro fue operado durante 192 días, variando diferentes condiciones operatorias reportadas en el apartado 6.7, separando la operación en 6 fases, con la fase II incluyendo dos pruebas de robustez del biofiltro, una ante un pulso de carga y otra ante una falta de riego del lecho filtrante.

7.3.1. Carga aplicada y capacidad de eliminación del biofiltro

La Figura 5 muestra un estudio estadístico de las cargas de metanol aplicadas en las diferentes fases de operación del biofiltro. El promedio de carga aplicada, así como su desviación estándar están ilustradas en forma de barra, encima de la cual aparece la fase correspondiente. La letra en superíndice encima de la fase indica si una carga fue significativamente diferente a las demás.

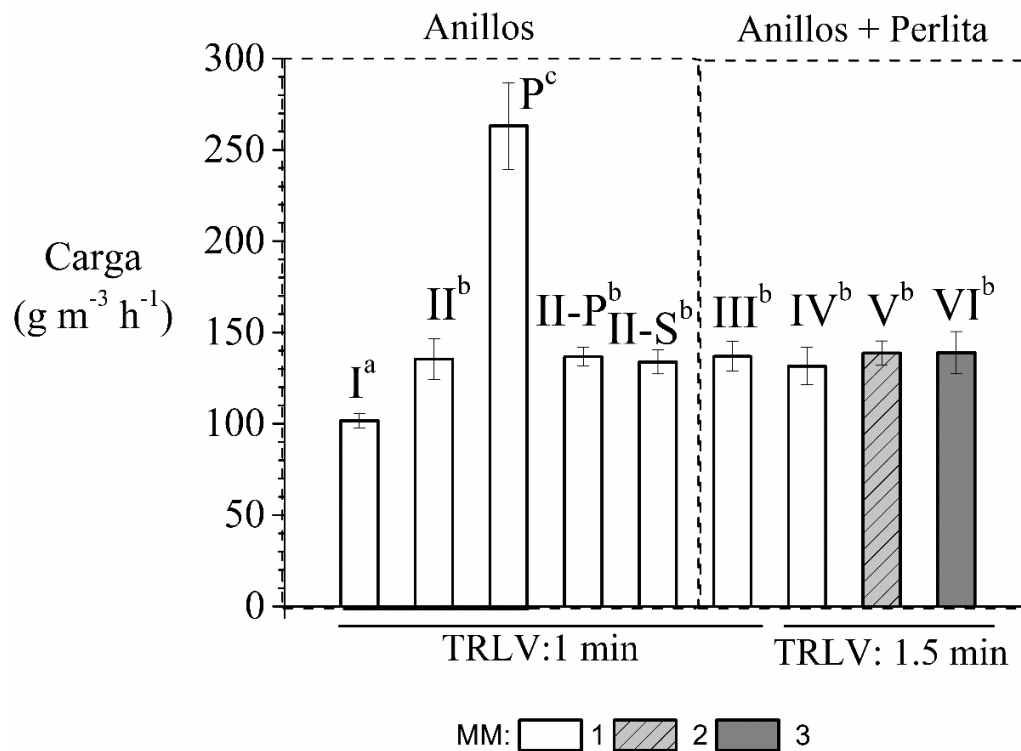


Figura 5. Carga de entrada promedio y desviación estándar por fase operatoria.
 Nota: Una letra diferente en superíndice indica una diferencia significativa; MM: medio mineral

Se aplicaron 3 cargas estadísticamente diferentes en el biofiltro. La menor carga corresponde al arranque del reactor (fase I). En todas las demás fases, la carga aplicada fue similar, excepto para el pulso de carga (fase P).

La carga aplicada diariamente y la CE correspondiente se reportan en la Figura 6.

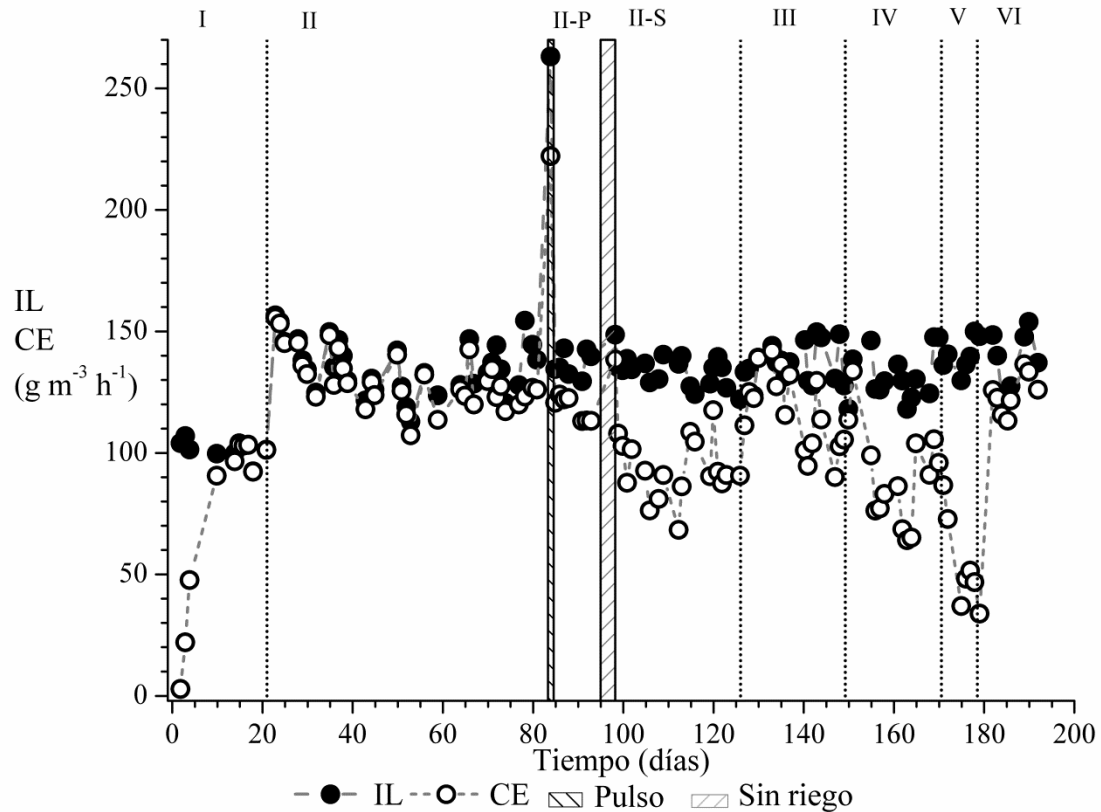


Figura 6. Evolución de la carga de entrada (IL) y la capacidad de eliminación (CE)

- Fase I: día 1 al 21

En la primera fase de operación del biofiltro se trabajó con una carga promedio de $101.6 \pm 3.9 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y un flujo de aire de 2.4 L min^{-1} . El riego de MM1, ajustado a un pH de 7.0, se realizó una vez al día durante 1 min aportando un volumen de 140 mL d^{-1} , con recirculación de los lixiviados y renovación semanal del medio por MM fresco. Durante las 2 primeras semanas de operación (hasta el día 15), se añadió glicerol al medio (1 g L^{-1}) para favorecer el crecimiento fúngico. Tal recirculación inicial de los lixiviados se suele realizar para hongos recientemente inoculados, aún no fuertemente anclados al soporte de filtración, que pudieran desprenderse del soporte y ser arrastrados en los lixiviados (Arriaga y Revah, 2005; Vergara-Fernández *et al.*, 2020). Por otra parte, los hongos poseen una menor tasa de crecimiento que las bacterias, por lo que una fuente de carbono de fácil consumo es útil para un arranque rápido del

reactor (Arriaga y Revah, 2005). Se ha observado que un aporte de glicerol permite acelerar el crecimiento de *F. solani* dentro de los biofiltros (Vergara-Fernández *et al.*, 2020). Tal adición de glicerol al medio ha sido implementada en otras investigaciones como fuente de carbono de fácil consumo, para estimular el crecimiento inicial de la población microbiana y el establecimiento de la biopelícula en el soporte, disminuyendo así el tiempo de arranque del sistema de biofiltración (Vergara-Fernández *et al.*, 2011).

En cuanto al desempeño del biofiltro, en el día 2 de operación, la CE fue casi nula ($1.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, Figura 6). A partir del día 3 (donde el biofiltro alcanzó una eliminación de $22.0 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) se notó un aumento continuo de la CE. En la segunda semana de operación (día 15), cuando se retiró el glicerol del MM1, *F. solani* eliminó casi la totalidad del metanol entrante en fase gas, alcanzando CE estable por 6 días consecutivos ($100.0 \pm 4.6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$). El tiempo necesario para obtener una remoción completa del metanol fue mayor que en un biofiltro inoculado con un consorcio microbiano proveniente de lodos activados, para el cuál una remoción completa fue obtenida para una carga de metanol muy similar ($98.4 \pm 4.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) en 4 días (Cruz-García *et al.* 2019). El lento inicio de la degradación de metanol puede atribuirse a que no se realizó una aclimatación previa de *F. solani* al contaminante a tratar, como es recomendado (Elías *et al.*, 2010), y a que el crecimiento de los hongos suele ser más lento que el de las bacterias (Cabrera *et al.*, 2019). Además, el alto grado de vacío de los anillos de cerámica puede no ser favorable para un crecimiento inicial rápido y adhesión de la biomasa fúngica (Jin *et al.*, 2007a).

Dado el buen desempeño obtenido y la estabilidad de la CE, se aumentó la carga entrante de metanol, pasando a la siguiente fase del experimento.

- Fase II: día 22 al 126

Una vez que se alcanzó cerca del 100% de remoción en la fase I, se procedió a incrementar la IL cerca del 30 %. Dado que el biofiltro llevaba 47 días de marcha y que la biopelícula ya era operacional y estaba establecida en el soporte, ya no era necesario recircular los lixiviados. Así, a partir del día 48, el riego se realizó diariamente con MM

fresco. Además, dada la baja capacidad de retención de agua de los anillos de cerámica, para disminuir posibles limitaciones de nutrientes, así como asegurar la suficiente humedad en el empaque, el tiempo y la frecuencia de riego se modificó incrementando 2.5 veces más volumen de MM1. Adicionalmente, a partir del día 60, una vez a la semana se comenzó a recircular 500 mL de MM1 nuevo una vez al día durante 30 min, con la finalidad de limpiar el lecho filtrante eliminando subproductos de la degradación que pudieran ser dañinos para los hongos (Jin *et al.*, 2007a). Es importante mencionar que los lixiviados tenían un pH básico superior a 8, lo cual reduce la actividad fúngica y limita su crecimiento (Jasme *et al.*, 2022). Para tratar de mantener condiciones de pH adecuadas para el crecimiento del hongo, el pH del MM1 se modificó (Tabla 4).

La CE obtenida antes del pulso de carga, durante la Fase II (Figura 6), esta arrojó valores cercanos a la carga aplicada, obteniendo entre el día 67 y 83 un promedio estable de $124.7 \pm 7.1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Los cambios en cuanto a frecuencia y volumen de riego, la implementación de una recirculación semanal del MM y los ajustes de pH no tuvieron una notable incidencia en cuanto a CE.

Las emisiones industriales de COVs suelen ser fluctuantes y no constantes durante todo el día, por lo cual es interesante conocer el impacto de un fuerte aumento temporal de carga (Álvarez-Hornos, 2008). En el día 84, se probó el impacto de duplicar la carga de metanol, aplicando un “pulso” de carga a $263.1 \pm 22 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Durante este pulso de carga, la CE del biofiltro fue la mayor observada durante todo el experimento, alcanzando $222.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Esto indica un buen desempeño del biofiltro, que puede tratar más metanol en el caso de recibir cargas mayores de forma puntual. En la Figura 6 (fase II-P), se puede notar que el pulso no tuvo una incidencia fuerte en la CE, la cual se mantuvo en $118.4 \pm 7.1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ para el resto de la fase.

Los biofiltros también pueden ser sujetos a incidentes operatorios. En particular, el secado del lecho filtrante y la falta de suministro de minerales pueden tener un efecto adverso en el rendimiento obtenido. Entre los días 95 y 97, se probó no aportar riego por medio mineral. Si bien la CE obtenida al día siguiente del paro de riego ($138.4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, al día 98) fue similar a lo obtenido anteriormente, ésta disminuyó notablemente en los días siguientes (Figura 6, fase II-S) con una marcada fluctuación (rango de 68.3

a $117.6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ entre los días 99 y 120). Ante esto, en el día 121 se decidió realizar un recirculado de MM de 30 minutos al día durante 3 días consecutivos, para lavar posibles subproductos acumulados en el lecho durante la falta de riego. La CE se estabilizó en $90.3 \pm 2.0 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ entre los días 121 y 126. Después del fallo de riego ya no se pudo recuperar la CE anterior. Como ejemplo del impacto de una pérdida de humedad en un biofiltro bacteriano que trataba metanol, en un estudio se probó el impacto del secado del lecho filtrante (Composta/anillos de polipropileno (8/2, v/v)), interrumpiendo el aporte de medio mineral (Krailas *et al.*, 2000). Se observó que el rendimiento del tratamiento bajó drásticamente a partir de un contenido de humedad en el lecho inferior a 35 % (que ocurrió después de alrededor de 24 h sin riego). Al disminuir aún más el porcentaje de humedad, la CE pasó de un valor inicial de alrededor de $89 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a valores inferiores a $20 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Adicionalmente, se reportó una gran dificultad para recuperar el desempeño del biofiltro cuando éste perdió humedad en el lecho y la CE se mantuvo en valores por debajo de $20 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ aún tres días después de haber reiniciado el riego del lecho con medio mineral.

- Fase III: día 127 al 149

Para tratar de recuperar la CE anterior al fallo del riego, se procedió a cambiar la composición del material de soporte en el biofiltro. Esto se realizó combinando parte de los anillos de cerámica presentes con una fracción de perlita, ocupando parte del espacio vacío entre los anillos y ofreciendo mayor área superficial para el crecimiento de biomasa. Además, la perlita tiene mayor CRA que los anillos, lo que permite almacenar más humedad y nutrientes. Se mezclaron 1000 mL de AC con 200 mL de perlita en cada módulo, manteniendo así una relación 5:1 (v/v). Esto permitió una rápida mejora de la CE, logrando remover $129.1 \pm 10.7 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ entre los días 127 y 137. Sin embargo, la CE del biofiltro disminuyó en los días posteriores, estabilizándose en $99.4 \pm 8.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ al final de la Fase III (días 146-149).

- Fase IV: día 150 al 169

En esta fase se procedió a aumentar el TRLV de 1 a 1.5 min, sin modificar la carga de metanol, pero disminuyendo el flujo de aire de 2.4 a 1.6 L min^{-1} . Con la reducción del flujo de aire se acarrea menos lixiviado en el biofiltro, por lo cual también se ajustó el

volumen de riego en la misma proporción, haciendo pasar 215 mL d⁻¹ de MM1 manteniendo la misma frecuencia. El aumentar el tiempo de residencia del gas en el biofiltro suele mejorar la CE, al dar mayor tiempo de contacto entre los microorganismos y el contaminante (Palomo-Briones *et al.*, 2015).

Sin embargo, la modificación en el TRLV no tuvo un impacto positivo duradero en la CE (solo mejoró los 2 primeros días). Una falta de mejora al incrementar el TRLV ya ha sido observada en otro experimento con metanol, atribuyendo esto a una inhibición en la actividad microbiana, debida al aumento de concentración del metanol al surtir la misma cantidad de contaminante en un volumen de aire menor. En esta investigación la concentración de metanol de entrada pasó de 2.3 a 3.4 g m⁻³ (inversamente proporcional al flujo de aire). Por lo que se concuerda con el estudio anterior, dado que el aumentar el TRLV no siempre resulta benéfico para el sistema (Cruz-García *et al.*, 2019). Entre los días 165 y 170 la CE obtenida fue de 99.1 ± 6.9 g m⁻³ h⁻¹, similar a la obtenido en estado estacionario en la fase anterior.

- Fase V: día 170 al 178

En esta etapa, respecto a la fase anterior, se cambió la fuente de nitrógeno (N) del medio mineral, manteniendo las otras sales. Se pudo notar que el cambio de fuente de nitrógeno tuvo un impacto negativo sobre el sistema. La CE se redujo fuertemente alcanzando los valores más bajos obtenidos en todo el experimento (exceptuando el arranque del biofiltro). Entre el día 175 y 178, la CE se estabilizó en apenas 48.9 ± 2.4 g m⁻³ h⁻¹.

En esta etapa solo se cambió la fuente de nitrógeno por NH₄Cl, por lo cual se puede pensar que el amonio, en las concentraciones del MM2, pudo haber inhibido la remoción. Esto se discutirá más adelante, al observar lo que ocurre en la etapa VI, con menor concentración de NH₄Cl en el medio mineral (MM3). Por otra parte, es importante señalar que, en esta etapa (fase V), se pudo percibir un fuerte olor a amoníaco. La presencia de amoníaco está relacionada con el pH dentro del lecho filtrante y en los lixiviados. Se sabe que su presencia puede inhibir la actividad microbiana.

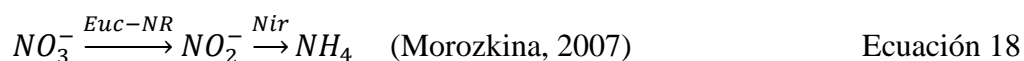
- Fase VI: día 179 al 192

Esta nueva fase comenzó con el cambio total del medio mineral, empleando el descrito por Marycz *et al.*, (2022) y manteniendo el MM3 en un pH de 7. Un día después de la aplicación de nuevo medio (día 180), los valores de CE incrementaron, estabilizándose en $124.4 \pm 7.9 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ por el resto de la fase. A continuación, se explica sobre la posible causa de esta mejoría.

