



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

**DISEÑO DE UN SISTEMA BIOLÓGICO CON COCTEL DE
MICROORGANISMOS FÚNGICOS PARA LA DEGRADACIÓN
DEL GAS METANO**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA QUÍMICA

AUTORA: DANIELA KATERINE BANDA CEDEÑO

DIRECTOR: ING. PAÚL GUSTAVO PALMAY PAREDESMSc.

Riobamba - Ecuador

2022

©2022, Daniela Katerine Banda Cedeño

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Daniela Katerine Banda Cedeño, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular: El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 24 de junio de 2022



Daniela Katerine Banda Cedeño
180419978-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

El Tribunal de Trabajo de Integración Curricular certifica que : El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **DISEÑO DE UN SISTEMA BIOLÓGICO CON COCTEL DE MICROORGANISMOS FÚNGICOS PARA LA DEGRADACIÓN DEL GAS METANO**, realizado por la señorita: **DANIELA KATERINE BANDA CEDEÑO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Fabian Ernesto Arias Arias MSc.Ph. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-06-24
Ing. Paúl Gustavo Paredes Palmay Msc. DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-06-24
BqCl. Mishell Carolina Moreno Samaniego MSc. ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-06-24

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios quien me ha bendecido en cada momento de mi vida, abriendo el cielo y llenándome de oportunidades únicas en la vida, quien me ha dado el valor para seguir adelante y ser quien soy ahora. A mi madre Myrian Cedeño quien ha sido padre y madre en mi vida siendo mi motor, mi inspiración para salir adelante acompañándome y apoyándome en cumplir mi sueño. A mi tía Lileana quien ha sido como mi segunda madre apoyándome a la distancia desde Italia y ha estado pendiente de mí como su hija. A mi abuela Elvia quien me ha dado ejemplo de lucha y fuerza. A mi hermano Andrés quien ha estado ahí para sacarme una sonrisa y deleitarme con abrazos en momentos difíciles. A mis primos Karina y Geovanni que son como mis hermanos que a la distancia han estado con palabras de apoyo y han creído en mí y en mis capacidades. Porque son el tesoro más importante que tengo en mi vida, mi familia, este presente trabajo es dedicado con todo mi corazón para ustedes.

Daniela

AGRADECIMIENTO

A Dios quien me ha permitido cumplir mi sueño, guiándome en cada paso de mi vida, enseñándome a ser fuerte y valiente y que todo lo puedo lograr en su nombre, su fidelidad me ha acompañado durante este todo este tiempo y me ha permitido culminar una meta más, quien me ha probado que con fe se consigue todo. A mi madre Myrian Cedeño quien ha sido padre y madre, mi motor e inspiración para salir adelante, apoyándome en todos los sentidos y sobre todo por creer en mí. A mi tía Lileana que es como mi segunda madre y me ha querido como una hija más, ha estado pendiente de mí y de mi madre siempre, su apoyo ha sido incondicional para cumplir este sueño, demostrándome que consagración, valentía, fuerza y amor incondicional a la familia la distancia no nos separa. A mi hermana del alma Karina quien me ha acompañado siempre confiando y creyendo en mí, apoyándome moralmente a la distancia siendo la confidente de mis altibajos. Andrés y Geovanni quienes me han dado mis mayores alegrías en momentos difíciles. A mi director de tesis “Inge” Paul Palmay que más allá de ser docente es un amigo, quien me motiva para alcanzar mis metas, y me ha apoyado en los momentos más difíciles de mi vida, demostrándome ser el mejor docente que he tenido en mi vida universitaria. A la Ingeniera Raquel Lebrero quien es la anfitriona de este trabajo de titulación abriéndome las puertas en la Universidad de Valladolid-España, orientándome académicamente en toda la experimentación. A Bqf. Mishell Moreno por su colaboración y paciencia durante el desarrollo de este trabajo de investigación. A mis amigos de danza “Ayahuashca” que son incondicionales, con los que compartí mi formación artística, la vida de foráneo, noches de repasos, mil y un risas en cada experiencia artística, motivándome a ser mejor amiga, bailarina, líder.

Daniela

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	
1.MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	4
1.1.Antecedentes de la investigación.....	4
1.2.Marco conceptual o glosario.....	7
1.2.1.Calentamiento global.....	7
1.2.2.Gases de efecto invernadero.....	7
1.2.2.1.Gases de efecto invernadero directos.....	8
1.2.2.2.Gases de efecto invernadero indirectos.....	8
1.2.3.Compuestos orgánicos volátiles.....	8
1.2.4.Elmetano como gas de efecto invernadero.....	8
1.2.5.Metano.....	9
1.2.5.1.Características fisicoquímicas del metano.....	9
1.2.6.Biotecnología.....	10
1.2.7.Bioremedación.....	10
1.2.7.1.Bio-estimulación.....	10
1.2.7.2.Bio-aumentación.....	11
1.2.7.3.Biosorción.....	11
1.2.8.Tecnologías de tratamiento de metano.....	11
1.2.8.1.Biofiltros.....	12
1.2.8.2.Biofiltros de lecho escurrido.....	12
1.2.8.3.Biolavador.....	13
1.2.9.Parámetros de diseño de un sistema de biofiltración.....	13
1.2.9.1.Características del gas contaminante.....	13
1.2.9.2.Material filtrante.....	14
1.2.9.3.Humedad del material filtrante.....	15

1.2.9.5. <i>Microorganismos</i>	15
1.2.10. <i>Bioquímica de oxidación del metano</i>	16
1.2.11. <i>Bacterias metanotrofas</i>	16
1.2.12. <i>Hongos degradadores de COVs</i>	17
1.2.13. <i>Medios de cultivo</i>	18
1.2.13.1. <i>Medios definidos</i>	18
1.2.13.2. <i>Medios complejos</i>	18
1.2.13.3. <i>Medios selectivos</i>	18
1.2.13.4. <i>Medios diferenciales</i>	18
1.2.14. <i>Medio de cultivo “BulionSabourauda”</i>	18
1.2.15. <i>Micología</i>	19
1.2.16. <i>Estructura de los hongos</i>	19
1.2.16.1. <i>Hifas</i>	19
1.2.16.2. <i>Micelio</i>	19
1.2.16.3. <i>Esporas</i>	20
1.2.17. <i>Reproducción fúngica</i>	20
1.2.17.1. <i>Reproducción asexual</i>	20
1.2.17.2. <i>Reproducción sexual</i>	20
1.2.18. <i>Hongo Fusarium solani</i>	21
1.2.18.1. <i>Generalidades</i>	21
1.2.18.2. <i>Características macroscópicas de cultivos</i>	21
1.2.18.3. <i>Características microscópicas</i>	22
1.2.19. <i>Hongo Cándida subhashii</i>	22
1.2.19.1. <i>Generalidades</i>	22
1.2.19.2. <i>Características macroscópicas de cultivos</i>	23
1.2.19.3. <i>Características microscópicas</i>	23

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.....	24
2.1. Hipótesis y Variables.....	24
2.1.1. <i>Hipótesis General</i>	24
2.1.2. <i>Hipótesis Específica</i>	24
2.2. Identificación de variables.....	24
2.2.1. <i>Variable independiente</i>	24
2.2.2. <i>Variable dependiente</i>	24
2.3. Operacionalización de variables.....	26

2.4. Matriz de consistencia	28
2.5. Tipo y diseño de investigación	30
2.5.1. Tipo de investigación	30
2.5.1.1. Experimental	30
2.5.2. Diseño de investigación	30
2.6. Unidad de análisis	31
2.7. Tamaño de muestra	31
2.8. Selección de muestra	32
2.9. Técnicas de recolección de datos	32
2.9.1. Preparación del inóculo	32
2.9.2. Inoculación indirecta	36
2.9.3. Inoculación directa	39
2.9.4. Caracterización de lixiviados	46
2.9.4.1. Análisis de TOC e IC 500	46
2.9.4.2. Análisis de Ph	46
2.9.4.3. Análisis de electronegatividad	47
2.9.5. Caracterización de la corriente de gas metano –aire	47
2.9.5.1. Medida de presión de entrada	48
2.9.5.2. Método para la medida de caída de presión	48
2.9.5.3. Medida de caudal de presión	49
2.9.5.4. Cromatografía de gases	50
2.9.6. Caracterización de los parámetros del sistema	51
2.9.6.1. Eficiencia de remoción	51
2.9.6.2. Producción de CO₂	51
2.9.6.3. Capacidad de eliminación	51
2.9.6.4. Tiempo de residencia EBRT	52
2.9.7. Caracterización de microorganismos fúngicos	52
 CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
3.1. Análisis de resultados	55
3.1.1. Diseño de sistema biológico	55
3.1.2. Caracterización de inoculación	56
3.1.2.1. Caracterización cualitativa	56
3.1.3. Pruebas abióticas	58
3.1.4. Control de caudal de salida	59

3.1.5. Comportamiento del pH	62
3.1.6. Efecto de la caída de presión en el sistema	65
3.1.7. Porcentaje de remoción	67
3.1.7.1. Porcentaje de remoción con el primer tratamiento	67
3.1.7.2. Porcentaje de remoción con el segundo tratamiento	71
3.1.8. Producción de CO₂	77
3.1.8.1. Producción de CO₂ con el primer tratamiento	77
3.1.8.2. Producción de CO₂ con el segundo tratamiento	78
3.2. Prueba de hipótesis	79
3.2.1. Hipótesis específicas	80
3.2.1.1. Hipótesis 1	80
3.2.1.2. Hipótesis 2	80
3.2.1.3. Hipótesis 3	80
3.2.2. Hipótesis general	80
3.2.2.1. Análisis ANOVA en base al tratamiento aplicado a los biofiltros y el %RE	80
CONCLUSIONES	82
RECOMENDACIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Propiedades Fisicoquímicas más importantes del metano.....	9
Tabla 2-1: Bacterias y hongos degradadores de emisiones gaseosas	17
Tabla 3-1: Clasificación taxonómica	21
Tabla 4-1: Taxonomía de <i>C.subahashii</i>	23
Tabla 1-2: Operacionalización de variables.....	26
Tabla 2-2: Matriz de consistencia.....	28
Tabla 3-2: Diseño experimental de la investigación.....	31
Tabla 4-2: Preparación de inóculo en medio de cultivo Sabouraud.....	34
Tabla 5-2: Proceso de inoculación directa y elección de material de relleno.....	37
Tabla 6-2: Proceso de inoculación directa con <i>Fusarium Solani</i> y <i>CandidaSubhashii</i>	41
Tabla 7-2: Proceso de inoculación directa y elección del material de relleno.....	44
Tabla 8-2: Análisis de TOC e IC 500.....	46
Tabla 9-2: Método para determinar el pH.....	47
Tabla 10-2: Método para medir la conductividad.....	47
Tabla 11-2: Método para la toma de presión de entrada.....	48
Tabla 11-2: Método de la caída de presión.....	48
Tabla 13-2: Medidas del caudal de salida.....	49
Tabla 14-2: Toma e inyección de muestras en el cromatógrafo GC-TCD AGILENT.....	50
Tabla 15-2: Método de resiembra para observar la apariencia de las colonias.....	52
Tabla 16-2: Observación microscópica de estructuras fúngicas.....	53
Tabla 1-3: Diseño de un sistema biológico.....	55
Tabla 2-3: Caracterización cualitativa del inóculo.....	56
Tabla 3-3: Pruebas abióticas del sistema de biofiltración.....	56
Tabla 4-3: Composición química de medio mineral (MSM).....	62
Tabla 5-3: Caída de presión semanal.....	66
Tabla 6-3: Análisis de varianza de la hipótesis 1.....	79
Tabla 7-3: Análisis de varianza de tratamiento 1.....	80
Tabla 8-3: Análisis de varianza de tratamiento 2.....	81

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-1: Rangos de aplicación de las tecnologías para el tratamiento gases.....	12
Ilustración 1-2: Preparación de inóculo de <i>Fusarium Solani</i> y <i>Cándida Subhashii</i>	33
Ilustración 2-2: Inoculación indirecta de microorganismos en el relleno de los biofiltros....	36
Ilustración 3-2: Inoculación indirecta de microorganismos en el relleno de los biofiltros.....	39
Ilustración 4-2: Inoculación indirecta de microorganismos en el relleno de los biofiltros....	40
Ilustración 5-2: Inoculación indirecta de microorganismos en el relleno de los biofiltros....	43
Ilustración 1-3: Datos del caudal de salida, presión Vs días aplicados el tratamiento 1.....	59
Ilustración 2-3: Datos del caudal de salida, presión Vs días aplicados con 2do tratamiento..	60
Ilustración 3-3: Variación del pH conforme al tiempo para el tratamiento 1.....	62
Ilustración 4-3: Variación del pH conforme al tiempo para el tratamiento 2.....	64
Ilustración 5-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 1-tratamiento 1....	67
Ilustración 6-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 2-tratamiento 1....	68
Ilustración 7-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 3-tratamiento 1....	69
Ilustración 8-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 1-tratamiento 2....	71
Ilustración 9-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 2-tratamiento 2...	73
Ilustración 10-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 2-tratamiento 2.75	
Ilustración 11-3: Producción de CO ₂ con el tratamiento 1.....	77
Ilustración 12-3: Producción de CO ₂ con el tratamiento 2.....	78

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: CURVA DE CALIBRACIÓN DE BOMBAS

ANEXO B: CALIBRACIÓN DE CONTROLADOR DE FLUJO MÁSSICO

ANEXO C: CALIBRACIÓN DE ROTÁMETROS

ANEXO D: PREPARACIÓN DEL INÓCULO

ANEXO E: PREPARACIÓN E INÓCULO DEL SISTEMA

ANEXO F: TOMA DE MUESTRAS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue diseñar un sistema biológico con microorganismos fúngicos para la degradación de gas metano. Primero se planificó el diseño de los biofiltros en el cual se establecieron los parámetros de operación que consistieron en: la concentración porcentaje de metano, el tiempo de residencia, la presión de entrada del aire, caudal del aire, volumen del lecho filtrante, caudal de las bombas, elección del medio mineral. Se estableció el medio de cultivo y el agar "Saboreaud" para inocular las cepas de hongos *Fusarium solani* y *Cándidasubhashii*. Posteriormente, se construyeron las curvas de calibración de los rotámetros, bombas, medidor de flujo de metano (CH₄), cromatógrafo. Luego se inoculó las cepas *Fusarium solani* y *Cándidasubhashii* en el cultivo "Saboreaud" con un pH a 5.6 durante 3 días a 100 rpm, se mantuvo las cepas activas y puras con replicas cada 3 semanas, en el lapso de inoculación se estableció como material de relleno la arlita, y compost en el que se hicieron combinaciones de arlita y *Cándidasubhashii*, arlita y *Fusarium solani*, compost y *Fusarium solani*, se controló el pH del lixiviado de cada uno de los biofiltros manteniéndolos a pH 7. Para el análisis de los resultados se usó el método de cromatografía de gases, a través del método de lectura biogás ácido sulfhídrico (H₂S) alta sensibilidad, en la entrada del sistema y en las salidas de cada uno de los biofiltros. Se concluyó que, la producción de dióxido de carbono (CO₂), porcentaje de CH₄ y a través de un análisis estadístico se representa con gráficas de dispersión se observó los resultados de disminución de metano conforme al número de días de la experimentación. Se recomienda revisar las tuberías de todo el sistema, realizar el cambio de las tuberías que se encuentran con aspecto deteriorado.

Palabras clave: <INGENIERÍA QUÍMICA>, <MICROORGANISMOS FUNGICOS>, <BIOFILTROS>, <METANO>, <*CandidaSubhashii*>, <*Fusarium Solani*>, <SISTEMA BIOLÓGICO>.

1448-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

The objective of this research was to design a biological system with fungal microorganisms for methane gas degradation. First, the design of the biofilters was planned and the operating parameters were established, which consisted of methane concentration percentage, residence time, air inlet pressure, air flow rate, filter bed volume, pump flow rate, choice of mineral medium, culture medium and "Saboreaud" agar to inoculate the fungal strains *Fusarium Solani* and *Candida Subhashii*. Subsequently, the calibration curves of the rotameters, pumps, methane flow meter (CH_4), chromatograph were constructed. Then, the strains *Fusarium Solani* and *Candida Subhashii* were inoculated in the "Saboreaud" culture with pH 5, 6 for 3 days at 100 rpm, the strains were kept active and pure with replicates every 3 weeks, during the inoculation period, arlite and compost were used as filler material, in which combinations of arlite and *Candida Subhashii*, arlite and *Fusarium solani*, compost and *Fusarium solani* were made, the pH of the leachate from each of the biofilters was controlled, keeping them at pH 7. For the analysis of the results, the gas chromatography method was used, through the highly sensitive biogas-hydrogen sulfide (H_2S) reading method, at the inlet of the system and at the outlet of each of the biofilters. It was concluded that, the production of carbon dioxide (CO_2), percentage of CH_4 and through a statistical analysis is represented with scatter plots the results of methane decrease was observed according to the number of days of the experimentation. It is recommended to revise the pipes of the whole system to replace the pipes that are deteriorated.

Keywords:<CHEMICAL ENGINEERING>, <FUNGIC MICROORGANISMS>, <BIOFILTERS>, <METHANE>, <*Candida subhashii*>, <*Fusarium Solani*>, <BIOLOGICAL SYSTEM>



Abg. Ana Gabriela Reinoso. Mgs.

Ced: 1103696132

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

Actualmente, el calentamiento global se ha convertido en uno de los principales problemas que afectan al planeta, las industrias agrícolas, industrias químicas, industrias petroleras, entre otras son las generadoras de la contaminación ambiental. La presencia de agentes contaminantes son: físicas, químicas y biológicas, que son nocivos para el planeta y pueden llegar a ser perjudiciales en la salud de los seres humanos. Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) son los principales contaminantes que por su acción térmica afectan a la capa de ozono provocando el efecto invernadero.

El gas metano (CH_4) en conjunto con el CO_2 forman parte de los COVs, se encuentran entre los más letales para la capa de ozono. Las fuentes emisoras que generan un alto porcentaje de metano comprenden a los vertederos en un 21%, actividades de crianza de animales en un 49%, y a los combustibles fósiles y sector industrial en un 30%.

Según el Ministerio del Ambiente, en sus Reportes del inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero, en el Ecuador las emisiones del gas metano provienen del sector ganadero representando el 60% de la producción de metano y en un 37% la producción total de COVs. Según la base de datos que reporta (Cornejo, 2010), las emisiones de metano en el país fueron de 182 GgCOEq (Giga gramos CO_2 Equivalentes) (Benavides y León 2007).

Con el excesivo consumo de carne se ha incrementado la crianza de animales, lo que aumenta las deposiciones ganaderas teniendo una relación directamente proporcional con la producción de gas metano. Dichos residuos generan un importante flujo de emisiones gaseosas ricas en metano que de forma aislada no se controlan. Dichos residuos generan un importante flujo de emisiones gaseosas ricas en metano que de cierta forma no se controlan y no se pueden aprovechar de manera energética por lo tanto constituyen un gran problema debido a su aporte de gases de efecto invernadero. La alimentación del ganado es importante dado que según algunos componentes que el animal ingiere afectan a la fermentación entérica.

Justificación de la investigación

Se ha demostrado que los gases pertenecientes al grupo de los COVs tienen un papel importante en el calentamiento global. En la actualidad, la aplicación de tecnologías verdes permite que los procesos sean industrializados de manera responsable, y los desechos emitidos por las mismas tengan una adecuada remediación. Mediante la investigación de algunas alternativas eco amigables, se comienza a estudiar la posible adecuación a los procesos habituales permitiendo así frenar el calentamiento global. En la actualidad, se está exhortando que las tecnologías verdes se incluyan en los procesos de industrialización, las emisiones de trazas muy pequeñas no permiten que los equipos eliminen el 100% de contaminantes, por lo tanto, se investiga algunas alternativas que permitan dar una adecuada remediación y permitan frenar el calentamiento global.

El presente proyecto de investigación surge a partir de la problemática ambiental actual, donde el descuido de las grandes industrias generadoras de gases de invernadero y el poco estudio que tienen los tratamientos de gases volátiles han sido los principales causantes de esta emergencia global, provocando los efectos climáticos actuales. Por ello, los investigadores han planteado estrategias de biorremediación enfocada en la eliminación de los gases de invernadero mediante el uso de microorganismos fúngicos. Existen estudios que demuestran que el hongo *Graphiumsp*, en presencia de metanol es capaz de degradar metano. Esta investigación busca descubrir la viabilidad de usar nuevas cepas fúngicas y adicionalmente no generar contaminantes biológicos, orgánicos e inorgánicos. Bajo estas condiciones, se evaluará la actividad degradadora de cepas fúngicas de *Fusarium solani* y *Cándida subhashii* en un sistema de biofiltración que degrade gas metano.

Este proyecto se realizará en conjunto con la Universidad de Valladolid - España, en los laboratorios del grupo de investigación del Instituto de Procesos Sostenibles VOC y Micro algas. Se determinará las condiciones de operación en los sistemas de filtración y se verificará la viabilidad del uso de los recursos biológicos mediante pruebas cromatográficas que permiten medir la concentración del gas a la entrada y salida del sistema. Además, se buscarán materiales de relleno que permitan una mejor adsorción del gas.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general

Diseñar un sistema biológico con coctel de microorganismos fúngicos para la óptima degradación de gas metano.

Objetivos específicos

- Inocular cepas fúngicas de *Fusarium solani* y *Cándida subhashii* a partir de cepas puras en medios de cultivo específicos.
- Determinar las condiciones de operación del sistema de biofiltración mediante el control de una corriente de gas metano con los diferentes dispositivos adaptados al sistema.
- Analizar el flujo de salida de los biofiltros mediante cromatografía de gases, para verificarla viabilidad del uso de cepas de hongos *Fusarium Solani* y *Cándida subhashii* en la degradación de gas metano.

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

En la historia de la evolución humana, se ha visto que el hombre ha dado pasos agigantados en el desarrollo industrial, en consecuencia el planeta ha sido su principal víctima. A partir de la segunda guerra mundial, se generó un gran impacto en el desarrollo industrial de distintos países, desde las industrias de producción de armamento hasta industrias alimenticias, las cuales basaron su producción en el consumo masivo de esa época. En la actualidad, existe una mayor demanda del sector industrial y la mayoría de ellas conceptualizan solo las necesidades del ser humano sin tomar en cuenta el daño que generan al planeta con la producción de plásticos, gases, basura, etc.

La contaminación del aire es una problemática muy grave que si no lo frenamos a tiempo, en el futuro será muy tarde de controlar, todos los seres vivos necesitamos del consumo de agua y aire para sobrevivir, en el caso del ser humano al respirar aire contaminado en el futuro se desarrollará enfermedades respiratorias muy graves, cada día la capa de ozono se está destruyendo debido al calor; que no puede expulsar el planeta y regresa, sobrecalentando así el ambiente, en ocasiones, la naturaleza es capaz de amortiguar los efectos de la contaminación causada por algunos tipos de compuestos y bajo determinadas concentraciones, pero en otras claramente es insuficiente (Cuervo 2013).

Las distintas fuentes emisoras que generan un alto porcentaje de metano a nivel mundial son: fermentación entérica (29%), biomasa (3%), fuentes estacionarias y móviles (1%), agricultura-estiércol (4%), minería de carbón (6%), vertederos (10%), petróleo y gas (20%), aguas de desecho (9%), otras fuentes agrícolas (7%) y cultivo de arroz (10%), mismas que han mostrado un desinterés en el tratamiento de las emisiones de estos gases a la atmosfera. Según el Ministerio del Ambiente, en sus Reportes del inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero en el Ecuador, las emisiones del gas metano en su mayoría provienen del sector ganadero representando el 60% de la producción de metano y en un 30% la producción total de COVs.

La contaminación ambiental es muy alta en todo el planeta, en concreto, la contaminación atmosférica es la más afectada y genera residuos más difíciles de tratar. Las concentraciones, los caudales de contaminación, al ser altas las emisiones gaseosas COVs son más complicados de tratar debido a su baja solubilidad.

El carbono orgánico generado en las industrias, sufre reacciones de oxidación y reducción convirtiéndose en metano y dióxido de carbono, principalmente. Existen ya algunos procesos para el tratamiento de gases, sin embargo, se han investigado que algunos de estos presentan problemas adicionales al momento de llevarlos a grandes escalas, como la falta de reactivos, contaminantes secundarios y el desconocimiento para el tratamiento de estos efluentes ha causado indiferencia en su implementación (Ávalos et al. 2012).

En este proyecto nos centraremos en el gas metano que es uno de los gases que forma parte de los COVs, el cual es considerado el segundo más abundante y contaminante del planeta. Una alternativa de aprovechamiento es la generación de biogás, los caudales en altas proporciones pueden ser aprovechadas energéticamente suponiendo ser un proceso auto sostenible con ventajas económicas. La condición más importante para el uso del biogás es: su equivalencia energética que depende de la concentración de gas metano presente, dicho de otro modo, la concentración de gas metano es directamente proporcional al poder calorífico. Dependiendo del uso que se le dé al biogás, el estándar de calidad aumentará, por ello se debe tener en cuenta los costes y la rentabilidad de las instalaciones (Oswaldo et al. 2007).

Se debe tener en cuenta que, al trabajar con microorganismos, el sistema se condiciona tanto a variables del sistema como a las variables biológicas. Un estudio realizado en la biofiltración de metano con bacterias hace mención a las recetas de nutrientes (MSM); tanto a los compuestos con fuentes de nitrógeno y fósforo como a los nutrientes en trazas que están, en minúsculas cantidades. El MSM demostró la influencia de concentración de fósforo en las bacterias teniendo que, la producción de CO₂ es un indicador de la actividad biológica en el reactor e influye en el EC del reactor. De igual manera, menciona la relevancia del control de flujo volumétrico del CH₄ reportando resultados donde, el incremento de la capacidad de eliminación (EC) no es proporcional al caudal de gas de la entrada (GFR), el estudio reveló que, a diferentes caudales con pequeños cambios en los rangos utilizados, la capacidad de remoción de CH₄ era poco constante, sin embargo, al cambiar el GFR de forma drástica, la EC disminuía (Josiane y Michèle 2009).

Otro estudio demostró la eficacia de remoción de un contaminante utilizando filtros con diferentes rellenos; orgánico e inorgánico, demostrando que el material inorgánico puede dar capacidades de eliminación 2 veces más altas que el material orgánico. La selección incorrecta del material de empaque puede producir una baja eficiencia de biodegradación del gas seleccionado (Nikiema et al. 2005).

Hay diferentes maneras de tener una mejora en el proceso de filtración una de ellos es el control de la bio-película que se forma, el exceso de crecimiento microbiológico conduce a una obstrucción; otra opción que se ha dado a conocer según investigaciones por (Avalos Ramirez et al. 2012) demostraron que para mejorar el sistema de filtración tanto líquido-líquido como líquido-gas, se puede adicionar tensoactivos no iónicos, mejorando el porcentaje de remoción (RE), de 35% a un 65%, mostrando también una mejora en la inhibición de los microorganismos, en este artículo se menciona al tenso activo BRIJ 35, que tiene la capacidad de hacer que el metano sea más soluble en el filtro (Ávalos et al. 2012).

Con el avance de la ciencia en el campo de la biorremediación microbiológica, se han empezado estudios con aislamientos de bacterias metanótrofas aerobias, las cuales toman al gas metano como su única fuente de carbono y energía, ya sea para sobrevivir o para convertirlos en biogás, aminas, biopolímeros y productos de alto valor añadido, entre otras sustancias. Lo especial de este tipo de microorganismos, es su capacidad para realizar reacciones REDOX para obtener energía, esto se da gracias a las enzimas metano-mono-oxigenasa que se encuentran en los procesos de respiración, específicamente en la cadena respiratoria o transportadora de electrones de electrones. Es decir, la cadena la inicia un sustrato orgánico que es externo a la célula y que actúa como dador de electrones, de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradando, eliminando y consumiendo dicha sustancia (Urrutia et al. 2019).

La mico remediación hoy en día está siendo estudiada poco a poco, los científicos tienen un gran interés en este campo debido a la capacidad natural de ciertas cepas fúngicas de biodegradar, acumular, o retener los contaminantes, esto es gracias a la actividad enzimática del micelio, mecanismo propio del organismo.

Se ha determinado a través de estudios que existen especies de hongos que realizan la degradación de hidrocarburos, tales como alcanos volátiles y alquilbencenos, a través de vías metabólicas se oxida inicialmente el sustrato por medio de las monooxigenasas del citocromo (Prenafeta et al. 2018)

Los estudios realizados con diferentes tipos de hongos degradadores de hidrocarburos muestran que los productos de la degradación son solubles, luego son absorbidos y catalizados por enzimas internas; si se trata de xenobióticos poco biodegradables, los hongos toman el camino de cometabolismo (Abatenh et al. 2017).

Los estudios en micología han confirmado que los hongos filamentosos son buenos degradadores debido al alto crecimiento micelial, obteniendo una ventaja competitiva sobre las células individuales, la bibliografía confirma que los hongos toman el camino enzimático para degradar

los hidrocarburos naturales, su sistema de hifas es lo que permite colonizar y penetrar el sustrato rápidamente, además de transportar y redistribuir nutrientes dentro de su micelio.

La naturaleza extracelular de las enzimas que realizan la degradación permite a los hongos tolerar concentraciones altas de sustancias tóxicas de las que serían posibles si estos compuestos tuvieran que introducirse en la célula. Además, los compuestos insolubles que no pueden atravesar una membrana celular son susceptibles al ataque (Lebrero et al. 2016).

Menciona según estudios que las estructuras que permite la disponibilidad de los hongos en la degradación de contaminantes sólidos y gaseosos, son las enzimas fúngicas; un tipo de estas son las oxido reductasas extracelulares, causantes de la descomposición de la lignina y celulosa (compuestos similares de manera estructural a distintos contaminantes orgánicos), con este principio los hongos pueden actuar sobre diferentes contaminantes.

1.2. Marco conceptual o glosario

1.2.1. Calentamiento global

En palabras simples, el calentamiento global se puede entender como el aumento de temperatura de manera gradual del planeta, este fenómeno se da debido a dos causas: la principal es el aumento de manera exponencial de ciertos gases y la otra causa, es el impedimento de la salida de los rayos del sol, lo que causa el aumento de temperatura (Oswaldo et al. [2007]).

