

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**UNIDAD IZTAPALAPA**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**



**BIODEGRADACIÓN DE METIL TER-BUTIL ÉTER POR  
COMETABOLISMO CON HEXANO EN BIOFILTROS  
CON ALTA DENSIDAD CELULAR DE *PSEUDOMONAS  
AERUGINOSA***

TESIS QUE PRESENTA

MARGARITA SALAZAR PEÑA

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

(INGENIERIA QUÍMICA)

México, D.F.

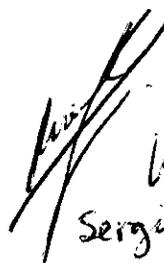
Enero, 2005.

**"Biodegradación de Metil Ter-Butil Éter por Cometabolismo  
con Hexano en Biofiltros con Alta Densidad Celular de  
*Pseudomonas Aeruginosa*".**

Tesis que presenta

**MARGARITA SALAZAR PEÑA**

Para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias (Ingeniería Química)  
Enero del 2005

  
Vo. Bo  
Sergio Revah.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

Nº. 00012

BIODEGRADACION DE METIL-TER-BUTIL ETHER POR COMETABOLISMO CON HEXANO EN BIOFILTROS CON ALTA DENSIDAD CELULAR DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA.

En México, D.F., se presentaron a las 12:30 horas del día 28 del mes de enero del año 2005 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. MARIANO GUTIERREZ ROJAS

DRA. MARCIA GUADALUPE MORALES IBARRIA

DR. SERGIO REVAH MOISEEV

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS (INGENIERIA QUIMICA)

DE MARGARITA SALAZAR PENA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

**APROBAR**

REVISO

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

LIC. CARMEN LLORENS FABREGAT  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBI

DR. TOMAS VIVEROS GARCIA

PRESIDENTE

DR. MARIANO GUTIERREZ ROJAS

VOCAL

DRA. MARCIA GUADALUPE MORALES IBARRIA

SECRETARIO

DR. SERGIO REVAH MOISEEV

---

## **AGRADECIMIENTOS:**

Agradezco el apoyo brindado para la realización de este trabajo al CONACyT y al financiamiento otorgado como parte del proyecto FIES-01-03-VI "Biodegradación de aditivos oxigenados de la gasolina".

Dedico este trabajo a mis padres, a quienes agradezco su amor, apoyo, comprensión y paciencia.

A mi hermana que a pesar de la distancia siempre ha estado conmigo y me ha ayudado a no perder de vista las cosas realmente importantes de la vida. Espero que siempre nos mantengamos unidas.

A mis abuelos que me han apoyado incondicionalmente.

A mis tíos, primos y sobrinos que me han ayudado en toda ocasión.

Muy especialmente a mi novio, quien es el que me ha acompañado en todos mis logros y desaciertos.

Al Dr. Sergio Revah, que más que ser mi asesor de tesis, es como un padre académico y un gran ejemplo a seguir. Es la persona que me dedicó más tiempo y cuyos comentarios siempre fueron muy enriquecedores.

A la Dra. Marcia Morales y al Dr. Mariano Gutiérrez por sus oportunas y acertadas observaciones.

A todos mis amigos de la planta piloto U4 y del laboratorio W-107.

---

## Índice General

Resumen.....	5
Abstract.....	6
Introducción.....	8
Capítulo 1. Estado del arte.....	10
1.1. Contaminación atmosférica.....	11
1.1.1. Contaminación atmosférica por fuentes móviles.....	11
1.1.2. Contaminación atmosférica por fuentes fijas.....	12
1.1.3. Contaminación atmosférica por COVs.....	13
1.2. Metil ter-butil éter.....	15
1.2.1. Fuentes de emisión y lugares de exposición.....	19
1.3. Métodos para el control de la contaminación atmosférica.....	21
1.3.1. Métodos fisicoquímicos.....	21
1.3.1.1. Incineración.....	21
1.3.1.2. Adsorción.....	22
1.3.1.3. Condensación.....	22
1.3.1.4. Absorción.....	22
1.3.1.5. Sistemas de membranas.....	23
1.3.2. Métodos biológicos.....	23
1.3.2.1. Biofiltros.....	24
1.3.2.1. Biolavadores.....	25
1.3.2.3. Biofiltros de lecho escurrido.....	26
1.3.3. Criterios de selección de un tratamiento de aire contaminado.....	27
1.4. Biofiltración.....	28
1.4.1. Situación actual.....	28
1.4.2. Operación de un biofiltro.....	30
1.4.2.1. Microorganismos.....	30
1.4.2.2. Material de empaque.....	31
1.4.2.3. Control de humedad.....	32
1.4.2.4. Control de temperatura.....	32
1.4.2.5. Control de pH.....	33
1.4.2.6. Control de nutrientes.....	34
1.4.3. Aplicaciones a vapores de gasolina.....	34
1.5. Biodegradación.....	36
1.5.1. Biodegradación de metil ter-butil éter.....	38
1.5.1.1. Biodegradación de metil ter-butil éter como única fuente de carbono y energía.....	40
A) Biodegradación aerobia.....	40
B) Biodegradación anaerobia.....	42
1.5.1.2. Biodegradación de metil ter-butil éter por cometabolismo.....	44
1.5.1.3. Biofiltración de metil ter-butil éter.....	47
A) Como única fuente de carbono.....	47
B) Por cometabolismo.....	48
1.6. Planteamiento del problema.....	49
1.6.1. Justificación.....	49
1.6.2. Objetivos.....	50

Capítulo 2. Materiales y Métodos.....	51
2.1. Estrategia experimental.....	52
2.2. Soportes.....	53
2.2.1. Turba.....	53
2.2.2. Perlita.....	53
2.3. Inóculo.....	54
2.3.1. Microorganismos.....	54
2.3.2. Medio de cultivo.....	55
2.4. Sistemas experimentales y condiciones de operación.....	56
2.4.1. Sistema de biofiltración 1.....	56
2.4.2. Sistema de biofiltración 2.....	58
2.4.3. Acondicionamiento de la fase gaseosa.....	59
2.4.3.1. Aire húmedo.....	59
2.4.3.2. Metil ter-butil éter.....	60
2.4.3.3. Hexano.....	60
A) Características fisicoquímicas.....	60
2.4.4. Sistemas en lote (microcosmos).....	61
2.5. Procedimientos analíticos.....	62
2.5.1. Concentración de metil ter-butil éter y hexano en fase gaseosa.....	62
2.5.2. Concentración de metil ter-butil éter y alcohol terbutílico en fase líquida.....	62
2.5.3. Producción de dióxido de carbono.....	63
2.5.4. Caída de presión.....	63
2.5.5. Flujo.....	63
2.5.6. pH.....	63
2.5.7. Humedad.....	64
2.5.8. Biomasa.....	64
2.5.9. Proteína.....	65
2.5.10. Análisis elemental (CHONS).....	65
2.5.11. Contenido de carbono orgánico y carbono inorgánico.....	66
2.6. Experimentos de biofiltración.....	66
2.6.1. Definiciones.....	66
2.6.1.1. Carga.....	66
2.6.1.2. Capacidad de eliminación.....	67
2.6.1.3. Eficiencia de remoción.....	67
2.6.2. Experimentación.....	68
2.6.2.1. Variación de la carga.....	68
A) Sistema de biofiltración 1.....	68
B) Sistema de biofiltración 2.....	68
2.6.2.2. Fenómenos de adsorción de hexano y MTBE sobre perlita y turba.....	69
A) En experimentos en lote.....	69
B) En biofiltro.....	70
2.6.2.3. Permeabilidad relativa intrínseca.....	71
2.6.2.4. Microscopía electrónica de barrido.....	74
2.6.2.5. Distribución de tiempos de residencia.....	74
2.7. Experimentos cinéticos.....	77
2.7.1. Experimentos en medio sólido.....	77
2.7.1.1. Con soporte sólido sólo.....	77
2.7.1.2. Con soporte sólido y agua.....	77
2.7.1.3. Con soporte sólido y medio mineral.....	77

Capítulo 3. Resultados y discusión.....	78
3.1. Experimento de biofiltración 1.....	79
3.1.1. Desempeño de los reactores.....	79
A) Evolución de la capacidad de eliminación y eficiencias de remoción para hexano y MTBE.....	79
B) Evolución del pH.....	84
C) Evolución de la humedad.....	84
D) Análisis termogravimétrico y contenido de biomasa final.....	86
E) Evolución del intermediario TBA en la fase líquida.....	87
3.1.2. Microscopía electrónica de barrido.....	88
3.1.3. Experimentos cinéticos con muestra de biofiltros empacados con perlita.....	90
3.2. Experimento de biofiltración 2.....	95
3.2.1. Desempeño del reactor.....	95
A) Evolución de la capacidad de eliminación y eficiencias de remoción para hexano y MTBE.....	95
B) Evolución del dióxido de carbono.....	99
C) Evolución de la humedad y biomasa.....	100
D) Análisis cualitativo de intermediarios de las rutas de degradación de hexano y de MTBE.....	104
3.2.2. Balances de carbono.....	106
3.2.3. Experimentos de carga contra capacidad de eliminación.....	107
3.2.4. Fenómenos de adsorción de hexano y MTBE sobre perlita y turba.....	110
A) En experimentos en lote.....	110
B) En biofiltro.....	113
3.2.5. Permeabilidad relativa intrínseca.....	115
3.2.6. Microscopía electrónica de barrido.....	117
3.2.7. Experimentos cinéticos con muestra de biofiltro de 2.5 L del día 51 de operación.....	119
3.2.8. Experimentos cinéticos con muestra de biofiltro de 2.5 L al final de la operación.....	125
3.3. Experimento de biofiltración 3.....	134
3.3.1. Desempeño del reactor.....	134
A) Evolución de la capacidad de eliminación y eficiencias de remoción para hexano y MTBE.....	134
B) Evolución del dióxido de carbono.....	136
C) Evolución de la humedad y biomasa.....	137
3.3.2. Balances de carbono.....	139
3.3.3. Experimentos dinámicos.....	139
3.3.4. Distribución de tiempos de residencia.....	141
3.3.5. Permeabilidad relativa intrínseca.....	144
Capítulo 4. Conclusiones.....	146
Bibliografía.....	150
Anexo I. Modelo de Gompertz.....	160

---

## Resumen

Se estudió la biodegradación de los vapores de metil ter-butil éter (MTBE) por cometabolismo con hexano utilizando una bacteria oxidante de hidrocarburos alifáticos de cadena corta (C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>) identificada como *Pseudomonas aeruginosa*. Este es uno de los primeros trabajos que reporta mineralización cometabólica de MTBE con hexano por microorganismos de esta especie. Se realizaron tres experimentos de biofiltración, el primero de ellos (E1) en biofiltros de 0.5 L probando dos soportes, turba y perlita. En este experimento se alcanzó una capacidad de eliminación máxima (CE<sub>MÁX</sub>) de hexano de 60 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> y una eficiencia de remoción (ER) de 80 %. Para el MTBE se obtuvo una CE<sub>MÁX</sub> de 35 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> y una ER de 80 %. Se observó una correlación lineal entre la CE de MTBE y la CE de hexano para los dos soportes empleados con un coeficiente cometabólico (C.C.) promedio de 0.40 mg MTBE mg hexano<sup>-1</sup>. El C.C. se incrementó con el aumento de las tasas de degradación evaluadas en microcosmos. Experimentos cinéticos con muestra de los biofiltros confirmaron la necesidad de tener un contenido de humedad y de distribución de nutrientes apropiados para garantizar altas CE de contaminantes. Los siguientes dos experimentos de biofiltración (E2 y E3) se hicieron en un reactor de 2.5 L empacado con perlita. En el experimento E2 se alcanzaron CE<sub>MÁX</sub> de hexano de 45 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> (ER = 60 %) y CE<sub>MÁX</sub> de MTBE de 15 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> (ER = 50 %). No obstante, el pH del biofiltro disminuyó drásticamente hasta un pH de 3.5 ± 0.5, lo que afectó el desempeño de éste. Al variar la carga de entrada de hexano al biofiltro (g hexano m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>) se encontró una CE<sub>MÁX</sub> de 60 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>. En el experimento E3 se obtuvo una CE<sub>MÁX</sub> de hexano de 22 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> y una CE<sub>MÁX</sub> de MTBE de 6 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>. El crecimiento del microorganismo dentro de los biofiltros fue lento, generándose 77 mg de biomasa g de perlita seca<sup>-1</sup> en E2 y 63 mg de biomasa g de perlita seca<sup>-1</sup> en E3. Micrografías electrónicas sugirieron que parte del carbono consumido se acumuló como biopolímeros. La permeabilidad relativa intrínseca disminuyó 1 orden de magnitud con respecto a la inicial desde 1.09x10<sup>-4</sup> cm<sup>2</sup> hasta 1.42x10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup>. En experimentos de microcosmos con muestra del biofiltro E2, se obtuvo una tasa máxima de degradación de MTBE

---

de  $19.9 \pm 5.2 \text{ mg g proteína}^{-1} \text{ h}^{-1}$  y de hexano de  $986.5 \pm 73.7 \text{ mg g proteína}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . El MTBE fue degradado completamente aún cuando el hexano se agotó en 24 h. Se obtuvo un C.C. de  $1.06 \pm 0.16 \text{ mg MTBE mg hexano}^{-1}$  y no hubo acumulación de alcohol terbutílico (TBA). Éste también se consumió por cometabolismo.

### Abstract

Degradation of methyl *tert*-butyl ether (MTBE) vapors by cometabolism with hexane using a short chain aliphatic hydrocarbons (C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>) oxidizing bacteria identified as *Pseudomonas aeruginosa* was studied. This is one of the first reports describing cometabolic mineralization of MTBE by microorganisms of this specie. Three biofiltration experiments were performed. The first one (E1) in small biofilters (0.5L) with two supports, peat and perlite. A maximum elimination capacity (EC<sub>MAX</sub>) for hexane of  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  and a removal efficiency (RE) of 80 % were obtained. For MTBE EC<sub>MAX</sub> of  $35 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  and RE of 80 % were attained. A linear relation between EC<sub>MTBE</sub> and EC<sub>hexane</sub> for the two supports tested was observed, with an average cometabolic coefficient (CC) of  $0.40 \text{ mg MTBE mg hexane}^{-1}$ . In microcosms experiments, the CC was raised with the increasing degradation rates. Kinetic experiments, with samples taken from the biofilters, confirmed the need to have an adequate water content and nutrients distribution in order to guarantee high pollutants EC. The following biofiltration experiments (E2 and E3) were performed in a 2.5 L reactor packed with perlite. In E2 an hexane EC<sub>MAX</sub> of  $45 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (RE = 60 %) and MTBE EC<sub>MAX</sub> of  $15 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (RE = 50 %) were obtained. The biofilter pH sharply decreased up to a value between  $3.5 \pm 0.5$ . This pH affected the biofilter performance. The influence of inlet load (g hexane m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>) on the EC in the biofilter was investigated. An hexane EC<sub>MAX</sub> of  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  was obtained. Finally, in the third biofiltration experiment (E3), an hexane EC<sub>MAX</sub> of  $22 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  and a MTBE EC<sub>MAX</sub> of  $6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  were attained. The bacterial growth in biofilters was slow with a final biomass content of 77 mg biomass g dry perlite<sup>-1</sup> in E2 and 63 mg biomass g dry perlite<sup>-1</sup> in E3. SEM observations showed biopolymers accumulation. The intrinsic relative permeability decreased 10 times, from an initial value of  $1.09 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$  up to

---

$1.42 \times 10^{-5} \text{ cm}^2$ . A maximum degradation rate of  $19.9 \pm 5.2 \text{ mg MTBE g protein}^{-1} \text{ h}^{-1}$  and  $986.5 \pm 73.7 \text{ mg hexane g protein}^{-1} \text{ h}^{-1}$  were attained in microcosms experiments. MTBE was fully degraded even when hexane was completely depleted in 24 h. A CC of  $1.06 \pm 0.16 \text{ mg MTBE mg hexane}^{-1}$  was obtained and no *tert*-butyl alcohol (TBA) accumulation was observed. TBA was also consumed by cometabolism with hexane.

---

## Introducción

Hasta los años setenta, los problemas ambientales eran considerados como ajenos a los intereses nacionales prácticamente en todo el mundo. En México, la contaminación del aire se convirtió en un problema público a partir de las contingencias ambientales ocurridas en el Valle de México a mediados de la década de los ochenta. Un problema grave es la emisión de compuestos orgánicos volátiles (COVs), tales como solventes, monómeros, combustibles, hidrocarburos, compuestos oxigenados, gases de putrefacción, etc., producidos por fuentes fijas (industrias, plantas de tratamiento de aguas, gasolineras, entre otros). El tratamiento de estos gases contaminantes puede realizarse a través de métodos fisicoquímicos o métodos biológicos. Entre las tecnologías fisicoquímicas se encuentran: la adsorción, la absorción, la condensación, la incineración y los sistemas de membranas. No obstante, los procesos biotecnológicos han demostrado ser eficaces en el control y eliminación de muchos compuestos volátiles orgánicos e inorgánicos a muy bajo costo. Estos procesos sirven para tratar un amplio número de contaminantes en concentraciones bajas (menores a  $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) y para un rango muy amplio de flujos.

Dentro de los sistemas biológicos más utilizados se encuentran los biofiltros. La purificación biológica se realiza al poner en contacto los gases contaminados con un medio biológicamente activo. Los contaminantes son transformados en compuestos más simples o en nuevo material celular. Esta técnica se ha aplicado exitosamente en países desarrollados como Alemania, Holanda, Japón, Estados Unidos y recientemente en México.

Dentro de los compuestos oxigenados ampliamente expedidos a la atmósfera se encuentra el MTBE. Éste es un compuesto orgánico volátil que se usa como aditivo en las gasolinas para aumentar el octanaje, mejorar la combustión y reducir las emisiones de monóxido de carbono. La presión de vapor relativamente alta del MTBE así como su solubilidad en agua, le permiten transferirse fácilmente de la gasolina al aire y del aire al agua, o directamente de la gasolina al agua. Asimismo, sus propiedades químicas que repercuten en una

---

atenuación y degradación pobre, le han permitido llegar hasta los mantos acuíferos. Hecho visto en muy pocas ocasiones con los hidrocarburos aromáticos (BTEX), ya que sus características no les permiten una migración extensa, tal como sucede con el MTBE.

Las emisiones de MTBE a la atmósfera son provocadas principalmente por derrames en los tanques de almacenamiento, fugas en los ductos de combustible, evaporaciones en las estaciones de servicio y en las industrias, entre otras. El MTBE es un compuesto potencialmente cancerígeno y sumamente tóxico con umbrales de detección muy bajos y de difícil degradación. Se han encontrado microorganismos capaces de degradar el MTBE utilizándolo como única fuente de carbono o por cometabolismo con un sustrato de crecimiento que induce la producción de enzimas. Sin embargo, se han obtenido bajas tasas de degradación y rendimientos pobres, lo que ha dificultado su aplicación en campo.

En este trabajo se estudió la purificación de una corriente gaseosa contaminada con vapores de MTBE por cometabolismo con hexano en un biofiltro, empleando una bacteria identificada como *Pseudomonas aeruginosa*. Se probaron dos materiales de empaque y se evaluaron las ventajas y desventajas de cada uno, para su utilización en el proceso. Además, se estudiaron las variables que afectan el desempeño de estos sistemas como son la humedad, los nutrientes y el pH. Adicionalmente se realizaron estudios en estado transitorio en el biofiltro interrumpiendo la alimentación de MTBE o de hexano. Y finalmente se evaluaron las condiciones hidrodinámicas del sistema.

---

## Capítulo 1. Estado del Arte

---

## 1.1 Contaminación atmosférica

En los últimos años las comunidades médicas y científicas han constatado los efectos crónicos de la contaminación del aire. Los principales causantes de este deterioro ambiental son los compuestos orgánicos volátiles (COVs), los compuestos clorados que dañan la capa de ozono y recientemente los compuestos oxigenados como el metil ter-butil éter (MTBE), que se consideran posibles compuestos cancerígenos en humanos. Además de los malos olores, que se convierten en un problema para las comunidades impactadas.

La necesidad de controlar la contaminación del aire se ha convertido en una preocupación médica y ambiental que requiere de una urgente solución. En consecuencia, las regulaciones se han hecho cada vez más rigurosas para controlar las emisiones gaseosas bajo estándares más estrictos. Esto requiere tecnologías más eficientes y por lo tanto más costosas.

La contaminación atmosférica se puede deber a causas naturales tales como erupciones volcánicas, emisiones de pantanos, fugas naturales de reservas de hidrocarburos, etc. y a causas inherentes a las actividades humanas. Entre las fuentes antropogénicas se pueden distinguir dos clases: contaminación por fuentes móviles y contaminación por fuentes fijas.

### 1.1.1. Contaminación atmosférica por fuentes móviles

Las fuentes móviles son las principales causantes del problema de contaminación atmosférica en ciudades como la Cd. de México y su impacto principal se refleja en la emisión de monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno, algunos hidrocarburos, y partículas suspendidas. Según el inventario nacional de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) se emitieron gases de efecto invernadero por fuentes móviles (transporte) en 1998, es decir, gases que se caracterizan por dejar pasar la radiación solar a través de la atmósfera, pero que absorben la radiación infrarroja que emite la superficie de la Tierra produciendo un efecto neto de calentamiento por 3,864.7 mil toneladas de CO, 560 mil toneladas de COVs y 616 mil toneladas de NO<sub>x</sub>, entre otros<sup>1</sup>. De acuerdo con el inventario efectuado en la ZMVM (Zona Metropolitana del Valle

---

de México) en el mismo año, las fuentes móviles contribuyeron con 2 millones de toneladas de gases emitidas, lo que representó el 84 % de las emisiones totales en México, y fueron responsables del 98 % de las emisiones de monóxido de carbono, 80 % de los óxidos de nitrógeno, 40 % de los hidrocarburos y 36 % de las partículas (PM<sub>10</sub>). Como ejemplo del impacto de las emisiones se reporta la composición del aire de la ZMVM que refleja las emisiones tanto naturales como antropogénicas, por diferentes fuentes<sup>2</sup>.

#### 1.1.2. Contaminación atmosférica por fuentes fijas

Entre las fuentes fijas se pueden mencionar dos tipos de emisiones, las derivadas de la combustión y las debidas a actividades industriales y de servicios. Los principales contaminantes asociados a la combustión son partículas suspendidas, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, CO e hidrocarburos. En el caso de las emisiones industriales se encuentran una gran variedad de contaminantes con muy diverso impacto en la salud.

Los contaminantes del aire pueden clasificarse según Revah y Ortíz<sup>3</sup>, como:

A) Partículas. Material líquido o sólido de pequeño tamaño (menor a 500 μm) que es dispersado por el aire. Son formadas por abrasión, condensación o combustión incompleta. Las partículas pequeñas (menores a 10 μm y llamadas PM<sub>10</sub>) afectan seriamente las vías respiratorias.

B) Gases y vapores. Incluyen a los compuestos volátiles orgánicos (COVs) e inorgánicos (CIVs). Los COVs se han definido como compuestos constituidos por carbono e hidrógeno con una presión de vapor mayor a 2 mm Hg (0.27 KPa) a 25 °C, a excepción del metano. Los CIVs incluyen los gases de combustión (excluyendo el CO<sub>2</sub>) y otros como el H<sub>2</sub>S, CS<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, amoníaco, entre otros.

Existe un gran número de contaminantes provenientes de fuentes fijas como plantas de producción de asfalto, talleres gráficos y de pinturas, lavanderías, rellenos sanitarios, rastros, entre otros.

Según Vega y col.<sup>4</sup> las actividades de mayor impacto en la generación de COVs en la Ciudad de México son, además de los automotores, las emisiones de gas LP, las fábricas de asfalto y los talleres de pintura. Entre los compuestos más

---

abundantes reportados en este estudio se encuentran, propano, n-butano, tolueno, i-butano, i-pentano, acetileno, etileno, xileno, 2-metil pentano, n-hexano, MTBE y benceno en concentraciones entre 50 y 400 ppb C. Sin embargo, en México aún no existe legislación para el control de emisiones de COVs por fuentes fijas, a excepción de las normas ECOL-075, 092, 121 y 123 (INE, 2000). En el resumen del inventario nacional de emisiones de gases de efecto invernadero asociadas a la combustión y fuga de combustibles de 1998<sup>1</sup>, se reportaron emisiones provenientes de procesos industriales como la industria química, producción de metales, productos minerales, entre otros, del orden de 92 mil toneladas de CO y 344 mil toneladas de COVs y de la industria energética de 12 mil toneladas de CO y 4 mil toneladas de COVs. Dichos valores son inferiores a los comparados con las emisiones provenientes de las fuentes móviles, pero no por ello despreciables.

### 1.1.3. Contaminación atmosférica por COVs

Los COVs representan una fuente importante de contaminación atmosférica, sobre todo en ciudades industrializadas como la Cd. de México. En 1998, el sector transporte fue responsable de la mayor parte de las emisiones de hidrocarburos a la atmósfera con 43 % (SEMARNAT). No obstante, el sector servicios produjo fundamentalmente hidrocarburos, siendo sus fuentes principales el consumo de solventes y las fugas que ocurren tanto en estaciones de servicio de combustibles como durante la distribución y almacenamiento del gas LP de uso doméstico. Las emisiones de hidrocarburos son importantes ya que, además de representar el 19 % del total, intervienen directamente en la formación de ozono, contaminante que es el principal problema en la ZMVM<sup>5</sup>. Debido a la gran variedad de COVs, no se conocen completamente sus efectos, sin embargo, para algunos de ellos, como el benceno, se ha reconocido su alta toxicidad y potencial cancerígeno. De los efectos a la salud producidos por los COVs, los hematológicos son los más importantes, dado que los componentes celulares de la sangre son muy susceptibles a estas sustancias produciendo pancitopenia, anemia aplásica y leucemia<sup>1</sup>. En la Tabla 1.1.3. se presenta el

---

número de emergencias ambientales, ocurridas entre 1993 y 1999, durante el transporte de benceno, tolueno y xilenos, afectando directamente los suelos (PROFEPA, 2002)<sup>6</sup>.

Tabla 1.1.3. Relación del número total de emergencias ambientales reportadas a la PROFEPA entre 1993 y 1999, el número de sitios afectados y de acciones de remediación realizadas.

Compuesto	Emergencias	Derrames en suelos	Acción de remediación
Benceno	4	4	Ninguna
Tolueno	15	8 (7 durante el transporte, 1 depósito clandestino)	Ninguna
Xilenos	10	5 (4 durante el transporte, 1 depósito clandestino)	Tres sitios (1997-1999)

En un estudio reciente hecho por Bravo y col.<sup>7</sup>, se cuantificaron las concentraciones de benceno y tolueno que se alcanzaron en el Suroeste de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM). Éstas llegaron hasta 26 ppb  $\pm$  5.64 y 85 ppb  $\pm$  18.93 para benceno y tolueno, respectivamente. Aunque se advierte una variación entre las concentraciones de estos compuestos tanto en Universidades como condominios y estaciones de servicio, siendo éstas últimas las áreas más contaminadas.

Sin embargo, no sólo los BTX (benceno, tolueno y xilenos) son contaminantes importantes en México, también lo es el metil ter-butil éter (MTBE). Existen reportes de contaminación por este COV en sitios contaminados con gasolina oxigenada<sup>8</sup>. No obstante, no hay regulaciones y sanciones en contra de los organismos involucrados en la producción y distribución de gasolina. Zambrano y col.<sup>9</sup> evaluaron la toxicidad de las emisiones vehiculares de la gasolina mexicana. Estos autores encontraron que la toxicidad de los extractos gaseosos fue de 24 a 27 y de 17 a 19 veces mayor que la de las partículas para las gasolinas Magna y Premium, respectivamente. La diferencia entre ambas gasolinas está relacionada con la calidad y las propiedades de la combustión.

---

## 1.2. Metil ter-butil éter

El MTBE se obtiene de la reacción química entre el metanol (MeOH) y el isobutileno (IB):



La reacción es reversible, moderadamente exotérmica y usualmente catalizada por resinas sulfónicas de intercambio iónico. La temperatura de reacción oscila entre 60 y 80 °C y la presión entre 1.5 y 2 MPa<sup>10</sup>.

El MTBE se produce en muy grandes cantidades (más de 200,000 barriles en Estados Unidos por día en 1999), según datos de la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos<sup>11</sup>. El mayor productor de MTBE en el mundo se encuentra en California, Estados Unidos y es la compañía Lyondell Chemical Company<sup>12</sup>. Sin embargo, no sólo la producción de MTBE en el país es importante, sino también la importación de éste, ya que en 1998, Estados Unidos produjo 3.1 mil millones de galones de MTBE e importó aproximadamente 1.2 mil millones de galones, representando un 28 % del consumo total de MTBE en ese año<sup>13,14</sup>.

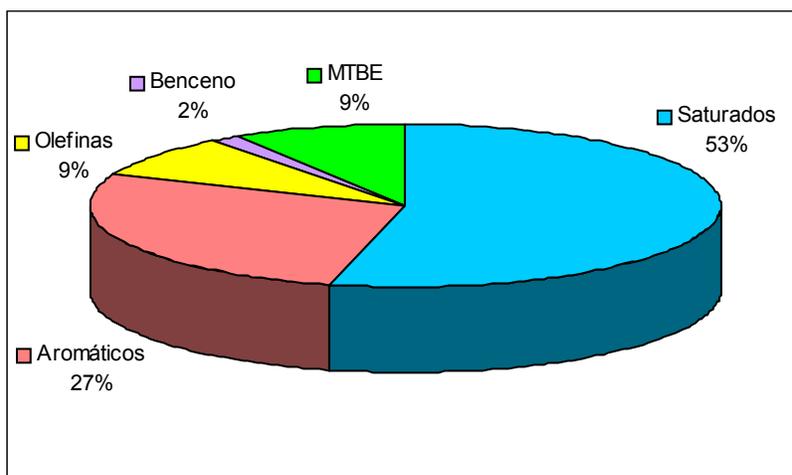
México también utiliza el MTBE como aditivo en sus gasolinas y ha construido plantas para la producción de compuestos oxigenados como el MTBE y el teramil metil éter (TAME) en refinerías de Tula, Salamanca, Cadereyta y Salina Cruz, a su vez, también realiza importaciones de estos compuestos<sup>15</sup>. Tan sólo en la ZMVM, la demanda de gasolina es de 18 millones de litros diarios para suministrar combustible a más de 2.7 millones de vehículos<sup>16</sup>. Esto corresponde a un consumo de MTBE de alrededor de 1.62 millones de litros diariamente.

El MTBE es un compuesto orgánico volátil que se usa como aditivo en las gasolinas, niveles entre 11 % y 15 % en volumen<sup>17</sup>, para aumentar el octanaje, mejorar la combustión y reducir las emisiones de monóxido de carbono en aproximadamente un 10 %. El MTBE es uno de un grupo de compuestos químicos conocidos como compuestos oxigenados porque incrementan el contenido de oxígeno en las gasolinas. El MTBE también contribuye a reducir las emisiones de compuestos orgánicos reactivos, y la proporción de contaminantes aromáticos, olefina y benceno en la fabricación de la gasolina<sup>3</sup>. Es el compuesto

oxigenado más comúnmente utilizado dado su bajo costo, facilidad de producción y características favorables de mezclado con otros compuestos, así como de transferencia entre fases. El MTBE tiene un olor y sabor fuerte, aún a bajas concentraciones. El límite permisible de éste en el aire, según especificaciones de la EPA, es de 20 a 40 partes por billón<sup>18</sup>.

En las Enmiendas de la Ley de Aire Limpio de 1990 de los Estados Unidos (Clean Air Act Amendments, CAAA), el Congreso especificó que la gasolina reformulada (RFG, por sus siglas en inglés) debería contener un 2 % de oxígeno en peso. Esto se alcanzaría utilizando aditivos como el MTBE o el etanol; pero la decisión final sería de las compañías petroleras. Es así como la EPA estableció el programa de gasolinas reformuladas con el objetivo de reducir las emisiones de contaminantes tóxicos y/o precursores del smog. De forma que, desde 1995, la CAAA especifica el uso de gasolinas reformuladas en ciudades con niveles de ozono (smog) más elevados.

A principios de la década de los 90's, los compuestos oxigenados se agregaban en más del 30 % de las gasolinas de los Estados Unidos, de las cuales, aproximadamente un 87 % contenía MTBE (Programa de Gasolinas Reformuladas a un Año, USEPA)<sup>11</sup>; y al final de la década se adicionaron hasta en un 70 % según estimaciones de la Asociación de Combustibles Oxigenados<sup>19</sup>.



**Figura 1.** Composición de la gasolina mexicana reformulada Magna Sin (Celestinos, 1995).

En el caso de México, las gasolinas también han sufrido cambios en su composición, Figura 1. En el invierno de 1993, se sustituyó el tetraetilo de plomo por el MTBE y es equivalente a la gasolina regular sin plomo con un índice de octano de 87<sup>20</sup>. En la actualidad, México adiciona MTBE a todas sus gasolinas y no se tienen planes para eliminar el uso de este compuesto.

A temperatura ambiente, el MTBE es un líquido incoloro, volátil, flamable y de muy fácil disolución en agua. Dentro de las propiedades físicas (Tabla 1.2.1.) que lo convierten en un compuesto de gran movilidad se encuentran su presión de vapor, solubilidad y relación de equilibrio líquido-vapor (coeficiente de partición). Dichas propiedades se ven ampliamente afectadas por variaciones en la temperatura tal como lo demuestran Fischer y col.<sup>21</sup>. Además, el MTBE es considerado como un compuesto tóxico, carcinógeno en animales a altas concentraciones y de poca biodegradabilidad. El límite de detección de este compuesto para el olfato es de 45 a 95 ppb y para el gusto es de cerca de 135 ppb<sup>22</sup>.

Tabla 1.2.1. Propiedades físicas y químicas del MTBE.

Propiedad	
Formula Molecular	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O
Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	88.15
Densidad a 25 °C (g cm <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>	0.741
Temperatura de ebullición a 760 mmHg (°C) <sup>a</sup>	55.05
Presión de vapor a 25 °C (mmHg)	185.949 <sup>b</sup> / 245 <sup>c</sup>
Solubilidad en agua a 25 °C (g L <sup>-1</sup> )	39.723 <sup>b</sup> / 48 <sup>c</sup>
Constante de la ley de Henry a 25 °C (Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	55
Coefficiente de partición a 25 °C (H/RT)	0.022

FUENTE: <sup>a</sup> NIST Database, <sup>b</sup> Rafson, H. J. Odor and VOC Control Handbook, Mc Graw Hill, E.U.A., 1998. <sup>c</sup> Eweis, J.B.; Chang, K.P.; Schroeder, E.D.; Scow, K.M., "Meeting the Challenge of MTBE Biodegradation", Proc. of the 90<sup>th</sup> Annual Meeting and Exhibition of the A&WMA, Pittsburgh, PA, Paper 97-RA133.06, 12pp, 1997.

---

Las primeras afectaciones a la salud relacionadas con el MTBE en el aire fueron reportadas en Fairbanks, Alaska en noviembre de 1992; en donde, cerca de 200 pobladores sufrieron problemas de dolor de cabeza, mareos, diarrea, fiebre, vómito, irritación de ojos y piel, quemaduras en nariz y garganta, desorientación y náuseas. De igual manera, se registraron el mismo tipo de problemas en Anchorage, Alaska; Missoula, Montana; Milwaukee, Wisconsin; y Nueva Jersey<sup>19</sup>.

Se conoce que el MTBE causa depresiones en el sistema nervioso central, dificultades respiratorias, inflamación crónica de la mucosa nasal, irritación en los ojos y erupciones en la piel<sup>23</sup>. A su vez, la Oficina para Política en Ciencia y Tecnología de los Estados Unidos (United States Office of Science and Technology Policy), ha concluido que “estudios experimentales indican que el MTBE produce cáncer en animales y que el alcohol terbutílico y el formaldehído, los principales componentes de la transformación biológica del MTBE también son cancerígenos en animales”.

Datos de exposición al MTBE indican que no es altamente tóxico a corto plazo, sin embargo, no existe conocimiento suficiente acerca de la toxicidad a largo plazo incluyendo su potencial cancerígeno y la afectación al sistema reproductivo en humanos<sup>24</sup>.

Por otra parte, estudios hechos por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades en Fairbanks, Alaska; Albany, Nueva York; y Stamford, Connecticut demuestran que la concentración del MTBE en la sangre está relacionada con la concentración de éste en el aire. De manera que la gente más expuesta son los trabajadores de las estaciones de servicio y los mecánicos, los cuales, tienen las mayores concentraciones de MTBE en la sangre en un rango de menos de  $0.05 \mu\text{g L}^{-1}$  hasta  $37 \mu\text{g L}^{-1}$ . Además, en Alaska, se encontraron concentraciones detectables de MTBE en la sangre de la gente examinada después de dos meses de la suspensión del uso del mismo. Esto indica que se trata de un compuesto persistente de difícil desasimilación<sup>19</sup>.

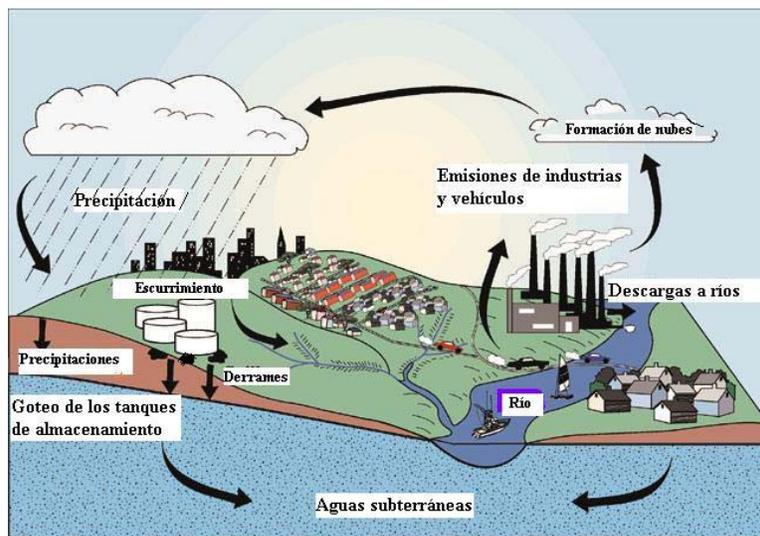
---

### 1.2.1. Fuentes de emisión y lugares de exposición

No todas las fuentes de emisión del MTBE al medio ambiente están bien documentadas. Sin embargo, las emisiones del MTBE en la industria en 1992 en los Estados Unidos correspondió sólo al 0.03 % del MTBE producido. De acuerdo al Inventario de Emisiones Tóxicas de la EPA en 1992, cerca del 94 % del MTBE emitido por las industrias se encontró en el aire, 3.5 % fue descargado a aguas superficiales y el 2.5 % fue encontrado en pozos de agua. Las emisiones del MTBE adicionales a las industriales no han sido cuantificadas. Sin embargo, se sabe que las cantidades de MTBE emitidas durante el llenado de los tanques en las gasolineras y de las fuentes móviles como los vehículos son considerables y constituyen una fuente importante de contaminación por MTBE en el ambiente. Asimismo, el goteo y los derrames de gasolina de los tanques de almacenamiento y tuberías y la disposición inapropiada de ésta, son también fuentes de contaminación significativas. Para mostrar la gravedad del problema, se tomaron los resultados de un modelo computacional utilizado por la Asociación Ambiental de Canadá, los cuales, revelaron que el 56 % del MTBE en el ambiente se encuentra en el aire, 43 % en las aguas superficiales y sólo cerca del 0.5 % en los suelos o sedimentos de ríos<sup>19</sup>. En California, los derrames de MTBE han alcanzado los pozos de agua potable y han sido un problema ambiental desde por lo menos 1995. En los últimos años, han sido afectados cerca de 20 sistemas de agua debido a derrames de MTBE<sup>25</sup>.

La presión de vapor relativamente alta del MTBE así como su solubilidad en agua, le permite transferirse fácilmente de la gasolina al aire y del aire al agua, o directamente de la gasolina al agua dependiendo del equilibrio. Se han hecho hipótesis acerca de la participación del MTBE en el ciclo hidrológico, en donde el MTBE emitido por industrias y vehículos se dispersa en el aire, éste se mezcla con la lluvia, la cual, lo acarrea a las aguas subterráneas o a las corrientes de los ríos. El MTBE detectado en muestras de nieve colectadas en Denver, Colorado por científicos de la Sociedad Estadounidense de Estudios Geológicos apoyan esta hipótesis, Figura 2.

Las propiedades químicas del MTBE como su reactividad baja resultan en una atenuación y degradación pobre que le permiten llegar hasta los pozos de agua municipal. Este hecho, señala Dernbach<sup>25</sup>, se observa pocas veces con los hidrocarburos aromáticos, a pesar de encontrarlos flotando en la tabla de agua, ya que sus características no les permiten una migración extensa, tal como sucede con el MTBE. Estos hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) son menos solubles que el MTBE.



**Figura 2.** Diagrama del ciclo del MTBE.

El proyecto de la EPA de calidad del agua<sup>26</sup> establece el límite permisible de concentración del MTBE en agua entre 20 y 40  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sin embargo, depende de la legislación estatal. Este límite se refiere a la concentración máxima de MTBE en el agua potable que se espera no cause ningún efecto adverso a la salud durante una vida de exposición con cierto margen de seguridad. A pesar de todos los esfuerzos hechos, un estudio reciente hecho por la Sociedad Estadounidense de Estudios Geológicos mostró que el MTBE es el segundo contaminante más comúnmente encontrado en los acuíferos urbanos poco profundos después del cloroformo (Programa Nacional de Valoración de la Calidad del Agua, U. S. Geological Survey)<sup>19</sup>.

En México, Iturbe y col.<sup>27</sup> evaluaron los niveles de contaminación en una estación de almacenamiento y distribución de gasolina que se encuentra fuera

---

de servicio en Michoacán. Encontraron contaminación por hidrocarburos totales del petróleo, BTEX, MTBE, Pb, Fe, Cr y Zn. Ésto principalmente en zonas cercanas a los tanques de almacenamiento, vías férreas y casa de bombeo. A pesar de que la estación no funciona desde 1999, la concentración de MTBE en suelos excedía el límite de concentración establecido por la valoración de riesgo a la salud y debería reducirse de  $0.88 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $0.21 \text{ mg kg}^{-1}$ . No obstante, el MTBE no fue cuantificado en agua.

### 1.3. Métodos para el control de la contaminación atmosférica

Existen dos formas de controlar las emisiones gaseosas al medio ambiente, las que se denominan acciones preventivas y las acciones correctivas. Dentro de los procedimientos preventivos, que permiten controlar a las fuentes de emisión, se encuentran la sustitución, la reducción y el reciclaje de materias primas. Asimismo, los procedimientos correctivos o control secundario comprenden el tratamiento de los gases contaminados después de su producción<sup>28</sup>. Éste puede ser a través de métodos fisicoquímicos o métodos biológicos.

#### 1.3.1. Métodos fisicoquímicos

Dentro de las diversas formas de tratar uno o varios compuestos indeseables de una corriente gaseosa existen la condensación, incineración, adsorción, absorción, sistema de membranas, entre otros.

##### 1.3.1.1. Incineración

La incineración es un método ampliamente utilizado y efectivo para el tratamiento de gases, ésta puede ser térmica o catalítica. La incineración térmica implica la combustión de los contaminantes a temperaturas entre  $700$  y  $1400$  °C. Por otro lado, la incineración catalítica permite trabajar a temperaturas entre  $300$  y  $700$  °C utilizando catalizadores como platino, paladio y rubidio. La incineración es la técnica más ampliamente utilizada de control secundario, pero tiene costos altos ya que se necesitan grandes cantidades de combustible para mantener la combustión. Además, es posible la producción de óxidos de nitrógeno ( $\text{NO}_x$ ) y

---

algunas dioxinas. En general esta tecnología es conveniente para corrientes gaseosas concentradas con flujos moderados a bajos<sup>28,29,30</sup>.

#### 1.3.1.2. Adsorción

La adsorción es un tratamiento generalmente utilizado para el control de COVs con presiones de vapor bajas y pesos moleculares altos. El proceso se lleva a cabo en un lecho fijo o fluidizado con materiales de empaque como carbón activado o zeolitas y generalmente es más eficiente para el tratamiento de vapores con bajas concentraciones de contaminante. Una vez que el lecho ha alcanzado su capacidad de adsorción, el material debe ser removido y tratado como material peligroso, lo cual conlleva a mayores costos operativos del sistema, o regenerado con una recuperación del o los contaminantes por desorción con aire caliente o vapor<sup>28,29,30</sup>.

#### 1.3.1.3. Condensación

Los contaminantes gaseosos concentrados con un punto de ebullición alto pueden ser parcialmente recuperados usando un proceso de enfriamiento y compresión simultánea. Esta técnica sólo es económicamente viable para vapores concentrados que poseen un valor agregado alto, el cual justifique su reciclaje o recuperación. Si la corriente gaseosa es una mezcla de contaminantes, el reaprovechamiento será prácticamente imposible y se necesitarán otro tipo de métodos como la incineración del líquido condensado<sup>28,29,30</sup>.

#### 1.3.1.4. Absorción

Este proceso utiliza una solución de lavado para remover los contaminantes de la corriente gaseosa. Estos se transfieren hacia la fase líquida usando equipos como columnas empacadas o de burbujeo que garanticen un tiempo de contacto suficiente entre las fases. La solución más frecuentemente empleada es el agua, a la cual se le puede ajustar el pH dependiendo de la acidez o basicidad de los gases. En el caso de compuestos hidrofóbicos, se pueden usar solventes orgánicos como el aceite de silicona. Una vez que ha ocurrido la transferencia de fases, el líquido contaminado deberá tratarse con otro método<sup>28,29,30</sup>.

---

#### 1.3.1.5. Sistemas de membranas

En un sistema de separación de membranas, primero se lleva a cabo la compresión y condensación de la corriente emitida y posteriormente se da una separación con membranas. La compresión del gas se hace en un rango de 310 a 1400 KPa, por lo que se mantiene una presión de vapor más alta del lado de la alimentación del aire contaminado. Este gradiente de presión rige el proceso de separación. La mezcla comprimida se hace pasar por un condensador donde se recuperan parte de los vapores orgánicos. La corriente restante se pasa a través de la superficie de una membrana hidrofóbica microporosa cuyos poros se encuentran llenos de agua. La membrana proporciona altas permeabilidades de los contaminantes gaseosos e impide el transporte del volumen total de la corriente. El proceso requiere de un posterior tratamiento del líquido contaminado para disposición o reciclaje de los COVs<sup>28,30</sup>.

#### 1.3.2. Métodos biológicos

La mayoría de los métodos biológicos hacen uso de las reacciones catabólicas microbianas para degradar los compuestos tóxicos presentes en el aire. Su principal aplicación es en el tratamiento de flujos grandes con una concentración baja de contaminantes tales como los malos olores. En condiciones óptimas dichos contaminantes se pueden biodegradar completamente hasta dióxido de carbono, sulfatos, nitratos, vapor de agua y biomasa (mayor concentración de microorganismos). En general, los microorganismos utilizados se encuentran en la naturaleza y en mayor proporción en los sitios donde existe contaminación ambiental como suelos contaminados con derrames de petróleo, entre otros. Los compuestos de interés particular deben ser biodegradables y no tóxicos para los microorganismos de forma que se logre una mayor remoción para compuestos de bajo peso molecular y compuestos orgánicos altamente solubles con estructuras de enlace simple.

Para el tratamiento de gases existen diversos tipos de reactores biológicos, que se citan en la Tabla 1.3.2 y entre los que se encuentran los biofiltros, filtros de escurrimiento y biolavadores. Las diferencias que existen entre uno y otro son

principalmente la fase de los microorganismos, los cuales, pueden estar suspendidos o fijos; y el estado del líquido, que puede estar fluyendo o estacionario.

