

---

# ANÁLISIS FENOMENOLÓGICO DE LA BIOFILTRACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES HIDROFÓBICOS

## PAPEL DE LOS HONGOS FILAMENTOSOS

---

Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica,  
División Ciencias Básicas e Ingeniería,  
Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

Para Obtener el Grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA QUÍMICA)

Por

ALBERTO VERGARA FERNÁNDEZ

Asesor

DR. SERGIO REVAH MOISEEV

México, agosto de 2007



Casa abierta al tiempo  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa



*Para*

*Francisco A. San Martín Davison*



## AGRADECIMIENTOS

Durante estos años son muchas las personas e instituciones que han ayudado a la realización de este trabajo y a quienes quiero expresar mi gratitud por el apoyo y la confianza que me han prestado.

En primer lugar quiero agradecer a mi esposa, Jessica Katherine San Martín Davison, por su comprensión y apoyo incondicional, a pesar de los problemas y en muchas ocasiones por la distancia, además de todo el amor entregado durante mis estudios, que sin duda fue la principal motivación para llevarlos a un buen término.

En segundo lugar quiero agradecer al Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, de la División de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa (México) por la cálida acogida y el apoyo recibido durante todos estos años. Gracias por hacerme un pequeño sitio dentro de este departamento que fue mi segundo hogar durante este periodo.

Debo un especial reconocimiento a la Organización de Estados Americanos (OEA) por la confianza que mostraron en mí al concederme una beca OEA-LASPAU con la cual fue posible aventurarme en este largo camino. También quiero agradecer a la Universidad Católica de Temuco por entregarme la posibilidad de realizar mi perfeccionamiento, en especial a mi amigo el Dr. Francisco Encina Montoya, quien siempre confió en mí y me entregó todo su apoyo para que pudiera lograr una de mis metas. También quiero agradecer al Director de Investigación de la Universidad Católica de Temuco y amigo Dr. Fernando Peña Cortés por todo el apoyo brindado en los momentos más difíciles que nos tocó vivir con mi esposa durante la estancia en México.

Por otro lado quiero agradecer al Gobierno de México que mediante su programa de ayuda del Servicio Nacional de Investigadores (SNI) N° de Registro: 6023 y al proyecto SERMARNAT-CONACYT Clave S0010-02-01-00120-03-421 México facilitaron el financiamiento necesario para desarrollar mi labor investigadora.

No puedo olvidar a mis compañeros y amigos con los cuales he compartido incontables horas de trabajo. Gracias por los buenos y malos momentos, por aguantarme y escucharme. Gracias Armando por ayudarme en los momentos difíciles, escucharme y apoyarme en la realización de mi tesis. También quiero agradecer a Sergio Hernández, por esas horas de trabajo, tertulias y esos vinos y piscos sour, por abrirme tu hogar, por todos los consejos, gracias también por todo el apoyo brindado en mis momentos de trabajo en la planta piloto. A mis amigos Helen, Ricardo e Ivan, muchas gracias por su apoyo en todos los momentos difíciles, nunca los olvidare.

Un sincero agradecimiento a mi Director de Tesis, Dr. Sergio Revah, por todo el tiempo que me ha dado, por sus sugerencias e ideas de las que tanto provecho he sacado, por su respaldo y amistad.

Por último, quiero agradecer a mis padres y hermanos, así como también a la familia San Martín Davison que me acogió como alguien más de los suyos.



# ÍNDICE GENERAL

INDICE GENERAL .....	vii
INDICE DE TABLAS .....	xiii
INDICE DE FIGURAS .....	xv
LISTA DE SÍMBOLOS .....	xix
RESUMEN .....	xxiii
INTRODUCCION .....	xxv
CAPITULO UNO; ANTECEDENTES .....	1
1.1 BIOFILTRACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COV).....	2
1.1.1 Factores que afectan la biofiltración .....	3
1.1.2 Contaminantes tratados por biofiltración .....	5
1.2 ALCANOS (n-Hexano): PROPIEDADES Y BIODEGRADACIÓN .....	5
1.2.1 Propiedades del n-hexano .....	5
1.2.2 Biodegradación aerobia de n-hexano .....	6
1.3 SOLUBILIDAD DE LOS CONTAMINANTES GASEOSOS .....	7
1.4 MODELADO DE BIOFILTROS .....	9
Conclusión parcial .....	15
1.5 HONGOS FILAMENTOSOS .....	20
1.5.1 Estructura general de los hongos .....	20
1.5.2 Crecimiento y características fisiológicas de los hongos filamentosos .....	20
1.5.3 Modelado del crecimiento de hongos filamentosos .....	25
1.6 BIOFILTROS UTILIZANDO HONGOS FILAMENTOSOS .....	29
Conclusión parcial .....	31
CAPITULO DOS; OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	33
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	34
2.2 HIPÓTESIS .....	35
2.3 OBJETIVOS .....	35
2.3.1 Objetivo General .....	35
2.3.2 Objetivos Específicos .....	35

CAPITULO TRES; MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1 MICROORGANISMOS Y EXPERIMENTOS EN MICROCOSMOS .....	37
3.2 FUENTES DE CARBONO, MEDIO MINERAL Y SOPORTE SÓLIDO .....	38
3.2.1 Fuentes de carbono y medio mineral .....	38
3.2.2 Soporte sólido .....	39
3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	41
3.3.1 Experimentos en microcosmos .....	43
Cinética de crecimiento de <i>Fusarium solani</i> .....	43
Coeficiente de mantenimiento .....	43
Rendimiento celular .....	44
Coeficiente de partición de n-hexano .....	45
Hidrofobicidad superficial .....	46
Constante de afinidad de la fuente de nitrógeno (respirometría) .....	48
Microcultivos .....	48
Crecimiento de biomasa sobre agar .....	48
3.3.2 Columnas de biofiltración .....	49
Análisis del soporte de las columnas de biofiltración.....	51
3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS .....	53
3.4.1 Producción de dióxido de carbono .....	53
3.4.2 Concentración de n-hexano .....	54
3.4.3 Determinación de biomasa .....	54
Determinación por termogravimetría .....	54
Determinación por proteína .....	55
Determinación por peso seco .....	55
Análisis elemental (CHONS) .....	56
3.4.5 Microfotografías (estudio morfológico) .....	56
3.4.6 Extracción de lípidos.....	57
3.5 TERMINOLOGÍA UTILIZADA PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE BIOFILTRACIÓN .....	58
 CAPITULO CUATRO RESULTADOS Y DISCUSIONES I: Parámetros Físicoquímicos y Cinéticos	 61
4.1 PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICO DE LOS SOPORTES .....	61
4.1.1 Adsorción de n-hexano .....	63



4.2	COEFICIENTE DE PARTICIÓN DE n-HEXANO (CPH) .....	64
4.3	HIDROFÓBICIDAD SUPERFICIAL DE <i>Fusarium solani</i> .....	67
4.4	PARÁMETROS CINÉTICOS .....	68
4.4.1	Crecimiento y mantenimiento celular .....	68
4.4.2	Constante de afinidad $\text{NaNO}_3$ .....	70
4.4.3	Coefficientes de rendimiento celular .....	70
4.5	CONCLUSIONES PARCIALES .....	71
CAPITULO CINCO; RESULTADOS Y DISCUSIONES II: Estudio Morfológico de <i>Fusarium solani</i>		73
5.1	INTRODUCCIÓN .....	73
5.2	CRECIMIENTO DEL HONGO FILAMENTOSO	74
5.2.1	Modelo de elongación de las hifas individuales	74
5.3	PARÁMETROS MORFOLÓGICOS .....	77
5.4	CONCLUSIONES PARCIALES .....	82
	NOMENCLATURA MODELO MATEMÁTICO DE CRECIMIENTO.....	83
CAPITULO SEIS; RESULTADOS Y DISCUSIONES III: Biofiltración de n-Hexano		85
6.1	INTRODUCCIÓN	85
6.2	COLUMNAS DE BIOFILTRACION .....	86
6.3	EXPERIMENTOS POR LOTES .....	90
6.4	INFLUENCIA DE LA CARGA DE ENTRADA EN LA CAPACIDAD DE ELIMINACION	92
6.5	EVOLUCIÓN DEL PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE n-HEXANO A LO LARGO DE LOS BIOFILTROS .....	96
6.6	CONCLUSIONES PARCIALES .....	96
CAPITULO SIETE; RESULTADOS IV: Desarrollo Modelo Matemático		99
7.1	FORMULACIÓN DEL MODELO TEÓRICO .....	99
7.1.1	Definición del sistema .....	100
7.1.2	Elemento de estudio .....	102
7.2	CINÉTICA DE CRECIMIENTO DEL HONGO FILAMENTOSO .....	103
7.3	BALANCES DE MATERIA EN EL BIOFILTRO .....	103
7.3.1	Balance global de materia de la fase gaseosa en el biofiltro (seno del gas).....	104
7.3.2	Determinación de $C_{AG}$ en la película de gas .....	106

Determinación del perfil de velocidad alrededor de la hifa .....	109
7.3.3 Balance de materia del nutriente (Fuente de nitrógeno).....	110
<b>7.4 ADIMENSIONALIZACIÓN DEL MODELO .....</b>	<b>113</b>
7.4.1 Adimensionalización de la ecuación de crecimiento .....	113
7.4.2 Adimensionalización balance de materia global de la fase gaseosa en el biofiltro .....	113
7.4.3 Adimensionalización del balance de materia a la película de gas .....	114
7.4.4 Adimensionalización del balance de materia del nutriente .....	115
<b>7.5 SOLUCIÓN DEL MODELO POR DIFERENCIAS FINITAS .....</b>	<b>116</b>
7.5.1 Discretización crecimiento de la hifa .....	116
7.5.2 Discretización del balance de materia en el seno del gas .....	118
7.5.3 Discretización del balance de materia en la película de gas alrededor de la hifa .....	120
7.5.4 Discretización balance de materia difusión y reacción de la fuente de nitrógeno .....	123
<b>7.6 EFECTO DEL CRECIMIENTO SOBRE LA CAÍDA DE PRESIÓN .....</b>	<b>126</b>
7.6.1 Variación fracción de vacío .....	127
<b>7.7 COEFICIENTES DE DIFUSIÓN Y TRANSFERENCIA DE MATERIA.....</b>	<b>128</b>
7.7.1 Estimación del coeficiente de difusión molecular del gas .....	128
7.7.2 Estimación del coeficiente de difusión de la fuente de nitrógeno en líquido .....	128
7.7.3 Estimación del coeficiente de transferencia de materia.....	128
<b>NOMENCLATURA MODELO MATEMATICO .....</b>	<b>128</b>
 <b>CAPITULO OCHO; RESULTADOS Y DISCUSIONES V: Validación Experimental del Modelado Matemático</b>	 <b>131</b>
 <b>8.1 PARÁMETROS FÍSICOS DEL MODELO .....</b>	 <b>131</b>
8.1.1 Coeficiente de difusión de la fuente de nitrógeno en agua .....	131
8.1.2 Coeficiente de difusión de n-hexano en aire .....	132
8.1.3 Coeficiente de dispersión axial .....	132
8.1.4 Coeficiente de transferencia en la fase gaseosa .....	132
8.1.5 Resultados parámetros físicos .....	133
<b>8.2 ESTRATEGIA CONCEPTUAL DE SOLUCIÓN DEL MODELO .....</b>	<b>133</b>
8.2.1 Estrategia computacional de solución .....	134
Programa Principal .....	134
Subprograma Película.....	134
SubPrograma Menu_LR .....	135
Subprograma Menu_Nu .....	135
Subprograma Menu_Crecimiento_Hifa .....	135
<b>8.3 VERIFICACIÓN EXPERIMENTAL Y SIMULACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO ...</b>	<b>137</b>
8.3.1 Verificación del modelo matemático .....	137

Capacidad de eliminación (CE) .....	137
Perfil de concentración .....	139
Caída de presión .....	141
8.3.2 Simulación del modelo .....	142
Evolución de la velocidad específica de crecimiento .....	142
Efecto del diámetro de la hifa en el área de transporte .....	142
Efecto del coeficiente de partición de n-hexano en la CE .....	145
Efecto del mantenimiento celular en la CE .....	147
Efecto de la constante de inhibición en la CE .....	147
Efecto de la velocidad máxima de crecimiento en la CE .....	148
8.4 CONCLUSIONES PARCIALES .....	149
CAPITULO NUEVE: CONCLUSIONES .....	151
9.1 CONCLUSIONES GENERALES .....	151
9.2 CONCLUSIONES ESPECÍFICAS .....	152
Perspectivas .....	155
REFERENCIAS .....	157
ANEXOS .....	167
ANEXO A: <i>Determinación de biomasa fúngica por respirometría</i> .....	167
ANEXO B: <i>Porcentaje de mineralización fuente de carbono</i> .....	168
ANEXO C: <i>Fotografía portaobjeto para calibración análisis de imagen</i> .....	168
ANEXO D: <i>Modelo integrado de Gompertz</i> .....	169
ANEXO E: <i>Cálculos de la producción de CO<sub>2</sub> y consumo de O<sub>2</sub></i> .....	170
ANEXO F: <i>Curva patrón de n-hexano</i> .....	170
ANEXO G: <i>TG Perlita</i> .....	171
ANEXO H: <i>Curva de calibrado proteínas</i> .....	172
ANEXO I: <i>Coefficiente de partición</i> .....	172
ANEXO J: <i>Velocidad específica de crecimiento</i> .....	173
ANEXO K: <i>Constante de afinidad NaNO<sub>3</sub></i> .....	174
ANEXO L: <i>Determinación de la frecuencia de ramificación</i> .....	176
ANEXO M: <i>Ajuste modelo de Gompertz en muestras de biofiltros</i> .....	177
ANEXO N: <i>Determinación perfiles de velocidad</i> .....	177

ANEXO Ñ: Estimación del coeficiente de difusión molecular del gas.....	179
ANEXO O: Estimación del coeficiente de difusión en soluciones de electrolitos .....	179
ANEXO P: Cálculo del coeficiente de transferencia de masa en fase gas ( $k_g$ ).....	180
ANEXO Q: Dispersión axial en el biofiltro .....	180
ANEXO R: Programa .....	181

# ÍNDICE DE TABLAS

## CAPITULO UNO; ANTECEDENTES

Tabla 1.1	Características operacionales de los diferentes tipos de biofiltro .....	2
Tabla 1.2	Microorganismos utilizados en estudios de biofiltración de COVs .....	4
Tabla 1.3	Ejemplo de compuestos tratados por sistemas de tratamiento biológico y su relación con los microorganismos utilizados .....	5
Tabla 1.4	Propiedades físico-químicas y biológicas del n-hexano .....	6
Tabla 1.5	Degradación de diferentes clases de alcanos para experimentos en columnas y por lotes .....	7
Tabla 1.6	Coeficiente de Henry para diferentes COVs en agua a 25 °C .....	8
Tabla 1.7	Principales supuestos realizados para el modelado de biofiltros de lecho fijo .....	13
Tabla 1.8	Modelos utilizados en biofiltros de lecho fijo y sus condiciones de fronteras .....	16
Tabla 1.9	Modelos desarrollados para la descripción del crecimiento de hongos filamentosos .....	27
Tabla 1.10	Ventajas y desventajas del uso de hongos en la biofiltración de COVs .....	29
Tabla 1.11	Hongos utilizados en biofiltros de lecho fijo para la eliminación de COVs .....	30

## CAPITULO TRES; MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla 3.1	Medio mineral para el crecimiento de los hongos en microcosmos y columnas de biofiltración .....	38
Tabla 3.2	Variables de operación de las columnas de biofiltración utilizando diferentes fuentes de carbono para la aceleración de su puesta en marcha .....	50
Tabla 3.3	Terminología utilizada en biofiltración de gases para la expresión de los resultados .....	58

## CAPITULO CUATRO; RESULTADOS Y DISCUSIONES I: Parámetros Físicoquímicos y Cinéticos

Tabla 4.1	Parámetros físicoquímicos de perlita y salvado de trigo .....	62
Tabla 4.2	Efecto de la fuente de carbono en el coeficiente de partición de n-hexano (K) a 30°C .....	65
Tabla 4.3	Ángulo de contacto de una gota de agua sobre la superficie de una colonia de <i>F. solani</i> crecido con diferentes fuentes de carbono en membranas hidrofóbicas de polyvinylidene fluoride (PVDF) e hidrofílicas de mixed cellulose esters (MF) .....	67
Tabla 4.4	Rendimiento celular de <i>Fusarium solani</i> para diferentes fuentes de carbono y nitrógeno ..	71

CAPITULO CINCO; RESULTADOS Y DISCUSIONES II: Estudio Morfológico de *Fusarium solani*

Tabla 5.1	Parámetros morfológicos de <i>F. solani</i> crecido bajo diferentes fuentes de carbono obtenidas en microcultivos y placas Petri .....	78
-----------	--	----

CAPITULO SEIS; RESULTADOS Y DISCUSIONES III: Biofiltración de n-Hexano

Tabla 6.1	Medición de pH, % humedad, biomasa, coeficiente de partición de n-hexano (K), velocidad específica de consumo ( $V_{max}$ ), % mineralización y eficiencias de eliminación (%EE) para muestras de biomasa tomadas el final de los experimentos en las columnas de biofiltración B1, B2, B3 y B4.....	92
-----------	--	----

CAPITULO SIETE; RESULTADOS IV: Desarrollo del Modelo Matemático

Tabla 7.1	Lista de ecuaciones y variables que describen el sistema desarrollado .....	112
Tabla 7.2	Parámetro $\alpha$ para las diferentes diferenciaciones .....	118
Tabla 7.3	Parámetro asociado al sistema de coordenadas .....	121

CAPITULO OCHO; RESULTADOS Y DISCUSIONES IV: Validación Experimental del Modelado Matemático

Tabla 8.1	Datos utilizados en la determinación del coeficiente de difusión de la fuente de nitrógeno.....	132
Tabla 8.2	Datos utilizados en la determinación del coeficiente de difusión de n-hexano en aire..	132
Tabla 8.3	Datos utilizados en la determinación del coeficiente de dispersión axial en el biofiltro.....	132
Tabla 8.4	Datos utilizados en la determinación del coeficiente de transferencia en fase gaseosa....	133
Tabla 8.5	Resultados coeficientes de difusión, dispersión axial y transferencia de materia.....	133

# ÍNDICE DE FIGURAS

## CAPITULO UNO; ANTECEDENTES

Figura 1.1	Esquema biofiltro de lecho fijo .....	3
Figura 1.2	Esquema biofiltro de lecho escurrido .....	3
Figura 1.3	Esquema biolavador .....	3
Figura 1.4	Mecanismo de biodegradación de n-hexano .....	10
Figura 1.5	Concepto básico del modelo de la biopelícula .....	12
Figura 1.6	Concepto básico del modelo de biopelícula aérea .....	13
Figura 1.7	Esquema modelo desarrollado por Deshusses et al. [1995] .....	14
Figura 1.8	Concepto básico del modelo de biopelícula para el modelo desarrollado por Den y Pirbazari [2002] .....	14
Figura 1.9	Estructura de la pared celular de un hongo .....	21
Figura 1.10	Diagrama de un ciclo celular de un hongo filamentoso .....	21
Figura 1.11	Esquema simplificado de una hifa .....	22
Figura 1.12	Esquema que muestra el papel que juega el septo y la acumulación de vesículas en la formación de una ramificación. La densidad de círculos indica la densidad de las vesículas .....	22
Figura 1.13	Modelo de crecimiento de hifas áreas en hongos filamentosos .....	24

## CAPITULO TRES; MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 3.1	Esquema y fotografía de los microcosmos utilizados .....	38
Figura 3.2	Diagrama de experimentos realizados .....	41
Figura 3.3	Esquema sistema experimental utilizado para la determinación del ángulo de contacto .....	47
Figura 3.4	Esquema para la medición del ángulo de contacto de una gota de agua .....	47
Figura 3.5	Esquema y fotografía del sistema utilizado para los microcultivos .....	49
Figure 3.6a	Diagrama esquemático del sistema de biofiltración utilizado a escala laboratorio .....	52
Figure 3.6b	Fotografía del sistema de biofiltración utilizado a escala laboratorio .....	53
Figura 3.7	Esquema de una hifa ramificada .....	57
Figura 3.8	Sistema experimental para la adquisición y análisis de imágenes .....	57

## CAPITULO CUATRO; RESULTADOS Y DISCUSIONES I: Parámetros Físicoquímicos y Cinéticos

Figura 4.1	Fotografías de los soportes utilizados en las diferentes experiencias. Perlita y	
------------	--	--

	Salvado de Trigo .....	62
Figura 4.2	Curva experimental de adsorción en equilibrio de n-hexano: (A) en perlita seca y húmeda, (B) salvado de trigo seco y húmedo. ....	63
Figura 4.3	Fotografía digitalizada del ángulo de contacto de una gota de agua sobre el hongo .....	68
Figura 4.4	Velocidad específica de crecimiento versus concentración de n-hexano de acuerdo al modelo de Haldane. (●) Valores experimentales y (---) Modelo de Haldane .....	69
Figura 4.5	Consumo de n-hexano y % mineralización durante la medición del coeficiente de mantenimiento celular. (□) Consumo de n-hexano y (●) % de mineralización .....	69
Figura 4.6	Efecto de la concentración de NaNO <sub>3</sub> en la velocidad específica de consumo de oxígeno de <i>Fusarium solani</i> . (●) Valores experimentales y (---) Modelo de Monod .....	70

#### CAPITULO CINCO; RESULTADOS Y DISCUSIONES II: Estudio Morfológico de *Fusarium solani*

Figura 5.1	Diagrama ilustrativo de la relación entre el control genético y ambiental en el fenotipo y metabolismo celular.....	74
Figura 5.2	Imágenes de las hifas aéreas de <i>F. solani</i> crecido con diferentes fuentes de carbono, utilizando la técnica de microcultivos. Las fotografías A, B y C corresponden al hongo crecido en glicerol, las fotografías D, E y F en 1-hexanol y finalmente las fotografías G, H, e I en n-hexano.....	79
Figure 5.3	Crecimiento de la biomasa de <i>F. solani</i> bajo tres fuentes de carbono y resultado de la simulación del modelo de crecimiento. Datos experimentales para (■) glicerol, (●) 1-hexanol, (▲) n-hexano y simulación del modelo (-).....	80
Figura 5.4	a) Simulación de la variación del numero total de puntas ( $N_{Total}$ ) durante el crecimiento de <i>F. solani</i> bajo diferentes fuentes de carbono. b) Simulación de la correlación existente entre el crecimiento por unidad de longitud de la hifa ( $G$ ) y el número de puntas por micelio ( $N_{ti}$ ) obtenidos de microcultivos de <i>F. solani</i> .....	82

#### CAPITULO SEIS; RESULTADOS Y DISCUSIONES III: Biofiltración de n-Hexano

Figura 6.1	Evolución de la capacidad de eliminación de n-hexano, producción de CO <sub>2</sub> y caída de presión en los biofiltros B1, B2, B3 y B4 inoculados con <i>Fusarium solani</i> y una carga de entrada de n-hexano de 325 [g m <sup>-3</sup> reactor h <sup>-1</sup> ]. (□) CE, (●) producción de CO <sub>2</sub> y (▲) caída de presión .....	88
Figura 6.2	Efecto de la carga de n-hexano en la capacidad de eliminación en los biofiltros B1, B2, B3 y B4. La velocidad de flujo fue de 1.2 L min <sup>-1</sup> y un tiempo de residencia de 1.3	



	min .....	94
Figure 6.3	Variación de la concentración de n-hexano a través de las diferentes columnas de biofiltración .....	95

#### CAPITULO SIETE; RESULTADOS IV: Desarrollo del Modelo Matemático

Figura 7.1	Esquema de la estrategia general utilizada para el desarrollo y solución del modelo matemático .....	100
Figura 7.2	Representación esquemática del concepto básico del modelo para una sección de la columna del biofiltro .....	101
Figura 7.3	Representación esquemática del concepto básico del modelo matemático desarrollado .....	102
Figura 7.4	Esquema del balance de materia en el elemento de volumen del biofiltro .....	105
Figura 7.5	Esquema flujo de gas a través de la hifa y un corte transversal de la hifa cilíndrica ....	107
Figura 7.6	Estrategia conceptual de solución del modelo matemático .....	117
Figura 7.7	Esquema de discretización del balance de materia en el seno del gas .....	118
Figura 7.8	Esquema dominio discretizado utilizado para la solución del balance de materia en la película de gas alrededor de la hifa .....	121
Figura 7.9	Esquema discretización alrededor del nodo "i" .....	123

#### CAPITULO OCHO; RESULTADOS Y DISCUSIONES V: Validación Experimental del Modelado Matemático

Figura 8.1	Diagrama de flujo del programa .....	136
Figura 8.2	Capacidad de eliminación experimental y simulación del modelo matemático. (●) Resultados experimentales y (-) modelo de capacidad de eliminación. Variación de la simulación de la CE para un rango de coeficientes de rendimiento celular de n-hexano en <i>F. solani</i> entre 0.1 y 0.8 g <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> .....	138
Figura 8.3	Perfiles de concentración de n-hexano a lo largo del biofiltro para diferentes tiempo de operación y su comparación con el modelo. (■) Día 1, (●) día 30, (▲) día 48 y (-) modelo.....	140
Figura 8.4	Perfil de biomasa a lo largo del biofiltro luego de 48 días de operación y su simulación durante el tiempo de operación. (●) Resultados experimentales, (-) modelo .....	140
Figura 8.5	Evolución experimental de la caída de presión en el biofiltro y predicción del modelo. (●) Datos experimentales y (-) modelo caída de presión.....	141

Figura 8.6	Evolución de la velocidad específica de crecimiento en el periodo de operación del sistema de biofiltración.....	143
Figura 8.7	Simulación del efecto del diámetro de la hifa en el área específica de transporte para un biofiltro inoculado con el hongo filamentoso <i>Fusarium solani</i> .....	143
Figura 8.8	Efecto del coeficiente de partición de n-hexano en la evolución de la capacidad de eliminación en el biofiltro. (—) Simulación para $2 \times K = 0.4 \text{ g g}^{-1}$ , (---) simulación para $K = 0.2 \text{ g g}^{-1}$ y (···) simulación para $K/2 = 0.1 \text{ g g}^{-1}$ .....	146
Figura 8.9	Efecto del coeficiente de partición de n-hexano sobre la capacidad de eliminación del biofiltro fúngico, luego de 48 días de operación .....	146
Figura 8.10	Simulación del efecto del mantenimiento celular sobre la capacidad de eliminación del biofiltro. (···) Simulación para $2 \times m_C = 3.02 \times 10^{-4} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , (---) simulación para $m_C = 1.51 \times 10^{-4} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y (—) simulación para $m_C/2 = 7.55 \times 10^{-5} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .....	147
Figura 8.11	Simulación del efecto de la constante de inhibición de Haldane para <i>F. solani</i> utilizando n-hexano como fuente de carbono. (···) Simulación para $2 \times K_I = 60.2 \text{ g m}^{-3}$ , (---) simulación para $K_I = 30.1 \text{ g m}^{-3}$ y (—) simulación para $K_I/2 = 15.0 \text{ g m}^{-3}$ .....	148
Figura 8.12	Simulación del efecto de la velocidad máxima de crecimiento de <i>F. solani</i> en n-hexano sobre la capacidad de eliminación del biofiltro. (—) Simulación para $\mu_{\max} = 0.0518 \text{ h}^{-1}$ , (---) simulación para $\mu_{\max}/2 = 0.0259 \text{ h}^{-1}$ y (···) simulación para $2 \times \mu_{\max} = 0.1036 \text{ h}^{-1}$ .....	149

## LISTA DE SÍMBOLOS

$A$	: Área transversal del biofiltro
$a_v$	: Área por unidad de volumen del soporte y biomasa
$C_{gi}$	: Concentración inicial del COV
$C_{go}$	: Concentración de salida de COV
$CE$	: Capacidad de eliminación del biofiltro de lecho fijo
$C_{Ab}$	: Concentración de COV (n-hexano) en el seno del gas
$C_{Abo}$	: Concentración inicial de COV (n-hexano) en el seno del gas
$C_{AG}$	: Concentración de COV (n-hexano) en la película de gas
$C_{AH}$	: Concentración de COV extracelular (en la pared de la hifa)
$C_{NH}$	: Concentración de la fuente de nitrógeno en la hifa
$C_{NL}$	: Concentración de la fuente de nitrógeno en el líquido
$C_{NL0}$	: Concentración de la fuente de nitrógeno inicial en el líquido
$d_h$	: Diámetro promedio de las hifas
$D_{Dz}$	: Coeficiente de dispersión axial
$D_R$	: Coeficiente de dispersión radial
$D_g$	: Difusividad del COV (n-hexano)
$D_{NH}$	: Difusividad de la fuente de nitrógeno en la hifa
$G$	: Crecimiento por unidad de hifa
$H$	: Altura del biofiltro
$H_i$	: Constante de Henry, adimensional
$k_g$	: Coeficiente de transferencia de materia del gas
$K_{AH}$	: Constante de afinidad del COV (n-hexano)
$K_{NH}$	: Constante de afinidad de la fuente de nitrógeno
$K_I$	: Constante de inhibición del COV
$K_{eq1}$	: Constante de equilibrio de n-hexano/pared hifas
$K_{eq2}$	: Constante de equilibrio de la fuente de nitrógeno/pared hifas
$K$	: Coeficiente de partición
$L_{av}$	: Longitud media de los segmentos de hifa
$L_{max,m}$	: Longitud distal máxima promedio de la hifa individual

$L_{\max,B}$  : Longitud distal máxima promedio de las ramificaciones  
 $L_C$  : Longitud crítica de ramificación  
 $L_o$  : Longitud inicial de la hifa  
 $L_h$  : Longitud total individual de las hifas  
 $L_{h,m}$  : Longitud individual de las hifas principales  
 $L_{hi}$  : Longitud de las ramificaciones  
 $L_{h,Total}$  : Longitud total de las hifas  
 $ML$  : Carga másica de entrada del COV  
 $m_C$  : Coeficiente de mantenimiento celular  
 $m$  : Masa del soporte sólido  
 $N_A$  : Densidad de flujo molar del COV  
 $N_{NH}$  : Densidad de flujo molar de la fuente de nitrógeno  
 $N_{TB}$  : Numero de ramificaciones en la hifa individual  
 $N_{t,i}$  : Número total de puntas en una hifa individual  
 $N_0$  : Número inicial de esporas  
 $N_S$  : Número promedio de segmentos en la hifa  
 $N_{Re}$  : Número de Reynolds  
 $Q$  : Flujo volumétrico del gas  
 $q_e$  : Cantidad de n-hexano adsorbido en la perlita o salvado de trigo  
 $\%RE$  : Eficiencia de eliminación del biofiltro de lecho fijo  
 $r$  : Coordenada radial  
 $R$  : Velocidad de reacción  
 $t$  : Tiempo de operación del biofiltro y crecimiento del hongo  
 $u_r$  : Velocidad de crecimiento apical del micelio  
 $u_{rB}$  : Velocidad de extensión lineal de las ramificaciones  
 $V_{\max}$  : Velocidad específica de consumo de n-hexano  
 $V_{Tot(H)}$  : Volumen total ocupado por la hifas aéreas en el reactor  
 $V_r$  : Volumen total de reactor  
 $V_E$  : Volumen total del empaque (soporte)  
 $VL$  : Carga volumétrica del COV  
 $v_g$  : Velocidad longitudinal (o intersticial) promedio de la fase gaseosa

$v_g$  : Velocidad en la película de gas  
 $v_S$  : Velocidad superficial de la fase gaseosa  
 $v_{SVacio}$  : Velocidad superficial de la fase gaseosa efectiva  
 $W$  : Peso de la muestra a 25 y 100°C  
 $x$  : Coordenada x del sistema cartesiano  
 $X_{AV}$  : Biomasa promedio de los segmentos  
 $X_h$  : Biomasa individual de la hifa  
 $X_{max,m}$  : Biomasa máxima promedio de las hifas principales  
 $X_{max,B}$  : Biomasa máxima promedio de las ramificaciones  
 $X_{h,Total}$  : Biomasa total  
 $y$  : Coordenada x del sistema cartesiano  
 $Y_A$  : Rendimiento celular del COV (n-hexano)  
 $Y_N$  : Rendimiento celular de la fuente de nitrógeno  
 $z$  : Coordenada axial

### *Símbolos*

$\alpha$  : Constante de proporcionalidad  
 $\beta$  : Constante de proporcionalidad  
 $\epsilon_R$  : Fracción de vacío en el reactor  
 $\rho_h$  : Densidad de la hifa  
 $\rho_g$  : Densidad del gas  
 $\mu$  : Velocidad específica de crecimiento  
 $\mu_g$  : Viscosidad del fluido  
 $\mu_{calc}$  : Velocidad específica de crecimiento calculada  
 $\mu_{max}$  : Velocidad específica de crecimiento máxima  
 $\phi$  : Frecuencia de ramificación  
 $\gamma$  : Constante de proporcionalidad de las ramificaciones  
 $\lambda$  : Fracción de hifa principal  
 $\tau$  : Tiempo a la longitud crítica de ramificación  
 $\delta_g$  : Espesor de la película de gas  
 $\gamma$  : Factor de tortuosidad

- $\theta$  : Coordenada angular  
 $\gamma$  : Constante de proporcionalidad de las ramificaciones  
 $\lambda$  : Fracción de hifa principal  
 $\tau$  : Tiempo a la longitud crítica de ramificación

### *Abreviaturas*

- ASET : Área superficial específica de transporte  
COV : Compuestos orgánicos volátiles  
A : Aminoácido  
CE : Capacidades de eliminación  
 $\Delta P$  : Caída de presión  
%Hu : Porcentaje de humedad  
PVDF : Polyvinylidene fluoride  
MF : Mixed cellulose esters

## RESUMEN

En el siguiente trabajo fue realizado un estudio para determinar la contribución de los hongos filamentosos en el aumento de la capacidad de eliminación (CE) de compuestos orgánicos volátiles (COVs) hidrofóbicos en sistemas de biofiltración, para ello fue utilizado n-hexano como compuesto modelo y el hongo *Fusarium solani* como agente biológico. Para esto fue evaluado el crecimiento, los cambios en la hidrofobicidad superficial y el coeficiente de partición de n-hexano (K). También fueron estudiados los efectos de la fuente de carbono y tipo de medio de cultivo, utilizados para crecimiento, sobre la morfología de *Fusarium solani*, determinando alguno de sus parámetros morfológicos. Finalmente, fue desarrollado un modelo matemático y posteriormente verificado experimentalmente, el cual describe el aporte de los hongos filamentosos a la transferencia de materia, aumento del área de transporte y CE.