7.3.1.1. Importancia del nitrógeno en el medio mineral

El tipo de fuente de nitrógeno puede influir en el rendimiento de un biofiltro que trata COVs. Cabe señalar que el elemento nitrógeno es primordial, dado que es parte importante de la masa de la célula seca (alrededor de 15%) y es a menudo el nutriente limitante que se consume más rápidamente (Yang *et al.*, 2002). Existe bajo diferentes estados de oxidación (de -III a +V) y su interconversión de un estado a otro se realiza en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (Stein y Klotz, 2016). Si NH_4^+ (estado de oxidación: -III) puede ser directamente asimilado por la biomasa, NO_3^- (estado de oxidación: +V) requiere ser previamente reducido a amonio para ser utilizado en la biosíntesis (Sias *et al.*, 1980; Stein y Klotz, 2016; Kuypers *et al.*, 2018; Németh *et al.*, 2021; Zhai *et al.*, 2017). Tal habilidad de reducir NO_3^- a amonio es ampliamente distribuida entre microorganismos. En el reino fúngico, se sabe que la capacidad de asimilar NO_3^- se restringe a los ascomicetos, basidiomicetos y algunos mucorales (Gorfer *et al.*, 2011). Ya se ha reportado que *F. Solani*, miembro de los ascomicetos, puede consumir a la vez nitratos y amonio como fuente de nitrógeno (Celar, 2003).

El proceso fúngico de reducción de nitratos es conocido como asimilación eucariota de nitrato (Ecuación 18).



La primera etapa de la asimilación de nitratos se lleva a cabo reduciendo NO_3^- hasta nitritos (NO_2^- , estado de oxidación: +III) y es catalizada por la nitrato reductasa (NRasa). Esta reacción es seguida por la reducción del nitrito hasta amonio por la nitrito reductasa (NiR). Existen diferentes tipos de NRasa, entre las cuales la NRasa eucariota asimilatoria (Euc-NR) es propia de los hongos (Gorfer *et al.*, 2011). Como la NRasa está en el citoplasma, la asimilación del NO_3^- requiere de su transporte dentro de la célula por transportadores dependientes de ATP (Adenosín trifosfato) (Kuypers *et al.*, 2018). En los eucariotas, varios aspectos del transporte de NO_3^- aun no son claros. Sin embargo, se sabe que se requiere de un potencial transmembrana generado con el gasto de la hidrólisis de ATP (Morozkina, 2007). Así, el aporte de energía por una fuente de carbono es necesaria para regular la expresión del gen de nitrato reductasa, lo que está en acuerdo con el alto consumo energético de la reducción completa de nitrato a amonio (Gorfer *et al.*, 2011). Debido a este requisito energético, la expresión del gen de NRasa y el consumo y asimilación de NO_3^- suele ser reprimida en ambientes ricos en otras fuentes preferidas de nitrógeno, como el amonio (Kuypers *et al.*, 2018; Gorfer *et al.*, 2011).

El uso de NO_3^- en lugar de NH_4^+ requiere más energía para el crecimiento microbiano, dado que, para ser metabolizado, NO_3^- debe primero ser reducido a NH_4^+ , con un costo energético adicional que resulta en menores tasas de crecimiento (Jorio *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2008; Zhai *et al.*, 2017). La mayor disponibilidad de energía neta en los biofiltros alimentados con amonio favorece el crecimiento microbiano y la formación de la biopelícula (Smith, 1996).

En el desempeño de remoción de vapores de COV aportando nitratos o amonio, existen trabajos en lote y en reactores de biofiltración. En experimentos en lote, se probaron las dos fuentes de nitrógeno ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ o KNO_3) para la degradación de tolueno por *Pseudomonas putida*. Las dos fuentes de nitrógeno mostraron notables diferencias en cuanto a crecimiento microbiano y con ello al consumo de tolueno. En particular, se observaron más altas tasas específicas de consumo de tolueno en presencia de amonio (0.51 h^{-1} contra 0.26 h^{-1}) y se pudieron eliminar 300 mg/L de tolueno en 9 h en el medio

que contenía NH_4^+ , contra un mismo consumo en 14 h en el medio que contenía NO_3^- (Lee *et al.*, 2008).

Se comparó el desempeño de dos biofiltros que trataban estireno, operados de forma continua y alimentados con el mismo medio mineral, pero con una fuente de nitrógeno distinta (amonio o nitrato). Se observó que el biofiltro alimentado con amonio obtuvo mayores capacidades de eliminación que el alimentado con nitratos, incluso en condiciones operativas más desfavorables. Así, se concluyó que, como en el presente estudio, la actividad microbiana de degradación fue más intensa en el biofiltro operado con NH_4^+ . En particular, al usar amonio, se logró una capacidad máxima de eliminación de estireno de $141 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ contra $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ al usar nitratos (Jorio *et al.*, 2000).

Para otro biofiltro que trataba vapores de clorobenceno (400 mg m^{-3}), con un tiempo de residencia en el lecho (TRLV) de 122 s, se obtuvo una mejor remoción del contaminante (60 % contra 40 %) al aportar la misma concentración de nitrógeno (0.11 g N L^{-1}) bajo la forma de amonio en vez de nitratos (Wang *et al.*, 2009).

Finalmente, en un estudio de biofiltración que trataba el mismo compuesto que en el presente trabajo (metanol), con un TRLV del aire de 0.5 min, se probaron NH_4Cl y NaNO_3 como fuentes de nitrógeno a diferentes concentraciones (Yang *et al.*, 2002). Una vez más, la CE obtenida con NH_4^+ fue mucho mayor a la obtenida con NO_3^- ($100 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ contra $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

La mejoría al usar amonio se suele atribuir principalmente a dos factores. En primer lugar, los microorganismos requieren convertir los nitratos a amonio antes de usarlos, lo que implica un consumo energético adicional, disminuyendo las tasas de crecimiento microbiano y de consumo del COV. De esta manera el NO_3^- no es tan fácilmente asimilable como NH_4^+ , y por lo tanto las tasas de degradación en presencia de NO_3^- son menores comparadas con NH_4^+ (Yang *et al.*, 2002). Adicionalmente, el amonio se fija fuertemente con los compuestos orgánicos de la biopelícula, reteniéndose en el lecho filtrante, contrariamente a los nitratos que tienen tendencia a atravesar el lecho, lixiviándose en el medio mineral. Esto hace que el amonio sea una fuente de nitrógeno más disponible en el lecho filtrante para su consumo (Yang *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2009).

En cuanto a las fuentes de nitrógeno, también se ha reportado la importancia de su concentración o del aporte relativo de nitrógeno por gramo de carbono consumido (tasa N/C). Así, para optimizar el aporte externo de nutrientes, se debe considerar tanto el tipo de fuente de nitrógeno, como su concentración (Yang *et al.*, 2002).

Durante la remoción de clorobenceno en un biofiltro, al aumentar la concentración de amonio de 0.11 hasta 0.55 g de nitrógeno por litro de nutriente (N L^{-1}), mejoró aún más la remoción. Sin embargo, un aumento de hasta 1.1 g N L^{-1} redujo la remoción, indicando que existe una concentración óptima de nitrógeno proveniente de amonio (entre 0.55 y 1.10 g N L^{-1}). Para tal estudio este rango óptimo corresponde a una tasa de gramos de nitrógeno aportado por gramo de carbono removido entre 1:14 y 1:7 (Wang *et al.*, 2009). De forma similar, en otro trabajo, durante el tratamiento de metanol, ya se ha notado que un aumento de la tasa N/C puede reducir la tasa de remoción, sugiriendo un efecto de inhibición de NH_4Cl sobre el crecimiento microbiano a alta concentración (Yang *et al.*, 2002). Para tasas de N/C superiores a 15:100 ($\approx 1:7 \text{ g N g C}^{-1}$), aportadas bajo la forma NH_4Cl , se observó una disminución de la CE de metanol. La reducción de CE no ocurrió en caso de aportar mayores cantidades de nitrógeno bajo la forma NaNO_3 , en cuyo caso se alcanzaba una meseta (estabilización) de la CE. Por lo tanto, la inhibición en caso de aportar altas concentraciones de nitrógeno solo se observa en el caso de aportar NH_4Cl .

En este estudio, en la fase II se aportaron diariamente 350 mL de MM1 y 500 mL de éste en el recirculado semanal con un contenido de 2.95 g N L^{-1} . Esto corresponde a un aporte promedio diario (incluyendo el aporte semanal) de alrededor de $1.24 \text{ g N día}^{-1}$. Antes del pulso, la CE fue de $124.7 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, lo que compete a una eliminación del metanol que corresponde, en carbono a tratar a $2.69 \text{ g C día}^{-1}$. Por lo tanto, en la etapa II, la casi completa eficiencia de remoción del metanol se relacionaba con un aporte de nitrógeno bajo la forma NaNO_3 de 1:2 gramos de nitrógeno aportado por gramo de carbono removido. En la etapa VI, cuando se reanudó la remoción casi total del metanol, después del periodo sin riego, se trataba en promedio $124.4 \text{ g MeOH m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, lo que corresponde a tratar la misma cantidad de carbono que en la etapa II (2.69 g

C día⁻¹). Para eso, se surtían 215 mL día⁻¹ del MM3 que contenía 0.262 g N L⁻¹. Con el aporte semanal de 500 mL, en promedio se aportaban 0.075 g N día⁻¹, que corresponde a un aporte de nitrógeno, bajo la forma NH₄Cl de 1:36 g N por cada g C removido. Por lo tanto, en la etapa VI, con un aporte de nitrógeno mucho menor (bajo la forma NH₄Cl) se alcanzó la misma remoción que en la etapa II, con NaNO₃. En la etapa V, cuando la relación era de 1:2 g N por g C removido, se observó una remoción mucho menor. Por lo tanto, sí se notó al igual que en el otro estudio que trataba metanol (Yang *et al.*, 2002) una inhibición de la degradación en presencia de altas concentraciones de nitrógeno aportadas bajo la forma NH₄Cl. El reducir el aporte de nitrógeno bajo la forma NH₄Cl permitió recuperar una remoción casi completa del metanol entrante (fase VI).

7.3.1.2. Impacto de las condiciones operatorias en la CE

Para poder observar el impacto de las condiciones operatorias sobre la CE, la Figura 7 reporta la CE obtenida al estado estacionario en cada fase experimental, indicando las diferencias estadísticamente significativas.

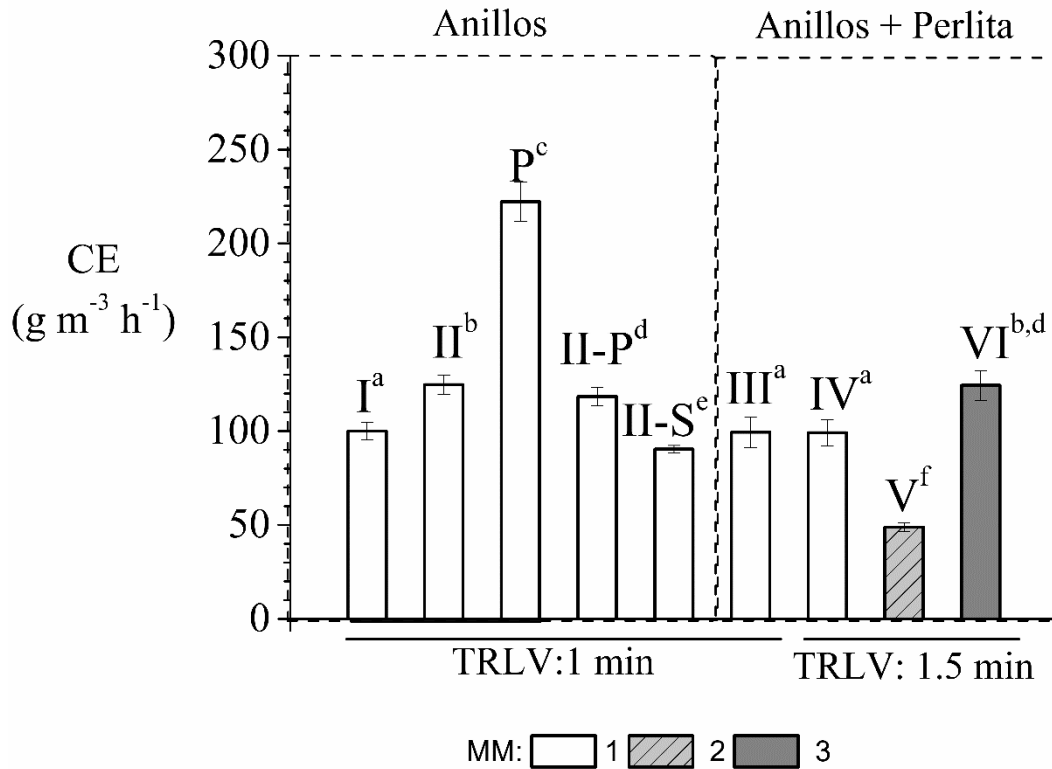


Figura 7. Capacidad de eliminación (CE) promedio al estado estacionario
 Una letra diferente como superíndice indica una diferencia significativa. MM: medio mineral

Como se puede observar en la Figura 7, hubo diferencia significativa en la CE después del pulso de carga. Anteriormente se mencionó que la disminución de la CE fue mucho mayor después del periodo sin riego. La estrategia de modificar el empaque, añadiéndole perlita tuvo un impacto significativo, aunque de poca intensidad en la CE, mientras que el incrementar el TRLV no tuvo incidencia significativa. La modificación del MM1 al MM2 impactó drásticamente la CE, la cual se recuperó después de aportar el MM3. En la última fase del experimento la CE obtenida con el MM3 fue similar a la obtenida antes y después del pulso de carga (fases II y II-P). En el presente estudio, el MM3 con NH_4^+ permitió recuperar las CE obtenidas antes del periodo sin riego del biofiltro.

Globalmente, estas CE fueron inferiores ($100 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a $129 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) a las obtenidas en el biofiltro de donde fue aislado el hongo *F. solani*, que contenía un consorcio

compuesto por 11 bacterias, tres hongos y una levadura (CE máxima: $343.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$; Cruz-García *et al.*, 2019). Sin embargo, la CE fue similar a la de otros estudios, dónde se reportan valores de CE del metanol inferiores a $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, es importante mencionar que dichos trabajos no emplearon un microorganismo específico (Dastous *et al.* 2008; Ramírez-López, *et al.* 2010).

Para poder valorar el potencial del presente biofiltro fúngico conviene compararlo con lo reportado en la literatura para otros biofiltros. Así, en un biofiltro empacado con anillos de cerámica e inoculado con un consorcio (de un biofiltro previo) se obtuvo una CE máxima de $117 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, con un TRLV de 0.72 min (Omil *et al.*, 2008). Por otra parte, en un biofiltro empacado con composta y anillos de polipropileno inoculado con lodos activados, se logró una CE máxima de $101 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ con un tiempo de residencia de 2.7 minutos, para una carga de entrada de $169 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (Krailas *et al.*, 2000). En otro estudio, para un tiempo de residencia de 1.1 min, se obtuvo una CE máxima de metanol de $95 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, para una carga de $220 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, inoculando un empaque de esferas cerámicas porosas con un consorcio microbiano de un lixiviado de un biofiltro anterior (Avalos-Ramírez, 2008). De manera general se ha reportado que, en biofiltros bacterianos, la CE máxima de metanol oscila típicamente entre $50\text{-}250 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (Sológar *et al.*, 2003).

7.3.2. Eficiencia de remoción global y por módulos

La Figura 8 indica la eficiencia de remoción de metanol durante el tiempo de operación del biofiltro. También se reporta la ER del módulo superior del biorreactor, situado cerca de la entrada del aire contaminado.

Durante el periodo de arranque del biofiltro, la remoción ocurrió primero en la parte inferior del biofiltro, para ir desplazándose hacia la parte superior conforme se aclimataba el hongo y se formaba la biopelícula. En cuanto se aumentó la carga (fase II), la ER del módulo superior disminuyó progresivamente pasando de remover en promedio $88.4 \pm 3.9 \%$ del metanol entre los días 15 al 21, a remover de manera fluctuante entre $51\text{-}72 \%$ entre los días 28 a 45. Es importante mencionar que desde el

día 59 hasta el día 98 (final de fase II y fase II-P) se observó un tipo de larvas de moscas y de moscas adultas tanto en los lixiviados como en la manguera de salida del biofiltro (mosca de tipo A). Estas moscas aparecieron después de haber incrementado el riego de MM y no se observaron después del periodo sin riego del biofiltro. La presencia de estas moscas fue tres días después de la reducción de ER del módulo superior (día 56). Es posible que el contenido de humedad y la biomasa dentro del empaque hayan atraído moscas que depositan sus huevos en el empaque. Ya se ha reportado que el ciclo de vida de las moscas requiere una humedad considerable para el desarrollo larval (Costa *et al.*, 2007), esto podría relacionarse con la ausencia de moscas después del periodo sin riego.