Tabla 1.3.2. Clasificación de biorreactores para tratamiento de aire contaminado.

Tipo de reactor	Microorganismos	Fase líquida
Biofiltro	Fijos	Estacionaria
Biofiltro de lecho escurrido	Fijos	En movimiento
Biolavador	Suspendidos	En movimiento

FUENTE: Devinny, J.S.; Deshusses, M.A.; Webster, T.S. Biofiltration for Air Pollution Control. CRC Lewis Publishers, E.U.A., 1999.

### 1.3.2.1. Biofiltros

La biofiltración es un proceso en donde el aire contaminado se hace pasar a través de un lecho de partículas húmedas empacadas en un reactor y los contaminantes presentes en la fase gaseosa se sorben en el medio filtrante y en la biopelícula, Figura 3. Los contaminantes son transformados en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  principalmente. Los microorganismos crecen en la superficie o en los macroporos del soporte o están suspendidos en la fase acuosa que rodea a dichas partículas formando la biopelícula<sup>28</sup>.

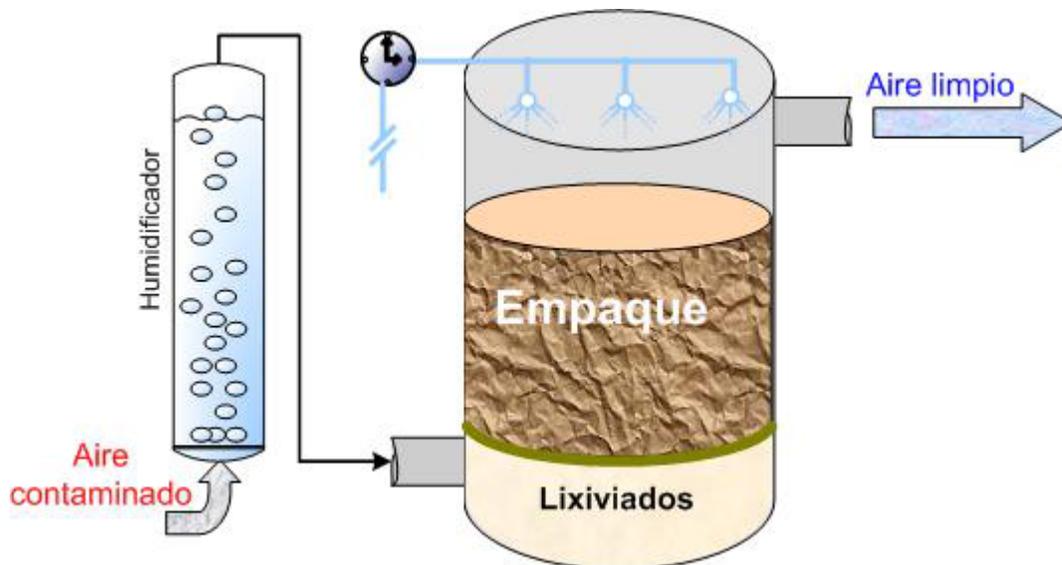


Figura 3. Esquema representativo de un biofiltro.

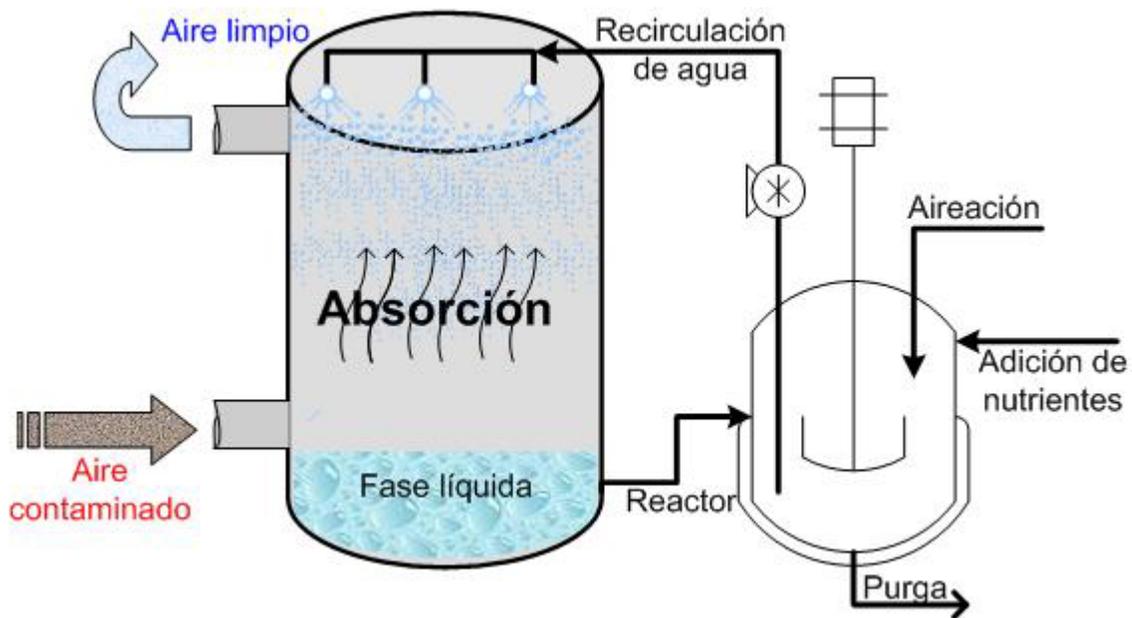
El material de empaque puede ser de origen orgánico como composta, bagazo de caña o turba, o inorgánico como agrolita o vermiculita. Dichos soportes deben asegurar grandes superficies de contacto y poseer ciertas características como gran porosidad, grado de compactación mínimo y alta capacidad de retención de agua.

La corriente gaseosa contaminada se humidifica antes de entrar al biofiltro. La película de líquido se encuentra estacionaria rodeando al soporte, lo que dificulta el control del microambiente ya que puede haber acumulación de subproductos de desecho. Por ello se requiere agregar agua, nutrientes o soluciones neutralizantes periódicamente<sup>31,32</sup>.

Dentro de los parámetros operacionales críticos que afectan el desempeño de estos sistemas se encuentran principalmente el tipo de inóculo microbiano, el pH del medio, la temperatura, la humedad y el contenido de nutrientes<sup>33</sup>.

#### 1.3.2.1. Biolavadores

En los biolavadores los contaminantes gaseosos se absorben en una fase líquida en movimiento para su posterior biodegradación por consorcios de microorganismos suspendidos en un recipiente adicional<sup>28,29</sup>, Figura 4.



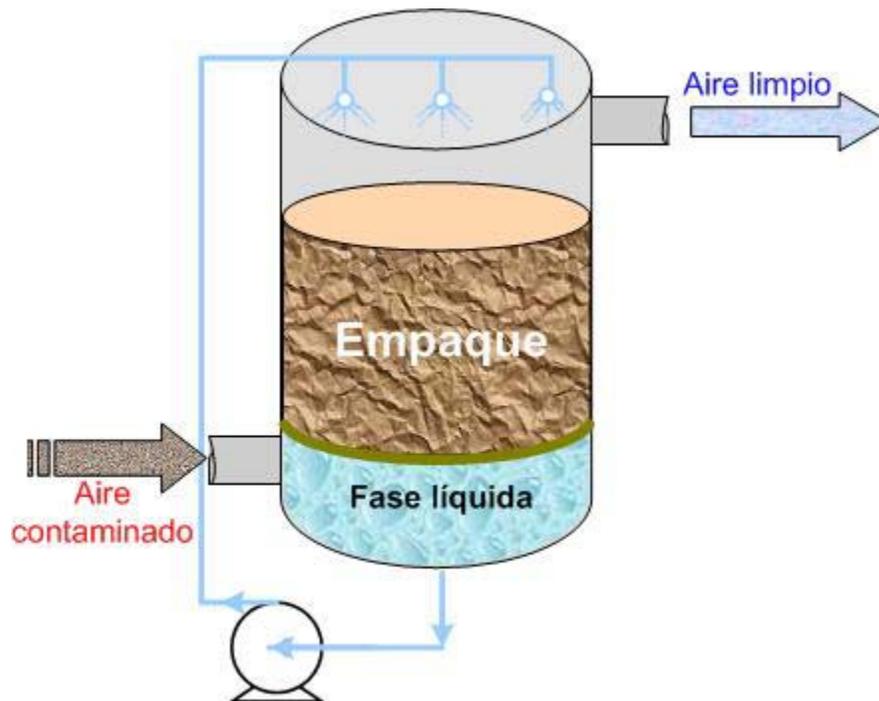
**Figura 4.** Esquema representativo de un biolavador.

La absorción se hace en una columna empacada, en una torre de rocío o en una columna de burbujeo. Posteriormente el agua es transferida a un reactor biológico donde se tienen condiciones ambientales óptimas para la degradación. En caso de que las concentraciones de los contaminantes sean elevadas, se puede agregar aire limpio para completar la oxidación. Una vez reducida la concentración del contaminante en el líquido éste es reenviado al absorbedor.

La ventaja de esta técnica sobre la biofiltración radica en el continuo movimiento de la fase líquida que permite remover posibles subproductos tóxicos para los microorganismos, así como favorecer la difusión de compuestos hidrofílicos en la biopelícula y el suministro de nutrientes necesarios para el adecuado funcionamiento del metabolismo de los microorganismos presentes.

#### 1.3.2.3. Biofiltros de lecho escurrido

En los biofiltros de lecho escurrido al igual que en los biolavadores, los contaminantes gaseosos son absorbidos en la fase líquida fluida pero son oxidados a su paso a través del reactor tanto en la biopelícula de microorganismos formada sobre el soporte sólido como por los microorganismos suspendidos en la fase acuosa, Figura 5.



**Figura 5.** Esquema representativo de biofiltro de lecho escurrido (BLE).

---

Estos equipos pueden ser operados con las fases líquida y gaseosa a contracorriente o a co-corriente. Dado que el agua se recircula, se pueden agregar nutrientes, ácidos o bases para regular las condiciones ambientales óptimas para la remoción.

Cabe señalar que debe cuidarse el crecimiento excesivo de biomasa que provocaría taponamiento y colapso del sistema; es por ello que se recomienda trabajar en condiciones de volúmenes vacíos altos (90 a 95 %) para evitar caídas de presión excesivas y la obstrucción por el crecimiento microbiano<sup>3</sup>.

Estos dispositivos son adecuados cuando los compuestos de oxidación no son tan volátiles y se acumulan en la fase líquida como es el caso de los sulfatos, nitratos y cloruros generados por la oxidación de sulfuros, amoníaco y organoclorados que, además de disminuir el pH durante la degradación, resultan inhibitorios para los microorganismos en concentraciones elevadas<sup>28,29</sup>.

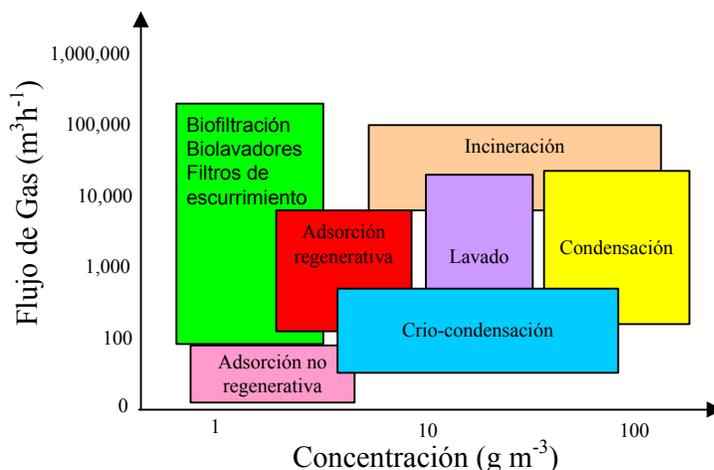
### 1.3.3. Criterios de selección de un tratamiento de aire contaminado

La elección de una tecnología para una aplicación en especial depende de ciertas restricciones económicas y ecológicas.

Entre los factores que son considerados para la selección de un equipo de tratamiento se encuentran<sup>28,29,33,34,35</sup>:

- a) Características del contaminante: Toxicidad, corrosividad, combustibilidad, biodegradabilidad, solubilidad, presión de vapor, entre otras.
- b) Características de la corriente contaminada: Flujo, temperatura, humedad, composición, concentración de los contaminantes y modo de emisión.
- c) La eficiencia de remoción requerida para cumplir con las normas establecidas en el país.
- d) La necesidad de servicios especiales.
- e) La posible generación de desechos o subproductos que requieran un tratamiento secundario.
- f) La posibilidad de recuperar, reciclar o reutilizar el contaminante.
- g) Los costos de inversión y operación.

En la Figura 6, se muestran los rangos de aplicación de varias tecnologías de control ambiental, tanto fisicoquímicas como biológicas, basadas en los flujos y concentraciones de las corrientes contaminadas tal como lo reportan Deviny y col.<sup>28</sup>.



**Figura 6.** Rango de aplicación de tecnologías de control ambiental para el tratamiento de gases.

## 1.4. Biofiltración

### 1.4.1. Situación actual

La mayor parte del éxito que han encontrado los biofiltros es en el tratamiento de flujos grandes de aire con una concentración baja de contaminantes tales como COVs o malos olores<sup>28,29</sup>. Se han hecho estudios de biofiltración con una gran variedad de compuestos tales como los alcoholes, cetonas, aldehídos, etc., susceptibles a ser biodegradados como se observa en la Tabla 1.4.1.

Tabla 1.4.1. Biodegradabilidad de varios contaminantes en un biofiltro.

Contaminante	Biodegradabilidad	Contaminante	Biodegradabilidad
<i>Hidrocarburos alifáticos</i>		<i>Compuestos azufrados<sup>b</sup></i>	
Metano	1	Disulfuro de carbono	2
Propano	?	Sulfuro de dimetilo	2
Butano	?	Disulfuro de dimetilo	2
Pentano	1	Metil mercaptano	1
Isopentano	1	Tiocianatos	1

Hexano	2	<i>Compuestos oxigenados</i>	
Ciclohexano	1	<b>Alcoholes</b>	3
Acetileno	1	Metanol	3
<i>Hidrocarburos aromáticos</i>		Etanol	3
Benceno	2	Butanol	3
Fenol	3	2-Butanol	3
Tolueno	3	1-Propanol	3
Xileno	2	2-Propanol	3
Estireno	2	<b>Aldehídos</b>	3
Etilbenceno	3	Formaldehído	3
<i>Hidrocarburos clorados<sup>b</sup></i>		Acetaldehído	3
Tetracloruro de carbono	1	<b>Ésteres</b>	3
Cloroformo	1	Ácido butírico	3
Diclorometano	3	Acetato de vinilo	2
Bromodichlorometano	?	Acetato de etilo	3
1,1,1-Tricloroetano	?	Acetato de butilo	3
1,1-Dicloroetano	?	Acetato de isobutilo	3
Tetracloroetileno	1 <sup>a</sup>	<b>Éteres</b>	1
Tricloroetileno	1 <sup>a</sup>	Dietil éter	1
1,2-Dicloroetano	?	Dioxano	1
1,1-Dicloroetileno	?	Metil ter-butil éter	1
Cloruro de vinilo	1	Tetrahidrofurano	3
1,2-Diclorobenceno	?	<b>Cetonas</b>	3
Clorotolueno	1	Acetona	3
<i>Compuestos nitrogenados</i>		Metil etil cetona	3
Aminas	3	Metil isobutil cetona	3
Anilina	3	<i>Compuestos inorgánicos<sup>b</sup></i>	
Nitrilos	1	Amonio	3
Acronitrilo	?	Sulfuro de hidrógeno	3
Piridina	1	Óxido de nitrógeno	1

<sup>a</sup> Indica que se ha identificado cometabolismo o tratamiento anaeróbico en el biofiltro.

<sup>b</sup> Indica que con el tratamiento de estos compuestos puede ocurrir un cambio en el pH del biofiltro. El cambio puede afectar el desempeño.

CLAVES: 1 = Alguna biodegradabilidad; 2 = Biodegradabilidad moderada; 3 = Buena biodegradabilidad; ? = desconocida.

FUENTE: Deviny, J.S., Deshusses, M.A., Webster, T.S. Biofiltration for Air Pollution Control. CRC Lewis Publishers, E.U.A., 1999.

Las tecnologías de tratamiento biológico de aire contaminado por compuestos orgánicos e inorgánicos volátiles han sido probadas en diversas aplicaciones industriales principalmente en países como Alemania, Holanda y Estados Unidos<sup>36</sup>. En Latinoamérica se han implementado equipos de biotratamiento en algunas aplicaciones industriales como en Cydsa, Monterrey, N.L., México para el control de las emisiones de ácido sulfhídrico y bisulfuro de carbono producidas en la fabricación de rayón y celofán<sup>37,38</sup>; y en Cali, Colombia, donde se montó un biofiltro de 150 m<sup>3</sup> empacado con bagazo de caña para tratar sulfuros gaseosos emitidos del tratamiento anaerobio de vinazas<sup>39</sup>.

Algunas de las aplicaciones de la biofiltración como tecnología limpia de tratamiento se encuentran listadas en la Tabla 1.4.2.

Tabla 1.4.2. Aplicaciones típicas de la biofiltración

Adhesivos	Industria química y petroquímica
Almacenamiento de químicos	Plantas de asfalto
Agroindustrias	Plantas de composteo
Beneficiadoras (hueso, sangre, aceites)	Procesamiento de alimentos y forrajes
Extracción de vapores del suelo (biorremediación)	Procesamiento de madera y muebles
Fundiciones de acero	Producción de aromas y perfumes
Incineradores	Rastros y granjas
Industria de gráficos e imprentas	Reciclaje de desechos
Industria de pinturas y recubrimientos	Rellenos sanitarios (gases y olores)
Industria de la pulpa y del papel	Tratamiento de aguas

FUENTE: Adaptado de <sup>28 y 40</sup>.

## 1.4.2. Operación de un biofiltro

### 1.4.2.1. Microorganismos

Los microorganismos empleados en biofiltración provienen de una diversa variedad de fuentes, pero principalmente de sitios contaminados con el compuesto que deseamos tratar. Éstos pueden ser bacterias, hongos o levaduras de diferentes géneros y especies dependiendo de la tolerancia que muestren al compuesto y si lo pueden utilizar o no como fuente de carbono y energía.

---

#### 1.4.2.2. Material de empaque

Existe una gran variedad de soportes que han sido utilizados en experimentos de biofiltración a escala laboratorio o en aplicaciones en campo. Se han usado materiales de empaque orgánicos como composta, turba, tierra y astillas de madera e inorgánicos como carbón activado, perlita, vermiculita, o soportes sintéticos como anillos cerámicos, poliuretanos, entre otros. Los materiales biofiltrantes deben de cumplir con ciertas especificaciones de diseño que proporcionen el ambiente más conveniente para el crecimiento microbiano y para el flujo de gas a través del lecho. Estos deben poseer ciertas características deseables como son: alta capacidad de retención de agua, área superficial grande, porosidad, alta permeabilidad, pH neutro, disponibilidad de nutrientes, y provocar caídas de presión bajas. Además de propiedades estructurales buenas como tamaño de partícula uniforme y resistencia mecánica<sup>28</sup>. Delhoménie y col.<sup>41</sup> han señalado que el tamaño de partícula es una característica importante, ya que si es demasiado pequeña, proporcionará áreas superficiales específicas grandes, disponibles para el intercambio gas/biopelícula, pero también crearán una resistencia al flujo de gas. En cambio, si son demasiado grandes, favorecerán los flujos gaseosos, pero reducirán el número de sitios potenciales para que se desarrolle la actividad microbiana.

Se han hecho diversos estudios con soportes empleándolos en biofiltración, en particular uno hecho por Ortíz y col.<sup>42</sup> con mezclas de turba, vermiculita, carbón activado, cerámicos porosos y astillas de pino. Estos autores encontraron que la mezcla de vermiculita y carbón activado presentó los mejores resultados para el tratamiento de BTX (benceno, tolueno y xilenos) y que la vermiculita resultó ser un excelente soporte dadas sus propiedades de área superficial grande (cerca de  $650 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ ), gravedad específica baja, distribución de tamaño de partícula homogénea y buen drenado de agua, lo cual generó caídas de presión relativamente bajas. En otro estudio, Cox y col.<sup>43</sup> encontraron que la perlita (4.5 mm de diámetro promedio) también es un buen soporte para emplearlo en biofiltración, pero que debe agregarse medio mineral regularmente para mantener la humedad óptima y el contenido de nutrientes.

---

#### 1.4.2.3. Control de humedad

La humedad es uno de los parámetros más importantes que deben de controlarse para garantizar el buen desempeño de un biofiltro. Pequeños cambios en la humedad están asociados con grandes cambios en el contenido de agua. Si la humedad relativa del aire de entrada cae en 1 %, dado a un cambio en temperatura o presión del aire, la humedad del soporte decaerá en un 10 % o más, según estudios hechos por Van Lith y col.<sup>44</sup>. El control del contenido de humedad en el medio a través del control de la humedad del aire de entrada puede ser difícil y hasta imposible dado el aumento de temperatura por la oxidación biológica. Es por ello que se implementan estrategias de control como el esparcido de agua para mantener y/o recuperar la humedad del soporte. Van Lith y col.<sup>45</sup> sugieren, para tasas de evaporación inferiores a los  $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , agregar agua manualmente y hacer determinaciones del contenido de humedad del lecho periódicamente. Por otra parte, Morales y col.<sup>46</sup> desarrollaron un modelo dinámico en una dimensión para describir el secado y su efecto en el desempeño de biofiltros. Estos autores encontraron una correlación entre el descenso de la capacidad de eliminación de tolueno y el contenido de humedad en el soporte producido por la tasa de evaporación.

#### 1.4.2.4. Control de temperatura

La actividad microbiana está fuertemente influenciada por la temperatura. Dependiendo del tipo de microorganismo con el cual se trabaje, ya sea psicrófilo, mesófilo o termófilo será la temperatura óptima de operación<sup>47</sup>. Cada especie está adaptada para controlar sus reacciones enzimáticas dentro de un cierto rango de temperatura. Las reacciones se ven aceleradas con el aumento de ésta, pero con ciertos límites. Si este límite es superado, la enzima se desnaturaliza y ya no es útil. Además, otros componentes celulares como los lípidos estructurales de las membranas también pueden descomponerse a altas temperaturas. Sin embargo, cabe destacar que lo que más afecta el desempeño de los biofiltros son los climas gélidos.

---

#### 1.4.2.5. Control de pH

Al igual que la temperatura, el pH es un factor importante que hay que controlar y depende del tipo de microorganismo inoculado en el biofiltro. Cada especie de microorganismos es más activo en cierto rango de pH y se inhibirá o hasta morirá fuera de éste<sup>28</sup>. No obstante, la mayoría de los biofiltros están diseñados para operar a un pH neutro.

Los materiales de empaque tienen diferentes valores de pH, por ejemplo, la composta o turba tienen pHs de 4 ó 5 por el contenido de ácidos orgánicos producidos durante la descomposición natural de la materia orgánica, el carbón activado puede tener un pH cercano a 10 y la perlita de alrededor de 7. Para poder utilizar estos soportes, el pH deberá ajustarse al valor requerido.

El pH en un biofiltro puede cambiar durante la operación debido a que muchas biotransformaciones de los contaminantes generan ácidos. Por ejemplo, la degradación de los alcanos constituyentes de la gasolina produce ácido acético como un intermediario<sup>48</sup>, el cual, puede causar un descenso del pH si se acumula en el sistema. Estos problemas pueden abatirse utilizando un soporte con suficiente capacidad amortiguadora. Los soportes inorgánicos suelen tener bajas capacidades amortiguadoras; pero si se añade un amortiguador como carbonato de calcio, el ácido reaccionará con el carbonato y el pH se mantendrá sin cambios. Según manifiestan Devinny y col.<sup>28</sup>, la capacidad amortiguadora de un soporte se define como la cantidad de iones hidrógeno que se deben agregar para generar un cambio de pH, de forma que, una capacidad amortiguadora alta significa que una gran cantidad de ácido o base añadido al biofiltro tendrá un efecto pequeño en el pH.

Otros ejemplos de acidificación se presentan en el tratamiento de compuestos organoclorados donde se produce ácido clorhídrico como producto final, y en el tratamiento de sulfuro de hidrógeno o sulfuros orgánicos que producen sulfatos que posteriormente se transforman en ácido sulfúrico. Sus productos son estables en un biofiltro rico en oxígeno, y ambos son altamente solubles en agua con bajas constantes de la ley de Henry. Estos se acumulan porque no hay transformación alguna que consuma a los ácidos. En estos casos, la adición de

---

un amortiguador no resolverá el problema porque será consumido muy rápidamente y no tendrá ningún efecto restaurativo. Por otra parte, según estudios hechos por Yang y Allen<sup>49</sup>, se presentarán problemas secundarios como la generación de pequeñas partículas dada la disolución del carbonato de calcio, lo que contribuirá al taponamiento del biofiltro.

Sin embargo, Deviny y col.,<sup>28</sup> sugieren que el pH del medio también puede controlarse añadiendo una solución alcalina junto con el agua de esparado, pero será difícil mantener el pH del lecho uniforme porque la irrigación no se distribuirá de igual forma en todo el reactor. Según estos autores, si la corriente a tratar produce grandes cantidades de ácidos, es mejor utilizar un biofiltro de lecho escurrido, ya que los flujos grandes de agua recirculada proveerán un contacto efectivo con todas las superficies y el pH del flujo recirculado podrá controlarse de una manera fácil y precisa.

#### 1.4.2.6. Control de nutrientes

Los microorganismos necesitan nutrientes minerales como nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio, magnesio, sodio, hierro y muchos otros. Algunas especies pueden requerir compuestos especiales como vitaminas, que no pueden sintetizar por ellas mismas. La operación exitosa de un biofiltro necesita nutrientes que deben suministrarse en forma y cantidad que soporte una actividad microbiana vigorosa<sup>28</sup>.

Los soportes orgánicos como composta y turba poseen nutrientes que liberan conforme se degradan ya que provienen de cortezas de árboles, lodos activados, y otros materiales orgánicos. En cambio los soportes inorgánicos como rocas, carbón activado, agrolita, entre otros, no contienen ningún nutriente, y éstos deberán suministrarse durante la operación del biofiltro en forma de una solución de sales minerales.

#### 1.4.3. Aplicaciones a vapores de gasolina

La biofiltración ha sido ampliamente utilizada en el tratamiento de vapores de gasolina tanto a escala laboratorio como piloto e industrial. La biodegradación se ha hecho por consorcios, bacterias y hasta por hongos. A escala laboratorio, la

---

degradación de mezclas de BTEX por bacterias se encuentra ampliamente documentada<sup>50,51,52</sup>. A escala piloto, Wright y col.<sup>53</sup> estudiaron el comportamiento de un biofiltro de composta inoculado con un cultivo microbiano para el tratamiento de vapores de gasolina. Las remociones de hidrocarburos totales excedieron el 90 % durante los últimos 50 días de operación para concentraciones de entrada de 310 a 2,700 mg m<sup>-3</sup> y un tiempo de residencia de 2.2 min (Cargas de entrada = 8 - 74 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>).

Recientemente se han aislado hongos y utilizado exitosamente en biofiltración de aire contaminado con hidrocarburos aromáticos volátiles (tolueno y estireno), metabolizados como única fuente de carbono y energía<sup>43,54</sup> y con hidrocarburos alifáticos provenientes del petróleo crudo<sup>55</sup>.

En un biorreactor en fase gas inoculado con la levadura negra dimórfica *Exophiala lecanii-corni* se encontraron capacidades de eliminación máximas de tolueno de 270 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> (Woertz y col.)<sup>56</sup>. Sin embargo, García-Peña y col.<sup>57</sup>, alcanzaron capacidades de eliminación de hasta 400 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> empleando un reactor similar inoculado con el hongo *Scedosporium apiospermum*.

Asimismo, Prenafeta y col.<sup>58</sup> encontraron que el hongo *Cladophialophora* sp. (ATCC MYA-2335) era capaz de crecer en una fracción modelo de gasolina soluble en agua conteniendo BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y los isómeros de xilenos). Estos compuestos fueron degradados por combinación de asimilación y cometabolismo, a excepción del benceno que no fue metabolizado.

En otro estudio, Hekmat y col.<sup>59</sup> evaluaron la dinámica de poblaciones en un biofiltro de lecho escurrido a escala laboratorio para tratamiento de gas contaminado con COVs. Una mezcla modelo de bencenos polialquilados fue alimentada intermitentemente. Estos autores encontraron que sólo el 10 % de la biopelícula eran células y el resto se trataba de sustancias poliméricas extracelulares (SPE). Un resultado similar fue obtenido por Morales y col.<sup>32</sup> en un biofiltro para tratamiento de tolueno. En el estado estable, Hekmat y col.<sup>59</sup> alcanzaron capacidades de eliminación de hasta 80 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> con cargas de 140 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>.

---

Por otra parte, Höhener y col.<sup>60</sup>, estudiaron la degradación de 12 vapores de hidrocarburos y de MTBE en experimentos en lote y en columnas empacadas. Para ello emplearon arena conteniendo microorganismos indígenas. En este trabajo demostraron que el MTBE es un compuesto sumamente difícil de biodegradar al contrario del tolueno o *m*-xileno, ya que el oxígeno no se atenuó a lo largo de un lecho de 1.14 m de longitud.

Hernández, S. y col.<sup>61</sup> han trabajado en el diseño de biofiltros a escala piloto para el tratamiento de COVs provenientes de fuentes fijas. Estos sistemas han sido diseñados para tratar emisiones de vapores de gasolina procedentes de tanques de almacenamiento. Hernández, A. y col.<sup>62</sup>, trabajaron en un biofiltro de 260 L, inoculado con un consorcio, y alcanzaron capacidades de eliminación de  $16 \pm 4 \text{ g C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y de  $3.8 \pm 1.1 \text{ g MTBE m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Las capacidades de eliminación máximas para otros compuestos presentes en los vapores de gasolina fueron de  $3.24 \text{ g hexano m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ,  $3.13 \text{ g iso-octano m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y  $1.49 \text{ g tolueno m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . En general, encontraron que los alcanos lineales y los aromáticos fueron rápidamente degradados, mientras que los alcanos ramificados tuvieron eficiencias de remoción considerablemente más bajas.

### 1.5. Biodegradación

No existe una definición precisa de biodegradación. Sin embargo, el proceso generalmente involucra el rompimiento de compuestos orgánicos, usualmente por microorganismos, en más biomasa celular y compuestos menos complejos, y finalmente en agua, dióxido de carbono o sulfatos y nitratos<sup>63</sup>. La biodegradabilidad de un compuesto es la susceptibilidad de éste a alteración por procesos microbianos<sup>64</sup>. La extensión de la biodegradación y la tasa a la cual ésta ocurre, depende de interacciones entre el ambiente, el número y tipo de microorganismos presentes, y la estructura química del contaminante degradado<sup>65</sup>. La biodegradación de la mayoría de los contaminantes orgánicos ocurre a una tasa más rápida bajo condiciones aeróbicas. No obstante, Walter y col.<sup>65</sup>, señalan que la biodegradación de muchos compuestos orgánicos puede ocurrir bajo condiciones anaeróbicas usando otros aceptores de electrones

---

como nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), manganeso ( $\text{Mn}^{+4}$ ) o carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) en lugar de oxígeno.

Madsen y col.<sup>64</sup> aseguran que aquellos microorganismos capaces de metabolizar carbohidratos usando oxígeno como aceptor final de electrones son capaces de generar más ATP que aquéllos que llevan a cabo respiración con nitratos, sulfatos,  $\text{Mn}^{+4}$  o  $\text{Fe}^{3+}$ .

La biodegradación que involucra el rompimiento completo de un compuesto orgánico en sus componentes inorgánicos, es comúnmente referida como mineralización. Existen compuestos con estructuras moleculares a las que los microorganismos no han sido expuestos (compuestos xenobióticos). Estos son resistentes a la biorremediación (recalcitrancia) o son biodegradados incompletamente<sup>65</sup>. Tal es el caso del MTBE, que ha sido reportado como un compuesto recalcitrante<sup>66</sup>, con pocos estudios en donde se logre una mineralización o biodegradación total.

Muchos compuestos xenobióticos como los compuestos haloaromáticos o el propio MTBE pueden ser biotransformados, esto es, son sujetos de una alteración química de la estructura molecular sin la pérdida de su complejidad<sup>63</sup>.

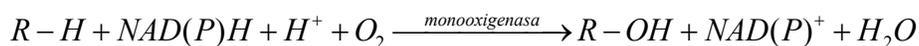
La biotransformación produce un cambio en la estructura de un compuesto orgánico, que puede afectar la toxicidad y movilidad del compuesto original. La investigación en biodegradación ha demostrado la existencia de microorganismos capaces de degradar compuestos químicos como los bifenilos policlorados y los compuestos nitroaromáticos, que alguna vez se concibieron como recalcitrantes o sujetos sólo de una transformación sin llegar a la mineralización<sup>65</sup>.

Cabe señalar que los microorganismos pueden catalizar sólo las reacciones que son termodinámicamente posibles<sup>64</sup>. Existen muchos compuestos en la naturaleza que son bioquímicamente inertes, particularmente compuestos como los alcanos, estructuras de anillos saturados y de benceno, dado que son moléculas desprovistas de oxígeno. Las bacterias poseen la habilidad de catalizar reacciones de oxidación usando oxígeno molecular, de ahí que se inicien secuencias de reacciones que llevan a las rutas catabólicas comunes<sup>67</sup>.

---

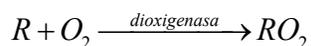
Cuando el carbono terminal de un alcano es oxidado, se forma un ácido graso, el cual posteriormente puede ser metabolizado por  $\beta$  oxidación<sup>68</sup>.

Las bacterias contienen diferentes clases de enzimas llamadas monooxigenasas y dioxigenasas, las cuales, contienen una gran variedad de cofactores como los grupos hemo, flavinas, cobre, manganeso, y hierro no hemo; y cuya función es “activar” al oxígeno alterándolo hasta su estado monoatómico<sup>68</sup>. Las monooxigenasas llevan a cabo reacciones del tipo:



utilizando un agente reductor. Todas estas enzimas son altamente específicas hacia un sustrato.

Mientras que las dioxigenasas son responsables de la fijación del oxígeno directamente en los compuestos orgánicos:



#### 1.5.1. Biodegradación de metil ter-butil éter

La biodegradación de MTBE puede darse cuando los microorganismos lo utilizan como única fuente de carbono o por cometabolismo. La biodegradación de MTBE como única fuente de carbono requiere que exista un organismo capaz de metabolizarlo, inducir la síntesis de las enzimas requeridas y extraer energía de él. Además, deben existir condiciones ambientales suficientes para que las reacciones procedan a una tasa significativa.

Para que los organismos de una sola especie puedan utilizar un sustrato xenobiótico como única fuente de carbono y energía, deben de ser capaces de extraer energía y poder reductor de las reacciones. Si no es así, no podrán mantener su integridad celular y el cultivo morirá<sup>68</sup>.

Sin embargo, en muchos casos la biodegradación de compuestos xenobióticos es posible porque la estereoespecificidad de las enzimas no es exacta (Grady, 1985<sup>68</sup>). Con frecuencia un inductor puede causar la síntesis de varias enzimas. La apropiación de una enzima existente, la cual posee una actividad catalítica conveniente hacia el nuevo sustrato, ha sido llamado metabolismo “fortuito”<sup>69</sup> o

---

“gratuito” y se piensa que es el mayor mecanismo por el cual los microorganismos atacan a los compuestos xenobióticos<sup>68</sup>, como el MTBE.

Las poblaciones microbianas que crecen en un compuesto pueden “fortuitamente” transformar un contaminante químico, proceso conocido como cometabolismo<sup>70</sup>. La población de microorganismos no se incrementa en biomasa o número como resultado del contaminante químico y no crecerá si éste es el único sustrato presente<sup>71</sup>. Madsen<sup>64</sup> señala que en las reacciones cometabólicas un sustrato primario fisiológicamente útil induce la producción de enzimas que accidentalmente alteran la estructura molecular de otro compuesto. Es así como surgen dos conceptos claves asociados con la definición de cometabolismo. Primero, el cosustrato que se define como aquél que no sirve como única fuente de carbono y energía para un cultivo puro y no induce la formación de enzimas, y segundo, la transformación ocurrirá sólo en presencia obligada de un sustrato llamado sustrato de crecimiento<sup>28,68</sup>.

En cuanto a las aplicaciones, existen casos exitosos de cometabolismo de hidrocarburos clorados, en donde, las enzimas que degradan tolueno o metano son efectivas para degradar compuestos como el tetracloroetileno, el tricloroetileno, u otros. Asimismo, Speitel y McLay<sup>72</sup> han operado sistemas de biofiltración para el tratamiento de tricloroetileno utilizando metano como sustrato de crecimiento para inducir la formación de la metano-monooxigenasa, enzima responsable de degradar al hidrocarburo clorado.

Más recientemente, el propano y el tolueno han demostrado ser sustratos efectivos para inducir la degradación cometabólica de hidrocarburos halogenados<sup>73,74,75</sup>, y aún más el propano, butano, pentano y hexano han sido probados como sustratos de crecimiento para estimular la biodegradación cometabólica del MTBE<sup>76,77,78</sup>.

Sin embargo, no hay que confundir cometabolismo con el empleo de un cosustrato, el cual puede incrementar la tasa de consumo de otro sustrato debido a un incremento en biomasa y a la inducción de enzimas involucradas en la mineralización de intermediarios. Este es el caso del uso de tolueno como

---

cosustrato gaseoso para incrementar la mineralización de fenantreno (Ortíz y col.<sup>79</sup>).

1.5.1.1. Biodegradación de metil ter-butil éter como única fuente de carbono y energía

A) Biodegradación aerobia

Se ha considerado que la persistencia del MTBE está íntimamente relacionada con su recalcitrancia biológica, aunque estudios recientes han mostrado que existe un fuerte potencial para su atenuación natural. En el 2001, Bradley y col.<sup>80</sup> mostraron en su estudio, que es posible la mineralización de MTBE en lagos y sedimentos de ríos como mecanismo natural de atenuación; y aún en sitios sin historia de contaminación por MTBE, dada la presencia de microorganismos con habilidad innata de degradar al MTBE bajo condiciones aerobias.

La degradación de MTBE, ya sea por la vía anaerobia o aerobia, no es un proceso rápido según manifiesta el Profesor Joseph Suflita de la Universidad de Oklahoma<sup>81</sup>. Si el MTBE se encuentra en aguas subterráneas, las bacterias tienden a consumir el oxígeno y a entrar en un periodo de anaerobiosis, por lo que se deberá introducir oxígeno en estos sitios, lo cual no es económicamente rentable. Se desearía tener una población indígena capaz de degradar el MTBE en condiciones anaerobias. Sin embargo, el Profesor Joseph Salanitro de Empresas Equilon en Houston, Texas, señala que las poblaciones microbianas naturales nunca serán suficientes para limpiar el MTBE de los derrames de gasolina que han habido en los últimos años, dado que no se pueden sostener poblaciones microbianas indígenas en MTBE, como en el caso del benceno, porque los microorganismos no crecen bien sobre este sustrato<sup>81</sup>.

Hasta la fecha, existen muy pocos estudios para encontrar microorganismos capaces de degradar MTBE y utilizarlo en el tratamiento biológico. Se han estudiado consorcios y microorganismos puros que pueden biodegradar MTBE utilizándolo como su única fuente de carbono y de energía en condiciones aeróbicas<sup>82,83</sup> y anaeróbicas<sup>84</sup>.

---

En 1994, Salanitro y col.<sup>82</sup>, fueron los primeros en reportar la degradación de MTBE con bacterias. Describieron en su trabajo el aislamiento de un cultivo enriquecido (BC1) que crecía en MTBE como su única fuente de carbono y de energía y que producía alcohol terbutílico (TBA) como su principal metabolito. La población contenía cuatro o cinco organismos, entre los que se encontraban corineformes, pseudomonados y achromobacters. Dicho cultivo tenía la habilidad de biodegradar el MTBE hasta producir 40 % de carbono como CO<sub>2</sub> y 40 % de carbono como biomasa a una tasa de 34 mg g célula<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> con rendimientos de 0.21 a 0.28 g células secas g MTBE<sup>-1</sup>. Sus resultados sugerían que las tasas bajas de crecimiento y rendimientos celulares se debían al metabolismo lento de un intermediario limitante de la tasa de degradación o a que el MTBE podía ser un inhibidor metabólico, inhibidor del transporte de electrones o un desacoplador de la producción de ATPs. Estos autores demostraron que a ciertas concentraciones (20 mg L<sup>-1</sup>), el MTBE actuaba más como inhibidor que como sustrato cuando se usaba para incubar cultivos bacterianos.

En otro de los esfuerzos por encontrar organismos biodegradadores de MTBE, Mo y col.<sup>83</sup>, hicieron estudios microbiológicos con lodos activados y tierra y frutos del árbol de Gingko. Encontraron tres cultivos bacterianos puros capaces de consumir MTBE en condiciones aerobias, los cuales, se identificaron y caracterizaron como pertenecientes a los géneros *Methylobacterium*, *Rhodococcus* y *Arthrobacter*. Las cepas sólo consumieron el 28 % del MTBE alimentado, después de un periodo de incubación de 2 semanas con 200 ppm de MTBE a una temperatura de 23-25 °C. El crecimiento de estas bacterias fue bastante lento y la producción de CO<sub>2</sub> considerablemente baja, alrededor del 8 % del MTBE consumido, correspondiente a una biodegradación incompleta. Los investigadores lo atribuyeron al hecho de que el MTBE puede ser un sustrato y fuente de energía pobre o a un metabolito que puede inhibir el crecimiento. En estudios paralelos, los cultivos puros mostraron menor actividad, comparados con los cultivos mixtos, posiblemente porque una cepa degrada un compuesto hasta un cierto producto, punto en el cual, otra cepa lo toma y continúa la mineralización; de forma que no hay inhibición o toxicidad alguna.

---

Dada la incrementada incidencia del MTBE en el medio ambiente y las bajas tasas de degradación mostradas en la atenuación natural, ha sido importante buscar cultivos bacterianos capaces de consumirlo rápidamente y sobrevivir fuera del laboratorio. En otro estudio, Hanson y col.<sup>85</sup>, reportaron una cepa pura con alta tasa de mineralización de MTBE. Sin embargo, mostró comportamiento inhibitorio cuando los compuestos BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos) se encontraban presentes<sup>86</sup>. La cepa denominada PM1 fue incubada con 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de [ $^{14}\text{C}$ ] MTBE, y pudo transformar 46 % en  $^{14}\text{CO}_2$  y 19 % en células marcadas  $^{14}\text{C}$  en un periodo de 120 h. A partir de las mediciones de proteína se estimó un rendimiento a biomasa de 0.18 mg de células mg MTBE $^{-1}$ , el cual, fue un rendimiento sustancialmente más bajo que los rendimientos celulares típicos de crecimiento en compuestos aromáticos, azúcares y compuestos alifáticos. Hanson y col.<sup>85</sup> también evaluaron el consumo de MTBE de la cepa PM1 en material de aguas subterráneas y los resultados indicaron su posible uso en bioaumentación de ambientes contaminados. En el 2001, Deeb y col.<sup>86</sup>, demostraron que había una inhibición severa de la degradación de MTBE en la cepa PM1 por etilbenceno y xilenos y una inhibición parcial por benceno y tolueno, lo cual sugiere que la biodegradación del MTBE en ambientes subsuperficiales sería retrasada hasta que el MTBE haya emigrado más allá de la contaminación por BTEX.

#### B) Biodegradación anaerobia

Se han reportado otros estudios de biodegradación por la vía anaerobia utilizando MTBE como única fuente de carbono y energía. Mormile y col.<sup>84</sup> encontraron evidencia de la degradación de MTBE después de 152 días de incubación de uno de sus lixiviados preparado a partir de muestras del río Ohio. El cultivo degradaba 26 ppm de C en condiciones de pH neutro cuando se alimentaban de 48 a 22 ppm de C. Según sus resultados, el MTBE fue transformado abióticamente en incubación continua mostrando un incremento en la concentración de alcohol terbutílico (TBA). Sin embargo, el MTBE no fue degradado por las células de dos tipos de bacterias anaerobias, *Acetobacterium woodii* y *Eubacterium limosum*, capaces de degradar varios éteres no ramificados.

---

Los autores concluyeron que el MTBE era recalcitrante a la biodegradación tanto por la vía aerobia como por la anaerobia.

En otro estudio, Suflita y Mormile<sup>87</sup>, estudiaron la descomposición anaerobia de los compuestos oxigenados de la gasolina en material acuífero. Se probaron varios éteres alquílicos (metil ter-butil éter (MTBE), ter-amil metil éter (TAME), etil ter-butil éter (ETBE), diisopropil éter, etil éter y propil éter) y sólo el n-butil metil éter fue biodegradado bajo condiciones metanogénicas. Los investigadores confirmaron que el MTBE, ETBE y TAME eran moléculas persistentes que generalmente resistían la biodegradación anaerobia.

No obstante, Yeh y Novak<sup>88</sup>, reportaron la biodegradación anaerobia de MTBE, ETBE y TBA en donde evaluaron los agentes ambientales que influyen su tasa de degradación. Probaron diversas condiciones como son: metanogénicas, atmósfera reductora de sulfatos y denitrificantes; microcosmos acuáticos y terrestres usando tierras de diferentes orígenes, entre otras. Sus resultados mostraron que solamente hubo biodegradación de MTBE y ETBE en tierra con un contenido muy bajo de materia orgánica y con un pH de alrededor de 5.5. No se observó degradación de MTBE en tierra rica en materia orgánica, y en la tierra orgánicamente pobre, además, la adición de compuestos orgánicos fácilmente biodegradables inhibieron la degradación del MTBE. Estos autores sugieren que la difícil degradación de los éteres alquílicos por microorganismos presentes en tierras y lodos se atribuye a diversos factores, como son: la ligadura éter, muy estable y químicamente no reactiva, la dificultad para transportar estos compuestos dentro de las células, y la falta de actividad enzimática, ya sea inducida o existente (hidrolasas y oxigenasas), las cuales, son capaces de atacar el enlace éter. En el caso del TBA, la degradación fue incrementada con la adición de nutrientes pero considerablemente disminuida por la presencia de otros compuestos orgánicos de fácil degradación.

En general se han reportado muy pocos trabajos acerca de la biodegradabilidad de los éteres alquílicos en suelos, aguas subterráneas y lodos activados, aunque existen algunos datos en la literatura acerca de la demetilación del

---

metoxibenzoato bajo condiciones anaeróbicas por el microorganismo *Acetobacterium*<sup>89</sup>.

Como señalé anteriormente, los experimentos de laboratorio en la biodegradación de MTBE bajo condiciones anaeróbicas, no han tenido resultados lo suficientemente exitosos como para aplicarse en campo y resolver la contaminación de este compuesto. Varios estudios coinciden en que la tasa relativamente baja de crecimiento de los diferentes cultivos degradadores de MTBE, los bajos rendimientos de biomasa, y la inestabilidad de los cultivos, así como la pobre definición de los mecanismos microbianos involucrados en la biodegradación del MTBE, han dificultado hasta la fecha el desarrollo de procesos viables de biorremediación de MTBE.

#### 1.5.1.2. Biodegradación de metil ter-butil éter por cometabolismo

El descubrimiento del cometabolismo sugirió inmediatamente posibilidades para el tratamiento de compuestos recalcitrantes, pero en la actualidad aún se ha desarrollado muy poco trabajo en la degradación cometabólica del MTBE tanto por cultivos mixtos como por cultivos puros.