1.2.2. Gases de efecto invernadero (GEI)

Los gases que producen el efecto invernadero (GEI) tienden a ser naturales como antropogénicos y su presencia en la atmosfera desequilibra la temperatura del planeta, en términos técnicos, emiten radiación en determinadas longitudes de onda del espectro de radiación infrarroja que surge de la superficie de la tierra, esta propiedad produce el efecto invernadero.

Los gases que existen naturalmente en la atmosfera de la tierra son: vapor de agua (H_2O), dióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O), metano (CH_4) y ozono (O_3), existen los GEI manufacturados por el hombre como los compuestos halo carbonos, mismos que presentan halógenos en su composición, hidrofluorocarbonos (HFC) y per-fluorocarbonos (PFC).

Se clasifican según su composición química existente o en combinación:

1.2.2.1 Gases de efecto invernadero (GEI) directos

Son gases que se emiten a la atmósfera y aportan al incremento del efecto invernadero, en este grupo se encuentran los compuestos halogenados, dióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O), metano (CH_4) (Oswaldo et al. 2007).

1.2.2.2 Gases de efecto invernadero (GEI) indirectos:

Son gases contaminantes que al estar en contacto con la atmósfera se transforman en gases de efecto invernadero directo, son los principales precursores de ozono troposférico. A este grupo pertenecen los compuestos orgánicos volátiles (COV), monóxido de carbono y óxidos de nitrógeno (Oswaldo et al. 2007).

1.2.3. *Compuestos orgánicos volátiles (COV)*

Los compuestos orgánicos volátiles conocidos por sus iniciales como (COV), se encuentran en estado gaseoso a temperatura ambiente y la mayoría de ellos son moléculas cuyo principal elemento es el carbono, con una cadena menor a 12 carbonos, su característica principal es su alta volatilidad en el ambiente, suelen contener elementos como el flúor, oxígeno y azufre. Existen también aquellos que contienen compuestos alifáticos, ésteres, alcoholes y son contaminantes muy tóxicos para el ser humano (ISTAS 2010).

1.2.4. *El metano como gas de efecto invernadero*

El gas metano ocupa el segundo lugar en tanto se refiere a gases de efecto invernadero que son producto de actividades diarias humanas, este gas es conocido como el “malvado hermano gemelo” del CO_2 , es decir que este gas es el que más afecta al planeta, incluso más que el CO_2 .

La composición química del biogás oscila entre un 55-70% de metano, 30-45% de dióxido de carbono y 1-3% de otros gases, su Cp (poder calorífico) es entre los 5.500 Kcal/m³ (Oswaldo et al. 2007).

Pertenece a la clasificación de los gases de efecto invernadero directos, este es de gran importancia para determinar la capacidad de oxidación de la tropósfera, en la era actual el porcentaje de metano ha aumentado al doble, generado un forzamiento radioactivo directo a la atmósfera, este se remueve por reacción con radicales hidroxilo (OH), convirtiéndose en CO_2 . En

las fuentes de combustión más pequeñas, las velocidades de emisión son más grandes particularmente cuando ocurre fuego lento sin llama (Oswaldo et al. 2007).

1.2.5. Metano

El metano es considerado como un “gas de efecto invernadero” que atrapa el calor dentro de la atmósfera, entre todos los hidrocarburos es el más saturado y el más corto. Es el componente principal del gas natural, su fórmula molecular contiene a un carbono central unido a cuatro hidrógenos mediante un enlace covalente. Tiene una vida atmosférica aproximada de unos 12 años.

1.2.5.1. Características fisicoquímicas del metano

Las características físico químicas son las cualidades propias que presenta el gas frente a algún cambio externo.

Tabla 1-1: Propiedades fisicoquímicas más importantes del metano

Propiedad física o química	Valor
Formula Química	CH ₄
Masa Molecular	16.04 g/mol
Punto de Ebullición	-161 °C
Punto de Fusión	-183 °C
Solubilidad en agua	3.3 (ml/100 ml)
Densidad relativa del gas	0.6 referente al aire
Densidad líquida en el punto de ebullición	424.9 kg/m ³
Punto de inflamación	Gas inflamable
Temperatura de autoignición	537°C
Límites de explosividad	5-15 (% en volumen en el aire)
ΔH_f^0	-74.87 kJ/mol
S ⁰ gas, 1 atm	188 J/mol K
Gravedad específica (Aire=1)	0.56

Fuente: PRTR 2019.

1.2.6. Biotecnología

La biotecnología es una de las ramas de la ingeniería Ambiental en la que se han desarrollado diferentes parámetros para una correcta remediación, su objetivo es el tratamiento de contaminantes líquidos, sólidos o gaseosos que permiten transformar la materia en otros productos aprovechando las características físicas y químicas.

En cuanto al gas metano, se ha logrado implementar plantas energéticas a partir de la producción de biogás y digestión anaerobia, que son tratamientos a base de microorganismos. Los tratamientos que se dan van de acuerdo a la necesidad del investigador. La biotecnología se presenta como un conjunto de tecnologías con potencial para contribuir al desarrollo sostenible, ayudando a la solución de problemas de contaminación, como consecuencia se desenvuelve en distintos campos, tales como: la producción y elaboración de alimentos; la agricultura y la silvicultura, el sector de la salud, la producción de materiales, productos químicos y la protección del ambiente (Garzón et al. 2017).

1.2.7. Bio-remediación

Se considera biorremediación a los procesos, maneras y técnicas de cambiar los procesos convencionales por procesos que intervienen netamente con microorganismos, aprovechando las reacciones químicas, vías metabólicas para remover, o producir acciones favorables con el ambiente. Esta tecnología actúa a través de las intervenciones de la diversidad biológica para los propósitos de mitigación (y siempre que sea posible, la eliminación) de los efectos nocivos causados por los contaminantes ambientales en un sitio dado (Garzón et al. 2017).

Existen diferentes técnicas de biorremediación que se dan para que los microorganismos puedan vivir en simbiosis con los procesos. Es decir, se suple las necesidades de sobrevivir en el medio contaminado y se lo puede realizar por medio de acciones como la bioestimulación o la bioaumentación y bioadsorción, las cuales consisten en:

1.2.7.1. Bio-estimulación

La bio-estimulación se lleva a cabo con el fin modificar las condiciones ambientales del medio contaminado para así mejorar su capacidad de acoplamiento natural al medio en que se encuentra, esto se da con la adición de distintos nutrientes, la adición de O₂, el control de la temperatura, pH, y las condiciones que vienen dadas en procesos anaerobios. Todas estas condiciones se las

da en el bio-filtro para que logren su primera fase que también se la conoce como aclimatación (Pino et al. 2012).

1.2.7.2. Bio-aumentación

Esta estrategia persigue el objetivo de degradar el componente en específico, por ello se lleva a cabo con la adición de otros microorganismos de esta manera potencia la remediación del efluente a tratar. Esta estrategia disminuye el tiempo de aclimatación por ende inicia la biodegradación antes mejorando así la eficiencia (Pino et al. 2012).

1.2.7.3. Bio-sorción

Es el proceso importante de eliminación de metales y contaminantes del medio ambiente, consiste en la inmovilización de los iones metálicos con carga positiva, mediante la adsorción a los grupos iónicos negativos existentes en la superficie celular, y a los polisacáridos de la cubierta exterior de la mayoría de los microorganismos. Es un mecanismo de cinética rápida que no presenta una alta dependencia con la temperatura.”(Urrutia et al. 2019).

1.2.8. Tecnologías de tratamiento de metano

En la ingeniería química son importantes las operaciones unitarias una de ellas es la filtración, son las que más se ocupan en el tratamiento de líquidos, en esta fase es más fácil el control de las variables a operar, lo que ocurre de manera contraria con los gases debido principalmente a sus característica de solubilidad, temperatura y como gases son incomprensibles pueden presentarse tanto como una ventaja como una desventaja para el sistema. Existen diferentes tipos de tecnologías que se puede ocupar para el tratamiento de gas metano, el elegir una de ellas dependerá específicamente de la naturaleza del metano y las características físico químicas. Existen algunas tecnologías que en las que depende netamente del flujo volumétrico del gas y de concentración de COVs para poder aplicarse.

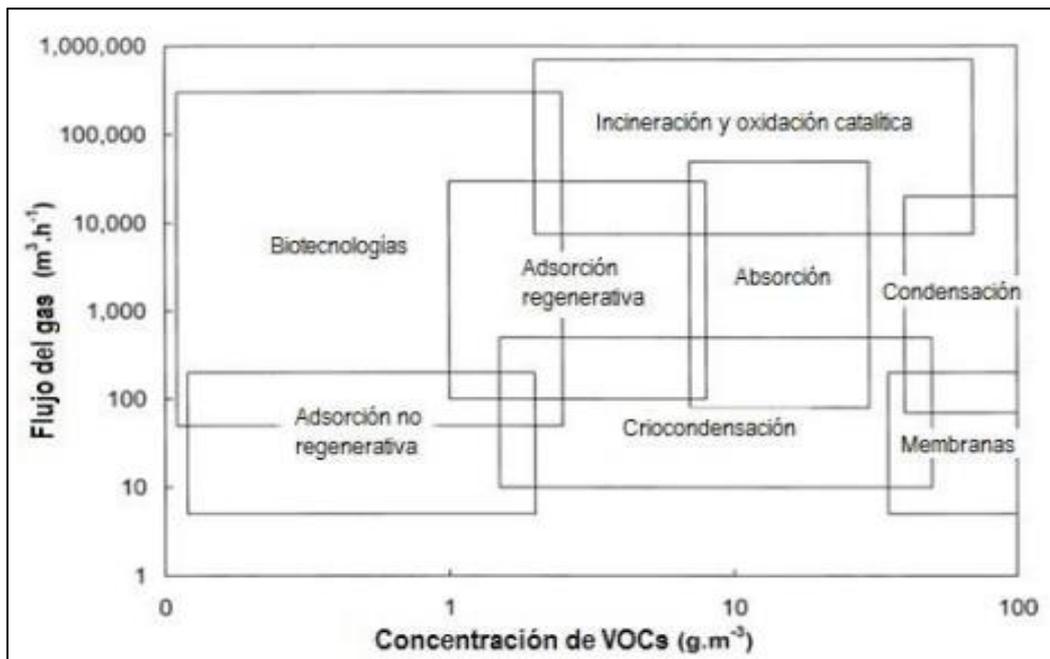


Ilustración 1-1: Rangos de aplicación de las tecnologías para el tratamiento de gases

Fuente: (Delhoménie y Heitz, 2005).

1.2.8.1. Biofiltros

A este tipo de tecnologías se los reconoce como reactores, en general estas son las que más se ocupan en la degradación de COV. La columna de este reactor tiene un lecho empacado es decir un material de relleno puede ser inerte orgánico o inorgánico (grava, arena, vermiculita, etc.), sobre el cual los microorganismos forman una bio-película. El mecanismo consiste en hacer pasar una corriente de aire contaminada de forma ascendente o descendente a través del lecho empacado para que los COV sean absorbidos por la bio-película, y por lo tanto, sean consumidos por los microorganismos (Jiménez y Villegas 2005).

La biomasa se queda inmovilizada en el relleno, la fase líquida que reciben los microorganismos es de manera ocasional, esta fase consiste en la solución de nutrientes preparada a un pH de 7 en hongos y para bacterias suele variar el rango.

1.2.8.2. Biofiltros de lecho escurrido

Un biofiltro de lecho escurrido tiene características similares a la de un biofiltro normal, este consiste en una columna que se encuentra empacada con un soporte inorgánico, este tiene 2 entradas y una salida, por una de las entradas se alimenta una corriente gaseosa que contiene al sustrato por biodegradar y una corriente líquida que es comúnmente reciclada a través del lecho y esta tiene la función de aportar nutrientes esenciales a la biopelícula así como remover los

productos de degradación de los microorganismos, la fase líquida también puede estar en movimiento para una posible recirculación y la irrigación al lecho puede ser de manera frecuente. La biomasa se encuentra inmovilizada en el material de empaque. Esta tecnología se recomienda para compuestos solubles en agua (Cárdenas 2003).

1.2.8.3. Bio-lavador

Una tecnología nueva e innovadora que se están poniendo en práctica para controlar la emisión del gas; son los filtros lavadores. Este tipo de tecnología tiene múltiples ventajas debido a sus bajos costos en la adquisición de los materiales, los costos de operación son menores.

Los bio-lavadores son otra configuración de reactor que se utiliza ampliamente para el mismo propósito. En este sistema, se tiene una fase líquida en la que se lleva a cabo la biodegradación, debido a que los COV son absorbidos y los microorganismos se encuentran como bio-películas suspendidas (Alfonso et al. 2020).

La operación consiste en hacer fluir el gas a contracorriente a través del líquido, donde los contaminantes y el O₂ son absorbidos. Posteriormente el líquido es alimentado a un reactor empacado de un material inerte cubierto de la película biológica encargada de degradar el contaminante, este tipo de biofiltros son adecuados para el tratamiento de compuestos muy solubles en agua (Cárdenas 2003).

1.2.9. Parámetros de diseño de un sistema de bio-filtración.

Existen diferentes tipos de parámetros que se considera en la operación de los biofiltros de los cuales dependerá la eficiencia en la remoción del gas contaminante. Los parámetros a considerarse son (Cárdenas 2003):

1.2.9.1. Características del gas contaminante:

La concentración del gas contaminante a tratar es uno de los parámetros que se define para la selección del biofiltro, el rango permitido en cuanto por cuestiones de seguridad de laboratorio es en una concentración de 0-5 g/m³. El flujo de gas permite determinar la EBRT del sistema, la manipulación del control de flujo de gas permite que exista una eficiencia difusiva en la fase gaseosa hacia los microorganismos, la cantidad de oxígeno y metano debe ser suficiente para que existan las reacciones de óxido reducción (Rodríguez et al. 2017)

La temperatura a elegir es de gran importancia dado que se determinan a partir de las necesidades de las comunidades microbianas y de los contaminantes a tratar, en caso de que la temperatura no se controle esta afecta directamente el metabolismo de los microorganismos, para microorganismos metanótrofos se ha demostrado en algunos estudios que el rango va desde los 5°C hasta los 62°C, en caso de los hongos se ha demostrado que pueden estar en ambientes relativamente húmedos con temperaturas de 24°C-30°C (Rodríguez et al. 2017)

El pH es otro factor importante en el que se desarrollan los microorganismos por se considera que el pH óptimo debe ser el que necesitan los microorganismos para su crecimiento, el cual es muy cercano a la neutralidad. Sin embargo, se ha reportado que las condiciones óptimas son a pH cercanos a la neutralidad y ligeramente ácidos 6.5-7 (Rodríguez et al. 2017)

Los microorganismos necesitan de nutrientes, por ello es importante escoger una receta correcta del medio mineral (MSM), donde no exista acumulaciones de iones amonio y nitrito debido a que estos inhiben en la degradación.

1.2.9.2. Material filtrante

El tipo de relleno que se utiliza en el soporte debe tener ciertas características que le permitan una mayor adsorción de gas o efluentes a tratar, el lecho filtrante también se lo conoce como relleno, es aquel material que se encuentra como soporte en la columna del filtro es decir se convierte en el hábitat de las comunidades microbianas, el tamaño de partícula, su distribución y geometría del poro debe proporcionar una mayor área superficial para la rápida transferencia del contaminante a la fase acuosa y una fracción considerable de espacios huecos, evitando tener una caída de presión alta (Cárdenas 2003).

Rellenos inorgánicos: Los rellenos inorgánicos suelen ser: polímeros inertes como la espuma de poliuretano, piedra pómez, cerámica, arlita mismas que son eficientes en buena resistencia mecánica, porosidad, superficie específica, este tipo de materiales se puede ajustar a los diferentes requisitos del proceso, pero no sirven como fuente alterna de nutrientes. Si existen valores altos de degradación con materiales inorgánicos estos se asocian a las buenas propiedades superficiales del relleno con el microorganismo formando así una buena bio-película (Heitz y Nikiema 2010).

Rellenos orgánicos: Los rellenos orgánicos como compost, residuos de moringa, sirven como soporte y producen algunas proteínas funcionales y nutrientes para los microorganismos oxidadores del gas metano CH₄, en algunas ocasiones excluye la necesidad de inocular con un

tipo de microorganismo debido a que se pueden encontrar bacterias metanótrofas de manera natural sin embargo se requiere una baja concentración intrínseca de amonio y nitrito (Mora 2020).

Hay que tener en cuenta que pueden existir algunos problemas al momento de la filtración, existe un gran límite a largo plazo, la compactación del material de empaque da como resultado la caída de presión y aparición de problemas de canalización en el filtro, el agotamiento de nutrientes es otro de los problemas si el sistema no tiene una correcta recirculación a tiempo(Heitz y Nikiema 2010).

1.2.9.3. Humedad del material filtrante

Es de vital importancia la humedad del material filtrante, se considera que entre un 40% y 60% es el rango óptimo en el que debe encontrarse el relleno es decir que debe existir el equilibrio entre la humedad relativa y el soporte húmedo, un bajo contenido de humedad en el lecho reduce el espesor de la bio película contribuyendo a la formación de canales indeseables y merma la actividad microbiológica y por consiguiente la del filtro, por otro lado un aumento de humedad puede crear una saturación provocando una zonas anaerobias o incrementar la caída de presión (Cárdenas 2003).

1.2.9.4. Microorganismos

La capacidad de degradación de los microorganismos involucrados en estos procesos depende de las características de los contaminantes. Las propiedades de los microorganismos en el relleno son: propiedades superficiales; que pueden incluir la producción de polisacáridos extracelulares (EPS), la rugosidad del relleno superficie del material, la carga y la características hidrofóbicas tanto de las células de los microorganismos como de las superficies del material de empaque(Pasmore et al. 2010).

Las investigaciones desarrolladas han demostrado que existe una amplia gama de microorganismos específicamente bacterias metanótrofas, que provienen de suelos contaminados, lodos activados, y compost (Cárdenas 2003).

Algunas bacterias tienen la capacidad de elaborar proteínas a partir de las fuentes de carbono en presencia de disoluciones nutritivas acuosas, de la misma manera existen ciertos microorganismos como levaduras- cándidas, que degradan la n-parafina con liberación de energía y paso a paso hasta CO₂ con lo que se produce simultáneamente masas celulares ricas en albuminoides. Las

masas celulares se extraen a partir de centrifugación, proceso que requiere de mucho cuidado puesto que su estructura es similar a la de un “Diente de león” (Hans 1981).

1.2.10. Bioquímica de oxidación del metano

Existen dos tipos de degradación que se producen en los microorganismos y dependen específicamente del aceptor de electrones, si el microorganismo utiliza el oxígeno como aceptor de electrones, la respiración se produce en condiciones aerobias. Por tanto, la biodegradación será de tipo aerobia; si el microorganismo utiliza los sulfatos o dióxido de carbono y se produce en condiciones aerobias, la degradación se dará de manera anaerobia (Cuba et al. 2005).

El gas metano es uno de los que más se produce y existe en mayor porcentaje en la naturaleza, cabe recalcar que no todos los microorganismos metanótrofos degradan el gas metano, el grupo de metanótrofos aerobios obligados son los que reciclan el gas metano y lo oxidan a CO_2 . Gracias a la enzima metano mono-oxigenasa y la hidroxilasa, se dan las reacciones de oxidación tanto de CH_4 y NH_4 (Cárdenas 2003).

La degradación del gas metano se da en diferentes etapas:



Figura 2-1 Secuencia de degradación de metano

- El metano se convierte en metanol
- El metanol para a convertirse en formaldehido
- El formaldehido para convertirse en ácido fórmico
- El formaldehido se convierte en CO_2

El paso más difícil que se da en la secuencia de degradación es pasar de metano a metanol debido a esta causa y su menor consumo de oxígeno, se propone a metanol. Además, el metanol es miscible con la solución nutriente resultando una mezcla homogénea (Hans 1981).

1.2.11. Bacterias metanótrofas

Los microorganismos metanótrofos son bacterias aerobias que oxidan metano y compuestos que en su estructura contengan carbono; existen algunos grupos de bacterias metanótrofas que sólo usan metano o metanol como fuente de carbono y energía, hay bacterias son muy versátiles *Pseudomonas*, que pueden recurrir a degradar más de 100 tipos de fuentes de C

(incluyendo entre ellas sustancias tan “exóticas” como hidrocarburos alifáticos y cíclicos). Estas bacterias oxidan el carbono en O₂ y CO o CO₂(Cárdenas 2003).

1.2.12. Hongos degradadores de COVs

La bio-remediación se produce mediante microorganismos autóctonos, los cuales tienen la capacidad de adaptarse a cualquier condición y degradar compuestos tóxicos de manera natural, generalmente los hongos se adaptan a humedades relativamente altas, todas las condiciones sirven para una bio-aumentación del microorganismo.

No se ha estudiado a fondo cual es el mecanismo por el cual los hongos retienen compuestos tóxicos debido a que esta rama de estudio es nueva, pero se tienen algunas hipótesis de cómo los hongos trabajan para inmovilizar los compuestos tóxicos mediante la precipitación o cómo se da la formación de complejos insolubles, debido a esto se da en cuanto a la bio-acumulación (Abatenh et al. 2017).

Sin embargo, se ha informado que, mediante su estructura, las hifas son las que sirven de mecanismo de transferencia de masa hacia las estructuras internas del hongo, en cuanto a la enzima degradadora se han reportado que es la oxido reductasas quien cataliza la reacción (Maquén 2005).

Una vez que se da la etapa de acoplamiento en los birreactores, es esencial saber cómo funcionan las estructuras celulares de los hongos en la degradación. La capacidad que tienen los hongos de formar redes miceliales extendidas, la baja especificidad de sus enzimas catabólicas y el uso de contaminantes como sustratos de crecimiento hacen que los hongos sean adecuados para los procesos de bio-remediación (Urrutia et al. 2019).

Tabla 2-1: Bacterias y hongos degradadores de emisiones gaseosas

Bacterias	Hongos
<i>Actinomicetes</i>	<i>Actinomycetes</i>
<i>Micrococccuscephalosporiumsp</i>	<i>Penicilliumsp</i>
<i>Micromonosporavulgaris</i>	<i>Circinella</i>
<i>Bacilluscereus</i>	<i>Fusarium Solani</i>
<i>Streptomiketessp</i>	<i>Candidasubhashii</i>
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Stemphiliumpsp</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Scedosporiumapiospermun</i>

Fuente: (Cárdenas 2003).

1.2.13. Medios de cultivo

Son soluciones que tienen un alto contenido de nutrientes esenciales para que se desarrollen los microorganismos específicos a obtener, los medios de cultivos son de gran importancia para detallar de manera profunda al microorganismo, la fuente de carbono es indispensable dado que las células necesitan grandes cantidades de este elemento para la elaboración de nuevo material celular, se dividen en los siguientes grupos:

1.2.13.1. Medios definidos

Son aquellos que se preparan con compuestos orgánicos e inorgánicos puros en agua destilada añadiendo cantidades precisas es decir su composición es exacta, la concentración de carbono existente en el medio dependerá del microorganismo a cultivar dado que algunos solo necesitan de glucosa como única fuente de carbono(Meléndez 2015).

1.2.13.2. Medios complejos

Su composición química es diferente, suelen estar hechos con hidrolizados en forma deshidratada que al usarlos se debe rehidratarlos y provienen de productos microbianos, animales o vegetales, tales como la caseína, extracto de levadura, y se desconocen su composición nutricional exacta(Meléndez 2015).

1.2.13.3. Medios selectivos

Este tipo de medios, como su nombre lo dice, son selectivos, es decir, que inhiben el crecimiento de otros microorganismos, gracias a la acción de sus compuestos(Meléndez 2015).

1.2.13.4. Medios diferenciales

Los medios diferenciales utilizan un indicador que suele ser normalmente un colorante, que mediante el cambio de color nos señala que durante el crecimiento se ha producido una reacción metabólica determinada(Meléndez 2015).

1.2.14. Medio de cultivo “ BulionSabourauda”

Es un medio de cultivo selectivo exclusivamente para el aislamiento y selección de hongos filamentosos que se encuentran en suelos o son dermatofitos, en su composición química contiene

cloranfenicol, el cual inhibe el crecimiento de bacterias. El pH a trabajar con hongos se encuentra entre 5,6-5,7 (Meléndez 2015).

1.2.15. Micología

Es la rama de la ciencia que estudia a los hongos, se consideran parte del reino *Fungi* o *Eucomycota* del dominio *Eukarya*. Son células eucariotas heterótrofas que difieren en tamaños y formas, que contienen núcleos encerrados en membranas, mitocondria y otros organelos membranosos, la pared celular de los hongos tiene peculiaridades diferentes a la de otros microorganismos ya que está constituida por carbohidratos complejos como la quitina. Se desarrollan en pH de 5-6 pero se logran adaptar entre rangos de 2-9, tienen menos sensibilidad a presiones osmóticas.

Mientras absorben el alimento, infiltran alguna fuente de carbono que segrega enzimas digestivas. Tienen una eficiente absorción en nutrientes y por lo tanto, al crecer lo convierten en nuevo material celular de manera rápida, tienen la facultad de almacenar los nutrientes en exceso en forma de lípidos y glucógeno (Solomon et al. 2013).

1.2.16. Estructura de los hongos

La mayoría de los hongos son multicelulares, tienen pared celular, su cuerpo consiste en largos filamentos ramificados con formas de hilo llamadas hifas.

1.2.16.1. Hifas

Consisten en paredes celulares tubulares que rodean las membranas plasmáticas de las células fúngicas son una adaptación al modo de nutrición fúngico, el crecimiento ocurre en las puntas de las hifas conforme se alargan, el hongo crece e infiltra las fuentes de alimentos. El hongo absorbe nutrientes a través del área superficial creada en la biopelícula, las hifas se dividen mediante paredes celulares llamadas septos (Solomon et al. 2013).

1.2.16.2. Micelio

Es el conjunto de hifas que forman una masa enmarañada o red los hongos que forman micelio se los llama mohos (Solomon et al. 2013).

1.2.16.3. Esporas

Son células reproductivas de tamaño microscópico, pueden desarrollarse hasta ser nuevos organismos, se dispersan en el aire, viento, agua. Las hifas aéreas de algunos hongos producen esporas, en grandes estructuras reproductoras complejas conocidas como cuerpos fructíferos(Solomon et al. 2013).

1.2.17. Reproducción fúngica

La reproducción fúngica en la mayoría de los hongos se da por medio de esporas que son de tamaño microscópico, por lo tanto, se dispersan en el viento, agua o animales, se suele comparar su estructura dispersa como la de un diente de león, las esporas germinadas suelen dar origen a nuevos organismos, produciendo hifas, y posteriormente se desarrolla el micelio; los hongos tienen dos maneras de reproducción: Asexual y sexual (Meléndez 2015).

1.2.17.1. Reproducción asexual

En la reproducción asexual de los hongos existes 3 caminos por lo que generalmente se da ya sea mediante: el crecimiento y extensión de las hifas filamentosas; mediante la producción de esporas asexuales o simple división celular(Meléndez 2015).

En la reproducción asexual la producción de esporas se da por mitosis y estas se liberan al ambiente, los conidióforos son el conjunto de hifas que tienen la facultad de producir esporas asexuales denominadas conidios, la forma de los conidióforos difiere entre las especies.

Existen algunas especies que se presentan en la forma asexual; de ahí nace la variedad de especies existentes en el planeta(Meléndez 2015).

1.2.17.2. Reproducción sexual

En su mayoría y con excepciones los hongos se reproducen de manera sexual y asexual, de forma sexual suele suceder cuando se reúnen hifas de dos tipos de apareamiento genéticamente compatible fusionan sus citoplasmas formando un micelio dicariota, para posteriormente fusionarse sus núcleos y por meiosis resultan cuatro núcleos haploides para liberar dar paso a la liberación de esporas(Meléndez 2015).

1.2.18. Hongo *Fusarium Solani*

1.2.18.1. Generalidades

Alrededor del mundo existen diferentes hongos, causantes de la putrefacción de materia orgánica, el género *Fusarium* se lo considera como genero saprofito en el cual existe una diversidad biológica, en algunos casos son considerados como fitopatógenos colonizadores primarios y secundarios. Actualmente, *Fusarium Solani* ha demostrado que tiene una gran capacidad de supervivencia y mediante estudios han confirmado que contiene un gran poder de agresividad en presencia de varios tipos de heridas en los tejidos de otros hongos por otro lado han demostrado la degradabilidad de algunos sustratos como celulosa, pectina, y lignina (Gleixner 2017).

Fusarium Solani se acopla a diferentes ambientes, puede crecer en potenciales osmóticos o en atmósfera con reducida presión parcial de O_2 ; tolera una concentración de CO_2 al 20%. Los rangos de pH difieren en la relación al medio ambiente, normalmente los hongos suelen adaptarse a pH ácidos, *Fusarium* se adapta para pruebas de laboratorio en pH 7.8 y su temperatura varía de acuerdo a las condiciones que se le prestan para crecer; la temperatura para crecer sugiere en $27^\circ C$ (Gleixner 2017).

Tabla 3-1: Clasificación taxonómica

División	Eumycota
Sub división	Deuteramycotina
Clase	Hiphomycetes
Orden	Moniliales
Familia	Tuberculariaceae
Genero	<i>Fusarium</i>
Especie	<i>Fusarium solani</i>

Fuente: (Gleixner 2017).

1.2.18.2. Características macroscópicas de cultivos

El crecimiento de las colonias se da en medio de cultivo Agar PDA, Agar Sabouraud, agar CLA, según lo que se vaya a estudiar se puede ocupar por lo general el Agar Sabouraud que permite observar el diámetro de la colonia, morfología y pigmentación; en tanto el Agar CLA, permite observar cadenas de micro conidios y morfología en detalle de macro conidios (Gleixner 2017).

