



UNIVERSIDAD DEL MAR

CAMPUS PUERTO ÁNGEL

Valorización de emisiones tóxicas de metanol
mediante un proceso híbrido que combina la
biofiltración y el cultivo de *Arthrospira*
maxima

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Ambientales

Presenta:

Ing. Blanca Cruz García

Director de Tesis:

Dr. Aitor Aizpuru

Puerto Ángel, Oaxaca, Abril 2018

DEDICATORIA

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Mar y a los profesores adscritos a la División de estudios de posgrado por ser parte importante en mi formación durante la maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca académica otorgada para la realización de estos estudios.

A los proyectos 255733 CONACyT-INFR2015, y 134 PRODEP-SEP por el financiamiento otorgado.

Al Dr. Aitor Aizpuru por la dirección de este trabajo, por sus enseñanzas durante el proceso de biofiltración, por sus revisiones durante la redacción del presente documento y sobre todo por su paciencia, dedicación y apoyo en todo momento.

A la Dra. Ivonne S. Santiago Morales por permitirme trabajar en su laboratorio, y especialmente por brindarme parte de su tiempo y conocimientos en todo lo referente al cultivo microalgal.

A la M.C. Yolanda Guante González, a la M.C. Belem Espinoza Chávez y al M.C. Cervando Sánchez Muñoz por sus revisiones y recomendaciones que contribuyeron a mejorar el presente documento.

A la Dra. María del Rosario Enríquez Rosado por el apoyo recibido pero sobre todo por creer y confiar en mí.

A mi amiga y compañera Victoria por su invaluable apoyo en todo momento y por hacer menos difícil el camino. A Irene por su apoyo y muestras de cariño.

A mi familia por su cariño incondicional y por esperarme siempre con los brazos abiertos.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
NOMENCLATURA	xi
RESUMEN	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1. Valorización de residuos	2
2.2. Contaminación atmosférica	3
2.2.1. Compuestos orgánicos volátiles	3
2.2.1.1. Metanol	4
2.2.2. Métodos de tratamiento de compuestos orgánicos volátiles	4
2.2.2.1. Tratamientos biológicos	5
2.2.3. Dióxido de carbono	7
2.2.4. Mitigación de emisiones de CO ₂	7
2.3. Las microalgas	8
2.3.1. <i>Arthrospira maxima</i>	9
3. ANTECEDENTES	11
3.1. Biofiltración de metanol	11
3.2. Valorización de los residuos generados en el proceso de biofiltración	13
3.3. Fijación de CO₂ mediante el cultivo de microalgas	13
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
5. HIPÓTESIS	16
	iv

6. OBJETIVOS	17
6.1. Objetivo general	17
6.2. Objetivos específicos	17
7. MATERIALES Y MÉTODOS	18
7.1. Sistema de biofiltración	19
7.1.1. Características del biofiltro	19
7.1.2. Material de soporte e inóculo	20
7.1.3. Medio mineral	21
7.1.4. Reempaques del biofiltro	21
7.1.5. Generación del aire contaminado	21
7.1.6. Monitoreo del biofiltro	21
7.1.6.1. Mediciones de la fase gaseosa	21
7.1.6.2. Mediciones de la fase líquida (lixiviados)	22
7.1.6.3. Medición de la fase sólida	22
7.1.7. Condiciones de operación del biofiltro	23
7.1.8. Estimación del desempeño del biofiltro	23
7.1.8.1. Eficiencia de remoción y capacidad de eliminación	23
7.1.8.2. Producción de CO ₂	24
7.1.8.3. Mineralización y balance de carbono	24
7.2. Cultivo de <i>Arthrospira maxima</i>	26
7.2.1. Fotobiorreactor	26
7.2.2. Inóculo y medio de cultivo	26
7.2.3. Variación de temperatura	26
7.2.4. Seguimiento del cultivo	26
7.2.5. Análisis proximal de la biomasa	27
7.2.5.1. Contenido de lípidos totales	27
7.2.5.2. Contenido total de proteínas	28
7.2.5.3. Contenido de ficocianina	28
7.2.6. Análisis estadístico	28
7.3. Cultivo de <i>Arthrospira maxima</i> acoplado al biofiltro de aire	29
7.3.1. Operación del biofiltro de aire	29
7.3.2. Cultivo microalgal	30

7.3.3. Fijación de CO ₂ en el cultivo de la microalga <i>A. maxima</i>	30
7.3.3.1. Carbono entrante por litro de cultivo microalgal durante el periodo de luz	30
7.3.3.2. Carbono saliente del cultivo microalgal	31
7.3.3.3. Carbono fijado por el cultivo microalgal	31
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
8.1. Biofiltración	32
8.1.1. Desempeño del biofiltro	32
8.1.1.1. Eficiencia del biofiltro	32
8.1.1.2. Efecto de la carga sobre la capacidad de eliminación	36
8.1.2. Transformación del contaminante	37
8.1.2.1. Producción de dióxido de carbono	37
8.1.2.2. Relación entre la capacidad de eliminación y producción de CO ₂	40
8.1.2.3. Producción de biomasa	42
8.1.2.4. Seguimiento del carbono orgánico total	45
8.1.2.5. Balance de carbono	46
8.1.3. Parámetros complementarios	49
8.1.3.1. Presencia de <i>Megaselia Scalaris</i> en el proceso de biofiltración	49
8.1.3.2. Seguimiento global del pH	52
8.1.3.3. Contenido de humedad	53
8.1.3.4. Caída de presión	54
8.2. Cultivo de <i>Arthrospira maxima</i>	55
8.2.1. Evaluación del crecimiento de <i>A. maxima</i> a diferentes temperaturas	55
8.2.2. Producción de lípidos y proteínas	56
8.2.3. Producción de ficocianina	58
8.3. Cultivo de <i>Arthrospira maxima</i> acoplado al biofiltro de aire	59
8.3.1. Desempeño del biofiltro acoplado	59
8.3.2. Evaluación del crecimiento de <i>A. maxima</i> acoplado	59
8.3.2.1. Seguimiento del pH	62
8.3.3. Producción de lípidos y proteínas	64
8.3.4. Producción de ficocianina	65
8.3.5. Fijación de CO ₂ en el cultivo de la microalga <i>A. maxima</i>	66
9. CONCLUSIONES	71

10.	RECOMENDACIONES	72
11.	LITERATURA CITADA	73
12.	ANEXO	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Técnicas de tratamiento de COV.	5
Figura 2. Sistema de valorización del metanol.	18
Figura 3. Diagrama del sistema de biofiltración. (1) compresor de aire, (2 y 5) conector, (3 y 6) controlador de flujo másico, (4) burbujeador, (7) entrada, (8) aporte de nutrientes, (9, 10 y 11) válvulas de muestreo de aire, en entrada, mitad y salida del reactor, respectivamente, (12) salida de lixiviados, (13) material filtrante.	19
Figura 4. Cultivo de <i>A. maxima</i> acoplado al biofiltro de aire.	29
Figura 5. Variación de la carga volumétrica (CV), capacidad de eliminación (CE) y eficiencia de remoción (ER) en función del tiempo.	32
Figura 6. Efecto de la carga volumétrica (CV) sobre la capacidad de eliminación (CE).	37
Figura 7. Variación de la capacidad de eliminación (CE) y la producción de CO ₂ (PCO ₂) respecto al tiempo de operación.	38
Figura 8. Relación entre la capacidad de eliminación (CE) y la producción de CO ₂ .	41
Figura 9. Contenido de biomasa en cada módulo del biofiltro.	43
Figura 10. Contenido de carbono orgánico total en los lixiviados.	45
Figura 11. Balances de carbono ajustados.	48
Figura 12. Especimen observado por microscopia (<i>Megaselia scalaris</i>): a) larva, b) adulto.	50
Figura 13. pH de los lixiviados.	52
Figura 14. Contenido de humedad en el biofiltro.	53
Figura 15. Caída de presión presentada por el biofiltro.	54
Figura 16. Curvas de crecimiento de <i>A. maxima</i> a diferentes temperaturas. Las líneas punteadas representan un ajuste al modelo de Gompertz.	55

- Figura 17. Contenido de proteínas y lípidos en la biomasa final de *A. maxima* producida a diferentes temperaturas (media + desviación estándar de tres submuestras). 57
- Figura 18. Contenido de ficocianina en la biomasa final de *A. maxima* cultivada a diferentes temperaturas (media + desviación estándar de tres submuestras excepto para la biomasa obtenida a 35 °C donde se tienen dos submuestras). 58
- Figura 19. Curvas de crecimiento de *A. maxima* con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM) con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB). Las líneas punteadas representan un ajuste al modelo de Gompertz. 61
- Figura 20. Seguimiento del pH en los cultivos de *A. maxima* cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ proveniente del aire atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB). 63
- Figura 21. Contenido de lípidos y proteínas de la biomasa final de *A. maxima* cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB) (media + desviación estándar de tres submuestras). 64
- Figura 22. Contenido de ficocianina en la biomasa final de *A. maxima* cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB) (media + desviación estándar de tres submuestras). 66
- Figura 23. Concentraciones de entradas y salidas de CO₂ en el cultivo de *A. maxima* alimentado CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB). 67
- Figura 24. Carbono acumulado por el cultivo de *A. maxima* con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB), antes del estado estacionario. 68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades químicas y físicas del metanol.	4
Tabla 2. Tipos de tratamientos biológicos y sus principales características.	6
Tabla 3. Investigaciones de biofiltración de metanol.	12
Tabla 4. Microalgas estudiadas para la fijación del CO ₂ (modificado de Wang <i>et al.</i> , 2008).	14
Tabla 5. Condiciones de operación del biofiltro.	23
Tabla 6. Balance de carbono en diferentes días de operación del biofiltro.	47
Tabla 7. Conteo de moscas (<i>Megaselia scalaris</i>) en las muestras de aire tomadas en entrada del primer módulo (E), en salida del primer módulo (M), y en salida del segundo módulo (S).	49
Tabla 8. Peso seco de la biomasa en g L ⁻¹ (media + desviación estándar) de <i>A. maxima</i> obtenida en diferentes días y a diferentes temperaturas.	56
Tabla 9. Peso seco de la biomasa g L ⁻¹ (media ± desviación estándar) de <i>A. maxima</i> en diferentes días y cultivada con NaHCO ₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO ₂ proveniente del aire atmosférico (ACA) y, con CO ₂ residual del biofiltro (ACB).	62
Tabla 10. Fijación de CO ₂ en el cultivo de <i>A. maxima</i> con CO ₂ atmosférico (ACA) y en cultivo con CO ₂ residual del biofiltro (ACB).	70
Tabla 11. Caracterización de la perlita.	85

NOMENCLATURA

ACA	<i>Arthrospira maxima</i> con CO ₂ del aire atmosférico
ACB	<i>Arthrospira maxima</i> con CO ₂ residual del biofiltro
ACM	<i>Arthrospira maxima</i> con carbono en el medio de cultivo
Carga _{Crit}	Carga crítica
CE	Capacidad de eliminación
CE _{max}	Capacidad de eliminación máxima
COT	Carbono orgánico total
COV	Compuestos orgánicos volátiles
CR	Capacidad de retención de agua
CV	Carga volumétrica de metanol
DO	Densidad óptica
EBRT	Tiempo de residencia en cama vacía (por sus siglas en ingles)
ER	Eficiencia de remoción
ε	Grado de espacio vacío
FA	Flujo de aire
Fc	Ficocianina
GEI	Gas de efecto invernadero
NO _x	Óxidos nitrosos
μ	Tasa de crecimiento
PCO ₂	Producción de dióxido de carbono
ρ_{aparente}	Densidad aparente
ρ_{real}	Densidad real

RESUMEN

Valorización de emisiones tóxicas de metanol mediante un proceso híbrido que combina la biofiltración y el cultivo de *Arthrospira maxima*

En el presente trabajo se desarrolla un método de tratamiento biológico de vapores de metanol, del cual se aprovecha el gas residual enriquecido en CO₂ para el doble propósito de producir una microalga de valor comercial (*A. maxima*), y reducir la emisión del gas de efecto invernadero.

En la primera etapa se determinaron las condiciones de operación del biofiltro que permitieron una eliminación casi total del metanol (carga de 157.5 g m⁻³ h⁻¹, tiempo de residencia de 22.5 s y un riego de 200 mL d⁻¹), obteniendo una eficiencia de remoción de 97.8% y una producción de CO₂ de 160.4 g m⁻³ h⁻¹.

Tras delimitar la temperatura donde hay mayor producción de biomasa microalgal (30°C) en un cultivo convencional, se evaluaron los efectos de un aporte de carbono por adición de CO₂ proveniente del aire atmosférico (como control) y del biofiltro. El sistema acoplado pudo fijar el 10.8% de las emanaciones de CO₂ del biofiltro, mejorando a la vez la productividad de *A. maxima*, con respecto al cultivo convencional (peso seco final de 1.3 g L⁻¹). Con esta fuente gaseosa de carbono, se logró alcanzar una misma calidad de *A. maxima*, con un contenido similar de lípidos (12.1%) y proteínas (45.47%), y un mayor contenido de ficocianinas (10.74 mg g⁻¹).

Estos resultados muestran que en el sistema acoplado es viable para la eliminación del CO₂ residual de proceso de biofiltración pues reduce sus emisiones y convierte el CO₂ en carbono fijado en biomasa que puede ser aprovechada para la obtención de biomoléculas de interés comercial como la ficocianina. Sin embargo, el proceso aún requiere ser optimizado para un mejor aprovechamiento del carbono presente en el efluente del biofiltro.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica constituye un grave problema al ambiente, el cual ha ido en incremento principalmente por las emisiones provenientes de las actividades antropogénicas. Entre los principales contaminantes del aire destacan los compuestos orgánicos volátiles (COV), los cuales son tóxicos y al reaccionar con los óxidos nitrosos (NO_x), generan ozono troposférico. Uno de los COV más utilizados es el metanol, un compuesto altamente soluble en agua, que es liberado por diversas industrias (papelera, automotriz y pintura) y se encuentra en distintos productos de limpieza, anticongelantes, pinturas y barnices (Avalos *et al.*, 2008; Dastous *et al.*, 2008).

La biofiltración es un método biológico de considerable interés para el control de emisiones de COV, debido a su bajo consumo de energía y bajo costo de operación; si bien este proceso tiene un propósito de degradación de los contaminantes a través de su oxidación total, tiene como subproductos biomasa, H₂O y CO₂ (Cardenas *et al.*, 2003) este último es el principal Gas de Efecto Invernadero (GEI) por ser el de mayor emisión a la atmosfera. Una de las estrategias de mitigación de este gas es su aprovechamiento para la producción de microalgas; estos microorganismos fotosintéticos utilizan el CO₂ para generar biomasa, la cual puede ser utilizada en la alimentación y la salud humana, en la acuicultura incluso en la obtención de biocombustibles, de esta manera el exceso de CO₂ es transformado a un producto de valor agregado (González-López *et al.*, 2011, Santos *et al.*, 2014).

La *Arthrospira maxima*, es una microalga que puede encontrarse en diversos ambientes (suelo, arena, agua de mar, agua dulce, aguas residuales). Es una especie extremófila que puede crecer en condiciones de alta alcalinidad, temperatura y salinidad, en las cuales puede dificultarse la vida a otros organismos. La *A. maxima* es de gran importancia comercial debido a su alto valor proteico, su contenido de vitaminas y pigmentos fotosintéticos, es comúnmente utilizada en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética (Sánchez *et al.*, 2003).

En este trabajo se propone una tecnología limpia para la valorización del carbono presente en los vapores de metanol por medio de la combinación de dos procesos: la biofiltración y el cultivo microalgal para la generación de biomoléculas que pueden ser de gran interés comercial.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Valorización de residuos

Con el crecimiento de la población se incrementan la demanda de bienes y servicios, lo que ocasiona la generación de grandes cantidades de residuos líquidos, sólidos o gaseosos provenientes de diversas industrias (alimentaria, papelera, automotriz, energía eléctrica, farmacéutica etc.) y su incorrecta disposición ocasiona daños al ambiente. Para atender este problema existen tecnologías de tratamiento según el contaminante, además de que se han implementado estrategias de valorización de los residuos para procurar un balance ambiental y económico positivo (Arancon *et al.*, 2013).

En México la ley general para la prevención y gestión integral de los residuos (2015), define la valorización de residuos como:

“Principio y conjunto de acciones asociadas, cuyo objetivo es recuperar el valor remanente o el poder calorífico de los materiales que componen los residuos, mediante su reincorporación en procesos productivos, bajo criterios de responsabilidad compartida, manejo integral y eficiencia ambiental, tecnológica y económica”

La valorización de residuos es esencialmente un concepto de reciclaje de residuos donde pueden ser convertidos en productos de alto valor como biopolímeros, ácidos orgánicos, enzimas, productos farmacéuticos o biocombustibles (bioetanol, biogás, biohidrógeno), con el propósito de disminuir su volumen y aprovechar las ventajas económicas y ambientales asociadas (Arancon *et al.*, 2013; Liguori *et al.*, 2013).

Las investigaciones acerca de cómo llevar a cabo la valorización de residuos se han enfocado en desarrollar tecnologías para residuos sólidos, muy pocos estudios hablan acerca de valorizar residuos líquidos y gaseosos por lo que en este trabajo se pretende abordar este tema valorizando un COV.

2.2. Contaminación atmosférica

2.2.1. Compuestos orgánicos volátiles

En el 2004 el parlamento Europeo y el Consejo de la Unión Europea define a los Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) como “Cualquier compuesto orgánico que tiene un punto de ebullición inicial menor o igual a 250 °C medido a una presión estándar de 101.3 k Pa”.

En la NOM-123-SEMARNAT-1998 se define 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 luz solar forman ozono”.

Los COV más comunes pueden ser: oxigenados (acetaldehído, acetona, acetato de etilo, formaldehído, alcohol isopropílico, 2-butanona, metanol, etc.), aromáticos (tolueno, etilbenceno, xileno, etc.), o halogenados (tetracloroetano, cloruro de metilo). Son de los contaminantes atmosféricos más comunes emitidos por la industria química y petroquímica. Son ampliamente utilizados como ingredientes de productos para el hogar como disolventes, pinturas, barnices, aerosoles, limpiadores, y combustibles líquidos (US EPA, 2017). Sus emisiones se originan por pérdidas en los tanques de almacenamiento, ventilación de los recipientes de proceso, fugas en las tuberías y equipos, corrientes de agua residuales e intercambio de calor (Khan & Ghoshal, 2000).

Los COV pueden ser tóxicos o cancerígenos (Iranpour *et al.*, 2005), los efectos para la salud pueden variar dependiendo de la naturaleza de cada compuesto, del grado y del periodo de exposición al mismo. La exposición a estos compuestos puede ser por inhalación, ingestión, o contacto con la piel. La exposición a largo plazo puede causar lesiones de hígado, riñones y sistema nervioso central. La exposición a corto plazo, puede causar irritación de los ojos y las vías respiratorias, dolor de cabeza, mareos, trastornos visuales y de memoria, alergias en la piel además de fatiga (Vargas-Ramos & Marrugo-Negrete, 2014). Mientras que el ozono formado por las reacciones fotoquímicas con los óxidos de nitrógeno de la atmósfera puede afectar la salud de las personas y animales, además de interferir con la actividad fotosintética de las plantas (NADF-011-AMBT-2007). Siendo lo anterior un problema ambiental y de salud pública, los COV han sido regulados en diferentes países, y se han implementado estrategias para el control de sus emisiones.

2.2.1.1. Metanol

Uno de los COV más utilizado en la industria es el metanol. Es un alcohol de bajo peso molecular, fácilmente biodegradable y altamente soluble en agua, sus propiedades físicas se muestran en la Tabla 1. Se utiliza en disolventes de pinturas, líquido de lavado de parabrisas, anticongelante, además de ser utilizado como materia prima en la producción de compuestos orgánicos comercialmente importantes como el formaldehído, ácido acético y metacrilato de metilo (Avalos *et al.*, 2008; NAS/COT Subcommittee for AEGLs, 2015).

La exposición a vapores de metanol produce varios efectos sobre la salud humana incluyendo dolores de cabeza, desordenes de sueño, problemas gastrointestinales y daños al nervio óptico. Debido a estos y otros efectos potenciales, el metanol es considerado como uno de los contaminantes peligrosos del aire por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Palomo-Briones *et al.*, 2015).

Tabla 1. Propiedades químicas y físicas del metanol.

Propiedad	Valor
Fórmula molecular	CH ₃ OH
Peso molecular	32.04 g mol ⁻¹
Punto de ebullición a 1 atm	65°C
Densidad del líquido a 20°C	0.7928 g mL ⁻¹
Presión de Vapor a 20°C	125 hPa
Solubilidad	Miscible con etanol, éter, cetonas, benceno, la mayoría de los disolventes orgánicos y agua; soluble en acetona y cloroformo

Fuente: NAS/COT Subcommittee for AEGLs, 2015

2.2.2. Métodos de tratamiento de compuestos orgánicos volátiles

Existen diferentes métodos para el control de las emisiones de los COV, estos pueden ser clasificados como sigue: i) Prevención de la emisión mediante modificación de los procesos productivos y equipos empleados, ii) Implementación de técnicas de tratamiento de los COV. El primer grupo incluye la sustitución de materias primas para reducir las entradas de COV al proceso y la modificación de equipos para reducir el escape del COV al medio ambiente. El segundo grupo se clasifica como sigue (Khan & Ghoshal, 2000):

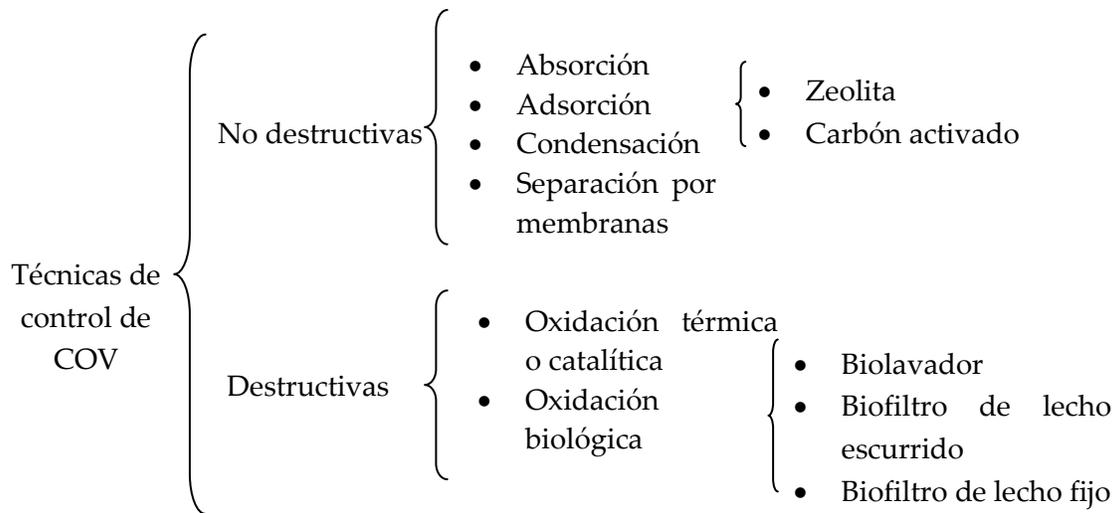


Figura 1. Técnicas de tratamiento de COV.

En la actualidad se ha incrementado el interés por los métodos biológicos para el tratamiento del aire residual, dado que este tratamiento es relativamente más barato en comparación con las técnicas convencionales como la incineración o la adsorción sobre carbón activado; y es respetuoso del medio ambiente (Deshusses, 1997). Los tratamientos biológicos son utilizados en industrias para el tratamiento de olores y remoción de algunos COV que tienen alta solubilidad y bajo peso molecular (metanol, etanol, aldehídos, cetonas, y algunos hidrocarburos aromáticos) (Leson & Winer, 1991).

2.2.2.1. Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos se basan en la capacidad de microorganismos para convertir el COV en agua, dióxido de carbono y biomasa. Para que el proceso se lleve a cabo, los contaminantes deben transferirse del aire a un medio líquido, antes de ser utilizados por los microorganismos como fuente de carbono y energía (Cárdenas *et al.*, 2003; Malhautier *et al.*, 2005).

Los tratamientos biológicos pueden dividirse en tres tipos (Tabla 2) según las condiciones en las que se encuentren los microorganismos en el sistema y el patrón de flujo de la fase líquida.

Tabla 2. Tipos de tratamientos biológicos y sus principales características.

Tipo	Microorganismos	Fase líquida	Descontaminación
Biolavador	Suspendidos en el medio acuoso	-Móvil -Dispersa	-Separación del COV/ aire en una columna de absorción -Oxidación biológica del COV en otro reactor aireado
Biofiltro de lecho escurrido	Inmovilizados en el material filtrante	-Goteo continuo sobre el lecho filtrante -Posible recirculación	-Directamente en la biopelícula de lecho filtrante
Biofiltro de lecho fijo	Inmovilizados en el material filtrante	-Riego con solución nutritiva (ocasional o diario dependiendo del material de empaque)	-Directamente en la biopelícula de lecho filtrante

Fuente: Delhoménie & Heitz, 2005

2.2.2.1.1. Biofiltro de lecho fijo

La configuración más utilizada para el tratamiento de aire es el biofiltro de lecho fijo (tecnología utilizada en el presente estudio), mejor conocido como biofiltro. Un biofiltro debe de contener un ambiente adecuado para el desarrollo de los microorganismos. El empaque puede ser orgánico (suelo, turba, composta, etc.) o inorgánico (esferas de poliestireno, vermiculita, perlita, etc.). Su elección es un criterio importante debido a que de este depende la vida útil del biofiltro, el crecimiento microbiano y la eficiencia de remoción (Malhautier *et al.*, 2005). El contenido de humedad del medio debe mantenerse en valores óptimos (entre 40 y 60%) para favorecer el crecimiento microbiano sin obstruir los poros (Delhoménie & Heitz, 2005). Los valores de pH del medio deben permitir que los microorganismos prosperen, la mayoría de los biofiltros están diseñados para operar en un intervalo de pH de 6.5 a 8 (Wani *et al.*, 1997). Los microorganismos necesitan nutrientes minerales que pueden ser proporcionados por el material de empaque, en caso de ser orgánico, o por la adición de nutrientes en caso de ser inorgánico. Sin embargo en el primer caso se conduce a un agotamiento de los recursos nutritivos por lo que podría ser necesario la adición de nutrientes para mantener la eficiencia del sistema (Delhoménie & Heitz, 2005).

2.2.3. Dióxido de carbono

La concentración de CO₂ en la atmósfera pasó de 280 ppm en la época preindustrial a 403 ppm en 2017 (NOAA, 2017). El consumo de combustibles fósiles es la principal fuente de emisiones de CO₂, el sector energético contribuye con el 84% de las emisiones de este gas.

El CO₂ es el GEI de origen antropogénico que más ha contribuido al calentamiento global (IPCC, 2007). Su emisión se debe principalmente al uso de combustibles de origen fósil y en menor proporción a los cambios de uso de suelo y procesos de descomposición orgánica (Baethgen & Martino, 2000). Es liberado a la atmósfera por diversas actividades económicas como el transporte, comercio, generación de electricidad, agricultura y ganadería, extracción de hidrocarburos, entre otras actividades. Algunos procesos industriales que contribuyen a estas emisiones son: la producción de cemento, vidrio, acero, papel y alimentos (IPCC, 2007). Además, existen algunos otros procesos biológicos que tienen como producto el CO₂, aunque su aporte es menor, como lo son la fermentación alcohólica y la biofiltración de los COV (Mastudo *et al.*, 2011; Palomo-Briones *et al.*, 2015).

Parte de las emisiones de CO₂ ha sido capturada por los sumideros naturales como los océanos, la vegetación y el suelo, manteniendo así cierta estabilidad de este gas en la atmósfera. Actualmente estos sumideros no son suficientes para capturar las emisiones de CO₂ a la atmósfera (Rodríguez & Mance, 2009).