En 1997, Hardison y col.<sup>77</sup>, reportaron la biodegradación de MTBE con un hongo filamentoso, *Graphium* sp. (ATCC 58400), en presencia de butano. La posibilidad del uso de compuestos alternos que propician el crecimiento y la degradación de éteres, no había sido descrita, hasta este momento donde estos investigadores demuestran que el micelio *Graphium* sp. es uno de los pocos eucariotas conocidos que crece en n-alcanos y cuyas oxidaciones son catalizadas por la enzima citocromo P-450.

Los resultados de este estudio demostraron que el dietil éter (DEE) y el butano son utilizados como sustratos de crecimiento, mientras que el MTBE es solamente parcialmente oxidado en una reacción cometabólica. Se detectaron dos productos de degradación, el terbutil formato (TBF) y el alcohol terbutílico (TBA). La tasa de degradación del MTBE cuando el micelio fue incubado con n-butano y MTBE fue de  $0.6 \text{ nmol h}^{-1} \text{ mg peso seco}^{-1}$ , la cual, fue menor comparada con la tasa reportada para el micelio incubado con MTBE sólo que fue de 1.9

---

nmol h<sup>-1</sup> mg peso seco<sup>-1</sup>. Esto indica que existe una interacción competitiva entre el n-butano y el MTBE para ligarse y oxidarse en la misma enzima. La tasa máxima de degradación observada durante las primeras tres horas con suspensiones líquidas del hongo expuesto a una concentración de MTBE disuelto de 200 μM fue de aproximadamente 10 nmol h<sup>-1</sup> mg de peso seco de micelio<sup>-1</sup>.

La degradación de MTBE por cuatro cepas oxidantes de propano (ENV420, ENV421, ENV425 y *Pseudomonas putida*) fue reportada por Steffan y col.<sup>90</sup>. Éstas se aislaron a partir de muestras de agua y tierra contaminada con gasolina y aceite de motor, así como de césped no contaminado. Estas bacterias oxidantes de propano producen la enzima propano monooxigenasa (PMO), las cuales, oxidan una variedad de sustratos incluyendo al propano, tricloroetileno e hidroclorofluorocarbonos.

Los investigadores probaron diferentes bacterias que resultaron capaces de degradar MTBE, ETBE y TAME. Se incubaron con 20 mg L<sup>-1</sup> de [C<sup>14</sup>] MTBE, obteniendo una conversión de más del 60 % a <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> en menos de 30 hrs. La oxidación inicial de MTBE y de ETBE produjo TBA en cantidades casi estequiométricas; mientras que la del TAME produjo alcohol ter-amílico (TAA).

El grupo metil metoxi del MTBE se oxidó a formaldehído y luego hasta CO<sub>2</sub> produciendo un 25 % de [C<sup>14</sup>] MTBE como <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, mientras que el TBA se oxidó a 2-metil-2-hidroxi-1-propanol y luego a ácido-2-hidroxi-isobutírico; y ninguno de estos productos de degradación fue un sustrato efectivo de crecimiento para los microorganismos. Dependiendo de la temperatura utilizada fue mayor o menor la tasa de degradación alcanzada, obteniéndose tasas de degradación para el MTBE desde 3.9 a 9.2 nmol min<sup>-1</sup> mg de proteína celular<sup>-1</sup> a 28 °C, y para el TBA de 1.8 a 2.4 nmol min<sup>-1</sup> mg de proteína celular<sup>-1</sup>. tierra

Posteriormente, Garnier y col.<sup>76</sup>, demostraron que un consorcio obtenido a partir de suelo contaminado era capaz de degradar gasolina que contenía MTBE. Sin embargo, cuando se probó el consorcio con MTBE como su única fuente de carbono y energía, no se observó biodegradación alguna. El MTBE era degradado por cometabolismo con n-alcanos (pentano, hexano, y heptano) presentes en la gasolina pero no con compuestos aromáticos (benceno, tolueno

---

y xilenos). Después de 6 días de incubación, se consumió el 97 % de la gasolina reformulada y se observó una completa utilización de los sustratos aromáticos probados tales como los compuestos BTX y de los compuestos alifáticos, pentano, hexano y heptano. No obstante, el ciclohexano fue resistente a la biodegradación. Cabe señalar que el pentano, fue el compuesto que más eficientemente permitió la degradación cometabólica del MTBE. La tasa de degradación del MTBE fue de  $200 \mu\text{g día}^{-1}$  con un coeficiente cometabólico (MTBE consumido/pentano consumido $\times 100$ ) del 10 %. En experimentos subsecuentes, cuando se incrementó el coeficiente cometabólico, la cantidad de MTBE degradado fue mayor, sugiriendo que la degradación del MTBE se debía a una enzima inducida de n-alcenos producida probablemente en los primeros pasos de la ruta metabólica.

De este consorcio, se aisló una bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*), degradadora de MTBE en cometabolismo con pentano<sup>91</sup>. Garnier y col.<sup>91</sup>, propusieron un modelo de inhibición, ya que a concentraciones de  $85 \mu\text{g L}^{-1}$ , el pentano tuvo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de la *P. aeruginosa*. El modelo sólo dependía de dos parámetros, la concentración de pentano y la de MTBE. Calcularon diversos parámetros cinéticos de crecimiento sobre pentano como son,  $\mu_{\text{máx}} = 0.19 \text{ h}^{-1}$ ,  $K_s = 2.9 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $K_i = 3.5 \text{ mg L}^{-1}$ ; y obtuvieron una tasa de degradación de MTBE de  $3.9 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg de proteína celular}^{-1}$  con una relación de MTBE/pentano de 0.7 y una mineralización de MTBE del 20 %. Para el TBA se alcanzó una tasa de degradación de  $0.95 \pm 0.05 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg de proteína celular}^{-1}$ . La diferencia entre las tasas de degradación resultó en la acumulación del alcohol terbutílico.

Estos autores concluyeron que las enzimas responsables del proceso de degradación tienen una mayor afinidad por el pentano que por el MTBE y además, que había una tasa de mantenimiento despreciable ( $m_0$ ), ya que la biomasa producida fue proporcional a la cantidad de pentano consumido aún a bajas concentraciones.

Recientemente, Morales y col.<sup>92</sup>, obtuvieron consorcios a partir de muestras de suelo contaminado con gasolina. Se enriquecieron con pentano, hexano, isooctano y tolueno y se probaron en cometabolismo con MTBE. Las tasas

---

máximas de degradación de MTBE fueron de 49, 12 y 32 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para los microcosmos con pentano, hexano e isooctano, respectivamente. No hubo degradación cometabólica con tolueno. Las mejores tasas de degradación se alcanzaron para el consorcio adaptado con pentano, donde el MTBE fue mineralizado con un coeficiente cometabólico de 1 mg MTBE mg pentano<sup>-1</sup>. Hubo consumo de MTBE aún al agotarse el pentano lo que sugiere actividad enzimática aún después de agotado el sustrato inductor. La transformación de carbono en biomasa fue de aproximadamente 40 % para todos los alcanos. Los resultados para hexano indicaron una acumulación de TBA del 35 %, el resto fue mineralizado. En el caso del pentano, todo el TBA fue mineralizado. La conversión de carbono en CO<sub>2</sub> fue del 51 %, 40 % y 26 % para pentano, hexano e isooctano, respectivamente. De este consorcio se aislaron bacterias identificadas como pertenecientes al género *Pseudomonas*, y constituyen el primer reporte de mineralización cometabólica por microorganismos de este tipo.

#### 1.5.1.3. Biofiltración de metil ter-butil éter

##### A) Como única fuente de carbono

En un estudio hecho por la Universidad de California en Davis, Eweis y col.<sup>93</sup>, mostraron resultados de unos biofiltros que desarrollaron la habilidad de degradar MTBE después de un año de operación.

Los biofiltros de la Junta del Condado de Los Angeles, cuya planta funciona para el control de la contaminación del agua (JWPCP por sus siglas en inglés), eran alimentados con varios COVs incluyendo MTBE a un flujo de 2.35 ft<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> y un tiempo de residencia de aproximadamente 1 minuto. Se usó como material de empaque un medio compuesto por 40 % en volumen de composta y 60 % de perlita con lodos activados como inóculo. En este sistema a nivel industrial se alcanzaron capacidades de eliminación promedio entre 6 y 8 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> y eficiencias de remoción promedio del 95 al 100 % durante otro año más de operación.

En otro trabajo, Fortin y Deshusses<sup>22</sup>, enriquecieron un consorcio aerobio en biofiltros de lecho escurrido capaz de consumir MTBE como única fuente de

---

carbono y energía. Después de un periodo de aclimatación de seis meses, los biofiltros alcanzaron capacidades de eliminación máximas de  $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y eficiencias de remoción del 90 % con concentraciones de entrada de MTBE entre  $0.65$  y  $0.85 \text{ g m}^{-3}$  y un tiempo de retención inicial de 1.5 min. El cultivo degradador de MTBE estaba constituido por seis bacterias gram positivas y negativas, bacilos y cocos; hongos, protozoarios y rotíferos. Después de la fase de aclimatación, los biofiltros de lecho escurrido mostraron una conversión de MTBE en  $\text{CO}_2$  casi total (97 %) y una ausencia de subproductos de degradación tanto en fase gaseosa como en fase líquida. Los investigadores observaron una tasa baja de acumulación de biomasa con un rendimiento de  $0.1 \text{ g biomasa g sustrato}^{-1}$  y una tasa específica de crecimiento de  $0.025 \text{ día}^{-1}$ . En la segunda parte de este artículo, Fortin y Deshusses<sup>94</sup>, demostraron que el proceso estaba limitado por la reacción biológica y no por la transferencia de masa. Además, estudios dinámicos mostraron que los biofiltros de lecho escurrido se adaptaban rápidamente a las nuevas condiciones y que el nuevo estado estacionario se alcanzaba en cuestión de horas. Esto sugiere su aplicación exitosa en campo ya que la operación en estado transiente es una regla más que una excepción.

#### B) Por cometabolismo

Dupasquier y col.<sup>95</sup>, en un estudio más reciente, mostraron que la biofiltración en cometabolismo con n-alcanos es otra alternativa adecuada para el tratamiento de corrientes contaminadas con vapores de MTBE. En este trabajo, los autores desarrollaron un modelo basado específicamente en los datos obtenidos de cometabolismo de MTBE con pentano. Para ello emplearon un cultivo microbiano de *Pseudomonas aeruginosa*, aislado por Garnier y col.<sup>91</sup>, y un reactor de 2.4 L empacado con vermiculita con un tiempo de residencia de 1.1 h y una concentración inicial de  $18.6 \text{ g m}^{-3}$  y de  $1.1$  a  $12.3 \text{ g m}^{-3}$  para pentano y MTBE, respectivamente. En el caso del pentano, se alcanzaron capacidades de eliminación de  $12 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y para el MTBE de  $0.3$  a  $1.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Se modeló con ecuaciones generales de balance de materia considerando un modelo cinético que describía inhibición competitiva cruzada entre el MTBE (cosustrato) y el

---

pentano (sustrato). Cabe mencionar que el aumento de la concentración inicial de pentano incrementó la CE del MTBE, pero no modificó la CE del pentano, y que además, se observó inhibición en el consumo de pentano por la presencia de MTBE. No obstante, las tasas de degradación de MTBE obtenidas por Dupasquier y colaboradores fueron inferiores a las obtenidas en estudios previos utilizando consorcios o cepas puras que pueden mineralizar MTBE, los investigadores sugirieron que el sistema podía mejorarse incrementando la biomasa activa.

## 1.6. Planteamiento del problema

### 1.6.1. Justificación

Dentro de las razones por las cuales el MTBE aún persiste en la naturaleza se encuentran su poca adsorción en suelos, su gran movilidad y sus bajas tasas de degradación, lo que no permiten su atenuación natural. El problema de contaminación por este oxigenante de la gasolina es un problema actual que requiere de una solución urgente y de una tecnología económicamente rentable y efectiva. Hasta la fecha, no se ha encontrado un procedimiento completamente adecuado para el tratamiento de MTBE en sitios contaminados, lo que abre la brecha para su estudio tanto en aguas como en aire, ya que si se hace una extracción de vapores del suelo o un arrastre o extracción con aire u operaciones de tratamiento de aguas, se generan grandes corrientes de aire contaminadas con MTBE que requieren de un mayor procesamiento.

La biofiltración ha demostrado ser un proceso de bajo costo, adecuado para tratar compuestos orgánicos volátiles como tolueno, xilenos, entre otros; y que puede funcionar alimentando uno o más sustratos como en el caso de los biofiltros empleando cometabolismo para tratamiento de tricloroetileno (TCE).

La justificación de usar un reactor cometabólico radica en el hecho de reducir los periodos de aclimatación en el biofiltro que van desde 6 meses<sup>22</sup> hasta 1 año<sup>93</sup> e incrementar rápidamente la biomasa activa para garantizar una remoción alta de MTBE (superior a  $1.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (Dupasquier y col.<sup>95</sup>) y  $8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (Eweis y col.<sup>93</sup>)). Estudios previos han demostrado que el MTBE usado como única fuente de carbono produce rendimientos pobres<sup>22,82,85</sup>, lo que sugiere un periodo de arranque

---

muy lento y capacidades de eliminación bajas. La hipótesis del trabajo reside en el hecho de lograr incrementar la biomasa activa en el biofiltro para alcanzar mayores tasas de degradación de MTBE comparadas con las obtenidas en experimentos similares. Por ello nos planteamos estudiar el desempeño de un biofiltro para degradar MTBE en cometabolismo con un hidrocarburo alifático.

### 1.6.2. Objetivos

#### **General**

Implementación y caracterización de un biofiltro para la degradación de MTBE en aire por cometabolismo con hexano.

#### **Particulares**

- Cálculo de la cantidad de hexano y MTBE capaz de adsorberse en los soportes, turba y perlita y evaluación del desempeño de la turba y de la perlita como materiales de empaque en biofiltros.
- Evaluación de la cinética de degradación cometabólica de MTBE en biofiltros y en microcosmos.
- Caracterización del biofiltro. Estudio de los factores que limitan el crecimiento de los microorganismos y la actividad degradadora como son la acumulación de biopolímeros, subproductos y el control de pH.
- Determinación del efecto de la concentración de entrada de hexano con respecto al desempeño del biofiltro para conocer si hay limitación por reacción biológica o por transporte de materia o ambas.
- Análisis de aspectos dinámicos del sistema, suspensión de la alimentación de hexano y suspensión de la alimentación de MTBE.
- Evaluación de las condiciones hidrodinámicas del biofiltro.

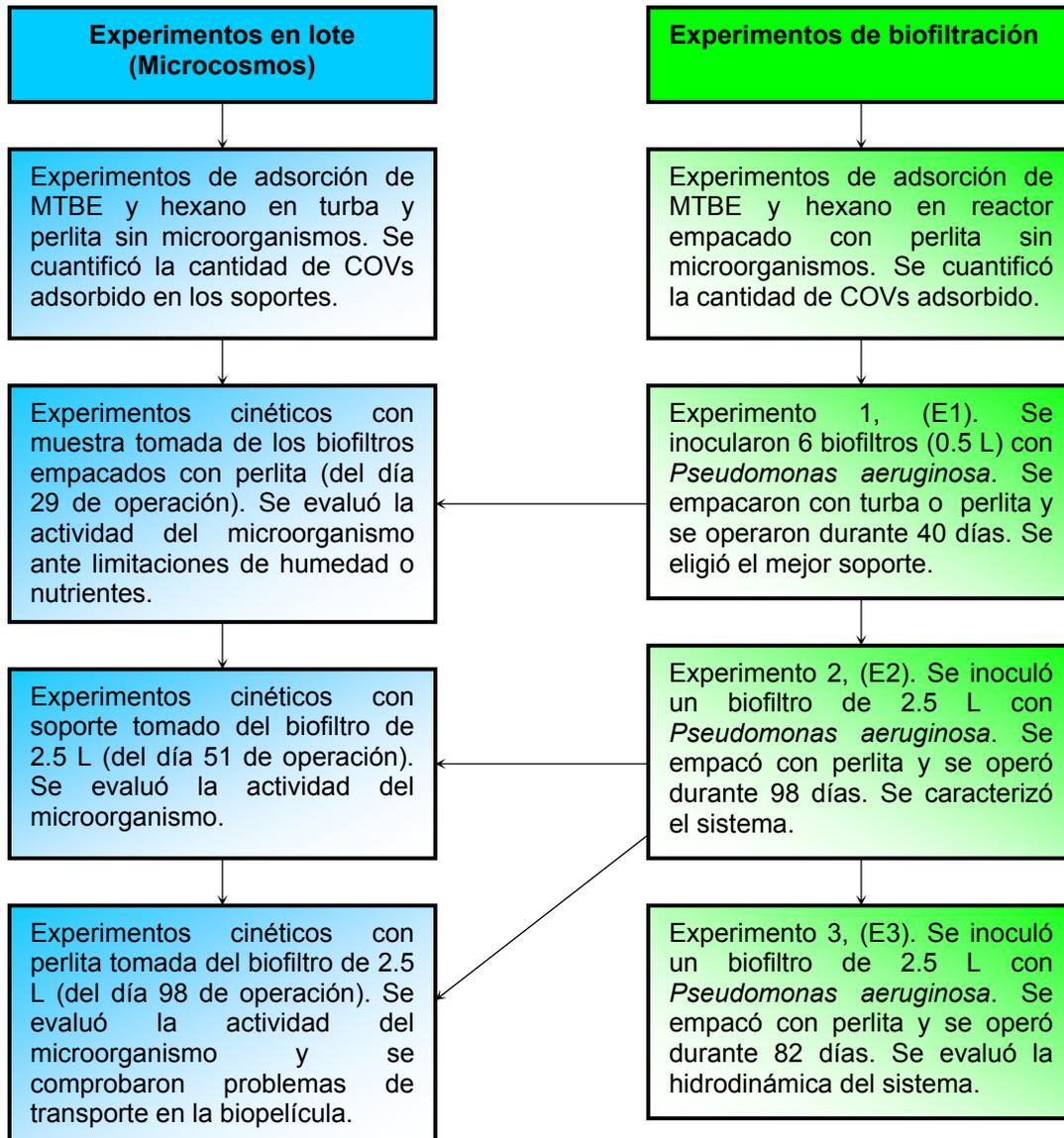
---

## Capítulo 2. Materiales y Métodos

---

## 2.1. Estrategia experimental

La estrategia experimental general que se planteó fue la que se describe en la Figura 7. Por un lado, se hicieron experimentos de biofiltración en reactores de 0.5 L y 2.5 L y por otro, experimentos en lote empleando botellas serológicas.



**Figura 7.** Esquema general de la estrategia experimental utilizada.

En los tres experimentos de biofiltración se agregó medio de sales minerales (MM) con una periodicidad diferente. Esto generó lixiviados (percolación de MM a través del lecho) a los que se les midió el pH y el contenido de carbono.

---

## 2.2. Soportes

### 2.2.1. Turba

Uno de los materiales de empaque que se empleó en los experimentos de biofiltración fue la turba, ya que posee una alta capacidad de retención de agua (70 %), gran porosidad, y además libera nutrientes debido a la descomposición de la materia orgánica de la que se encuentra constituida. Sin embargo, estos materiales son altamente recalcitrantes y es poco probable que la *Pseudomonas aeruginosa* inoculada en los experimentos sea capaz de utilizarlos. La turba es ácida e hidrofóbica, y contiene una población nativa de microorganismos por lo que hubo que esterilizar durante 1 hora a 120 °C y 15 lbs in<sup>-2</sup> de presión para asegurarse de que no hubiera ningún microorganismo vivo y neutralizarse con hidróxido de calcio según la relación 0.04 g Ca(OH)<sub>2</sub> g turba seca<sup>-1</sup> manejada por Acuña y col.<sup>96</sup> En la Tabla 2.2.1. se enlistan algunas de sus características principales.

Tabla 2.2.1. Características de la turba, (adaptado de Hernández<sup>97</sup>).

Característica	
pH	3.65
Humedad inicial	13%
Humedad de equilibrio	65%
Porcentaje de cenizas	1.76%
Porcentaje de materia orgánica	85-95%
Densidad aparente	0.19 g turba seca cm <sup>-3</sup>
Densidad real	0.46 g turba húmeda cm <sup>-3</sup>
Volumen de poros	57.87%

### 2.2.2. Perlita

El otro soporte utilizado en los experimentos de biofiltración fue un material inorgánico constituido principalmente por silicatos de aluminio conocido como perlita o agrolita. En la Tabla 2.2.2. se presentan algunas de sus características principales. Este soporte posee propiedades importantes que se buscan en los materiales de empaque, como son: alta capacidad de retención de agua (60 %),

gran porosidad, pH neutro y generación de bajas caídas de presión. Además, es un material de empaque ampliamente empleado en biofiltración como agente abultante.

Tabla 2.2.2. Características de la perlita

Característica	
pH	6.86
Humedad inicial	0%
Humedad de equilibrio	60%
Porcentaje de cenizas	0%
Porcentaje de materia orgánica	0%
Densidad aparente	0.15 g perlita seca cm <sup>-3</sup>
Densidad real	0.39 g perlita húmeda cm <sup>-3</sup>
Tamaño promedio de partícula	2.36 mm

En la Figura 8 se muestran los materiales utilizados como soportes en los experimentos de biofiltración.



**Figura 8.** Soportes empleados en los experimentos de biofiltración. A) Turba. B) Perlita.

## 2.3. Inóculo

### 2.3.1. Microorganismos

Como inóculo se utilizó una bacteria identificada como *Pseudomonas aeruginosa*, aislada de muestras de suelo contaminado con gasolina por Morales y col.<sup>92</sup>. Ésta fue proporcionada por el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP). El

---

microorganismo fue aclimatado y propagado en medio mineral (MM) en matraces con adiciones periódicas de MTBE y hexano durante 4 meses.

La *Pseudomonas aeruginosa* empleada es un bacilo gram negativo que mide 0.5-1.0  $\mu\text{m}$  X 1.5-5.0  $\mu\text{m}$ . *P. aeruginosa* tiene movilidad por acción de un flagelo, aerobio estricto con oxígeno como aceptor final de electrones. Sin embargo, en algunos casos el nitrato puede ser usado como un aceptor de electrones alternativo. Producen fluorescencia por la generación de pigmentos azules o verdes y son organismos saprofitos o patógenos oportunistas en animales. Cabe mencionar que la mayoría de las especies de *Pseudomonas* no pueden crecer bajo condiciones ácidas (pH 4.5) y no requieren de factores orgánicos de crecimiento<sup>98</sup>.



**Figura 9.** Micrografía electrónica de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*.

### 2.3.2. Medio de cultivo

El medio de cultivo utilizado ha sido empleado previamente por Morales y col.<sup>92</sup>. La composición del medio mineral es la siguiente, (g L<sup>-1</sup>): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1; NH<sub>4</sub>Cl, 0.75; MgSO<sub>4</sub>, 0.5; CaCl<sub>2</sub>, 0.018; y 1 ml de solución de elementos traza<sup>22</sup>. La composición de ésta se muestra en la Tabla 2.3.1. La solución mineral fue esterilizada en autoclave a 120 °C y 15 lb in<sup>-2</sup> de presión durante 15 min. antes de utilizarse.

Tabla 2.3.1. Composición de la solución de elementos traza.

Elemento	Cantidad (g L <sup>-1</sup> )
HCl concentrado	6.76 ml
FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.5
Disolver totalmente	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.06
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.1
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.12
ZnCl <sub>2</sub>	0.07
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.015
NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.025
EDTA	5.2

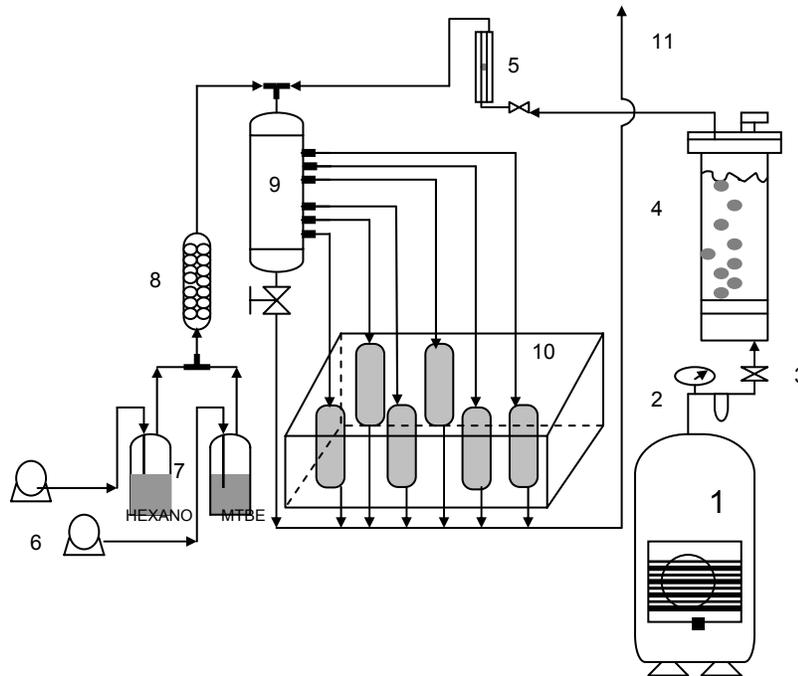
## 2.4. Sistemas experimentales y condiciones de operación

### 2.4.1. Sistema de biofiltración 1

El primer sistema de biofiltración estuvo constituido por 6 pequeños biofiltros de 0.5 L colocados en una cámara a temperatura controlada a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , Figura 10. Un flujo de aire generado por un compresor se reguló y se alimentó a un humidificador hasta saturarlo con vapor de agua. Este flujo se mezcló con una corriente contaminada de vapores de MTBE y hexano previamente generada al burbujear un pequeño flujo de aire en evaporadores conteniendo a los contaminantes. La corriente global fue distribuida a través de los reactores a un flujo de  $100 \text{ ml min}^{-1}$ .

Se probaron dos diferentes soportes, turba y perlita, en experimentos por triplicado. Las condiciones de operación de arranque del sistema fueron las que se presentan en la Tabla 2.4.1.

Se utilizó un inóculo con una densidad óptica (DO), medida a 600 nm en un espectrómetro (UV/Vis Lambda 11, Perkin Elmer, Alemania), de 0.104 correspondiente a  $8 \text{ mg proteína L}^{-1}$  de acuerdo al método de Lowry<sup>99</sup>. Posteriormente el inóculo fue mezclado con los soportes en un ambiente estéril y empacado en las columnas.



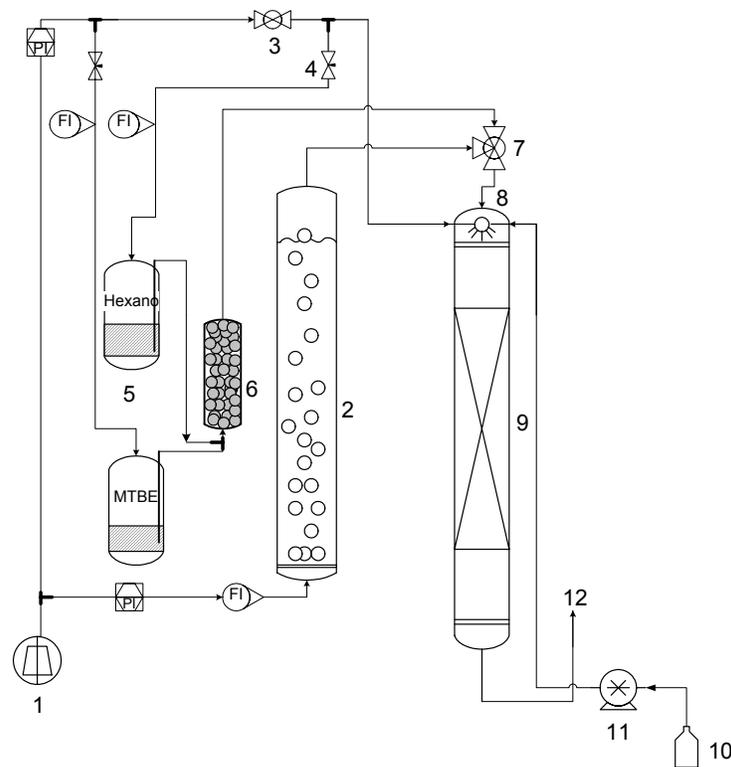
**Figura 10. Sistema de biofiltración:** 1, compresor de aire; 2, regulador de presión; 3, válvula de precisión; 4, humidificador; 5, rotámetro; 6, bombas peristálticas; 7, recipientes de hexano y MTBE; 8, mezclador; 9, distribuidor; 10, biofiltros; 11, venteo.

Tabla 2.4.1. Condiciones de operación de los biofiltros de 0.5 L.

<b>Condiciones generales</b>	
Volumen útil de biofiltros	0.4 L
Diámetro interno	0.046 m
Flujo de aire	0.1 L min <sup>-1</sup>
Concentración de entrada (hexano)	1 g m <sup>-3</sup> hasta 5.8 g m <sup>-3</sup>
Concentración de entrada (MTBE)	0.6 g m <sup>-3</sup> hasta 5.2 g m <sup>-3</sup>
Temperatura	30 ± 2 °C
Tiempo de residencia	4 min
<b>Biofiltros empacados con turba</b>	
pH	6.76
Humedad	73 %
Densidad de empaque	281 g turba seca L <sup>-1</sup> reactor
Masa de turba seca	112.4 g
<b>Biofiltros empacados con perlita</b>	
pH	6.85
Humedad	50 %
Densidad de empaque	146 g perlita seca L <sup>-1</sup> reactor
Masa de perlita seca	58.4 g

## 2.4.2. Sistema de biofiltración 2

En el segundo sistema de biofiltración se hizo un escalamiento del sistema hasta un volumen de 2.5 L con el fin de estudiar la hidrodinámica de éste. En este sistema la corriente de aire fue suministrada por un compresor, ésta fue dividida en dos partes, una para alimentar a los recipientes de MTBE y de hexano y la otra para alimentar un humidificador. Las corrientes conteniendo a los solventes fueron previamente mezcladas. Posteriormente este flujo de aire contaminado con vapores de MTBE y hexano fue mezclado con el flujo de aire saturado con agua y finalmente alimentado al biofiltro. La humedad y los nutrientes dentro del biofiltro fueron controlados agregando una solución de sales minerales empleando una bomba peristáltica y una esprea. El esquema del dispositivo experimental se muestra en la Figura 11.



**Figura 11. Sistema de biofiltración:** 1, compresor; 2, humidificador; 3, válvula de bola; 4, válvula de aguja; 5, contenedores de MTBE y hexano; 6, mezclador; 7, válvula de tres vías; 8, esprea; 9, biofiltro; 10, recipiente de medio mineral; 11, bomba peristáltica; 12, venteo.

Se decidió trabajar con el soporte perlita (diámetro de partícula, 2.36 mm) dados los resultados obtenidos en el primer experimento de biofiltración. Las condiciones de operación de arranque del sistema fueron las que se presentan en la Tabla 2.4.2.

Se empleó un inóculo fresco con un contenido de proteína de 19 mg proteína L<sup>-1</sup> medido de acuerdo al método de Lowry; posteriormente, éste se mezcló con el soporte sólido en un ambiente estéril generando una biomasa inicial de 8.8 mg biomasa g<sup>-1</sup> soporte seco, según el método de peso seco y termogravimetría.

Tabla 2.4.2. Condiciones de operación del biofiltro de 2.5 L.

<b>Condiciones generales</b>	
Volumen útil de biofiltro	2.5 L
Diámetro interno	0.056 m
Flujo de aire	0.3 L min <sup>-1</sup>
Carga de entrada (hexano)	15 hasta 50 g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>
Carga de entrada (MTBE)	10 hasta 30 g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>
Temperatura	30 ± 2 °C
Tiempo de residencia	8.33 min.
pH	6.84
Humedad	52.5%
Densidad de empaque	164 g perlita seca L <sup>-1</sup>
Masa de perlita húmeda	862.6 g

### 2.4.3. Acondicionamiento de la fase gaseosa

#### 2.4.3.1. Aire húmedo

El aire fue suministrado por un compresor (Sears Craftsman modelo 919.153131) de 3 HP con una capacidad para generar un flujo de 241 L min<sup>-1</sup> en condiciones estándar. El flujo de aire fue controlado con un regulador de presión (Micro QB 0, Modelo 0.103.002.322, Estados Unidos), una válvula de aguja y medido con un rotámetro. Posteriormente, esta corriente de aire fue saturada con agua al hacerla pasar a través de un humidificador. Después se midió la

humedad relativa de este flujo con un medidor de humedad relativa capacitivo (Humicor, Estados Unidos), la cual fue del 99 % (Figura 10).

#### 2.4.3.2. Metil ter-butil éter

Para el primer experimento de biofiltración (Figura 9), los vapores de MTBE se obtuvieron haciendo burbujear aire en un contenedor de MTBE utilizando una bomba peristáltica (Cole Parmer Instrument Co., Modelo 7519-10, Estados Unidos). En los siguientes dos experimentos de biofiltración (Figura 10), se burbujeó un flujo de aire controlado por un regulador de presión y una válvula de aguja y medido con un rotámetro, en un recipiente con MTBE.

#### 2.4.3.3. Hexano

Para obtener los vapores de hexano se hizo el mismo procedimiento que en el caso del MTBE. Posteriormente, se mezclaron las tres corrientes (hexano, MTBE y aire húmedo), se alimentaron a un distribuidor y se enviaron a través de los lechos empacados de los biofiltros (Figuras 10 y 11).

##### A) Características fisicoquímicas del Hexano

Las características físicas y químicas de este compuesto son de fundamental importancia para entender los fenómenos de transporte de materia y de reacción química que tienen lugar en los biofiltros. Las propiedades principales del hexano se resumen en la Tabla 2.4.3.

Tabla 2.4.3. Propiedades físicas y químicas del Hexano.

Propiedad	
Formula Molecular	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	86.18
Densidad a 25 °C (g cm <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>	0.66
Temperatura de ebullición a 760 mmHg (°C) <sup>a</sup>	69
Presión de vapor a 25 °C (mmHg) <sup>a</sup>	150
Solubilidad en agua a 25 °C (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	9.5
Constante de la ley de Henry a 25 °C (bar m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>	1.315
Coefficiente de partición a 25 °C (H/RT)	80.5

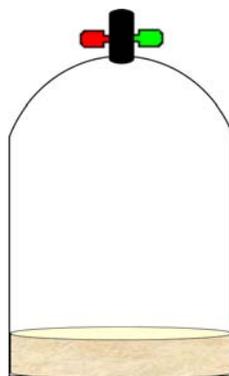
FUENTE: <sup>a</sup>Rafson, H. J. Odor and VOC Control Handbook, Mc Graw Hill, E.U.A., <sup>b</sup>Chemfinder Database, <sup>c</sup>NIST Database.

---

#### 2.4.4. Sistemas en lote (microcosmos)

Una primera serie de experimentos en ambiente cerrado consistió en evaluar las tasas de degradación de hexano y de MTBE con muestras de perlita de los biofiltros de 0.5 L. Se tomó 1 g de perlita y se colocó en botellas serológicas de 162 ml selladas con válvulas Mininert (VICI; Baton Rouge, LA). Se hicieron experimentos por duplicado con muestras de cada una de las columnas empacadas con perlita. Un experimento se hizo con soporte sólo, otro con soporte y 10 ml de medio mineral y finalmente otro con soporte y 10 ml de agua. Los microcosmos se incubaron a una temperatura de 30 °C y a una velocidad de agitación de 120 rpm. Se alimentaron 2 µl de MTBE y 2 µl de hexano a cada una de las botellas.

También se hicieron experimentos en lote con muestras del biofiltro de 2.5 L con el objetivo de evaluar las tasas de degradación de hexano, MTBE y TBA. Los experimentos fueron hechos en botellas serológicas de 162 ml selladas con válvulas Mininert, Figura 12. Se agregaron 2 g de perlita en el caso de los microcosmos en medio sólido y 1 g de perlita y 25 ml de medio mineral para los microcosmos en medio líquido. Se adicionaron 2 µL de hexano y 2 µl de MTBE para una serie de experimentos y 2 µl de hexano y 2 µl de TBA para otra serie de experimentos. Las botellas se incubaron a una temperatura de 30 °C y a una velocidad de agitación de 120 rpm. Las tasas máximas de degradación ( $V_{MAX}$ ) fueron obtenidas ajustando los datos experimentales al modelo de Gompertz, tal como lo reportan Acuña y col.<sup>96</sup>. Éste se describe en el Anexo I.



**Figura 12.** Botella serológica empleada en los experimentos de microcosmos.

---

## 2.5. Procedimientos analíticos

### 2.5.1. Concentración de metil ter-butil éter y hexano en fase gaseosa

Las concentraciones de hexano y de MTBE se determinaron utilizando un cromatógrafo de gases. Se tomó una muestra de 250  $\mu\text{l}$  y de 100  $\mu\text{l}$  de fase gaseosa para el análisis de las concentraciones en los biofiltros y en los microcosmos respectivamente utilizando una jeringa para gases (Hamilton Company; Reno, Nevada; Estados Unidos). Se empleó un cromatógrafo de gases provisto de un detector de ionización de flama (Hewlett Packard 5890, Estados Unidos) y una columna capilar de metil silicón (30 m X .32 mm y .25  $\mu\text{m}$  de espesor de película). Como gas acarreador se usó nitrógeno con un flujo de 1.6  $\text{ml min}^{-1}$ . Las condiciones de operación fueron: inyector, 180 °C; columna, 50 °C; y detector, 210 °C.

Las concentraciones de hexano y de MTBE, en los siguientes experimentos de biofiltración (segundo y tercero), se evaluaron utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies serie 6890N, Estados Unidos) equipado con un detector de ionización de flama (DIF, por sus siglas en español) y una columna capilar AT<sup>TM</sup>-WAX de (25 m X .25 mm de diámetro interno y .20  $\mu\text{m}$  de espesor de película). Como gas acarreador se usó helio con un flujo de 0.5  $\text{ml min}^{-1}$ . Las temperaturas de operación fueron: inyector, 200 °C; columna, 60 °C; y detector, 250 °C.

### 2.5.2. Concentración de metil ter-butil éter y alcohol terbutílico en fase líquida

Las concentraciones de MTBE y TBA en fase líquida se cuantificaron utilizando un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5890, Estados Unidos) provisto de un detector de ionización de flama y de una columna capilar (Alltech, Estados Unidos) AT-1000 (10 m X .53 mm y 1.2  $\mu\text{m}$ ). Como gas acarreador se usó nitrógeno con un flujo de 4  $\text{ml min}^{-1}$ . Las condiciones de operación fueron: inyector, 150 °C; columna, 50 °C; y detector, 180 °C.

---

### 2.5.3. Producción de dióxido de carbono

Las concentraciones de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>, en los primeros experimentos en ambiente cerrado (microcosmos), se cuantificaron con un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica (GOW MAC serie 550, Estados Unidos) y una columna concéntrica CTR-I, (Alltech, Estados Unidos) con helio como gas acarreador a un flujo de 65 ml min<sup>-1</sup>. Las temperaturas de operación fueron: inyector, 30 °C; columna, 30 °C; y detector, 70 °C. La corriente del detector fue fijada en 150 mA.

La concentración de CO<sub>2</sub>, en los siguientes experimentos, fue determinada con el mismo cromatógrafo de gases con el que se midieron las concentraciones de MTBE y hexano en fase gaseosa (Agilent Technologies serie 6890N, Estados Unidos) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna porapak Q 80/100 (6' X 1/8" SS) usando helio como gas acarreador con un flujo de 4 ml min<sup>-1</sup>. Las condiciones de operación fueron: inyector, 110 °C; columna, 60 °C; y detector, 160 °C.

### 2.5.4. Caída de presión

La caída de presión se monitoreó utilizando un manómetro de tubo en U con H<sub>2</sub>O como líquido manométrico.

### 2.5.5. Flujo

El flujo fue medido periódicamente con un burbujómetro y un rotámetro (Cole Parmer Instrument Co., Modelo 32047-23, Estados Unidos) para fijarlo, en el caso de las columnas de 0.5 L en 100 ml min<sup>-1</sup>, y en el reactor de 2.5 L en 300 ml min<sup>-1</sup>.

### 2.5.6. pH

El pH de los lixiviados del reactor así como el pH de los soportes antes y después de inocularse se midió con un potenciómetro (Conductronic 20, México).

---

### 2.5.7. Humedad

La humedad al inicio y al final de los experimentos de biofiltración se cuantificó por análisis termogravimétrico diferencial con un equipo TG-DTA (SPA-409EP NETZSCH, España) y por cálculo de los sólidos suspendidos volátiles al cuantificar la pérdida de peso. Se tomó una muestra representativa de los biofiltros, así como los pesos inicial ( $W|_{25^{\circ}C}$ ) y final ( $W|_{100^{\circ}C}$ ), es decir, antes y después de secar con una estufa (Industrias Technicare, S.A., Naucalpan, Edo. de México) durante 24 h a 100 °C. La humedad se calculó como:

$$Humedad(\%) = \left( \frac{W|_{25^{\circ}C} - W|_{100^{\circ}C}}{W|_{25^{\circ}C}} \right) \times 100 \quad \text{ec. 1}$$

Para la determinación del contenido de humedad en el biofiltro de 2.5 L, éste fue dividido en cuatro módulos (MI, MII, MIII y MIV).

### 2.5.8. Biomasa

La biomasa al igual que la humedad se cuantificó por análisis termogravimétrico diferencial utilizando un equipo TG-DTA (SPA-409EP NETZSCH, España) y por el método de peso seco o sólidos volátiles (SV)<sup>100</sup> ya que la biomasa no se encuentra suspendida sino adherida al soporte sólido. Se tomó el peso de la muestra después del secado en la estufa donde se consideró que se había perdido toda la humedad del soporte y posteriormente se hizo un calcinado en una mufla durante 2 h a 550 °C para remover todo el contenido de materia orgánica, se pesó y se calculó la biomasa como:

$$Biomasa = \frac{W|_{100^{\circ}C} - W|_{550^{\circ}C}}{W|_{550^{\circ}C}} = \frac{g_{biomasa}}{g_{soporte-seco}} \quad \text{ec. 2}$$

La biomasa no fue cuantificada en el caso de la turba debido al contenido de microorganismos nativos en la misma. En el caso de la perlita la cuantificación de ésta si fue posible. No existe ninguna interferencia dado que este soporte no contiene microorganismos propios a su origen.

La cuantificación del contenido de biomasa en el biofiltro de 2.5 L se realizó en los cuatro módulos en los que fue dividido.

---

### 2.5.9. Proteína

La cuantificación de proteína se hizo por medio del método de Lowry<sup>99</sup> utilizando un Kit de Biorad, el cual, posee un límite máximo de detección de 250 mg L<sup>-1</sup>.

El primer paso fue hacer una curva de calibración usando como estándar el suero de albúmina bovina. Se leyó la absorbancia, a 750 nm de longitud de onda, de una concentración conocida de proteína con un espectrómetro (UV/Vis Lambda 11, Perkin Elmer, Alemania) y se construyó la curva que relacionó ambas variables.

Para la preparación de la muestra se tomó una alícuota de 1 ml de inóculo o muestra de medio mineral con células, y se centrifugó durante 10 min. a 14,000 rpm, posteriormente se retiró el sobrenadante y se procedió a hacer la digestión. Se adicionó 1 ml de sosa 0.2 N al pellet residual y se hirvió durante 15 min., se enfrió y se tomó una muestra de 200 µL de la solución con células digeridas. Se agregaron los reactivos de Fouling, 100 µL del reactivo A y 800 µL del reactivo B, se agitó en el vórtex para homogeneizar y se guardó en la oscuridad durante 15 min. para finalmente medir en el espectrómetro. Se preparó un blanco de sosa de igual manera.

La cuantificación del contenido de proteína, al igual que el de humedad y biomasa, se realizó en los cuatro módulos en los se dividió el biofiltro de 2.5 L.

### 2.5.10. Análisis elemental (CHONS)

Se hizo el análisis elemental de una muestra de perlita cubierta de biopelícula extraída del biofiltro, con el objeto de obtener la composición de la biomasa presente. Se corrió un blanco con perlita seca sin microorganismos. Para ello se utilizó un analizador elemental (CHNS/O Analyser, Series II, 2400 Perkin Elmer, Estados Unidos) que utiliza helio a 60 lbs plg<sup>-2</sup>, oxígeno a 20 lbs plg<sup>-2</sup> y argón a 15 lbs plg<sup>-2</sup>. El equipo se calibró utilizando acetanilida (Norwak, CT 06859, Estados Unidos) como estándar orgánico analítico de composición: Carbono, 71.09 %; Hidrógeno, 6.71 %; Oxígeno, 11.84 %; Nitrógeno, 10.36 % y -COCH<sub>3</sub>, 31.85 %.

---

### 2.5.11. Contenido de carbono orgánico e inorgánico

Se cuantificó el carbono orgánico e inorgánico presente en los lixiviados del biofiltro con el fin de cerrar los balances de carbono. Se hicieron determinaciones del carbono total entendiéndose éste como la suma del carbono orgánico más el carbono inorgánico, utilizándose para ello un analizador de carbono orgánico total (Shimadzu 5000 A, Estados Unidos).

$$TC = TOC + IC \quad \text{ec. 3}$$

donde,

$TC$  = Carbono total en ppm

$TOC$  = Carbono orgánico en ppm

$IC$  = Carbono inorgánico en ppm

Para la determinación del carbono total se usó un volumen de inyección de 32  $\mu\text{l}$  y para el carbono inorgánico se utilizó un volumen de inyección de 13  $\mu\text{l}$ ; se hicieron mediciones por duplicado en cada uno de los casos. Se construyeron curvas de calibración empleando una solución estándar de carbonato y bicarbonato de sodio desde una concentración de 0 ppm hasta una concentración de 500 ppm para el caso de carbono total y de 0 ppm hasta 50 ppm para el carbono inorgánico. Las condiciones de operación fueron: temperatura del horno, 680 °C y temperatura del deshumidificador, 1.1 °C. El carbono orgánico se determinó por la diferencia entre el carbono total y el carbono inorgánico.

## 2.6. Experimentos de biofiltración

### 2.6.1. Definiciones

#### 2.6.1.1. Carga

La carga del reactor es un parámetro que nos indica la cantidad de contaminante que estamos alimentando al sistema, es decir, son los gramos de contaminante de entrada por unidad de volumen de reactor y por unidad de tiempo. Se calcula como:

$$Carga = \left( \frac{C_{g_{ent,i}}}{V_{reactor}} \right) \times Flujo_{aire} \quad \text{ec. 4}$$

---

donde,

$Carga =$  Carga de entrada al reactor, en  $g\ m^{-3}\ reactor\ h^{-1}$ .

$Cg_{ent,i} =$  Concentración de entrada del compuesto i en fase gaseosa, en  $g\ m^{-3}$ .

$V_{reactor} =$  Volumen del reactor, en  $m^3$ .

$Flujo_{aire} =$  Flujo de aire, en  $m^3\ h^{-1}$ .

### 2.6.1.2. Capacidad de eliminación

La capacidad de eliminación (CE) del compuesto i está definida como los gramos de contaminante divididos entre el volumen del reactor y por unidad de tiempo. La cantidad de contaminante removido en un sistema de biofiltración se expresa generalmente con este parámetro, y se calcula de la siguiente forma:

$$CE = \left( \frac{Cg_{ent,i} - Cg_{sal,i}}{V_{reactor}} \right) x Flujo_{aire} \quad \text{ec. 5}$$

donde,

$CE =$  Capacidad de eliminación del reactor, en  $g\ m^{-3}\ reactor\ h^{-1}$ .

$Cg_{ent,i} =$  Concentración de entrada del compuesto i en fase gaseosa, en  $g\ m^{-3}$ .

