

**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

**POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**Biofiltración de Altas Concentraciones de  
Formaldehído bajo la Adición Continua de Ozono**

Tesis que presenta

**María Guadalupe Maldonado Díaz**

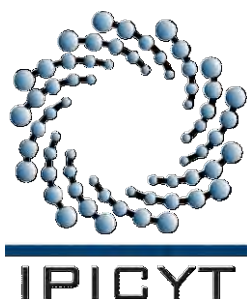
Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias Ambientales**

**Director de la Tesis:**

**Dra. Sonia Lorena Arriaga García**

San Luis Potosí, S.L.P., Noviembre, 2013



## **Constancia de aprobación de la tesis**

La tesis “**Biofiltración de Altas Concentraciones de Formaldehído bajo la adición Continua de Ozono**” presentada para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Ambientales fue elaborada por **María Guadalupe Maldonado Díaz** y aprobada el **22 de Noviembre de 2013** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

---

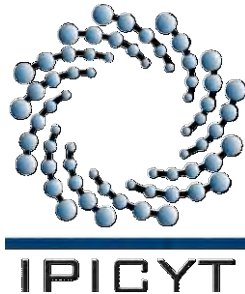
Dra. Sonia Lorena Arriaga García  
(Directora de la tesis)

---

Dra. María de Lourdes Berenice Celis García  
(Miembro del Comité Tutoral)

---

Dr. Felipe Alatriste Mondragón  
(Miembro del Comité Tutoral)



## Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Laboratorio Instrumental, en el Laboratorio de Ecología y Cambio Ambiental Global y en el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola Médica y Ambiental (LANBAMA) de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT 262297). Este trabajo de investigación fue financiado por el fondo SEP-CONACYT-CB-2009-1-133930.

Además se agradece al Comité de Becas del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. por el apoyo económico concedido para la asistencia al congreso "*Biotechniques for Air Pollution Control and Bioenergy 2013*".



**IPICYT**

# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 011 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 22 días del mes de noviembre del año 2013, se reunió a las 09:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dra. María de Lourdes Berenice Celis García</b>	<b>Presidenta</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dra. Sonia Lorena Arriaga García</b>	<b>Secretaria</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Felipe Alatríste Mondragón</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó la C.

**María Guadalupe Maldonado Díaz**

sobre la Tesis intitulada:

*Biofiltración de altas concentraciones de formaldehído bajo la adición continua de ozono*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dra. Sonia Lorena Arriaga García**

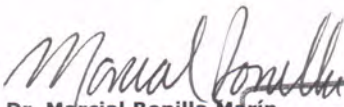
El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLA**

Dándose por terminado el acto a las 11:13 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 22 días del mes de noviembre de 2013.

  
**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento del Posgrado

  
**Dr. Marcial Bonilla Marín**  
Secretario Académico



*A mi mamá, mi mayor aliada y luz de mi vida, a ella quien realiza sus sueños con los de sus hijos, quien me ha dado los medios, a la incansable y gran mujer que Dios me dio como mamá.  
A mi papá que siempre ha confiado en mí, quien me escucha, me comprende, quien siempre ha andado del tingo al tango conmigo.*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por su bondad infinita al darme la cabeza, las manos y los pies para pensar, trabajar y moverme.

A mis padres por haberme inculcado los valores de la honestidad, el respeto y el trabajo, quienes han estado a lo largo de mi camino, sobre todo en estos últimos años. Por haberme dado la libertad de escoger el tamaño de las alas y dejar que vayan por el camino que elijo. Gracias por confiar en mí y apoyarme siempre que lo he necesitado.

Agradezco a la Dra. Sonia por haberme permitido trabajar en su línea de investigación, así como agradezco el tiempo que dedicó para leer y comentar este trabajo, los resúmenes para los congresos y el poster de *Biotechniques*. Por tener la confianza de mandarme sola a representar parte del trabajo que se hace en biofiltración en el IPICYT en un marco internacional y por la paciencia que tuvo.

Asimismo agradezco a la Dra. Berenice y al Dr. Felipe por haberme escuchado alguna vez con alguna trivialidad existencial. Por haberme recomendado una actitud, una lectura, un libro, por haberme guiado con el trabajo, darme oportunos comentarios y haber tenido paciencia. Agradezco el tiempo que dedicaron para leer y hacer observaciones sobre este trabajo.

A los amigos conocidos en este caminar, a los que llegaron y se fueron, así como a los que llegaron y se quedaron. A quienes compartimos tareas, discusiones y nos dimos ánimo hasta el final.

Doy gracias también a las personas que colaboraron con una técnica, una idea ó una explicación de las herramientas que utilicé para hacer este trabajo, gracias a Edgardo Valenzuela, Érika Ríos, Lucero Jiménez, Dra. Bere, Dr. Felipe, Dra. Laura Yáñez, Mtro. Guillermo Vidriales y en especial a Tere García por su buena disposición en todo momento para ayudarme a aclarar cualquier duda.

Agradezco a los técnicos académicos M. en C. Dulce Partida Gutiérrez, M en C. Guillermo Vidriales Escobar y M. en C. Juan Pablo Rodas Ortíz de la División de Ciencias Ambientales, a la I.Q. Ma. del Carmen Rocha Medina técnico coordinador de LANBAMA, y al M. en C. Alberto Barrera Pacheco técnico académico de la División de Biología Molecular por el apoyo técnico recibido.

De igual manera me gustaría agradecer la amabilidad, el espíritu de servicio y compromiso del M.C Juan Pablo Rodas y el M.C Alberto Barrera Pacheco que los caracteriza.

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Propiedades fisicoquímicas del formaldehído .....	22
<b>Tabla 2.</b> Ventajas vs. desventajas de sistemas de tratamiento .....	29
<b>Tabla 3.</b> Microorganismos que degradan formaldehído .....	35
<b>Tabla 4.</b> Parámetros utilizados en la caracterización del soporte .....	52
<b>Tabla 5.</b> Composición del medio mineral .....	53
<b>Tabla 6.</b> Condiciones de las etapas operacionales del biofiltro.....	55
<b>Tabla 7.</b> Parámetros utilizados en la evaluación del desempeño del biofiltro. ....	56
<b>Tabla 8.</b> Definición de los parámetros cinéticos.....	62
<b>Tabla 9.</b> Caracterización del soporte.....	63
<b>Tabla 10.</b> Desempeño del biofiltro en cada etapa.....	64
<b>Tabla 11.</b> Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa 1.....	67
<b>Tabla 12.</b> Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa 2.....	70
<b>Tabla 13.</b> Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa 3.....	73
<b>Tabla 14.</b> Principales diferencias entre los resultados de Prado <i>et al.</i> , 2006 y los de este trabajo. .75	
<b>Tabla 15.</b> Reacciones de descomposición de ozono en agua natural que contiene carbono inorgánico (Yapsakl et al., 2004.) .....	79
<b>Tabla 16.</b> Balance de Carbono.....	85
<b>Tabla 17.</b> Parámetros cinéticos durante la adición de ozono* .....	88
<b>Tabla 18.</b> Composición de la perlita .....	100
<b>Tabla 19.</b> Hongos identificados del día 230.....	106

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Gráfico reproducido de <i>Biotechnology of odor and air pollution control</i> de Sharefdeen y Singh, 2004.....	25
<b>Figura 2.</b> Esquema común de un biofiltro convencional. Imagen reproducida de <i>Biofiltration for air pollution control</i> , Deviny <i>et al.</i> , 1999.....	28
<b>Figura 3.</b> Ruta de degradación del formaldehído .....	36
<b>Figura 4.</b> Modelo general para la formación de bacterias no motiles. ....	38
<b>Figura 5.</b> Modelo general para la formación de biopelícula por bacterias motiles. ....	39
<b>Figura 6.</b> Representación simplificada de la descomposición del ozono de la Figura 7 [Bonz, 2002].....	43
<b>Figura 7.</b> Esquema para la descomposición de ozono iniciada por OH <sup>-</sup> (izquierda) e iniciada por HOO <sup>-</sup> (derecha). En ambos esquemas cada flecha es una reacción y las flechas dobles indican equilibrio (Tomado de <i>Selective Oxidation of Organic Compounds in waste water by ozone- based oxidation processes</i> de Marc Á. Boncz, 2002). ....	44
<b>Figura 8.</b> Esquema de las reacciones que incorpora ambas rutas de descomposición OH <sup>-</sup> y HOO <sup>-</sup> (Tomado de “ <i>Selective oxidation of organic compounds in waste water by ozone- based oxidation processes</i> ” de Marc Á. Boncz, 2002). ....	44
<b>Figura 9.</b> Velocidades de reacción de primer orden para reacciones de 55 compuestos orgánicos con el ozono y con el radical hidroxilo. ....	46
<b>Figura 10.</b> Reacción del formiato con el ozono (Tomada de <i>Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation</i> de Gunten U., 2003) .....	47
<b>Figura 11.</b> Esquema del sistema de biofiltración.....	51
<b>Figura 12.</b> Desempeño global de la biofiltración de formaldehído (FA) con ozono y sin ozono. La Capacidad de Eliminación (CE) es la velocidad de remoción de FA. ....	65
<b>Figura 13.</b> Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante la etapa 1. ....	66
<b>Figura 14.</b> Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante la etapa 1. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo3. ....	67
<b>Figura 15.</b> Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante la etapa 2. ....	68
<b>Figura 16.</b> pH por módulo del biofiltro.....	69
<b>Figura 17.</b> Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante la etapa 1. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo3. ....	70
<b>Figura 18.</b> Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante la etapa 3. ....	73



<b>Figura 19.</b> Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante la etapa 3. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo3. ....	73
<b>Figura 20.</b> Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante las etapas 4, 5 y 6.....	75
<b>Figura 21.</b> Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante las etapas 4, 5 y 6. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo3. ....	76
<b>Figura 22.</b> Alcalinidad total de los lixiviados en la parte con inyección de ozono. ....	77
<b>Figura 23.</b> Diagrama de especiación del CO <sub>2</sub> . (Tomado de Crittenden, 2005).....	77
<b>Figura 24.</b> Porcentaje de Mineralización de Formaldehído dentro del sistema, basado en la reacción $CH_2O + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$ . ....	78
<b>Figura 25.</b> Concentración de CO <sub>2</sub> antes de entrar al biofiltro en el punto de unión con ozono (corriente 4= IN) y en la entrada del biofiltro (corriente 4+9=ENTRADA). ....	78
<b>Figura 26.</b> Formaldehído que reaccionó con el Ozono antes de entrar al biofiltro, con un porcentaje promedio de $17.5 \pm 0.5\%$ . ....	79
<b>Figura 27.</b> Posible mecanismo de reacción en las diferentes condiciones experimentadas durante la operación del biofiltro. ....	80
<b>Figura 28.</b> Espesor de Biopelícula, promedio de dos partículas de perlita con 10 mediciones aproximadamente cada una. Las desviaciones estándar, corresponden a las desviaciones de los promedios entre las dos muestras (En el apéndice E se pueden ver las desviaciones de las mediciones para cada partícula de perlita).....	81
<b>Figura 29.</b> Contenido de Carbono Orgánico Total (TOC) en lixiviados relacionado con el contenido de EPS en el soporte. SSVL es una estimación de la pérdida de biomasa en los lixiviados. ....	82
<b>Figura 30.</b> Viabilidad por Módulo en las etapas con ozono.....	84
<b>Figura 31.</b> Perfil de de biomasa y EPS, M1 es la Biomasa del Módulo 1; M2, del módulo 2 y M3 del Módulo 3. La biomasa y las EPS fueron evaluadas como carbono total. ....	85
<b>Figura 32.</b> Velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) del desempeño global del biofiltro. Expresado en $h^{-1}$ . ....	87
<b>Figura 33.</b> Coeficiente de rendimiento biomasa/sustrato ( $Y_{X/S}$ ) global del biofiltro. ....	87
<b>Figura 34.</b> Velocidad de utilización de sustrato ( $r_{ut}$ ) global del biofiltro.....	88
<b>Figura 35.</b> Coeficiente de conversión de sustrato a CO <sub>2</sub> ( $Y_{CO_2/S}$ ).....	88
<b>Figura 36.</b> Formaldehído cuantificado en lixiviados durante 108 días. ....	100
<b>Figura 37.</b> Espesor promedio de 6-24 mediciones por perlita para el módulo 2 en la segunda parte de operación.....	102

<b>Figura 38.</b> Perlita sin biomasa teñida con azul de toluidina al 1% (Objetivo 10X) .....	103
<b>Figura 39.</b> Perlita sin biomasa teñida con azul de toluidina al 1% (Objetivo 20X) .....	103
<b>Figura 40.</b> Perlita sin biomasa teñida con azul de toluidina al 1% (Objetivo 40X) .....	103
<b>Figura 41.</b> Perlita 1-Día 286 (Objetivo 10X) .....	104
<b>Figura 42.</b> Perlita 1-Día 286 (Objetivo 40X) .....	104
<b>Figura 43.</b> Perlita 1-Día 286 (Objetivo 20X) .....	104
<b>Figura 44.</b> Perlita 3-Día 310 (Objetivo 10X) .....	105
<b>Figura 45.</b> Perlita 2-Día 310 (Objetivo 20X) .....	105
<b>Figura 46.</b> Perlita 3-Día 310 (Objetivo 40X) .....	105

## ABREVIATURAS

<b>CE</b>	Capacidad de eliminación
<b>CG</b>	Cromatografía de Gases/Cromatógrafo de Gases
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>COV</b>	Compuesto Orgánico Volátil/Compuestos Orgánicos Volátiles
<b>CT</b>	Carbono Total
<b>d</b>	Días
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda Biológica de Oxígeno en 5 días
<b>DMM</b>	Dimetoximetano
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxígeno
<b>EBRT</b>	<i>Empty Bed Residence Time</i> (Tiempo de residencia de lecho vacío)
<b>EP</b>	<i>Extracellular Polimeric Substances</i> (Sustancias Poliméricas Extracelulares)
<b>EPA</b>	<i>Environmental Protection Agency</i> (Agencia de Protección Ambiental)
<b>ER</b>	Eficiencia de Remoción
<b>et al.</b>	<i>Et alli</i> (Y colaboradores)
<b>FA</b>	Formaldehído
<b>g</b>	Gramos
<b>GC-FID</b>	Cromatógrafo de gases acoplado a un Detector de Ionización de Flama
<b>GC-MS</b>	Cromatógrafo de Gases acoplado a un Espectrómetro de Masas
<b>GC-TCD</b>	Cromatógrafo de Gases acoplado a un Detector de Conductividad térmica
<b>h</b>	Horas
<b>kPa</b>	Kilo Pascales
<b>L</b>	Litros
<b>m</b>	Metros
<b>mg</b>	miligramos
<b>M1</b>	Módulo 1
<b>M2</b>	Módulo 2
<b>M3</b>	Módulo 3

<b>NIOSH</b>	<i>National Institute of Occupational Safety and Health</i> (Instituto Nacional de Seguridad Ocupacional y Salud)
<b>NTP</b>	<i>National Toxicology Program</i> (Programa de Toxicología Nacional, Estados Unidos de América)
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno molecular
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozono
<b>OSHA</b>	<i>Occupational Safety and Health Administration</i> (Administración de Salud y Seguridad Ocupacional)
<b>ppbv</b>	Partes por billón base volumen/volumen
<b>ppmv</b>	Partes por millón base volumen/volumen
<b>RoC</b>	<i>Reports on Carcinogens</i> (Reportes sobre Carcinógenos)
<b>s</b>	Segundos
<b>ss</b>	Soporte seco
<b>SEMARNAT</b>	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
<b>SPME</b>	Microextracción de fase sólida
<b>SSV</b>	Sólidos Suspendidos Volátiles
<b>TOC</b>	Carbono Orgánico Total
<b>UV</b>	Ultra Violeta

## GLOSARIO

**Capacidad de eliminación (CE).** Velocidad de remoción del contaminante expresado en  $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ . Es un parámetro que involucra el volumen del lecho, el flujo de aire y la concentración del contaminante; de manera implícita involucra el EBRT. Es útil en la comparación del desempeño entre biofiltros con diferentes volúmenes, concentraciones etc.

**Eficiencia de remoción (ER).** Es la fracción de contaminante removido por el biofiltro expresado como porcentaje.

**Mineralización.** Oxidación completa de la materia orgánica a  $\text{CO}_2$ , es decir conversión completa de compuestos orgánicos, materia orgánica o residuos a especies inorgánicas simples como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^-$  [Manahan, 2000].

**Oxidación.** Cambio en el estado de oxidación de una especie al ceder electrones. En algunos casos la oxidación se refiere a la incorporación de átomos de oxígeno en la molécula. En este trabajo se hace diferencia entre mineralización y oxidación, ya que no todas las reacciones de oxidación forman  $\text{CO}_2$  como producto final. Ejemplo la oxidación de formaldehído que produce ácido fórmico.

**Tiempo de residencia de lecho vacío (EBRT).** Tiempo que tarda el flujo  $Q$  de aire en recorrer del volumen del lecho si éste estuviera desocupado. Se calcula dividiendo el volumen del lecho entre el flujo de aire.

**Metabolismo.** Proceso bioquímico que involucra todas las reacciones ocurridas en una célula para la asimilación y transformación de compuestos que son tomados como fuente de energía y carbono.

**Capacidad metabólica.** El conjunto de habilidades de un microorganismo en la degradación, transformación y asimilación de un compuesto para la obtención de energía y material para la síntesis de nuevos compuestos, sea carbono, nitrógeno, fósforo, etc. Ejemplo son la velocidad de crecimiento específica  $\hat{\mu}$ , velocidad de utilización de sustrato  $\hat{q}$ , coeficiente de rendimiento de biomasa producida por sustrato consumido  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{\text{CO}_2/S}$ , etc.

## RESUMEN

El formaldehído es un compuesto orgánico volátil (COV), denominado cancerígeno humano en el 2011. Detectado en ambientes interiores en bajas concentraciones (0.01-1 ppm<sub>v</sub>). Los lugares más contaminados son las fábricas de formaldehído y aquellos donde se usa como materia prima en la obtención de otros productos como resinas, solventes, pinturas, pegamentos, etc. La *Occupational Safety and Health Administration* ha establecido los límites máximos de exposición para una jornada de trabajo de 8 horas diarias durante 5 días de trabajo en 0.75 ppm<sub>v</sub> y para una exposición corta de 15 minutos en 2 ppm<sub>v</sub>. La biofiltración es una tecnología de tratamiento de COVs en bajas concentraciones ( $0 < 10$ ) gm<sup>-3</sup>. En la biofiltración de formaldehído se ha reportado que el pH del sistema tiene fuerte influencia en el desempeño del biofiltro, limitando la concentración de entrada. El trabajo de García-Pérez (2012) mostró que el pH puede ser regulado con la adición de pulsos de ozono. El objetivo de este trabajo fue adicionar ozono de forma continua en la biofiltración de formaldehído para superar la máxima Capacidad de Eliminación (CE) de 74 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> (García-Pérez, 2012) y cuantificar cuanto formaldehído más se puede tratar, así como estudiar el efecto de la adición de ozono y los incrementos de la concentración de formaldehído sobre el espesor de la biopelícula, la viabilidad celular y las capacidades metabólicas del consorcio, además de evaluar la estabilidad del sistema en largos tiempos de operación (20-100 días). Se operó un biofiltro que removió formaldehído de una corriente gaseosa durante 310 días, sin y con adición de ozono a diferentes cargas de operación (20-40 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>). La carga de 40 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> de formaldehído no pudo ser mantenida más de 10 días sin ozono ya que se produjo acidificación del sistema detectado en el lixiviado; bajo esta condición se observó una Eficiencia de Remoción (ER) y una CE de cero. La adición de ozono recuperó el desempeño del biofiltro, alcanzando estado estable por 110 días con carga de 43.4±3.5 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>, alcanzándose valores de CE= 40±3.7 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> y de ER= 92.1±4.5% a una concentración de formaldehído de 0.9±0.1 gm<sup>-3</sup> adicionando de forma continua 90ppb<sub>v</sub> de ozono. Se evaluaron tres condiciones más con ozono alcanzando estado estable en todos los

casos por 27, 23 y 23 días. En este trabajo se lograron tratar hasta  $2.4 \text{ gm}^{-3}$  de concentración inicial de formaldehído, alcanzándose una  $CE= 121.4 \pm 4.2 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  y una  $ER= 99.5 \pm 0.7\%$  de formaldehído adicionando de forma continua  $90 \text{ ppb}_V$  de ozono que ayudó en la regulación del pH del sistema. El sistema de manera natural tiende a acidificarse a altas cargas por la acumulación de ácido fórmico, el cual reacciona con el ozono para producir especies carbonatadas que incrementan la alcalinidad del sistema (de  $334.1 \pm 100.3$  a  $1450 \pm 127 \text{ mg CaCO}_3\text{L}^{-1}$ ). Después de la adición de ozono hubo una disminución de EPS (Sustancias Poliméricas Extracelulares) totales de  $18.2$  a  $1.4 \text{ mgCg}^{-1}$  soporteseco que es congruente con el decremento en el espesor de biopelícula de  $163 \pm 14.8$  a  $67.6 \pm 8.3 \text{ }\mu\text{m}$ . Por otro lado, la adición de ozono disminuyó ligeramente la viabilidad de los microorganismos en el sistema, sin afectar el desempeño global del biofiltro. Por lo tanto la adición de ozono es una buena estrategia para la biofiltración de formaldehído a altas concentraciones de entrada; además de ayudar a regular el pH del sistema durante largos periodos de operación, reduce el contenido de EPS y el espesor de biopelícula, por lo que puede ser una buena estrategia para reducir el taponamiento que se presenta en el lecho de los biofiltros tras largos tiempos de operación.

**Palabras clave:** Formaldehído, biofiltración, ozono, regulación de pH, altas concentraciones, espesor de biopelícula.

## ABSTRACT

Formaldehyde is a volatile organic compound (VOC). Found in indoor environments at low concentrations (0.01-1 ppm<sub>v</sub>) and classified as human carcinogen in 2011. The most contaminated places are formaldehyde industries and those which use it as a raw material for the fabrication of other products like resins, solvents, paints, glues, etc., as well as the laboratories that use formalin for biological specimen conservation. The Occupational Safety and Health Administration (OSHA) established the work hour exposure level, for an eight-hour work day five days per week, at 0.75 ppm<sub>v</sub>, and short term exposure level, for casual exposure of fifteen minutes, at 2 ppm<sub>v</sub>. Biofiltration is a technology for VOC treatment at low concentrations ( $0 < 10 \text{ gm}^{-3}$ ). Reports on formaldehyde biofiltration had shown the high influence of pH on biofilter performance, limiting the range of inlet concentration that can be applied in a biofilter. García-Pérez (2012) showed that the pH was regulated by ozone pulses additions, studying the effect of the ozone additions and also she studied the effect of the ozone additions on EPS (Exopolymeric Substances) composition. The objective of this study was to increase the maximal Elimination Capacity (EC) of  $74 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  achieved by García-Pérez (2012) assessing the effect of the ozone addition and the formaldehyde concentration increases on the biofilm thickness as well as the effect on cellular viability and metabolic capabilities in the consortium, in addition to assessing the stability of the biofilter in long term-operation (20-100 days). An air biofilter for the formaldehyde removal was operated 310 days, with and without ozone addition under different formaldehyde inlet loads ( $20\text{-}40 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ ). The inlet load (IL) of  $40 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  of formaldehyde was not maintained more than 10 days without ozone addition due to acidification of the system detected in the biofilter leachate; under this condition removal efficiency (RE) and EC of zero were observed. The continuous ozone addition allowed for biofilter performance recovery; the biofilter achieved steady state over 110 days with  $\text{IL} = 43.4 \pm 3.5 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ ,  $\text{EC} = 40 \pm 3.7 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ ,  $\text{RE} = 92.1 \pm 4.5\%$  and a formaldehyde concentration of  $0.9 \pm 0.1 \text{ gm}^{-3}$  with continuous ozone supply of 90 ppb<sub>v</sub>. Three additional conditions were tested under ozone addition, reaching steady state in each case for 27, 23 and 23 days. In this work a high concentration of formaldehyde



was treated:  $2.4\text{gm}^{-3}$ , with  $\text{EC}=121.4\pm 4.2\text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  and  $\text{ER}= 99.5\pm 0.7\%$  adding  $90\text{ ppb}_v$  of ozone, that aids to control the pH of the biofilter. The system tends to acidify with high inlet loads due to formic acid accumulation, which could react with ozone to produce carbonate species that increase the system alkalinity (from  $334.1\pm 100.3$  to  $1450\pm 127\text{ mg CaCO}_3\text{L}^{-1}$ ). After ozone addition a reduction in EPS from  $18.2$  to  $1.4\text{mgCg}^{-1}\text{dry support}$  was obtained, which agrees with the decrease in biofilm thickness from  $163\pm 14.8$  to  $67.6\pm 8.3\text{ }\mu\text{m}$ . On the other hand, the ozone addition slightly diminishes the viability of microorganisms without influence on the overall performance of the biofilter. Hence, ozone addition is an appropriate strategy that allowed working under high inlet formaldehyde concentration in a biofilter, in addition an increase in pH regulation capacity during long-term operation was observed. Moreover, the reduction in EPS and biofilm thickness by ozone addition makes it a powerful strategy to control the clogging developed in biofiltration after long-term operation.

**Keywords:** Formaldehyde, biofiltration, ozone, pH regulation, high concentrations, biofilm thickness.

# CONTENIDO

CRÉDITOS INSTITUCIONALES .....	ii
ACTA DE EXAMEN .....	iii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	v
LISTA DE TABLAS .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	vii
ABREVIATURAS .....	x
GLOSARIO .....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT .....	xv
I. INTRODUCCIÓN .....	20
2. MARCO TEÓRICO.....	21
2.1 Contaminación del Aire .....	21
2.2 Compuestos Orgánicos Volátiles .....	21
2.2.1 Formaldehído .....	22
2.3 Tecnologías de tratamiento de aire.....	24
2.3.1 Métodos Físicoquímicos .....	25
2.3.1.1 Condensación .....	25
2.3.1.2 Incineración .....	25
2.3.1.3 Adsorción.....	26
2.3.1.4 Absorción.....	26
2.3.1.5 Sistemas de Membranas .....	26
2.3.2 Métodos Biológicos .....	27
2.3.2.1 Biofiltros .....	27
2.3.2.2 Filtros percoladores (Biotrickling filters).....	28
2.3.2.3 Biolavadores.....	29
2.3.3 Ventajas y desventajas de los sistemas de tratamiento .....	29
2.3.3.1 Problemas principales en la biofiltración.....	31
2.3.3.2 Estrategias utilizadas para recuperar y mantener el desempeño en la biofiltración, específicamente por problemas de taponamiento .....	32
2.3.4 Biofiltración de formaldehído.....	34
2.4 Biodegradación de formaldehído .....	34

2.4.1	<i>Microorganismos y rutas metabólicas reportadas</i>	34
2.5	Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS) en biopelículas	37
2.5.1	<i>Mecanismos de Síntesis de biopelícula</i>	37
2.5.2	<i>Mecanismos de resistencia hacia los biocidas en las biopelículas</i>	40
2.6	Ozono	41
2.6.1	<i>Concentraciones utilizadas en la desinfección de aguas residuales</i>	42
2.6.2	<i>Reacciones de ozono con COV</i>	42
3.	JUSTIFICACIÓN	50
4.	HIPÓTESIS	50
5.	OBJETIVOS	50
5.1	General	50
5.2	Específicos	50
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	51
6.1	Biofiltro	51
6.2	Caracterización del soporte	52
6.3	Inóculo y medio mineral	53
6.4	Descripción experimental	55
6.5	Evaluación del desempeño global y longitudinal del biofiltro	55
6.6	Métodos Analíticos	56
6.6.1	<i>Fase gaseosa</i>	56
6.6.1.1	Cromatografía de gases	57
6.6.1.2	Determinación cualitativa de ozono	57
6.6.2	<i>Fase líquida</i>	58
6.6.2.1	Medición de pH	58
6.6.2.2	Determinación de la alcalinidad	58
6.6.2.3	Cromatografía de gases	58
6.6.2.4	Carbono orgánico total	58
6.6.2.5	Sólidos suspendidos volátiles	58
6.6.3	<i>Fase Sólida</i>	59
6.6.3.1	Extracción de EPS	59
6.6.3.2	Carbono total	59
6.6.3.3	Conteo heterotrófico en placas	60
6.6.3.4	Espesor de biopelícula	60

6.6.3.5 Medición de pH en lixiviado .....	62
6.7 Parámetros cinéticos .....	62
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>63</b>
7.1 Caracterización del soporte .....	63
7.2 Desempeño del biofiltro .....	63
7.2.1 <i>Etapas de operación, Capacidades de eliminación y Eficiencias de remoción Sin ozono y Con ozono.</i> ....	65
7.2.1.1 Etapa1.....	65
7.2.1.2 Etapa 2 .....	68
7.2.1.3 Etapa 3 .....	72
7.2.1.4 Etapas 4, 5 y 6.....	74
7.2.2 <i>Alcalinidad, mineralización, oxidación de formaldehído con ozono y ozono en la salida del biofiltro.</i> .....	76
7.2.3 <i>Espesor de biopelícula</i> .....	81
7.2.4 <i>COT y SSV en lixiviados comparados con el contenido total de EPS</i> .....	82
7.3 Biomasa, EPS y viabilidad.....	83
7.4 Balance de Carbono .....	85
7.5 Parámetros cinéticos .....	86
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>90</b>
<b>9. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>91</b>
<b>10. OPINIÓN GENERAL.....</b>	<b>91</b>
<b>11. REFERENCIAS.....</b>	<b>92</b>
<b>12. APÉNDICES .....</b>	<b>97</b>
A. Cálculos .....	97
B. Composición de la perlita .....	100
C. Formaldehído en lixiviados.....	100
D. Concentración de Ozono ¿Alta o baja? .....	101
E. Espesores de biopelícula y fotos de perlita .....	102
F. Aislamiento e identificación de hongos.....	106

## I. INTRODUCCIÓN

El formaldehído fue declarado carcinogénico en el año 2011, en el 12°. Reporte sobre Cáncer emitido por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés). Además de provocar cáncer, causa irritación en los ojos, en el tracto respiratorio, dolor de cabeza, náuseas, etc. Es conocido por provocar la enfermedad del “edificio” donde sus ocupantes presentan algunos de los efectos antes mencionados. En ambientes interiores se encuentra en concentraciones muy bajas (0.01-1 ppm<sub>v</sub>) y en lugares donde lo utilizan como materia prima puede encontrarse en concentraciones mucho más elevadas; en la industria de la pulpa y el papel se han reportado concentraciones entre 0.1 y 7.4 ppm<sub>v</sub> [IARC, 2006]. La biofiltración es un método relativamente económico por su bajo costo de inversión y de operación que es capaz de transformar contaminantes, como el formaldehído, en especies inocuas como CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. Sin embargo, en industrias con altas concentraciones difícilmente podría competir con sistemas fisicoquímicos en cuanto a eficiencia de remoción. Por lo que hace falta buscar estrategias que permitan tratar mayores concentraciones de contaminantes como el formaldehído. Recientemente, se reportó el uso de sistemas de oxidación avanzada acoplados a sistemas biológicos, como los biofiltros, para mejorar las limitaciones que se presentan al tratar contaminantes recalcitrantes o hidrofóbicos. El interés de aplicar estos sistemas radica en generar subproductos de degradación con estructuras de enlace más sencillas y con mayor solubilidad en un proceso de oxidación avanzada usado como sistemas de pretratamiento. En el caso de la biofiltración de formaldehído se ha observado que el pH es una variable importante para mantener el buen desempeño, se ha reportado que se pueden acumular subproductos ácidos (p.ej. ácido fórmico) que tienden a acidificar el medio filtrante y disminuyen drásticamente las capacidades de eliminación de este compuesto [Prado *et al.*, 2004; 2006 y García-Pérez 2013]. Por lo tanto, el control de pH durante la biofiltración de formaldehído es crucial. Trabajos previos del grupo de investigación de la Dra. Sonia Arriaga, en el cual trabajé, mostraron que la adición de pulsos de ozono a un biofiltro que degradaba formaldehído fue una técnica adecuada para mantener altas eficiencias de remoción de formaldehído a altas cargas y derivado de las reacciones de oxidación química de ozono con los subproductos de degradación de formaldehído fue posible general especies de bicarbonato que ayudaron a mantener estable el pH del sistema [García-Pérez, 2013]. Sin embargo, la estabilidad del sistema por largos periodos de operación y a cargas aún mayores no ha sido abordada. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo incide en estudiar el efecto de la adición continua de ozono en la biofiltración de altas cargas de formaldehído en largos periodos de operación (periodos de más de 20 y más de 100 días).