2.2.4. Mitigación de emisiones de CO₂

La creciente preocupación por el calentamiento global ha fomentado la búsqueda de técnicas de captura, almacenamiento o valorización de CO₂ (González-López *et al.*, 2011).

- Captura y secuestro de CO₂

Consisten en capturar el CO₂ de una corriente de gases (frecuentemente de combustión) y separarla del resto de los gases por medio de diversos procesos. Los candidatos para este proceso son las centrales eléctricas y otros procesos industriales a gran escala. Tras su captura, el gas puede tener un almacenamiento: i) oceánico, ii) geológico iii) por carbonatación mineral. La finalidad de la captación de CO₂ es producir un flujo concentrado de CO₂ a alta presión que pueda ser fácilmente transportado a un lugar de almacenamiento (González-López *et al.*, 2011).

- Valorización de CO₂

Una alternativa al almacenamiento puede ser la valorización de este gas, el cual puede ser utilizado en la industria para la producción de urea y metanol, en la limpieza industrial, como agente extintor o en el envasado de alimentos. Además, puede ser utilizado para incrementar la extracción del petróleo o la recuperación de metano mediante técnicas de inyección de gases como CO₂ (González-López *et al.*, 2011). Por otra parte la fotosíntesis es la forma natural de reciclaje de CO₂. La vegetación terrestre fija alrededor de 500 billones de toneladas de CO₂, sin embargo las microalgas tienen la capacidad de fijar CO₂ con una eficacia 10 veces mayor que las plantas terrestres además de tener numerosas ventajas tecnológicas adicionales. Algunos estudios muestran altas tasas de crecimiento en microalgas con concentraciones hasta del 50% de CO₂ (Skjanes *et al.*, 2007). El CO₂ es fijado y transferido en forma de carbono a productos de alto valor agregado como carbohidratos, lípidos y proteínas (Lee *et al.*, 2003; Zeng *et al.*, 2012).

2.3. Las microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos (de 2 a 200 µm) fotosintéticos procariontes y eucariontes (Oudjare *et al.*, 2015; Mata *et al.*, 2010), son polifiléticos por pertenecer a once divisiones filogenéticas (Bowles, 2007) de variada morfología y fisiología, y se caracterizan por realizar fotosíntesis oxigénica. Estos microorganismos se encuentran en diversos ecosistemas (aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo), bajo diferentes condiciones de temperaturas, pH y disponibilidad de nutrientes (Mostafata, 2012).

Las microalgas son los principales productores primarios, contribuyen con el 50% de la actividad fotosintética del planeta y forman la base de la cadena alimenticia para más del 70% de la biomasa en el mundo. Se pueden clasificar según sus pigmentos fotosintéticos, flagelos, y composición de membrana celular. Algunas de las divisiones de microalgas son: Cianofita, Glaucofita, Rodofita, Criptofita, Clorofita y Euglenofita (Metting, 1996).

Aproximadamente 90% del peso seco de las microalgas está constituido por proteínas, lípidos y carbohidratos además de ácidos nucleicos, vitaminas, pigmentos y minerales (Díaz & Restrepo, 2011). Las microalgas presentan ventajas como alta tasa

de crecimiento, alta eficiencia fotosintética y alta producción de biomasa comparada con los cultivos terrestres (Barajas *et al.*, 2012). Para transformar la energía solar en energía química las microalgas necesitan CO₂, nutrientes y agua (Santos *et al.*, 2014).

La investigación con microalgas ha adquirido una gran importancia, debido a la combinación de los usos que pueden tener, desde la obtención de productos comerciales con aplicaciones en la nutrición y salud humana, acuicultura, cosméticos y biofertilizantes, hasta la obtención de biocombustibles como bioetanol, biodiesel, biometano, biohidrógeno. Además, durante su crecimiento, pueden contribuir a reducir las emisiones de CO₂ por biomitigación e intervenir en el tratamiento de aguas residuales, aunque es necesario reducir costos de producción para que pueda ser viable económicamente (Skjanes *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2014).

Destacan las siguientes aplicaciones ambientales:

- Fitorremediación: es una tecnología emergente de biorremediación con microalgas y macroalgas para la eliminación o transformación de contaminantes de aguas residuales o procedentes de efluentes gaseosos (Pacheco *et al.*, 2015).
- Producción de biocombustibles: las ventajas que ofrecen son su baja aromaticidad además de ser biodegradables (Gautam *et al.*, 2015).
- Biosecuestro de CO₂: cada tipo de microalgas tiene una capacidad dada para usar el CO₂ de la atmósfera y convertirlo en biomasa (Gautam *et al.*, 2015).

2.3.1. *Arthrospira maxima*

Arthrospira maxima es una microalga filamentosa en forma de espiral, multicelular, generalmente clasificada como cianobacteria debido a su estructura procariota. Generalmente crece en regiones tropicales y subtropicales, en cuerpos de agua cálida con alto contenido de carbonatos y bicarbonatos, elevado pH y salinidad (Kouser & Mohammed, 2012). Tiene un alto valor nutricional, debido a que contiene entre 60 y 70% de proteína, vitaminas, C, D, E, complejo B y minerales por lo que es usada como complemento alimenticio no solo para humanos sino también para animales. Además contiene importantes compuestos químicos, por ejemplo pigmentos como β -caroteno y ficocianina, los cuales tienen gran valor comercial y, son usados como antioxidantes (Miranda *et al.*, 1998; Habib & Parvin, 2008; Da Costa Monteiro *et al.*, 2010). La ficocianina puede ser utilizada principalmente como un pigmento alimenticio, recientemente se ha demostrado que tiene propiedades antiinflamatorias y

anticancerígenas (Silveira *et al.*, 2007). Otros compuestos importantes son los ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico y ácido λ -linolénico) los cuales tienen diversas aplicaciones en la medicina (Chaiklahan *et al.*, 2008). *A. maxima* es usada en la industria de alimentos y comercializada como un ingrediente activo en los alimentos y bebidas funcionales, ha alcanzado gran aceptación por los consumidores de Europa, América del norte, parte de Asia y Oceanía (Capellin & Cysewsky, 2010).

3. ANTECEDENTES

3.1. Biofiltración de metanol

Las emisiones de los COV, han sido sujeto de regulaciones ambientales más estrictas, por lo que las industrias emisoras han buscado técnicas para su control. Se han utilizado tratamientos como la condensación, la oxidación catalítica, o absorción con carbón activado, entre ellos la biofiltración parece ser una opción rentable y respetuosa del ambiente (Shareefdeen *et al.*, 1993).

La biofiltración de metanol ha sido tema de diversos estudios. Algunos se han enfocado a evaluar los diferentes tipos de material filtrante, la concentración de nitrógeno en la solución de nutrientes, mientras que otros evalúan la carga, tiempo de residencia en cama vacía (EBRT, por sus siglas en inglés), con la finalidad de optimizar el proceso. En la tabla 3, se presentan los resultados obtenidos en diferentes investigaciones de biofiltración de metanol, quienes reportan la capacidad de eliminación máxima (CE_{max}), la cual hace referencia a la cantidad máxima (g) de contaminante que puede tratarse por m^3 de biofiltro por hora, independientemente de la eficiencia de remoción del sistema; y/o la carga crítica ($Carga_{crit}$), que hace referencia a la cantidad máxima de contaminante que puede ser tratada sin emitir COV en la salida del sistema (remoción cercana al 100%).

La CE_{max} reportada va de 80 hasta $380 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ con eficiencias de remoción del contaminante hasta del 96% y la carga $Crit$ va de 80 a $120 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Entre las conclusiones obtenidas se puede mencionar que se obtuvo una mejor eficiencia de remoción (ER) en materiales porosos. La carga de entrada influyó en la cantidad de biomasa y en la tasa de producción de dióxido de carbono; y la densidad celular de los microorganismos metilotróficos está relacionada con el rendimiento del biofiltro.

Los autores coinciden en que la carga del contaminante es un parámetro importante para un proceso exitoso de biofiltración; sin embargo existen diversos factores a considerar, como lo es la humedad, los nutrientes disponibles para el desarrollo de los microorganismos y las caídas de presión. La biofiltración es aplicada para controlar las emisiones de metanol con una alta eficiencia de remoción, bajo consumo de energía y bajo costo, por lo que su aplicación va incrementando, debido a esto, el proceso debe de ser optimizado además de asegurar de que tenga el mínimo impacto en el ambiente.

Tabla 3. Investigaciones de biofiltración de metanol.

Título	Autores	Condiciones de operación	Capacidad de eliminación máxima CE_{max} y/o carga crítica C_{crit}
Biofiltración de aire contaminado con metanol y tolueno	Chetpattananondh <i>et al.</i> (2005)	- Medio filtrante: residuos de palma (33%) y lodo activado (66%) - Inóculo: Sin inoculación, población naturalmente presente en el medio filtrante - EBRT: 0.15-1.18 min - Concentración: (0.3-4.7 g m ⁻³)	- CE_{max} : 230 g m ⁻³ h ⁻¹ - C_{crit} : 90 g m ⁻³ h ⁻¹
Biofiltración de metanol en un biofiltro orgánico utilizando cáscara de cacahuete como medio	Ramirez-Lopez <i>et al.</i> (2010)	- Medio filtrante: cáscara de cacahuete Inóculo: sin inoculación - EBRT: 0.3-0.62 min - Concentración: (0.66-10.64 g m ⁻³)	- C_{crit} : 120 g m ⁻³ h ⁻¹ (2.89 kg m ⁻³ d ⁻¹)
Biofiltración de vapor de metanol	Shareefdeen & Baltzis (1993)	- Medio filtrante: -turba (40%) y vermiculita (60%) - Inóculo: Consorcio microbiano - EBRT: 2.8-5.6 min - Concentración: (2.67-8.72 g m ⁻³)	- C_{crit} : 112.8 g m ⁻³ h ⁻¹
Biofiltración de una corriente de aire con metanol en un reactor tubular seco de biopelícula utilizando anillos de cerámica como portador	Omil <i>et al.</i> (2008)	Medio filtrante: anillos de cerámica - Inóculo: muestra de biopelícula de otro biorreactor que degradaba metanol - EBRT: 0.7 min - Concentración: 0.74-1.51 g m ⁻³	- CE_{max} : 116.7 g m ⁻³ h ⁻¹ (2.8 kg m ⁻³ d ⁻¹) - C_{crit} : 62.5 g m ⁻³ h ⁻¹ (1.5 kg m ⁻³ d ⁻¹)
Efecto de la carga de inyección, el agua y la cantidad de bacterias en la eliminación de metanol usando un biofiltro de flujo ascendente y de flujo descendente	Krailas <i>et al.</i> (2000)	Medio filtrante: compost de hongos (80%) y anillos de polipropileno (20%) - Inóculo: lodos activados - EBRT: 0.27-2.7 min - Concentración: 0.5-7.5 g m ⁻³	CE_{max} : 101 g m ⁻³ h ⁻¹
Tratamiento de vapores de metanol en biofiltro empacado con material inerte	Avalos <i>et al.</i> (2008)	- Medio filtrante: esferas porosas de cerámica - Inóculo: lixiviados de un biolavador utilizado para eliminación de metanol - EBRT: 0.33-2.17 min - Concentración: 0.7-4 g m ⁻³	- CE_{max} : 95 g m ⁻³ h ⁻¹ - C_{crit} : 80 g m ⁻³ h ⁻¹
Eliminación de metanol y etanol por biofiltración: un estudio experimental	Dastous <i>et al.</i> (2008)	- Medio filtrante: composta de tabaco - Inóculo: sin inoculación - EBRT: 1 min - Concentración: (0.40-3.20 g m ⁻³)	- CE_{max} 82 g m ⁻³ h ⁻¹
Tratamiento de aire contaminado con vapor de metanol en un biofiltro con y sin percolación	Avalos <i>et al.</i> (2009)	Medio filtrante: Empaque químicamente inerte - Inóculo: lixiviados de un biofiltro anterior utilizado para tratar metanol - EBRT: 0.33-4.42 min - Concentración: (0.7-4 g m ⁻³)	- CE_{max} : 80 g m ⁻³ h ⁻¹

3.2. Valorización de los residuos generados en el proceso de biofiltración

A pesar de que son muchos y muy variados los COV y que las investigaciones para su degradación han aumentado, existen pocos trabajos que buscan el aprovechamiento de estos compuestos a través de la valorización de residuos.

Terán *et al.*, (2002) utilizaron el bagazo de la caña de azúcar como empaque en la biofiltración de etanol, inoculando con *Candida utilis* reportaron que el 57% del carbono fue convertido a CO₂, y el 8.7% a biomasa (50% de proteína), además propusieron el uso final del bagazo como alimento para ganado debido a su alto contenido proteico.

Otros trabajos reportan producción de la proteína heteróloga endoquitinasa-42 por medio de la biofiltración de vapores de metanol, utilizando la cepa de *Pichia pastoris* modificada genéticamente. El 70-81% del carbono fue convertido a CO₂, 5.8-10% fue convertido a biomasa y 2.5% se fue en lixiviados. Mencionan la necesidad de la optimización de los parámetros de operación del biofiltro para obtener la mayor producción de proteínas, además concluyen que es una tecnología adecuada para el aprovechamiento de vapores de metanol provenientes de la industria del papel (Arriaga *et al.*, 2010; Arriaga *et al.*, 2012; Palomo-Briones *et al.*, 2015).

De acuerdo con los estudios antes mencionados, a pesar de aprovechar parte del carbono presente en los COV para la generación de biomasa en el sistema, un gran porcentaje es mineralizado a CO₂, pudiéndose aprovechar este último para la producción de algunas microalgas y de esta manera reducir las emisiones de este gas.

3.3. Fijación de CO₂ mediante el cultivo de microalgas

Las microalgas han sido objeto de estudio por sus aplicaciones en el campo de la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica. Teniendo en cuenta su capacidad para fijar el CO₂ de la atmósfera (0.03-0.06%), algunos investigadores han propuesto aprovechar el CO₂ presente en los gases de combustión (15% de CO₂) de diversas industrias puesto que son un recurso rico en CO₂ para el cultivo de microalgas (Wang *et al.*, 2008). En la Tabla 4 se presentan algunas especies de microalgas estudiadas para la fijación del CO₂.

Tabla 4. Microalgas estudiadas para la fijación del CO₂ (modificado de Wang *et al.*, 2008).

Microalga	CO ₂ %*	T °C	P (g L ⁻¹ d ⁻¹)**
<i>Chlorococcum littorale</i>	40	30	-
<i>Chlorella kessleri</i>	18	30	0.087
<i>Chlorella</i> sp.UK001	15	35	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	15		-
<i>Chlorella vulgaris</i>	aire	25	0.040
<i>Chlorella vulgaris</i>	aire	25	0.024
<i>Chlorella</i> sp.	40	42	-
<i>Dunaliella</i>	3	27	0.170
<i>Haematococcus pluviialis</i>	16-34	20	0.076
<i>Scenedesmus obliquus</i>	aire	-	0.009
<i>Scenedesmus obliquus</i>	aire	-	0.016
<i>Botryococcus braunii</i>	-	25-30	1.100
<i>Scenedesmus obliquus</i>	18	30	0.140
<i>Arthrospira</i> sp.	12	30	0.220

*Porcentaje de CO₂ suministrado al cultivo

**Productividad

Barajas *et al.* (2012) estudiaron la inyección continua de CO₂ sobre la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* UTEX 1803, probaron flujos continuos de 2.3 y 3.8% de CO₂ encontrando que altas concentraciones de carbono mejoran hasta dos veces la producción de biomasa en fotobiorreactores a escala de laboratorio.

En investigaciones recientes se han cultivado microalgas con CO₂ de diferentes fuentes. En un experimento para el cultivo de *Arthrospira platensis* se utilizó CO₂ proveniente de la fermentación alcohólica y CO₂ de alta pureza, confirmando que la presencia de los COV no interfiere en la incorporación de CO₂ al medio de cultivo, pues no encontraron diferencias significativas de productividad y contenido de proteínas entre estos dos tratamientos (Mastudo *et al.*, 2011).

Da Silva *et al.* (2015) realizaron un estudio en el cual se concluye que *Chlorella fusca* LEB y *Arthrospira* sp. LEB 18, tienen potencial para fijación del CO₂ proveniente de gases de combustión y de los residuos sólidos que se producen en una termoeléctrica, la máxima concentración de biomasa para *Chlorella fusca* fue 0.84 g L⁻¹ y una fijación

de 42.8% de CO₂, mientras que para *Arthrospira* sp fue de 0.64 g L⁻¹ y 20.5%, respectivamente.

Hoseini *et al.* (2014) realizaron un estudio para evaluar la respuesta de crecimiento de *Arthrospira platensis* a diferentes concentraciones de CO₂ de gases de combustión de una central eléctrica, usaron el aire atmosférico como control y probaron 4, 6, 8 y 10% de CO₂ para el crecimiento de esta microalga, la mayor producción de biomasa se obtuvo al suministrar 8% de CO₂.

Los estudios antes mencionados sugieren que *Arthrospira* es un género de microalga que puede ser utilizado para la mitigación de CO₂, debido a su capacidad de fijación y a su capacidad de crecer en condiciones adversas. Además, por poseer un alto contenido de biomoléculas, como proteínas y pigmentos, su producción es de interés comercial, por lo que para el presente trabajo se optó por cultivar este microorganismo para el aprovechamiento del gas residual del biofiltro.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La biofiltración es considerada una alternativa para reducir la contaminación atmosférica por ser un tratamiento de bajo costo. Varios COV tienen un alto grado de biodegradabilidad. El inconveniente que se tiene, es la obtención de un subproducto, el CO₂ el cual es GEI, por lo que contribuye al calentamiento global. Este trabajo pretende desarrollar una tecnología ambiental que sea capaz de tratar un contaminante minimizando subproductos dañinos, en este caso el contaminante tratado son los vapores de metanol, y el subproducto generado (CO₂), el cual será integrado en otro proceso del cual se podrá obtener un producto de valor agregado: la microalga *A. maxima*, teniendo así un beneficio sanitario, ambiental y económico. En caso de obtener resultados exitosos, este tratamiento podría ser generalizado para el tratamiento biológico de los COV con lo que se limitaría la emisión de CO₂ a la atmósfera.

Este proceso combinado permite la fijación de CO₂ por medio de microorganismos, el cual es una estrategia para mitigar las emisiones de este gas. La *A. maxima* es una especie altamente resistente capaz de adaptarse a diversos hábitats, colonizando ambientes en los cuales puede dificultarse la vida a otros organismos y que además por su composición bioquímica es de gran interés comercial.

5. HIPÓTESIS

El sistema propuesto será capaz de tratar los vapores de metanol y fijar parte del CO₂ residual del biofiltro por medio del cultivo de *A. maxima*, permitiéndole tener una biomasa y calidad comparable con el cultivo convencional, obteniendo así un producto con valor agregado, y minimizando el costo de producción.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Desarrollar un método biológico de tratamiento de vapores de metanol, que minimice las emisiones CO₂ a la atmósfera, mediante su utilización como alimento para el cultivo de *A. maxima*.

6.2. Objetivos específicos

1. Determinar las condiciones de operación del biofiltro (aporte de nutrientes, carga de contaminante, y tiempo de residencia del aire) en la degradación de metanol, maximizando su porcentaje de mineralización.
2. Determinar la temperatura adecuada para el crecimiento de *A. maxima*.
3. Comparar la producción de biomasa de *A. maxima*: sin aireación, con aporte de aire atmosférico y con aporte de aire enriquecido en CO₂ proveniente de un biofiltro.
4. Evaluar los efectos de la adición de CO₂ proveniente del biofiltro de aire en el contenido de proteínas, lípidos y ficocianina de *A. maxima*.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

Para establecer el sistema de valorización (Figura 2) se optó por la utilización de un biofiltro para el tratamiento de vapores de metanol acoplado a un fotobiorreactor para el cultivo de la microalga *A. maxima*.

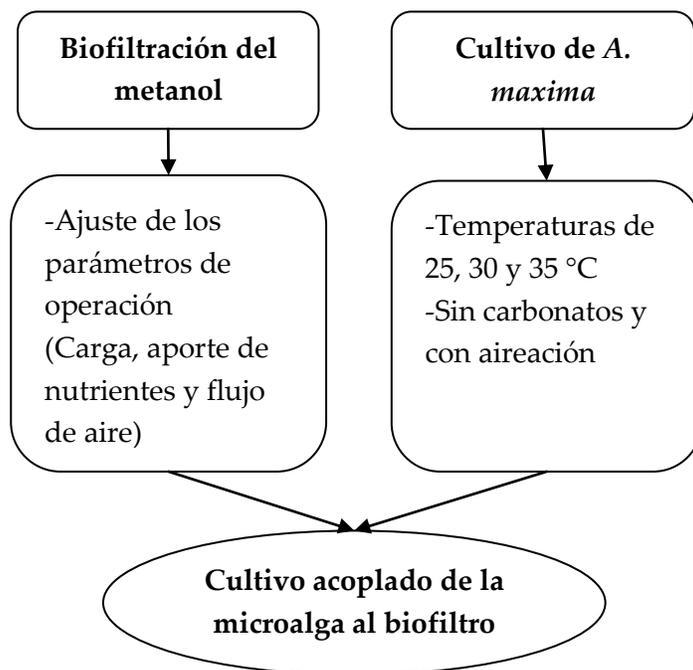


Figura 2. Sistema de valorización del metanol.

Inicialmente estos dos sistemas se trabajaron por separado para determinar algunos parámetros de operación mencionados en la figura anterior, después fueron acoplados para el aprovechamiento del CO₂ proveniente del biofiltro en la alimentación de la microalga.

7.1. Sistema de biofiltración

El proceso de biofiltración se llevó a cabo en un biorreactor a escala laboratorio (Figura 3).

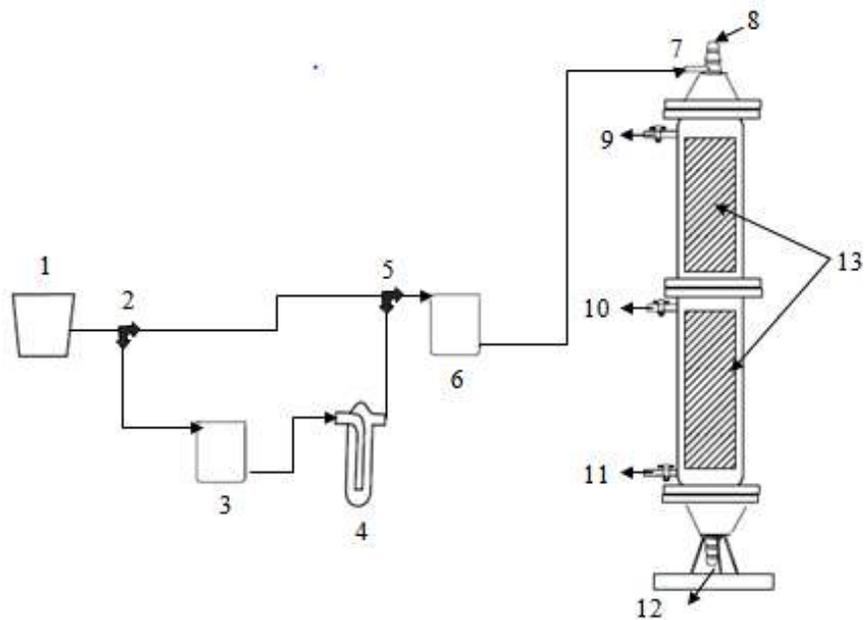


Figura 3. Diagrama del sistema de biofiltración. (1) compresor de aire, (2 y 5) conector, (3 y 6) controlador de flujo másico, (4) burbujeador, (7) entrada, (8) aporte de nutrientes, (9, 10 y 11) válvulas de muestreo de aire, en entrada, mitad y salida del reactor, respectivamente, (12) salida de lixiviados, (13) material filtrante.

A continuación, se describe a detalle el modo de operación de este sistema.

7.1.1. Características del biofiltro

El biofiltro está construido con acero inoxidable, tiene 2.4 L de volumen útil de lecho. Es una torre de 0.52 m de altura, y consta de dos módulos de 0.26 m cada uno, con un diámetro interno de 0.083 m. Dispone de dos válvulas de entrada, una para el riego del medio mineral y la otra para el paso del flujo de aire a tratar. Cuenta con cuatro válvulas de salida: tres para la toma de muestras de aire ubicadas en la entrada, a la mitad y en la salida del reactor y la otra en la parte inferior para la salida de los lixiviados.

7.1.2. Material de soporte e inóculo

Se utilizó perlita como material filtrante y soporte microbiano. El soporte fue tamizado con una criba de 3 a 5 mm para homogenizar el tamaño de las partículas. Para la caracterización física de este material se determinó su densidad aparente, densidad real, el grado de espacio vacío y la capacidad de retención del agua, como se describe a continuación

- **Densidad aparente:** Se utilizó una probeta de 100 mL, previamente pesada, la cual se llenó de perlita tratando de que estuviera lo más compactada posible, antes de volver a pesarla y se calculó utilizando la ecuación I

$$\rho_{\text{aparente}} = \frac{P_{\text{probeta + perlita}} - P_{\text{probeta vacía}}}{V} = \left(\frac{g}{L}\right) \dots \text{(Ec. I)}$$

- **Grado de espacio vacío:** Se utilizó la misma probeta con perlita, llenando los espacios vacíos con agua destilada hasta alcanzar la marca de los 100 mL y se calculó con la ecuación II.

$$\varepsilon = \frac{\text{Volumen de agua vertida}}{\text{Volumen de la probeta}} \dots \text{(Ec. II)}$$

- **Densidad real:** Se obtiene a partir de la densidad aparente y del grado de vacío haciendo el siguiente cálculo.

$$\rho_{\text{real}} = \frac{\rho_{\text{aparente}}}{1 - \varepsilon} = \left(\frac{g}{L}\right) \dots \text{(Ec. III)}$$

- **Capacidad de retención del agua:** Se dejó escurrir el agua del soporte, obteniendo el peso de una muestra de perlita saturada de agua (P_H) en un vaso de precipitados de 10 mL. Posteriormente se dejó en la estufa a 100 °C durante 48 horas, y se volvió a pesar (P_S), se realizó el cálculo utilizando la ecuación IV.

$$CR = \left(\frac{P_H - P_S}{P_H} * 100\right) \dots \text{(Ec. IV)}$$

La inoculación se realizó mezclando manualmente la perlita con 5 L de lodos activados procedentes de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad del Mar, Campus Puerto Ángel. Posteriormente se introdujo en cada módulo del biofiltro. Los resultados de la caracterización están reportados en el Anexo 1.

7.1.3. Medio mineral

El medio mineral que se utilizó fue el descrito por Arriaga & Revah (2004), (g L⁻¹): •18 de NaNO₃, •1.3 de KH₂PO₄, •0.38 de MgSO₄ 7H₂O, •0.25 de CaSO₄ 2H₂O, •0.055 de CaCl₂, •0.015 de FeSO₄ 7H₂O, •0.012 de MnSO₄ H₂O, •0.0023 de ZnSO₄ 7H₂O, •0.0023 de CuSO₄ 7H₂O, •0.0015 de CoCl₂ 6H₂O y •0.0015 de H₃BO₃. El pH de este medio mineral se ajustó a 7 con NaOH 0.1N.

7.1.4. Reempaques del biofiltro

Los reempaques se iniciaron con la apertura de cada módulo del biofiltro, el soporte contenido fue homogenizado, posteriormente se tomaron 200 mL en los días 88 y 104; y 400 mL en el día 122 (según el contenido de biomasa) para ser sustituido por la misma cantidad de soporte nuevo (perlita), la cual fue mezclada para homogenizar el material y realizar el reempaque de cada módulo.