Presenta un micelio aéreo de color blanco, la estructura esponjosa es parecida a la de un diente de león, tiene un crecimiento rápido después de la inoculación, en el envés de la colonia se logra

apreciar el color crema, amarillo pálido, estos colores depende exactamente del medio de cultivo suelen llegar a tener colores en tonalidad azul. La tonalidad viene dada por la estructura y esporodoquios formadores de macro conidios(Gleixner 2017).

1.2.18.3. Características microscópicas

Presenta macro conidios que se presentan sobre los conidióforos, la estructura del conidióforo difiere en que puede ser o no ramificada, también suelen presentar micro conidios que son producidos por el micelio aéreo, normalmente la forma es ovalada y en otros casos suele tener la forma más semejante a un riñón. Son de diversos tamaños, multicelulares, anchos con paredes gruesas que van paralelas en casi toda la extensión del macro conidio (Gleixner 2017).

Los macro conidios tienen formas de medialuna y son septadas, en algunas especies se puede presenciar la ausencia de micro conidios, otro tipo de conidios que la especie *Fusarium posee* son los meso conidios los cuales difieren un poco en el tamaño, siendo más pequeños que los macro conidios. Se logran observar clamidosporas, estas pueden estar en grupo, pareja o solas, tienen cualidades semejantes a una pared gruesa, ya sea lisa o rugosa (Gleixner 2017).

1.2.19. Hongo *Cándida Subhashii*

1.2.19.1. Generalidades

Las especies de *Cándida* hasta ahora han sido detectadas como patógenos para el ser humano debido a que son las causantes de infecciones micóticas como la candidiasis albicans, la cual provoca infecciones vaginales en las mujeres. Existen muchas especies de *Cándida*, la más reciente es *Cándida subhashii* la cual se descubrió en 2009 que es causante de peritonitis y reportada como una especie no fermentativa, se la considera como un clon derivado de la especie original(Adam et al. 2009).

Esta especie se encuentra en estudios por lo que existe información muy limitante de cómo actúa en cuanto a la degradación de metano, por lo tanto, se lo considera como un patógeno híbrido, *Cándida subhashii*ha demostrado que tiene 2 vías que participan en la degradación de compuestos hidroxí aromáticos (Marycz et al. 2020).

Tabla 1-4: Taxonomía de *C.Subahashii*

Reino	Fungi
-------	-------

Phylum	Ascomycota
Subphylum	Ascomycotina
Clase	Ascomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Genero	Cándida

Fuente: (Laforet Aguilera, 2009)

1.2.19.2. Características macroscópicas

Son hongos filamentosos, observados en cajas Petri se puede ver la formación de colonias de color crema o blanco con un diámetro de entre 10-15mm, no posee la típica estructura de un hongo (forma de algodón de azúcar), sino más bien posee una superficie brillante que tiende a verse como un margen liso de textura suave, se asimila a una estructura lisa y convexa, se la puede ver en placas de agar Saboreaud, encubadas durante 7 días a una temperatura de 27 °C. En tanto en caldo de cultivo tiene la apariencia de un polvillo de color crema pálida (Adam et al. 2009).

1.2.19.3. Características microscópicas

La gemación es principalmente unipolar o bipolar. Las células en gemación de 3,0 a 6,0 × 3,1 a 6,1 μm son de globosas a ovoides. Los conidióforos tienen un diámetro de 1,8 a 3,5 μm y la distancia entre los tabiques oscila entre 22,5 y 29,7 μm. Los blastoconidios se producen en un ápice de proliferación simpodial que, en la madurez, muestra una estructura similar al raquis con numerosas cicatrices ligeramente denticuladas que quedan después de la dehiscencia de los conidios. Los conidios tienen una forma más irregular que las células en gemación y pueden ser globosos, ovoides o alargados. El pseudomicelio está presente pero no es abundante. No se observan ascosporas ni artroconidias (Adam et al. 2009).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Hipótesis y variables

2.1.1. Hipótesis general

- La eficiencia de remoción de CH₄ dependerá del tipo de inoculación de los microorganismos en el relleno del sistema.

2.1.2. Hipótesis específicas

- Se podrá manipular los parámetros de diseño según vaya conviniendo al sistema y a la comunidad microbiana, para que mejore la eficiencia de CH₄.
- Se logrará evaluar el mejor método de inoculación de los microorganismos en los diferentes rellenos que permitirán determinar el más óptimo viéndose reflejado en los resultados.
- El análisis estadístico de las corrientes del sistema logrará interpretar si los hongos son viables en la degradación de metano a través de los resultados de la producción de CO₂ y la eficacia de la remoción de CH₄.

2.2. Identificación de variables

2.2.1. Variable independiente

- Porosidad
- Volumen de relleno
- Compacto directo de inóculo y relleno.
- Flujo volumétrico de CH₄
- Presión de entrada
- Tiempo de residencia

2.2.2. Variable dependiente

- Caída de presión
- Tiempo de adaptación
- Crecimiento de biomasa
- pH de empaque

- Concentración de CH₄
- Producción de CO₂

2.3. Operacionalización de variables

Tabla 1-2:Operacionalización de variables

	VARIABLES	CONCEPTO	UNIDAD DE MEDIDA	INDICADOR	INSTRUMENTO
VARIABLES INDEPENDIENTES	Volumen de relleno	Magnitud significativa del material a utilizar	L	Volumen	Probeta
	Flujo volumétrico De CH4	Magnitud que mide el volumen de un fluido que pasa por una superficie en un determinado tiempo.	ml/min	Caudal	Medidor de flujo volumétrico
	Concentración porcentual de CH4	Es la relación de gas CH4 -aire refiriéndose al volumen del soluto por cada 1000 unidades de volumen de la solución.	% v/área	Porcentaje de los componentes de la muestra aire - metano	Cromatógrafo GTC-TD
	Tiempo de residencia	Se define como el tiempo suficiente en el que el gas este en contacto con el lecho	Minutos	Cálculos de acuerdo al caudal	Hoja de Excel (EBRT)
	Presión de entrada				

		Magnitud física que mide la cantidad de fuerza que ejerce un gas sobre una superficie.	mmbar	Lectura del instrumento de medida	Medidor de presión
	Inoculación del relleno	Se refiere al compactación directa entre el microorganismo y el relleno	Turbidez	Crecimiento de biomasa adherido en la arlita.	-
	Porosidad	Es la medida de espacios vacíos en la arlita.	Volumen de fase solida e índice de huecos.	Relación entre índices de huecos vacíos y porosidad.	
	VARIABLES	CONCEPTO	UNIDAD DE MEDIDA	INDICADOR	INSTRUMENTO
VARIABLES DEPENDIENTES	Caída de presión	Se define como la concentración de iones H y OH	-	Iones H y OH	Medidor de pH
	pH de empaque	Magnitud que mide el volumen de un fluido que pasa por una superficie en un determinado tiempo.	ml/min	Caudal	Medidor de flujo volumétrico
	Crecimiento del inoculo	Es la biomasa formada en el medio de cultivo	días	Turbidez del medio de cultivo con el inoculo	-

	Concentración de CH4	Es la relación de gas CH4 -aire refiriéndose al volumen del soluto por cada 1000 unidades de volumen de la solución.	% v/área	Porcentaje de los componentes de la muestra aire - metano	Cromatógrafo Agilent GTC-TD
	Producción de CO2	Refiere a la relación de la reacción de oxidación de metano consumido (CH4) a CO2.	% v/área	Porcentaje de los componentes de la muestra aire-metano	Cromatógrafo Agilent GTC-TD

Realizado por: Banda Katerine, 2022.

2.4. Matriz de consistencia

Tabla 2-2: Matriz de consistencia

TEMA: Diseño de un sistema biológico con coctel de microorganismos fúngicos para la degradación del gas metano				
Problema general		Objetivo general		Hipótesis general
¿Se podrá degradar concentraciones bajas gas metano a partir de microorganismos fúngicos?		Diseñar un sistema biológico con coctel de microorganismos fúngicos para la óptima degradación de gas metano.		La eficiencia de remoción de CH4 dependerá del tipo de inoculación de los microorganismos en el relleno del sistema
Problema específico	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	VARIABLES ESPECÍFICAS	Método de análisis
			Flujo volumétrico de CH4	Controlador de flujo másico

¿Cuáles serán los parámetros adecuados que aporten una óptima degradación de gas metano?	Determinar las condiciones de operación del sistema de biofiltración mediante el control de una corriente de gas metano con los diferentes dispositivos adaptados al sistema.	Se podrá manipular los parámetros de diseño según vaya conviniendo al sistema y a la comunidad microbiológica, para que mejore la eficiencia de CH ₄ .	Riego de MSM	Bomba peristáltica
			Tiempo de Residencia	Cálculo de EBRT
¿La metodología de inoculación influye en compactación y adherencia entre el relleno y la biomasa?	Inocular cepas fúngicas de <i>Fusarium solani</i> y <i>Cándidasubhashii</i> a partir de cepas puras en medios de cultivo específicos.	Se logrará evaluar el mejor método de inoculación de los microorganismos en los diferentes rellenos que permitirán determinar el más óptimo viéndose reflejado en los resultados.	Compacto directo de inóculo y relleno.	Método cualitativo
			Crecimiento de biomasa en el medio de cultivo	Método cualitativo
			pH de medio mineral MSM	Medidor de pH
¿Será posible demostrar la viabilidad de usar hongos como medio biológico para la degradación de gas metano?	Analizar el flujo de salida de los biofiltros mediante cromatografía de gases, para verificar la viabilidad del uso de cepas de hongos <i>Fusarium solani</i> y <i>Cándidasubhashii</i> en la degradación de gas metano	El análisis estadístico de las corrientes del sistema logrará interpretar si los hongos son viables en la degradación de metano a través de los resultados de la producción de CO ₂ y la eficacia de la remoción de CH ₄ (%RE).	Concentración de CH ₄	Utilización del equipo GC-TCD agilent
				Cálculo de %RE
			Producción de CO ₂	Utilización del equipo GC-TCD agilent
				Cálculo de la producción de CO ₂

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.5. Tipo y diseño de investigación

2.5.1. Tipo de investigación

2.5.1.1. Experimental

La presente investigación es de carácter experimental la cual tiene el propósito de descubrir conocimientos que logren una aplicación en la realidad, dado que se centrará en manipular las condiciones del sistema y las condiciones de carácter biológico de la biomasa que permitan obtener resultados óptimos del experimento, e interpretar los resultados obtenidos durante la fase de experimentación que determinen en aceptar o rechazar las hipótesis planteadas.

2.5.2. Diseño de investigación

El diseño experimental de la investigación se desarrolló en base al objetivo 1 de diseñar un sistema biológico que permita la óptima degradación de metano, se realizó en 4 etapas.

La primera etapa consiste en la evaluación del material de relleno a utilizar con valores de porosidad ya establecidos de ahí se deriva el poder de retención de líquidos, el parámetro que se deriva es la caída de presión para cada uno de los BFs los valores de respuesta ante este parámetro demuestran si es un material viable a utilizar como empaque del biofiltro.

La siguiente etapa es el análisis de la inoculación del microorganismo la cual se prepara en caldo de cultivo Sabouraud observando durante 3 y 7 días el crecimiento de biomasa para posteriormente añadirlo al relleno de manera directa e indirecta respectivamente, en esta etapa verificamos la hipótesis de compactación directa con el relleno.

La tercera etapa que se analiza es la caracterización del sistema, donde definimos las variables del sistema para tratar cierto porcentaje de metano y los resultados son medidos mediante cromatografía de gases. La producción de CO₂ será el indicador de la acción de los microorganismos en degradar. La última etapa es la aprobación de resultados con el uso del cromatógrafo que utiliza el programa de H₂S Biogás alta sensibilidad que permitirá medir la concentración de CH₄, CO₂, O₂, N₂ en la entrada y salida de los biofiltros.

- Tiempo de inoculación para el crecimiento de la biomasa (3 y 7 días)
- Compactación directa entre el inoculo y los rellenos de los biofiltros (Directa e Indirecta).
- Medio mineral (1) y medio mineral con sales (2)

De la combinación de los factores se obtiene 6 experimentos, donde se mantienen constantes el volumen y el tipo de relleno, las variables de respuesta para cada experimento son calculadas a partir de la concentración bajo el área de CH₄ y CO₂ teniendo como resultado final la eficiencia de remoción (%RE) y la producción de CO₂. A continuación se detalla el diseño experimental de cada experimento:

Tabla 3-2: Diseño experimental de la investigación

EXPERIMENTOS	PARÁMETROS					RESPUESTA
	Microorganismos + Relleno	A Tiempo	B Compacto	C Medio mineral	D EBRT (min)	
T1	Cándida/Arlita	3 días	Indirecta	1	46	Caudal de salida
	Fusarium/Arlita	3 días	Indirecta	1	46	
	Fusarium/Compost	3 días	Indirecta	1	48	% de RE
T2	Cándida/Arlita	7 días	Directa	2	54	% de CO ₂
	Fusarium/arlita	7 días	Directa	2	48-44	
	Fusarium/compost	7 días	Directa	2	48 - 44- 60	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.6. Unidad de análisis

La unidad de análisis del presente proyecto de investigación es una corriente de aire acondicionada con una corriente de gas metano teniendo una disolución del 2% de CH₄ del volumen total. Esta disolución se encuentra en una cámara de mezclado donde se distribuye para cada biofiltro, los datos de las concentraciones de entrada y salida se determinan mediante el cromatógrafo GC-TCD agilent con el programa Biogás H₂S alta sensibilidad.

2.7. Tamaño de muestra

En este estudio el caudal de la corriente de aire contaminado con gas metano es de 44 ml/min diluido en una concentración de metano al 2%, el flujo volumétrico de metano oscila entre 0.79-0.83 ml/min estos valores son de acuerdo a las normativas del laboratorio, en el cual no sobrepasa los límites permitidos en espacios cerrados. La corriente de la mezcla opera 24/7.

Para los análisis de TOC e IC se toman 35 ml de lixiviado que son analizados cada miércoles. Para los análisis en el cromatógrafo se tomaran muestras de 100ul de la corriente contaminada en la mañana y en la tarde los primeros días de operación, posteriormente se tomara una muestra diaria de 100ul al día.

2.8. Selección de muestra

La muestra a estudiar, dado que se seleccionará los parámetros adecuados para obtener una corriente estable, no se basa en el juicio del investigador cada uno de los experimentos planteados en el diseño experimental deben ser representativos para posteriormente analizar los resultados.

2.9. Técnicas de recolección de datos

Para la obtención de datos de la presente investigación se realizó de manera experimental mediante la manipulación de las variables, el uso de equipos específicos en la medición de los parámetros permitirán evaluar las hipótesis planteadas y comparar con los resultados con otros trabajos.

A continuación, se muestran los métodos de recolección de datos de la presente investigación:

2.9.1. Preparación del inóculo

A partir de la variación de tiempo y metodología de compactación se obtienen 6 experimentos.

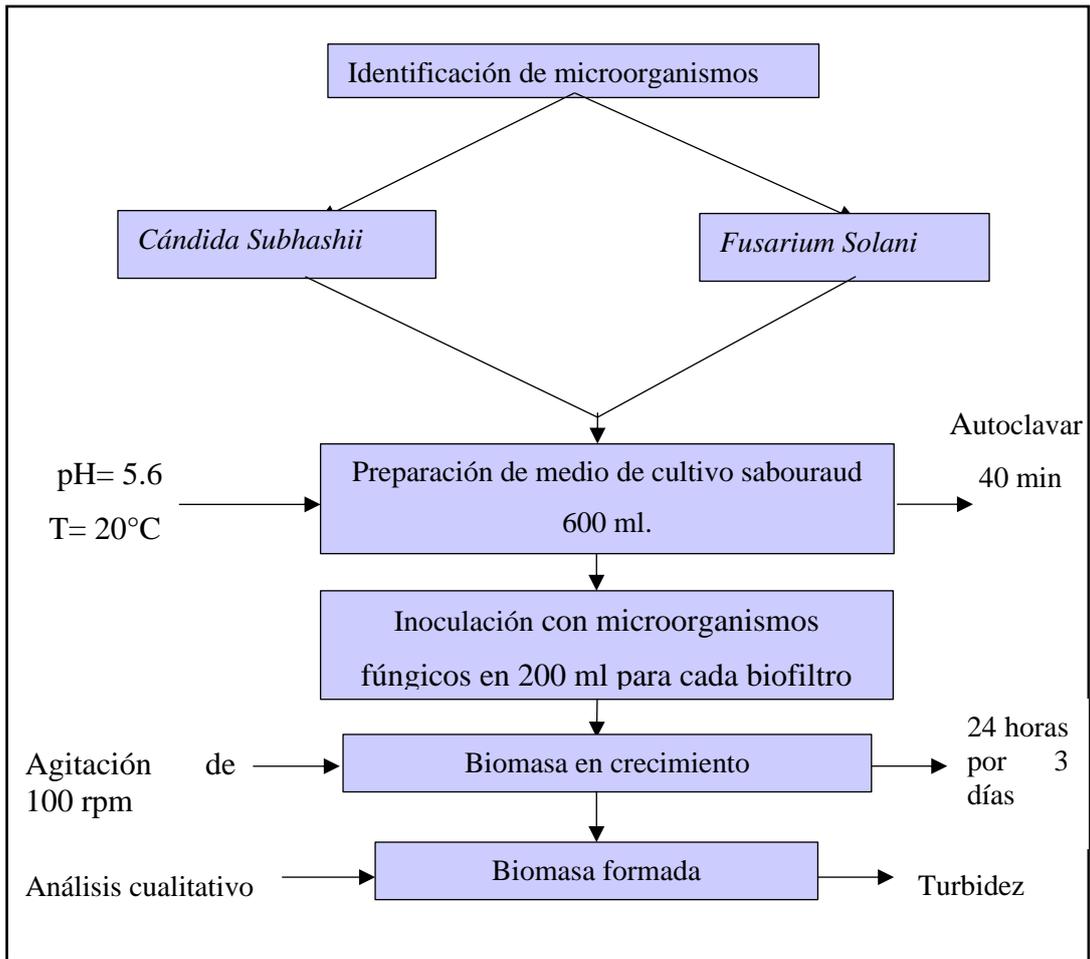


Ilustración 1-2:Preparación del inóculo de *Fusarium Solani* y *Cándida Subhashii*

Realizado por: Banda Katerine, 2022.

Tabla 4-2:Preparación de inóculo en medio de cultivo Sabouraud

Materiales y equipos	Reactivos
<p>Agitador Autoclave</p> <p>Medidor de pH Erlenmeyer</p> <p>Imanes agitadores Cámara de flujo laminar</p> <p>Balanza Tapones de algodón</p> <p> Asa de siembra Papel Aluminio</p> <p> Cinta de autoclave Tubo tapa rosca de 100 ml</p>	<p>Ácido clorhídrico HCl 1M</p> <p>Medio de cultivo BulionSabourauda</p> <p>Agua Tipo II (Agua destilada)</p> <p>Agua miliQ tipo I (Agua con mayor destilación)</p>
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"> • Se realiza la identificación de las cepas fúngicas <i>Fusarium Solani</i> y <i>Cándida Subhashii</i> que se encuentran en frigoríficos a -20°C mediante las características microscópicas y macroscópicas de las colonias. • Los microorganismos se llevan a temperatura ambiente 25°C para su descongelación durante 30 minutos. • Para la preparación del medio de cultivo se debe en primer lugar calibrar la balanza con las puertas pequeñas del equipo cerradas, se deja encendido el equipo durante 20 minutos para tener una lectura de 0.0000 esto con el fin de tener precisión, luego se coloca el plato de plástico y se tara a 0.0000, posterior a ello se pesa 18 g de BulionSabourauda y se apaga el equipo. • Una vez pesado los 18 g de BulionSabourauda, se vacían en un Erlenmeyer de un 1L y se coloca 600 ml de agua tipo II y se lo lleva al agitador magnético hasta que la mezcla se vea homogénea. • Se realiza la calibración del medidor de pH con los indicadores respectivos, el electrodo se enjuaga con agua miliQ tipo I, para la medida del pH de la mezcla el medidor de pH se ajusta a “medida continua”. • El medidor de pH está listo para su uso y se procede a colocarlo en la mezcla, la primera lectura que muestra el equipo es de 6.8, en las indicaciones del medio de cultivo el pH se encuentra a 5.7±0.1 por lo tanto se ajusta el pH con HCl 1M y se continúa agitando hasta tener una medida estable. 	

- Se distribuye los 600 ml de medio de cultivo en 3 Erlenmeyer de 250 ml a un volumen de 200 ml para cada uno y se los tapa con los tapones de algodón cubriéndolos con papel aluminio alrededor y sellándolos bien con cinta de autoclave tomando en cuenta que la cinta se encuentre de color amarillo.
- Se prepara el autoclave cubriendo con agua tipo II hasta el ras de la lámina agujerada, se colocan los Erlenmeyer en el autoclave se cierra bien el autoclave y se verifica que la válvula del aire este cerrada esto con el fin de que el vapor no se escape, se coloca por 60 minutos a presión de un bar.
- Una vez terminado el tiempo de autoclave se abre la compuerta y se deja que el vapor salga al aire libre, se verifica que los Erlenmeyer estén bien autoclavados por medio de la cinta de autoclave que cambia de color de amarillo a negro.
- En una bandeja con agua a temperatura de 5°C se colocan los Erlenmeyer y se deja enfriar hasta que llegue a temperatura ambiente, mientras eso sucede se enciende la cámara de flujo laminar con luz UV durante 20 minutos.
- Se lleva a la cámara de flujo laminar las muestras de *Fusarium Solani* y *Cándida Subhashii* los Erlenmeyer, se quita el tapón de uno de los Erlenmeyer y con el asa de siembra se retira un poco de biomasa de *Cándida Subhashii* y se sumerge el asa hasta la mitad, la biomasa debe caer al fondo del Erlenmeyer, de la misma manera se realiza con *Fusarium Solanien* los dos últimos Erlenmeyer.
- Se cierra los Erlenmeyer con los mismos tapones de algodón y se cubre con papel aluminio y se sella con cinta, y se coloca en los agitadores mecánicos a 100 rpm y a una temperatura de 27°C durante tres días consecutivos.
- Se lleva un control cualitativo diario para verificar el crecimiento de la biomasa y la turbidez del líquido.
- Se recolecta 50 ml de muestra y se mantiene guardada a -80°C para pruebas de biología molecular que la universidad de Valladolid lo exige.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.2. Inoculación indirecta

La inoculación indirecta en los rellenos de los biofiltros se realiza a través de unametodología: la primera consiste en elegir el tipo de relleno (arrita, compost) a inocular la cual combina un microorganismo diferente con un distinto relleno. Donde se obtiene 3 experimentos.

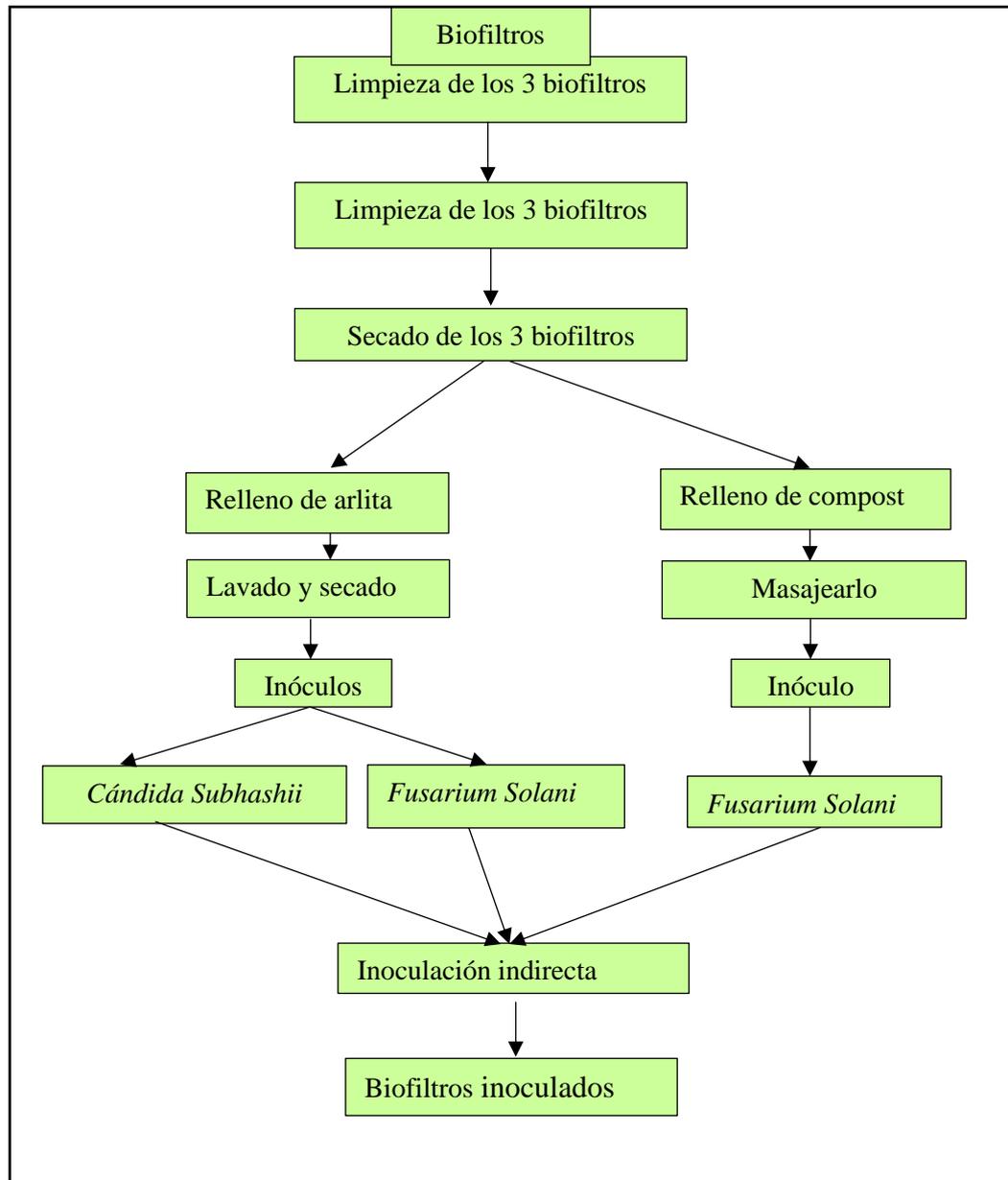


Ilustración 2-2: Inoculación indirecta de microorganismos en el relleno de los biofiltros

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Tabla 5-2:Proceso de inoculación directa y elección del material de relleno

Materiales y equipos	Reactivos
Probeta Medidor de presión Biofiltros Bombas peristálticas Mangueras de 6.5 mm de diámetro Herramientas de ferretería Arandelas Autoclave Boecos de 1L	Agua tipo II Lejía Alcohol 70% Silicona
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"> • Se eligen los 3 biofiltros y se analiza su mecanismo de funcionamiento. • La estructura de biofiltros se desarmen por la parte superior, se desatornilla y con mucho cuidado se retira los restos de proyectos anteriores en una funda para autoclave y con cinta para autoclave se sellan. • Los restos microbiológicos se llevan al autoclave a presión de 1 bar por 40 minutos. • Se lava y se enjuaga el interior de los biofiltros con agua destilada y posteriormente se atornilla nuevamente la parte superior de los biofiltros con las llaves 15 y 16 de manera que la tapa de los biofiltros no se mueva y no exista el riesgo de pérdidas de agua. • Se prepara 800 ml una solución al 0.2% de lejía con agua destilada y se coloca en un boeco de 1L, en la tapa del boeco se realiza 1 agujero de manera que este al ras de los alrededores de la tapa y se coloca una goma en el cual se realizan 3 agujeros con un diámetro de 6.5mm. • Se corta un metro y medio de manguera de 6.5 mm y se coloca en la estructura de la bomba peristáltica, uno de los extremos de la manguera se conecta en la tapa de los biofiltros y el otro extremo se coloca en uno de los agujeros del boeco. • Se enciende la bomba peristáltica a un caudal de 310 ml/min durante 24 horas esto con fin de desinfectar los reactores, posteriormente volver a desatornillar las tapas de los reactores y enjuagar el interior de los reactores con abundante agua destilada. 	

- Se arma nuevamente los reactores y se sella con los tornillos para evitar fugas, y se acondiciona el sistema con un flujo de aire para retirar restos de agua, durante el lapso de 24 horas.
- Se elige el relleno inorgánico para dos reactores de acuerdo a la porosidad y la capacidad de absorción entre (arrita, espuma de poliuretano, anillos de poliuretano, piedra pómez) se escogió la arrita como relleno y el compost como relleno orgánico.
- Se mide con ayuda de una probeta 2 litros de relleno de arrita y 2 litros de relleno de compost, para la arrita se coloca en una bandeja extendiéndolo por toda la superficie y se lava con agua 3 veces para retirar el polvo adherido en las paredes de las piedras, una vez terminado el proceso de lavado se extiende en una superficie para su secado a temperatura de 24°C.
- Para el compost se coloca en una bandeja y se extiende por toda la superficie, se realiza masajes con los dedos para romper todo tipo de grumos y tener como resultado un compost con una apariencia más fina.
- El inóculo de *Cándida* y *Fusarium* tienen la misma metodología, se mezcla con el relleno de arrita muy despacio de manera no exista riesgo de escape de hifas, se da un leve masaje para una compactación rápida, una vez que este compactado el relleno se separan las piedritas del líquido sobrante del inóculo y se coloca en el interior de los biofiltros.
- Para inocular el compost con el hongo *Fusarium Solani*, se realiza en varias partes en primera instancia se vacía por partes 1L de compost en el interior del reactor y se vacía 100 ml del inóculo líquido, se vacía el 1L de compost y los últimos 100 ml de inóculo.
- Finalmente tenemos 3 biofiltros inoculados de manera indirecta con el relleno.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.3. Inoculación directa

La inoculación directa en los rellenos de los biofiltros se realiza a través de una metodología distinta a la primera: la primera consiste en elegir el tipo de relleno (arlita, compost), el inoculo preparado previamente se mezcla directamente con el relleno en ausencia de oxígeno, durante 2 días y se cambia el 50% del medio de cultivo por el 50% del medio mineral hasta obtener un crecimiento adherido en el relleno.