$Cg_{sal,i} =$  Concentración de salida del compuesto i en fase gaseosa, en  $g\ m^{-3}$ .

$V_{reactor} =$  Volumen del reactor, en  $m^3$ .

$Flujo_{aire} =$  Flujo de aire, en  $m^3\ h^{-1}$ .

### 2.6.1.3. Eficiencia de remoción

La eficiencia de remoción (ER) es otro parámetro importante que nos indica el desempeño del biofiltro. Es un parámetro referido como porcentaje que se calcula de la siguiente manera:

$$ER = 100x \left( \frac{Cg_{ent,i} - Cg_{sal,i}}{Cg_{ent,i}} \right) \quad \text{ec. 6}$$

donde,

$ER =$  Eficiencia de remoción del reactor, en %.

$Cg_{ent,i} =$  Concentración de entrada del compuesto i en fase gaseosa, en  $g\ m^{-3}$ .

---

$C_{g,sal,i}$  = Concentración de salida del compuesto i en fase gaseosa, en  $\text{g m}^{-3}$ .

## 2.6.2. Experimentación

### 2.6.2.1. Variación de la carga

#### A) Experimento de biofiltración 1

En el primer sistema de biofiltración, Figura 9, se hizo un experimento de aproximadamente 40 días de duración en donde se probaron diversas cargas de entrada haciendo variar las concentraciones tanto de hexano como de MTBE. Este experimento se hizo con el fin de apreciar la respuesta de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ante diferentes concentraciones de contaminantes (MTBE y hexano) y evaluar sus tasas de remoción. Los cambios se hicieron de manera paulatina dejando al sistema varios días en la misma carga. Para el hexano se probaron cargas, del día 0 al día 6, de  $32 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 7 al día 11, de  $42 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 12 al día 18, de  $89 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y del día 19 al día 40, de  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . En el caso del MTBE sólo se hicieron tres variaciones de carga, del día 0 al día 11, de  $16 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 12 al día 21, de  $73 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y del día 22 al día 40, de  $76 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

#### B) Experimento de biofiltración 2

En el biofiltro de 2.5 L (Figura 10), se corrió un experimento de 98 días, variando las concentraciones de entrada de MTBE y de hexano a lo largo del periodo de operación del sistema. Este experimento se hizo con el fin de evaluar las tasas de eliminación de MTBE y hexano así como analizar ciertas variables que influyen en el comportamiento de los biofiltros. Para el MTBE las cargas probadas fueron, del día 0 al día 12, de  $25 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 13 al día 36, de  $11.4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 37 al día 63, de  $18 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y del día 64 al día 98, de  $35 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Para el hexano las cargas probadas fueron, del día 0 al día 17, de  $53 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 18 al día 36, de  $14 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ; del día 37 al día 50, de  $49 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y del día 51 al día 63, de  $26 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Posteriormente, a partir del día 64, se iniciaron unos experimentos de carga contra CE dejando estabilizar el sistema dos días entre cada cambio de carga y correspondiente lectura de CE. Cabe señalar que se

---

hicieron dos experimentos de este tipo, uno entre los días 64 y 74 y otro entre los días 78 y 98 de operación.

### 2.6.2.2. Fenómenos de adsorción de hexano y MTBE sobre perlita y turba

#### A) En experimentos en lote

Los estudios de adsorción se hicieron en botellas serológicas de 162 ml selladas con válvulas Mininert (VICI; Baton Rouge, LA) colocándolas en una cámara de temperatura controlada a 30 °C. Se introdujo 1 g de turba o perlita a cada botella y diversas cantidades de hexano y MTBE haciendo experimentos por duplicado. Se midió la concentración en la fase gaseosa a través del tiempo hasta alcanzar el equilibrio de adsorción por cromatografía de gases muestreando 100 µl con una jeringa para gases (Hamilton Company; Reno, Nevada). Las concentraciones de hexano y MTBE adsorbidas se calcularon por balance de materia y se ajustaron a un modelo de Langmuir y de Freundlich. Las ecuaciones para estos dos modelos son las siguientes:

$$\text{Isotherma de Langmuir:} \quad q = \frac{K_1 C_{ent}}{K_2 + C_{ent}} \quad \text{ec. 7}$$

$$\text{Isotherma de Freundlich:} \quad q = k_f C_{ent}^n \quad \text{ec. 8}$$

Donde  $K_1$  y  $K_2$  son las constantes del modelo de Langmuir, y  $k_f$  y  $n$  son los parámetros del modelo de Freundlich.

Para determinar los valores correspondientes de estos parámetros, se linealizan las ecuaciones y se grafican las relaciones para obtener las pendientes e interceptos.

Linealizando resulta,

$$\frac{C_{ent}}{q} = \left( \frac{K_2}{K_1} \right) + \left( \frac{1}{K_1} \right) C_{ent} \quad \text{ec. 9}$$

$$\ln q = n \ln C_{ent} + \ln k_f \quad \text{ec. 10}$$

De aquí se despejan los parámetros de los modelos de Langmuir y de Freundlich, respectivamente.

---

## B) En biofiltro

La cantidad de hexano y de MTBE adsorbido  $q$  (g de contaminante  $m^{-3}$  de lecho húmedo) en biofiltro, se determinó graficando las curvas de rompimiento para dos diferentes concentraciones de entrada de hexano y de MTBE, de  $3.8 g m^{-3}$  y  $24 g m^{-3}$  y de  $1.9 g m^{-3}$  y  $6.1 g m^{-3}$ , respectivamente. Se empleó un reactor de 2.5 L empacado con perlita con un tiempo de residencia de 8.33 minutos. Se fijaron las concentraciones de entrada de hexano y de MTBE. Posteriormente se interrumpió la alimentación de solventes y se midió la concentración a la salida del lecho para ver su evolución a través del tiempo.

La metodología empleada para calcular la cantidad adsorbida en el soporte fue la utilizada por Delhoménie y col.<sup>41</sup>. El tiempo estequiométrico ( $t$ , s) relacionado a la dinámica de adsorción es definido a partir de datos experimentales de acuerdo con Ruthven<sup>101</sup> (1984):

$$t = \int_0^{\infty} \left( 1 - \frac{C(t)}{C_{ent}} \right) dt \quad \text{ec. 11}$$

donde,

$C_{ent}$  = Concentración de solvente a la entrada en  $g m^{-3}$ .

$C(t)$  = Evolución de la concentración a la salida del biofiltro en el tiempo en  $g m^{-3}$ .

$t$  = Tiempo en s.

Este tiempo también está relacionado con la cantidad adsorbida en el lecho en el equilibrio,  $q$ , de la siguiente manera, Ruthven<sup>101</sup>.

$$t = \frac{L}{v_i} \left( 1 + \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{q}{C_{ent}} \right) \quad \text{ec. 12}$$

donde,

$L$  = Altura del lecho en m.

$v_i$  = Velocidad intersticial del aire en  $m s^{-1}$ .

$\varepsilon$  = Porosidad del lecho húmedo, en nuestro caso, 0.752.

Combinando las dos ecuaciones anteriores, se obtiene la cantidad de contaminante adsorbido en la superficie de las partículas en el equilibrio.

---


$$q = \frac{1}{1000 \rho V_{lecho} (1 - \varepsilon)} X \left( \varepsilon Q \int_0^{\infty} (C_{ent} - C(t)) dt - \varepsilon V_{lecho} C_{ent} \right) \quad \text{ec. 13}$$

donde,

$q$  = Contaminante adsorbido en las partículas en g contaminante g de lecho húmedo<sup>-1</sup>.

$\rho$  = Densidad de empaque en kg m<sup>-3</sup> de lecho húmedo

$V_{lecho}$  = Volumen del lecho empacado en m<sup>3</sup>.

$Q$  = Flujo de aire en m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>.

Los datos experimentales de hexano y de MTBE adsorbido en el biofiltro, a dos diferentes concentraciones y calculados a partir de la ecuación anterior, se presentan en el capítulo de resultados y discusión.

### 3.6.2.3. Permeabilidad relativa intrínseca

Durante el crecimiento microbiano en un lecho empacado,  $k$  varía debido a cambios en la fracción vacía en el lecho; cambios de  $V_s$  debido a la adsorción o desorción de agua, producción de agua por reacción, consumo del soporte, si éste es orgánico, y producción de biomasa. El volumen total del lecho también puede cambiar debido al empacado o hinchamiento. Estos cambios afectan al diámetro de partícula y a la tortuosidad del lecho. No obstante, si la fase sólida, volumen total del lecho, y contenido de agua permanecen constantes, la reducción de la porosidad del lecho sólo se debe al incremento de biomasa que reduce el volumen ocupado por la fase gaseosa. De manera que  $k$  es una medida indirecta del crecimiento de los microorganismos en el lecho.

Haciendo esta consideración, las siguientes ecuaciones permiten calcular la permeabilidad relativa intrínseca en el biofiltro al inicio y al final de su operación. La metodología empleada para calcular la permeabilidad relativa intrínseca fue la utilizada por Auria y col.<sup>102</sup>. En su trabajo, estos autores plantean que en el flujo de fluidos a través de un lecho poroso existen fenómenos cinéticos y viscosos. La caída de presión, ( $\Delta P$ ), a través del lecho está ligada a la velocidad superficial del fluido por medio de la ecuación de Ergun:

---

$$\frac{\Delta P}{L} = \alpha U + \beta U^2 \quad \text{ec. 14}$$

donde,

$\Delta P$  = Caída de presión entre la entrada y la salida del lecho poroso, en cm.

$L$  = Longitud del lecho, en cm.

$Q$  = Velocidad volumétrica de flujo, en  $\text{cm}^3 \text{s}^{-1}$ .

$A$  = Área transversal del lecho, en  $\text{cm}^2$ .

$U = \frac{Q}{A}$  = Velocidad superficial del fluido, en  $\text{cm s}^{-1}$ .

$\alpha$  y  $\beta$  = Constantes de proporcionalidad.

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

Asimismo, el flujo del fluido a través del soporte puede describirse con el No. de Reynolds de partícula:

$$N'_{\text{Re}} = \frac{\rho U D_p}{\mu} \quad \text{ec. 15}$$

donde,

$N'_{\text{Re}}$  = Número de Reynolds de partícula.

$\rho$  = Densidad del fluido, en  $\text{g cm}^{-3}$ .

$D_p$  = Diámetro de partícula, en cm.

$\mu$  = Viscosidad del fluido, en  $\text{g cm}^{-1} \text{s}^{-1}$ .

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

$$\frac{\Delta P}{L} = \alpha U = \left( \frac{1}{K} \right) U \quad \text{ec. 16}$$

donde  $K$  es la conductividad hidráulica.

Cabe mencionar que esta ecuación es válida para líquidos con densidad constante. Sin embargo, si el fluido es un gas, la ecuación puede usarse

---

tomando en consideración una densidad promedio del gas entre la entrada y la salida.

La conductividad hidráulica puede relacionarse con la permeabilidad relativa intrínseca,  $k$ , definida como:

$$k = \frac{K\mu}{\rho_w g} \quad \text{ec. 17}$$

donde,

$\rho_w$  = densidad del agua, en  $\text{g cm}^{-3}$ .

$g$  = Aceleración de la gravedad, en  $\text{cm s}^{-2}$ .

En trabajos previos, la ecuación de Darcy ha sido justificada teóricamente en modelos porosos simples<sup>103</sup>, donde la permeabilidad intrínseca se ha definido como:

$$k = \frac{\varepsilon^3 D_p^2}{72t^2(1-\varepsilon)^2} \quad \text{ec. 18}$$

donde,

$t$  = factor de tortuosidad, 1.58 para esferas.

$\varepsilon$  = fracción vacía en el lecho,  $\varepsilon = 1 - \frac{V_s}{V_t}$ .

$V_t$  = volumen total del reactor, en  $\text{cm}^3$ .

$V_s$  = volumen ocupado por el sólido, en  $\text{cm}^3$ .

$V_s$  incluye el volumen ocupado por el agua, el soporte sólido y los microorganismos.

Al final de la operación del segundo experimento de biofiltración (reactor de 2.5 L), se desempacó el lecho y se reempacó una porción del mismo en una columna de vidrio de dimensiones similares a las del reactor. Se pesó la cantidad de muestra empacada y se llenó con agua hasta el límite donde se encontraba el soporte, se midió la cantidad de agua que llenaba el espacio vacío, y se calculó la porosidad en el lecho. Dicho parámetro se utilizó para calcular la permeabilidad relativa intrínseca.

---

También se hicieron mediciones de caída de presión en función de la velocidad superficial del gas al final de la operación del tercer experimento de biofiltración. Se aplicó la metodología descrita y se obtuvo el valor de  $k$ . Los valores calculados a partir de los datos experimentales se presentan en el capítulo de resultados y discusión.

#### 2.5.2.4. Microscopía electrónica de barrido

Para realizar las observaciones al microscopio electrónico de barrido se tomaron muestras al final de la operación de los biofiltros de 0.5 L al igual que del reactor de 2.5 L. Los microorganismos fueron fijados con una solución de glutaraldehído, posteriormente lavados con una solución buffer de fosfatos 0.1M y una solución de tetraóxido de osmio ( $\text{OsO}_4$ ) al 1 % para posteriormente ser deshidratados gradualmente con mezclas desde 30 hasta 100 % de acetona en agua durante 20 minutos en cada paso. Las muestras fueron secadas en un desecador al punto crítico (Samdri-780, Tousimis Research Corp., Rockville MD) y recubiertas con oro para su observación al microscopio electrónico de barrido digital (JSM-5900 LV; Jeol, Japón) utilizando un voltaje acelerado de 13kV. Las muestras fueron observadas en diferentes posiciones y se tomaron varias micrografías electrónicas.

#### 2.6.2.5. Distribución de tiempos de residencia

El tiempo de residencia en el biofiltro fue determinado por medio de la técnica estímulo-respuesta. En este tipo de experimentos se estimula al sistema aplicando una perturbación, en este caso, un pulso de un gas trazador, y se observa como responde a este estímulo. Se obtiene una curva que representa la distribución de edades en el reactor, entendiéndose como edad de un elemento, el tiempo que dicho elemento permaneció en el reactor.

El tiempo medio de residencia puede ser determinado por, Levenspiel<sup>104</sup> :

---


$$\bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} tCdt}{\int_0^{\infty} Cdt} \cong \frac{\sum t_i C_i \Delta t_i}{\sum C_i \Delta t_i} \quad \text{ec. 19}$$

La siguiente magnitud descriptiva, en orden de importancia, es la amplitud de la distribución, que comúnmente se mide por la varianza  $\sigma^2$ , definida como<sup>104</sup>:

$$\sigma^2 = \frac{\sum t_i^2 C_i}{\sum C_i} - \bar{t}^2 = \frac{\sum t_i^2 C_i}{\sum C_i} - \left[ \frac{\sum t_i C_i}{\sum C_i} \right]^2 \quad \text{ec. 20}$$

La varianza representa el cuadrado de la amplitud de la distribución y sus dimensiones son (tiempo)<sup>2</sup>. Según señala Levenspiel<sup>104</sup>, es particularmente útil para comparar curvas experimentales con una curva de una familia de curvas teóricas.

Se probaron dos diferentes flujos de aire, 200 ml min<sup>-1</sup> y 300 ml min<sup>-1</sup> para ver la influencia de la velocidad del fluido en la dispersión en el biofiltro. Se inyectó un pulso conocido de helio en la parte superior del reactor (4.117 cm<sup>3</sup> de He a T=298.15 K y P=1 atm). A la salida de éste se conectó un detector de conductividad térmica (DCT, por sus siglas en español), el cual registró la diferencia de conductividades térmicas entre el aire ( $k_{aire}|_{25^\circ C} = 0.0257 Wm^{-1} K^{-1}$ ) y el helio ( $k_{He}|_{25^\circ C} = 0.1513 Wm^{-1} K^{-1}$ ) como una función del tiempo.

La información obtenida con el trazador se empleó para conocer el grado de dispersión axial en el reactor de lecho empacado y se modeló de acuerdo a un modelo de dispersión.

El modelo de dispersión o modelo de flujo disperso en pistón implica que no existen zonas muertas ni hay desviaciones o cortocircuitos del fluido en el recipiente, sino que hay fluctuaciones debidas a velocidades de flujo diferentes y a la difusión molecular y turbulenta.

La ecuación diferencial básica que representa este modelo, en forma adimensional es:

$$\frac{\partial C}{\partial \theta} = \left( \frac{D}{uL} \right) \frac{\partial^2 C}{\partial Z^2} - \frac{\partial C}{\partial Z} \quad \text{ec.21}$$

---

donde,

$C =$  Concentración en el reactor en el tiempo  $\theta$  y posición  $Z$ .

$\left(\frac{D}{uL}\right) =$  Módulo de dispersión del recipiente.

$Z = \frac{x}{L} =$  Variable adimensional que indica la posición axial.

$\theta = \frac{t}{\bar{t}} = \frac{tu}{L} =$  Tiempo adimensional.

En general, este modelo representa satisfactoriamente el flujo cuando no se desvía demasiado del de flujo en pistón, como en lechos de relleno y tuberías largas si el flujo es laminar.

Si  $\left(\frac{D}{uL}\right) \rightarrow 0$  se tiene dispersión despreciable y se tiende a flujo en pistón.

Si  $\left(\frac{D}{uL}\right) \rightarrow \infty$  se tiene dispersión grande y se tiende a flujo en mezcla completa.

La solución de esta ecuación diferencial cuando se utiliza un método de flujo para medir los tiempos de residencia, es la siguiente<sup>104</sup>:

$$C_{\theta} = \frac{1}{2\sqrt{\pi\theta\left(\frac{D}{uL}\right)}} \exp\left[-\frac{(1-\theta)^2}{4\theta\left(\frac{D}{uL}\right)}\right] \quad \text{ec. 22}$$

donde,

$C_{\theta} = \frac{C}{C_0} =$  Concentración adimensional con respecto a la concentración inicial.

$\left(\frac{D}{uL}\right) =$  Parámetro que mide el grado de dispersión axial.

De acuerdo a esta ecuación, se obtuvo una familia de curvas de distribución de tiempos de residencia teóricas que se compararon con las curvas experimentales.

---

## 2.7. Experimentos cinéticos

### 2.7.1. Experimentos con soporte sólido

#### 2.7.1.1. Con soporte sólido sólo

Una primera parte de los experimentos consistió en evaluar las tasas de degradación de hexano y de MTBE ajustando los datos experimentales de acuerdo al modelo de Gompertz<sup>96</sup>. Para ello se tomaron muestras de perlita de los biofiltros de 0.5 L del día 29 de operación. También se hicieron experimentos en lote con muestras de perlita del biofiltro de 2.5 L del día 51 de operación y con muestra de perlita entera y perlita molida del día 98 de operación. En todos los experimentos cinéticos se mantuvo una temperatura de 30 °C y una agitación de 120 rpm.

#### 2.7.1.2. Con soporte sólido y agua

Los experimentos de microcosmos se hicieron con muestras de perlita de los biofiltros de 0.5 L del día 29 de operación bajo las mismas condiciones que en el caso del soporte sólido sólo, pero agregando agua para estudiar la influencia de esta variable sobre las tasas de degradación de MTBE y hexano.

#### 2.7.1.3. Con soporte sólido y medio mineral

Estos experimentos en ambiente cerrado se hicieron con el objeto de estudiar el efecto del medio mineral en las tasas de degradación de MTBE y hexano y ver si había limitación por nutrientes. Los experimentos se realizaron con muestras de perlita de los biofiltros de 0.5 L bajo las mismas condiciones que en el caso del soporte sólido sólo, pero agregando medio de cultivo.

---

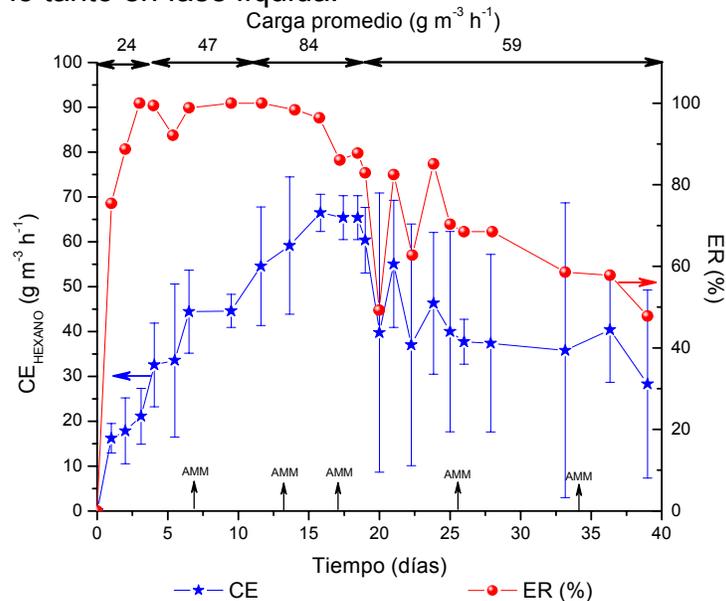
## Capítulo 3. Resultados y discusión

### 3.1. Experimento de biofiltración 1

#### 3.1.1. Desempeño de los reactores

A) Evolución de la capacidad de eliminación y eficiencias de remoción para el hexano y MTBE

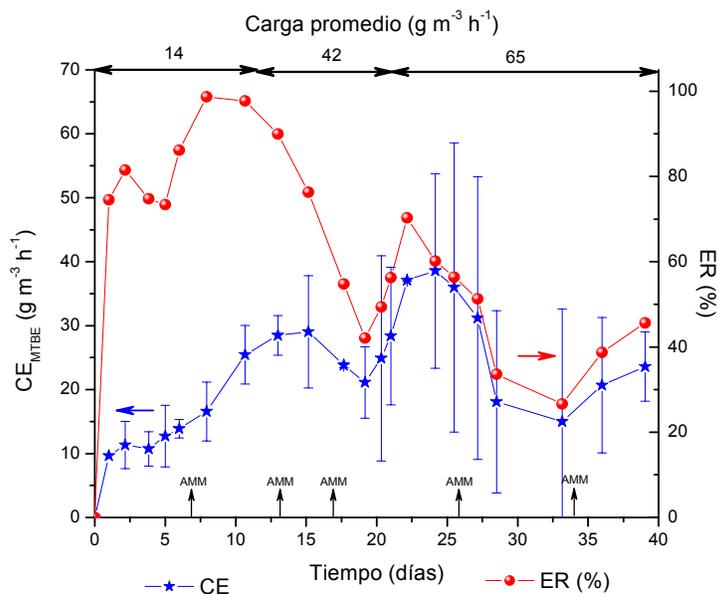
Se realizó un primer experimento de biofiltración en donde se probaron dos soportes, turba y perlita. Se hicieron experimentos por triplicado. Los biofiltros 1, 3 y 5 se empacaron con perlita y los biofiltros 2, 4 y 6 se empacaron con turba. Se evaluaron las capacidades de eliminación ( $CE = ((C_{g_{ent,i}} - C_{g_{sal,i}}) \times \text{Flujo}_{\text{aire}}) / V_{\text{reactor}}$ ) y las eficiencias de remoción ( $ER = 100 \times (C_{g_{ent,i}} - C_{g_{sal,i}}) / C_{g_{ent,i}}$ ) tanto para el hexano como para el MTBE a diferentes cargas de entrada de contaminante (Carga =  $(C_{g_{ent,i}} \times \text{Flujo}_{\text{aire}}) / V_{\text{reactor}}$ ). Los resultados obtenidos para los biofiltros empacados con perlita se muestran en las Figuras 13 y 14. En la Figura 13 se presenta la evolución de la CE y ER de hexano durante los 40 días de operación del sistema. Se alcanzó una  $CE_{\text{MÁX}}$  de hexano de  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y una ER de 80 %. Esta CE fue sostenida durante aproximadamente 7 días. Sin embargo, a partir del día 20, la CE disminuyó hasta  $35 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  debido probablemente a un exceso de agua en el soporte. Además de posibles problemas de transporte de masa al haber disminuido la concentración de entrada de hexano en fase gaseosa y por lo tanto en fase líquida.



**Figura 13.** Evolución de la CE y ER de hexano en biofiltros empacados con perlita. Las barras de error ( $\perp$ ) representan la desviación estándar. Adición de medio mineral (AMM) en los días 7, 13, 17, 26 y 34 ( $\uparrow$ ).

Los resultados mostrados reflejan el comportamiento promedio de los tres biofiltros. Sin embargo, éste presenta grandes desviaciones tal como se resume en la Tabla 3.1.1.

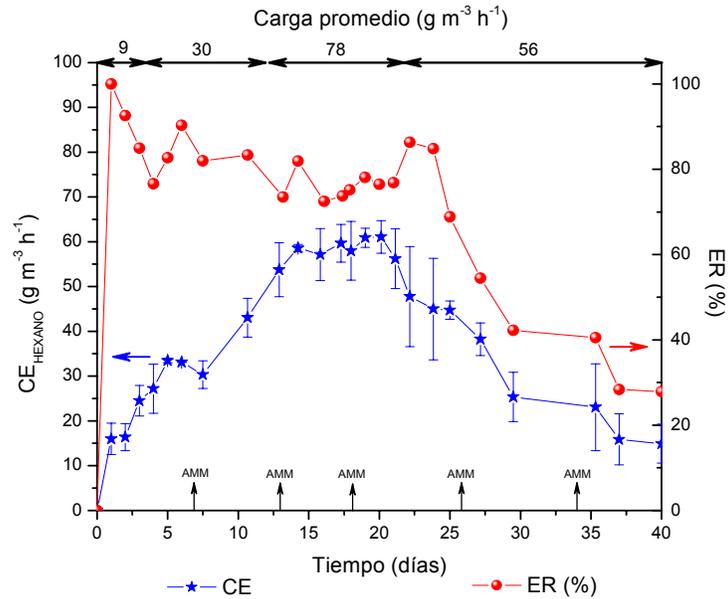
En la Figura 14 se muestran los perfiles de CE y ER de MTBE. En este caso, también se mantuvo un periodo de estado estacionario de 9 días (del día 10 al día 19) con una CE promedio de  $25 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Posteriormente, se sostuvo una  $CE_{MÁX}$  de  $37 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y una ER de 70 % durante 4 días. No obstante, la CE de MTBE disminuyó a partir del día 25 hasta  $15 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  debido presuntamente al descenso de la CE de hexano dada la relación cometabólica existente. Al final del experimento hubo una ligera recuperación de la CE para finalizar en una CE de MTBE de  $25 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .



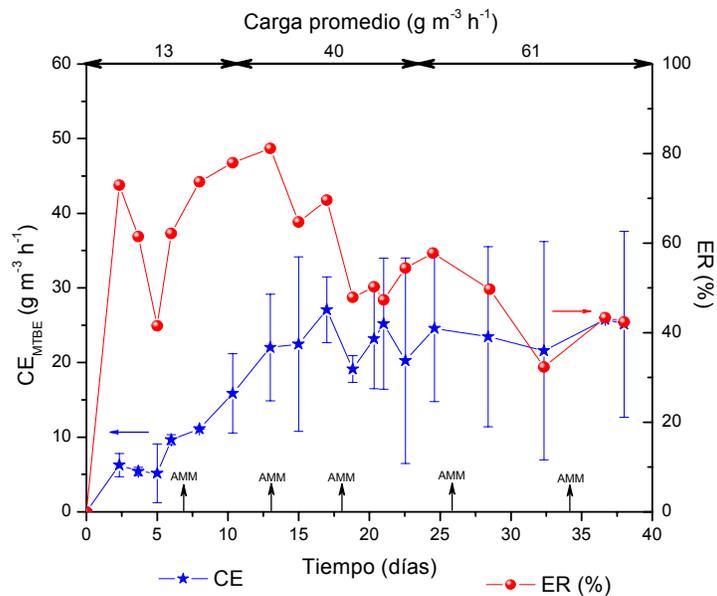
**Figura 14.** Evolución de la CE y ER de MTBE en biofiltros empacados con perlita. Las barras de error ( $\perp$ ) representan la desviación estándar. Adición de medio mineral (AMM) en los días 7, 13, 17, 26 y 34 ( $\uparrow$ ).

Del mismo modo, en las Figuras 15 y 16 se presentan los perfiles de CE y ER para hexano y MTBE obtenidos en los biofiltros empacados con turba. En éste, se sostuvieron  $CE_{MÁX}$  de hexano de  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y ER de 90 % durante 8 días. Sin embargo, a partir del día 21 de operación, la CE descendió lentamente hasta un valor de  $15 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  en el día 40. Esto se atribuye a una sobresaturación de

agua (Tabla 3.1.2.) y a una disminución de la concentración de hexano (día 22) que dificultaron el transporte de éste a través de la biopelícula. Además, se presentaron problemas de compactación y taponamiento que impidieron una buena distribución del flujo de gas.



**Figura 15.** Evolución de la CE y ER de hexano en biofiltros empacados con turba. Las barras de error ( $\perp$ ) representan la desviación estándar. Adición de medio mineral (AMM) en los días 7, 13, 17, 26 y 34 ( $\uparrow$ ).



**Figura 16.** Evolución de la CE y ER de MTBE en biofiltros empacados con turba. Las barras de error ( $\perp$ ) representan la desviación estándar. Adición de medio mineral (AMM) en los días 7, 13, 17, 26 y 34 ( $\uparrow$ ).

Para el MTBE se obtuvo una  $CE_{MÁX}$  de  $27 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y una ER de 90 %. Éste desempeño se sostuvo durante 5 días. Posteriormente, la CE disminuyó ligeramente y se estabilizó en  $23 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

A pesar de todas las dificultades encontradas, las capacidades de eliminación obtenidas fueron alentadoras con respecto a las obtenidas por otros autores en experimentos de biofiltración. Eweis, y col.<sup>93</sup> obtuvieron CE promedio entre 6 y 8 g MTBE  $\text{m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y eficiencias de remoción de 95 a 100 %. Más recientemente, Dupasquier y col.<sup>95</sup> alcanzaron CE de MTBE tan sólo de 0.3 a  $1.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

Tabla 3.1.1. Desempeño de biofiltros en experimento 1.

Biofiltro	Soporte	Arranque (días)	$CE_{MÁX}$ HEXANO ( $\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ )	$CE_{MÁX}$ MTBE ( $\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ )	Zona de decaimiento
1	Perlita	12	70	40	A partir del día 34
3	Perlita	12	45	27	No hubo
5	Perlita	10	60	35	A partir del día 25
2	Turba	12	60	40	A partir del día 25
4	Turba	7	55	32	No hubo
6	Turba	12	60	30	A partir del día 20

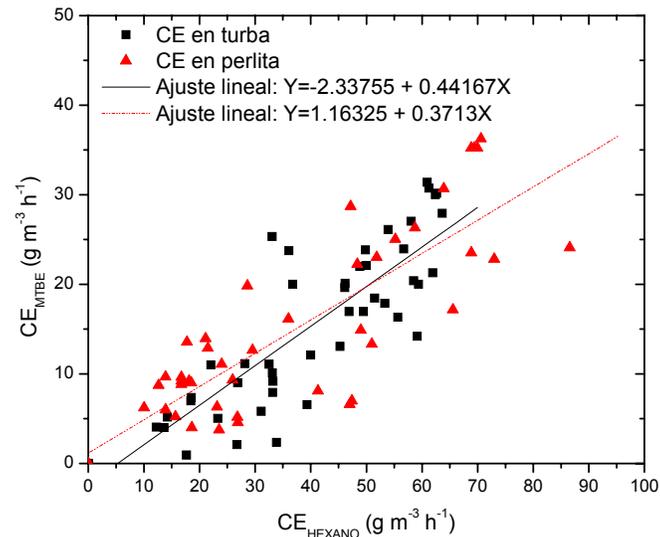
En general, en los 6 biofiltros se inició con cargas bajas de entrada (g contaminante  $\text{m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) y se tuvo un periodo de arranque de aproximadamente 12 días con CE bajas tanto de hexano como de MTBE (Tabla 3.1.1). No obstante, se tuvieron remociones cercanas al 100 %. Posteriormente se alcanzaron periodos de estado estacionario hasta de 10 días, en el mejor de los casos, con CE de hexano de  $60 \pm 10 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y CE de MTBE de  $35 \pm 5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Sin embargo, se presentaron periodos de decaimiento de la CE debido a factores como el secado, sobre humidificación y problemas de transporte de materia.

Los biofiltros que se comportaron de manera similar fueron el biofiltro 2 y el biofiltro 6 empacados con turba, y el biofiltro 1 y el biofiltro 5 empacados con perlita. Los biofiltros 3 y 4 se comportaron diferente debido probablemente a su posición en la cámara de temperatura controlada, ya que estuvieron más expuestos a la radiación de calor. Hecho que pudo mermar su desempeño.

Cabe enfatizar que se tuvieron problemas de control de humedad en todos los biofiltros, en unos se presentó secado (biofiltros con perlita) y en otros sobre saturación de agua (biofiltros con turba). Esto provocó compactación y

taponamiento y por lo tanto una mala distribución del flujo y descenso de la remoción.

En la Figura 17 se muestra la correlación encontrada entre la CE de hexano y la CE de MTBE para los dos soportes empleados.



**Figura 17.** Comportamiento de la CE de MTBE en función de la CE de hexano en experimento 1.

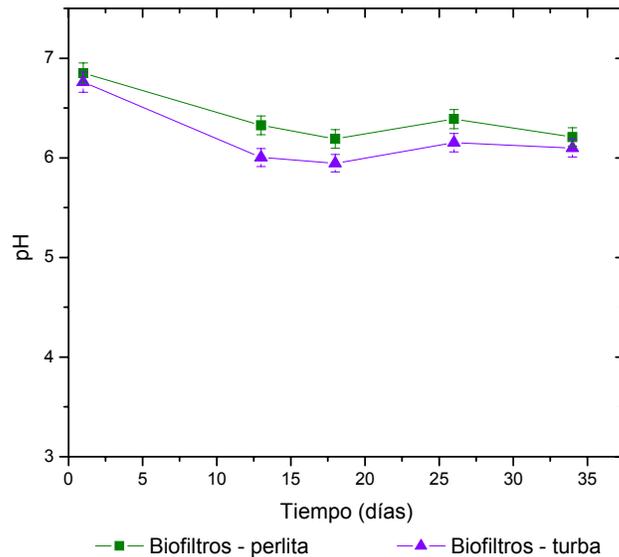
En esta Figura se aprecia el aumento de la CE de MTBE en función de la CE de hexano para los dos soportes empleados, turba y perlita. En el caso de la turba, se tuvo un aumento mayor de la CE de MTBE en función de la CE de hexano con respecto al de la perlita en tan sólo un 3 %. Por lo que podemos asegurar que el uso de uno u otro soporte no incrementará apreciablemente las CE en el biofiltro.

Por otra parte, en ambos casos se tuvo una respuesta aproximadamente lineal, lo que nos permitió determinar un coeficiente cometa bólico promedio (CE MTBE / CE hexano) de 0.40. Estos resultados corroboran la necesidad de tener un sustrato utilizado como fuente de carbono y energía, que induzca la producción de enzimas y propicie el consumo de otro sustrato de difícil degradación.

---

## B) Evolución del pH

El pH de los biofiltros de 0.5 L se evaluó midiendo el pH del lixiviado obtenido después de la irrigación de medio mineral. Esto se realizó en los días 7, 13, 17, 26 y 34 de operación del sistema (Figura 18).



**Figura 18.** Evolución del pH de los lixiviados de los biofiltros de 0.5 L. Datos con 1.5 % de desviación del promedio.

En la Figura anterior se puede observar que el pH se mantuvo estable en valores de 6.9 y 5.9 para todos los biofiltros. Estos son apropiados para el crecimiento de las bacterias, como la *Pseudomonas aeruginosa* empleada. No obstante, el pH descendió un poco más en los biofiltros empacados con turba con respecto a los empacados con perlita. Esto puede deberse a una mayor acumulación de metabolitos ácidos en el soporte (sección 3.1.1-E). Además de que la turba es un soporte de naturaleza ácida cuya neutralización no se garantiza que sea totalmente homogénea.

## C) Evolución de la humedad

La humedad de los biofiltros se determinó por cálculo de los sólidos suspendidos volátiles al cuantificar la pérdida de peso de una muestra representativa de cada uno de los reactores de 0.5 L. Los resultados se muestran en la Tabla 3.1.2.

Tabla 3.1.2. Evolución de la humedad en biofiltros de 0.5 L.

Tiempo (días)	Humedad (g agua g soporte seco <sup>-1</sup> )					
	Biofiltro 1 (Perlita)	Biofiltro 3 (Perlita)	Biofiltro 5 (Perlita)	Biofiltro 2 (Turba)	Biofiltro 4 (Turba)	Biofiltro 6 (Turba)
0	1.0	1.0	1.0	2.7	2.7	2.7
28	0.7	1.6	1.7	3.2	3.0	6.8
33	1.1	2.3	1.3	3.8	1.0	9.3
40	1.6	1.8	1.2	6.0	1.5	6.0

En general, en los biofiltros 1 y 5 empacados con perlita, se presentaron problemas de secado. En el biofiltro 1, la humedad descendió hasta un valor de 0.7 g agua g perlita seca<sup>-1</sup> en el día 28 de operación y en el biofiltro 5, ésta disminuyó hasta 1.2 g agua g perlita seca<sup>-1</sup> hacia el final de la operación. Sin embargo, en el biofiltro 3 (Tabla 3.1.2.) no hubo secado dada la menor eliminación de contaminantes y por tanto una menor generación de calor metabólico.

Los biofiltros 2 y 6, empacados con turba, tuvieron problemas de sobre humidificación ya que la adición directa de agua no permitió un restablecimiento uniforme de la humedad. Ambos biofiltros alcanzaron una humedad final de 6.0 g agua perlita seca<sup>-1</sup>. En estos dos casos se agregó más medio mineral en comparación con las otras columnas dado que a simple vista los biofiltros parecían sumamente secos, sobre todo en la parte superior. Ambos fueron sobre humidificados y se convirtieron en biofiltros de aspecto lodoso que generaron problemas de compactación y taponamiento.

No obstante, en el biofiltro 4 no se siguió la misma estrategia y se presentó secado hacia el día 33 de operación. El contenido de humedad disminuyó hasta 1 g agua g turba seca<sup>-1</sup>, es decir, 20 % por debajo de la capacidad de retención de agua del soporte ( $a_w = 0.988$ )<sup>96</sup>. Esto es suficiente para sostener crecimiento bacteriano, sin embargo, pudo haber afectado la actividad de la cepa. Resultados similares fueron obtenidos por Acuña y col.<sup>96</sup> en donde al descender el contenido de humedad por debajo de 1 g agua g turba seca<sup>-1</sup> las tasas de

---

degradación de tolueno disminuyeron hasta en un 42 %. Es por ello se decidió agregar más medio mineral y recuperar la humedad inicial en el biofiltro.

En general se tuvieron problemas de control de humedad en todos los casos. En algunos secado y en otros sobre humidificación. Sin embargo, con estos resultados queda claro que no es posible establecer una misma estrategia de humidificación para los dos soportes y que éste es un parámetro de suma importancia que afecta el desempeño de los biofiltros.

#### D) Análisis termogravimétrico y contenido de biomasa final

Se obtuvo un contenido promedio de biomasa al final de la operación de los biofiltros empacados con perlita de 36.1 mg biomasa g perlita seca<sup>-1</sup>. La cuantificación se hizo por el método de peso seco. Cabe mencionar que esta medición no se hizo para los biofiltros empacados con turba. Ya que el método no funciona para este soporte dado el contenido de materia orgánica inherente al mismo.

A partir del análisis termogravimétrico (ATG) también se obtuvo el contenido de biomasa. Los resultados se presentan en la Tabla 3.1.3.

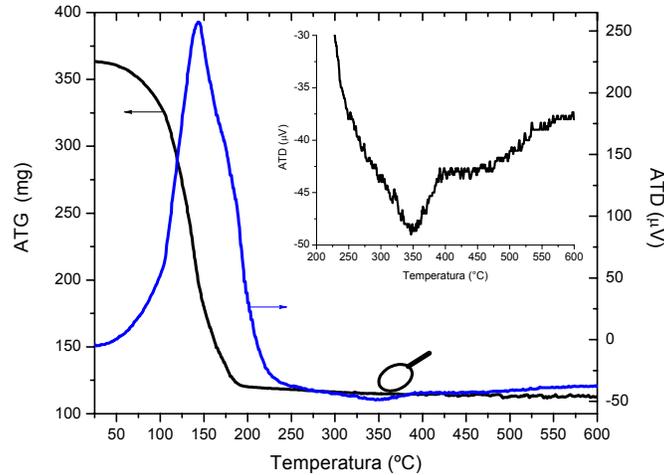
Tabla 3.1.3. Contenido de biomasa al final de la operación de los biofiltros de 0.5 L empacados con perlita.

Biofiltro	mg biomasa g perlita seca <sup>-1</sup>
1	33
3	45
5	46
<b>Promedio</b>	<b>41.3</b>

El contenido promedio de biomasa en los tres biofiltros empacados con perlita, fue de 41.3 mg biomasa g perlita seca<sup>-1</sup>. Éste se aleja del obtenido por el método de peso seco sólo en un 14 %. En la Figura 19 se presentan los perfiles de ATG y ATD (análisis térmico diferencial) de la muestra del biofiltro 3.

En el perfil de ATD destacan dos picos que denotan diferentes eventos energéticos. El primero se debe a un efecto endotérmico asociado a la evaporación de agua y solventes presentes en la biopelícula. El segundo pico,

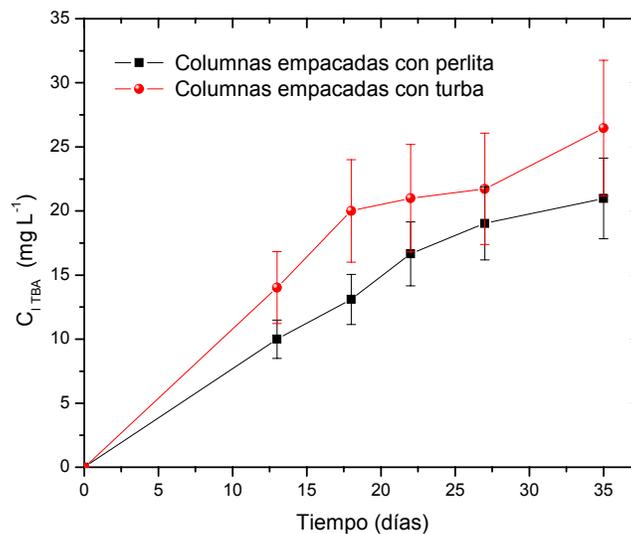
con concavidad invertida, se asocia a un evento exotérmico debido a la combustión de la materia orgánica. Los perfiles de ATG para los tres biofiltros empacados con perlita fueron los mismos (Figuras no mostradas).



**Figura 19.** Análisis termogravimétrico de biofiltro 3. Muestra tomada al final de la operación.

#### E) Evolución del intermediario alcohol terbutílico en la fase líquida

Durante el transcurso de la operación de los biofiltros de 0.5 L se cuantificó la concentración de alcohol terbutílico (TBA) en los lixiviados recogidos después del esparado de MM. El TBA es un intermediario en la ruta de degradación del MTBE, el cual, se estuvo acumulando en el sistema tal como se muestra en la Figura 20.



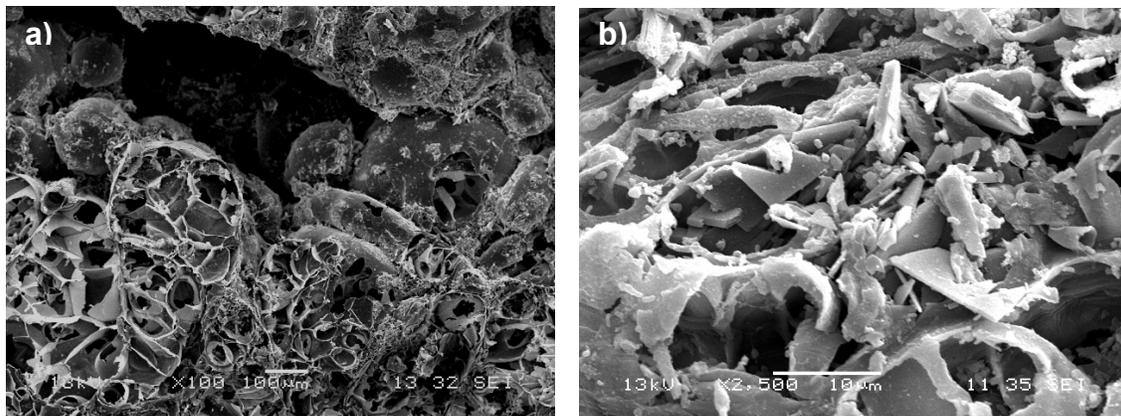
**Figura 20.** Acumulación de TBA a lo largo de la operación de los biofiltros de 0.5 L.

---

Tanto en los biofiltros empacados con perlita como en los empacados con turba hubo una acumulación de TBA. Debido, presumiblemente, a su más lenta tasa de degradación comparada con la del MTBE. En los biofiltros empacados con perlita, el TBA alcanzó concentraciones cercanas a  $21 \text{ g m}^{-3} \pm 15 \%$ ; y en los biofiltros empacados con turba, hasta de  $26 \text{ g m}^{-3} \pm 20 \%$ . Sin embargo, en los biofiltros 5 y 6 hubo una disminución en la concentración de TBA en la fase líquida dada la disminución en el consumo de MTBE desde el día 22 y hacia el final de la operación de los biofiltros, tal como se muestra en la Tabla 3.1.1.

### 3.1.2. Microscopía electrónica de barrido

Se observaron muestras del material de empaque por microscopía electrónica de barrido al final de la operación de los biofiltros pequeños. Las Figuras 21 a) y b) muestran la estructura de la perlita y de la turba. Ambos soportes fueron muy heterogéneos con poros de 5 a 25  $\mu\text{m}$  para la turba y de 60 a 300  $\mu\text{m}$  para la perlita. Éstos son lo suficientemente grandes para permitir la colonización microbiana.