7.1.5. Generación del aire contaminado

El flujo de aire se generó a partir de compresor (Thomas-pump, mod. AP-40), este flujo fue dividido en dos corrientes de aire: la primera corriente se hacía pasar por un controlador de flujo másico (Aalborg) para posteriormente saturarse de vapores de metanol contenido en un burbujeador, finalmente esta corriente se unía a la segunda para entrar al biofiltro, regulando el flujo total con otro controlador de flujo másico, como se muestra en la Figura 3.

7.1.6. Monitoreo del biofiltro

7.1.6.1. Mediciones de la fase gaseosa

El biofiltro fue monitoreado los cinco días hábiles de la semana, tomando muestras de aire a la entrada, a la mitad y a la salida del reactor, utilizando bulbos muestreadores de aire (SUPELCO Analytical con capacidad de 500 mL). La determinación de las concentraciones de metanol y CO₂ en la fase gas se realizó por cromatografía de gases, inyectando por triplicado muestras de 0.25 mL con una jeringa hermética a gases. Las concentraciones fueron relacionadas con el área de los picos cromatográficos con base a calibraciones previas.

Específicamente, las concentraciones de metanol en el aire fueron medidas con un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies GC, modelo 6890) equipado con un detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés), y con una columna capilar tipo HP-Innowax. El gas acarreador fue nitrógeno con un flujo de 2 mL min⁻¹.

Las temperaturas fueron de 250 °C en el puerto de inyección, 100 °C en el horno y 250 °C en el detector.

La presencia de CO₂ en aire fue medida con un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies GC, modelo 6890), con detector de conductividad térmica (TCD, por sus siglas en inglés) y una columna capilar (HP-PLOT-Q). El gas acarreador fue el nitrógeno a un flujo de 3 mL min⁻¹. Las temperaturas fueron de 250 °C para el inyector, 40 °C para el horno, y 250 °C para el detector.

7.1.6.2. Mediciones de la fase líquida (lixiviados)

El volumen del lixiviado fue medido semanalmente, del cual se guardó una muestra para la determinación del carbono lixiviado correspondiente al contaminante por medio de carbono orgánico total (COT) y sólidos suspendidos.

El primero se midió utilizando un analizador de COT (Shimadzu mod. V-CSH). Previo a este análisis, las muestra fueron filtradas (0.22 µm Millipore) y diluidas (1:10) con agua destilada. Cada medición se realizó por triplicado. El equipo calcula automáticamente el COT en ppm, con base en la curva de calibración elaborada previamente.

Los sólidos suspendidos fueron cuantificados secando los filtros (antes mencionados) a peso constante durante 24 h a 100 °C en una estufa. Estos filtros fueron pesados antes de ser utilizados y después de ser secados, la diferencia de pesos indica como resultado la cantidad de sólidos suspendidos en 100 mL de lixiviado, el cual fue ajustado al volumen obtenido en la medición del lixiviado.

El pH fue medido con un potenciómetro (Hanna Instruments mod. HI 4211), previamente calibrado.

7.1.6.3. Medición de la fase sólida

Durante la operación del biofiltro, se tomaron muestras del material del soporte para cada módulo (2 g aproximadamente) a fin de evaluar el contenido de humedad y biomasa.

Para la determinación del contenido de humedad, la muestra se pesó (peso= P_H), se dejó en estufa a 100 °C por 24 h, se obtuvo el peso seco (P_s). Para la obtención del porcentaje de humedad se aplicó la siguiente fórmula:

$$H(\%) = \left(\frac{P_H - P_S}{P_H} \right) * 100 \dots \text{(Ec. V)}$$

Para la determinación de la biomasa total se utilizó la técnica de sólidos volátiles según la norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015. Después de haber evaluado el contenido de humedad, se colocaron las muestras secas, previamente pesadas (P_1 , g) en una mufla a 550 °C por 2 h, se dejó enfriar y nuevamente se pesó (P_2 , g); el contenido de biomasa se calculó por diferencia de pesos como se muestra en la ecuación VI, el contenido de biomasa se expresa en miligramos por gramo de soporte:

$$B(\text{mg g}^{-1}) = \left(\frac{P_1 - P_2}{P_1} \right) * 1000 \dots \text{(Ec. VI)}$$

7.1.7. Condiciones de operación del biofiltro

En la operación del biofiltro se variaron tres parámetros: la carga de metanol, el aporte de nutrientes y el flujo de aire (Tabla 5), los cuales dependieron de la capacidad de eliminación del compuesto. Antes de cada cambio de carga se esperó a que el sistema alcanzara una remoción estable (estado estacionario).

Tabla 5. Condiciones de operación del biofiltro.

Incremento de la carga de metanol						
Etapa	I	II	III	IV	V	VI
Tiempo (días)	0-14	15-51	52-63	64-86	87-100	100-127
Carga (g m⁻³ h⁻¹)	98.8	136.6	211	332.5	206.3	156.5
Aporte de nutrientes (Solución mineral)						
Tiempo (días)	0-29	30-43	45-86	88-104	105-127	
Riego (mL d⁻¹)	100	200	300	400	200	
Flujo del aire de entrada						
Tiempo (días)	0-73		74-78		79-127	
Flujo (L min⁻¹)	2.4		1.3		0.9	

* El día 44, y 87 se incrementó el riego temporalmente a 600 mL debido a fallos durante el fin de semana sin riego ni alimentación (días 40-41), y con el fin de mejorar la eficiencia de remoción (día 87).

7.1.8. Estimación del desempeño del biofiltro

7.1.8.1. Eficiencia de remoción y capacidad de eliminación

La eficiencia de remoción (ER), reporta el porcentaje de transformación del contaminante que se alcanza en el biofiltro y está en función de la concentración del

contaminante en la entrada (C_e , $g\ m^{-3}$) y la salida (C_s , $g\ m^{-3}$) del biofiltro y se calcula utilizando la ecuación VII.

La capacidad de eliminación (CE) depende del volumen del lecho de soporte (V_R , m^3) y del caudal total del gas (Q , $m^3\ h^{-1}$). Esta capacidad indica la velocidad de transformación de una cantidad de contaminante por unidad de volumen de empaque, para su cálculo se utiliza la ecuación VIII.

$$ER [\%] = \left(\frac{C_e - C_s}{C_e} \right) * 100 \dots (\text{Ec. VII})$$

$$CE [g\ m^{-3}\ h^{-1}] = \frac{(C_e - C_s) * Q}{V_R} \dots (\text{Ec. VIII})$$

7.1.8.2. Producción de CO_2

La producción de dióxido de carbono (PCO_2), es un factor importante en la operación de un biofiltro, ya que es un indicador sobre la actividad microbiana, se calcula con la siguiente ecuación:

$$PCO_2 [g\ m^{-3}\ h^{-1}] = \frac{C_{CO_2(s)} - C_{CO_2(e)}}{V_R} * Q \dots (\text{Ec. IX})$$

Donde:

$C_{CO_2(e)}$ = Concentración de CO_2 en el aire de entrada del biofiltro ($g\ m^{-3}$)

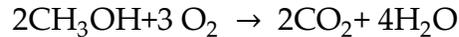
$C_{CO_2(s)}$ = Concentración de CO_2 en el aire de salida del biofiltro ($g\ m^{-3}$)

7.1.8.3. Mineralización y balance de carbono

En el proceso de oxidación biológica, el metanol es transformado a dióxido de carbono y agua. Además, se utiliza como fuente de carbono para el crecimiento microbiano. Para obtener el porcentaje de mineralización se realizó un balance con base en el carbono para este compuesto de acuerdo a la estequiometría de su reacción de oxidación (Ec. X).

$$\% \text{ de mineralización} = \left(\frac{g_{de\ CO_2\ experimental}}{g_{de\ CO_2\ teórico}} \right) * 100 \dots (\text{Ec. X})$$

La producción máxima de carbono que se puede obtener teóricamente es de 1.38 g de CO₂ por g de metanol degradado (sin considerar la formación de biomasa) (Dastous *et al.*, 2008) dada la siguiente relación estequiométrica:



Para el balance de carbono se obtienen tres posibles vías de transformación, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$C_{\text{sustrato consumido}} = C_{\text{CO}_2} + C_{\text{biomasa}} + C_{\text{lixiviado}} \dots \text{ (EC. XI)}$$

Encontrándose así, el carbono mineralizado como CO₂ en la fase gaseosa, el carbono acumulado como biomasa en la fase sólida y el eliminado como lixiviado en la fase líquida.

La cantidad de metanol removido en un tiempo dado se obtiene integrando el valor de CE respecto al tiempo de operación, el resultado obtenido se multiplica por el volumen de lecho del biofiltro, y por la masa de carbono contenida por masa de metanol. El valor resultante está expresado en gramos de carbono tratado.

Para la producción de carbono como CO₂ en la fase gaseosa, se realiza una sola integración, hasta la misma fecha de integración del balance, pero esta vez a partir del parámetro PCO₂. Se multiplica por el volumen del lecho filtrante y por la masa del carbono presente por masa de CO₂. El valor resultante está expresado en gramos de carbono recuperados como CO₂.

Para la fase líquida, conociendo los volúmenes de lixiviado, y el contenido de carbono orgánico de éstos, se calcula igualmente la cantidad de carbono presente en los lixiviados hasta la misma fecha de operación. Además, se le añade la cantidad de materia orgánica presente en suspensión en los lixiviados. Se considera que un 50% de la materia orgánica seca está compuesta por carbono (Bailey & Ollis, 1986).

Para el carbono contenido en la biomasa, se calcula con los mg de biomasa total contenida en el soporte, estimando de nuevo que el 50% del peso de la biomasa corresponde al peso de carbono.

7.2. Cultivo de *Arthrospira maxima*

7.2.1. Fotobiorreactor

El fotobiorreactor (Applikon) utilizado para los experimentos tiene una capacidad de 3 L, un sistema de control de temperatura, pH, nivel, agitación e irradiancia.

Los parámetros de operación del reactor fueron ajustados en base a la literatura: Agitación 100 rpm (Samson & Leduy, 1982), Irradiancia $350 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, Ciclo luz-oscuridad 12:12 h (Sánchez *et al.*, 2003).

7.2.2. Inóculo y medio de cultivo

La cepa *A. maxima* proviene de la colección de microalgas del centro de investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), posteriormente se mantuvo en el cepario del laboratorio Larvatrón de la Universidad del Mar (UMAR) en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con medio Zarrouk a 25°C , irradiancia de $350 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ un ciclo luz-oscuridad de 12:12 h, con agitación manual una vez al día para mantener las condiciones de homogeneidad.

Para el establecimiento de cada cultivo se agregaron 12 mL de inóculo con una densidad óptica (DO) aproximada de 0.10 a 2 L de medio mineral (Zarrouk, 1966).

La composición del medio es la siguiente (g L^{-1}): •16.8 de NaHCO_3 , •0.5 de K_2HPO_4 , •2.5 de NaNO_3 , •1.0 de K_2SO_4 , •1.0 de NaCl , •0.2 de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, •0.08 de EDTA, •0.04 de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y •0.01 de $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Al cual se le agrega 1 mL L^{-1} de las siguientes soluciones madre; solución 1 (g L^{-1}): 2.86 de H_3BO_3 , 1.8 de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2.22 de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.015 de MoO_3 , 0.074 de CuSO_4 ; solución 2 (mg L^{-1}) 22.9 de $\text{NH}_4 \text{VO}_3$, 47.8 de $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 17.9 de NaWO_2 , 4.4 de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, el cual fue esterilizado en un autoclave por 15 min a 121°C y con una presión de 15 psi (Andersen, 2005).

7.2.3. Variación de temperatura

Para determinar la temperatura en la que se obtiene mayor biomasa de *A. maxima*, se establecieron experimentos a temperaturas de 25, 30 y 35°C . La temperatura fue regulada con un termocirculador (PolyScience).

7.2.4. Seguimiento del cultivo

El crecimiento de los cultivos fue monitoreado tomando su densidad óptica (DO) en un espectrofotómetro UV-VIS (Spectronic 20) cada tercer día, a una longitud de onda

de 550 nm (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007) teniendo como blanco el medio de cultivo.

El peso seco fue tomado al inicio de la fase exponencial, a la mitad de la fase exponencial y al término del cultivo. Para lo cual se filtraron 50 mL de cultivo a través de filtros de fibra de vidrio (GFF por sus siglas en inglés) de 45 mm de diámetro (1 µm millipore) previamente pesados. Las muestras fueron secadas en una estufa durante 24 h a 105 °C, se templaron en desecador y se pesaron en una balanza analítica (precisión ± 0.1 mg). El peso seco de las células se determinó por diferencia de peso y se refirió al volumen filtrado.

La tasa de crecimiento se calculó en la fase exponencial utilizando la siguiente fórmula (Hoseini *et al.*, 2014):

$$\mu = \frac{(\ln D_2 - \ln D_1)}{t_2 - t_1} \dots \text{Ec. XII}$$

Donde D_1 es la DO obtenida al inicio de la fase exponencial del cultivo; la D_2 es la DO obtenida al final de la fase exponencial; la t_1 es el número de días transcurridos del inicio del cultivo al inicio de la fase exponencial y la t_2 el número de días transcurridos del inicio del cultivo hasta el final de la fase exponencial.

La biomasa algal se cosechó por centrifugación (centrifuga HERAEUS MEGAFUGE16R) a 4500 rpm, por 10 min a 20 °C, y se liofilizó a una temperatura de -48 °C y una presión de 0.22 mBar (Liofilizadora LABCONCO SISTEM/FREEZONE 4.5) para los análisis siguientes.

7.2.5. Análisis proximal de la biomasa

7.2.5.1. Contenido de lípidos totales

Los lípidos totales fueron extraídos utilizando la metodología establecida por Bligh y Dyer (1959), utilizando 20 mg de muestra liofilizada.

El procedimiento consiste en homogenizar la muestra con cloroformo y metanol (1:2). Al extracto resultante se le agrega agua, el cual separa la solución en dos capas; la capa de cloroformo que contiene los lípidos y, la capa metanólica que contiene las moléculas no lipídicas. De lo anterior la capa cloroformo:lípidos es aislada. Para la cuantificación de los lípidos el cloroformo fue evaporado y los lípidos fueron pesados hasta mantener peso constante.

7.2.5.2. Contenido total de proteínas

Se determinaron mediante el método de Lowry *et al.*, (1951). Previamente a la aplicación del método, la muestra (5 mg de muestra liofilizada) fue molida adicionándole perlas de zirconio/vidrio y 600 µL de agua destilada, utilizando un disruptor mecánico (BioSpec 3110BX, Mini-BeadBeater). Se realizó una dilución tomando 40 µL de muestra y adicionándole 760 µL de agua destilada.

Este método utiliza al reactivo Folín-Fenol donde se produce un cambio de color en respuesta a las diferentes concentraciones de proteínas. Las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro-UV (Beckman DU 530 UV/Vis) a una longitud de onda de 750 nm. El contenido de proteínas se calculó a partir de una curva de calibración (1.25 a 30 µg mL⁻¹) utilizando como solución patrón Albúmina de suero Bovino.

7.2.5.3. Contenido de ficocianina

Para poder llevar a cabo la cuantificación de ficocianina se realizó una extracción de la biomasa seca, por el método de congelación y descongelación, utilizando un amortiguador de fosfatos (Sarada *et al.*, 1999). Se suspendieron 5 mg de biomasa liofilizada en 1.5 mL de amortiguador de fosfatos (0.2 M, pH 8.0), se sonicó y posteriormente las muestras fueron dejadas en el congelador durante tres días, sonicando la muestra cada 24 horas, esto para asegurar la ruptura de la membrana celular y asegurar la extracción completa del pigmento.

La cantidad de ficocianina (FC) presente se calculó a partir de las mediciones de densidad óptica a 615 y 652 nm, correspondientes a la máxima absorción de ficocianina y aloficocianina en el amortiguador, utilizando la siguiente ecuación (Bennett & Bogorad, 1973):

$$FC = \frac{DO_{615} - (DO_{652})}{5.34} \dots \text{Ec. XIII}$$

7.2.6. Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas entre los tratamientos en el contenido de lípidos, proteínas y ficocianina, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía utilizando el programa MINITAB 17, seguido de una prueba Tukey. Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo.

7.3. Cultivo de *Arthrospira maxima* acoplado al biofiltro de aire

El biofiltro fue acoplado con el cultivo de la microalga después de 127 días de operación independiente. Esta etapa tuvo una duración de 22 días. En la Figura 4, se muestra de forma general el sistema acoplado.

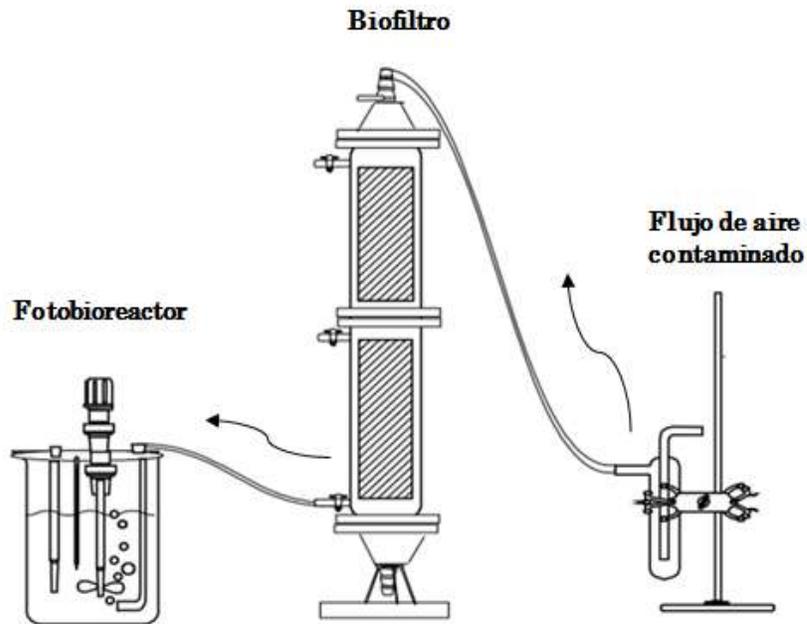


Figura 4. Cultivo de *A. maxima* acoplado al biofiltro de aire.

7.3.1. Operación del biofiltro de aire

El sistema de biofiltración utilizado en esta etapa es el mismo que se describe en la sección 7.1., en esta misma sección se encuentra descrito los métodos utilizados para el monitoreo del mismo (7.1.1) y para la estimación su desempeño (7.1.3).

A continuación se presentan las condiciones del proceso de biofiltración al acoplarse al cultivo:

1. Los parámetros de operación fueron los siguientes: a) carga de $157.2 \pm 17.74 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, b) riego de 200 mL diarios y, c) flujo de aire (FA) de 0.9 L min^{-1} . Los cuales fueron similares a los trabajados en la etapa VI del proceso de biofiltración independiente, debido al buen desempeño presentado.
2. No se realizaron conteos de los microorganismos presentes en el biofiltro.
3. Se realizó un solo reempaque, en el día 8 del acoplamiento, con un recambio de 400 mL de perlita por módulo.

7.3.2. Cultivo microalgal

El fotobiorreactor y sus parámetros de operación además del inóculo y el medio mineral utilizado en esta etapa fueron los descritos en la sección 7.2. Cabe mencionar que al medio mineral utilizado se le retiró la fuente de carbono (sin NaHCO_3), por lo que el pH inicial fue de 8.3 y fue ajustado a 9.0 utilizando NaOH (2.0 M) para ser comparable con el cultivo seleccionado en la etapa anterior.

Experimentos

Anteriormente, se seleccionó la temperatura de 30 °C, la cual se utilizó en estos experimentos.

1. Como blanco, se cultivó la *A. maxima* suministrando CO_2 atmosférico, por medio de una bomba de aire con un flujo de 0.9 L min^{-1} .
2. Se cultivó la *A. maxima* alimentándola con las emisiones del biofiltro (aire enriquecido de CO_2) en lugar del aire atmosférico, con un flujo de 0.9 L min^{-1} .

En la sección 7.2.2 se encuentra descrita la metodología utilizada para el seguimiento del cultivo y en la sección 7.2.3 para los análisis proximales realizados en esta etapa.

7.3.3. Fijación de CO_2 en el cultivo de la microalga *Arthrospira maxima*

7.3.3.1. Carbono entrante por litro de cultivo microalgal durante el periodo de luz

A partir de las mediciones diarias de la concentración de CO_2 en la entrada del reactor (g m^{-3}), se calculó la cantidad de CO_2 administrada por hora, por litro de cultivo, multiplicando por el flujo administrado ($0.054 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ (0.9 L min^{-1}), y dividiendo por el volumen del cultivo (2 L). En base a este valor de $\text{g de CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ L}^{-1}$, se calculó los gramos de carbono suministrados durante el periodo fotosintético ($\text{gC d}^{-1} \text{ L}^{-1}$), multiplicándolo por la relación de 0.2727 gC por g de CO_2 (12g de C por cada 44 g de CO_2) y por la duración del periodo de luz durante un día de cultivo (12 h d^{-1}). El valor obtenido de carbono entrante durante el periodo de fotosíntesis diario se integró para toda la duración en días hasta el final de la fase exponencial del cultivo, por medio del programa origin Pro 8 (Origin Lab Corporation), para obtener la cantidad de carbono entrante durante todos los periodos de luz del cultivo algal (gC L^{-1}).

7.3.3.2. Carbono saliente del cultivo microalgal

Se procedió de la misma manera utilizando las mediciones de concentración de CO₂ en la salida del cultivo microalgal, a fin de obtener la cantidad de carbono saliente durante todos los periodos de luz que duro el cultivo (gC L⁻¹)

7.3.3.3. Carbono fijado por el cultivo microalgal

A partir de la diferencia de concentración de CO₂ entre la entrada y la salida del fotobiorreactor, se utilizó el mismo procedimiento e integración, para determinar la cantidad de carbono fijada durante el periodo de interés del cultivo. Se pudo corroborar la exactitud de las integraciones, dado que el valor de carbono fijado al final del periodo de crecimiento exponencial del cultivo corresponde a la diferencia de los dos cálculos anteriores (carbono saliente menos carbono entrante).

Carbono fijado en biomasa

A partir del peso seco obtenido al final del cultivo microalgal, se calculó el contenido de carbono en la biomasa utilizando como referencia lo reportado por Azizi *et al.*, (2018), quien menciona que el carbono presente en la biomasa del género *Arthrospira* corresponde al 55.7% de su peso seco.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Biofiltración

8.1.1. Desempeño del biofiltro

8.1.1.1. Eficiencia del biofiltro

El biofiltro fue operado durante 127 días antes de acoplarlo con el fotobiorreactor; en la Figura 5 se muestra la carga volumétrica de metanol (CV), la capacidad de eliminación (CE) y la eficiencia de remoción (ER) del biofiltro en función del tiempo. Se varió la CV, el flujo de aire (FA) y el volumen de los nutrientes. Se aplicaron seis CV a lo largo de la operación del reactor, las cuales permiten delimitar seis etapas marcadas en la Figura 5 por medio de líneas punteadas. Los cambios del FA se muestran con líneas continuas.

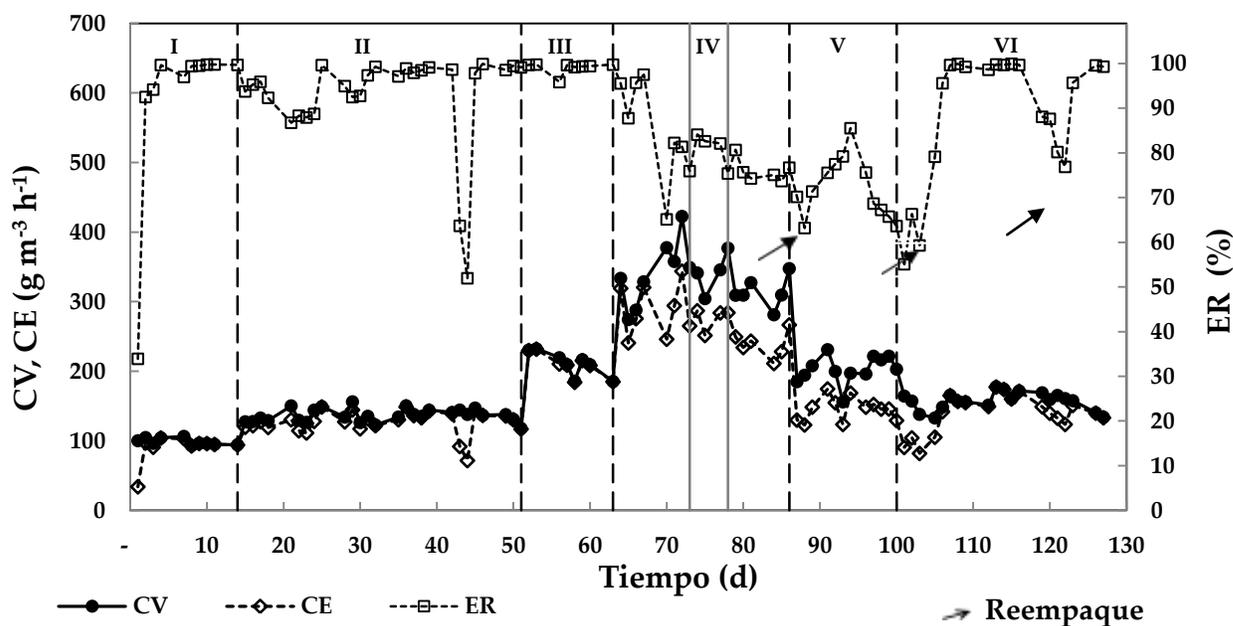


Figura 5. Variación de la carga volumétrica (CV), capacidad de eliminación (CE) y eficiencia de remoción (ER) en función del tiempo.

Etapa I: del día 1 al día 14

Durante la primera etapa, que abarcó las dos primeras semanas de operación, el biofiltro operó con una carga promedio de $98.8 \pm 4.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, un FA de 2.4 L min^{-1} y un riego de 100 mL diarios. El primer día después de la inoculación se alcanzó una ER del 33.9%, y 92.5% de remoción desde el segundo día. A partir del día 4, el sistema

se estabilizó con una ER promedio de $99.3\% \pm 1.0$ y una CE promedio de $97.3 \pm 4.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Esta ER es atribuida a la actividad biológica, y no a la adsorción del contaminante, esto es explicado en algunos trabajos que prueban que la adsorción del contaminante en la perlita se lleva a cabo en menos de 24 horas (Gutiérrez-Acosta, 2009; Jiménez *et al.*, 2015). Cabe destacar que la remoción fue alta, considerando que el consorcio microbiano no fue aclimatado como lo recomiendan diversos autores (Jones *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2009 & Elías *et al.*, 2010), quienes mencionan que la aclimatación es importante para el desarrollo de la población óptima de microorganismos para la degradación del contaminante, por lo que indican que no llevarlo a cabo puede provocar una baja remoción.

Etapa II: del día 15 al día 51

Dada la alta eficiencia de remoción obtenida, se incrementó la CV a $136.6 \pm 9.4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. En esta etapa, se probaron diferentes volúmenes de riego. Este parámetro es muy importante para una adecuada degradación de los contaminantes en los biofiltros, y se debe ajustar propiamente (Morales *et al.*, 2003).

Del día 15 al día 29, el volumen de riego se mantuvo idéntico al de la etapa I (100 mL por día), obteniendo una CE promedio de $126 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una ER de $92.3 \pm 4.0\%$. Debido a la disminución de la ER, se probó incrementar el volumen de riego hasta 200 mL por día, entre los días 30 y 43. Desde el día siguiente de haber duplicado el aporte de medio mineral, aumentó significativamente la CE y la ER (promedios de $135.0 \pm 8.7 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $98.3 \pm 0.9\%$ respectivamente, entre los días 31 y 39).