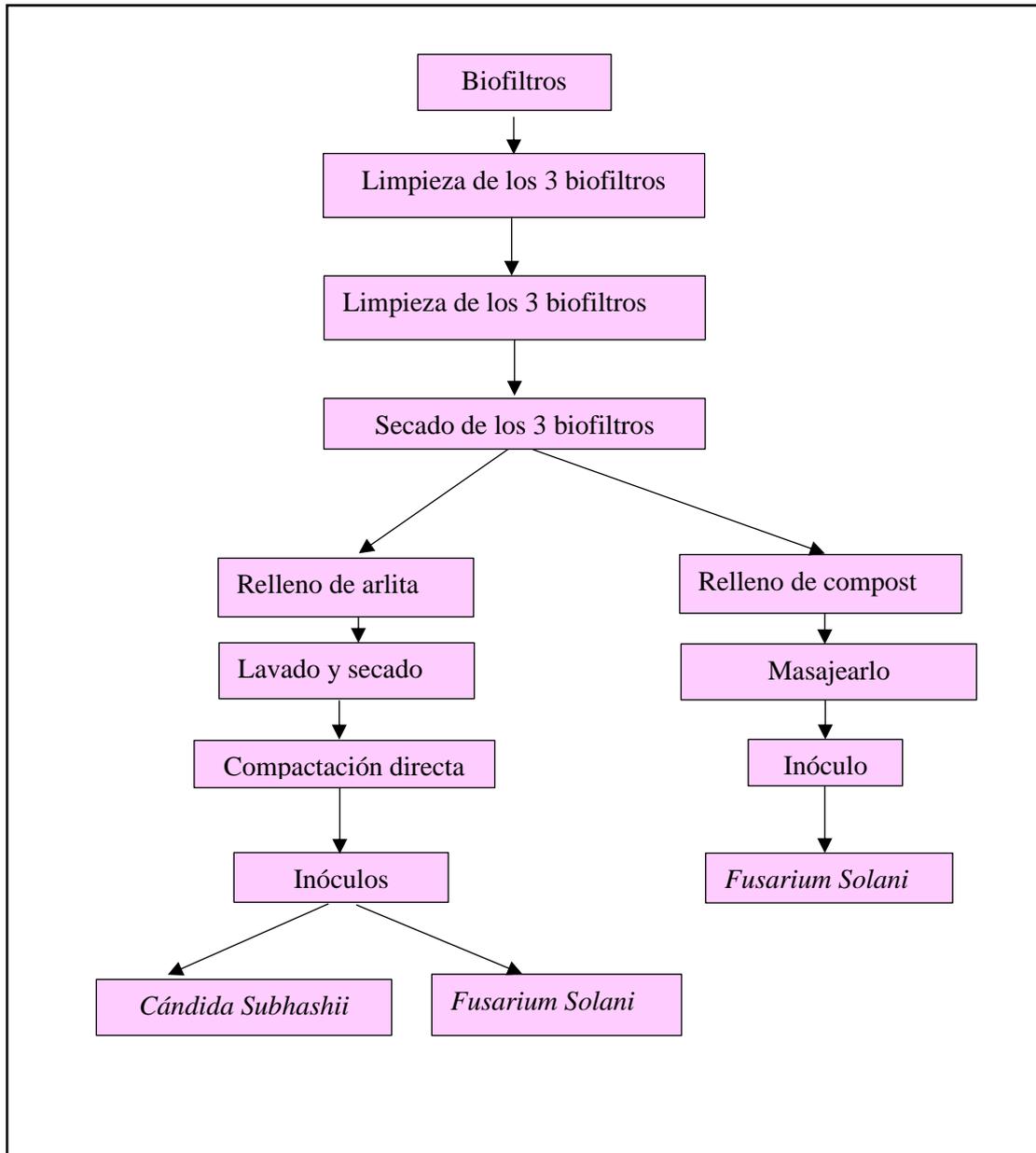


Ilustración 3-2: Inoculación indirecta de microorganismos en relleno de biofiltros (1ra parte)

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

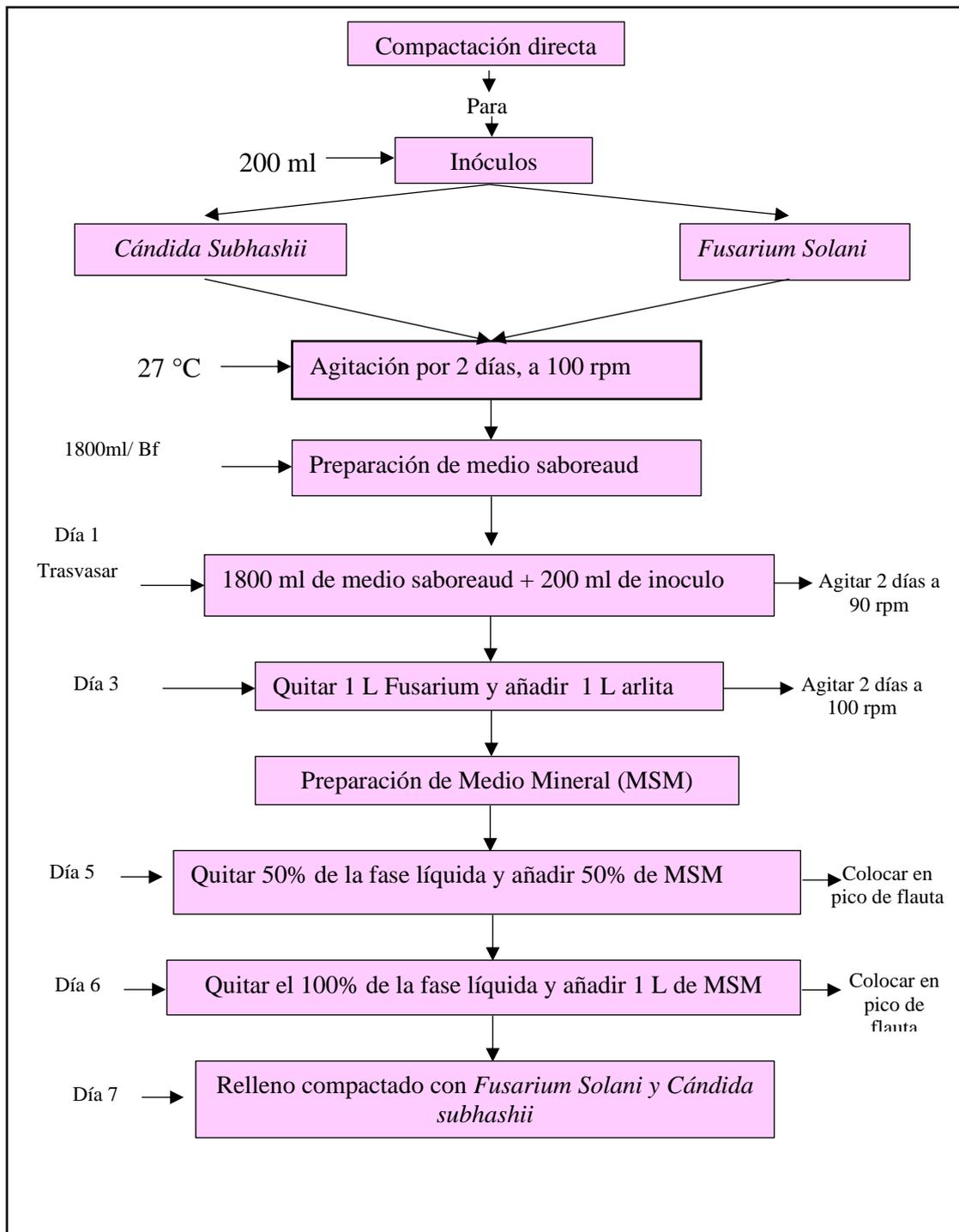


Ilustración 4-2:Inoculación indirecta de microorganismos en relleno de biofiltros (2da parte)

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Tabla 6-2:Proceso de inoculación directa con *Fusarium Solani* y *Cándida Subhashii*.

Materiales y equipos	Reactivos
Autoclave Boecos de 2 L con tapa Bandeja Cámara de flujo laminar Boecos de 1L Cinta de autoclave Agitador magnético pequeño Placa agitadora pequeña Imanes de 3 cm Medidor de pH Pipeta Pasteur de vidrio Balanza Analítica Papel aluminio Parafilm	BulionSabourauda Alcohol 70%. HCl, 0.1M Agua tipo II Medio mineral (MSM) <ul style="list-style-type: none"> • NaNO₃ • KH₂PO₄ • MgSO₄*7H₂O • CaSO₄*2H₂O • CaCl₂ • FeSO₄*7H₂O • MnSO₄*H₂O • ZnSO₄*7H₂O • CuSO₄*7H₂O • CoCl₂*6H₂O • H₃BO₃
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"> • Para la segunda metodología se requiere los procedimientos anteriores, empezando con la limpieza de los biofiltro, estos se realizan con diferentes reactivos como lo son; lejía, agua tipo II, antes de realizar los cambios previamente debe estar preparado 400 ml de inóculo <i>Fusarium Solani</i>, y 200 ml de <i>Cándida Subhashii</i> cabe recalcar que los inóculos deben estar en constante agitación de 100 rpm a una temperatura de 27°C durante 2 días. • En este apartado se detalla la compactación de (<i>FusariumSolani</i>, <i>Cándida Subhashii</i>,) en el relleno de arlita, se inicia con la preparación de 1600 ml de medio de cultivo BulionSabourauda para cada inóculo, para la preparación de este medio se debe pesar en la balanza analítica48 g y colocar en un boeco de 2 L se llena a un volumen de 1600 ml con agua tipo II. 	

- Se coloca un imán de 3cm y se lleva a agitación el boeco hasta ver que el medio este completamente soluble, se mide el pH con el programa “en continuo” sin dejar de agitar, esta solución debe estar a un pH de 5.7 para lo cual lo ajustamos con una solución de HCl a la 0.1M.
- Al finalizar la preparación se cubre la tapa con papel aluminio y se sella con cinta de autoclave, previamente el autoclave debe estar preparado; se coloca los boecos con el medio de cultivo y se autoclava a presión de 1 bar por 50 minutos.
- Desde esta instancia se hace el conteo por días. Día 1 se desinfecta la cámara de flujo laminar con etanol al 70% y con luz UV durante 20 minutos, se introduce en la cámara los 200ml de inoculopreparado (*Fusarium Solani* – *Cándida Subhashii*) y los boecos de 2 L con el medio de cultivo preparado, se trasvasa los 200 ml del inóculo al boeco que contiene 1800 ml del medio de cultivo.
- Se tapa las botellas sin ajustar y se sella con parafilm para evitar el ingreso de bacterias, con el imán introducido en las botellas se deja en una placa de agitación a 90 rpm durante 2 días, teniendo un volumen total de 2000 mL.
- El día 3 se debe trasvasar el relleno en este caso es la arlita, esta debe estar previamente lavada y secada como se explica en los pasos anteriores, se debe medir 2 L de arlita con ayuda de una probeta para cada biofiltro. Con los materiales listos se enciende la cámara de flujo laminar se desinfecta con alcohol al 70% y con luz UV durante 20 minutos. Se introduce la botella del inóculo *Cándida Subhashii* y se retira el 50% de su volumen es decir 1L de inóculo tratando de que la biomasa quede al fondo, y se añade 1 L de arlita teniendo un volumen final de 2 L, se coloca la tapa de plástico y se sella un poquito fuerte, se cubre con aluminio y se sella con parafilm.
- El mismo procedimiento se realiza para el inóculo de *Fusarium Solani*. Las tres botellas inoculadas con el relleno se dejan en posición de pico de flauta tratando de que todas arlita este sumergida en el inóculo cada 8 horas se realiza el cambio de posición tratando que la biomasa se adhiera a toda las superficies de la arlita, las botellas deben estar a una temperatura de 20-21°C.
- Se prepara 2 L de medio mineral (MSM) para cada una de las botellas inoculadas, para tener una solución homogénea se deja 20 minutos en agitación constante a 150 rpm, las tapas de las botellas se cubren con papel aluminio y se sella con cinta de autoclave. El autoclave grande debe estar preparado, se introduce los 6 L y se lleva a autoclave por 60 minutos a presión de 1 bar. Al finalizar el autoclave se revisa que las cintas hayan cambiado de color amarillo a negro.
- El quinto día se realiza el segundo cambio en las botellas, esto se realiza en la cámara de flujo laminar, se procede a desinfectar con alcohol al 70% y UV durante 20 minutos. Para las dos botellas se retira el 50% de la fase líquida es decir 1L y se coloca 1 L de medio mineral completando un volumen de 2L, se sella las botellas con una tapa de plástico haciendo un poco de presión se cubre con aluminio, parafilm y se colocan en posición de pico de flauta durante un día, a una temperatura de 20-21°C
- Para el sexto día se realiza el último cambio, este consiste en retirar el 100% de la fase líquida de las 2 botellas, tratando de que la biomasa se quede al fondo, y se reemplaza el líquido por 1L de MSM previamente auto clavado, se coloca las tapas de plástico y se hace un poco de presión, se cubre con aluminio y se sella con parafilm. Las botellas deben permanecer en posición de pico de flauta durante un día procurando que la arlita quede completamente cubierta por el MSM.
- El séptimo día tenemos el relleno adherido con microorganismos fúngicos, listos para ser colocados en las columnas de los biofiltros.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.3.1. Inoculación directa con relleno de compost

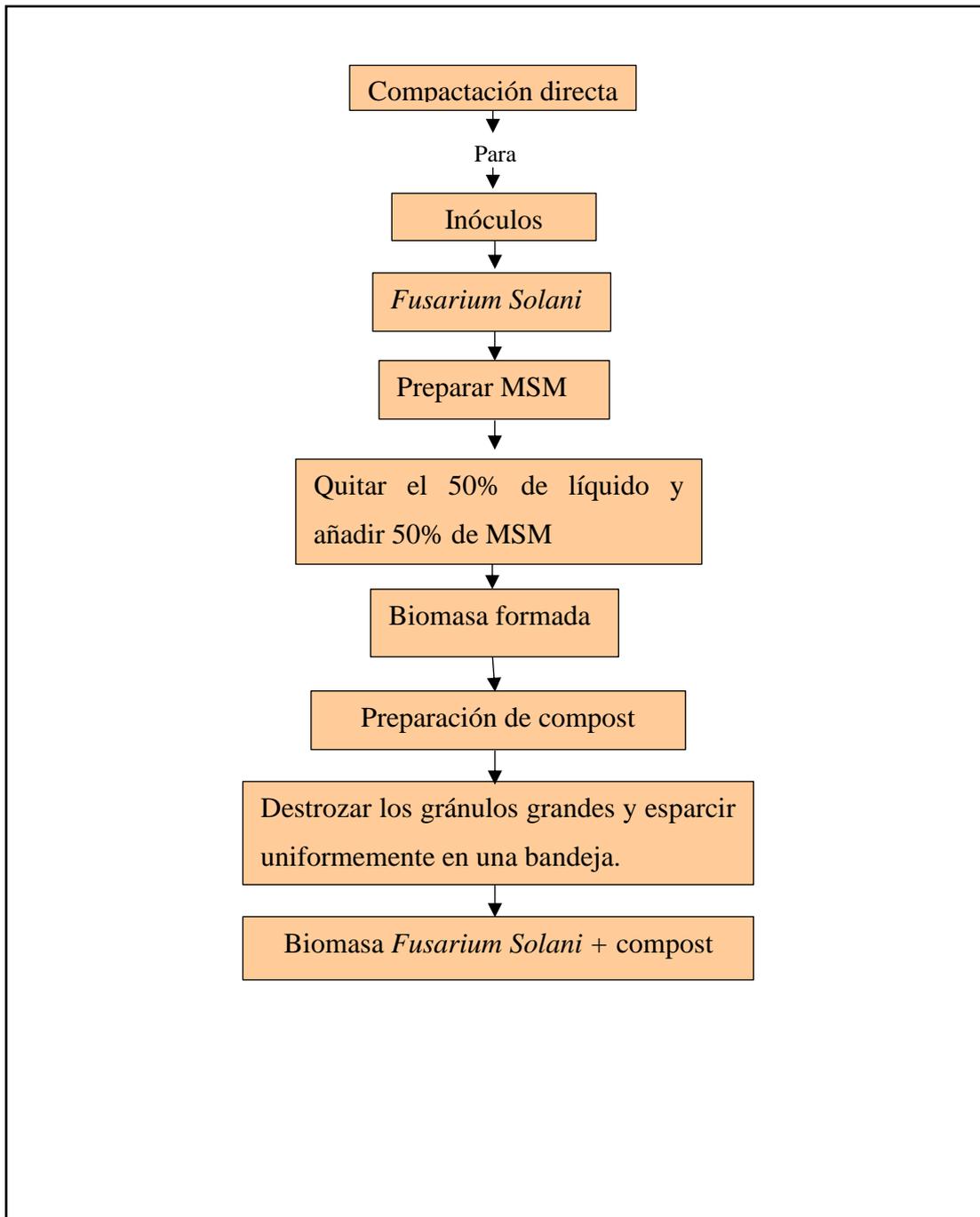


Ilustración 5-2:Inoculación indirecta de microorganismos en el relleno de los biofiltros

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Tabla 7-2: Proceso de inoculación directa y elección del material de relleno

Materiales y equipos	Reactivos
Autoclave Boecos de 2 L con tapa Bandeja Cámara de flujo laminar Boecos de 1L Cinta de autoclave Agitador magnético pequeño Placa agitadora pequeña Imanes de 3 cm Medidor de pH Pipeta Pasteur de vidrio Balanza Analítica Papel aluminio Parafilm	BulionSabourauda Alcohol 70%. HCl, 0.1M Agua tipo II Medio mineral (MSM) <ul style="list-style-type: none"> • NaNO₃ • KH₂PO₄ • MgSO₄*7H₂O • CaSO₄*2H₂O • CaCl₂ • FeSO₄*7H₂O • MnSO₄*H₂O • ZnSO₄*7H₂O • CuSO₄*7H₂O • CoCl₂*6H₂O • H₃BO₃ • NaOH, 2M
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"> • Para la segunda metodología se requiere los procedimientos anterior, empezando con la limpieza de los biofiltro, estos se realizan con diferentes reactivos como lo son; lejía, agua tipo II, antes de realizar los cambios previamente debe estar preparado 200 ml de inóculo <i>Fusarium Solani</i>, cabe recalcar que el inóculo debe estar en constante agitación de 100 rpm a una temperatura de 27°C durante 2 días. • En este apartado se detalla la compactación de (<i>Fusarium Solani</i>) en el relleno de compost, se inicia con la preparación de 1000 ml de medio de cultivo BulionSabourauda, para la preparación de este medio se debe pesar en la balanza analítica 30 g y colocar en un boeco de 2 L se llena a un volumen de 1000 ml con agua tipo II. 	

- Se coloca un imán de 3cm y se lleva a agitación el bote hasta ver que el medio este completamente soluble, se mide el pH con el programa “en continuo” sin dejar de agitar, esta solución debe estar a un pH de 5.7 para lo cual lo ajustamos con una solución de HCl a la 0.1M.
- Al finalizar la preparación se cubre la tapa con papel aluminio y se sella con cinta de autoclave, previamente el autoclave debe estar preparado; se coloca los botes con el medio de cultivo y se autoclava a presión de 1 bar por 50 minutos.
- Desde esta instancia se hace el conteo por días. Día 1 se desinfecta la cámara de flujo laminar con etanol al 70% y con luz UV durante 20 minutos, se introduce en la cámara los 200ml de inóculo preparado (*Fusarium solani*) y el bote de 2 L con el medio de cultivo preparado, se trasvasa los 200 ml del inóculo al bote que contiene 1000 ml del medio de cultivo.
- Se tapa las botellas sin ajustar y se sella con parafilm para evitar el ingreso de bacterias, con el imán introducido en las botellas se deja en una placa de agitación a 90 rpm durante 2 días, teniendo un volumen total de 1200mL.
- Se prepara 1L de medio mineral (MSM), para tener una solución homogénea se deja en agitación constante durante 10 minutos, las tapas de las botellas se cubren con papel aluminio y se sella con cinta de autoclave. La autoclave debe estar previamente preparada, se lleva al autoclave por 60 minutos a presión de 1 bar. Al finalizar el autoclave se revisa que las cintas hayan cambiado de color amarillo a negro.
- Se hace el primer cambio el día 3, se retira el 50% de la fase líquida del medio de cultivo evitando botar la biomasa formada, y se añade 500 ml de MSM con agitación constante de 100 rpm durante un día.
- Se mide 2L de compost con ayuda de una probeta y se vacía en una bandeja de manera uniforme, se va deshaciendo los grumos grandes hasta que tenga una apariencia fina
- El día 4 se retira con mucho cuidado la fase líquida tratando de que la biomasa se quede a fondo de la botella, la biomasa restante se coloca en toda la superficie del compost y se masajea hasta tener un compost húmedo y sólido, se tapa con aluminio y se sella con parafilm en la cámara de flujo laminar durante 3 horas.
- Se tiene el inóculo compactado listo para ser rellenado en las columnas del biofiltro.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.4. Caracterización delixiviados

El departamento de tratamiento de gases – VOC de la Universidad de Valladolid tiene un protocolo el cual permite caracterizar el lixiviado a través de medidas físico – químicas que permiten determinar la evolución del experimento.

2.9.4.1. Análisis de TOC e IC 500

El análisis de TOC e IC permite evaluar la cantidad de carbono inorgánico y carbono orgánico total en la muestra del lixiviado de los biofiltros.

Tabla 8-2: Análisis de TOC e IC 500

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Viales de 40 ml• Bandas Filtrantes de 47 mm• Carcasas Filtrantes• Pinzas• Equipo de TOC-TN• Jeringas de 20 mL	<ul style="list-style-type: none">• Patrón para IC-500• Patrón para TOC-500• Agua MiliQ• Agua tipo II
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none">• Encender el equipo TOC-TN y cargar el programa TOC-500 hasta que aparezca en el monitor una línea recta entre las dos paralelas formadas• Tomar la muestra de lixiviado de los tres biofiltros abriendo la válvula de lixiviados que cada biofiltro tiene.• Abrir la carcasa de filtración y tomar una banda filtrante tomando en cuenta que la parte rugosa debe estar colocada hacia abajo, cerrar muy fuerte las dos partes de la carcasa de modo que no escape el agua.• Tomar 35 mL de lixiviado y hacerlo pasar por la carcasa filtrante• Etiquetar los 3 viales con los nombres de las muestras.• Llenar los viales con 35 ml con los patrones IC-500 y TOC-500, para el blanco se toma 35 ml de agua MiliQ• Se programa la lectura de las muestras en el equipo, la lectura para cada muestra toma un tiempo de 20 minutos.	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.4.2. Análisis de pH.

La medida del pH y electronegatividad se realiza de acuerdo al protocolo que el departamento de tratamiento de gases tiene, el protocolo es muy común en los laboratorios de analítica y da referencia al medio el que se encuentra el relleno.

Tabla 9-2:Método para determinar el pH.

Materiales y equipos	reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Medidor de pH• Vasos de precipitación de 200 ml	<ul style="list-style-type: none">• Soluciones tampón• Agua tipo II
Procedimiento	
<ol style="list-style-type: none">1. Se enciende el medidor de pH y se calibra el equipo con las soluciones tampón2. Se coge una muestra de lixiviado de los tres biofiltros.3. Cuando el equipo se termina de calibrar se apaga y se vuelve a encender, se verifica que el electrodo tenga una buena lectura.4. Si el electrodo mide el pH de una muestra de agua y este da 7, la calibración es correcta.5. Se mide el primer lixiviado, este debe estar en constante agitación una vez que da lectura de pH se enjuaga el electrodo con agua tipo II.6. Para las demás muestras de lixiviado se realiza el mismo procedimiento.	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.4.3. *Análisis de electronegatividad.*

El análisis de conductividad se acopla con el método convencional es decir se ajusta a las instrucciones del equipo, permite medir la capacidad de conducción eléctrica que tiene una solución.

Tabla 10-2: Método para medir la conductividad

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Medidor de pH• Vasos de precipitación de 200 ml	<ul style="list-style-type: none">• Soluciones tampón• Agua MiliQ
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none">• Se enciende el equipo y se calibra el equipo con las soluciones tampón• Se coge una muestra de lixiviado de los tres biofiltros.• Cuando el equipo se termina de calibrar se apaga y se vuelve a encender, se verifica que el electrodo tenga una buena lectura.• Se mide el primer lixiviado, este debe estar en constante agitación una vez que da lectura de pH se enjuaga el electrodo con agua miliQ.• Para las demás muestras de lixiviado se realiza el mismo procedimiento•	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.5. *Caracterización de la corriente de gas meto-aire*

Se debe caracterizar las variables físicas del sistema de acuerdo a los protocolos que tiene el Instituto de Procesos sostenibles, del grupo de investigación VOC – Microalgae de la Universidad de Valladolid.

2.9.5.1. Medidas de la presión de entrada

La medida de la presión se realiza de acuerdo a los protocolos establecidos por el instituto VOC and Microalgae de la Universidad de Valladolid.

Tabla 11-2: Método para la toma de presión de entrada

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Medidor de presión• Septum• Tubería de 8 mm de diámetro• Bulbo de presión• Tubería blanca gruesa	
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none">• Para poder medir la presión de entrada, se debe armar la estructura por el cual debe ingresar la mezcla de gases.• Se arma el bulbo de presión colocando el septum para toma de muestra.• A partir de la cámara de mezclado se conecta la tubería de salida con la parte inferior del bulbo y la salida por la parte superior del bulbo que conecta a las salidas del sistema.• Con ayuda del medidor de presión se conecta a un toma corriente y se verifica que la medida este en cero mbar.• El medidor de presión posee una aguja, en el cual se realiza un pinchazo en el septum del bulbo de presión, se toma la medida que viene dada en mbar.	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.5.2. Método para la medida de caída de la caída de presión.

La caída de presión en el lecho empacado representa la resistencia al flujo de un fluido puede ser liquido o gaseoso a través de los huecos del relleno solido en este caso arlita. Según el protocolo del instituto de investigación VOC-Microalgae se realiza la toma de este parámetro de la siguiente manera.

Tabla 12-2: Medida de la caída de presión

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Medidor en forma de U• Válvulas• Tubería de 8 mm de diámetro• Conexión en forma de T	
Procedimiento	

- Para la medida de la caída de presión de los biofiltros se utiliza el medidor en forma de U, en el interior de la U se encuentra agua tipo II el cual en ambos extremos se encuentran con en la misma línea de aforo es decir en el cero.
- En la corriente de entrada y de salida del gas de cada uno de los biofiltros se coloca un coloca una conexión en forma de T, en el extremo de la T se coloca una trozo de 15 cm de tubería y al final del trozo se coloca una válvula que permanece cerrada tanto de las entradas y de las salidas.
- Para medir la caída de presión se conecta uno de los extremos del equipo en U en la conexión en la válvula e forma de T de la corriente de entrada del gas hacia en biofiltro y el otro extremo se conecta con la válvula en forma de T de la corriente de salida del gas.
- Se abren las válvulas de las corrientes de entrada y salida y por diferencia de presiones se lee el desplazamiento del líquido en ambos extremos.
- Las medidas se dan en centímetros de columnas de agua, su desplazamiento se cuenta desde el cero.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.5.3. Medida de caudal de salida.

El caudal de salida hace referencia al tiempo de residencia EBRT con el que se está trabajando es decir es el caudal de la corriente de gas que se encuentra en contacto con el relleno. El protocolo del instituto de investigación VOC-Microalgae describe la metodología para la toma de caudales de salida.

Tabla 13-2:Midas del caudal de salida.

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> • Probeta de 250 mL • Bandeja pequeña • Tubería de 8 mm de diámetro • Cronómetro 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"> • Se debe llenar con la bandeja con 500 ml o una cantidad significativa que permita introducir la palma de la mano • Se rellena la probeta con agua hasta el tope, y con mucho cuidado de tapa con la palma de la mano y se voltea en la cubeta de agua de modo que quede el asiento de la probeta en la parte superior. • Se identifica las salidas de la corriente de gas de cada uno de los biofiltros, se hace presión en los alrededores de la conexión cilíndricas y se retira la tubería con toda la conexión cilíndrica. • En el extremo de la conexión cilíndrica se conecta una tubería de 8 mm de radio, de modo que quede el extremo suelto. • El otro extremo se introduce en la bandeja hasta que se observe burbujas, cuando se observan burbujas se introduce la tubería dentro de la probeta de modo que tengamos un cero inicial. • Los resultados del caudal de salida se reflejan de acuerdo al volumen que desplaza la corriente de gas de la probeta en un determinado tiempo, en este caso sus unidades son ml/min. 	

- Cuando se finaliza la toma de los caudales de salida se vuelve a conectar la tubería con la conexión cilíndrica haciendo un poco de presión.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.5.4. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica analítica que permite separar los componentes químicos de una mezcla gaseosa. De acuerdo con el protocolo del laboratorio de cromatografía de gases para la lectura del gas metano CH₄ se debe ocupar el método de H₂S biogás alta sensibilidad.

Tabla 14-2 Toma e inyección de muestras en el cromatógrafo GC-TCD AGILENT.