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Contaminación del Aire

La contaminación es cualquier adición de materia o energía que degrada el ambiente para los humanos y otros organismos [Enger y Smith, 2006]. La contaminación del aire se refiere a la presencia de compuestos que no deberían estar presentes en la atmósfera o que están presentes de manera natural, pero en cantidades muy pequeñas. Estos contaminantes llegan a la atmósfera como resultado de las actividades humanas y de fuentes naturales [SEMARNAT, 2011].

Existen varias fuentes naturales de gases y partículas que degradan la calidad del aire, como el material emitido por los volcanes, el polvo de la erosión causada por el viento, y los gases provenientes de la descomposición de plantas y animales muertos. Estos contaminantes ocurren de forma natural y no se puede hacer mucho para controlarlos. Sin embargo, es posible minimizar las emisiones producidas por automóviles, humo de fábricas, olores químicos y materiales similares considerados como contaminantes [Enger y Smith, 2006].

Existe otro nivel de contaminación del aire que se refiere a los espacios cerrados. Enger y Smith [2006] puntualizan que un creciente número de evidencias científicas indica que el área dentro de los hogares y ciertos edificios puede estar más contaminada que el aire exterior, aún en las ciudades más grandes e industrializadas. La *environmental protection agency* (EPA) de Estados Unidos de América reporta haber encontrado aproximadamente una docena de compuestos orgánicos comunes de entre 2 y 5 veces más concentrados dentro de las casas que fuera de ellas. Estos contaminantes incluyen asbestos; formaldehído, asociado a productos de uso común como productos de madera y aerosoles; residuos pesticidas transportados por aire; cloroformo; percloroetileno asociado a las tintorerías; paradiclorobenceno, proveniente de las bolas de naftalina y aromatizantes del ambiente; metanol, asociado con las pinturas (lacas) de interiores; entre otros.

### 2.2 Compuestos Orgánicos Volátiles

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) están conformados principalmente de carbono e hidrógeno, considerados volátiles porque se evaporan en el aire a temperatura ambiente. La Comisión de las Naciones Unidas por Europa (UNECE, por sus siglas en inglés) los define como “todos los compuestos orgánicos de naturaleza antropogénica, excepto el metano, que son capaces de producir oxidantes fotoquímicos mediante reacciones con óxidos de nitrógeno en presencia de luz solar” [UNECE, 1991].

Son productos de la combustión incompleta de combustibles de automóviles o incluso pueden evaporarse de la fuente de combustible. El uso del motor de

combustión interna contribuye con 45% de los COV liberados al aire, mientras que la refinación y otras industrias contribuyen a una cantidad equivalente [Enger y Smith, 2006]. Muchos COV son químicos producidos en la manufactura de pinturas, adhesivos, productos derivados del petróleo, farmacéuticos, refrigerantes y productos de limpieza. Frecuentemente son componentes de combustibles, solventes, fluidos hidráulicos, adelgazadores de pinturas y agentes de lavado en seco [Water Resource Data, 2005].

Algunos COV son tóxicos y se conocen por ser muy dañinos para la atmósfera, ya que contribuyen con la producción de contaminantes aéreos secundarios que degradan la capa de ozono, contribuyendo al cambio climático. El COV más conocido en ambientes cerrados es el formaldehído que se encuentra en materiales de construcción y fábricas de resinas, así como los lugares donde se fabrica.

### 2.2.1 Formaldehído

El formaldehído es producto de la oxidación catalítica del metanol, es el aldehído de menor peso molecular, formado de un solo átomo de carbono ( $\text{CH}_2\text{O}$ ); compuesto químico incoloro, inflamable, de pungente y sofocante olor. Comercialmente se encuentra en soluciones acuosas al 30-50% en peso, las cuales se encuentran combinadas con estabilizadores como el metanol (15%) o con derivados de aminas en concentraciones más bajas. En ausencia de estabilizadores el formaldehído se oxida en ácido fórmico y se polimeriza para formar oligómeros, como el paraformaldehído (polímero de entre 8 y 100 unidades de formaldehído) o como 1,3,4-trioxano, un trímero cíclico. En la **Tabla I** se presentan las principales características fisicoquímicas del formaldehído.

**Tabla I.** Propiedades fisicoquímicas del formaldehído

Propiedad	Magnitud	Unidades
Peso molecular	30	$\text{gmol}^{-1}$
Punto de fusión	-92	$^{\circ}\text{C}$
Punto de ebullición	-19.5	$^{\circ}\text{C}$
Gravedad específica	0.815 a $-20^{\circ}\text{C}$ - $4^{\circ}\text{C}$	
Presión de Vapor	3890 a $25^{\circ}\text{C}$ 2.4 a $20^{\circ}\text{C}$	mmHg kPa
Densidad de vapor (aire = 1)	1.067	
Temperatura crítica	137-141.2	$^{\circ}\text{C}$

**Tabla I (Continuación).** Propiedades fisicoquímicas del formaldehído

Propiedad	Magnitud	Unidades
Solubilidad		
En agua a 20 °C	400	gL <sup>-1</sup>
En acetona, alcohol, benceno y éter.	Soluble	
Coeficiente de partición octanol-agua (log K <sub>ow</sub> )	0.35	
Constante de disociación (pK <sub>a</sub> )	13.27 a 25°C	
Constante de Henry (H)	3.41 × 10 <sup>-7</sup>	atm·m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
	3.41 × 10 <sup>-2</sup>	Pa·m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
	1.19 × 10 <sup>-3</sup>	Adimensional

La producción mundial anual es cerca de 21 millones de toneladas [IARC, 2006] para la fabricación de resinas (urea-formaldehído, fenol-formaldehído, poliacetal y melanina-formaldehído) que son utilizadas en la manufactura de productos como adhesivos y pegamentos para productos de madera, productos de pulpa y papel, plásticos y fibras sintéticas, así como en acabados de telas, estos usos abarcan el 80% de la utilización total. Otros usos menores, son en agricultura, en medicina como desinfectante y conservador (en patología, histología y embalsamientos) también en varios productos de consumo (cosméticos e incluso alimentos) como biocida y conservador [NTP, 2007].

Es un contaminante de ambientes interiores, entre las fuentes de emisión dentro de una casa están los materiales de construcción, el humo del cigarro, productos de limpieza, el uso de dispositivos quemadores de combustibles no ventilados, como estufas de gas o calentadores de queroseno, las fuentes más importantes de emisión de formaldehído son productos de madera comprimida que usan adhesivos hechos a base de resinas de urea-formaldehído [EPA, 2012]. También se encuentra en el exterior, como producto de combustiones de materia orgánica, y de los motores de combustión de automóviles [INE, 2010]. El formaldehído, también se forma a partir de reacciones secundarias fotoquímicas en el aire que involucran toda clase de hidrocarburos contaminantes.

Los trabajadores pueden inhalar el formaldehído como gas o vapor o absorberlo a través de la piel como líquido. Pueden estar expuestos en el tratamiento de textiles o la producción de resinas. Además de profesionales del cuidado de salud y técnicos de laboratorios médicos, otros grupos potencialmente en riesgo incluyen trabajadores de mortuorios así como estudiantes y maestros que manejan especímenes biológicos preservados con formaldehído o formalina (también llamado formol). Trabajadores industriales y embalsamadores expuestos a altas



concentraciones de formaldehído desarrollaron *leucemia mieloide* y tipos raros de cáncer como *sinonasal* y *nasofaríngeal*. Los mecanismos por los cuales el formaldehído causa cáncer no están completamente entendidos, sin embargo, se sabe que causa daño genético en el seno nasal de animales [IARC, 2006].

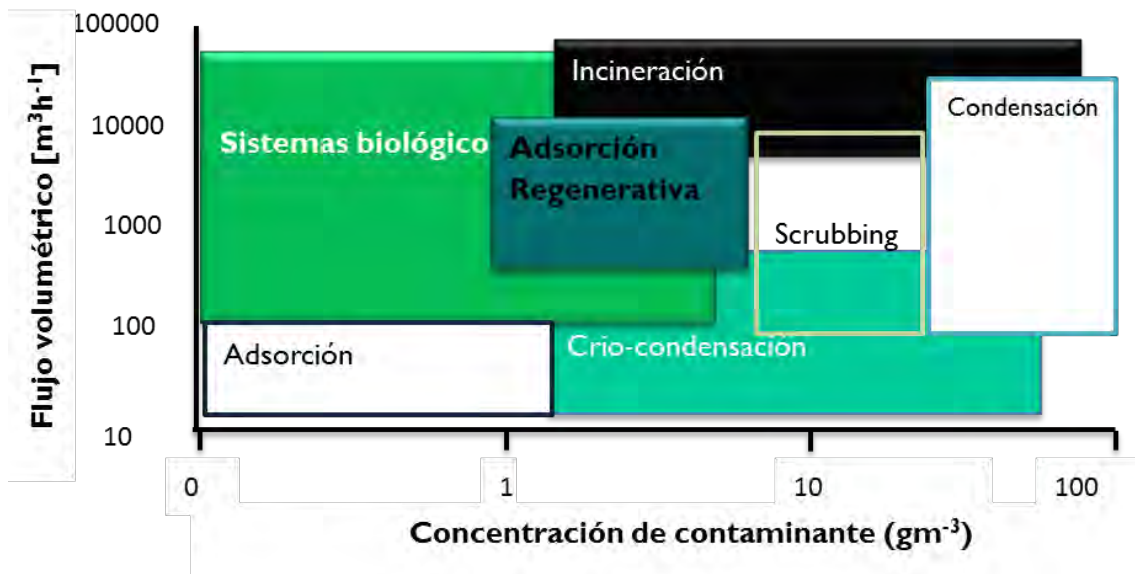
Desde las primeras exposiciones puede provocar alteraciones en el sistema inmune. Concentraciones arriba de 0.1 ppm<sub>v</sub> pueden causar irritación en el tracto respiratorio. Exposiciones agudas provocan una gran irritación en ojos, nariz y garganta, provoca tos y dificultad respiratoria. Exposiciones subsecuentes pueden causar severas reacciones alérgicas a la piel, ojos y tracto respiratorio. La ingestión de formaldehído puede ser fatal y en exposiciones a largo plazo y con niveles bajos en el aire sobre la piel pueden causar problemas respiratorios como asma e irritación de la piel como dermatitis y comezón. El formaldehído puede causar cáncer. Algunos organismos consideran que concentraciones de 100 ppm<sub>v</sub> son peligrosas inmediatamente para la vida y la salud. Sin embargo, el *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH) considera 20 ppm<sub>v</sub>, como concentración peligrosa inmediata para la vida y la salud.

La *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) establece los límites de exposición permisibles, en el espacio de trabajo es de 0.75 partes de formaldehído por un millón de partes de aire base volumen (*i.e* 0.75 ppm<sub>v</sub>) en un tiempo promedio de trabajo de 8 horas. El segundo límite es para una exposición de corto tiempo, 2 ppm<sub>v</sub> es la máxima concentración permitida en un período de 15 minutos; 0.5 ppm<sub>v</sub> es la concentración a la cual debe tenerse mayor vigilancia y monitoreo sobre la higiene del espacio de trabajo y a la cual el trabajador deber recibir atención médica [OSHA, 2011].

### 2.3 Tecnologías de tratamiento de aire

Para el control de contaminantes en efluentes gaseosos hay dos opciones, una es por medio del manejo de las emisiones ya sea reduciéndolas o eliminándolas totalmente, lo cual se puede lograr haciendo cambios en la materia prima utilizada o con la reingeniería del proceso. La otra forma de control es mediante el tratamiento de los gases emitidos, puede ser de forma fisicoquímica o biológica. Los tratamientos fisicoquímicos regularmente se limitan a pasar un contaminante de una fase a otra, para su recuperación y confinamiento en muchos casos, en otros puede haber recuperación y reutilización. Se ha visto que los tratamientos biológicos funcionan bien para flujos de carga altos y bajas concentraciones ( $0 < 10 \text{ gm}^{-3}$ ), para todo lo demás se recomiendan tratamientos fisicoquímicos específicos [Deviny et al., 1999; Sharefdeen y Singh, 2004]. En la **Figura I** se muestra una gráfica donde se relacionan dos variables importantes

para la selección del tipo de tratamiento, la relación de concentración y flujo volumétrico.



**Figura 1.** Gráfico reproducido de *Biotechnology of odor and air pollution control* de Sharefdeen y Singh, 2004.

Otras limitantes en la selección del tratamiento están determinadas por cuestiones económicas y ambientales, también es necesario tomar en cuenta la naturaleza del contaminante y el modo de emisión del efluente contaminado. En algunos casos se utiliza una combinación de los sistemas de tratamiento para cumplir con estándares de regulación [Deviny et al., 1999].

### 2.3.1 Métodos Físicoquímicos

#### 2.3.1.1 Condensación

Es útil para contaminantes gaseosos concentrados y de elevado punto de ebullición. Son recuperados por enfriamiento y compresión de vapores gaseosos. Esta técnica es económicamente factible sólo para contaminantes cuya recuperación es valiosa o cuando interesa reciclarlos. No es posible reciclar el contaminante si el efluente a tratar es una mezcla de gases. Usualmente después de esta etapa se requieren otros tratamientos para cumplir con estándares de regulación [Deviny et al., 1999]

#### 2.3.1.2 Incineración

La incineración térmica y catalítica son tratamientos muy efectivos y utilizados para efluentes gaseosos. La incineración térmica consiste en la combustión de los contaminantes a temperaturas entre 700 y 1400 °C. La incineración catalítica permite

temperaturas entre 300 y 700 °C con catalizadores como el platino, paladio y rubidio. La incineración es la técnica secundaria más utilizada, pero sus costos son muy altos para corrientes con bajas concentraciones ya que la demanda de combustible es muy alta. Sin embargo este tratamiento es poco amigable con el ambiente, produce óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) y dioxinas que son altamente carcinógenas. Se recomienda para flujos moderados y altas concentraciones [Devinny *et al.*, 1999]

#### 2.3.1.3 Adsorción

Se recomienda para bajas concentraciones, generalmente se lleva a cabo en lechos fijos o fluidizados sobre material como carbón activado o zeolita. Generalmente se utiliza para el tratamiento de COV con baja presión de vapor y altos pesos moleculares. La eficacia de un sistema con carbón activado depende de la velocidad de flujo, la carga total de COV en la corriente y los componentes individuales de COV. Una desventaja de este tratamiento es que el material tiene que regenerarse cuando se satura. Esto se hace con vapor o con aire caliente, lo cual eleva el costo del tratamiento, en algunos casos resulta más económico incinerarlo o realizar la disposición final del adsorbente [Devinny *et al.*, 1999].

#### 2.3.1.4 Absorción

Remueve los contaminantes con una solución absorbente (*scrubbing*) que también llaman solución de depuración o solución de lavado de la fase gaseosa. Consiste en una transferencia de contaminantes de la fase líquida a la gaseosa, por ello es necesaria una eficiente transferencia de masa a través de una columna empacada o de burbujas. Como solución *scrubbing* generalmente se utiliza agua. La mayoría de los contaminantes modifican el pH de la columna el cual debe mantenerse en un rango óptimo que garantice la solubilidad de gases ácidos o básicos. En el caso de contaminantes hidrofóbicos se utilizan solventes orgánicos. Una vez que la transferencia del contaminante ha ocurrido se requiere tratar la fase líquida. [Devinny *et al.*, 1999]

#### 2.3.1.5 Sistemas de Membranas

Los sistemas de membranas pueden utilizarse para transferir COV de una corriente de aire a una fase acuosa. En un sistema de separación de membranas, la corriente de gas se comprime, se condensa y en seguida se lleva a cabo la separación por membrana. Durante la compresión se puede mantener una presión de 310 y 1400 kPa, la cual es mayor que la presión del permeado de la membrana. Este diferencial de presión es la fuerza motriz de la separación mediante membranas. La mezcla comprimida puede ser procesada a través de un condensador donde las porciones de vapores orgánicos son recuperadas. La corriente de aire remante es pasada a través de

la superficie de una membrana hidrofóbica microporosa construida de materiales como polietileno o polipropileno. La membrana provee alta permeabilidad del gas sin permitir que la mezcla (*bulk*) se transporte a través de la membrana. Los poros de la membrana permanecen llenos con agua y los vapores orgánicos son transferidos a través de la membrana por diferencia de presiones. Los productos resultantes son una corriente de aire que contiene compuestos orgánicos. Este proceso requiere un tratamiento posterior del permeado líquido para disposición de COV o reciclado [Devinny *et al.*, 1999].

### 2.3.2 Métodos Biológicos

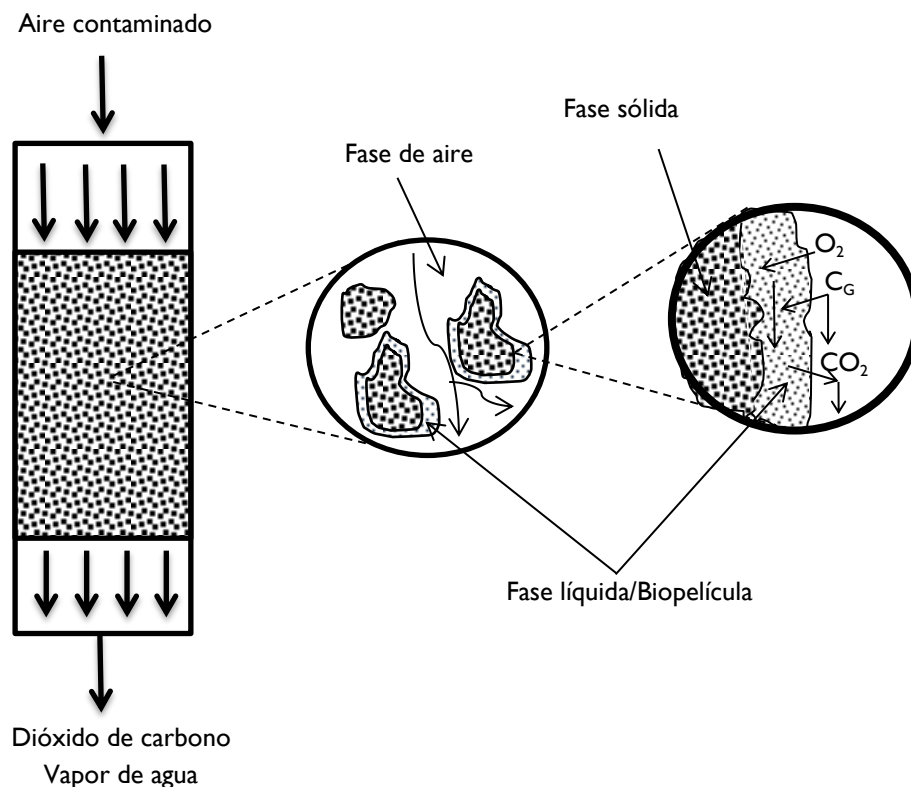
Los métodos biológicos son económicamente viables para el tratamiento de flujos volumétricos altos con bajas concentraciones de contaminante. Los reactores biológicos hacen uso de las reacciones metabólicas de microorganismos para tratar los efluentes, a través de reacciones de oxidación y en algunos casos de reducción, los contaminantes son convertidos a dióxido de carbono, vapor de agua y biomasa. Los contaminantes de interés deben ser biodegradables y no tóxicos para el microorganismo para asegurar el éxito del tratamiento. Generalmente son contaminantes de bajo peso molecular y altamente solubles en agua y con estructuras de enlaces de unión sencillos, como el metanol y el formaldehído, entre otros. Algunas familias de compuestos que pueden ser tratados eficientemente son los alcoholes, aldehídos, cetonas y en algunos casos compuestos aromáticos simples [Devinny *et al.*, 1999].

#### 2.3.2.1 Biofiltros

La biofiltración utiliza microorganismos fijos en un medio poroso para eliminar los contaminantes presentes en una corriente de aire. Los microorganismos crecen en una biopelícula sobre la superficie de un medio poroso o están suspendidos en la fase líquida en las partículas del medio que los rodea. El medio del lecho puede ser de origen natural o sintético, si es natural sirve también como fuente de nutrientes. Es necesario que estos medios provean grandes áreas superficiales para garantizar un mayor contacto entre el contaminante y los microorganismos. Al pasar la corriente de aire a través del lecho, los contaminantes son sorbidos en la biopelícula y en el medio del filtro, donde son biodegradados. Los biofiltros son sistemas que combinan varios fenómenos: adsorción, absorción, biodegradación y desorción de contaminantes en fase gaseosa. Generalmente se les adiciona agua para controlar la humedad y para proveer nutrientes. La efectividad de un biofiltro depende de las propiedades y características del medio de soporte, entre las cuales están la porosidad, grado de compactación, capacidad de retención de agua y la habilidad de hospedar microorganismos. Los parámetros críticos para la operación y rendimiento de un biofiltro son el inóculo, el pH del medio, la temperatura y la humedad del medio además del contenido de nutrientes simples [Devinny *et al.*, 1999; Baltzis *et al.*, 1997].

Otros factores importantes incluyen a las cinéticas de biodegradación, la disponibilidad de oxígeno en la biopelícula, la ecología microbiana y la distribución espacial de las biopelículas resultan importantes en el desempeño del biofiltro [Baltzis et al., 1997].

En la **Figura 2** se muestra un esquema general de un biofiltro convencional, donde se tienen dos acercamientos (*zoom*). En el primero se ve como existen espacios entre las partículas por los cuales puede circular la corriente gaseosa que contiene al contaminante y que además estas partículas están rodeadas de una capa líquida en la que los compuestos son disueltos (en el caso de ser compuestos hidrofílicos) y así biodisponibles para los microorganismos. En el siguiente acercamiento se esquematiza la necesidad de que el oxígeno ( $O_2$ ) penetre la biopelícula para que se lleve a cabo la degradación del contaminante de concentración  $C_G$  e idealmente forme dióxido de carbono ( $CO_2$ ) como subproducto final.



**Figura 2.** Esquema común de un biofiltro convencional. Imagen reproducida de Biofiltration for air pollution control, Devanny et al., 1999.

### 2.3.2.2 Filtros percoladores (Biotrickling filters)

En estos sistemas los contaminantes gaseosos son absorbidos en una fase líquida libre antes de ser degradados por microorganismos inmobilizados o suspendidos. En los filtros percoladores, los microorganismos están fijos al material de

empaquete inorgánico principalmente y también pueden haber microorganismos suspendidos en la fase acuosa capaces de degradar contaminantes absorbidos mientras pasan a través del reactor. La presencia y concentración de microorganismos suspendidos en la fase líquida dependerán de las condiciones de operación del biofiltro percolador. Pueden operar con flujos a contra corriente o paralelamente (*co-counter*).

En la corriente de circulación de agua deben proveerse nutrientes, ácidos o bases, para mantener un ambiente óptimo que permita el crecimiento y un buen rendimiento del biofiltro sin producir exceso de biomasa [Devinny *et al.*, 1999].

### 2.3.2.3 Biolavadores

Antes de que la absorción inicial de contaminante ocurra, la degradación de contaminantes es llevada a cabo por un consorcio de microorganismos en un reactor separado. La absorción puede llevarse a cabo en una columna empacada, una torre de aspersion o en una columna de burbuja. El agua luego es transferida a un reactor separado donde las condiciones ambientales para la degradación son mantenidas. La fase de agua libre beneficia a los biofiltros percoladores y a los biolavadores proveyendo continuamente nutrientes, removiendo posibles compuestos tóxicos, además suspende la biomasa y ayuda a la difusión de contaminantes hidrofílicos hacia la biopelícula [Devinny *et al.*, 1999].

### 2.3.3 Ventajas y desventajas de los sistemas de tratamiento

La selección del sistema de tratamiento es función del tipo de contaminante, las características del efluente como velocidad de flujo, carga o concentración. En la **Tabla 2** se describen las ventajas y desventajas de algunos tratamientos.

**Tabla 2.** Ventajas vs. desventajas de sistemas de tratamiento

<b>Tecnología de control</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Biofiltración	<p>Bajos costos de operación y de inversión.</p> <p>Remoción efectiva de los compuestos.</p> <p>Baja caída de presión.</p> <p>No produce más corrientes de desecho.</p>	<p>Requiere de grandes áreas superficiales.</p> <p>Puede ocurrir deterioración del medio filtrante.</p> <p>No se recomienda para corrientes con altas concentraciones.</p> <p>Resulta difícil controlar la humedad y el pH.</p> <p>La materia particulada puede ocasionar el taponamiento (<i>clogging</i>) del medio.</p>

**Tabla 2(Continuación).** Ventajas vs. desventajas de sistemas de tratamiento

<b>Tecnología de control</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Filtros percoladores	Tiene un mediano costo de operación y de inversión. Remoción efectiva de los compuestos. Puede tratar contaminantes que producen ácido. Bajas caídas de presión.	Taponamiento por biomasa. Más complejo de construir y de operar. Produce más corrientes de desecho.
Biolavadores	Bajo costo de inversión. Remoción efectiva de olores.  No requiere disposición del medio. Puede operar con corrientes húmedas de gas. Puede manejar altas velocidades de flujo. Tiene la habilidad de manejar varias cargas.	Altos costos de operación. Necesita sistemas de alimentación para químicos complejos. No remueve todos los COV. Requiere de adición continua de agua. Requiere nodos de mantenimiento frecuentemente.
Adsorción en carbón	Cortos tiempos de retención/ unidades pequeñas. Remoción efectiva de compuestos. Adecuado para cargas bajas o moderadas.  Operación consistente y segura.	Altos costos de operación. Costos moderados de inversión. La vida de carbón se reduce por la humedad de la corriente gaseosa. Crea corrientes secundarias de desecho.
Incineración	Sistema simple.  Remoción efectiva de compuestos.  Adecuado para cargas muy altas.  De rendimiento uniforme y seguro Requiere de área pequeña.	Altos costos de operación e inversión. Flujos altos con bajas concentraciones no son económicamente viables. Produce una corriente secundaria de desechos. De escrutinio público.

Tabla tomada de Biofiltration for air pollution control, Deviny *et al.*, 1999.

### 2.3.3.1 Problemas principales en la biofiltración

Como ya se mencionó (sección 0), entre los sistemas de tratamiento están los biológicos donde se sitúa la biofiltración, la cual resulta de interés, por sus ventajas respecto a otras tecnologías de las cuales sobresale su bajo costo de operación y de inversión. Entre las desventajas que reporta Devinny *et al.* (1999) está el taponamiento del biofiltro y las bajas concentraciones que se pueden tratar. Diversos autores han desarrollado estrategias para evitar el taponamiento y la formación de canales, así como la distribución heterogénea de la biomasa, entre estos métodos encontramos físicos, químicos, biológicos, algunas estrategias en la operación y hasta nuevos diseños de biofiltros.

Entre los retos que enfrenta la biofiltración están las bajas concentraciones de contaminante que puede soportar el sistema [Devinny *et al.*, 1999]; el tratamiento de compuestos recalcitrantes (p. ej. o-clorobenceno,) o poco biodegradables; el bajo grado de mineralización que presentan algunos compuestos; los choques de carga característicos de la industria, ya sean altas o bajas cargas en determinados periodos de tiempo; el control de temperatura para lugares con temperaturas extremas y el control de pH para los sistemas que tienden a acidificarse, como sucede en el caso del formaldehído; finalmente está el taponamiento que es la acumulación de biomasa ocasionada en largos periodos de operación de un biofiltro.

A continuación se describe con más detalle de qué trata el taponamiento y porqué es importante encontrar una nueva estrategia que abata eficazmente este problema. Durante la operación de los biofiltros en la degradación de un COV, entre un 50-80% del carbono es convertido a CO<sub>2</sub>, un 2% a subproductos de degradación (catabolismo) y entre un 20-50% es asimilado por los microorganismos para su crecimiento (anabolismo)[Madigan *et al.*, 2004]. Por lo tanto, a través del tiempo los sistemas de biofiltración tienden a acumular biomasa, generando el taponamiento del biofiltro, que representa uno de los principales cuellos de botella en el uso de esta tecnología. Así que para mantener el buen desempeño del biofiltro en largos periodos de operación, es importante disminuir la formación excesiva de biomasa (taponamiento o *clogging* en inglés), que se traduce en bajas eficiencias de remoción y altos costos de operación [Devinny *et al.*, 1999].

El taponamiento es un fenómeno complejo determinado por diversos factores como las características estructurales del material de empaque, las características biológicas de los microorganismos y las propiedades físicoquímicas de los compuestos involucrados. En otras palabras, depende de la velocidad de degradación microbianas y de los coeficientes de Henry, la fuerza mecánica y la morfología de la biopelícula, especialmente de su densidad [Okkerse *et al.*, 1999].



El taponamiento en biofiltros es muy común debido al crecimiento excesivo de los microorganismos, provoca inconvenientes como altas caídas de presión; genera zonas anaerobias en el biofiltro, ya que el exceso de biomasa no permite que el oxígeno sea transportado hacia niveles profundos en la biopelícula. Estas zonas anaerobias también son producto de la mineralización de la biomasa, se caracterizan por presentar áreas oscuras café/negras sobre el material de crecimiento [Okkerse et al., 1999].

La caída de presión en el lecho es un aspecto clave para el rendimiento de un biofiltro. Afecta el consumo de energía de los compresores, el cual contribuye a elevar el costo de operación. El aumento en la caída de presión como resultado del desarrollo de biomasa en biofiltros, puede ser explicado por la disminución de la fracción vacía y por la degradación de la matriz de soporte en caso de utilizar medios de soporte naturales [Y. Jin et al., 2007].

Otros inconvenientes son la acumulación irregular de biomasa y la generación de corto-circuito (corrientes de contaminantes sin tratar); estos inconvenientes se ven reflejados en la disminución de la eficiencia de remoción. La mayoría de los métodos que se utilizan para controlar el taponamiento, requieren de tiempo para su realización, generando tiempos muertos de operación.

Por ello es importante mantener un espesor de biopelícula adecuado (biopelícula superficial), que permita bajas caídas de presión, área superficial total efectiva, adecuada difusión de nutrientes, oxígeno y contaminantes; para conseguirlo diferentes investigadores han implementado algunas estrategias. Se pueden clasificar de forma general en métodos físicos, biológicos y químicos, también se han utilizado combinaciones de estos métodos, se han implementado estrategias de operación y nuevos diseños de biofiltros.

### 2.3.3.2 Estrategias utilizadas para recuperar y mantener el desempeño en la biofiltración, específicamente por problemas de taponamiento

Entre los métodos físicos y químicos están los retrolavados que consisten en suministrar al biofiltro flujos altos de soluciones líquidas que pueden ser desde agua destilada hasta soluciones de hidróxido de sodio o hipoclorito de sodio, también se ha evaluado el llenado y drenado con agua a varias temperaturas (30-60°C), burbujeo de aire a diferentes flujos y temperaturas [Mendoza et al., 2004; Alonso et al., 1997, Weber y Hartmans, 1996; Soria et al., 1997] o bien incrementando la velocidad de flujo de la solución nutriente [Y. Jin et al., 2007]. Los inconvenientes de estos métodos son que se crean efluentes extras (la solución de retrolavado y lavado del lecho), produce tiempos muertos mientras se lleva a cabo el lavado, demanda un tiempo de recuperación de actividad metabólica para alcanzar la Eficiencia de Remoción (ER)

original antes del tratamiento. Puede provocar inhibición de los microorganismos por el incremento de pH según sea la concentración de NaOH que se use, como muestra Mendoza *et al.* (2004), también se puede provocar la formación de espuma, como observó en el retrolavado con una solución de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HTAB) un detergente. También están el lavado o llenado con soluciones químicas que contienen oxidantes, surfactantes, bactericidas, etc. [Yang *et al.*, 2010].

Los métodos biológicos pueden resultar económicamente rentables y amigables con el medio ambiente. La depredación biológica es considerada como el método biológico más prometedor. Está basado en los principios ecológicos de las pirámides ecológicas, niveles tróficos y alimentación de las cadenas tróficas. Se han utilizado larvas de mosca [Yang *et al.*, 2004], protozoarios, metazoarios y nemátodos [Ratsak *et al.* 1994; Cox y Deshusses, 1998; Cox y Deshusses, 1999] para disminuir el espesor de biopelícula.

La limitación de algún nutriente esencial para el crecimiento de microorganismos como puede ser nitrógeno, fósforo o potasio provoca una reducción de la velocidad de formación de biomasa. Sin embargo esto frecuentemente reduce el rendimiento en el reactor [Kennes y Veiga, 2002; Wübbeker *et al.*, 1997; Rinh *et al.*, 1997; Soria *et al.*, 1997].

Según la ley de Liebig<sup>i</sup> un nutriente determina la cantidad máxima de biomasa, así la inanición puede controlar el crecimiento y la actividad de biopelículas por el decremento de las concentraciones de uno o más nutrientes limitantes para un biofiltro. Después de la inanición es necesario un tiempo de readaptación, de horas o días, para recuperar las eficiencias de remoción iniciales. La ventaja de este método a nivel industrial es el ahorro energético por el apagado de los sopladores y la bomba de recirculación de líquido durante la inanición sin efectos adversos más que la recuperación de la Capacidad de Eliminación. La desventaja es la presencia de malos olores o corrosión, como resultado de condiciones anaerobias en la biopelícula. Además se debe tener en cuenta que los tiempos de inanición son tiempos muertos en el tratamiento del COV, a menos que se tengan biofiltros que trabajen intermitentemente, es decir cuando uno está en inanición el otro entra en operación y así sucesivamente, lo cual implica también mayor costo de inversión.