Los días 40 y 41, correspondientes a un fin de semana, un paro eléctrico generó una interrupción del suministro de metanol. Esto disminuyó progresivamente la remoción del sistema los tres días siguientes (98.6, 63.7 y 52.0% de ER, para los días 42, 43 y 44, respectivamente). Con la finalidad de “limpiar” el filtro de posibles compuestos inhibidores generados durante el paro, el día 44 se realizó un riego de 600 mL. El aumento temporal del riego ya ha mostrado anteriormente favorecer la recuperación de los sistemas de biofiltración (Jiménez *et al.*, 2015). En nuestro caso de estudio, un día después del incremento del riego, la ER regresó a valores cercanos al 100%. Del día 45 al día 51 el volumen de riego se incrementó a 300 mL, para evitar limitaciones de riego en caso de incidente. Se obtuvo una CE de $132.7 \pm 10.1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una ER de $99.0 \pm 0.8\%$. Cabe notar que para este último aumento del volumen de riego se mantuvo una remoción similar a la obtenida con un riego de 200 mL.

Etapa III: del día 52 al día 63

Al incrementar la CV a $211 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, aumentó la CE hasta $202 \pm 13.7 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, manteniendo una alta ER ($98.9 \pm 1.5\%$). Estos resultados parecían indicar que el biofiltro aun podía degradar mayor cantidad del contaminante, y que aún no alcanzaba su máximo potencial de remoción.

Etapa IV: del día 64 al día 86

Para determinar la capacidad máxima de remoción del sistema, se aumentó, entre el día 64 y 86, la CV a $332.5 \pm 37.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Se observó una rápida disminución de la ER, que pasó a estabilizarse, entre los días 71 y 73, alrededor de 79.9 ± 3.4 . En el periodo comprendido entre los días 64 y 73, la CE promedio fue de $288.2 \pm 38 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y la ER de 85.2%. En otros estudios ya se ha podido observar que aumentar el tiempo de residencia permite incrementar la eficiencia del reactor (Corsi & Seed, 1995). Así, Delhoménie *et al.* (2002) observaron durante la degradación de tolueno por biofiltración que al disminuir el FA la ER aumentó, explican que esto se debe a que existe mayor tiempo de contacto del contaminante con los microorganismos, por lo que tienen mayor oportunidad de degradarlo. Por lo tanto, para facilitar la degradación del metanol se decidió disminuir el FA, aumentando el tiempo de residencia del contaminante en el lecho. Del día 74 al día 78, el FA se disminuyó a 1.3 L min^{-1} , se obtuvo una CE de $276.7 \pm 17 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una ER de 81.1%; el último FA que se probó fue 0.9 L min^{-1} (del día 79 al día 86), se obtuvo CE de $238.8 \pm 19 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una ER de 76.0%. Esto es contrario a lo esperado, dado que, al disminuir los FA, la CE y ER disminuyeron.

En nuestro caso la falta de mejora de la ER se pudo deber a tres causas. La primera puede relacionarse con que la CV era muy alta por lo que el sistema estaba en su límite y no podía degradar más. La segunda causa puede deberse a una inhibición de la degradación por la mayor concentración de entrada de metanol al disminuir el FA (concentraciones de 5.7 ± 0.8 , 10.5 ± 0.9 , $14.0 \pm 1.0 \text{ g m}^{-3}$ para flujos de 2.4, 1.3, 0.9 L min^{-1} , respectivamente). Shareefdeen *et al.* (1993) reportan una inhibición de los microorganismos al incrementar las concentraciones de metanol; Krailas *et al.* (2000) reportan CE más elevadas para una concentración de metanol de 7.5 g m^{-3} , la cual es menor a las dos últimas concentraciones aplicadas en este estudio. Finalmente, el crecimiento excesivo de la biomasa pudo haber impedido que el contaminante se distribuyera homogéneamente en el lecho y fuera degradado en su totalidad, por

taponamiento y desarrollo de zonas muertas (Delhoménie *et al.*, 2002). En esta etapa (con los diferentes FA probados) el biofiltro ya no degradaba la totalidad del contaminante por lo que se decidió reducir la carga de metanol, manteniendo el FA a 0.9 L min^{-1} .

Etapa V: del día 87 al día 100

En la etapa III, se logró una remoción cercana al 100% más de $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, por lo cual se redujo la CV a valores cercanos a estos ($206.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$). En el primer día, la ER se mantuvo baja (70.1%), por lo cual se le aplicó un riego de 600 mL, con el fin de lixiviar posibles subproductos inhibidores. Sin embargo, al día siguiente (día 88) la ER fue aún menor (63.2%). Yang *et al.* (2010) mencionan que reducciones de eficiencia pueden deberse a la acumulación excesiva de biomasa por lo que se procedió a abrir el biofiltro donde efectivamente se observó una gran acumulación de biomasa, y se sustituyó el 16.6% (en volumen) del empaque por nueva perlita (los cambios de empaque realizados a lo largo de la operación del biofiltro se encuentran señalados con una flecha en la Figura 5). A partir de aquí se incrementó el riego diario a 400 mL. Sin embargo, estas medidas no fueron suficientes, pues al día siguiente la ER llegó tan solo a 71.4%. Alcanzó su estado estacionario del día 96 al 100 con una baja CE y ER ($144.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y 68.2% respectivamente). Para recuperar la eficiencia del biofiltro se disminuyó nuevamente la CV.

Etapa VI: del día 101 al día 127

La última CV probada fue de $156.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Se obtuvo una ER de 60.2% y la CE fue de $92.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Así el reactor degradaba mucho menos que anteriormente. Ante esta situación, en el día 104 se procedió a abrir el biofiltro y para evitar taponamiento y exceso de humedad el riego fue fijado en 200 mL durante el resto del experimento. Se observó zonas de acumulación de biomasa, por lo que se sustituyó el 16.6% (200 mL) de soporte por perlita nueva. Esto fue suficiente para que al día siguiente se alcanzara una ER de 79.5% y al segundo día de 95.6%. Del día 107 al día 116 se mantuvo en un estado estacionario con un ER promedio de 99.6% y una CE de $163.6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. En el día 117, la ER empezó a disminuir paulatinamente (la ER en el día 121 fue de 76.8% y su CE fue de $123.6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) por lo que al igual que en la ocasión anterior en el día 122 se procedió a abrir el biofiltro, se observó mayor acumulación de biomasa y el cambio de soporte fue del 33% (400 mL). Durante los siguientes días de esta etapa (del día del 125 al 127) la ER y CE promedio fueron de $141.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y 98.2% respectivamente.

8.1.1.2. Efecto de la carga sobre la capacidad de eliminación

En la Figura 6, se muestran las CE obtenidas a diferentes cargas, la línea punteada representa la remoción completa del contaminante. Durante las tres primeras etapas, en las cuales la carga aumentó de 98.8 a 211.1 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$, la ER al estado estacionario se mantuvo cercana al 100%, eliminando así casi la totalidad del contaminante. Las limitaciones del sistema se observaron a partir de la etapa IV, cuando la carga se fijó a 332.5 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$. Excluyendo los puntos de la etapa V, en la Figura 6, se observa que para cargas mayores a una CV_{crit} de 230 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$, los puntos se alejan de la recta de 100% de remoción.

Durante la etapa IV, se redujo el tiempo de residencia en el reactor, manteniendo la carga de metanol que entraba al sistema. Las CE obtenidas fueron similares con el tiempo de residencia inicial (1 min) y después de la primera reducción del tiempo de residencia (0.54 min), arrojando una CE_{max} cercana a 280 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$. Inclusive si los valores de CE_{max} dependen de la configuración del sistema, es útil comparar la capacidad de este sistema con la reportada en otros estudios. El valor de CE_{max} alcanzado en este trabajo fue superior al obtenido por Krailas *et al.* (2000), Chetpattananondh *et al.* (2005), Avalos *et al.*, (2008) y Dastous *et al.* (2008), quienes reportan CE_{max} entre 82 y 230 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$. Esto indica cualitativamente una buena competitividad del sistema utilizado en el presente trabajo. Sin embargo, mayores eliminaciones ya han sido obtenidas por Prado *et al.* (2004); Arriaga *et al.* (2012) y Palomo-Briones *et al.* (2015), quienes reportan CE_{max} entre 600 y 1320 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$. En el caso del primer estudio la buena remoción puede deberse al sistema utilizado (biofiltro de lecho escurrido) que puede favorecer la transferencia gas-líquido del metanol al facilitar su contacto con el medio acuoso. En el caso de los dos últimos estudios, cabe mencionar que se inoculó con una cepa de *Pichia pastoris* genéticamente modificada con alta capacidad de degradación de metanol.

En la etapa IV, cuando se disminuyó aún más el tiempo de residencia (hasta 0.37 min), la CE se redujo aún más, como se ha especificado en el párrafo anterior. Al reducir la carga (etapa V), se observa una baja CE (144 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ aproximadamente), muy alejada de la línea que representa la remoción total del contaminante, esto puede deberse a la acumulación de biomasa, como se explicó anteriormente. En la etapa VI, se disminuyó nuevamente la carga a 156.5 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ con el fin de recuperar la eficiencia del sistema, la CE (141.3 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$) obtenida fue similar a la obtenida a carga similar en

la etapa II, manteniendo así un alto porcentaje de remoción (98.2%). Esta CE permite eliminar completamente el contaminante y es mayor a la obtenida en los diferentes trabajos realizados por: Krailas *et al.* (2000), ($101 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$). Avalos *et al.*, (2008) ($95 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) y Dastous *et al.* (2008) ($82 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

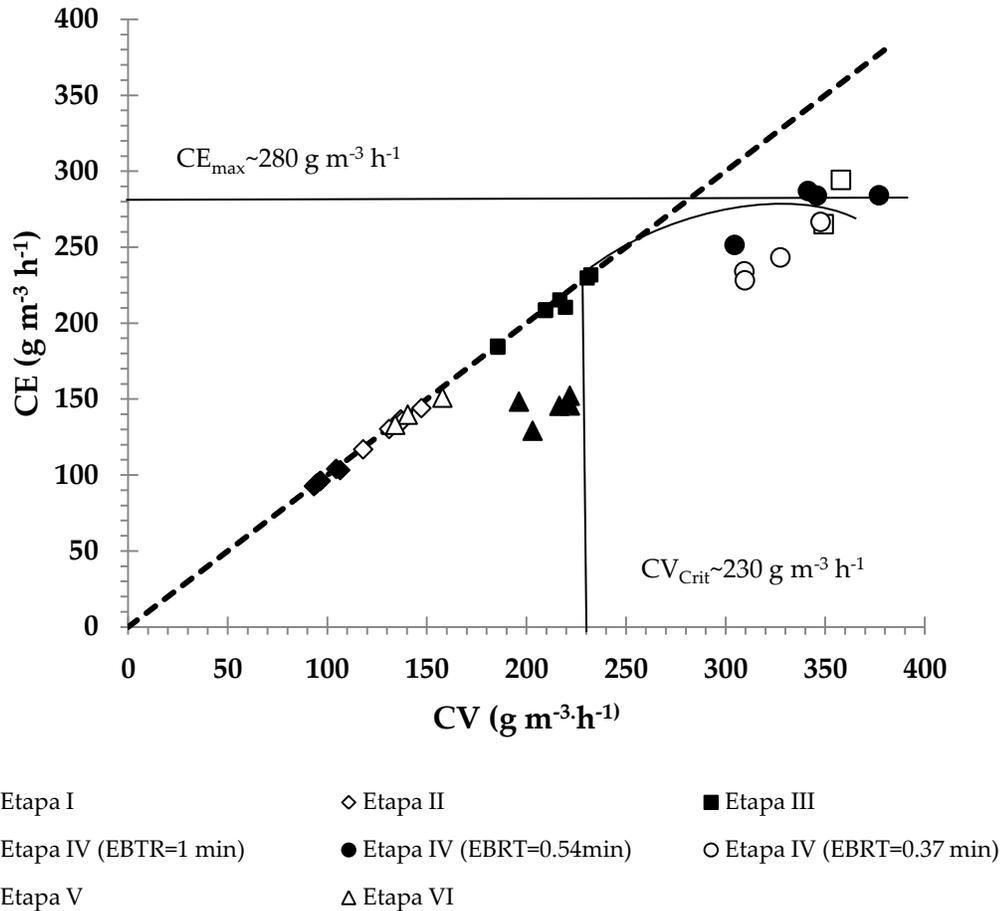


Figura 6. Efecto de la carga volumétrica (CV) sobre la capacidad de eliminación (CE).

8.1.2. Transformación del contaminante

8.1.2.1. Producción de dióxido de carbono

La producción de CO_2 (PCO_2) es un indicador de la actividad microbiana, además de ser una medida fácil y un parámetro confiable para evaluar el desempeño del biofiltro (Alvarez-Hornos *et al.*, 2007), por lo que se le dió seguimiento a lo largo de la operación del biofiltro (Figura 7).

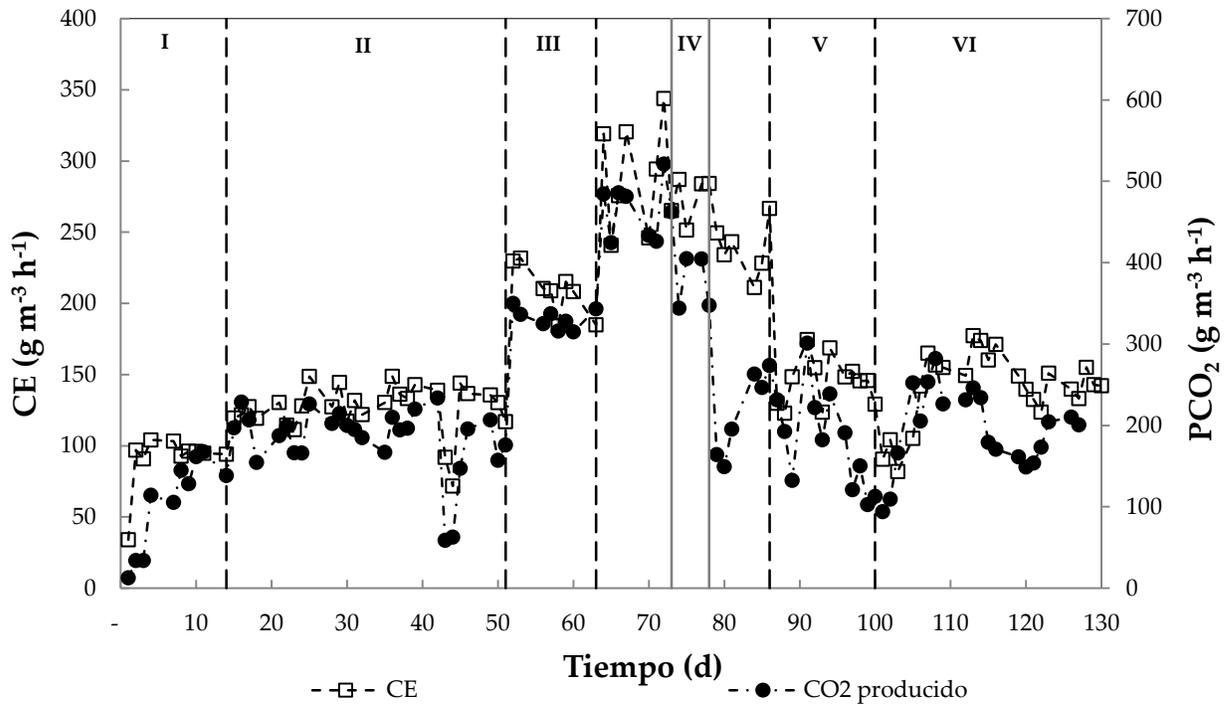


Figura 7. Variación de la capacidad de eliminación (CE) y la producción de CO₂ (PCO₂) respecto al tiempo de operación.

Etapa I: del día 1 al día 14

(CV promedio de 98.8 g m⁻³ h⁻¹, riego de 100 mL d⁻¹ y FA de 2.4 L min⁻¹)

Durante los primeros tres días la CE fue de 73.92 g m⁻³ h⁻¹, mientras que la PCO₂ fue de 38.3 g m⁻³ h⁻¹, lo cual nos indica que durante estos días la mineralización del contaminante llevada a cabo por los microorganismos presentes en el sistema fue baja. La eliminación del metanol pudo deberse a la adsorción del contaminante y al aprovechamiento del carbono para acumulación de biomasa de los microorganismos. Durante los siguientes días de esta etapa, la CE fue de 97.3 g m⁻³ h⁻¹ obteniendo una PCO₂ de 137.2 g m⁻³ h⁻¹, lo que representó una mineralización total del contaminante (103%), indicando así una adecuada actividad biológica y una importante mineralización del contaminante desde el inicio del experimento, concordando con la alta remoción del contaminante (99.3%).

Etapa II: del día 15 al día 51

(CV promedio de 136.6 g m⁻³ h⁻¹, variación del volumen de riego y un FA de 2.4 L min⁻¹)

En esta etapa se realizó el primer incremento de carga. Del día 15 al 29 (bajo el mismo régimen de riego que en la etapa anterior de 100 mL por día) se registró una CE de

126.6 g m⁻³ h⁻¹ con aumento en la PCO₂ (195.42 g m⁻³ h⁻¹) manteniendo la mineralización total del contaminante (112%), al incrementar el volumen de riego a 200 mL (entre los días 30 y 39) no hubo un cambio significativo en la PCO₂ y CE (196.0 y 132.8 g m⁻³ h⁻¹, respectivamente), se mantuvo el porcentaje de mineralización (108%). Estos porcentajes ligeramente superiores a 100% están en el rango que se puede esperar dada la precisión de la medición.

Durante los días 42, 43 y 44 (después del paro eléctrico durante los días 40 y 41) la CE disminuyó paulatinamente (138.9, 91.9, 71.7 g m⁻³ h⁻¹) de la misma forma se observó una disminución en la PCO₂ (233.7, 58.9 y 62.8 g m⁻³ h⁻¹). En el día 45 (un día después de la aplicación del riego de 600 mL), se registró un importante incremento en la CE y la PCO₂ (de 144 y 147.2 g m⁻³ h⁻¹ respectivamente). Del día 46 al día 51 (con un riego de 300 mL) se alcanzó una CE de 132.7 g m⁻³ h⁻¹ y una PCO₂ de 183.9 g m⁻³ h⁻¹, manteniendo otra vez una mineralización completa del metanol (103%).

Etapa III: del día 52 al día 63

(CV promedio de 211 g m⁻³ h⁻¹, riego de 300 mL d⁻¹ y FA de 2.4 L min⁻¹)

Con el nuevo incremento de la CV en esta etapa, se alcanzó una CE de 202.0 g m⁻³ h⁻¹ y una PCO₂ de 331.7 g m⁻³ h⁻¹, conservando así una buena mineralización del contaminante (118%), la cual se debió a la actividad microbiológica en el biofiltro.

Etapa IV: del día 64 al día 86

(CV de 332.5 g m⁻³ h⁻¹ y riego de 300 mL d⁻¹ y variación en el flujo de aire)

El último incremento de CV se aplicó en esta etapa. Primero se probó con el mismo FA (2.4 L min⁻¹) que en la etapa anterior (entre los días 64 y 73), la CE y PCO₂ incrementó considerablemente (288.2 y 465.0 g m⁻³ h⁻¹, respectivamente), obteniendo un 122% de mineralización; posteriormente al disminuir el FA a 1.3 L min⁻¹ (del día 74 al día 78) la CE tuvo un ligero decremento (276.7 g m⁻³ h⁻¹) mientras que para la PCO₂, este decremento fue proporcional (375.3 g m⁻³ h⁻¹), manteniendo la mineralización (117 %). Cabe resaltar que los porcentajes altos de mineralización que se presentaron (superiores a 100%) pueden deberse a la respiración endógena existente en el sistema (Métris *et al.*, 2001). Los últimos días de esta etapa (del día 79 al día 86) el FA se disminuyó a 0.9 L min⁻¹ donde la CE (236.7 g m⁻³ h⁻¹) disminuyó al igual que PCO₂ (215.4 g m⁻³ h⁻¹) con un 73% de mineralización. Al disminuir los FA se observó un

marcado decremento de la PCO_2 , por lo que también disminuyeron los porcentajes de mineralización.

Etapa V: del día 87 al día 100

(CV promedio de $206.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ FA de 0.9 L min^{-1})

En esta etapa la PCO_2 fue muy variable (promedio de $135.57 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), pues la ER había disminuido y se intentaba recuperarla, sin embargo, solo se alcanzó 68.2% de mineralización en el estado estacionario (del día 96 al 100). La baja mineralización puede deberse al re-empaque del día 88, y a la nueva formación de biomasa para reconstrucción de la biopelícula.

Etapa VI: del día 101 al día 127

(CV promedio de $156.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ FA de 0.9 L min^{-1})

Durante los primeros días (del día 101 al 104) la CE promedio fue de $92.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y la PCO_2 fue de $123.2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ los cuales son menores a la etapa anterior, en el día 104, se cambió parte del material filtrante del biofiltro alcanzando en los siguientes días (del 107 al 116) una CE de $162.9 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una PCO_2 de $245.57 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ con una mineralización completa (113%). En el día 117, la CE y PCO_2 empezaron a disminuir paulatinamente hasta el día 122 donde la CE de $123.6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y la PCO_2 fue de $173.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, por lo que se realizó otro reempaque del biofiltro con lo cual la CE se mantuvo los últimos días (del día del 123 al 127) en $141.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y la PCO_2 en $205.1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ con un 106% de mineralización del contaminante.

Globalmente se observó que al incrementar la CE incrementa la PCO_2 mostrando así tendencias similares en ambos parámetros, al igual que lo reportado por Alvarez-Hornos *et al.* (2007) y Avalos *et al.* (2008) quienes mencionan que la PCO_2 es proporcional a la CE del contaminante y está asociada a la cantidad de metanol eliminada (Fang & Govind, 2006).

8.1.2.2. Relación entre la capacidad de eliminación y producción de CO_2

La Figura 8 presenta la PCO_2 en función de la CE con base a los datos obtenidos en la fase estacionaria de cada etapa. En caso de oxidación completa del metanol (sin generación de biomasa), se obtendría una producción teórica de 1.38 g de CO_2 por g de metanol (Dastous *et al.*, 2008). La intersección de esta curva debería ser cercana a 0

$\text{g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, lo que significa que no debería haber PCO_2 dentro del biofiltro sin el sustrato (metanol) (Nikiema *et al.*, 2005).

La Figura 8 muestra que la pendiente de la tasa de PCO_2 del metanol como una función de la CE es igual a $1.44 \frac{\text{g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}}{\text{g CH}_3\text{OH m}^{-3} \text{ h}^{-1}}$ que equivale a una mineralización global aproximada de 104 % muy cercana a la máxima teórica. Esto indica que a pesar de que parte del carbono fue consumido para la producción de biomasa, se obtuvo una alta cantidad de CO_2 . La mineralización obtenida en este experimento es superior al 57.6% reportado por Prado *et al.* (2005) y al 80% reportado por Dastous *et al.* (2008). Se obtuvo una alta PCO_2 , lo que es particularmente útil para su uso posterior como fuente de carbono para el crecimiento algal. La relación lineal que se muestra en la Figura 8 es estadísticamente viable ($\alpha=0.05$), con un coeficiente de correlación de Pearson de 0.86, y un valor de $p=0$, rechazando así la hipótesis nula de que la correlación no sea significativa. Por tanto a mayor CE mayor será la producción de CO_2 .

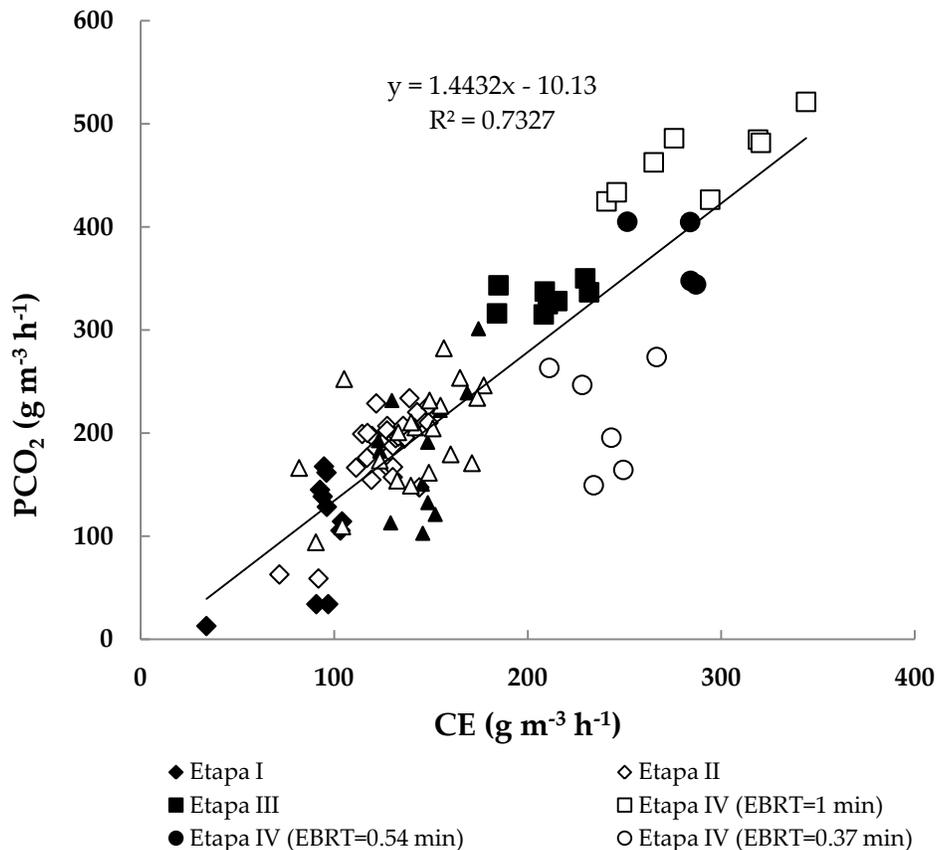


Figura 8. Relación entre la capacidad de eliminación (CE) y la producción de CO_2 .

Por otra parte cabe notar que a partir de los dos meses de arranque del biofiltro se observaron larvas de mosquito los cuales se desarrollaron hasta la etapa adulta (ver capítulo 8.1.3.1). Lo anterior explica que en algunos puntos, la PCO_2 haya sido alta, como lo reportado por Estrada *et al.* (2013) quienes relacionaron la mayor mineralización observada en un biofiltro con la presencia de macro organismos (ácaros) que se nutrían de parte de la biomasa. Así, ácaros se han usado para limitar el crecimiento excesivo de biomasa fúngica, consumiendo los hongos e incrementando la conversión total del contaminante a CO_2 . Por otra parte, larvas de mosquito han permitido mantener una biomasa estable en diferentes biofiltros (Krishnakumar, 2007; Krishnakumar, 2008). Cabe notar que, la respiración de las moscas que consumen la biomasa ha podido aumentar la producción de CO_2 , al oxidar parte de la biomasa, limitando su crecimiento excesivo y reduciendo la caída de presión (Woertz, 2002).

La ordenada de la recta indica que, en promedio, sin ningún sustrato, el biofiltro produciría $10.13 \text{ g } CO_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, esto puede ser ocasionado por la respiración endógena de los microorganismos y de las moscas (Woertz *et al.*, 2002; Prado *et al.*, 2005). En las etapas III y IV (a un $TR=1 \text{ min}$), donde se detectaron moscas en salida del reactor, la PCO_2 fue mayor a la máxima teórica por mineralización de metanol (Figura 8). A partir del día 74 (etapa IV, $TR=0.54 \text{ min}$), cuando se disminuyó el tiempo de residencia del metanol, ya no se observaron moscas a la salida del biofiltro; sin embargo, se observaron larvas en los lixiviados. Con lo anterior la PCO_2 empezó a caer, para finalmente ser notablemente inferior a la teórica cuando el EBRT fue de 0.37 min . Parece por lo tanto corroborarse cierta relación entre la presencia de moscas y la alta producción de CO_2 . Es posible que, tras la desaparición de las moscas, parte del CO_2 fuera utilizado para producción de biomasa, debido a la mayor concentración de metanol en entrada y/o a la liberación de espacio por la eliminación de las moscas adultas. Parte de la materia orgánica de estos organismos puede haber sido asimilada por la biomasa.