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> • Cromatógrafo GC-TCD Agilent • Jeringas Hamilton para gases de 100 ul. • Septum • Compresor • Kit de limpieza de agujas • Vaso de precipitación 	<ul style="list-style-type: none"> • Gas H₂S • Agua
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"> • Antes de ocupar la jeringa de gases, es necesario comprobar que la válvula, el pistón, y la aguja estén en buen estado para lo cual es necesario tomar una muestra de aire. • Se toma una muestra de aire por medio de subir el pistón hasta el la marca de aforo, se cierra la válvula de paso de aire se baja con fuerza el pistón y si el pistón rebota está en buen estado tanto la válvula como el pistón. • Se realiza una prueba de burbujas para saber la condición de la aguja, para lo cual se toma una muestra de aire y se introduce la aguja en un vaso de precipitación con agua, si existe la formación de burbujas en un tiempo constante la aguja se encuentra en buen estado. • Para limpiar la aguja se revisa en el kit de limpieza unos hilos muy finos semejantes al cabello, se introduce el hilo por la punta de la aguja y haciendo presión y se hace pasar de un extremo a otro. • El equipo antes de usar de estar calibrado, La curva de calibración se la construye por medio de una corriente de gas H₂S, CH₄.O₂, N₂. • Se carga el programa H₂S biogás alta sensibilidad, mientras tanto se realiza el cambio del septum en el equipo, como primera medida se realiza una prueba de aire y se verifica las lecturas de N₂ y O₂ tengan el porcentaje de la composición adecuada. • Se toma la jeringa y se pincha en el bulbo de presión hasta que la aguja este en la mitad, se enjuaga con el mismo aire del bulbo por tres veces, a la cuarta vez se toma una muestra de 100 ul. • Con la muestra de gas tomada se pincha en el septum del cromatógrafo y se abre la válvula empujando el embolo, pulsamos en la pantalla “Play” para que el programa inicie la lectura del gas. • Como resultado del análisis de la muestra de gas se obtienen los siguientes componentes CH₄, CO₂, O₂, N₂, en unidades de % v/v de acuerdo al área bajo la curva. 	

- Las muestras se toman de la corriente de entrada única y las salidas de los tres biofiltros, los análisis se realizan de lunes a domingo por triplicado.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

2.9.6. Caracterización de los parámetros del sistema

2.9.6.1. Eficiencia de remoción (%RE)

El porcentaje de remoción relaciona la carga de contaminante en el sistema, después del proceso de degradación, se calcula empleando la siguiente ecuación:

$$\%Re = \frac{[CH_4]_{IN} - [CH_4]_{OUT}}{[CH_4]_{IN}} * 100$$

Donde:

$[CH_4]_{IN}$ = Concentración de entrada, % v/v.

$[CH_4]_{OUT}$ = Concentración de salida, % v/v.

2.9.6.2. Producción de CO_2

La producción de CO_2 está relacionada con la acción de oxidación biológica de CH_4 a CO_2 para la conversión de biomasa, para este proyecto de investigación los principales autores son las cepas fúngicas inoculas, y el coctel de microorganismos que se encuentran en el compost. El equipo de cromatografía nos da los resultados en unidades Área/% v/v y mediante la curva de calibración del equipo tenemos en unidades (gm^3/h). La producción de CO_2 además es un indicativo de la condición del sistema de biofiltración se la calcula con la siguiente ecuación:

$$PCO_2 = \frac{[CO_2]_{OUT} - [CO_2]_{IN}}{V_{REACTOR}} * Q$$

Donde:

$[CO_2]_{IN}$ = Concentración de entrada CO_2 en g/m^3h

$[CO_2]_{OUT}$ = Concentración de entrada CO_2 en g/m^3h

$V_{REACTOR}$ = Volumen del relleno en m^3

Q = Caudal de aire en m^3/h

2.9.6.3. Capacidad de eliminación

La capacidad de eliminación permite evaluar el desempeño de los biofiltros con relación a la degradación del gas a través del relleno orgánico, se calcula la cantidad de contaminante que se remueve en el sistema, por el volumen empacado de reactor y por el caudal del sistema.

$$CE = Q \frac{([CH_4]_{IN} - [CH_4]_{OUT})}{V_{REACTOR}}$$

Donde:

$[CH_4]_{IN}$ = Concentración en la entrada de CH_4 en g/m^3h

$[CH_4]_{OUT}$ = Concentración a la salida de CH_4 en g/m^3h

$V_{REACTOR}$ = Volumen del relleno en m^3

Q = Caudal de aire en m^3/h

2.9.6.4. Tiempo de residencia (EBRT)

El tiempo de residencia se define como el tiempo necesario que necesita el gas estar en contacto con el lecho para que exista una transferencia de masa, se lo calcula a partir de la relación entre el caudal del aire y el volumen del reactor:

$$EBRT = \frac{V_R}{Q_a}$$

Donde:

V_R = Volumen de reactor, mL

Q_a = Caudal de aire + CH_4

2.9.7. Caracterización de microorganismos fúngicos

2.9.7.1. Caracterización macroscópica de colonias *Cándida Subhashii* y *Fusarium Solani*.

El método para establecer las características macroscópicas de las colonias formadas en agar Saboreaud, se realizó a través de la activación y resiembra de las cepas inactivas que estaban congeladas. La activación en el caldo de cultivo permite que el hongo se desarrolle.

Tabla 15-2. Método de resiembra para observar la apariencia de las colonias.

Materiales y equipos	Reactivos
----------------------	-----------

<ul style="list-style-type: none"> • Aza de siembra • Cajas Petri • Jeringas de 20 mL • Erlenmeyer de 250 mL • Medidor de pH • Autoclave • Tapón de algodón • Papel aluminio • Cinta de autoclave • Cámara de flujo laminar • Mechero • Parafilm 	<ul style="list-style-type: none"> • Medio de cultivo BulionSaboreaud • Agar Saboreaud • HCl, 0.1M • Agua destilada
Procedimiento	
<p>1. La activación de microorganismos se da a partir de la inoculación de cepas <i>CándidaSubhashiiyFusarium Solan</i> mencionado en los pasos anteriores.</p> <p>2. Pesar 3,3 g de medio agar Saboreaud y colocar en un Erlenmeyer de 150 mL, aforar a 150 mL con agua destilada, agitar hasta ver una mezcla homogénea y ajustar el pH a 5,7. Posteriormente se tapa con un tapón de algodón y se sella con cinta de autoclave.</p> <p>3. Colocar en el autoclave el Erlenmeyer con el agar y llevarlo a presión de 1 bar, durante 50 minutos. Una vez terminada el autoclave, se verifica el cambio de color de la cinta amarilla a negra.</p> <p>4. Las cepas fúngicas congeladas provienen de la cepario de la Universidad de Valladolid, se enciende la cámara de flujo laminar con luz UV durante 20 minutos, se lleva las cepas congeladas a la cámara de flujo laminar junto con el Erlenmeyer de agar.</p> <p>5. Se enciende el mechero y se distribuye las cajas Petri a lo largo de la cámara, con ayuda de una jeringa se toma 20 mL de agar Saboreaud para cada caja Petri, se deja enfriar hasta que tenga una consistencia uniforme y rígida.</p> <p>6. Se introduce el asa de siembra en el tubo que contiene las cepas, y de manera cuidadosa se recoge una pequeña cantidad de muestra y se pincha en el agar.</p> <p>7. Se tapa las cajas Petri sembradas con las cepas y se sella con parafilm, las cajas Petri se colocan en la incubadora durante 15 días a una temperatura de 27 °C.</p> <p>8. Pasados los 15 días se revisa las cajas Petri y se observan las colonias, en el cual se definen color, forma, tamaño, textura y otros parámetros cualitativos que se pueden observar.</p>	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Tabla 16-2. Observación microscópica de estructuras fúngicas.

Materiales y equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> • Microscopio óptico • Porta objetos • Cubre objetos • Cinta Adhesiva transparente • Mechero • Pipeta de vidrio Pasteur 	<ul style="list-style-type: none"> • Azul de lactofenol • Aceite de inmersión • Alcohol al 70%
Procedimiento	

1. Se desinfecta el área de trabajo con alcohol al 70% y se enciende el mechero
2. Se evalúan el crecimiento, textura y formación de colonias, luego se escoge la caja Petri que tenga mejor apariencia y mejor formación tanto para *Fusarium Solanicum* como *Candida Subhashii*.
3. Se coloca en el portaobjetos una gota de azul de lactofenol y se pasa de manera rápida por el mechero de manera que el indicador se impregne en el portaobjetos y no se desparrame al colocar el cubre objetos
4. De manera muy cuidadosa se va retirando el parafilm, y se abre la caja Petri siempre teniendo cerca el mechero. Se toma un pedazo de cinta adhesiva y se adhiere a la superficie del micelio formado.
5. Se coloca el pedazo de cinta en el portaobjetos, y se coloca una gota de aceite de inmersión, encendemos el microscopio óptico y giramos al lente de 100X.
6. Manipulamos el microscopio con la perilla macrométrica hasta obtener una imagen clara en el cual se miren las estructuras fúngicas.
7. Con las imágenes claras se va comparando con bibliografía de manera que se establecen las características macroscópicas y microscópicas.

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de resultados

3.1.1. Diseño de sistema biológico

Tabla 1-3: Diseño de sistema biológico

PARAMETROS	VALOR		UNIDADES
	T1	T2	
V de trabajo	2	2	L
EBRT	22	45	minutos
Caudal de aire	92	44	ml/min
Porcentaje de CH_4	2	2	%
Caudal de riego	100	100	ml/min
pH	7	7	
Medio mineral	MSM 1	MSM 2	

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

La estructura del sistema de biofiltración permite establecer algunos parámetros de diseño que se puede manipular algunos de ellos permanecen constantes como el volumen de trabajo del lecho filtrante en el cual se mantiene en 2 litros, el tiempo de residencia (EBRT) el cual se lo calcula a partir del volumen de trabajo entre el caudal del aire este sus unidades son en minutos y para cada uno de los tratamientos se estableció diferentes tiempos de residencia los cuales permiten optimizar y aprovechar al máximo el sistema según se manipula el caudal del aire se cambia el EBRT.

La corriente de gas metano se manipula con el controlador de flujo másico de capacidad de 0-20 ml/min, en esta experimentación se decide tratar un flujo de 0.80 ml/min al 2% de gas metano con una pureza del 99%, cada tratamiento tiene un medio mineral (MSM) con una composición química diferente el riego es de 100 ml/min cada 12 horas el cual se mantiene a un pH constante de 7.

Las variaciones de los parámetros del sistema permiten manipular las condiciones microbiológicas de las columnas empacadas.

3.1.2. Caracterización de inoculación

3.1.2.1. Caracterización cualitativa.

Los proceso de inoculación de *Cándida Subhashii* y *Fusarium Solanifueron* de dos maneras diferentes, con el fin de experimentar cual es el más idóneo para la estructura del relleno, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 2-3: Caracterización cualitativa del inóculo

INOCULACIÓN + RELLENO	CRECIMIENTO DE BIOMASA	FORMACION DE BIOPELICULA	ABSORCIÓN DE CH4
<i>Cándida Subhashii</i> +Arlita	Alta	Muy poca	Baja
<i>Fusarium</i> + Arlita	Alta	Alta	Media
<i>Fusarium</i> + Compost	Alta	Alta	Alta

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

La inoculación de los biofiltros es una de las partes más importantes para la creación de la biopelícula en los empaques, la metodología de inoculación del relleno influye en la eficiencia de remoción dado que de manera cualitativa se refleja el crecimiento de biomasa y la colonización de los microorganismos en los rellenos (Roalkvam et al. 2020).

En cuanto el crecimiento de la levadura *Cándida subhashii* en medio de cultivo Saboreaud durante tres días con una temperatura controlada de 27°C a 100 rpm se observó biomasa formada en el interior del inóculo, su apariencia era similar a la de un polvo de color manteca, en el medio líquido no forma una estructura sólida como la del hongo *Fusarium solani* dado que es una levadura, con relación al volumen de la fase líquida de 200 ml se observó que no es una cantidad suficiente causando que la turbidez del inóculo sea baja. Esto se observó en el inóculo inicial para los dos tratamientos y se obtuvo resultados simultáneos de acuerdo con la investigación (MILENA 2019).

La biopelícula que *Cándida subhashii* formó en la superficie de arlita, no fue muy sólida dado que las estructuras no tejen una red de hifas, es decir que no hubo una correcta adhesión por lo tanto no existió interacción entre las hifas y el sustrato. Después de inocular el relleno por los dos tratamientos se observó de manera cualitativa que no hubo cambio en la apariencia de las

columnas PVC del biofiltro, por lo tanto se demostró con los datos obtenidos que la eficacia de remoción de metano fue baja.

Fusarium solanise considera como un hongo filamentoso, en el cual el crecimiento de biomasa se evidencio en el inóculo tanto en el tratamiento uno como en el tratamiento dos, gracias a las condiciones de temperatura de 27 °C y 120 rpm en el inóculo se logró apreciar el aumento de la turbidez día con día, al tercer día en el medio de cultivo se observó la estructura completa del hongo la cual se apreciaba en forma de una masa coalescente solida de color blanco, a partir de 200 ml de inóculo casi el 75% de la fase líquida se convirtió en biomasa, de las protuberancias formadas en la parte superior se observa la acumulación de micelios y tiene una forma muy similar a una bola de algodón.

En la formación de biopelículas es muy importante saber el tipo de hongo con el cual se va a trabajar, dado que *Fusarium solani* tiene una estructura filamentosa demostró que tiene gran adherencia superficial, las estructuras fúngicas son muy importantes a la hora de formar redes o esteras de hifas, en este experimento las combinaciones de relleno y microorganismos juegan un papel importante con *Fusarium solani* tuvo una correcta adherencia superficial al entrar en contacto con el relleno de arlita, existió la formación de una biopelícula, pero en los distintos tratamientos existió variaciones en la unión activa en la superficie de relleno esto se reflejó en la apariencia de las columnas de PVC transparentes, la apariencia de la arlita en los dos tratamientos cambio después de inocular el relleno. De acuerdo a la formación de la biopelícula se puede apreciar la eficacia de remoción, en esta experimentación se ha propuesto dos tratamientos distintos pero de manera general y con los datos obtenidos se puede decir que *Fusarium solani* con arlita tiene una eficacia media.

En cuanto a la formación de la biopelícula de *Fusarium solani* con el compost se evidencia de diferente manera, la apariencia de la biopelícula en las paredes de la columna de PVC se tornan de color plomo, existe una gran área superficial cambiando la apariencia física y química a más del aumento de las comunidades microbiológicas que desencadenan una serie de reacciones, los datos obtenidos de la experimentación predicen que tienen una eficacia de remoción muy alta en comparación con los biofiltros propuestos. Según el estudio en el que se ocupa compost y otros microorganismos que ayudan en la biofiltración confirman que cuanto más gruesa es la biopelícula más tardan las moléculas de metano en difundirse a una célula activa (La et al. 2018).

Por lo tanto la formación de la biopelícula es uno de los parámetros muy importantes e influye el grosor de la biopelícula en la remoción del gas, en este experimento las biopelículas se estimaron

de manera cualitativa y su eficacia se refleja a partir de las concentraciones de salida de metano calculados en porcentajes de remoción, esto se comprueba con otras investigaciones.

La investigación demuestra el efecto del espesor de la biopelícula en la concentración de metano a la salida de los biofiltros, los resultados de una simulación numérica de esta investigación concluyeron que el aumento al triple de grosor de la biopelícula condujo una disminución del 70% en la concentración de metano a la salida, pero de la misma manera conduce a una mayor velocidad de reacción provocando a una mejora en la oxidación de metano (Jawad et al. 2021).

3.1.3. Pruebas abióticas

Las pruebas abióticas deben realizarse en el sistema para con la finalidad de cumplir los protocolos de funcionalidad:

Tabla 3-3: Pruebas abióticas del sistema de biofiltración

CH4	IN		BF1		BF2		BF3	
	%	AREA	%	AREA	%	AREA	%	AREA
IN	2,17	15467						
OUT			2,1	11409	2,06	10013	2,099	10780
IN	2,05	13272						
OUT			2,0841	9317	2,0781	9560	2,0794	9598

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Las pruebas abióticas tienen la finalidad de determinar una igualdad en el flujo de entrada, cumple con el principio del balance de masa en el cual entrada es igual a salida, esta prueba abiótica se realizó durante dos días seguidos para corroborar los datos, se toma una muestra de 100 ul en la entrada del sistema teniendo una lectura de 2.17% con una área de 15467 y las salidas son de 2.1%, 2.06%, 2.09% respectivamente para cada biofiltro cumpliendo así Entrada=Salida.

El área de entrada no es igual al área de salida debido a que en la entrada del sistema tenemos una presión y en las salidas la lectura del medidor de presión es cero, es por ello que las áreas de los biofiltros son parecidas. Las lecturas de los dos días se encuentran en el rango del parámetro establecido de concentración que es el 2%, cumplen con el protocolo y el sistema está listo para ser usado, estas pruebas permiten saber si existe alguna fuga o fallo en los biofiltros.

La factibilidad de estas pruebas también permite corroborar las calibraciones de los rotámetros, el medidor de flujo volumétrico y otros dispositivos añadidos al sistema de esta manera se logra evitar medidas erróneas.

3.1.4. Control del caudal de salida

Este parámetro es muy importante en el cual se controla el EBRT del sistema por medio del caudal de salida de los tres biofiltros. En el cual se representa el caudal de salida, y la presión conforme van pasando los días. La representación de la presión es a la entrada del sistema el cual se da en unidades de mbar.

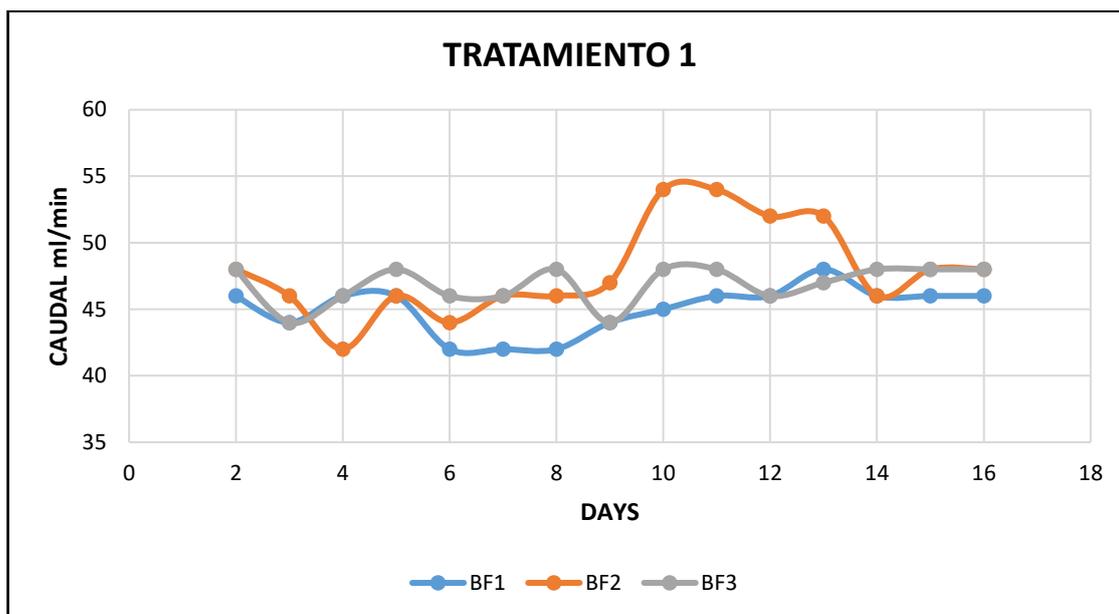


Ilustración 1-3: Datos del caudal de salida, presión Vs días aplicados con el primer tratamiento

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Se inició desde el día cero el tratamiento uno en el cual consiste una inoculación indirecta en los parámetros establecidos en el diseño se planteó el EBRT de 45 minutos con un caudal de aire de 44 ml/min, la primera experimentación el sistema opera el día 0 al día 17, el caudal de salida en el día cero y uno no se midió debido a que sirvió para ambientación, del día dos al día diecisiete existen medidas entre un rango de (42-48) ml/min la lectura del caudal de salida es un poco inestable dado que los rotámetros de aire que se usó en esta experimentación son de 200ml/min y 500 ml/min por lo tanto son muy difíciles de manipular, sin embargo el cambio del EBRT no es muy drástico con relación a los caudales de salida, este parámetro es muy importante que se debe controlar porque si llegan a existir valores fuera del rango establecido el experimento puede no lograría la optimización del sistema. Esta discusión de resultados corroboran con la investigación en la que mencionan que la concentración de metano de salida aumentó ligeramente a medida que aumenta la tasa de flujo de aire lo que significa que se bombea más metano al biofiltro (Jawad et al. 2021).

La variación de la presión de entrada está estrechamente ligada con el caudal de salida de los biofiltros dado que se relaciona con el EBRT del lecho empacado por lo que durante de los 17 días de experimentación la presión de entrada varía en un rango de 600 a 700 mbar, el aumento de la presión de día con día se fue dando en escalas de 5 a 10 mbar.

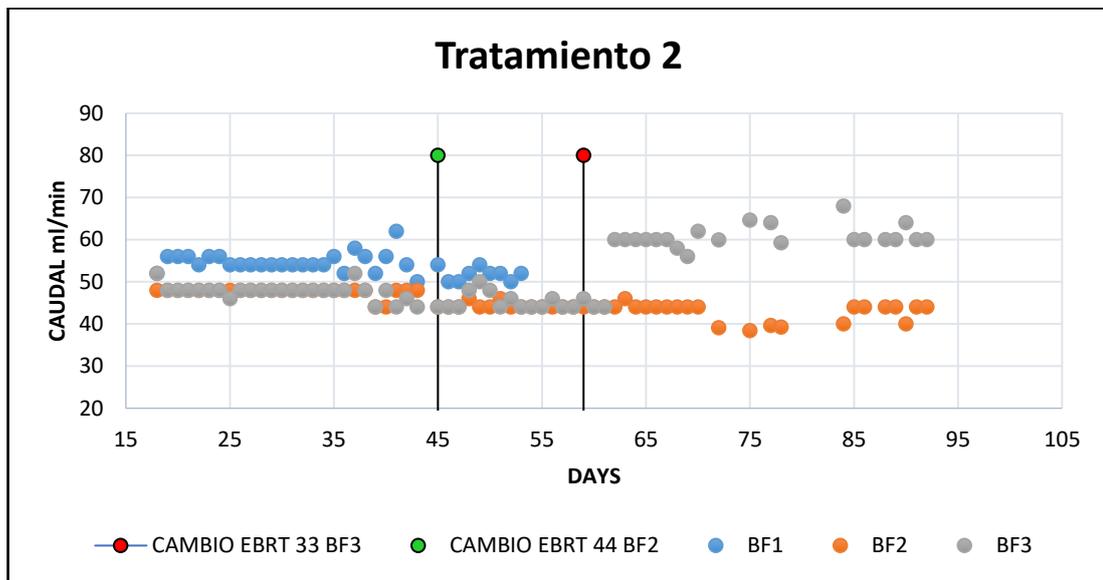


Ilustración 2-3: Datos del caudal de salida, presión Vs días aplicados-segundo tratamiento

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

El segundo tratamiento empezó a partir del día 18 con nueva inoculación en los tres biofiltros, teniendo un caudal de salida en el primer y tercer biofiltro de 52 ml/min el segundo biofiltro arranco con un caudal de 48 ml/min la representación gráfica en el biofiltro inoculado con *Cándida subhashiyyse* mantiene casi constante con un caudal de aire entre un rango de 52 – 56 ml/min la manipulación de los rotámetros es muy difícil por lo que se optó en mantener en esos caudales ,durante 10 días seguidos se mantuvo en 54 ml/min en el cual el EBRT fue de 37 minutos con las variaciones de caudal el EBRT tiene fluctuaciones muy bajas que no son de suma importancia, la operación duro desde el día 18 hasta el día 53.

Para el biofiltro inoculado con *Fusarium y arlita* el caudal de salida fue de 48 ml/min con un EBRT de 42 minutos desde el primer día de operación es decir el día 18se mantuvo constante hasta el día 43, a partir del día 45 hasta el día 92 se manipulo otro EBRT de 45 minutos con un caudal de 44 ml/min en el cual tuvo una variación de +2 teniendo caudales de 46 ml/min, esta experimentación con el BF2 se mantuvo más estable debió a que se realizó el cambio de rotámetros más pequeños con caudales de 50 ml/min, estos cambios se hacen para optimizar el sistema aunque no se perciben mucho en el %RE.

El biofiltro inoculado con *Fusarium solani* y *compost* es el más estable en cuestión del caudal de salida, en un inicio empezó el día 18 con un caudal de 52 ml/min y durante los días de operación se operó con un caudal de 48 ml/min hasta el día 43, se decidió manipular el EBRT con 44 ml/min desde el día 45 hasta el día 61 en el cual no varía mucho los caudales, posteriormente se decide manipular otra vez el EBRT a 30 minutos teniendo un caudal de 60 ml/min, desde el día 62 hasta el día 92, de acuerdo con los resultados obtenidos en %RE se va optimizando aún más el sistema.

Los cambios en el caudal de salida tienen una relación muy estrecha con EBRT, tienen una relación inversamente proporcional respectivamente es decir que mientras más aumenta el caudal de aire disminuye el EBRT, a partir de este parámetro se obtienen los rendimientos de eliminación, para este se dan diferentes caudales con cambios en los EBRT que permiten discutir con otros ensayos parecidos teniendo una similitud en los resultados, tanto que al manipular cambian los porcentajes de remoción, una investigación analiza la importancia de los efectos de cambios de EBRT en un sistema con un biofiltro percolador en el cual los cambios en la reducción de EBRT han demostrado que estos sistemas influyen en el rendimiento de eliminación, en un ensayo al reducir el EBRT resultó que un efecto perjudicial en el %RE de 77,5% a un 30,8% (Pascual et al. 2021).

Los caudales de salida del experimento muestran ser constantes por tanto el experimento se puede decir que es estable, si el caudal de salida es diferente al establecido cambia el EBRT en el cual influye también en la transferencia de masa, por lo tanto este estudio confirma que el rendimiento de un sistema de biofiltración se ve afectado por el aumento de la concentración de metano y el aumento del caudal del gas, o un EBRT más bajo, por lo tanto la transferencia de masa de CH₄ en la interfaz de la biopelícula se convierte en el paso limitante de la velocidad a medida que aumenta el flujo de gas (La et al. 2018).

En cuanto a la presión de entrada del sistema a partir del día 18 como primera medida se obtuvo 805 mbar y el día 92 aumento la presión de entrada a 895 mbar, se mantiene en el rango de 800 a 900 mbar, el aumento de presión se da debido a que el flujo de aire se encuentra en el lecho y de acuerdo al tiempo de residencia se maneja el caudal de salida, también coincide con la producción de CO₂ y el porcentaje de remoción, las presiones que se acercan a los 900 tienen altos porcentajes v/v que superan el 2%, también puede estar relacionado con la acumulación de biomasa, o la compactación del lecho filtrante.

3.1.5. Comportamiento del pH

Con esta experimentación podemos definir la influencia del pH conforme a los tratamientos y el paso de los días. Este parámetro está estrechamente ligada con la comunidad microbiana, siendo una variable importante para el crecimiento y mantenimiento de la biomasa inoculada en los rellenos al igual que el medio mineral a base de sales que aporta nutrientes.

Tabla 4-3: Composición química de medio mineral (MSM)

Medio mineral 1	Medio mineral 2
Composición química	Composición química
<ul style="list-style-type: none"> • 15.2 g $Na_2HPO_4 \times 12H_2O$ • 3 g KH_2PO_4 • 0.5 g NaCl • 1 g NH_4Cl 	<ul style="list-style-type: none"> • $NaNO_3$ • KH_2PO_4 • $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ • $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ • $CaCl_2$ • $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ • $MnSO_4 \cdot H_2O$ • $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ • $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ • $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ • H_3BO_3

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

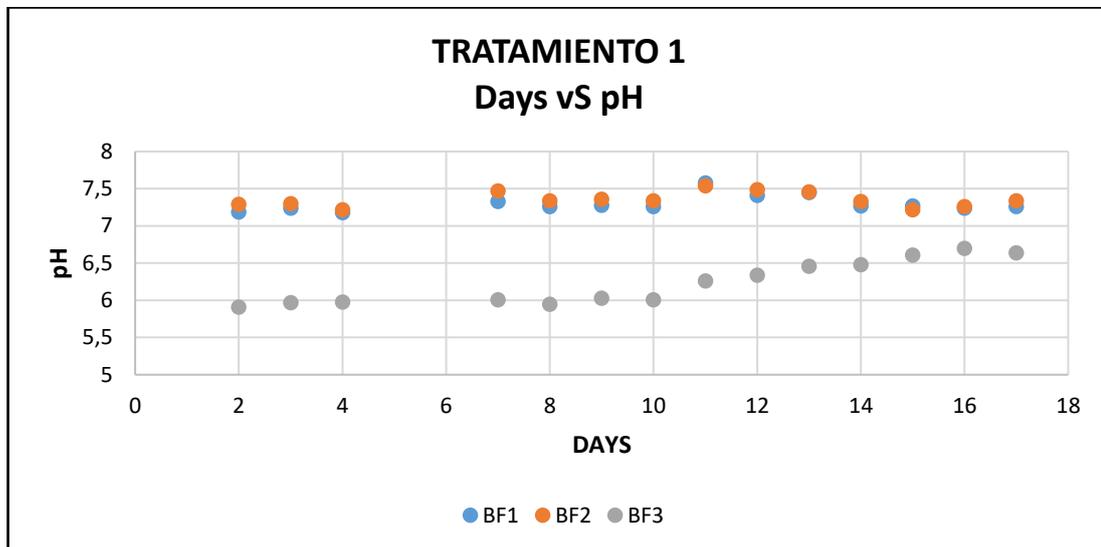


Ilustración 3-3: Variación del pH conforme al tiempo para el tratamiento 1

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

El efecto del pH durante la experimentación fue de gran importancia para el crecimiento de microorganismos fúngicos, y del crecimiento metanotrófico del bacterias que se hallan en el compost, el medio mineral para el tratamiento uno tiene fuentes de fosfato, amonio, sodio, el día cero de inoculación no se tomó la medida del pH dado que todo el líquido de inoculación baja a los conos de los biofiltros por lo tanto se empieza desde el 2.

Arrancan las medidas en los BF1 y BF2 con un pH de 7,19 y 7,29 respectivamente el BF3 empieza con una medida de 5,91 y con el pasar de los días va subiendo gradualmente hasta llegar a 6,64 pasando de un medio ácido a un medio casi neutro; mientras que los BF1 y BF2 se mantienen en un pH de 7. El medio mineral no es muy completo por lo tanto existieron porcentajes de remoción (%RE) muy bajos.