---

<sup>i</sup> La ley del mínimo de Liebig dice que el nutriente que se encuentra menos disponible es el que limita la producción, aun cuando los demás estén en cantidades suficientes [Sitio Web 1]

#### 2.3.4 Biofiltración de formaldehído

Existen varios estudios que han utilizado el formaldehído como contaminante modelo en la biofiltración. Los más completos son de Prado *et al.*, [2004, 2006 y 2008]. En el 2004 trató una mezcla de metanol con formaldehído y estudió los efectos de las concentraciones de cada compuesto sobre la degradación del otro; encontró que la concentración del metanol puede afectar la degradación de formaldehído ya que al ser más biodegradable los microorganismos prefieren su consumo antes de asimilar al formaldehído; reportó una máxima capacidad de eliminación (CE) de formaldehído de  $112 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ , ocasionalmente de  $180 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  con una concentración de  $0.9 \text{ gm}^{-3}$  y un EBRT de 20.7 s, con una ER de 80%, y una caída de presión de 121.2 mm de agua  $\text{m}^{-1}$  de reactor. En otro sistema donde no renovó el medio nutritivo experimentó una acidificación (pH=4.2) y lo atribuyó a que la fuente de nitrógeno era amonio y a que la solución alimentada no tenía buffer; además no pudo recuperar la capacidad de eliminación del biofiltro mediante lavados.

En el 2006, estudió el efecto de la fuente de nitrógeno, observando que la eficiencia de remoción disminuye ligeramente si se usa nitrato en lugar de amonio, también encontró menos del 3% de metanol y formaldehído en lixiviados. Alcanzó una máxima CE de  $101 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ . De los estudios en lote comprobó que el pH influye en la actividad microbiana, mostrando una CE mucha más rápida a pH 7.5 que a pH 4.0 y 5.5. En un biofiltro de lecho escurrido operado por más de dos meses, también evaluó que a pH menores a cinco la eficiencia de remoción bajó de 80% a 50%. En el 2008 estudió una mezcla más compleja de contaminantes (formaldehído, metanol, dimetiléter y monóxido de carbono de emisiones gaseosas de industrias productoras de resinas) que involucran al formaldehído. Es importante mencionar que en los estudios realizados por Prado *et al.* (2004, 2006, 2008), no se reportó la estabilidad del sistema al tratar altas cargas de formaldehído, las CE máximas reportadas se alcanzaron en cuestión de horas, inclusive esto aplica a los resultados obtenidos a cargas intermedias que van de 40 a  $100 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ .

Entre los principales problemas que se tiene con la biofiltración de formaldehído está la acidificación del sistema y las bajas concentraciones que se pueden tratar. Más adelante (Sección 2.6.2) se propone una estrategia que puede solucionar estos dos problemas.

### 2.4 Biodegradación de formaldehído

#### 2.4.1 Microorganismos y rutas metabólicas reportadas

El formaldehído puede ser biodegradado de dos formas: anaerobia [Zijin y Hageman, 1997] y aerobia [Kato *et al.*, 1983]. A continuación se presenta la biodegradación en presencia de oxígeno. El formaldehído puede ser degradado

fácilmente por muchos microorganismos incluyendo bacterias, cianobacterias, hongos y levaduras (3) Los microorganismos que utilizan el formaldehído y otros compuestos de un carbono (C<sub>1</sub>) se dividen en metilótrofos (e.g. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Methylomonas*) y autótrofos (e.g. *Alcaligenes*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Xanthobacter*, etc.)

**Tabla 3.** Microorganismos que degradan formaldehído

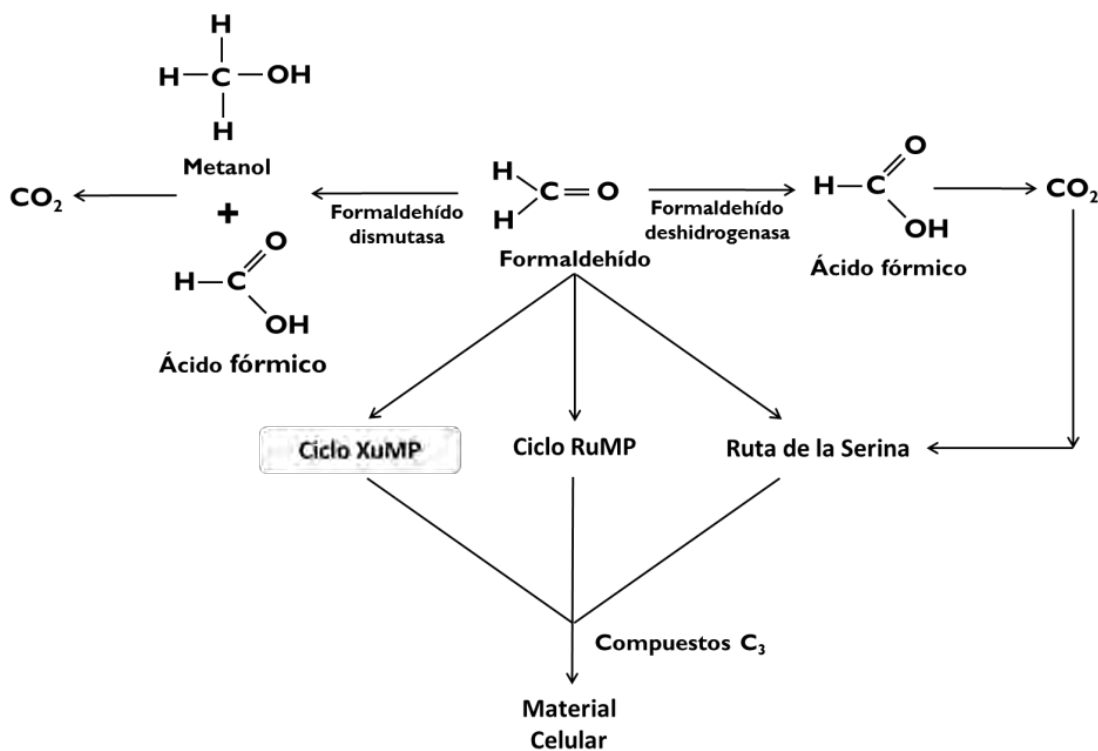
Microorganismo	Condiciones	Referencia
<b>BACTERIAS</b>		
Bacteria autotrófica	Aerobias	*(Dijkhuizen et al., 1992)
<i>Bacillus sp.</i>	Aerobias	*(Arfman et al., 1992; Al-Awadhi et al., 1990)
Cepas de <i>Enterobacteriaceae</i>	Aerobias	*(Daulfers y Marquardt, 1991)
Cultivo mixto	Aerobias	*(Behrens y Hannes, 1984; Behrens et al., 1985)
Bacterias Metanotróficas	Aerobias	*(Dijkhuizen et al., 1992, Romanovskaya et al., 1992)
Bacterias Metilotróficas	Aerobias	*(Attwood an Quayle, 1984, Baev et al., 1992; Kelly et al., 1994; Dijkhuizen et al., 1992)
<i>Methylobacterium extorquens</i> y <i>M. radiotolerans</i>	Aerobias	Maiuta et al., 2009
<i>Ralstonia eutropha</i> (syn: <i>Alcaligenes eutrophus</i> )	Aerobias	Habibi y Vahabzadeh, 2013
<i>Hyphomicrobium X</i>	Anaerobia	Poels y Duine, 1989
<i>Methanosarcina sp.</i> ,	Anaerobia	Pereira y Zaiat, 2009
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	Aerobia	Hidalgo et al., 2002
<i>Nocardia sp.</i> 239	Aerobias	*Van Ophem y Duine, 1990
<i>Pseudomonas putida</i> A2	Aerobias	*Adroer et al., 1990
<i>Pseudomonas putida</i> , <i>P. mendocina</i> y <i>Pseudoalcaligenes pseudoalcaligenes</i>	Aerobias	Maiuta et al., 2009
Cultivo metanogénico	Anaerobias	*(Bhattacharya and Parkin, 1988; Sharma et al., 1994)
<b>HONGOS</b>		
<i>Trichoderma harzianum</i>	Aerobias	*(Larsson, 1991)

**Tabla 3 (Continuación).** Microorganismos que degradan formaldehído

Microorganismo	Condiciones	Referencia
<b>CIANOBACTERIAS</b>		
<i>Anabaena macrospora</i> y <i>Phormidium tenue</i>	Aerobias	*(Yamada et al., 1991)
<b>LEVADURAS</b>		
<i>Candida boidinii</i> y <i>Pichia methanolica</i>	Aerobias	*(Murdanoto et al., 1995; Sakai, 1995)
<i>Hansenula polymorpha</i>	Aerobia	Kaszycki et al., 2001

\*Información tomada de libro *Handbook on Biodegradation and biological treatment of hazardous organic compounds*, Agteren, 1998.

El formaldehído es intermediario anabólico y catabólico de varias rutas, como se ve en la Figura 3 para la síntesis de material celular, principalmente por la ruta de compuestos C<sub>3</sub>.



**Figura 3.** Ruta de degradación del formaldehído

donde XuMP es xilosa monofosfato y RuMP ribulosa monofosfato (Reproducida del libro *Handbook on biodegradation and biological treatment of hazardous organic compounds*, Agteren, 1998).

En la ruta de la serina el dióxido de carbono y el formaldehído son fijados, en la ruta de la ribulosa monofosfato (RuMP) se lleva a cabo la fijación de formaldehído y en

el ciclo de la xilosa monofosfato (XuMP) se lleva la fijación del formaldehído en las levaduras. Agteren (1998) reporta que la form(aldehído) deshidrogenasa es quien juega el papel más importante en la biodegradación de formaldehído. Sin embargo otros autores, también muestran que la formaldehído dismutasa juega un papel importante en la biodegradación del formaldehído [Kato *et al.* 1983; Adroer *et al.*, 1990]. Entonces dependiendo del microorganismo una u otra ruta se verá favorecida; en principio, ambas son factibles.

## 2.5 Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS) en biopelículas

Las biopelículas son la forma de vida más abundante sobre la tierra, gracias a la cual los microorganismos pueden tolerar grandes cantidades de biocidas [Costerton y Lewandowski, 1995; Fleming, 2002]. Son agregaciones de microorganismos embebidos en una matriz de macromoléculas poliméricas, las sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en Inglés), los cuales crecen adjuntos a una superficie sólida [Rittmann y McCarty, 2001]. Por definición las EPS se encuentran en el exterior de la célula, su composición puede ser resultado de diferentes procesos: secreción activa (transporte activo), excreción de material superficial celular, lisis celular y adsorción desde el ambiente. [Wingender *et al.*, 1999]. Entre estas sustancias se encuentran principalmente carbohidratos, proteínas, ácidos urónicos, ácidos nucleicos y sustancias húmicas [Nielsen *et al.*, 1997].

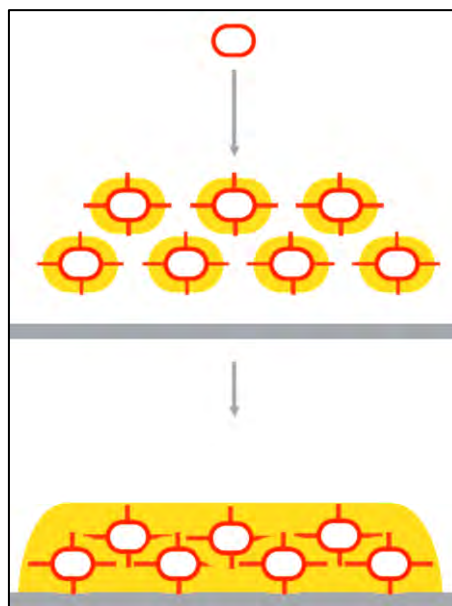
Entre las funciones de la matriz de EPS están la adhesión a superficies, agregación de células de bacterias en flóculos y biopelículas, estabilización de la estructura de biopelícula, formación de una barra protectora que provea resistencia hacia los biocidas, metales, toxinas, fagocitosis y protección contra algunas especies depredadoras, también tiene protección por las exoenzimas que son secretadas por las células, las cuales pueden ser atrapadas en la red polimérica (EPS) y mediante llevar a cabo reacciones de complejación con metales tóxicos, minerales, etc. [Fleming, 2002]; además ayudan a la retención de agua, sorción de compuestos orgánicos exógenos para la acumulación de nutrientes desde el ambiente, y acumulación de actividades enzimáticas como por ejemplo la digestión de macromoléculas para la asimilación de nutrientes [Laspidou y Rittmann, 2002].

### 2.5.1 Mecanismos de Síntesis de biopelícula

A pesar de que los mecanismos de síntesis de EPS en la formación de biopelículas son poco claros, se sabe que es un proceso de desarrollo, una bacteria cambia de un estilo de vida unicelular nómada o un estado multicelular sedentario donde el crecimiento subsecuente resulta en comunidades estructuradas y de diferenciación celular. El modelo hipotético de desarrollo para una biopelícula se basa

en dos tipos de vida unicelular, las bacterias *no motiles* (sin movimiento) y las *motiles* (con movimiento) [Lemon et al., 2008].

Las especies *no motiles*, cuando las condiciones son propicias para la formación de una biopelícula (**Figura 4**), comienzan a incrementar la expresión de *adhesinas* (proteínas que permite que se adhieran) sobre su superficie, es decir, incrementan su “pegajosidad”. Esta característica promueve la adherencia célula-célula, cuando existe una superficie para desarrollarse. Existen otras proteínas como la *Bap*<sup>ii</sup> que promueve la interacción celular y contribuye a la formación de la matriz extracelular. Así mismo estas especies producen polisacáridos extracelulares que forman parte de la matriz de EPS [Lemon et al., 2008].



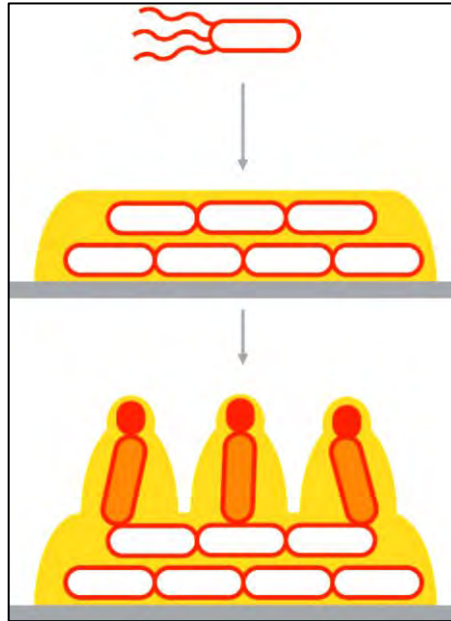
**Figura 4.** Modelo general para la formación de bacterias no motiles.

Las líneas gruesas grises representan las superficies. (Panel superior) Para iniciar la formación de células no motiles las células incrementan la expresión de adhesinas. (Panel inferior) Se muestra el resultado de la adhesión a la superficie, donde las células están embebidas en una matriz formando una biopelícula [Tomado de *Bacterial biofilms: A general model for biofilm development* de Lemon et al., 2008].

Las especies *motiles*, cuando están en condiciones de formar una biopelícula, se localizan en una superficie, pierden su motilidad y comienzan a producir la matriz extracelular que las mantiene juntas (**Figura 5**) [Lemon et al., 2008]. Se ha visto también que especies motiles que han sido modificadas genéticamente inmovilizando

<sup>ii</sup> *Biofilm associated protein*, que se ha encontrado en la formación de biopelículas de *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus* [Lemon et al., 2008; Tormo et al., 2002]

los flagelos, son incapaces de formar biopelícula, sin poder siquiera adherirse a una superficie; por lo que se piensa que los flagelos ayudan a adherirse a la superficie y una vez iniciada la adhesión segregan EPS y se van adhiriendo más células que al estar unidas entre sí, pierden su motilidad [Lemon *et al.*, 2007].



**Figura 5.** Modelo general para la formación de biopelícula por bacterias motiles.

Las líneas gruesas grises representan las superficies. (Panel superior) Motiles, transición de células planctónicas a no motiles, producción de matriz, y células adheridas a una superficie en forma de biopelícula. (Panel inferior) Subsiguiente, células diferenciadas en la biopelícula.

Entre los factores ambientales favorables para la formación de una biopelícula (presencia de una superficie, agentes biocidas y oxidantes, etc.) y las respuestas fisiológicas (secreción de proteínas y carbohidratos) están los mecanismos moleculares involucrados. La formación de una biopelícula puede dividirse en cinco etapas genéticamente distintas:

1. Adherencia inicial a una superficie
2. Formación de una monocapa
3. Migración a una forma de multicapas de colonias
4. Producción de la matriz extracelular
5. Maduración de la biopelícula con arquitectura característica de tres dimensiones.

La producción de las EPS se encuentra en todas las etapas después de la adhesión inicial a la superficie [Lemon *et al.*, 2008].



Se ha encontrado, en las gama proteobacterias, que la respuesta a factores ambientales está regulada por el factor sigma RpoS ( $\sigma^{32}$ ,  $\sigma^S$ ). A *grosso modo*, RpoS interviene en las respuestas a las condiciones físicas, químicas y biológicas del ambiente que resultan en un cambio de crecimiento máximo a un crecimiento reducido o incluso en un nivel de mantenimiento de metabolismo (es decir, no hay crecimiento celular). Esto se induce por condiciones ambientales de estrés como estrés oxidativo, radiación UV cercana, choques de calor, hiperosmolaridad (altas concentraciones de sales), pH ácido y tratamiento con etanol, etc. Las deficiencias en nutrientes como fósforo y amonio, la acumulación de metabolitos y altas densidades celulares también inducen fuertemente a la respuesta del estrés general dependiente de RpoS. La expresión de este factor incrementa la resistencia de las células hacia antibióticos y otros biocidas, regulando el crecimiento celular ya que puede reducir el crecimiento de un máximo a mínimo e incluso hasta provocar metabolismo de mantenimiento celular [Spormann, 2008].

Se ha visto también que el factor RpoS provoca altas densidades celulares y que la carencia de este puede limitar la formación de la biopelícula [Mah y O' Toole, 2001]. Lo cual describe al factor RpoS como una proteína que tiene la capacidad de inducir la formación de biopelículas y que además puede regular el crecimiento celular en condiciones de estrés.

De manera general, la formación de una biopelícula como la resistencia a los biocidas depende de respuestas reguladas por factores externos y metabólicos (expresión de proteínas, polisacáridos, etc.).

### 2.5.2 Mecanismos de resistencia hacia los biocidas en las biopelículas

Cuando se trabaja con sustancias utilizadas como biocidas en tratamientos de desinfección de agua (ozono) y como conservador o antiséptico de pinturas y tejidos orgánicos (formaldehído), resulta importante conocer los mecanismos de resistencia hacia los biocidas. Los microorganismos desarrollados en biopelículas tienen mayor tolerancia a los biocidas, entre 10 y 1000 veces más, que las células planctónicas (vida de forma libre) [Mah y O'Toole, 2001].

Entre los mecanismos de resistencia de las biopelículas hacia factores ambientales adversos, como la presencia de biocidas y agentes oxidantes, está la secreción de EPS, la cual actúa como barrera protectora *limitando la difusión* del biocida (no aplica para todas las moléculas, algunas muy pequeñas pueden atravesar esta barrera) hacia el interior de la biopelícula o *reaccionando* con los biocidas oxidantes, cloro y ozono. En ambos casos se forma un gradiente de concentración hacia el interior de la matriz de EPS [Mah y O'Toole, 2001]. Por otro lado, se ha observado que la tolerancia contra el peróxido de hidrógeno (otro biocida) frecuentemente está

acompañado de un incremento en la actividad de la catalasa [Morton *et al.*, 1998]. Por otro lado, Wang *et al.* (2009) reportaron mejoramiento en el desempeño de un biofiltro que trata *o-clorobenceno* por la presencia de ozono, aunque no atribuido a una enzima. Sin embargo, se estimó el parámetro *average well color development (AWCD)*, con Biolog<sup>®</sup> ECO-microplates, relacionado con la actividad metabólica del consorcio, el cual incrementó con los aumentos en la concentración de ozono en su estudio, lo cual es una contribución en el mejoramiento del desempeño del biofiltro. Es importante mencionar que en este estudio se hicieron más conclusiones respecto a cómo el ozono mejoró el desempeño del biofiltro, más adelante se hace referencia a ello.

Otro mecanismo de resistencia está regulado por la expresión del factor RpoS, con el cual se disminuye o se hace cero la tasa de crecimiento, permitiendo que las células utilicen energía sólo para el metabolismo de mantenimiento. Otro mecanismo de resistencia que regula la expresión de las proteínas de membranas, *porinas*, cambiando la composición de la membrana, debido a la mutación del *OmpB* (regulador de los genes que codifican para las proteínas de membrana, *porinas OmpF* y *OmpC*). Otro mecanismo es la reacción del biocida con las enzimas secretadas por las bacterias. Finalmente, la naturaleza heterogénea de una biopelícula permite la formación de una población celular abundante, en la cual diversas especies pueden expresar diferentes niveles de resistencia [Mah y O'Toole, 2001].

## 2.6 Ozono

El ozono es un alótropo del oxígeno, de olor acre característico, es una molécula compuesta de tres átomos de oxígeno. Bajo condiciones normales es gaseoso (temperatura de ebullición=  $-119^{\circ}\text{C}$ ; temperatura crítica=  $-12.0^{\circ}\text{C}$ ) con un color azul pálido. Es bastante inestable, por eso casi siempre se encuentra en una mezcla de oxígeno y ozono. La inestabilidad del ozono se refleja en la energía libre de Gibbs de formación alta y positiva,  $\Delta G_f^{\circ} = 163.14 \text{ kJmol}^{-1}$ . Como resultado de su inestabilidad, la molécula es muy reactiva, teniendo un potencial alto de reducción de 2.07 V bajo condiciones ácidas y 1.24 V bajo condiciones básicas. Otra característica adicional es su baja solubilidad en agua, aunque el ozono es 3.3 veces más soluble que el oxígeno. A  $20^{\circ}\text{C}$  y 1 atm el oxígeno tiene solubilidad de  $9.09 \text{ mgL}^{-1}$  (YSI, 2013), mientras que el ozono tiene solubilidad de  $30.1 \text{ mgL}^{-1}$  [Marc A. Boncz, 2002]. Sin embargo, su solubilidad tiene que ser considerada en relación con la reactividad alta del ozono, es decir a pesar de su alta solubilidad respecto al oxígeno, su vida media en el agua es corta, 20 minutos [AO, 2013] Como resultado, la transferencia de masa puede tener un rol importante en la cinética de los procesos de oxidación del ozono [Boncz, 2002].

Por su alta reactividad, el ozono es un compuesto químico que en ciertas concentraciones puede causar la muerte de algunos microorganismos. Se utiliza como desinfectante en aguas y gases. Por otro lado ha sido usado en biofiltración para incrementar la biodegradabilidad de compuestos recalcitrantes como el o-clorobenceno y o-xileno [Wang et al., 2009; Moussavi y Mohseni, 2007].

### 2.6.1 Concentraciones utilizadas en la desinfección de aguas residuales

Las concentraciones típicas en el tratamiento de aguas residuales, para la desinfección son de 0.1 mgL<sup>-1</sup> hasta 10 mgL<sup>-1</sup>, aunque pueden alcanzarse mayores concentraciones. El ozono también puede utilizarse para disminuir la formación de lodos activados, donde pueden tenerse concentraciones óptimas de hasta 50 mg de ozono por gramo de sólidos [Zhang et al., 2009].

Las concentraciones de ozono usadas en biofiltración para tratamiento de gases son muy bajas (ver Apéndice D ), en comparación con las concentraciones utilizadas en aguas residuales para la desinfección. Wang et al. (2009) reportan no haber rebasado los 140 mgm<sup>-3</sup> (662.2 ppm<sub>v</sub>).

### 2.6.2 Reacciones de ozono con COV

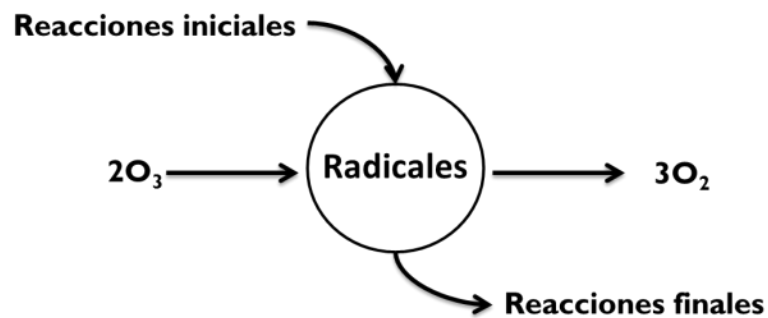
La oxidación del ozono involucra varios radicales libres generados por las reacciones iniciales y removidos por las reacciones de terminación. Para que se lleven a cabo es necesario que estén presentes algunos radicales. En las siguientes reacciones iniciales se muestra la descomposición del ozono con dos radicales importantes:



Las reacciones de descomposición con OH<sup>-</sup> y HOO<sup>-</sup> empiezan con el ataque de uno de estos aniones sobre la molécula de ozono (reacciones R1 y R2) dando como resultado dos radicales intermediarios, el radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) y el anión radical ozónido (O<sub>3</sub><sup>·-</sup>) De estas dos reacciones R2es mucho más rápida que R1, como se observa en sus velocidades de reacción. Es por esta razón que a pesar de las abundancias de las especies la reacción que inicia el proceso de oxidación es R2 [Bonz, 2002].

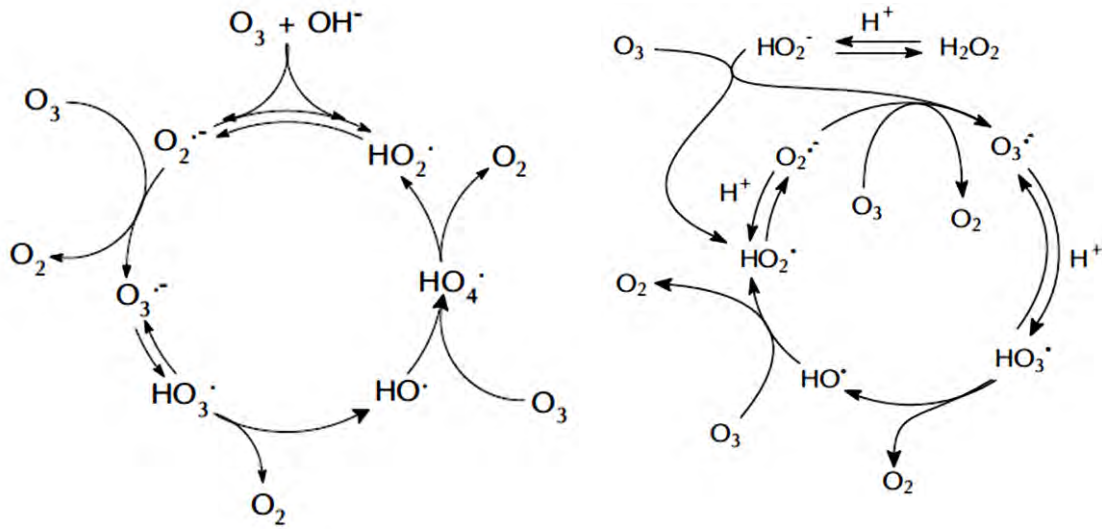
Después de la primera reacción de descomposición una secuencia de reacciones complejas se lleva a cabo para la conversión final del ozono hacia oxígeno molecular (**Figura 6**). Los intermediarios más importantes son el radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) y el radical hidroxilo (OH<sup>•</sup>). La secuencia de reacciones parece bastante

complicada, pero en general el mecanismo de la descomposición de ozono es fácil de entender cuando se ve en un diagrama cíclico (**Figura 7** y **Figura 8**) [Bonz, 2002].

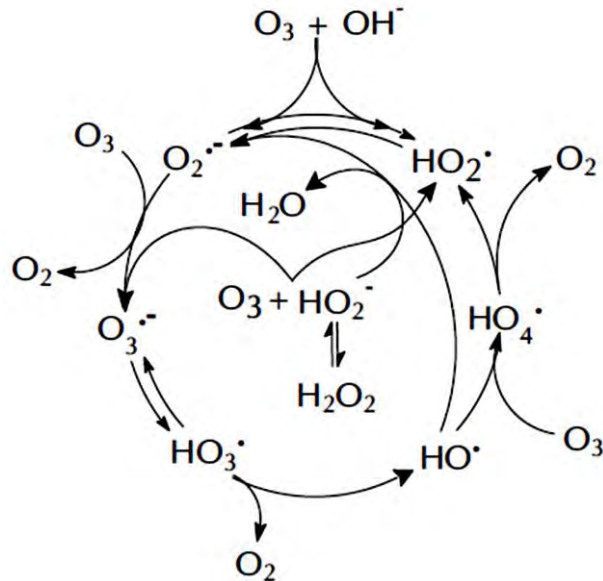


**Figura 6.** Representación simplificada de la descomposición del ozono de la Figura 7 [Bonz, 2002].

La reacción ( $2O_3 \rightarrow 3O_2$ ) solo se lleva a cabo cuando los radicales están presentes, se generan por las reacciones de iniciación (R1 y R2) y son removidas por las reacciones de terminación. Los radicales encontrados como intermediarios en la descomposición de ozono son muy reactivos y desempeñan un papel importante como oxidantes secundarios que pueden ser responsables de una gran parte de la degradación de compuestos orgánicos observados en los procesos de oxidación del ozono [Bonz, 2002].



**Figura 7.** Esquema para la descomposición de ozono iniciada por  $\text{OH}^-$  (izquierda) e iniciada por  $\text{HOO}^-$  (derecha). En ambos esquemas cada flecha es una reacción y las flechas dobles indican equilibrio (Tomado de *Selective Oxidation of Organic Compounds in waste water by ozone-based oxidation processes* de Marc Á. Boncz, 2002).



**Figura 8.** Esquema de las reacciones que incorpora ambas rutas de descomposición  $\text{OH}^-$  y  $\text{HOO}^-$  (Tomado de “*Selective oxidation of organic compounds in waste water by ozone- based oxidation processes*” de Marc Á. Boncz, 2002).

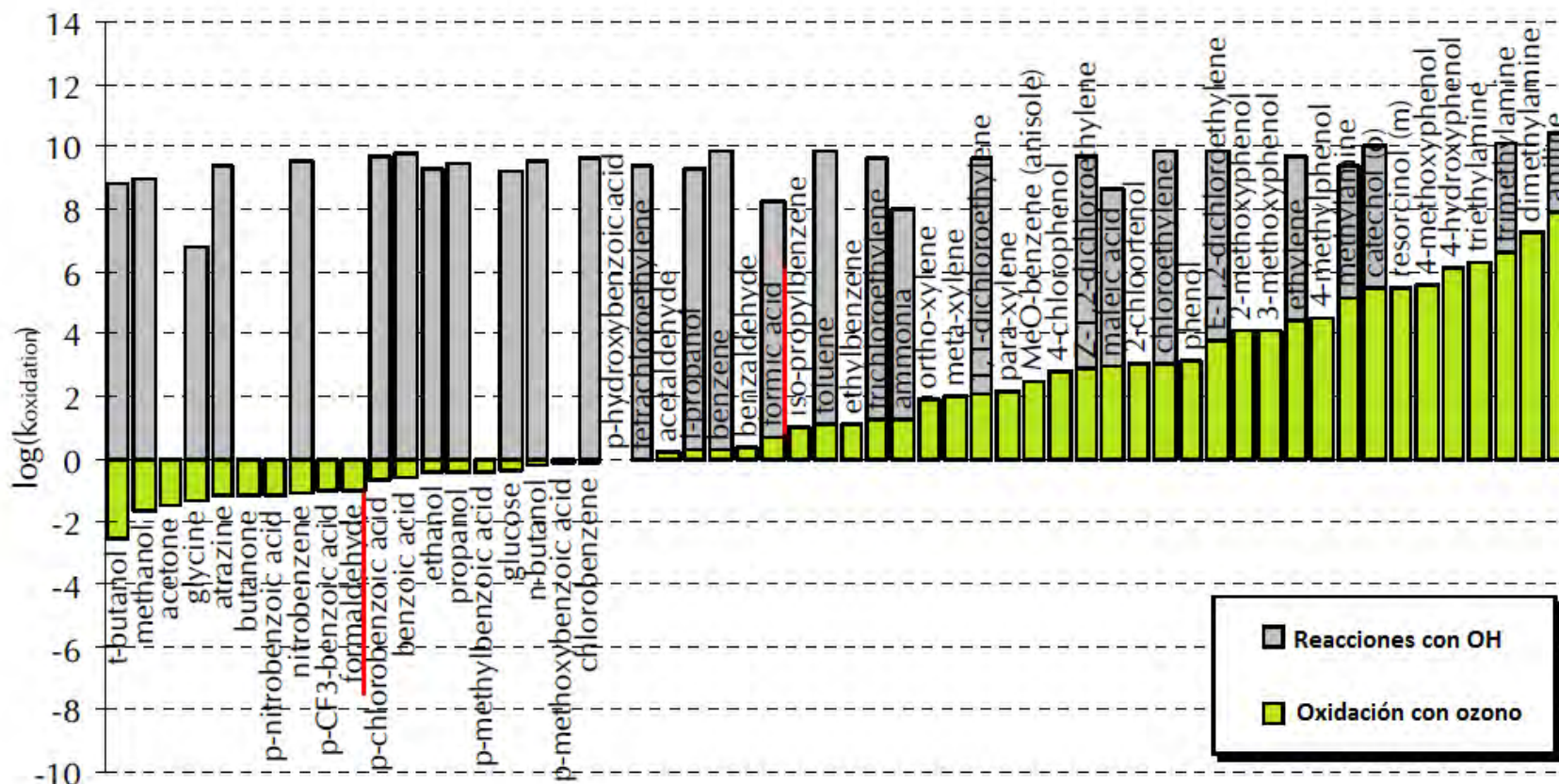
En general las concentraciones de los radicales son bajas (menores a  $10^{-12}$  M), pero sus velocidades de reacción con los compuestos orgánicos son muy altas, lo que

hace significativa la contribución en la oxidación total de compuestos orgánicos. Los radicales formados como oxidantes secundarios, el radical hidroxilo ( $\text{HO}^\bullet$ ) y también el radical anión superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) son muy reactivos pero no muy específicos [Bonz, 2002].