8.1.2.3. Producción de biomasa

En la Figura 9, se observa la evolución del contenido de biomasa en los dos módulos del biofiltro durante su operación. De forma general se observa que conforme pasa el tiempo, incrementa el contenido de biomasa, lo cual está relacionado con la colonización del soporte por los microorganismos.

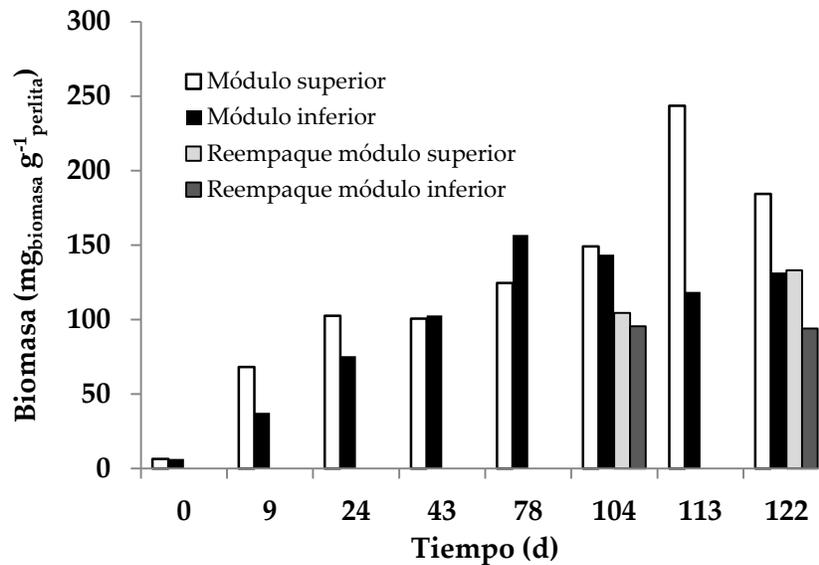


Figura 9. Contenido de biomasa en cada módulo del biofiltro.

Después de la inoculación, el contenido orgánico en ambos módulos fue de 6.3 mg g^{-1} de perlita. Este contenido incrementó considerablemente en los primeros 9 días de operación (68.3 y 37.4 mg g^{-1} de perlita para los módulos superior e inferior, respectivamente), lo que corresponde a la más alta tasa de crecimiento microbiano (6.9 y $3.4 \text{ mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$), antes de los reempaques. Esto indica el uso inicial del carbono del contaminante para el crecimiento de la biopelícula, inclusive si el inóculo no estaba inicialmente aclimatado al metanol. Al día 24, el contenido de biomasa aumentó de nuevo con 102.6 y 75.5 mg g^{-1} de perlita para los módulos superior e inferior, respectivamente. La mayor cantidad de biomasa observada en el módulo superior pudo ser debida a que el contaminante pasaba primero por este módulo. Así, los microorganismos presentes en esta área aprovechaban la mayor parte del sustrato, por consiguiente, había una menor cantidad de metanol disponible para los microorganismos del módulo inferior, limitando su crecimiento. Lo anterior coincide con lo reportado con Morgan-Sagastume *et al.* (2001) quienes observaron mayor contenido de biomasa en secciones superiores de los biofiltros debido a una mayor concentración del contaminante cerca de la entrada del aire contaminado.

Al día 43, en el módulo superior, el contenido de biomasa fue similar al día 24 (100.6 mg g^{-1} de perlita); mientras que el módulo inferior tuvo un incremento de 27.2 mg g^{-1} de perlita, llegando a tener un contenido de biomasa muy similar al módulo superior (alcanzando así un valor de 102.7 mg g^{-1} de perlita). Esta estabilidad para el módulo

superior pudo ser debida a que al tener una carga más alta ($136.6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ aprox.) no podía degradar más contaminante por lo que el contaminante no degradado pasaba al módulo inferior favoreciendo así su crecimiento microbiano.

En el día 78 (etapa IV) se obtuvo una biomasa de 124.5 y 156.8 mg g^{-1} de perlita, es decir en ambos módulos se incrementó el contenido de biomasa, lo cual pudo deberse a que la carga con la que se operó fue mayor ($332.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), aportando más sustrato a la biopelícula. En el día 104, se operaba con una carga menor ($156.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), sin embargo la biomasa no tuvo una disminución importante (149.1 y 143.7 mg g^{-1} de perlita para el módulo superior e inferior respectivamente), esto pudo ser debido a que desde la etapa IV el contenido de biomasa en el biofiltro era alto y debido a que la biomasa cuantificada por sólidos volátiles se puede encontrar en diferentes estados fisiológicos (biomasa activa, inactiva, muerta y en proceso de hidrólisis) puede estarse considerando la biomasa muerta de la etapa anterior, después de haber sufrido reducción del aporte de sustrato (Jiménez *et al.*, 2015). Cabe señalar que tras el reempaque realizado el día 88, se recuperó (en un poco más de dos semanas) una cantidad de biomasa similar al día 78. Como ya se mencionó en el capítulo 8.1.1.1, debido a este crecimiento de biomasa que podría ser excesivo por la baja ER obtenida, en el día 104 se realizó de nuevo un reempaque, quedando el biofiltro con una biomasa de 104.6 y 95.6 mg g^{-1} de perlita (módulo superior e inferior respectivamente).

Tomando en cuenta los últimos valores mencionados en el párrafo anterior; se observa de nuevo un rápido crecimiento de biomasa tras el reempaque (en una semana), sobre todo para el módulo superior (día 113: 243.5 y 118.6 mg g^{-1} de perlita, en módulos superior e inferior, respectivamente). Así, entre los días 104 y 113, se observó el más alto crecimiento de biomasa, con producción de $15.4 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en el módulo superior. En el día 122, la cantidad de biomasa presente fue de 184.4 y 131.6 mg g^{-1} de perlita, debido a la baja ER se procedió a un nuevo reempaque (33 % del volumen) para finalizar con una biomasa de 133.2 y 94 mg g^{-1} de perlita. La disminución de la cantidad de biomasa en el módulo superior entre el día 113 y 122 puede relacionarse con cierta heterogeneidad de la población. Así, la toma del día 122 fue realizada tras homogeneizar la totalidad del empaque de cada módulo, y no como una toma aislada (día 113). Cantidades de biomasa similares al más alto valor obtenido en este estudio (243.5 mg g^{-1}) han sido reportadas en perlita durante el

tratamiento de COV por Jiménez *et al.*, (2015) (hasta 226.9 mg g⁻¹ de perlita); Palomo-Briones, 2015 (hasta 250 mg g⁻¹ de perlita), lo cual indica que, a nivel cuantitativo, la cantidad de biomasa es comparable a otros estudios.

8.1.2.4. Seguimiento del carbono orgánico total

En la Figura 10, se muestran los contenidos semanales de carbono orgánico total (COT) y de carbono en suspensión en el lixiviado, las líneas punteadas separan las diferentes etapas.

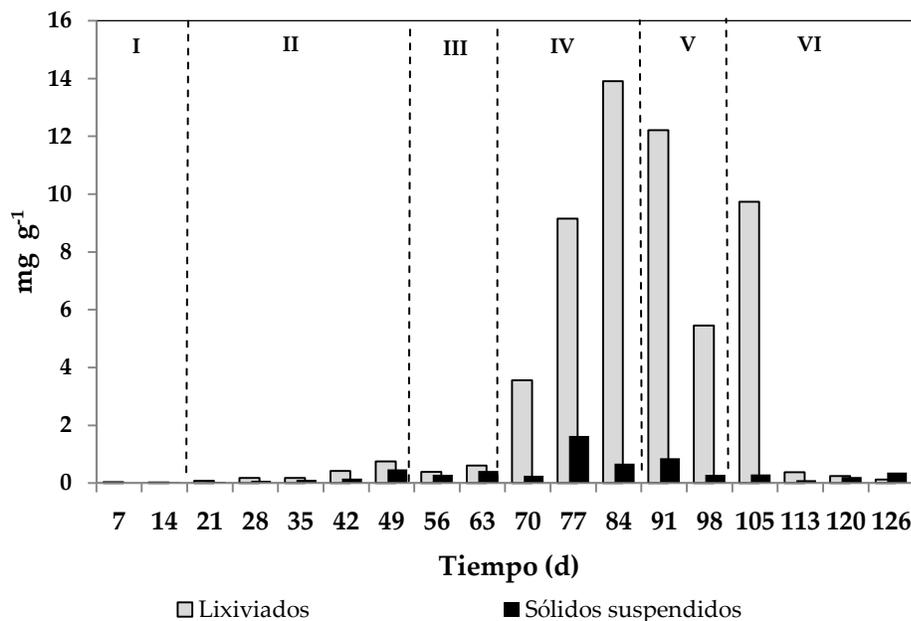


Figura 10. Contenido de carbono orgánico total en los lixiviados.

Se observa que, generalmente, los lixiviados presentan más carbono en forma disuelta (COT) que en suspensión. En la etapa I, se observan los valores más bajos de COT y de carbono en suspensión (en promedio 0.027 g semana⁻¹ y 0.018 g semana⁻¹, respectivamente), esto puede deberse a la baja carga de metanol acompañado de una alta ER, confirmando la buena remoción biológica y la poca absorción del contaminante o de subproductos de degradación en el medio líquido, así como la buena fijación de la biopelícula y la falta de desprendimiento de biomasa o material celular.

En la etapa II y III, el contenido de carbono disuelto y en suspensión incrementó, debido a la mayor carga de metanol, alcanzando al día 49, un máximo de 0.76 y 0.47

gC por semana para el COT y el carbono en suspensión, respectivamente. Cabe señalar que este máximo de carbono lixiviado corresponde al periodo colectado tras la falta de riego en fin de semana, y la correspondiente reducción temporal de la ER.

En las etapas IV y V, y la primera semana de la etapa VI, (días 70 a 105), se observaron los más altos valores de carbono disuelto, llegando este a superar ampliamente el carbono en suspensión, representando así, en promedio, el 93% del carbono presente en el lixiviado. El máximo valor obtenido fue de 13.9 gC semana⁻¹ en el día 84, cuando el reactor recibía la mayor carga del contaminante (332.5 g m⁻³ h⁻¹). Cabe señalar que este periodo de alto COT corresponde a un prolongado decaimiento de la ER del sistema (entre los días 67 y 106, ver Figura 5).

Tras la recuperación de la ER del sistema, en la última etapa (VI), con una carga aplicada similar a la carga de la etapa II, se recobraron valores similares de COT, en promedio 0.25 g (0.21 g en la etapa II). Esto parece indicar una cierta relación entre la mala ER del sistema y la presencia de un alto contenido de COT en los lixiviados.

8.1.2.5. Balance de carbono

El balance de carbono fue desarrollado en base al carbono eliminado (metanol consumido) durante las diferentes etapas de operación del biofiltro. Se realizaron seis balances de carbono (desde el inicio de operación hasta los días 9, 24, 43, 78, 105, y 122). El carbono consumido como metanol puede ser emitido en forma de CO₂, eliminado en los lixiviados (COT y SS) y acumulado en biomasa. La Tabla 6 muestra las cantidades de carbono presentadas en sus diferentes formas. A partir de esas cantidades, se calculó el porcentaje de carbono recuperado, el balance se ajustó al 100%, a fin de poder visualizar el porcentaje relativo de cada una de las formas de recuperación de carbono (Wang *et al.*, 2012)

Cabe señalar, como se observa en la Tabla 6, que los balances de carbono no cierran al 100%. Los balances de carbono realizados en biofiltración no suelen ser muy precisos, y los intentos de cerrar el balance han sido desiguales a menudo con discrepancias de 10-50% entre el carbono degradado y el carbono recuperado (Bordoloi & Gostomski, 2015). Sin embargo, en este caso de estudio, vale hacer hincapié en que siempre se encuentra un exceso de carbono en los productos de la degradación frente a lo que se esperaría en base al consumo de metanol (con recuperaciones entre 117.14 y 126.41%).

En promedio el carbono excedente en estos siete balances es de 22.95%, con una desviación estándar bastante reducida (3.51%). Esto parece indicar que la cantidad de carbono en productos de la reacción es sistemáticamente sobreestimada, en cada balance, por alrededor de un 20%. Por lo tanto, es posible que exista una subestimación del carbono entrante, o una sobreestimación del carbono resultante de la degradación. La presencia de organismos macroscópicos dentro del reactor (moscas y larvas de mosca, ver sección 8.1.2.2.) puede haber inducido una mayor producción de CO₂, debido a su respiración, o un mayor contenido orgánico en los análisis de biomasa o de lixiviados. Es también posible que la biomasa no esté repartida homogéneamente, siendo mayor cerca de los puntos de muestreo.

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

Día	C removido de metanol (g)	C en CO ₂ (g)	COT lixiviado (g)	C lixiviado como SS (g)	C en biomasa (g)	Total (g)	Recuperación (%)
9	16.78	11.45	0.03	0.01	8.17	19.66	117.14
24	53.07	52.34	0.13	0.07	14.53	67.09	126.41
43	107.98	111.92	0.90	0.42	16.75	130.01	120.40
78	273.57	295.96	15.37	3.48	23.62	338.43	123.71
105	371.13	378.28	56.59	5.59	24.62	465.20	125.34
122	427.53	433.21	57.30	5.91	36.81	533.24	124.73

En la Figura 11, se presentan las gráficas del balance de carbono ajustado al 100%. Se observa que el carbono contenido en el metanol fue convertido mayormente a CO₂. El menor porcentaje de carbono en forma de CO₂ se obtuvo en el primer balance de carbono con un 58.25%, el cual fue seguido por un 41.55% perteneciente a la biomasa. Es decir, en la etapa inicial de operación del biofiltro, el carbono fue utilizado por los microorganismos para el desarrollo de la biopelícula y la generación de biomasa. En las etapas posteriores el carbono en forma de CO₂ incrementó (58.25, 78.03, 86, 87, 82, y 81%) mientras que los porcentajes en biomasa disminuyeron (41.55, 21.67, 13, 7, 5, 7%), dado que ya se contaba con una biopelícula bien establecida en el empaque de filtración. El ligero aumento de porcentajes de carbono utilizado en biomasa para el último balance (día 122), puede deberse a la repoblación del filtro por nueva biomasa tras los reempaques con perlita nueva en el día 104.

Los porcentajes promedios de carbono medido como SS siempre fueron mínimos y nunca rebasaron al 1% del carbono entrante. El carbono presente en los lixiviados hasta el día 43 fue mínimo e incrementó a partir de la medición del día 78. Esto puede explicarse por el incremento de la carga del metanol. Al tener cargas altas se

presentaron problemas con la ER, los microorganismos no podían degradar todo el contaminante, por lo que el metanol o algunos subproductos de degradación pudieron incorporarse al lixiviado. Además, las altas cargas de metanol pudieron ser inhibitorias (ver sección 8.1.2.4.) y generar lisis celular, ocasionando un incremento del COT. A partir del día 74, no se observaron más mosquitos en el aire saliente del biofiltro, pero sí larvas de mosquitos en los lixiviados y estos adquirieron una coloración más amarillenta (ver sección 8.1.3.1.). La muerte de los mosquitos y la lixiviación de larvas y de sus secreciones derivadas puede haber provocado un incremento notable del COT desde el día 78. El COT se estabilizó a partir del día 105, llegando a abarcar hasta un 11-12% del metanol consumido durante todo el periodo de operación del reactor.

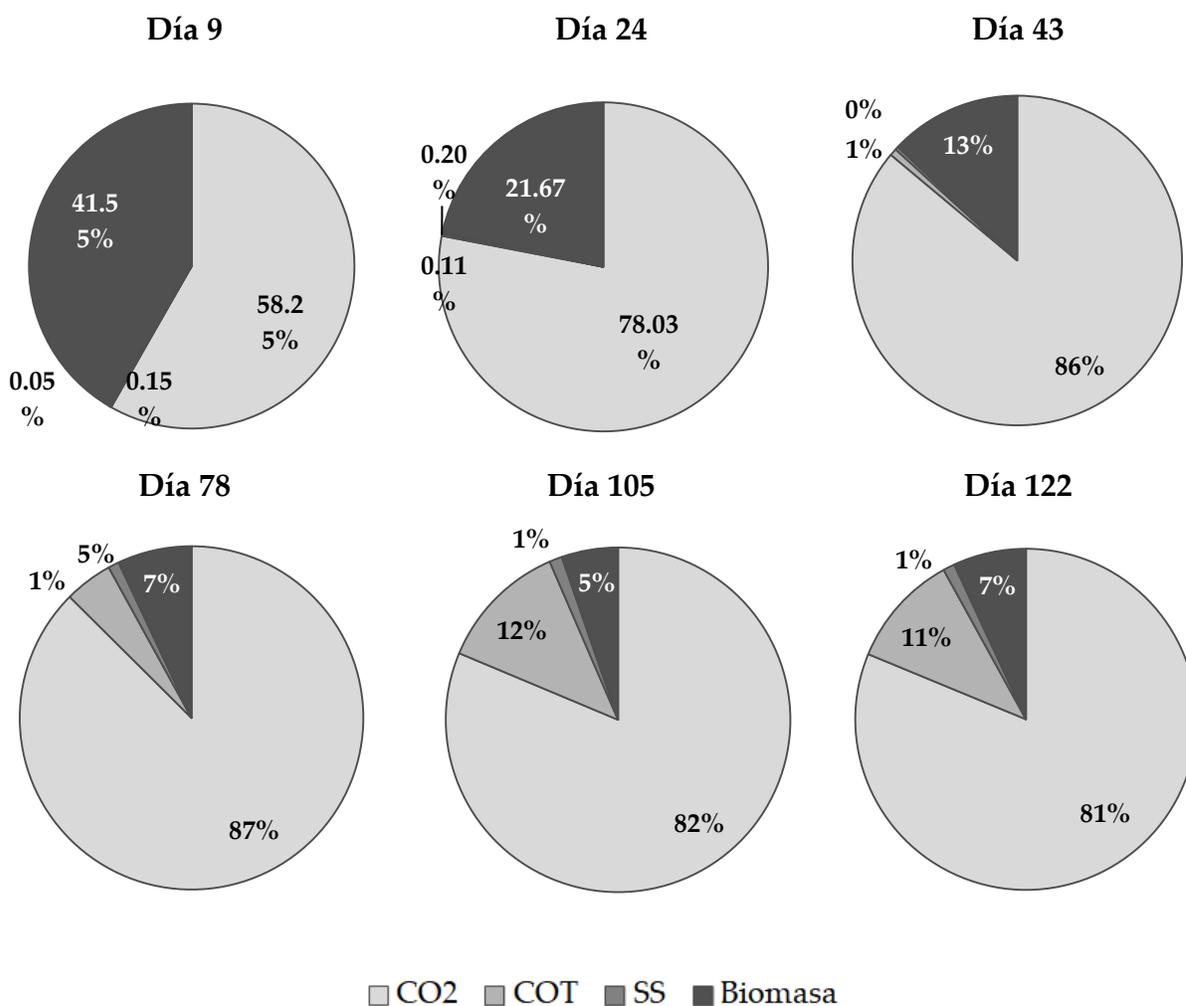


Figura 11. Balances de carbono ajustados.

8.1.3. Parámetros complementarios

8.1.3.1. Presencia de *Megaselia Scalaris* en el proceso de biofiltración

En el día 60 de la operación del biofiltro se observaron seis moscas en la muestra de aire tomada al final del primer módulo del biofiltro (M), estas moscas se siguieron observando hasta el día 73; mayoritariamente en las muestras M, con excepción del día 67 donde la mayoría de las moscas se observaron en la muestra tomada a la salida del biofiltro (S). Cabe mencionar que el corto tiempo de muestreo del gas (5 min) y el volumen del bulbo de muestreo (500 mL) implican que la observación de estos organismos se debe a una gran proliferación adentro del biorreactor. Los conteos de las observaciones de moscas durante la toma de muestras gaseosas se reportan en la Tabla 7.

Tabla 7. Conteo de moscas (*Megaselia scalaris*) en las muestras de aire tomadas en entrada del primer módulo (E), en salida del primer módulo (M), y en salida del segundo módulo (S).

Día	Condiciones de operación	E	M	S	Total
60	Etapa III, CV de	0	6	0	6
63	211 g m ⁻³ h ⁻¹ y FA de 2.4 L min ⁻¹	2	3	1	6
64	-----	0	1	1	2
66		1	2	0	3
67	Etapa IV, CV de	0	4	10	14
70	332.5 g m ⁻³ h ⁻¹ y	0	12	0	12
71	FA de 2.4 L min ⁻¹	0	8	0	8
72		0	5	0	5
73		0	0	1	1

La mayor cantidad de moscas (14 y 12) se observó los días 67 y 70 y el último mosquito se detectó en el día 73. La desaparición de moscas coincide con un cambio del FA el día de su desaparición (día 74), pasando de 2.4 a 1.3 L min⁻¹. Este cambio incrementó la concentración de metanol en entrada de reactor, pudiendo ocasionar la muerte de las moscas en fase adulta. A partir del día 74, aparecieron larvas de mosca en los lixiviados cuyo color adquirió una tonalidad amarillo oscuro. Ya se ha reportado que para algunas especies de mosca la oviposición puede inducirse por condiciones de estrés, sin importar el futuro buen desarrollo de la descendencia ni si se cumplen los requisitos apropiados en sustrato (Robeht & DeBishop, 1957). Así, la

alta concentración de metanol aplicada pudo haber inducido una oviposición rápida de las moscas hembra antes de su muerte. Una foto de la mosca y de su larva tomada con un microscopio (estereomicroscopio Carl Zeiss, Stemi 2000, 50x) se presenta en la Figura 11. Por análisis morfológico, se ha podido identificar una gran similitud con la mosca *Megaselia scalaris*.

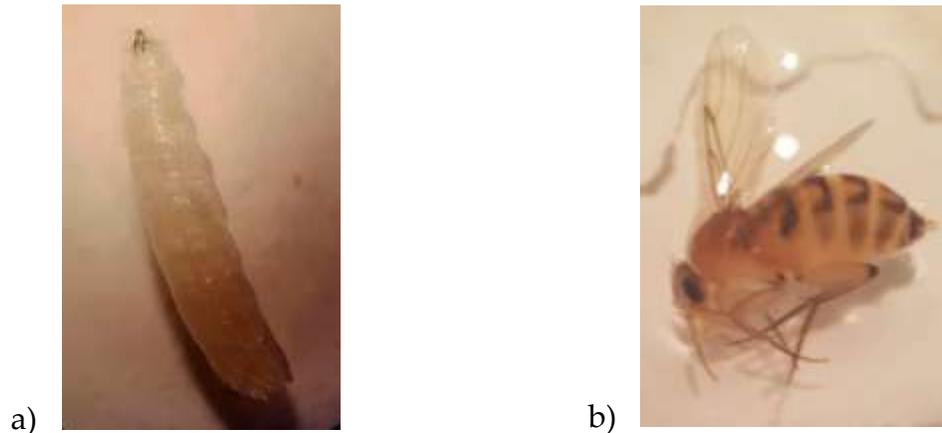


Figura 12. Especimen observado por microscopia (*Megaselia scalaris*): a) larva, b) adulto.

Una hembra de esta especie puede tener hasta 660 huevos, con un tiempo promedio de incubación de 16.3 h. El periodo larval es de 7.3 días (Prawirodisastro & Benjamin, 1979). Este corto tiempo de incubación sostiene la hipótesis anterior que explica la concomitancia entre el aumento de la concentración de metanol, la desaparición de las moscas adultas y la aparición de las larvas.

Megaselia scalaris es un insecto perteneciente al orden diptera y a la familia phoridae y es polífago, de hábito saprofito pero también puede ser parásito o depredador. Es esencialmente de un clima cálido, su distribución se extiende al sur de Europa hasta el norte de América del norte, sin embargo *M. scalaris* ha sido llevado involuntariamente alrededor del mundo por los seres humanos (Campobasso *et al.*, 2004; Disney, 2008). *M. scalaris* pasa de la etapa de huevo a adulto en 22 días a 22 °C y 14-16 días a 27 °C (Greenberg & Wells, 1998). A la temperatura de trabajo, 25 °C, dado el reducido tiempo de incubación y el tiempo a partir del cuál se empezaron a observar moscas (dos meses después del arranque), se puede pensar que el origen de las moscas no sea la presencia de huevos en el agua residual utilizada durante la inoculación. Así, es posible que moscas adultas hayan entrado y se hayan

multiplicado en el reactor alrededor de dos a tres semanas antes de la aparición de estas durante la toma de muestras gaseosas. Se sabe que los adultos son muy pequeños (2-4 mm de longitud), y pueden explorar gran cantidad de habitats ecológicos. Las hembras son atraídas fuertemente por olores desagradables y ponen sus huevos sobre diferentes materiales tales como frutas, carne, excremento y carroña (Ghavami & Djalilvand, 2015). Las moscas escudo (Scuttle fly en inglés), o fóridos (Phoridae) son mucho más pequeñas que las moscas comunes (califóridos (Calliphoridae)) y pueden alcanzar zonas muy difíciles de acceso como por ejemplo carroña inclusive dentro de bolsas selladas de plástico (Disney, 2008). El empaque del biofiltro parece ser un ambiente favorable al desarrollo de este tipo de población. En particular, ya se ha reportado que el ciclo de vida de *M. scalaris* requiere una humedad considerable para el desarrollo larval (Costa *et al.*, 2007). Esta humedad es mantenida en el soporte de biofiltración.

De hecho, la comunidad de micrometazoos que se puede observar en un lecho de biofiltración incluye poblaciones dinámicas de nematodos (*Caenorhabditis* sp.), rotíferos (*Philodina* sp.), tardígrados (*Echiniscus* sp.) y larvas de mosca (Krishnakumar *et al.*, 2008). Existen pocos estudios que mencionen la presencia de moscas en procesos de biofiltración. Won *et al.*, (2004) observaron la invasión por unas moscas pequeñas (identificadas como *Coboldia fuscipes* en una primera etapa y *Telmatoscopus albipunctatus* en una segunda etapa) en el biofiltro en el que degradaban tolueno. Determinaron que el principal mecanismo de remoción de biomasa fue el desprendimiento de la biopelícula aunque aún se desconoce la proporción de la biopelícula consumida por las larvas, se sugiere que la actividad larvaria afloja la estructura de la biopelícula mejorando su desprendimiento.

En otro estudio, se reportó la aparición de larvas de mosca en el soporte de biofiltración, 6 semanas después de la inoculación. Se menciona que estas larvas pueden prevenir la acumulación de un exceso de biomasa, y reciclar los nutrientes (Krishnakumar *et al.*, 2007). Similarmente, muy recientemente, Halecky *et al.* (2016) reportaron que moscas y larvas de *Lycoriella nigripes* sobrevivieron medio año durante la operación de un biofiltro alimentándose de la biopelícula y resultando en el mantenimiento de una caída de presión casi constante.

8.1.3.2. Seguimiento global del pH

En la Figura 13 se muestran los valores de pH obtenidos semanalmente a lo largo del experimento. Al igual que en las figuras anteriores las líneas verticales representan cada etapa del experimento.

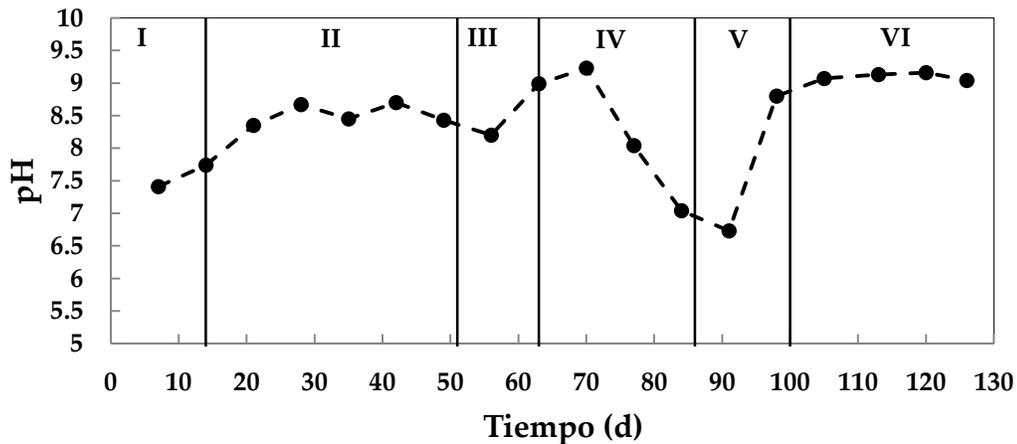


Figura 13. pH de los lixiviados.