La composición química del primer medio mineral exclusivamente el compuesto NH_4Cl puede servir como un arma de doble filo con el BF de compost, durante los 17 días de operación no arrancó, y la variación de los valores es de manera gradual estos cambios pueden afectar a la población microbiana ya que existen microorganismos metanótrofos y según (Dunfield 2009) existen diferentes tipos tales como: termófilos, acidófilos, alcalófilos y halófilos, no hubo actividad metanogénica por parte de los microorganismos, con la comparación del MSM y la revisión bibliográfica se puede deducir que los altos niveles de NH_4^+ se han observado que tiene un efecto negativo correspondiente en el rendimiento de la biofiltración de CH_4 así lo menciona (Huber et al. 2011).

La influencia del pH y la composición química son muy relevantes debido a que se pueden producir distintas sustancias como metabolitos ácidos que inhiben CH_4 y esto es causado por las reacciones de oxidación, como lo menciona en el apartado de nutrientes: es deseable proporcionar un suministro a largo plazo de nitrógeno y otros nutrientes para garantizar un rendimiento de biofiltración adecuado (La et al. 2018).

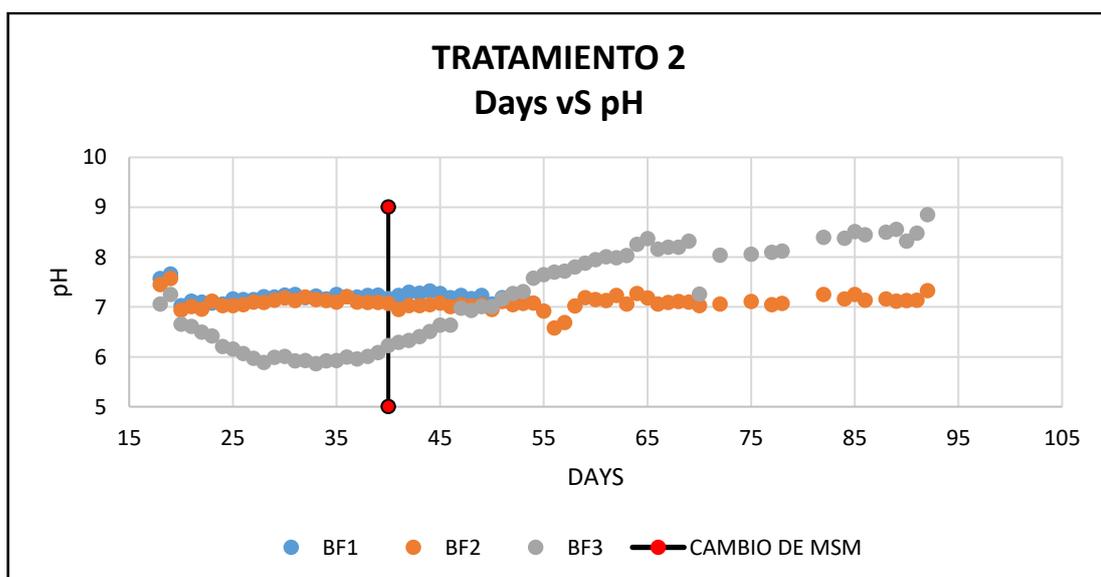


Ilustración 4-3: Variación del pH conforme al tiempo para el tratamiento 2

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Para el segundo tratamiento la aclimatación directa del relleno con el medio mineral en el proceso de inoculación permitió evidenciar el crecimiento fúngico durante las 48 horas, la turbidez de las botellas fue muy alta a simple vista fue fundamental se opera con dos MSM con diferente composición química, a partir del día 18 se inició la operación con el medio mineral MSM1 con un efecto de pH en los tres biofiltros de 7,57-7,45-7,06 respectivamente, desde el día 18 hasta el día 40 para el BF1 se mantiene en un rango de 7, para el BF2 se inicia con un pH de 7,45 el cual se mantiene estable en toda la operación aunque tiene variaciones que no han afectado al sistema este inicia con un pH de 7.06 pero tiene variaciones que en este caso si han afectado en el porcentaje de remoción, los resultados del pH con el paso de los días van bajando poco a poco obteniéndose valores que llegan a un pH ácido de 5,75.

A partir del día 41 hasta el día 92 se cambia el MSM1 por el MSM2 el cual contiene mucha cantidad de nutrientes a diferencia del MSM1, por ejemplo el MSM2 contiene NO_3PO_4 , SO_4 , en conjunto con otros metales como Na, K, Ca, Fe, Zn, Cu. La adición de nutrientes es muy importante dado que todos los microorganismos necesitan de compuestos específicos para poder crecer y desarrollarse, con el segundo medio se notó que la eficacia de eliminación aumenta para los tres reactores.

El porcentaje de remoción ha aumentado en el BF3 esto se debe a la actividad microbiológica que se produce en el compost, el pH del BF3 cuando está en 6 el porcentaje de remoción aumentó y la población bacteriana se modifica de acuerdo al pH, en el compost existen metanótrofos tipo I y tipo II. En un artículo que los metanótrofos de tipo I pueden prosperar en ambientes con alto contenido de nitrógeno, ya que pueden asimilarlo rápidamente, con esta conceptualización se deduce que en el compost existen metanótrofos de tipo I (La et al. 2018).

En tanto los metanótrofos de tipo II se desarrollan en condiciones con limitación de nitrógeno y ambientes con muy poco oxígeno, la particularidad de este medio mineral es la adición de 18 g/L de $NaNO_3$, como se mencionó en el apartado anterior el suministro de nitrógeno puede afectar de manera significativa la absorción de CH_4 sin embargo en este caso en este caso para el compost no fue un limitante y se lo demuestra con los resultados de %RE, de esta manera se afirma los estudios de quienes variaron las concentraciones de nitrato y no se observaron cambios, al contrario mantienen la eliminación de CH_4 (Sly et al. 1993).

El aumento gradual del pH en el BF3 es preocupante con el segundo tratamiento, el aumento brusco oscila sobre 8.5 debido a esto se realiza una prueba de aniones en la que reflejan con estos

resultados se puede deducir que el aumento se da debido a la carga de aniones o a la salinidad del

CAÍDA DE PRESIÓN (mmH ₂ O)			
SEMANA	BF1	BF2	BF3
1	1	2	10
3	2	2	1
5	2	2	2
7	2	1	3
9	2	1	2
12	1	1	1

medio mineral, los aniones de ácidocarbónico se encuentran en un pH por debajo de 6, para un pH entre un 6 y 10,5 domina el anión bicarbonato, en tanto para un pH de 10,5 domina el anión carbonato(Jin y Kirk 2018).

El compuesto químico como el azufre puede presentarse disuelto de forma aniónica como: Sulfuro de di hidrógeno, sulfuro de mono hidrógeno y sulfuro en rangos de pH de <7, entre 7 y 13.5, >13.5 respectivamente, donde los microorganismos toman rutas metabólicas distintas.

Por lo tanto con los resultados emitidos mediante la prueba de aniones en el equipo de HPLC comprueban que existen concentraciones altas de nitrógeno y azufre. Mientras va subiendo el pH del BF3 se debe precautelar la supervivencia microbiológica del biofilm de tanto que en medio ácido hay la existencia de bacterias y en el medio alcalino difícilmente existan bacterias, debido a esto la importancia del pH porque determina el crecimiento y la supervivencia microbiana, controla la actividad química de los protones que definen las reacciones redox y afectan la reactividad del carbono orgánico(Jin y Kirk 2018).

3.1.6. Efecto de la caída de presión en el sistema.

La caída de presión se determina en unidades de milímetros de columnas de agua, el dispositivo de medida en forma de U está adaptado para utilizar el agua como una especie de fluido manométrico.

Tabla 5-3: Caída de presión semanal

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

En el sistema de biofiltración se debe mantener un control de la caída de presión, las medidas se optaron por tomar 1 vez a la semana durante el periodo de experimentación las medidas durante el sistema se mantuvieron constantes hasta la semana 8, el BF1 mantiene el rango de 1 y 2

mmH₂O, para el BF2 se mantiene constante 2 y 1 mmH₂O, para el BF3 se inicia con 10 mmH₂O y se va reduciendo hasta llegar a 1 mmH₂O, la caída de presión es un parámetro muy importante en los biofiltros suelen presentar valores altos cuando se tiene rellenos orgánicos como en esta experimentación se presenta el compost.

Cuando se tiene una caída de presión baja se puede deducir que no existe acumulación de biomasa en el lecho filtrante, en el caso de los rellenos de origen orgánico son materiales comprimibles que pueden causar problemas de compactación, por lo tanto la corriente de aire puede generar vías alternas y tomar una sola dirección presentando resistencia al flujo y generar un porcentaje bajo %RE.

Para los BF1 y BF2 la caída de presión fue muy baja con resultados de 1 y 2, el relleno del lecho es de material arcilloso y poroso, y no presentan una alta acumulación de biomasa. La composición química de este material corrobora lo que se menciona (Lee y Bennington 2005). Unos investigadores realizaron un estudio parecido de tratamiento para otros tipo de COV y con otro tipo de hongos en el cual obtuvieron una caída de presión alta de 91 a 912 Pa y demostraron cómo los hongos pueden presentar una resistencia significativa al flujo en movimiento, la diferencia significativa se da debido al relleno utilizado en las columnas del biofiltro (Estrada et al. 2013).

Incluso la altura del lecho influye, si se tiene una altura corta pueden tener efectos de caídas de presión muy bajas, los resultados de la experimentación de *Fusarium solani* y compost son relativamente bajos y funcionó con un volumen de 2 L y con una altura de 80 cm. Con un estudio se hace mención que el uso de alturas de lecho de filtro poco profundas puede limitar los efectos de compresión, lo que luego puede limitar la caída de presión (Pratt et al. 2012). Por otra parte se realizó un estudio con relleno de compost en el cual observaron una caída de presión baja de 10 mmH₂O teniendo un alto porcentaje de remoción, al igual que la experimentación realizada tienen bajas caídas de presión (Hernández et al. 2015, p. 763).

3.1.7. Porcentaje de remoción (%RE)

Los porcentajes de remoción se calculan en base a las concentraciones de entrada y salida en los biofiltros, siendo así uno de los parámetros más importantes a definir como es a nivel de laboratorio esta experimentación se llevó bajo el límite de 5% v/v definiendo el 2% v/v a tratar, la concentración se mide por el método de cromatografía de gases las unidades son dadas en área/% v/v determinando la relación O₂:CH₄ teniendo una corriente de mezcla activa y las

unidades en las que se trabaja son en g/m^3 . Con esta comparación se permite saber cuál es el biofiltro que funciona en base a los objetivos planteados.

3.1.7.1. Porcentaje de remoción con el primer tratamiento

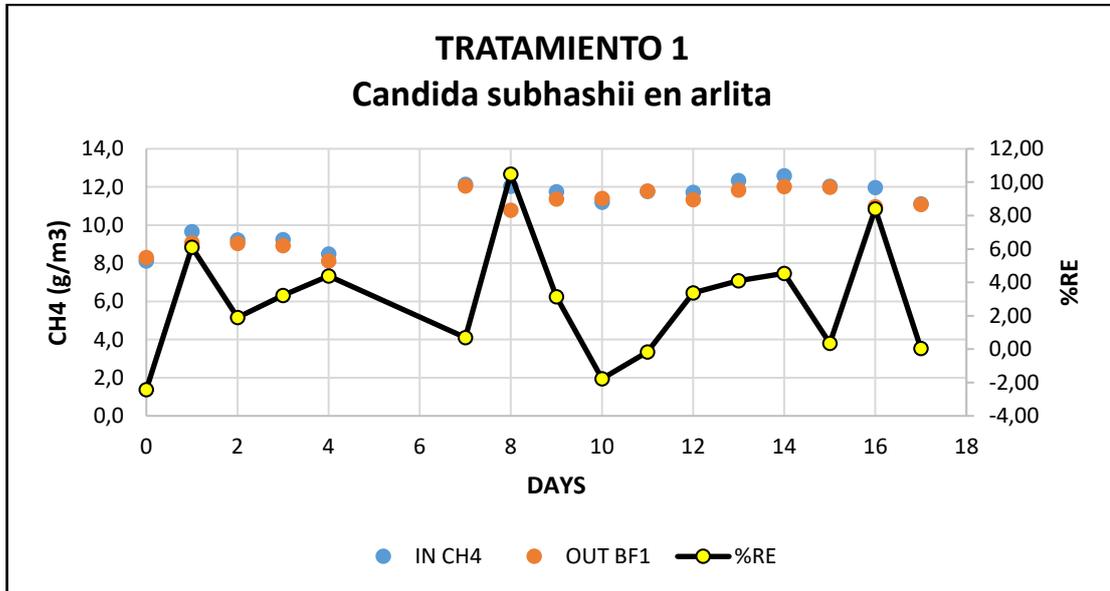


Ilustración 5-3: Porcentaje de remoción de metano (%RE) para el biofiltro 1-tratamiento 1

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Los análisis para el BF1 inoculado con *Cándida subhashii* son muy prometedores dado que es un hongo tipo levadura, la entrada de metano es en un porcentaje del 2% v/v. Para el porcentaje de remoción se calcula en base a las unidades de concentración en % v/v, este permite saber cuánto porcentaje de metano ingresa y cuanto porcentaje de metano sale. La muestra se mide de acuerdo al paso de los días, si el porcentaje de metano disminuye y existe unaproducción de dióxido de carbono puede decirse que es actividad bacteriana o fúngica, ahora si no existe la producción de dióxido de carbono puede decirse que solo existe absorción por parte del relleno.

La grafica 5-3 muestra la actividad de remoción que realiza el BF1 operando 17 días en el cual según los datos obtenidos por el cromatógrafo GC-TCD AGILENT con muestras por duplicado, a la entrada del sistema existe un promedio de 2,06% v/v que al ser transformado en g/m^3 da un valor de 11.5 g/m^3 , el porcentaje de remoción en el sistema de *Cándidasubhashii* es inestable, los picos más altos que se muestran corresponden al 8 y 10% , al igual que las desviaciones estándar son muy altas, este error se puede asumir que es el del equipo, al igual que la curva de calibrado del año anterior la cual estaba desactualizada.

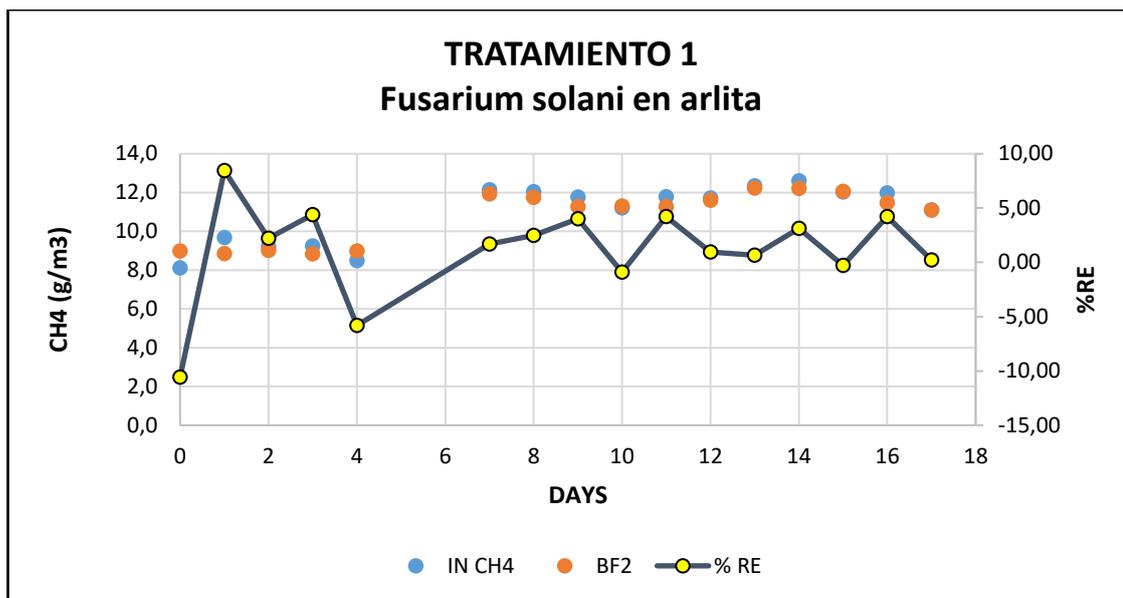


Ilustración 6-3: Porcentaje de remoción de metano (%RE) para el biofiltro 2-tratamiento 1

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

La grafica 5-3 muestra los datos de entrada de CH_4 son estables, se opera durante 17 seguidos, los caudales se encuentran en un rango del 2% v/v que se transforman en g/m^3 los puntos de color azul muestran una tendencia constante, los primeros días de adaptación el flujo se encuentra de 8 a $10 g/m^3$, a partir del día 7 sube el flujo de entrada llegando a un 2% con $12 g/m^3$, la tendencia de remoción para este tratamiento no es alentadora y se refleja con los puntos de color naranja donde existe una ligera variación de entrada y salida.

El porcentaje de remoción (%RE) varía de acuerdo con los días, el punto más alto es 8,45% corresponde al segundo día de inoculación esto puede ser por absorción de la arlita, de la misma manera existen datos negativos y consecuencia de esto debe ser el error del equipo, con los valores bajos de remoción se predice que este tratamiento no es eficaz para la remoción de gas metano.

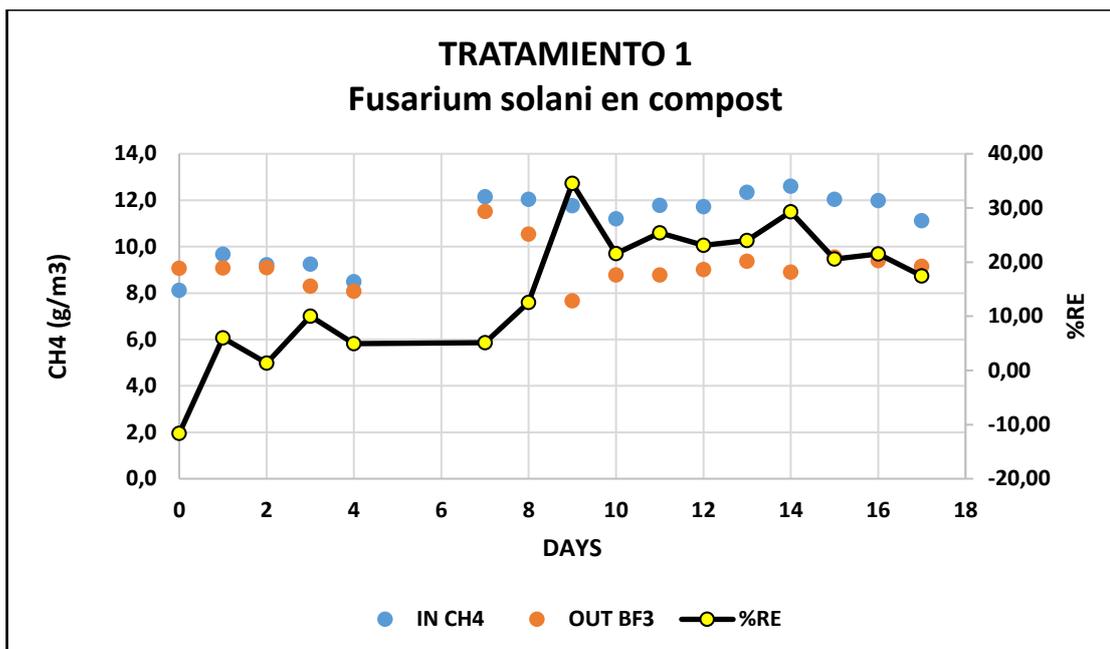


Ilustración 7-3: Porcentaje de remoción de metano (%RE) para el biofiltro 3-tratamiento 1

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Con el tratamiento 1 para el biofiltro 3 los resultados son alentadores y buenos, empezó con un tiempo de operación de 17 días seguidos a partir del día cero la entrada de gas metano se mantiene constante con un porcentaje de 2% v/v para determinar el caudal de gas se calcula en g/m³ durante el tiempo de operación la salida de gas metano va disminuyendo, en tanto el porcentaje de remoción se calcula en base a las concentraciones de entrada y salida.

El porcentaje de remoción en el día cero es negativo debido a que en la salida del BF3 la concentración de gas metano es más alta que en la entrada, en tanto el segundo día tuvo el porcentaje de remoción sube a un 6%, a partir del día 7 el porcentaje de remoción comienza a subir, el punto más alto en la curva de representación es 34,55% que corresponde al día 9, consecuentemente el rango de remoción es entre (20-30) %. Para el día 17 el porcentaje de remoción baja a 17,47%, esto puede darse debido a la inoculación precaria y el medio mineral inadecuado.

El porcentaje de remoción alto con respecto a los otros biofiltros se debe a que en el compost se encuentran bacterias metanotróficas y la inoculación con hongos *Fusarium solani*, las dos viven en simbiosis en el reactor con variables controladas, que permiten el crecimiento de la biomasa, dado que el compost tiene muchos nutrientes el crecimiento de la biopelícula es mayor con respecto a los otros biofiltros. El hongo *Fusarium solani* se desarrolla y crece mucho mejor en ambientes con carga orgánica alta esto se demuestra con las pruebas de TOC e IC 500, por el

contrario la carga orgánica de los biofiltros *Fusarium solani* y *Cándida subhashii* en medio de alita son bajas lo que da como resultado % RE bajas.

El porcentaje de remoción por parte del BF1 inoculado con *Cándidasubhashii*es bajo no supera el 10% esto puede ser de acuerdo a la hipótesis planteada sobre la inoculación del relleno, este hongo es de tipo levadura la cual en su estructura no presenta hifas filamentosas como el hongo *Fusarium solani*, existen muy pocos estudios en el que tratan metano con hongos, en un estudio inoculan con 4 tipos de hongos, 1 de ellos son inoculados son *Cándidaingens* que tratan CH_4 por medio del suministro de purines y con pruebas de microcosmos oxidaron el ácido acético, pero las con las condiciones de operación no removieron el gas CH_4 por lo tanto las cepas fúngicas fueron superadas por otros microorganismos(Girard et al. 2012).

El rendimiento del biofiltro depende del tipo de inoculación que se tiene en el relleno, las condiciones de crecimiento de los microorganismos para crear el biofilm y las condiciones del sistema (Vergara et al. 2018, p.12). En una de sus investigaciones que el rendimiento del biofiltro está determinado en última instancia por la actividad catabólica de la biomasa microbiana que, a su vez depende de la masa microbiana presente como la actividad intrínseca de la misma.

A *Fusarium solanise* considera como hongo filamentoso y la estructura de las hifas son lo que permiten la transferencia de masa entre la biopelícula y el gas, hay pocos estudios que demuestran que los hongos filamentosos degradan el gas metano, al contrario existen estudios que demuestran la degradación de COVs como el tolueno, n- pentano que son compuestos hidrofóbicos más fácil de degradar por sus características de solubilidad en agua. El crecimiento filamentosos en biofiltros fúngicos favorece el transporte de la fase gaseosa a la biótica tanto por el aumento de la superficie de intercambio, debido al crecimiento de las hifas (Vergara et al. 2018).

Para el tratamiento 1 se utilizó un medio mineral MSM muy pobre en nutrientes, el cual tiene como compuesto principal sales fosfatadas, no hay fuente de nitrato, ni sulfatos, en consecuencia la actividad metabólica de los microorganismos para oxidar CH_4 en CO_2 es baja.

Un estudio en el cual comparan dos biofiltros y muestra el consumo de nutrientes de una solución MSM con otra y los resultados determinan que existe un %RE menor para el BF2 con respecto al BF1 siendo el causante la falta de nutrientes(Khabiri et al. 2020).

3.1.7.2. Porcentaje de remoción con el segundo tratamiento

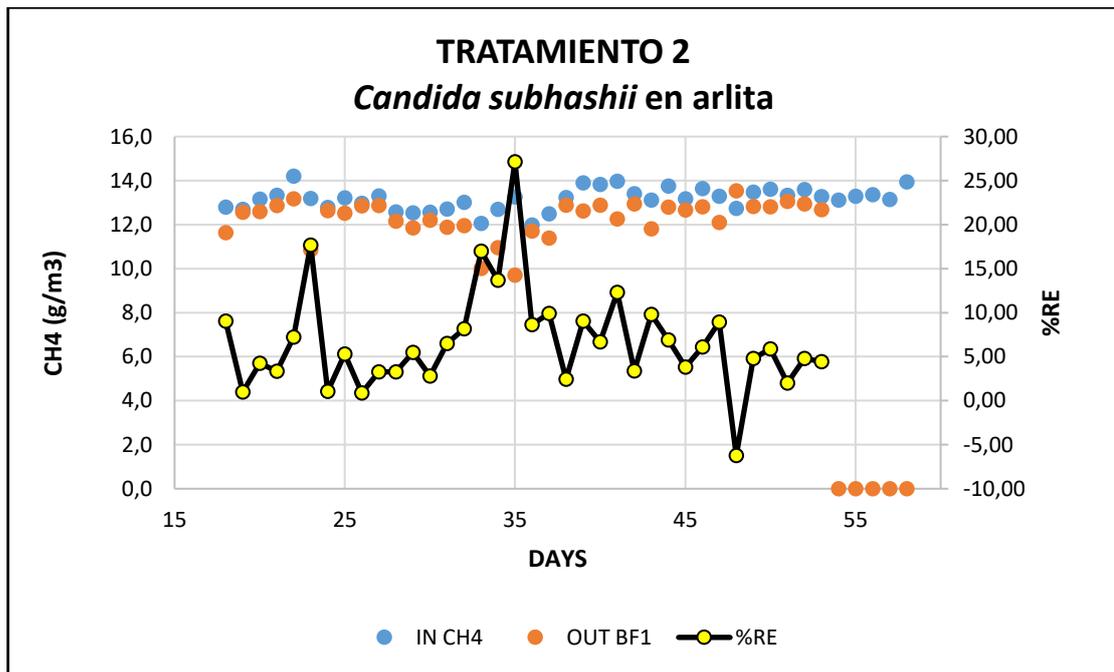


Ilustración 8-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 1-tratamiento 2

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Para el BF1 se realiza una inoculación directa, es decir se crea una adhesión completa de la biomasa en las piedras de arlita, este tratamiento inicia a partir del día 18 con un porcentaje a tratar del 2% v/v y teniendo como primera medida de %RE de 9,04%, en la gráfica 6-5 muestra la curva de tendencia que marca el %RE, durante los días siguientes varía el porcentaje de remoción y baja drásticamente, teniendo una variación muy grande como se muestra en el día 23 el cual tiene un repunte en el pico con 17,64% RE, y baja al día siguiente completamente hasta llegar a 1% , el sistema de Biofiltración para *Cándidasubhashiies* muy inestable e impredecible no tiene una constancia de eliminación y esto puede ser solo signo de absorción por parte de la arlita, es decir no hay existencia de actividad metabólica por parte de los microorganismos.

La arlita es un material arcilloso y tiene una muy buena porosidad en tanto a la absorción de agua es 38% de masa, con una granulometría de 2-10 mm es uno de los materiales más usados como rellenos en los biofiltros. A diferencia de los demás biofiltros este opera desde el día 18 hasta el día 53, el último día de operación tiene 4.43% RE.

Este tipo de microorganismos no dio los resultados esperados para degradar metano, con la estructura de la levadura que es parecida a un polvillo de color manteca se presume que no existió adherencia en el relleno, y con el riego de MSM diario hay la posibilidad de un lavado diario en

el relleno, por lo tanto la biomasa del lixiviado es desechada. En los análisis de TOC e IC no existe muestra de carbono orgánico, se decidió usar estos microorganismos por la existencia de antecedentes como se menciona en las investigaciones de la degradación de reactivo de naranja reportando resultados alentadores utilizando una ceda de *Cándida*, en el cual se removió más del 80% del compuesto mencionado, esta fase alcanzó un máximo durante la fase exponencial, demostrando que la eliminación estaba asociada con el metabolismo primario de la levadura(Ruscasso et al. 2021).

Con el segundo tratamiento se busca que la levadura crezca en el medio de cultivo y al realizar los cambios de las fases liquidas con el medio, pueda existir una aclimatación, crecimiento y adherencia al lograr esto, en la columna del biofiltro se busca bioestimular a la levadura cuando entra en contacto con el metano, la importancia del inóculo e inmovilización de los hongos es un paso clave para la transferencia de masa.

Se ha encontrado un estudio en el que menciona el efecto de degradación de acuerdo al inóculo y la diferencia entre inmovilización y movilización de los microorganismos, donde una cepa de *Cándidatropicalis* mejora la degradación del fenol con el aumento del volumen del inóculo teniendo valores máximos de degradación al añadir 10% más del volumen del inóculo removiendo 1200 mg/L de fenol de una fuente de aguas residuales y de la misma manera las células inmovilizadas degradaron el fenol más rápido que las células libres en botellas serológicas(Gong et al. 2021).

En este estudio realizado las células fúngicas estaban inmovilizadas en el relleno pero no se obtuvo resultados de degradación de metano altos, por lo tanto en este caso el tipo de inoculación no funciona con respecto a lo que menciona un autor que con la inmovilización de bacterias se logra una mayor eficiencia de degradación de contaminantes, al contrario de utilizar células libres(Ontañón et al. 2017).