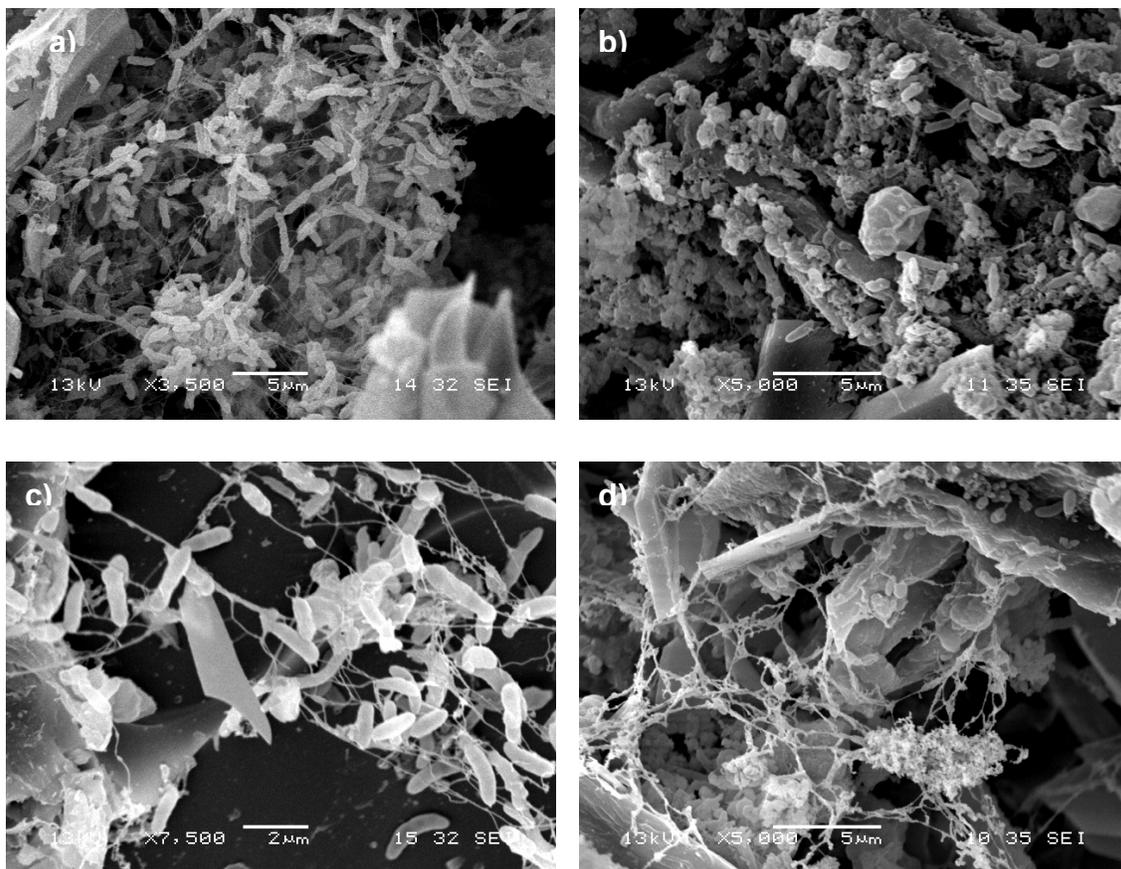


**Figura 21.** Micrográficas electrónicas de los materiales de empaque empleados. a) Perlita; b) turba.

Observaciones más cercanas, Figuras 22 a) y b), muestran la morfología característica del microorganismo (*Pseudomonas aeruginosa*) y su colonización sobre los soportes. Se observaron algunas regiones sobre la superficie de la turba y de la perlita no colonizadas y una ligera contaminación por otros microorganismos. Estas observaciones revelaron que la biopelícula formada

sobre el soporte es heterogénea, contrariamente a la biopelícula idealizada homogénea y lisa utilizada generalmente en los modelos para describir el comportamiento de los biofiltros<sup>105,106</sup>.

También se apreció la presencia de material extracelular, Figuras 22 c) y d). Dicho material forma una matriz donde se encuentran inmersas las bacterias. Este material polimérico, característico de estos microorganismos, como ha sido reportado por diversos autores<sup>107</sup>, está asociado a zonas de alta densidad celular bacteriana.



**Figura 22.** Micrografías electrónicas de *Pseudomonas aeruginosa* en los biofiltros empacados con turba y perlita. a) Colonización bacteriana sobre perlita; b) sobre turba; c) crecimiento bacteriano sobre el exopolímero; d) formación de exopolisacárido sobre el material de empaque.

En 1996, Marin y col.<sup>108</sup>, obtuvieron micrografías electrónicas de cultivos bacterianos crecidos en derivados del petróleo, similares a las obtenidas en el

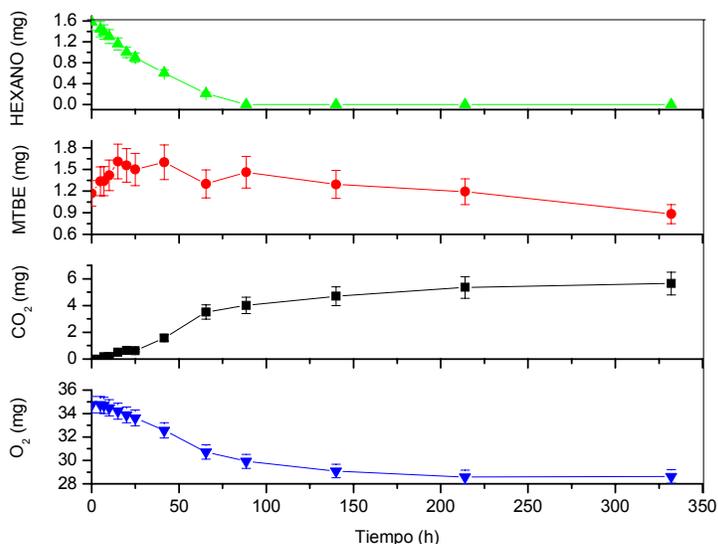
---

presente trabajo. Estas micrografías mostraron a las células adheridas a películas poliméricas en forma semejante a las encontradas en este estudio. Más recientemente, Acuña y col.<sup>96</sup>, presentaron micrografías electrónicas de un consorcio constituido por bacterias y levaduras crecido sobre turba en vapores de tolueno. Al igual que en el caso de Marin y col.<sup>108</sup> y en el presente trabajo, se apreciaron células incrustadas en una película de material extracelular polimérico. Cabe mencionar que estas observaciones sugieren que parte del carbono consumido se acumula como material extracelular, el cual, está conformado por compuestos fácilmente biodegradables y que constituyen a la biopelícula.

### 3.1.3. Experimentos cinéticos con muestra de biofiltros empacados con perlita

Se hicieron experimentos cinéticos en microcosmos con el objeto de obtener las tasas de degradación de hexano y de MTBE y de realizar balances de carbono bajo condiciones controladas que nos permitiesen comprobar la mineralización de este último. Para ello se tomó muestra de soporte de cada uno de los biofiltros empacados con perlita del día 29 de operación. Además, se probaron tres condiciones para evaluar la influencia de la humedad y los nutrientes en las tasas de consumo. La primera fue con soporte sólo, la segunda con soporte y 10 ml de agua y la tercera con soporte y 10 ml de medio mineral.

El comportamiento cinético en microcosmos obtenido con muestras de los tres biofiltros fue prácticamente el mismo, por lo que se infiere que no hubo gran diferencia entre ellos. En la Figura 23 se muestra la evolución del consumo promedio de hexano, MTBE y oxígeno y producción de bióxido de carbono con muestra de soporte y agua. En esta Figura se aprecia que el MTBE presentó un periodo inicial de 12 horas en el que se estableció el equilibrio líquido – vapor. El MTBE en la fase líquida no fue cuantificado. Sin embargo, seguramente hubo consumo de MTBE durante este periodo dado el consumo de hexano. Éste no fue medido, lo que pudo disminuir las tasas de degradación calculadas para MTBE.



**Figura 23.** Evolución del consumo promedio de Hexano, MTBE y O<sub>2</sub> y producción de CO<sub>2</sub> en experimentos en lote. Botellas serológicas con muestra de biofiltros empacados con perlita y 10 ml de agua. Las barras de error representan la desviación estándar.

El hexano se consumió totalmente en aproximadamente 90 horas. A pesar de ello, el consumo de MTBE continuó durante algunas horas, lo que puede deberse a la actividad residual de las enzimas durante un periodo después de agotado el inductor enzimático, tal como sugieren Morales y col.<sup>92</sup>. El MTBE no se agotó al cabo de 332 h de duración del experimento debido a la falta de hexano (Tabla 3.1.4.). No hubieron limitaciones de O<sub>2</sub> en ninguno de los casos (soporte, soporte y agua, soporte y MM). Devinny y col.<sup>28</sup> reportaron que en el caso de compuestos hidrofílicos, como el MTBE, es muy probable que el O<sub>2</sub> sea un factor limitante en el proceso de remoción del contaminante debido a que la solubilidad del O<sub>2</sub> es muy baja (7 mg L<sup>-1</sup> a 30 °C y 1 atm) y el coeficiente de partición es de 33.5. Esto significa que la mayor parte del O<sub>2</sub> se encuentra en la fase gaseosa y sólo una pequeña fracción se disuelve en la fase líquida. Sin embargo, en el microcosmos con soporte y agua, se obtuvo una concentración final de O<sub>2</sub> en la fase líquida de 5.6 mg L<sup>-1</sup>. Según datos reportados por Ollis y Bailey<sup>109</sup>, las concentraciones críticas de oxígeno (C<sub>O<sub>2</sub> cr</sub>) varían entre los organismos desde 0.1 a 10 % del valor de solubilidad de éste. Por ejemplo, la C<sub>O<sub>2</sub> cr</sub> a 30 °C para una especie de *Pseudomonas denitrificans* es de 0.3 mg L<sup>-1</sup>.

---

Comparando la concentración final de  $O_2$  alcanzada en el experimento de microcosmos con este dato de  $C_{O_2\ cr}$ , se observa una diferencia muy por encima de la  $C_{O_2\ cr}$  para bacterias excluyendo posibles limitaciones de oxígeno.

En el microcosmos con soporte sólo, el hexano se consumió al cabo de 150 horas y en el microcosmos con soporte y medio mineral, éste se agotó en aproximadamente 43 horas (datos no mostrados).

En la Tabla 3.1.4. se resumen los balances de carbono de los experimentos de microcosmos. En ellos se observa una mayor cantidad de MTBE consumido en el experimento con soporte y medio mineral ( $65\ \% \pm 11\ \%$ ) con respecto al obtenido en los otros dos casos. Sin embargo, el % de mineralización de MTBE e inclusive el total fueron inferiores. Esto sugiere la incorporación del resto del carbono en biomasa o sustancias de reserva o acumulación de algunos intermediarios como el TBA, el cual, no fue cuantificado. El coeficiente respiratorio (C.R.) confirma el hecho, ya que éste fue inferior en el microcosmos con MM ( $0.64 \pm 0.05$ ) con respecto al obtenido en los microcosmos con soporte ( $0.70 \pm 0.01$ ) y con soporte y agua ( $0.69 \pm 0.04$ ), indicando que el  $O_2$  consumido se utilizó para otros fines.

El coeficiente cometabólico se incrementó con el aumento de las tasas de degradación. Cuando el consumo de hexano es más rápido, el consumo de MTBE también se acelera y la relación mg MTBE consumido mg de hexano consumido<sup>-1</sup> aumenta, lo que demuestra la posibilidad de oxidar más MTBE con menor cantidad de hexano. Esto está en relación con el estado del microorganismo y su metabolismo enzimático, ya que si existen limitaciones por humedad o nutrientes, no es necesaria tanta producción de enzimas y disminuye la degradación de MTBE. En cambio, si existen las condiciones propicias, puede haber más producción de enzimas y por lo tanto mayor consumo del oxigenante.

Tabla 3.1.4. Balances de carbono y tasas de degradación en microcosmos

	Soporte	Soporte y agua	Soporte y MM
Hexano consumido (mg)	1.52 ± 0.04	1.56 ± 0.07	1.62 ± 0.03
MTBE consumido (mg)	0.67 ± 0.06	0.85 ± 0.12	0.95 ± 0.13
% MTBE consumido	45 ± 8	49 ± 5	65 ± 11
O <sub>2</sub> consumido (mg)	5.70 ± 0.07	6.33 ± 0.26	6.39 ± 0.41
CO <sub>2</sub> producido (mg)	5.52 ± 0.06	5.75 ± 0.68	5.31 ± 0.45
% mineralización total	86 ± 2	86 ± 7	77 ± 3
% mineralización MTBE	46 ± 4	56 ± 22	28 ± 9
Coefficiente cometabólico	0.43 ± 0.04	0.55 ± 0.09	0.58 ± 0.08
Coefficiente respiratorio	0.70 ± 0.01	0.69 ± 0.04	0.64 ± 0.05
Tasa de degradación de Hexano (mg g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	18 ± 0.7	41 ± 3.5	140 ± 13.4
Tasa de degradación de MTBE (mg g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	3.6 ± 0.2	6.7 ± 0.2	8.7 ± 1.8

% mineralización total = 100 X (mg CO<sub>2</sub> experimentales / mg CO<sub>2</sub> teóricos)

% mineralización MTBE = 100 X (mg CO<sub>2</sub> por consumo de MTBE experimentales / mg CO<sub>2</sub> por consumo de MTBE teóricos)

Coefficiente cometabólico = (mg MTBE / mg Hexano)

Coefficiente respiratorio (C.R.) = (moles CO<sub>2</sub> / moles O<sub>2</sub>)

Los resultados sintetizados en la Tabla 3.1.4. muestran el impacto que tuvieron las variables humedad y nutrientes en las tasas de degradación de hexano y de MTBE. Las velocidades de consumo se incrementaron en los microcosmos con soporte y agua y aún más, en los microcosmos con medio mineral. Los resultados obtenidos en los experimentos cinéticos confirman la necesidad de tener una buena humidificación<sup>31,33,110</sup>, y distribución de nutrientes<sup>28,32,111</sup> en el biofiltro para garantizar capacidades de eliminación de contaminantes altas.

Las capacidades de eliminación de hexano, predichas a partir de la velocidad máxima de consumo de sustrato ( $V_{m\acute{a}x}$ ), que ajustaron mejor a las CE medidas en los biofiltros, fueron las calculadas a partir de las tasas de degradación de soporte con medio mineral. En este caso, a pesar de haber una mayor resistencia al transporte de hexano dada la película de líquido más gruesa en los

---

microcosmos en comparación con el biofiltro, los microcosmos se encontraban agitados, lo que aumenta el coeficiente de transporte a la fase líquida ( $k_{la}$ ). Además, en los microcosmos no hay limitaciones por humedad y se tiene una mayor disponibilidad de nutrientes que benefician a los microorganismos. Es por ello que se pueden alcanzar tasas de degradación mayores. La CE promedio de hexano calculada fue de  $30 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y la medida fue de  $38 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , lo que representa una desviación del 21 %. Esta diferencia puede deberse a que en el biofiltro se tiene una menor resistencia a la transferencia entre las fases dado que el espesor de la película de líquido es más delgado, sin embargo, hay secado y limitación por nutrientes.

Debido a los problemas de control de humedad, compactación, taponamiento y necesidad de neutralización en los biofiltros con turba, y a una mayor facilidad de humidificación y distribución de nutrientes en la perlita, se decidió realizar otro experimento de biofiltración de mayor duración usando perlita como soporte. Los resultados se discuten en la sección 3.2.

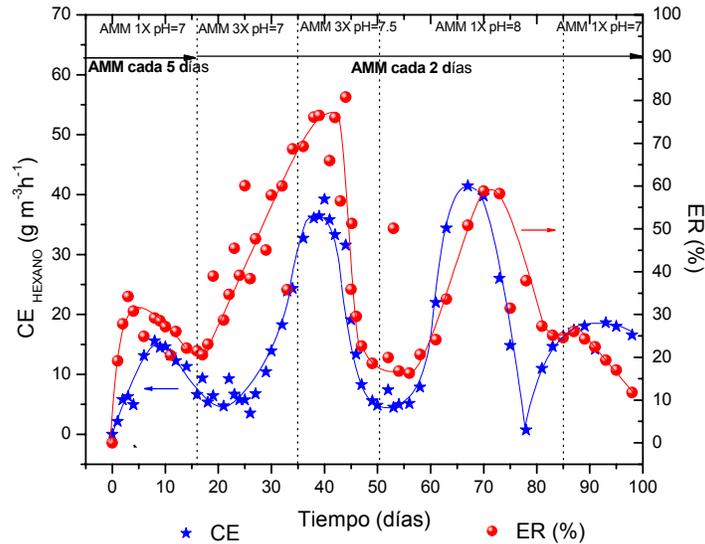
## 3.2. Experimento de biofiltración 2

### 3.2.1. Desempeño del reactor

A) Evolución de la capacidad de eliminación y eficiencias de remoción para el hexano y MTBE

Se llevó a cabo un segundo experimento de biofiltración utilizando perlita como soporte. En este biofiltro se agregaron nutrientes más frecuentemente. La composición del medio mineral se aumentó a 3X a partir del día 15 y hasta el día 50 de operación. Esta estrategia se implementó ya que Salanito y col. (1994)<sup>82</sup>, empleando una unidad de cultivo continuo reciclador de células, demostraron tener tasas de degradación más altas de MTBE bajo altas concentraciones de amonio, comparadas con las obtenidas a bajas concentraciones.

Los resultados de CE y ER para hexano y MTBE se muestran en las Figuras 24 y 25, respectivamente.



**Figura 24.** Evolución de la CE y ER de hexano en biofiltro de 2.5 L inoculado con la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Adición de medio mineral (AMM).

En este experimento se alcanzó una  $CE_{MÁX}$  de hexano de  $42 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y 60 % de eficiencia de remoción entre los días 62 y 75 de operación. A lo largo de la operación del biofiltro se obtuvieron CE promedio de hexano de  $14 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y ER de 32 %. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Morgenroth y

---

col.<sup>111</sup> en biofiltros empacados con una mezcla de composta, perlita y concha de mar molida, donde alcanzaron CE de hexano de  $21 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y ER de 99 %. Durante la operación del reactor, la humedad osciló entre 43 % y 67 %. La eficiencia de remoción descendió desde 99 % hasta 40 % debido a limitaciones de  $\text{N}_2$ , hecho constatado por el aumento en la ER al agregar una solución concentrada de  $\text{KNO}_3$ . Estos autores sugieren añadir fuentes de nitrógeno de liberación lenta para extender el periodo de alto desempeño del biofiltro y no en solución para evitar problemas de sobre humidificación.

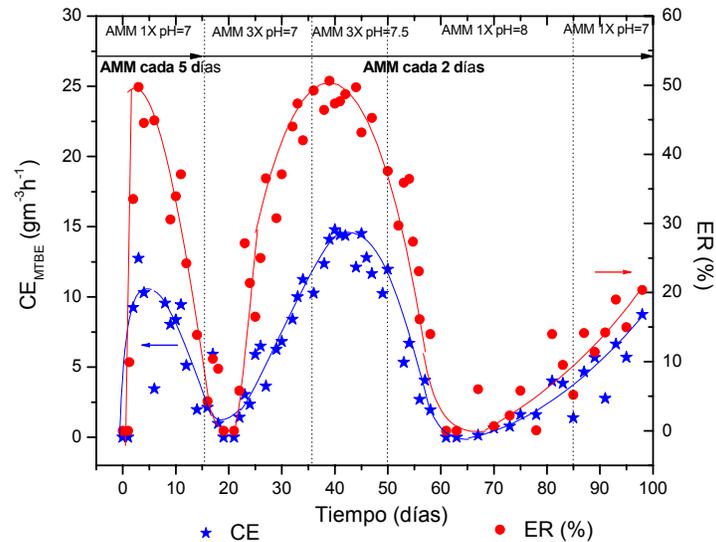
En otro estudio, Van Groenestijn y col.<sup>112</sup> obtuvieron CE de hexano de  $32 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y ER de 39 % empleando biofiltros de lecho escurrido. No obstante, las CE aumentaron 2.5 veces al agregar un solvente orgánico inmiscible en agua.

En biofiltros pequeños (2 L) empacados con turba e inoculados con un consorcio constituido principalmente por organismos pseudomonados, Budwill y col.<sup>113</sup> obtuvieron una  $\text{CE}_{\text{MÁX}}$  de hexano de  $13.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (ER = 56 %). Sin embargo, la CE a lo largo del periodo de operación del sistema se mantuvo en valores de  $5 \pm 2.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y remociones pobres. Estos resultados fueron mejorados agregando aceite de silicón para aumentar la partición del hexano entre las fases líquida y gaseosa. No obstante, la  $\text{CE}_{\text{MÁX}}$  de hexano obtenida fue de  $25.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (ER = 78 %), lo cual, es 45 % inferior a lo alcanzado en este experimento de biofiltración.

En el 2002, Paca y col.<sup>114</sup> reportaron resultados de experimentos de degradación de varias mezclas de hidrocarburos alifáticos con un cultivo mixto. Ellos obtuvieron CE de hexano del orden de  $8.5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y remoción total en un biofiltro empacado con perlita. La identificación de los microorganismos reveló la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, *Comamonas Testosteroni*, *Geotrichum candidum* y *Cladosporium sp.*

Más recientemente, Arriaga y col.<sup>115</sup>, reportaron CE de  $100 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y ER de 63 % en biofiltros inoculados con un consorcio predominantemente fúngico. Sin embargo, los resultados alcanzados en este trabajo son satisfactorios comparados a los encontrados en biofiltros con biopelícula bacteriana<sup>113, 114</sup>.

En el caso del MTBE, se logró una  $CE_{MÁX}$  de  $15 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y una ER de 50 % entre los días 35 y 50 de operación. Esto coincide con uno de los periodos de mayor consumo de hexano ( $39 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) y muestra el efecto cometabólico que tiene el hexano al promover el consumo de MTBE. Durante el arranque del biofiltro, primeros 8 días, se alcanzó una CE de MTBE de  $10 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (ER = 50 %). Posteriormente ésta disminuyó hasta  $2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .



**Figura 25.** Evolución de la CE y ER de MTBE en biofiltro de 2.5 L inoculado con la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Adición de medio mineral (AMM).

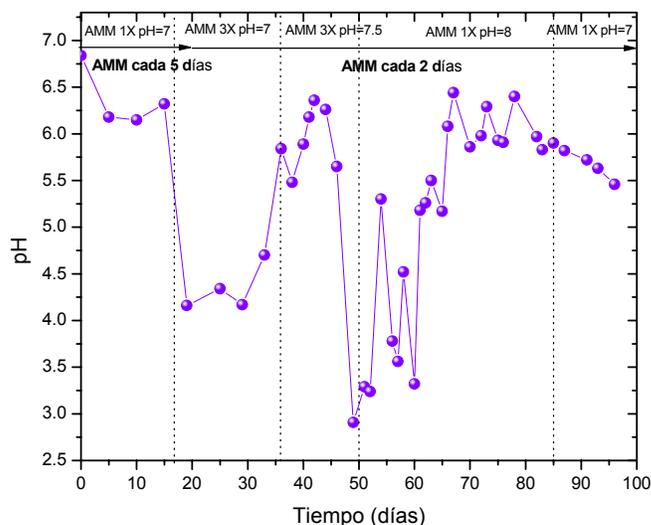
A partir del día 15, el pH descendió rápidamente hasta un pH de 4.3, lo que afectó la actividad de los microorganismos y las CE tanto de MTBE como de hexano disminuyeron drásticamente. Una vez que el pH se restituyó, la CE de MTBE se incrementó hasta alcanzar la máxima en todo el experimento. Finalmente, la CE del MTBE disminuyó y no se recuperó sino hasta el final del experimento alcanzando una CE de  $8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

Estas CE fueron muy superiores a las obtenidas por Dupasquier y col.<sup>95</sup> (CE =  $0.3 - 1.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) en experimentos de biofiltración por cometabolismo con pentano. Y comparables a las alcanzadas por Eweis y col.<sup>93</sup> (CE =  $7 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , ER = 97 %) en un biofiltro para tratamiento de COVs provenientes de un ducto

de aireación de lodos activados en una planta de tratamiento de aguas residuales.

Sin embargo, estas CE de MTBE fueron menores a las obtenidas por Fortin y Deshusses<sup>22</sup> (CE = 50 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>, ER = 90 %) en un biofiltro de lecho escurrido utilizando MTBE como única fuente de carbono y energía.

Es posible que el incremento de la composición del medio mineral a 3X haya inducido actividad nitrificante en el biofiltro, que liberó iones hidrógeno y bajó el pH (Figura 26). Según estudios hechos por Eweis y col.<sup>93</sup>, el descenso del pH es el resultado de reacciones de nitrificación que puede impactar adversamente a los microorganismos neutrófilos como *Pseudomonas aeruginosa*. Ésta fue la razón probable de la reducción en la degradación de MTBE en el biofiltro para tratamiento de COVs con un medio con alto contenido de amonio y en este trabajo. De igual manera, Van Groenestijn y col.<sup>112</sup>, obtuvieron acumulación de nitrito y nitrato y acidificación de la fase acuosa en biofiltros de lecho escurrido al utilizar sulfato de amonio como fuente de N<sub>2</sub>. Esto se vió reflejado en un comportamiento inestable de la CE.



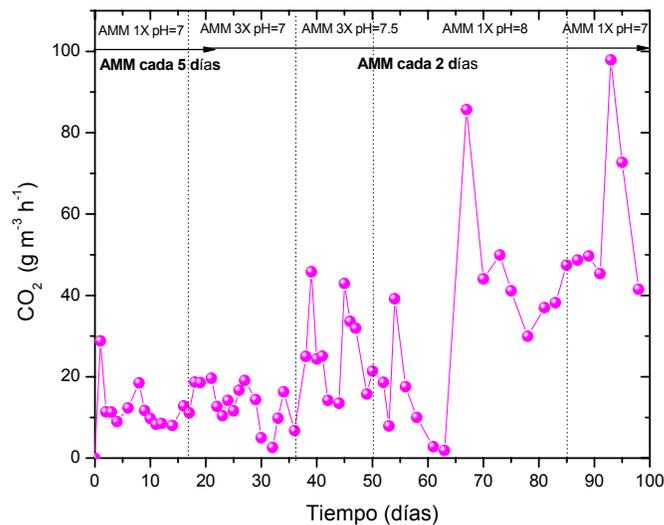
**Figura 26.** Evolución del pH en biofiltro de 2.5 L inoculado con la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Adición de medio mineral (AMM).

Además, la actividad metabólica de la célula tiende a agotar el sustrato y a incrementar la concentración de metabolitos ácidos como el formaldehído, el cual se transforma en ácido fórmico, y es propuesto como intermediario en otros

estudios de degradación de MTBE (Hardison y col., 1997<sup>77</sup>; Steffan y col., 1997<sup>90</sup>) u otros subproductos como TBA o TBF (ter-butyl formato). El sustrato se difunde hacia la célula y los desperdicios hacia fuera de ella. La difusión en agua es más lenta que en el aire, por un factor de 10,000 (Cussler, 1997<sup>116</sup>). De manera que, una célula dentro de un poro profundo del soporte lleno de agua o en la base de la biopelícula tendrá dificultades para obtener sustrato y oxígeno del aire y se enfrentará con altas concentraciones de subproductos, lo cual, puede inhibir su actividad.

## B) Evolución del dióxido de carbono

La máxima capacidad de eliminación de hexano, alrededor del día 70 de operación, corresponde con una actividad metabólica intensa resultando en una alta producción de CO<sub>2</sub> ( $\approx 90 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ). En la Figura 27 se muestra la producción de CO<sub>2</sub> a lo largo de la operación del biofiltro.



**Figura 27.** Evolución del CO<sub>2</sub> en biofiltro de 2.5 L inoculado con la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Adición de medio mineral (AMM).

El siguiente aumento en la producción de CO<sub>2</sub> ( $\approx 100 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) puede estar asociado al consumo de hexano, MTBE y a sustancias poliméricas presentes en la biopelícula. El % de mineralización total fue del 48 % sin considerar la producción de biomasa (Tabla 3.2.3.).

---

### C) Evolución de la humedad y biomasa

La humedad y el contenido de biomasa en el biofiltro se determinaron por cálculo de los sólidos suspendidos volátiles al cuantificar la pérdida de peso de una muestra representativa tomada de los puertos de muestreo intermedios del reactor de 2.5 L. La evolución de la humedad y del contenido de biomasa a lo largo de la operación del biofiltro se muestra en la Tabla 3.2.1.

Tabla 3.2.1. Evolución del contenido de humedad y biomasa en biofiltro de 2.5 L.

Tiempo (días)	Humedad (g agua g perlita seca <sup>-1</sup> )	Biomasa (mg g perlita seca <sup>-1</sup> )
0	1.1	18.8
29	1.8	37.8
51	0.9	52.8
78	1.3	54.1
90	1.2	65.8
98	1.7	76.7

---

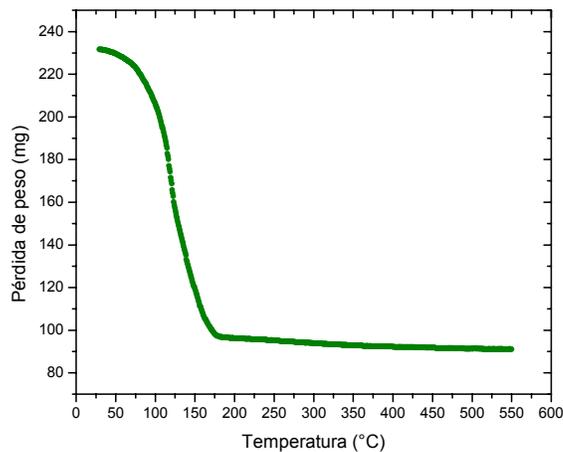
El contenido de humedad en el biofiltro varió considerablemente a lo largo de todo el experimento, a pesar de la adición de 50 ml de medio mineral cada 2 días. La humedad osciló entre valores de 0.9 g agua g perlita seca<sup>-1</sup> y 1.8 g agua g perlita seca<sup>-1</sup>. Se detectó secado del lecho dada la disminución en los lixiviados del reactor a partir del día 31 y hacia el día 51 de operación, por lo que se agregaron 100 ml de MM cada 2 días durante 6 días (del día 52 al 57). Este periodo corresponde con gran actividad biológica con CE altas tanto para hexano como para MTBE.

El calor de reacción total correspondiente a una CE de hexano de 39 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> y una CE de MTBE de 15 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>, según la expresión empleada por Morales y col.<sup>46</sup>, sería de -1240.92 KJ m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> considerando que sólo el 50 % de los contaminantes consumidos son transformados en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. En cambio, el calor de reacción que se desprendería si se tuviera una CE de tolueno de 39 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> sería de -994.49 KJ m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>, es decir, un 25 % menor comparado al obtenido de la mineralización de hexano y MTBE. Esta diferencia en el calor liberado por reacción biológica ocasiona tasas de evaporación en el reactor y

---

perfiles de temperatura diferentes a las encontradas por Morales y col.<sup>46</sup>. Sin embargo, tal como señalan estos autores, un sistema de humidificación ineficiente o altas capacidades de eliminación pueden reducir rápidamente las capacidades de eliminación en el biofiltro, por lo que sugieren trabajar en contenidos de humedad superiores al valor crítico, que para el caso de turba fue de 1.4 g agua g turba seca<sup>-1</sup>.

En la Tabla 3.2.1. también se observa el incremento de biomasa a lo largo de la operación del sistema. Se obtuvo un contenido promedio de biomasa y exopolímeros final de 77 mg g perlita seca<sup>-1</sup> y de 32 mg g perlita húmeda<sup>-1</sup>. Éste es 2 veces superior al alcanzado en el experimento de biofiltración 1 (40 días de operación). Para obtener este valor se cuantificaron la humedad y biomasa de los cuatro módulos al desempacar por partes y someter muestras por duplicado a análisis termogravimétrico (Figura 28). La biomasa final también se cuantificó indirectamente midiendo proteína (Tabla 3.2.2).



**Figura 28.** Análisis termogravimétrico de módulo II del biofiltro de 2.5 L. Muestra tomada el día 98 de operación.

Los resultados de la Tabla 3.2.2. muestran que la humedad se mantuvo homogénea a lo largo del biofiltro. No obstante, el primer módulo se encontraba ligeramente más seco, con una humedad de 1.6 g agua g perlita seca<sup>-1</sup>, es decir, una diferencia del 6 % con respecto al promedio.

Tabla 3.2.2. Contenido de humedad, biomasa y proteína por módulos en biofiltro de 2.5 L al final de la operación.

Módulos	Humedad (g agua g perlita seca <sup>-1</sup> )	Biomasa (mg g perlita seca <sup>-1</sup> )	Proteína (mg g perlita seca <sup>-1</sup> )
I	1.6	77.8	2.53
II	1.8	74.6	2.28
III	1.7	73.1	3.14
IV	1.8	81.4	2.80
<b>Promedios</b>	<b>1.7</b>	<b>76.7</b>	<b>2.69</b>

Al igual que la humedad, la biomasa se mantuvo relativamente constante en todo el biofiltro, por lo que podemos aseverar que los microorganismos crecieron prácticamente a la misma tasa de crecimiento en todo el reactor con una desviación estándar de  $\pm 3.7$  mg de biomasa. El rendimiento celular fue de 0.34 g biomasa g C total consumido<sup>-1</sup> considerando tanto al hexano como al MTBE. Este rendimiento es al menos 2 veces superior al obtenido utilizando MTBE como única fuente de carbono y energía en cultivo en líquido por Hanson y col.<sup>85</sup> (0.18 mg células secas g MTBE<sup>-1</sup>) y por Fortin y Deshusses<sup>22</sup> en biofiltros de lecho escurrido (0.1 g biomasa g MTBE<sup>-1</sup>).

De la biomasa promedio cuantificada en el biofiltro (77 mg g perlita seca<sup>-1</sup>), solamente el 3.5 % corresponde a proteína, el resto se debe a biopolímeros acumulados en la biopelícula. En general, la composición del exopolímero producido por cualquier tipo de bacteria es poco conocida, pero consta de polisacáridos o glicoproteínas de diversos azúcares como glucosa, fructosa, manosa, N-acetilglucosamina y otros. También puede contener proteínas libres, fosfolípidos y ácidos nucleicos o teicoicos (Chmielewski y col., 2003)<sup>146</sup>. En una biopelícula madura, la mayor parte de su volumen estará ocupado por una matriz laxamente organizada (75 - 95 %) alrededor de unas pocas bacterias (5 - 25 %) (Geesey, 1994)<sup>147</sup> que proporciona una cubierta gelatinosa y deslizante a la superficie colonizada, con un considerable volumen de agua disponible. Sin embargo, para organismos *Pseudomonados*, se ha comprobado que los productos extracelulares son típicamente polisacáridos (ácido algínico) que se

---

incorporan en la matriz orgánica encapsulando a la célula bacteriana (Robinson y col., 1984)<sup>148</sup>.

Resultados similares fueron obtenidos por Arriaga y col.<sup>115</sup> en un biofiltro inoculado con un consorcio predominantemente fúngico para tratamiento de vapores de hexano. En este caso se produjeron 84 mg de biomasa g de perlita seca<sup>-1</sup> con un contenido de proteína del 8 %. Los autores sugirieron que el resto del carbono se debía a material extracelular polimérico acumulado a lo largo de la operación del sistema. En este biofiltro, la remoción de hexano fue superior a la alcanzada en este estudio, dadas las limitaciones de transporte en biopelículas bacterianas.

No obstante, la cantidad de biomasa obtenida es comparativamente alta con respecto a la reportada por Munguía<sup>117</sup> (2.1 mg de biomasa g de empaque<sup>-1</sup>), en un biorreactor de lecho empacado inoculado con *Pseudomonas* para tratamiento de MTBE en cometabolismo con pentano. Sin embargo, en este caso, la biomasa correlacionó con la proteína obtenida según los datos reportados para *Pseudomonas* (48 % de Carbono y 55 % de proteína)<sup>143</sup>. Esta discrepancia de resultados puede deberse a las diferentes condiciones manejadas en un experimento y en otro, en donde en este caso nos encontramos en un régimen de limitación de nutrientes (carbono o nitrógeno) que se ha demostrado influenciar una mayor producción de exopolímeros y no la reproducción celular<sup>148</sup>.

Una explicación de los rendimientos celulares bajos es que el hexano no es un sustrato que favorezca el crecimiento de biomasa como la glucosa o la sacarosa. Los rendimientos celulares son comparables a los generados por bacterias anaeróbicas y organismos autótrofos (0.03 a 0.20 g g<sup>-1</sup>) y son menores a los obtenidos con cultivos aeróbicos (0.3 a 0.6 g g<sup>-1</sup>) creciendo sobre azúcares, alcoholes y ácidos grasos<sup>118</sup>.

Además, el MTBE consumido por cometabolismo no contribuye a la formación de nuevo material celular. Y de ser así, como en la degradación directa, el alto costo energético requerido para romper el enlace éter de la molécula de MTBE, White y col. (1996)<sup>119</sup>, que el MTBE puede actuar como un desacoplador de la

---

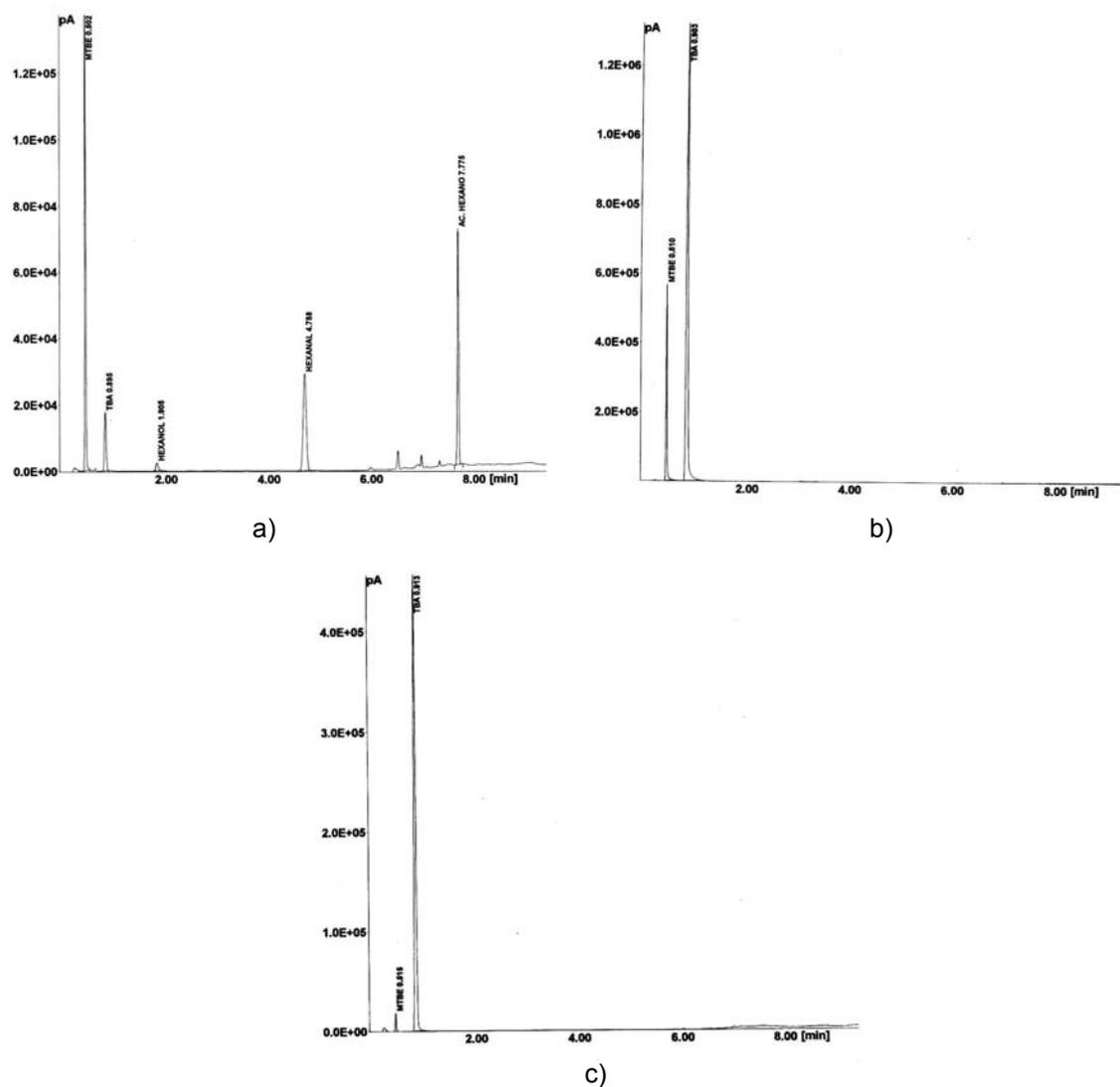
síntesis de ATP o que los intermediarios pueden ser tóxicos para las células, Salanitro y col. (1994)<sup>82</sup>, genera rendimientos de biomasa muy bajos al compararlos con otros sustratos.

#### D) Análisis cualitativo de intermediarios de las rutas de degradación de hexano y de MTBE

El enlace éter del MTBE es atacado enzimáticamente produciendo TBA y formaldehído como los principales intermediarios metabólicos<sup>92</sup>. El TBA se identificó por cromatografía de gases con una muestra condensada del efluente del reactor, así como algunos intermediarios de la ruta de degradación de hexano como son el 1-hexanol, n-hexanal y el ácido hexanoico (Figura 29 a)).

No obstante, el TBA se biodegrada hasta 2-metil-2-hidroxi-1-propanol y ácido 2-hidroxi isobutírico (Steffan y col., 1997<sup>90</sup>; François, 2002<sup>66</sup>). Los siguientes intermediarios de la ruta metabólica de degradación del MTBE no pudieron ser identificados, pero incluyen al 2-propanol, acetona e hidroxiacetona hasta llegar a ácido pirúvico e ingresar al ciclo de los ácidos tricarbóxicos.

Las monooxigenasas, en este caso, alcano monooxigenasas pueden ser inducidas. Bacterias capaces de crecer en alcanos de cadena corta pueden emplearlas en reacciones cometabólicas para degradar tricloroetileno (TCE), MTBE y otros compuestos (Van Beilen y col., 2003<sup>120</sup>). Cuando el carbono terminal de un alcano es oxidado, se forma un ácido graso, el cual posteriormente puede ser metabolizado por  $\beta$ -oxidación<sup>68</sup>. Las monooxigenasas llevan a cabo reacciones donde el primer intermediario de degradación es un alcohol terminal. Según Hyman y col.<sup>121</sup>, las monooxigenasas están involucradas en la oxidación inicial de MTBE a TBA. Estas enzimas son capaces de insertar un átomo de oxígeno en el sustrato y reducir el otro hasta agua. En algunos casos, una monooxigenasa compleja, el citocromo P-450, ha sido reportada como la enzima catalizadora de esta reacción cometabólica en bacterias<sup>90</sup> y en hongos<sup>77</sup>.



**Figura 29.** Intermediarios de las rutas metabólicas de MTBE y hexano. Muestra tomada del efluente del biofiltro: a) el día 10, b) el día 39 y c) el día 44 de operación.

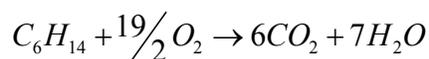
En una muestra tomada el día 39 de operación sólo se pudo identificar al MTBE residual y al TBA acumulado en el biofiltro, lo cual nos indica que el hexano fue totalmente consumido hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  en una biodegradación completa, Figura 29 b). En una muestra posterior, Figura 29 c), se aprecia una disminución en la concentración de salida del MTBE, lo cual corresponde con un aumento en la capacidad de eliminación de este compuesto en el sistema y acumulación de TBA.

---

### 3.2.2. Balances de carbono

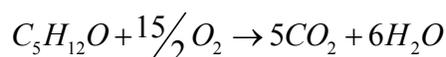
Las reacciones de oxidación completas del hexano y del MTBE sin tomar en cuenta la biomasa producida, son las siguientes:

Para el hexano:



$$86g + 304g \rightarrow 264g + 126g$$

Para el MTBE:



$$88g + 240g \rightarrow 220g + 108g$$

Si se considera oxidación completa del hexano y del MTBE en el biofiltro, a partir de los consumos cuantificados se deberían producir teóricamente 257.53 g de CO<sub>2</sub> por la oxidación completa del hexano y 82.94 g de CO<sub>2</sub> por la oxidación total del MTBE. Esto corresponde a 92.85 g C totales recuperados como CO<sub>2</sub>. Sin embargo, el CO<sub>2</sub> cuantificado durante toda la secuencia de oxidaciones en el biofiltro corresponde a un % de mineralización de 47.93 %, Tabla 3.2.3.

De igual forma, se puede calcular el O<sub>2</sub> teórico requerido para oxidar al hexano y al MTBE, resultando igual a 387.03 g O<sub>2</sub> total.

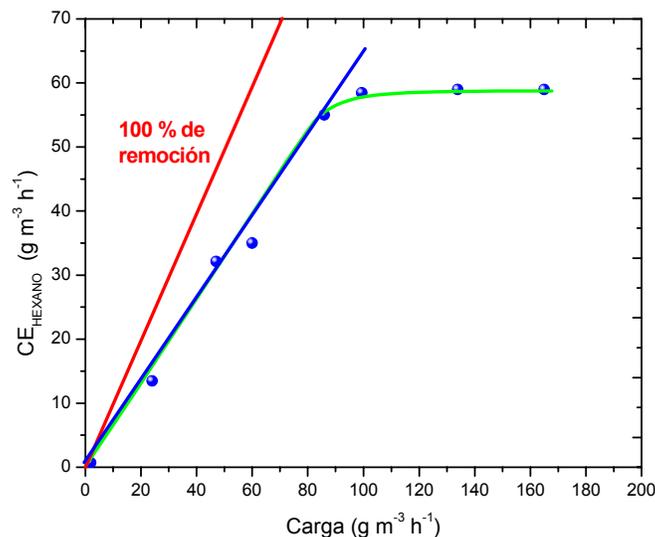
Tabla 3.2.3. Resumen del balance de carbono en biofiltro de 2.5 L.

Concepto	Cantidad (g)		Cantidad (%)
	Hexano	MTBE	
g de C eliminados	83.89	33.18	
g de C eliminados totales	92.86		
g de C recuperados como CO <sub>2</sub>	44.50		47.93
g de C recuperados como biomasa	15.71		16.92
g de C recuperados como carbono total en lixiviados	0.45		0.49
g de C adsorbido en soporte sólido	1.09		1.18
g de C absorbido en fase líquida	0.13		0.14
<b>TOTAL</b>	<b>77.61</b>		<b>66.66</b>

Considerando que el 50 % de la biomasa es carbono, se recuperaron 15.71 g C como biomasa, lo que corresponde a un 17 %. El carbono que fue cuantificado en lixiviados se debió principalmente a carbono orgánico en un 97.9 % y sólo en un 2.1 % a carbono inorgánico o carbonatos atrapados en la fase líquida que pudieron acidificar al biofiltro. El resto del carbono que no fue cuantificado se asume que se encuentra como subproductos de reacción como son el TBA y algunos intermediarios de la ruta de degradación de hexano, sobre todo en la etapa de arranque del sistema.

### 3.2.3. Experimentos de carga contra capacidad de eliminación

Se realizaron experimentos variando la carga de entrada de hexano al biofiltro y evaluando la respuesta en el cambio de la CE en dos diferentes tiempos de operación. Los resultados del primer experimento se muestran en la Figura 30. Existe un aumento de la CE en el biofiltro conforme aumenta la carga, en este caso, la concentración de entrada de hexano. Finalmente, se llega a un punto donde la CE alcanza un valor máximo. Según se muestra en la Figura 30, la máxima capacidad de eliminación alcanzada ( $CE_{MÁX}$ ) fue de  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .



**Figura 30.** Respuesta de la CE ante diferentes cargas de entrada de hexano en biofiltro de 2.5 L. Los experimentos fueron realizados entre los días 63 y 73 de operación.

La  $CE_{MÁX}$  refleja cuando la actividad biológica es limitante, como este caso, ya que la cepa no podrá consumir más hexano por encima de la capacidad de su metabolismo. De acuerdo al trabajo de Ottengraff<sup>105</sup>, existen dos regímenes de operación en el biofiltro. Por debajo de la concentración crítica existe un régimen de limitación por difusión donde el espesor total de la biopelícula no es completamente penetrado. Conforme la concentración aumenta, la profundidad de penetración del sustrato en el biofiltro es mayor hasta que la biopelícula es completamente atravesada, de manera que aunque se aumente la concentración, la capacidad de la biopelícula llega a su máximo valor y no puede rebasarse. En este caso, la operación del biofiltro estará bajo el régimen de limitación por reacción.

Tabla 3.2.4. Propiedades de los compuestos: hexano, BTEX y diclorometano.