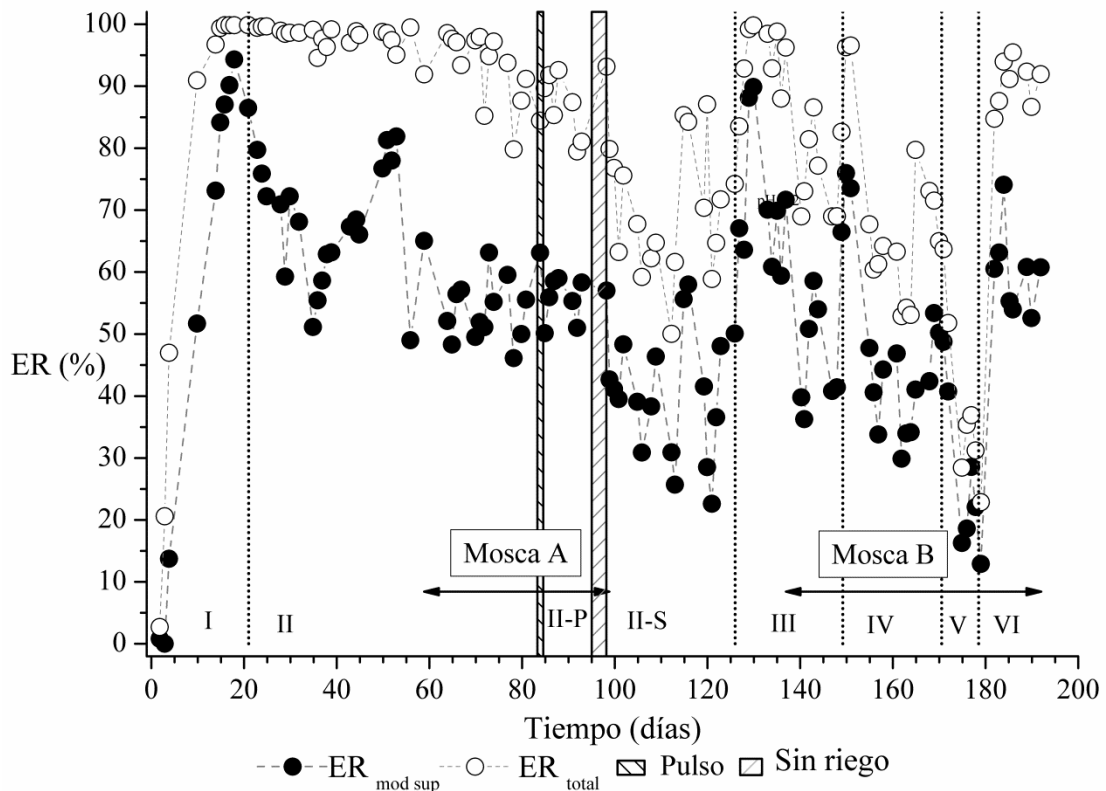


Figura 8. Eficiencia de remoción en la mitad y salida del biofiltro.

Durante el pulso de carga, la mayor degradación ocurrió en el módulo superior, manteniéndose en el rango observado en la fase II (antes del pulso). Posteriormente, la remoción en el módulo superior se mantuvo después del pulso en la fase II-P,

confirmando la baja incidencia del pulso. Por lo tanto, a la carga aplicada de $135 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, los dos módulos del biofiltro tuvieron una participación más equitativa en la remoción del metanol, comparado con la fase I, donde después de la fase de arranque del biofiltro la remoción se realizaba casi exclusivamente en el módulo superior.

Después del periodo sin riego, la ER del módulo superior disminuyó al igual que la ER de todo el biofiltro, abarcando valores en un rango de 22.6-57.9 %.

Durante la fase III, la adición de perlita en el empaque de biofiltración influyó en la ER del módulo superior, alcanzando valores incluidos entre 59.4-89.9 % entre los días 127 y 137. Sin embargo, la ER volvió a disminuir, tanto en el módulo superior como en el módulo inferior del biofiltro, obteniendo un promedio de remoción de 48.5 ± 10.7 y 75.9 ± 7.0 % respectivamente hasta la conclusión de la fase III. A partir del día 137 donde disminuyó la ER se observó un nuevo tipo de mosca y de larvas de mosca (denominada mosca B). La aparición de los dos tipos de moscas podría estar ligada a una reducción en la eficiencia de eliminación de metanol en el biofiltro. Se discutirá sobre estos organismos en la sección posterior.

Durante la fase IV, la modificación en el TRLV tuvo un impacto inicial positivo en la ER en los primeros 2 días de operación, manteniendo en promedio una ER global de 96.4 % y una ER del módulo superior de 74.8 %. Sin embargo, conforme a lo observado previamente con la CE (Figura 6), la remoción bajó considerablemente y terminó estabilizando en valores cercanos a los observados en la etapa anterior con un promedio en los días 165 al 170 de 46.8 y 72.3 % para el módulo superior y la totalidad del biofiltro, respectivamente.

Al cambiar la fuente de nitrógeno por una misma cantidad bajo la forma de NH_4Cl , la eficiencia disminuyó (fase V). Se alcanzó un valor promedio de ER de 34.5 % y 23.1 % entre los días 176 y 178 a la salida del biofiltro y en la salida del módulo superior, respectivamente. Se puede notar que, en periodo de baja eficiencia, se degrada más metanol en el módulo cerca de la entrada de contaminante que en el módulo inferior.

Finalmente, al cambiar completamente el MM2 por el MM3. La mejoría en la eficiencia de remoción fue notable y casi inmediata, alcanzando 3 días después de la

aplicación del MM3 una ER promedio de 60.1 % y 90.4 % en la mitad y en la salida del biofiltro, respectivamente.

Usualmente la mayor eficiencia de los biofiltros fúngicos reportada para el tratamiento de contaminantes hidrófobos se suele relacionar con un transporte facilitado del contaminante de la fase gas a la biomasa por presencia de micelio e hifas aéreas que incrementan el área superficial de intercambio. Además de incrementar el área de contacto con el aire, los hongos permiten una más favorable partición de los contaminantes hidrófobos entre la fase gas y la biomasa, debido a la presencia de unas proteínas hidrófobas específicas llamadas hidrofobinas, que se producen en la pared externa de los hongos filamentosos. Sin embargo, se ha reportado que los hongos adaptan su hidrofobicidad superficial en función del sustrato que consumen. En el caso del tratamiento de compuestos hidrófilos como el metanol, los hongos pueden adaptarse presentando superficies menos hidrófobas para facilitar el consumo del sustrato. De este modo, parece que algunas propiedades fisicoquímicas del hongo son influenciadas por el sustrato o contaminante a tratar, de manera que permiten una mayor solubilidad de éste en la biopelícula y mejoran el coeficiente de partición. Por lo que el carácter hidrófobo del micelio aéreo es dependiente del sustrato, y puede ser mucho menos importante en el caso de tratar compuestos hidrófilos

7.4. Presencia de moscas

Durante la operación del biofiltro se vio la presencia de moscas en todas sus fases de crecimiento (huevos, larvas, pupas y moscas), en los periodos señalados en la Figura 8. Como se indicó anteriormente, 2 especies diferentes fueron halladas en la unidad de experimentación.

7.4.1. Descripción de las especies de moscas

La primera especie de mosca era de color negro, con franjas de color café claro en el abdomen (Figura 9) y la segunda especie era de color café claro con una joroba en la parte externa (Figura 10). Estas especies se describen a continuación.

Especie A:

A partir del día 59 y hasta el día 99 de operación del biofiltro, correspondientes a la fase II (final de fase II y fase II-P), comenzaron a aparecer larvas y pupas en los lixiviados y moscas en los ductos de salida del aire del biofiltro. Los tres estadios de crecimiento se observaron en un estereoscopio (marca Carl Zeiss modelo Stemi 2000) y se encontraron las siguientes características morfológicas.

Larva: alargada de aproximadamente 5-6 mm, piel amarilla opaca y ligeramente transparente que permite ver dos tipos de sistema digestivo conectados de la cabeza a la cola, la cual tiene dos salidas cortas (en forma de cuernos) hacia arriba del cuerpo larvario. El cuerpo de la larva parece liso con segmentos en forma de anillos sobresalientes casi imperceptibles y distribuidos equitativamente a lo largo del cuerpo y que, en cada uno de ellos en la parte posterior del cuerpo, se encontraron unas pseudopatas que le ayudaban al desplazamiento.

Pupa: disminuyó su tamaño por casi 1 mm. La coloración cambió drásticamente pasando a un color café oscuro en el centro y oscureciéndose más a medida que se acercaba a las extremidades (cabeza y cola). El cuerpo mantuvo un mayor volumen de la mitad a la cola, respecto a la mitad y la cabeza, siendo esta última casi plana.

Mosca: de aproximadamente 3-4 mm de largo con cuatro franjas negras en el abdomen color café claro y una cola pequeña en forma de corona. El tórax completamente rígido liso y color negro. Tres pares de patas. Cabeza negra con ojos del mismo color y dos alas transparentes con venas visibles.



Figura 9. Etapas de crecimiento de la mosca A
a) larva; b) pupa; c) mosca.

Para esta especie de mosca A, no se pudo observar la etapa de huevo. Tampoco fue posible una cercanía a la identificación morfológica. Además, la descripción que se empleó es únicamente para reconocimiento visual, ya que no se siguió ninguna clave taxonómica, sin embargo, trataron de emplearse los términos adecuados.

Especie B:



Figura 10. Etapas de crecimiento de la mosca B.

a) huevos, b) larva, c) pupas y d) mosca

En el día 137, hasta el final del experimento, apareció la segunda especie identificada morfológicamente como *Megaselia scalaris*, de la cual se pudieron obtener los cuatro estadios de crecimiento: huevo, larva, pupa y mosca.

Huevo: Disney (2008) señala que el huevo de *Megaselia scalaris* posee una forma de barco y una barrera en el borde que tiene plaquetas planas que rodean un plastrón respiratorio con tubérculos dispersos. Además, los huevos presentaban una longitud de aproximadamente 1 mm y una coloración blanco brillante. El autor antes mencionado señala que los huevos de *M. scalaris* se depositan en medios relativamente líquidos, en

este estudio, esta fase de crecimiento fue encontrada en las paredes cercanas a la salida de lixiviados del biofiltro.

Larva: con características similares a las descritas para la primera mosca encontrada. En el caso de *M. scalaris* se observaron tres estadios en la larva que se diferencian entre sí por el tamaño que poseen siendo éste desde aproximadamente 1 a 10 mm en toda la fase. Las larvas se alimentan de materia orgánica que se encuentren suspendidas en un medio fluido en donde la mayoría de los casos el líquido es rico en microorganismos (Disney, 2008).

Pupa: conserva muchas características del tegumento larvario. La forma en la que se presenta este estado es elíptica o en forma de “píldora” (Gerhardt, R. y Hribar, L. 2019). En la parte de la cabeza posee una línea vertical por donde eclosiona. Esta sección es de aproximadamente un tercio del tamaño de la pupa. Al inicio de la fase el color de la pupa es amarillo oscuro tornándose a café oscuro conforme va madurando, además en la zona de la cabeza y conforme avanza la maduración, aparecen unos cuernos sobresalientes (Figura 10c).

Mosca: un adulto de aproximadamente 2 mm medido de cabeza a cola. El abdomen de la mosca posee cinco secciones diferenciadas entre sí por una línea delgada color café que rodea el cuerpo. En el segmento dos y tres presenta medios círculos color café claro, simulando uno ser el complemento del otro. En la parte dorsal posee una joroba característica de este tipo de moscas (Gerhardt, R. y Hribar, L. 2019). Los ojos son de color negro. Por otro lado, las seis patas que tiene son cafés con manchas negras a lo largo.

M. scalaris se alimenta de una amplia gama de materiales orgánicos en descomposición. Tiene una capacidad extraordinaria de penetrar espacios cerrados e incluso se ha encontrado en cuerpos humanos enterrados a más de 4 metros de profundidad. Además, se ha encontrado también en una serpiente conservada en alcohol. Su distribución se centra en los trópicos y climas cálidos. Estas especies habitan ambientes acuáticos o semiacuáticos en sus etapas inmaduras (Disney, 2008; Gerhardt, R. y Hribar, L. 2019).

A continuación, se reportan otros estudios de biofiltración en los cuales se observaron moscas en sus diferentes estadios, así como posibles impactos de estas en el proceso de biofiltración.

7.4.2. Observación de organismos macroscópicos en biofiltros y posible rol/impacto

Algunos organismos como protozoos, rotíferos, nematodos, ácaros y larvas de mosca han sido reportados en procesos de biofiltración (Cox *et al.*, 1999; Krishnakumar *et al.*, 2007; Bhaskaran *et al.*, 2008; Estrada *et al.*, 2013; García-Cruz *et al.* 2019). Su presencia se debe a dos causas: la primera es que estos organismos provienen del inóculo o son autóctonos del material de soporte que se emplea, principalmente aquellos que son de origen orgánico, por ejemplo, la turba, el compost, madera, etc. (Marycz *et al.*, 2022); la segunda causa es la colonización desde el exterior. Específicamente las larvas de las moscas han sido intencionalmente empleadas para el control del exceso de biomasa (Bhaskaran *et al.*, 2008), al introducirlas periódicamente al biofiltro.

Por otro lado, Won *et al.* (2004) reportaron la presencia de dos especies de moscas (en sus etapas de crecimiento) en el tratamiento de vapores de tolueno. Las moscas no se presentaron de manera simultánea, sino que apareció una seguida de otra, tal como ocurrió en esta investigación. Aunado a esto, Cruz-García *et al.*, (2019) también reportaron la presencia de larvas y moscas, afirmando su rol en el control del crecimiento de biomasa más que en el consumo o degradación del contaminante. En esta investigación se encontraron dos especies de moscas, en ambas apariciones no existió una caída de presión (que se relacionada con el crecimiento de la biopelícula).

7.5. Producción de CO₂ y mineralización

La producción de CO₂ (P_{CO2}) es un indicativo de la actividad biológica del hongo. El CO₂ es uno de los productos finales de degradación del metanol y monitorear su

producción nos permitió evaluar el grado de mineralización del contaminante. La Figura 11 muestra la P_{CO_2} durante de las diferentes etapas de operación del biofiltro.

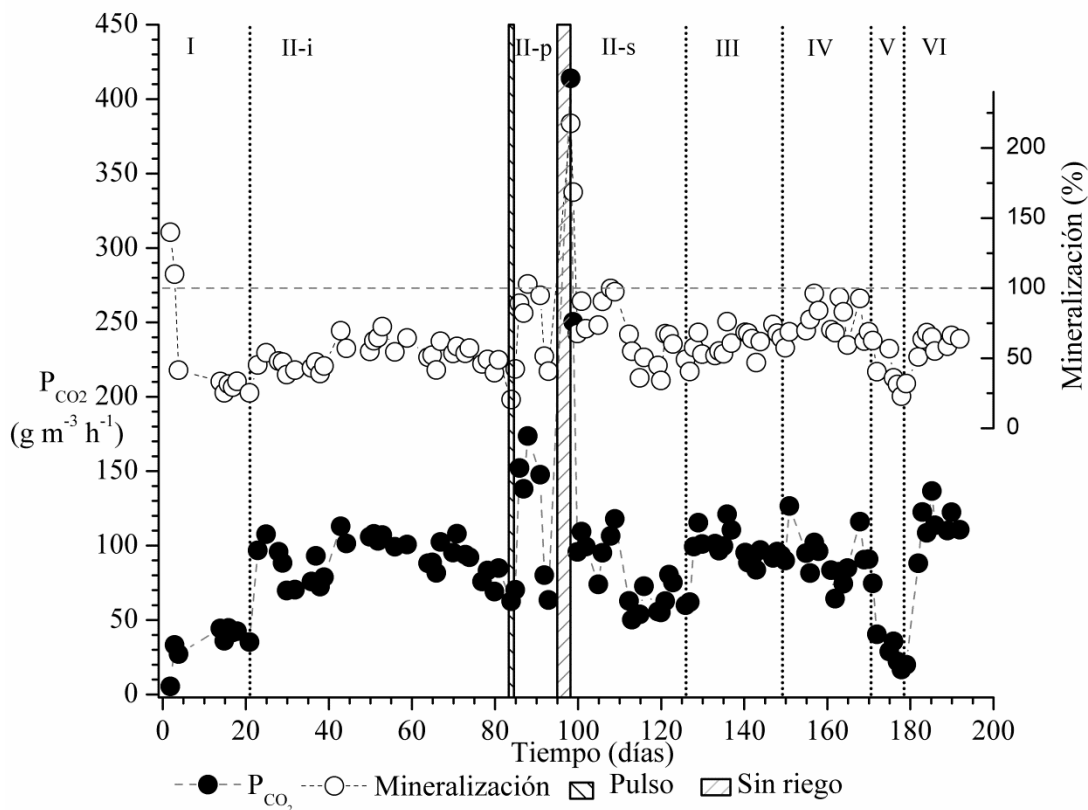


Figura 11. Evolución de la producción de CO_2 (P_{CO_2}) y mineralización de metanol.

Se puede notar cierta similitud de tendencias entre la P_{CO_2} y la CE del biofiltro (Figura 6). En particular cuando la CE es menor en las Fases I y V, la P_{CO_2} es igualmente menor. El coeficiente de correlación de Pearson entre CE y P_{CO_2} arroja una correlación positiva de 0.414, indicando baja correlación lineal pero estadísticamente significativa ($p < 0.05$, rechazando la hipótesis nula de que no hay ninguna correlación) y una proporcionalidad directa entre CE y P_{CO_2} .

Desde el día 2 de operación del biofiltro se observó una P_{CO_2} de $5.4\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$. Esta aumentó rápidamente a $33.3\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$ para el día 3. Finalmente, en la fase I, la P_{CO_2} se estabilizó en $40.8 \pm 4.1\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$, entre los días 14 y 21. Además de la P_{CO_2} , la Figura 11 indica una evolución del grado de mineralización del metanol con base en esta P_{CO_2} .