Los estudios de crecimiento y los cambios generados en la hidrofobicidad superficial y en el coeficiente de partición de n-hexano en *Fusarium solani* fueron realizados bajo diferentes condiciones de cultivo y fuentes de carbono. Estos resultados muestran que el hongo llega a adaptarse a condiciones hidrofóbicas y que estos cambios podrían explicar la mayor CE de sustancias hidrofóbicas por hongos en biofiltros. Por ejemplo, fue encontrado un incremento del coeficiente de partición de n-hexano en biomasa de hasta 200 veces en comparación con agua ( $K=42$ ).

La determinación de los parámetros morfológicos fue realizada por análisis de imágenes en microcultivos y cultivos en placas con agar. Los resultados mostraron que una fuente de carbono más hidrofóbica y más volátil modifica la morfología de *Fusarium solani*, lo cual puede estar asociado con una optimización asimilativa de ciertas fuentes de carbono.

Los estudios en columnas de biofiltración entregaron los valores experimentales necesarios para la validación del modelo fenomenológico propuesto. Por otro lado, también fue estudiado en las columnas de biofiltración el efecto de la utilización de diferentes fuentes de carbono en el tiempo de puesta en marcha de biofiltros. Los resultados obtenidos, para el biofiltro control (sin utilizar una fuente de carbono alternativa para crecimiento) muestran CE máxima de  $225 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ , con una carga crítica de  $95 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ . Los resultados indican que es factible acelerar la puesta en marcha de los biofiltros fúngicos utilizando fuentes de carbono más biodegradables y de mayor bio-disponibilidad, existiendo efectos sobre la partición y adaptación a la biodegradación de n-hexano.

El modelo matemático propuesto en este estudio, para el crecimiento de hongos filamentosos en biofiltros de lecho fijo, describe el incremento en el área de transporte por el crecimiento de los micelios y su relación con la CE de n-hexano en estado cuasi-estacionario. Para el sistema descrito matemáticamente, fueron considerados cuatro procesos: (1) transferencia de materia del COVs en el seno del gas, (2) transferencia de materia del COVs en la película de gas alrededor del micelio, (3) transferencia

de materia y reacción de la fuente de nitrógeno asimilable a través de la elongación del micelio y (4) cinética de crecimiento miceliar. La verificación experimental del modelo fue determinada con la CE de n-hexano, variación de concentración a lo largo del biofiltro y caída de presión.



# INTRODUCCIÓN

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) constituyen un amplio rango de sustancias olorosas y tóxicas que incluyen hidrocarburos, olefinas y aromáticos, entre otros. El efecto de estas sustancias en la salud humana pasa desde simples náuseas hasta serios problemas respiratorios.

El control de COV y compuestos inorgánicos volátiles (CIV) en la industria de procesos, normalmente se ha focalizado en la aplicación de tecnologías tradicionales. Estas se basan en las propiedades fisicoquímicas de los compuestos que la constituyen. Las tecnologías fisicoquímicas abarcan entre otras los absorbedores, los equipos de adsorción, equipos de reducción catalítica, equipos de combustión, equipos de condensación, entre otros. Sin embargo, desde algún tiempo, se han desarrollado otro tipo de tecnologías para el tratamiento de este tipo de residuos, entre ellas la biofiltración, la oxidación ultravioleta, uso de membranas y el uso de corona plasma [Lewandowski y DeFilippi, 1998; Chang y Lu, 2003].

Para nuestro caso, la tecnología de interés es la biofiltración de gases. La biofiltración esta basada en las propiedades que los compuestos contaminantes ofrecen para el desarrollo de algunos microorganismos que se encuentran adheridos a un soporte formando biopelículas, en donde el contaminante es transportado para luego ser biodegradado.

Desde principios del siglo XX, los sistemas de tratamiento biológico han sido aplicados, principalmente, a residuos sólidos y líquidos. Sin embargo, tras la necesidad de desarrollar una alternativa rentable para el control de emisiones gaseosas, este tipo de tecnologías se extendió al tratamiento de gases [Devinny et al., 1999].

En los primeros años, la biofiltración de gases era una técnica que se aplicaba principalmente al tratamiento de olores generados por compuestos azufrados, amoníaco y mercaptanos [Kennes et al., 1996], sin embargo, hoy en día su aplicación se ha extendido a la mayoría de los contaminantes gaseosos emitidos por las distintas actividades industriales desarrolladas en el ámbito mundial.

Actualmente, existen numerosas empresas dedicadas al diseño, construcción y operación de sistemas de biofiltración a escala industrial. Reportes de finales de la década del 1990 indicaban que tan solo en Alemania y en los Países Bajos se encontraban más de 500 biofiltros instalados a escala industrial, aumentando cada año para diversas aplicaciones.

Los sistemas de biofiltración, al igual que los sistemas físico-químicos, poseen una serie de ventajas y desventajas en su utilización. Las principales ventajas, al ser comparado con otros métodos de control de emisiones son los bajos costos de inversión, costos activos y de mantenimiento bajos, costos de operación generalmente bajos para el tratamiento de grandes volúmenes de gases con bajas concentraciones de contaminantes, altas eficiencias de degradación en el tratamiento de muchos

contaminantes, pudiéndose tratar efectivamente mezclas de COV y CIV. Una de sus principales ventajas es su alta aceptación pública como un proceso natural y dependiendo del tipo de contaminante tiene carencia de contaminantes secundarios. Por otro lado, las principales desventajas de la biofiltración son la lenta aclimatación de la flora microbiana que puede tomar semanas o meses, el proceso es sensible a temperaturas altas y bajas, así como a fluctuaciones en las concentraciones.

Normalmente los sistemas de biofiltración trabajan limitados por transporte, dada la naturaleza de los reactores y de los contaminantes a eliminar, por lo tanto si es posible disminuir las barreras que generan estas limitaciones, por ejemplo aumentando del área de transporte y la bio-disponibilidad del contaminante en la fase biológica (menor coeficiente de partición), es posible aumentar su capacidad de eliminación. Entonces, la utilización de hongos filamentosos como agentes biológicos en sistemas de biofiltración, es una alternativa para la disminución de estas limitaciones, debido a las características hidrofóbicas de su pared celular (presencia de proteínas hidrofobinas) y al crecimiento filamentoso que aumenta el área de contacto para transporte de los contaminantes desde la fase gaseosa a la biológica.

Es por esto último, que conocer y estudiar a los hongos filamentosos como agentes biológicos en sistemas de biofiltración es de gran interés.

# CAPITULO UNO

## ANTECEDENTES

“Los conceptos y principios fundamentales de la ciencia son invenciones libres del espíritu humano” *A. Einstein.*

Actualmente existe un importante número de tecnologías para el control de emisiones de compuestos orgánicos volátiles (COV), tales como: incineración, oxidación catalítica, adsorción con carbón activo, entre otras. Estas son tecnologías bien establecidas, sin embargo presentan algunas desventajas como mayores costos de operación cuando se trabaja con altos flujos de aire y baja concentración de contaminante [Lewandowski y DeFilippi, 1998], como es el caso de los problemas de olores. Estas limitaciones, combinadas con las regulaciones medioambientales más estrictas y un aumento del conocimiento público, han motivado los esfuerzos de la investigación para desarrollar nuevos métodos para el tratamiento de COV. La biofiltración, oxidación ultravioleta, uso de membranas y uso de corona plasma para la destrucción de COV son algunos de los nuevos métodos desarrollados durante los últimos años. La biofiltración se refiere a la oxidación de vapores de COV por microorganismos inmovilizados a un soporte. Los constituyentes del gas de salida de este tipo de biorreactor son principalmente productos propios de la actividad microbiana como biomasa, CO<sub>2</sub> y agua [Ottengraf y van den Oever, 1983].

La biofiltración no es realmente una nueva idea, esta fue originada en Europa y uno de los primeros trabajos publicados fue dado a conocer por Simon Ottengraf [Ottengraf y van den Oever, 1983]. La biofiltración a sido utilizada por años, especialmente en Europa, para la eliminación de compuestos olorosos, como compuestos orgánicos e inorgánicos volátiles, de corrientes de aire [Pomeroy, 1982; Bohn y Bohn, 1988; Leson y Winer, 1991; Bohn, 1992].

## 1.1 BIOFILTRACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COV)

El interés en el uso de la biofiltración tiene entre sus factores importantes el bajo requerimiento energético, no utiliza sustancias peligrosas para su operación, no requiere condiciones de operación extremas, el contaminante es destruido y no sólo transferido de fase [Lewandowski y DeFilippi, 1998; Deeb y Alvarez-Cohen, 1999; Mirpuri et al., 1997].

Existen diferentes configuraciones de sistemas de tratamiento biológico de gases, entre ellas, los biofiltros de lecho fijo, los biolavadores y los biofiltros de lecho escurrido (columnas de escurrimiento) [Schroeder, 2002; Devinny et al., 1999].

**Biofiltros de lecho fijo.** El aire contaminado pasa a través de los macroporos del material filtrante (orgánico o sintético), en el cual se desarrollan los microorganismos (Figura 1.1). Los contaminantes se transfieren a una biopelícula adherida al soporte, en donde es biodegradado por los microorganismos. En este tipo de biorreactores la ausencia de una fase acuosa móvil lo transforma en el principal sistema para el tratamiento de contaminantes muy poco solubles en agua [Devinny et al., 1999; Lewandowski y DeFilippi, 1998; Auria et al., 2000].

**Biofiltro de lecho escurrido.** Consiste en una columna rellena de un empaque inerte, sobre el cual se desarrolla una biopelícula, con una fase líquida continua [Kennes y Thalasso, 1998]. La actividad de la biopelícula es mantenida haciendo circular una solución rica en nutrientes sobre el soporte con la biopelícula adherida [Kiared et al., 1997; Pol et al., 1998]. El gas contaminante es absorbido en el líquido y luego biodegradado por los microorganismos (Figura 1.2) [Weber y Hartmans, 1996].

**Biolavadores:** En este tipo de reactores el contaminante es eliminado de la fase gaseosa mediante un líquido de recirculación proveniente de un biorreactor de mezcla completa. En esta operación al hacer fluir el gas a contracorriente a través del líquido, los contaminantes y el oxígeno son absorbidos. Posteriormente el líquido con el contaminante y el oxígeno disuelto es alimentado a un biorreactor agitado de mezcla completa en donde los microorganismos degradan al contaminante (Figura 1.3) [Devinny et al., 1999; Schroeder, 2002]. Los biolavadores son adecuados para el tratamiento de compuestos muy solubles en agua.

En la Tabla 1.1 se resumen las principales características de los tres tipos de tratamiento biológico de gases antes indicados.

Tabla 1.1 Características operacionales de los diferentes tipos de tratamiento biológico de gases [Ottengraf, 1986].

Tipo	Fase móvil	Soporte	Biomasa activa
Biolavador	Líquido y Gas	Ninguno	Dispersa
Biofiltro de lecho escurrido	Líquido y Gas	Sintético	Inmovilizada
Biofiltro de lecho fijo	Gas	Orgánico / Sintético	Inmovilizada

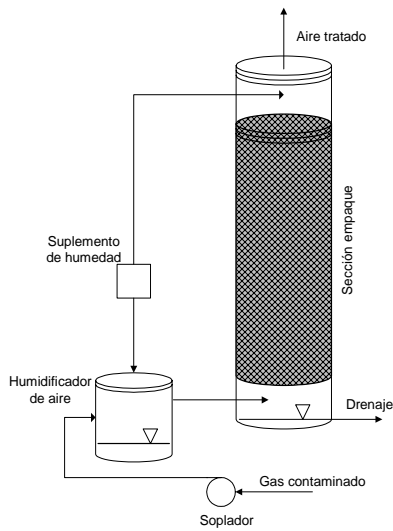


Figura 1.1 Esquema biofiltro de lecho fijo

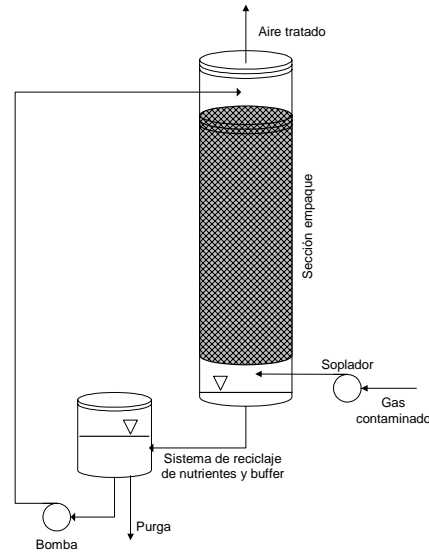


Figura 1.2 Esquema biofiltro de lecho escurrido.

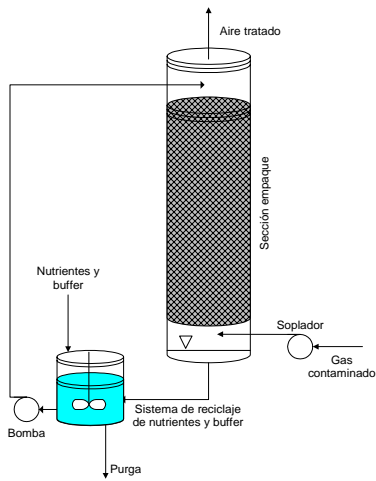


Figura 1.3 Esquema biolavador

### 1.1.1 Factores que afectan la biofiltración

Además de las propiedades intrínsecas de los microorganismos, la actividad biológica es afectada fuertemente por factores ambientales. Por ejemplo, la presencia de agua es fundamental para la actividad biológica. El pH, la temperatura, la disponibilidad de oxígeno, cantidad de nutrientes y tipo de soporte también afectan la actividad biológica. A continuación se describen brevemente algunos de estos factores.

**Microorganismos.** En estudios de biofiltración se han utilizado cultivos puros y consorcios microbianos [Kleinheinz y Bagley, 1998; Spigno et al., 2003; Auria et al., 2000; Vinarov et al., 2002; Choi y Oh, 2002; Schroeder, 2002]. La selección del o los microorganismos que se utilizan depende,

principalmente, de la naturaleza del contaminante y de las características biológicas del microorganismo. Entre los microorganismos más comunes utilizados en biofiltración se encuentran las bacterias y los hongos. En la Tabla 1.2 se presentan algunas de las especies puras utilizadas en estudios de biofiltración.

**Tabla 1.2** Microorganismos utilizados en estudios de biofiltración de COVs

Bacterias	Hongos
1 <i>Pseudomonas putida</i>	A <i>Aspergillus Níger</i>
2 <i>Alcaligenes sp.</i>	B <i>Scedosporium apiospermum TBI</i>
3 <i>Bacillus sp.</i>	C <i>Cladosporium sp</i>
4 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	D <i>Fusarium solani</i>
5 <i>Candida utilis</i>	E <i>Trichosporon veehuisii</i>
6 <i>Micromonospora vulgaris</i>	F <i>Graphium sp</i>
7 <i>Rhodococcus rhodochrous</i>	G <i>Exofiala sp.</i>
8 <i>Methylocystis parvus</i>	H <i>Paecilomyces</i>
9 <i>Thiobacillus sp</i>	I <i>Penicillium spp</i>

Fuente: [Kleinheinz y Bagley, 1998; Spigno et al., 2003; García-Peña, et al., 2001; Auria et al., 2000; Woertz et al., 2001, Kennes y Veiga, 2004]

**Material de empaque:** La elección del material de empaque para el tratamiento de COV se basa en sus características físicas y mecánicas: estructura, fracción de vacío, área específica, resistencia al flujo, porosidad, granulometría, densidad, capacidad de retención de agua, capacidad de adsorción y compactación [Chang y Lu, 2003]. Otras características importantes que este material debe presentar son un bajo costo, fácil disponibilidad y buena estabilidad en el tiempo [Bibeau et al., 1997; Lewandowski y DeFilippi, 1998].

Algunos de los soportes utilizados en este tipo de biorreactores son: tierra de diatomeas, turba, perlitas, vermiculita – carbón activado y compostas, entre otros [Hwang y Tang, 1997; Auria et al., 2000, Jorio et al., 2000; van Groenestijn y Liu, 2002; García-Peña et al., 2001].

**Contenido de humedad:** En un proceso biológico, la actividad no puede ocurrir en ausencia de agua. Los principales factores que producen la disminución de humedad en el lecho son: temperatura, humedad de entrada del gas y calor metabólico [Morales et al., 2003].

Algunos equipos de tratamiento biológico de gases, como los biofiltros de lecho escurrido o biolavadores, poseen una fase líquida móvil, por lo tanto, no presentan problemas de humedad durante su funcionamiento. Sin embargo, los biofiltros de lecho fijo no poseen esa fase líquida móvil, por lo que es necesario un sistema de humidificación previo [Lewandowski y DeFilippi, 1998]. Por otro lado, un aumento excesivo de agua puede disminuir la superficie de contacto entre el aire y la biopelícula, generando zonas anaerobias producto de la dificultad de transferir oxígeno. Un bajo contenido de humedad puede generar canalizaciones del lecho filtrante y reducir la actividad metabólica.

**pH:** Las condiciones de pH requeridas en el funcionamiento de sistema de tratamiento biológico de gases están en el rango de 6 a 8 [Lewandowski y DeFilippi, 1998]. Sin embargo, existen numerosos

procesos biológicos que generan productos ácidos, básicos o inhibitorios, tal como los reportados en el tratamiento de compuestos clorados, sulfuro de hidrógeno, sulfito de metilo, amonio, etc. [Shoda, 1991; Ergas et al., 1994; Kennes et al., 1996; Chung et al., 1997]. Para algunos COV también se han obtenido altas eficiencias de eliminación bajo condiciones ácidas como resultado del crecimiento fúngico o de bacterias extremófilas [García-Peña et al., 2001].

**Disponibilidad de nutrientes:** Solo la presencia de la fuente de carbono y energía no es suficiente para la actividad biológica. Los microorganismos necesitan de una serie de nutrientes esenciales para su desarrollo, siendo los principales macro-nutrientes fósforo, nitrógeno y azufre, además de otros micro-nutrientes. La adición de estos compuestos estimula el crecimiento de la población natural [Levin y Gealt, 1997].

### 1.1.2 Contaminantes gaseosos tratados por sistemas de tratamiento biológico

Las principales características que el gas contaminante debe presentar para el éxito de su tratamiento utilizando un sistema biológico, son su alta biodegradabilidad y baja toxicidad. La mayor efectividad de este tipo de sistemas se obtiene cuando el contaminante presenta un bajo peso molecular, alta solubilidad y una estructura simple. Los compuestos que presentan una estructura más compleja, requieren mayor energía para ser degradados [Devinsky et al., 1999]. La Tabla 1.3 muestra algunos de los compuestos que han sido eliminados por sistemas de tratamiento biológico.

**Tabla 1.3** Ejemplo de compuestos tratados por sistemas de tratamiento biológico y su relación con los microorganismos utilizados (Tabla 1.2) [adaptado de Swanson y Loehr, 1997; Kennes y Veiga, 2004]

Acetona (3)	Formaldehído (H)
Amonio (1)	Hexano (A, D)
Benceno (1, 2, 7)	Metanol (H)
Butanol (1, 3)	Metil etil cetona (1, 3)
Dimetil disulfuro (9)	Metano (8)
Dietil eter (F)	Metil mercaptano (9)
Dimetil sulfuro (9)	Metil <i>tert</i> -butil eter (D, F)
Dióxido de nitrógeno (G)	Oxido de nitrógeno (G)
Etanol (5)	Pentano (D)
Etilbenceno (7)	Sulfuro de hidrogeno (1, 9)
Estireno (G)	Tolueno (1, 2, 4, 7, B, C)
Fenol (E, I)	Xileno (2, 4, 7)

## 1.2 ALCANOS (n-Hexano): PROPIEDADES Y BIODEGRADACIÓN

### 1.2.1 Propiedades del n-hexano

Los alcanos son hidrocarburos que contienen átomos de carbono e hidrógeno, cuyos átomos de carbono

están unidos en cadenas abiertas simples [Card, 1998]. Los alcanos que contienen de uno a cuatro átomos de carbono son gases a presión y temperatura ambiente, siendo estos los más importantes desde el punto de vista de la contaminación atmosférica, ya que favorecen las reacciones fotoquímicas. Los alcanos pueden ser representados en forma general con la fórmula  $C_nH_{2n+2}$ , donde  $n$  es el número de átomos de carbono.

El *n*-hexano es un hidrocarburo hidrofóbico y es producido en el proceso de destilación del petróleo, siendo usado como solvente en múltiples industrias. De mucha importancia son las emisiones de *n*-hexano al aire, ya que la mezcla de *n*-hexano/aire puede ser explosiva si se llega al límite de explosividad situado en 1.1 y 7.5% en volumen. En la Tabla 1.4 se muestran algunas propiedades físico-químicas y biológicas de *n*-hexano. La inhalación de los vapores de *n*-hexano puede causar dolor de cabeza, náuseas, vómito, desvanecimiento, somnolencia, irritación del tracto respiratorio, narcosis y pérdida de la conciencia. El contacto con la piel o los ojos, puede provocar irritación, además, tiene un efecto desengrasante en la piel, produciendo sequedad [Forts y Conroy, 1998]. Según la NIOSH [Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional de E.U. 2004], el límite de exposición ocupacional (exposición de 8 horas) recomendado para *n*-hexano es de 50 ppm.

Tabla 1.4 Propiedades físico-químicas del *n*-hexano [adaptado de Card, 1998]

Propiedad	Valor	Unidad
Fórmula molecular <i>n</i> -Hexano	$C_6H_{14}$	---
Peso molecular	86.2	$g\ mol^{-1}$
Densidad	0.66	$g\ cm^{-3}$
Presión de vapor a 25°C	150	mmHg
Constante de Henry (en agua)	0.768	$atm\ mol^{-1}\ m^3$
Coefficiente de difusión acuosa	$7.8 \times 10^{-6}$	$cm^2\ s^{-1}$
Coefficiente de difusión en aire	0.2	$cm^2\ s^{-1}$
Punto de ebullición	69	°C
Coefficiente de partición octanol/agua, base $\log_{10}$	2.727	---

### 1.2.2 Biodegradación aerobia de *n*-hexano

La capacidad de biodegradación de los alcanos, es una de las principales características a considerar al momento de utilizar un biofiltro para su eliminación. Son muchos microorganismos que en el ambiente pueden utilizar *n*-alcanos como única fuente de carbono y energía. Según van Beilen et al. [2003] los alcanos son usualmente considerados como el tipo de hidrocarburo más fácilmente biodegradable. La biodegradación de alcanos (*n*-hexano) ocurre con una alta demanda biológica de oxígeno, utilizando una de las dos rutas que se muestran en la Figura 1.4. La más común de las dos rutas metabólicas, es la incorporación directa de un átomo de oxígeno, en uno de los últimos carbonos del alcano por una enzima monoxigenasa ubicada en la membrana celular [van Beilen et al., 2003, Berthe-Corti y Fetzner, 2002 y Maier et al., 2000]. Esto tiene como resultado la formación de un alcohol primario (hexanol). En forma



alternativa, una enzima dioxigenasa puede incorporar ambos átomos de oxígeno en el alcano formando un hidroperóxido. El resultado final de ambas rutas metabólicas es la formación de un ácido graso primario.

Los ácidos grasos son metabolitos comunes en todas las células. Ellos son utilizados en la síntesis de fosfolípidos de la membrana celular y lípidos como material de almacenamiento. La ruta metabólica más conocida de los ácidos grasos es la  $\beta$ -oxidación en donde dos carbonos son extraídos. Estos dos carbonos son extraídos por una coenzima A, la acetil-CoA, donde luego ingresan al ciclo del ácido tricarboxílico para completar la mineralización a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Parte de los ácidos grasos formados también pueden seguir otras rutas para la formación de proteínas, lípidos y carbohidratos [Berthe-Corti y Fetzner, 2002].

En la Tabla 1.5 se muestra un ejemplo de velocidades de degradación aerobia de diferentes clases de alcanos utilizando consorcios microbianos en columnas durante 23 días de operación y experimentos en lotes.

Tabla 1.5 Degradación de diferentes clases de alcanos para experimentos en columnas y por lotes [adaptado de Höhener et al., 2003]

Compuesto	Columna en 23 días $v_{\text{degradación}} [\text{g g}^{-1} \text{biomasa d}^{-1}]$	Lotes $v_{\text{degradación}} [\text{g g}^{-1} \text{biomasa d}^{-1}]$
n-Pentano	< 0.01	0.42
n-Hexano	0.26	0.92
n-Octano	5.0	10.6
n-Decano	13.5	
Metilciclopentano	0.1	0.52
Metilciclohexano	0.16	0.55
Ciclohexano	0.07	0.43
Iso-octano	0.09	0.36

### 1.3 SOLUBILIDAD DE LOS CONTAMINANTES GASEOSOS

La relación de equilibrio para un sistema gas-líquido, para componentes a bajas concentraciones, usualmente obedece a la ley de Henry, la cual es una relación lineal entre la concentración del gas de interés en fase gaseosa (presión parcial), y la concentración en equilibrio en la fase líquida. Esta ley de Henry para el equilibrio gas-líquido puede ser descrita por la siguiente ecuación:

$$C_{gi} = H_i C_{li} \quad (1.1)$$

Donde,  $C_{gi}$  es la concentración del COV en fase gaseosa,  $[\text{g m}^{-3}]$ ;  $C_{li}$  es la concentración del COV en la fase líquida,  $[\text{g m}^{-3}]$  y  $H_i$  es la constante de Henry, adimensional.

Una sustancia es considerada como soluble, según la ley de Henry, si posee un valor de  $H_i$  bajo

0.01 y si el valor es superior, la sustancia es considerada poco soluble en agua [Revah y Morgan-Sagastume, 2005]. Entonces mientras mayor sea el valor de la constante de Henry más hidrofóbica será la sustancia. El coeficiente de la ley de Henry, se encuentra en diferentes unidades, dependiendo de la unidad elegida de la concentración de la sustancia. La Tabla 1.6 muestra las constantes de Henry adimensionales ( $H_i$ ) de varios compuestos.

**Tabla 1.6** Coeficiente de Henry para diferentes COVs en agua a 25 °C (adaptado de Schroeder, 2002)

Compuesto	Coeficiente de Henry (adimensional)
<b>Hidrofóbicos</b>	
n-Hexano	56.0
Tolueno	0.256
Benceno	0.227
Diclorometano	0.105
Metil tert butyl eter	0.033
Acetona	0.015
<b>Hidrofílicos</b>	
Metil etil cetona	0.00282
Metanol	0.000186
Etanol	0.000213

La presencia de biomasa, polímeros extracelulares, productos, etc. generan un cambio en la constante de Henry, transformándose esta en una constante de Henry aparente o en forma más general en un coeficiente de partición. Esto debido a que la constante de Henry se encuentra definida para el equilibrio existente entre un gas y el líquido, sin embargo para el caso de una suspensión de microorganismos o incluso para el equilibrio directo entre el gas y la biomasa es más correcto utilizar un coeficiente de partición entre ambas fases, ya sea líquida, sólida y gaseosa, debido a que la constante de Henry aire/agua no cambia. La información de la constante de Henry en este caso solo es utilizada como referencia para establecer el cambio generado en la repartición de la concentración del gas cuando esta presente la biomasa.