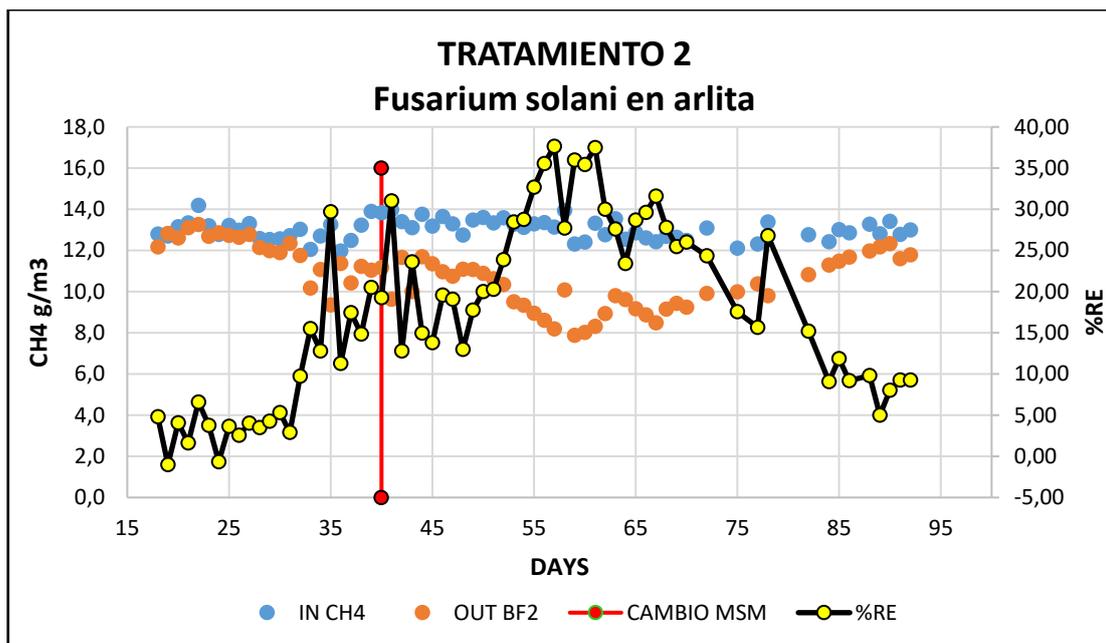


Ilustración 9-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 2-tratamiento 2

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

El tratamiento 2 para el biofiltro inoculado con *Fusarium solani* en arlita dio resultados muy alentadores, la inoculación directa y la correcta adhesión del hongo en la arlita se manifestó de manera cualitativa, es decir en el proceso de aclimatación entre los cambios de fases líquidas de inóculo y MSM se observó el crecimiento del hongo en la arlita, las bolas del empaque estaban cubiertas de las hifas teniendo un aspecto “peludo” en los alrededores.

Al momento cubrir con el relleno la columna de PVC del biofiltro este entró en un periodo de bioestimulación con una mezcla entre aire y gas CH_4 puro al 99%.

Como se muestra en la gráfica 9-3 existe una línea de tendencia, en comparación con el biofiltro de *Cándida subhashii* este biofiltro tiene más estabilidad, operando desde el día 18 hasta el día 92 por 24/7. Cabe recalcar que el porcentaje de remoción aumentó el día 40 con el cambio de medio mineral pobre en nutrientes por un medio mineral rico en sales fosfatadas, sulfatadas entre otros metales que permiten el crecimiento de este hongo.

Como se mencionó en el apartado anterior es importante la composición química del medio mineral y esto se refleja que a partir del cambio de medio mineral los porcentajes de remoción se elevaron llegando casi al 40% RE, teniendo un porcentaje óptimo de remoción para control de emisiones con concentraciones bajas, el sistema comienza a bajar el porcentaje de remoción el cual llega a 10%, la baja de este porcentaje no se tiene muy clara, se toma la medida de caída de

presión y con un resultado de $20 \text{ cmH}_2\text{O}$ nos predice que el sistema puede estar limitado por la transferencia de masa en la biopelícula.

Una de las causas puede ser que existe una caída de presión alta como la antes mencionada puede ser por el exceso o acumulación de biomasa en el relleno, el exceso de acumulación puede obstruir el lecho del filtro, el material de empaque y producir caídas de presión y crear canales de flujo de airemenciona(Yang et al. 2010).

Como el metano es muy poco soluble este problema de transferencia de masa aclara el descenso de la remoción a pesar de que se mantiene constante la entrada de gas metano al sistema, este resultado afirma el estudio donde por medio de un estudio de nuevos materiales para la biofiltración de metano, el resultado de su investigación menciona que la transferencia de masa de CH_4 en la interfaz de la biopelícula se convierte en el paso limitante de la velocidad a medida que aumenta el flujo de gas(Brandt et al. 2016).

En este estudio se busca dar una explicación de los valores bajos de remoción después de un tiempo de haber estado estable, en el cual se aumentó el caudal de entrada durante cada hora y según los valores obtenidos de salida se determinó que existe limitación de transferencia de masa, este parámetro se lo realizó en base al estudio más reciente donde se utiliza una cepa pura de hongo *Graphiumsp* en la degradación de gas metano, teniendo como resultado que la única manera de oxidar el metano a CO_2 es por medio de co-metabolismo con metanol, esto en consecuencia de las propiedades bajas en solubilidad para el metano y la deficiencia en la transferencia de masa(Lebrero et al. 2016).

Al disminuir el EBRT de 48 minutos a 45 minutos, también cambian los porcentajes de remoción pero no fluctúan mucho dado que es un cambio insignificante, si existe un cambio de EBRT brusco los resultados se ven reflejados y existe una variación significativa, por lo tanto es importante trabajar con un EBRT suficiente que permita la transferencia de masa de tal manera que permita a los microorganismos degradar los contaminantes (Yang et al. 2010).

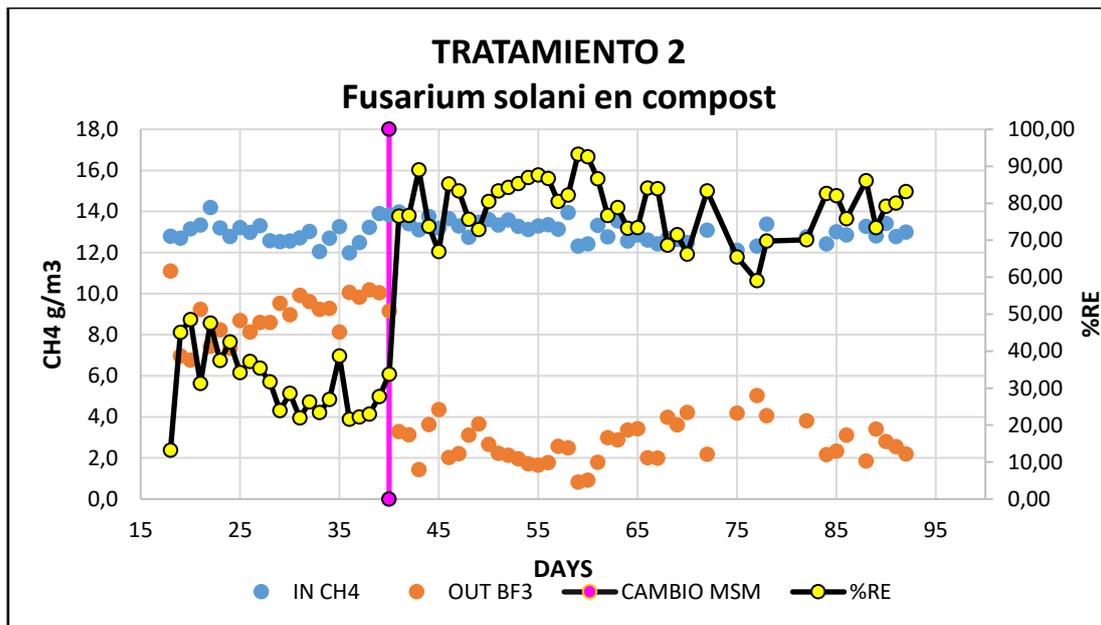


Ilustración 10-3: Porcentaje de remoción de metano %RE para el biofiltro 2-tratamiento 2

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

El BF3 fue inoculado con *Fusarium solanien* medio de compost, el compost sirve de relleno en la columna del biofiltro, la operación se llevó a cabo desde el día 15 hasta el día 92 teniendo varios cambios tanto en el EBRT como la composición química del medio mineral MSM, la curva de %RE muestra una tendencia de aumento pero en particular se muestra un ascenso a partir del día 40 el cual coincide con el cambio del medio mineral, el aumento es significativamente alto que pasa de 33,77% a 76,51%, y posterior a ese el ascenso de la curva alcanza su punto máximo de 95% de remoción de gas metano.

Esta mezcla de bacterias y hongos ha permitido que tenga una efectividad muy alta, sin embargo existes valores que oscilan en el 70%, la comunidad microbiana trabaja a la par de la comunidad fúngica, existen investigaciones que mencionan la efectividad de un consorcio de bacterias y hongos, demostró que un biofiltro inoculado con bacterias y una cepa de hongo *Graphiumsp* es más efectivo teniendo un %RE cercano a 90% que uno solo inoculado con bacterias o solo con hongos. Desde luego en el compost existe un sin número de bacterias que tienen afinidad por degradar metano, pero cuando se trata de hongos el metabolismo de degradación es diferente y más complicado al no tener la misma enzima mono-oxigenasa que se encarga de degradar el CH_4 en CO_2 (Lebrero et al. 2016).

Las bacterias y los hongos permanecen en simbiosis en el compost, se ayudan entre si formando una biopelícula, las comunidades microbianas cambian de acuerdo a las condiciones de pH y los nutrientes que absorben. Esto se afirma de acuerdo con el estudio donde menciona que los

microorganismos que existen dentro de la biopelícula sobreviven en modo cooperativo y se ayudan unos a otros formando diferentes funciones ecológicas dentro de la Biopelícula (Dwivedi y Dwivedi 2022).

Debido a la estructura de los hongos, las hifas que presenta *Fusarium* logran formar una red micelial lo que permite colonizar a otros microorganismos, esta contribución entre hongos y microorganismos ha permitido tener biofiltros muy efectivos. Tal es así que una de las funciones de los hongos filamentosos es proporcionar elementos básicos o ser de soporte biótico a través de las hifas para el establecimiento y colonización de bacterias en las superficies de relleno (Douterelo et al. 2018).

Con el consorcio de bacterias y hongos se forma una biopelícula mixta que se adhiere a las superficies de la columna PVC, la adhesión de los microorganismos se realiza mediante cuatro procesos principales como: la difusión (movimiento browniano), la convección, sedimentación por gravedad y la movilidad activa de los microorganismos que es la multiplicación de las células que ayudan al asentamiento celular en el compost. Por la parte ingenieril se puede explicar que las células microbianas se adhieren a la superficie se produce la adhesión inicial que puede ser reversible o irreversible dependiendo de la energía de interacción total, que es la suma de la fuerza de Van der Waals y la fuerza electrostática teniendo una unión irreversible (Dwivedi y Dwivedi 2022).

Se ha visto que las condiciones del biofiltro afectan de manera representativa en la remoción de metano, como son células vivas pueden presentar estrés por la tolerancia de sustancias químicas, y los cambios biológicos, más aun en medio de compost por ende la biodegradación dentro del biofilm esta medida por cultivos y colonización mixta de bacterias y hongos (Yang et al. 2010).

Es muy común en este tipo de biofiltros que exista acumulación de biomasa, células muertas, metabolitos secundarios conllevan a la sobreproducción de biomasa y logra tapar los poros del material filtrante formándose un biofilm con un grosor significativo, como consecuencia existe una transferencia de masa más complicada y se evidencia tanto en la producción de CO_2 y $\%RECH_4$ (Avalos et al. 2012). La acumulación del biofilm puede disminuir levemente la transferencia de metano y oxígeno de la emisión de aire y por lo tanto puede deteriorar el rendimiento del biofiltro.

Hoy en día hay muchos estudios que evidencian los géneros de bacterias metanótrofas que actúan en la degradación de metano existente en el compost, en este estudio no fue posible publicar la identificación genómica del compost por medidas de privacidad y autenticidad de la Universidad de Valladolid, y mediante revisión bibliográfica en el estudio donde se menciona a los microorganismos metanótrofos de familias *Metilococcaceae*, *Methylomicrobium*, *Metilosarcina*,

Xanthomonadaceae, *Metilocistáceas*, *Caulobacteraceae*, *Microbacteriaceae* que se encuentran en el consorcio microbiológico de compost con *Graphium* sp (Lebrero et al. 2016).

3.1.8. Producción de CO_2

La producción de CO_2 es el producto de la oxidación de CH_4 en condiciones aeróbicas.

3.1.8.1. Producción de CO_2 con el tratamiento 1

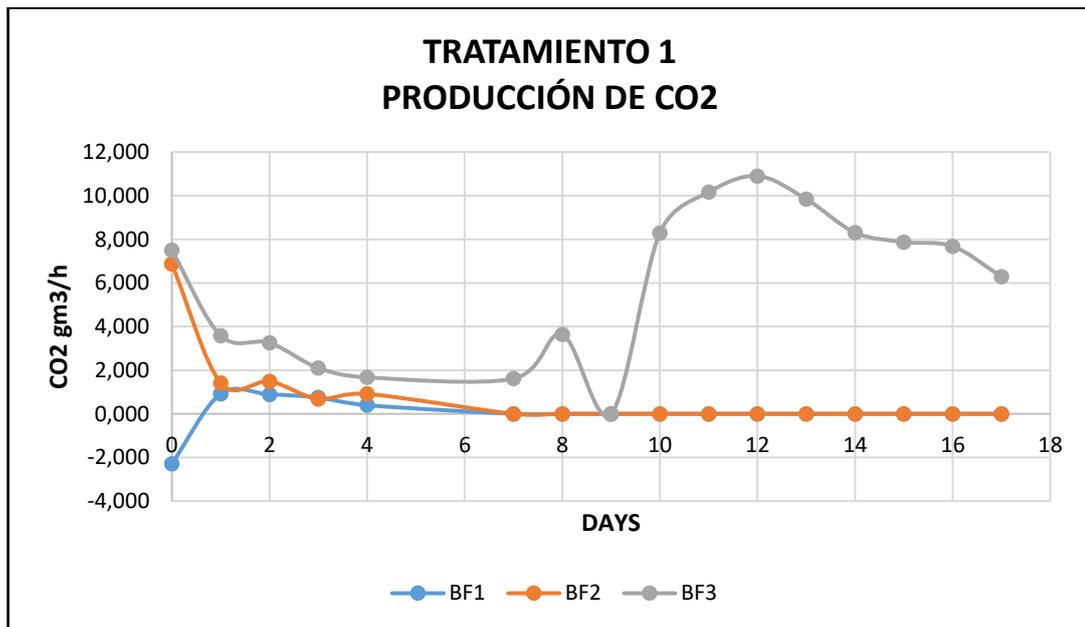


Ilustración 11-3: Producción de CO_2 con el tratamiento 1

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

La producción de CO_2 con el primer tratamiento es casi nula en el biofiltro inoculado con *CándidaSubhashii* y *Fusarium solani*, a partir del día cero hasta el día 17 no hay actividad metabólica por parte de los hongos en degradar metano estos resultados en conjunto con los resultados de %RE evidencian que en un inicio el gas metano solo fue absorbido por el material poroso en este caso la arlita. Si bien es cierto que desde el día cero el BF2 tiene una producción de CO_2 pero no existe una remoción de metano lo que indica que son rastros del inóculo preparado.

Para el BF3 la producción de CO_2 se da a partir del día cero con un 7.495 g/m^3 y comienza a descender hasta llegar al punto de 0, lo que se confirma en el apartado anterior, el ascenso de la línea de tendencia muestra un aumento que empieza desde el día 9 hasta el día 17 de operación,

los resultados obtenidos de CO_2 y %RE respectivamente son muestra de la actividad metabólica y degradadora de las bacterias en el compost.

A pesar de formar la biopelícula, el medio mineral no fue el adecuado para que la comunidad microbológica realice la degradación correspondiente, la producción de CO_2 es uno de los resultados de la degradación de CH_4 , pero en su investigación menciona que se puede tener además biomasa, compuestos intracelulares o sustancias exopoliméricas (Kettunen et al. 2006).

3.1.8.2. Producción de CO_2 con el tratamiento 2

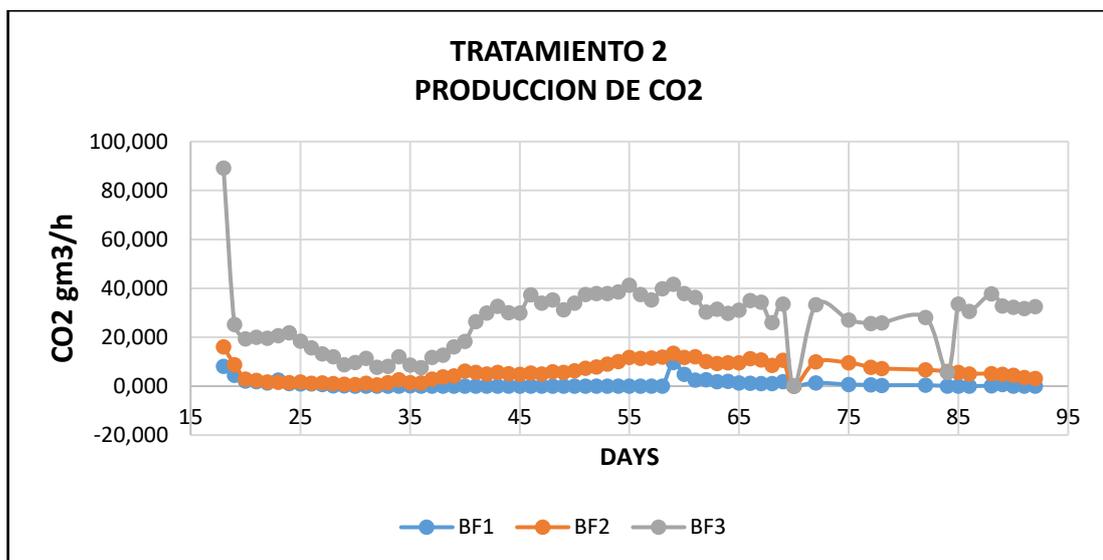


Ilustración 12-3: Producción de CO_2 con el tratamiento 2

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Con el tratamiento 2 se inician los 3 biofiltros a partir del día 18 hasta el día 58 y del día 18 hasta el día 92 para *Cándidasubhashii* y *Fusarium solani* respectivamente, para el BF1 los valores que se encuentran en la recta marcan la cantidad baja de CO_2 , los valores oscila entre un rango de (0-5) g/m^3h es decir que no hubo actividad metabólica y al comparar con los resultados de %RE no muestra remoción es decir no existe degradación de metano,

Para el BF2 la producción de CO_2 es mejor inicia con un 16,144 g/m^3h este valor se define por la inoculación prevista con la arlita, al día siguiente cae a valores de 8,561 g/m^3h , la gráfica muestra una curva con tendencia de aumento con respecto a los días, con este biofiltro se puede afirmar que si presento degradación de metano por parte del hongo *Fusarium solani* esto se justifica con el porcentaje de remoción %RE y con la producción de CO_2 , que indica actividad metabólica de oxidar CH_4 a CO_2 .

Para el BF3 inoculado con *Fusarium solanien* medio de compost tuvo resultados alentadores, el consorcio de bacterias y hongos promueve la oxidación de CH₄, a partir del día 18 hasta el día 92 la producción de CO₂ se mantuvo sobre el 70% en %RE, el punto máximo de eficiencia que se logró fue de 93% RE y 41.730 g/m³h de CO₂, ambos valores responden a que dentro del biofiltro existe una actividad metabólica por parte de los microorganismos, la fijación de microorganismos es indispensable para que el sistema funcione, con un análisis de secuenciación genética se puede saber con exactitud que especies bacterianas se encuentran en el compost inicial y en el compost final, mediante la extensa revisión bibliográfica pueden existir metanótrofos tipo I y II, la supervivencia depende netamente de la cepa que asimile la mayor cantidad de nutrientes.

Se debe hacer investigaciones sobre la simbiosis de microorganismos presentes en el compost específicamente de bacterias oxidantes de amoníaco o fijadoras de N que tienen la capacidad de cometabolizar CH₄ y oxidar a CO₂, incluyendo a metanotrofos que pueden consumir N₂O con CH₄. Mediante una prueba limitante de transferencia de masa se logró comprobar que la capacidad de oxidación mejora al aumentar el caudal de gas CH₄, para este biofiltro no existió limitante de transferencia de masa por lo que la producción de CO₂ es alta. Se confirma que la capacidad oxidante de los biofiltros puede mejorar con mayores cargas de CH₄ (Syed et al. 2017).

3.2. Prueba de hipótesis

3.2.1. Hipótesis específicas

3.2.1.1. Hipótesis 1

Se podrá manipular los parámetros de diseño según vaya conviniendo al sistema y a la comunidad microbiológica, para que mejore la eficiencia de CH₄.

Tabla 6-3: Análisis de varianza de la hipótesis 1

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	3543,80407	43	82,4140482	1,41460341	0,08695287	1,52182136
Columnas	137279,674	2	68639,8369	1178,17471	3,2188E-63	3,10255208
Error	5010,31463	86	58,2594724			
Total	145833,792	131				

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Los cambios que se realizaron tanto con el medio mineral MSM, EBRT, son relevantes, el valor F es inferior al F crítico el cual muestra que los cambios en los ensayos tuvieron efecto significativo sobre los tratamientos que se dieron en el sistema.

Por lo tanto se acepta la hipótesis, los parámetros que se manipulan afecta en la eficiencia del sistema.

3.2.1.2. Hipótesis 2

Se logrará evaluar el mejor método de inoculación de los microorganismos en los diferentes rellenos que permitirán determinar el más óptimo viéndose reflejado en los resultados.

3.2.1.3. Hipótesis 3

El análisis estadístico de las corrientes del sistema logrará interpretar si los hongos son viables en la degradación de metano a través de los resultados de la producción de CO₂ y la eficacia de la remoción de CH₄.

3.2.2. Hipótesis general

La eficiencia de remoción de CH₄ dependerá del tipo de inoculación y el tipo de microorganismos en el relleno del sistema.

3.2.2.1. Análisis ANOVA en base al tratamiento aplicado a los biofiltros y el %RE

Tabla 7-3: Análisis de varianza de tratamiento 1

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	83814,876	17	4930,28682	1,03935659	0,44508306	1,93320683
Columnas	3017,73986	2	1508,86993	0,31808573	0,72968197	3,27589799
Error	161282,233	34	4743,5951			
Total	248114,849	53				

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Tabla 8-3: Análisis de varianza de tratamiento 2

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	19628,1473	65	301,971497	1,3905824	0,05707749	1,40960467
Columnas	124677,498	2	62338,7491	287,070694	2,0344E-48	3,06583909
Error	28230,1104	130	217,154695			
Total	172535,756	197				

Realizado por: Banda, Katerine, 2022.

Las hipótesis 2 y 3 se demuestran a partir de la hipótesis general, con un análisis ANOVA realizado, en el cual el valor de F es menor al F crítico, por lo distintos tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo en los resultados de %RE y la producción de CO₂, por lo tanto se demuestra y se acepta la hipótesis general.

CONCLUSIONES

- Se inoculó la cepa *Fusarium solani* y *Cándidasubhashii* del muestrario de cepas del instituto de procesos sostenibles de la Universidad de Valladolid, en medio de agar selectivo para hongos BulionSabourauda en su consistencia tiene cloranfenicol el cual se inhibió el crecimiento de bacterias, para el primer tratamiento se preparó 600 ml de inóculo 200 ml para cada biofiltro, en cada Erlenmeyer con 200ml de medio se colocó muestras de *Cándidasubhashii* y *Fusarium solani* en agitación durante 3 días a una temperatura de 27°C en el cual mostró crecimiento de biomasa, *Fusarium solani* mostró su estructura esponjosa en el cual la formación del micelio fue evidente, para *Cándidasubhashii* se formó la biomasa en el fondo del Erlenmeyer con una estructura similar a la de un polvo dado que es una levadura, no presentó micelio pero se estimó de manera cualitativa el crecimiento de la levadura. Para el segundo tratamiento se inició a partir de la preparación del inóculo, en primera instancia se aclimató el microorganismo a 2 L durante 2 días de medio selectivo BulionSabourauda para aumentar el crecimiento, los cambios de medio líquido entre el medio mineral (MSM) y medio BulionSabourauda logró realizar la adaptación del microorganismo al relleno lo que se conoce como bioaugmentación y bioestimulación, se observó el crecimiento del inóculo en el relleno, por tanto se concluye que la inoculación en medio selectivo es eficaz con la adhesión directa en el relleno.

- Se determinó las condiciones de operación del sistema de biofiltración mediante el cálculo de ciertos parámetros como caudal de entrada, concentración de metano, velocidad lineal de las bombas, caudal de salida. Para establecer las condiciones de operación en los dispositivos se realizó la calibración de las 3 bombas peristálticas, mediante una curva de calibración se estableció los caudales reales de 217ml/min, 267 ml/min, 115 ml/min para la bomba 1, 2, 3 respectivamente. se calibró los rotámetros de aire, los caudales teóricos se probaron con 50, 100, 150 (ml/min) y a través de una curva de calibración se estableció la ecuación de la recta que permitió determinar el caudal real en los dispositivos, el controlador de flujo másico de CH₄ se calibró con caudales teóricos de 6,8,10,12 (ml/min) y por medio de la ecuación de Q_{total} se calcula el Q real y a partir del porcentaje de metano se calcula el caudal de metano puro 6.40 ml/min en la corriente de aire. Con estos parámetros calculados se definieron los tiempos de residencia EBRT que se aplican en cada uno de los tratamientos, logrando así el objetivo de controlar la corriente de mezcla aire-metano, mientras se observan los rendimientos se ajustan los dispositivos para una mejor optimización.

- Se analizó el flujo de entrada de la mezcla de aire-metano, el método analítico que se utilizó fue la cromatografía de gases con el equipo GC-TCD Agilent, en el cual se tomó muestras de 100 ul por duplicado y triplicado de la entrada y salidas del sistema respectivamente, los resultados

de cromatografía se expresaron el área/%v/v de CH₄, CO₂, O₂, N₂, a partir de estos resultados se calculó el porcentaje de remoción y la capacidad de eliminación con respecto al volumen del reactor, el estudio se basó específicamente en el %RE y la producción de CO₂ de los dos tratamientos. Para el primer tratamiento, el biofiltro mas optimo fue el BF3 se verificó la viabilidad de usar la cepa de *Fusarium solanien* medio de compost para la degradación de CH₄ se operó durante 17 días y se obtuvo un máximo de remoción de 34.55% en conjunto con una producción de CO₂ de 10.93 $\frac{g}{m^3h}$, mientras que el hongo tipo levadura *Cándida subhashii* demostró ineficiencia en degradar CH₄, los valores obtenidos en %RE son consecuencia de la inoculación previa.

- Para el segundo tratamiento *Cándida subhashii* demostró que no degrada CH₄ pese a la inoculación directa, se ajustó el tiempo de residencia, el medio mineral MSM sin embargo en los resultados de cromatografía no hubo cambios en la concentración de entrada, la producción de CO₂ fue casi nula. El hongo *Fusarium solani*, demostró a través del %RE que existe degradación, este valor se calculó en base a la concentración de entrada y salida del sistema, el valor de %RE más alto que obtuvo *Fusarium solani* en el BF2 se acerca al 40%, se verificó la efectividad de inoculación al tener contacto directo entre el medio de cultivo, el MSM con el relleno, los valores de la producción de CO₂ efectuaron la actividad metabólica que la biopelícula ejerce en la columna del biofiltro. Para el BF3 *Fusarium solani* demostró una efectividad más alta si se encuentra en consorcio con bacterias metanótrofas, la eficacia de remoción fue la más alta entre los 3 biofiltros preparados con el segundo tratamiento, alcanzo casi el 95% de remoción de CH₄.

RECOMENDACIONES

- Revisar las tuberías de todo el sistema, realizar el cambio de las tuberías que se encuentran en estado: rígido, usadas, con aspecto deteriorado, de lo contrario las tuberías se pueden romper.
- Utilizar los rotámetros que marquen los rangos de los caudales que se van a utilizar, con la finalidad de manipular el caudal de entrada para lograr el caudal de salida definido por el EBRT.
- Desechar el lixiviado de los conos del biofiltro antes de que se acumule el líquido y se dirija a los rotámetros.
- Utilizar los materiales independientes para cada biofiltro y limpiar los utensilios con agua destilada esto con el fin de evitar una contaminación cruzada.
- A partir de esta investigación se recomienda continuar con las investigaciones sobre nuevas rutas de solubilización de metano, que permitan una mejor transferencia de masa al biofilm.
- Se recomienda realizar la caracterización de hongos en el biofilm a través de pruebas de secuenciación genética tomadas de los rellenos tanto de las tres partes del relleno: inicio, medio, final.
- En los resultados es importante la revisión de las áreas y los picos del cromatógrafo, en caso de ser necesario realizar la reintegración de las áreas con los picos.
- Revisar el número de pinchazos que se realiza para evitar sobrepasar el número límite de 50 y cambiar el septum.
- Después del lavado diario al equipo de cromatografía GC-TCD Agilent, se recomienda pinchar una muestra de aire de esta manera se corrobora la composición del aire y el buen funcionamiento del cromatógrafo.
- Se debe tener mucha precaución al manipular los inóculos utilizando todo el equipo de protección personal, dado que al momento de preparar el inoculo pueden dispersarse las esporas de los hongos.
- Revisar que la línea de gas metano este estable comprobando que las válvulas, presión y manorreductor de la bombona de gas metano se encuentre en condiciones que el técnico de laboratorio estableció.

BIBLIOGRAFÍA

ABATENH, E et al. *Application of microorganisms in bioremediation-review. Journal of Environmental Chemistry and Toxicology* [en línea] 2017. Disponible en: <https://www.pulsus.com/scholarly-articles/application-of-microorganisms-in-bioremediationreview-4189.html>.

ADAM, H et al. *Identification of a new species, Candida subhashii, as a cause of peritonitis. Medical Mycology* [en línea], 2009. Disponible en: <https://academic.oup.com/mmy/article/47/3/305/1746653>.

ALFONSO, V et al. *Enfoque biotecnológico para la valorización de emisiones: Conversión biológica de estireno a polihidroxicanoatos en biorreactores de partición.* [en línea] 2020. Disponible en: <https://repositorio.ipicyt.edu.mx//handle/11627/5485>.

AVALOS A et al. *Improvement of methane biofiltration by the addition of non-ionic surfactants to biofilters packed with inert materials. Process Biochemistry*, vol. 47, no. 1, 2012, pp. 76-82.

BRANDT, E et al. *The use of novel packing material for improving methane oxidation in biofilters. Journal of Environmental Management*, vol. 182, 2016, pp. 412-420.

CUBA, L et al. *La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* [en línea] 2005. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>.

CUERVO, S. *Tratamiento biológico de emisiones difusas de metano.* 2019.