El pH obtenido durante la primera semana fue ligeramente alcalino (7.4), y aumentó paulatinamente a 8.7 manteniéndose con valores cercanos durante la etapa II, alcanzando un valor de 9 al finalizar la etapa III. Durante estas etapas los microorganismos degradaban casi completamente el contaminante (ER del 95%, en promedio). Ya se ha observado un aumento de pH similar a este estudio durante la biofiltración de tolueno (Jiménez *et al.*, 2015), con el mismo medio mineral, y en particular la misma fuente de nitrógeno NO_3^- , que libera OH^- durante la asimilación de nitrógeno por la biomasa (Wang *et al.*, 2012).

En la primera semana de la etapa IV, se alcanzó un valor de 9.23. Entre los días 70 y 98, se observó una acidificación del lixiviado, alcanzando un pH mínimo de 6.7 el día 91. La disminución de pH en este experimento coincide con el periodo de mal funcionamiento del biofiltro y de alto contenido de COT en los lixiviados. Esto puede deberse a muerte celular, liberación de productos de lisis celular y acumulación de subproductos ácidos de la degradación del contaminante (Mudliar *et al.*, 2010). Tal acidificación ya ha sido reportada durante la biofiltración de metanol, y puede estar relacionada con una acumulación de intermediarios de degradación como el formaldehído y el ácido fórmico (Arriaga, 2012). La acidificación del lixiviado está a menudo relacionada con periodos de baja ER (García-Pérez, 2013). En la etapa V,

después del reempaque del biofiltro el valor de pH se incrementó nuevamente a 8.8 (día 98), seguido por una recuperación de la remoción. Durante la última etapa (VI) el pH se mantuvo estable, aproximadamente en 9.1, observando nuevamente que en pH alcalinos se mantuvo una buena degradación del contaminante (ER del 95%).

8.1.3.3. Contenido de humedad

Durante la mayor parte del tiempo de operación del biofiltro, la humedad varió en un intervalo de 50 a 70% de humedad como se muestra en la Figura 14.

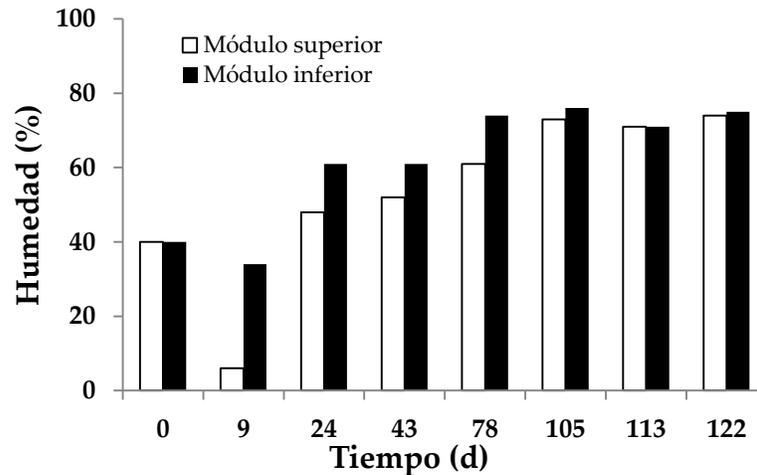


Figura 14. Contenido de humedad en el biofiltro.

Globalmente, por efectos de la gravedad, la humedad del módulo inferior resultó mayor a la del módulo superior. Al inicio del experimento, esta fue de 40% en ambos módulos, en el día 9 en el módulo superior disminuyó a 6%, y en el módulo inferior a 34. El hecho de que en esta semana la humedad haya sido baja es atribuido al bajo volumen de riego aplicado (100 mL), combinado con la falta de riego el fin de semana previo. En los días 24 y 43 la humedad se estabilizó en valores promedios de 50 y 60% para el módulo superior e inferior, respectivamente. Esta humedad es considerada adecuada para el desarrollo de la biomasa, ya que para mantener una buena ER se consideran adecuados valores entre 40 y 60% de humedad (Pinnette *et al.*, 1993; Abumaizar *et al.*, 1998).

En el día 78, la humedad del soporte incrementó a 61 y 74% en el módulo superior e inferior, debido a la reducción del flujo de aire (de 2.4 a 1.3 L min⁻¹) que implicaba un menor arrastre de agua. Los valores más altos de humedad se midieron a partir de la última etapa de operación del reactor (Etapa VI, día 105) cuando el flujo de aire era

aún menor (0.9 L min^{-1}), con un promedio de humedad de 73% en ambos módulos. Tal contenido de humedad es relativamente alto sin embargo algunos autores mencionan haber obtenido altos porcentajes de remoción con contenidos de humedad de 70%, además de observar un mejor desarrollo de las bacterias (Jiménez *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2002).

8.1.3.4. Caída de presión

En general la caída de presión permaneció estable con valores menores a $10 \text{ cm de H}_2\text{O m}^{-1}$ de reactor. La evolución de la caída de presión en función del tiempo se muestra en la figura siguiente.

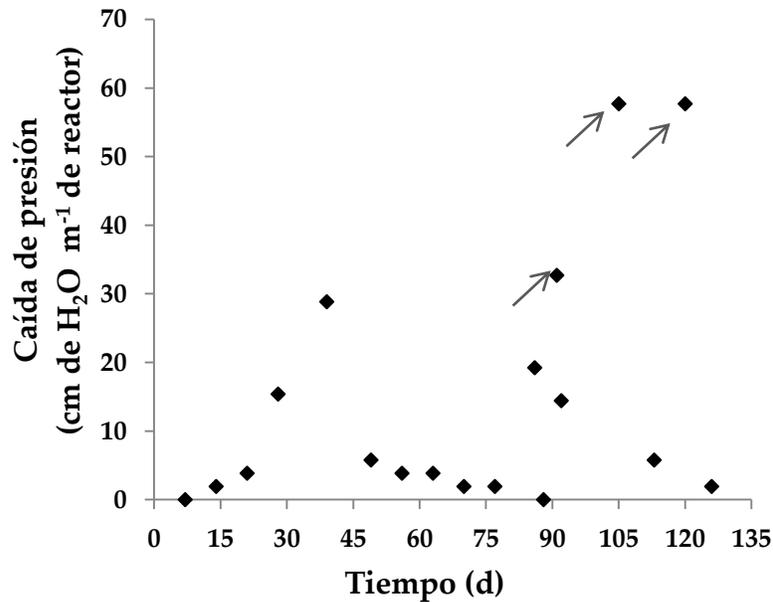


Figura 15. Caída de presión presentada por el biofiltro.

Los valores más altos de caída de presión fueron de 32.7 (en el día 91) y 57.7 (en los días 105 y 120) $\text{cm de H}_2\text{O m}^{-1}$ de reactor, los cuales se señalan en la Figura 15 con una flecha. Esto coincide con un alto contenido de humedad (70% en promedio) y con problemas con la ER; lo que llevo a la apertura del biofiltro y se observó alto contenido de biomasa lo que pudo haber ocasionado los altos valores de caídas de presión como lo menciona Lu *et al.* (2000). Después del reempaquete realizado en cada apertura del biofiltro las caídas de presión disminuyeron y las ER aumentaron. Se puede notar que en el periodo en el que se observó mayor caída de presión y mayor biomasa (ver 8.1.2.3), ya no existían moscas o larvas de mosca en el reactor, las que podían servir como un regulador del exceso de biomasa (8.1.3.2).

8.2. Cultivo de *Arthrospira maxima*

8.2.1. Evaluación del crecimiento de *A. maxima* a diferentes temperaturas

El crecimiento de *A. maxima* a diferentes temperaturas en el fotobiorreactor se muestra en la Figura 16. El mayor valor de densidad óptica (DO) fue de 3.1 y se obtuvo a una temperatura de 30 °C al día 15 del cultivo, comparado con el crecimiento observado a las temperaturas de 25 y 35 °C, donde sus mayores valores de DO fueron de 2.1 en el día 18 y 1.33 en el día 14. Cabe resaltar que a 25 °C se presentó una fase de adaptación de 5 días, a diferencia de las temperaturas de 30 y 35 °C donde esta fase de latencia fue más corta. Similar a esto, De Oliveira *et al.* (1999) reportaron que a menores temperaturas la fase de adaptación es más acentuada y disminuye al incrementar la temperatura.

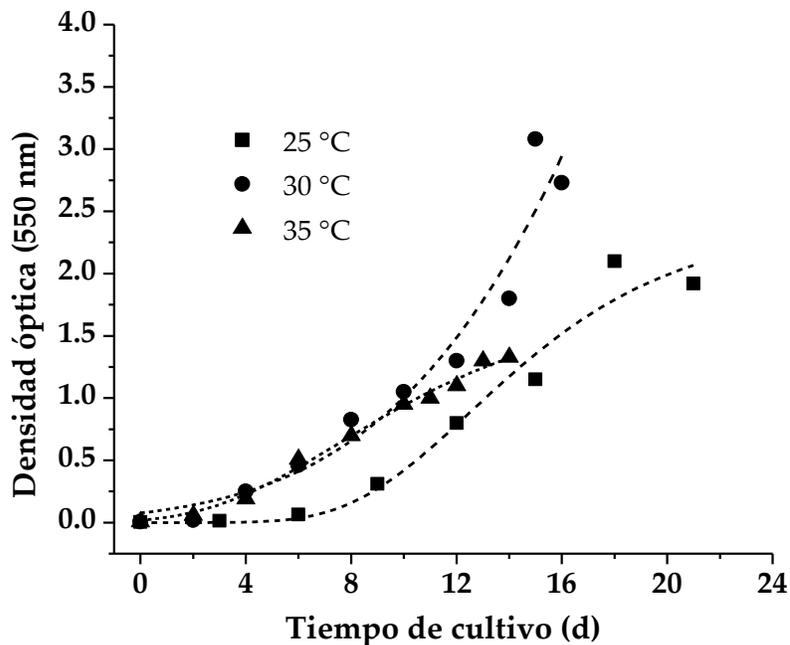


Figura 16. Curvas de crecimiento de *A. maxima* a diferentes temperaturas. Las líneas punteadas representan un ajuste al modelo de Gompertz.

Por otra parte, se observó que a 25 °C la tasa de crecimiento específica en el periodo exponencial (0.203 d^{-1}) fue similar que a 30 °C y casi el doble que a 35 °C (0.189 y 0.121 d^{-1}). El mayor contenido de biomasa se obtuvo a 30 °C con un valor de $\approx 1.1 \text{ g L}^{-1}$, alcanzado al día 16. Este valor fue mayor al obtenido 5 días después a 25 °C ($\approx 0.94 \text{ g L}^{-1}$), por otra parte a 35 °C el máximo contenido de biomasa fue de $\approx 0.64 \text{ g L}^{-1}$ (al día

14), el cual está por debajo de los antes mencionados (Tabla 8). De Oliveira *et al.* (1999) realizaron un estudio para evaluar los efectos de la temperatura sobre el crecimiento de *A. maxima* a una intensidad de $180 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, en medio Paoletti y reportaron haber obtenido la mejor producción de biomasa (2.4 g L^{-1}) a temperaturas de 30 y 35 °C, a diferencia del presente estudio donde la producción de biomasa se redujo casi a la mitad a 35 °C. Esta producción de biomasa fue superior a la obtenida en este estudio al igual que los reportados por Affan *et al.* (2015) quienes obtuvieron una producción máxima de 2.05 g L^{-1} probando 33 medios de cultivo bajo condiciones ambientales y Pandey y Tiwari (2010), quienes obtuvieron una producción de 1.46 g L^{-1} , utilizando medio Zarrouk y agitación manual. El valor obtenido en este estudio se encuentra entre los valores reportados por Romero *et al.* (2011) quienes obtuvieron producciones de 0.94 g L^{-1} y 1.4 g L^{-1} en dos tipos de fotobiorreactores (el primero de tipo helicoidal y el segundo cilíndrico).

Tabla 8. Peso seco de la biomasa en g L^{-1} (media \pm desviación estándar) de *A. maxima* obtenida en diferentes días y a diferentes temperaturas.

Tiempo (días)	Temperatura (°C)		
	25	30	35
2	-	0.1819 ± 0.0086	-
3	0.1597 ± 0.0021	-	-
4	-	-	0.2853 ± 0.0043
6	-	0.3426 ± 0.0084	-
8	-	-	0.5068 ± 0.0059
9	0.3311 ± 0.0083	-	-
10	-	0.6266 ± 0.0019	-
12	-	-	0.6336 ± 0.018
14	-	0.8401 ± 0.0032	0.6458 ± 0.0039
15	0.5939 ± 0.0055	-	-
16	-	1.0953 ± 0.0012	-
21	0.9363 ± 0.0083	-	-

De esta etapa, se seleccionó la temperatura de 30 °C para acoplar el cultivo al biofiltro, debido a que en esta temperatura la *A. maxima* tuvo mayor producción de biomasa además de que se alcanzó en menor tiempo.

8.2.2. Producción de lípidos y proteínas

Al finalizar la fase exponencial en las diferentes temperaturas se observó una disminución significativa en el contenido de lípidos y proteínas al incrementar la

temperatura (Figura 17). Los porcentajes obtenidos a 25, 30 y 35 °C son de 64.5, 47.8 y 39.3% para proteínas y 17.0, 14.5 y 12.5% para lípidos, respectivamente.

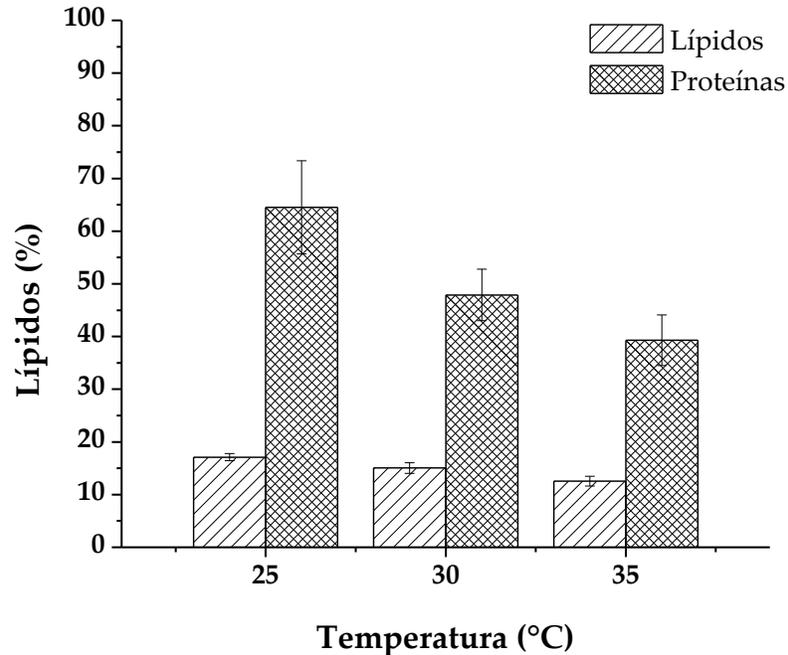


Figura 17. Contenido de proteínas y lípidos en la biomasa final de *A. maxima* producida a diferentes temperaturas (media \pm desviación estándar de tres submuestras).

Similar a estos resultados Pandey y Tiwari (2010) obtuvieron valores de proteínas en el intervalo de 47.4 a 63.8%, a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ a diferentes valores de pH, además indicaron que la intensidad de luz es un factor importante en la composición bioquímica de la microalga. De Oliveira *et al.* (1999) obtuvieron 68.7 y 64.6% en temperaturas de 30 y 35 °C respectivamente, observándose así una disminución en el contenido de proteínas al aumentar la temperatura, tal como ocurrió en el presente estudio.

En cuanto a los lípidos sus concentraciones son superiores a las reportadas por De Oliveira *et al.* (1999) quienes obtuvieron valores entre 6.3 y 7.8% a temperaturas de 25 y 35 °C respectivamente; y a los obtenidos por Romero *et al.* (2011) quienes reportaron valores de 6.05% en un fotobiorreactor helicoidal y 5.76% en un fotobiorreactor cilíndrico. Sin embargo, para esta misma especie, Hudson y Karis (1974) reportaron un contenido de 11% mientras que Tornabene *et al.* (1985) obtuvieron un 16.6%, en *A. platensis*, encontrándose entre estos valores los obtenidos en el presente estudio.

8.2.3. Producción de ficocianina

Se observó un mayor contenido de ficocianina en el cultivo a temperatura de 25 °C con un valor de $9.17 \pm 1.37 \text{ mg g}^{-1}$, comparado con el cultivo a 30 °C ($6.96 \pm 1.31 \text{ mg g}^{-1}$) y 35 °C ($5.7 \pm 1.67 \text{ mg g}^{-1}$) aunque cabe resaltar que no hay una diferencia significativa entre estos tratamientos (Figura 18). Esta tendencia concuerda con lo reportado por Torzillo *et al.* (1984) quienes encontraron una mayor producción de ficocianina a 20 °C que a 30 °C.

El contenido de ficocianina obtenido en este estudio es bajo en comparación con los reportados por la literatura: Torzillo *et al.* (1984) reporta valores de 66 mg g^{-1} y 51 mg g^{-1} a temperaturas de 20 y 30 °C respectivamente; Tomaselli *et al.* (1997) mencionan que a irradiancias bajas, el contenido de ficocianina se incrementa para tener un crecimiento relativamente alto, por lo que los valores bajos obtenidos en este estudio pueden deberse a la irradiancia utilizada ($350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Lamela y Márquez-Rocha (2000) reportan valores de 15.2 a 45.3 mg g^{-1} de ficocianina probando tres medios de cultivo a 23 °C a una irradiancia de $230 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mientras que Santiago-Morales (2004) reporta un contenido de 22.10 mg g^{-1} a 30 °C a una irradiancia de $93 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

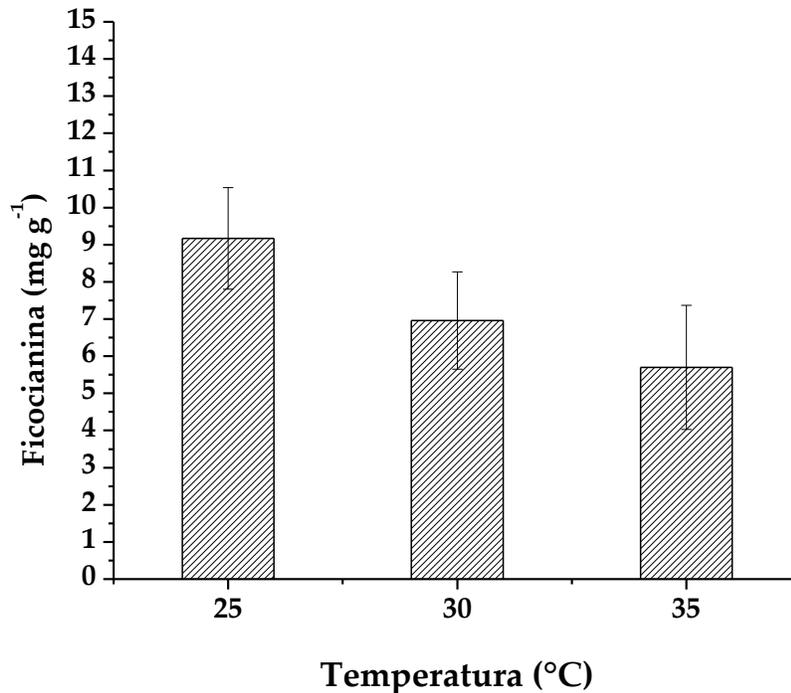


Figura 18. Contenido de ficocianina en la biomasa final de *A. maxima* cultivada a diferentes temperaturas (media \pm desviación estándar de tres submuestras excepto para la biomasa obtenida a 35 °C donde se tienen dos submuestras).

8.3. Cultivo de *Arthrospira maxima* acoplado al biofiltro de aire

Después de 127 días de operar el biofiltro de forma independiente, se procedió a acoplarlo con el cultivo microalgal para el aprovechamiento del CO₂ como fuente de carbono. El cultivo tuvo una duración de 22 días.

8.3.1. Desempeño del biofiltro acoplado

Durante el acoplamiento con el cultivo, el biofiltro operó con condiciones similares a la etapa VI (descritas en el capítulo 7.1.2.), aplicando una carga de metanol de $157.5 \pm 11.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, un flujo de aire de 0.9 L min^{-1} , y un riego de 200 mL d^{-1} . Como se ha discutido anteriormente (capítulo 8.1.1.), estas condiciones permiten una eliminación casi completa del metanol, manteniendo una buena producción de CO₂. La ER obtenida fue de $97.8 \pm 3.0\%$, excepto los días 7 y 8 después del acoplamiento (días 134 y 135 de operación del biofiltro), donde las ER disminuyeron a 78.5 y 80.8%, respectivamente. Tal reducción de la remoción se relacionó con un aumento de la caída de presión (alcanzando $9.61 \text{ cm de H}_2\text{O m}^{-1}$), lo que indicó un problema de taponamiento del reactor por crecimiento excesivo de biomasa. Al igual que en las ocasiones anteriores, para facilitar el paso del aire y evitar caminos preferenciales, el día 8 del acoplamiento, el biofiltro fue reempacado con 500 mL de perlita nueva, obteniendo así una ER de 99.8% al día siguiente. El contenido de materia orgánica indicó una producción de biomasa de 125.0 y 75.4 $\text{mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$, en los módulos superior e inferior, respectivamente (esto desde el anterior desempaque hecho el día 122 de operación del biofiltro). Una vez más, se comprobó que un excesivo contenido de biomasa afecta la ER del sistema.

En promedio, la CE de metanol fue de $150.1 \pm 16.4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, manteniéndose similar a la obtenida antes del acoplamiento (etapa VI: $141.3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$). Esto nos indica la estabilidad del sistema de biofiltración, manteniendo la remoción del metanol cuando se limita la caída de presión mediante reempaque regular. La PCO₂ durante esta etapa fue de $160.4 \pm 40.0 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, generando una concentración promedio de CO₂ de $8.9 \pm 1.9 \text{ g m}^{-3}$ para alimentar el cultivo de la microalga.

8.3.2. Evaluación del crecimiento de *A. maxima* acoplado

Considerando que en los experimentos anteriores donde se evalúa el crecimiento de *A. maxima* a diferentes temperaturas, la mayor producción de biomasa en menor tiempo se obtuvo a 30 °C (Capítulo 8.2.1.), se tomó esta temperatura para evaluar el interés de suministrar CO₂ como fuente de carbono. Para lo cual se comparó el

crecimiento algal obtenido anteriormente con aporte inicial de NaHCO_3 , con el que se obtiene administrando un flujo de aire atmosférico (pobre en CO_2) y con aire proveniente del biofiltro (rico en CO_2). La Figura 19 reporta las DO obtenidas para las curvas de crecimiento, a $30\text{ }^\circ\text{C}$, de los cultivos de *A. maxima* i) con carbono en el medio de cultivo (NaHCO_3) (ACM), ii) sin aporte inicial de carbono, con CO_2 proveniente del aire atmosférico (0.9 L min^{-1}) (ACA), y iii) sin aporte inicial de NaHCO_3 , con CO_2 residual del biofiltro (ACB).

Las curvas de crecimiento indican que, desde los primeros días de cultivo, se obtuvo un valor mayor de DO para el tratamiento alimentado con CO_2 proveniente del biofiltro, que permaneció produciendo más biomasa algal a lo largo del experimento, seguido por el cultivo suplementado con NaHCO_3 .

Con respecto a las fases de crecimiento, la fase de latencia más prolongada se observó al aplicar el tratamiento ACA que tuvo una duración de 4 días a diferencia de los otros dos tratamientos donde esta fase no fue tan marcada (2 días). Es posible que la reducida cantidad de CO_2 aportada por el aire atmosférico haya aumentado el tiempo necesario al arranque del cultivo, por limitación de sustrato.

Durante la fase exponencial, la tasa de crecimiento en el tratamiento ACB (0.252 d^{-1}) fue mayor a la obtenida en los tratamientos ACM y ACA (0.203 y 0.193 d^{-1} , respectivamente). Cabe notar que De Morais y Vieira (2007) y Hoseini *et al.* (2014) reportan tasas de crecimiento del mismo orden de magnitud ($0.27 - 0.44\text{ d}^{-1}$) al probar diferentes concentraciones de CO_2 . El Primer estudio probó concentraciones de 0.038, 6 y 12% CO_2 , la mayor tasa de crecimiento (0.44 d^{-1}) se obtuvo al suministrar una concentración de 6% de CO_2 , en el segundo estudio se probaron concentraciones de 0.036%, 4, 6, 8 y 10%, donde de igual forma la mayor tasa de crecimiento se obtuvo al suministrar una concentración de 6% de CO_2 (0.41 d^{-1}).

El cultivo acoplado al biofiltro (ACB) obtuvo una de DO máxima de 3.5, manteniendo la fase estacionaria con este valor (del día 17 al día 22, que fue cosechada). La DO máxima del cultivo que tomamos como referencia (ACM) fue de 3.1 y el cultivo que fue alimentado con CO_2 del aire atmosférico (ACA) presentó una DO máxima de 1.8. Así, el cultivo ACA tuvo una mayor duración de la fase de latencia menor tasa de crecimiento en el periodo exponencial, y menos días de crecimiento que es atribuido al bajo aporte de CO_2 . Por lo contrario, el aporte continuo de un mayor contenido de CO_2 (ACB) permitió prolongar la duración de la fase exponencial, evitando las

limitaciones de carbono que pueden presentarse en el caso de un aporte de carbono puntual únicamente al inicio del experimento (ACM).

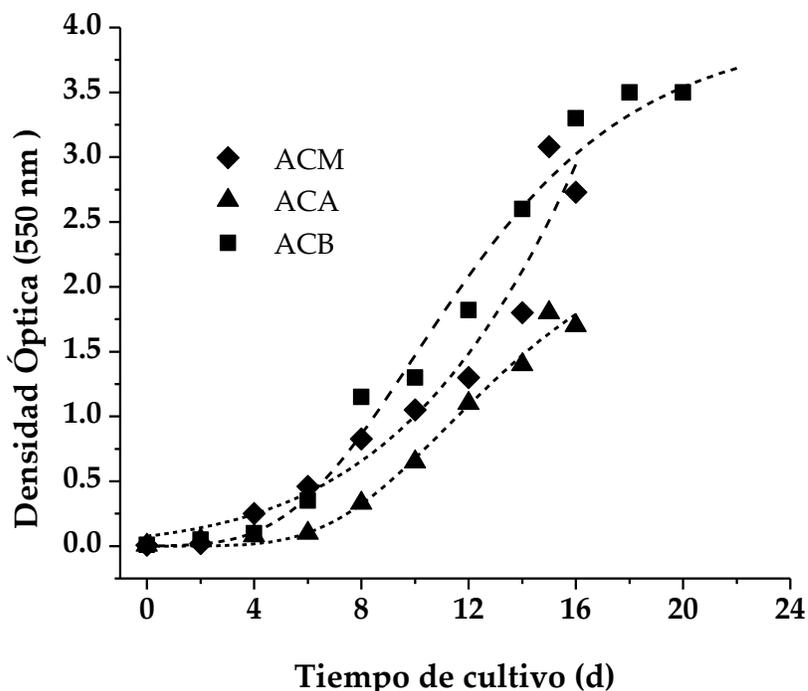


Figura 19. Curvas de crecimiento de *A. maxima* con NaHCO_3 en el medio de cultivo (ACM) con CO_2 atmosférico (ACA) y con CO_2 residual del biofiltro (ACB). Las líneas punteadas representan un ajuste al modelo de Gompertz.