Como se ha visto los radicales libres que se forman en la descomposición del ozono, casi siempre intervienen en los procesos de oxidación. Los radicales más importantes que se encuentran en una solución que contiene ozono son el radical hidroxilo ( $\text{HO}^\bullet$ ), el radical superóxido y el radical hidroperoxil ( $\text{HO}_2^\bullet$ ). El ozono es el oxidante más selectivo (tres órdenes de magnitud entre las velocidades de reacción para la reacción más lenta y la más rápida) y el  $\text{O}^{\bullet-}$  y el  $\text{HO}^\bullet$  los menos selectivos. Las velocidades de reacción de los compuestos orgánicos con estos radicales varía sólo un orden de magnitud [Bonz, 2002].

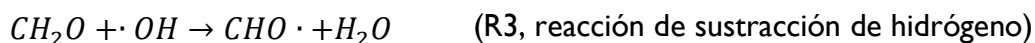
En un reactor con ozono que contiene compuestos orgánicos pueden suceder dos tipos de reacciones, las que reaccionan con el ozono y las que reaccionan con los radicales libres. La ocurrencia depende de la especie (compuesto orgánico). En la **Figura 9** se ven las velocidades de reacción de 55 compuestos orgánicos con el ozono y con radical hidroxilo en agua, con la cual se hace notar que los alcoholes alifáticos y los ácidos casi no muestran reactividad, como tampoco los ácidos aromáticos. En cambio los fenoles y las aminas (aromáticos y no aromáticos) reaccionan con el ozono a velocidades muy altas y lo hacen de forma directa, no mediante radicales [Bonz, 2002].

En esta misma figura se ve que el formaldehído tiene una velocidad de reacción baja con el ozono y no muestra reactividad con el hidroxilo. Asimismo, el ácido fórmico (subproducto metabólico del formaldehído) tiene una velocidad de reacción con el ozono más alta y aún mayor con el radical hidroxilo que la reacción con el formaldehído.

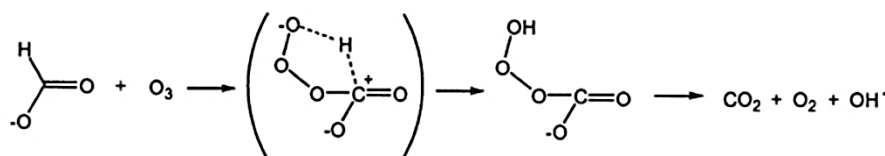


**Figura 9.** Velocidades de reacción de primer orden para reacciones de 55 compuestos orgánicos con el ozono y con el radical hidroxilo. El formaldehído y el ácido fórmico se señalan con una línea roja (Tomado de “*Selective oxidation of organic compounds in waste water by ozone-based oxidation processes*” de Marc Á. Boncz, 2002)

La **Figura 9** muestra que el formaldehído no reacciona con el radical hidroxilo y que la velocidad de reacción con el ozono es baja. Pero también hay reportes que indican que el formaldehído si puede reaccionar con el radical hidroxilo a través de dos reacciones, mediante la sustracción de un átomo de hidrógeno y la subsecuente formación de una molécula de agua y el radical formil (R3); o la adición de un radical OH al doble enlace C=O, con la formación de H<sub>2</sub>C(OH)O• radical alcoxy (R4). Para estas reacciones los parámetros de Arrhenius indican que la energía de activación es muy pequeña, casi cercana a cero. Lo cual quiere decir que no se necesita mucha energía para que se lleven a cabo, por lo que son factibles, independientemente de su temperatura bajo presión atmosférica [Iuga et al., 2008]



Por otro lado, en la asimilación del formaldehído se encuentra el ácido fórmico como intermediario, el cual tiene una velocidad de reacción alta con el ozono y aún mayor con el radical hidroxilo. En la **Figura 10** se muestra una reacción de la forma disociada del ácido fórmico (ion formiato) que reacciona con el ozono.



**Figura 10.** Reacción del formiato con el ozono (Tomada de *Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation* de Gunten U., 2003)

El formiato es una excepción respecto a la reacción con el ozono, ya que tiene una cinética de segundo orden con una constante de velocidad de 140 M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>. La oxidación del formiato con el ozono ocurre insertando una molécula de ozono, lo cual desencadena las reacciones hacia la formación de CO<sub>2</sub>, oxígeno molecular y iones hidroxilo [Gunten, 2013].

### 2.6.2 El ozono como alternativa para mejorar el desempeño de un biofiltro

Algunos estudios ya han visto que la adición de ozono favorece el desempeño de un biofiltro, ya que produce la oxidación de la superficie de los EPS y así provoca el desprendimiento de éstos de la biopelícula haciéndola más delgada, incrementando el área superficial en el lecho del biofiltro, lo cual favorece la difusión de nutrientes, oxígeno y contaminantes al interior de la biopelícula. Dado que esta aplicación de ozono es nueva no hay muchos estudios acerca de los efectos que produce este



compuesto sobre la biopelícula además del potencial que tiene en mejorar el rendimiento de los biofiltros evitando el taponamiento de estos [Wang *et al.*, 2009].

En un estudio de Moussavi y Mohseni (2007) se estudió una mezcla de tolueno y o-xileno, dos compuestos hidrofóbicos, la cual tuvo un pretratamiento con irradiación de luz UV en un rango de 185-254 nm. En este intervalo de longitud de onda, una corriente gaseosa que contiene oxígeno ( $O_2$ ) provocará la hibridación de la molécula formando ozono ( $O_3$ ). Observaron que un biofiltro acoplado a luz UV en dos semanas alcanzó el estado estable con ER de 100%, mientras que el biofiltro de referencia (sin luz UV) tardó 25 días con una ER menor a 80%. Sumado a esto se destaca un efecto sinérgico del biofiltro acoplado a luz UV, ya que mostró mayores eficiencias de remoción (90%) que la suma del biofiltro de referencia (ER= 45%) y la fotólisis UV de los contaminantes (ER=17%).

La irradiación de la corriente gaseosa de tolueno y o-xileno produce moléculas más pequeñas y solubles como el formaldehído y el acetaldehído. Asimismo, Moussavi y Mohseni (2007) explican que el ozono pudo mejorar el desempeño del biofiltro en dos formas, al reaccionar con los contaminantes (tolueno y el o-xileno) a lo largo del biofiltro y al controlar el crecimiento de biomasa, por la función biocida del ozono, sobre los microorganismos. Además regula el contenido de humedad en la biopelícula, permitiendo una mayor asimilación del tolueno y o-xileno que son hidrofóbicos. Moussavi y Mohseni (2007) concluyeron que el ozono fue el factor principal que ayudó a controlar la biomasa y por lo tanto, previno el incremento de la caída de presión.

La biodegradabilidad de un compuesto puede ser evaluada con la relación  $DBO_5/DQO$ . Poznyak y Araiza (2005) evaluaron el incremento en la biodegradabilidad del fenol y naftaleno. Para estos compuestos la relación incrementó después de exponerse al ozono. Para el fenol la fracción  $DB_5/DQO$  incrementó de 0.57 a 0.88, para el ácido sulfónico p-fenol (pPSA) de 0.29 a 0.63, y para el 2-ácido sulfónico naftaleno (2-NSA) de 0.15 a 0.72. Como se ve el incremento en la biodegradabilidad depende del compuesto expuesto al ozono [Poznyak y Araiza, 2005]. A manera de resumen, el ozono puede mejorar el desempeño de un biofiltro de varias formas:

- i. El ozono y, o sus radicales de descomposición pueden reaccionar con el contaminante (**Figura 9**) produciendo compuestos con estructuras de enlace químico más sencillas y, o provocar la oxidación del contaminante produciendo así especies más solubles y de mayor biodegradabilidad [Boncz, 2002; Poznyak y Araiza, 2005; Moussavi y Mohseni 2007; Wang *et al.*, 2009].

- ii. El ozono y, o sus radicales pueden reaccionar con las EPS, oxidándolas y provocando el desprendimiento de estas, formando una biopelícula más superficial sin limitación difusiva [Moussavi y Mohseni, 2007; Wang *et al.*, 2009].
- iii. Para la degradación de formaldehído en un proceso híbrido basado en oxidación química con ozono y biofiltración, ayudó a mantener el pH óptimo del sistema [García-Pérez, 2012].

### 3. JUSTIFICACIÓN

Los estudios de la biofiltración de formaldehído en periodos largos de operación y a altas cargas de formaldehído son escasos con y sin adición de ozono. En ausencia de ozono como ya se mencionó, se encuentran los trabajos reportados por Prado *et al.*, (2004, 2006 y 2008) aplicados a bajas concentraciones de formaldehído (FA) y en los cuales no se observó la estabilidad del sistema por periodos largos de operación debido a colapsos en el sistema por la acidificación repentina del lecho filtrante. En presencia de pulsos de ozono se encuentra el trabajo previo de García-Pérez (2012), que reporta la biofiltración de FA por 300 días de operación y con una capacidad de eliminación máxima de  $72 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  aplicando una concentración máxima de  $1.2 \text{ gm}^{-3}$  (978 ppm<sub>v</sub>).

Sin embargo, es necesario estudiar la estabilidad del sistema de biofiltración aplicando mayores concentraciones de FA y por largos periodos de operación para conocer la robustez de estos sistemas biológicos con el objetivo futuro de hacer los sistemas de biofiltración más competitivos con otros sistemas de tratamiento y poder escalarlos.

### 4. HIPÓTESIS

La adición continua de ozono en un biofiltro regulará el espesor de la biopelícula, mejorará la capacidad metabólica de consumo de formaldehído y mantendrá el pH en un nivel óptimo, lo cual permitirá tratar altas concentraciones de formaldehído.

### 5. OBJETIVOS

#### 5.1 General

Estudiar el desempeño del biofiltro bajo diferentes condiciones de operación incrementando en cada condición la concentración de formaldehído, manteniendo la adición continua de una concentración baja de ozono y demostrar que el desempeño del sistema se mantiene estable a través del tiempo para cada condición.

#### 5.2 Específicos

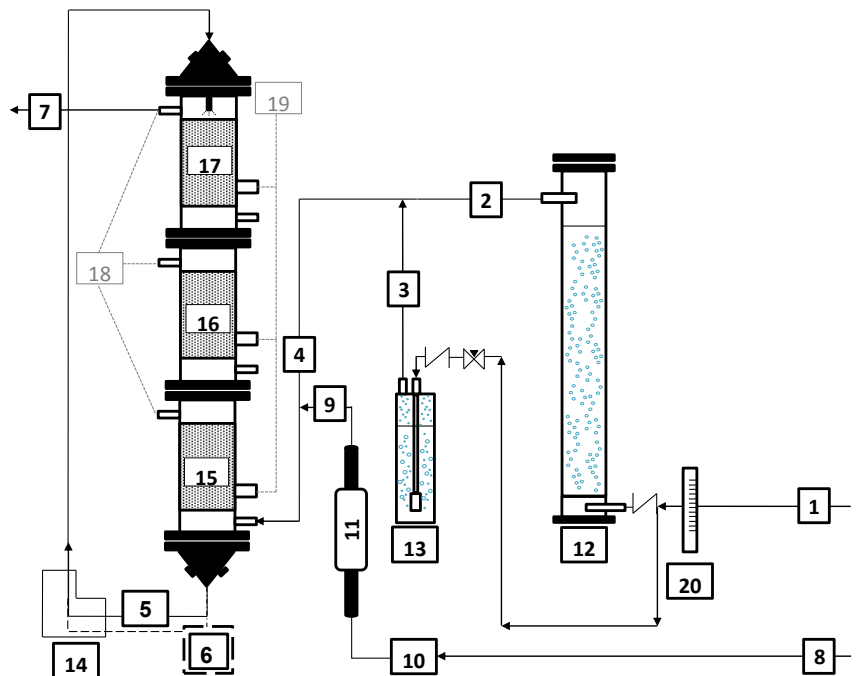
- i. Determinar el desempeño del biofiltro sin ozono y con ozono incrementando la carga de formaldehído.
- ii. Estudiar el efecto de la adición de ozono e incrementos en la concentración de formaldehído sobre el espesor de biopelícula.
- iii. Cuantificar la capacidad metabólica del consorcio para la biodegradación de formaldehído con y sin adición de ozono.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Biofiltro

Se montó un biofiltro de vidrio con un volumen total de lecho de 3.3 L, dividido en 3 módulos idénticos (1.1 L) de 0.097m de diámetro y 0.450m de altura cada uno, unidos entre sí mediante una brida (**Figura 11**).

El ozono se produjo en un generador de ozono UVP® lamp (SOF-I P/N 97-0066-01) utilizando una corriente de flujo de 500 mL min<sup>-1</sup>, fijando la concentración a 90 ppb<sub>v</sub>. Las corrientes de formaldehído y ozono fueron combinadas antes de entrar al reactor, con  $125 \times 10^{-3}$ s de tiempo de contacto. El tiempo de residencia de lecho vacío<sup>iii</sup> se fijó en 72 s.



**Figura 11.** Esquema del sistema de biofiltración.

1. Aire seco, 2. Aire Húmedo, 3. Formaldehído gaseoso (FA<sub>g</sub>), 4. FA<sub>g</sub> y Aire seco, 5. Medio mineral, 6. Lixiviados, 7. Salida, 8. Aire seco, 9. Ozono, 10. Medidor de flujo másico, 11. Generador de ozono, 12 Humidificador, 13. Saturador de formaldehído, 14. Bomba peristáltica, 15. Módulo 1, 16. Módulo 2, 17. Módulo 3, 18. Puertos de muestreo de gases, 19. Puertos de muestreo de biomasa, 20. Rotámetro.

<sup>iii</sup> El tiempo de residencia de lecho vacío es el tiempo de retención del biorreactor, es un término propio de la biofiltración, para mayor descripción véase el glosario.

## 6.2 Caracterización del soporte

Se utilizó perlita (Multiperl®, Grupo Perlita de la Laguna, S. A. de C. V.) tamizada a 3.35 mm. Para la determinación de la densidad aparente, capacidad de retención de agua y fracción vacía (**Tabla 4**), se utilizó una probeta de 100 ml. Las determinaciones se hicieron por triplicado.

**Tabla 4.** Parámetros utilizados en la caracterización del soporte

Parámetro y Ecuación	Unidades	Especificaciones
Densidad aparente $\rho_{aparente} = \frac{w_s}{V_p}$	g mL <sup>-1</sup>	w <sub>s</sub> = peso del soporte (perlita) en g. V <sub>p</sub> = volumen de la probeta en mL.
Capacidad de retención de agua (CRA) $CRA = \frac{w_{sh} - w_{ss}}{w_t} \times 100$	%	w <sub>ss</sub> = peso del soporte seco en g. w <sub>sh</sub> = peso del soporte húmedo en g. w <sub>ss</sub> -w <sub>sh</sub> = peso del agua retenida en g. w <sub>t</sub> = w <sub>sh</sub> = peso total en g.
Espacio vacío(ε) $\epsilon = \frac{V_{H_2O}}{V_p} \times 100$	%	V <sub>H<sub>2</sub>O</sub> = Volumen del agua agregada en mL. V <sub>p</sub> = volumen de la probeta en mL.

En la determinación de la densidad aparente se taró una probeta de 100 mL y se llenó con perlita, se compactó el volumen dando tres golpes en la parte inferior de la probeta y se colocó nuevamente más perlita hasta que se ocuparon los 100 ml. Se pesó la perlita que ocupó este volumen. Se hizo el mismo procedimiento en las tres repeticiones. El cálculo consistió en dividir el peso seco de la perlita entre 100 mL (volumen llenado en la probeta).

La fracción de lecho vacío se determinó utilizando las tres probetas preparadas para calcular la densidad aparente y se colocó un volumen de agua con una pipeta graduada hasta cubrir la perlita, es decir hasta el límite de 100ml de cada probeta y se anotó el volumen de agua que se puso en cada probeta de forma inmediata para evitar que el agua se absorbiera en la perlita. La suposición es que el agua ocupa el espacio vacío entre las partículas de perlita, sin considerar los poros del material. El cálculo consistió en dividir el volumen de agua agregado a una probeta que contenía 100 mL de perlita, dividirla entre este volumen y multiplicarla por 100 para calcular el porcentaje de la parte vacía sobre el volumen total que ocupa la perlita.

La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó con las probetas utilizadas para cuantificar la fracción de lecho vacío. Se conoce ya el peso seco de la perlita contenida en las probetas de 100 mL. Se colocó la perlita en tres vasos de 1000

mL lleno de agua para cada probeta y se dejaron toda la noche. Se escurrió toda el agua y se pesó la perlita mojada. La CRA es el porcentaje de agua que hay en la perlita húmeda. Se divide el peso del agua absorbida, se divide entre el peso total y se multiplica por 100.

### 6.3 Inóculo y medio mineral

La perlita se inoculó con lixiviados de un biofiltro que degradaba formaldehído [García-Pérez, 2012], la concentración inicial de biomasa fue 51.6 mg SSV L<sup>-1</sup>. Los lixiviados del biofiltro se descongelaron<sup>iv</sup> y se pusieron en una botella serológica a temperatura ambiente y 100 rpm, se agregaron 3 µL de formaldehído líquido y 10 mL de medio mineral de Galindo (2012) modificado (García-Pérez, 2012) ajustado a pH 7 (**Tabla 5**) cada tercer día durante una semana. Se calculó el volumen mínimo que la perlita puede absorber, se vació sobre la perlita y se mezcló manualmente utilizando guantes. Esta operación se hizo fuera del reactor. Después se empacó el biofiltro con la perlita inoculada.

**Tabla 5.** Composición del medio mineral

Compuesto	gL <sup>-1</sup>
NaNO <sub>3</sub>	18
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.3
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.38
CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25
*CaCl <sub>2</sub>	0.055
*FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.015
*MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.012
*ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.013
*CuSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.0023
*CoCl <sub>2</sub> ·6 H <sub>2</sub> O	0.0015
*H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.0015

\*Elementos traza

<sup>iv</sup> El congelamiento y descongelamiento lento de células no protegidas (sin fijar) produce que los cristales formados en un congelamiento lento rompan las paredes celulares (ver la sección de sugerencias).

Se alimentaron 100 mL de medio mineral nuevo (**Tabla 5**), cada 4 días desde la parte superior del biofiltro a una velocidad de flujo de  $10.6 \text{ mLmin}^{-1}$  y recirculado durante 30 minutos. Prado *et al.* (2002) hicieron un estudio sobre la optimización del suministro de la solución nutriente en el cual alimentaron 2L de solución durante 30 minutos, cada cuatro noches un biofiltro de 4.4 L empacado con perlita en el cual obtuvieron altas eficiencias de remoción de tolueno. Sin embargo, argumentan que el suministro puede ser una vez a la semana y sería suficiente para mantener la humedad del lecho.

El volumen del medio mineral suministrado tuvo como objetivo mantener la humedad del lecho y proveer nutrientes. La recirculación a una baja velocidad tuvo como objetivo promover la diversificación microbiana a lo largo del biofiltro. Se calculó un mínimo de tres ciclos de los 100 ml de medio mineral fresco a la velocidad de flujo operada.

La velocidad de flujo con la que se operó en este trabajo ( $10.6 \text{ mLmin}^{-1}$ ) quedó determinada por la mínima velocidad de flujo con que la bomba utilizada pudo operar. La velocidad de flujo fue muy baja con el objetivo de no ejercer esfuerzo contante sobre la biopelícula, lo que provocaría su desprendimiento.

Después de haber recirculado 100 mL de medio mineral fresco durante 30 minutos, se dejó lixiviar 10 minutos y se recuperó el lixiviado; se hicieron titulaciones con HCl 0.01 N para determinar la alcalinidad. Se midió el pH del lixiviado y se hicieron cuantificaciones de carbono orgánico total (COT), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y formaldehído (Sección 6.6).

## 6.4 Descripción experimental

El experimento se dividió en dos partes. En la primera se evaluaron cargas de formaldehído desde 20 hasta 40  $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  sin adición de ozono, en un período de 105 días; en la segunda etapa se adicionaron 90 ppbv de ozono de forma continua. La estabilidad del biofiltro se evaluó en un largo periodo de operación (127 días) con 40  $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  de carga y concentración de entrada de  $0.9 \pm 0.1$  (734ppm<sub>v</sub>) Después de este tiempo se probaron tres cargas de formaldehído, 70, 90 y 120  $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  con la misma concentración de ozono por periodos de 27, 23 y 23 días respectivamente (**Tabla 6**).

**Tabla 6.** Condiciones de las etapas operacionales del biofiltro.

Parte	Etapas	Periodo (d)	[Ozono] (ppbv)	[FA] <sup>1</sup> $\text{gm}^{-3}$ (ppm <sub>v</sub> )	Carga <sup>1</sup> ( $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ )
1	1	0-42	0	0.8 ± 0.2 (652)	39.5 ± 11.5
	2a	43-70	0	0.6 ± 0.4 (489)	28.0 ± 18
	2b	71-90	0	0.7 ± 0.1 (570)	33.1 ± 3.9
	2c	91-105	0	0.8 ± 0.1 (652)	40.7 ± 6.4
	2d	106	0	0.5 (407)	23.4
2	3	107-234	90	0.9 ± 0.1 (734)	43.7 ± 4.3
	4	235-262	90	1.4 ± 0.04 (1141)	69.2 ± 1.9
	5	263-286	90	1.8 ± 0.1 (1467)	89.4 ± 3.4
	6	287-301	90	2.4 ± 0.1 (1956)	121.9 ± 4.6

FA, formaldehído; <sup>1</sup>Valor promedio ± Desviación estándar.

## 6.5 Evaluación del desempeño global y longitudinal del biofiltro

El desempeño del biofiltro se evaluó con los parámetros comunes de capacidad de eliminación (CE), eficiencia de remoción (ER) y carga descritos en la **Tabla 7**. Se utilizaron los datos obtenidos en la entrada del biofiltro: corriente 4 en la parte 1 y corriente (4+9) justo antes de entrar al biofiltro en la parte 2; y en la salida: corriente 7 del biofiltro (ver **Figura 11**).

La evaluación del desempeño longitudinal del biofiltro se hizo con las lecturas de formaldehído y CO<sub>2</sub> en los puertos de muestreo de gases (18) para cada módulo (15, 16 y 17, ver **Figura 11**). Es decir, para el módulo 1 (M1) se tomó muestra en la entrada (descrita en el párrafo anterior) y en la salida del M1 (en 18 al final del M1). La corriente de salida (18) del M1 es la entrada del módulo 2 (M2); la salida 18 del M2 es la entrada del módulo 3 (M3); la salida del M3 es la corriente 7. Los cálculos de los parámetros de desempeño por módulo se hicieron con las mismas ecuaciones descritas en la **Tabla 7**, con algunas restricciones matemáticas.



**Tabla 7.** Parámetros utilizados en la evaluación del desempeño del biofiltro.

Parámetro	Definición	Unidades
Carga (L)	$L = \frac{Q \cdot C}{V}$	g FA m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>
Capacidad de eliminación (CE)	$CE = \frac{Q \cdot (C_I - C_O)}{V}$	g FA m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>
Eficiencia de remoción global (ER)	$ER = \frac{C_I - C_O}{C_I} \cdot 100$	%

FA, formaldehído; Q, Flujo de aire; V, Volumen del lecho; C, Concentración de formaldehído; I, entrada; O, salida.

El muestreo se hizo de arriba hacia abajo en el orden siguiente: corriente 7 (18 en el M3), 18 en el M2, 18 en el M1 y en la entrada (4 en la parte 1) y en la parte 2 en la corriente 4 antes de conectarse con 9 y en la corriente de entrada 4+9 justo antes de entrar al biofiltro. La concentración de CO<sub>2</sub> se monitoreó en los mismos puertos, excepto en la unión de formaldehído (4) y ozono (9, véase la **Figura 11**).

La oxidación de formaldehído por reacción con ozono se monitoreó con los datos de la corriente 4 y la corriente 4+9 justo antes de entrar al biofiltro (**Figura 11**) y se calculó el porcentaje de oxidación en la corriente 4+9.

## 6.6 Métodos Analíticos

### 6.6.1 Fase gaseosa

Se tomaron muestras de entrada y salida del biofiltro de cada módulo por duplicado, al menos 5 días a la semana hasta alcanzar el estado estable de la etapa en desarrollo. Una vez alcanzado el estado estable se monitoreó cada tercer día. La muestra se tomó con un bulbo de vidrio de 500 mL especial para la toma de muestras gaseosas.

Con objetivo de cuantificar el formaldehído se hicieron inyecciones por duplicado de cada muestra. Se obtuvo un total de cuatro muestras compuestas por módulo, de las cuales se calculó un promedio y la desviación estándar por módulo (datos no mostrados). En la segunda parte (inyección de ozono) se monitoreó también el formaldehído en el punto de unión con la corriente de ozono para valorar el formaldehído que reaccionó con ozono, tomando el mismo número de muestras, antes de entrar al biofiltro y en el punto donde la corriente 4 y 9 se unen (ver **Figura 11**).

En la determinación de CO<sub>2</sub> se hizo sólo una inyección de cada muestra, dando como resultado dos muestras simples, de las cuales se calculó el promedio y la desviación estándar para cada módulo (datos no mostrados). La diferencia en el número de muestras inyectadas en el cromatógrafo para la determinación de

formaldehído y CO<sub>2</sub>, se debe a los distintos tiempos de retención de los métodos que se utilizaron para analizar formaldehído y CO<sub>2</sub>. Estos compuestos se analizaban pseudo-simultáneamente en dos cromatógrafos distintos (en la siguiente sección se especifican las condiciones de operación).

Los datos de las concentraciones de formaldehído reportados en la **Tabla 6** y la **Tabla 10** son el promedio de la concentración en la entrada en el periodo especificado.

#### 6.6.1.1 Cromatografía de gases

La concentración de formaldehído fue medida inyectando 200 µL de muestra de gas en un Cromatógrafo de Gases (*Agilent Technologies 6890 series*) con un Detector de Ionización de Flama (GC-FID) con una columna capilar HP-5 con 30 m de largo, 250µm de diámetro, y 0.25 µm de espesor de película. Las temperaturas de operación fueron, 230, 80 y 230°C para inyector, columna y detector, respectivamente. Nitrógeno fue utilizado como gas acarreador.

La concentración de CO<sub>2</sub> se midió inyectando 400 µL de la muestra gaseosa utilizando un Cromatógrafo de Gases (*Agilent Technologies 6850 series*) con un Detector de Conductividad Térmica (GC-TCD) equipado con un columna de capilar HP-PLOT Q con 30 m de largo, 530 µm de diámetro, y 40 µm de espesor de película. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador. Las temperaturas de inyector, columna y detector fueron 200, 50 y 250°C, respectivamente. Debido a que el CO<sub>2</sub> está presente en la atmósfera, los valores reportados representan la diferencia entre las concentraciones de salida y de entrada.

#### 6.6.1.2 Determinación cualitativa de ozono

El ozono sólo fue detectado cualitativamente mediante el burbujeo de 5 mL de solución KI al 2% durante 30 minutos, inmediatamente después se agregó ácido sulfúrico 1N para bajar el pH y completar la reacción del iodo con el ozono, posteriormente se agregaron 5 gotas de una solución de almidón y se hicieron observaciones [Rakness *et al.*, 1996; García-Pérez 2012].

### 6.6.2 Fase líquida

Las muestras líquidas se obtuvieron de los lixiviados cada cuatro días, después de alimentar la solución nutriente.

#### 6.6.2.1 Medición de pH

El pH en lixiviados se midió utilizando un potenciómetro Thermo Scientific Orion 4 Star™ con un electrodo Thermo Scientific Orion™ 91160, inmediatamente después de haber recolectado el lixiviado previamente agitado.

#### 6.6.2.2 Determinación de la alcalinidad

Con el objetivo de estimar la capacidad buffer del sistema, se midió la alcalinidad en los lixiviados mediante la titulación potenciométrica (pH 4.3) con ácido clorhídrico 0.01 N. Las determinaciones se hicieron por duplicado utilizando 5 mL [Clesceri, 1999b].

#### 6.6.2.3 Cromatografía de gases

El formaldehído soluble en lixiviados se estimó en GC-FID con el mismo método especificado en la sección 6.6. Se inyectó 0.2 µL de lixiviado previamente filtrado en una membrana de 0.22 µm.

Otros subproductos solubles en la fase líquida fueron detectados en un Cromatógrafo de Gases (GC) acoplado a un Espectrofotómetro de Masas (MS) utilizando una fibra de microextracción de fase sólida (SPME) de CAR/PDMS<sup>v</sup> de 75 µm (Supelco Bellefonte, PA, USA). Los lixiviados fueron filtrados en una membrana de 0.22 µm de diámetro. La fibra fue sumergida en el filtrado durante 5 minutos y desorbida en el inyector del GC-MS.

#### 6.6.2.4 Carbono orgánico total

El carbono orgánico total se estimó con el analizador de TOC (TOC-VCS/TNM-I, Shimadzu, Japan) equipado con un módulo para líquidos (ASI-V Shimadzu, Japan). Se filtraron de 2-4 mL de muestra a través de una membrana de 0.22 µm y se prepararon diluciones 1:20 ó 2:20 por duplicado.

#### 6.6.2.5 Sólidos suspendidos volátiles

Se utilizó el método 2540-D (Sólidos Suspendidos Totales) y el método 2540-E (Sólidos Volátiles y Fijos calentados a 550°C) [Clesceri, 1999c]. Se prepararon filtros

---

<sup>v</sup> Carboxen/polydimethylsiloxane

de porcelana Gooch de 21 mm, se les colocó filtros Whatman® de 1.1 µm de fibra de vidrio; se llevaron a 550°C y se dejaron enfriar para ser tarados. Posteriormente se hizo pasar un volumen registrado de lixiviado a través de los filtros Gooch tarados con ayuda de un matraz Kitasato y una bomba de vacío.

### 6.6.3 Fase Sólida

Se tomó muestra del soporte que contiene la biopelícula, los días 30, 90, 105, 149, 230, 263 y 287, los cuales corresponden a las etapas 2c, 3a, 3b, 4 y 5 para extraer EPS y determinar Carbono Orgánico Total.

#### 6.6.3.1 Extracción de EPS

La extracción de EPS se hizo en los días 30 y 90, así como para los días iniciales y finales de cada etapa con ozono (3, 4, 5 y 6) por módulo y por duplicado. Esta extracción consistió en cinco pasos principales, fijación celular, extracción, separación, purificación y secado. Para la fijación celular, se pesaron 4 g de soporte congelado y se colocaron en tubos falcon de 50 mL, se adicionaron 10 mL de agua destilada y 60 µL de formaldehído al 36.5%, se colocaron en el refrigerador a 4°C durante una hora [García-Pérez, 2012]. El formaldehído se adicionó para fijar las células, evitando que estas se rompan al agregar la solución de extracción, ya que reacciona con grupos amino, hidroxil, carboxil y sulfhidril de proteínas y ácido nucleicos de la membrana celular [Liu y Fang, 2002].

Después se agregaron 4 mL de NaOH 1N y se refrigeró a 4°C durante 3 horas. El NaOH llevó a cabo la extracción de EPS, ya que incrementó el pH y provocó la disociación de grupos ácidos en las EPS, por ende la repulsión de las EPS cargadas negativamente; también incrementó la solubilidad de EPS en el agua y permitió que más EPS fueran extraídos [Liu y Fang, 2002].