Como se explicó en materiales y métodos (sección 6.8.4.), el porcentaje de mineralización se calcula con base en una producción teórica de CO₂, estimando que todo el metanol consumido se transforma en CO₂. Por ejemplo, en la fase I, la CE promedio observada en la fase estacionaria fue de 100.0 g m⁻³ h⁻¹ (sección 7.3.1), para 40.8 g m⁻³ h⁻¹ de CO₂ producido. Dado que, por estequiometría, al degradar 1 mol de CH₃OH se puede obtener un máximo de 1 mol de CO₂ (44 g de CO₂ por cada 32 g de metanol, 1.375 g CO₂ g⁻¹ CH₃OH), la producción de CO₂ máxima teórica esperada con tal consumo de metanol es de 137.5 g. El CO₂ observado representa un 29.7 % de este valor. Como lo indica el porcentaje de mineralización diario reportado en la Figura 11, la mineralización fue superior al 100 % los 2 primeros días de operación del biofiltro (139.9 y 110.0 %). Esto se debe a que el MM1 fue inicialmente enriquecido con otra fuente de carbono para promocionar el crecimiento microbiano (glicerol), por lo que el consumo de esta fuente de carbono también generó producción de CO₂.

En cuanto se aumentó la carga de metanol, la P_{CO₂} aumentó manteniéndose en la fase II (antes del pulso) en un amplio rango de valores de 69.8 a 112.9 g m⁻³ h⁻¹. En el periodo de CE estable, la P_{CO₂} se mantuvo más estable entre los días 73-83 dando un promedio de 83.2 ± 9.5 g m⁻³ h⁻¹, correspondiendo a una mineralización de 49.1 ± 6.1 %. Por lo tanto, en la Fase II (antes del pulso), el metanol alcanzó una mineralización significativamente mayor que en la fase I (de 29.7 a 49.1 %, valor de p<0.01). Este comportamiento es usual, dado que, en las fases de arranque de los biofiltros, el carbono consumido del sustrato orgánico se destina preferentemente para producción de biomasa (anabolismo) y no para generación de energía, agua y CO₂ (catabolismo), con la finalidad de poblar el material de soporte y formar la biopelícula.

Como se expuso anteriormente, el día del pulso de carga (día 84), la CE del metanol aumentó considerablemente hasta 222.2 g m⁻³ h⁻¹ (sección 7.3.1.), sin embargo, esto no se vio reflejado por un aumento inmediato en la P_{CO₂} (62.6 g m⁻³ h⁻¹) indicando una reducida mineralización del metanol (20.5 %). La baja mineralización puede ser ligada a un crecimiento de biomasa, motivado por el aumento de la cantidad de sustrato disponible durante el pulso. En la literatura se reporta que los microorganismos pueden modificar su actividad y aumentar su crecimiento ante un pulso de carga que

incrementa temporalmente la cantidad de fuente de carbono (Metris *et al.*, 2001). Sin embargo, al día posterior al pulso se recuperó una mineralización similar a la observada antes del pulso (42.3 %) y el CO₂ incrementó casi 2 veces más que al final de la fase II antes del pulso entre los días 86 y 91, con un promedio de P_{CO2} de $152.8 \pm 15.0 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Esta cantidad de CO₂ corresponde a una mineralización del $92.3 \pm 8.8 \%$. Si bien la CE no se vio alterada por el pulso de carga (sección 7.3.1.), si se observó un considerable aumento inicial ligeramente desfasado en cuanto a P_{CO2} durante la primera semana después del pulso. Por lo que se puede estimar que, el CO₂ no solo se genera por mineralización del contaminante, también puede deberse a la oxidación de otras sustancias orgánicas. En particular, puede corresponder al consumo de productos derivados de pérdida de contenido de carbono intracelular de células dañadas o de productos de lisis de células muertas, así como de consumo de exopolímeros que conforman la biopelícula (Acuña *et al.*, 2002; Rajamanickam y Baskaran, 2017). Por lo tanto, se puede generar CO₂ tanto por biodegradación del sustrato como por carbono proveniente del decaimiento y descomposición de la biomasa cuando ésta se ve afectada por un evento externo, como el cambio de sustrato (Ferdowsi *et al.*, 2019), un periodo de inanición sin sustrato o un pulso prolongado de carga (Metris *et al.*, 2001). De manera resumida, el CO₂ proviene de la respiración de toda la biomasa. Esta respiración puede estar ligada a la oxidación del sustrato (metanol) o puede ocurrir incluso en limitación o ausencia de sustrato (respiración endógena), a partir de otras fuentes de carbono, como fuentes de carbono intracelulares o relacionadas con crecimiento críptico que ocurre cuando las células sobreviven consumiendo los productos de lisis de otras células. (Metris *et al.*, 2001). Dicho lo anterior, en el presente trabajo, la mineralización disminuyó durante el pulso de carga, usando el carbono para generar más biomasa capaz de consumir mayor cantidad de sustrato. Al regresar a la carga original presente antes del pulso, es posible que murieran células por falta de sustrato y que se generara más CO₂ por el aumento de la respiración endógena debida al consumo de material celular. Finalmente, entre los días 92 y 97, la P_{CO2} y la mineralización fueron similares a los valores obtenidos antes del pulso ($71.8 \pm 11.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $46.1 \pm 7.5\%$, respectivamente). Cabe notar que no existe diferencia

significativa en la mineralización alcanzada al final del periodo II-P y la obtenida antes del pulso (valor de $P=0.699$).

A los dos días después del paro de riego (Fase II-S), la P_{CO_2} aumentó drásticamente alcanzando los valores más altos del experimento (414.0 y 250.3 $g\ m^{-3}\ h^{-1}$, respectivamente). Estos valores corresponden a una elevada mineralización (217.6 y 168.6 %, respectivamente), por lo cual se puede estimar que tal producción de CO_2 no está únicamente ligada al consumo de metanol debido al probable estrés generado por la falta de humedad y de nutrientes que pudo causar daño y muerte celular. Además, el aumento de la P_{CO_2} puede relacionarse con el consumo del material celular liberado por lisis y el crecimiento crítico. Durante la siguiente semana (días 100 hasta 109), la mineralización en promedio fue de 99.7 ± 14.0 %, correspondiente a una P_{CO_2} de $84.4 \pm 13.3\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$. Concluyendo el tema de falta de riego, en los días 112-126, los valores de porcentaje de mineralización indicaron una transformación del metanol a CO_2 de 53.1 ± 12.4 %, sin diferencia significativa de mineralización comparado con lo obtenido al final del periodo II-P (valor de $P=0.400$). Con el reducido consumo de metanol tras el tiempo sin riego, esto corresponde a una P_{CO_2} de $62.9 \pm 10.1\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$.

Dos días después de la adición de perlita al soporte de filtración (Fase III), se observó un aumento de la P_{CO_2} , alcanzando valores promedio de $98.8 \pm 9.7\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$, entre los días 128-149, estadísticamente diferente a los $62.9 \pm 10.1\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$ observados anteriormente ($p<0.05$). Para el mismo periodo (días 128-149), el porcentaje de mineralización del metanol no es significativamente diferente al anterior con 62.0 ± 8.4 % contra 53.1 ± 12.4 % al final de Fase II-S (valor de $P=0.065$).

El aumento del tiempo de residencia (TRLV: 1.5 min, Fase IV) no pareció afectar la P_{CO_2} , observando un promedio de $91.3 \pm 15.9\ g\ m^{-3}\ h^{-1}$ (días 150-170), similar al obtenido en presencia de perlita con 1 min de TRLV (valor de $P=0.141$). En el mismo periodo con TRLV de 1.5 min el porcentaje de mineralización fue de 75.2 ± 12.9 %, significativamente mayor al obtenido con 1 min de TRLV ($P=0.004$) y a lo obtenido al final de cada etapa anterior ($p<0.05$, en todos los casos). Por lo tanto, al aumentar el TRLV no aumenta la CE (Figura 6) pero si aumenta la proporción de metanol que es completamente mineralizada.

En cambio, el remplazo de la fuente de nitrógeno por NH_4Cl produjo una disminución progresiva de la P_{CO_2} de 74.6 a 16.7 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ entre los días 171 y 178, con una reducción de la mineralización de 62.6 a 22.8 % en los mismos días. Esta disminución en la P_{CO_2} y en el porcentaje de mineralización es significativa, comparado con todas las otras etapas a la misma carga de metanol. Por lo tanto, la cantidad de NH_4Cl en el MM2 tuvo efectos adversos sobre la degradación y la mineralización del metanol.

Finalmente, el medio mineral MM3 permitió recuperar una P_{CO_2} de $117.8 \pm 10.1 \text{ g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ (días 183-192), mayor a lo obtenido a la misma carga con el mismo TRLV y MM1, y mayor a lo obtenido tras estabilizarse el CO_2 al final de todas las demás fases del experimento. Esto puede deberse, una vez más, al aumento de la respiración endógena derivada del estrés producido por el medio anterior (MM2). Sin embargo, la mineralización con el MM3 fue de $63.0 \pm 4.6 \%$ entre el día 183 y 192, el cual se encuentra en el rango de lo obtenido en las otras etapas a esta misma carga. Es importante mencionar que, en otro estudio que trataba estireno, se han obtenido resultados similares, con una tasa de mineralización casi constante para un biofiltro alimentado con nitratos y otro con amonio, a pesar de la mayor CE cuando se aportaba nitrógeno bajo la forma de amonio (Jorio *et al.*, 2000).

De manera resumida, la P_{CO_2} fue menor al arranque del experimento (fase I y fase II antes del pulso), debido al uso del carbono para producción de la biopelícula fúngica. Se notó un cierto aumento temporal del CO_2 justo después del pulso y después del periodo sin riego con MM, probablemente debido a consumo de productos liberados por daño celular ante esas condiciones de estrés. La adición de perlita mejoró la CE del metanol, manteniendo una misma mineralización de éste. El aumento de TRLV permitió mejorar el porcentaje de mineralización. En el caso del MM2, la CE y la mineralización decayeron drásticamente.

7.6. Contenido de biomasa, humedad y caída de presión en el lecho filtrante

A lo largo de toda la operación del biofiltro, cuando el empaque era únicamente AC o en combinación con perlita, la caída de presión casi nunca se pudo observar, siendo

siempre inferior o igual a $2 \text{ mm H}_2\text{O m}^{-1}$ de lecho filtrante. Este valor es muy bajo comparado con un biofiltro empacado solo con perlita, que presentó problemas operativos relacionados con caídas excesivas de presión ($65.4 \text{ mm H}_2\text{O m}^{-1}$) y taponamiento del lecho filtrante (Cruz-García *et al.*, 2019). Por lo tanto, la presencia de AC de alto grado de vacío permitió un crecimiento de biomasa que no obstruyó el paso del aire a tratar durante el largo tiempo de operación (192 días).

La Figura 12 representa la humedad y biomasa medidas en los dos módulos del biofiltro y separado por tipo de empaque. La toma de muestras se realizó los días 92, 126, 164 y 192.

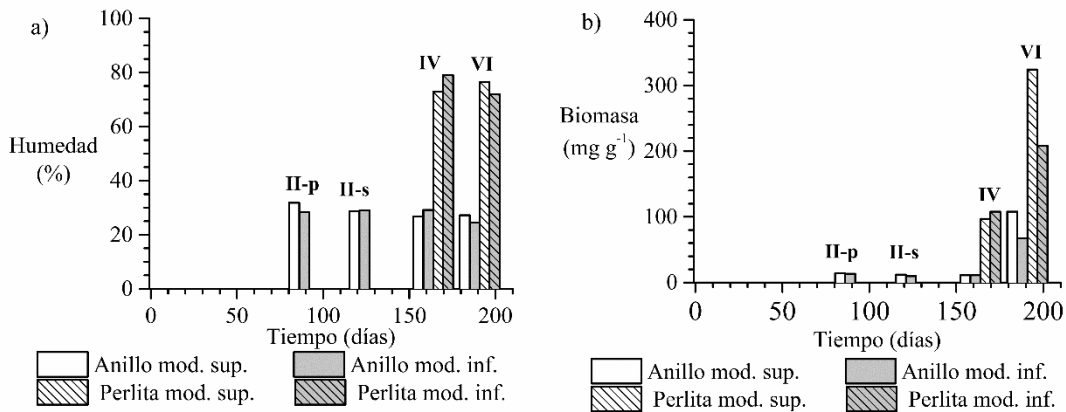


Figura 12. a) Humedad y b) biomasa en el módulo superior e inferior del biofiltro

*Encima de cada grupo de barras se indica la fase de operación de la toma de muestras correspondiente.

En el día 92 que corresponde a la etapa II del experimento, después del pulso y justo antes de la falla de riego, se midió una humedad del 31.8 % en el módulo de superior y 28.3 % en el módulo de inferior. Estos valores son superiores a la capacidad de retención de agua de los anillos de cerámica (19 %, sección 7.1). Así, la presencia de biomasa parece favorecer la retención de humedad. Tal contenido de agua puede justificarse por el alto contenido de humedad del moho (> 90 %) y por el agua retenida por capilaridad entre los anillos recubiertos de biomasa (Aizpuru *et al.*, 2005). Después de pulso de carga (día 92), se tenían 14.4 y 13.2 mg biomasa g⁻¹ de soporte en los módulos superior e inferior respectivamente. En el día 126, después del periodo sin riego (días 95-97), no hubo diferencia en cuanto a contenido de humedad (28.6 y 29.0

%), con una biomasa ligeramente inferior (12.0 y 9.8 mg biomasa g⁻¹) para el módulo superior e inferior respectivamente. En la literatura se sugiere que, debido a que la parte superior del biofiltro se encuentra más cerca y en contacto con el aire de entrada tendería a secarse más rápido (Delhoménie y Heitz, 2005), además por efecto de gravedad, el mayor contenido de humedad se suele encontrar en el módulo inferior. Sin embargo, para el presente experimento, se observan humedades muy similares en ambos módulos. El contenido de humedad dentro de los sistemas fúngicos de biofiltración es crítico para mantener un adecuado desempeño y afecta directamente el crecimiento del micelio (Vergara-Fernández *et al.*, 2012). El contenido de humedad observado está por debajo de lo usualmente recomendado en un biofiltro (entre 40 y 60 %) (Abumaizar *et al.*, 1998; Delhoménie y Heitz, 2005). Sin embargo, este nivel de humedad depende fuertemente del tipo de empaque utilizado y de los microorganismos presentes, y en función de esto, se ha llegado a preconizar rangos de humedad de 30-60 % (Mudliar *et al.*, 2010) o incluso de hasta 20-60 % (Pinnette *et al.*, 1993). Los hongos filamentosos, como *F. solani*, son más resistentes a bajos contenidos de humedad que las bacterias (Revah *et al.*, 2011; Jiménez, 2020; Kennes y Veiga, 2004). En otro biofiltro fúngico que usaba el mismo soporte de anillos de cerámica para tratar vapores de tolueno, se logró buen desempeño con un contenido de humedad siempre inferior a 38 % (16-38%, Aizpuru *et al.*, 2005). Por otro lado, la biomasa suele estar en mayor cantidad en el módulo situado cerca de la entrada de aire contaminando del biofiltro, al estar más en contacto con los nutrientes y el contaminante (Aizpuru *et al.*, 2005). En el presente estudio, se observa tal efecto (Figura 12 b) para los dos primeros muestreos de los anillos de cerámica. La poca diferencia entre el muestreo antes y después del periodo sin riego sugiere poco impacto de la falta de riego (un mes después de éste) en lo que se refiere a contenido de biomasa. Sin embargo, la estimación de la biomasa por sólidos volátiles solo permite estimar la materia orgánica total, sin diferenciar entre biomasa activa e inactiva (muerta o dañada).

En el día 164, el empaque consistía en una combinación de los anillos de cerámica con la perlita, con un TRLV de 1.5 min. Los anillos mantuvieron una humedad similar a la de fase II, con valores de 26.7 y 29.1 %. La reducción del riego de MM, realizada a la par de la disminución del flujo de aire permitió mantener una misma humedad en este

soporte microbiano. La humedad de la perlita alcanzó 72.9 y 79.0 % (módulo superior e inferior, respectivamente), por su mayor capacidad de retención de agua. Como en el caso de los AC, la presencia de biomasa puede justificar una mayor retención de agua por capilaridad y adherencia entre granos de perlita que con lo obtenido en el soporte sin microorganismos. Un contenido de agua similar fue observado en un biofiltro que trataba metanol, con la misma perlita, alcanzando valores de 73 % (Cruz-García *et al.*, 2019). El contenido de biomasa para ese día fue distribuido homogéneamente en los AC, con 11 mg biomasa g^{-1} cuantificado para ambos módulos. Estos valores permanecen en el rango encontrado en las muestras previas (día 92 y 126), indicando poca influencia del aumento de TRLV en el contenido de sólidos volátiles de los anillos. En relación con los AC, la perlita tuvo un contenido de biomasa hasta 10 veces mayor, con 97 y 108 mg biomasa g^{-1} en el módulo superior e inferior, respectivamente. La cantidad de biomasa cuantificada se encuentra dentro de los valores reportados en la literatura, para AC el intervalo reportado es de 25 a 58.4 mg biomasa g^{-1} (Aizpuru *et al.*, 2005) y para la perlita el intervalo es de 37 a 247 mg biomasa g^{-1} (Cruz-García *et al.*, 2019).