La Tabla 9 reporta el peso seco de biomasa durante el cultivo, y en la fase estacionaria. El mayor contenido final de biomasa se obtuvo en el tratamiento ACB ($\approx 1.3 \text{ g L}^{-1}$), siendo 18 y 145% mayor a lo obtenido en los tratamientos ACM ($\approx 1.1 \text{ g L}^{-1}$) y ACA ($\approx 0.53 \text{ g L}^{-1}$), corroborando la mayor productividad obtenida en el caso del subministro de aire proveniente del biofiltro. El contenido de biomasa obtenido en el presente estudio se encuentra dentro del intervalo $0.7 - 4.54 \text{ g L}^{-1}$ reportado en la literatura (Pandey & Tiwari, 2010; Mastudo *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2012) al variar la fuente y las concentraciones de CO_2 en el medio de cultivo (algunos estudios utilizan CO_2 proveniente de la fermentación alcohólica). Este contenido puede variar en función del tipo de configuración del fotobiorreactor, y es por lo tanto difícil comparar diferentes sistemas (Da silva *et al.*, 2016). Hoseini *et al.* (2014) reportan valores de peso seco similares a los aquí obtenidos al suministrar aire atmosférico como fuente de carbono (0.55 g L^{-1}). Sin embargo, en el mismo estudio, es necesario aportar aire con hasta 6% de CO_2 para obtener un contenido de peso seco de 1.3 g L^{-1} . Cabe señalar que el peso seco obtenido acoplado el biofiltro es equiparable,

aportando únicamente un porcentaje de CO₂ en fase gas de cerca de 0.5% (equivalente a 8.9 g m⁻³, a 25 °C).

Tabla 9. Peso seco de la biomasa g L⁻¹ (media ± desviación estándar) de *A. maxima* en diferentes días y cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ proveniente del aire atmosférico (ACA) y, con CO₂ residual del biofiltro (ACB).

Tiempo (d)	Tratamiento		
	ACM	ACA	ACB
2	0.1819 ± 0.0086	-	-
6	0.3426 ± 0.0084	0.1147 ± 0.0029	0.2491 ± 0.0021
10	0.6266 ± 0.0019	0.3652 ± 0.0011	0.4134 ± 0.0059
14	0.8401 ± 0.0032	-	-
16	1.0953 ± 0.0012	0.5328 ± 0.0002	1.2747 ± 0.0024
22	-	-	1.3050 ± 0.0019

8.3.2.1. Seguimiento del pH

En la Figura 20 se muestra el comportamiento del pH a lo largo del tiempo de cultivo para los tratamientos ACM, ACA y ACB. Cabe mencionar que el comportamiento del pH fue muy similar entre los cultivos que crecieron a diferentes temperaturas por lo que en este apartado solo se describe el comportamiento del pH en el cultivo a 30 °C (ACM). El pH inicial fue de 9.12, manteniéndose estable hasta el día 5. Algunos autores reportan un pH cercano a 9 como óptimo para el crecimiento del alga (Ogbonda *et al.*, 2007; Pandey & Tiwari, 2010). Después del día 5, el pH subió progresivamente hasta 9.55. Se puede relacionar este aumento del pH con el periodo de mayor crecimiento algal.

Se ha reportado que el aumento del pH tiene que ver con el desarrollo y crecimiento de la microalga, incluso puede ser utilizado para estimar el crecimiento, utilizando una curva de calibración (Pelizer *et al.*, 2002). La absorción de nitrato por las células de la microalga requiere primero una reducción al amoníaco, esto contribuye al aumento del pH durante el proceso de cultivo; además, el bicarbonato del medio de cultivo se transporta a las células y se convierte en dióxido de carbono y carbonato; el primero se incorpora y se utiliza como fuente de carbono para el crecimiento, lo que también contribuye al incremento del pH (Rodrigues *et al.*, 2010; Zeng *et al.*, 2012).

En el caso del cultivo ACA y del cultivo ACB, el pH del medio fue menor al anterior (8.35), debido a que se trata de un medio exento de HCO₃⁻, por lo que el pH fue

ajustado a 9 con NaOH, para iniciar en un medio comparable al cultivo anterior. En ambos casos se observó que el pH disminuía por la adición del aire, ya que la absorción del CO₂ provocaba acidificación, por lo que se reguló por medio de la adición automatizada de NaOH (2.0 M) cuando el pH disminuía por debajo del adecuado para el crecimiento de la microalga (≈ 9). En el caso del cultivo ACM, a partir del día 4 incrementó el pH debido al crecimiento algal, por lo cual se dejó de necesitar la adición de NaOH. El pH alcanzó el máximo valor en el día 11 (pH=10.22), durante el periodo de crecimiento exponencial, después del cual hubo un pequeño decremento (hasta 9.73). Para el cultivo ACB fue necesaria la adición continua de NaOH durante todo el tiempo de cultivo, lo cual es atribuido a la concentración de CO₂ en el aire de salida del biofiltro (0.5%) comparado con la cantidad presente en el aire (0.08%).

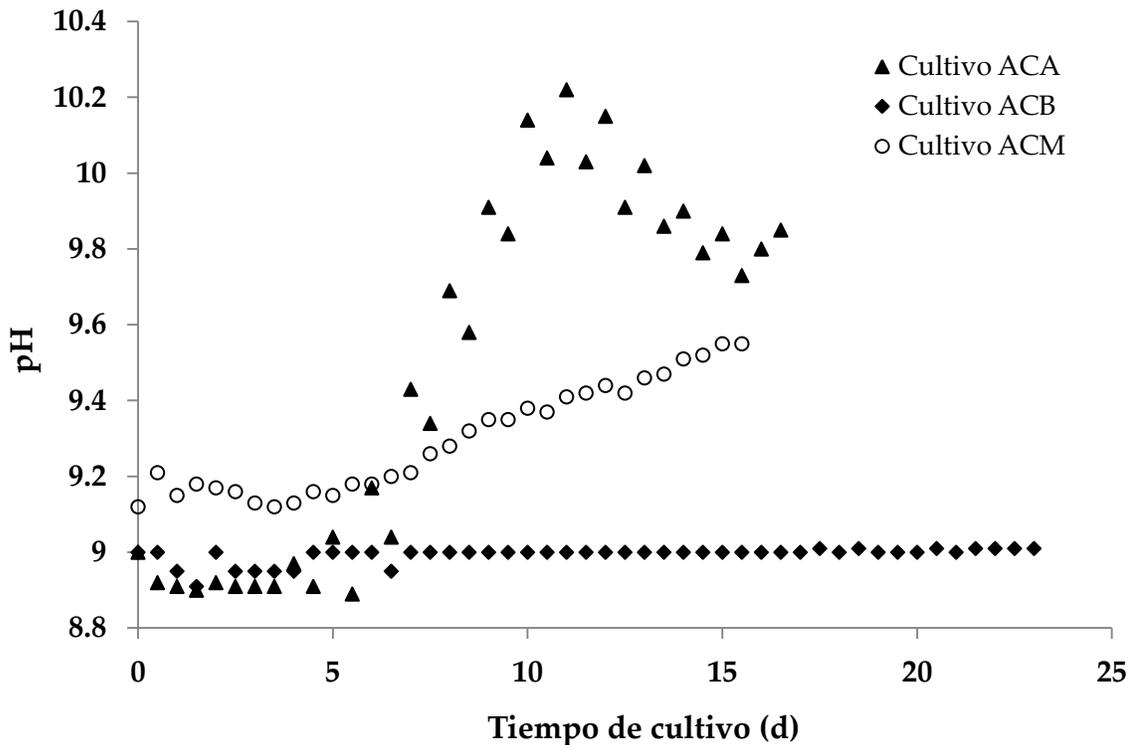


Figura 20. Seguimiento del pH en los cultivos de *A. maxima* cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ proveniente del aire atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB).

En todos los casos excepto en el tratamiento ACB, se observó que durante el tiempo de cultivo en las horas con luz el pH aumentaba y en obscuridad disminuía; dicho comportamiento se debe a la absorción del nitrato (como se mencionó en el primer

párrafo del presente capítulo) y a la utilización de CO₂ en el proceso de fotosíntesis para la generación de compuestos orgánicos, mientras que por las noches el CO₂ emitido por el biofiltro más el expulsado durante proceso de respiración celular acidifican el medio (Bittencourt *et al.*, 2010).

Globalmente, es importante notar que, para todos los cultivos el intervalo de pH se mantuvo dentro de lo reportado por la mayoría de los autores (entre 9 y 11) (De Oliveira *et al.*, 1999; Rodrigues *et al.*, 2010; Gami *et al.*, 2011; Romero *et al.*, 2011; Zeng *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2016).

8.3.3. Producción de lípidos y proteínas

Como se puede observar en la Figura 21, el contenido de lípidos presente en la biomasa del tratamiento ACM (14.5%) fue significativamente mayor al presentado por los tratamientos ACA y ACB (11.3 y 12.1%). En cuanto al contenido de proteínas el tratamiento ACM y el tratamiento ACB no tuvieron diferencias significativas (47.8 y 45.47%), y fueron significativamente mayor al obtenido en tratamiento ACA (31.1%).

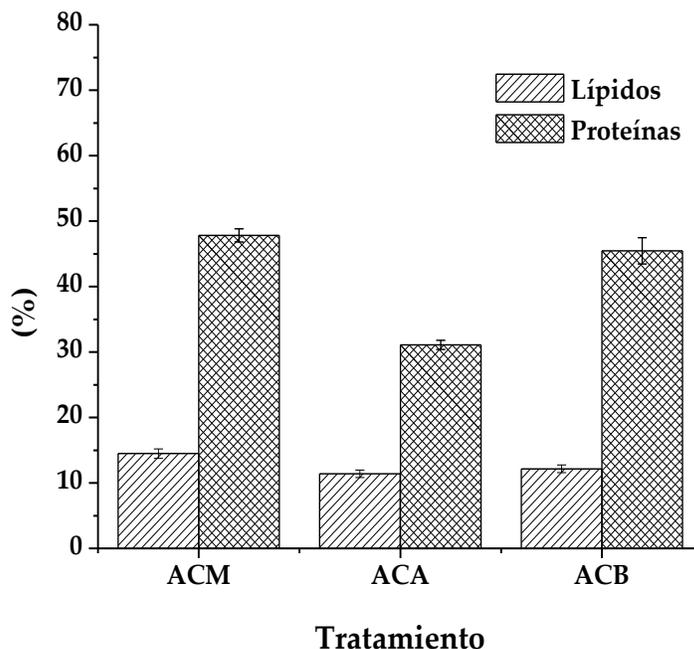


Figura 21. Contenido de lípidos y proteínas de la biomasa final de *A. maxima* cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB) (media \pm desviación estándar de tres submuestras).

Por lo tanto, en este estudio, el aporte de aire atmosférico como fuente de CO₂, además de limitar el crecimiento, disminuye el contenido lipídico y proteico del alga con respecto al cultivo que tiene como fuente de carbono NaHCO₃ en el medio y al que se le suministra CO₂ proveniente del biofiltro. La limitación de carbono, por el bajo contenido de CO₂ en el aire atmosférico, reduce la producción de estos componentes. El incrementar el aporte de CO₂ acoplando el cultivo a la salida del biofiltro permite obtener una mayor biomasa con un contenido en proteínas similar al del cultivo con NaHCO₃ en el medio y con un porcentaje menor de lípidos.

Los valores obtenidos en los cultivos ACB y ACA son semejantes a los obtenidos en otros estudios. Así, Bittencourt *et al.*, (2010) reportan valores similares utilizando una concentración del 6% de CO₂ (11.0 ± 2.2 para lípidos y 42.3 ± 1.9 para proteínas). Hoseini *et al.* (2014) reportan valores ligeramente superiores en el contenido de lípidos (entre 14.4 y 16%, utilizando diferentes concentraciones de CO₂ en el medio de cultivo) y no observan diferencias entre tratamientos en el contenido de proteínas obteniendo un valor promedio de 46%. Mastudo *et al.* (2011) reportan valores ligeramente superiores, con un contenido de proteínas de 56 y 50%, al utilizar el CO₂ liberado de la fermentación alcohólica, en un fotobiorreactor tubular. Así mismo, Ferreira *et al.*, (2012) no encontraron diferencias significativas en la composición de la microalga al utilizar CO₂ de alta pureza y CO₂ de la fermentación alcohólica, por lo que mencionan que el gas de combustión de la fermentación alcohólica puede ser utilizada con éxito como fuente de carbono. Los resultados aquí obtenidos confortan el hecho que el tipo de fuente de carbono no altera significativamente la composición en proteínas y lípidos del alga. Los contenidos de lípidos y proteínas reportados en el presente estudio coinciden con los reportados para el alga de estudio, indicando que las emisiones de biofiltros pueden ser utilizadas como fuente de carbono para el cultivo algal, sin afectar su composición.

8.3.4. Producción de ficocianina

La ficocianina es un pigmento de gran interés comercial pues es utilizado como colorante en productos alimenticios y cosméticos, y tiene un uso terapéutico (Sarada *et al.*, 1999). En la Figura 22 se reporta el contenido de ficocianina del alga para los tratamientos evaluados. Se observó un contenido de ficocianina significativamente mayor para el cultivo acoplado al biofiltro (ACB: 10.74 ± 0.96 mg g⁻¹) con respecto a los otros dos tratamientos (ACM: 6.96 ± 1.31, ACA: 6.75 ± 1.20 mg g⁻¹). Esto puede

deberse a que la ficocianina puede funcionar como material de almacenamiento de carbono (Miller & Hot, 1977), por lo que se considera que, al incrementar el aporte de carbono, alimentando continuamente el cultivo con el gas residual del proceso de biofiltración, aumenta el contenido de ficocianina. Los valores obtenidos en este estudio son menores a los reportados por Gordillo *et al.* (1999) al probar concentraciones de CO₂ de 0.035 y 1% (41.6 y 27.8 mg g⁻¹).

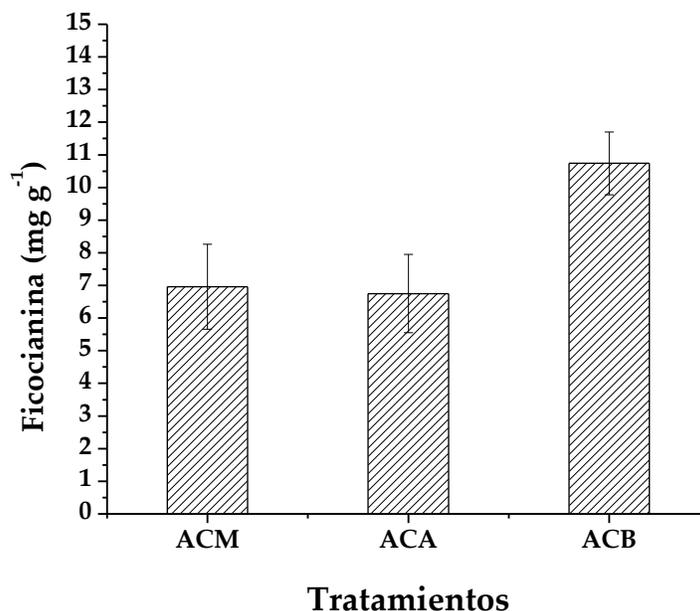


Figura 22. Contenido de ficocianina en la biomasa final de *A. maxima* cultivada con NaHCO₃ en el medio de cultivo (ACM), con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB) (media \pm desviación estándar de tres submuestras).

8.3.5. Fijación de CO₂ en el cultivo de la microalga *A. maxima*

Muy pocos estudios han reportado la cantidad de CO₂ fijada durante el cultivo algal (Bittencourt *et al.*, 2010). Como se ha mencionado anteriormente, se han probado dos fuentes gaseosas de carbono, una con CO₂ proveniente de aire atmosférico (tratamiento ACA), otra con CO₂ proveniente del gas residual del biofiltro (tratamiento ACB). Las concentraciones de entrada y salida de CO₂ en ambos cultivos se muestran en la Figura 23. Durante el tratamiento con aire atmosférico, la concentración de entrada fue en promedio de 1.42 ± 0.27 g CO₂ m⁻³ de aire, mientras que las concentraciones de salida se mantuvieron siempre inferiores (1.03 ± 0.29 g CO₂ m⁻³), fijando en promedio una concentración de 0.40 ± 0.11 g CO₂ m⁻³ de aire.

Durante el tratamiento acoplado al biofiltro, la concentración de CO₂ alimentada al cultivo fue mayor, pero más variable que para el aire atmosférico (8.95 ± 2.05 g CO₂ m⁻³), debido a que el CO₂ generado dependía del desempeño del biofiltro. En particular, la concentración de entrada de CO₂ al sistema de cultivo en el día 1 fue de 11.37 g CO₂ m⁻³ de aire y disminuyó a lo largo de la primera semana teniendo la concentración más baja el día 8 (5.76 g CO₂ m⁻³) en este día se abrió el biofiltro para remover el exceso de biomasa y volver a recuperar una buen paso del aire a través del lecho filtrante, por lo que en los días posteriores mejoró la remoción e incrementó nuevamente la concentración de CO₂ llegando a la concentración máxima de 11.57 g CO₂ m⁻³ de aire en el día 13. Las concentraciones de salida variaron de 4.98 a 10.08 g CO₂ m⁻³ de aire (promedio de 7.90 ± 1.82 g CO₂ m⁻³) mostrando que el sistema absorbe en promedio 1.05 ± 0.50 g CO₂ m⁻³ de aire, lo que representa 2.6 veces más que el CO₂ absorbido del aire atmosférico.

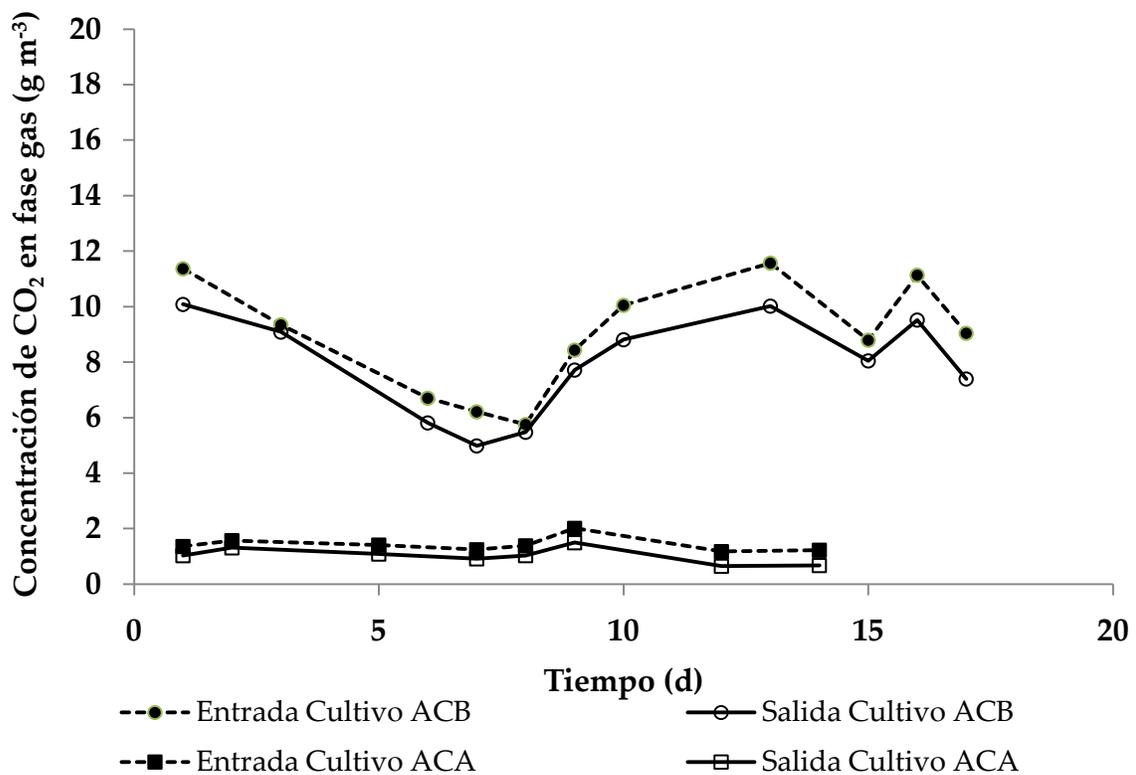


Figura 23. Concentraciones de entradas y salidas de CO₂ en el cultivo de *A. maxima* alimentado CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB).

En la Figura 24, se muestra el carbono acumulado por cada sistema, integrando desde el inicio de cultivo a lo largo del tiempo. Cabe resaltar que para los cálculos, conforme

a lo expuesto en materiales y métodos (8.3.5) solo se tomó en cuenta las horas en las que el cultivo tuvo luz, a pesar de que el biofiltro estaba acoplado también durante la noche, debido a que la fotosíntesis es llevada a cabo solo en los periodos de luz y es cuando el CO₂ es fijado en compuestos orgánicos (Bittencourt *et al.*, 2010), mientras que por la noche debido a la respiración celular no se fija CO₂ si no por el contrario hay pérdidas no cuantificadas (Scott & Huesemann, 2015).

En ambos cultivos se tuvo una acumulación de carbono prácticamente exponencial, lo que es muy similar a lo que se muestra en las curvas de crecimiento durante la fase exponencial, debido a que el género de *Arthrospira* contienen aproximadamente 55.7% de carbono en su biomasa (Azizi *et al.*, 2017), por lo que al incrementar su biomasa incrementa también el carbono fijado.

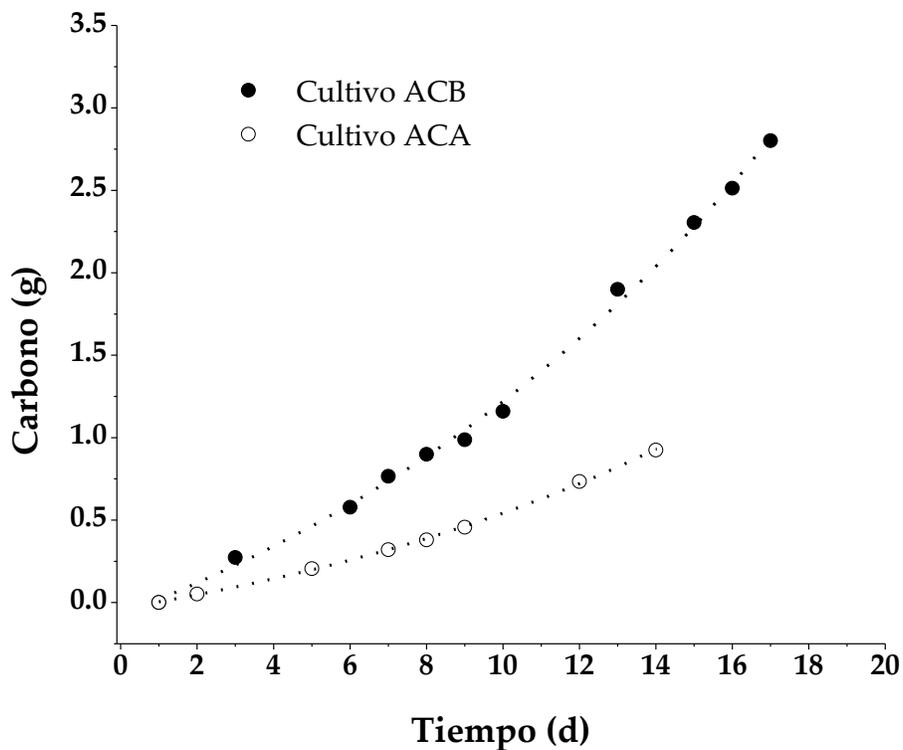


Figura 24. Carbono acumulado por el cultivo de *A. maxima* con CO₂ atmosférico (ACA) y con CO₂ residual del biofiltro (ACB), antes del estado estacionario.

La Tabla 10 recopila los resultados obtenidos en cuanto al carbono entrante, saliente y fijado en el cultivo y en la biomasa integrado desde el inicio hasta el final del periodo

de crecimiento algal, para los dos cultivos alimentados con CO₂ gaseoso (ACA y ACB). Como se ha mencionado, *Arthrospira* mantuvo su fase de crecimiento durante más tiempo en el cultivo ACB que en el cultivo ACA (17 y 14 días, respectivamente). Como se puede ver en el último punto de la Figura 24, y en la Tabla 10, la cantidad de carbono que se mantuvo fijada en el medio fue de 2.8 gC (1.40 gC L⁻¹) y de 0.92 gC (0.46 gC L⁻¹) para los cultivos ACB y ACA, respectivamente. La cantidad total de carbono entrante al fotobiorreactor fue de 12.94 gC L⁻¹ y 1.66 gC L⁻¹ de cultivo, para el tratamiento ACB y ACA, mientras que la cantidad saliente se redujo a 11.54 y 1.20 gC L⁻¹ de cultivo. Así para el cultivo ACB y ACA, se fijó 10.8 y 27.8% del CO₂ entrante, respectivamente. Así, la menor cantidad de CO₂ presente en el aire atmosférico implicó que este fuera proporcionalmente mejor aprovechado que el gas saliente del biofiltro (mayor tasa de fijación de CO₂).

Por otro lado, la limitada fijación del CO₂ del gas proveniente del biofiltro implica un considerable remanente de carbono aún disponible para crecimiento algal. Así, el aire saliente del biofiltro podría permitir obtener una mayor cosecha algal, utilizando un fotobiorreactor de volumen superior. Con base en la cantidad de biomasa seca cosechada al final de cada cultivo (0.53 y 1.3 g L⁻¹) y estimando un contenido de carbono sobre peso seco del 55.7% (Azizi *et al.*, 2017), se obtiene que el 52 y 64% del carbono fijado fue utilizado para la obtención de biomasa algal, para el caso del tratamiento ACB y ACA, respectivamente.

Cabe mencionar que en el cultivo a 30 °C con bicarbonatos se aportaron 2.3 g L⁻¹ de carbono al arranque del sistema (16.8 g L⁻¹ de NaHCO₃), produciendo 1.1 g L⁻¹ de peso seco de microalga, que contiene 55.7% de carbono, es decir 0.61 g C, lo que corresponde a un 27% del carbono inicialmente aportado. Para el tratamiento ACA se usó el 18% del carbono entrante como CO₂, mientras que para el tratamiento ACB, se usó únicamente alrededor del 6%. Sin embargo, el exceso de CO₂ en el tratamiento ACB ha podido mejorar comparativamente la productividad de microalga, posiblemente favoreciendo la transferencia de masa del carbono en fase gas hacia el líquido de cultivo, además de favorecer el contenido de ficocianinas.

Tabla 10. Fijación de CO₂ en el cultivo de *A. maxima* con CO₂ atmosférico (ACA) y en cultivo con CO₂ residual del biofiltro (ACB).

Tratamiento	Tiempo de cultivo (días)	Concentración de CO ₂ entrante (%)	Carbono entrante (gC L ⁻¹)	Carbono saliente (gC L ⁻¹)	Carbono fijado (gC L ⁻¹ (%))	Carbono fijado en biomasa (gC L ⁻¹ (%))
ACA	14	0.08 + 0.01	1.66	1.20	0.46 (27.9%)	0.29 (63%)
ACB	17	0.50 + 0.11	12.94	11.54	1.40 (10.8%)	0.72 (51%)

Aunque existen investigaciones sobre la fijación de CO₂ en microalgas, son escasas las que lo cuantifican. El porcentaje de carbono utilizado en la producción de biomasa sobre la totalidad de carbono fijado (64 y 52%) en el presente trabajo es menor que el 80.4% reportado para *Spirulina platensis* LEB-52 por Bittencourt *et al.* (2010) quienes obtuvieron una fijación de carbono de 1.3 gC L⁻¹, muy similar a la obtenida en el presente estudio en el tratamiento ACB (1.4 gC L⁻¹). Diferentes estudios mencionan que el hecho de que el carbono no sea fijado totalmente en biomasa puede deberse a que este se utiliza para la producción de productos extracelulares, no cuantificados en la biomasa (compuestos orgánicos volátiles, organohalógenos, polisacáridos, hormonas) (Bittencourt *et al.* 2010; Jacob-Lopes *et al.*, 2008).