La separación consistió en centrifugar a 13000 G durante 20 minutos a 4°C y filtrar a través de una membrana de 0.22 µm de nitrocelulosa a temperatura ambiente. La purificación se hace en una membrana de diálisis Spectra/Por® (3.5 KDa, espesor plano de 45 mm, diámetro de 29 mm, volumen/largo 6.4 mLcm<sup>-1</sup> y largo de 15m 50 ft<sup>-1</sup>) en agua desionizada a 4 °C, renovándola cada hora, hasta alcanzar pH neutro. Finalmente el secado se hizo en una liofilizadora a -50°C durante 72h.

#### 6.6.3.2 Carbono total

El contenido de biomasa se expresó como carbono orgánico total. Las muestras se tomaron en cada módulo del biofiltro, se desarmó uno de otro y se movió cuidadosamente el soporte con una espátula para homogeneizar la muestra, se tomaron aproximadamente 40 mL de soporte en un tubo Falcon de 50 mL y se puso a

congelar. Después, se hicieron 3 submuestras de 500 mg de soporte congelado y se pusieron a secar durante una noche a 100°C, a esta temperatura la pérdida principal en peso se debe a agua, aunque también se pierden compuestos orgánicos volátiles adsorbidos en la biopelícula y/o en el soporte. Después se colocaron a 900°C en el Analizador de TOC<sup>vi</sup> (TOC-VCS/TNM-I, Shimadzu, Japan) el cual está equipado con un módulo sólido (SSM-5000A, Shimadzu, Japan).

#### 6.6.3.3 Conteo heterotrófico en placas

La concentración de células viables se estimó con el conteo heterotrófico en placas [Clesceri, 1999]. Se utilizó agar nutritivo Difco<sup>TM</sup> con 3.0 g L<sup>-1</sup> de extracto de res, 5.0 g L<sup>-1</sup> de peptona y 15.0 g L<sup>-1</sup> de agar, se ajustó a pH 7 y se esterilizó. Se hicieron soluciones seriadas 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-3</sup> para el módulo 1 y de 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-7</sup> para los módulos 2 y 3, incubando sólo las últimas tres diluciones de cada serie para cada módulo. Se preparó una solución salina de NaCl con concentración de 9.0 g L<sup>-1</sup> y se esterilizó. La dilución 10<sup>-1</sup> se preparó con 9 mL de solución salina y 1 g de soporte recién tomado del biofiltro, colocado en un tubo falcon de 50 mL estéril. En la campana de flujo laminar se vaciaron 9 mL de solución salina estéril en los tubos falcon y se trituró el soporte con una espátula estéril para incrementar el número de células en contacto con el medio. Se tomó 1 mL de las tres últimas diluciones de cada serie y se inoculó en cajas Petri con el agar nutritivo previamente solidificado. El inóculo se extendió sobre la placa con la ayuda de una asa Digralsky (varilla de vidrio en forma de L). Las placas se incubaron durante 72 horas a 28°C, condiciones a las que se reportan los resultados. El conteo se hizo por módulo y por duplicado, se incubaron dos cajas con la misma dilución preparada. Se hicieron conteos cada 24 horas por tres días.

#### 6.6.3.4 Espesor de biopelícula

La medición del espesor se hizo para muestras del módulo 2 y en etapas con ozono. La metodología consiste en 7 pasos, fijación celular, secado, infiltración-inclusión, corte, tinción y observación en el microscopio. Los días de muestreo se tomaron 2 mL de soporte por módulo y se colocaron en tubos eppendorf de 2.0 mL para cada módulo; se agregó glutaraldehído al 2.5% para fijar las células y se congelaron. Una vez acumuladas todas las muestras se descongelaron y se separaron tres partículas de perlita en 3 tubos eppendorf cada una, para cada muestra.

El secado se hizo en serie etanólica 30-100%. Se agregó aproximadamente 1 mL y se puso en agitación (100 rpm) 20 minutos para cada solución de etanol. Repitiendo dos veces más el secado con la solución de etanol al 100%.

---

<sup>vi</sup> Total Organic Carbon

Para la infiltración-inclusión se utilizó el kit polimerizador Technovit® 7100 el cual contiene un monómero glicol-metacrilato y dos endurecedores I y II. Este paso consistió en dos partes, en la primera se hicieron lavados con soluciones de etanol-glicol metilacrilato (endurecedor I) al 30, 50, 70, 80, 90 y 100. Se agregaron aproximadamente 400  $\mu\text{L}$  y se pusieron en una cámara de vacío por 10 minutos, posteriormente en agitación (100 rpm) durante una hora. Así para cada solución, excepto para la de 100%, la cual después del vacío se dejó en agitación a 100 rpm durante una noche. La infiltración con glicol-metacrilato tienen como objetivo desplazar las burbujas de aire y etanol del interior de la perlita y poco a poco embeberla en metacrilato. La segunda parte es la inclusión para lo cual se prepara una solución con el endurecedor II, como se especifica en el kit. Cada perlita se deposita en media cápsula (soluble en agua) y se agregan 300  $\mu\text{L}$  de la solución preparada antes de que comience a endurecer. Se dejaron así durante el fin de semana para un mejor endurecimiento antes de cortar.

Una vez endurecidas, las cápsulas fueron rebajadas con una pulidora y fijadas en soportes de madera con Kola Loka® industrial. Los cortes de la perlita polimerizada se hicieron en un Microtomo rotatorio Leica ® RM2125RT con una navaja de acero inoxidable perfil D (Lipshaw Detroit, USA) colocada en un ángulo de 3°, se hicieron al menos 10 cortes por muestra con un espesor de 10-15  $\mu\text{m}$ , colocando cada corte en una gota de agua destilada sobre un portaobjetos previamente preparado. Una vez colocados todos los cortes sobre el portaobjetos se puso a secar en una plancha premiere® (Slides warmer XH-2001) a 40°C.

Para la tinción se preparó una solución de azul de toluidina al 1% en agua desionizada. Se colocó una gota de esta solución sobre la muestra por 30 s, después se enjuagó con agua desionizada y se secó a 40°C sobre la plancha.

Las observaciones fueron hechas en un microscopio LEICA® DM 2000 acoplado a una cámara LEICA EC3, se tomaron fotografías con el *software* Leica Application Suite 3.0.0 © (LAS-EZ, Suiza) con los objetivos 10X, 20X y 40X. Con 10X se tomaron varias fotos de una muestra para armar la imagen completa de la muestra, debido a que la cámara tiene limitada el área de captura de imagen.

Las imágenes 10X se procesaron con el programa Image-J 1.144p (Wayne Rasbad National Institute of Health, USA. De dominio público) previamente calibrado para hacer mediciones sobre la imagen tomada con este objetivo (10X). Se tomaron varias medidas del espesor de las áreas coloreadas (púrpura, azul y verde, las cuales se han supuesto como el espesor de biopelícula) de toda la muestra. Se hicieron dos blancos, conformados por perlita limpia la cual recibió el mismo tratamiento que las muestras con biopelícula y se tomaron fotografías.

### 6.6.3.5 Medición de pH en lixiviado

Después de recircular el medio mineral, en cada uno de los módulos se puso una tira de pH (HACH® de rango 0-14.) por el puerto de biomasa durante 10 minutos, con la finalidad de que la tira se humedeciera. Se utilizó la gama de colores relacionados con el pH proporcionado por el proveedor y se registró el pH.

### 6.7 Parámetros cinéticos

Los parámetros cinéticos ( $\mu$ ,  $r_{ut}$ ,  $Y_{B/S}$  y  $Y_{CO_2/S}$ ) fueron calculados como se indica en la **Tabla 8**, utilizando la CE global para los parámetros cinéticos globales. Estos parámetros son macrocinéticos por haberse realizado con los datos obtenidos en el reactor.

**Tabla 8.** Definición de los parámetros cinéticos

Parámetro	Definición	Unidades
Velocidad específica de crecimiento	$\mu = \frac{1}{\theta} \ln \frac{B_2}{B_1}$	$h^{-1}$
Velocidad de utilización de sustrato	$r_{ut} = \frac{CE}{B} \cdot V$	$gFA_{degradado} g^{-1} B_{producida} h^{-1}$
Coficiente de rendimiento de biomasa <sup>a</sup>	$Y_{B/S} = \frac{B}{CE \cdot \theta \cdot V}$	$gB_{producida} g^{-1} FA_{degradado}$
Coficiente de rendimiento de CO <sub>2</sub> <sup>a</sup>	$Y_{CO_2/S} = \frac{Q \cdot (CO_{2Salida} - CO_{2Entrada})}{V \cdot CE}$	$gCO_2_{producido} g FA_{consumido}^{-1}$

$\theta$ , periodo de tiempo (h);  $B=B_2-B_1$ , biomasa producida en  $\theta$  (g); S, sustrato (formaldehído); CE, capacidad de eliminación ( $gm^{-3}h^{-1}$ ); V, volumen de lecho vacío ( $m^3$ ); FA, formaldehído;  $CO_{2Salida}$ , dióxido de carbono en la salida del biofiltro,  $CO_{2Entrada}$ , dióxido de carbono en la entrada del biofiltro; Q, flujo volumétrico ( $m^3s^{-1}$ ). <sup>a</sup> [Gallastegui *et al.*, 2011].

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Caracterización del soporte

La perlita es un conjunto de partículas minerales compuesta principalmente por silicatos de aluminio (Apéndice A). De la caracterización básica del soporte se obtuvieron los resultados de la **Tabla 9**.

**Tabla 9.** Caracterización del soporte.

Parámetro	[Unidades]	Dimensión <sup>1</sup>
Densidad aparente ( $\rho_{ap}$ )	mgL <sup>-1</sup>	0.1068 ± 0.008
Fracción de lecho vacío ( $\epsilon$ )	%	61.17 ± 1.9
Capacidad de retención de Agua (CRA)	%	70.83 ± 1.6

pap: densidad aparente de perlita;  $\epsilon$ : fracción varía del lecho; CRA: capacidad de retención de agua. <sup>1</sup>Valores promedio ± Desviación estándar.

Los parámetros obtenidos de perlita (**Tabla 1**) presentan magnitudes similares a las reportadas previamente [García-Pérez, 2013; Herrera-Serrano, 2011]. Los materiales de empaque usados para procesos de biofiltración de COVs deben reunir varias características: ser porosos, tener una capacidad de agua adecuada, proveer nutrientes e incluso ser fuente de microorganismos, etc. [Deviny et al., 1999; Sharefdeen y Singh, 2004]. En general, se prefiere un material inorgánico sobre uno orgánico porque son más estables, presentan una composición definida y permiten una distribución del gas más uniforme. Aunque resultan más caros al tener que suministrar nutrientes e incluso reinocular con microorganismos después del arranque [Prado et al., 2004]. En este estudio se optó por usar perlita como material de empaque ya que reúne las características antes mencionadas de un material de soporte inorgánico y además ha mostrado ser adecuado para llevar a cabo estudios de biofiltración [Prado et al., 2004; García-Pérez, 2012].

### 7.2 Desempeño del biofiltro

El biofiltro se operó durante 310 días; se dividió en dos partes, la primera sin ozono y la segunda con ozono. Asimismo cada parte se dividió en etapas con diferentes concentraciones de formaldehído (**Tabla 10**).

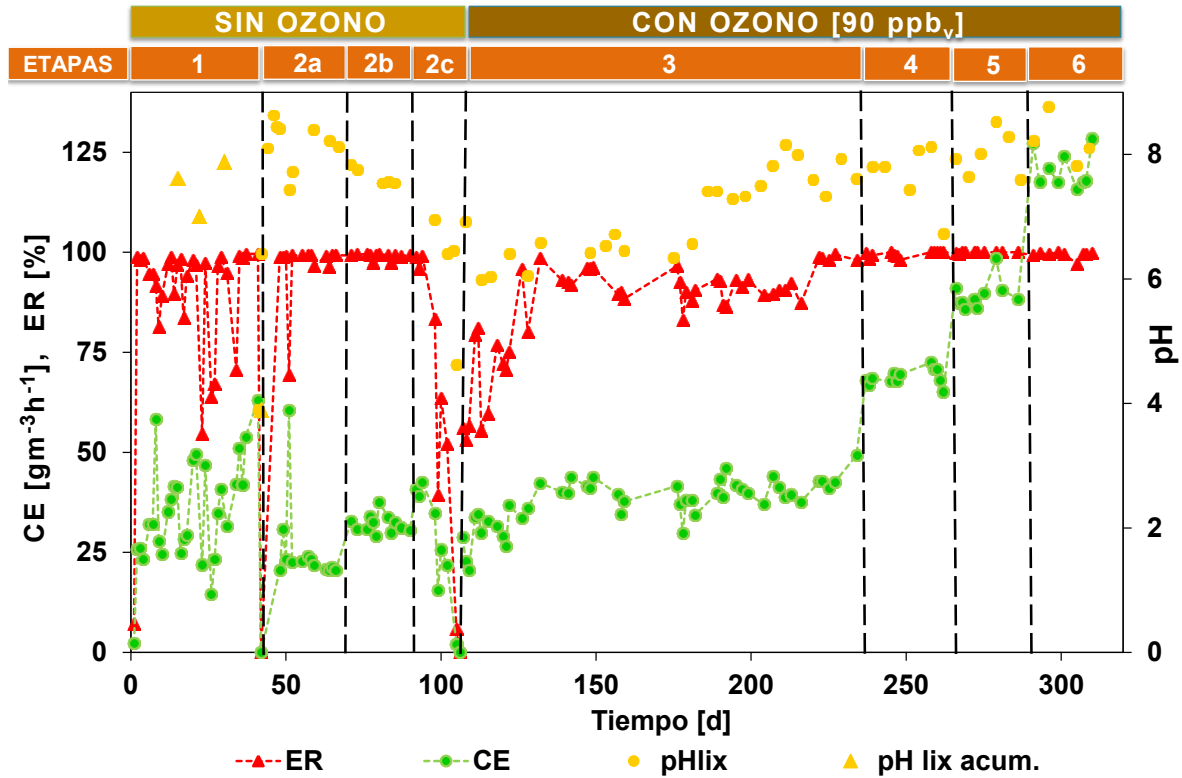


**Tabla 10.** Desempeño del biofiltro en cada etapa.

P	E	$\theta$ [d]	[FA <sup>a</sup> ] gm <sup>-3</sup> (ppm <sub>v</sub> )	CARGA gm <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>	CE <sup>b</sup> gm <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>	ER <sup>c</sup> (%)	pH
1	1	0-41	0.8±0.2 (652)	39.5±11.5	35.1±13.3	88.2±19.4	6.0±0.4
		42	1.26 (1027)	63.4	0.0	0.0	3.9
	2a	43-70	0.6±0.4 (489)	28.0±18	25.6±10.8	96.4±8.2	8.2±0.3
	2	71-90	0.7±0.1 (570)	33.±3.9	32.8 ± 3.7	99.0 ± 0.7	7.9 ± 0.4
	2c	91-105	0.8 ± 0.1 (652)	40.7±6.4	27.8 ± 16.1	67.2 ± 33.6	6.6 ± 0.3
		106	0.5 (407)	23.4	0.0	0.0	4.6
2	3	107-234	0.9±0.1 (734)	43.7±4.3	37.6±5.9	78.75±16.0	7.0±0.7
	4	235-262	1.4±0.04 (1141)	69.2±1.9	68.8±2.0	91.76±4.2	7.7±0.5
	5	263-286	1.8±0.1 (1467)	89.4±3.4	89.4±3.5	86.2±12.6	8.0±0.3
	6	287-310	2.4±0.1 (1956)	121.9±4.6	121.4±4.2	99.5±0.7	8.2±0.4

P, Parte; E, Etapa;  $\theta$ , Periodo; <sup>a</sup>Formaldehído, <sup>b</sup>Capacidad de Eliminación, <sup>c</sup>Eficiencia de Remoción. Valor promedio ± Desviación Estándar.

En la **Figura 12** se puede observar el desempeño del biofiltro durante todo el tiempo de operación, en esta figura la leyenda “pH lix acum.” corresponde al pH del lixiviado acumulado durante tres días, tiempo transcurrido entre la renovación del medio mineral, se registró de esta manera durante 50 días. La leyenda “pH lix”, del día 50 en adelante, corresponde al pH del lixiviado recuperado después de 10 minutos de haber terminado la recirculación del medio. En la siguiente sección (7.2.1) se analizará por separado cada etapa.



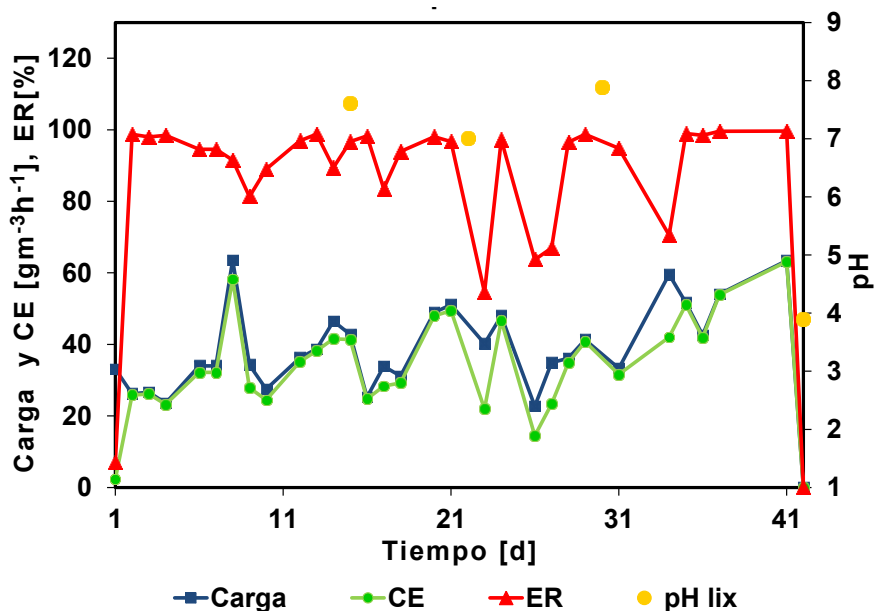
**Figura 12.** Desempeño global de la biofiltración de formaldehído (FA) con ozono y sin ozono. La Capacidad de Eliminación (CE) es la velocidad de remoción de FA.

### 7.2.1 Etapas de operación, Capacidades de eliminación y Eficiencias de remoción Sin ozono y Con ozono.

#### 7.2.1.1 Etapa I

En la etapa I (**Figura 13**) desde el día dos el biofiltro fue capaz de remover 98% de FA con CE de  $25.84 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ . Lograr tener una una ER de 100% en los primeros días de operación es deseable y se logra utilizando un inóculo aclimatado al contaminante, como fue en este estudio.

Se observó que operar a cargas superiores a  $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$  disminuye la ER; el día 8 se operó con una carga de  $63.58 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$  con ER de 91%; el día nueve, a pesar de tener una carga baja de  $27.89 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$  se obtuvo una ER de 81%. Este fenómeno sucede al operar a altas cargas de formaldehído, ya que el ácido fórmico (un subproducto ácido) se acumula en el lecho inhibiendo la formaldehído dismutasa [Kato *et al.*, 1983] afectando el desempeño del biofiltro hasta que sea removido. El ácido fórmico no se cunaticó en ninguna etapa. En el periodo del día 34 al 41 se operó con una carga de  $54.25 \pm 7.9 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$  y se obtuvo una CE de  $50.41 \pm 8.9 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$  y  $94 \pm 12\%$  de ER, las cuales no fueron soportadas hasta el día 42 (CE=  $63.4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ , CE =  $0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$  y ER=0%).



**Figura 13.** Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante la etapa I.

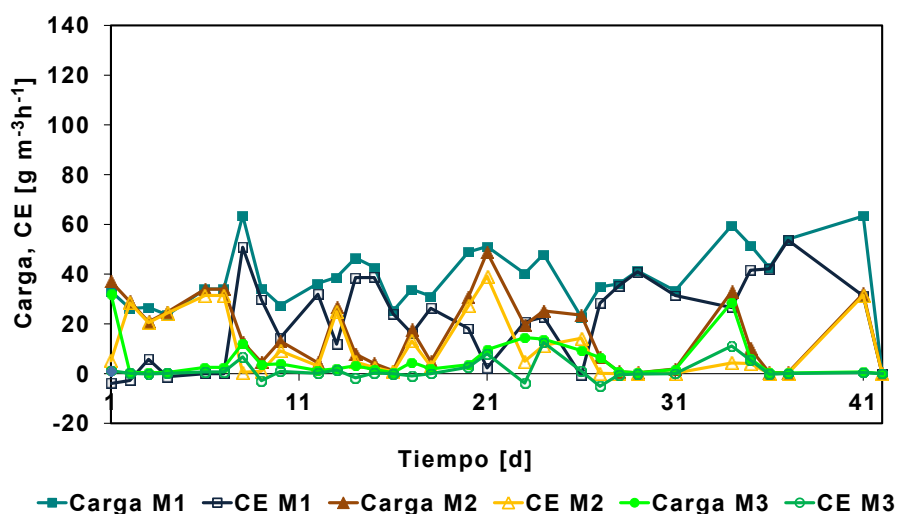
El pH promedio de esta etapa fue  $6.0 \pm 0.4$ . El día 42 se acidificó el sistema ( $\text{pH}=3.9$ ), por la alta carga de este día y los días previos. Se detectó por medio de GC-MS-SPME dimetoximetano y metanol (**Tabla II**), se discute en la siguiente sección (7.2.1.2). Cabe aclarar que durante los primeros días de operación el lixiviado no era recolectado 10 minutos después de recircularse el medio mineral, sino que este se dejaba ahí hasta la siguiente alimentación y en la práctica se observó que el medio se acidificaba al paso del tiempo. Por esto el pH es incluso más bajo que el pKa del ácido fórmico (4.62).

En principio se conoce de la literatura que el ácido fórmico es el principal subproducto de la degradación de formaldehído, por lo que es muy posible que sea el responsable de la acidificación del sistema. Por otro lado, las muestras que se procesaron en GC-MS-SPME son representativas del lixiviado (el lixiviado se descongeló completamente y se agitó para tomar la submuestra expuesta a la microfibrilla de extracción). Sin embargo son únicas, no se hicieron repeticiones, por la cantidad de muestras y el costo en el uso del equipo. Por otro lado, el ácido fórmico es un ácido débil y su pKa puede asociarse con la presencia de este en una solución (Chang, 2002), el pH del lixiviado el día 42 fue de 3.7 y el pKa del ácido fórmico es 3.79.

**Tabla II.** Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa I.

D <sub>op.</sub>	Compuesto	Abundancia del Total [%]
22	Metanol	14.7
	Ácido Fórmico	30.7
	Dimetoximetano	17.0
30	Formaldehído	36.32
	Metanol	13.86
	Ácido Oxálico	16.10
42	Metanol	8.3
	Dimetoximetano	15.9

Aunque existen en la literatura varios artículos de biofiltración de formaldehído no se reporta el análisis de la degradación longitudinal del biofiltro, esto es importante para optimizar y aplicar el sistema a nivel industrial. La **Figura 14** muestra las cargas y las CE por módulo, los más activos son el Módulo 1 (M1) y el Módulo 2 (M2), teniendo ocasionalmente actividad el Módulo 3 (M3). Esto está relacionado directamente con el modo en que se alimentó el biofiltro, de abajo hacia arriba “up-flow”, por lo tanto el módulo M1 fue el que estuvo en contacto con una mayor concentración de formaldehído lo cual se ve reflejado en las altas CE obtenidas en este módulo para esta etapa.

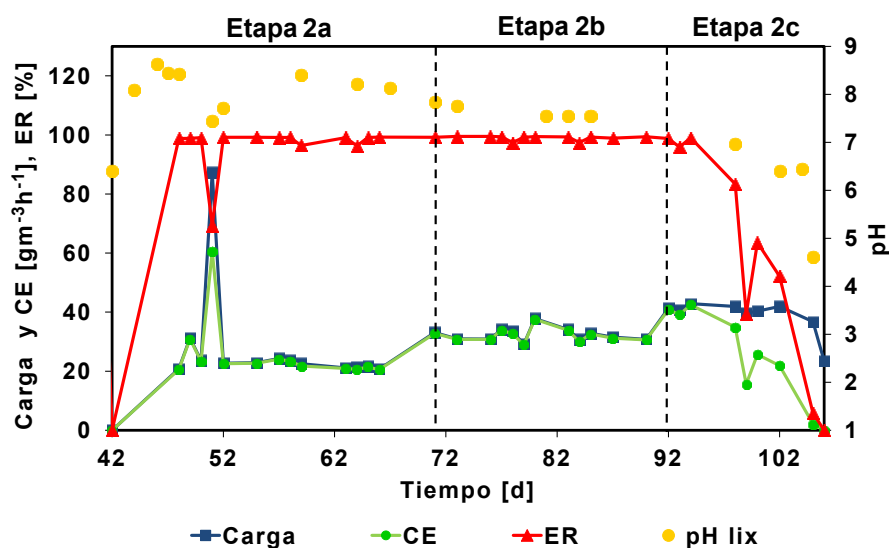


**Figura 14.** Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante la etapa I. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo 3.

### 7.2.1.2 Etapa 2

Después de la acidificación del sistema ocurrida el día 42, se hicieron lavados con solución buffer de fosfatos durante 7 días hasta que el pH del sistema fue superior a 7 [García-Pérez, 2013]. El flujo de los lavados fue el mismo que el suministro de medio mineral ( $10.6 \text{ mLmin}^{-1}$ ) con el objetivo de evitar el desprendimiento de la biopelícula. Adicionalmente al bajo flujo de los lavados, como parte de la estrategia para prevenir la pérdida de biomasa, se reinoculó el biofiltro con el centrifugado de lixiviados de días anteriores. La pastilla formada en la centrifugación se resuspendió en medio mineral nuevo para contra restar cualquier pérdida de biomasa. A pesar de que la cuantificación de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en días previos y posteriores al lavado indican que no hubo pérdida significativa de biomasa. El promedio de SSV de los días previos al lavado (del día 47-50) fueron  $1.61 \pm 0.8 \text{ mg CT L}^{-1}$  y el promedio de los días posteriores al lavado (del día 53-55) fueron  $3.25 \pm 2.2 \text{ mg CT L}^{-1}$ . En la sección “COT y SSV en lixiviados comparados con el contenido total de EPS” (7.2.4) se muestra el promedio de los SSV en toda la operación del biofiltro.

La carga se incrementó el día 52 hasta  $87 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  con ER de 70% (**Figura 15**) evidenciando la limitación del sistema, como ocurrió en la etapa 1; se observó que el biofiltro pudo tratar altas cargas por un periodo corto de tiempo antes de que se acidificara. La etapa 2a operó a una carga de  $28.0 \pm 18 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ , CE de  $25.6 \pm 1 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  y ER de 96.4% durante 27 días (**Tabla 10**), con pH de  $8.2 \pm 0.3$ . En la etapa 2b, el biofiltro mostró tener una máxima capacidad de eliminación que puede mantener bien sin ozono, se operó el biofiltro con una concentración de formaldehído de  $0.7 \pm 0.1 \text{ gm}^{-3}$  y una carga de  $33.1 \pm 3.9 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ , la CE obtenida fue de  $32.8 \pm 3.7 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  (ER= 99%) a un pH de  $7.9 \pm 0.4$  y fue mantenida durante 19 días, esta CE es el valor máximo alcanzado en ausencia de ozono.

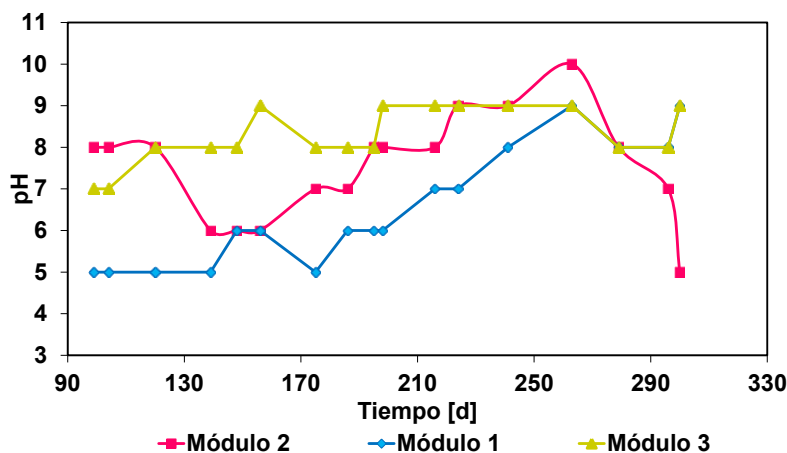


**Figura 15.** Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante la etapa 2.

En la etapa 2c (día 91) se evaluó una tercera carga de  $40.7 \pm 6.4 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ , provocando un ligero decremento en la ER y el pH hasta alcanzar  $ER= 0$  y  $\text{pH}= 4.6$  después de 15 días de operación (día 106). Es decir que bajo condiciones sin ozono el sistema fue incapaz de mantener una CE estable por más de 15 días con cargas de alrededor de  $40 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  que corresponden a una concentración de  $0.8 \pm 0.1 \text{ gm}^{-3}$ . En los lixiviados de esta etapa (2c) fueron detectados dimetoximetano (DMM), formaldehído y ácido oxálico (**Tabla 12**, se discute más adelante).

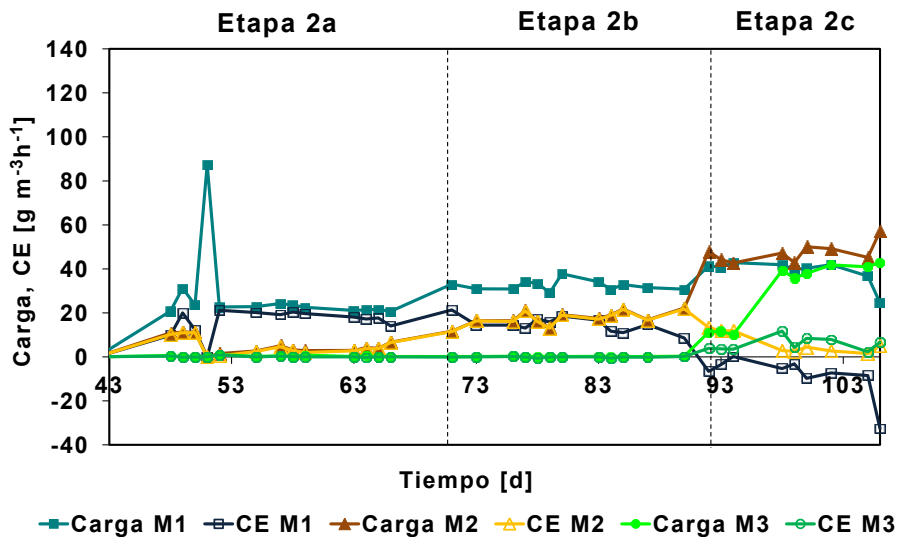
La **Figura 17** muestra como la CE varía entre los módulos. El M2 comienza a degradar formaldehído (después del día 62) y cuando el M1 pierde su CE el M2 incrementa la suya, lo cual hace que la CE total del sistema permanezca constante hasta antes del día 98. En la etapa 2c, el M2 disminuye su capacidad de eliminación en cuanto la carga fue incrementada esto provocó que el M3 comenzara a degradar formaldehído. Estos resultados indican que a lo largo del reactor cada uno de los módulos se va inhibiendo paulatinamente por la alta concentración alimentada de forma ascendente, es decir comienza a inhibirse el M1. Estas variaciones en las ER de los módulos ya han sido reportadas en un estudio donde se analizaron dos alturas diferentes [García-Pérez, 2013].

La actividad de un módulo depende de la CE del módulo anterior. Si M1 degrada casi todo el formaldehído difícilmente M2 tendrá actividad. Sin embargo si M1 degrada el 50% es posible que M2 y M3 degraden el 50% restante, como sucedió en la etapa 2b (**Figura 17**). En esta misma figura se ve claramente que cuando se hace un incremento en la carga de formaldehído (Etapa 2c) disminuye la CE de M2 y M3 comienza a degradar. Al final de la etapa 2c se puede ver una CE negativa, la cual no está completamente entendida. Sin embargo, se ha pensado que el bajo pH (5-6) de módulo favorece la desorción del formaldehído (**Figura 16**).



**Figura 16.** pH por módulo del biofiltro

La explicación para las pérdidas de la CE en la etapa 1 y 2c es que algunos microorganismos metilotróficos capaces de degradar formaldehído a ácido fórmico y metanol (Figura 3), producen una enzima llamada *formaldehído dismutasa* la cual tiene una actividad catalítica óptima entre pH 7 y pH 8, siendo máxima a pH 8 y no presenta actividad por debajo de  $\text{pH} \leq 4.5$  [Kato *et al.*, 1983]. Además se ha estudiado que durante la biodegradación de formaldehído el paso limitante es la conversión del ácido fórmico y metanol hacia  $\text{CO}_2$ ; por otro lado, la degradación de metanol ocurre hasta que el ácido fórmico ha sido degradado [Adroer *et al.*, 1990]. Por lo tanto, si la velocidad de producción de ácido fórmico es mayor que la velocidad para degradarlo, ocurre una acumulación de éste en el sistema y por ende una acidificación del lecho y un colapso en el desempeño del reactor como se registró en este trabajo.