En el día 192, al final de la operación del biofiltro, se midió un 27.2 y 24.4 % de humedad en los anillos de cerámica en el módulo superior e inferior respectivamente, mientras que para la perlita un 76.5 y 72.0 % en el mismo orden; de nueva cuenta y ligeramente se tuvo mayor humedad en el módulo superior, justo como en la primera muestra medida. En el mismo día, se tuvieron 108 y 67 mg biomasa g^{-1} de soporte para los anillos de cerámica en el módulo superior e inferior respectivamente, mientras que la perlita mantuvo valores de 324 y 208 mg biomasa g^{-1} de soporte en el mismo orden, siendo 3 veces superior al contenido de los AC. Esto representa un aumento de biomasa respecto al día 164, con valores 9.8 y 3.3 veces mayores, para la perlita y los AC, en el caso del módulo superior. Para el módulo inferior, la biomasa aumentó 6.1 y 1.9 veces, respectivamente. Se puede notar que el aumento de biomasa fue para ambos soportes y los dos módulos, con un aumento más importante en la perlita, que tiene mayor CRA. Los valores obtenidos correspondían a una ER de la totalidad del metanol entrante de 61 % y 92 % en el módulo superior e inferior, es decir con la mayoría del metanol tratado en el módulo superior, que contenía más biomasa. Aunque los días 164 y 192

presentaban las mismas condiciones operativas ($Q=1.6 \text{ L min}^{-1}$, TRLV: 1.5 min), el medio mineral fue completamente diferente en ambos días.

A pesar de que la humedad de los biofiltros está regularmente reportada como porcentaje en peso de agua por gramo de soporte húmedo y que la biomasa se suele reportar como mg g^{-1} de soporte, estos valores no permiten darse una idea directa del contenido de agua o de biomasa realmente presentes en el biofiltro, sobre todo en presencia de varios soportes de diferentes densidades y en diferentes proporciones. La Figura 13 reporta la cantidad de agua (Figura. 13a) y de biomasa (Figura. 13b) efectivamente presentes en los soportes, así como el acumulado de agua y biomasa presentes en todo el biofiltro para los diferentes muestreos realizados. Los datos de humedad total se obtuvieron con base en los porcentajes de humedad y a la masa de cada soporte seco presente en cada módulo al momento del muestreo (de manera análoga a la Ecuación 17). La biomasa total se calculó con base en el contenido de biomasa observado por gramo de soporte y a la cantidad de soporte presente en cada módulo al momento del muestreo.

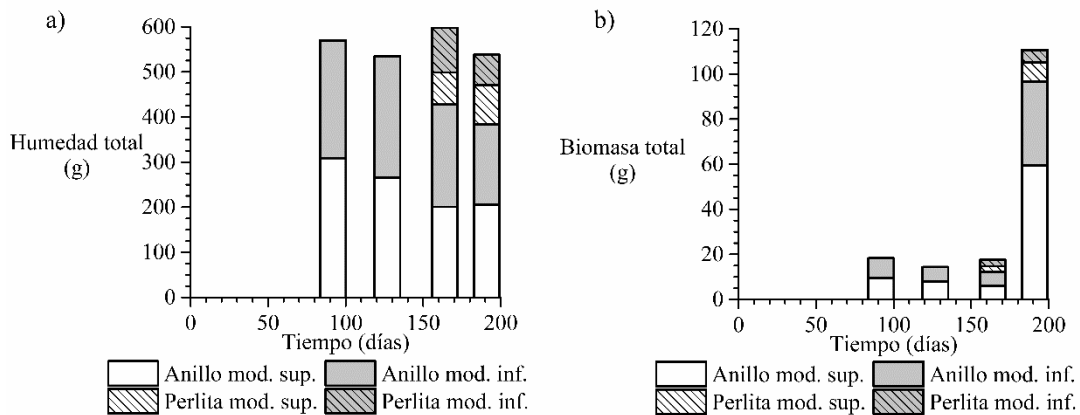


Figura 13. a) Humedad y b) biomasa total contenida por módulo y tipo de soporte

Como se puede observar en la Figura 13a, en los días de muestreo, el contenido global de agua dentro del biofiltro se mantuvo en un rango de 534.8 a 598.1 g, con un promedio de $560.3 \pm 29.8 \text{ g}$. La desviación estándar alcanzó tan solo 5.3 %, lo que indica que, independientemente del TRLV y de la presencia o no de perlita, el contenido total de agua se mantuvo constante para los 4 muestreos dentro del biofiltro. En promedio, los anillos de cerámica contenidos en los dos módulos almacenaban

552.4 ± 24.9 g de agua para los dos primeros muestreos cuando había 2.4 L de AC en el biofiltro, contra 405.8 ± 30.7 g de agua después de remplazar 0.4 L de anillos por perlita (2 L de anillos conservados). Esto corresponde a una cantidad de 230.2 ± 10.4 y 202.9 ± 15.3 g_{agua} L⁻¹ de anillos de cerámica, lo que no representa una diferencia significativa ($P=0.17$). Por lo tanto, la disminución del contenido de agua en los AC en las etapas IV y VI se debe principalmente al menor volumen de anillos presente al remplazarlos por perlita en el material de empaque del biofiltro. Así, se confirma que el aumento del TRLV y la reducción del flujo de aire no provocaron una disminución significativa del agua retenida en los anillos, dado que también se disminuyó el riego de manera proporcional.

En cuanto al contenido de agua presente en la perlita (sumando los dos módulos) en las etapas IV y VI, se tuvo un promedio de 162.3 ± 11.8 g_{agua} en los 0.4 L de perlita, lo que corresponde a una retención de 416.2 ± 14.7 g_{agua} L⁻¹ de perlita. Por unidad de volumen, la perlita almacenó alrededor del doble de agua que los AC, sin embargo, la proporción reducida de perlita en el empaque (1/5, v/v), no permite observar diferencia significativa en cuanto a retención total de agua en la totalidad del biofiltro empacado con solo AC y en combinación con perlita. Al igual que lo observado para el porcentaje de humedad, los valores de peso de agua por litro de soporte son superiores a los que se puede obtener en los soportes exentos de biomasa (sección 7.1) y se confirma que la presencia de biomasa altera la CRA de los soportes.

En cuanto a biomasa, se puede observar en la Figura 13b que la cantidad total presente en el reactor se mantuvo relativamente estable para los tres primeros muestreos (hasta el día 164 incluido), alcanzando un valor promedio de 16.7 ± 2.1 g. Sin embargo, para el día 192 al cambiar el MM, la biomasa aumentó drásticamente, alcanzando un total de 110.6 g. A pesar de tener un mayor contenido de biomasa en la perlita en mg g⁻¹ de soporte (Figura 12b), la mayor proporción de AC (5/1, v/v) aunado a su mayor densidad, hacen que la mayor parte de la biomasa se cuantificara en los AC, sumando un total de 96.6 g para los dos módulos contra únicamente 14.0 g para la perlita. El aumento de biomasa en el último muestreo (pasando de 16.7 a 110.6 g) podría estar relacionado con el cambio de la fuente de nitrógeno que fue remplazada por amonio en

lugar de nitratos antes del último muestreo del empaque del biofiltro. Ya se ha reportado que la fuente de nitrógeno utilizada tiene un impacto directo en el crecimiento de los hongos (Celar, 2003). La recuperación de la CE de metanol puede estar relacionada con este fuerte crecimiento de la población fúngica en presencia de amonio. Como se indica en otro estudio, el crecimiento microbiano y la densidad poblacional están íntimamente ligados con el desempeño de un biofiltro (Lee *et al.*, 2008).

7.6.1. Capacidad de eliminación basada en biomasa (CEBB)

Se pueden comparar los resultados del presente estudio con los obtenidos en el biofiltro que contenía un consorcio microbiano (Cruz-García *et al.*, 2019) de dónde fue originalmente extraída la cepa de *F. solani* utilizada en este estudio. La CE máxima observada en el biofiltro microbiano fue mayor, alcanzando hasta $343.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Adicionalmente, se observó una alta eficiencia de remoción (promedio de 98.9 %) para una carga de $211.1 \pm 17.9 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, con un mismo TRLV de 1 min. En el caso del presente estudio, inoculado con *F. solani*, no se pudo alcanzar una ER similar, aun cuando se operó a una carga menor ($135.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) en la fase II. Por lo tanto, se podría pensar que el consorcio microbiano fue más eficiente que la cepa fúngica aislada. Sin embargo, no es tan evidente comparar el desempeño entre sistemas con diferente densidad de población microbiana, por lo cual algunos estudios sugieren evaluar el desempeño en términos de capacidad de eliminación basada en biomasa (CEBB, $\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), es decir expresando la eliminación en gramos de contaminante removido por g de biomasa presente, por hora (Palomo-Briones *et al.*, 2015; Jiménez, 2020). Antes del periodo sin riego (fase II-P), la cantidad total de biomasa en el biofiltro fue de 18.26 g (día 92, Figura 13b), con una capacidad de eliminación promedio de metanol de $118.4 \pm 7.1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Dado el volumen de 2.4 L del biofiltro, esto equivale a remover 0.284 g h^{-1} de metanol. Si se reporta esta remoción como CEBB, en la fase II-P equivaldría a una CEBB de $1.56 \times 10^{-2} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Tal eliminación de metanol se pudo mantener durante un periodo prolongado, antes del periodo sin riego del lecho filtrante. Si se hace un cálculo similar, pero considerando la CE máxima obtenida al momento del pulso (222.2

$\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$) y conservando la misma biomasa, dada la poca variación observada antes de introducir el MM3 (Figura 13b), se obtiene una CEBB de $2.9 \times 10^{-2} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Este valor es 1.7 veces mayor al valor de CEBB calculado para el biofiltro con el consorcio de donde fue extraída la cepa, en el momento de la máxima CE obtenida ($1.66 \times 10^{-2} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$; Cruz-García *et al.*, 2019 citado en Jiménez, 2020). Así, para una cantidad dada de la cepa *F. solani* aislada, se tiene una capacidad de remoción de metanol mayor a lo que se obtendría con la misma cantidad de biomasa del consorcio. De hecho, en el caso del consorcio, al momento de obtener la CE máxima, se tenían 49.58 g de biomasa presente (promedio de 141 mg g^{-1} de perlita, para un biofiltro de mismo volumen (2.4 L), con una densidad de perlita 146.5 g L^{-1} ; Cruz-García *et al.*, 2019 citado en Jiménez, 2020). Esta cantidad total de biomasa es hasta 2.7 veces superior a la obtenido en el biofiltro fúngico actual, al momento del pulso. Por lo tanto, la mejor degradación obtenida en el consorcio se debe más a la cantidad de biomasa presente que a la eficiencia intrínseca del tipo de microorganismos involucrados. Se afirma que la tasa de eliminación de un biofiltro es el resultado de la tasa eliminación microbiana y del tamaño de la población microbiana (Yang *et al.*, 2002).

El valor de CEBB obtenido en este estudio ($2.9 \times 10^{-2} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) está en el mismo rango de magnitud que lo obtenido en otros estudios. Así, en un estudio en lote que trataba metanol donde se evaluó el potencial de varias cepas fúngicas, se obtuvo una CEBB entre 1.04×10^{-2} y $1.91 \times 10^{-2} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para *F. solani* (Jiménez, 2020). En el caso de tres biofiltros inoculados con una levadura (*Pichia pastoris*), que arrojaron CE máximas muy altas que van de 330 a 643 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$, se calculó una CEBB entre 0.95×10^{-2} y $1.93 \times 10^{-2} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Palomo-Briones *et al.*, 2015). Por lo tanto, en términos de CEBB, la eficiencia de *F. solani* es congruente y competitiva con la literatura.

7.7. Análisis de lixiviados

La Figura 14 representa el pH, el carbono inorgánico (CI), el carbono orgánico (CO) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) medidos en los lixiviados y el recirculado semanal durante la experimentación.

En cuanto al pH, tanto en los lixiviados como en los recirculados, este se mantuvo en un intervalo de 6.4 a 9.5 (Figura 14-a), con una mayoría de pH básicos. Una ventaja que presentan los hongos es la capacidad de resistir a condiciones variables de pH, sin embargo, mantienen una mayor y mejor actividad en un pH ácido de 2 a 7 (Zhai *et al.*, 2017).

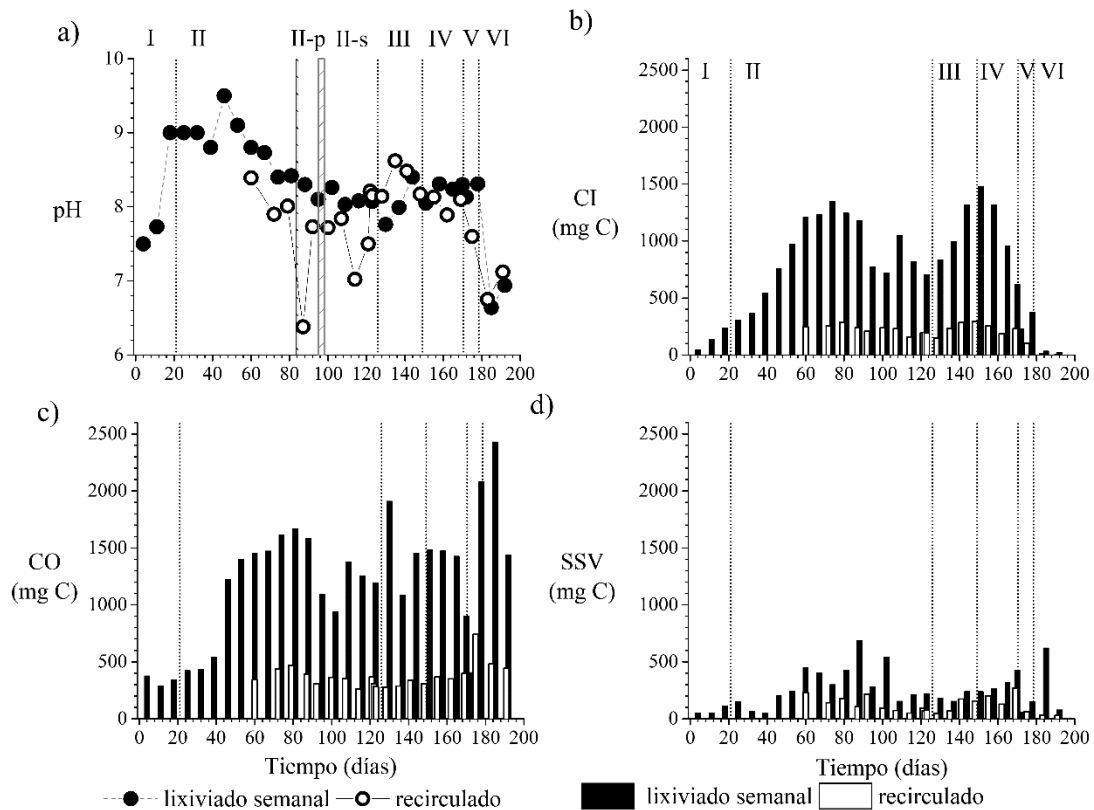


Figura 14. Análisis del lixiviado semanal y del recirculado del biofiltro

a) pH, b) carbono inorgánico (CI), c) carbono orgánico (CO) y d) sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Considerando el pH del lixiviado semanal, durante la dos primeras semanas se midió un valor cercano al del medio mineral (pH: 7) observando pH de 7.5 a 7.7. Sin embargo, a la tercera semana de operación, el pH incrementó a 9. La alcalinidad observada se debe al uso de nitratos que cuando se encuentran con moléculas de agua liberan hidroxilos (OH^-) (Wang *et al.*, 2012; Jiménez *et al.*, 2016). Así, entre el día 11 y 18, la degradación casi completa del metanol (Figura 5), y el consecuente consumo de nitratos, aumentaron el pH de los lixiviados (colectados el día 18) 1.3 unidades. En la etapa II, el pH de los lixiviados se mantuvo alcalino en un rango de 8.4 a 9.5. El valor

máximo del pH, que fue también el máximo de todo el experimento, fue alcanzado en los lixiviados colectados el día 46. El pH comenzó a disminuir ligeramente a partir del día 60, cuando se inició con el recirculado de medio mineral una vez a la semana. A partir del día 74, hasta el cambio de medio por el MM3 (día 178), el pH de los lixiviados se mantuvo relativamente estable, con un promedio de 8.2 ± 0.2 . Es interesante notar que el remplazo de los nitratos por una misma cantidad de nitrógeno bajo la forma de amonio (MM2), durante una semana, no disminuyó el pH de los lixiviados, que se mantuvo en un valor promedio de 8.2 ± 0.1 (etapa V), aun cuando el amonio es una fuente de nitrógeno de carácter ácido y el consumo de NH_4^+ conlleva a la liberación de protones, en medios débilmente amortiguados (Jin *et al.*, 2007b). En la etapa V, la remoción era baja, por lo cual no se acidificó tanto el medio por consumo de NH_4Cl . El pKa de la pareja acido-base $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ es de 9.2. De manera simplificada, para poder conocer la distribución de estas especies, se puede considerar únicamente la ecuación de Henderson-Hasselbalch, lo que da, para esa pareja:

$$pH = pKa + \log \frac{[\text{NH}_3]}{\text{NH}_4^+}$$

Esto indica que, a un pH de 8.2, la proporción de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ es de 1/10 (con un porcentaje de 9.1 y 90.9%, respectivamente). Dada la alta cantidad de NH_4^+ en el MM2 (11.24 g L^{-1}) y el pH de los lixiviados, el lecho filtrante contenía cierta presencia de amoníaco (NH_3), cuyo olor fuerte y característico se percibió en los lixiviados durante la fase V. Tal presencia de amoníaco en el lecho puede disminuir la eficiencia de remoción, inhibiendo el consumo de los COVs (Sheoran *et al.*, 2022) y explicando la baja remoción observada con el MM2. Así se ha observado que el tratamiento de NH_3 por biofiltración es particularmente difícil, dado que altas cargas de amoníaco pueden causar inhibición microbiana. Esto se debe a la acumulación en el empaque del biofiltro de NH_3 , a veces reportado como amoníaco libre y que es mucho más tóxico para los organismos que NH_4^+ (Baquerizo *et al.*, 2005). La concentración inhibidora de NH_3 parece estar relacionada con otros factores, como el tipo de empaque en el biofiltro y su capacidad de sorción (Pagans *et al.*, 2007). Cuando el biofiltro trata COVs, la presencia de amoníaco libre puede disminuir significativamente la remoción de éstos

(Rolewicz-Kalińska *et al.*, 2021). Por ejemplo, cuando se aportó NH_3 a un biofiltro que trataba dimetilsulfuro (Me_2S) la remoción bajó de 200 a menos de $10 \text{ g m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Smet, 2000). Por lo tanto, al aportar amonio, es muy importante mantener un pH muy por debajo del pKa con la finalidad de evitar la formación del NH_3 , que puede ser inhibitorio. Además, como lo reportado anteriormente (sección 7.3.1), altas concentraciones de NH_4Cl pueden también ser inhibitorias.