9. CONCLUSIONES

Las condiciones de operación del biofiltro seleccionadas para acoplarlo al fotobiorreactor fueron: carga de metanol de $157.5 \pm 11.3 \text{ g m}^{-3}\text{h}^{-1}$, flujo de aire de 0.9 L min^{-1} , y un riego de 200 mL día^{-1} , estas condiciones permiten una eliminación casi completa del metanol (ER promedio $97.8 \pm 3.0\%$), con una CE de $150.1 \pm 16.4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. El problema que se presentó en la operación del biofiltro fue el crecimiento excesivo de biomasa, lo que ocasionó elevadas caídas de presión y una disminución en la ER, esto se solucionó cambiando, cada vez, parte del soporte por perlita nueva para eliminar este exceso de biomasa.

En cuanto al cultivo de la microalga, el mayor contenido de biomasa se obtuvo a 30 °C (1.1 g L^{-1}), por lo que esta fue la temperatura que se utilizó al acoplar el cultivo al biofiltro. En cuanto a su composición bioquímica se observó una disminución en el contenido de lípidos y proteínas al incrementar la temperatura, lo mismo sucedió con el contenido de ficocianina, pues al incrementar la temperatura este pigmento disminuyó. En el sistema acoplado se tuvo una mejora en la productividad de la *A. maxima*, un contenido similar de lípidos y proteínas; y un mayor contenido de ficocianinas, con respecto a los otros tratamientos probados. Sin embargo, el proceso aún requiere ser optimizado para un mejor aprovechamiento del carbono presente en el efluente del biofiltro.

Los resultados de la presente investigación muestran que el sistema propuesto es factible para la degradación del metanol y aprovechamiento de su residuo (CO_2) por medio de la producción de *A. maxima*. Este cultivo es económicamente viable por el uso de carbono libre de costos (Mastudo *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2008) y al mismo tiempo se reduce la huella de carbono emitida al ambiente.

10. RECOMENDACIONES

Para minimizar las caídas de presión debido a la acumulación de biomasa, durante el proceso de biofiltración se sugiere utilizar otro material de empaque que tenga mayor grado de espacio vacío, y que favorezca el desarrollo de la biopelícula.

Durante el trabajo con los sistemas acoplados se sugiere probar más horas luz y menos horas oscuridad para aprovechar lo más que se pueda del CO₂ residual del biofiltro. Además sería conveniente evitar que las emisiones del biofiltro pasen al cultivo durante las horas de oscuridad para tener menor impacto en la disminución del pH del medio de cultivo de la microalga.

Considerando que el CO₂ mejora significativamente el contenido de ficocianina en *A. maxima* es necesario optimizar otros parámetros como temperatura e irradiación.

Por la cantidad de CO₂ presente en el flujo de aire a la salida del cultivo microalgal sería bueno trabajar con un volumen de cultivo mayor para utilizar más CO₂ proveniente del biofiltro.

11. LITERATURA CITADA

- Abumaizar, R. J., Kocher, W., & Smith, E. H. (1998). Biofiltration of BTEX contaminated air streams using compost-activated carbon filter media. *Journal of Hazardous Materials*, 111-126.
- Affan, M. A., Lee, D. W., Al-Harbi, S. M., Kim, H. J., Abdulwassi, N. I., Heo, S. J., & Kang, D. H. (2015). Variation of *Spirulina maxima* biomass production in different depths of urea-used culture medium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(4), 991-1000.
- Alvarez-Hornos, F. J., Gabaldón, C., Martínez-Soria, V., Marzal, P., Peña-roja, J. M., & Izquierdo, M. (2007). Long-Term Performance of Peat Biofilters Treating Long-Term Performance of Peat Biofilters Treating. *Biotechnology and Bioengineering*, 651-660.
- Andersen, R. A. (2005). *Algal Culturing Techniques*. USA: Phycological Society of America.
- Arancon, R. A., Ki Lin, C. S., Ming Chan, K., Him Kwan, T., & Luque, R. (2013). Advances on waste valorization : new horizons for a more sustainable society. *Energy Science & Engineering*, 53-71.
- Arredondo-Vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. En B. O. Arredondo-Vega, & D. Voltolina, *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal* (17-25).
- Arriaga, S., & Revah, S. (2004). Improving hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter. *Biotechnology Bioengineering*, 107-115.
- Arriaga, S., Acosta-Munguía, J. A., Pérez-Martínez, A., De León-Rodríguez, A., & Barba de la Rosa, A. P. (2010). Coupling aerobic biodegradation of methanol vapors with heterologous protein expression of endochitinase Ech42 from *Trichoderma atroviride* in *Pichia pastori*. *Bioresource Technology*, 9661-9665.
- Arriaga, S., Serrano, M. A., & Barba de la Rosa, A. P. (2012). Methanol vapor biofiltration coupled with continuous production of recombinant endochitinase Ech42 by *Pichia Pastoris*. *Process Biochemistry*, 2311-2316.
- Avalos R., A., Bénard, S., Giroir-Fendler, A., Jones, J. P., & Heitz, M. (2008). Treatment of methanol vapours in biofilters packed with inert materials. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 1288-1297.

- Avalos R., A., Bénard, S., Giroir-Fendler, A., Jones, J. P., & Heitz, M. (2009). Treatment of air polluted with methanol vapours in biofilters with and without percolation. *Can. J. Civ. Eng.*, 36(12), 1911-1918.
- Azizi, K., Moraveji, M. K., & Najafabadi, H. A. (2017). A review on bio-fuel production from microalgal biomass by using pyrolysis method. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Baethgen, W. E., & Martino, D. L. (2000). *Cambio climático, Gases de Efecto Invernadero e implicaciones en los sectores Agropecuario y Forestal de Uruguay*. Uruguay: Direccion General del Medio Ambiente.
- Bailey, J. E. & Ollis, D. F. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*, (2nd ed.) McGraw-Hill, New York.
- Barajas S., A. F., Godoy R., C. A., Monroy D., J. D., Barajas F., C., & Kafarov, V. (2012). Mejoramiento del secuestro de CO₂ por *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en fotobiorreactores a escala. *ION*, 39-47.
- Bennett, A., & Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of cell biology*, 58(2), 419-435.
- Bittencourt S. E. B., Sturm, W., de Carvalho, J. C., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2010). Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource technology*, 101(15), 5892-5896
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.
- Bordoloi A., 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.
- Bowles, D. (2007). *Micro-and Macro-alga utility for industrial applications*. university of york: cplpress.
- Campobasso, C. P., Disney, R. H. L., & Introna, F. (2004). A case of *Megaselia scalaris* (Loew)(Dipt., Phoridae) breeding in a human corpse. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 5(1), 3-5.
- Capellin, B., & Cysewsky, G. R. (2010). Potential health benefits of *spirulina* microalgae, A review of the existing literature. *Nutrafoods*, 19-26.

- Cárdenas G., B., Revah M., S., Hernández J., S., Martínez S., A., & Gutiérrez Avedoy, V. (2003). Tratamiento biológico de compuestos orgánicos volátiles de fuentes fijas. Mexco, D.F.: INE-SEMARNAT.
- Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Loha, V., & Bunnag, B. (2008). Lipid and fatty acids extraction from the cyanobacterium *Spirulina*. *ScienceAsia*, 299-305.
- Chetpattananondh, P., Nitipavachon, Y., & Bunyakan, C. (2005). Biofiltration of air contaminated with methanol and toluene. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27(Suppl. III), 762-773.
- Corsi, R. L. & Seed, L. (1995). Biofiltration of BTEX: Media, substrate, and Loading Effects. *Environmental Progress* , 151-158.
- Costa, J., Almeida, C. E., Esperança, G. M., Morales, N., Mallet, J. R. D. S., Gonçalves, T., & 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.
- Da costa Monteiro, M. P., Luchese, R. H., & Monteiro Absher , T. (2010). Effect of three diferent types of culture conditions on *spirulina maxima* growth. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 369-373.
- Da Silva Vaz, B., Vieira Costa, J. A., & Greque de Morais, M. (2016). CO₂ Biofixation by the cyanobacterium *Spirulina sp.* LEB 18 and the Green Alga *Chorella fusca* LEB 111 Grown using Gas Effluents and Solid Residues of Thermo origin. *Applied Microbiology Biotechnology*.
- Dastous, P. A., Nikiema, J., Soreanu, G., Bibeau, L., & Heitz, M. (2008). Elimination of Methanol and Ethanol by Biofiltration: An Experimental Study. *Water air soil Pollut.*, 275-285.
- De Morais, M. G., & Costa, J. A. V. (2007). Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *Journal of biotechnology*, 129(3), 439-445.
- De Oliveira, M. A. C. L., Monteiro, M. P. C., Robbs, P. G., & Leite, S. G. F. (1999). Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture international*, 7(4), 261-275.
- Delhoménie, M.-C., Bibeau, L., Bredin, N., Roy, S., Broussau, S., Brzezinski, R., Kugelmass, J.L. & Heitx, M. (2002). Biofiltration of air contaminated with toluene on a compost-based bed. *Advances in Environmental Research* , 239-254.

- Delhoménie, M. C., & Heitz, M. (2005) Biofiltration of Air: A Review, *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(1-2), 53-72.
- Deshusses, M. A. (1997). Biological waste air treatment in biofilters. *Current opinion in Biotechnology*, 8(3), 335-339.
- Díaz, O. A. P. & Restrepo, M. R. (2011). Empleo de las microalgas en la fijación del CO₂ presente en los gases de chimenea de equipos industriales de combustión en Colombia. *ITECKNE*, 8(1), 23-30.
- Directiva 2004/42/CE Del Parlamento Europeo y del consejo. Diario Oficial de la unión Europea, 21 de abril de 2004.
- Disney, R. H. L. (2008). Natural history of the scuttle fly, *Megaselia scalaris*. *Annu. Rev. Entomol.*, 53, 39-60.
- Elías, A., Barona, A., Gallastegi, G., Rojo, N., Gurtubay, L., & Ibarra-Berastegi. (2010). Preliminary Acclimation Strategies for Successful Startup in Conventional Biofilters. *Journal of the Air & Waste Management Association* , 959-976.
- Estrada, J. M., Hernández, S., Muñoz, R., & Revah, S. (2013). A comparative study of fungal and bacterial biofiltration treating a VOC mixture. *Journal of hazardous materials*, 250, 190-197.
- Fang, Y., & Govind, R. (2006). CO₂ response too doses of organic solvents biodegraded in a batch biofilter. *Water, Air, and Soil Pollution*, 33-48.
- Ferreira, L. S., Rodrigues, M. S., Converti, A., Sato, S., & Carvalho, J. C. M. D. (2012). *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultivation in tubular photobioreactor: use of no-cost CO₂ from ethanol fermentation. *Applied energy*, 92, 379-385.
- Gami, B., Naik, A., & Patel, B. (2011). Cultivation of *Spirulina* species in different liquid media. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2(3), 15-26.
- García-Pérez, T., Aizpuru, A., & Arriaga, S. (2013). By-passing acidification limitations during the biofiltration of high formaldehyde loads via the application of ozone pulses. *Journal of hazardous materials*, 732-740.
- Gautam, K., Pareek, A., & Sharma, D. K. (2015). Exploiting Microalgae and Macroalgae for production of Biofuels and Biosequestration of Carbon Dioxide- A review. *International Journal of Green Energy*, 1122-1143.

- Ghavami, M. B., & Djalilvand, A. (2015). First record of urogenital myiasis induced by *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae) from Iran. *Journal of arthropod-borne diseases*, 9(2), 274.
- González-López, C. V., Acién, F. G., Fernández-Sevilla, J. M., & Molina, E. (2011). Uso de microalgas como alternativa a las tecnologías disponibles de mitigación de emisiones antropogénicas de CO₂. *Applied Microbiology Biotechnology*, 93-105.
- Gordillo, F. J., Jiménez, C., Figueroa, F. L., & Niell, F. X. (1999). Effects of increased atmospheric CO₂ and N supply on photosynthesis, growth and cell composition of the cyanobacterium *Spirulina platensis* (Arthrospira). *Journal of Applied Phycology*, 10(5), 461.
- Greenberg, B., & Wells, J. D. (1998). Forensic use of *Megaselia abdita* and *M. scalaris* (Phoridae: Diptera): case studies, development rates, and egg structure. *Journal of Medical Entomology*, 35(3), 205-209.
- Gutiérrez-Acosta, O. B. (2009). Efecto del material de empaque en la biofiltración de una mezcla de vapores de hexano, tolueno y metil-etil-cetona. Tesis de maestría, Instituto Potosino de Investigación científica y tecnológica, A.C. S.L.P., México.
- Habib, M. A., & Parvin, M. (2008). *A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*. Italia: FAO.
- Halecky, M., Paca, J., Kozliak, E., & Jones, K. (2016). Effect of loading types on performance characteristics of a trickle-bed bioreactor and biofilter during styrene/acetone vapor biofiltration. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51(8), 669-678.
- Hoseini, S., Almodares, A., Afsharzadeh, S., Sadegh Hatamipur, M., & Montazeri, F. (2014). Growth response of *Spirulina platensis* PCC908 to elevated CO₂ levels and flue gas. *Biological Journal of Microorganism*, 29-36.
- Hudson, B. J., & Karis, I. G. (1974). The lipids of the alga *Spirulina*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25(7), 759-763.
- IPCC (2007). *Cambio climático 2007: Informe de síntesis. contribucion de los grupos de trabajo I,II, III al cuarto informe de evaluación del grupo Intergubernamental de Expertos sobre el cambio climático*. Ginebra: Suiza.

- Iranpour, R., Cox, H. H., Deshusses, M. A., & Schroeder, E. D. (2005). Literature Review of Air Pollution Control Biofilters and Biotrickling Filters for Odor and Volatile Organic Compound Removal. *Environmental Progress*, 254.
- Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Franco, T.T., 2008. Rates of CO₂ removal by *Aphanothece microscopica* Nägeli in tubular photobioreactors. *Chem. Eng. Process.* 47, 1365–1373.
- Jiang, X., Luo, Y., Yan, R., & Tay, J. H. (2009). Impact of substrates acclimation strategy on simultaneous biodegradation of hydrogen sulfide and ammonia. *Bioresourcse Technology* , 5707-5713.
- Jiménez, L., Arriaga, S., & Aizpuru, A. (2015). Assessing biofiltration repeatability: statistical comparison of two identical toluene removal systems. *Environmental Technology* , 681-693.
- Jones, K. D., Martinez, A., Maroo, K., Deshpande, S., & Boswell, J. (2004). Kinetic Evaluation of H₂S and NH₃ Biofiltration for Two Media Used for Wastewater Lift Station Emissions. *Journal of the Air & Waste Management Association* , 24-35.
- Khan, F. I., & Ghoshal, A. K. (2000). Reemoval of Volatile Organic Compounds from polluted air . *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, 527-545.
- Kouser Ali, S., & Mohammed Salen, A. (2012). Spirulina-An overview. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 9-15.
- Krailas, S., Pham, Q. T., Amal, R., Jiang, J. K., & Heitz, M. (2000). Effect of inlet mass loading, water and total bacteria count on methanol elimination using upward flow and downward flow biofilters. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 75(4), 299-305.
- Krishnakumar, B., Hima, A. M., & Haridas, A. (2007). Biofiltration of toluene-contaminated air using an agro by-product-based filter bed. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 74(1), 215-220.
- Krishnakumar, B, Nadaraja, A. V., Balakrishnan, M. V., & Haridas, A. (2008). Dynamics of sustainable grazing fauna and effect on performance of gas biofilter. *J. biosci. Bioeng.*, 105(3), 192-197.
- Lamela, T., & Márquez R., F. J. (2000). Phycocyanin production in seawater culture of *Arthrospira maxima*. *Ciencias marinas*, 26(4).
- Lee, J., Gillis, J. M., & Hwang, J. Y. (2003). Carbon dioxide mitigation by microalgal photosynthesis. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 24(12), 1763-1766.

- Leson, G. & Winer, A., M. (1991). Biofiltration: An Innovative Air Pollution Control Technology For VOC Emissions, *J. Air Waste Manage. Assoc*, 41(8), 1045-1054.
- Ley general para la prevención y gestión integral de los residuos. Diario Oficial de la Federación, última reforma, 25 de octubre de 2015.
- Liguori, R., Amorre, A., & Faraco, V. (2013). Waste valorization by biotechnological conversion into added value products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 6129-6147.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.
- Lu, C., Chu, W., & Lin, M.-R. (2000). Removal of BTEX Vapor from Waste Gases by a Trickle Bed Biofilter. *J. Air & Waste Manage*, 411-417.
- Malhautier L., Khammar, N., Bayle S., & Fanlo, J. L. (2005). Biofiltration of volatile organic compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 68(1), 16-22.
- Mastudo, M. C., Bezerra, R. P., & Converti, A. (2011). CO₂ from Alcoholic Fermentation for continuous Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in tubular Photobioreactor Using Urea as Nitrogen source. *Biotechnology Progress*, 650-656.
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 217-232.
- Métris, A., Gerrard, A. M., Cumming, R. H., Weigner, P., & Paca, J. (2001). Modelling shock loadings and starvation in the biofiltration of toluene and xylene. *J. of Chem. Technol. and Biotechnol.*, 565-572.
- Metting, F. B. (1996). Biodiversity and application of microalgae. *Journal of industrial microbiology*, 17(5-6), 477-489.
- Miller, L. S., & Holt, S. C. (1977). Effect of carbon dioxide on pigment and membrane content in *Synechococcus lividus*. *Arch. Microbiol.*, 115(2), 185-198.
- Miranda, M. S., Cintra, R. G., Barros, S. B., & Mancini-Filho, J. (1998). Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1075-1079.
- Morales, M., Hernández, S., Cornaé, T., Revah, S., & Auria, R. (2003). Effect of Drying on Biofilter Performance: Modeling and Experimental Approach. *Environ. Sci. Technol.*, 985-992.

- Morgan-Sagastume, F., Sleep, B. E., & Allen, D. G. (2001). Effects of biomass growth on gas pressure drop in biofilters. *J. environ Eng.*, 127(5), 388-396.
- Mostafa S. S. (2012) Microalgal biotechnology: prospects and applications. Plant Science. Edited by: Nabin Kumar D. INTech, Consultado el 12 de marzo de 2018 en <http://www.intechopen.com/books/plant-science/microalgal-biotechnology-prospects-and-applications>.
- Mudliar, S., Giri, B., Padoley, K., Satpute, D., Dixit, R., Bhatt, P., Pandey, R., Juwarkar, A. & Vaidya, A. (2010). Bioreactors for treatment of VOCs and odours—a review. *J. Environ. Manage.*, 91(5), 1039-1054.
- NADF-011-AMBT-2007. Gaceta Oficial del Distrito Federal. 24 de diciembre de 2008.
- NAS/COT Subcommittee for AEGLs, 2015. United States Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/aegl/methanol-results-aegl-program>
- National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Consultado el 28 de septiembre de 2017, de ww.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends
- Nikiema, J., Bibeau, L., Lavoie, J., Brzezinski, R., Vigneux, J., & Heitz, M. (2005). Biofiltration of methane: An experimental study. *Chemica Engineering Journal*, 111-117.
- NOM-123-SEMARNAT-1998. Diario Oficial de la Federación. 14 de junio de 1999.
- Norma Oficial Mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015. Análisis de agua -medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Secretaria de economía.
- Odjadjare, E. C., Mutanda, T., & Olaniran, A. O. (2015). Potential biotechnological application of microalgae: a critical review. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 1-16.
- Ogbonda, K. H., Aminigo, R. E., & Abu, G. O. (2007). Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. *Bioresource technology*, 98(11), 2207-2211.
- Omil, F., Rojas, H., Thalasso, F., & 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.
- Pacheco, M. M., Hoeltz, M., Moraes, M. S., & Schneider, R. C. (2015). Microalgae: cultivation techniques and wastewater phycremediation. *Journal of Environmental Science and Health*, 50 (6), 585-601.

- Palomo-Briones, R., Barba De la Rosa, A. P., & Arriaga, S. (2015). Effect of operational parameters on methanol biofiltration coupled with Endochitinase 42 production. *Biochemical Engineering Journal*, 9-15.
- Pandey, J. P., & Tiwari, A. (2010). Optimization of Biomass Production of *Spirulina maxima*. *J. Algal Biomass Utln*, 20-32.
- Pelizer, L. H., Carvalho, J. C. M., Sato, S., & de Oliveira Moraes, I. (2002). *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivations conditions. *Electronic Journal of Biotechnology*, 5(3), 17-18.
- Pinnette, J. R., Giggey, M. D., Hendry, G. E., & Richardson, C. M. (1993). Moisture Balance Of An Open Biofilter. *Compost Science & Utilization*, 8-22.
- Prado, O. J., Veiga, M. C., & Kennes, C. (2004). Biofiltration of waste gases containing a mixture of formaldehyde and methanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65(2), 235-242.
- Prado, O. J., Veiga, M. C., & Kennes, C. (2005). Treatment of gas-phase methanol in conventional biofilters packed with lava rock. *Water Research*, 2385–2393.
- Prawirodisastro, M., & Benjamin, D. M. (1979). Laboratory study on the biology and ecology of *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae). *J. Med. Entomol.*, 16(4), 317-320.
- Ramirez-Lopez, E. M., Corona-Hernandez, J., Avelar-Gonzalez, F. J., Omil, F., & Thalasso, F. (2010). Biofiltration of methanol in an organic biofilter using peanut shells as medium. *Bioresource technology*, 101(1), 87-91.
- Rodrigues, M. S., Ferreira, L. S., Converti, A., Sato, S., & Carvalho, J. C. M. (2010). Fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: potassium nitrate and ammonium chloride as simultaneous nitrogen sources. *Bioresource technology*, 101(12), 4491-4498.
- Rodríguez B., M., & Mance, H. (2009). *Cambio climático lo que está en juego*. Bogotá: Foro Nacional Ambiental.
- Romero M., L., Guevara, M., Arredondo-Vega, B., Gómez, B., Licett, B., & Freitas, L. (2011). Contenido de lípidos, ácidos grasos, exopolisacáridos y minerales de *Arthrospira maxima* cultivada en fotobiorreactores. *Agronomía Tropical*, 61(3-4), 231-240.
- Samson, R., & Leduy, A. (1982). Biogas production from anaerobic digestion of *spirulina maxima* algal biomass. *Biotechnology and Bioengineering*, 1919-1924.

- Sánchez, M., Bernal-Castillo, J., Rozo, C., & Rodríguez, I. (2003). *Spirulina (Arthrospira)*: an edible microorganism: a review. *Universitas scientiarum* 8(1), 7-24.
- Santiago-Morales I. S. (2004). Evaluación del contenido de superóxido dismutasa, tocoferoles, y pigmentos en microalgas y determinación de su actividad antioxidante. Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, Baja California, México.
- Santos, A. M., González-Arechavala, Y., & Martín-Sastre, C. (2014). Usos y aplicaciones potenciales de las microalgas. *Anales de mecánica y electricidad*, 20-28.
- Sarada, R. M. G. P., Pillai, M. G., & Ravishankar, G. A. (1999). Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process biochemistry*, 34(8), 795-801.
- Scott, J. E., & Huesemann, M. H. (2015). The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp. *Algal Research*, 12, 470-476.
- Shareefdeen, Z., Baltzis, B. C., Oh, Y. S., & Bartha, R. (1993). Biofiltration of methanol vapor. *Biotechnology and Bioengineering*, 41(5), 512-524.
- Shi, W. Q., Li, S. D., Li, G. R., Wang, W. H., Chen, Q. X., Li, Y. Q., & Ling, X. W. (2016). Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*. *Optik*, 127(16), 6688-6694.
- Silveira, S.T., Burkert, J. F. M., Costa J. A. V., Burkert, C. A. V. & Kalil, S. J. (2007). Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresour Technology*, 1629-1634.
- Skjanes, K., Lindblad, P., & Muller, J. (2007). BioCO₂- A multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H₂ and high value products. *Biomolecular engineering*, 405-413.
- Sun, Y., Quan, X., Chen, J., Yang, F., Xue, D., Liu, Y., & Yang, Z. (2002). Toluene vapour degradation and microbial community in biofilter at. *Process Biochemistry*, 109-113.

- Terán Pérez, W., Domenech, F., Roger, P., & Crhristen, P. (2002). Effect of Mineral Salts Addition on the Behaviour of an Ethanol Biofilter. *Environmental Technology*, 981-988.
- Tomaselli, L., Boldrini, G., & Margheri, M. C. (1997). Physiological behaviour of *Arthrospira (Spirulina) maxima* during acclimation to changes in irradiance. *Journal of applied phycology*, 9(1), 37-43.
- Tornabene, T. G., Bourne, T. F., Raziuddin, S., & Ben-Amotz, A. (1985). Lipid and lipopolysaccharide constituents of cyanobacterium *Spirulina platensis* (Cyanophyceae, Nostocales). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 121-125.
- Torzillo, G., Giovannetti, L., Bocci, F., & Materassi, R. (1984). Effect of oxygen concentration on the protein content of *Spirulina* biomass. *Biotechnology and bioengineering*, 26(9), 1134-1135.
- US EPA (2017). <https://www.epa.gov/indoor-air-quality-iaq/volatile-organic-compounds-impact-indoor-air-quality>
- Vargas-Ramos, Y.E., & Marrugo-Negrete, J. L. (2014). Exposición a COVs en fábricas de muebles de dos poblaciones del norte de Colombia. *Rev. de Salud pública*, 16(6),834-846.
- Wallis, R.C., DeBishop, R.J., (1957). Death-stress oviposition by *Aedes canadensis*. *J. Econ. Entomol.* 50, 112.
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., & Lan, Q. (2008). CO₂ bio-mitigation using microalgae *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 707-718.
- Wang, C., Kong, X., & 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.
- Wani, A. H., Branion, R. M., & Lau, A. K. (1997). Biofiltration: A promising and cost-effective control technology for Odors, VOCs and air toxics. *J. Environ. Sci. Health A32(7)*, 2027-2055.
- Woertz, J. R., Van Heiningen, W., Van Eekert, M., Kraakman, N., Kinney, K., & Van Groenestijn, J. (2002). Dynamic bioreactor operation: effects of packing material and mite predation on toluene removal from off-gas. *Appl Microbiol Biotechnol* , 690-694.

- Won, Y. S., Lee, T. J., Wu, Y. P. G., & Deshusses, M. A. (2004). An environmentally friendly method for controlling biomass in biotrickling filters for air pollution control. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry-Seoul-*, 10(1), 60-65.
- Yang, C., Chen, H., Zeng, G., Yu, G., & Luo, S. (2010). Biomass accumulation and control strategies in gas biofiltration. *Biotechnology Advances* , 531-540.
- Zarrouk, C. (1966). Contribution à l'étude d'une Cyanophycée, influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de "*Spirulina maxima*" (Setch et Gardner) Geitler (Doctoral dissertation).
- Zeng, X., Danquah, M. K., Zhang, S., Ng, I., Jing, K. & Lu, Y. (2012). Autotrophic cultivation of *spirulina platensis* for CO₂ fixation and phycocyanin production. *Chemical Engineering Journal*, 192-197.

12. ANEXO

Tabla 11. Caracterización de la perlita.

Parámetro	Valor
Densidad aparente de la perlita seca	146.5 g L ⁻¹
Grado de vacío (ϵ , adimensional)	0.6
Densidad real	366.27 g L ⁻¹
Capacidad de retención de agua (%)	58 %