	Hexano	BTEX	Diclorometano
Solubilidad, mg L <sup>-1</sup>	9.5 <sup>a</sup>	160- 1800 <sup>d</sup>	19500 <sup>d</sup>
K <sub>H</sub> : Constante de la ley de Henry adimensional (m = C <sub>gas</sub> /Clíquido)	80.5 <sup>b</sup>	0.21 – 0.28 <sup>d</sup>	0.11 <sup>d</sup>
Presión de vapor, atm	0.197 <sup>c</sup>	0.009 – 0.125 <sup>d</sup>	0.59 <sup>d</sup>

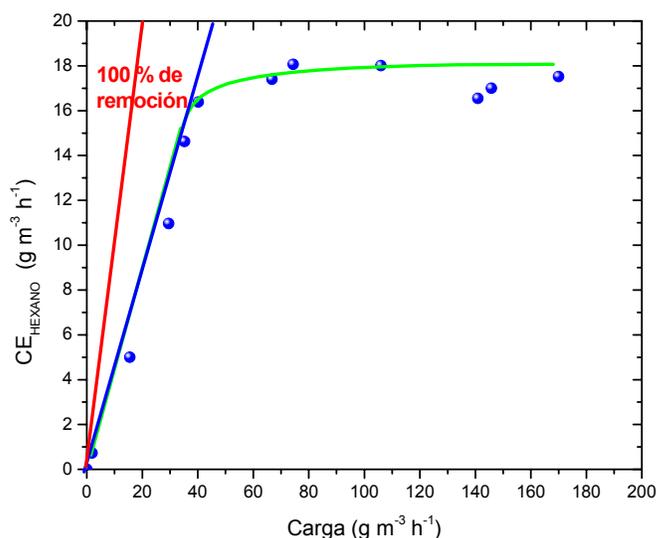
FUENTE: <sup>a</sup>Chemfinder Database, <sup>b</sup>NIST Database, <sup>c</sup>Rafson, H. J. Odor and VOC Control Handbook, Mc Graw Hill, E.U.A., <sup>d</sup>Morgenroth, E.; Schroeder, E.D.; Chang, D.P.Y.; Scow, K.M. Nutrient limitation in a compost biofilter degrading hexane. J. Air Waste Manage. Assoc. 46: 300-308, 1996.

Sin embargo, dadas sus propiedades hidrofóbicas, los hidrocarburos alifáticos pueden ser difíciles de remover en un biofiltro<sup>111</sup>. Estos hidrocarburos poseen coeficientes de la ley de Henry superiores a los de los compuestos BTEX e hidrocarburos clorados (Tabla 2.3.3. y Tabla 3.2.4.). Es decir, si se tienen concentraciones iguales en la fase gaseosa, la concentración de hexano en la biopelícula será inferior que la de los BTEX por lo menos en 2 órdenes de magnitud. En la biopelícula, las tasas de transporte de masa por difusión y subsecuente degradación biológica disminuirán con la decreciente concentración del compuesto en la fase líquida. Los resultados analíticos de eficiencia de

---

remoción y capacidad de eliminación muestran que tanto la eficiencia de remoción y la CE disminuyen con el descenso del parámetro de reacción, alfa, el cual disminuye por el incremento de la constante de la ley de Henry, (H) (Morgenroth y col.<sup>111</sup>).

Los resultados del segundo experimento se muestran en la Figura 31. En este experimento la  $CE_{MÁX}$  fue de  $18 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Probablemente debido a problemas de distribución del flujo a través del lecho empacado o a envejecimiento de la biopelícula.



**Figura 31.** Respuesta de la CE ante diferentes cargas de entrada de hexano en biofiltro de 2.5 L. Los experimentos fueron realizados entre los días 78 y 98 de operación.

Generalmente la parte lineal de las Figuras anteriores corresponde al 100 % de remoción del contaminante. Sin embargo, en este caso no se alcanza la remoción completa en ninguno de los experimentos efectuados. Presumiblemente por las características hidrofóbicas del hexano y su tasa de transporte baja hacia la fase líquida ( $k_l$  pequeño) donde se lleva a cabo la reacción biológica. Budwill y col.<sup>113</sup> obtuvieron resultados similares en un biofiltro para tratamiento de hexano empleando astillas de abeto y de álamo como materiales de empaque. Alcanzaron 55 % de remoción aún trabajando a cargas de hexano bajas. Estos autores sugirieron que una capa más delgada de agua

---

rodeando al soporte incrementaría la difusión del compuesto hidrofóbico de la fase gaseosa a la fase líquida y así se incrementaría la degradación.

Esta hipótesis es sustentada por los resultados obtenidos por Paca y col.<sup>114</sup>, en donde alcanzaron remociones de hexano del 100 % al mantener una humedad baja añadiendo medio mineral una vez por semana.

En 1997, Swanson y Loehr<sup>122</sup>, manifestaron que si un biofiltro incluía partículas pequeñas ( $d_p < 4\text{mm}$ ), como tierra y composta, demasiada agua podía interferir en el transporte del aire dentro del biofiltro, resultando en zonas anaeróbicas, las cuales, son ineficientes en el tratamiento de los contaminantes. El exceso de agua, llenaría los poros pequeños reduciendo la superficie expuesta a la atmósfera; y por lo tanto, las tasas de transporte del contaminante y del oxígeno a la biopelícula. Además de que se tendrían tiempos de retención de gas menores. Ésta es una posible explicación de lo sucedido con estos experimentos, ya que efectivamente existieron variaciones de humedad entre uno y otro periodo (Tabla 3.2.1.). Van Groenestijn y col.<sup>123</sup> han señalado que un contenido de humedad por encima del 60 % resulta en una disminución del área superficial gas/líquido provocando problemas de transferencia de masa.

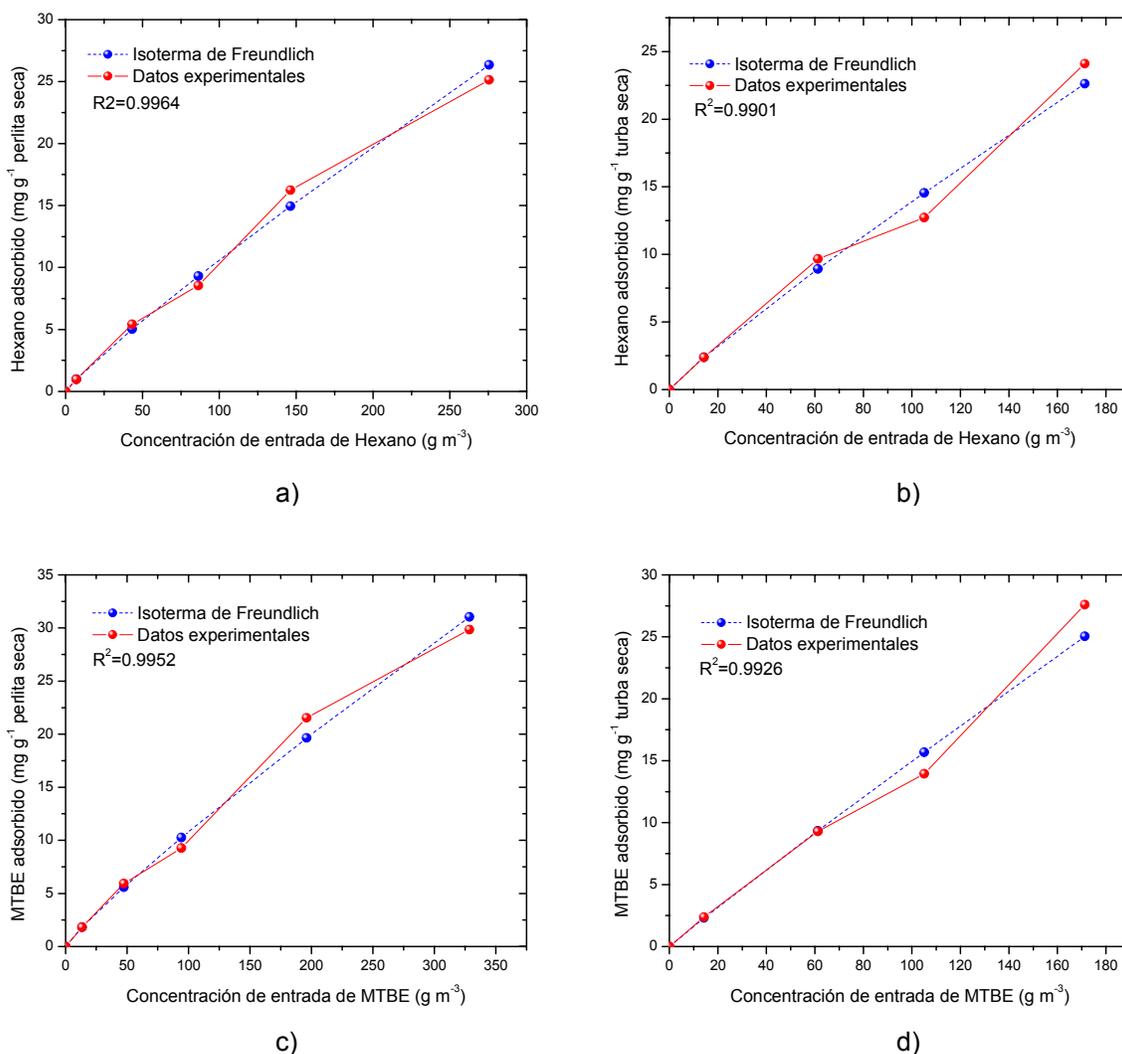
#### 3.2.4. Fenómenos de adsorción de hexano y MTBE sobre perlita y turba

##### A) En experimentos en lote

Los estudios de adsorción en botellas serológicas se hicieron para establecer las condiciones de equilibrio y la distribución entre fases, gas – sólido, para la adsorción de hexano y de MTBE en los soportes turba y perlita secos. Los datos de adsorción se ajustaron a los modelos de Langmuir y de Freundlich. El modelo de Langmuir no ajustó adecuadamente en ninguno de los casos estudiados, encontrándose un ajuste en el mejor de ellos de  $R^2=0.7344$ . Sin embargo, el modelo de Freundlich ajustó en todos los casos con una  $R^2$  superior a 0.99, Figura 32. La isoterma de adsorción de hexano sobre perlita se muestra en la Figura 32 a). Para este experimento se obtuvo un coeficiente de adsorción de hexano ( $k_f$ ) de  $0.172 \text{ mg de hexano g de perlita seca}^{-1}$ , en comparación con el coeficiente de adsorción obtenido para la adsorción de hexano en turba, que fue

de 0.217 mg de hexano g de turba seca<sup>-1</sup>, Figura 32 b). Éste es superior al obtenido para la perlita, posiblemente debido al contenido de materia orgánica en la turba y dada la naturaleza hidrofóbica de ésta y del hexano.

Sin embargo, el coeficiente de adsorción de hexano en turba es inferior al obtenido por Acuña y col.<sup>96</sup> para tolueno en turba, que fue de 0.459 mg de tolueno g de turba seca<sup>-1</sup>. Esto se debe a las características diferentes de los compuestos. Si bien, el hexano es 100 veces más hidrofóbico que el tolueno, en este caso, se tiene una mezcla de hexano y MTBE que pudo alterar la adsorción en contraste a cuando se encuentran los COVs solos. El MTBE es un compuesto hidrofílico que pudo crear repulencia con la turba.



**Figura 32.** Isotermas de adsorción para el hexano y MTBE. a) Hexano sobre perlita; b) Hexano sobre turba; c) MTBE sobre perlita; d) MTBE sobre turba.

Cabe mencionar que la adsorción incrementada de compuestos aromáticos, como fenol y pentaclorofenol, ha sido relacionada con el alto contenido de materia orgánica en la tierra, Warith y col.<sup>124</sup>.

Por otro lado, en las Figuras 32 c) y d), se presentan las isothermas de adsorción para el MTBE sobre perlita y turba, respectivamente. Se obtuvieron coeficientes de adsorción según el modelo de Freundlich de 0.183 mg de MTBE g de perlita seca<sup>-1</sup> y de 0.18 mg de MTBE g de turba seca<sup>-1</sup>. En este caso, el coeficiente de adsorción de MTBE sobre turba es inferior al de hexano sobre el mismo soporte dada la naturaleza hidrofílica del MTBE, aunque ésta posiblemente se vea alterada por la presencia de hexano.

En la Tabla 3.2.5. se resumen los resultados obtenidos y se presenta una comparación con otros estudios de adsorción. El carbón activado granular es el soporte con mayor capacidad de adsorción, por lo que es tan ampliamente empleado como agente adsorbente.

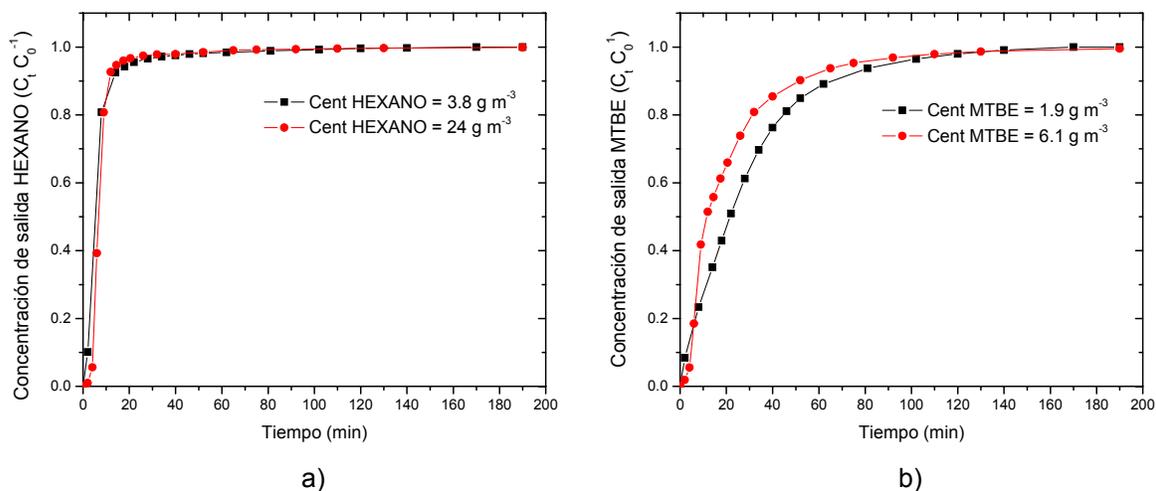
Tabla 3.2.5. Parámetros de adsorción en diferentes soportes empleados en biofiltración.

Soporte	Compuesto	Modelo	Parámetros de la isoterma	Referencia
Turba/perlita	Tolueno	Freundlich	$k_f = 0.025 \text{ mg g lecho húmedo}^{-1}$ $n = 1.04$	Shareefdeen y Baltzis <sup>125</sup>
Turba	Tolueno	Freundlich	$k_f = 0.459 \text{ mg g turba seca}^{-1}$ $n = 0.7$	Acuña y col. <sup>96</sup>
Composta	Tolueno	Freundlich	$k_f = 19.4 \text{ } \mu\text{g g lecho húmedo}^{-1}$ $n = 0.92$	Delhoménie y col. <sup>41</sup>
Perlita	Hexano	Freundlich	$k_f = 0.172 \text{ mg g perlita seca}^{-1}$ $n = 0.896$	Este estudio
Perlita	MTBE	Freundlich	$k_f = 0.183 \text{ mg g perlita seca}^{-1}$ $n = 0.886$	Este estudio
Turba	Hexano	Freundlich	$k_f = 0.217 \text{ mg g turba seca}^{-1}$ $n = 0.904$	Este estudio
Turba	MTBE	Freundlich	$k_f = 0.18 \text{ mg g turba seca}^{-1}$ $n = 0.959$	Este estudio
Composta	Tolueno	Langmuir	$K_1 = 1.43 \text{ mg g composta}^{-1}$ $K_2 = 23.8 \text{ g m}^{-3}$	Tang y Hwang <sup>126</sup>
Paja	Tolueno	Langmuir	$K_1 = 0.89 \text{ mg g paja}^{-1}$	Tang y Hwang <sup>126</sup>

			$K_2 = 12.3 \text{ g m}^{-3}$	
Tierra de diatomáceas (TD)	Tolueno	Langmuir	$K_1 = 2.00 \text{ mg g TD}^{-1}$ $K_2 = 6.7 \text{ g m}^{-3}$	Tang y Hwang <sup>126</sup>
Carbón activado granular (CAG)	Tolueno	Langmuir	$K_1 = 50.6 \text{ mg g CAG}^{-1}$ $K_2 = 14.5 \text{ g m}^{-3}$	Tang y Hwang <sup>126</sup>
Composta	Tolueno	Langmuir	$K_1 = 344.8 \text{ } \mu\text{g g lecho húmedo}^{-1}$ $K_2 = 16.7 \text{ g m}^{-3}$	Delhoménie y col. <sup>41</sup>

## B) En biofiltro

Se hicieron otros estudios de adsorción en el biofiltro para establecer las condiciones de equilibrio dinámico y la distribución entre fases para la adsorción de hexano y de MTBE en perlita. Para ello se realizaron curvas de rompimiento a dos diferentes concentraciones de hexano,  $3.8 \text{ g m}^{-3}$  y  $24 \text{ g m}^{-3}$ , Figura 33 a) y de MTBE,  $1.9 \text{ g m}^{-3}$  y  $6.1 \text{ g m}^{-3}$ , Figura 33 b).



**Figura 33.** Curvas de rompimiento obtenidas en biofiltro de 2.5 L. a) Hexano y b) MTBE.

Se empleó la metodología utilizada por Delhoménie y col.<sup>41</sup> para obtener la cantidad de hexano y de MTBE adsorbida en el soporte. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3.2.6.

Tabla 3.2.6. Cantidad adsorbida en biofiltro de 2.5 L empacado con perlita.

Compuesto	Concentración de entrada ( $C_{ent}$ )	Cantidad adsorbida ( $q$ )
Hexano	$3.8 \text{ g m}^{-3}$	$.54 \text{ mg g lecho húmedo}^{-1}$
Hexano	$24 \text{ g m}^{-3}$	$6.35 \text{ mg g lecho húmedo}^{-1}$
MTBE	$1.9 \text{ g m}^{-3}$	$0.22 \text{ mg g lecho húmedo}^{-1}$
MTBE	$6.1 \text{ g m}^{-3}$	$1.50 \text{ mg g lecho húmedo}^{-1}$

La discrepancia entre la cantidad adsorbida calculada a partir del equilibrio alcanzado en botellas serológicas empleando el soporte seco y la obtenida en el biofiltro, se debe a que en el biofiltro una parte de hexano y de MTBE se encuentra absorbida en la fase acuosa que rodea a la perlita. Si bien, según estudios hechos por Acuña y col.<sup>96</sup>, el contenido de agua no tuvo un efecto significativo en la adsorción de tolueno en turba, en nuestro caso, hubo cierta contribución por la absorción de hexano y de MTBE en la fase líquida. El tolueno no es tan soluble como el MTBE. En las curvas de rompimiento (de desorción) se tomaron en cuenta los dos fenómenos, adsorción en el soporte y adsorción en la fase acuosa. No obstante, la cantidad adsorbida es proporcional a la concentración de COVs en la fase gaseosa y esta relación es diferente dependiendo del compuesto utilizado.

Otro aspecto que destaca en los fenómenos de adsorción estudiados, es que la capacidad de adsorción del lecho de perlita o en la propia turba es muy baja comparada con las cargas de entrada de hexano y de MTBE. De acuerdo con estudios hechos por Janni y col. (2001)<sup>127</sup>, los lechos filtrantes orgánicos como turba, tierra o composta, presentan una baja capacidad de adsorción. Sin embargo, el adsorbente más comúnmente empleado para la extracción de COVs, el carbón activado, no proporciona características óptimas para los microorganismos y el flujo de gas. Por ello, se usa en la mayoría de las ocasiones en asociación con otros soportes (Webster y col., 1995<sup>128</sup>; Tang y Hwang, 1997<sup>122</sup>).

---

### 3.2.5. Permeabilidad relativa intrínseca

La variación de la caída de presión ( $\Delta P$ ) y de la permeabilidad de la fase gaseosa están relacionadas con el incremento de biomasa dado que el crecimiento de ésta provoca una reducción de la fracción vacía en el lecho<sup>102,129</sup>. Cuando el soporte no sea modificado durante el proceso y el contenido de agua permanezca constante, por ejemplo, con un material inorgánico, como la perlita, es posible estudiar la influencia del crecimiento de la biomasa en la disminución de la permeabilidad relativa intrínseca.

Considerando que la humedad en el lecho permaneció prácticamente constante durante los 98 días de operación del segundo experimento de biofiltración y el No. de Reynolds de partícula indica flujo laminar. Entonces, se puede aplicar la metodología descrita por Auria y col.<sup>102</sup>, obteniendo los resultados que se resumen en la Tabla 3.2.7.

La porosidad en el lecho disminuyó un 38 % con respecto a la inicial debido al crecimiento de los microorganismos y a la producción de exopolímeros que se fueron acumulando en la biopelícula, tal como lo demuestran las micrografías electrónicas de la Figura 34.

Tabla 3.2.7. Condiciones hidrodinámicas de operación del biofiltro de 2.5 L.

Tiempo (días)	$\varepsilon$	$k$ (cm <sup>2</sup> )	$K$ (cm s <sup>-1</sup> )	$\frac{\Delta P}{L}$ (cm H <sub>2</sub> O cm lecho <sup>-1</sup> )
0	0.47	1.09x10 <sup>-4</sup>	592.03	1.86x10 <sup>-4</sup>
98	0.29	1.42x10 <sup>-5</sup>	77.39	1.42x10 <sup>-3</sup>

Kim y col.<sup>129</sup> han señalado que la permeabilidad de los medios porosos disminuye con el crecimiento de las bacterias y con la producción de exopolímeros, reduciendo y obstruyendo el espacio entre las partículas.

La razón de permeabilidades (permeabilidad inicial / permeabilidad final) es una función de las propiedades del material poroso (porosidad, tamaño de poros, radio de poro mínimo, propiedades superficiales, etc.)<sup>130</sup> y de la cantidad e

---

integridad de la biopelícula, la cual a su vez, es una función del tiempo que ha sido abastecida con nutrientes<sup>129</sup>.

La permeabilidad relativa intrínseca ( $k$ ) disminuyó 10 veces con respecto a la inicial desde un valor de  $1.09 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$  hasta  $1.42 \times 10^{-5} \text{ cm}^2$ . Esta disminución de  $k$  redujo el tiempo de residencia efectivo, es decir, disminuyó el tiempo de contacto entre fases (gas –líquido) dada la formación de canalizaciones y posibles zonas muertas provocando una mala distribución de flujo. Esto reduce las tasas de transporte del contaminante y del oxígeno a la biopelícula. La variación en la permeabilidad relativa afecta ciertos parámetros de transporte como se ha demostrado con los coeficientes de difusión efectivos de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  en el gas<sup>131</sup>.

Los valores de  $k$  produjeron caídas de presión teóricas mínimas en el lecho de  $1.86 \times 10^{-4} \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$  (día 0) y de  $1.42 \times 10^{-3} \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$  (día 98), respectivamente. Las caídas de presión teóricas obtenidas concuerdan en orden de magnitud con las caídas de presión experimentales bajas de  $8.17 \times 10^{-3} \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$ , reportadas por Kibazohi y col.<sup>132</sup>. Estas caídas de presión fueron obtenidas en experimentos de biofiltración usando como soporte perlita y un flujo de  $20 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$  ( $0.55 \text{ cm s}^{-1}$ ). Cabe señalar que este flujo es casi tres veces superior al manejado en este estudio de biofiltración, lo que incrementa la caída de presión en lechos porosos.

Los resultados teóricos obtenidos sugieren que la perlita es un soporte que ofrece la oportunidad de utilizarse en procesos de biofiltración generando una caída de presión baja y estable. Sin embargo, si aumentamos el flujo de gas a través del lecho, la caída de presión aumenta considerablemente, tal como se muestra en la sección 3.3.5. Si la caída de presión al final de la operación del biofiltro fue de  $1.42 \times 10^{-3} \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$  a un flujo de  $0.3 \text{ L min}^{-1}$ , la esperada para un flujo de  $2.5 \text{ L min}^{-1}$  es de  $1.19 \times 10^{-2} \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$ , es decir, 8 veces superior. Debido a esto, es importante elegir soportes que proporcionen una permeabilidad relativa intrínseca grande como la perlita con respecto a otros como por ejemplo, la resina de intercambio iónico (Amberlita IRA-900, Rohm & Haas, Philadelphia, PA) utilizada por Auria y col.<sup>102</sup> en experimentos de

---

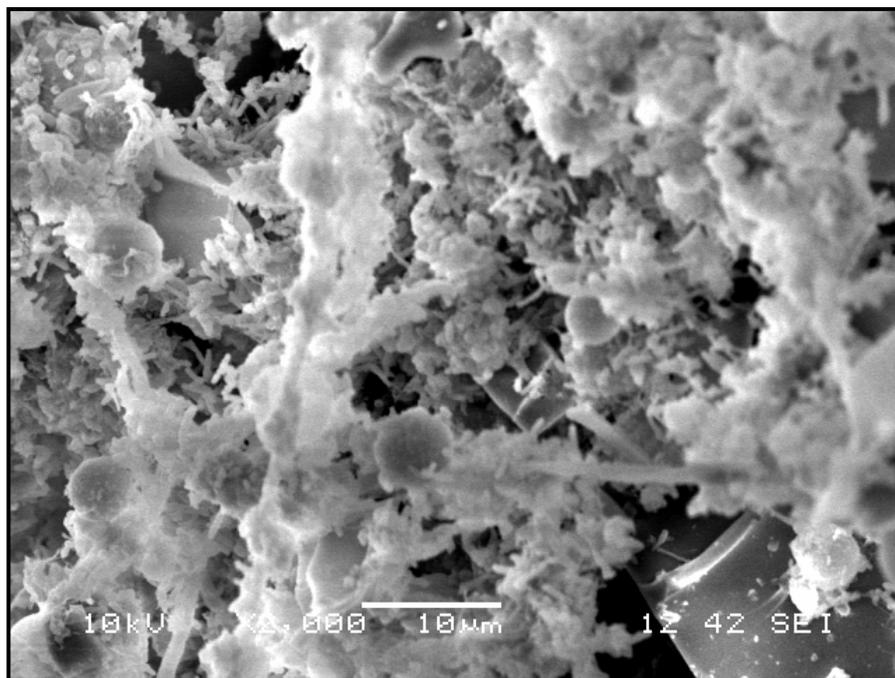
fermentación en estado sólido. Esta resina proporciona una permeabilidad relativa inicial 43 veces menor, lo cual, no es deseado para evitar caídas de presión elevadas y taponamiento del lecho con largos periodos de operación.

La medición de  $\Delta P$  permite acoplar un fenómeno puramente físico con una respuesta biológica como es el crecimiento de la biomasa, Auria y col.<sup>133</sup>. Aunque en este estudio se hizo de manera inversa, es decir, a partir de los cambios de porosidad en el lecho dado el crecimiento de biomasa, se calculó la permeabilidad relativa y posteriormente la caída de presión.

Es evidente que hay que tomar en cuenta que los microorganismos no crecen de manera totalmente homogénea en el reactor, lo cual, modifica la permeabilidad relativa en diferentes posiciones del mismo. Sin embargo, para este trabajo se hizo esa consideración.

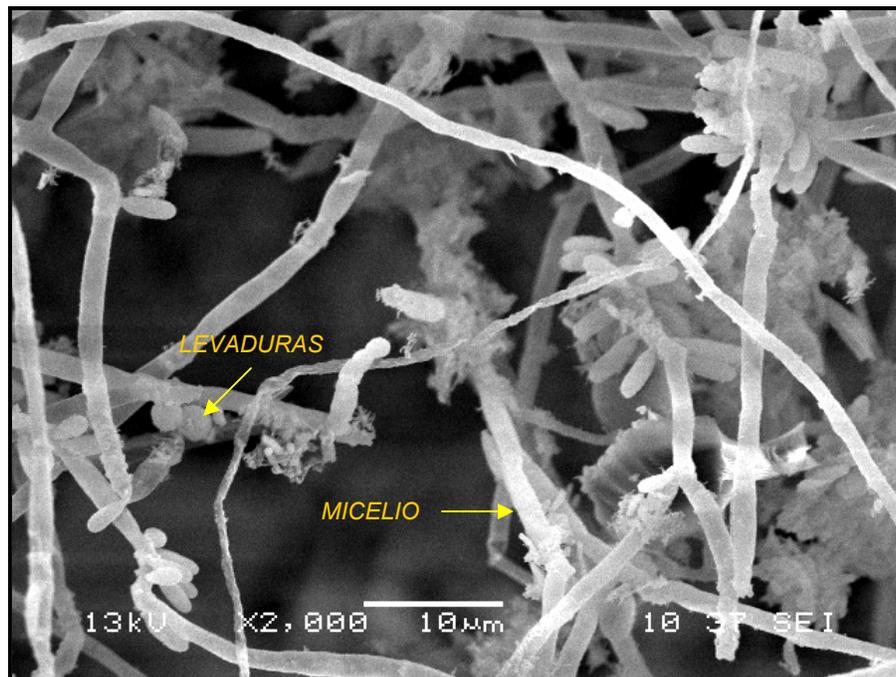
### 3.2.6. Microscopía electrónica de barrido

La acumulación de la biopelícula a través del tiempo se demuestra con observaciones al microscopio electrónico, Figura 34. Tal como lo señala Bryers<sup>134</sup>, una biopelícula está compuesta de una red de polímeros extracelulares y de células inmersas en ella.



**Figura 34.** Micrografía electrónica de biopelícula sobre perlita. Muestra tomada al final de la operación de biofiltro de 2.5 L.

En presencia de los nutrientes apropiados, las células dentro de la biopelícula pueden reproducirse y producir más biopolímeros o exopolímeros, lo cual, provoca la expansión de la biopelícula. A medida que la biopelícula crece debido al crecimiento celular y a la producción de estos biopolímeros, ésta se extiende sobre la superficie y su espesor incrementa<sup>129</sup>. Esto se corrobora con las diferencias sustanciales entre las micrografías electrónicas obtenidas con muestras de biopelícula sobre soporte de los biofiltros de 0.5 L (Figura 22) con respecto a las del biofiltro de 2.5 L (Figura 34).

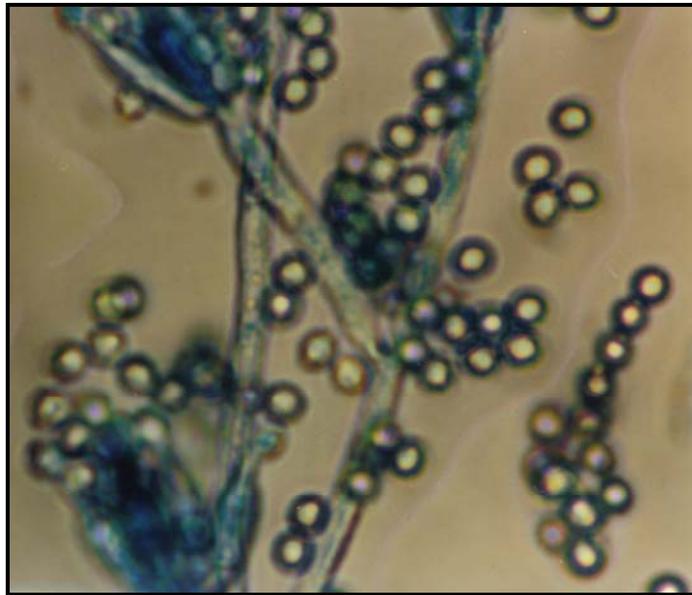


**Figura 35.** Micrografía electrónica de microorganismos contaminantes. Hongos y levaduras.

Christensen y Characklis<sup>135</sup> demostraron que la densidad de la biopelícula en la base era aproximadamente tres veces más grande que aquella cercana al líquido. Esta diferencia de densidades entre ambas significa que la biopelícula nueva producida en la interfase con el líquido es menos densa que la biopelícula vieja. Por lo que podemos esperar una gran cantidad de microorganismos por debajo de la biopelícula superficial mostrada. En las micrografías electrónicas obtenidas, además de un crecimiento abundante de bacterias, se observó contaminación por hongos y por levaduras, Figura 35.

---

Se trataron de identificar los microorganismos, y para ello se llevaron a cabo resiembras y microcultivos para observación al microscopio óptico. El hongo se identificó como *Penicillium* sp., Figura 36. En esta Figura se aprecian las hifas aéreas y los conidióforos, los cuales, son ramificados y tienen cabezas con aspecto de cepillo. Estos conidióforos son los que contienen a las esporas<sup>136</sup>. Los *Penicillium* sp. pertenecen a la clase de los deuteromicetos y están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Algunas especies descomponen las frutas, vegetales, conservas, granos y pastos. Es por ello que es muy fácil encontrarlos como contaminantes, sobre todo si el pH es ácido.



**Figura 36.** Fotografía de hongo contaminante obtenida mediante el microscopio óptico. Ampliación: 4000X .

### 3.2.7. Experimentos cinéticos con muestra de biofiltro de 2.5 L del día 51 de operación

Estos experimentos de microcosmos se hicieron con el objeto de evaluar la actividad de la cepa *Pseudomonas aeruginosa* después de estar sometida a condiciones de biofiltración durante 51 días. Para ello se calcularon las tasas de degradación de hexano y de MTBE, así como la tasa de producción de TBA, el cual, se acumuló parcialmente en el sistema. Se hicieron experimentos por duplicado con muestras de soporte con biopelícula tomadas del biofiltro de 2.5 L.

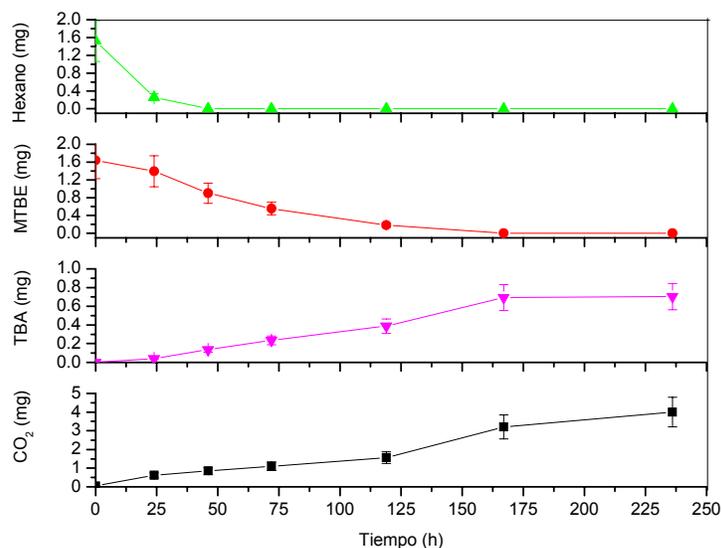
---

Se probaron cuatro condiciones, alimentación de hexano y MTBE y alimentación de hexano y TBA, ambas con soporte sólido sólo y con soporte y 25 ml de medio mineral.

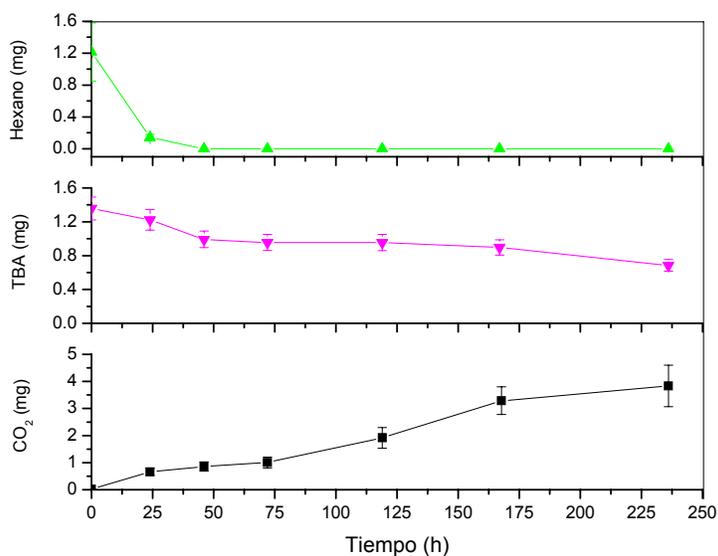
En la Figura 37 se presenta la evolución de la cantidad de hexano y MTBE promedio consumida, y acumulación de TBA y CO<sub>2</sub> para el microcosmos con medio mineral y alimentación de hexano y MTBE. En este caso, los microorganismos consumieron todo el hexano en menos de 38 horas. La tasa de degradación de hexano fue de 394 mg hexano g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 3.2.8.), es decir, 2.8 veces superior a la obtenida en los microcosmos con muestra de soporte de los biofiltros de 0.5 L. Estos resultados sugieren que la bacteria puede encontrarse en distinto estado fisiológico de un periodo a otro. Además, el periodo de aclimatación del microorganismo al compuesto que pretendemos biodegradar y utilizar como fuente de carbono y energía es de fundamental importancia<sup>96,137</sup>. En el primer experimento de biofiltración, los microorganismos fueron adaptados en cultivo líquido a hexano y a MTBE durante un periodo aproximado de 3 meses. En cambio, para el segundo experimento de biofiltración, este periodo fue de aproximadamente 5 meses, lo que pudo haber incrementado las tasas de degradación.

El MTBE se consumió totalmente a una velocidad máxima de consumo de 20 mg MTBE g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 3.2.8.) con un coeficiente cometabólico de 1.06. Sin embargo, hubo acumulación de TBA correspondiente al 57 % del teórico producido según la cantidad de MTBE consumida. Esto puede deberse a la falta de hexano para lograr la total degradación de TBA.

En la Figura 38 se presentan los perfiles de consumo promedio de hexano y TBA y producción de CO<sub>2</sub> para el microcosmos con medio mineral y alimentación de hexano y TBA. En esta Figura se aprecia que el consumo de TBA también es cometabólico ya que una vez agotado el hexano, el TBA permanece prácticamente constante.



**Figura 37.** Evolución del consumo de Hexano y MTBE y acumulación de TBA y CO<sub>2</sub> por la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Botella serológica con muestra del biofiltro de 2.5 L y 25 ml de medio mineral. Alimentación: Hexano v MTBE.



**Figura 38.** Evolución del consumo de Hexano y TBA y producción de CO<sub>2</sub> por la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Botella serológica con muestra del biofiltro de 2.5 L y 25 ml de medio mineral. Alimentación: Hexano v TBA.

Los balances de carbono, resumidos en la Tabla 3.2.8., muestran un porcentaje de mineralización del  $45 \pm 1$  % para el microcosmos con soporte y MM y

alimentación de hexano y MTBE. Este dato es equiparable al obtenido por Morales y col.<sup>92</sup> en experimentos de microcosmos en condiciones similares con un consorcio del cual, proviene el microorganismo empleado en estos experimentos. Este porcentaje de mineralización ( $45 \pm 1$  %) fue inferior al obtenido en el microcosmos con soporte y MM y alimentación de hexano y TBA ( $72 \pm 0.2$ ). La posible razón es que hay una extracción de energía del primer paso de la ruta de degradación de MTBE para producir TBA y formaldehído, el cual, eventualmente se transforma hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Esta energía puede usarse para la producción de nuevo material celular. Cabe señalar que el formaldehído no fue detectado en las muestras. No obstante, el TBA es transformado hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  por una serie de reacciones de oxidación subsecuentes de donde no se obtiene energía. El resto del carbono puede deberse a otros intermediarios de la ruta de degradación del MTBE que no fueron cuantificados así como a biomasa y polisacáridos.

Tabla 3.2.8. Balances de carbono y tasas de degradación promedio en microcosmos con muestra del biofiltro del día 51 de operación.

	Alimentación: Hexano y MTBE		Alimentación: Hexano y TBA	
	Soporte	Soporte y MM	Soporte	Soporte y MM
Hexano consumido (mg)	$1.58 \pm 0.05$	$1.52 \pm 0.44$	$2.39 \pm 0.02$	$1.22 \pm 0.48$
MTBE consumido (mg)	$1.25 \pm 0.02$	$1.64 \pm 0.70$	-	-
TBA prod. <sup>a</sup> o cons. <sup>b</sup> (mg)	$0.76 \pm 6E^{-4}$ <sup>a</sup>	$0.70 \pm 0.08$ <sup>a</sup>	$0.10 \pm 0.03$ <sup>b</sup>	$0.67 \pm 0.07$ <sup>b</sup>
$\text{CO}_2$ producido (mg)	$5.07 \pm 0.24$	$3.99 \pm 1.47$	$4.00 \pm 0.22$	$3.84 \pm 1.18$
% MTBE consumido	$89 \pm 3$	$100 \pm 0$	-	-
% TBA acum. <sup>c</sup> o cons. <sup>d</sup>	$72 \pm 1$ <sup>c</sup>	$57 \pm 30$ <sup>c</sup>	$11 \pm 3$ <sup>d</sup>	$50 \pm 7$ <sup>d</sup>
% mineralización total	$64 \pm 5$	$45 \pm 1$	$53 \pm 4$	$72 \pm 0.2$
Coefficiente cometabólico	$0.79 \pm 0.01$	$1.06 \pm 0.16$	$0.04 \pm 0.01$	$0.59 \pm 0.17$
Tasa de degradación de Hexano ( $\text{mg g proteína}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	$76 \pm 2.2$	$394 \pm 56.6$	$82 \pm 2.1$	$321 \pm 55.8$
Tasa de degradación de MTBE (mg g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	$13.8 \pm 0.7$	$19.9 \pm 5.2$	-	-
Tasa de producción <sup>a</sup> o consumo <sup>b</sup> de TBA ( $\text{mg g proteína}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	$5.2 \pm 0.8$ <sup>a</sup>	$8.3 \pm 1.2$ <sup>a</sup>	$0.7 \pm 0.1$ <sup>b</sup>	$6.7 \pm 1.1$ <sup>b</sup>

% mineralización total =  $100 \times (\text{mg CO}_2 \text{ experimentales} / \text{mg CO}_2 \text{ teóricos})$

Coefficiente cometabólico = Si la alimentación es Hexano y MTBE: ( $\text{mg MTBE consumido} / \text{mg Hexano consumido}$ ). Si la alimentación es Hexano y TBA: ( $\text{mg TBA consumido} / \text{mg Hexano consumido}$ ).

---

En estudios similares, la degradación de TBA por propanótrofos fue significativamente menor que la degradación de MTBE. Análisis de metabolitos celulares, hechos por Steffan y col.<sup>90</sup>, demostraron que el TBA se oxidaba a 2-metil-2-hidroxi-1-propanol y posteriormente hasta HIBA. Ninguno de los cuales era un buen sustrato de crecimiento para los organismos. La acumulación de HIBA durante la degradación de MTBE sugiere que la conversión del primero a intermediarios metabolizables, es un paso limitante en la mineralización del MTBE y TBA. Sin embargo, en estos estudios no fue posible cuantificar al HIBA. En la Tabla 3.2.8. también se reportan los coeficientes cometabólicos para MTBE y TBA. Los coeficientes cometabólicos de MTBE (1.06 mg MTBE mg hexano<sup>-1</sup>) fueron superiores a los reportados para cometabolismo de MTBE con pentano (0.7 mg MTBE mg pentano<sup>-1</sup>) (Garnier y col.<sup>91</sup>) y para cometabolismo de MTBE con hexano ( 0.5 – 0.8 mg MTBE mg hexano<sup>-1</sup>) (Morales y col.<sup>92</sup>). Sin embargo, el coeficiente cometabólico de TBA (0.59 mg TBA mg hexano<sup>-1</sup>) se encuentra por debajo del reportado por otros autores. González<sup>138</sup> obtuvo un coeficiente cometabólico de 1.40 mg TBA mg hexano<sup>-1</sup> con el consorcio MI constituido predominantemente por microorganismos pertenecientes al género *Pseudomonas*.

En estos experimentos cinéticos, el MTBE fue consumido durante algunas horas después de agotado el hexano, tal como lo reportan Munguía<sup>117</sup> y Morales y col.<sup>92</sup>. Estos resultados sugieren una alimentación del sustrato de crecimiento por pulsos, que permita mantener el cultivo activo y a su vez economizar costos<sup>117</sup>. Sin embargo, ésto no siempre sucede. Garnier y col.<sup>76</sup> encontraron un consorcio degradador de MTBE por cometabolismo con pentano, en donde al agotarse el pentano, la degradación de MTBE se detenía inmediatamente. En este caso, la degradación de TBA era muy baja produciendo tan sólo un 20 % de mineralización de MTBE.

En ambos experimentos de microcosmos, alimentación de hexano y MTBE y de hexano y TBA, los consumos de contaminantes fueron superiores cuando se agregó medio con sales minerales sugiriendo problemas de limitación de nutrientes al igual que en el experimento de biofiltración 1. En los experimentos

alimentados con hexano y TBA, la tasa de degradación de hexano en medio líquido se incrementó 3.9 veces con respecto a la obtenida en medio sólido y aún más, hasta 5.2 veces, cuando la alimentación fue hexano y MTBE. Sin embargo, estas relaciones son inferiores a las encontradas en los microcosmos con muestra de los biofiltros de 0.5 L, lo que puede deberse a las condiciones en las que se encontraba la muestra tomada, es decir, con un mayor contenido de humedad y nutrientes dado un mayor control de estos parámetros en el reactor de 2.5 L.

Para el MTBE, la tasa de degradación alcanzada con soporte sólido y MM aumentó sólo en un 50 % con respecto a la obtenida en el microcosmos con soporte sólido.

Por otro lado, la tasa máxima de consumo de TBA fue de  $6.7 \pm 1.1$  mg TBA g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y su tasa de producción en los microcosmos alimentados con hexano y MTBE fue de  $8.3 \pm 1.2$  mg TBA g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. La tasa de producción es 20 % superior a la tasa de consumo por lo que, tiende a acumularse en el sistema una vez agotado el hexano. Su consumo también es cometabólico y fortuito ya que se encuentra presente en la biopelícula en mayor proporción que el hexano dado su coeficiente de partición ( $6.1 \times 10^{-4}$  a 25 °C).

A partir de la tasa volumétrica máxima de consumo de sustrato ( $V_{m\acute{a}x}$ ) fue posible evaluar la capacidad de eliminación máxima teórica de hexano y de MTBE en el reactor. Esta tasa, expresada en mg de sustrato h<sup>-1</sup>, puede extrapolarse al volumen del reactor dividiendo entre la masa de soporte en el microcosmos (g) y multiplicando por la densidad de empaque en el reactor (g m<sup>-3</sup>). Los resultados se muestran en la Tabla 3.2.9.

Tabla 3.2.9. Estimación de la CE teórica de hexano y de MTBE evaluada a partir de  $V_{m\acute{a}x}$ .

Compuesto	$V_{m\acute{a}x}$ (mg h <sup>-1</sup> )	CE teórica (g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )	CE experimental (g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )
Hexano	0.377	120	8 ± 5%
MTBE	0.019	6	6 ± 5%

Nota: Muestra tomada del biofiltro el día 51 de operación.

---

La CE teórica del hexano está muy por encima de la CE experimental obtenida para el momento en que se tomó la muestra, al igual que para todo el periodo de operación del biofiltro. Esto sugiere que hubieron limitaciones en el reactor, principalmente debido al descenso del pH, tal como se muestra en la Figura 26, hasta valores dañinos para la bacteria empleada. En estos experimentos de microcosmos no hubo acidificación de la fase acuosa, se utilizó medio mineral de composición 1X.

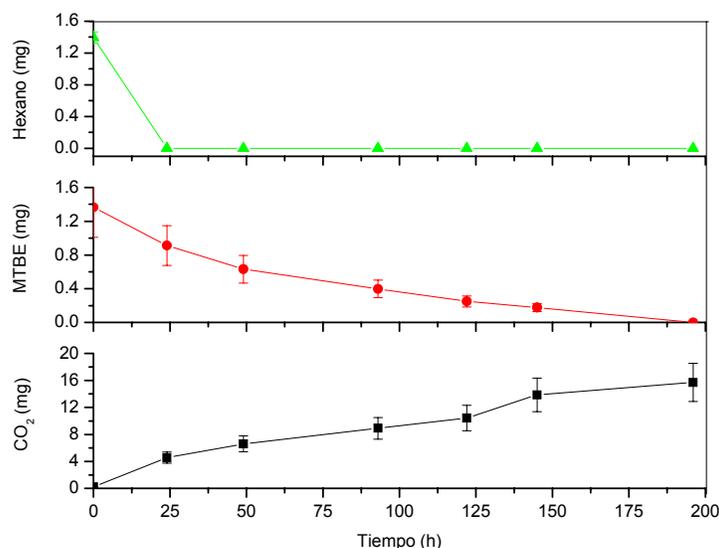
En el caso del MTBE, la CE teórica prácticamente es igual a la CE experimental. Sin embargo, es posible que las pequeñas desviaciones se deban a una dudosa cuantificación de la proteína. Se hizo una aproximación de biomasa y polímeros evaluados por TGA a una relación (biomasa y polímeros – proteína) obtenida al final de la operación del biofiltro.