**Figura 17.** Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante la etapa I. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo3.

**Tabla 12.** Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa 2.

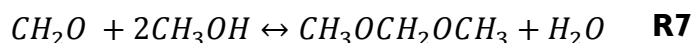
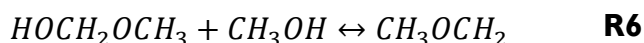
D <sub>op.</sub>	Compuesto	% Abundancia del Total
99	Formaldehído	24.234
	Metanol	5.255
	Dimetoximetano	18
106	Formaldehído	27.37
	Metanol	21.05
	Ácido Oxálico	21.42

En los lixiviados se detectó dimetoximetano (DMM) los días 42, 106 (pH= 3.9 y 4.6, carga= 63.40 y 62.7 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>, respectivamente) y los días 22, 99 y 108 (**Tabla 13**) con pH de 6.96, 7.0 y 7.0, respectivamente. En estos días se operó por encima de la carga máxima que el biofiltro soportaba en ausencia de ozono (40 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>). El ácido fórmico es el principal subproducto en la degradación de formaldehído como ya se discutió según la literatura. Cabe aclarar que el ácido fórmico no se cuantificó, ni se detectó mediante GC-MS-SPME de una submuestra del lixiviado única, sería necesario repetir la determinación de subproductos para tener evidencia de la presencia de ácido fórmico.

Entonces, altas cargas pueden provocar la acumulación de ácido fórmico y metanol. Lo cual propiciaría condiciones favorables (ácidas) para la formación de dimetoximetano [Kuhnert *et al.*, 2006].

El DMM también llamado metilal, es un compuesto incoloro, líquido volátil, usado principalmente como solvente en síntesis orgánicas, perfumes, adhesivos y pinturas, etc. También se usa como aditivo oxigenante para reducir el humo de los motores de diesel. De manera tradicional se produce por condensación de metanol y formaldehído bajo catálisis ácida y altas temperaturas de reacción [Chen *et al.*, 2013], las cuales se usan para incrementar la eficiencia de conversión de FA a DMM [Kuhnert *et al.*, 2006].

En la literatura no se reporta una ruta bioquímica de producción de dimetoximetano. Sin embargo se han encontrado referencias sobre la producción industrial en la cual utilizan altas temperaturas y catalizadores. Las siguientes reacciones son una aproximación a las reacciones que pudieran formar DMM. La acetalización del metanol con el formaldehído en presencia de un catalizador ácido involucra dos pasos. Primero, el metanol nucleofílico se adhiere al grupo carbonil del formaldehído para formar un intermediario llamado hemiacetal (R5). Segundo, el hemiacetal reacciona con el metanol en la presencia de un catalizador ácido para formar DMM (R6). El primer paso es muy rápido y el segundo es el paso determinante de la reacción. La reacción completa se indica en R7 [Zhang *et al.*, 2011].



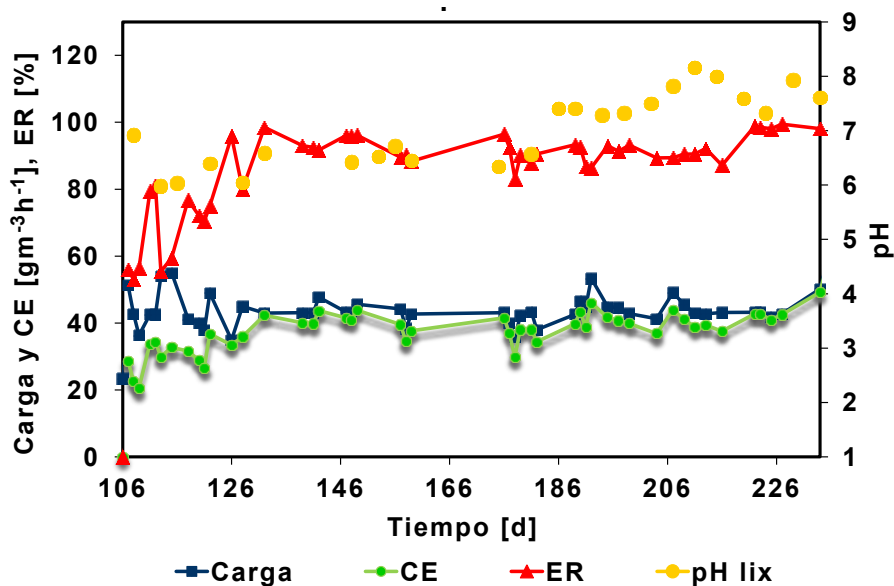
La toxicidad del DMM es baja, por ello se ha empezado a usar como oxigenante del diesel [Fu y Shen, 2007; Kuhnert *et al.*, 2006, Chen *et al.*, 2013]. No hay pruebas de



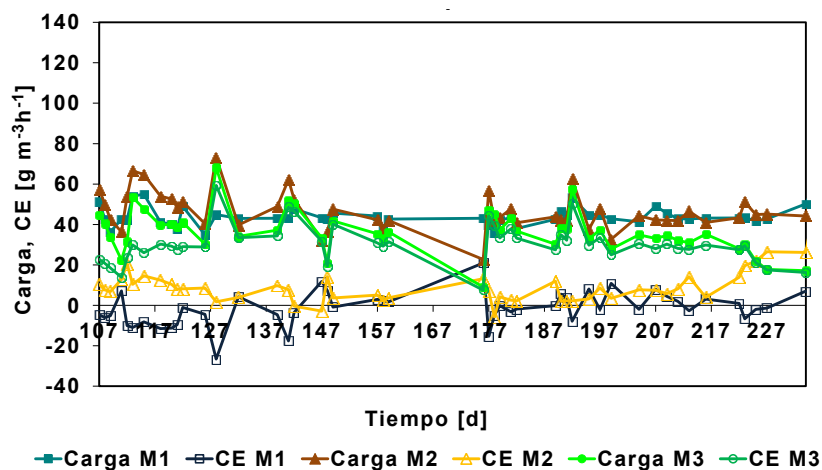
toxicidad específicas para microorganismos, más bien se conoce por ser menos tóxico para el ambiente y tener nula toxicidad en ratas. Las pérdidas en las CE se atribuyen a la acidificación del sistema que provoca actividad enzimática nula.

### 7.2.1.3 Etapa 3

En la etapa 3 se decidió utilizar la adición de ozono (90 ppb<sub>v</sub>) para recuperar la CE del biofiltro, sin tener que bajar la carga hasta 20gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> como se hizo en la etapa 2. Ya que se sabe que el ozono regula el pH del sistema [García-Pérez, 2012]. La estrategia para recuperar el desempeño del biofiltro que se ensayó en este trabajo es un nuevo enfoque. Anteriormente lo que se hacía para recuperar un biofiltro de un choque de carga de formaldehído era renovar el medio mineral [Prado *et al.*, 2004] sin éxito, ajuste del pH del medio mineral sin renovar (ajuste del pH del lixiviado antes de recircular) [Prado *et al.*, 2004] sin problemas de pH o lavados con solución buffer [García-Pérez, 2012] recuperando el desempeño del biofiltro. Sin embargo los lavados pueden provocar la pérdida de la biomasa que degrada el formaldehído. Además se requiere de tiempo para que el biofiltro recupere su desempeño y estas estrategias no ofrecen las ventajas de la adición de ozono (más adelante se discuten). Al incorporar el ozono sin bajar la carga el sistema permaneció estable por más de 100 días [Del día 126-234] con carga de 43.4±3.5 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>, CE de 40±3.7 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>, ER de 92.1±4.5% y concentración de 0.9±0.1 gm<sup>-3</sup>. Sin la adición de ozono, esta carga no habría sido soportada por el sistema, tal como ocurrió en la etapa 2c y menos por un largo período de operación (108 días). Se presentaron variaciones en el perfil de CE de los módulos, siendo el M3 quien degrada casi todo el formaldehído. Las CE de los módulos permanecieron constantes en casi toda la etapa (**Figura 19**).



**Figura 18.** Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante la etapa 3.



**Figura 19.** Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante la etapa 3. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo3.

**Tabla 13.** Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa 3.

D <sub>op.</sub>	Compuesto	Abundancia del Total [%]
108	Formaldehído	30.4
	Metanol	17.0
	Ácido Fórmico	22.1
	Dimetoximetano	6.17
120	Ác. Acético oxo	40.29
	Dímero de Glicolaldehído	14.73
	Ácido oxálico	16.11

**Tabla 13 (Continuación).** Subproductos en lixiviados detectados en GC-MS-SPME en la etapa 3.

D <sub>op.</sub>	Compuesto	Abundancia del Total [%]
156	Formaldehído	16.8
	Metanol	9.8
	Ácido Fórmico	37
194	Formaldehído	28.9
	Metanol	11.3
	Ácido Oxálico	15.5

#### 7.2.1.4 Etapas 4, 5 y 6

En estas etapas el objetivo fue explorar la capacidad del biofiltro para tratar mayores concentraciones de formaldehído por largos períodos de operación. Se hicieron tres incrementos en las cargas, etapa 4, 5, y 6 (**Tabla 10**). Se obtuvo una máxima CE de  $121.4 \pm 0.4 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  en la etapa 6 en presencia de ozono (**Figura 20**), la cual se compara con la CE de  $112 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  que logró Prado *et al.*, [2004] con una concentración de  $0.9 \pm 0.1 \text{ gm}^{-3}$  trabajando con un tiempo de residencia de 20.7 s. En este mismo estudio se menciona que se alcanzó una CE máxima de FA de  $180 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  durante unas horas. Sin embargo, el artículo no muestra evidencia de haber mantenido estas cargas por más de 1 día de operación, los resultados que se reportan no indican el periodo de tiempo en el que fueron alcanzadas y mantenidas estas CE. En otro estudio, Prado *et al.*, [2006] reportaron una CE de  $101 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  (ER= 63%) utilizando un biofiltro de lecho escurrido para la degradación de formaldehído.

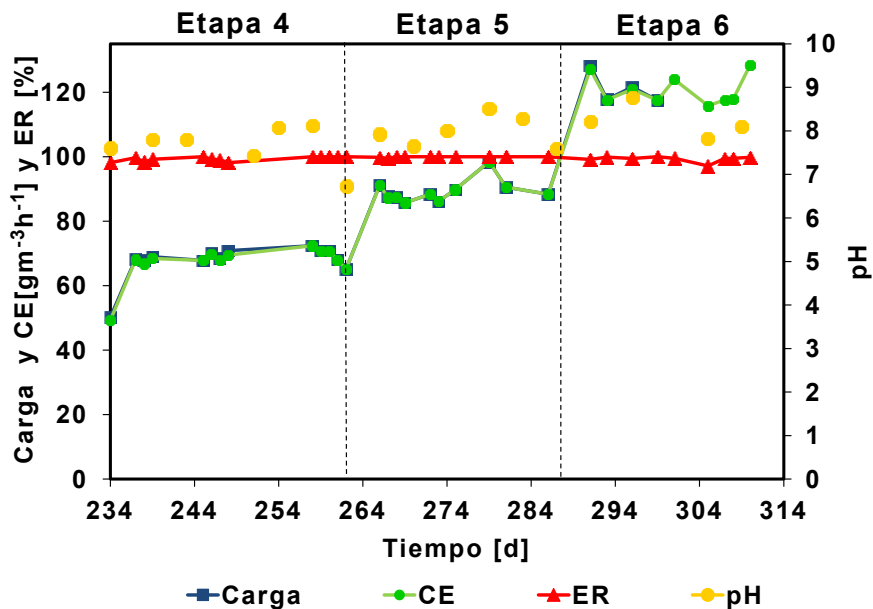
En la **Tabla 14** se resumen las principales diferencias entre los resultados de Prado *et al.* [2006] y los resultados de este trabajo. La CE obtenida por Prado *et al.* [2006] sin adición de ozono, fue lograda empleando amonio como fuente de nitrógeno, el cual es preferida por los microorganismos sobre el nitrato (fuente de nitrógeno utilizada en este trabajo) ya que el metabolismo celular requiere menos energía para la asimilación de amonio que en la asimilación del nitrato. [Rittmann y McCarty, 2001], con lo cual se mejora la producción de biomasa y por lo tanto la CE; otra diferencia es una baja ER= 63% comparada con una ER de 99.5% obtenida en el presente trabajo.

Por otra parte, es obvio que no es conveniente obtener altas CE con bajas ER; nótese que en el caso de Prado *et al.* [2006] se alimentaban aproximadamente  $160 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  y sólo se removía  $101 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ . Asimismo, es remarcable que las concentraciones de entrada utilizadas son diferentes  $0.8 \text{ gm}^{-3}$  de Prado *et al.* [2006] contra  $2.4 \text{ gm}^{-3}$ . Otra explicación más para la carga que se alcanzó en el estudio mencionado es el

modo de recirculación de la solución nutritiva, el cual en el caso de Prado *et al.* [2006] consistió en pasar 2L de solución a una velocidad de flujo de 3Lh<sup>-1</sup> (50 mLmin<sup>-1</sup>) en comparación de un volumen de 100 mL y una velocidad de 10.6 mLmin<sup>-1</sup> utilizados en este trabajo. Este gran volumen y alta velocidad de flujo ayudan a la remoción de cualquier subproducto que se hubiese acumulado en el lecho [Prado *et al.*, 2006], también se ha reportado que altas velocidades de flujo provocan altos esfuerzos cortantes en la biopelícula, lo cual favorece la formación de biopelícula superficial en la que existe mejor transporte de masa hacia su interior [Mendoza *et al.*, 2004; Alonso *et al.*, 1997, Weber y Hartmans, 1996; Soria *et al.*, 1997 y Y. Jin *et al.*, 2007].

**Tabla 14.** Principales diferencias entre los resultados de Prado *et al.*, 2006 y los de este trabajo.

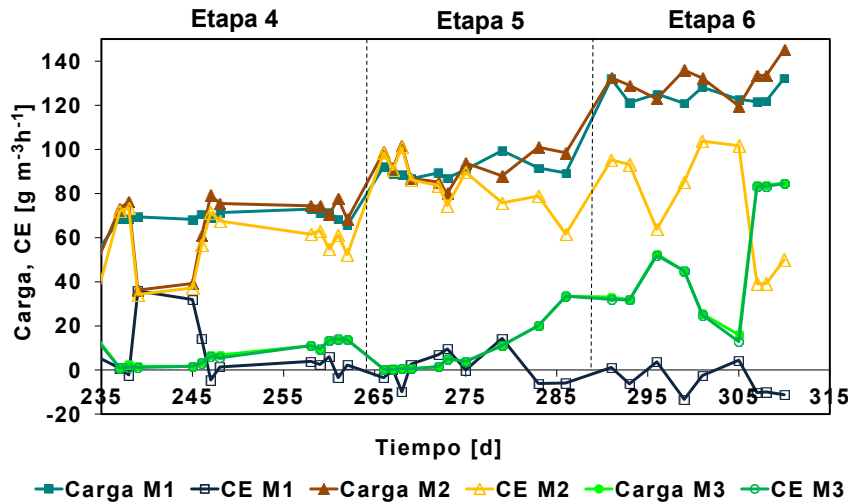
Diferencia	Prado <i>et al.</i> [2006]	Este trabajo
CE (gm <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )	101	121.4
ER (%)	63	99.5
Concentración de entrada (gm <sup>-3</sup> )	0.8	2.4
Fuente de Carbono	Amonio	Nitrato
Volumen de solución nutriente (mL)	2000	100
Velocidad de recirculación de solución nutriente (mLmin <sup>-1</sup> )	50	10



**Figura 20.** Desempeño global de la biofiltración de formaldehído, durante las etapas 4, 5 y 6.

Es importante puntualizar que en este trabajo se obtuvo una CE de 121.4 ± 4.2 gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> (ER= 99.5%) utilizando una concentración de 2.4 gm<sup>-3</sup>. La CE obtenida en presencia de ozono es menor que la máxima reportada por Prado *et al.*, (2004) sin

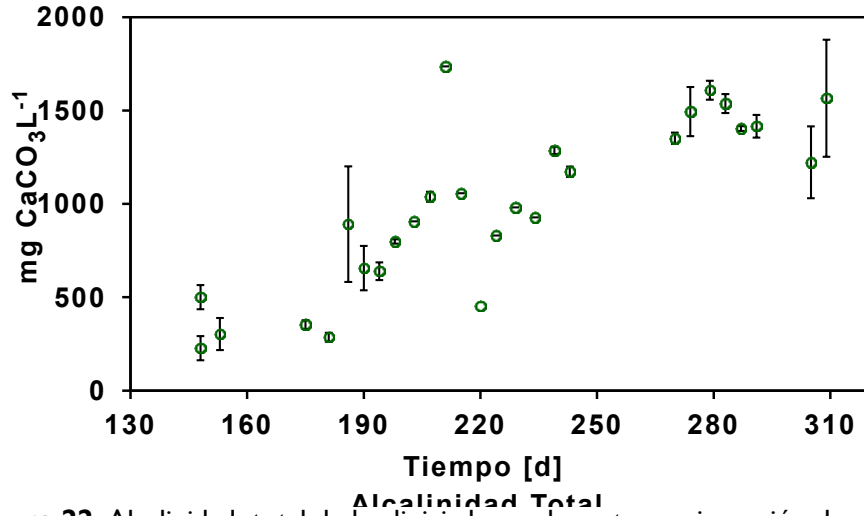
ozono ( $180 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ ). Sin embargo, no es claro el periodo de tiempo en el que la máxima CE fue alcanzada y cuál fue la estabilidad del sistema durante el tiempo de operación. Sin embargo, la máxima concentración de entrada en el presente trabajo, es tres veces mayor que la concentración utilizada por Prado *et al.* [2006], 2.6 veces más a la que usó en 2004 y el doble de la obtenida por García-Pérez [2013] en cuyo trabajo se reportó  $1.2 \pm 0.04 \text{ gm}^{-3}$ ,  $61.4 \pm 17.8 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$  y  $83.8 \pm 23.6 \%$  de concentración, CE y ER respectivamente.



**Figura 21.** Cargas y Capacidades de Eliminación (CE) por módulo durante las etapas 4, 5 y 6. M1 Módulo 1, M2 Módulo 2, M3 Módulo 3.

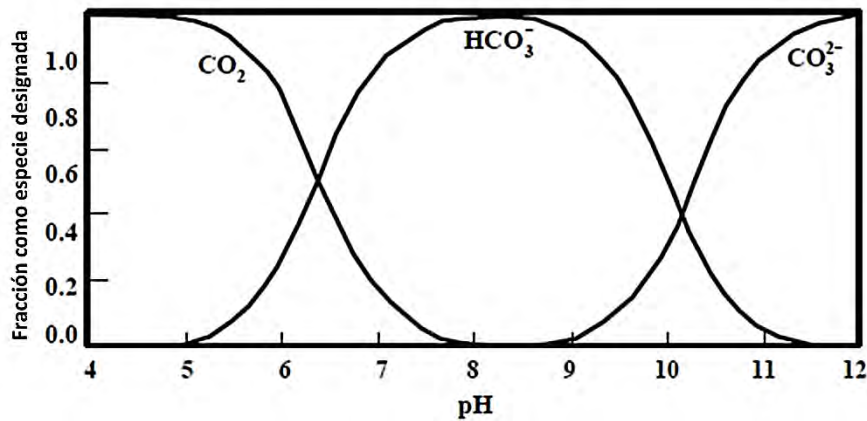
### 7.2.2 Alcalinidad, mineralización, oxidación de formaldehído con ozono y ozono en la salida del biofiltro.

En la **Figura 22** se puede observar el perfil de alcalinidad de las muestras de lixiviados obtenidas bajo la adición de ozono al sistema. Esta alcalinidad es un total de todo el biofiltro, ya que se cuantificó en el lixiviado de todo el biofiltro. La capacidad buffer incrementó de forma continua hasta alcanzar un valor máximo de  $1450 \pm 127 \text{ mg CaCO}_3\text{L}^{-1}$ .



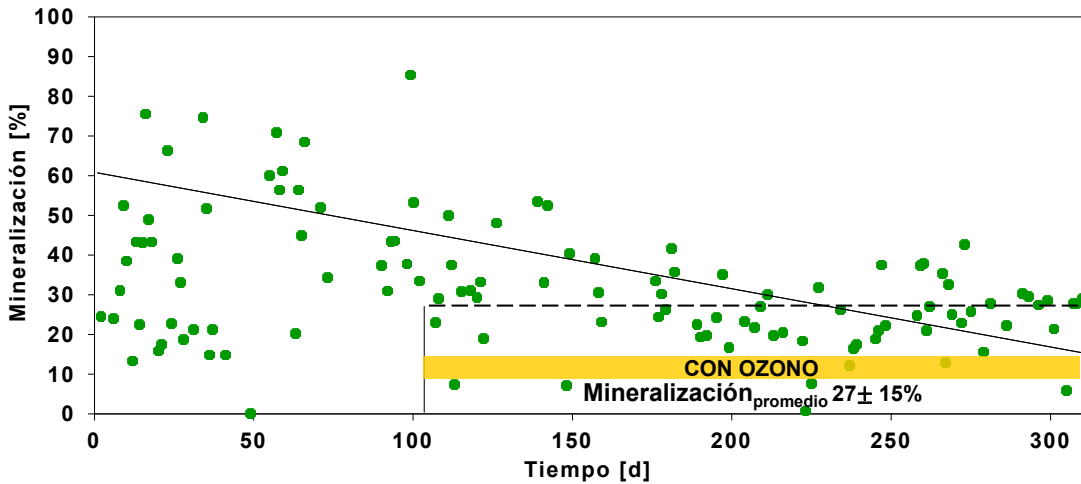
**Figura 22.** Alcalinidad total de los lixiviados en la parte con inyección de ozono.

El hecho de que la adición de ozono controló el pH del sistema podría deberse a que el ácido fórmico, formado en la biodegradación de formaldehído, podría haber reaccionado con el ozono para producir CO<sub>2</sub> por la reacción descrita en la **Figura 10**. Además, de acuerdo al diagrama de especiación del dióxido de carbono (**Figura 23**) y al pH promedio de  $7.7 \pm 0.5$  (dato de la parte 2, con adición de ozono) se esperaría que la especie HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> fuera la más abundante en el sistema a lo largo del tiempo, la cual podría provocar el incremento en la alcalinidad del sistema.



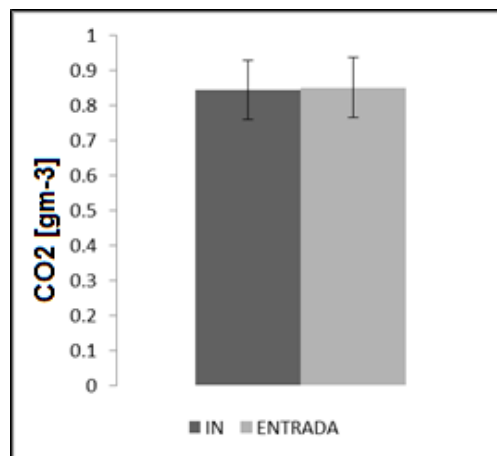
**Figura 23.** Diagrama de especiación del CO<sub>2</sub>. (Tomado de Crittenden, 2005)

La mineralización del sistema (**Figura 24**) vista como un todo muestra una tendencia negativa. Del día 105 al día 310 tiene un promedio de  $27 \pm 15\%$ . Esta mineralización es baja comparada con 48.1% reportado por García-Pérez (2012). La cantidad de solución nutriente adicionada en el presente trabajo fue mayor; se recircularon durante 30 minutos 100 mL de medio mineral cada cuatro días, mientras que García-Pérez (2012) adicionó 20 mL 2 veces por semana. Entonces la cantidad de agua disponible para que el CO<sub>2</sub> se solubilizara fue mayor en el presente trabajo.

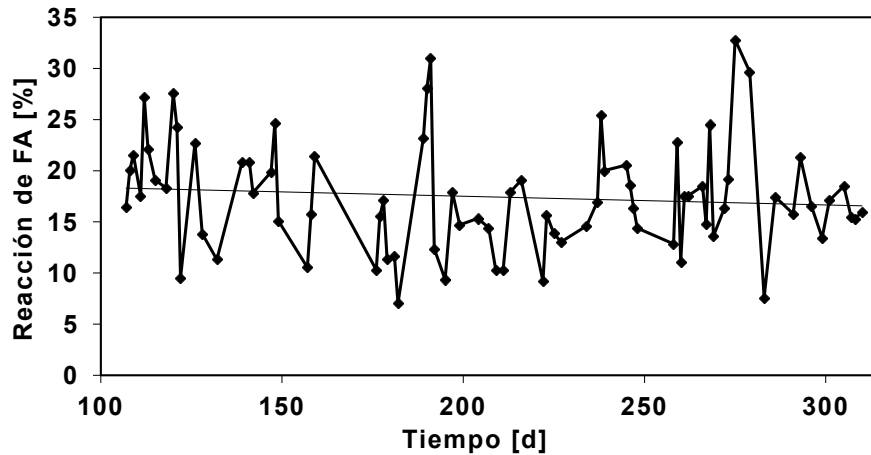


**Figura 24.** Porcentaje de Mineralización de Formaldehído dentro del sistema, basado en la reacción  $CH_2O + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$ .

Por otro lado, la corriente de ozono se unió con la de formaldehído 125 milisegundos antes de entrar al biofiltro. Esto condujo a preguntarse si el ozono reacciona con el formaldehído y si esto sucedía, cuál era su contribución a la mineralización. La **Figura 25** muestra el promedio de tres días del  $CO_2$  cuantificado en la fase gas por cromatografía de gases en la corriente 4 (formaldehído gaseoso) justo antes de unirse con la corriente 9 (ozono) y en la corriente 4+9 (justo antes de entrar al biofiltro, ver **Figura 11**). No hubo diferencia entre las barras; por lo tanto no hubo mineralización sólo por efecto de ozono. Sin embargo, la **Figura 26** muestra que el formaldehído si reaccionó con el ozono y/o con sus radicales (aunque no se mineralizó) en un promedio de  $17.5 \pm 0.5\%$ ; este comportamiento ya ha sido reportado previamente [Boncz, 2002; Iuga et al., 2008].



**Figura 25.** Concentración de  $CO_2$  antes de entrar al biofiltro en el punto de unión con ozono (corriente 4= IN) y en la entrada del biofiltro (corriente 4+9=ENTRADA). La muestra en la corriente 4+9 se tomó justo antes de entrar en el biofiltro.



**Figura 26.** Formaldehído que reaccionó con el Ozono antes de entrar al biofiltro, con un porcentaje promedio de  $17.5 \pm 0.5\%$ .

La **Figura 9** muestra que la velocidad de reacción FA+ozono es baja y que no hay reacción con el hidroxilo [Bonz, 2002]. Por lo tanto, la producción de  $\text{CO}_2$  observada en el biofiltro puede atribuirse principalmente a la degradación biológica del formaldehído; la reacción entre ozono y FA generó subproductos de degradación, que no se pudieron detectar por GC/MS, pero es posible que sean similares a los presentes en los lixiviados y que ayudaron a amortiguar el pH por las sucesivas reacciones posteriores con ozono y/o sus radicales.

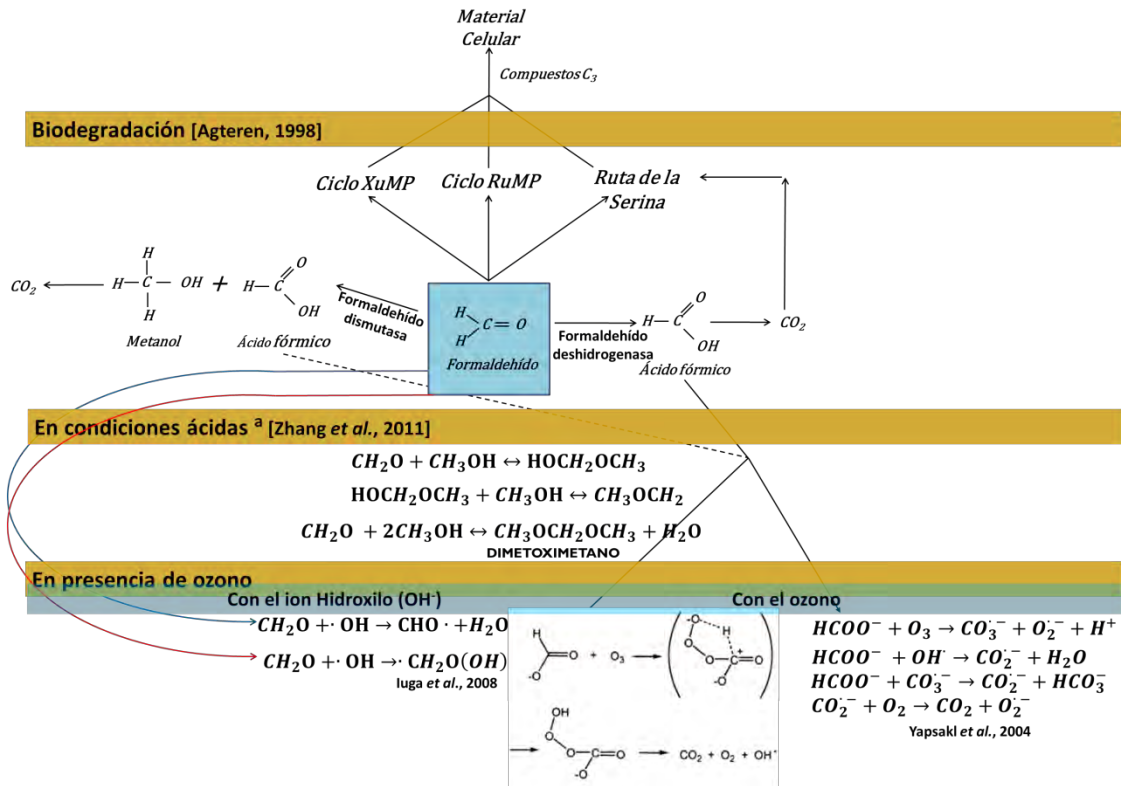
En cuanto al amortiguamiento del pH del sistema, cabe mencionar que además de la reacción del ácido fórmico, que fue un subproducto generado por la degradación biológica del formaldehído (Figura 3) y la reacción con el ion hidroxilo para formar  $\text{CO}_2$ , también pudo ocurrir la descomposición natural del ozono en presencia de carbono inorgánico para formar el ion bicarbonato, lo cual sería una contribución adicional para lograr el amortiguamiento del pH del sistema (**Tabla 15**) [Iuga et al., 2008, Yapsakl et al., 2008].

**Tabla 15.** Reacciones de descomposición de ozono en agua natural que contiene carbono inorgánico (Yapsakl et al., 2004.)

Reacción	Constante de reacción
$\text{O}_3 + \text{OH}^- \rightarrow \text{O}_2^- + \text{HO}_2$	$k=70$
$\text{HO}_2 = \text{H}^+ + \text{O}_2^-$	$\text{pKA}=4.8$
$\text{O}_2^- + \text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OH} + \text{OH}^- + 2\text{O}_2$	$k=1.6 \times 10^9$
$\text{O}_3 + \text{OH} \cdot \rightarrow \text{HO}_2 + \text{O}_2$	$k=1.1 \times 10^8$
$\text{HCO}_3^- + \text{OH} \cdot \rightarrow \text{CO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	$k=8.5 \times 10^6$
$\text{CO}_3^{2-} + \text{OH} \cdot \rightarrow \text{CO}_3^- + \text{OH}^-$	$k=3.9 \times 10^8$



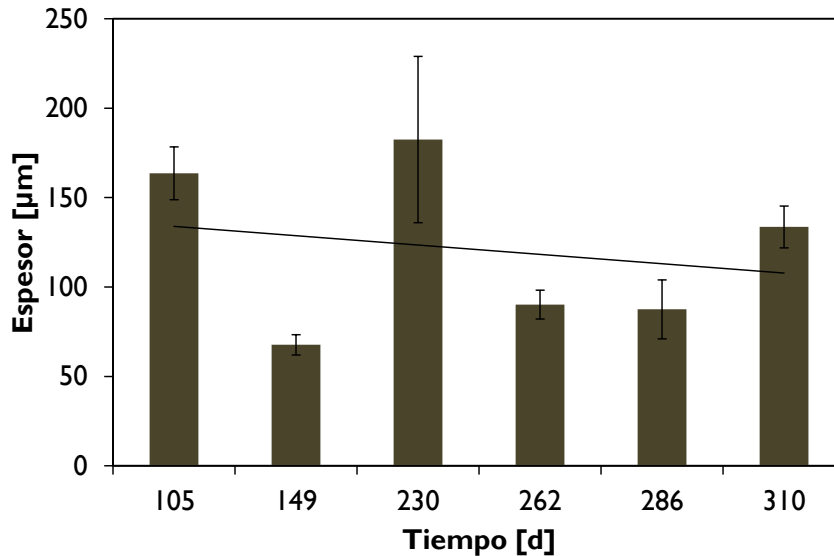
Los procesos descritos anteriormente son demasiado complejos debido a que están presentes radicales libres y como se sabe estas especies son muy reactivas y difíciles de analizar. Por otro lado, se trata de un proceso híbrido de oxidación avanzada acoplada a proceso biológico en el cuál es difícil de aislar cada uno de los procesos que suceden. A continuación se recapitulan las reacciones que pudieron ocurrir en el biofiltro basado en los principales subproductos de degradación detectados y en la literatura actual (**Figura 27**).