El cambio por el MM3 provocó una acidificación de los lixiviados, debido a la fuente de nitrógeno de carácter ácido (NH_4^+) obteniendo valores de 6.6 y 6.9. Así, un medio que contiene amonio en vez de nitratos conlleva a una mayor acidificación durante el crecimiento fúngico. En presencia de NH_4Cl , el nitrógeno del amonio es usado por los hongos, liberando ácido clorhídrico (Kennes y Veiga, 2004). Así ya se ha reportado que el pH dentro del biofiltro puede cambiar si se usan diferentes formas de nitrógeno. En particular, durante el tratamiento de clorobenceno el pH disminuyó de 7.0 a 6.3–6.6 al cambiar la fuente de nitrógeno de NO_3^- a NH_4^+ (Wang *et al.*, 2009). En este estudio el MM3, por su naturaleza, impidió un cambio brusco de pH, ya que contiene un ácido y una base conjugada (HPO_4^{2-} y H_2PO_4^-), constituyendo un amortiguador de pH que se asemeja al buffer de fosfatos usualmente utilizado para mantener un pH cercano a 7.

El pH del recirculado fue generalmente menor al obtenido en el lixiviado semanal, manteniéndose en un rango de 6.4 a 8.6. El menor pH fue observado durante la recirculación de medio realizada justo después del pulso de carga (día 87), pasando de un promedio de 8.1 ± 0.3 en los 3 recirculados anteriores a un valor de 6.4. Una acidificación de los lixiviados puede ocurrir en periodos de baja ER y/o después de un evento perturbador. Esta disminución del pH puede deberse a muerte celular, liberación de productos de lisis celular y/o acumulación de subproductos ácidos de la degradación del COV. En particular, en el caso de la biofiltración de metanol, se lleva a cabo la transformación pasando por formaldehído y después ácido fórmico (Arriaga *et al.*, 2012; Cruz-García *et al.*, 2019). Así, a pesar de no notar un cambio mayor en la CE después del pulso, se originó cierta perturbación que se tradujo en la acidificación de los recirculados, probablemente debido a acumulación de ácido fórmico. De manera similar, en un estudio de biofiltración de formaldehído se observó cierta inhibición en la remoción a altas cargas y una acidificación relacionada con acumulación de ácido

fórmico (García-Pérez *et al.*, 2013). El pH de los 3 siguientes recirculados fue estable y ligeramente básico, con un promedio de 7.8 ± 0.1 indicando que la recirculación una vez a la semana es eficiente para eliminar subproductos o compuestos ácidos acumulados en el lecho filtrante. Tales lavados del empaque del biofiltro ya se han realizado para eliminar acidez acumulada en el biofiltro (García-Pérez *et al.*, 2013). En el recirculado del día 114, el pH disminuyó hasta 7. Esta disminución de pH está ligada con la reducción de la CE tras el fallo de riego (Figura 5, fase II-S). Ante esto, para eliminar acumulación de posibles subproductos inhibidores o remanentes de lisis celular, se decidió realizar un recirculado de medio mineral durante 3 días consecutivos (día 121, 122 y 123). El pH aumentó desde el primer recirculado, para igualarse con los valores regularmente observados en el lixiviado recogido semanalmente (promedio de 8.2 en los días 122 y 123). Una vez más, se comprobó que el lavado del lecho filtrante permite regular el pH cuando este se aleja de los valores usuales, tras un evento perturbador. El pH de los primeros recirculados después de añadir perlita al empaque de filtración fue ligeramente más básico que los del lixiviado semanal (fase III). Durante la fase IV, el pH de los recirculados se mantuvo en 8.0 ± 0.1 . En la fase V, el pH del recirculado se redujo hasta 7.6 con el cambio de nitratos por amonio, para llegar a 6.9 ± 0.3 en la fase VI, con el MM3.

Globalmente, se ha reportado que las tasas de crecimiento y el rendimiento suelen ser mayores con amonio que con nitrato (Kennes y Veiga, 2004). Sin embargo, los biofiltros fúngicos suelen presentar mayor capacidad de eliminación en un rango de pH de 4 a 7 (Zhai *et al.*, 2017). Ambas situaciones (pH más ácido y uso de NH_4^+) pueden explicar la recuperación de la CE durante la fase VI (Figura 5). Cabe recordar que el amplio crecimiento de biomasa en la fase VI está también ligado con el uso de NH_4^+ y el mejor rendimiento.

La Figura 14b reporta el carbono inorgánico (CI) presente en los lixiviados y recirculados. Este carbono inorgánico se relaciona con parte del CO_2 producido durante la biodegradación del COV, que se puede acumular como carbonatos o bicarbonatos, sobre todo a pH básicos (Baskaran *et al.*, 2020). En los lixiviados, se recolectaron cantidades muy variables de CI (entre 25 y 1 345 mg C). Hasta el día 60, los valores

de CI en los lixiviados incrementaron regularmente de 42 hasta 1 207 mg C. A partir del día 60, hasta el día 165, el CI se mantuvo variando en un rango promedio de 1073 ± 249 g C. Al introducir el MM2, los valores de CI bajaron hasta 226 y 372 mg C. Al cambiar al MM3, estos se redujeron hasta 29 ± 6 mg C. Cabe señalar que en el pH de los lixiviados del MM3 (inferiores a 7), el CO₂ producido por *F. solani* ya no se solubiliza tan fácilmente en el medio líquido.

En el día 60, se recuperó el primer recirculado diario de medio mineral. Entre el día 60 y 169, se recuperaron $2\,226 \pm 42$ mg C en estos recirculados bajo forma inorgánica. Como en el caso de los lixiviados semanales, los valores de CI obtenidos en la etapa VI fueron mucho menores (5.2 ± 2.6 mg C). Como se puede observar, se lixiviaba menos CI inorgánico en el recirculado que durante el riego de toda la semana.

En la Figura 14c y 14d, se presenta la tendencia del carbono orgánico (CO) que se encontró en mayor cantidad respecto a los sólidos suspendidos volátiles (SSV). De manera general, se puede observar que la cantidad de CO disuelto es mucho mayor al carbono en suspensión. Para los lixiviados semanales, los rangos observados abarcan valores de 291.5 a 2 429.8 mg C para el CO y de 46.9 a 686 mg C para los SSV. Para los recirculados los valores son inferiores, con rangos de 263.4 a 740.6 mg C para el CO y 28.2 a 270.1 mg C para los SSV. Por lo tanto, la materia orgánica que se recupera en fase líquida está mayoritariamente en forma disuelta, así como se ha observado en otro biofiltro que trataba metanol (Cruz-García *et al.*, 2019). Inicialmente el CO se mantuvo estable hasta el día 32 (es decir durante la fase I e inicios de la fase II), con un promedio de 373 ± 58 mg C. Con el aumento de carga a partir de la fase II y el aumento del volumen diario de riego a partir del día 48, el CO se estabilizó entre los días 53 y 88 en $1\,533 \pm 105$ mg C. El pulso de carga al día 84 no se tradujo en un aumento significativo del CO recuperado en los lixiviados esa semana (día 88: CO de 1 585 mg C). Entre los días 95 y 97 la falta de riego repercutió en un menor contenido de carbono lixiviado los días 95 y 102 con una recuperación de 1 094 y 940 mg C disueltos en los lixiviados semanales. Al terminar la fase II (días 109-123), el CO se estabilizó en $1\,272 \pm 93$ mg C. El primer lixiviado semanal obtenido al añadir perlita en el soporte microbiano (día 130) fue mayor a lo observado anteriormente, alcanzando

1 908 mg de carbono orgánico recuperado. El aumento de la lixiviación de materia orgánica disuelta puede deberse al hecho que la biopelícula fue físicamente alterada al momento de realizar la mezcla de los empaques. Los valores de los siguientes lixiviados semanales fueron estabilizándose en $1\,385 \pm 169$ mg C (días 137-165), sin notarse una alteración al modificar el TRLV (fase IV). Los valores obtenidos al final de la etapa IV e inicio de la etapa V están alterados por el hecho que entre la semana correspondiente a los días 165-172 se realizó un cambio de MM, al pasar al MM2. Así, el cambio de medio se realizó al día 170 y el lixiviado semanal fue recolectado ese día antes de modificar el MM (2 días antes de cumplir 7 días). Eso explica el menor valor de CO observado al día 170 (905 mg C para 5 días de recolección), que manteniendo proporciones corresponde a 1 267 mg C, si se hubiese colectado al cabo de 7 días, lo que no arroja diferencia significativa con los lixiviados anteriores. Al cambiar el MM, se volvió a tomar el lixiviado el día originalmente previsto, es decir el primer lixiviado con el MM2 se tomó al cabo de 2 días después de cambiar el medio (día 172), por lo cual se observó menos CO en esa toma. En la segunda toma con el MM2 (día 178), se observó el segundo mayor CO de todo el experimento (2 080 mg C). Después de cambiar al MM3, se siguieron observando valores altos de CO, con el mayor valor de todo el experimento (día 185: 2 430 mg C). Para el último muestreo, el CO regresó a valores observados en etapas anteriores (1 436 mg C), pudiendo indicar el regreso a una operación normal del biofiltro. En cuanto a CO medido en los recirculados éstos se mantuvieron bastante estables hasta el día 169 con valores promedio de 345 ± 55 mg C. Al cambiar el MM por el MM2, se obtuvo el mayor valor de CO (740.6 mg C), antes de regresar a los valores usuales al surtir el MM3. Así, tanto para los lixiviados semanales como para los recirculados, se notó un aumento significativo de CO después de usar el MM2 (fase V e inicios de fase VI). Es importante señalar que tal aumento del carbono orgánico disuelto se relaciona con un empeoramiento del desempeño del biofiltro en esta etapa V. Ya se ha observado que un aumento del CO disuelto puede ocurrir en periodos de bajo desempeño (Cruz-García *et al.*, 2019). El bajo rendimiento en la fase V, debido al impacto ya discutido del MM2, puede ser responsable del aumento de CO disuelto, por lixiviación de productos de lisis celular causados por el amoníaco presente en el lecho filtrante.

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) representan a la materia orgánica (hongos, fragmentos de hongos, etc.) no disuelta en los lixiviados. Jiménez *et al.* (2016), señalan que no hay una diferencia entre biomasa activa o inactiva cuando se cuantifican los sólidos suspendidos, por lo que parte de la biomasa cuantificada puede pertenecer a exopolisacáridos, fragmentos de células derivados de lisis o células deterioradas (Cruz-García *et al.* 2019). En los lixiviados semanales hasta el día 39, se observaron valores de SSV en el rango de 47 a 150 mg C. A partir de la toma del día 46 y hasta el día 102, estos valores fueron superiores (206-686 mg C). Esto podría estar en parte relacionado con la aparición de las moscas que pueden causar liberación de una fracción orgánica suspendida en los lixiviados (fragmentos de los diferentes estadios de las moscas, o desechos sólidos generados por su presencia y desarrollo). La mosca A fue observada a partir del día 59 y hasta el día 99. Como las moscas pasan de huevo a adulto en 2 a 3 semanas (Cruz-García *et al.*, 2019), el aumento del contenido de SSV puede ser anterior a la observación de las moscas adultas. Entre el día 109 y 137 cuando no se observaron moscas, los SSV abarcaron valores de 154-223 mg C. De manera similar a partir del día 137 los valores de SSV aumentaron, coincidiendo con la aparición del segundo tipo de moscas (mosca B), arrojando valores crecientes en cada toma que van de 238.5 a 424 mg C entre el día 144 y 170. De manera similar, en los SSV presentes en los recirculados, también se observó una disminución del día 100 al 135 (promedio de 72.2 ± 18 mg C), comparado con el periodo anterior (174.6 ± 52 mg C, días 60-92) y posterior (185.9 ± 54 mg C, días 141-169). Por lo tanto, la presencia de macroorganismos en el lecho filtrante parece estar ligada con un aumento de SSV.

En la etapa V, los SSV disminuyeron y en particular que el segundo valor más alto de CO observado al día 178 corresponde a un valor bastante bajo de SSV (158 mg C). Sin embargo, la siguiente toma (día 185, etapa VI) es una de las que arrojó mayores SSV (620.5 mg C). En la toma final (día 192), los SSV solo fueron de 78 mg C. Por lo tanto, parece que el cambio de MM en las etapas V y VI afectó los SSV, dando resultados más fluctuantes, comparado con lo usualmente observado cuando se mantenía el MM1. En cuanto a los SSV en los recirculados, estos fueron muy reducidos al cambiar el MM, dando valores promedio de 39.0 ± 18.4 mg C considerando las etapas V y VI.

7.8. Balance de carbono

El balance de carbono fue calculado con base en las muestras tomadas en el día 92, 126, 164 y 192 y los gramos de carbono obtenidos para cada parámetro se muestran en la tabla 6. En la tabla se observan las cuatro formas en las que se destinó el carbono del metanol: CO₂, SSV, COT y biomasa. Se puede observar que los porcentajes de recuperación, es decir los gramos de carbono totales encontrados en esos cuatro destinos reportados a los gramos de carbono del metanol removido, son siempre inferiores al 100 %. Así, en los cuatro muestreos, se tuvo una recuperación que va de 68.34 a 89.95 %. Una discrepancia entre los gramos de carbono recuperados y los gramos de carbono consumidos es usual. Tal discrepancia, en exceso o en defecto, es típicamente de 10 a 50 % (Bordoloi y Gostomski, 2015). Por lo tanto, el balance de carbono obtenido en el presente estudio es acorde a lo observado en la literatura. En promedio para los cuatro muestreos, no se pudo estimar el destino de 22.0 ± 9.1 % del carbono eliminado. En un estudio anterior que trataba metanol en un biofiltro, se obtuvo un exceso sistemático de 22.5 ± 3.5 % en el balance de carbono, encontrando sistemáticamente en la suma de los destinos del carbono más carbono del removido (Cruz-García *et al.*, 2019). En la presente investigación, los balances presentaron un faltante sistemático, lo que puede indicar una subestimación de uno o varios destinos del carbono eliminado (CO₂, biomasa, carbono lixiviado). Por otro lado, el carbono presente en los diferentes estadios de desarrollo de las moscas (huevos, larvas, pupas, y moscas adultas) no fue cuantificado y que éstas consumen parte del carbono presente en el biofiltro.

Tabla 6. Balance de carbono en diferentes días de operación del biofiltro

Día	Metanol entrante (gc)	Metanol removido (gc)	CO ₂ (gc)	SSV (gc)	COT (gc)	CI (gc)	Biomasa (gc)	Total (gc)	Recuperación (%)
92	251.34	232.34	117.87	4.34	15.87	11.58	9.13	158.79	68.34
126	353.05	306.87	178.03	5.93	22.57	16.08	7.20	229.81	74.89
164	461.72	393.63	234.31	8.10	33.32	24.38	9.99	310.10	78.78
192	545.33	449.51	269.37	9.81	42.64	25.99	56.51	404.33	89.95

gc: gramos de carbono, SSV: sólidos suspendidos volátiles, COT: carbono orgánico total, CI: carbono inorgánico.

El porcentaje relativo de los diferentes destinos del carbono removido se presenta en la Figura 15. Este porcentaje relativo permite una estimación de cuáles son los destinos mayoritarios y minoritarios del contaminante a lo largo de la operación del biorreactor. Se puede notar que durante toda la operación del biofiltro y para los diferentes muestreos, algunos destinos del carbono fueron bastante estables, como todos los parámetros relativos al carbono recuperado en los lixiviados del biofiltro. Así, hasta todos los días considerados en el balance, un 2 a 3 % del carbono recuperado proveniente del metanol se encontró bajo la forma de SSV (considerando tanto lixiviados semanales como recirculados). Éste es el destino con menor porcentaje. El CI representó 7-8 % del carbono recuperado, disminuyendo a 6 % en el último muestreo, debido a la acidificación final de los lixiviados, que limitaba la disolución del CO₂ en fase acuosa. El carbono orgánico disuelto (CO) representó entre 10-11 % del carbono recuperado, al igual que en otro estudio previo en el cual se trataba metanol y también hubo presencia de moscas. Estos valores relativamente altos pueden estar ligados con la aparición de larvas, específicamente por la secreción de éstas (Cruz-García *et al.*, 2019).