DOUTERELO, I et al. *Whole metagenome sequencing of chlorinated drinking water distribution systems. Environmental Science: Water Research and Technology*, vol. 4, 2018, pp. 2080-2091.

DUNFIELD, P. *Methanotrophy in Extreme Environments. eLS* [en línea] 2017. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9780470015902.a0021897>.

DWIVEDI, N. y DWIVEDI, S. *Biofiltration: A modern technology for wastewater treatment. An Innovative Role of Biofiltration in Wastewater Treatment Plants (WWTPs)*, 2012, pp. 389-

ESTRADA, J et al. *A comparative study of fungal and bacterial biofiltration treating a VOC mixture. Journal of Hazardous Materials*, vol. 250-251, 2013, pp. 190-197.

GARZÓN, J et al. *Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible Contribution of bioremediation to solve pollution problems and its relationship with sustainable development.* [en línea] 2019. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22267/rus.171902.93>.

GIRARD, M et al. *Simultaneous treatment of methane and swine slurry by biofiltration. Journal of Chemical Technology & Biotechnology* [en línea] 2012. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jctb.3692>.

GLEIXNER, M. *Estudio de la solubilización de metano en biomasa para su implementación en biofiltros fúngicos inoculados con bacterias metanotróficas.* [en línea] 2017. Disponible en: <https://repositorio.unab.cl/xmlui/handle/ria/6964>.

GONG, Y et al. *Biodegradation of phenol by a halotolerant versatile yeast Candida tropicalis SDP-1 in wastewater and soil under high salinity conditions. Journal of Environmental Management*, vol. 289, 2021, pp. 1125.

HEITZ, M. y NIKIEMA, J. *The use of inorganic packing materials during methane biofiltration. International Journal of Chemical Engineering*, 2010.

HERNÁNDEZ, J et al. *EPS and SMP as stability indicators during the biofiltration of diffuse methane emissions. Water, Air, and Soil Pollution* [en línea] 2015. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-015-2576-2>.

HUBER, M. *Scrutinizing compost properties and their impact on methane oxidation efficiency. Waste Management*, vol. 31, no. 5, 2011, pp. 871-883.

ISTAS. *Compuestos orgánicos volátiles (COV).* [en línea], 2018. Disponible en: <https://risctox.istas.net/index.asp?idpagina=621>.

JAIN, A et al. *Effects of DNP on the cell surface properties of marine bacteria and its implication for adhesion to surfaces* [en línea], 2007. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927010701269641>.

JAWAD, J et al. *Experimental analysis and modeling of the methane degradation in a three stage biofilter using composted sawdust as packing media. Journal of Environmental Management*, vol. 286, 2021, pp. 1122.

JIMÉNEZ, E. y VILLEGAS, A. *Diseño de un sistema de biofiltración para la remoción de estireno. Revista EIA [en línea] 2005. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S179412372005000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=es.*

JIN, Q. y KIRK, M. *pH as a primary control in environmental microbiology: 1. thermodynamic perspective. Frontiers in Environmental Science*, vol. 6, no. MAY, 2018, pp. 21.

JOSIANE, N. y MICHÈLE, H. *The influence of the gas flow rate during methane biofiltration on an inorganic packing material. [en línea] 2017. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/230091021_The_influence_of_the_gas_flow_rate_during_methane_biofiltration_on_an_inorganic_packing_material.*

KETTUNEN, Ret al. *Landfill Methane Oxidation in Engineered Soil Columns at Low Temperature. Water, Air, and Soil Pollution 2006 177:1 [en línea] 2006. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-006-9176-0>.*

KHABIRI, B et al. *Methane biofiltration under different strategies of nutrient solution addition. Atmospheric Pollution Research*, vol. 11, no. 1, 2020, pp. 85-93.

KLAUS, W. *Química orgánica industrial [en línea] 2017. Disponible en: https://books.google.es/books/about/Química_orgánica_industrial.html?id=UxA3kcGM-i0C.*

LA, H et al. *Biofiltration of methane. Bioresource Technology*, vol. 268, 2018, pp. 759-772.

LEBRERO, R et al. *Exploring the potential of fungi for methane abatement: Performance evaluation of a fungal-bacterial biofilter. Chemosphere*, vol. 144, 2016, pp. 97-106.

LEE, Q. y BENNINGTON, C. *The Effect of Particle Size Distribution on Pressure Drop through Packed Beds of Cooked Wood Chips. 2007.*

MARYCZ, M et al. *Evaluation of Immobilization of Selected Peat-Isolated Yeast Strains of the Species Candida albicans and Candida subhashii on the Surface of Artificial Support Materials Used for Biotrickling Filtration.* [en línea] 2016. Disponible en: www.mdpi.com/journal/processes.

MELÉNDEZ N. *Biología de los microorganismos.* [en línea]. 2017. Disponible en: https://www.academia.edu/39077515/Biología_de_los_microorganismos_BROCK.

MORA, B. *Construcción de un biofiltro para la remoción biológica de sulfuro de hidrógeno en aire utilizando residuos de Moringa oleífera.* [en línea] 2020. Disponible en: <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3179082>.

NIKIEMA, J et al. *Biofiltration of methane: An experimental study.* *Chemical Engineering Journal*, vol. 113, 2005. pp. 111-117.

ONTAÑÓN, O et al. *Improvement of simultaneous Cr(VI) and phenol removal by an immobilised bacterial consortium and characterisation of biodegradation products.* *New Biotechnology*, vol. 37, 2017, pp. 172-179. I

PASCUAL, C et al. *Siloxanes removal in a two-phase partitioning biotrickling filter: Influence of the EBRT and the organic phase.* *Renewable Energy*, vol. 177, 2021, pp. 52-60.

PASMORE, M et al. *Effect of Polymer Surface Properties on the Reversibility of Attachment of Pseudomonas aeruginosa in the Early Stages of Biofilm Development.* [en línea] 2010. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927010290017743>.

PINO, N et al. *Comparación entre bioestimulación y bioaumentación para la recuperación de suelos contaminados con diesel.* *Producción + Limpia* [en línea] 2018 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4333779&info=resumen&idioma=ENG>.

PRATT, C et al. *In Vitro Methane Removal by Volcanic Pumice Soil Biofilter Columns over One Year.* *Journal of Environmental Quality* [en línea], 2011. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2134/jeq2011.0179>.

PRENAFETA, F et al. *Fungal Communities in Hydrocarbon Degradation. Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology* [en línea] 2018. Disponible en: <https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-319->

60063-5_8-1.

PRTR *Metano* [en línea] 2018. Disponible en: <https://prtr-es.es/CH4-metano,15588,11,2007.html>.

RODRÍGUEZ, S et al. *Operación de un sistema de biofiltración de metano para la mitigación de emisiones de efecto invernadero a la atmósfera.* 2019.

RUSCASSO, F et al. Biodegradation and detoxification of reactive orange 16 by *Candida sake* 41E. *Bioresource Technology Reports*, vol. 15, 2011, pp. 1007.

SLY, L et al. *Development of a biofilter for the removal of methane from coal mine ventilation atmospheres.* *Appl Microbiol Biotechnol*. S.l.: Springer-Verlag. 1993.

SOLOMON, E et al. *Biología* [en línea], 2013. Disponible en: <http://www.ebooks7-24.com/?il=784> Acceso en línea (texto completo).

SYED, R et al. *Assessing the Performance of Floating Biofilters for Oxidation of Methane from Dairy Effluent Ponds.* *Journal of Environmental Quality* [en línea] 2007. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2134/jeq2016.08.0310>.

URRUTIA, B et al. *Tolerancia de pleurotus ostreatus a diferentes concentraciones de plomo.* 2018,

VERGARA, A et al. *Biofiltration of volatile organic compounds using fungi and its conceptual and mathematical modeling.* *Biotechnology Advances*, vol. 36, no. 4, 2018, pp. 1079-1093.

YANG, C et al. *Biomass accumulation and control strategies in gas biofiltration.* *Biotechnology Advances*, 2017, pp. 531-540.



ANEXOS

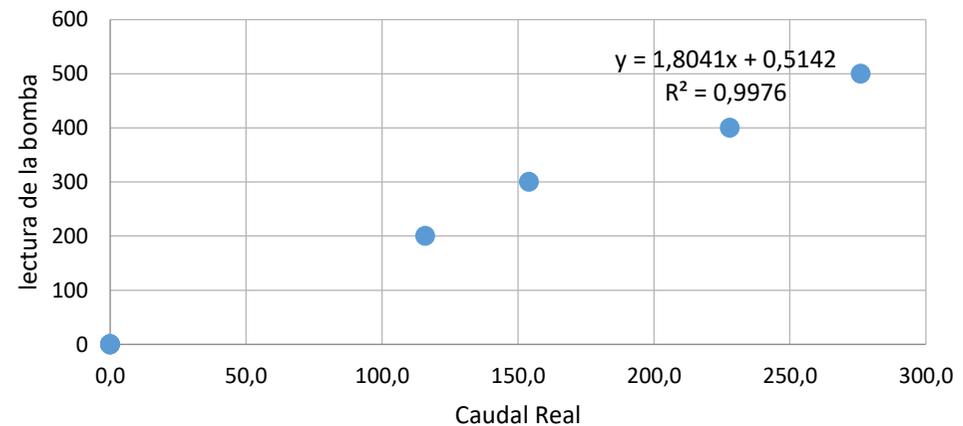
ANEXO A: CURVA DE CALIBRACIÓN DE BOMBAS

Bomba 1

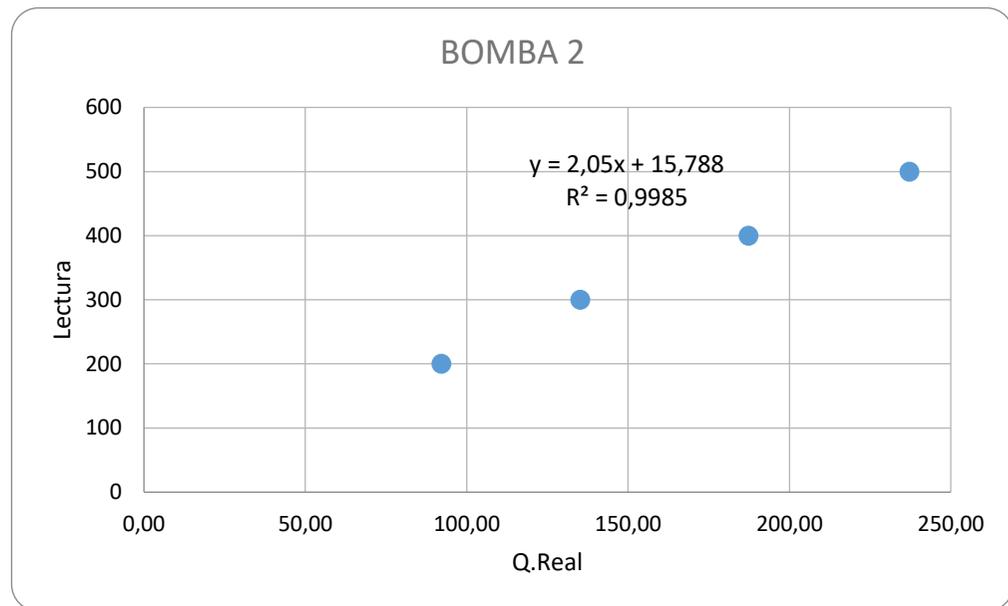
BOMBA 1			
Lectura(ml/min)	Volumen (ml)	Tiempo (s)	CAUDAL (ml/min)
201	100	58,38	102,8
	200	94,8	126,6
	300	150	120,0
	400	210,6	114,0
300	100	44,57	134,6
	200	73,8	162,6
	300	120	150,0
	400	142,2	168,8
400	100	29,24	205,2
	200	57,61	208,3
	300	75,6	238,1
	400	92,4	259,7
501	100	23,1	259,7
	200	45,9	261,4
	300	64,8	277,8
	400	78,6	305,3

Q.REAL (mL/min)	LECTURA
115,8	200
154,0	300
227,8	400
276,1	500

BOMBA 1



Bomba 2

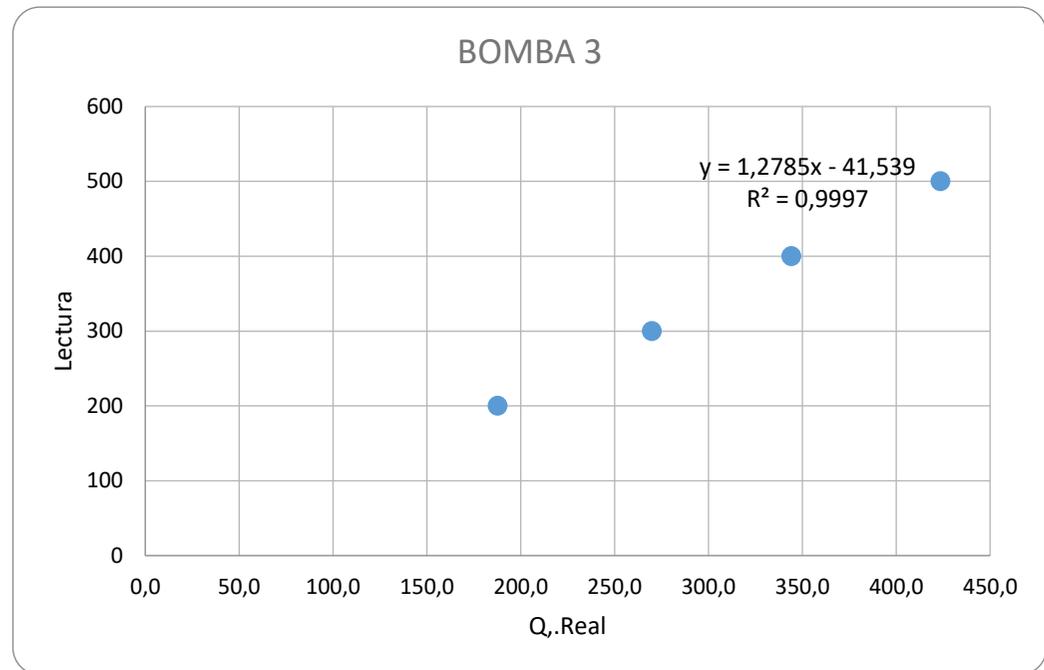


BOMBA 2			
Lectura(ml/min)	Volumen(ml)	Tiempo(s)	Caudal(ml/min)

200	100	65,4	91,74311927
	200	130,2	92,16589862
	300	193,8	92,87925697
	400	260,4	92,16589862
301	100	49,26	121,8026797
	200	80,4	149,2537313
	300	130,8	137,6146789
	400	181,2	132,4503311
401	100	35,39	169,5394179
	200	65,4	183,4862385
	300	85,2	211,2676056
	400	129,6	185,1851852
500	100	28,12	213,371266
	200	54,7	219,3784278
	300	73,2	245,9016393
	400	88,8	270,2702703

Q.Real	Lectura
92,24	200
135,28	300
187,37	400
237,23	500

Bomba 3



BOMBA 3			
LECTURA(ml/min)	VOLUMEN	TIEMPO	CAUDAL
200	100	35,71	168,0201624

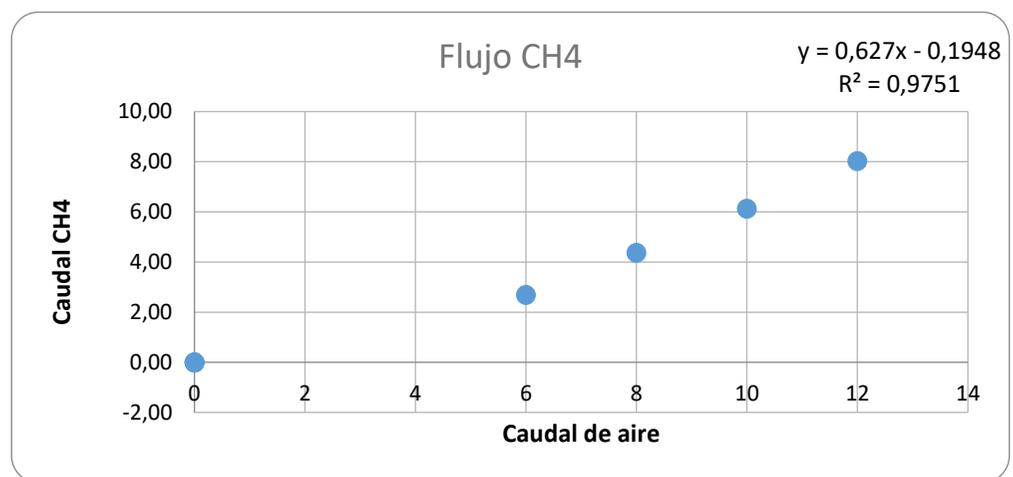
	200	64,8	185,1851852
	300	84,6	212,7659574
	400	130,2	184,3317972
300	100	24,12	248,7562189
	200	45,89	261,4948791
	300	66	272,7272727
	400	81	296,2962963
400	100	18,43	325,5561584
	200	35,01	342,7592117
	300	52,75	341,2322275
	400	65,4	366,9724771
500	100	14,36	417,8272981
	200	27,97	429,0311048
	300	41,87	429,9020779
	400	55,13	435,3346635

Q.Real	Lectura
187,6	200
269,8	300
344,1	400
423,4	500

ANEXO B: CALIBRACIÓN DE CONTROLADOR DE FLUJO MÁSSICO

	Calibración de controlador de flujo (CH4)	

		V (ml)	t (s)	Q CH4 (ml/min)	PROMEDIO
6	mL/min	2	44,42	2,70	2,68
		2	45	2,67	
8	mL/min	2	28,18	4,26	4,37
		2	26,83	4,47	
10	mL/min	2	19,5	6,15	6,1
		2	19,67	6,10	
12		2	14,47	8,29	8,0
		2	15,45	7,77	

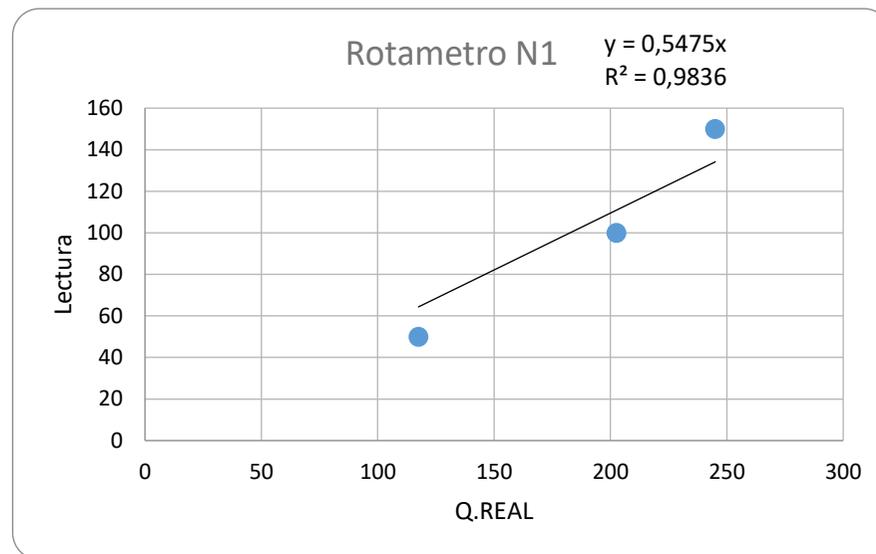


ANEXO C: CALIBRACIÓN DE ROTÁMETROS

Rotámetro 1

ROTAMETRO N1		
Lectura(ml/min)	TIEMPO	Caudal(ml/min)
50	1 min	120
	1min	115
100	1 min	205
	1 min	200
150	1 min	290

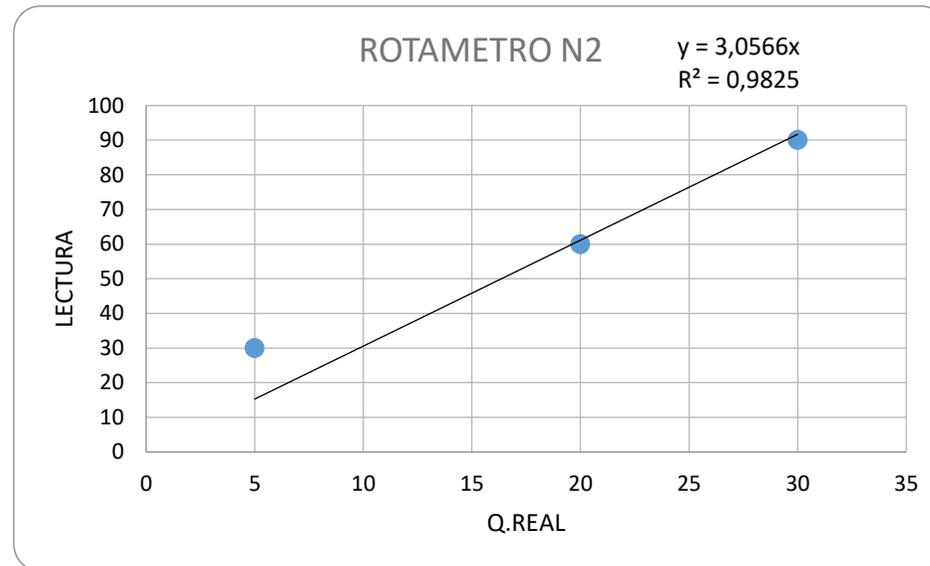
Q.Real	Lectura
117,5	50
202,5	100
245	150



Rotámetro 2

ROTAMETRO N2 (100ml/min)		
LECTURA(ml/min)	Tiempo	Caudal(ml/min)
30	1 min	5
	1 min	5
60	1 min	20
	1min	20
90	1 min	35
	1min	25

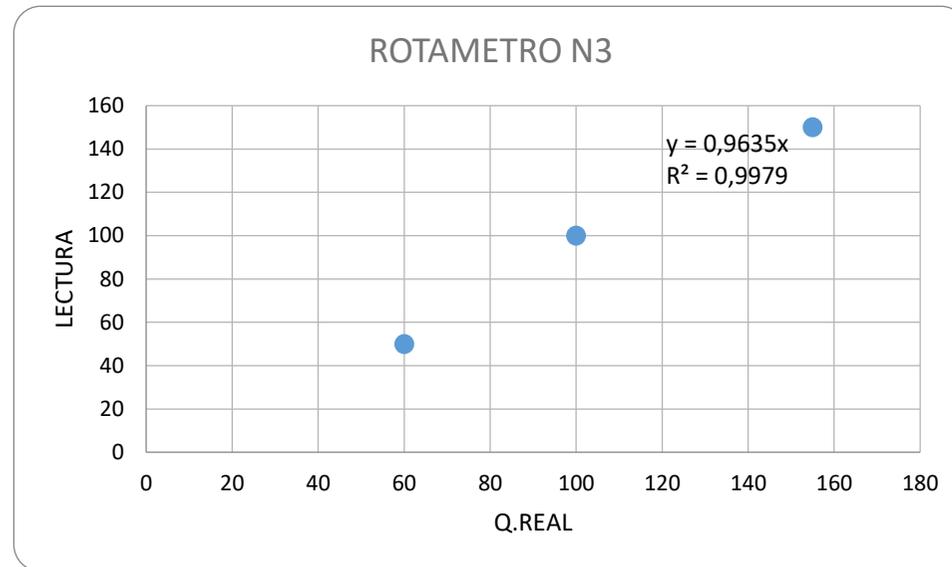
Q.Real	Lectura
5	30
20	60
30	90



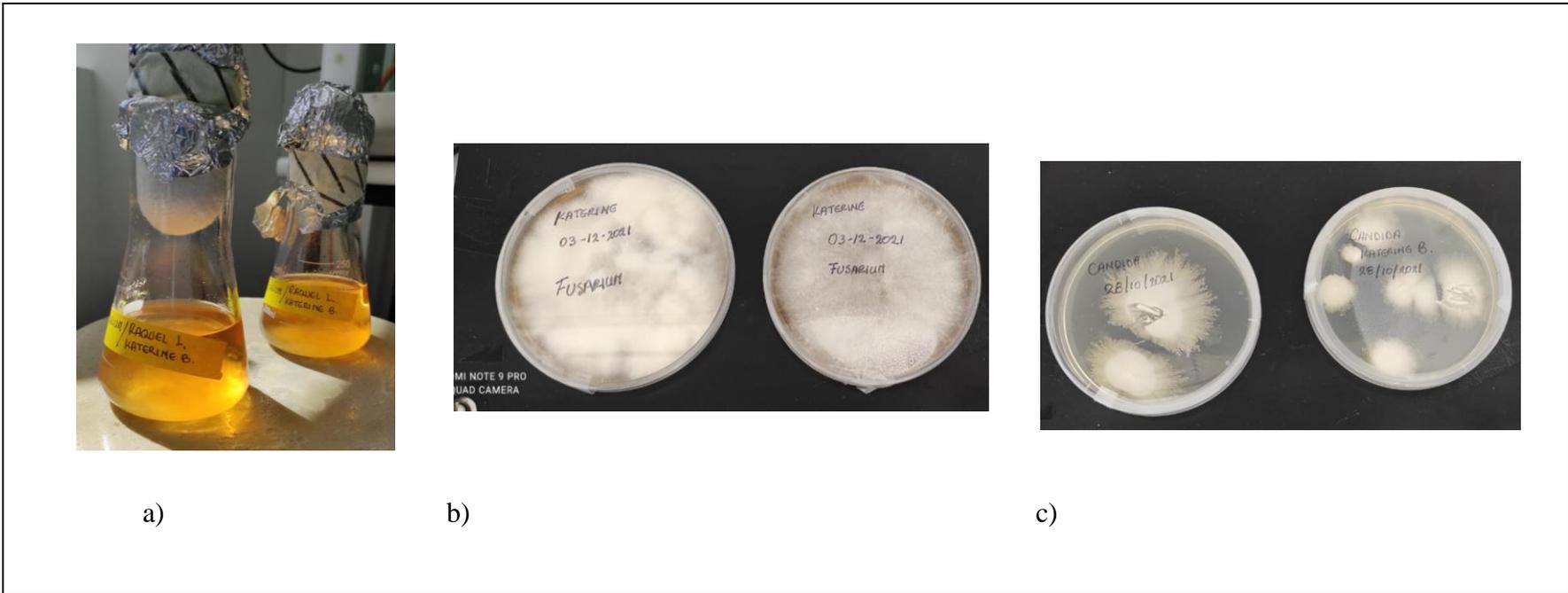
Rotámetro 3

ROTAMETRO N3		
LECTURA(ml/min)	TIEMPO	CAUDAL
50	1 min	60
	1min	60
100	1 min	100
	1 min	100
150	1 min	150
		160

Q.real	Lectura
60	50
100	100
155	150



ANEXO D: PREPARACIÓN DEL INÓCULO



<p>NOTAS:</p>	<p>CATEGORÍA DEL DIAGRAMA</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input checked="" type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar</p>	<p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA</p> <p>ELABORADO POR:</p>	<p>PREPARACIÓN DEL INOCULO</p>			
<p>a) Inóculo <i>Cándida subhashii</i> y <i>Fusarium solani</i>.</p> <p>b) Placas con hongos <i>Fusarium solani</i></p> <p>c) Placas con hongos <i>Cándida subhashii</i></p>			<p>LÁMINA</p>	<p>ESCALA</p>	<p>FECHA</p>	
			<p>1</p>	<p>1:1</p>	<p>11/02/2022</p>	

		Daniela Katerine Banda Cedeño			
--	--	-------------------------------	--	--	--

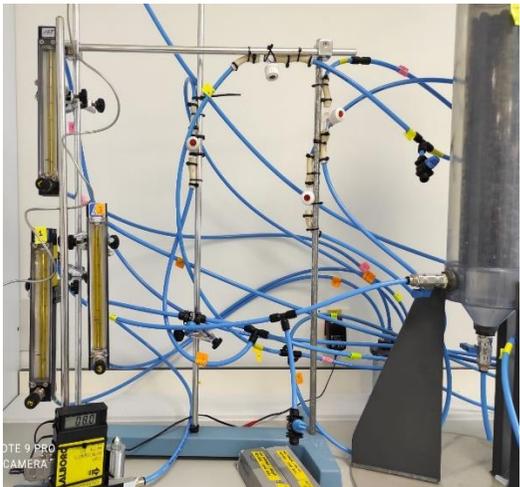
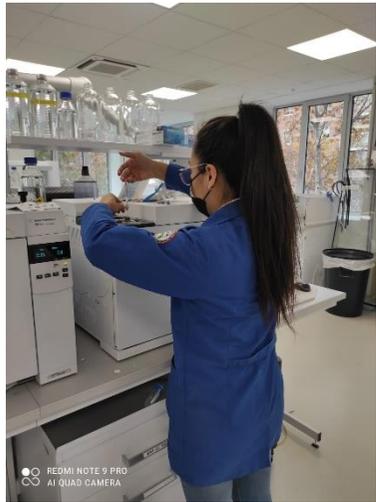
ANEXO E: PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DEL SISTEMA



<p>NOTAS: a) Inoculación directa con el relleno de arlita.</p>	<p>CATEGORÍA DEL DIAGRAMA</p>	<p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</p>	<p>INOCULACIÓN DEL SISTEMA DE BIOFILTRACIÓN.</p>
---	--------------------------------------	--	---

b) Limpieza de biofiltros. c) Inoculación del sistema.	Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar Información <input type="checkbox"/> Por calificar	FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA ELABORADO POR: Daniela Katerine Banda Cedeño	LÁMINA	ESCALA	FECHA
			1	1:1	11/02/2022

ANEXO F: TOMA DE MUESTRAS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

 <p>a)</p>	 <p>b)</p>	 <p>c)</p>
NOTAS:		

d) Toma de muestras de entradas y salidas del sistema. e) Toma de 100 uL de muestras de los tres biofiltros. f) Cromatografía de gases.	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA <input checked="" type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input checked="" type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA ELABORADO POR: Daniela Katerine Banda Cedeño	TOMA DE MUESTRAS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
			1	1:1	11/02/2022



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 23 / 02 / 2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Daniela Katerine Banda Cedeño
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Química
Título por optar: Ingeniera Química
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

1448-DBRA-UPT-2023