**Figura 27.** Posible mecanismo de reacción en las diferentes condiciones experimentadas durante la operación del biofiltro.

### 7.2.3 Espesor de biopelícula

La **Figura 28** representa el promedio de los espesores de dos muestras de perlitas, de entre 6 y 24 mediciones cada una dependiendo del tamaño de la muestra para sólo para el módulo dos, el cual presentó la mayor actividad a lo largo de la operación del biofiltro. En el Apéndice E se muestran las fotos adquiridas con la cámara LEICA®.



**Figura 28.** Espesor de Biopelícula, promedio de dos partículas de perlita con 10 mediciones aproximadamente cada una. Las desviaciones estándar, corresponden a las desviaciones de los promedios entre las dos muestras (En el apéndice E se pueden ver las desviaciones de las mediciones para cada partícula de perlita).

Del día 105 (sin ozono) al día 149 (con ozono) se puede observar una disminución del espesor de  $164 \pm 15$  a  $68 \pm 8$   $\mu\text{m}$  en 44 días. Wang *et al.* (2009) ya han reportado la disminución del espesor de biopelícula por el incremento en la concentración de ozono ( $0$ - $120$   $\text{mgm}^{-3}$ ). Otra conclusión importante, es que en el periodo 3 donde se tiene un tiempo de operación largo bajo las mismas condiciones ( $[\text{FA}] = 0.9 \pm 0.1$   $\text{gm}^{-3}$  y  $[\text{O}_3] = 90$   $\text{ppb}_v$ ), el desempeño global del biofiltro experimentó un estado estable, en cuanto a la capacidad de eliminación ( $37.6 \pm 5$   $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ ) durante 127 días. Sin embargo, el espesor de biopelícula no se mantuvo constante ya que cambió de  $68 \pm 8$  a  $183 \pm 47$   $\mu\text{m}$ , del día 149 al día 230 (en etapa 3).

En los días 262, 286 y 310 la concentración de ozono se mantuvo constante ( $90$   $\text{ppb}_v$ ) mientras que la concentración de formaldehído se aumentó en  $1.4 \pm 0.04$ ,  $1.8 \pm 0.1$  y  $2.4 \pm 0.1$   $\text{mgm}^{-3}$  con  $90 \pm 3$ ,  $88 \pm 16$  y  $134 \pm 8$   $\mu\text{m}$  de espesor respectivamente, con tendencia aparentemente ascendente. Sin embargo, las desviaciones estándar entre las mediciones de espesor evidencian que no hay un efecto por el incremento en la

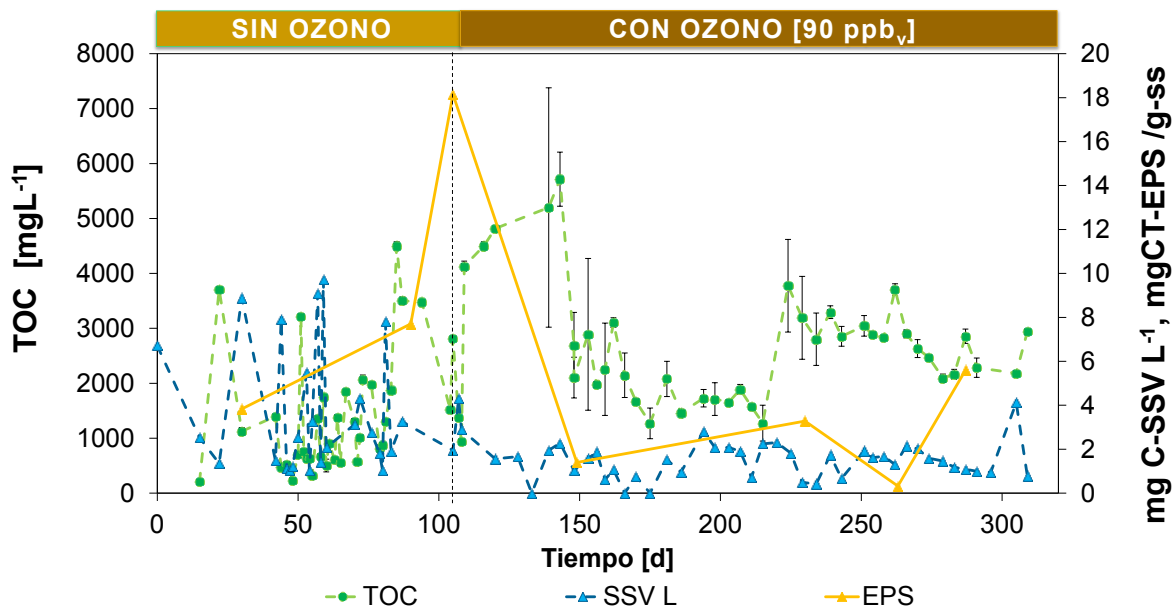
concentración de formaldehído a partir del segundo incremento en las etapas 5 y 6 (ver apéndice E, **Figura 37**)

#### 7.2.4 COT y SSV en lixiviados comparados con el contenido total de EPS.

El formaldehído y los subproductos de degradación tienen altos valores de solubilidad. (Formaldehído  $400 \text{ mgL}^{-1}$ , metanol 100% miscible en todas las proporciones, ácido fórmico miscible y dimetoximetano  $323 \text{ gL}^{-1}$ ). El Carbono Orgánico Total en los lixiviados estima el carbono orgánico soluble. Esta medida no podría estimar el contenido de biomasa que está siendo lixiviada, ya que las muestras son filtradas en membranas de  $0.22 \mu\text{m}$ . En la

**Figura 29** se puede ver que el COT fue alto en casi toda la operación, y la explicación es la alta solubilidad de los compuestos involucrados, como ya se mencionó. Por otro lado, Wang *et al.* (2009) propone que el ozono oxida los EPS y los subproductos son disueltos en la fase acuosa por lo que aumenta el contenido de carbono en los lixiviados.

Un resultado importante es la disminución en el contenido de EPS después de haber inyectado ozono de manera continua, estos resultados son congruentes con los obtenidos en la sección 7.2.3 (espesor de biopelícula) donde también se observó una disminución en el espesor para el módulo dos después de agregar ozono. Otro punto importante es que no se necesitaron altas concentraciones de ozono para degradar/oxidar la biopelícula, como las que trabajaron Wang *et al.*, (2009), las cuales fueron 526 veces mayores que las utilizadas en este estudio (ver Apéndice D).



**Figura 29.** Contenido de Carbono Orgánico Total (TOC) en lixiviados relacionado con el contenido de EPS en el soporte. SSVL es una estimación de la pérdida de biomasa en los lixiviados.

Durante siete días a partir del día 42 se hicieron lavados con solución buffer para estabilizar el pH de sistema alrededor de 8, por eso se ve una gran concentración de SSV en estos días. Estimar cuanta biomasa sale en un sistema es importante para asegurarse de no provocar lavado celular en el biofiltro, por lo que debería ser una práctica de rutina.

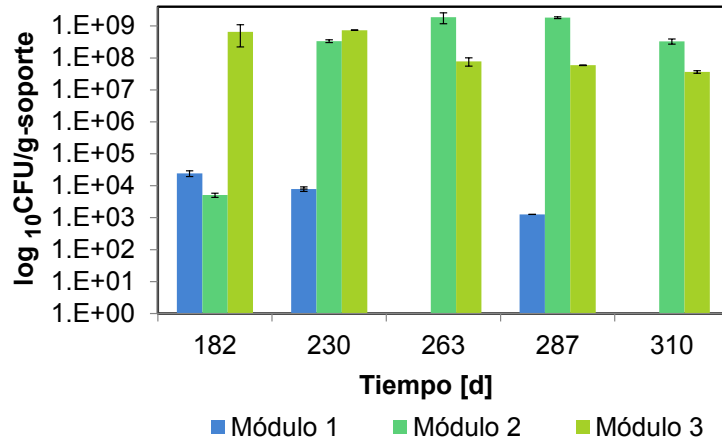
### 7.3 Biomasa, EPS y viabilidad

Se consideró pertinente estimar la viabilidad ya que el biofiltro estuvo expuesto a dos bactericidas, el formaldehído y el ozono que pueden resultar letales en concentraciones altas. En la **Figura 30** se ven las viabilidades por módulo para las etapas finales de la operación del biofiltro, el eje de las ordenadas (y) está expresado en logaritmo base 10, por lo que la barra más alta para cada día es una aproximación de la viabilidad total. La viabilidad del módulo 1 fue la más afectada ya que estuvo expuesto a las concentraciones de ozono y formaldehído más altas en todo el tiempo de operación. La viabilidad del M1 en los días 263 y 310 fue cero. La viabilidad del módulo dos, fue ligeramente afectada con los incrementos en la carga de formaldehído días 263, 287 y 310. El módulo 3 fue el menos afectado en viabilidad, ya que en esta altura del biofiltro la concentración de formaldehído es baja y la concentración del ozono debe serlo también.

La viabilidad total del biofiltro disminuyó de  $6.6 \times 10^8$  a  $3.7 \times 10^8$  CFU<sup>vii</sup>g<sup>-1</sup> soporte seco teniendo una viabilidad máxima al final de la etapa 4 (día 263). En esta etapa, también se cuantificaron los valores más altos para los parámetros cinéticos. Concentraciones similares de biomasa,  $10^7$  CFUmL<sup>-1</sup> han sido reportados en un experimento en lote para la biodegradación de formaldehído en agua donde incrementaron las concentraciones de 130 en 175 y 300 ppm [Adroer, 1990]

---

<sup>vii</sup> CFU, Unidades formadoras de colonias

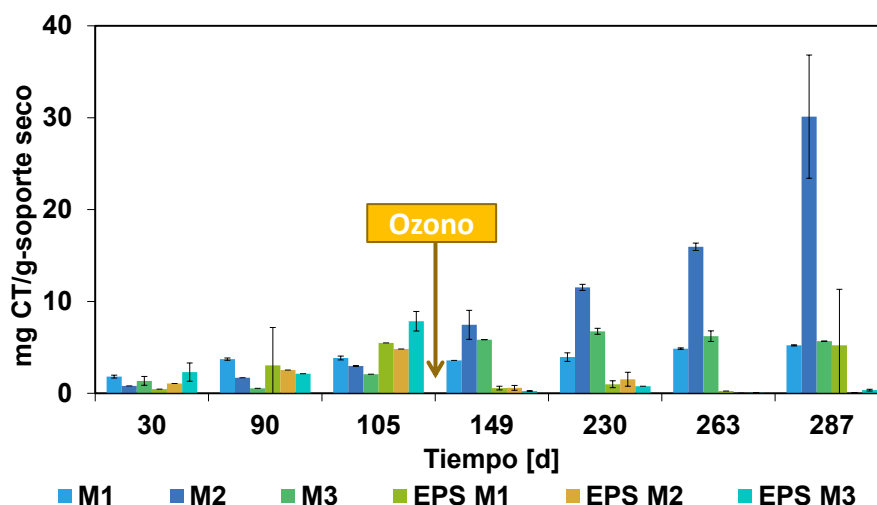


**Figura 30.** Viabilidad por Módulo en las etapas con ozono

En la sección 2.5.2 se discutieron algunos mecanismos de resistencia hacia los biocidas para aclarar lo que sucedió en este sistema. Antes de adicionar ozono, en los días 30, 90 y 105 la producción de EPS es alta (3.8, 7.7 y 18.15 mgCTg<sup>-1</sup>ss<sup>viii</sup> para cada día respectivamente) ya que en esta etapa los microorganismos estaban produciendo EPS para protegerse de la concentración de formaldehído, funcionando como barrera protectora (**Figura 31**) [Mah y O’Toole, 2001].

Después de adicionar ozono, los EPS totales disminuyeron de 18.15 a 1.39mg CT/g-soporte-seco del día 105 al 149. Ya que el ozono es una molécula altamente reactiva [Boncz, 2002], tiende a reaccionar con lo que encuentra. Los EPS podrían haber disminuido por oxidación con ozono o con sus radicales de descomposición. El ozono además de oxidar los EPS podría generar daño en la membrana celular al entrar en contacto con ella, causando que algunas proteínas porinas no se expresen y por tal motivo los microorganismos no segregan EPS [Mah y O’Toole, 2001], inspecciones visuales sobre las células con SEM antes y después de ozono podrían arrojar más información.

<sup>viii</sup> Soporte seco



**Figura 31.** Perfil de de biomasa y EPS, M1 es la Biomasa del Módulo I; M2, del módulo 2 y M3 del Módulo 3. La biomasa y las EPS fueron evaluadas como carbono total.

### 7.4 Balance de Carbono

Para el balance de carbono se utilizó el carbono eliminado (formaldehído consumido), por lo que esta sección podría llamarse a esta “Justificación del carbono eliminado”. El balance de carbono se calculó para toda la operación del biofiltro. La CE se obtiene de calcular el área bajo la curva del perfil de CE en todos los días (ver la sección de cálculos). Se obtuvo una mineralización de 36.27% (**Tabla 16**) la cual es baja comparada con el trabajo de García-Pérez (2012) quien reportó 48.1% de mineralización. Este sistema trabajó comparativamente con mayor cantidad de solución nutriente y puede dar lugar a la solubilidad del CO<sub>2</sub> en el agua, según lo discutido en la sección 7.2.2 respecto a alcalinidad.

**Tabla 16.** Balance de Carbono

Unidades	FA eliminado <sup>a</sup>	CO <sub>2</sub> producido	Carbono soluble Lixiviado	Biomasa Lixiviada	Biomasa Acumulada (Lecho)	Subproductos ND
g[C]	459.5	113.8	9.33	0.154	10.6	325.6
[%]	100	36.27*	2.03	0.03	2.3	59.37%

<sup>a</sup>Eliminado de la fase gaseosa. ND, no determinado.\*Respecto al teórico por la reacción estequiométrica  $FA + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$  (Ver sección de cálculos).

García-Pérez (2013) también reportó 12% de formaldehído adsorbido y 34.7% de subproductos no cuantificados en comparación con 59.37% en este trabajo. La cuantificación del formaldehído ayuda a disminuir el porcentaje de subproductos no determinados, que pueden ser dimetoximetano, ácido fórmico, metanol, ácido oxálico,

e incluso formaldehído, según los resultados de GC-MS-SPME identificados en cada etapa (sección 7.2.1).

Los porcentajes de biomasa lixiviada de 0.03% son un orden de magnitud más grande a los de García-Pérez (2013) de 0.015%, posiblemente por el modo de operación que difiere en la cantidad de volumen de la solución nutriente y en la recirculación de la misma. El Carbono soluble es mayor en este trabajo, 2.03 contra 1.3 %. Esto podría explicarse por el modo de operación, en este trabajó se recircularon 100 mL de medio mineral durante 30 minutos cada cuatro días y García-Pérez agregaba 20 mL 2 veces por semana sin recircular. Al haber mayor agua para disolverse, algunos de los COVs altamente solubles en agua pasan a esta fase, como ya se discutió en la sección 7.2.4.

### 7.5 Parámetros cinéticos

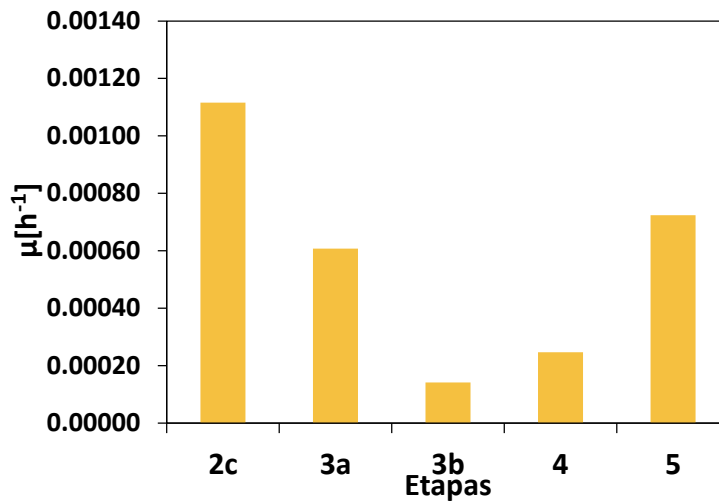
El desempeño de los sistemas biológicos depende en gran medida de la estructura microbiana desarrollada en ellos. En este trabajo se identificaron algunos microorganismos eucariontes (con la región 18S) aislados del biofiltro (ver **Apéndice F**). Así mismo, también se desarrollaron microorganismos procariontes en el biofiltro, lo cual se sabe por cultivos hechos en placas (datos no mostrados). Cada consorcio tiene desempeños específicos caracterizados por los parámetros cinéticos. Además estos dependen del contenido de biomasa.

Los parámetros cinéticos fueron calculados según la **Tabla 8** (sección 6.7) de forma global para el biofiltro utilizando el promedio de las estimaciones de biomasa para cada módulo (ver sección de cálculos). En un reactor de biopelícula que degrada determinado contaminante y en el cual la biomasa no tiene ningún valor, es deseable que:

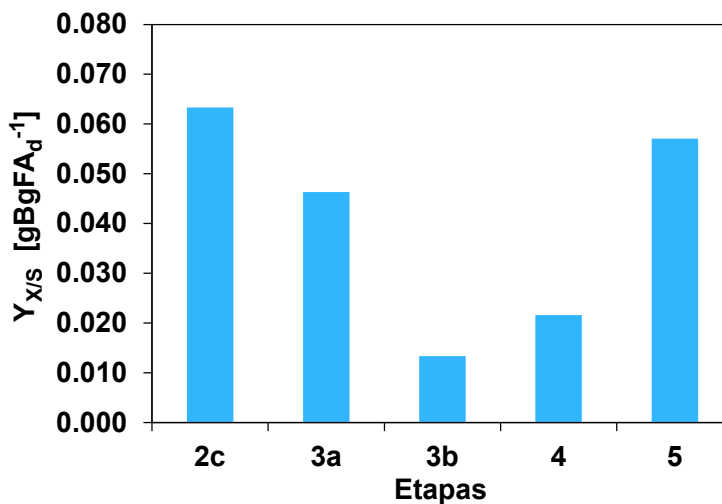
1. La velocidad de utilización de sustrato sea grande para tener menores tiempos de residencia
2. La velocidad específica de crecimiento de biomasa sea pequeño para evitar acumulación de biomasa, taponamiento, etc.
3. El coeficiente de conversión de sustrato a CO<sub>2</sub> sea alto, ya que esto incrementaría el grado de mineralización del contaminante.
4. El coeficiente de conversión de sustrato a biomasa sea bajo.

Las etapas 2c y 3a se pueden comparar por haber operado bajo las mismas condiciones, con la diferencia que en al inicio de 3a (día 105) se inyectó ozono. De esta forma se puede ver como el ozono aparentemente hizo que todos los parámetros disminuyeran ver **Figura 32**, **Figura 33**, **Figura 34** y **Figura 35**. Sin embargo, se debe recordar que el consorcio experimentó un choque de carga y esto pudo haber afectado en la disminución de dichos parámetros. Es decir, no se puede saber si fue la

concentración alta de formaldehído o la adición de ozono la que afectó negativamente todos los parámetros cinéticos calculados. Todos los parámetros son mayores en 2c. Más bien el tiempo bajo el cual estuvieron expuestos a ozono provocó que algunos parámetros cambiaran, como en la etapa 4, donde se tiene la velocidad de utilización de sustrato más alta ( $0.715 \text{ g FA degradado gBiomasa}^{-1}\text{h}^{-1}$ ). Las etapas 3a y 3b tienen las mismas condiciones de operación, sólo cambia el tiempo de exposición al ozono, con el tiempo puede desarrollarse tolerancia a las condiciones. Se aprecia que aún en estado estable, estos parámetros aumentaron en el caso de  $r_{ut}$  y  $Y_{CO_2/S}$  y disminuyó  $\mu$  y  $Y_{X/S}$  (Tabla 17, Etapas 3a y 3b).

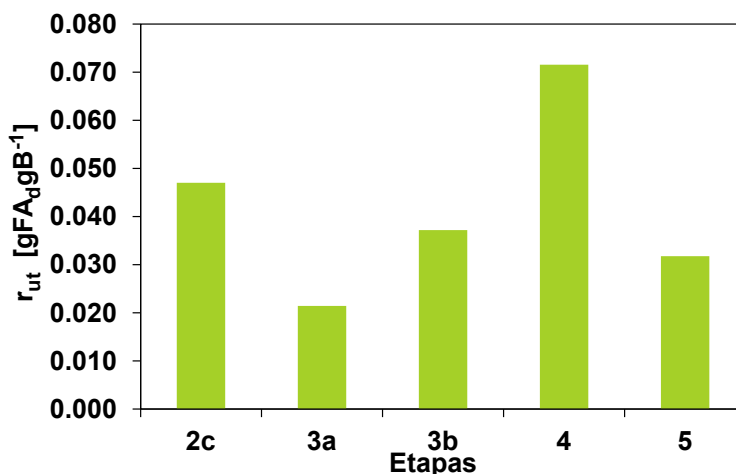


**Figura 32.** Velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) del desempeño global del biofiltro. Expresado en  $\text{h}^{-1}$ .

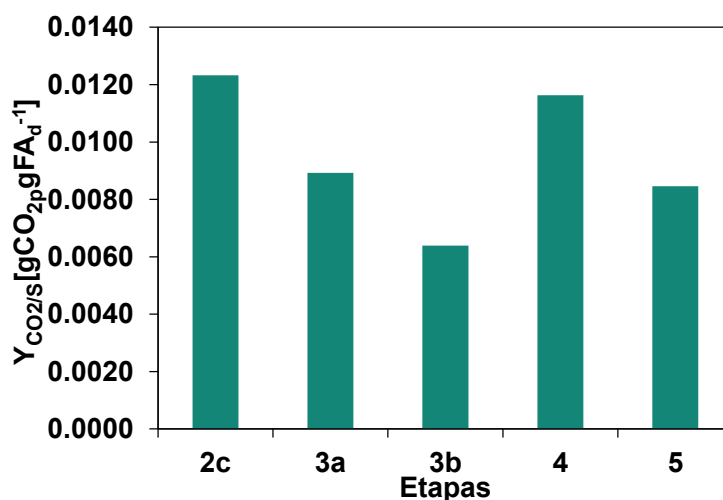


**Figura 33.** Coeficiente de rendimiento biomasa/sustrato ( $Y_{X/S}$ ) global del biofiltro. Expresado en g de Biomasa producida  $\text{g}^{-1}$  de formaldehído degradado.





**Figura 34.** Velocidad de utilización de sustrato ( $r_{ut}$ ) global del biofiltro. Expresado en g de Formaldehído degradado  $g^{-1}$  de Biomasa producida)



**Figura 35.** Coeficiente de conversión de sustrato a CO<sub>2</sub> (Y<sub>CO2/S</sub>). Expresado en g de CO<sub>2</sub> producido  $g^{-1}$  de formaldehído degradado.

**Tabla 17.** Parámetros cinéticos durante la adición de ozono\*

Etapa	$\mu$ [h <sup>-1</sup> ]	rut [g FA degradado gBiomasa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	YX/S [gBiomasa gFA degradado <sup>-1</sup> ]	YCO2/S [gCO <sub>2</sub> producido gFAdegradado <sup>-1</sup> ]
2c	0.00112	0.0470	0.06	0.0123
3a	0.00061	0.0214	0.05	0.0089
3b	0.00014	0.0372	0.01	0.0064
4	0.00025	0.0715	0.02	0.0116
5	0.00072	0.0318	0.06	0.0085

\*Sin ozono: 2c; con ozono: 3<sup>a</sup>, 3b, 4, 5 y 6.

Después de la etapa 4 se presentó un decremento de  $r_{ut}$  hasta  $0.076 \text{ g FA degradado gBiomasa}^{-1}\text{h}^{-1}$  (etapa 6). Los incrementos en la concentración de formaldehído afectaron la velocidad de asimilación de formaldehído. Otros tratamientos biológicos que han estudiado la degradación de formaldehído han reportado problemas de inhibición con diferentes concentraciones de formaldehído utilizadas en agua [Ebrahimi y Borghei, 2011; Lu y Hegemann, 1998].

Wang *et al.* [2009] estudió los cambios en las capacidades metabólicas con un método colorimétrico evaluando el desarrollo del color promedio en una celda-reactivo llamado AWCD (por sus siglas en inglés) durante la adición de ozono y sin este. Muestran que las pendientes de las curvas de AWCD incrementan en la presencia de ozono y estos incrementos fueron mayores con el tiempo. Lo cual coincide con los resultados obtenidos en las etapas, 4, 5, y 6 pero no para las etapas 2 y 3 de las que se concluye un efecto negativo sobre las capacidades metabólicas por la adición de ozono.

La conclusión más importante es que después de la etapa de larga operación (Etapas 3a y 3b), se alcanzó la máxima velocidad de utilización de sustrato ( $r_{ut}$ ) así como el máximo coeficiente  $Y_{CO_2/S}$  los cuales son dos parámetros importantes, ya que asimilan rápido al contaminante y además tienen alta conversión de sustrato a  $CO_2$  (**Figura 34** y la **Figura 35**, Etapa 4).

Por otro lado, se debe tener en cuenta que estos valores son específicos del consorcio utilizado, el contaminante tratado, el material de empaque usado y las condiciones de operación probados. Avalos-Ramírez [2008] reportó un valor de  $\mu$  de  $0.037 \text{ h}^{-1}$  para un filtro de lecho escurrido que trataba metanol y para un biofiltro convencional valores entre  $0.0001$  y  $0.0025 \text{ h}^{-1}$ . Sharefdeen *et al.* [1993] obtuvo valores de  $\mu$  entre  $0.05$  y  $0.16 \text{ h}^{-1}$  para la biofiltración de metanol que es más biodegradable que el formaldehído por eso tiene más altos valores de  $\mu$ . Sin embargo, en los reactores de biopelícula no es deseable que la velocidad de crecimiento específica sea grande ya que provocaría más rápido el taponamiento (*clogging* o *biofouling*) del reactor.

## 8. CONCLUSIONES

- ❖ Altas concentraciones de entrada durante la biofiltración de formaldehído pueden ser tratadas con la adición de bajas concentraciones de ozono. En este estudio se alcanzó a degradar, mediante biofiltración, una concentración inicial de  $2.4 \text{ gm}^{-3}$ , la cual comparada con la concentración máxima alcanzada en este estudio sin ozono ( $0.7 \text{ gm}^{-3}$ ) es 3.4 veces superior; en comparación con el trabajo de Prado (2006) es 3 veces superior y en contraste con el trabajo de García-Pérez, (2012) la concentración tratada en este estudio es 2 veces superior.
- ❖ La adición de ozono hace posible la recuperación del desempeño en la biofiltración de formaldehído que ha sido acidificado, debido a la reacción de éste con los subproductos de degradación producidos vía química y/o biológica. Además, la adición de ozono regula el pH en un nivel óptimo (7-8) para la biofiltración de formaldehído.
- ❖ La adición de ozono no afectó el desempeño global del biofiltro, más bien podría verse favorecido, ya que disminuyó el contenido de EPS y el espesor de biopelícula.
- ❖ La disminución en los parámetros cinéticos puede deberse a la adición de ozono o al choque de carga de formaldehído.
- ❖ La viabilidad del sistema disminuyó ligeramente con los incrementos en las concentraciones de formaldehído sin afectar el desempeño global del sistema. La viabilidad del módulo I se perdió completamente, durante los incrementos en la concentración de formaldehído. Aunque es complejo separar el efecto del ozono y el efecto del formaldehído sobre la viabilidad y el crecimiento de la biopelícula. Se puede concluir que el incremento en las concentraciones de formaldehído provocó la pérdida de viabilidad del módulo I, el cual no puede ser atribuido a la adición de ozono ya que este permaneció constante en la segunda parte del experimento.

## 9. PERSPECTIVAS

En estos días las herramientas para la identificación de microorganismos están bien desarrolladas y se utilizan con el afán de encontrar al microorganismo ó microorganismos identificados por género y especie, capaces de soportar altas concentraciones de un contaminante que además soporta la presencia de un biocida que resulta en el mejoramiento del tratamiento biológico, lo cual es valioso para una aplicación real, o puede dar lugar a investigaciones de los genes que dan esta resistencia que sería posible pasar a otro microorganismo de fácil crecimiento.

Por otro lado, sería interesante estudiar las cinéticas de adsorción del formaldehído sobre la perlita a diferentes pH, ácido, neutro y básico, ya que los módulos del biofiltro desarrollaron diferentes pH; el más ácido (módulo I) mostró desorción durante un largo tiempo de operación. Es necesario hacer más experimentos que justifiquen el incremento de formaldehído en la salida del módulo I.

El balance de carbono indica que una gran parte de productos en la fase gaseosa no son cuantificados, y en esta fase no se detectaron ni cuantificaron subproductos, los que fueron reportados se detectaron en la fase líquida. Por lo que resultaría de interés cuantificar al menos uno de los subproductos principales de degradación del compuesto que se esté tratando, sea formaldehído, metanol, tolueno, etc.

El seguimiento de la posible degradación de metanol como parte de la solución en la que se encuentra el formaldehído también es necesario para atribuir adecuadamente la mineralización presentada al formaldehído o al metanol o a la mezcla de ambas.

## 10. OPINIÓN GENERAL

En la medida que la comunidad científica se vincule con las industrias se tendrán trabajos más valiosos para los estudiantes, los investigadores y la población en general. Un país como México necesita más que ciencia básica, necesita aplicar tecnología derivada de la ciencia en sus procesos para hacerlos eficientes, sostenibles y competitivos.

## II. REFERENCIAS

- [**Adroer et al., 1990**] Adroer N., Casas C., de Mas C. and Solà C., 1990, «Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomans putida*». *Applied Microbiology and Biotechnology*, 33, 217-220.
- [**AO, 2013**] Ozono Absoluto, 2013, «Vida media del ozono». [http://www.absoluteozone.com/Ozone\\_Article\\_Ozone\\_Half\\_Life.htm](http://www.absoluteozone.com/Ozone_Article_Ozone_Half_Life.htm)., consultado el 29 de Septiembre, 2013.
- [**Boncz, 2002**] Boncz M. A., 2002 «Selective oxidation of organic compounds in waste water by ozone- based oxidation processes» Ph.D. dissertation. *Thesis Wageningen University, Wageningen, the Netherlands*. Cap 2 y 7.
- [**Chen et al., 2013**] Chen S., Meng Y., Zhao Y., Ma X. y Jinlong, 2013, «GongSelective Oxidation of Methanol to Dimethoxymethane over Mesoporous Al-P-V-O Catalysts », *Alche Journal*, 59, 7, 2587-2593.
- [**Clesceri, 1999**] Clesceri L. S., Greenberg A. E., Eaton A. D. 1999, Standard Methods for the examination of water and waste water, Method 9215 Heterotrophic Plate Count. 20<sup>th</sup> Edition. APHA
- [**Clesceri, 1999b**] Clesceri L. S., Greenberg A. E., Eaton A. D. 1999, Standard Methods for the examination of water and waste water, Method 2320B. Carbonate, bicarbonate, and total alkalinity. 20<sup>th</sup> Edition. APHA
- [**Clesceri, 1999c**] Clesceri L. S., Greenberg A. E., Eaton A. D. Standard Methods for the examination of water and waste water, 1999. 20<sup>th</sup> Edition. APHA
- [**Costerton y Lewandowski, 1995**] Costerton W. y Lewandowski Z., 1995, «Microbial biofilms» *Annual Review of Microbiology*. 1995, 49, 711-745.
- [**Crittenden et al., 2005**] Crittenden J., C., Trussell R., R., Hand D., W., Howe K., J., y Tchobanflous G., 2005. *Water Treatment: Principles and Design*, 2a. Edición. John Wiley & Sons, Inc.
- [**Devinny et al., 1999**] Devinny J., Deshusses M. A., Webster T. S., 1999, *Biofiltration for air pollution control*. Lewis Publishers
- [**Fleming, 2002**] Fleming H.C., 2002, «Biofuling in water systems-cases, causes and countermeasures», *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 629-640.
- [**Fu y Shen, 2007**] Fu Y., J. Shen J., 2007, «Production of hydrogen by catalytic reforming of dimethoxymethane over bifunctional catalysts», *Journal of Catalysis*, 248,101-110.