No obstante, con estos resultados se demuestra que la extrapolación de los resultados obtenidos en microcosmos no siempre resulta una herramienta útil para estimar el comportamiento de los microorganismos en el biofiltro.

3.2.8. Experimentos cinéticos con muestra extraída del biofiltro de 2.5 L al final de la operación.

Al final de la operación del biofiltro de 2.5 L se hicieron una serie de experimentos de microcosmos con muestra extraída de éste, para determinar si la actividad en todo el reactor era homogénea o no. Para ello se tomó una muestra representativa de cada uno de los cuatro módulos en los que se dividió el biofiltro y se iniciaron experimentos cinéticos cuantificando el consumo de hexano, MTBE y TBA y producción de CO<sub>2</sub> a través del tiempo. Se llevaron a cabo dos tipos de experimentos, una serie con muestra de perlita entera y otra con muestra de perlita molida. Esto se hizo para ver si existían problemas difusionales en el caso de la perlita entera cubierta de biopelícula con respecto a la perlita molida, es decir, una vez liberadas las células en el medio líquido.

La evolución del consumo promedio de hexano y de MTBE y producción de CO<sub>2</sub> en los experimentos con perlita entera se muestran en la Figura 39.



**Figura 39.** Evolución del consumo promedio de Hexano y MTBE y producción de CO<sub>2</sub> de los 4 módulos del biofiltro (2.5L). Botella serológica con muestra de perlita entera y 25 ml de medio mineral.

Tabla 3.2.10. Balances de carbono y tasas de degradación promedio en microcosmos con muestra de los cuatro módulos al final de la operación del biofiltro de 2.5 L.

	Perlita entera	Perlita molida
Hexano consumido (mg)	1.40 ± 0.08	1.60 ± 0.04
MTBE consumido (mg)	1.35 ± 0.09	1.24 ± 0.09
CO <sub>2</sub> producido (mg)	15.71 ± 1.40	15.67 ± 1.74
% MTBE consumido	99 ± 3	95 ± 5
% mineralización total	205 ± 20	197 ± 24
Coefficiente cometabólico	0.97 ± 0.07	0.79 ± 0.07
V <sub>máx</sub> específica de Hexano (mg g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	986.5 ± 73.7	1115.6 ± 84.1
V <sub>máx</sub> específica de MTBE (mg g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	12.8 ± 3.8	16.0 ± 4.2

% mineralización total = 100 X (mg CO<sub>2</sub> experimentales / mg CO<sub>2</sub> teóricos)

Coefficiente cometabólico = (mg MTBE consumido / mg Hexano consumido)

En esta Figura se sintetizan los resultados obtenidos para los cuatro módulos. En todos los casos, el hexano se agotó en menos de 24 h y su consumo procedió a una tasa volumétrica máxima de consumo promedio de 986.5 ± 73.7

mg hexano g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, (Tabla 3.2.10.). El MTBE se consumió totalmente en aproximadamente 200 h a una velocidad volumétrica máxima de consumo promedio de 12.8 ± 3.8 mg MTBE g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 3.2.10.). No hubo acumulación de TBA por lo que se infiere que las tasas de consumo de MTBE y de TBA fueron muy similares. Este compuesto no fue detectado en el sistema. En la Tabla 3.2.11. se muestran las tasas volumétricas máximas específicas de consumo ( $V_{m\acute{a}x}$ ) de hexano y de MTBE obtenidas en microcosmos para cada módulo con perlita entera.

Tabla 3.2.11. Tasas volumétricas máximas específicas de consumo de hexano y MTBE por módulos obtenidas en experimentos de microcosmos con muestra de perlita entera.

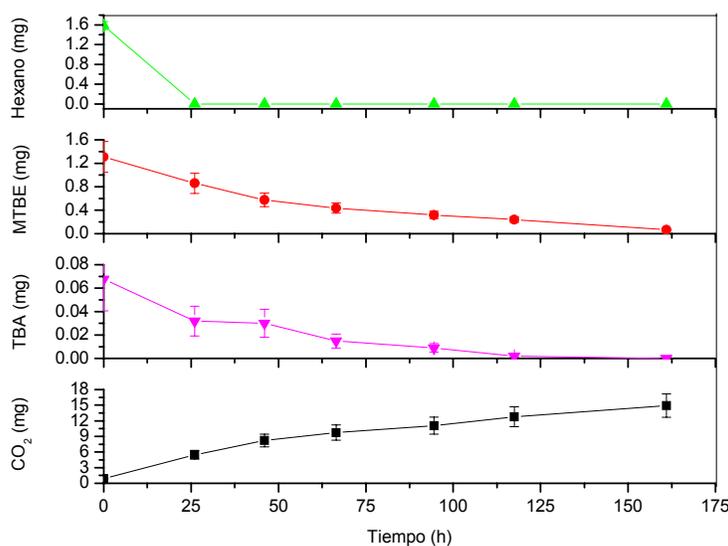
Módulos	$V_{m\acute{a}x}$ (mg hexano g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	$V_{m\acute{a}x}$ (mg MTBE g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
I	1034.9 ± 72.7	7.5 ± 0.1
II	1062.6 ± 2.7	17.1 ± 1.0
III	931.6 ± 24.2	14.4 ± 1.5
IV	916.9 ± 13.0	12.1 ± 0.7

En el módulo II, la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de hexano fue tan sólo 8 % superior con respecto a la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de hexano promedio en todo el reactor. Sin embargo, para este mismo módulo, la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de MTBE fue 34 % superior a la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de MTBE promedio.

En el módulo IV, la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de hexano fue 7 % menor que la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de hexano promedio y la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de MTBE fue 6 % mayor que la  $V_{m\acute{a}x}$  específica de MTBE promedio. No obstante, estos resultados confirman que el comportamiento del biofiltro al final de su operación fue prácticamente homogéneo ya que los microorganismos mantuvieron la misma actividad degradativa. Aunque la parte intermedia del biofiltro, módulos II y III, fue la que proporcionó las mejores condiciones de desarrollo de la población microbiana al no tener problemas de secado ni de limitación de nutrientes o acumulación de subproductos dado el arrastre provocado por la percolación de medio mineral. Estas variables pueden afectar el comportamiento del microorganismo tal como

se discutió en la sección 3.1.3. Además, el desarrollo de las biopelículas puede diferir dependiendo de las condiciones ambientales, tal como lo demostraron Christensen y Characklis<sup>135</sup>. No obstante, en este experimento no se tuvieron variaciones importantes entre un módulo y otro (sección 3.2.1).

En la Figura 40 se muestra la evolución del consumo promedio de hexano, MTBE y TBA y producción de CO<sub>2</sub>, obtenidos a partir del experimento en lote con muestra de perlita molida de los cuatro módulos.



**Figura 40.** Evolución del consumo promedio de Hexano, MTBE y TBA y producción de CO<sub>2</sub> de los 4 módulos del biofiltro (2.5L). Botella serológica con muestra de perlita molida y 25 ml de medio mineral.

El hexano se consumió en menos de 24 h a una tasa volumétrica máxima de consumo promedio de  $1115.6 \pm 84.1$  mg hexano g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 3.2.10.). En este caso, el MTBE se consumió en aproximadamente 150 h a una velocidad volumétrica máxima de consumo promedio de  $16.0 \pm 4.2$  mg MTBE g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 3.2.10.), es decir, una tasa volumétrica de consumo 20 % superior a la alcanzada con perlita entera. No hubo acumulación de TBA. Éste pudo ser detectado en fase líquida, pero solamente el 6 % del teórico producido del primer paso de transformación de MTBE a TBA, según su relación estequiométrica. La velocidad volumétrica máxima de consumo promedio fue de  $0.814 \pm 0.24$  mg TBA g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Sin embargo, ésta es una subestimación ya que al no haber acumulación de TBA las tasas de consumo de MTBE y de TBA debieron ser

muy similares. En la Figura 40 se observa que la degradación de TBA ocurrió a la par de la del MTBE, al contrario de lo reportado por Steffan y col.<sup>90</sup>, en donde la degradación de TBA por la cepa ENV425 no ocurrió hasta la completa remoción de MTBE.

En la Tabla 3.2.12. se resumen las tasas volumétricas máximas específicas de consumo de hexano y MTBE de los cuatro módulos obtenidas en experimentos de microcosmos con muestra de perlita molida. La velocidad volumétrica máxima de consumo de hexano fue prácticamente la misma en todos los módulos con una desviación de tan sólo  $\pm 9$  % con respecto al promedio. En el caso del MTBE, la desviación fue del  $\pm 29$  %.

Tabla 3.2.12. Tasas volumétricas máximas específicas de consumo de hexano y MTBE por módulos obtenidas en experimentos de microcosmos con muestra de perlita molida.

Módulos	$V_{\text{máx}}$ (mg hexano g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	$V_{\text{máx}}$ (mg MTBE g proteína <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
I	1018.2 $\pm$ 109.6	11.4 $\pm$ 2.5
II	1150.9 $\pm$ 23.2	16.0 $\pm$ 0.6
III	1152.8 $\pm$ 107.3	17.5 $\pm$ 5.4
IV	1140.5 $\pm$ 0	19.3 $\pm$ 4.6

La tasa volumétrica máxima promedio de consumo de hexano con muestra de perlita molida fue 12 % superior a la obtenida en los experimentos con perlita entera. Para el MTBE la diferencia entre estas tasas fue del 20 %. Esto se debe seguramente a una mayor biodisponibilidad del hexano y del MTBE dada la resistencia que ofrece la biopelícula a la difusión de éstos y a una mayor dispersión de las células en el medio líquido. Estos resultados confirman la existencia de problemas de transporte difusional en el reactor.

En la Tabla 3.2.10. se resumen los balances de carbono promedio y las velocidades máximas de consumo promedio de hexano y de MTBE para los microcosmos con perlita entera y con perlita molida. Los balances de carbono muestran un porcentaje de mineralización del 205  $\pm$  20 % para el microcosmos con perlita entera y del 197  $\pm$  24 % para el microcosmos con perlita molida.

---

Ambos porcentajes de mineralización son superiores a los obtenidos en experimentos cinéticos con muestra del día 51 de operación (sección 3.2.7.). El exceso de CO<sub>2</sub> se debe a la degradación de fuentes de carbono alternas. Probablemente a compuestos orgánicos liberados por lisis celular y posteriormente degradados y/o a otro material biodegradable acumulado durante el proceso de biofiltración como metabolitos intermediarios y biopolímeros presentes en la biopelícula. Estas sustancias se produjeron durante la operación del biofiltro y los microorganismos posiblemente las tomaron como fuente de carbono. Las micrografías electrónicas, Figura 34, confirman la presencia de exopolisacáridos. Estos resultados corroboran el incremento en la producción de CO<sub>2</sub> hacia el final de la operación del biofiltro de 2.5 L, Figura 27. En experimentos independientes con muestra de extracto de células en medio mineral se siguió la producción de CO<sub>2</sub> a través del tiempo. Se encontró un 83 % de CO<sub>2</sub> por consumo de material biodegradable acumulado y sólo 17 % correspondiente a CO<sub>2</sub> producido por mantenimiento celular. Resultados similares fueron obtenidos por Morales y col.<sup>32</sup> en un biofiltro para degradar vapores de tolueno. Estos autores también obtuvieron una producción de CO<sub>2</sub> superior a la conversión estequiométrica prevista considerando mineralización total. Asimismo, Disk y col.<sup>139</sup>, en estudios hechos en un biofiltro de lecho escurrido para la remoción de diclorometano (DCM), encontraron que la tasa total de producción de CO<sub>2</sub> se incrementaba con el tiempo y demostraron que el exceso de dióxido de carbono provenía de la degradación de biomasa y de material biogénico.

En la Tabla 3.2.10. también se reportan los coeficientes cometabólicos del MTBE para ambos experimentos. El coeficiente cometabólico de MTBE fue de  $0.97 \pm 0.07$  y de  $0.79 \pm 0.07$  para el microcosmos con muestra de perlita entera y de perlita molida, respectivamente. Este coeficiente cometabólico es superior al reportado para el consorcio del cual se aisló la cepa utilizada ( $0.5 - 0.8$  mg MTBE mg hexano<sup>-1</sup>) y comparable al obtenido en los experimentos cinéticos realizados con muestra del día 51 de operación.

A partir de las velocidades máximas de consumo de sustrato ( $V_{m\acute{a}x}$ ), fue posible evaluar la capacidad de eliminación máxima teórica de hexano y de MTBE. Los resultados se muestran en la Tabla 3.2.13.

Tabla 3.2.13. Estimación de la CE teórica de hexano y de MTBE evaluada a partir de  $V_{m\acute{a}x}$ .

Compuesto	$V_{m\acute{a}x}$ (mg h <sup>-1</sup> )	CE teórica (g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )	CE experimental (g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )
Hexano	0.965	430	20 ± 5%
MTBE	0.013	6	8 ± 5%

Nota: Muestra de perlita entera tomada del biofiltro al final de la operación.

La CE teórica de hexano está muy por encima de la CE experimental obtenida en todo el periodo de operación del biofiltro. Esto sugiere que hubieron limitaciones en el reactor como fue el descenso del pH, limitación de nutrientes y el secado del lecho. Se ha demostrado que las tasas de consumo de sustrato disminuyen cuando se tiene menor contenido de agua (Acuña y col.<sup>96</sup>). Para la mayoría de las bacterias el crecimiento es óptimo a actividades de agua ( $a_w$ ) por encima de 0.99, mientras que la actividad de agua mínima está en el rango de 0.9 a 0.99. Ésta es una desventaja con respecto a los hongos, los cuales, soportan condiciones ambientales más severas como actividades de agua más bajas, entre 0.93 y 0.98 y pHs ácidos, entre otras (García-Peña y col.<sup>57</sup>).

Las predicciones de CE para hexano fueron muy diferentes a las obtenidas con muestra del día 51, debido a la diferencia en la  $V_{m\acute{a}x}$ . Acuña y col.<sup>96</sup> hicieron extrapolaciones de CE teórica de tolueno y compararon con la CE experimental obtenida en biofiltro en diferentes periodos de operación de éste. Estos autores encontraron que en la primera fase de arranque del sistema la extrapolación fue bastante buena. Sin embargo, ésta se fue haciendo cada vez más pobre con una razón (CE experimental/ CE teórica) de 9 veces.

En el caso del MTBE, la CE teórica obtenida con muestras en ambos tiempos es muy similar a la CE experimental. La estimación de CE a partir de la tasa volumétrica máxima de consumo puede funcionar en ciertos casos, preferentemente cuando el compuesto a tratar es hidrofílico. Santana<sup>140</sup>, en su

---

tesis de Maestría, obtuvo una correlación entre la CE experimental y la CE teórica de metanol empleando *Pichia Methanolica*. Éstas diferían tan sólo en un 8 %.

Es importante enfatizar la discrepancia de estos resultados ya que pueden indicar un estado fisiológico de la cepa distinto de un ensayo a otro. Además, ponen de manifiesto una posible influencia de consumo de materiales adicionales que promovieron mayores tasas de consumo de hexano al final de la operación del biofiltro. Un comportamiento similar fue observado por Egli<sup>141</sup>.

Sin embargo, las tasas de degradación alcanzadas para MTBE y hexano así como los % de mineralización son superiores a los reportados por otros autores. Steffan y col.<sup>90</sup> (1997) reportaron una especie de *Pseudomonas* sp. CAM capaz de degradar MTBE a una tasa de 2.11 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. No obstante, el microorganismo solamente biotransformaba MTBE a TBA. Más tarde, Garnier y col.<sup>91</sup> (1999) obtuvieron una tasa de degradación de MTBE de 20 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> con una especie de *Pseudomonas aeruginosa*. No obstante, esta cepa no mineralizó al MTBE, éste se acumuló como TBA dada su tasa de degradación considerablemente más lenta de 4.25 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Sólo el 20 % fue transformado hasta CO<sub>2</sub>. Una tasa de degradación similar fue reportada por Hyman y col.<sup>121</sup> (1999) para una especie de *Pseudomonas mendocina* crecida en 2-metilpentano. En todos estos casos con *Pseudomonas*, hubo acumulación de TBA, sugiriendo que el paso limitante en la degradación del MTBE es éste. Sin embargo, en nuestro caso, el TBA se consumió totalmente en los experimentos de microcosmos. Más recientemente, Morales y col.<sup>92</sup> (2004) reportaron tasas de degradación de MTBE en cometabolismo con hexano de hasta 11.5 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y 281 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente. Sin embargo, en el mismo año, González<sup>138</sup> obtuvo tasas de degradación de hexano de 425 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, alimentando la misma cantidad de hexano que en este trabajo, y de hasta 896 mg g<sup>-1</sup> proteína h<sup>-1</sup> al alimentar 5 mg de hexano medidos como mg C. De igual manera, la tasa de degradación de MTBE fue de alrededor de 42 mg MTBE g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> siendo 2 veces superior a la alcanzada en este estudio.

---

No obstante, estudios con otros microorganismos han presentado mejores resultados y hasta mineralización. Liu y col.<sup>142</sup> (2001) obtuvieron tasas de degradación en cometabolismo con butano empleando una cepa *Arthrobacter* (ATCC 27778) de 35.8 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y un porcentaje de recuperación de carbono como CO<sub>2</sub> del 97 %. Hernández y col.<sup>62</sup> (2001) reportaron tasas de degradación de MTBE en el rango de 51 - 121 mg g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, con un consorcio enriquecido del material de empaque de un biofiltro para tratamiento de vapores de gasolina. Si bien, se trata se tasas de degradación de MTBE superiores, en muchos casos los cultivos degradadores no son estables, impidiendo su aplicación en campo.

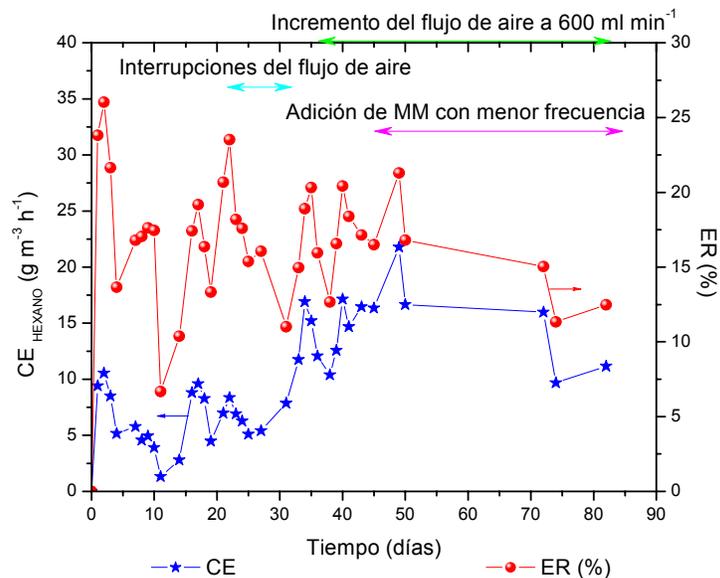
### 3.3. Experimento de biofiltración 3

#### 3.3.1. Desempeño del biofiltro

A) Evolución de la capacidad de eliminación y eficiencias de remoción para el hexano y MTBE

Se inició un tercer experimento de biofiltración con el objetivo de alcanzar un comportamiento más estable de las capacidades de eliminación (CE) y eficiencias de remoción (ER). Para ello se planteó un mejor control del pH adicionando medio mineral (MM) de composición 1X dos veces al día. Es conocido que los biofiltros pueden generar drenados o lixiviados si son sobre humidificados. Los lixiviados contienen células, contaminantes sin consumir, subproductos, nutrientes, ácidos y sales. Pequeñas cantidades de lixiviados pueden ser de ayuda, dado que acarrean las especies dañinas para la operación del biofiltro y reducen su acidificación. Sustancias como el ácido clorhídrico que se produce por la degradación de hidrocarburos clorados, el ácido sulfúrico por la oxidación de sulfuros orgánicos, entre otros (Deviny y col.<sup>28</sup>) pueden ser removidos con este método.

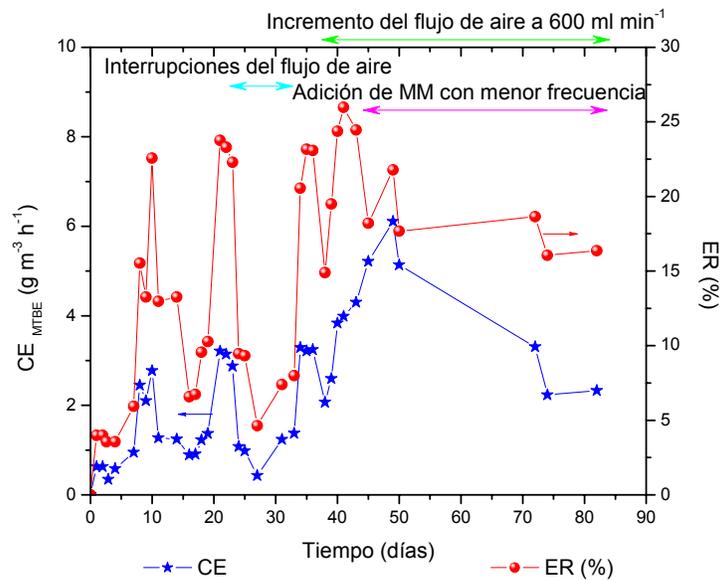
Las condiciones iniciales del sistema fueron las mismas empleadas en el experimento 2. El comportamiento de la CE y ER del hexano se muestra en la Figura 41.



**Figura 41.** Evolución de la CE y ER de hexano en experimento 3. Medio mineral (MM).

En esta Figura se observa que durante la etapa de arranque se alcanzaron capacidades de eliminación considerablemente más bajas que en el biofiltro anterior. Posteriormente del día 23 al 31, se presentó un periodo de cortes de alimentación de aire, lo que afectó al sistema. Sin embargo, el biofiltro se recuperó al restablecerse el flujo paulatinamente y se mantuvo estable hacia el final de la operación en valores promedio de CE de hexano de  $17 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . A pesar de duplicar el flujo de aire (día 38) para diluir la concentración de entrada y tratar de discernir si había problemas de inhibición por concentración elevada de sustrato, el sistema permaneció sin cambio alguno. Por lo tanto, se cree que no se tenían problemas de inhibición. Finalmente, se decidió adicionar medio mineral en intervalos de tiempo mayores para tratar de eliminar el exceso de agua que pudo afectar el transporte del hexano. Sin embargo, no hubo una mejoría apreciable.

La transferencia de masa de hexano de la fase gaseosa a la fase líquida pudo haber sido impedida por el alto contenido de humedad, tal como señalan Budwill y col.<sup>114</sup> y Van Groenestijn y col.<sup>122</sup>.



**Figura 42.** Evolución de la CE y ER de MTBE en experimento 3. Medio mineral (MM).

En el caso del MTBE, Figura 42, también se alcanzaron capacidades de eliminación bajas, siendo en el mejor de los casos de  $6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . No obstante,

estos resultados eran de esperarse ya que se tuvieron CE de hexano muy bajas, lo cual, necesariamente afectó el consumo de MTBE.

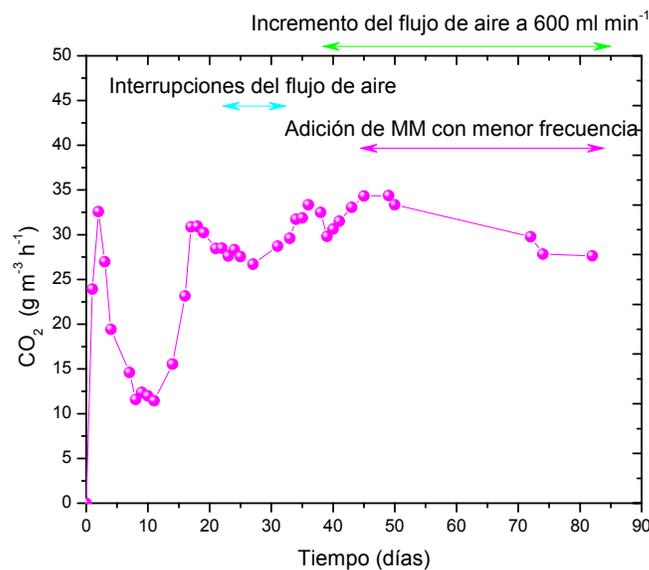
Al contrario del hexano, cuando adicionamos MM en intervalos más grandes, la CE de MTBE decayó hasta valores de  $2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Este hecho puede deberse a una limitación de sales minerales o una limitación de transporte al haber menos fase acuosa, dadas las características del MTBE y la necesidad de estar en mayor proporción con respecto al hexano para ser consumido.

Con respecto al pH, no hubo acidificación del biofiltro, éste permaneció estable en valores promedio de pH de 6.5, revelando que no se presentaron reacciones de nitrificación ni hubo acumulación de subproductos ácidos debido al uso de MM (composición 1X) y a la pobre degradación de MTBE.

## B) Evolución del dióxido de carbono

Durante los 10 primeros días que corresponden al arranque del biofiltro, se tuvo una actividad metabólica intensa resultando en una alta producción de  $\text{CO}_2$  con un % de mineralización del 84 %. Posteriormente, la producción de  $\text{CO}_2$  disminuyó para estabilizarse nuevamente a partir del día 18 en valores de alrededor de  $30 \pm 5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . El % de mineralización total fue del 65 % sin considerar la conversión a biomasa (Tabla 3.3.2.).

En la Figura 43 se muestra la producción de  $\text{CO}_2$  a lo largo de la operación del biofiltro.



**Figura 43.** Evolución de la producción de  $\text{CO}_2$  en experimento 3. Medio mineral (MM).

---

### C) Evolución de la humedad y biomasa

Al final de la operación del reactor se cuantificaron el contenido de humedad y biomasa por análisis termogravimétrico y por peso seco. También se cuantificó la proteína. Se tomaron muestras de soporte con biopelícula en cuatro diferentes alturas del biofiltro. Los resultados se resumen en la Tabla 3.3.1.

Tabla 3.3.1. Contenido de humedad, biomasa y proteína por módulos en experimento 3 al final de la operación.

Módulos	Humedad (g agua g perlita seca <sup>-1</sup> )	Biomasa (mg g perlita seca <sup>-1</sup> )	Proteína (mg g perlita seca <sup>-1</sup> )
I	1.6	58.5	1.74
II	2.3	64.7	1.76
III	2.1	67.4	1.87
IV	2.1	59.7	1.61
<b>Promedios</b>	<b>2.0</b>	<b>62.6</b>	<b>1.75</b>

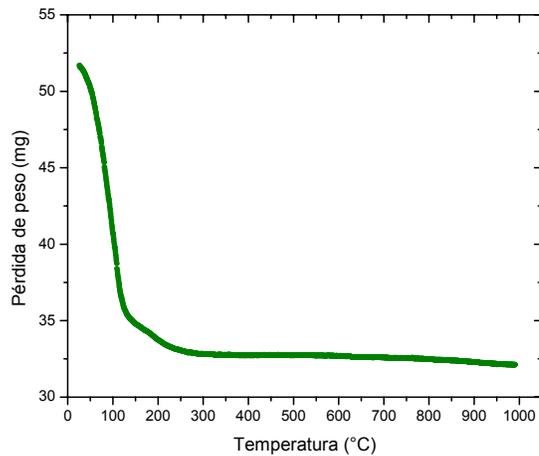
Los resultados de la Tabla 3.3.1. demuestran heterogeneidad en el contenido de humedad a lo largo del reactor, sobre todo en la parte superior. El primer módulo (MI) contenía menos agua (1.6 g agua g perlita seca<sup>-1</sup>) debido principalmente al secado provocado por el flujo de aire. Sin embargo, la humedad no descendió hasta valores que pudieran afectar la actividad de los microorganismos. Los otros módulos (MII, MIII y MIV) permanecieron sobrehumedecidos con un contenido de humedad 20 % superior al del experimento 2.

En la Figura 44 se presenta el perfil de análisis termogravimétrico (ATG) para el módulo III. Éste sólo denota la pérdida de peso al incrementarse la temperatura hasta un valor límite que representa el peso del soporte inorgánico. Los otros tres módulos presentaron el mismo tipo de perfiles (Figuras no mostradas).

A partir de los perfiles de ATG se obtuvo un contenido promedio de biomasa y exopolímeros de 63 mg g perlita seca<sup>-1</sup> (Tabla 3.3.1.). Éste es 18 % inferior al obtenido en el experimento anterior, debido presumiblemente al tiempo de duración del experimento así como a las diferencias significativas en las remociones alcanzadas. En el experimento 2 se eliminaron 93 g de

---

contaminantes cuantificados como carbono total y en el experimento 3 se eliminaron únicamente 55 g de C.



**Figura 44.** Análisis termogravimétrico y térmico diferencial del módulo III.

La tasa de crecimiento en todo el biofiltro fue homogénea con un rendimiento celular de 0.40 g biomasa g C total consumido<sup>-1</sup>. De la biomasa promedio cuantificada en el biofiltro solamente el 2.8 % corresponde a proteína, el resto se debe a material extracelular polimérico acumulado en la biopelícula a lo largo de la operación del sistema. Para corroborar esta hipótesis, se sometió una muestra del módulo II a análisis elemental. Se obtuvo una composición de biomasa igual a  $\text{CH}_{1.5}\text{N}_{0.128}\text{O}_x$ . Ésta posee menos  $\text{N}_2$  e  $\text{H}_2$  comparada con la composición reportada en la literatura para bacterias ( $\text{CH}_2\text{N}_{0.25}\text{O}_{0.5}$  o  $\text{CH}_{1.666}\text{N}_{0.20}\text{O}_{0.27}$ )<sup>143</sup>. No obstante, si consideramos que el 16 % de las proteínas es  $\text{N}_2$ , tendremos 1.93 mg proteína g perlita seca<sup>-1</sup>. Este resultado correlaciona bien con los datos de cuantificación de proteína con una desviación de tan sólo 9 %, por lo que el resto del carbono considerado en la fórmula de la biomasa corresponde a la producción de biopolímeros.

---

### 3.3.2. Balances de carbono

El balance de carbono para el experimento 3 se resume en la Tabla 3.3.2. Se obtuvo un porcentaje de recuperación de carbono por la producción de CO<sub>2</sub> del 65.36 %, siendo éste la mayor contribución. Considerando que el 50 % de la biomasa es carbono, se recuperaron 11.05 g C como biomasa, lo que corresponde a un 20.25 %. Las contribuciones por carbono adsorbido en soporte y carbono absorbido en biopelícula fueron prácticamente despreciables. El resto del carbono que no fue cuantificado se presume se encontraba como subproductos de reacción.

Tabla 3.3.2. Resumen del balance de carbono en experimento 3.

Concepto	Cantidad (g)		Cantidad (%)
	Hexano	MTBE	
g de C eliminados	45.47	9.08	
g de C eliminados totales	54.56		
g de C recuperados como CO <sub>2</sub>	35.66		65.36
g de C recuperados como biomasa	11.05		20.25
g de C adsorbido en soporte sólido	0.17		0.32
g de C absorbido en fase líquida	0.01		0.02
<b>TOTAL</b>	<b>46.89</b>		<b>85.95</b>

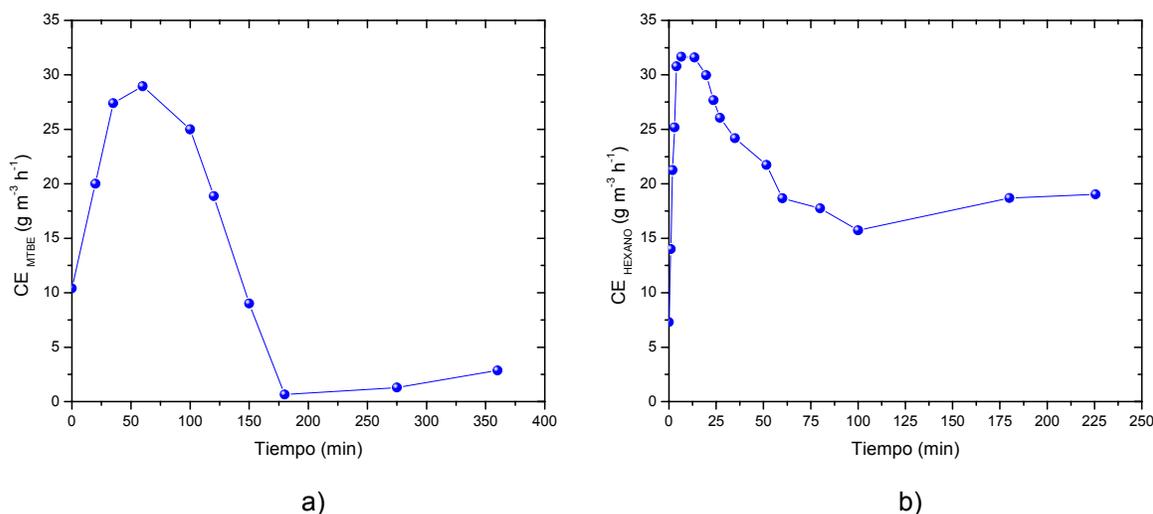
### 3.3.3. Experimentos dinámicos

Se desarrollaron experimentos dinámicos en el tercer experimento de biofiltración suspendiendo la alimentación de uno de los COVs, hexano o MTBE. El objetivo fue observar la respuesta inmediata en el reactor a través del tiempo dada la perturbación causada. Los perfiles obtenidos se muestran en las Figuras 45 a) y b).

En la Figura 45 a) se aprecia como decae la CE del MTBE ante el cese de la alimentación de hexano. Después de un lapso de 3 horas, la cepa no es capaz de metabolizar al MTBE, comprobándose que requiere forzosamente del sustrato que sostiene el crecimiento. Durante los primeros 75 minutos posteriores a la suspensión de hexano, pareciese aumentar la CE del MTBE.

Este hecho puede estar asociado a un fenómeno de competencia entre los sustratos por el sitio activo de las enzimas, y al no estar presente el hexano, el MTBE tiene toda la facilidad para fijarse al sitio activo y ser consumido. Sin embargo, durante los siguientes 100 min., la CE del MTBE decrece rápidamente debido a que la actividad enzimática dentro del microorganismo no puede ser sostenida. Ninguno de los intermediarios de la ruta de degradación del MTBE son compuestos inductores de las alcano monooxigenasas.

Este comportamiento es diferente al obtenido por Munguía<sup>117</sup> en un biorreactor de lecho empacado para la eliminación de MTBE utilizando pentano como sustrato de crecimiento. En este caso, después de la interrupción de la alimentación de pentano, la eficiencia de eliminación de MTBE se mantuvo estable durante aproximadamente 40 horas y después disminuyó hasta un 20 % de ER durante las siguientes 60 horas. Una vez restablecida la alimentación del alcano, la capacidad de eliminación de MTBE se restablecía completamente.



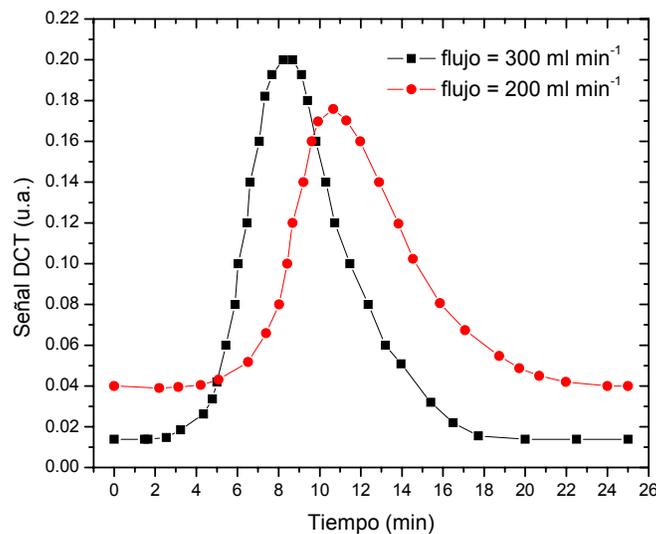
**Figura 45.** Respuesta de la CE ante la suspensión de uno de los COVs. a) Suspensión de la alimentación de hexano, b) Suspensión de la alimentación de MTBE.

En cambio, en la Figura 45 b) podemos observar el aumento de la CE del hexano ante el cese de la alimentación de MTBE. Este incremento en la CE exhibe nuevamente la competencia entre ambos sustratos tal como lo reportan Hardison y col.<sup>77</sup> con el hongo *Graphium* sp. Ellos encontraron una interacción competitiva entre el n-butano y el MTBE para ligarse y oxidarse en la misma

enzima. La CE de hexano alcanzó un máximo de  $32 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  durante los primeros 50 minutos. Durante este tiempo se restableció el equilibrio entre el hexano en fase gas y el hexano en fase líquida, el cual, puede ser modificado por la presencia del MTBE. Posteriormente se alcanzó un nuevo estado estacionario y la CE se mantuvo estable en valores alrededor de  $20 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

### 3.3.4. Distribución de tiempos de residencia (DTR)

Los estudios de distribución de tiempos de residencia en el biofiltro (tercer experimento de biofiltración) se hicieron para conocer el grado de dispersión axial en el reactor de lecho empacado. Al mismo tiempo, se hizo una comparación de los resultados de acuerdo a los obtenidos con un modelo de dispersión. En la Figura 46 se muestran las distribuciones de tiempo de residencia a dos diferentes flujos,  $200 \text{ ml min}^{-1}$  y  $300 \text{ ml min}^{-1}$ .



**Figura 46.** Curvas de distribución de tiempos de residencia en biofiltro empacado con perlita e inoculado con *Pseudomonas aeruginosa*.

Por comparación entre las curvas experimentales presentadas en la Figura 46 y las curvas teóricas obtenidas con el modelo de dispersión, Figura 47, se aprecia que el comportamiento dentro del reactor de lecho empacado es el de flujo con

---

dispersión intermedia. Además, se observa que la dispersión se va incrementando a medida que disminuye la velocidad superficial del gas.

Estos resultados se confirman con la correlación para calcular la dispersión de flujo laminar en tubos, construida a partir de los datos de Taylor (1953)<sup>144</sup> y Aris (1959)<sup>145</sup>. A las condiciones manejadas en el sistema (P=1 atm y T=303.15 K), se obtuvo un número de Schmidt de 0.241, entendido éste como la razón entre la viscosidad cinemática y la difusividad molecular.

Asimismo, para el flujo de 0.3 L min<sup>-1</sup> se obtuvo un número de Reynolds de 5.519 que indica flujo laminar. Al realizar el producto (Re)(Sc) se determinó el parámetro  $\frac{ud_t}{D_{AB}}$ , que en este caso fue de 1.331. De la Figura 9-19<sup>104</sup> se leyó el

parámetro de intensidad de dispersión representado por  $\frac{D}{ud_t}$ . Éste se

correlaciona con las propiedades del sistema, diámetro y longitud del tubo,  $\left(\frac{d_t}{L}\right)$ .

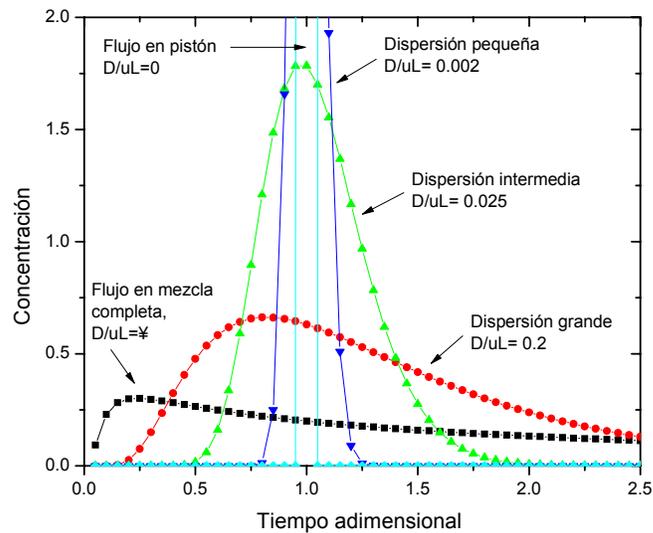
Finalmente, al efectuar el producto entre la intensidad de la dispersión y el factor geométrico, se obtuvo un módulo de dispersión,  $\left(\frac{D}{uL}\right)$ , de 0.129.

De la misma forma, se efectuó el procedimiento descrito para un flujo de 0.2 L min<sup>-1</sup>, obteniéndose un módulo de dispersión de 0.271. Estos resultados concuerdan con los reportados por Levenspiel<sup>104</sup>, en donde se menciona que, para flujo laminar, la difusión molecular tiene un gran efecto sobre la dispersión, a caudales bajos la promueve mientras que a caudales altos ejerce el efecto contrario.

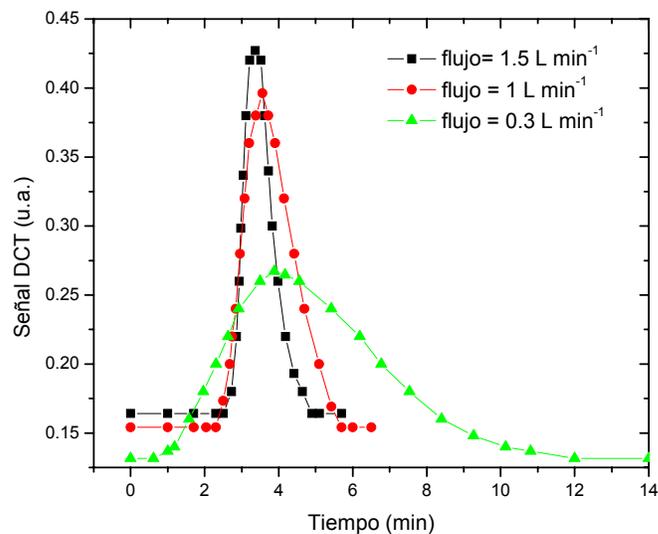
Por otro lado, si calculamos el parámetro  $\left(\frac{D}{uL}\right)$  considerando que el coeficiente de dispersión sólo es la difusividad molecular de helio en aire, el resultado para un flujo de 0.3 L min<sup>-1</sup> es de 0.102. Éste se desvía sólo un 26 % con respecto al calculado con las curvas de la Figura 9-19<sup>104</sup> para flujo en tuberías, por lo que puede funcionar como una aproximación razonable.

$D$  es un parámetro que se denomina coeficiente de dispersión longitudinal o axial, y caracteriza el grado de retromezcla durante el flujo.

También se obtuvieron las distribuciones de tiempo de residencia para el biofiltro empacado con perlita sin la presencia de microorganismos. Los resultados se muestran en la Figura 48.



**Figura 47.** Curvas de distribución de tiempos de residencia para distintas intensidades de retromezcla predichas por el modelo de dispersión. Adaptado de Levenspiel, (1974)<sup>104</sup>.



**Figura 48.** Curvas de distribución de tiempos de residencia en biofiltro empacado con perlita sin inocular a tres diferentes flujos.

---

En esta Figura se puede observar que las curvas de distribución de tiempo de residencia con perlita sin inocular también presentan un ligero coleo cuando disminuye la velocidad superficial del gas. Este coleo se debe a la dispersión axial dentro del reactor. Sin embargo, si comparamos la curva de DTR para el mismo flujo cuando tenemos al reactor empacado con perlita sola con respecto a la curva de DTR cuando hay crecimiento de microorganismos, podemos observar que el comportamiento es muy similar. No obstante, el crecimiento de la biomasa ha influido hasta este momento en la distribución del gas provocando acanalamiento y posibles zonas muertas.

Cabe enfatizar que, impidiendo la formación de canalizaciones y cortocircuitos, podemos alcanzar conversiones más elevadas en el reactor<sup>104</sup>, y por lo tanto, eficiencias de remoción de contaminantes mayores.

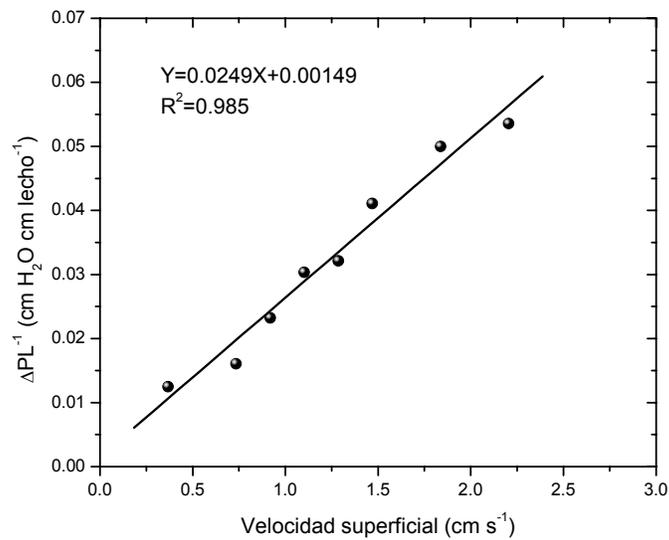
### 3.3.5. Permeabilidad relativa intrínseca

Los estudios de caída de presión en el biofiltro en función del flujo de aire se realizaron para calcular la permeabilidad relativa intrínseca. Estos experimentos fueron hechos en el tercer experimento de biofiltración en donde no se observó contaminación por hongos o levaduras. En la Figura 49 se muestra el perfil de caída de presión ( $\Delta P L^{-1}$ ) y la regresión obtenida. En ella se observa el aumento de la caída de presión a través del lecho a medida que se incrementa la velocidad superficial del gas. Ésta sigue un comportamiento lineal con un ajuste del 98.5 %. Para un flujo de  $0.55 \text{ cm s}^{-1}$  se obtiene una caída de presión de  $0.015 \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$ . Las caídas de presión obtenidas concuerdan en orden de magnitud con las caídas de presión experimentales de  $0.0123 \text{ cm H}_2\text{O cm lecho}^{-1}$ , reportadas por Kibazohi y col.<sup>132</sup>, cuantificadas bajo condiciones similares. Los valores de  $\Delta P$  son bajos dadas las características de la perlita y del crecimiento de las bacterias, ya que éstas no compactan al soporte como en el caso del crecimiento micelial de los hongos.

A partir de los datos de caída de presión se obtuvo una permeabilidad relativa intrínseca ( $\kappa$ ) de  $4.77 \times 10^{-6} \text{ cm}^2$ , lo que corresponde a una fracción vacía en el

---

lecho ( $\varepsilon$ ) de 0.21. Ésta es similar a la obtenida en el experimento 2 (sección 3.2.5.).



**Figura 49.** Variación de la caída de presión ( $\Delta P L^{-1}$ ) en función de la velocidad superficial de gas en biofiltro empacado con perlita.  $D_p = 2.36$  mm.