Por lo general, con este cambio se ve favorecida la partición de los compuestos más hidrofóbicos hacia la fase en presencia de microorganismos [Davison et al., 2000]. Esta característica se ve acentuada en el caso de utilizar hongos filamentosos, debido a las características hidrofóbicas de éste, por lo tanto para estos casos será utilizado el coeficiente de partición aire/hongo en lugar de la constante de Henry.

El transporte desde la fase gaseosa de un COVs a una fase acuosa es uno de los procesos dominantes en un sistema de biofiltración. En sistemas de biofiltración tradicionalmente se ha utilizado para relacionar la concentración en la fase gaseosa con la concentración en fase líquida a la constante de Henry. Por otro lado, generalmente es aceptado que los biofiltros son posibles de ser utilizados para la eliminación de COVs con una constante de Henry moderadamente baja [De Header et al., 1994; Deshusses y Jonson, 2000].

Deshusses y Johnson [2000] investigaron la capacidad de eliminación de 18 COVs, con una amplia gama de constantes de Henry, utilizando biofiltros durante 48 horas para cada compuesto. Ellos concluyeron que la biodegradación de estos COVs en biofiltros está fuertemente influenciada por su disponibilidad o por las constantes de Henry. Sin embargo, hasta el momento no se han publicado estudios experimentales a largo plazo y más detallados del efecto de la constante de Henry en la eficacia de eliminación de COVs en biofiltros. Estudios anteriores también han sugerido que la transferencia de sustratos en fase gaseosa a una biopelícula no puede ser limitada por la fase acuosa, esto debido a que el transporte de los compuestos en fase gaseosa hacia la biopelícula puede ocurrir directamente por presencia de estructuras áreas [Rihn et al., 1997; Zhu et al., 2001].

Otra idea importante relacionada con el efecto de la constante de Henry es la limitación de oxígeno ( $O_2$ ), la cual puede ocurrir en biofiltros utilizados para eliminar COVs con bajos valores de la constante de Henry (compuestos hidrofílicos), debido a su mayor presencia en la fase acuosa y biopelículas. Kirchner et al. [1992] encontraron la velocidad de difusión de  $O_2$  para que no exista limitación en la biopelícula, variando el contenido de  $O_2$  del gas de entrada para tratar dos COVs hidrofílicos (acetona y propionaldeído). Sin embargo, la limitación  $O_2$  no ha sido observada comúnmente en estudios y operaciones de biofiltros [Zhu et al., 2004].

## 1.4 MODELADO DE BIOFILTROS

Debido a la complejidad del sistema, dada por la diversidad de poblaciones microbianas que pueden establecerse y a la inherente heterogeneidad del sistema, los biofiltros de lecho fijo son difíciles de modelar. El modelado de estos sistemas envuelven pasos físicos y bioquímicos, flujo de fluidos y difusión, propiedades de comunidades microbianas y materiales (soporte sólido), la predicción del área y el espesor activo de la biopelícula, entre otros [Alonso et al., 2000; Bibeau et al., 2000].

A continuación se presenta una revisión histórica de los modelos desarrollados para biofiltros de lecho fijo para la eliminación de COVs. Se muestra como estos han crecido en complejidad y en la manera más detallada de explicar los fenómenos que se encuentran involucrados en el reactor.

Uno de los primeros modelos para biofiltros de lecho fijo fue presentado por Ottengraf y van der Oever [1983], ellos desarrollaron las ecuaciones diferenciales en estado estacionario que definen la variación de la concentración en la biopelícula y a lo largo de la columna del biofiltro para obtener la cantidad de contaminante biodegradado en el biofiltro, utilizando una cinética de primer orden y de orden cero.

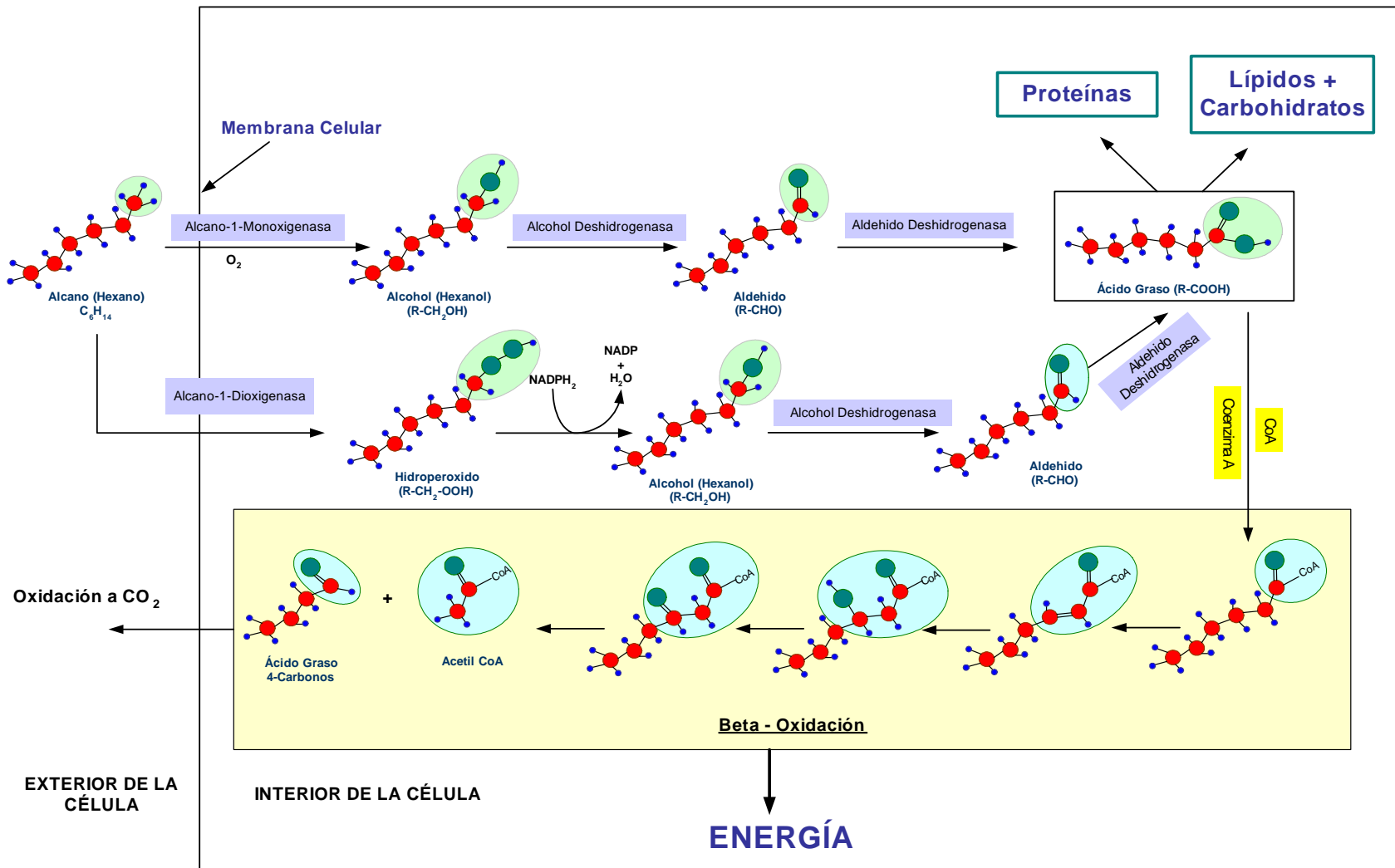


Figura 1.4 Mecanismo de biodegradación de n-hexano (adaptado de van Beilen et al. [2003], Berthe-Corti y Fetzner, [2002] y Maier et al. [2000])

Shareefdeen y Baltzis [1994] desarrollaron un modelo para un biofiltro de lecho fijo, en el cual se consideró una operación en estado transitorio para la eliminación de tolueno, realizando los balances de materia en la biopelícula, fase gaseosa y el soporte sólido, considerando una cinética de Monod. Hodge y Deviny [1995] y Jorio et al. [2003] desarrollaron un modelo utilizando cuatro diferentes tipos de material de soporte, describiendo la transferencia de materia entre la fase gaseosa y sólido/agua, la biodegradación del sustrato, la producción de  $\text{CO}_2$  y los cambios de pH producto de la acumulación de  $\text{CO}_2$ . Ellos consideraron que no existe turbulencia a la escala de trabajo, que el medio filtrante es un medio homogéneo, que la distribución y densidad de la biomasa es homogénea en la biopelícula, que la adsorción es reversible y fue utilizada una cinética de primer orden para la degradación de sustrato. Iguales supuesto fueron realizados por Deshusses et al. [1995], utilizando una cinética de tipo Monod con inhibición competitiva para una mezcla de metil isobutil cetona y metil etil cetona. Este modelo esta basado en los principios de una biopelícula homogénea dividida en “n” subdivisiones (Figura 1.7).

El modelo matemático que describe la biofiltración de mezclas de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos desarrollado por Mohseni y Allen [2000] esta basado en el modelo biofísico propuesto por Ottengraf y van den Oever [1983] para un COV. El modelo en estado estacionario fue desarrollado considerando la biopelícula como una matriz orgánica y utilizando una cinética de Monod con inhibición.

Den y Pirbazari [2002] desarrollaron un modelo matemático para el diseño y predicción del funcionamiento de un biofiltro para la eliminación de COVs clorados. El modelo incorpora aspectos de transferencia de materia, biodegradación y procesos de adsorción. Para el desarrollo de este modelo se consideró el modelo básico de película homogénea pero para una partícula esférica (Figura 1.8), considerando la difusión en la coordenada radial. Los principales supuestos realizados son los mismos mostrados en la Tabla 1.6. También adiciona un protocolo para el escalamiento de biofiltros basado en un análisis dimensional y de similitud.

No solo el modelado de los fenómenos de transferencia de materia y biodegradación en biofiltros ha sido de interés, Morales et al., [2003] desarrollaron un modelo para determinar el secado del lecho filtrante. Este modelo describe la variación de la concentración de contaminante, humedad relativa del aire, temperatura y contenido de agua en el lecho filtrante. También los fenómenos aerodinámicos han sido modelados, Iliuta y Laranchi [2004], describen el efecto del crecimiento de la biopelícula en la aerodinámica y el taponamiento del biofiltro. El modelo desarrollado considera un flujo unidireccional basado en el promedio volumétrico del balance materia, momentum y de especies, acoplada con las ecuaciones convencionales difusión/reacción en sistemas biológicos.

Spigno et al. [2003] realizaron un modelo simple de dispersión axial en estado estacionario para evaluar la eliminación de n-hexano en un biofiltro utilizando el hongo *Aspergillus Níger*. Este modelo realiza iguales consideraciones que los utilizados para consorcios microbianos o biofiltros bacterianos,

trabajando con una biopelícula homogénea y constante de hongos, en la cual la reacción solo ocurre en la superficie del soporte. El balance en la fase biológica considera una cinética de biodegradación tipo Monod con inhibición por sustrato. Spigno y De Faveri [2005] utilizaron el mismo modelo que Spigno et al. [2003] adicionando un término de mantenimiento celular en la biodegradación del contaminante. En la Tabla 1.8, se muestra un resumen de algunos de los modelos explicados anteriormente.

En general, se puede observar que los modelos realizados se basan en la estructura de una biopelícula como una fase pseudo-homogénea, de acuerdo a los esquemas mostrados en la Figura 1.5. Sin embargo, en el caso de biopelículas áreas (Figura 1.6), como es el caso de las generadas por hongos filamentosos, la aplicación de este modelo no es totalmente correcta conceptualmente. Aunque se obtienen buenos resultados, según los reportados por Spigno et al. (2003), no entregan buena información de los fenómenos reales que están ocurriendo en los espacios inter-partícula del biofiltro.

El crecimiento aéreo de microorganismos filamentosos, dados por la morfología de estos, permite cubrir el espacio vacío presente entre los soporte de un biofiltro, ah diferencia de las biopelículas bacterianas. Por otro lado, su superficie hidrofóbica y su resistencia a la sequedad permiten una absorción directa del contaminante desde el aire. Además, esta mayor área generada por los filamentos puede aportar a una mayor transferencia de materia al ser utilizados en biofiltros, de acuerdo a lo reportado por Braun-Lulleman et al. [1995]. En la Tabla 1.7 se muestran los principales supuestos realizados al momento de modelar un biofiltro utilizando el modelo conceptual de una biopelícula homogénea y su factibilidad de aplicación al modelo de biopelícula aérea.

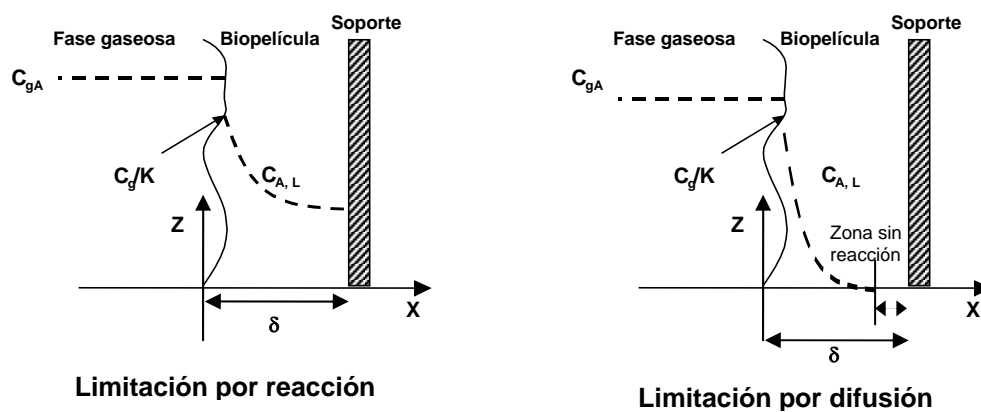


Figura 1.5 Concepto básico del modelo de la biopelícula homogénea, donde:  $C_{gA}$  es la concentración del contaminante en la fase gaseosa,  $C_{A,L}$  es la concentración del contaminante en la biopelícula,  $K$  es el coeficiente de partición,  $\delta$  espesor de la biopelícula,  $X$  coordenada en la dirección del espesor de la biopelícula y  $Z$  dirección de la coordenada a lo largo del biofiltro.

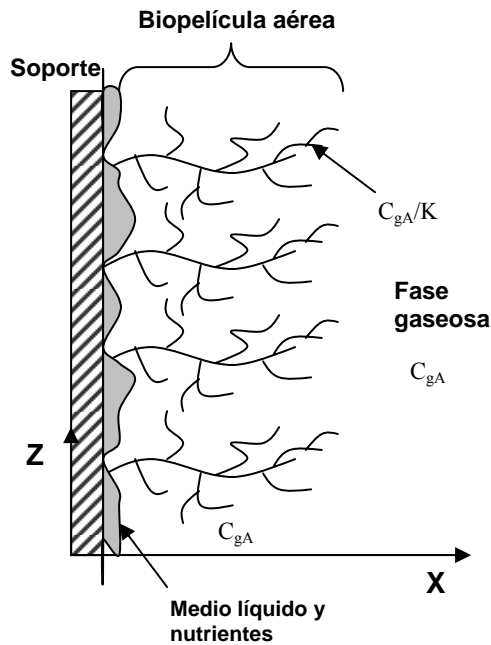


Figura 1.6 Concepto básico del modelo de biopelícula aérea, donde:  $C_{gA}$  es la concentración del contaminante en la fase gaseosa,  $K$  es el coeficiente de partición.

Tabla 1.7 Principales supuestos realizados para el modelado de biofiltros de lecho fijo [adaptado de Devinny et al., [1999] y Shareefdeen y Singh, 2005] y su aplicación a biopelículas aéreas.

Supuesto	Aplicación a biofiltros fúngicos
1. Resistencia interfacial en la fase gaseosa despreciable, esto quiere decir que la concentración interfacial puede ser asumida en equilibrio con la concentración en la fase gaseosa.	Aplicable
2. La fase gaseosa es considerada como flujo pistón, es decir no existe gradiente radial de concentración.	Aplicable
3. El transporte del contaminante en la biopelícula es por difusión y puede ser descrito por una difusión efectiva	NO aplicable
4. El espesor de la biopelícula es pequeño relativo al diámetro de la partícula, y por lo tanto su geometría puede ser asumida para la biopelícula	NO aplicable
5. La micro-cinética para la eliminación de sustrato en la biopelícula puede ser descrito por la ecuación de Monod	Aplicable
6. La biopelícula es ideal y homogénea	NO aplicable
7. No existe limitación por oxígeno en el sistema	Aplicable
8. El espesor de la biopelícula es constante, la densidad de biomasa y el crecimiento son despreciables	NO aplicable

El transporte difusivo del contaminante en la biopelícula no puede ser considerado en un modelo de biopelículas aéreas, debido a que no existe una película homogénea en la cual ocurra esta difusión. En el caso de biopelículas aéreas se considera que el contaminante se encuentra en contacto directo con las hifas del hongo filamentoso y para el caso de alcanos estos reaccionan inmediatamente en la membrana del hongo para posteriormente ingresar como un alcohol a la célula (ver Figura 1.4). Por otro lado, suponer que la biopelícula es pequeña y por lo tanto considerar su geometría como la del soporte, para el modelado de biofiltros fúngicos no es conceptualmente correcto, esto debido a que no toda la biomasa se encuentra adherida directamente al soporte, generando estas formas irregulares dado por la morfología de los hongos filamentosos. Debido a la misma justificación anterior no es factible considerar a la biopelícula como una fase ideal homogénea, esto por la heterogeneidad propia del crecimiento fúngico.

Debido a la morfología de crecimiento de los hongos filamentosos estos ocupan el espacio vacío presente en el biofiltro a medida que este crece al consumir el contaminante. Por lo tanto, no es factible considerar una biopelícula constante.

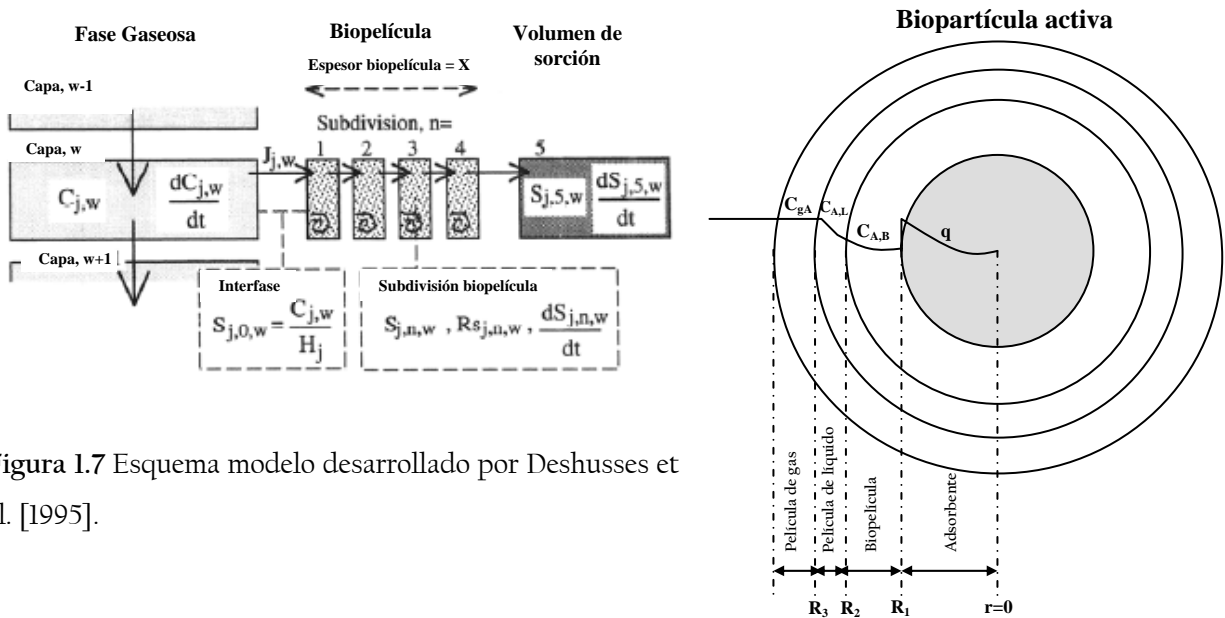


Figura 1.7 Esquema modelo desarrollado por Deshusses et al. [1995].

Figura 1.8 Concepto básico del modelo de biopelícula para el modelo desarrollado por Den y Pirbazari [2002].



### Conclusión parcial

La eliminación de COV hidrofóbicos desde la fase gaseosa, ha sido realizada tradicionalmente en forma biológica por biofiltros de lecho fijo, con bacterias como agente biológico, presentando limitaciones para la eliminación de este tipo de COV. Estas limitaciones son principalmente de transporte de materia del COV a la fase biológica, pudiendo ser superadas utilizando hongos como agentes biológicos. La utilización de hongos filamentosos en biofiltros de lecho fijo produce un cambio en la forma de interpretar el crecimiento de la biopelícula, debido a la morfología de crecimiento de los hongos filamentosos, siendo entonces la aplicación del modelo tradicional de una biopelícula pseudo-homogénea conceptualmente incorrecta.

Tabla 1.8 Modelos utilizados en biofiltros de lecho fijo y sus condiciones de fronteras

Función	Modelo	Condiciones de Frontera y Referencia definiciones
<p>Solución analítica del perfil de concentración del contaminante en la biopelícula y a lo largo de la columna del biofiltro. Cinética de primer orden y de orden cero (Ver Figura 1.5)</p>	<p><i>Biopelícula</i>  <math display="block">D_{ef} \frac{d^2 C_{AL}}{dx^2} = k</math></p> <p><i>Altura biofiltro</i>  <math display="block">-v_g \frac{dC_{gA}}{dz} = -A_s D_{ef} \left( \frac{dC_{AL}}{dx} \right)_{x=0}</math></p>	<p><i>Biopelícula</i>  <math>x = 0 \quad C_L = C_g / K</math>  <math>x = \delta \quad dC_{AL} / dx = 0</math></p> <p><i>Altura biofiltro</i>  <math>z = H \quad C_{gA} = C_{gAs}</math></p> <p>Ottengraf y van der Oever, 1983</p>
<p>Modelo desarrollado utilizando una cinética de tipo Monod con inhibición competitiva para una mezcla de MIBK y MEK. Para el desarrollo de este modelo se utiliza el concepto básico de una biopelícula homogénea. (Ver Figura 1.7)</p>	<p><i>Fase gaseosa</i>  <math display="block">\frac{V_e}{W} \frac{dC_{i,w}}{dt} = G(C_{j,w-1} - C_{j,w}) - J_{j,w} \frac{AV}{W}</math></p> <p><i>Biopelícula</i>  <math display="block">\frac{dS_{j,n,w}}{dt} = D_j \frac{N^2}{Z^2} (S_{j,n-1,w} - 2S_{j,n,w} + S_{j,n+1,w}) - R_{Sj,n,w}</math></p> <p><i>Volumen de sorción</i>  <math display="block">\frac{dS_{j,5,w}}{dt} = D_j \frac{AVN}{TSV \times Z} (S_{j,4,w} - S_{j,5,w});</math></p>	<p><i>Fase gaseosa</i>  <math display="block">J_{j,w} = D_j \left( \frac{dS_{j,w}}{dz} \right)_{z=0} = D_f \frac{S_{j,0,w} - S_{j,L,w}}{Z/N}</math></p> <p><math>S_{j,0,w} = C_{j,w} / H_j</math></p> <p><i>Biopelícula</i>  <math display="block">R_{Sj,n,w} = \frac{V_{mj} S_{j,n,w}}{K_{mj} (1 + I_{n,w} / K_i) + S_{j,n,w}}</math></p> <p><i>Volumen de sorción</i>  <math>TSV = V(1 - \epsilon) mc - VAZ</math></p> <p>Deshusses et al., 1995</p>
<p>Descripción de la transferencia de materia entre la fase aire y sólido/agua, la biodegradación del sustrato, la producción de CO<sub>2</sub> y los cambios de pH producto de la acumulación de CO<sub>2</sub>. Este modelo esta basado en el principio de una biopelícula homogénea. (Ver Figura 1.5)</p>	<p><i>Transporte</i>  <math display="block">\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial Z^2} - v \frac{\partial C}{\partial Z} - \left( \frac{1 - \theta}{\theta} \right) [k(k_h C - C_{ads})]</math></p> <p><i>Biodegradación</i>  <math display="block">\frac{\partial [CO_2]_{ads}}{\partial t} = k_c (k_{hc} [CO_2] - [CO_2]_{ads}) + R_c (bC_{ads})</math></p> <p><i>Adsorción</i>  <math display="block">\frac{\partial C_{ads}}{\partial t} = k(k_h C - C_{ads}) - bC_{ads}</math></p>	<p><i>Transporte</i>  <math>t = 0 \quad C = C_0</math>  <math>Z = 0 \quad C = C_0</math>  <math>Z = H \quad dC / dZ = 0</math></p> <p><i>Biodegradación</i>  <math>t = 0 \quad [CO_2]_{ads} = 0</math></p> <p><i>Adsorción</i>  <math>t = 0 \quad C_{ads} = 0</math></p> <p>Hodge y Deviny, 1995</p>

Describe la biofiltración de mezclas de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos. Considera los procesos de difusión y biodegradación de cada compuesto a través de la biopelícula. Este modelo está basado en el modelo básico de una biopelícula homogénea.

*Biopelícula*

$$D_{ei} \frac{d^2 C_i}{dx^2} = \frac{X_B}{Y_i} \frac{m_{\max(i)} C_i}{K_i + C_i}$$

*Columna del biofiltro*

$$U_g \frac{dC_{gi}}{dh} = A_S D_{ei} \left[ \frac{dC_i}{dx} \right]_{x=0}$$

(Ver Figura 1.5)

Incorpora aspectos de transferencia de materia, biodegradación y procesos de adsorción. Entrega un protocolo para el escalamiento de biofiltros basado en un análisis dimensional y de similitud. En este modelo se considera el mismo modelo básico de biopelícula pero utilizando una partícula esférica.

*Película de gas*

$$\frac{\partial C_{gA}}{\partial t} + v_g \frac{\partial C_{gA}}{\partial r} = D_g \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[ r^2 \frac{\partial C_{gA}}{\partial r} \right]$$

*Fase líquida*

$$\frac{\partial C_{A,L}}{\partial t} = D_L \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[ r^2 \frac{\partial C_{A,L}}{\partial r} \right]$$

(Ver Figura 1.8)

*Biopelícula*

$$\frac{\partial C_{A,B}}{\partial t} = D_B \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[ r^2 \frac{\partial C_{A,B}}{\partial r} \right] - X_B \frac{\mu_{\max} C_{A,B}}{K_s + C_{A,B}}$$

*Fase adsorbente*

$$\frac{\partial q}{\partial t} = \frac{D_s}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[ r^2 \frac{\partial q}{\partial r} \right]$$

*Biopelícula*

$$x = 0 \quad C_{gi} = \frac{C_{i,L}}{K_i}$$

$$x = \delta \quad \frac{dC_{i,L}}{dx} = 0$$

*Columna del biofiltro*

$$h = 0 \quad C_{gi} = C_{gie}$$

Mohseni y Allen, 2000

*Película de gas*

$$C_{gA}(r, t = 0) = 0$$

$$r = R_3 \quad D_g \frac{\partial C_{gA}}{\partial r} = k_B (C_g^* - C_{L,B})$$

$$C_{gA}(r \rightarrow \infty) = C_{gAb}$$

*Fase líquida*

$$C_{gA}(r \rightarrow \infty) = C_{gAb}$$

$$r = R_2 \quad D_L \frac{\partial C_{A,L}}{\partial r} = D_B \frac{\partial C_{A,B}}{\partial r}$$

$$r = R_3 \quad C_{A,L} = \frac{C_{gA}}{K}$$

*Biopelícula*

$$C_{A,B}(r, t = 0) = 0$$

$$r = R_1 \quad D_B \frac{\partial C_{A,B}}{\partial r} = D_s \rho_s \frac{\partial q}{\partial r}$$

$$r = R_2 \quad C_{A,B} = C_{A,L}$$

*Fase adsorbente*

$$q(r, t = 0) = 0$$

$$r = 0 \quad \frac{dq}{dr} = 0$$

$$r = R_1 \quad q_s = q = K_B C_{A,BS} n$$

Den y Pirbazari, 2002

Determina el secado del lecho filtrante, efecto de la temperatura de entrada y calor metabólico.

Este modelo describe la variación de la concentración de contaminante, humedad relativa del aire, temperatura y contenido de agua en el medio.

*Balace de materia contaminante en fase gaseosa*

$$\eta_g \frac{\partial C_{tol}}{\partial t} = -V_g \frac{\partial C_{tol}}{\partial z} - j_b$$

*Balace de materia vapor de agua en fase gaseosa*

$$\frac{\partial X}{\partial t} = -\frac{F_a^z}{\rho_a \eta_g} \frac{\partial X}{\partial z} + \frac{j_v}{\eta_g}$$

*Balace de materia agua en fase sólido-liquido*

$$\frac{\partial W}{\partial t} = Re + Rer$$

*Balace de energía*

$$\alpha \frac{\partial T}{\partial t} = Q_{Conv} + Q_{evap} - Q_{rx}$$

$$j_b = EC_{max} \beta_1(T) \beta_2(W) \beta_3(C_{Tol})$$

Morales et al., 2003

$$j_v = -Rv \cdot \rho v$$

$$Rv_{max} = aV_g^b T^c [\ln(RH)]$$

Re = es la velocidad de evaporación

$$Rer = \frac{72}{92} \frac{j_b}{\rho_c} \times 0.6$$

Estudio transitorio de la aerodinámica y taponamiento para la degradación de COV en biofiltros. Para el desarrollo de este modelo es considerado el modelo de una biopelícula homogénea, con aumento de espesor de la biopelícula.