- [Galindo et al., 2011] Galindo H., Revah S., Cervantes F.J., Arriaga S., 1999, «Effect of surfactant and oil additions in the biodegradation of hexane and toluene vapors in batch tests», *Environmental Technology*, 32, 167–173.
- [Gallastegui et al., 2011] Gallastegui G., Ávalos Ramirez A., Elías A., Jones J.P., Heitz M., 2011, «Performance and macrokinetic analysis of biofiltration of toluene and p-xylene mixtures in a conventional biofilter packed with inert material». *Bioresource Technology*, 102, 7657–7665.
- [García-Pérez, 2012] García-Pérez T. de J., 2012, Tesis: «Efecto de la adición de pulsos de ozono sobre la composición de la biopelícula durante la biofiltración de formaldehído». IPICYT.
- [Gottschalk et al., 2010] Gottschalk C., Libra J. A., Saupe A., 2010, «Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone and its Applications», 2nd Edition. Wiley-VCH. Pp. 169.
- [Gunten U., 2003] Gunten U., 2003, «Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation», *Water Research*, 37, 1443-1467.
- [Hidalgo et al., 2002] Hidalgo A., Jaureguibeitia A., Begoña-Prieto M., Rodríguez-Fernández C., Serra J. L., Llama M. J., 2002, «Biological treatment of phenolic industrial wastewaters by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1», *Enzyme and Microbial Technology* 31, 221–226.
- [IARC, 2006] IARC, 2006. «Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol». World Health Organization. *International agency for research on cancer*. 88, 62-63
- [Iuga et al., 2008] Iuga C, Olea R. y Vivier-Bunge A., «Mechanism and Kinetics of the OH• Radical Reaction with Formaldehyde Bound to an Si(OH)<sub>4</sub> Monomer». *Journal of the Mexican Chemical Society*. 51(4), 36-46.
- [Kaszycki, 2001] Kaszycki P., Tyszka M., Malec P. y Kołoczek H., 2001, «Formaldehyde and methanol biodegradation with the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*. An application to real wastewater treatment», *Biodegradation*, 12, 169–177.
- [Kato et al., 1983] Kato N., Shirakawa K., Kobayashi H. and Sakazawa C., 1983, «The Dismutation of Aldehydes by a Bacterial Enzyme» *Agricultural and Biological Chemistry*, 47 (1), 39-46.
- [Kuhnert et al., 2006] Kuhnert C., Albert M., Breyer S., Hahnenstein I., Hasse H. y Maurer G., 2006, «Phase Equilibrium in Formaldehyde Containing Multicomponent Mixtures: Experimental Results for Fluid Phase Equilibria of (Formaldehyde + (Water or Methanol) + Methylal) and (Formaldehyde + Water + Methanol + Methylal) and

- Comparison with Predictions», *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 45, 5155-5164.
- [Laspidou y Rittmann, 2002]** Laspidou C. S., Rittmann B. E., 2002, «A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass», *Water Research* 36, 2711–2720.
- [Lemon et al., 2007]** Lemon K. P., Higgins D. E., Kolter R., «Flagellar motility is critical for *Listeria monocytogenes* biofilm formation», *Journal of Bacteriology*, 189(12), 4418-4424.
- [Lemon et al., 2008]** Lemon K. P., Earl A. M., Vlamakis H. C., Aguilar C. y R. Kolter., 2008, Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. Bacterial biofilms, «A general model for biofilm development», *Current Topics in Microbiology and Immunology* 322, 4-7.
- [Liu y Fang, 2002]** Liu H., Fang H. P., 2002, «Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges», *Journal of Biotechnology* 95, 249–256.
- [Mah y O’Toole, 2001]** Mah TF, O’Toole GA, 2001, «Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents», *Trends in Microbiology*, 9, 4–39.
- [Maiuta et al., 2009]** Maiuta D., N., Hubschmid S., Giuliani N., Schwarzentruher P., Dow C.S., 2009, «Microbial degradation of formaldehyde in white mineral dispersions preserved with formaldehyde-releasing biocides», *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63(6), 769–777.
- [Manahan, 2000]** Manahan S. E., 2000, «Environmental Chemistry» 7<sup>th</sup>. Edition. Lewis Publishers. USA.
- [Mendoza et al., 2004]** Mendoza J. A., Prado Ó. J., Veiga M. C., Kennes C., 2004. «Hydrodynamic behaviour and comparison of technologies for the removal of excess biomass in gas-phase biofilters». *Water Research*. 38, 404-413.
- [Morton et al., 1998]** Morton LHG, Greenway DLA, Gaylarde CC, Surman SB, 1998 «Consideration of some implications of the resistance of biofilms to biocides», *International Biodeterioration and Biodegradation*, 41, 247- 259.
- [Moussavi y Mohseni, 2007]** Moussavi G. y Mohseni M., (2007), «Using UV pretreatment to enhance biofiltration of mixtures of aromatic VOC». *Hazardous Materials*, 144, 59–66.
- [Nielsen et al., 1997]** Nielsen P. H., Jahn A. and Palmgren R., 1997, «Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms», *Water Science and Technology*, 36, 11-19.

- [Pereira y Zaiat, 2009] Pereira N. S. y Zaiat M., 2009, «Degradation of formaldehyde in anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR)», *Journal of Hazardous Materials*, 163, 77-782.
- [Poels y Duine, 1989] Poels P. A. y Duine J. A., 1989, «NAD-linked, GSH- and factor-independent aldehyde dehydrogenase of the methylotrophic bacterium, *Hyphomicrobium X*», *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 271 (1), 240-245.
- [Poon et al., 2000] Poon R., Moir D., Elwin J., Nadeau B., Singh A., Yagminas A. y Chul I., 2000, «A study of the acid lability and acute toxicity of dimethoxymethane in Rats», *International Journal of Toxicology*, 19, 179-185.
- [Poznyak y Araiza, 2005] Poznyak T. y Araiza B., 2005 «Ozonation of Non-Biodegradable Mixtures of Phenol and Naphthalene Derivatives in Tanning Wastewaters», *Ozone: Science and Engineering*, 27, 351–357.
- [Prado et al., 2002] Prado Ó. J., Mendoza J. A., Veiga M. C. y Kennes C., 2002, «Optimization of nutrient supply in a downflow gas-phase biofilter packed with an inert carrier», *Applied Microbiology and Biotechnology* 59, 567-573.
- [Prado et al., 2004] Prado Ó. J., Veiga M.C., Kennes C., 2004. «Biofiltration of waste gases containing a mixture of formaldehyde and methanol», *Applied Microbiology and Biotechnology* 65, 235–242.
- [Prado et al., 2006] Prado Ó.J., Veiga M.C., Kennes C., 2006, «Effect of key parameters on the removal of formaldehyde and methanol in gas-phase biotrickling filters», *Journal of Hazardous Materials*, 138. Pp. 543-548.
- [Prado et al., 2008] Prado Ó.J., Veiga M.C., Kennes C., 2008 «Removal of formaldehyde, methanol, dimethylether and carbon monoxide from waste gases of synthetic resin-producing industries», *Chemosphere*, 70, 1357–1365.
- [Rakness et al., 1996] Rakness K., Gordon G., Langlais B., Masschelein W., Matsumoto N., Richard Y., Robson M. C., Somiya I., 1996, «Guideline for measurement of ozone concentration in the process gas from an ozone generator». *Ozone Science and Engineering*. 18, 209-229.
- [Rittmann y McCarty, 2001] Rittman B.E. y McCarty P.L., 2001, *Environmental Biotechnology: Principles and applications*. Why Biofilms? Cap. 4. Pp. 208. McGrawHill.
- [Sharefdeen y Singh, 2004] Sharefdeen Z. y Singh A., 2004, «Biotechnology of odor and air pollution control», Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2005.
- [Sitio Web 1] «[http://bacteriasextremasherramientas.mex.tl/789056\\_LEY-DEL-MINIMO-DE-LIEBIG.html](http://bacteriasextremasherramientas.mex.tl/789056_LEY-DEL-MINIMO-DE-LIEBIG.html)», recuperado el 17 de Agosto, 2013]



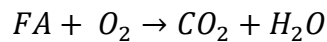
- [**Spormann, 2008**] Spormann A. M., 2008, Capítulo: Physiology of Microbes in Biofilms. «Global Regulators Determine the Physiology of Subpopulations of Biofilm Cells», *Bacterial Biofilms, Current Topics in Microbiology and Immunology* 322, 24-46.
- [**Tormo et al., 2002**] Tormo M. A., Úbeda C, Cucarella C., Trotonda P., Amorena, B, Lasa I., Penadés J. R., 2002 «Bap, una proteína implicada en la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus*, forma parte de elementos genéticos móviles en diferentes especies patógenas de *Staphylococcus coagulasa* negativos», Universidad Cardenal Herrera-C.E.U. 46113, Moncada, Valencia. España. Patología. <http://www.exopol.com/seoc/docs/028jt7h1.pdf> [Recuperado el 20 de Agosto, 2013]
- [**Wang et al., 2009**] Wang C., Jin -Ying X., Hong-Ying H. and Yuan Y., 2009, «Advantages of combined UV photodegradation and biofiltration processes to treat gaseous chlorobenzene». *Environmental Science and Technology*, 43, 9407–941.
- [**Wingender et al., 1999**] Wingender J., Neu T.R., Flemming H.C., 1999, «Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structures and Function». *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg Chapter 3.
- [**YSI, 2013**] YSI a Xylem Brand, 2013, «Tabla de solubilidad del ozono», <http://www.ysi.com/media/pdfs/DO-Oxygen-Solubility-Table.pdf>., consultado el 29 de Septiembre, 2013.
- [**Zhang et al., 2011**] Zhang X., Zhang S., Jian C., 2011, «Synthesis of methylal by catalytic distillation» *Chemical engineering research and design*, 89, 573–580.

## 12. APÉNDICES

### A. Cálculos

#### A1. Mineralización

La mineralización en el balance de carbono se calculó con la siguiente reacción estequiométrica:



En la cual se guarda la relación de carbono:  $\frac{\frac{12}{44}gC-CO_2}{\frac{12}{30}gC-FA} = 0.681$ , la cual debería cumplirse en una mineralización del 100%. Entonces con el formaldehído degradado se estima cuánto  $CO_2$  debería producirse y se compara con el obtenido experimentalmente.

$$\%Mineralización = \frac{CO_2 \text{ experimental}}{CO_2 \text{ teórico}} \cdot 100$$

El  $CO_2$  experimental se cuantificó en GC-MS y el  $CO_2$  teórico se calcula con la reacción de oxidación de formaldehído utilizando la cantidad de este compuesto que fue degradado.

#### A2. Balance de carbono

En el balance de carbono se hizo de forma global para toda la operación (310 días). Por lo tanto, fue necesario conocer el formaldehído degradado en ese periodo. Se obtuvo graficando los datos de la CE en el programa *Origin*, el cual tiene una función para estimar el área bajo la curva. En mi caso, obtuve una área de 16504.75 con unidades de  $gm^{-3}h \cdot Id$ , que se tiene que multiplicar por el volumen del biofiltro ( $m^3$ ) y por 24 (factor de conversión) y así obtengo los gramos de formaldehído eliminado. Recordar que la CE es una velocidad de eliminación de formaldehído en  $gm^{-3}h^{-1}$ . Después de estos cálculos, ya se conoce la masa de formaldehído degradado (g).

Con la masa total de formaldehído degradado (1148.7 g-FA) se calcula la cantidad de carbono:  $1148.7 \cdot \frac{12gC}{30gFA} = 459.5 gC-FA$  y con la relación teórica (0.681) para un 100% de mineralización, se deberían tener 312.91 gC- $CO_2$ . Sin embargo, del  $CO_2$  cuantificado e integrado (igual que el formaldehído) se obtuvieron 113.8 g C de  $CO_2$ . Entonces  $\frac{113.8}{312.91} \cdot 100 = 36.3\%$  de mineralización respecto al teórico.

El carbono soluble total es la suma de todo el carbono que se cuantificó en los lixiviados como carbono total.

La biomasa es la suma de todos los SSV en los lixiviados. Se determinaron SSVL<sup>-1</sup> y dado que conozco el volumen lixiviado puedo saber cuántos SSV se lixiviaron e hice la suma. Después para incluirlo en el balance de carbono hice la “suposición” de que ISSV=113gBiomasa/mol la cual tiene 60 g de Carbono por la ecuación de C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N.

La biomasa acumulada se calculó para cada módulo y se sumó. De cada uno se obtuvo una estimación en mgCTg<sup>-1</sup>soporte, entonces se multiplicó por la densidad aparente de la perlita ( $\rho_{ap}=106.8\text{gL}^{-1}$ ) y luego por el volumen del lecho del módulo correspondiente.

### A3. Parámetros cinéticos

La biomasa se estimó para cada módulo como carbono total por gramo de soporte seco (mgCTg<sup>-1</sup>soportesecco). Entonces, para calcular los parámetros cinéticos globales se obtuvo el promedio de la biomasa de los módulos.

i. Velocidad específica de crecimiento

$$\mu = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \ln \frac{B_2}{B_1} \cdot \frac{1}{24}$$

Donde:

$\mu$ = velocidad específica de crecimiento en h<sup>-1</sup>.

$t_2$ = día final del periodo evaluado en días.

$t_1$ = día inicial del periodo evaluado en días.

$B_1$ =biomasa estimada en  $t_1$  en mgCTg<sup>-1</sup>soportesecco.

$B_2$ = biomasa estimada en  $t_2$  en mgCTg<sup>-1</sup>soportesecco.

$\frac{1}{24}$ = factor de conversión de días a horas.

$B_1$  y  $B_2$  en el caso de la estimación de los parámetros globales son el promedio del contenido de biomasa de los tres módulos.

ii. Velocidad de utilización de sustrato

Se calculó con la siguiente ecuación:

$$r_{ut} = \frac{CE}{B} \cdot V$$

Donde:

CE= capacidad de eliminación de formaldehído en el periodo ( $t_2-t_1$ ) expresado en gm<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>.

V= volumen del lecho en m<sup>3</sup>.

B= $B_2-B_1$ = es la biomasa producida en el periodo ( $t_2-t_1$ ) en g de Biomasa\*.

\*En este caso se hizo una serie de consideraciones, con el objetivo de expresar  $r_{ut}$  como  $gFA_{degradado}g^{-1}Biomasa h^{-1}$ , las cuales se describen a continuación.

- La biomasa tiene una fórmula celular  $C_5H_7O_2N$  cuyo peso molecular es 113 g/mol (Rittmann, 2001). En donde 60 g corresponden al carbono. Entonces se tiene una relación  $113 gBiomasa/60gC = 1.883gBiomasa/gC$
- Este parámetro engloba toda la biomasa producida en el biofiltro (para los parámetros globales), la cual se calculó con la siguiente ecuación:

$$B_T = \frac{mg CT}{g_{ss}} \cdot \frac{1}{1000} \rho_{ap} \cdot V_L$$

Donde:

$B_T$  = Biomasa total en g CT.

$\frac{mg CT}{g_{ss}}$  = miligramos de carbono total por gramo del soporte seco (el promedio de los tres módulos en el caso de calcular los parámetros cinéticos globales).

$\frac{1}{1000}$  = factor de conversión de mg a g.

$\rho_{ap}$  = densidad aparente de la perlita = 106.8 l  $gL^{-1}$ .

$V_L$  = volumen del lecho en L

Finalmente la cantidad de biomasa se calcula con:

$$B = B_T \cdot 1.883 \frac{gBiomasa}{gC}$$

Donde la biomasa (B) queda expresada en g de Biomasa, la cual se utilizó en la ecuación  $r_{ut}$ .

iii. Coeficiente de conversión de sustrato a biomasa ( $Y_{X/S}$ )

$$Y_{X/S} = \frac{B}{CE \cdot \theta \cdot V \cdot 24}$$

Donde:

$Y_{X/S}$  = coeficiente de conversión de sustrato a biomasa en  $gB_{producida} g^{-1} FA_{degradado}$ .

B = biomasa en g de Biomasa en el periodo  $\theta$ . Se calcula como se explicó anteriormente.

CE = capacidad de eliminación de formaldehído en  $gm^{-3}h^{-1}$ .

$\theta$  =  $t_2 - t_1$ , es el periodo de la etapa evaluada en días.

24 = factor de conversión de días a horas.

iv. Coeficiente de conversión de sustrato a CO<sub>2</sub> (Y<sub>CO<sub>2</sub>/S</sub>)

$$Y_{CO_2/S} = \frac{Q \cdot (CO_{2Salida} - CO_{2Entrada})}{V \cdot CE}$$

$$Y_{CO_2/S} = \text{gCO}_2\text{producido g FA}_{\text{consumido}}^{-1}$$

V= volumen del lecho en m<sup>3</sup>

CE= Capacidad de eliminación en gm-3h-l

Q, flujo volumétrico (m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>).

## B. Composición de la perlita

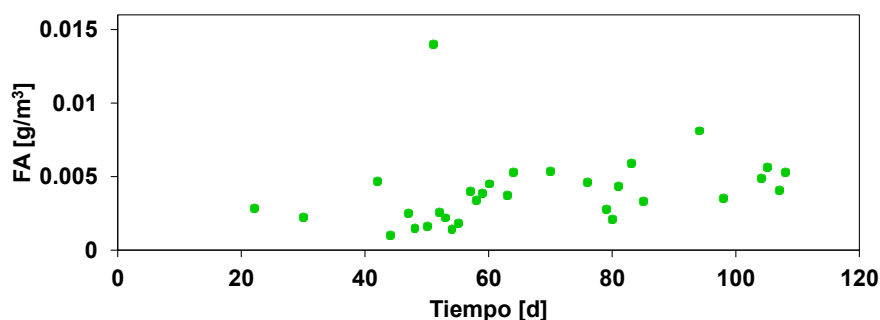
**Tabla 18.** Composición de la perlita

Elemento	Concentración (% en peso)± DS
C	2.4± 3.6
O	55.4±0.3
Na	2.3±0.3
Al	5.2±0.5
Si	31.0±3.7
K	2.3±0.3
Ca	5.2±0.5
Fe	31.0±3.7
Mg	ND
Ti	ND

DS, desviación estándar; ND, no detectado. Composición reportada por Prado *et al.*, 2004.

## C. Formaldehído en lixiviados

En la **Figura 36** se ve la concentración de formaldehído detectada en lixiviados durante 108 días. La concentración de formaldehído es muy baja, a este día con el “balance de carbono” se encontró que menos de 1% del formaldehído eliminado estaba disuelto en la fase acuosa.



**Figura 36.** Formaldehído cuantificado en lixiviados durante 108 días.

### D. Concentración de Ozono ¿Alta o baja?

La concentración de ozono utilizada en los sistemas de aire no debe ser comparada directamente con las concentraciones utilizadas en agua. Debe hacerse una conversión de la concentración en la fase gaseosa hacia la fase líquida que es como el ozono puede estar “biodisponible” para romper las células de los microorganismos.

La constante que relaciona la concentración de un gas y un líquido en equilibrio es la constante de Henry. En su forma adimensional para el ozono es:

$$H_{adim} = \frac{C_G}{C_L} = 3.23 \text{ a } 20^\circ\text{C}$$

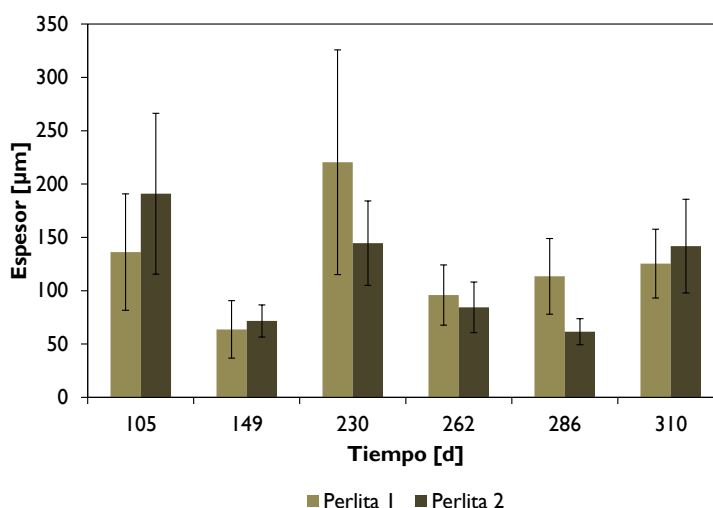
La máxima concentración de ozono que utilizaron Wang *et al.*, (2009) fue de 140  $\text{mgm}^{-3}$  en fase gaseosa la cual equivale a 43.26  $\text{mgm}^{-3}$  en agua. En este trabajo se utilizó una concentración de 90 ppbv o 0.190  $\text{mgm}^{-3}$  en la fase gaseosa lo cual equivale a 0.06  $\text{mgm}^{-3}$  en la fase líquida.

El rango de concentración de ozono utilizada en la desinfección durante el tratamiento de aguas residuales es de 0.1-10  $\text{mgL}^{-1}$  (100-10000  $\text{mgm}^{-3}$ ). Por lo que la concentración usada por Wang respecto a la mínima (100) usada en desinfección es 2.3 veces inferior y la usada en este trabajo es 526 veces inferior; por lo que no hay riesgo de causar muerte total de los microorganismos.

### E. Espesores de biopelícula y fotos de perlita

Para hacer las mediciones de espesor se prepararon tres perlitas, bajo la posibilidad de perder una muestra durante el tratamiento y hacer al menos mediciones por duplicados de partículas. En cada partícula se hicieron entre 6 y 24 mediciones según el tamaño de esta, siendo más para las más grandes.

En la **Figura 37**, se aprecian los espesores promedio de las mediciones realizadas por perlita observada y por día de muestro con sus respectivas desviaciones estándar. Como ya se discutió en la sección (6.6.3.4), el efecto del ozono sobre el espesor se aprecia del día 105 al 149, concluyendo que este tiene la capacidad de disminuir el espesor por oxidación de los EPS (Wang *et al.*, 2009). En los días 262, 286 y 310 se hicieron incrementos en la concentración inicial de formaldehído de  $1.4 \pm 0.04$ ,  $1.8 \pm 0.1$  y  $2.4 \pm 0.1 \text{ mgm}^{-3}$  en los cuales las barras de desviación estándar se intersectan, de lo cual se concluye que no hay efecto en el espesor por el incremento de concentración de formaldehído.

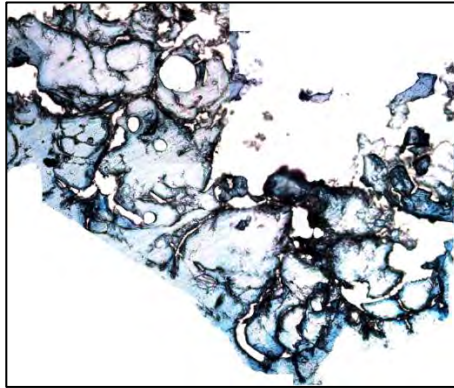


**Figura 37.** Espesor promedio de 6-24 mediciones por perlita para el módulo 2 en la segunda parte de operación.

Con objetivo de tener referencia visual de una perlita sin biomasa, se utilizaron tres partículas de perlita, las cuales nunca estuvieron en el reactor y se dejaron en agua durante una noche. Después recibieron el mismo tratamiento que el resto de las muestras, como se indica en la sección 6.6.3.4 de materiales y métodos.

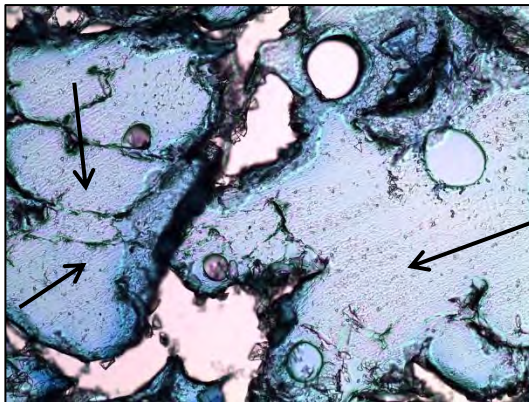
A continuación se muestran fotos 10X, 20X y 40X de una perlita de referencia (blanco) que fue procesada igual que el resto de las muestras, así como de algunas partículas analizadas correspondientes a los días 286 y 310 del módulo 2, con el

propósito de explicar dónde se hicieron las mediciones y cuáles fueron las diferencias visuales entre una partícula sin biopelícula y con biopelícula.

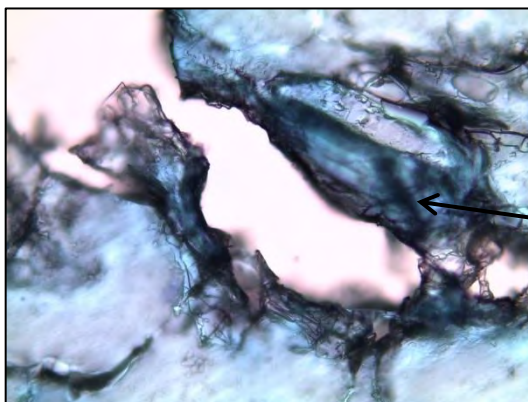


La perlita sin biomasa teñida con toluidina tomó este color azul, por lo tanto en las muestras con biomasa las áreas azules se consideraron como biopelícula

**Figura 38.** Perlita sin biomasa teñida con azul de toluidina al 1% (Objetivo 10X)

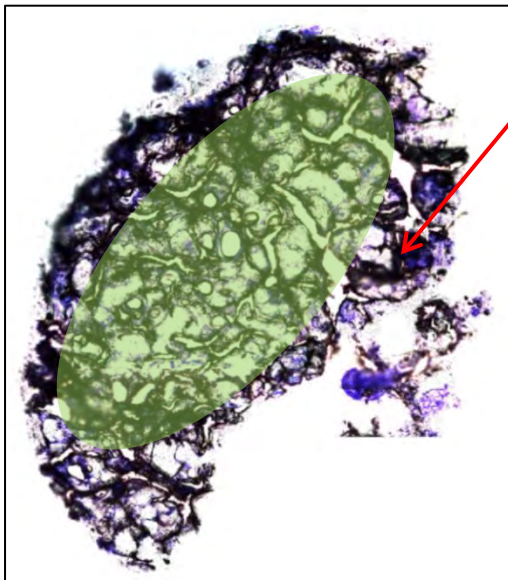


**Figura 39.** Perlita sin biomasa teñida con azul de toluidina al 1% (Objetivo 20X)



**Figura 40.** Perlita sin biomasa teñida con azul de toluidina al 1% (Objetivo 40X)

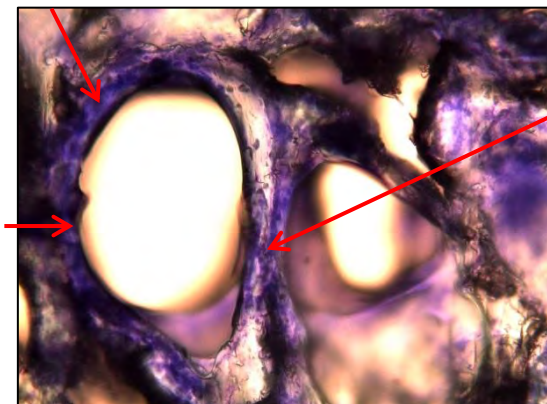




Microorganismos

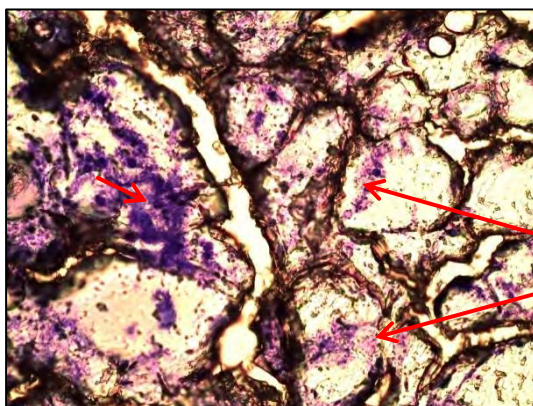
La biopelícula se midió sobre las imágenes 10X, fuera del área sombreada. Los cortes transversales se hicieron a distintas alturas o profundidades de la perlita. Aunado a esto, en el interior de la perlita se crean gradientes de concentración de oxígeno, contaminante, nutrientes, etc. Estas variables podrían sobrestimar efecto del ozono y las concentraciones de formaldehído sobre el espesor biopelícula. Por lo tanto, se consideró apropiado medir sólo el crecimiento de la biopelícula en la capa externa de las partículas, fuera del área sombreada.

Figura 41. Perlita I-Día 286 (Objetivo 10X)



Microorganismos

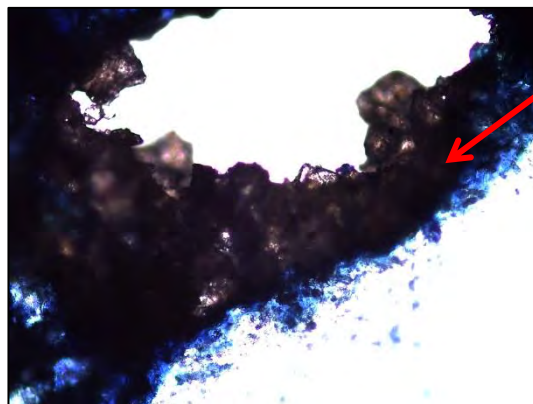
Figura 42. Perlita I-Día 286 (Objetivo 40X)



Microorganismos

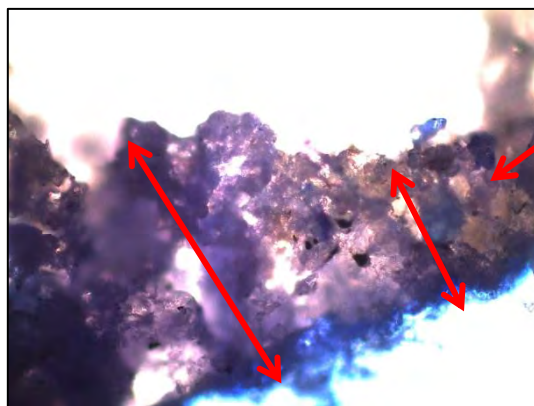
Las áreas moradas son microorganismos.

Figura 43. Perlita I-Día 286 (Objetivo 20X)



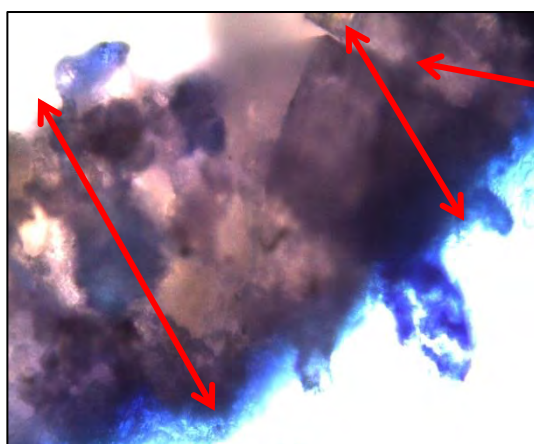
Microorganismos/Biopelícula

**Figura 44.** Perlita 3-Día 310 (Objetivo 10X)



Microorganismos/Biopelícula

**Figura 45.** Perlita 2-Día 310 (Objetivo 20X)



Microorganismos/Biopelícula

**Figura 46.** Perlita 3-Día 310 (Objetivo 40X)

## F. Aislamiento e identificación de hongos

Los hongos identificados fueron los siguientes:

**Tabla 19.** Hongos identificados del día 230

REFERENCIA	ORIGEN	IDENTIFICACIÓN EN BLAST	GÉNEROS RELACIONADOS	NÚMERO DE ACCESO	Fecha de acceso
HRPDAI-C1-II	Hongo Rosa Creció en: PDA Módulo I Día 230	<i>Fusarium proliferatum</i> ( <i>Gibberella intermedia</i> )	<i>Fusarium</i> <i>Hypocreales</i> <i>Cyttaria</i> <i>Botryosphaeria</i> <i>Sordariomycete</i>	JF793527.1	19-05-13
HR PDA2-C2	Hongo Rosa Creció en: PDA Módulo2 Día 230	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Gibberella</i> <i>Pestalotiopsis</i>	JN020659.1	19-05-13
HBG PDAI-III	Hongo blanco grande Creció en: PDA Módulo I Día 230	<i>Galactomyces reessii</i>	<i>Gibberella</i> <i>Pestalotiopsis</i>	HQ436459.1	19-15-13
LPDAI	Levadura Creció en: PDA Módulo I Día 230	<i>Komagataella pastoris</i> CBS 7435 ( <i>Pichia pastoris</i> CBS 7435)	<i>Candida</i> <i>Komagataella</i> <i>Saccharomycetes</i>		

Y al final...

...*"the love you take is equal to love you made"*  
...la opinión más importante de ti es la tuya.