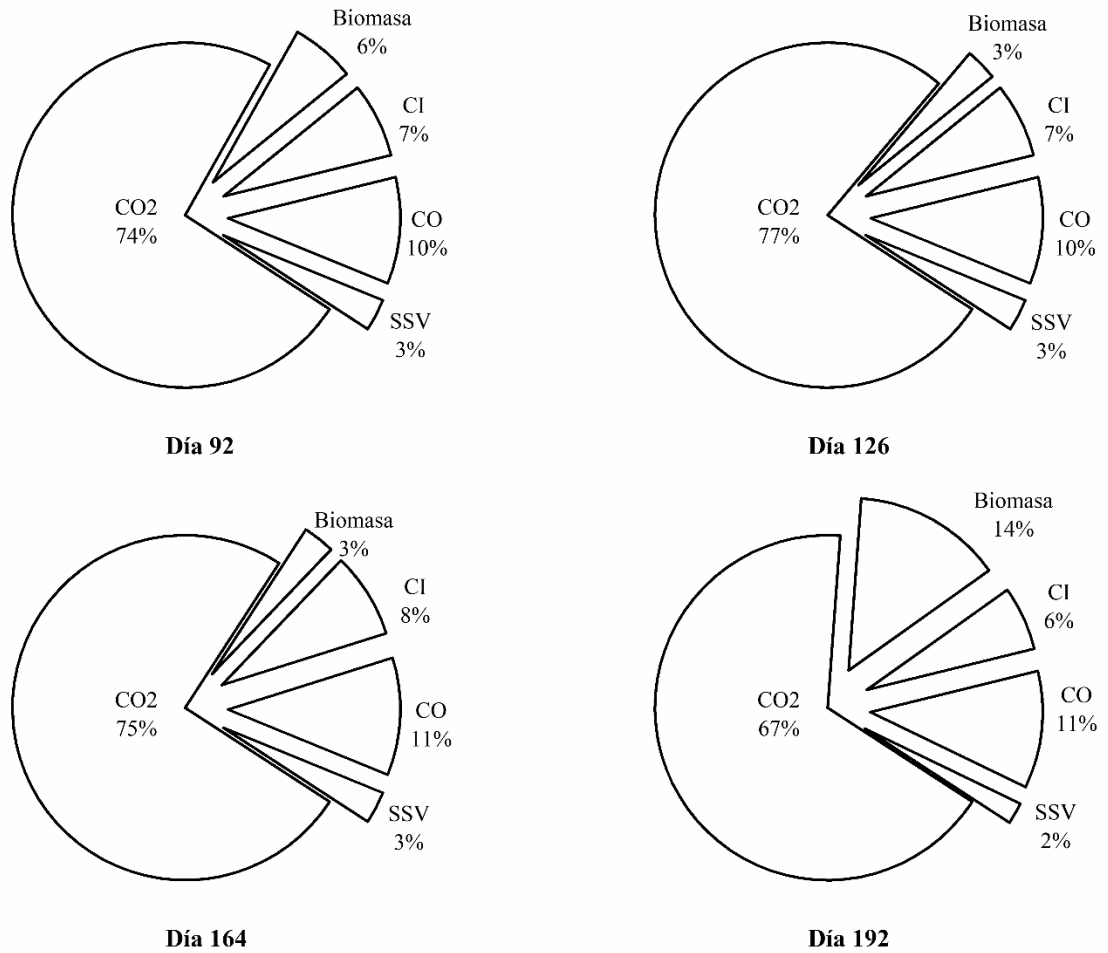


Figura 15. Destino relativo del carbono eliminado

En lo que se refiere a la biomasa, hasta el día 92, se estima que el 6 % del carbono proveniente del metanol fue utilizado para formación de la biopelícula. Conforme se estableció esta biopelícula, se utilizó menos proporción de metanol para formación de biomasa, abarcando solamente 3 % del carbono introducido al reactor hasta los días 126 y 164. En el día 192 se obtuvo que un 14 % del carbono del contaminante entrante fue utilizado para formación de biomasa. Este gran incremento final del uso del metanol para la formación de biopelícula se debe (como se mencionó en la sección 7.3.1.1) a que en la última etapa de operación se utilizó una fuente de nitrógeno (amonio) que favorece el crecimiento fúngico, dado que no requiere transformación previa para ser asimilada por la biomasa, contrariamente al nitrato. Finalmente, como se suele reportar

en varios estudios de biofiltración, el mayor destino del carbono del contaminante fue el CO₂. Al igual que en otras investigaciones, donde se han reportado porcentajes de recuperación entre 40-90 % (Bordoloi y Gostomski, 2019), se observó entre 67 y 77 % de recuperación de carbono bajo la forma de CO₂. Si bien los tres primeros valores son similares (74-77 %, días 92-164), se notó una menor proporción final de carbono transformado a CO₂ durante toda la operación del biofiltro (67 %), en favor de un incremento final de uso de carbono para producción de biomasa.

8. CONCLUSIONES

Los procesos de biofiltración han sido una propuesta respetuosa con el medio ambiente para tratar compuestos orgánicos volátiles, sin embargo, aún necesitan ser más estudiados y desarrollados para que puedan ser competentes con respecto a los métodos de tratamiento en escala industrial. En particular, aún se sabe poco sobre el potencial de las cepas fúngicas para tratar compuestos orgánicos hidrófilos, siendo que tales microorganismos han sido encontrados en consorcios que tratan dichos compuestos.

La CE máxima observada en el presente estudio es plenamente competitiva comparado con los resultados obtenidos en la literatura con consorcios bacterianos. Asimismo los biofiltros fúngicos pueden ser aptos para la degradación de COVs hidrófilos, debido a su adaptabilidad hacia las diversas polaridades del sustrato y al aumento de área de intercambio por el crecimiento del micelio. De esta manera, los hongos filamentosos, como *F. solani*, pueden ser una opción interesante para el tratamiento de COVs hidrófilos como el metanol y el estudio de biofiltros fúngicos no debería limitarse al tratamiento de COV hidrófobos, como suele hacerse.

En este trabajo se confirmó que el uso de materiales de buena resistencia mecánica y de muy alto grado de vacío, como los anillos de cerámica, permiten evitar problemas de caída de presión (ocasionada por el crecimiento de la biopelícula). Por otro lado, la presencia de dos tipos de moscas en sus diferentes estadios de crecimiento también contribuyó al limitado desarrollo de la biopelícula de *F. solani*.

Uno de los mayores problemas observados en esta investigación fue la baja robustez del sistema de biofiltración ante una interrupción del riego con medio mineral. La ER y la CE se vieron fuertemente afectadas justo después del periodo de 3 días sin riego con medio mineral. Las diversas estrategias de recuperación del sistema fueron infructuosas y no se logró inmediatamente volver a la CE observada antes de la interrupción de riego con medio mineral. La recuperación de la CE ocurrió con el MM3, con contenido moderado de NH_4Cl y estuvo relacionada con la fuente de nitrógeno más directamente asimilable por los microorganismos, al subsecuente fuerte crecimiento de la biomasa y a la renovación de la población fúngica dentro del biofiltro.

A pesar de la mayor resistencia fúngica a la sequía, *F. solani* puede ser fuertemente afectado en caso de que el biofiltro ya no reciba riego con medio mineral durante tres días consecutivos. Además, se pudo corroborar que, después del periodo sin riego, la producción de CO_2 no estuvo únicamente ligada al consumo de metanol, sino también se relaciona con el consumo del material celular muerto o dañado por la falta de humedad.

La P_{CO_2} , de manera resumida, fue menor al arranque del experimento (fase I y fase II antes del pulso), debido al uso del carbono para producción de la biopelícula fúngica. Se notó un cierto aumento temporal del CO_2 justo después del pulso y después del periodo sin riego con MM, probablemente debido a consumo de productos liberados por daño celular ante esas condiciones de estrés. La adición de perlita mejoró la CE del metanol, manteniendo una misma mineralización de éste. El aumento de TRLV permitió mejorar el porcentaje de mineralización. En el caso del MM2, la CE y la mineralización decayeron drásticamente.

En cuanto a la eficiencia de remoción (ER) se pudo notar que, globalmente (excluyendo la fase I) la remoción se llevó a cabo mayoritariamente en el módulo superior del biofiltro. Además, durante la operación del biofiltro, la mayor cantidad de metanol removido fue mineralizada. De forma general, se puede decir que este proceso de biofiltración fúngica es satisfactorio, dado que conlleva a una degradación casi total, es decir una mineralización importante del contaminante.

9. RECOMENDACIONES.

Dado el buen desempeño del biofiltro en términos de CE_{BB} y la ausencia de caída de presión, convendría estimular el crecimiento fúngico y lograr una mayor cantidad de biomasa para alcanzar una mayor CE. Esto se lograría utilizando desde el inicio un medio mineral con NH_4^+ , que fomenta mayor crecimiento que NO_3^- , además de acidificar el pH, lo que es favorable al desarrollo fúngico. Para tales fines, habría que emplear el MM3 en combinación con algunas sales presentes en el MM1, que pueden ser cofactores o micronutrientes indispensables durante una operación larga del biofiltro. Adicionalmente, habría que prevenir la aparición de moscas que consumen la biomasa y que no son útiles en caso de no tener caída excesiva de presión. Aunque es imposible mantener un biofiltro completamente axénico, se puede emplear un filtro desde la entrada de aire (compresor) para evitar el ingreso de organismos de mayor tamaño como las moscas y así minimizar la contaminación e interferencias a la hora de analizar los resultados experimentales.

Adicionalmente, como se mencionó en las conclusiones, convendría operar el biofiltro fúngico con una mezcla de anillos de cerámica y perlita desde el inicio para favorecer la retención de nutrientes y tener más resistencia a periodos sin riego. Por lo que se tiene que encontrar la mejor la proporción de perlita para tener una reserva de agua suficiente para poder resistir un fallo de riego de fin de semana.

10. REFERENCIAS

- Abumaizar, R. J., Kocher, W., y Smith, E. H. (1998). *Biofiltration of BTEX contaminated air streams using compost-activated carbon filter media*. Journal of Hazardous Materials, 111–126.
- Acosta B. (2020) *Perlita para plantas: qué es, para qué sirve y cómo se usa*. Ecología verde. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/perlita-para-plantas-que-es-para-que-sirve-y-como-se-usa-3008.html> (Fecha de consulta: 01/03/2023)
- Acuña, M. E., Villanueva, C., Cardenas, B., Christen, P., y Revah, S. (2002). *The effect of nutrient concentration on biofilm formation on peat and gas phase toluene biodegradation under biofiltration conditions*. Process Biochemistry, 38(1), 7-13.
- Afeefy H.Y., Liebman J.F., Stein S.E., Burgess D.R., Domalski E.S., y Hearing E.D., “*Condensed Phase Thermochemistry Data*” in P.J. Linstrom, W.G. Mallard (eds.): NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Disponible en: <http://webbook.nist.gov>. (Fecha de consulta: 29/10/21)
- Aizpuru, A., Dunat, B., Christen, P., Auria, R., García-Peña, I., y Revah, S. (2005). *Fungal Biofiltration of Toluene on Ceramic Rings*. Journal of Environmental Engineering, 131(3), 396–402. Doi: 10.1061/(asce)0733-9372(2005)131:3~396!
- Álvarez-Hornos, F. J., Gabaldon, C., Martínez-Soria, V., Marzal, P., y Peña-roja, J. M. (2008). *Biofiltration of toluene in the absence and the presence of ethyl acetate under continuous and intermittent loading*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 83(5), 643-653.
- Arriaga, S., Serrano, M. A., y Barba de la Rosa, A. P. (2012). *Methanol vapor biofiltration coupled with continuous production of recombinant endochitinase Ech42 by Pichia Pastoris*. Process Biochemistry, 47(12), 2311–2316. Doi:10.1016/j.procbio.2012.09.008

- Arriaga, S., y Revah, S. (2005). *Removal of n-hexane by Fusarium solani with a gas-phase biofilter*. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 32(11-12), 548–553. Doi: 10.1007/s10295-005-0247-9
- Arulneyam D., y Swaminathab T., (2003). *Biodegradation of methanol vapor in biofilter*. Journal of Environmental Sciences. Vol. 15. No. 5. pp. 691-696
- Asinger F.: (1986). *Methanol–Chemie- und Energierohstoff*. Springer Verlag, Heidelberg ISBN: 978-3-642-70763-6
- Avalos Ramírez, A., Benard, S., Giroir-Fendler, A., Jones, J. P., y Heitz, M. (2008). *Treatment of methanol vapours in biofilters packed with inert materials*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 83(9), 1288-1297.
- Bailey, J. E. y Ollis, D. F. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals* (2nd ed.) McGraw-Hill, New York.
- Baquerizo, G., Maestre, J. P., Sakuma, T., Deshusses, M. A., Gamisans, X., Gabriel, D., y Lafuente, J. (2005). *A detailed model of a biofilter for ammonia removal: model parameters analysis and model validation*. Chemical Engineering Journal, 113(2-3), 205-214.
- Baskaran, D., Rajamanickam, R., y Vaidyalingam, B. (2020). *Effect of concentration and gas flow rate on the removal of gas-phase trichloroethylene in a novel packed biofilter*. Bioresource Technology Reports, 9, 100387.
- Bhaskaran, K., Nadaraja, A. V., Balakrishnan, M. V., y Haridas, A. (2008). *Dynamics of sustainable grazing fauna and effect on performance of gas biofilter*. Journal of bioscience and bioengineering, 105(3), 192-197.
- Bordoloi A., y Gostomski P.A. (2015). *The effect of temperature, substrate concentration and water content on carbon recovery and end-points in biofiltration*, Biotechniques for air pollution control, Ghent Belgium.

- Bordoloi, A., y Gostomski, P. A. (2019). *Fate of degraded pollutants in waste gas biofiltration: An overview of carbon end-points*. *Biotechnology advances*, 37(4), 579-588.
- Cabrera, G., Almenglo, F., Ramírez, M., y Cantero, D. (2019). *Biofilters*. *Comprehensive Biotechnology*, 428–445. Doi:10.1016/b978-0-444-64046-8.00
- Cárdenas B., Revah S., Hernández S., Martínez A., y Gutiérrez V., (2003) *Tratamiento biológico de compuestos orgánicos volátiles de fuentes fijas*. Instituto Nacional de Ecología. Primera edición. ISBN: 968-817-499-8
- Celar, F. (2003). *Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi*. *Biological Control*, 28(1), 19-24.
- Cheng Y, He H, Yang C, Zeng G, Li X, Chen H, y Yu G. (2016), *Challenges and solutions for biofiltration of hydrophobic volatile organic compounds*, *Biotechnology Advances*, Vol. 34(6) 1091-1102.
- Costa, J., Almeida, C. E., Esperança, G. M., Morales, N., Mallet, J. R. D. S., Gonçalves, T., y Prado, A. P. D. (2007). *First record of Megaselia scalaris (Loew)(Diptera: Phoridae) infesting laboratory colonies of Triatoma brasiliensis neiva (Hemiptera: Reduviidae)*. *Neotropical Entomology*, 36(6), 987-989.
- Cruz-García B. (2018). *Valorización de emisiones tóxicas de metanol mediante un proceso híbrido que combina biofiltración y el cultivo de Arthrospira máxima*. Tesis de Maestría. Universidad del Mar, Campus Puerto Ángel.
- Cruz-García, B., Geronimo-Meza, A. S., Martinez-Lievana, C., Arriaga, S., Huante-González, Y., y Aizpuru, A. (2019). *Biofiltration of high concentrations of methanol vapors: removal performance, carbon balance and microbial and fly populations*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. Doi:10.1002/jctb.5974
- Dastous PA, Nikiema J, Soreanu G, Bibeau L, y Heitz M., (2008) *Elimination of methanol and ethanol by biofiltration: an experimental study*. *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, Vols. 8(3-4) 275-285.