(Ver Figura 1.5)

En la fase biopelícula se considera un elemento de volumen esférico, con variación de concentración en la dirección radial

*Balace especies en la fase gaseosa*

$$\frac{\partial}{\partial t} (C_{Sg} \epsilon) + u_g \frac{\partial}{\partial z} (C_{Sg} \epsilon) = D_g \frac{\partial^2}{\partial z^2} (C_{Sg} \epsilon) - r_s a_s^0 \delta_b \eta$$

*Balace a la biopelícula*

$$\epsilon_b \frac{\partial C_s}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 D_{s,b}^{eff} \frac{\partial C_s}{\partial r} \right) - \frac{\mu \rho_v}{Y_{x/s}}$$

*Continuidad de la fase gaseosa*

$$\frac{\partial}{\partial t} (\epsilon \rho_g) + \frac{\partial}{\partial z} (\epsilon \rho_g u_g) = 0$$

*Continuidad de la fase sólida*

$$\frac{\partial}{\partial t} [(1 - \epsilon^0) \rho_s + (\epsilon^0 - \epsilon) \rho_v] = \eta r_x a_s^0 \delta_b - b a_s^0 \delta_b \rho_v$$

*Momentum en la fase gaseosa*

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho_g \epsilon u_g) + u_g \frac{\partial}{\partial z} (\epsilon \rho_g u_g) = \epsilon \mu_g^c \frac{\partial^2}{\partial z^2} u_g - \epsilon \frac{\partial}{\partial z} P \pm \epsilon \rho_g g - F_{g_s}$$

*Balace especies en la fase gaseosa*

$$t=0 \quad C_{Sg} = C_{Sg}^{in}$$

$$z=0 \quad u_g C_{Sg}^{in} = u_g C_{Sg} \Big|_{z=0} - D_g \frac{\partial C_{Sg}}{\partial z}$$

$$z=H \quad \frac{\partial C_{Sg}}{\partial z} = 0$$

*Balace a la biopelícula*

$$r=r_p \quad \frac{dC_s}{dr} = 0$$

$$r=r_b \quad C_s \Big|_{r=r_b} = \frac{C_{sg}}{K}$$

$$t=0 \quad C_s(r,0) = C_s^{in}$$

Iliuta y Laranchi, 2004

Modelo simple de dispersión axial en estado estacionario para evaluar la eliminación de n-hexano en un biofiltro utilizando hongos. Se considera cinética tipo Monod con inhibición por sustrato y biodegradación por mantenimiento celular.

(Ver Figura 1.5)

*Balance de materia fase gaseosa*

$$C_{G(0)} \frac{D_n}{H^2} \frac{\partial^2 C_{gA}}{\partial z^2} - C_{G(0)} \frac{U_g}{H} \frac{\partial C_{gA}}{\partial z} + \frac{K_s D_e \alpha A}{\delta^*} \frac{\partial C_{A,B}}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0$$

*Balance de materia fase biológica*

$$\frac{K_s D_e}{\delta^{*2}} \frac{\partial^2 C_{A,F}}{\partial x^2} - \frac{X_F \mu_{max}}{Y} \frac{C_{A,F}}{(1 + C_{A,F} + K_s C_{A,F}^2 / K_I)} - X_F m_s = 0$$

*Balance de materia fase gaseosa*

$$\frac{Dv}{U_g H} \frac{\partial C_{gA}}{\partial z} \Big|_{z=0} = C_{gA(z=0)} - 1$$

$$\frac{\partial C_{gA}}{\partial z} \Big|_{z=1} = 0$$

*Balance de materia fase biológica*

$$K_s C_{A,B(x=0)} = \frac{C_{A,B}}{K} C_{G(0)}$$

$$\frac{\partial C_{A,B}}{\partial x} \Big|_{x=1} = 0$$

Spigno et al., 2003  
Spigno y De Faveri, 2005

## 1.5 HONGOS FILAMENTOSOS

Los habitats de los hongos son bastante diversos. Algunos son acuáticos (de agua dulce), algunos pocos viven en habitats marinos, también terrestres incluyendo suelo y asociado a materia de plantas muertas [Maier et al., 2000], jugando un papel crucial en la mineralización del carbono orgánico en la naturaleza [Madigan et al., 1999]. Los hongos son particularmente importantes en la degradación de polímeros de celulosa en plantas y lignina y otras moléculas orgánicas complejas, notablemente xenobóticas.

### 1.5.1 Estructura general de los hongos

Los hongos poseen paredes celulares rígidas, bastante distinta de la pared celular de los procariones (Figura 1.9). La quitina es un constituyente común de la pared celular de los hongos y se disponen en microfibrillas como la celulosa, la que es sintetizada en microvesículas ubicadas en la zona apical [Ruiz-Herrera y Ruiz-Medrano, 2004]. Además poseen una delgada capa externa de glicoproteínas; otros polisacáridos como los mananos, galactanos y quitosán reemplazan a la quitina en algunos grupos de hongos. Las paredes celulares fúngicas constan del 80-90% de carbohidratos, siendo las proteínas, lípidos, polifosfatos e iones inorgánicos el material cementante [Maier et al., 2000; Yarden, 2004].

### 1.5.2 Crecimiento y características morfológicas de los hongos filamentosos

El mecanismo de crecimiento de los microorganismos filamentosos es muy diferentes a los microorganismos unicelulares, ya que las células son conectadas en los canales de las estructuras de las hifas, elongándose fundamentalmente a través del ápice (crecimiento apical) por extensión de las células terminales [Madigan et al., 1999; Maier et al., 2000; Nielsen y Villadsen, 2003]. Incluso aunque la velocidad lineal de extensión del ápice tiene un límite, la longitud total de un micelio puede incrementarse exponencialmente debido a la formación de nuevos ápices a lo largo de la hifa. En la Figura 1.10 se muestra un esquema de un ciclo celular tipo de un hongo filamentosos.

La unidad característica de crecimiento de los hongos es la hifa. Esta es una estructura tubular microscópica, con diámetro y longitud característicos, dependientes de la especie y el medio. El crecimiento de estas hifas es presentado con formación de ramificaciones según las condiciones del crecimiento [Cox et al., 1998]. La hifa puede ser representada estructuralmente en 3 secciones (Figura 1.11): *apical*, *subapical* y *distal* [Larralde-Corona, 1996, Jennings y Lysek, 1999].

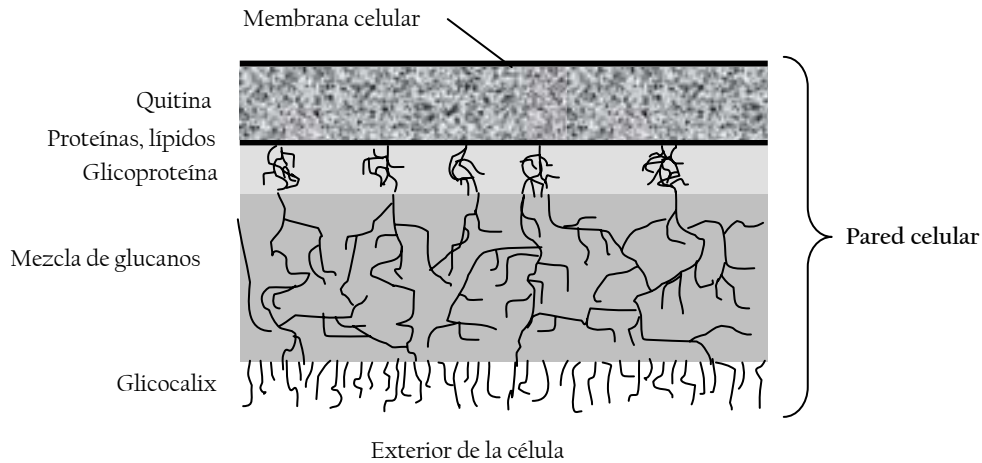


Figura 1.9 Estructura de la pared celular de un hongo [adaptado de Maier et al., 2000]

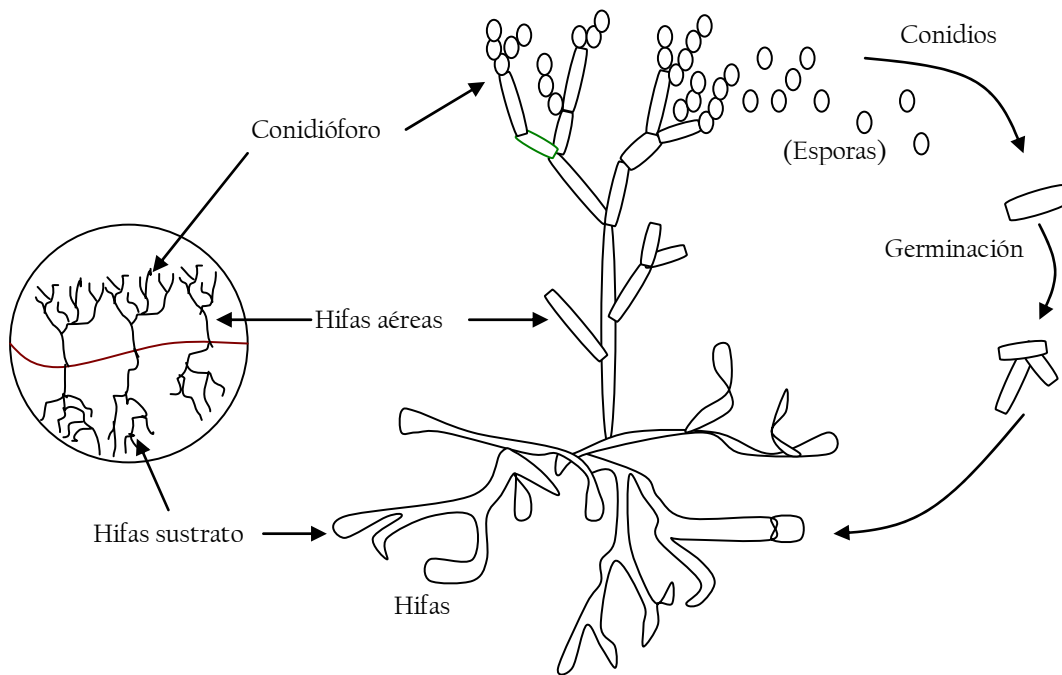


Figura 1.10 Diagrama tipo de un ciclo celular de un hongo filamentoso [adaptado de Shuler et al., 2003]

Generalmente, ésta segmentación se produce en una porción delimitada de la hifa dada por los septos. En algunas especies de hongos, la aparición de septos marca el inicio de una ramificación.

La elongación y ramificación de la hifa son procesos fundamentales para definir la morfología de los hongos filamentosos. La eficacia y sucesos de estos procesos son esenciales para el alcance y adquisición de nutrientes desde el ambiente y en muchos casos, son parte de la proliferación y ciclo reproductivo.

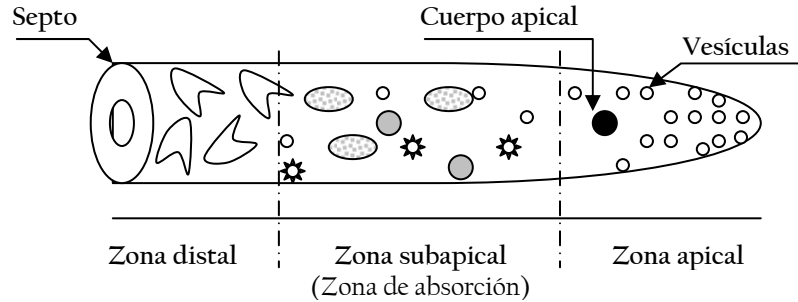


Figura 1.11 Esquema simplificado de una hifa [adaptado de Larralde-Corona, 1996, Jennings y Lysek, 1999]

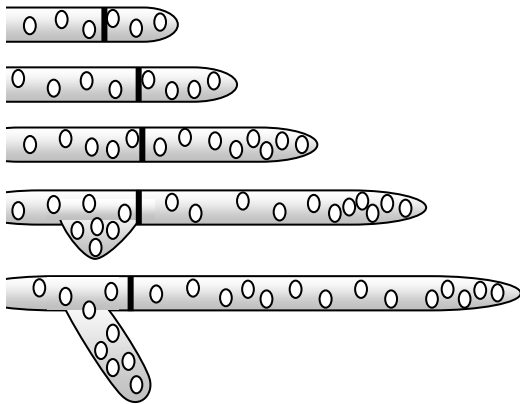


Figura 1.12 Esquema que muestra el papel que juega el septo y la acumulación de vesículas en la formación de una ramificación. La densidad de círculos indica la densidad de las vesículas.

El exceso de vesículas sobre aquellas destinadas para el transporte al ápice generan un aumento de la presión en el septo que separa la zona subapical y apical, comenzando la ramificación en la hifa (Figura 1.12) [Jennings y Lysek, 1999].

### *Fusarium sp.*

Para el caso particular de este trabajo fue utilizado el hongo filamentoso *Fusarium solani*. El Género *Fusarium* corresponde al Reino Fungi, Filo Ascomycota, Clase Sordariomycetes y Orden Hypocreales. La forma y tamaño de las esporas es la característica principal para el reconocimiento de los *Fusarium*. Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o en esporodocios o masas limosas (pionotos). Los macroconidios son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie. Los microconidios son comúnmente unicelulares, elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o subglobosos, similares en ancho a los macroconidios, con una base redondeada o truncada, por lo general formando cabezuelas mucosas, pero en algunas especies en cadenas basípetas. No siempre son producidos ambos tipos de esporas. Los conidióforos del



micelio aéreo en algunos casos sólo constan de una célula conidiógena, en otros están ramificados, a veces en verticilos. Las monofiálides producen conidios desde una sola abertura y en las polifiálides surgen las esporas desde más de una abertura en la misma célula [Booth 1971].

Muchos hongos filamentosos están naturalmente adaptados al crecimiento sobre superficie. Los hongos requieren un contacto cercano con el sustrato debido a su nutrición heterótrofa, secreción de enzimas extracelulares, absorción de nutrientes a través de la pared celular y el crecimiento apical de sus hifas [Jones, 1994].

Los hongos que crecen sobre superficies constituyen biopelículas y como tales, muestran características fisiológicas particulares derivadas probablemente de una expresión diferencial de genes [Gutiérrez-Correa, 2003]. Las biopelículas bacterianas han sido ampliamente estudiadas desde el punto de vista estructural y fisiológico, y son consideradas estructuras complejas y heterogéneas; en las cuales las células adheridas difieren radicalmente de las planctónicas y muestran mayor resistencia a compuestos biocidas, surfactantes y al secado [O'Toole et al., 2000; Blenkinsopp, 1991]. A diferencia de las biopelículas bacterianas, las biopelículas fúngicas han recibido menor atención, aunque recientemente están cobrando mayor relevancia.

La formación de biopelículas por hongos es un proceso complejo que se inicia con la adhesión de esporas a una superficie, la cual está influenciada por factores físicos, químicos y medioambientales. Tanto los microorganismos como las superficies tienen un potencial negativo que genera repulsión electrostática, la cual puede contrarrestarse con fuerzas de atracción temporales tipo Van der Waals o atracción hidrofóbica. Cuando las esporas llegan a la superficie del soporte se fijan para iniciar la germinación. La adhesión y germinación de las esporas está determinada por la presencia de proteínas hidrofóbicas de pared denominadas hidrofobinas. Las hidrofobinas son pequeñas proteínas ( $100 \pm 25$  aminoácidos) [Wessels, 1996; Wösten y Willey, 2000], moderadamente hidrofóbicas, caracterizadas por conservar ocho residuos de cisteína (ecuación (1.1)) que son separadas de una forma particular por secuencias de aminoácidos y patrones hidropáticos típicos, las cuales son secretadas durante una variedad de procesos de desarrollo del hongo filamentosos [Wessels, 1996; Villena y Gutiérrez-Correa, 2003; Yarden, 2004].

$$A_{2-38} - C - A_{5-9} - C - C - A_{11-39} - C - A_{8-23} - C - A_{5-9} - C - C - A_{6-18} - C - A_{2-13} \quad (1.1)$$

Donde A significa un aminoácido, con una alta proporción de aminoácidos no polares y C son los 8 residuos de cisteína. Entre las funciones de las hidrofobinas está la adsorción pasiva de esporas o hifas a superficies hidrofóbicas y la formación de estructuras hidrofóbicas aéreas como micelio y cuerpo

fructífero [Wösten y Willey, 2000]. La propiedad característica de las hidrofobinas es la formación de una membrana en contacto con una interfase hidrofílica-hidrofóbica lo cual permite cambiar la naturaleza de la superficie, disminuyendo la tensión superficial del agua (Figura 1.13) [Jennings y Lysek, 1999; Wessels, 1999; Wösten y Willey, 2000]. Esto sugiere que la adhesión inicial de esporas, determinará la estructura y estabilidad de la biopelícula. En este sentido, la hidrofobicidad de las esporas le confiere ventajas únicas para el desarrollo de biopelículas aéreas.

Basado en sus modelos hidropáticos y características de solubilidad, Wessels [1999] discriminó entre hidrofobinas de clase I y clase II. A pesar de que la sucesión de aminoácidos de las hidrofobinas entre estas clases son diversas, las hidrofobinas de clase I parecen estar relacionadas funcionalmente, es decir ellas pueden suplirse parcialmente. Tres tipos de conformaciones de hidrofobinas de clase I han sido identificadas: el estado monomérico, la cual es soluble en agua, el estado  $\alpha$ -helicoidal, la cual es el resultado del auto-ensamblaje a un sólido hidrofóbico y el estado  $\beta$ -laminar, la cual es formada durante el auto-ensamblaje en la interfase agua-aire [Wösten y de Vocht, 2000]. Las membranas formadas por la clase I de hidrofobinas (ejemplo, SC3 y SC4) son altamente insolubles y solo pueden ser disociadas con ácido fórmico o ácido trifluoro acético.

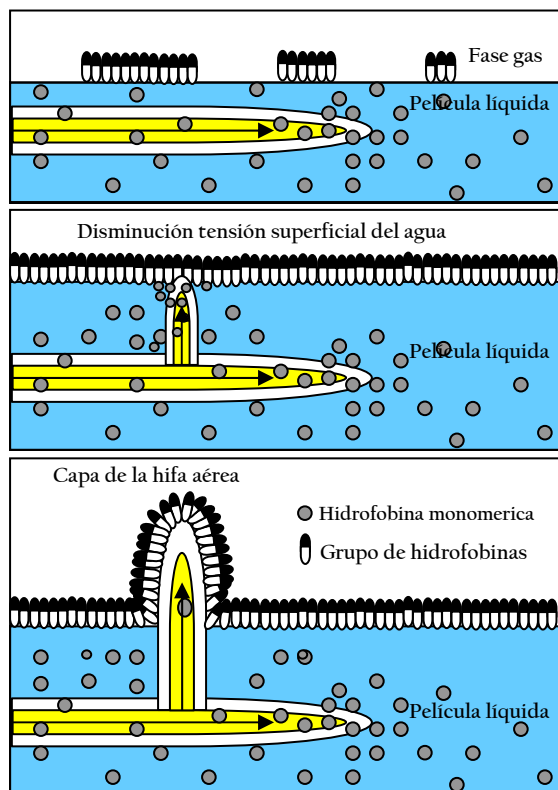


Figura 1.13 Modelo de crecimiento de hifas aéreas en hongos filamentosos [adaptado de Wösten y Willey, 2000]

### 1.5.3 Modelado del crecimiento de hongos filamentosos

Producto del cambio generado en el espacio vacío del biofiltro de lecho fijo por el crecimiento fúngico, es de interés relacionar las ecuaciones que describen los fenómenos de transporte en el biorreactor con una ecuación que describa el crecimiento fúngico en su interior, de manera de establecer el área y volumen de biomasa generada que permita predecir la relación existente entre esta área y la capacidad de eliminación del biofiltro, así como su relación con la caída de presión del sistema por disminución del espacio vacío.

Una serie de modelos de crecimiento y fenómenos intrapartícula han sido desarrollados para hongos filamentosos [Mitchell et al., 2004]. Un primer grupo de modelos describe la velocidad de crecimiento del microorganismo y su dependencia de las condiciones ambientales en las cuales estos se desarrollan, los segundos describen la transferencia de materia y calor entre las diferentes fases presentes en el biorreactor [Gutiérrez-Rojas et al., 1995]. Los diferentes modelos desarrollados pueden clasificarse en:

- ecuaciones básicas de cinética de crecimiento
- efecto de las condiciones ambientales en el crecimiento
- cinéticas de muerte celular
- efecto de la disminución del tamaño de partículas
- distribución de la biomasa sobre la superficie del sustrato y elongación de la hifa.

En el primer grupo de modelos se han reportado cinéticas de crecimiento de tipo lineal, exponencial, logística y cinéticas de aceleración y desaceleración [Mitchell et al., 2004]. En el segundo grupo el objetivo es describir las condiciones ambientales en el biorreactor como una función del tiempo y la respuesta de los microorganismos. En el modelado de biorreactores en medio sólido las dos variables ambientales más estudiadas son la temperatura y la actividad de agua en el soporte. Bovill et al. [2000] realizan una modificación a la ecuación logística incluyendo el estado fisiológico de la célula como función de la temperatura y de la actividad de agua.

El modelado de la cinética de muerte en el crecimiento de hongos ha recibido una baja atención debido a los complejos procesos que envuelven el crecimiento de hongos filamentosos. El modo de crecimiento de los hongos hace la definición de muerte celular más problemática que en el caso de organismos unicelulares. Szewezyk y Myszká [1994] utilizaron una ecuación de tipo Arrhenius para representar la velocidad específica de crecimiento en función de la temperatura, en donde un término describe el crecimiento y otro la muerte celular. Smits et al. [1999] no desarrollaron un modelo explícito de muerte celular, pero proponen una ecuación para describir la actividad de respiración específica de decaimiento de la masa microbiana en el tiempo. De igual forma Hamidi-Esfahani et al. [2004], consideraron en forma explícita el término de muerte celular, desarrollando un modelo para interpretar el efecto de la temperatura y el contenido de humedad en la velocidad de crecimiento máxima y la

concentración celular máxima en la ecuación logística.

El modelado del crecimiento superficial de hongos y como este ocupa la superficie del soporte es de gran interés en el proceso de biofiltración. El modelado de este crecimiento nos entrega información de la superficie cubierta, la forma de distribución de la hifa en el soporte y como cambia esta en el tiempo. Nopharatana et al. [1998] desarrollaron un modelo que describe la distribución de las hifas, la generación y movimiento de los ápices asumiendo que el espacio entre las hifas es ocupado por aire y suponiendo que el oxígeno no es limitante. Otro modelo que toma en cuenta los estados morfológicos de los microorganismos filamentosos, es el desarrollado por Nielsen [1993]. Este modelo describe el mecanismo de crecimiento de microorganismos filamentosos, es decir, extensión del ápice y ramificación; también se considera la fragmentación en la estimación de la morfología de los elementos de una hifa individual en un cultivo sumergido. Este se completa con un modelo de población combinado con el modelo de crecimiento individual de la hifa. McIntyre et al. [2001] también desarrollan un modelo para estimar la fragmentación en el caracterización morfológica de *Aspergillus nidulans*. La estimación de la velocidad de fragmentación se realizó asumiendo una ecuación de probabilidad de la posición en el elemento de hifa y que la fragmentación es proporcional a la longitud total de la hifa.

La elongación de la primera hifa, durante la germinación de una espóra, ha sido representada por muchos autores como una cinética de tipo Monod [Carlsen et al., 1996; Larralde-Corona et al., 1997]. Esta representación se ha utilizado para determinar el tiempo y la frecuencia de ramificación. López-Isunza et al. [1997] utilizaron un modelo que describe la transferencia de materia y la cinética de crecimiento de un hongo filamentoso basado en las ecuaciones de transferencia de materia y la teoría de crecimiento vesicular. En la Tabla 1.9, se muestra un resumen de los diferentes modelos.

Tabla 1.9 Modelos desarrollados para la descripción del crecimiento de hongos filamentosos

Modelos empíricos de crecimiento utilizados en hongos		
Efecto estudiado	Modelo	Referencia
Lineal	$\frac{dX}{dt} = K$	Mitchell et al., 2004
Exponencial	$\frac{dX}{dt} = \mu X$	Mitchell et al., 2004
Logística	$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right)$	Larralde-Corona et al., 1997
Dos fases	$\frac{dX}{dt} = \mu X, \quad t < t_a; \quad \frac{dX}{dt} = [\mu L e^{-k(t-t_a)}] t, \quad t \geq t_a$	Ikasari y Mitchell, 2000
Modelos que describen el efecto de las condiciones ambientales en el crecimiento de hongos		
Temperatura, actividad de agua, estado fisiológico	$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) \left(\frac{Q}{1+Q}\right); \quad \frac{dQ}{dt} = f(T, a_w, Q)$	Bovill et al., 2000
Temperatura y humedad	$\mu_m = \left( (a_1(T - T_{min})^2) (1 - \exp(a_2(T - T_{max}))) \right) \times (b_0 + b_1 Y + b_2 Y^2)$ $X_m = c_0 + c_1 Y + c_2 Y^2$	Hamidi-Esfahani et al., 2004
Modelos de decaimiento celular en hongos filamentosos en medio sólido		
Biomasa	$\frac{dX_V}{dt} = \mu_G X_V \left(1 - \frac{X_V + X_D}{X_M}\right) - k_D X_V; \quad \frac{dX_D}{dt} = k_D X_V$	Sangsurasak y Mitchell, 1995
Temperatura	$\mu_{obs} = \mu_G - \mu_D = \mu_{G0} \exp\left(-\frac{E_{aG}}{RT}\right) - k_{D0} \exp\left(-\frac{E_{aD}}{RT}\right)$	Szewezyk y Myszkka, 1994
Consumo oxígeno	$q_{O_2} = \frac{1}{Y_{XO_2}} \mu(t) + m_{O_2} - D; \quad \text{para } 0 \leq t \leq t_d, \quad D = 0$ $\text{para } t_d \leq t \leq t_r, \quad D = m_d(t - t_d); \quad \text{después de } t_r, \quad D = m_d(t_r - t_d)$	Smits et al., 1999
Modelos de efecto del tamaño de partícula en el crecimiento de hongos filamentosos		
Tamaño de partícula constante	$t = \left[ \frac{e_b L^2}{2bD_C C_A} \right] \left( 1 + \frac{l_c^2}{L^2} - 2 \frac{l_c}{L} \right)$	Nandakumar et al., 1994

**Modelos de distribución de hongos filamentosos**

Generación y movimiento de ápices *Generación y movimiento ápices* Nopharatana et al., 1998

$$\frac{\partial n}{\partial t} \Big|_x = \alpha_t \left( 1 - \frac{B}{B_m} \right) \left( \frac{G|_{x-\delta}}{k_t + G|_{x-\delta}} \right) + D_b \left( 1 - \frac{B}{B_m} \right) \left( \frac{G|_{x-\delta}}{k_t + G|_{x-\delta}} \right) \frac{\partial n}{\partial x}$$

*Producción de biomasa*

$$\frac{\partial B}{\partial t} \Big|_x = \nu_{\max} \alpha_p \left( 1 - \frac{B}{B_m} \right) \left( \frac{G|_{x-\delta}}{k_t + G|_{x-\delta}} \right) \quad \text{Difusión y consumo de sustrato}$$

$$\frac{\partial G}{\partial t} \Big|_x = D_{\text{hyp}} \frac{\partial}{\partial x} \left( B \frac{\partial(G/B)}{\partial x} \right) - \frac{1}{Y_{xG}} \frac{\partial B}{\partial t} \Big|_x - m_G B$$

Estudio de la morfología celular *Velocidad de crecimiento* *Crecimiento de la hifa* *Balace de células* Nielsen, 1993

$$\mu = \sum_{q=1}^Q \mu_q Z_q \quad \frac{dm_{\text{hgu}}}{dt} = (\mu - (\varphi + 2\psi) m_{\text{hgu}}) m_{\text{hgu}} \quad \frac{dx}{dt} = (\mu - D)x$$

**Modelos de que describen la elongación de hongos filamentosos**

Elongación con cinética tipo Monod y tiempo de ramificación *Larralde-Corona et al., 1997*

$$\frac{dL}{dt} = \frac{V_{\max} L}{K_L + L}; \quad \tau = \frac{1}{V_{\max}} \left[ K_L \left( \ln \left[ \frac{L_C}{L_0} \right] \right) + (L_C + L_0) \right]$$

Transferencia de materia y cinética de crecimiento *Sustrato sólido en el medio* *Membrana de la hifa* López-Isunza et al., 1997

$$\frac{\partial s_m}{\partial t} = \gamma_{sm} \frac{\partial^2 s_m}{\partial l^2} \quad \frac{\partial a}{\partial t} = \gamma_{ap} \frac{\partial^2 a}{\partial \zeta^2}; \quad \frac{\partial \theta}{\partial t} = \gamma_{ap} \frac{\partial^2 \theta}{\partial \zeta^2}$$

*Difusión reacción*

$$\frac{\partial s}{\partial t} = \gamma_s \left\{ \frac{1}{\lambda^2} \frac{\partial^2 s}{\partial \xi^2} + a_1^2 \left( \frac{\partial^2 s}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial s}{\partial r} \right) \right\} + \left\{ \xi D_{aw} \left( \frac{qp}{K_p + P} \right)_{\xi=1} - \frac{\alpha}{\lambda} \right\} \frac{\partial s}{\partial \xi} - D_{ap} \left( \frac{s}{K_s + s} \right) \lambda$$

$$\frac{\partial p}{\partial t} = \left\{ \frac{1}{\lambda^2} \frac{\partial^2 p}{\partial \xi^2} + a_1^2 \left( \frac{\partial^2 p}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial p}{\partial r} \right) \right\} + \left\{ \xi D_{aw} \left( \frac{qp}{K_p + P} \right)_{\xi=1} - \frac{\alpha}{\lambda} \right\} \frac{\partial p}{\partial \xi} + D_{ap} \left( \frac{s}{K_s + s} \right) \lambda$$

*Formación compuesto nueva pared*

$$\frac{dq}{dt} = D_{aq} \left( \frac{s}{K_q + s} \right) \frac{1}{\lambda} - D_{aw} \left( \frac{qp}{K_p + p} \right) (1+q)$$

*Alargamiento de la hifa*

$$\frac{d\lambda}{dt} = D_{aw} \left( \frac{qp}{K_p + p} \right) \lambda$$

## 1.6 BIOFILTROS UTILIZANDO HONGOS FILAMENTOSOS

La baja solubilidad de los compuestos hidrofóbicos en medios líquidos, es una de las principales limitaciones para su tratamiento en biofiltros, dada la presencia de películas líquidas que recubren la biopelícula. Sin embargo, esto es posible de ser superado con el uso de hongos como agente biológico. Estos son más resistentes a condiciones ácidas y de sequedad que las bacterias favoreciendo el transporte de compuestos hidrofóbicos [Kennedy y Veiga, 2004], lo cual se incrementa con la formación de micelios aéreos con características hidrofóbicas, aumentando la superficie de transporte [Wösten y Willey, 2000], existiendo un contacto directo entre el compuesto hidrofóbico y el micelio aéreo sin pasar por una fase acuosa. En la Tabla 1.10 se muestran algunas de las ventajas y desventajas del uso de hongos en biofiltros.