---

## Capítulo 4. Conclusiones

---

Se comprobó el potencial de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* para degradar metil ter-butil éter (MTBE) por cometabolismo con hexano en biofiltros. Se probaron dos soportes, uno de origen orgánico (turba) y el otro inorgánico (perlita). La composición del lecho filtrante jugó un papel importante en la remoción de compuestos hidrofóbicos, éstos deben proporcionar áreas superficiales altas y poseer una capacidad de retención de agua grande sin fomentar la sobrehumidificación o el secado. La elección entre uno u otro soporte no fue influenciada por la capacidad de eliminación (CE) que se podía alcanzar, ya que ambos fomentaron la misma CE, sino en función de su manejo y comportamiento mecánico. La perlita resultó ser un mejor material de empaque que la turba, ya que ésta promovió problemas de compactación y taponamiento generando problemas de distribución de flujo y de caída de presión. En los biofiltros de 0.5 L, empacados con turba, se alcanzaron capacidades de eliminación máximas de hexano de  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  y de MTBE de  $35 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . En los biofiltros empacados con perlita, se obtuvieron capacidades de eliminación de MTBE en cometabolismo con hexano de  $35 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  en los biofiltros de 0.5 L y de  $15 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  en el biofiltro de 2.5 L. Estas CE son mejores a las reportadas por Eweis y col. (1997)<sup>93</sup> y Dupasquier y col. (2002)<sup>95</sup>.

Asimismo, para el hexano se alcanzó una  $CE_{MÁX}$  de  $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (biofiltros de 0.5 L) y de  $60 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (biofiltros de 2.5 L) con eficiencias de remoción del 80 %. Estas CE son mejores que las encontradas en sistemas bacterianos reportadas por Morgenroth y col.<sup>111</sup> (1996), Van Groenestijn y col.<sup>112</sup> (1999), Budwill y col.<sup>113</sup> (1999) y Paca y col.<sup>114</sup> (2002).

Un mejor control de las variables de operación como humedad, nutrientes y en nuestro caso, el pH mejorarían el desempeño del biofiltro. La disminución del pH como resultado de reacciones de nitrificación que produjeron iones hidrógeno y acumulación de subproductos ácidos impactó adversamente a los microorganismos y es la razón probable de la eventual disminución de la actividad.

---

Cabe enfatizar la importancia del control de la humedad en los lechos biofiltrantes. La humedad es un factor crítico en la biofiltración de compuestos hidrofóbicos como se demostró en este trabajo.

Por otro lado, la difícil degradación de los éteres alquílicos por microorganismos presentes en suelos y lodos se atribuye a diversos factores, como son: la ligadura éter, muy estable y químicamente no reactiva, la dificultad para transportar estos compuestos dentro de las células, y la falta de actividad enzimática, ya sea inducida o existente.

En todos los estudios hechos con *Pseudomonas* se ha observado una acumulación de TBA, indicando que el paso limitante en la degradación es la ruptura de la estructura del carbón terciario de la molécula de MTBE. En el biofiltro de 2.5 L se tuvo una parcial acumulación de TBA debido a que su tasa de degradación fue más lenta que la del MTBE y probablemente se requería un mayor tiempo de contacto entre las fases. Sin embargo, en experimentos cinéticos hechos en microcosmos se demostró que el TBA podía ser consumido totalmente a la par del consumo de MTBE. Éste también se consumió por cometabolismo. El MTBE fue degradado completamente aún cuando el hexano se agotaba en un tiempo menor, confirmando que las enzimas permanecen activas después de unas cuantas horas después de agotado el compuesto inductor del metabolismo.

En este estudio, las tasas de degradación mayores de MTBE se obtuvieron con muestra del biofiltro de 2.5 L del día 51 de operación. Ésta fue de  $19.9 \pm 5.2$  mg MTBE g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. En contraste, la tasa de degradación de hexano más alta se obtuvo con muestra al final de la operación. Ésta fue de  $986.5 \pm 73.7$  mg hexano g proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Los experimentos de microcosmos demostraron no ser siempre una herramienta útil para predecir las remociones de contaminante en los biofiltros. La aproximación difiere de un periodo a otro, ya que la actividad del microorganismo y por lo tanto las tasas de degradación de contaminante no son constantes.

---

Bajo las condiciones utilizadas, la actividad en el biofiltro fue homogénea a pesar de tener dispersión intermedia en la distribución del flujo con un coeficiente de dispersión de  $0.8 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ , lo cual influenció los perfiles de concentración en el biofiltro.

Se obtuvo alta densidad celular en el biofiltro, sin embargo, se tuvieron problemas de distribución del flujo de aire dada la producción de biopolímeros en exceso que afectaron el tiempo de contacto entre las fases y por lo tanto, las tasas de transporte de los contaminantes. Una alternativa para el control del crecimiento excesivo de biomasa y/o biopolímeros es a través de la alimentación del alcano en pulsos tal como lo demostraron los resultados en estado transitorio. Esto nos permitiría mantener la actividad degradadora del microorganismo y a su vez, economizar costos.

---

## Bibliografía

---

- <sup>1</sup> SEMARNAT, INE, Dirección General de Investigación sobre la Contaminación Urbana, Regional y Global. Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero, México, D.F., 2003.
- <sup>2</sup> Arriaga, J. L.; Martínez G.; Escalona, S.; Martínez, H.; Seila, R. Compuestos orgánicos volátiles en la atmósfera de la ZMCM. El Colegio Nacional, México, D.F., 23-28, 1996.
- <sup>3</sup> Revah, S.; Ortíz, I. Sección II: El desarrollo de bioprocesos para el tratamiento de aire contaminado emitido por fuentes fijas. pp. 625-655. En Bolívar, F.G. Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna. El Colegio Nacional, México, D.F., 2004.
- <sup>4</sup> Vega, E.; Múgica, V.; Carmona, R.; Valencia, E. Hydrocarbon source apportionment in Mexico City using the chemical mass balance receptor model. *Atmosph. Environ.* 34: 4121-4129, 2000.
- <sup>5</sup> SEMARNAT, INE, Dirección General de Calidad del Aire y Registro de Contaminantes, México, D.F., 2002.
- <sup>6</sup> Instituto Nacional de Ecología. Tecnologías de remediación utilizadas en México. <http://www.ine.gob.mx>.
- <sup>7</sup> Bravo, H.; Sosa, R.; Sánchez, P.; Bueno, E.; González, L. Concentrations of benzene and toluene in the atmosphere of the southwestern area at the Mexico City Metropolitan Zone. *Atmosph. Environ.* 36: 3843-3849, 2002.
- <sup>8</sup> Morales, M.; Velázquez, E.; Razo, E. Magaña, M.; González, B.; Revah, S. MTBE Pollution and potential of Biodegradation in soil samples from polluted sites in Mexico. In Proc. Sixth International Symposium on Environ. Biotechnol., 2002.
- <sup>9</sup> Zambrano, G.A.; De Vizcaya, R.A.; Uribe, H.R.; Salazar, C.L.; Pérez, B.R.; Arriaga, J.L.; Zapata, P.I.; García, T.J.L.; González, M.U.; Calderón, A.E.S.; Cebrián, G.M.E. Toxicity of Mexican Gasoline Vehicle Emissions. 12<sup>th</sup> CRD On-Road Vehicle Emissions Workshop. San Diego, California, Abril, 2002.
- <sup>10</sup> Iborra, M.; Tejero, J.; El-Fassi, M.B.; Cunill, F.; Izquierdo, J.F.; Fité, C. Experimental Study of the Liquid-Phase Simultaneous Syntheses of Methyl *tert*-Butyl Ether (MTBE) and *tert*-Butyl Alcohol (TBA). *Ind. Eng. Chem. Res.* 41: 5359-5365, 2002.
- <sup>11</sup> U.S. Environmental Protection Agency. MTBE in fuels. <http://www.epa.gov/mtbe/gas.htm>.
- <sup>12</sup> Centeno, J.C. Gasolina sin plomo amenaza la seguridad pública. <http://www.ecoportal.net/articulos/gasolina.htm>.
- <sup>13</sup> Grisham, J. Cutting Back MTBE. *C & EN.* August, pp. 5-6, 1999.
- <sup>14</sup> Hanson, D. MTBE: Villain or Victim?. *C & EN.* October, pp. 18-49, 1999.
- <sup>15</sup> Shields, D. MTBE: Ningún riesgo para la salud, asegura PEMEX. Sección de Negocios, Periódico El Financiero. Pág. 20. Enero 12, 2000.

- 
- <sup>16</sup> Schifter, I.; Díaz, L.; Vera, M.; Castillo, M.; Ramos, F.; Avalos, S.; López-Salinas, E. Impact of Engine Technology on the Vehicular Emissions in Mexico City. *Environ. Sci. Technol.* 34(13): 2663-2667, 2000.
- <sup>17</sup> U.S. Environmental Protection Agency. MTBE Fact Sheet # 2. Remediation Of MTBE Contaminated Soil And Groundwater. Office of Solid Waste And Emergency Response. Document Number: EPA 510-F-97-015. Enero, 1998.
- <sup>18</sup> U.S. Environmental Protection Agency. Chemicals in the Environment: Methyl-*tert*-Butyl Ether (CAS No. 1634-04-4). Office of Pollution Prevention and Toxics. Document Number: EPA 749-F-94-017. Agosto, 1994. [http://www.epa.gov/chemfact/f\\_mtbe.txt](http://www.epa.gov/chemfact/f_mtbe.txt).
- <sup>19</sup> U.S. Geological Survey. National Water Quality Assessment Program. Occurrence of the Gasoline Additive MTBE in Shallow Ground Water in Urban and Agricultural Areas. Fact Sheet FS-114-95, Marzo, 1995.
- <sup>20</sup> Celestinos, J.A. Influencia de la Tecnología en el Medio Ambiente. *Rev. Soc. Quím. Méx.* 39(2): 51-65, 1995.
- <sup>21</sup> Fischer, A.; Müller, M.; Klasmeier, J. Determination of Henry's law constant for methyl *tert*-butyl ether (MTBE) at groundwater temperatures. *Chemosphere.* 54: 689-694, 2004.
- <sup>22</sup> Fortin, N.; Deshusses, M. Treatment of Methyl *tert*-Butyl Ether Vapors in Biotrickling Filters. 1. Reactor Startup, Steady-State Performance, and Culture Characteristics. *Environ. Sci. Technol.* 33: 2980-2986, 1999.
- <sup>23</sup> Collegium Ramazzini, "Position on Oxygenated and Reformulated Gasoline", In Holmes, Dirty Air. Diciembre 22, 1996.
- <sup>24</sup> U.S. Environmental Protection Agency. Chemical Summary for Methyl-*tert*-Butyl Ether. Office of Pollution Prevention and Toxics. Document Number: EPA 749-F-94-017a. Agosto, 1994. [http://www.epa.gov/chemfact/s\\_mtbe.txt](http://www.epa.gov/chemfact/s_mtbe.txt).
- <sup>25</sup> Dernbach, L. The Complicated Challenge of MTBE Cleanups. *Environ. Sci. Technol.* 34(23): 516A-521A, 2000.
- <sup>26</sup> U.S. Environmental Protection Agency. Drinking Water Advisory: Consumer Acceptability Advice and Health Effects Analysis on Methyl Tertiary Butyl Ether (MTBE). Document Number: EPA-882-F-97-008, Washington, D.C., Diciembre, 1997.
- <sup>27</sup> Iturbe, R.; Flores, R.M.; Torres, L.G. Soil and water contamination levels in an out-of-service oil distribution and storage station in Michoacan, Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution.* 146: 261-281, 2003.
- <sup>28</sup> Deviny, J.S.; Deshusses, M.A.; Webster, T.S. Biofiltration for Air Pollution Control. CRC Lewis Publishers, E.U.A., 300 páginas, 1999.
- <sup>29</sup> Kennes, C.; Veiga, C. Bioreactors for waste gas treatment. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands, 311 páginas, 2001.

- 
- <sup>30</sup> Le Cloirec, P. Les Composés Organiques Volatils (COV) dans l'Environnement. Technique & Documentation. Francia, 734 páginas, 1998.
- <sup>31</sup> Auria, R., Frere, G., Morales, M., Acuña, M.E., Revah, S. Influence of mixing and water addition on the removal rate of toluene vapors in a biofilter. *Biotechnol. Bioeng.* 68(4): 448-551, 2000.
- <sup>32</sup> Morales, M., Revah, S., Auria, R. Start up and gaseous ammonia addition on a biofilter for elimination of toluene vapors. *Biotechnol. Bioeng.* 60(4): 483-491, 1998.
- <sup>33</sup> Van Groenestijn, J.W.; Hesselink, G.M. *Biotechniques for air pollution control. Biodegradation* 4: 283-301, 1993.
- <sup>34</sup> Dullien, F.A.L. *Introduction to Industrial Gas Cleaning.* Academic Press, E.U.A., 1989.
- <sup>35</sup> Rafson, H. J. *Odor and VOC Control Handbook,* Mc Graw Hill, E.U.A., 1998.
- <sup>36</sup> Leson G.; Winer, A.M. Biofiltration: an innovative air pollution control technology for VOC emissions. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 41: 1045-1054, 1991.
- <sup>37</sup> Torres, M.; Revah, S.; Hinojosa, A.; Paez, F.; Morales, V. US Patent 5, 236, 677. Biological Process for the Elimination of Sulphur Compounds present in a Gas Mixture. Agosto 17, 1993.
- <sup>38</sup> Revah, S.; Hinojosa, A.; Morales, V. Air Biodesulphurisation in Process Plants. En *Bioremediation: the Tokyo '94 Workshop, OECD Documents, Paris, France,* pp. 569-576, 1994.
- <sup>39</sup> Corporación Bistec. Cali Colombia, Comunicación personal, 2001.
- <sup>40</sup> Noyola, A.; Quintero, R.; Revah, S.; Soberón, J. *Biotecnología, medio ambiente y biodiversidad. En Biotecnología moderna para el desarrollo de México en el Siglo XXI: Retos y oportunidades.* Bolívar, F. y otros. Eds. CONACYT, pp. 187-207, 2001.
- <sup>41</sup> Delhoménie, M.C.; Bibeau, L.; Heitz, M. A study of the impact of particle size and adsorption phenomena in a compost-based biological filter. *Chem. Eng. Sci.* 57: 4999-5010, 2002.
- <sup>42</sup> Ortíz, I.; Morales, M.; Gobbée, C.; Guerrero, V.; Auria, R.; Revah, S. Biofiltration of gasoline VOCs with different support media. In *Proc. of the 91<sup>st</sup> Annual Meeting & Exhibition of the A&WMA. Air Waste Manage. Assoc., Pittsburgh, PA,* 1998.
- <sup>43</sup> Cox, H.H.J.; Moerman, R.E.; Van Baalen, S.; Van Heiningen, W.N.M.; Doddema, H.J.; Harder, W. Performance of a styrene-degrading biofilter containing the yeast *Exophiala jeanselmei*. *Biotechnol. Bioeng.* 53(3): 259-266, 1997.
- <sup>44</sup> Van Lith, C.; Leson, G.; Michelsen, R. Evaluating design options for biofilters. In *Proc. of the 1996 Conference on Biofiltration (an Air Pollution Control Technology).* p.206. Reynolds, F.E. Ed. The Reynolds Group, Tustin, CA, 1996.
- <sup>45</sup> Van Lith, C.; Leson, G.; Michelsen, R. Evaluating design options for biofilters. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 47(1): 37, 1997.
- <sup>46</sup> Morales, M.; Hernández, S.; Cornabé, T.; Revah, S.; Auria, R. Effect of Drying on Biofilter Performance: Modeling and Experimental Approach. *Environ. Sci. Technol.* 37(5): 985-992, 2003.
- <sup>47</sup> Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Parker, J. Brock. *Biología de los Microorganismos.* Prentice Hall, España, 1064 páginas, 1998.
-

- 
- <sup>48</sup> Dragan, J. The Soil Chemistry of Hazardous Materials. Hazardous Material Control Research Institute. Silver Springs. MD, 1988.
- <sup>49</sup> Yang, Y.; Allen, E.R. Biofiltration control of hydrogen sulfide 1: design and operational parameters. J. Air Waste Manage. Assoc. 44(7): 863, 1994.
- <sup>50</sup> Chang, M.K.; Voice, T.C. Criddle, C.S. Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of benzene, toluene, and *p*-xylene by two *Pseudomonas* isolates. Biotechnol. Bioeng. 41: 1057-1065, 1993.
- <sup>51</sup> Oh, Y.S.; Shareefdeen, Z.; Baltzis, B.C.; Bartha, R. Interactions between benzene, toluene, and *p*-xylene (BTX) during their biodegradation. Biotechnol. Bioeng. 44: 533-538, 1994.
- <sup>52</sup> Deeb, R.A.; Alvarez-Cohen, L. Temperature effects and substrate interactions during the aerobic biotransformation of BTEX mixtures by toluene-enriched consortia and *Rhodococcus rhodochrous*. Biotechnol. Bioeng. 62: 526-536, 1999.
- <sup>53</sup> Wright, F.W.; Schroeder, E.D.; Chang, D.P.Y.; Romstad, K. Performance of a pilot-scale compost biofilter treating gasoline vapor. J. Environ. Eng. 123(6): 547-555, 1997.
- <sup>54</sup> Prenafeta-Boldú, F.X.; Kuhn, A.; Luykx, D.; Anke, H.; Van Groenestijn, J.W.; De Bont, J.A.M. Isolation and characterization of fungi growing on volatile aromatic hydrocarbons as their sole carbon and energy source. Mycol. Res. 105: 477-484, 2001.
- <sup>55</sup> April, T.M.; Abbott, S.P.; Foght, J.M.; Currah, R.S. Degradation of hydrocarbons in crude oil by the ascomycete *Pseudallescheria boydii* (Microascaceae). Can. J. Microbiol. 44: 270-278, 1998.
- <sup>56</sup> Woertz, J.R.; Kinney, K.A.; McIntosh, N.D.P.; Szaniszló, P.J. Removal of toluene in a vapor-phase bioreactor containing a strain of the dimorphic black yeast *Exophiala lecanii-corni*. Biotechnol. Bioeng. 75(5): 550-558, 2001.
- <sup>57</sup> García-Peña, E.I.; Hernández, S.; Favela-Torres, E.; Auria, R.; Revah, S. Toluene Biofiltration by the Fungus *Scedosporium apiospermum* TB1. Biotechnol. Bioeng. 76(1): 61-69, 2001.
- <sup>58</sup> Prenafeta-Boldú, F.X.; Vervoort, J.; Grotenhuis, J.T.C.; Van Groenestijn, J.W. Substrate Interactions during the Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) Hydrocarbons by the Fungus *Cladophialophora* sp. Strain T1. Appl. Environ. Microbiol. 68(6): 2660-2665, 2002.
- <sup>59</sup> Hekmat, D.; Feuchtinger, A.; Stephan, M.; Vortmeyer, D. Biofilm population dynamics in a trickle-bed bioreactor used for the biodegradation of aromatic hydrocarbons from waste gas under transient conditions. Biodegradation. 15: 133-144, 2004.
- <sup>60</sup> Höhener, P.; Duwig, C.; Pasteris, G.; Kaufmann, K.; Dakhel, N.; Harms, H. Biodegradation of petroleum hydrocarbon vapors: laboratory studies on rates and kinetics in unsaturated alluvial sand. J. Contam. Hydrol. 66: 93-115, 2003.
- <sup>61</sup> Hernández, S.; Cárdenas, B.; Auria, R.; Revah, S. Experiences in the development of pilot-scale biofilters. In Proc. of the First International Conference on Petroleum Biotechnology, febrero, 2000.

- 
- <sup>62</sup> Hernández, A.; Magaña, M.; Cárdenas, B.; Hernández, S.; Revah, S.; Queney, S.; Auria, R. Methyl tert-butyl ether (MTBE) elimination by cometabolism: laboratory and biofilter pilot-scale results. In Proc. of the 94<sup>th</sup> Annual Meeting & Exhibition of the A&WMA. Air and Waste Management Association. Paper # 1037. Orlando, Florida, 2001.
- <sup>63</sup> Hoepfel, R.E., and Hinchee, R.E. Enhanced biodegradation for on-site remediation of contaminated soils and ground water. Environ. Sci. Pollut. Control Ser. 6: 311-431, 1994.
- <sup>64</sup> Madsen, E.L. Methods for Determining Biodegradability. pp. 709-720. In Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., Walter, M.V. Manual of Environmental Microbiology. ASM Press, Washington, D.C., E.U.A., 1997.
- <sup>65</sup> Walter, M.V., Crawford, R.F. Overview: Biotransformation and Biodegradation. pp. 707-708. In Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., Walter, M.V. Manual of Environmental Microbiology. ASM Press, Washington, D.C., E.U.A., 1997.
- <sup>66</sup> François, A. Tesis de Doctorado en Microbiología. Degradation d'un composé xénobiotique récalcitrant: Métabolisme du Méthyl *tert*-Butyl Éther (MTBE) par *Mycobacterium austroafricanum* IFP 2012. L'Institut National Agronomique Paris-Grignon, 2002.
- <sup>67</sup> Dagley, S. Microbial degradation of organic compounds in the biosphere. Am. Sci., 63(6): 681-689, 1975.
- <sup>68</sup> Grady, L.C.P. Jr. Biodegradation: Its Measurement and Microbiological Basis. Biotechnol. Bioeng. 27: 660-674, 1985.
- <sup>69</sup> Knackmuss, H.J. In Microbial Degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compounds. Leisenger, T.; Hütter, R.; Cook, A.M.; Nüesch, J. Academic Press. pp. 187-212. New York, 1981.
- <sup>70</sup> Hurst, C.J.; Knudsen, G.R.; McInerney, M.J.; Stetzenbach, L.D.; Walter, M.V. Manual of Environmental Microbiology. ASM Press, Washington, D.C., E.U.A., 1997.
- <sup>71</sup> Reineke, W. Microbial Degradation of Halogenated Aromatic Compounds. pp. 319-353. In D.T. Gibson (ed.), Microbial Degradation of Organic Compounds. Marcel Dekker, Inc., New York, E.U.A., 1984.
- <sup>72</sup> Speitel, G.E.; McLay, D.S. Biofilm reactors for treatment of gas streams containing chlorinated solvents. J. Environ. Eng. 119(4): 658, 1993.
- <sup>73</sup> Ergas, S.J.; Schroeder, E.D.; Chang, D.P.Y. Control of dichloromethane, trichloroethene, and toluene by biofiltration. In Proc. of the 86<sup>th</sup> Annual Meeting & Exhibition of the A&WMA. Air Waste Manage. Assoc., Pittsburgh, PA, 1993.
- <sup>74</sup> Lackey, L.W.; Boles, J.L. Biofiltration of trichloroethylene-contaminated air streams using a propane-oxidizing consortium. In Proc. of the Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium, Vol. 5, Battelle Press, Columbus, OH, p. 189, 1997.
- <sup>75</sup> Sukesan, S.; Watwood, M.E. Removal of trichloroethylene in compost-packed biofiltration columns. In Proc. of the Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium, Vol. 5, Battelle Press, Columbus, OH, p.183, 1997.
-

- 
- <sup>76</sup> Garnier, P.M.; Auria, R.; Augur, C.; Revah, S. Cometabolic biodegradation of methyl tert-butyl ether by a soil consortium: Effect of components present in gasoline. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 46: 79-84, 2000.
- <sup>77</sup> Hardison, L.K.; Curry, S.S.; Ciuffetti, L.M.; Hyman, M.R. Metabolism of Diethyl Ether and Cometabolism of Methyl *tert*-Butyl Ether by a Filamentous Fungus, a *Graphium* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(8): 3059-3067, 1997.
- <sup>78</sup> Liu, C.Y.; Speitel, G.E. Jr.; Georgiou, G. Kinetics of Methyl *t*-Butyl Ether Cometabolism at Low Concentrations by Pure Cultures of Butane-Degrading Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(5): 2197-2201, 2001.
- <sup>79</sup> Ortíz, I.; Auria, R.; Sigoillot, J.C.; Revah, S. Enhancing Phenanthrene Biomineralization in a Polluted Soil Using Gaseous Toluene as a Cosubstrate. *Environ. Sci. Technol.* 37(4): 805-810, 2003.
- <sup>80</sup> Bradley, P.; Landmeyer, J.E.; Chapelle, F.H. Widespread Potential for Microbial MTBE Degradation in Surface-Water Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 35: 658-662, 2001.
- <sup>81</sup> Britt, E.E. Potencial aerobic MTBE Biodegradation. *Environ. News. Environ. Sci. Technol.* 35(5): 96A-97A, 2001.
- <sup>82</sup> Salanitro, J.P.; Diaz, L.A.; Williams, M.P.; Wisniewski, H.L. Isolation of a bacterial culture that degrades Methyl *t*-Butyl Ether. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(7): 2593-2596, 1994.
- <sup>83</sup> Mo, K.; Lora, C.; Wanken, A.E.; Javanmardian, M.; Yang, X.; Kulpa, C.F. Biodegradation of methyl *t*-butyl ether by pure bacterial cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47: 69-72, 1997.
- <sup>84</sup> Mormile, M.R.; Liu, S.; Sufliata, J.M. Anaerobic Biodegradation of Gasoline Oxygenates: Extrapolation of Information to Multiple Sites and Redox Conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1727-1732, 1994.
- <sup>85</sup> Hanson, J.R.; Ackerman, C.E.; Scow, K.M.; Biodegradation of Methyl *tert*-Butyl Ether by a Bacterial Pure Culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(11): 4788-4792, 1999.
- <sup>86</sup> Deeb, R.A.; Hu, H.Y.; Hanson, J.R.; Scow, K.M.; Alvarez-Cohen, L. Substrate Interactions in BTEX and MTBE Mixtures by an MTBE-Degrading Isolate. *Environ. Sci. Technol.*, 35: 312-317, 2001.
- <sup>87</sup> Sufliata, J.M.; Mormile, M.R. Anaerobic biodegradation of known and potential gasoline oxygenates in the terrestrial subsurface. *Environ. Sci. Technol.* 27:976, 1993.
- <sup>88</sup> Yeh, C.K.; Novak, J.T. Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates in soils. *Water Environ. Res.* 66(5): 744-752, 1994.
- <sup>89</sup> Sembiring, T.; Weber, J. Demethylation of aromatic compounds by strain B10 and complete degradation of 3-methoxy-benzoate in co-culture with *Desulfosarcina* strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33:233, 1990.
-

- 
- <sup>90</sup> Steffan, R.J.; McClay, K.; Vainberg, S.; Condee, C.W.; Zhang, D. Biodegradation of the Gasoline Oxygenates Methyl *tert*-Butyl Ether, Ethyl *tert*-Butyl Ether, and *tert*-Amyl Ether by Propane-Oxidizing Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(11): 4216-4222, 1997.
- <sup>91</sup> Gamier, P.M.; Auria, R.; Augur, C.; Revah, S. Cometabolic biodegradation of methyl *t*-butyl ether by *Pseudomonas aeruginosa* grown on pentane. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: 498-503, 1999.
- <sup>92</sup> Morales, M.; Velázquez, E.; Jan, J.; Revah, S.; González, U.; Razo, E. Methyl *tert*-butyl ether biodegradation by consortia obtained from soil samples of gasoline polluted sites in Mexico. *Biotechnol. Letters.* 269-275, 2004.
- <sup>93</sup> Eweis, J.B.; Chang, K.P.; Schroeder, E.D.; Scow, K.M., "Meeting the Challenge of MTBE Biodegradation". In Proc. of the 90<sup>th</sup> Annual Meeting and Exhibition of the A&WMA. Air Waste Manage. Assoc. Pittsburgh, PA, Paper 97-RA133.06, 12pp, 1997.
- <sup>94</sup> Fortin, N.; Deshusses, M. Treatment of Methyl *tert*-Butyl Ether Vapors in Biotrickling Filters. 2. Analysis of the Rate-Limiting Step and Behavior under Transient Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 33: 2987-2991, 1999.
- <sup>95</sup> Dupasquier, D.; Revah, S.; Auria, R. Biofiltration of Methyl *tert*-Butyl Ether Vapors by Cometabolism with Pentane: Modeling and Experimental Approach. *Environ. Sci. Technol.* 36: 247-253, 2002.
- <sup>96</sup> Acuña, M.E.; Perez, F.; Auria, R.; Revah, S. Microbiological and Kinetic Aspects of a Biofilter for the Removal of Toluene from Waste Gases. *Biotechnol. Bioeng.* 63(2): 175-184, 1999.
- <sup>97</sup> Hernández, S. Tesis de Maestría en Ingeniería Química. Estudios Básicos sobre Biofiltración: Caracterización del soporte, estudio microbiológico y obtención de parámetros cinéticos. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, 2002.
- <sup>98</sup> Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T.; Williams, S.T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins, 9th edition, Philadelphia, E.U.A., 2000.
- <sup>99</sup> Lowry, O.H.; Rosebrough, W.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein determination with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
- <sup>100</sup> Rittmann, B.E.; McCarty, P.L. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. McGraw-Hill Series in Water Resources and Environmental Engineering. E.U.A., 754 páginas, 2001.
- <sup>101</sup> Ruthven, D.M. *Principles of Adsorption and Adsorption Process*. John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, E.U.A., 1994.
- <sup>102</sup> Auria, R.; Morales, M.; Villegas, E.; Revah, S. Influence of Mold Growth on the Pressure Drop in Aerated Solid State Fermentors. *Biotechnol. Bioeng.* 41(11): 1007-1013, 1993.
- <sup>103</sup> Dulien, F.A.L. *Porous media: Fluid transport and pore structure*. Academic Press, San Diego, Ca., 1979.
- <sup>104</sup> Levenspiel, O. *Chemical Reaction Engineering*. John Wiley and Sons, Inc., Second edition. New York, NY, E.U.A., 1974.
-

- 
- <sup>105</sup> Ottengraff, SPP; Van Den Oever, AHC. Kinetics of organic compounds removal from waste gases with a biological filter. *Biotechnol. Bioeng.* 25(12): 3089-3102, 1983.
- <sup>106</sup> Shareefdeen, Z.; Baltzis, B. Biological removal of hydrophobic solvent vapors from airstream. In: Galindo, E.; Ramirez, T. editors. *Advances in Bioprocess Engineering*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Press. p 405-411, 1994.
- <sup>107</sup> Bakke, R.; Trulear, M.G.; Robinson, J.A.; Characklis, W.G. Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms: steady state. *Biotechnol. Bioeng.* 26: 1418-1424, 1984.
- <sup>108</sup> Marin, M.; Pedregosa, A.; Laborda, F. Emulsifier production and microscopical study of emulsions and biofilm formed by the hydrocarbon-utilizing bacteria *Acinetobacter calcoaceticus* MM5. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 44: 660-667, 1996.
- <sup>109</sup> Ollis, D.F.; Bailey, J.E. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2<sup>nd</sup>. Edition. McGraw-Hill, Inc., E.U.A., 984 páginas, 1986.
- <sup>110</sup> Auria, R.; Aycaguer, A.C.; Devinny, J. Influence of water content on the degradation capacity of ethanol in biofiltration. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 48: 65-70, 1998.
- <sup>111</sup> Morgenroth, E.; Schroeder, E.D.; Chang, D.P.Y.; Scow, K.M. Nutrient limitation in a compost biofilter degrading hexane. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 46: 300-308, 1996.
- <sup>112</sup> Van Groenestijn, J.W.; Lake, M.E. Elimination of Alkanes from Off gases Using Biotrickling Filters Containing Two Liquid Phases. *Environ. Progress.* 18(3):151-155, 1999.
- <sup>113</sup> Budwill, K.; Coleman, R. Biofiltration of gaseous emissions from forest products manufacturing. Microbiology research and development. Environmental technologies Alberta Research Council. Project Report 1999-1. May 1999. ([http://sfm-1.biology.ualberta.ca/english/pubs/PDF/PR\\_1999-1.pdf](http://sfm-1.biology.ualberta.ca/english/pubs/PDF/PR_1999-1.pdf))
- <sup>114</sup> Paca, H.; Halecky, M.; Klappkova, E. Maryska, M. Removal of Aliphatic Gasoline Compounds In Perlite Biofilter. In Proc. of the 95<sup>th</sup> Annual Meeting and Exhibition of the A&WMA. Air and Waste Manage. Assoc. Baltimore, 2002.
- <sup>115</sup> Arriaga, S.L.; Revah, S. Biodegradation of Hexane Vapors by a Fungal Consortium. In Proc. of the 97<sup>th</sup> Annual Meeting and Exhibition of the A&WMA. Air and Waste Manage. Assoc. Paper # 707. Indianapolis, Indiana, 2004.
- <sup>116</sup> Cussler, E.L. *Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems*. Cambridge University Press, 2<sup>nd</sup> edition. New York, 1997.
- <sup>117</sup> Munguía, J.L. Tesis de Maestría. Eliminación de MTBE (Metil Tert-Butil Éter) mediante el uso de un bio-reactor de lecho empacado, 2004.
- <sup>118</sup> Atkinson, B.; Mavituna, F. *Biochemical engineering and biotechnology handbook*. The Nature Press, New York, pp. 114-203, 1983.
- <sup>119</sup> White, G.F., Russell, N.J., Tidswell, E.C. Bacterial Scission of Ether Bonds. *Microbiol. Rev.* 60(1):216-232, 1996.
-

- 
- <sup>120</sup> Van Beilen, J.B.; Li, Z.; Duetz, W.A.; Smits, T.H.M.; Witholt, B. Diversity of Alkane Hydroxylase Systems in the Environment. *Oil Gas Sci. Technol.* 58(4): 427-440, 2003.
- <sup>121</sup> Hyman, M.; O' Reilly, K. Physiological and enzymatic features of MTBE-degrading bacteria. In: Alleman, B.; Leeson, A. *In situ bioremediation of petroleum hydrocarbon and other organic compounds*. Batelle, Columbus, Ohio. pp.7-12, ISBN: 1-57477-0764, 1999.
- <sup>122</sup> Swanson, W.J.; Loehr, R.C. Biofiltration: fundamentals, design and operation principles, and applications. *J. Environ. Eng.* 123(6): 538-546, 1997.
- <sup>123</sup> Van Groenestijn, J.W.; Harkes, M.; Cox, H.; Doddema, H. Ceramic materials in biofiltration. In *Proc. of the 1995 Conference on Biofiltration (an Air Pollution Control Technology)*. University of Southern California, L.A. Edited by the Reynolds Group, pp. 317-323, 1995.
- <sup>124</sup> Warith, M.; Fernandes, L.; La Forge, F. Adsorption of pentachlorophenol on organic soil. *Haz. Waste Haz. Mater.* 10: 13-25, 1993.
- <sup>125</sup> Shareefdeen, Z.; Baltzis, B.C. Biofiltration of toluene vapor under steady-state and transient conditions: Theory and experimental results. *Chem. Eng. Sci.* 49: 4347-4360, 1994.
- <sup>126</sup> Tang, H.M.; Hwang, S.J. Transient behavior of the biofilters for toluene removal. *J. Air Waste Manage. Assoc.*, 47: 1142-1151, 1997.
- <sup>127</sup> Janni, K.A.; Maier, W.J.; Kuehn, T.H.; Yang, C.H.; Bridges, B.B.; Velsey, D.; Nellis, M.A. Evaluation of biofiltration of air-An innovative air pollution control technology. *ASHRAE Transactions.* 107: 198-214, 2001.
- <sup>128</sup> Webster, T.S.; Torres, E.M.; Basrai, S. Study of biofiltration for control of odor, VOC, and toxic emissions from wastewater treatment plants: Phase II bench- and pilot-scale studies. University of Southern California and the Reynolds group conference on biofiltration. Los Angeles, CA, University of Southern California, 1995.
- <sup>129</sup> Kim, D.S.; Fogler, H.S. Biomass Evolution in Porous Media and Its Effects on Permeability Under Starvation Conditions. *Biotechnol. Bioeng.* 69(1): 47-56, 2000.
- <sup>130</sup> Taylor, S.W.; Jaffé, P.R. Enhanced in-situ biodegradation and aquifer permeability reduction. *J. Environ. Eng.* 117: 25-46, 1991.
- <sup>131</sup> Auria, R.; Palacios, J.; Revah, S. Determination of the interparticular effective diffusion coefficient for CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> in solid state fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* 39: 898-902, 1992.
- <sup>132</sup> Kibazohi, O.; Yun, S.-II; Anderson, W.A. Removal of hexane in biofilters packed with Perlite and a peat-Perlite mixture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20: 000-000, 2003.
- <sup>133</sup> Auria, R.; Ortíz, I.; Villegas, E.; Revah, S. Influence of Growth and High Mould Concentration on the Pressure Drop in Solid State Fermentations. *Process Biochem.* 30(8): 751-756, 1995.
- <sup>134</sup> Bryers, J.D. Biofilm formation and chemostat dynamics: pure and mixed culture considerations. *Biotechnol. Bioeng.* 26: 948-958, 1984.
- <sup>135</sup> Christensen, B.; Characklis, W.G. Physical and chemical properties of biofilms. In: Characklis, W.G.; Marshal, K.C., editors. *Biofilms*. Wiley, New York., p 93-130, 1990.
-

- 
- <sup>136</sup> Pelczar, M.J.Jr.; Reid, R.D.; Chan, E.C.S. Microbiology. Mc Graw Hill. 4<sup>th</sup> edition. E.U.A., p 257-264, 1977.
- <sup>137</sup> Zilli, M.; Converti, A.; Lodi, A.; Del Borghi, M.; G Ferraiolo. Phenol removal from waste gases with a biological filter by *Pseudomonas putida*. Biotechnol. Bioeng. 41(7): 693-699, 1993.
- <sup>138</sup> González, M.L. Tesis de Maestría. Biodegradación de éteres usados como oxigenantes de la gasolina por cometabolismo con C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> n-alcanos, 2004.
- <sup>139</sup> Disk, R.M.M.; Ottengraff, S.P.P.; Vrijland, S. The existence of a biological equilibrium in a trickling filter for waste gas purification. Biotechnol. Bioeng. 44:1279-1287, 1994.
- <sup>140</sup> Santana, A. Tesis de Maestría. Biofiltración de metanol por *Pichia methanolica*, 2004.
- <sup>141</sup> Egli, T. The Ecological and Physiological Significance of the Growth of Heterotrophic Microorganisms with Mixtures of Substrates. Adv. Microb. Ecol. 14: 305-386, 1995.
- <sup>142</sup> Liu, C.Y.; Speitel, G.E. Jr.; Georgiou, G. Kinetics of Methyl *t*-Butyl Ether Cometabolism at Low Concentrations by Pure Cultures of Butane-Degrading Bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 67(5): 2197-2201, 2001.
- <sup>143</sup> Schuler, M.L.; Kargi, F. Bioprocess Engineering: Basic Concepts. Prentice Hall International Series in the Physical and Chem. Eng. Sci. New Jersey, Estados Unidos, 1992.
- <sup>144</sup> Taylor, G.I. Proc. Roy. Soc. (Londres), 219A: 186, 1953.
- <sup>145</sup> Aris, R. Chem. Eng. Sci. 9: 266, 1959.
- <sup>146</sup> Chmielewski, RAN; Frank, J.F. Biofilm formation and control in food processing facilities. Comp. Rev. Food Sci. and Food Saf. 2: 22-32, 2003.
- <sup>147</sup> Geesey. [www.edstrom.com/Resources.cfm?doc\\_id=143](http://www.edstrom.com/Resources.cfm?doc_id=143), 1994.
- <sup>148</sup> Robinson, J.A.; Trulear, M.G.; Characklis, W.G. Cellular Reproduction and Extracellular Polymer Formation by *Pseudomonas aeruginosa* in Continuous Culture. Biotechnol. Bioeng. 26: 1409-1417, 1984.
- <sup>149</sup> Magaña, M. Tesis de Maestría. Degradación de Metil Ter-butil Éter (MTBE): Aspectos Cinéticos y Condiciones de Co-metabolismo, 2001.

---

---

## ANEXO 1. Modelo de Gompertz

El modelo de Gompertz se ha usado ampliamente para ajustar datos de crecimiento de bacterias o plantas a una curva sigmoideal (Magaña, 2001)<sup>149</sup>. Sin embargo, también puede usarse para modelar el consumo de un sustrato (Acuña y col. 1999)<sup>96</sup>. La ecuación que describe la curva asintótica es la siguiente.

$$Sc = \alpha \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \quad \text{ec. 1}$$

Donde,

$Sc = (S_0 - S) =$  Sustrato consumido en mg.

$\alpha =$  Máxima cantidad de sustrato consumido en mg sustrato unidad experimental<sup>-1</sup>. Cuando  $t \rightarrow \infty$  este término es igual a la concentración inicial de sustrato.

$\beta =$  Parámetro relacionado con las condiciones iniciales (adimensional).

Cuando  $t = 0$ ,  $Sc = \alpha \exp(-\beta)$ .

$\kappa =$  velocidad de consumo de sustrato en h<sup>-1</sup>.

$t =$  tiempo en h.

Derivando la ec. 1 se obtiene el punto de inflexión, el cual ocurre en  $t = \frac{\ln \beta}{\kappa}$ .

Cálculo de la velocidad volumétrica máxima de consumo de sustrato ( $V_{\text{máx}}$ ) a partir de la ecuación del modelo de Gompertz.

Derivando la ec. 1 con respecto al tiempo,

$$\frac{dSc}{dt} = \alpha \frac{d}{dt} [\exp(-\beta \exp^{-\kappa t})] \quad \text{ec. 2}$$

Desarrollando términos,

$$\frac{d}{dt} [\exp(-\beta \exp^{-\kappa t})] = \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) [(-\beta)(-\kappa) \exp^{-\kappa t}] \quad \text{ec. 3}$$

Reacomodando términos,

$$\frac{d}{dt} [\exp(-\beta \exp^{-\kappa t})] = \beta \kappa \exp^{-\kappa t} \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \quad \text{ec. 4}$$

Por lo tanto,

$$V_c = \frac{dSc}{dt} = \alpha\beta\kappa \exp^{-\kappa t} \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \quad \text{ec. 5}$$

Esta es la velocidad volumétrica de consumo de sustrato en función del tiempo. Para obtener el punto de inflexión, es necesario derivar la expresión anterior (ec. 5) con respecto al tiempo e igualar a cero.

Derivando la ec. 5,

$$\frac{dV_c}{dt} = \alpha\beta\kappa \left[ \exp^{-\kappa t} \frac{d}{dt} \left( \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \right) + \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \frac{d}{dt} \exp^{-\kappa t} \right] \quad \text{ec. 6}$$

$$\frac{dV_c}{dt} = \alpha\beta\kappa \left[ \exp^{-\kappa t} \left( \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \right) (-\beta) (-\kappa) \exp^{-\kappa t} + (-\kappa) \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \exp^{-\kappa t} \right]$$

Reacomodando términos,

$$\frac{dV_c}{dt} = \alpha\beta^2\kappa^2 \exp^{-2\kappa t} \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) - \alpha\beta\kappa^2 \exp^{-\kappa t} \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \quad \text{ec. 7}$$

Factorizando,

$$\frac{dV_c}{dt} = \alpha\beta\kappa \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \left[ \beta\kappa \exp^{-2\kappa t} - \kappa \exp^{-\kappa t} \right] \quad \text{ec. 8}$$

Igualando la derivada de  $V_c$  a cero. Cuando  $t = c$ ,  $\frac{dV_c}{dt} = 0$ , entonces,

$$\underbrace{\alpha\beta\kappa}_{\text{constante}} \exp(-\beta \exp^{-\kappa c}) \left[ \beta\kappa \exp^{-2\kappa c} - \kappa \exp^{-\kappa c} \right] = 0 \quad \text{ec. 9}$$

Por lo tanto,

$$\left[ \beta\kappa \exp^{-2\kappa c} - \kappa \exp^{-\kappa c} \right] = 0 \quad \text{ec. 10}$$

$$\beta \exp^{-\kappa c} = 1$$

Despejando  $c$  obtenemos el punto de inflexión,

$$c = \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa} \quad \text{ec. 11}$$

Para saber si se trata de un máximo o de un mínimo se obtiene la segunda derivada. Derivando  $\frac{dV_c}{dt}$ ,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = \alpha\beta\kappa \left[ \begin{aligned} &\exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \frac{d}{dt} (\beta\kappa \exp^{-2\kappa t} - \kappa \exp^{-\kappa t}) \\ &+ (\beta\kappa \exp^{-2\kappa t} - \kappa \exp^{-\kappa t}) \frac{d}{dt} \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) \end{aligned} \right] \quad \text{ec. 12}$$

Desarrollando términos,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = \alpha\beta\kappa \left[ \begin{aligned} &\exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) (\beta\kappa (-2\kappa) \exp^{-2\kappa t} + \kappa^2 \exp^{-\kappa t}) \\ &+ (\beta\kappa \exp^{-2\kappa t} - \kappa \exp^{-\kappa t}) \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) (-\beta) (-\kappa) \exp^{-\kappa t} \end{aligned} \right] \quad \text{ec. 13}$$

Agrupando términos,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = \alpha\beta\kappa \left[ \begin{aligned} &\exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) (-2\beta\kappa^2 \exp^{-2\kappa t} + \kappa^2 \exp^{-\kappa t}) \\ &+ \beta\kappa \exp^{-\kappa t} \exp(-\beta \exp^{-\kappa t}) (\beta\kappa \exp^{-2\kappa t} - \kappa \exp^{-\kappa t}) \end{aligned} \right] \quad \text{ec. 14}$$

Si la  $\frac{d^2Vc}{dt^2}$  es negativa, la función tiene una concavidad negativa, entonces se

tiene un máximo en  $c = \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa}$ .

Sustituyendo  $t = c = \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa}$  en la ec. 14,

$$\exp^{-\kappa t} = \exp\left[-\kappa \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa}\right] = \frac{1}{\beta} \quad \text{ec. 15 a)}$$

$$\exp^{-2\kappa t} = \exp\left[-2\kappa \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa}\right] = \left(\frac{1}{\beta}\right)^2 \quad \text{ec. 15 b)}$$

Sustituyendo ecs. 15 a) y b) en ec. 14,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = \alpha\beta\kappa \left\{ \begin{aligned} &\exp\left(-\beta \left(\frac{1}{\beta}\right)\right) \left[ -2\beta\kappa^2 \left(\frac{1}{\beta}\right)^2 + \kappa^2 \left(\frac{1}{\beta}\right) \right] \\ &+ \beta\kappa \left(\frac{1}{\beta}\right) \exp\left(-\beta \left(\frac{1}{\beta}\right)\right) \left[ \beta\kappa \left(\frac{1}{\beta}\right)^2 - \kappa \left(\frac{1}{\beta}\right) \right] \end{aligned} \right\} \quad \text{ec. 16}$$

Simplificando,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = \alpha\beta\kappa \left\{ \exp^{-1} \left[ -2 \left( \frac{\kappa^2}{\beta} \right) + \left( \frac{\kappa^2}{\beta} \right) \right] + \kappa \exp^{-1} \left[ \left( \frac{\kappa}{\beta} \right) - \left( \frac{\kappa}{\beta} \right) \right] \right\} \quad \text{ec. 17}$$

Entonces la ec. 17 se simplifica a,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = -\alpha\beta\kappa \exp^{-1} \left( \frac{\kappa^2}{\beta} \right) \quad \text{ec. 18}$$

Es decir,

$$\frac{d^2Vc}{dt^2} = -\alpha\kappa^3 \exp^{-1} \quad \text{ec. 19}$$

La segunda derivada es negativa, por lo tanto, se tiene un máximo.

Si evaluamos  $Vc$  en  $c = \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa}$ , tendremos  $V_{\text{máx}}$ . Sustituyendo  $c = \frac{\ln\left(\frac{1}{\beta}\right)}{-\kappa}$  en ec. 5,

$$Vc = \alpha\beta\kappa \left( \frac{1}{\beta} \right) \exp \left[ -\beta \left( \frac{1}{\beta} \right) \right] \quad \text{ec. 20}$$

Simplificando la ec. 20 se tiene que,

$$V_{\text{MÁX}} = \alpha\kappa \exp^{-1} = 0.368\alpha\kappa \quad \text{ec. 21}$$

Esta es la tasa volumétrica máxima de consumo de sustrato y se obtiene a partir de los parámetros del modelo de Gompertz  $\alpha$  y  $\kappa$ .