- Delhoménie, M.-C., y Heitz, M. (2005). *Biofiltration of Air: A Review*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(1-2), 53–72. Doi:10.1080/07388550590935814
- Detchanamurthy, S., y Gostomski, P. A. (2012). *Biofiltration for treating VOCs: an overview*. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(3), 231–241. Doi: 10.1007/s11157-012-9288-5
- DIRECTIVE 2004/42/CE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 21 April 2004 *on the limitation of emissions of volatile organic compounds due to the use of organic solvents in certain paints and varnishes and vehicle refinishing products and amending*. Disponible en: <http://data.europa.eu/eli/dir/2004/42/2021-07-16> (Fecha de consulta: 22/06/2023)
- Disney, R. H. L. (2008). *Natural History of the Scuttle Fly, Megaselia scalaris*. *Annual Review of Entomology*, 53(1), 39–60. Doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.
- El Sayed, M. T., y El-Sayed, A. S. A. (2020a). *Tolerance and mycoremediation of silver ions by Fusarium solani*. *Heliyon*, 6(5), e03866. Doi:10.1016/j.heliyon.2020.e0386
- El Sayed, y El-Sayed, A. S. A. (2020b). *Bioremediation and tolerance of zinc ions using Fusarium solani*. *Heliyon*, 6(9), e05048. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05048>
- Elías, A., Barona, A., Gallastegi, G., Rojo, N., Gurtubay, L., y Ibarra-Berastegi. (2010). *Preliminary Acclimation Strategies for Successful Startup in Conventional Biofilters*. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 959-976.
- Estrada JM, Hernández S., Muñoz R, y Revah S., (2013). *A comparative study of fungal and bacterial biofiltration treating a VOC mixture*. *Journal of hazardous materials*, Vol. 250, 190-197.
- Ferdowsi, M., Avalos Ramirez, A., Jones, J. P., y Heitz, M. (2017). *Elimination of mass transfer and kinetic limited organic pollutants in biofilters: A review*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 336–348. Doi:10.1016/j.ibiod.2016.10.015

- Ferdowsi, M., Desrochers, M., Jones, J. P., y Heitz, M. (2019). *Moving from alcohol to methane biofilters: an experimental study on biofilter performance and carbon distribution*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 94(10), 3315-3324.
- Flores-Ruiz, E., Miranda-Novales, M.G., y Villasís-Keever, M.A. (2017). *El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada*. Estadística inferencial. Revista alergia México, 64(3), 364-370. <https://doi.org/10.29262/ram.v64i3.304>
- García-Pérez, T., Aizpuru, A., y Arriaga, S. (2013). *By-passing acidification limitations during the biofiltration of high formaldehyde loads via the application of ozone pulses*. Journal of hazardous materials, 262, 732-740.
- Gerhardt, R. R., y Hribar, L. J. (2019). *Flies (Diptera)*. Medical and Veterinary Entomology, 171–190. Doi:10.1016/b978-0-12-814043-7.00
- Gobierno de España (2023). *De compuestos orgánicos volátiles*. Ministro para la Transición ecológica y el reto demográfico. Disponible en: https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/act-emis/compuestos_organicos_volatiles.aspx (fecha de consulta: 22/06/23)
- Gorfer, M., Blumhoff, M., Klaubauf, S., Urban, A., Inselsbacher, E., Bandian, D., Mitter, B., Sessitsch, A., Wanek, W, y Strauss, J. (2011). *Community profiling and gene expression of fungal assimilatory nitrate reductases in agricultural soil*. The ISME Journal, 5(11), 1771-1783.
- Guenther A., Karl T., Harley P., Wiedinmyer C., Palmer P. I., y Geron C. (2006). *Estimates of global terrestrial isoprene emissions using MEGAN (Model of Emissions of Gases and Aerosols from Nature)*. Atmospheric Chemistry and Physics, European Geosciences Union, 2006, 6 (11), pp.3181-3210.
- Guerrero, K., Arancibia, A., Caceres, M., y Aroca, G. (2019). *Release of formaldehyde during the biofiltration of methanol vapors in a peat biofilter inoculated with Pichia pastoris GS115*. Electronic Journal of Biotechnology, 40, 10–16. Doi:10.1016/j.ejbt.2019.04.003

- Guerrero-Ortiz, P. L., Quintero-Lizaola, R., Espinoza-Hernández, V., Benedicto-Valdés, G. S., y Sánchez-Colín, M. J.. (2012). *Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de lupinus*. Terra Latinoamericana, 30(4), 355-362. Recuperado en 11 de abril de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792012000400355&lng=es&tlng=es.
- Gupta, A. K., Baran, R., y Summerbell, R. C. (2000). *Fusarium infections of the skin*. Current Opinion in Infectious Diseases, 13(2), 121–128. Doi: 10.1097/00001432-200004000-00005
- Ingle, A., Rai, M., Gade, A., y Bawaskar, M. (2008). *Fusarium solani: a novel biological agent for the extracellular synthesis of silver nanoparticles*. Journal of Nanoparticle Research, 11(8), 2079–2085. Doi: 10.1007/s11051-008-9573-y
- Jasme, N., Md Noh, N. A., y Yahya, A. R. M. (2022). *Lab-scale bioremediation technology: Ex-situ bio-removal and biodegradation of waste cooking oil by Aspergillus flavus USM-ARI*. Bioremediation Journal, 1-21.
- Jiménez D. (2020). *Evaluación del potencial de tres cepas fúngicas (Fusarium solani, Alternaria alternata y Talaromyces pinophilus) para la degradación de vapores de metanol*. Tesis de Licenciatura. Universidad del Mar
- Jiménez L, Arriaga S y Aizpuru A. (2016) *Assessing biofiltration repeatability: statistical comparison of two identical toluene removal systems*. Environ Technol 37:681–693.
- Jin, Y., Guo, L., Veiga, M. C., y Kennes, C. (2007b). *Fungal biofiltration of α -pinene: Effects of temperature, relative humidity, and transient loads*. Biotechnology and bioengineering, 96(3), 433-443
- Jin, Y., Veiga, M. C., y Kennes, C. (2007a). *Performance evaluation of fungal biofilters packed with Pall rings, lava rock, and perlite for α -pinene removal, Biotechniques for air pollution control: proceedings of the 2nd International Congress on Biotechniques for Air Pollution Control, A Coruña, Spain, October 3-5, 2007 / Christian Kennes (dir. congr.), María C. Veiga (dir. congr.), 2007, ISBN 978-84-9749-258-4, págs. 385-395.*

- Jorio, H., Bibeau, L., y Heitz, M. (2000). *Biofiltration of air contaminated by styrene: effect of nitrogen supply, gas flow rate, and inlet concentration*. Environmental Science & Technology, 34(9), 1764-1771.
- Kennes, C., y Veiga, M. C. (2004). *Fungal biocatalysts in the biofiltration of VOC-polluted air*. Journal of biotechnology, 113(1-3), 305-319.
- Khan FI, y Ghoshal AK. (2000). *Removal of volatile organic compounds from polluted air*. Journal of loss prevention in the process industries, Vol. 13(6) 527-545.
- Krailas, S., Pham, Q. T., Amal, R., Jiang, J. K., y Heitz, M. (2000). *Effect of inlet mass loading, water and total bacteria count on methanol elimination using upward flow and downward flow biofilters*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 75(4), 299-305.
- Krishnakumar, B., Hima, A. M., y Haridas, A. (2007). *Biofiltration of toluene-contaminated air using an agro by-product-based filter bed*. Applied Microbiology and Biotechnology, 74(1), 215–220. Doi:10.1007/s00253-006-0641-x
- Kuypers, M. M., Marchant, H. K., y Kartal, B. (2018). *The microbial nitrogen-cycling network*. Nature Reviews Microbiology, 16(5), 263-276.
- Lee, E. S., Park, J. Y., Yeom, S. H., y Yoo, Y. J. (2008). *Effects of nitrogen sources on toluene degradation by Pseudomonas putida BZ918*. Korean Journal of Chemical Engineering, 25, 139-143.
- Lu L., Dong D., Baig ZT., Yeung M., y Xi J. (2019), *Development of a novel fungal fluidized bed reactor for gaseous ethanol removal*. Chemosphere. Vol. 125529.
- Marycz M., Rodríguez, Y., Gębicki, J., y Muñoz, R. (2022). *Systematic comparison of a biotricliing filter and a conventional filter for the removal of a mixture of hydrophobic VOCs by Candida subhashii*. Chemosphere. Vol. 306.
- Marycz, M., Brillowska-Dąbrowska, A., Muñoz, R., y Gębicki, J. (2022a). *A state of the art review on the use of fungi in biofiltration to remove volatile hydrophobic pollutants*. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 21(1), 225-246.

Methanol Institute (fecha de consulta: 29/10/2021). *About Methanol*. Disponible en: <https://www.methanol.org/about-methanol/>

Metris, A., Gerrard, A. M., Cumming, R. H., Weigner, P., y Paca, J. (2001). *Modelling shock loadings and starvation in the biofiltration of toluene and xylene*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 76(6), 565-572.

Morales, P., Cáceres, M., Scott, F., Díaz-Robles, L., Aroca, G., y Vergara-Fernández, A. (2017). *Biodegradation of benzo[a]pyrene, toluene, and formaldehyde from the gas phase by a consortium of Rhodococcus erythropolis and Fusarium solani*. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(17), 6765–6777. Doi: 10.1007/s00253-017-8400-8

Morozkina, E. V.; y Zvyagilskaya, R. A. *Nitrate reductases: structure, functions, and effect of stress factors*. Biochemistry (Moscow), 2007, vol. 72, p. 1151-1160.

Mudliar, S., Giri, B., Padoley, K., Satpute, D., Dixit, R., Bhatt, P. y Vaidya, A. (2010). *Bioreactors for treatment of VOCs and odours – A review*. Journal of Environmental Management, 91(5), 1039–1054. Doi:10.1016/j.jenvman.2010.01.0

Németh, M. Z., Li, G., Seress, D., Pintye, A., Molnar, O., Kovacs, G. M. y Gorfer, M. (2021). *What is the role of the nitrate reductase (euknr) gene in fungi that live in nitrate-free environments? A targeted gene knock-out study in Ampelomyces mycoparasites*. Fungal Biology, 125(11), 905-913

NMX-AA-034-SCFI-2015. Secretaría de Economía. Norma Mexicana. *Análisis de agua- Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas- Métodos de prueba*.

NOM-121-SEMARNAT-2000. Diario Oficial de la Federación. *Norma que establece los límites máximos permisibles de emisión a la atmósfera de compuestos orgánicos volátiles (COVS) provenientes de las operaciones de recubrimiento de carrocerías nuevas en planta de automóviles, unidades de uso múltiple, de pasajeros y utilitarios; carga y camiones ligeros, así como el método calcular emisiones*.

- NOM-123-SEMARNAT-1998. Diario Oficial de la Federación. *Norma Oficial Mexicana que establece el contenido máximo permisible de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en la fabricación de pinturas de secado al aire base disolvente para uso doméstico y los procedimientos para la determinación de los mismos en pinturas y recubrimientos.*
- Omil, F., Rojas, H., Thalasso, F., y Lema, J. M. (2008). *Biofiltration of a methanol containing air stream in a dry tubular biofilm reactor using ceramic rings as carrier.* Environmental Progress, 27(1), 117–124. Doi:10.1002/ep.10249
- Ott, J., Gronemann, V., Pontzen, F., Fiedler, E., Grossmann, G., Kersebohm, D. B., y Witte, C. (2012). *Methanol.* Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Doi:10.1002/14356007.a16_465.pub3
- Pagans, E., Font, X., y Sánchez, A. (2007). *Adsorption, absorption, and biological degradation of ammonia in different biofilter organic media.* Biotechnology and bioengineering, 97(3), 515-525.
- Palomo-Briones, R., De la Rosa, A. P. B., y Arriaga, S. (2015). *Effect of operational parameters on methanol biofiltration coupled with Endochitinase 42 production.* Biochemical Engineering Journal, 100, 9-15.
- Palomo-Briones, R., Esquivel-González, S., Aizpuru, A., Gómez-Hernández, N., Casas-Flores, S., Barba de la Rosa, A. P., y Arriaga, S. (2018). *Microbial contamination in methanol biofilters inoculated with a pure strain of Pichia pastoris: A potential limitation for waste revalorization.* Biotechnology Progress. Doi:10.1002/btpr.2715
- Pinnette, J. R., Giggey, M. D., Hendry, G. E., y Richardson, C. M. (1993). *Moisture Balance Of An Open Biofilter.* Compost Science & Utilization, 8-22.
- Prado, O´ J., Mendoza, J.A., Veiga, M.C., y Kennes, C. (2002). *Optimization of nutrient supply in a downflow gas-phase biofilter packed with an inert carrier.* Applied Microbiology and Biotechnology, 59(4-5), 567–573. Doi: 10.1007/s00253-002-1028-2

- Rajamanickam, R., y Baskaran, D. (2017). *Biodegradation of gaseous toluene with mixed microbial consortium in a biofilter: steady state and transient operation*. *Bioprocess and biosystems engineering*, 40(12), 1801-1812.
- Ramírez-López, E. M., Corona-Hernández, J., Avelar-González, F. J., Omil, F., y Thalasso, F. (2010). *Biofiltration of methanol in an organic biofilter using peanut shells as medium*. *Bioresource Technology*, 101(1), 87–91. Doi:10.1016/j.biortech.2008.10.0
- Revah S, Vergara-Fernández A, y Hernández S. (2011), *Fungal biofiltration for the elimination of gaseous pollutants from air.*, Chap.7, In book: *Mycofactories*, Bentham Science Publishers Ltds, 109-120. Doi: 10.13140/RG.2.1.1582.2568
- Rolewicz-Kalińska, A., Lelicińska-Serafin, K., y Manczarski, P. (2021). *Volatile organic compounds, ammonia and hydrogen sulphide removal using a two-stage membrane biofiltration process*. *Chemical Engineering Research and Design*, 165, 69-80.
- Sempere, F., Martínez-Soria, V., Palau, J., Peña-Roja, J.-M., San-Valero, P., y Gabaldón, C. (2011). *Effects of nitrogen source and empty bed residence time on the removal of styrene gaseous emissions by biotrickling filtration*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 34(7), 859–867. Doi:10.1007/s00449-011-0536-9
- Sheoran K, Siwal SS, Kapoor D, Singh N, Saini AK, Alsanie WF, y Thakur VK, (2022). “*Air Pollutants Removal Using Biofiltration Technique: A Challenge at the Frontiers of Sustainable Environment*”, *ACS Eng Au*, Vol. 2, No. 5, 378-396.
- Sias, S. R., Stouthamer, A. H., y Ingraham, J. L. (1980). *The assimilatory and dissimilatory nitrate reductases of Pseudomonas aeruginosa are encoded by different genes*. *Microbiology*, 118(1), 229-234.
- Smet, E., Van Langenhove, H., y Maes, K. (2000). *Abatement of high concentrated ammonia loaded waste gases in compost biofilters*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 119, 177-190.
- Smith, F. L., Sorial, G. A., Suidan, M. T., Breen, A. W., Biswas, P., y Brenner, R. C. (1996). *Development of two biomass control strategies for extended, stable operation of highly*

- efficient biofilters with high toluene loadings*. Environmental science & technology, 30(5), 1744-1751.
- Sologar, V. S., Lu, Z., y Allen, D. G. (2003). *Biofiltration of concentrated mixtures of hydrogen sulfide and methanol*. Environmental Progress, 22(2), 129-136
- Stein, L. Y., y Klotz, M. G. (2016). *The nitrogen cycle*. Current Biology, 26(3), R94-R98.
- Tie, X., Guenther, A., y Holland, E. (2003). *Biogenic methanol and its impacts on tropospheric oxidants*. Geophysical Research Letters, 30(17). Doi:10.1029/2003gl017167
- United States Environmental Protection Agency. (2023) (EPA). TRI Explorer (2021 National Analysis Dataset (updated May 2023, released May 2023)) [Internet database]. Retrieved from <https://enviro.epa.gov/triexplorer/>, (September 14, 2023).
- Vergara-Fernández A, Soto-Sanchez O, y Vásquez J (2011) *Effects of packing material type on n-pentane/biomass partition coefficient for use in fungal biofilters*. Chem Biochem Eng Q 25:439–444
- Vergara-Fernández, A., Salgado-Ísmodes, V., Pino, M., Hernández, S., y Revah, S. (2012). *Temperature and moisture effect on spore emission in the fungal biofiltration of hydrophobic VOCs*. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 47(4), 605–613. Doi:10.1080/10934529.2012.650581
- Vergara-Fernández, A., Scott, F., Carreño-López, F., Aroca, G., Moreno-Casas, P., González-Sánchez, A., y Muñoz, R. (2020). *A comparative assessment of the performance of fungal-bacterial and fungal biofilters for methane abatement*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 104421. Doi:10.1016/j.jece.2020.104421
- Vergara-Fernández, A., Van Haaren, B., y Revah, S. (2006). *Phase partition of gaseous hexane and surface hydrophobicity of Fusarium solani when grown in liquid and solid media with hexanol and hexane*. Biotechnology Letters, 28, 2011-2017.
- Vigueras, G., Arriaga, S., Shirai, K., Morales, M., y Revah, S. (2009). *Hydrophobic response of the fungus Rhinocladiella similis in the biofiltration with volatile organic compounds with different polarity*. Biotechnology letters, 31, 1203-1209.

- Wang, C., Kong, X., y Zhang, X. Y. (2012). *Mesophilic and thermophilic biofiltration of gaseous toluene in a long-term operation: performance evaluation, biomass accumulation, mass balance analysis and isolation identification*. Journal of hazardous materials, 229, 94-99.
- Wang, C., Xi, J.-Y., y Hu, H.-Y. (2009). *Effects of nitrogen source, empty bed residence time and inlet concentration on biofilter removal of chlorobenzene*. Engineering in Life Sciences, 9(2), 109–115. Doi:10.1002/elsc.200800006
- Won, Y.-S; Lee, T.-J; Wu, Y.-P.G. y Deshusses, Marc. (2004). *An Environmentally Friendly Method for Controlling Biomass in Bio trickling Filters for Air Pollution Control*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 10. 60-65.
- Yang, H., Minuth, B., y Allen, D. G. (2002). *Effects of nitrogen and oxygen on biofilter performance*. Journal of the Air & Waste Management Association, 52(3), 279-286.
- Yuwono, A.S., y Lammers, P.S. (2004). *Odor Pollution in the Environment and the Detection Instrumentation*. Agricultural Engineering International: The CIGR Journal, 6, 2.
- Zhai, J., Shi, P., Wang, Z., Jiang, H., y Long, C. (2017). *A comparative study of bacterial and fungal-bacterial steady-state stages of a biofilter in gaseous toluene removal: performance and microbial community*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 92(11), 2853–2861. Doi:10.1002/jctb.5302
- Zhang, N., O'Donnell, K., Sutton, D. A., Nalim, F. A., Summerbell, R. C., Padhye, A. A., y Geiser, D. M. (2006). *Members of the Fusarium solani Species Complex That Cause Infections in Both Humans and Plants Are Common in the Environment*. Journal of Clinical Microbiology, 44(6), 2186–2190. Doi:10.1128/jcm.00120-06
- Zhang, Y., Liss, S. N., y Allen, D. G. (2008). *Modeling the Biofiltration of Dimethyl Sulfide in the Presence of Methanol in Inorganic Biofilters at Steady State*. Biotechnology Progress, 0(0), 0–0. Doi:10.1021/bp0703376

Zhang, Y., Liu, J., Xing, H., y Li, J. (2020). *Effect of liquid supply on the performance of a fungal bio-trickling filter treating hydrophobic VOC*. *Biochemical Engineering Journal*, 161, 107658.9