Tabla 1.10 Ventajas y desventajas del uso de hongos en la biofiltración de COVs

Ventajas	Desventajas
Gran variedad de enzimas (hidrolíticas, oxidación)	Crecimiento más lento que bacterias
Degradación de una gran variedad de compuestos orgánicos	Incremento en la caída de presión
Resistencia a la baja actividad de agua y pH	Producción de esporas
Capacidad de colonizar el espacio vacío (hifas aéreas)	Canalizaciones y taponamiento
y de penetrar el sólido aumentando la disponibilidad nutrientes	Posible patogenicidad

Unos de los primeros trabajos realizados utilizando hongos en el tratamiento de COV en biofiltros, fue el realizado por Cox et al. [1996]. En este trabajo se estudió el funcionamiento de un biofiltro de lecho fijo para la degradación de estireno inoculado con el hongo *Exophiala jeanselmei*, obteniendo capacidades de eliminación (CE) máximas de  $79 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . García-Peña et al. [2001] estudiaron el efecto de la humedad y la compactación del lecho en el funcionamiento de un biofiltro de lecho fijo y la CE utilizando el hongo *Scedosporium apiospermum* para la eliminación de tolueno, con vermiculita y carbón activado como soportes. García-Peña et al. [2001] observaron CE máximas de hasta  $258 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  con una eficiencia de eliminación de un 98%. Woertz et al. [2001] también utilizaron un biofiltro de lecho fijo inoculado con hongos para la eliminación de tolueno, el cual es utilizado como fuente de carbono y energía para la eliminación aerobia de óxido nítrico en fase gaseosa, obteniendo eficiencias de 93% con concentraciones de entrada de 250 ppmv de óxido nítrico utilizando un tiempo de residencia de 1 min para cargas de tolueno de  $90 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . La CE máxima observada para tolueno fue de  $270 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

Moe y Qi [2004] también estudiaron la eliminación de una mezcla de COVs compuesta por n-butyl acetato, metil etil cetona, metil etil propil cetona y tolueno con una concentración de entrada de 124, 50.5, 174 y  $44.6 \text{ mg m}^{-3}$ , respectivamente, utilizando un cultivo de varias especies de hongos, entre ellos

*Cladosporium sphaerospermum*, *Exophiala jeanselmei*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium nygamai*. Este biofiltro de lecho fijo fue utilizado para estudiar la respuesta a varios periodos en la cual no ingresa contaminante al sistema.

Aizpuru et al. [2005], trabajaron en un biofiltro de lecho fijo inoculado con el hongo *Paecilomyces variotii* para la eliminación de tolueno, utilizando como material de empaque anillos Rasching, en el cual observaron un elevado crecimiento miceliar, con CE de  $290 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

Spigno et al. [2003] y Spigno y De Faveri [2005] obtuvieron en promedio una CE de  $150 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , trabajando en un biofiltro de lecho fijo, inoculado con el hongo *Aspergillus niger* para la eliminación de n-hexano. Además de los trabajos realizados por Spigno et al. [2003] y Spigno y De Faveri [2005] para la eliminación de compuestos hidrofóbicos (con n-hexano como modelo), Arriaga y Revah [2005a,b] también estudiaron la biodegradación de n-hexano en un biofiltro de lecho fijo inoculado con *Fusarium solani*, utilizando perlita como soporte, obteniendo CE máximas de  $150 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

Unos de los últimos estudios para la eliminación de COVs hidrofóbicos utilizando hongos filamentosos, fue el realizado por Arriaga et al., [2006]. Este estudio evaluó el uso de aceite de silicona para el mejoramiento del transporte y subsiguiente biodegradación de n-hexano por el hongo *Fusarium solani* en dos configuraciones de biorreactores. Los experimentos de biodegradación fueron realizados en tanques agitados de 1.5 L y columnas empacadas de 2.5 L, siendo alimentados con cargas de n-hexano de  $180 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . En el reactor agitado bifásico con silicona, la máxima CE fue  $120 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (67% eficiencias de eliminación). En la columna empacada, la máxima CE fue de  $180 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  (>90% eficiencia de eliminación).

En la Tabla I.II, se muestra un resumen de algunos de los trabajos realizados utilizando hongos como agente biológico para la eliminación de COV en biofiltros de lecho fijo. De esta tabla se puede observar, el creciente interés en la utilización de este tipo de microorganismos durante los últimos años.

Tabla I.II Hongos utilizados en biofiltros de lecho fijo para la eliminación de COVs.

COV	Hongo	CE Máxima ( $\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ )	Referencia
Estireno	<i>Exophiala jeanselmei</i>	91	Cox et al. 1996
Tolueno	<i>Scedosporium apiospermum</i>	258	García-Peña et al. 2001,
	<i>Paecilomyces variotii</i>	290	Aizpuru et al. 2005,
	<i>Exophiala lecanii-corni</i>	270	Woertz et al. 2001
	<i>Exxophiala oligosperma</i>	>70	Estévez et al. 2004
	<i>Paecilomyces variotii</i>	60	Estévez et al. 2004
TEX	Hongo Nativo no inoculado	>120	Veiga y Kennes, 2001
n-Hexano	<i>Aspergillus niger</i>	200	Spigno et al. 2003 Spigno y De Faveri, 2005
	<i>Fusarium solani</i>	150	Arriaga y Revah 2005a Arriaga y Revah 2005b

TEX: Tolueno, etilbenceno y xileno.



### Conclusión parcial

Actualmente existe una serie de trabajos que han demostrado la ventaja de la utilización de hongos filamentosos en la eliminación de COV. Según diferentes autores, las propiedades físicas, químicas y biológicas de los hongos filamentosos permiten aumentar la capacidad de eliminación de compuestos hidrofóbicos en sistemas de biofiltración. Por otro lado, el crecimiento característico de los hongos filamentosos aumenta el área específica disponible de transporte de los COVs en fase gaseosa. Sin embargo, esta morfología de crecimiento aumenta la dificultad de su modelado, simulación e interpretación.

Actualmente, no existe una explicación y descripción físico-química y biológica, así como un modelo matemático que entregue una explicación desde un punto de vista biológico y fenomenológico para esta mayor eliminación.



# CAPITULO DOS

## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

“La hipótesis es una interpretación anticipada y racional de los fenómenos de la naturaleza”. *Claude Bernard*

---

Las emisiones de COVs comprenden un amplio rango de posibles contaminantes, constituyendo la segunda clase más extendida y diversa de emisiones atmosféricas, después de las partículas. Muchos COVs son el resultado de la actividad industrial así como del tratamiento de residuos sólidos y líquidos. Los COVs contribuyen a la formación de ozono fotoquímico a escala regional y urbana. Ellos también juegan un rol en la lluvia ácida, ya que contribuyen a la generación de los radicales responsables de la conversión de los óxidos de azufre en ácido sulfúrico. Algunos COVs llegan incluso a fases de transformación en aerosoles, con su consiguiente disminución de visibilidad.

Es por esto, que la profundización en el estudio de tecnologías de eliminación de COVs, que permitan optimizar su funcionamiento, por ejemplo los tratamientos biológicos de gases, y bajar los costos de construcción y operación es siempre necesaria.

El mejor entendimiento de los fenómenos físicos y biológicos que están ocurriendo en un equipo de tratamiento biológico de gases, permite predecir de mejor forma su funcionamiento y facilita realizar los cambios necesarios que optimicen la eficiencia del biorreactor. Este entendimiento nos lleva a la generación de modelos matemáticos y estudio de propiedades físicas, químicas y biológicas de los microorganismos involucrados, que permiten una futura aplicación al diseño y control a nivel industrial.

## 2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La biofiltración de lecho fijo de COVs utilizando bacterias y consorcios microbianos ha sido bastante estudiada, sin embargo la utilización de hongos filamentosos ha sido recientemente experimentada. Aunque existen trabajos en los cuales se han utilizado este tipo de microorganismos, en ellos no se ha desarrollado completamente el esclarecimiento de los fenómenos que ocurren en el interior de estos biorreactores. Los modelos desarrollados hasta ahora que explican el funcionamiento de biofiltros de lecho fijo utilizando hongos filamentosos, se han basado en los mismos principios de aquellos que utilizan bacterias y consorcios microbianos, considerando una fase biopelícula homogénea. Si bien estos han logrado predecir el comportamiento global del sistema, no son capaces de interpretar los fenómenos microscópicos de partición, difusión y crecimiento, entre otros.

Se ha demostrado en los trabajos realizados con hongos filamentosos que estos son más eficientes para la eliminación de COVs hidrofóbicos que sistemas bacterianos o que utilizan consorcios microbianos, sin embargo, no existe una explicación basada en los fenómenos de transporte de materia y reacción de esta mayor capacidad de eliminación. Esto se debe principalmente a la carencia de trabajos experimentales y modelos teóricos que permitan describir y predecir la interacción entre las diferentes variables que participan en la biodegradación y la transferencia de materia, así como la importancia relativa entre las diferentes variables involucradas (sorción, permeabilidad del lecho, caídas de presión, etc). Uno de los principales factores que explican la falta de modelos matemáticos en biofiltros de lecho fijo fúngicos, es la dificultad de representar el sistema heterogéneo y el crecimiento del hongo en el medio poroso, que permitan contribuir al entendimiento acabado del sistema.

Una alternativa a la falta de modelos matemáticos en biofiltros de lecho fijo fúngicos, es el desarrollo de sistemas experimentales que permitan manejar las características de trabajo, utilizando concentraciones y condiciones de operación que interpreten teóricamente el fenómeno de estudio, mediante el uso de hipótesis de trabajo apegada a la realidad experimental.

Se debe considerar que una de las principales desventajas de los biofiltros inoculados con hongos filamentosos son los largos periodos de puesta en marcha, mayor a la de los biofiltros bacterianos, lo cual se debe principalmente a la menor velocidad de crecimiento de los hongos filamentosos en comparación con las bacterias. Es por esto, que es también de interés estudiar fuentes de carbono alternativas que permitan acelerar la puesta en marcha para una posterior eliminación del COV.

## 2.2 HIPÓTESIS

La mayor capacidad de eliminación de los COVs hidrofóbicos en biofiltros de lecho fijo inoculados con hongos filamentosos es consecuencia del aumento en la superficie específica del hongo que mejora la transferencia de materia, generada por su morfología de crecimiento y el aumento en la partición de los compuestos hidrofóbicos en la biomasa producto de los cambios estructurales y características hidrofóbicas de la pared celular del hongo.

## 2.3 OBJETIVOS

### 2.3.1 Objetivo General

Contribuir al entendimiento de la utilización de hongos filamentosos en el aumento de la capacidad de eliminación en la biofiltración de lecho fijo de compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos, utilizando como compuesto modelo n-hexano, estableciendo su aporte a las reacciones, la transferencia de materia, área de transporte y partición del contaminante, mediante el desarrollo de un modelo matemático y su verificación experimental.

### 2.3.2 Objetivos Específicos

#### I. Búsqueda de parámetros físico-químicos y biológicos sensibles en el proceso de biofiltración

- A. Investigar algunas de las características que expliquen la mejor biodegradación de compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos al utilizar hongos filamentosos en biofiltros de lecho fijo, como coeficiente de partición, morfología, hidrofobicidad y velocidad de biodegradación.
- B. Investigar el efecto de las fuentes de carbono glicerol, 1-hexanol y n-hexano sobre la morfología de las hifas aéreas de *Fusarium solani* y determinar los parámetros morfológicos para el modelo de crecimiento fúngico en el biofiltro de lecho fijo.

## 2. Búsqueda de relaciones entre parámetros físico-químicos y biológicos y los fenómenos del proceso

- C. Desarrollar un modelo matemático que describa el aporte de los hongos filamentosos a la transferencia de materia de compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos, en fase gaseosa y la relación entre el aumento del área de transporte y la capacidad de eliminación del contaminante.
- D. Validar el modelo matemático propuesto y determinar su sensibilidad frente a cambios en parámetros de transporte y cinéticos, poniendo en marcha un biofiltro de lecho fijo a escala laboratorio, para la eliminación de compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos inoculado con hongos filamentosos.
- E. Estudiar la puesta en marcha de biofiltros de lecho fijo utilizando glicerol, 1-hexanol y salvado de trigo como fuente de carbono alternativa para acelerar la operación de este tipo de biorreactor para la eliminación posterior de n-hexano.

# CAPITULO TRES

## MATERIALES Y MÉTODOS

“Si no conozco una cosa, la investigaré”.

*Louis Pasteur*

---

### 3.1 MICROORGANISMOS Y EXPERIMENTOS EN MICROCOSMOS<sup>1</sup>

El hongo utilizado en todos los experimentos fue *Fusarium sp.*, reportado previamente por Arriaga y Revah [2005a] para la eliminación de n-hexano en un biofiltro de lecho fijo. Este fue identificado como *Fusarium solani* CBS 117476 por la Centraalbureau voor Schimmelcultures, Países Bajos.

El inóculo utilizado para todos los experimentos fue propagado en agar de papa dextrosa de acuerdo a García-Peña et al. [2001]. Posteriormente fueron preparadas placas Petri con el medio mineral utilizado para crecimiento (Tabla 3.1) y se cultivaron los hongos en una estufa a 30°C durante dos semanas en ambiente de n-hexano. Para el desarrollo de los experimentos en medio líquido, fueron preparados microcosmos con medio mineral y fue adicionada una suspensión de esporas, mientras que para los experimentos en medio sólido se adicionó medio sólido (perlita), medio mineral y una suspensión de esporas. Los experimentos realizados en medio líquido fueron inoculados con una suspensión inicial de esporas de  $1 \times 10^6$  esporas mL<sup>-1</sup>, mientras que los experimentos desarrollados en medio sólido fueron inoculados con  $2 \times 10^7$  esporas g<sup>-1</sup> de perlita seca, de acuerdo a García-Peña et al. [2001]. Para la preparación de la suspensión de esporas, las cepas de *Fusarium solani* una vez propagadas en placas Petri con papa

---

<sup>1</sup> Ambiente cerrado que simula las condiciones del biofiltro de lecho fijo

dextrosa fueron adicionados a las cajas perlas de vidrio, 0.1% de Tween 80 y medio mineral. Las esporas fueron cosechadas por medio de agitación vigorosa y se realizaron conteos en cámara de Neubauer.

Todos los experimentos en microcosmos fueron realizados en botellas de vidrio de 125 mL selladas con válvulas de Teflon Mininert (VICI; Precision Sampling, Baton Rouge, LA) (Figura 3.1).

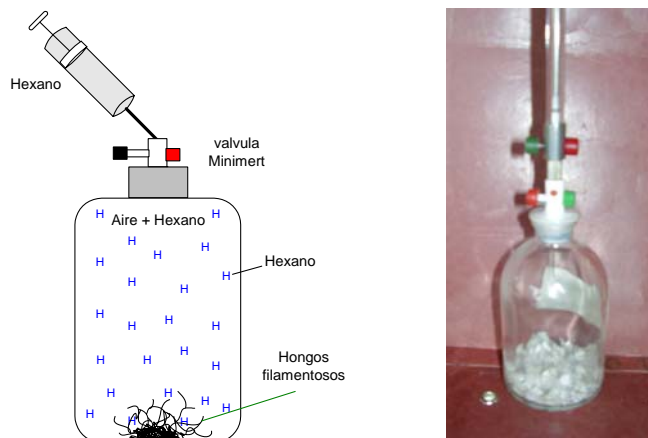


Figura 3.1 Esquema y fotografía de los microcosmos utilizados.

## 3.2 FUENTES DE CARBONO, MEDIO MINERAL Y SOPORTE SÓLIDO

### 3.2.1 Fuentes de carbono y medio mineral

Se utilizaron cuatro fuentes de carbono: glucosa (Baker), glicerol (Baker, 99.8%), 1-hexanol (Merck, >98%) y n-hexano (TeciQuim México, >95%). El medio mineral utilizado para la propagación, mantenimiento y cultivo en los microcosmos y sistema de biofiltración se muestra en la Tabla 3.1 [Arriaga y Revah, 2005a]. El pH fue ajustado en 4.0 con HCl (1.0 N) o NaOH (1.0 N).

Tabla 3.1 Medio mineral para el crecimiento de los hongos en microcosmos y columnas de biofiltración.

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



### 3.2.2 Soporte sólido

El material de soporte sólido utilizado en los experimentos en microcosmos y columnas de biofiltración, fue un mineral compuesto principalmente por silicato de aluminio. Este material se conoce con el nombre de perlita o agrolita (Hummert, México). Este material no posee contaminantes, ni sales, es de baja densidad y además posee un pH neutro. Es físicamente estable, químicamente inerte y posee una retención óptima de humedad. También fue utilizado en uno de los experimentos en columnas de biofiltración salvado de trigo en mezcla con perlita (30% peso/peso de salvado de trigo y perlita). El salvado de trigo fue utilizado también como fuente de carbono, para los estudios de aceleración en la puesta en marcha de este tipo de biorreactores.

Algunas de las propiedades físicas de los soportes determinadas fueron: densidad de empaque, humedad, fracción de vacío al empacar una columna, tamaño de partícula y capacidad de adsorción de n-hexano en los soportes secos y húmedos.

La densidad de empaque seco y húmedo fue determinada utilizando una probeta de vidrio de 1 L. Para esto fue pesada la probeta, posteriormente fue llenada con soporte seco y nuevamente pesada. Se debe tener presente que este experimento es válido sólo cuando la relación de diámetro de partícula a diámetro de la probeta es menor que 1/10, siendo para el caso de la perlita 0.4/6. La densidad de empaque fue determinada de acuerdo a la ecuación (3.1):

$$\rho_{\text{Perlita}} = \frac{m_{\text{perlita seca ó húmeda}}}{V_{\text{total}}} \quad (3.1)$$

Donde,  $m$  es la masa del soporte sólido adicionado, g;  $V$  es el volumen total de la probeta, L; y  $\rho$  es la densidad del soporte sólido,  $\text{g L}^{-1}$ .

La fracción de vacío fue determinada llenando una probeta de 1 L con perlita y luego se determinó su peso. Posteriormente fue adicionada agua a la probeta con perlita, comprobando que no existan burbujas de aire, entonces fue pesada para determinar el peso de agua adicionada. La fracción de vacío fue obtenida utilizando la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{Espacio vacío}}}{V_{\text{Total}}} \quad (3.2)$$

Donde,  $V$  es el volumen de agua adicionada antes y después de agregar la perlita, L.

El porcentaje de humedad del soporte sólido ó capacidad máxima de retención de agua fue determinado colocando una muestra del sólido en agua destilada durante 48 horas, de manera de asegurar que todos los poros estarán llenos de agua. Posteriormente, el soporte fue escurrido hasta no observar ninguna gota de agua (capacidad máxima de retención), entonces fue tomada una muestra y pesada. Luego, la muestra fue secada en una estufa a 100°C durante 48 horas para evaporar el agua absorbida y fue nuevamente pesada. El porcentaje de humedad fue realizado por triplicado. La máxima capacidad de retención de agua por el soporte fue determinada de acuerdo a la ecuación (3.3). Los resultados fueron expresados en base húmeda y seca.

$$\%Hu = \frac{m_{\text{Agua}}}{m_{\text{perlita húmeda}}} \times 100 \quad (3.3)$$

Donde %Hu es el porcentaje de humedad y m es la masa de agua y perlita. El tamaño de la perlita utilizada en los experimentos de microcosmos y columnas de biofiltración, corresponden a los que se encuentran entre los tamaños de malla: 4.76 mm (malla N°4), 3.36 mm (malla N°6) y 2.36 mm (malla N° 8) (Tyler standard meshes), cuya distribución fue de 15%, 56.7% y 28.3%, respectivamente luego de su tamizado.

La adsorción de n-hexano en los soportes secos y húmedos fueron representados mediante la isoterma de Freundlich (ecuación (3.4)) [Den y Pirbzari, 2002]. Para esto fue determinada la concentración en equilibrio de n-hexano en fase gaseosa luego de 48 h. La concentración de n-hexano en fase gaseosa fue determinada en forma directa por cromatografía de gases. Se adicionó 3 g de soporte en botellas de 125 mL, tapadas con válvulas Minimert, trabajando con concentraciones en fase gaseosa inicial entre 1 a 17 g m<sup>-3</sup>. La cantidad de n-hexano adsorbida en los soportes fue determinada por balance de materia. Los soportes adicionados fueron previamente secados a 105°C durante 24 h. La misma metodología fue utilizada para ambos soportes utilizados (perlita y salvado de trigo).

La siguiente ecuación empírica describe la isoterma de Freundlich [Den y Pirbzari, 2002], utilizada para la interpretación de la adsorción de n-hexano en los soportes sólidos utilizados:

$$q_c = K_F C_e^{n_F} \quad (3.4)$$

Donde,  $q_c$  es la cantidad de n-hexano adsorbido en la perlita o salvado de trigo,  $\text{mg}_{\text{Hexano}} \text{g}^{-1}_{\text{sólido}}$ ;  $C_e$  es la concentración de n-hexano en equilibrio en la fase gaseosa,  $\text{mg}_{\text{Hexano}} \text{m}^{-3}$ ;  $K_F$  y  $n_F$  son constantes.

### 3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El diagrama de flujo mostrado en la Figura 3.2 indica los experimentos realizados y el objetivo de ellos. Los experimentos fueron separados en dos grupos. El primer grupo corresponde a los experimentos en microcosmos y el segundo a los experimentos en columnas empacadas (biofiltros de lecho fijo). Los primeros experimentos tuvieron como objetivo principal la determinación de los parámetros necesarios para realizar la simulación del modelo matemático, además de entregar información de los efectos sobre las propiedades físico-químicas, biológicas y morfológicas del crecimiento de los hongos bajo diferentes fuentes de carbono y tipo de medio (líquido o sólido). También fueron determinados los parámetros cinéticos del hongo *Fusarium solani*.

El segundo grupo de experimentos tuvo como objetivo principal, obtener información necesaria para la validación del modelo matemático desarrollado. También fueron realizados experimentos para determinar la capacidad de biodegradación de n-hexano para el hongo crecido inicialmente en diferentes fuentes de carbono. Estos experimentos tuvieron como objetivo establecer una metodología que permita acelerar la operación de este tipo de biofiltros de lecho fijo.

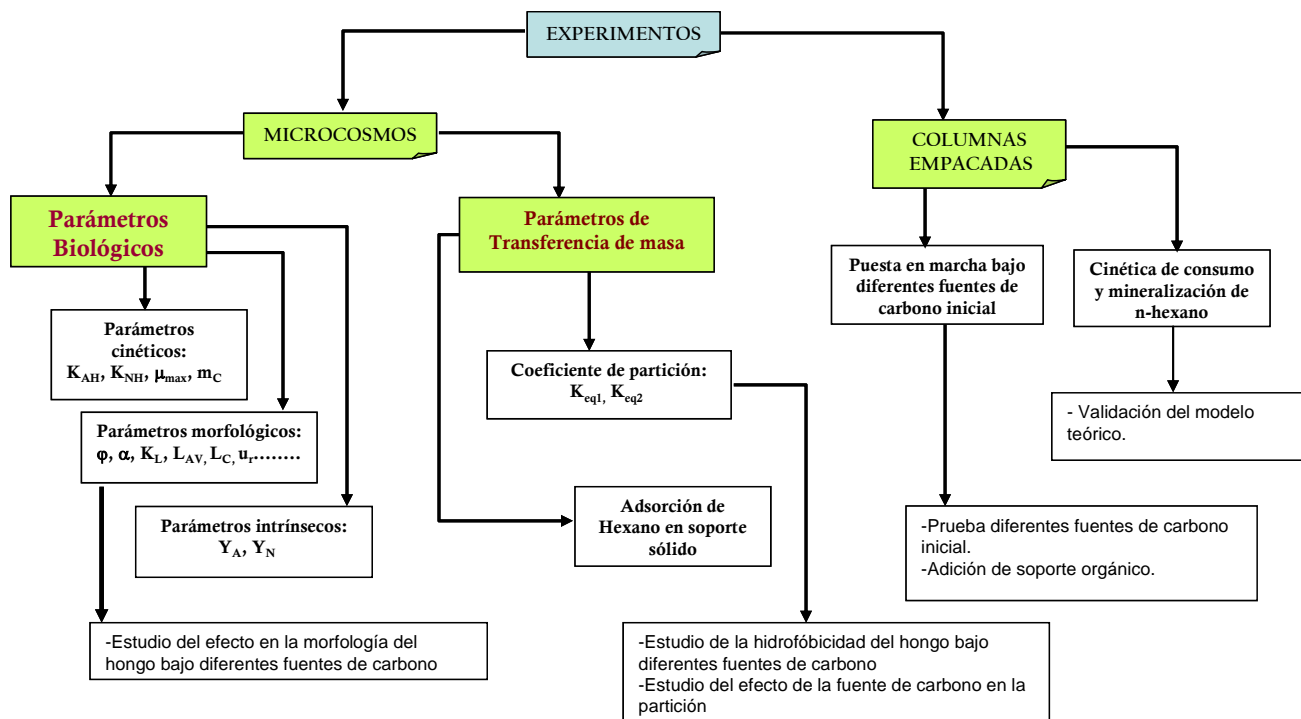


Figura 3.2 Diagrama de experimentos realizados. Donde,  $K_{AH}$   $K_{NH}$  son las constantes de afinidad de n-hexano y fuente de nitrógeno respectivamente,  $\mu_{max}$  es la velocidad máxima de crecimiento,  $m_C$  es el coeficiente de mantenimiento celular,  $Y_A$  e  $Y_N$  son los rendimientos celulares de n-hexano y nitrógeno respectivamente y  $K_{eq}$  son las constantes de equilibrio del sistema.

## Objetivos experimentos realizados en microcosmos

*Cinética de crecimiento de Fusarium solani.* El objetivo de este experimento fue estudiar la cinética de crecimiento del hongo filamentoso y determinar las constantes de afinidad de n-hexano, constante de inhibición de n-hexano y la velocidad máxima de crecimiento. Estos parámetros fueron utilizados para la simulación del modelo matemático desarrollado.

*Coefficiente de mantenimiento celular.* El objetivo de este experimentos fue establecer el aporte al consumo de n-hexano por el hongo *Fusarium solani* debido a mantenimiento celular con respecto al consumo total de n-hexano, además de determinar dicho coeficiente para ser utilizado en la simulación del modelo.

*Rendimiento celular.* El objetivo de este experimento fue determinar la cantidad de n-hexano y fuente de nitrógeno consumido para producción de biomasa. Estos parámetros también fueron utilizados para realizar el balance de carbono en las columnas de biofiltración, además de ser utilizados para la simulación del modelo matemático desarrollado.

*Coefficiente de partición de n-hexano:* El objetivo de este experimento fue determinar el efecto que tiene la utilización de diferentes fuentes de carbono para crecimiento de *Fusarium solani* en la posterior partición de n-hexano gaseosos sobre la biomasa crecida previamente en estas fuentes de carbono. Este experimento también permitió determinar el valor del coeficiente de partición utilizado para la simulación del modelo matemático.

*Hidrofobicidad superficial.* El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de la utilización de diferentes fuentes de carbono para crecimiento en las propiedades hidrofóbicas de *Fusarium solani*.

*Constante de afinidad de la fuente de nitrógeno.* El objetivo de este experimento fue determinar la constante de afinidad de la fuente de nitrógeno para ser utilizada en la simulación del modelo matemático desarrollado.

*Microcultivos.* El objetivo de desarrollar microcultivos fue determinar los diferentes parámetros morfológicos necesarios para la simulación del modelo de crecimiento y modelo del biofiltro de lecho fijo. También fueron utilizados para determinar el efecto de la utilización de diferentes fuentes de carbono sobre la morfología del hongo.

*Crecimiento de biomasa sobre agar.* El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de la utilización de diferentes fuentes de carbono para crecimiento, en la velocidad lineal de crecimiento del hongo filamentoso.

### Columnas de biofiltración

El estudio en columnas de biofiltración tuvo dos objetivos, el primero de ellos fue establecer el efecto del uso de diferentes fuentes de carbono en la aceleración de la puesta en marcha del biofiltro de lecho fijo. El segundo objetivo, fue obtener información necesaria que permita validar el modelo matemático desarrollado.

#### 3.3.1 Experimentos en microcosmos

##### Cinética de crecimiento de *Fusarium solani*

Para la determinación de la cinética de crecimiento de *Fusarium solani* en n-hexano, fue utilizado el modelo de Haldane [Shuler y Kargi, 2003]. De este mismo modelo se determinaron los valores de la velocidad específica de crecimiento máxima, la constante de afinidad para n-hexano y la constante de inhibición. La relación de Haldane puede ser expresada de acuerdo a la ecuación (3.5):

$$\mu = \mu_{\max} \left[ \frac{C_H}{K_{AH} + C_H + \frac{C_H^2}{K_I}} \right] \quad (3.5)$$

Donde:  $\mu_{\max}$  es la velocidad específica máxima de crecimiento,  $h^{-1}$ ;  $K_{AH}$  es la constante de afinidad,  $g\ m^{-3}$ ;  $K_I$  es la constante de inhibición,  $g\ m^{-3}$ ; y  $C_H$  es la concentración de n-hexano,  $g\ m^{-3}$ .

Los parámetros cinéticos para n-hexano fueron medidos por producción de  $CO_2$  (respirometría). Para los experimentos de respirometría, fueron adicionados 1.5 g de perlita mezclados con 10 mL de medio mineral y posteriormente inoculado con una suspensión de esporas. La producción de  $CO_2$  fue medida a  $30^\circ C$  en microcosmos utilizando una concentración inicial de n-hexano en el espacio vacío entre 1.6 – 31  $g\ m^{-3}$ . Los valores de  $\mu_{\max}$ ,  $K_{AH}$  y  $K_I$  fueron calculados basados en dos medidas independientes por cada punto de producción de  $CO_2$ . La relación entre la producción de  $CO_2$  y el crecimiento de la biomasa fue obtenida de acuerdo a Viniegra-González [1997] (Ver Anexo A).

##### Coefficiente de mantenimiento

El coeficiente de mantenimiento es usado para describir la velocidad específica de utilización de sustrato para el mantenimiento celular. Esta se puede definir como la cantidad de sustrato utilizado en el tiempo para mantenimiento por una cantidad determinada de biomasa. Este fue expresado de acuerdo a Shuler y Kargi [2003]:

$$m_c = \frac{-\left[\frac{dS}{dt}\right]_m}{X} \quad (3.6)$$

En donde la derivada del sustrato con respecto al tiempo indica la disminución del sustrato al ser consumido para mantenimiento y  $X$  es la concentración celular.

El coeficiente de mantenimiento fue obtenido experimentalmente con hongos previamente crecidos en medio líquido con 1-hexanol (debido a la mayor velocidad de crecimiento del hongo filamentosos en esta fuente de carbono y su semejanza con la fuente de carbono de interés, n-hexano). Posteriormente la biomasa fue filtrada en forma estéril en un filtro Nalgene® Filter Holders con una membrana Nucleopore (Polycarbonato 1.0  $\mu\text{m}$ , D 47 mm). Luego fue lavada tres veces con una solución estéril de buffer fosfato 0.01 M (pH 7), de forma de eliminar todos los residuos de medio mineral y fuente de carbono, de forma que el consumo de carbono solo fuera por mantenimiento y no exista crecimiento del hongo.

Posteriormente la biomasa fue puesta en microcosmos y fue adicionado 4  $\mu\text{L}$  de n-hexano (sin medio mineral) para obtener una concentración inicial en el espacio vacío de 30  $\text{g m}^{-3}$ .

El consumo de n-hexano y producción de  $\text{CO}_2$  fueron medidos en forma directa por cromatografía de gases. El porcentaje de mineralización del experimento fue determinado de acuerdo al Anexo B. Una vez agotado el n-hexano, fue determinada la masa celular mediante peso seco. Los experimentos fueron realizados por triplicado.

### Rendimiento celular

El rendimiento celular se define como la masa celular obtenida por unidad de nutriente o fuente de carbono consumido [Shuler y Kargi, 2003]. Para el caso de la fuente de carbono su determinación fue realizada utilizando la ecuación (3.7):

$$Y_{\%} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} = \frac{X_0 - X_f}{-(S_0 - S_f)} = \frac{\text{Masa celular producida}}{\text{Fuente de carbono consumido}} \quad (3.7)$$

Donde,  $X_0$  es la masa celular inicial, g;  $X_f$  es la masa celular final, g;  $S_0$  es la masa inicial de la fuente de carbono, g; y  $S_f$  es la masa final de la fuente de carbono, g.

La determinación experimental del rendimiento celular fue realizada en medio líquido, utilizando microcosmos de 500 mL tapados con válvulas de teflón Minimert. Fueron preparadas botellas para cada fuente de carbono (microcosmos), adicionando 80 mL de medio mineral (Tabla 3.1) y fuente de carbono

con una concentración de  $1 \text{ g L}^{-1}$  (glucosa, glicerol y 1-hexanol). La determinación de la biomasa final fue realizada por peso seco. El consumo de glicerol, glucosa y 1-hexanol en cada microcosmo fue determinado por producción de  $\text{CO}_2$  hasta alcanzar el estado estacionario.

Para la determinación del rendimiento celular de la fuente de nitrógeno, fue utilizado un balance de los contenidos del elemento en la célula y en el reactivo nutriente [Acevedo et al., 2002], lo que conduce a la siguiente ecuación:

$$Y_{\%N} = \frac{\% \text{ del elemento en el nutriente}}{\% \text{ del elemento en la biomasa}} \quad (3.8)$$

La ecuación (3.8) considera que todo el nutriente (fuente de nitrógeno) es utilizado para crecimiento y por lo tanto supone nula la cantidad utilizada para mantenimiento y producción. Lo cual puede ser válido para la fuente de nitrógeno, no así para la fuente de carbono y energía.

Para la determinación del rendimiento de la fuente de nitrógeno, fue utilizado el hongo crecido en medio líquido con 1-hexanol como fuente de carbono y energía más el medio mineral. Una vez obtenida la biomasa, esta fue filtrada y secada a  $100^\circ\text{C}$  durante 24 horas. La biomasa seca fue molida y posteriormente fue realizado un análisis elemental para determinar su composición.

### Coeficiente de partición de n-hexano

El coeficiente de partición de n-hexano en biomasa fue determinado para la biomasa crecida en 1-hexanol, n-hexano, glucosa y glicerol en medio líquido y sólido. Para algunos experimentos, fueron extraídos los lípidos y entonces posteriormente la partición de n-hexano fue evaluada en la biomasa sin lípidos. Los hongos fueron lavados con buffer fosfato pH 7 y secados a temperatura ambiente con sílica. Posteriormente diferentes pesos de biomasa y biomasa con perlita molida fueron adicionados en microcosmos, luego fueron esterilizados en siendo confirmada la finalización de la actividad biológica de las muestras por ausencia en la producción de  $\text{CO}_2$ . Luego,  $2 \mu\text{L}$  de n-hexano fueron adicionados y las muestras fueron mantenidas 48 h a  $30^\circ\text{C}$ . La concentración de n-hexano en el espacio vacío [ $C_{\text{espacio vacío}}$ ,  $\text{g m}^{-3}$ ] fue determinada por cromatografía. La concentración de n-hexano en la biomasa [ $C_{\text{biomasa}}$ ,  $\text{g m}^{-3}$ ] fue obtenida por balance de materia. El coeficiente de partición puede ser expresado como [ $K_{\text{biomasa}}$ ]:

$$K_{\text{biomasa}} = \frac{C_{\text{espacio vacío}}}{C_{\text{biomasa}}} \quad (3.9)$$

Para una mezcla de biomasa seca y grasa en contacto con la fase gaseosa, el coeficiente de partición fue definido con la ecuación (3.10) [Davison et al., 2000] y para una mezcla con biomasa húmeda con la ecuación (3.11).

$$\frac{1}{K_{biomasa}^{seca}} = \frac{X_{lipidos}}{K_{lipidos}} + \frac{X_{biomasa}^{libre\ de\ lipido}}{K_{biomasa}^{libre\ de\ lipido}} \quad (3.10)$$

$$\frac{1}{K_{biomasa}^{humeda}} = \frac{X_{biomasa}^{seca}}{K_{biomasa}^{seca}} + \frac{X_{agua}}{K_{agua}} \quad (3.11)$$

Donde: x son las fracciones de agua, grasa y/o biomasa, K es el coeficiente de partición de n-hexano en biomasa, agua, grasa y mezcla.

El coeficiente de partición de n-hexano en agua, fue determinado adicionando 35 mL de agua destilada en microcosmos. Se adicionó 3.5, 2.6, 2 y 1  $\mu\text{L}$  de n-hexano manteniendo las botellas a 30°C, obteniendo 27.1, 22.4, 18.5 y 9.7  $\text{g m}^{-3}$  en la fase gaseosa. Luego de 48 h fue determinada la concentración de n-hexano en la fase gaseosa. La concentración de n-hexano en el agua fue determinada por balance de materia.

### Hidrofobicidad superficial

La hidrofobicidad superficial del hongo fue determinada con el ángulo de contacto de una gota de agua de acuerdo a Smits et al. [2003] y Wösten y de Vocht [2000], utilizando el criterio esquematizado en la Figura 3.4. Los hongos fueron crecidos sobre membranas puestas en placas Petri con medio mineral en 15  $\text{g L}^{-1}$  Agar Noble (Difco™ Agar Noble, Becton Dickinson USA) con cuatro fuentes de carbono: glucosa, 10  $\text{g L}^{-1}$ ; glicerol, 10  $\text{g L}^{-1}$ ; 1-hexanol, 0.5  $\text{g L}^{-1}$  y n-hexano a 30  $\text{g m}^{-3}$  en ambiente cerrado. Dos membranas diferentes fueron utilizadas: una hidrofóbica (Millipore, Durapore® Membrane Filters, 0.45  $\mu\text{m}$ , diámetro 47 mm) y una hidrofílica (Millipore, cellulose membrane 0.45  $\mu\text{m}$ , diámetro 47 mm).

En el centro de la placa Petri y sobre la membrana fue inoculado el hongo filamentoso. Luego las placas fueron cultivadas en una cámara a 30°C con un tiempo de crecimiento de 1 a 5 semanas, dependiendo de la velocidad de crecimiento en cada una de las fuentes de carbono. Cuando la membrana fue cubierta completamente por el hongo esta fue recobrada y puesta sobre una superficie de vidrio. Entonces, 10  $\mu\text{L}$  de agua fueron puestos sobre la superficie y fotografiada con una cámara digital luego de 5 segundos. Se consideró despreciable la evaporación del agua en este tiempo. El ángulo de contacto fue



medido desde la foto digital utilizando el programa computacional Image J v1.34s (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). En la Figura 3.3 se muestra un esquema del sistema experimental y en la Figura 3.4 se muestra un esquema del ángulo de contacto de una gota de agua, para establecer el criterio de hidrofobicidad.

Los resultados fueron obtenidos de 3 fotografías digitales para cada tipo de membrana utilizada, de las cuales fueron realizadas 3 replicas para cada fuente de carbono. Es decir, para una fuente de carbono fueron utilizadas dos tipos de membranas (hidrofóbicas e hidrofílicas), en las cuales fue crecido el hongo por triplicado para cada tipo de membrana, luego fueron fotografiados 3 ángulos de contacto para cada replica, obteniendo para cada par membrana/fuente de carbono 9 fotografías, de las cuales se obtuvo un ángulo de contacto. Lo mismo fue realizado para las otras fuentes de carbono y membrana.

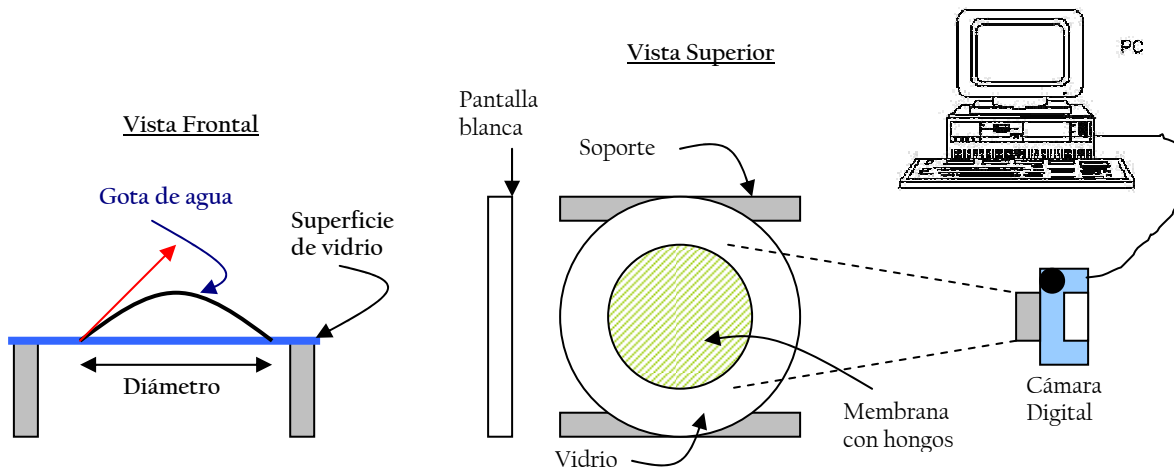


Figura 3.3 Esquema sistema experimental utilizado para la determinación del ángulo de contacto

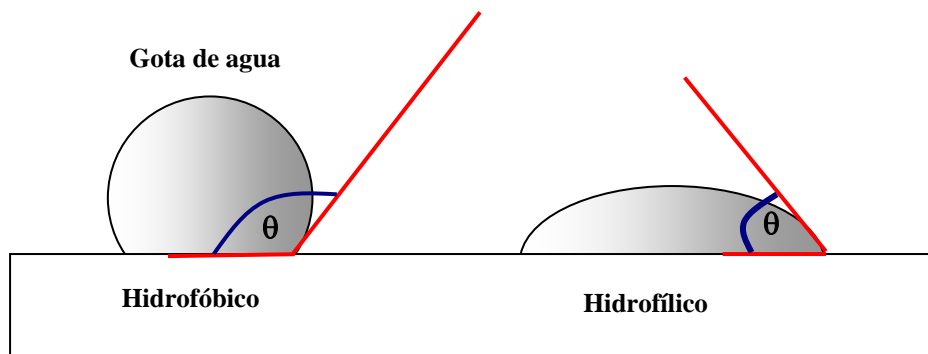


Figura 3.4. Esquema para la medición del ángulo de contacto de una gota de agua (adaptado de Wessels, [1996]).

### Constante de afinidad de la fuente de nitrógeno (respirometría)

El consumo de oxígeno, fue medido con un oxímetro YSI mod. 50B, en un reactor de 1.65 mL. La forma de adicionar los “reactivos”, fue agregando secuencialmente al reactor de 1.60 mL de buffer fosfato, suspensión concentrada de hongos (*Fusarium solani*) para prueba biótica ( $415.5 \text{ mg}_{\text{proteína}} \text{ L}^{-1}$  ó  $5160 \text{ mg}_{\text{biomasa}} \text{ L}^{-1}$ ), solución concentrada de  $\text{NaNO}_3$  en el rango de 0.3 a  $6.1 \text{ g L}^{-1}$  en el reactor y finalmente el sistema fue cerrado procediendo al monitoreo en línea del oxígeno disuelto. La determinación de la concentración de biomasa fue realizada por peso seco. La adquisición de los datos fue realizada en línea con un sensor de oxígeno conectado a una computadora, equipado con el software National Instruments LabView 7.1.

La suspensión concentrada de hongos utilizada, fue lavada 3 veces con buffer fosfato, luego fue dejada en suspensión en buffer durante 24 h a  $30^\circ\text{C}$ , antes de ser utilizada.

### Microcultivos

Para la determinación de los efectos de las fuentes de carbono sobre la morfología de los hongos filamentosos, fueron realizados experimentos en microcultivos. Los microcultivos fueron realizados en placas Petri, en las cuales fue puesta una varilla de vidrio en forma de “V” y posteriormente esterilizadas. Los microcultivos fueron preparados con Agar Noble ( $15 \text{ g L}^{-1}$ ) (Difco™ Agar Noble, Becton Dickinson USA), medio mineral y como fuentes de carbono glicerol ( $0.7 \text{ g L}^{-1}$ ) y 1-hexanol ( $0.7 \text{ g L}^{-1}$ ). Algunas placas fueron preparadas sin fuente de carbono para ser puestas en un ambiente cerrado de n-hexano a  $7 \text{ g m}^{-3}$  en fase gaseosa. Las placas fueron cubiertas hasta una profundidad de 5 mm y luego fueron cortados bloques de agar de  $1.5 \text{ cm}^2$ . Estos fueron puestos sobre la superficie del portaobjeto (Figura 3.5). Posteriormente esporas de *Fusarium solani* fueron inoculadas por piqueta en los cuatro cuadrantes del bloque de agar y entonces fue puesto un cubreobjeto estéril sobre la superficie. Los microcultivos fueron cultivados a  $30^\circ\text{C}$  entre 1 y 2 semanas dependiendo de la fuente de carbono. Los microcultivos fueron realizados por cuadruplicado para cada fuente de carbono.

Una solución de glicerina (5% v/v) fue utilizada para controlar la humedad en la placa y evitar su sequedad.

Las fotografías digitales fueron analizados utilizando el programa computacional Image J v1.34s (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). El análisis de imagen fue estandarizado con un portaobjeto marca NIKON calibrado con una escala de 0.01 mm (Anexo C).

### Crecimiento de biomasa sobre agar

Los hongos fueron crecidos en placas Petri a las mismas condiciones y fuentes de carbono utilizadas en los microcultivos. También fueron preparadas placas con membranas para la determinación de la variación de la biomasa en el tiempo y sin membranas para la determinación de la velocidad de crecimiento lineal de la

colonia. Las membranas hidrofílicas utilizadas (Millipore, cellulose membrane 0.45  $\mu\text{m}$ , diámetro 47 mm) fueron puestas sobre el agar sólido, en las cuales la inoculación fue realizada con una suspensión de esporas en el centro de la membrana. Para el caso de la velocidad lineal de la colonia, esta fue inoculada por piquete en el centro de la placa sin membrana. Las placas fueron cultivadas a 30°C entre 1 a 2 semanas, dependiendo de la velocidad de crecimiento en cada fuente de carbono. Las muestras fueron realizadas por triplicado.

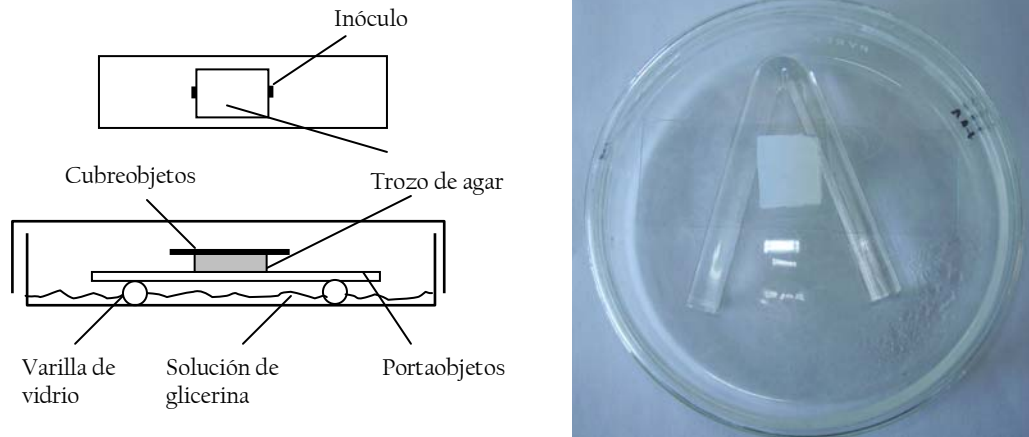


Figura 3.5 Esquema y fotografía del sistema utilizado para los microcultivos.

### 3.3.2 Columnas de biofiltración de lecho fijo

El sistema de biofiltración de lecho fijo utilizado para los diferentes ensayos realizados, corresponde a una columna de vidrio de 1 m con un diámetro interno de 0.07 m (Figura 3.6a,b), la cual fue separada en tres etapas de igual tamaño. El sistema de biofiltración de lecho fijo fue mantenido a una temperatura de  $30 \pm 3^\circ\text{C}$  en una cámara termo-regulada, en todos los experimentos.

Los biofiltros de lecho fijo fueron empacados con 2.5 L de perlita (250 g, con una fracción de vacío de 68% y tamaño de partícula de 3.4 a 4.8 mm) mezcladas con medio mineral, fuentes de carbono (glicerol, 1-hexanol y salvado de trigo) y solución de esporas. También fue realizado un control utilizando solo vapores de n-hexano, el cual fue utilizado además para la verificación del modelo. El lixiviado generado en las columnas fue recirculado a través del empaque durante el inicio de los experimentos para un mejor aprovechamiento de la solución de esporas adicionada.

Aire fresco es pasado por un saturador para mezclarlo con n-hexano. Luego el aire saturado con n-hexano fue mezclado con aire húmedo proveniente del humidificador y entonces introducido por el tope del biofiltro de lecho fijo usando un flujo descendente de  $1.2 \text{ L min}^{-1}$ , el cual fue controlado con un rotámetro Cole Palmer, USA a la salida del biorreactor. El flujo de aire humidificado y el flujo de aire con n-hexano fueron controlados con válvulas de precisión y medidos con rotámetros.

El flujo utilizado correspondió a un tiempo de residencia en el lecho vacío de 1.3 min, correspondiente a una velocidad superficial de  $27.5 \text{ m h}^{-1}$ , trabajando a una carga de entrada de n-hexano de  $325 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

Una mezcla de agua con lixiviado recirculado fue rociado periódicamente para el control de la humedad y reutilización de nutrientes. En todos los experimentos fue adicionado cloramfenicol ( $20 \text{ g m}^{-3}$ ) junto con el medio mineral para limitar el crecimiento bacteriano.

En este estudio fueron evaluados cuatro biofiltros. En el primer biofiltro (biofiltro B1), los hongos fueron crecidos utilizando solo n-hexano como fuente de carbono, en el segundo biofiltro (biofiltro B2) inicialmente fueron crecidos en glicerol, el cual fue adicionado líquido junto con el medio mineral a una concentración de  $10 \text{ g L}^{-1}$  y posteriormente fue adicionado n-hexano. En el tercer biofiltro (biofiltro B3) los hongos fueron crecidos inicialmente con 1-hexanol. Este fue adicionado líquido junto con el medio mineral a una concentración de  $10 \text{ g L}^{-1}$  y posteriormente fue adicionado n-hexano. Finalmente el biofiltro B4 fue empacado con una mezcla de salvado de trigo (30% p/p) y perlita para luego adicionar n-hexano. En todos los experimentos, la adición de n-hexano fue realizada una vez que disminuyó en forma significativa la producción de  $\text{CO}_2$  debido al consumo de las otras fuentes de carbono. En la Tabla 3.2 se muestra un resumen de las variables de operación de las columnas de biofiltración.

Tabla 3.2 Variables de operación de las columnas de biofiltración utilizando diferentes fuentes de carbono para la aceleración de su puesta en marcha.

Biofiltro	Fuente de carbono alternativa	Inicio alimentación n-hexano	Parámetros medidos
B1	Ninguna	Desde puesta en marcha	$\text{CO}_2$ , consumo n-hexano, $\Delta P$
B2	Glicerol	Fin producción $\text{CO}_2$	$\text{CO}_2$ , consumo n-hexano, $\Delta P$
B3	1-hexanol	Fin producción $\text{CO}_2$	$\text{CO}_2$ , consumo n-hexano, $\Delta P$
B4	Salvado de trigo	Disminución importante de $\text{CO}_2$	$\text{CO}_2$ , consumo n-hexano, $\Delta P$

Para evaluar la influencia de la carga de n-hexano en todos los biofiltros, fueron utilizadas concentraciones de n-hexano entre  $0.5$  y  $12 \text{ g m}^{-3}$ , manteniendo constante el flujo luego de alcanzado el estado estacionario en los biofiltros. La concentración de n-hexano fue controlada utilizando válvulas de precisión para cambiar el flujo de aire que pasa a través del evaporador de n-hexano, manteniendo constante el flujo de aire.

### Análisis del soporte de las columnas de biofiltración

Una vez finalizado cada uno de los experimentos en columnas de biofiltración de lecho fijo, fueron tomadas muestras del soporte con la biomasa adherida para cada etapa del biofiltro y fue determinado el pH, coeficiente de partición de n-hexano, humedad, cantidad de biomasa y la velocidad específica de consumo de n-hexano ( $V_{\max}$ ).

La determinación de  $V_{\max}$  fue realizada en botellas de vidrio de 125 mL, selladas con válvulas de teflon Mininert (VICI Precision Sampling, Baton Rouge, La., USA). Se adicionaron cinco gramos de soporte de los biofiltros en las botellas y entonces fueron agregados 10 mL de medio mineral y 3  $\mu$ L de n-hexano para obtener una concentración inicial en el espacio vacío de las botellas de aproximadamente 15  $\text{g m}^{-3}$ . En algunos experimentos, fue adicionado un inhibidor bacteriano (20  $\text{mg L}^{-1}$  cloramfenicol) junto con el medio mineral.

El consumo de n-hexano en las botellas de vidrio fue medido hasta su término. El modelo integrado de Gompertz (Anexo D) fue utilizado para obtener  $V_{\max}$  [Acuña et al., 1999].

Para el evaluar el coeficiente de partición en la muestra sólida obtenida de cada biofiltro, se utilizó el procedimiento descrito previamente.

La humedad presente en los biofiltros de lecho fijo al final de su operación fue estimada utilizando el método del peso seco. Las mediciones fueron realizadas por triplicado.

Para la determinación del pH, fueron pesados 5 g de soporte de los biofiltros una vez finalizada su operación y luego mezclados con 50 mL de agua destilada por 10 min. Entonces el pH fue obtenido utilizando un pH-metro (conductronic 20, México). La caída de presión en los biofiltros de lecho fijo, durante el periodo de operación de ellos, fue medida en línea utilizando un transductor de presión, conectado a un sistema de adquisición de datos.

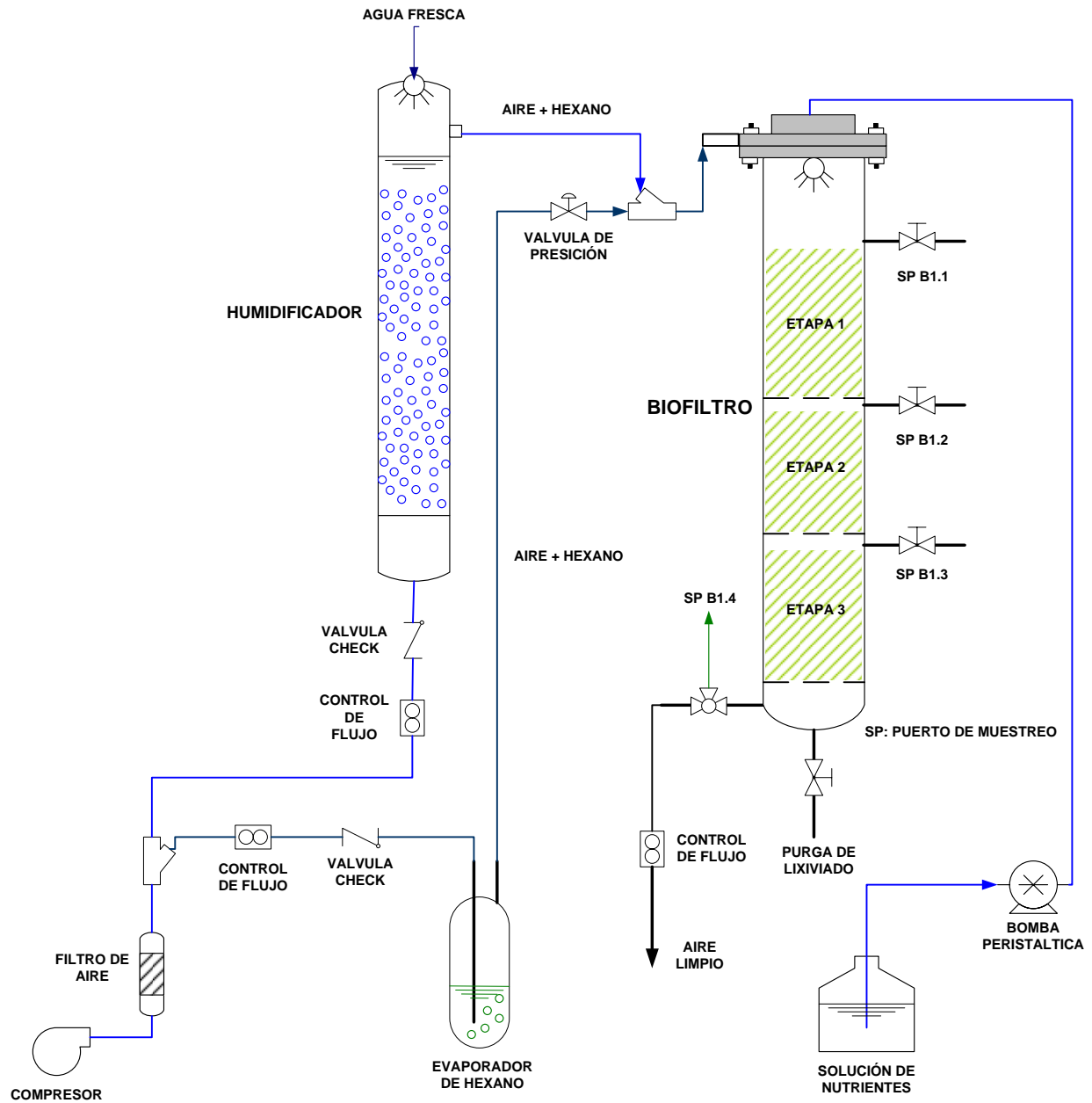


Figura 3.6a Diagrama esquemático del sistema de biofiltración utilizado a escala laboratorio.



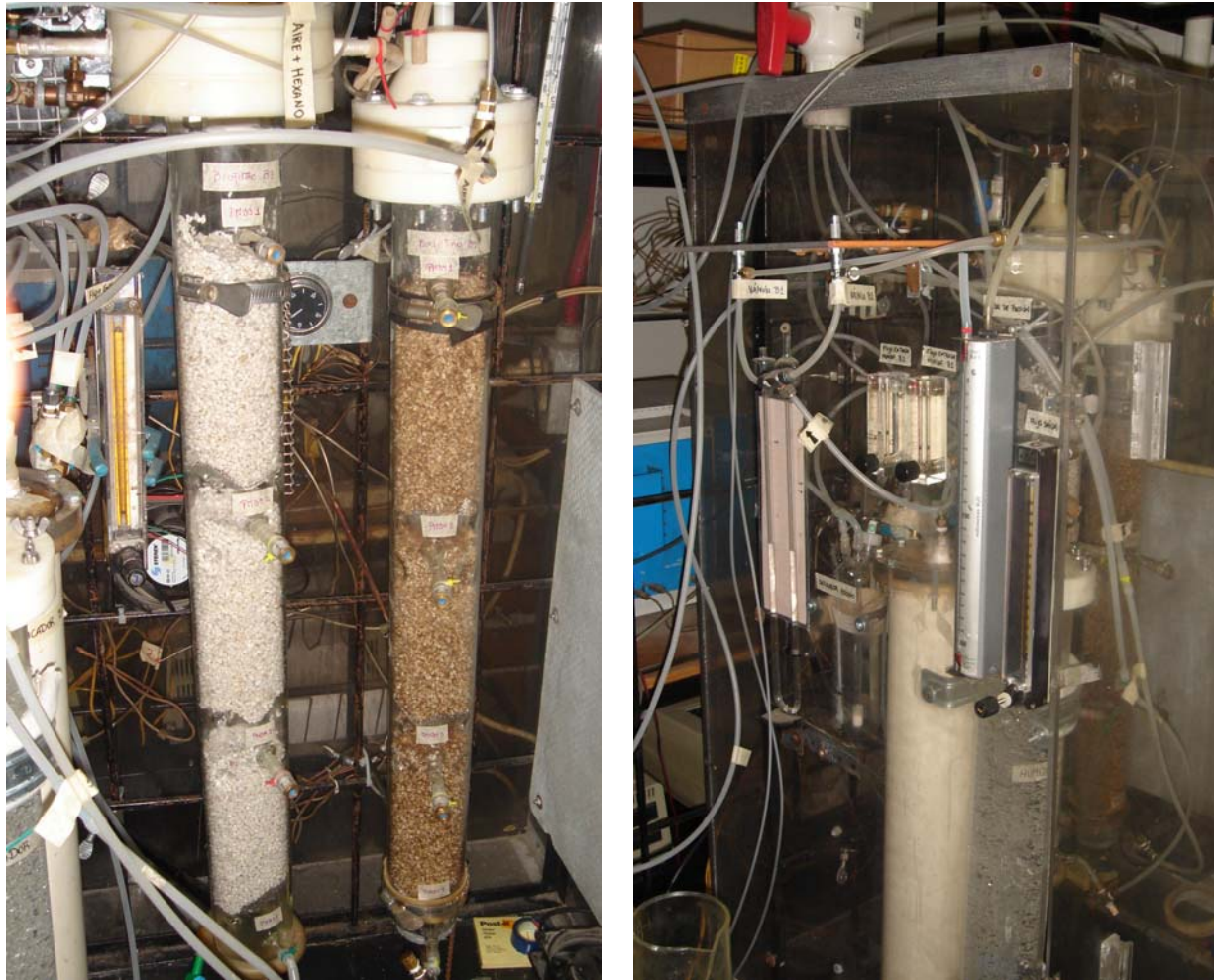


Figura 3.6b Fotografía del sistema de biofiltración utilizado a escala laboratorio.

### 3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

A continuación se describen los métodos analíticos utilizados en los experimentos realizados en microcosmos y columnas de biofiltración: producción de  $\text{CO}_2$ , consumo de n-hexano, concentración de biomasa, hidrofobicidad superficial, coeficiente de partición y morfología, entre otros.

#### 3.4.1 Producción de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ )

La producción de  $\text{CO}_2$  en los experimentos en microcosmos y columnas de biofiltración fue determinado utilizando un TCD-GC (GowMac Series 550, Madison, N.J.) de acuerdo a Aizpuru et al. [2005]. Este equipo está provisto con una columna CRT-1 (Alltech, EU) a través de la cual la muestra es arrastrada utilizando una corriente de helio a un flujo de  $65 \text{ mL min}^{-1}$ . Las temperaturas del inyector, detector y

columna fueron 50, 70 y 30°C, respectivamente. La señal entregada por el cromatógrafo fue obtenida con un integrador HP 3390A.

La columna permite separar nitrógeno, dióxido de carbono y oxígeno. Las áreas son correlacionadas para calcular las cantidades de cada uno de ellos de acuerdo a las expresiones mostradas en el Anexo E.

En los experimentos de microcosmos y columnas de biofiltración, fueron tomadas muestras de 100 µL y 250 µL, respectivamente, con jeringas (Serie A-2, VICI Precision Sampling, Inc., EU) desde la fase gaseosa. Las muestras fueron tomadas por triplicado para su análisis.

### 3.4.2 Concentración de n-hexano

La concentración de n-hexano en fase gaseosa en los experimentos en microcosmos y columnas de biofiltración fue medida con un FID-GC (5890 series II, Hewlet Packard, EU) de acuerdo a lo reportado por Arriaga y Revah [2005a].

El cromatógrafo está equipado con una columna de 30 m × 0.23 mm × 1.8 µm (HP-624, EU). Las temperaturas del horno, inyector y detector fueron 80, 200 y 220°C, respectivamente. Como gas acarreador fue utilizado nitrógeno (35 mL min<sup>-1</sup>).

Se realizaron dos curvas de calibración de n-hexano en el rango de 0-40 g m<sup>-3</sup> para inyecciones de 100 y 250 µL que se muestran en el Anexo F. La adquisición de datos fue realizada en una computadora conectada en línea, mediante el programa HP3365 Series II Chemstation Version A.03.34.

### 3.4.3 Determinación de biomasa

#### Determinación por termogravimetría

La biomasa en los experimentos en medio sólido fue medida como sólidos volátiles con un analizador termogravimétrico (2950 TGA, TA Instruments, New Castle, DE) de acuerdo a Arriaga y Revah [2005b]. La muestra utilizada corresponde a 30 mg de soporte sólido con biomasa, previamente secada a 105°C durante 14 h, luego las muestra fueron molidas. Las muestras una vez introducidas en el analizador termogravimétrico fueron calentadas en a 550°C en un horno a una velocidad de calentamiento de 10°C min<sup>-1</sup>, utilizando nitrógeno como gas de purga a una velocidad de flujo de 100 mL min<sup>-1</sup>. El contenido de humedad de la muestra fue considerada como la pérdida en peso cuando la temperatura fue menor a 100°C. Las pérdidas en peso entre los 100 a 550°C representan el contenido orgánico y sólidos volátiles en la muestra (biomasa). Una muestra de perlita seca sin biomasa fue utilizada como control (ver Anexo G).

El contenido de material inorgánico en la muestra de biomasa fue despreciado. Las mediciones fueron realizadas por duplicado y el contenido de biomasa fue expresado en miligramos de biomasa por gramo de perlita seca.



### Determinación por proteína

La cantidad de biomasa también fue determinada por el método de Lowry. La biomasa determinada por este método fue expresada como mg proteína g<sup>-1</sup> de biomasa. Para el análisis fue utilizado un Kit de Biorad, el cual, posee un límite máximo de detección de 250 mg L<sup>-1</sup>. La curva de calibrado fue realizada utilizando como estándar albúmina de suero de bovino (ASB). Las muestras y la curva de calibrado fueron medidas con un espectrómetro (UV/Vis Lambda II, Perkin Elmer, Alemania) a una longitud de onda de 750 nm (Anexo H). Las muestras previamente fueron hervidas durante 15 min. Posteriormente fue tomada una alícuota de 200 µL de la suspensión con células digeridas y se agregaron los reactivos de Folin, 100 µL del reactivo A y 800 µL del reactivo B, se agitó en un vórtex para homogeneizar y se puso en la oscuridad durante 15 min. Un blanco también fue preparado.

### Determinación por peso seco

La técnica del peso seco también fue utilizada para determinar el contenido de biomasa. Esta fue utilizada en los experimentos en medio líquido y crecimiento sobre membranas. Para el caso de medio líquido, una muestra de volumen conocido de líquido con biomasa homogenizado fue tomada y luego puesta en un platillo de aluminio, previamente pesado. Posteriormente la muestra fue puesta en una estufa a 100°C durante 24 horas, y finalmente pesada. La concentración de biomasa fue determinada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$C_B = \frac{m_{\text{biomasa}}}{V_{\text{muestra}}} \quad (3.12)$$

Donde, m es la masa de biomasa y V es el volumen de la muestra analizada. Para la determinación del contenido de humedad de *Fusarium solani*, se utilizaron placas Petri con agar papa dextrosa. Posteriormente sobre el agar fueron puestas membranas hidrofílicas (Millipore, cellulose membrane 0.45 µm, diámetro 47 mm), sobre las cuales el hongo fue crecido a 37°C. Luego que la membrana fue completamente cubierta por el hongo esta fue desprendida de las placas Petri y pesada. Entonces las membranas fueron secadas en una estufa a 100°C durante 24 horas y nuevamente pesadas. La diferencia de peso es aproximadamente equivalente a la cantidad de humedad presente en el hongo. Se realizó un blanco siguiendo el mismo procedimiento pero solo con la membrana sin ser inoculada con el hongo. El experimento fue realizado por triplicado y se supone que todas las membranas poseen el mismo peso.

La humedad fue determinada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Humedad (\%)} = \left( \frac{W|_{25^{\circ}\text{C}} - W|_{100^{\circ}\text{C}}}{W|_{25^{\circ}\text{C}}} \right) \cdot 100 \quad (3.13)$$

Donde W es el peso de la muestra a 25 y 100°C.

La velocidad de crecimiento radial de la colonia fue determinada como el incremento de la colonia cada 24 horas.

### Análisis elemental (CHONS)

El análisis elemental fue realizado a una muestra de *Fusarium solani* crecido en medio líquido con 1-hexanol como fuente de carbono, con el objetivo de obtener la composición de la biomasa.

Para la realización del análisis elemental fue utilizado un analizador elemental (CHNS/O Analyser, Series II, 2400 Perkin Elmer, USA) que utilizó helio a 600 lb plg<sup>-2</sup>, oxígeno a 20 lbs plg<sup>-2</sup> y argón a 15 lbs plg<sup>-2</sup>. El equipo fue calibrado utilizando acetanilida (Norwak, CT 06859, USA) como estándar orgánico analítico de composición: carbono, 71.04%; hidrógeno, 6.93%; oxígeno, 11.84%; nitrógeno, 10.37% y -COCH<sub>3</sub>, 31.85%.

### 3.4.5 Microfotografías (estudio morfológico)

Los hongos crecidos en microcultivos fueron analizados en un Microscopio Óptico Nikon Optithop-2 y fotografiados con una cámara Leica DC 300 conectada al microscopio y un computador. El programa Leica IM50 (Version 4.0 Release 85) fue utilizado para la adquisición de las imágenes. Los análisis de imágenes fueron realizados utilizando el programa computacional Image J v1.34s (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). Las fotografías fueron digitalizadas a una resolución de 3132×2325 pixels.

Para la medición del diámetro de las hifas, el objetivo fue seleccionado en 20 y/o 40X y para la medición de las longitudes características (longitud promedio de los segmentos,  $L_{AV}$ ; largo crítico de ramificación,  $L_C$ ; longitud promedio máxima de las hifas principales,  $L_{\max,m}$  y longitud promedio máxima de las ramificaciones,  $L_{\max,B}$ ) fueron utilizados los objetivos 4X y/o 10X. Se tomaron 10 fotografías de cada microcultivo para su análisis. En la Figura 3.7 se muestra un esquema de una hifa ramificada con algunas de las longitudes características determinadas. El análisis de imagen fue estandarizado con un portaobjeto marca NIKON calibrado con una escala de 0.01 mm (Anexo C)

En la Figura 3.8 se muestra el sistema experimental utilizado para la determinación de los diferentes parámetros morfológicos en los microcultivos.

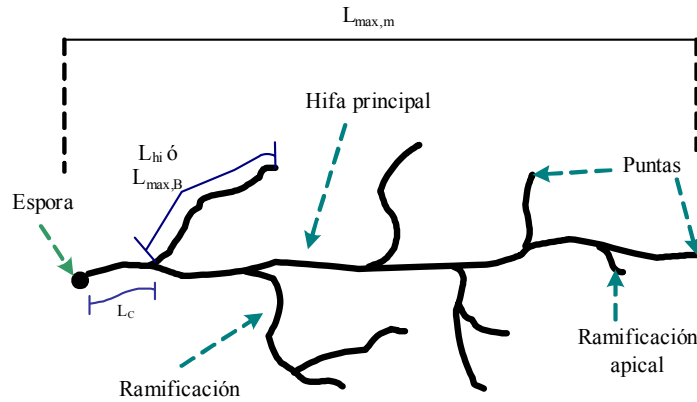


Figura 3.7 Esquema de una hifa ramificada.



Figura 3.8 Sistema experimental para la adquisición y análisis de imágenes.

### 3.4.6 Extracción de lípidos

La extracción de los lípidos del hongo fue realizada utilizando un equipo Soxhlet. La biomasa utilizada fue previamente crecida en medio líquido hasta término de la fuente de carbono. Fueron realizados diferentes experimentos utilizando como fuente de carbono glucosa, glicerol y 1-hexanol, luego fue centrifugada y separada del medio mineral restante. La biomasa obtenida fue depositada en capachos de extracción de celulosa (Whatman, Cellulose Extraction Thimbles, diámetro interno 26 mm  $\times$  longitud externa 60 mm) y los lípidos presentes fueron extraídos utilizando n-hexano como solvente. El sistema fue corrido durante 18 horas y el n-hexano fue evaporado y los lípidos pesados.

### 3.5 TERMINOLOGÍA UTILIZADA PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE BIOFILTRACIÓN

A continuación se muestra la terminología más común utilizada en biofiltración de gases, la que fue también utilizada en este trabajo para reportar los resultados de las columnas de biofiltración y el modelo matemático.

*Tiempo de residencia en el espacio vacío del lecho:* este término está relacionado con el paso de aire por el biorreactor (biofiltro de lecho fijo), considerando el volumen de espacio vacío real en el reactor, tomando la porosidad del lecho utilizado.

*Carga volumétrica y velocidad superficial:* la carga volumétrica y la velocidad superficial, son términos normalizados para medir el aire alimentado al sistema y se definen como la masa del contaminante por volumen de reactor en el tiempo y como la velocidad del gas a través del espacio vacío, respectivamente.

*Carga másica de entrada:* esta se refiere a la cantidad de contaminantes que ingresa al sistema. Esta es comúnmente normalizada con el volumen del reactor.

*Capacidad de eliminación y eficiencia de eliminación:* estos dos términos en conjunto definen el funcionamiento del sistema. Esta define la cantidad eliminada del contaminante por volumen de reactor utilizada en el tiempo.

A continuación en la Tabla 3.3 se muestran las ecuaciones utilizadas en esta terminología.

Tabla 3.3 Terminología utilizada en la biofiltración de gases para la expresión de los resultados.

Terminología	Ecuación
EBRT, tiempo de residencia	$\tau = \frac{V_r \times \varepsilon}{Q} \quad (3.14)$
Carga volumétrica	$VL = \frac{Q}{V_r} \quad (3.15)$
Velocidad superficial	$v_s = \frac{Q}{A} \quad (3.16); \quad v_{sVacia} = \frac{Q}{A \times \varepsilon} \quad (3.17)$
Carga másica de entrada	$ML = \frac{Q \times C_{gi}}{V_r} \quad (3.18)$
Capacidad de eliminación	$CE = \frac{Q \times (C_{gi} - C_{go})}{V_r} \quad (3.19)$
Eficiencia de eliminación	$\%RE = 100 \times \frac{(C_{gi} - C_{go})}{C_{gi}} \quad (3.20)$

Donde:

- A : Área transversal del biofiltro, [m<sup>2</sup>]  
C<sub>gi</sub> : Concentración inicial del COV, [g m<sup>-3</sup>]  
C<sub>go</sub> : Concentración de salida de COV, [g m<sup>-3</sup>]  
CE : Capacidad de eliminación del biofiltro de lecho fijo, [g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>]  
ML : Carga másica de entrada del COV, [g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>]  
Q : Flujo volumétrico del gas, [m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>]  
%RE : Eficiencia de eliminación del biofiltro de lecho fjo, [%]  
V<sub>r</sub> : Volumen total de reactor, [m<sup>3</sup>]  
VL : Carga volumétrica del COV, [m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> m<sup>-3</sup>]  
v<sub>s</sub> : Velocidad superficial de la fase gaseosa, [m h<sup>-1</sup>]  
v<sub>SVacio</sub> : Velocidad superficial de la fase gaseosa efectiva, [m h<sup>-1</sup>]

Símbolos

- ε : Fracción de vacío del lecho  
τ : Tiempo de residencia para área efectiva, [h]



# CAPITULO CUATRO

## RESULTADOS Y DISCUSIONES I:

### Parámetros Fisicoquímicos y Cinéticos

“Planear: preocuparse por encontrar el mejor método para lograr un resultado accidental”. *Ambrose Bierce*

En el presente capítulo se muestran los diferentes parámetros físico-químicos y biológicos determinados experimentalmente, y que fueron utilizados para la simulación del modelo matemático desarrollado. Por otro lado, se presentan los resultados que dan respuesta a los efectos causados sobre la hidrofóbocidad y coeficiente de partición de n-hexano en *Fusarium solani*, al utilizar diferentes fuentes de carbono para crecimiento, de manera de establecer si existe una relación entre estas fuentes de carbono y las propiedades hidrofóbicas que posee el hongo. Los resultados obtenidos y mostrados en este capítulo, tuvieron por fin responder a los objetivos 1 y 2 planteados en la tesis.

#### 4.1 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE LOS SOPORTES

Los soportes utilizados en los experimentos en medio sólido (microcosmos y en columnas de biofiltración) fueron perlita y salvado de trigo (Figura 4.1). Para estos soportes fueron determinados diferentes parámetros fisicoquímicos, los que permitieron establecer características y condiciones de operación. Con estos valores fue posible determinar la cantidad soporte a utilizar y el medio mineral que se adicionó a las columnas de biofiltración, de manera de saturar el lecho. Además, algunos de los parámetros fueron utilizados en la simulación del modelo matemático desarrollado.

En la Tabla 4.1 se muestran los resultados obtenidos para perlita y salvado de trigo. De la Tabla 4.1 se observa que la capacidad de adsorción máxima de n-hexano en perlita húmeda y seca es baja. Lo cual argumenta la consideración de despreciar este efecto en el modelo matemático. Por otro lado, la adsorción de n-hexano solo ocurre en los primeros instantes de operación del biofiltro, ya que una vez alcanzado el equilibrio (saturación del soporte), ya no existe eliminación de n-hexano debido a este fenómeno.

Tabla 4.1 Parámetros fisicoquímicos de perlita y salvado de trigo

Parámetro	Valor	Unidad
<b>Perlita</b>		
Capacidad de retención de agua, base húmeda	0.732	$\text{g agua g}^{-1} \text{perlita húmeda}$
Capacidad de retención de agua, base seca	2.731	$\text{g agua g}^{-1} \text{perlita seca}$
Fracción de vacío	0.68	$\text{m}^{-3} \text{m}^{-3}$
Densidad de lecho seco (al empacar)	0.083	$\text{g perlita seca mL}^{-1}$
Densidad de lecho húmedo (al empacar)	0.337	$\text{g perlita húmeda mL}^{-1}$
Adsorción máxima de n-hexano (seca)	0.15	$\text{mg hexano g}^{-1} \text{perlita}$
Adsorción máxima de n-hexano (húmeda)	0.12	$\text{mg hexano g}^{-1} \text{perlita}$
<b>Salvado de Trigo</b>		
Capacidad de retención de agua, base húmeda	0.784	$\text{g agua g}^{-1} \text{salvado húmeda}$
Capacidad de retención de agua, base seca	3.632	$\text{g agua g}^{-1} \text{salvado seca}$
Densidad de lecho seco (al empacar)	0.386	$\text{g salvado seco mL}^{-1}$
Densidad de lecho húmedo (al empacar)	0.997	$\text{g salvado húmedo mL}^{-1}$
Adsorción máxima de n-hexano (seca)	0.26	$\text{mg hexano g}^{-1} \text{salvado seco}$
Adsorción máxima de n-hexano (húmeda)	0.18	$\text{mg hexano g}^{-1} \text{salvado húmedo}$



Perlita



Salvado de Trigo



Perlita



Salvado de Trigo

Figura 4.1 Fotografías de los soportes utilizados en las diferentes experiencias. Perlita y Salvado de Trigo.



### 4.1.1 Adsorción de n-hexano

Los experimentos realizados generaron las curvas que muestran la adsorción de n-hexano en perlitas y salvado de trigo, seco y húmedo, a diferentes concentraciones de gas inicial. Los resultados fueron correlacionados con la isoterma de Freundlich (Figura 4.2).

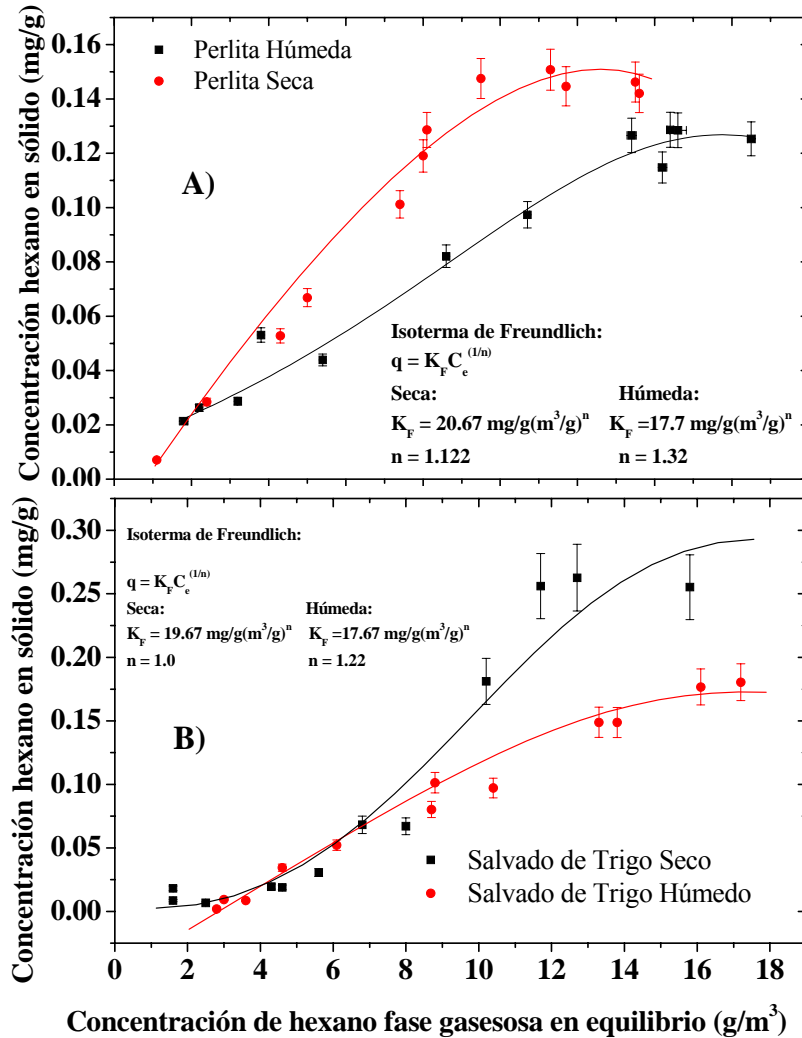


Figura 4.2 Curva experimental de adsorción en equilibrio de n-hexano y ajustes realizados a la isoterma de Freundlich: (A) en perlita seca y húmeda, (B) salvado de trigo seco y húmedo. Donde,  $q_e$  es la cantidad de n-hexano adsorbido en la perlita o salvado de trigo,  $\text{mg}_{\text{Hexano}} \text{ g}^{-1}_{\text{sólido}}$ ;  $C_e$  es la concentración de n-hexano en equilibrio en la fase gaseosa,  $\text{mg}_{\text{Hexano}} \text{ m}^{-3}$ ;  $K_F$  y  $n_F$  son constantes.

De la Figura 4.2 se observa, que la adsorción de n-hexano en perlita húmeda fue menor a la observada en perlita seca. Esto fue debido a las características hidrofóbicas de n-hexano, generándose una

menor adsorción al existir una película de agua. El mismo comportamiento fue observado para salvado de trigo.

Es posible también observar que para el caso de los soportes secos, la capacidad de adsorción de n-hexano en salvado de trigo es aproximadamente el doble de la obtenida en perlita. Sin embargo, para el caso de los soportes húmedos la capacidad de adsorción es similar. Esto puede ser debido a la película de agua que recubre ambos soportes, que transforma a estos en soportes más hidrofílicos, alcanzando por lo tanto capacidades máximas de adsorción de n-hexano similares.

Los valores obtenidos al ajustar los datos experimentales a la isoterma de Freundlich para perlita seca fueron; para  $K_F$  20.67 mg/g(m<sup>3</sup>/mg)<sup>n</sup> y para “n” 1.122. Por otro lado, para perlita húmeda se obtuvo para  $K_F$  17.7 mg/g(m<sup>3</sup>/mg)<sup>n</sup> y para “n” 1.32.

Los valores obtenidos al ajustar los datos experimentales a la isoterma de Freundlich para salvado de trigo seco fueron; para  $K_F$  19.67 mg/g(m<sup>3</sup>/mg)<sup>n</sup> y para “n” 1.0. Mientras que para el salvado de trigo húmedo se obtuvo para  $K_F$  17.67 mg/g(m<sup>3</sup>/mg)<sup>n</sup> y para “n” 1.22.

## 4.2 COEFICIENTE DE PARTICIÓN DE n-HEXANO (K)

Los experimentos de partición de n-hexano en biomasa fueron realizados para determinar el efecto que posee la utilización de diferentes fuentes de carbono para crecimiento, en la biodisponibilidad del para su posterior biodegradación. Para esto fueron crecidos los hongos en microcosmos utilizando 3 fuentes de carbono diferentes, realizando luego los estudios de partición de n-hexano sobre el hongo seco e inactivo. Además fue determinado el coeficiente de partición de n-hexano en *Fusarium solani* para ser utilizado en la simulación del modelo matemático desarrollado.

La Tabla 4.2 muestra el coeficiente de partición de n-hexano (K) con diferentes sustratos y condiciones de crecimiento. El coeficiente de partición de n-hexano fue también evaluado en agua, como un experimento de control (Anexo I), encontrándose valores semejantes a los reportados en literatura [Zhu et al., 2004; Card, 1998]. Para cada grupo de experimentos, los hongos crecidos en 1-hexanol muestran los coeficientes de partición más bajos (alta solubilidad), mientras que el coeficiente de partición de n-hexano para crecimiento en glicerol y glucosa estuvieron en el mismo rango.

Los experimentos E1 a E3 de la Tabla 4.2 muestran el coeficiente de partición de n-hexano de *F. solani* crecido en medio líquido con diferentes fuentes de carbono. El crecimiento del hongo en n-hexano fue extremadamente lento y por lo tanto no es reportado. Para evaluar el efecto de las grasas celulares en el coeficiente de partición de n-hexano, estos fueron extraídos de la biomasa, encontrándose, 10.5% (p/p) de grasas cuando fueron crecidos en 1-hexanol, 8.5% (p/p) en glicerol y 7.1% (p/p) en glucosa.

El coeficiente de partición de n-hexano fue evaluado en la biomasa libre de grasa (experimentos E4 a E6 mostrados en la Tabla 4.2) y para cada fuente de carbono este fue altamente consistente con el coeficiente de partición de n-hexano de la biomasa completa. Cerca de un 30% de incremento fue encontrado para glicerol y 1-hexanol, mientras que un 35% para glucosa. Estos resultados sugieren que las condiciones de crecimiento afectan al coeficiente de partición de n-hexano, debido a la acumulación de diferentes concentraciones de grasas y por la modificación de la porción no grasa. El coeficiente de partición de n-hexano en grasa fue  $0.052(\pm 0.012)$  obtenido con la ecuación (3.10, capítulo tres) y de los datos obtenidos de los experimentos E1 a E3 y E4 a E6.

**Tabla 4.2** Efecto de la fuente de carbono en el coeficiente de partición de n-hexano (K) en la biomasa a 30°C.

N° Exp.	Fuente de carbono para crecimiento	Biomasa (mg <sub>biomasa</sub> /g <sub>Perlita</sub> )	K ([g/m <sup>3</sup> ]/[g/m <sup>3</sup> ]) (experimental)	K calculado sobre biomasa húmeda <sup>(1)</sup> ([g/m <sup>3</sup> ]/[g/m <sup>3</sup> ])
<b>Medio líquido<sup>(2)</sup></b>				
E1	Glicerol	---	0.19(±0.05)	0.84(±0.22)
E2	Glucosa	---	0.24(±0.03)	1.04(±0.11)
E3	1-Hexanol	---	0.08(±0.01)	0.41(±0.05)
<b>Medio líquido / biomasa sin grasa<sup>(2)</sup></b>				
E4	Glicerol	---	0.26(±0.003)	1.05(±0.01)
E5	Glucosa	---	0.35(±0.04)	1.36(±0.16)
E6	1-Hexanol	---	0.1(±0.005)	0.50(±0.02)
<b>Medio sólido (perlita)<sup>(2)</sup></b>				
E7	Glicerol	62.9	0.11(±0.01)	0.55(±0.06)
E8	Glucosa	49.6	0.12(±0.03)	0.60(±0.13)
E9	1-Hexanol	17.2	0.04(±0.02)	0.22(±0.13)
<b>Medio sólido (perlita) después de biodegradación de n-hexano<sup>(2)(3)</sup></b>				
E10	Glicerol	34.7	0.08(±0.008)	0.42(±0.04)
E11	Glucosa	41.0	0.054(±0.012)	0.29(±0.06)
E12	1-Hexanol	24.7	0.033(±0.008)	0.19(±0.04)
<b>Hongo crecido en biofiltros con n-hexano</b>				
E13	n-Hexano	67.4	0.039(±0.006)	0.20(±0.03)
<b>Control</b>				
	Agua	---	42.4(±6.5)	---
	Grasa (determinado con la Ec. 4.10)	---	0.052(±0.012)	---

<sup>(1)</sup> Obtenidos de la ecuación (3.11) con 82% (p/p) de agua <sup>(2)</sup> Experimentos en botellas cerradas; <sup>(3)</sup> 2 a 8 semanas dependiendo de la fuente de carbono y entonces una semana en n-hexano.

Los experimentos E7 a E9, observados en la Tabla 4.2, muestran que el crecimiento aéreo en perlita favorece la solubilidad de n-hexano con respecto al cultivo en medio líquido (E1 a E3), situación

observada para las tres fuentes de carbono utilizadas. Para el crecimiento en glucosa y 1-hexanol, fue observada una disminución en el coeficiente de partición de cerca de un 50%, mientras que para glicerol fue de alrededor de 70%.

La generación de micelios en el sólido posiblemente induce las propiedades hidrofóbicas necesarias para la adhesión y para el crecimiento aéreo, de acuerdo a Agosin et al. [1997], estas propiedades son favorecidas además por la presencia de hidrofobinas.

Como se puede observar de la Tabla 4.2, los experimentos E10 a E12 muestran una disminución del coeficiente de partición de n-hexano después de una semana de exposición a n-hexano luego que el crecimiento fuera realizado en las tres fuentes de carbono (glicerol, glucosa y 1-hexanol). La mayor disminución fue para glucosa (más de 50%) y la menor para 1-hexanol (alrededor de 20%). Estos resultados indican que los hongos adaptados a n-hexano favorecen la adsorción del sustrato.

Observaciones en microscopio del micelio crecido en glicerol y 1-hexanol muestran diámetros de  $3(\pm 0.29) \mu\text{m}$  y  $2(\pm 0.49) \mu\text{m}$ , respectivamente. Esta diferencia en los diámetros predice que para una misma cantidad de biomasa, la superficie expuesta podría ser dos veces mayor para los hongos crecidos en 1-hexanol comparado a los crecidos en glicerol, ósea mayor área superficial para el transporte del contaminante. Sin embargo, la diferencia puede afectar la permeabilidad del gas y consecuentemente la transferencia de n-hexano desde la fase gaseosa al micelio.

La Tabla 4.2 también muestra que los coeficientes de partición en n-hexano cuando la biomasa fue crecida en 1-hexanol (E9 y E12) fueron similares al coeficiente de partición de n-hexano obtenido con muestras de biomasa utilizada previamente en biofiltros de lecho fijo para la eliminación de n-hexano, E13. Es posible que la semejanza en el coeficiente de partición de n-hexano puede estar relacionado al hecho que 1-hexanol es el primer producto de la ruta de biodegradación de n-hexano, por lo cual el hongo no realiza cambios importantes en sus características hidrofóbicas.

El contenido de agua obtenida en el hongo fue  $82(\pm 0.4)\%$  (p/p); este valor fue utilizado para estimar, utilizando la ecuación (3.11), el coeficiente de partición de la biomasa húmeda. La Tabla 4.2 muestra que el coeficiente de partición de n-hexano calculado fue consistentemente más bajo para el crecimiento en 1-hexanol en comparación a glucosa y glicerol. El coeficiente de partición de n-hexano de *F. solani* crecido en biofiltros tiene un incremento de 200 veces en la biodisponibilidad de n-hexano comparado con el agua. Aunque estos valores fueron obtenidos *in vitro* ellos podrían parcialmente explicar porque los biofiltros fúngicos muestran un mejor funcionamiento con sustratos hidrofóbicos [van Groenestijn y Liu, 2002; Arriaga y Revah, 2005a, b; Spigno y De Faveri, 2005].

### 4.3 HIDROFÓBICIDAD SUPERFICIAL DE *Fusarium Solani*

La hidrofobicidad superficial del hongo fue determinada con el ángulo de contacto de una gota de agua sobre la superficie del hongo. Los resultados fueron obtenidos de 3 fotografías digitales para cada membrana, de las cuales fueron realizadas 3 replicas para cada tipo de membrana y fuente de carbono.

El ángulo de contacto de una gota de agua en la superficie de una colonia de hongos se ve incrementada por su hidrofobicidad [Doyle y Rosenberg, 1990; Smits et al., 2003]. Como se puede ver en la Tabla 4.3, este ángulo de contacto fue consistentemente mayor para la biomasa crecida en membranas hidrofóbicas que en hidrofílicas. Para ambas membranas, los ángulos de contacto fueron glucosa < glicerol < 1-hexanol.

La hidrofobicidad de la superficie del hongo crecido en n-hexano y 1-hexanol no muestran una diferencia significativa. Como se puede observar, la hidrofobicidad del hongo *F. solani* responde al sustrato utilizado al igual que con el coeficiente de partición de n-hexano. Los ángulos de contacto mostrados en la Tabla 4.3 pueden ser comparados con los datos presentados por Klotz et al. [1985], indicando valores aproximados de 60° para polimetilmetacrilato y resina acrílica y un ángulo de 115° para una superficie altamente hidrofóbica como el Teflón. Además, es posible que los sustratos y soportes hidrofóbicos favorezcan la presencia de las hidrofobinas, las cuales mejoran la capacidad de adherencia del hongo a las superficies sólidas y determinan la estructura y la estabilidad de la biopelícula. La Figura 4.3 muestra la fotografía de una gota de agua sobre la superficie de una colonia de *F. solani* junto con un esquema del sistema experimental utilizado para la determinación del ángulo de contacto.

**Tabla 4.3** Ángulo de contacto de una gota de agua sobre la superficie de una colonia de *F. solani* crecido con diferentes fuentes de carbono en membranas hidrofóbicas de polyvinylidene fluoride (PVDF) e hidrofílicas de mixed cellulose esters (MF).

Fuente de carbono	Angulo de contacto ( $^{\circ}\theta$ )	
	MF	PVDF
Glucosa	56( $\pm$ 10)	75( $\pm$ 6)
Glicerol	62( $\pm$ 14)	104( $\pm$ 15)
1-Hexanol	83( $\pm$ 16)	112( $\pm$ 15)
n-Hexano	N.D	113( $\pm$ 4)

N.D : No determinado

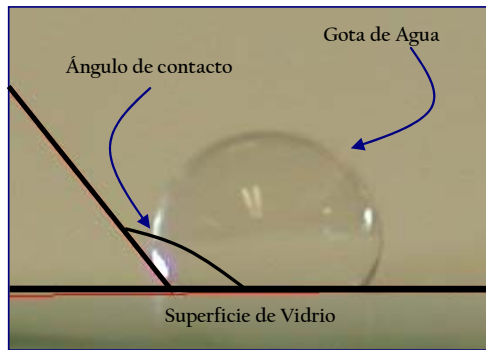


Figura 4.3 Fotografía digitalizada del ángulo de contacto de una gota de agua sobre el hongo crecido en las diferentes membranas, puesto sobre una superficie de vidrio.

## 4.4 PARÁMETROS CINÉTICOS

### 4.4.1 Crecimiento y mantenimiento celular

La cinética de crecimiento y mantenimiento celular de *Fusarium solani* utilizando n-hexano como fuente de carbono, fue determinada siguiendo la producción de CO<sub>2</sub> (respirometría) y consumo de n-hexano respectivamente.

La velocidad específica de crecimiento de *F. solani* con n-hexano es representada en la Figura 4.4 (Ver en Anexo J las regresiones para cada concentración utilizada). Esta figura muestra una inhibición por n-hexano cuando la concentración en fase gaseosa es superior a 7.0 g m<sup>-3</sup>. Utilizando el valor del coeficiente de partición del experimento E13 (Tabla 4.2), esta concentración en fase gaseosa corresponde a una concentración de 33.3 g m<sup>-3</sup> en la biomasa (ó 33.3 mg kg<sup>-1</sup> de biomasa asumiendo una densidad del hongo de 1 g cm<sup>-3</sup>). Los valores obtenidos para la velocidad máxima específica de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ), constante de afinidad de n-hexano ( $K_{AH}$ ) y constante de inhibición ( $K_i$ ) de acuerdo al modelo de Haldane fueron de 0.052 h<sup>-1</sup>, 1.9 g m<sup>-3</sup> y 30 g m<sup>-3</sup>, respectivamente.

Estos alcanos también demostraron ser inhibitorios para bacterias; por ejemplo, la concentración de inhibición para *Pseudomonas aeruginosa* en pentano gaseoso fue alrededor de 3.5 g m<sup>-3</sup> [Garnier et al., 1999].

La velocidad de consumo de n-hexano en el experimento E13 bajo condiciones de crecimiento en microcosmos fue evaluado en 7×10<sup>-3</sup> [g n-hexano g<sup>-1</sup> biomasa h<sup>-1</sup>], consistente con el valor de 6×10<sup>-3</sup> [g n-hexano g<sup>-1</sup> biomasa h<sup>-1</sup>] encontrado previamente por Arriaga y Revah [2005a].

En la Figura 4.5 se muestra la curva de degradación y mineralización de n-hexano obtenidas para la determinación del mantenimiento celular de *F. solani*. La evaluación del mantenimiento celular con n-hexano entregó un valor de 1.51×10<sup>-4</sup> g n-hexano g<sup>-1</sup> biomasa h<sup>-1</sup>. Este valor indica que bajo las condiciones de microcosmos estudiadas, el n-hexano utilizado para mantenimiento fue aproximadamente un 2% del

total eliminado. Esto confirma la importancia de la presencia de nutrientes en el uso de biofiltros de lecho fijo para sostener una alta velocidad de eliminación.

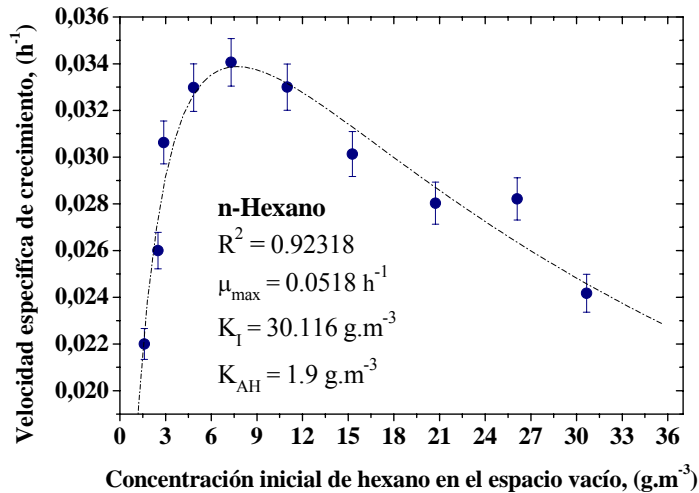


Figura 4.4 Velocidad específica de crecimiento versus concentración de n-hexano de acuerdo al modelo de Haldane. (●) Valores experimentales y (---) Modelo de Haldane. Donde,  $\mu_{max}$  es la velocidad específica de crecimiento máxima;  $K_{AH}$  es las constantes de afinidad para el n-hexano;  $K_I$  es la constante de inhibición de n-hexano.

Aunque es factible predecir una pendiente única de los datos experimentales, se debe considerar que estos valores no son exactamente una recta, según indica la teoría. Se puede apreciar que durante las primeras 25 h existe una pendiente levemente menor a la que existe posteriormente.

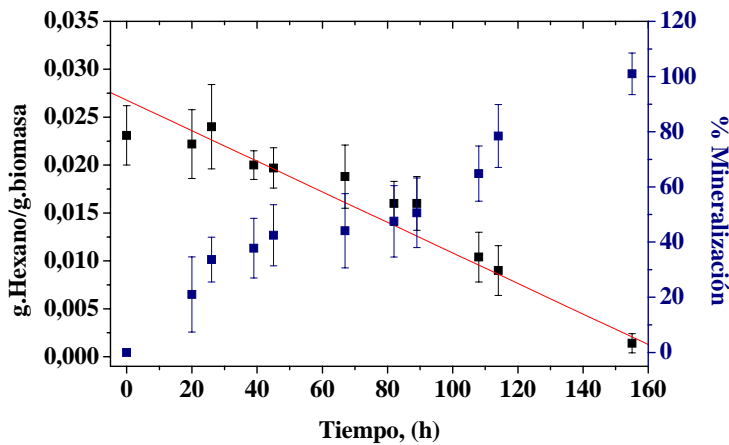


Figura 4.5 Consumo de n-hexano y % mineralización de n-hexano durante la medición del coeficiente de mantenimiento celular. (□) Consumo de n-hexano y (●) % de mineralización de n-hexano.

#### 4.4.2 Constante de afinidad $\text{NaNO}_3$

La Figura 4.6 muestra los resultados obtenidos de tasas de consumo de oxígeno para diferentes concentraciones de  $\text{NaNO}_3$ . Los perfiles de concentración de  $\text{O}_2$  fueron obtenidos por respirometría, y con esto fue estimado el oxígeno consumido a partir del valor inicial de concentración  $\text{O}_2$ , obteniendo el perfil denominado “Químico-Biológico”, mostrado en el Anexo K. Posteriormente fue realizada una regresión de la curva de consumo, utilizando el software Origin 6.1 para cada concentración de trabajo, de forma de obtener la tasa de consumo de oxígeno a cada concentración. Con los parámetros correlacionados y la concentración de  $\text{NaNO}_3$  adicionado, fue realizado un ajuste de la tasa de consumo de oxígeno al modelo de Monod. Con esto fue obtenida la constante de afinidad de la fuente de nitrógeno en *Fusarium solani*.

Los valores de la tasa de consumo de oxígeno son expresados en términos de la concentración de proteína. El ajuste de Monod se muestra en la Figura 4.6. Del ajuste de la curva de Monod se obtiene los parámetros cinéticos  $q\text{O}_2 \text{ max}$  junto con la constante  $K_{\text{NH}} = 0.5 \text{ g L}^{-1}$ .

El rango  $6 > \text{NaNO}_3 > 12 \text{ g L}^{-1}$  representa las concentraciones de  $\text{NaNO}_3$  donde el hongo *Fusarium solani* puede respirar a tasas máxima.

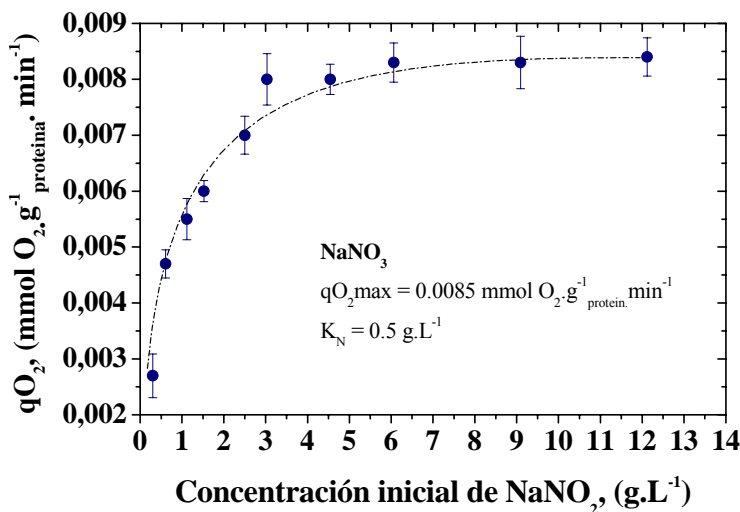


Figura 4.6. Efecto de la concentración de  $\text{NaNO}_3$  en la velocidad específica de consumo de oxígeno de *Fusarium solani*. (●) Valores experimentales y (---) Modelo de Monod.

#### 4.4.3 Coeficientes de rendimiento celular

En la Tabla 4.4 se muestran los resultados obtenidos para el coeficiente de rendimiento celular de la fuente de carbono y nitrógeno de *Fusarium solani*. Los resultados fueron expresados en g de biomasa seca sobre g de fuente de carbono. El coeficiente de rendimiento celular fue determinado por duplicado para



cada fuente de carbono. Para el caso de la fuente de nitrógeno este fue determinado por un análisis elemental de la biomasa. El análisis elemental entregó los siguientes resultados, para el carbono (C) 48.01( $\pm$ 0.88)%; para el hidrógeno (H) 5.74( $\pm$ 0.22)% y finalmente para el nitrógeno (N) 6.47( $\pm$ 0.16)%.

El valor obtenido para el rendimiento celular de la fuente de nitrógeno en la biomasa, fue mayor al 1.94 g g<sup>-1</sup> reportado por Smith y Berry (1975), para el hongo *Penicillium chrysogenum* utilizando como fuente de nitrógeno (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

De la Tabla 4.4 se puede observar que los valores obtenidos para el rendimiento celular en glucosa y glicerol son semejantes a los reportados por Smith y Berry (1975), para los hongos *Aspergillus nidulans* (0.45 g g<sup>-1</sup>), *Penicillium chrysogenum* (0.45 g g<sup>-1</sup>) y *Saccharomyces cerevisiae* (0.51 g g<sup>-1</sup>), cuando fueron crecidos en un reactor de mezcla completa limitado por glucosa.

Tabla 4.4 Rendimiento celular de *Fusarium solani* para diferentes fuentes de carbono y nitrógeno.

Compuesto	Rendimiento celular (*)
Glucosa	0.432 ( $\pm$ 0.06)
Glicerol	0.494 ( $\pm$ 0.08)
Hexanol	0.824 ( $\pm$ 0.13)
Fuente de nitrógeno (NaNO <sub>2</sub> )	2.546 ( $\pm$ 0.98)

(\*) Para la fuente de carbono; [g biomasa g<sup>-1</sup> fuente de carbono], y para la fuente de nitrógeno; [g biomasa g<sup>-1</sup> NaNO<sub>2</sub>].

También se observa de la Tabla 4.4 que el rendimiento de 1-hexanol es aproximadamente un 40% mayor que el obtenido para glucosa y glicerol. Este mayor rendimiento celular está relacionado a la proporción de átomos de carbono presente en cada molécula para una misma masa de fuente de carbono adicionada al sistema. Esto es, para el caso de 1-hexanol (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O) la cantidad de carbono disponible es de un 70.6%, mientras que para glucosa es de un 40% (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) y finalmente un 34.6% para glicerol (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>), lo que indica que si se adicionan los mismos gramos de cada fuente de carbono al medio, la masa total disponible de carbono para la biomasa es mayor al utilizar 1-hexanol.

Dado el lento crecimiento del hongo al ser crecido en n-hexano, el valor utilizado de rendimiento celular para el modelo matemático fue el de 1-hexanol, esto considerando la semejanza de las moléculas y al ser 1-hexanol el primer compuesto producto de la ruta de biodegradación de n-hexano.

## 4.5 CONCLUSIONES PARCIALES

Las condiciones de cultivo (sólido o líquido) y el tipo de fuente de carbono influyen en la hidrofobicidad superficial, contenido de grasa y coeficiente de partición de n-hexano, de *Fusarium solani*. El crecimiento en

una fuente de carbono más hidrofóbica incrementa la hidrofobicidad superficial y la solubilidad de n-hexano gaseoso en la biomasa.

Estos cambios en el hongo fueron no solo relacionados a su contenido de grasa, si no posiblemente también a los diferentes contenidos o clases de moléculas incluyendo hidrofobinas, lipoproteínas, etc.

El mejoramiento en el coeficiente de partición y la mayor superficie de intercambio gaseoso, debido a un menor diámetro, incrementa la biodisponibilidad de compuestos hidrofóbicos aumentando su velocidad de eliminación. Estas características confirman el interés del uso de hongos en la biofiltración de sustratos hidrofóbicos.

# CAPITULO CINCO

## RESULTADOS Y DISCUSIONES II:

### Estudio Morfológico de *Fusarium solani*

“Para investigar la verdad es preciso dudar, en cuanto sea posible, de todas las cosas”. *René Descartes*

---

#### 5.1 INTRODUCCIÓN

Los hongos filamentosos representan un grupo fisiológica y morfológicamente diverso de microorganismos. Ellos pueden crecer en medios sólidos o líquidos y en ambientes naturales son frecuentemente encontrados colonizando la superficie de líquidos y sólidos que en gran porcentaje son hifas aéreas.

En muchas fermentaciones la fase gaseosa entrega el suplemento de oxígeno necesario para el crecimiento, mientras que la fase sólida o líquida, los nutrientes. En el caso de los sistemas de biofiltración de gases la fuente de oxígeno y carbono provienen de la fase gaseosa.

Muchos usos industriales de los hongos envuelve la manipulación fisiológica del microorganismo en función de estimular una máxima producción de metabolitos secundarios o enzimas. Sin embargo, la manipulación de la producción de biomasa y su morfología es también de interés cuando se quiere trabajar con biofiltros de lecho fijo, con fuentes de carbono presentes en la fase gaseosa. Debido a esto que el

control de la cantidad y forma de crecimiento de los hongos como una expresión de su genotipo frente a diferentes condiciones ambientales y/o nutrientes y/o fuentes de carbono es importante de estudiar. En la Figura 5.1 se muestra un esquema de los diferentes factores que pueden afectar la fisiología y morfología en un hongo filamentoso.

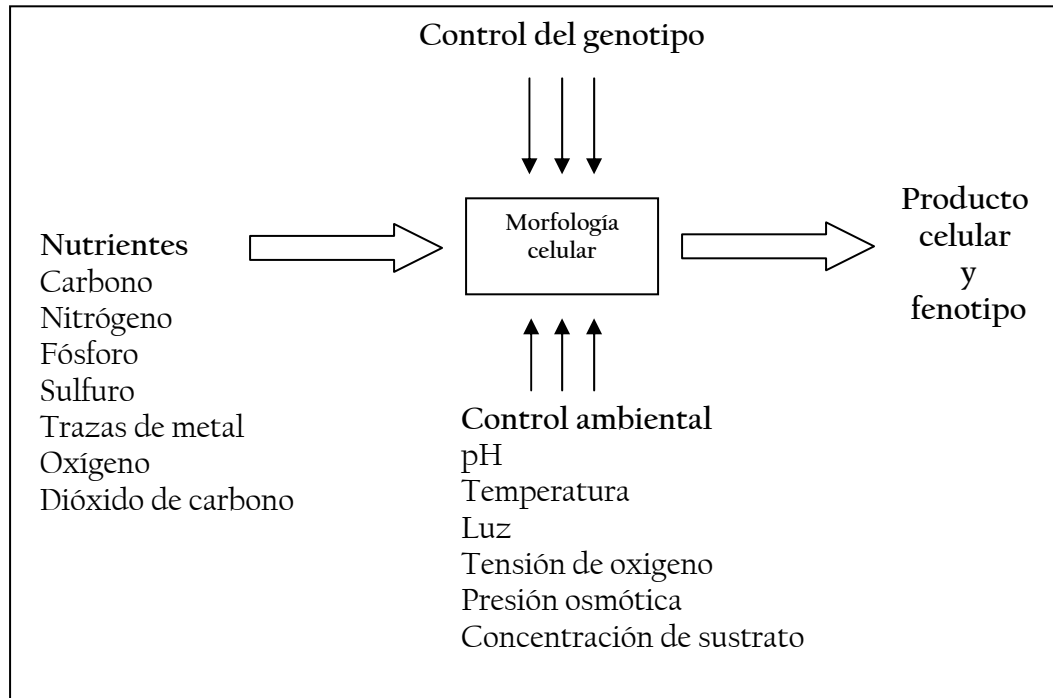


Figura 5.1 Diagrama ilustrativo de la relación entre el control genético y ambiental en el fenotipo y metabolismo celular.

El principal objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la utilización de diferentes fuentes de carbono para crecimiento (glicerol, 1-hexanol y n-hexano) en la morfología de *Fusarium solani*, además del desarrollo de un modelo matemático de crecimiento fúngico con su posterior verificación, en donde se relacionan los parámetros macroscópicos y microscópicos del hongo.

## 5.2 CRECIMIENTO DEL HONGO FILAMENTOSO

### 5.2.1 Modelo de elongación de las hifas individuales

El crecimiento de las hifas individuales del hongo fueron determinadas considerando el aporte de la longitud de las hifas principales y sus ramificaciones [Pazouki y Panda, 2000]. Entonces, la variación de la longitud de la hifa fue estimada de acuerdo a la ecuación (5.1):

$$\frac{dL_h}{dt} = \frac{dL_{h,m}}{dt} + \sum_{i=0}^{N_{TB}} \frac{dL_{hi}}{dt} \quad (5.1)$$

Donde el primer término después de la igualdad es el crecimiento de la hifa principal y el segundo término la contribución de las ramificaciones.

La extensión de la hifa principal y sus ramificaciones pueden ser descritas por una expresión logística [Okasaki et al. 1980], y considerando una velocidad de crecimiento apical promedio para cada ramificación ( $u_{rB}$ ) y una velocidad de extensión radial de la colonia para la hifa principal ( $u_r$ ), se obtuvo la ecuación (5.2):

$$\frac{dL_h}{dt} = u_r \left( 1 - \frac{L_{h,m}}{L_{\max,m}} \right) + u_{rB} \sum_{i=0}^{N_{TB}} \left( 1 - \frac{L_{hi}}{L_{\max,B}} \right) \quad (5.2)$$

Donde,  $N_{TB}$  es el número total de ramificaciones en la hifa individual. Entonces, desarrollando la sumatoria e introduciendo el factor “ $\gamma_i$ ” ( $L_{hi} = \gamma_i L_h$ ), el cual corresponde a la constante de proporcionalidad de la  $i$ -ésima ramificación con respecto a la hifa principal y “ $\lambda$ ” ( $L_{h,m} = \lambda L_h$ ), a la fracción de la hifa principal con respecto a la elongación total, fue obtenida la ecuación (5.3):

$$\frac{dL_h}{dt} = u_r \left( 1 - \frac{\lambda L_h}{L_{\max,m}} \right) + u_{rB} \left( N_{TB} - \frac{\gamma \lambda L_h}{L_{\max,B}} \right) \quad (5.3)$$

La velocidad de extensión radial de la colonia para la hifa principal fue considerada de acuerdo a Nielsen [1993] y McIntyre et al. [2001] (ecuación 5.4) y la velocidad de crecimiento de las ramificaciones fue considerada de acuerdo a [Krabben et al., 1997] (ecuación 5.5).

$$u_r = \mu L_{AV} \quad (5.4)$$

$$u_{rB} = \phi L_h \quad (5.5)$$

Donde,  $L_{AV}$  fue definido de acuerdo a Viniegra-González et al. [1993] (ecuación 5.6):

$$L_{AV} = L_h / N_s \quad (5.6)$$

Donde,  $L_h$  es la longitud individual total de la hifa y  $N_s$  el número de segmentos e igual a  $N_s = 2N_{t,i} - 1$ , donde  $N_{t,i}$  es el número total de puntas en una hifa individual. Entonces, relacionando  $L_h$  y  $N_{t,i}$  es obtenido el crecimiento por unidad de hifa ( $G$ ) de acuerdo a Caldwell y Trinci [1973].

$$G = L_h / N_{t,i} \quad (5.7)$$

Reemplazando las ecuaciones (5.4) y (5.5) en la ecuación (5.3) y considerando a la hifa de forma cilíndrica y de densidad constante ( $X_h = L_h \pi (d_h/2)^2 \rho_h$ ), fue obtenida la ecuación de crecimiento individual de la biomasa (ecuación 5.8). La biomasa total y la longitud total de las hifas fueron obtenidas multiplicando la longitud individual total y la biomasa de la hifa individual por el número de esporas inicialmente adicionadas ( $N_0$ ) ( $X_{h,Total} = X_h \cdot N_0$ ,  $L_{h,Total} = L_h \cdot N_0$ ). Considerando que no son generadas más esporas durante el crecimiento.

$$\frac{dX_h}{dt} = (\mu X_{AV}) \left( 1 - \frac{\lambda X_h}{X_{max,m}} \right) + (\varphi X_h) \left( N_{TB} - \frac{\gamma \lambda X_h}{X_{max,B}} \right) \quad (5.8)$$

Donde,  $\varphi$  es la frecuencia de ramificación, obtenida integrando la sección de la hifa principal al tiempo  $t = \tau$ , donde  $\tau$  es el tiempo a la longitud crítica de ramificación  $L_C$  (Anexo L). Por otro lado, la expresión de la frecuencia de ramificación fue obtenida de  $\varphi = 1/\tau$ , de acuerdo a Viniegra [2003] (ecuación 5.9). Para los experimentos en microcultivos la velocidad específica de crecimiento fue determinada ( $\mu_{calc}$ ) de acuerdo a Larralde-Corona et al. [1997] (ecuación 5.10), debido a la dificultad de determinar la variación de la concentración de la fuente de carbono en estos experimentos.

$$\varphi = \frac{\mu L_{AV}}{L_{max,m} \left( \ln \left[ \frac{L_{max,m} - \lambda L_0}{L_{max,m} - \lambda L_C} \right] \right)} \quad (5.9)$$

$$\mu_{calc} = \frac{u_r}{\alpha L_{AV}} \left[ \frac{\ln 2}{\ln \left( \beta L_{AV} / d_h \right)} \right] \quad (5.10)$$

### 5.3 PARÁMETROS MORFOLÓGICOS

La Tabla 5.1 muestra los parámetros morfológicos obtenidos para *Fusarium solani* crecido bajo diferentes fuentes de carbono en microcultivos y cajas Petri. Los resultados muestran que las fuentes de carbono utilizadas para crecimiento tienen un efecto sobre la velocidad radial de extensión de la colonia,  $u_r$ ; una importante disminución en  $u_r$  entre 22 a 54% fue observada cuando el hongo fue crecido en 1-hexanol y n-hexano respectivamente, cuando es comparado con el hongo crecido en glicerol.

Los resultados anteriores pueden ser explicados debido a que 1-hexanol y n-hexano son más volátiles y menos biodegradables que glicerol. Sin embargo, la velocidad radial de extensión de la colonia con 1-hexanol fue mayor que con n-hexano, esto puede ser debido a que 1-hexanol es el primer producto intermediario de la ruta de biodegradación de n-hexano, disminuyendo los pasos para su asimilación, además de su menor hidrofobicidad y volatilidad, lo cual aumenta su biodisponibilidad.

La velocidad radial de extensión de la colonia ( $u_r$ ) para *F. solani* crecido en 1-hexanol fue similar a la obtenida por Qindong et al. [1998] utilizando el hongo *Nectrina haematococca* crecido en xilosa y glucosa, mientras que López-Franco et al. [1994] encontraron valores 2.5 veces mayores que los obtenidos con glicerol, utilizando el hongo *Fusarium culmorum* crecido en platos de agar conteniendo papa dextrosa.

Por otro lado, además del efecto sobre  $u_r$ , la fuente de carbono tiene un efecto sobre otras características morfológicas de *F. solani*, estos resultados son mostrados en la Tabla 5.1 y las diferencias pueden ser observadas en la Figura 5.2.

El hongo crecido con una fuente de carbono más hidrofóbica presenta un incremento en el área de contacto para una misma cantidad de biomasa. Este resultado fue reflejado con la reducción del diámetro de la hifa en aproximadamente un 30.5% para el hongo crecido en 1-hexanol y n-hexano comparado con el hongo crecido en glicerol.

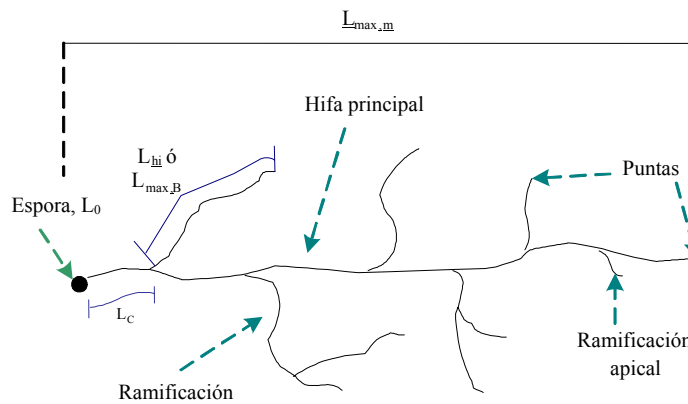
Además de la variación en el diámetro, fue observado para la longitud máxima de la hifa principal,  $L_{\max,m}$ , un incremento de un 59% cuando el hongo fue crecido en n-hexano y 1-hexanol, mientras que la longitud máxima de las ramificaciones,  $L_{\max,B}$ , fueron incrementadas en un 81% para el hongo crecido en n-hexano y 1-hexanol, con respecto al crecimiento en glicerol, para todos los experimentos.

El promedio del diámetro (2.38  $\mu\text{m}$ ) de las hifas obtenidos para *F. solani*, con las tres fuentes de carbono utilizadas fue 3.5 veces menor que las obtenidas por López-Franco et al. [1994], utilizando el hongo *F. culmorum*. Sin embargo, fue aproximadamente 1.5 veces menor a los estudios reportados por Qindong et al. [1998] utilizando el hongo *Nectrina haematococca* y Larralde-Corona et al. [1992] utilizando el hongo *Aspergillus niger*, ambos casos usando glucosa como fuente de carbono.

Tabla 5.1 Parámetros morfológicos de *F. solani* crecido bajo diferentes fuentes de carbono obtenidas por análisis de imágenes en microcultivos y placas Petri.

Parámetro <sup>(*)</sup>	Glicerol	1-Hexanol	n-Hexano
$D_h$ ( $\mu\text{m}$ )	2.99( $\pm 0.29$ )	2.06( $\pm 0.49$ )	2.10( $\pm 0.35$ )
$L_{AV}$ ( $\mu\text{m}$ )	603.8( $\pm 48.3$ )	248.1( $\pm 31.9$ )	280.1( $\pm 36.6$ )
$L_C$ ( $\mu\text{m}$ )	510.8( $\pm 42.7$ )	650.9( $\pm 73.3$ )	665.6( $\pm 62.7$ )
$L_{\text{max,m}}$ ( $\mu\text{m}$ )	965.5( $\pm 93.8$ )	1584( $\pm 144.7$ )	1477( $\pm 125.1$ )
$L_{\text{max,B}}$ ( $\mu\text{m}$ )	250.4( $\pm 17.4$ )	455.0( $\pm 39.2$ )	452.1( $\pm 35.7$ )
$L_0$ ( $\mu\text{m}$ )	8.34( $\pm 0.99$ )	8.34( $\pm 0.99$ )	8.34( $\pm 0.99$ )
$N_{TB}$	6.0( $\pm 2.0$ )	7.0( $\pm 2.0$ )	7.0( $\pm 2.0$ )
$N_0$ (esporas)	$1.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10^4$
$u_r$ ( $\mu\text{m h}^{-1}$ )	183.6( $\pm 1.38$ )	143.3( $\pm 2.42$ )	84.7( $\pm 1.69$ )
$\lambda$	0.49	0.39	0.35
$\gamma$	0.97( $\pm 0.26$ )	2.89( $\pm 0.40$ )	2.47( $\pm 0.24$ )

(\*) Todos los parámetros determinados experimentalmente son los utilizados para desarrollar y simular el modelo de crecimiento.



Donde,  $D_h$ : diámetro de la hifa,  $L_{AV}$ : longitud promedio de los segmentos,  $L_C$ : longitud crítica de ramificación,  $L_{\text{max,m}}$ : longitud máxima de la hifa principal,  $L_{\text{max,B}}$ : longitud máxima de las ramificaciones,  $L_0$ : longitud inicial de la hifa,  $N_{TB}$ : número total de ramificaciones en la hifa individual,  $N_0$ : número inicial de esporas,  $u_r$ : velocidad de extensión radial de la colonia,  $\gamma$ : constante de proporcionalidad de las ramificaciones,  $\lambda$ : fracción de la hifa principal.



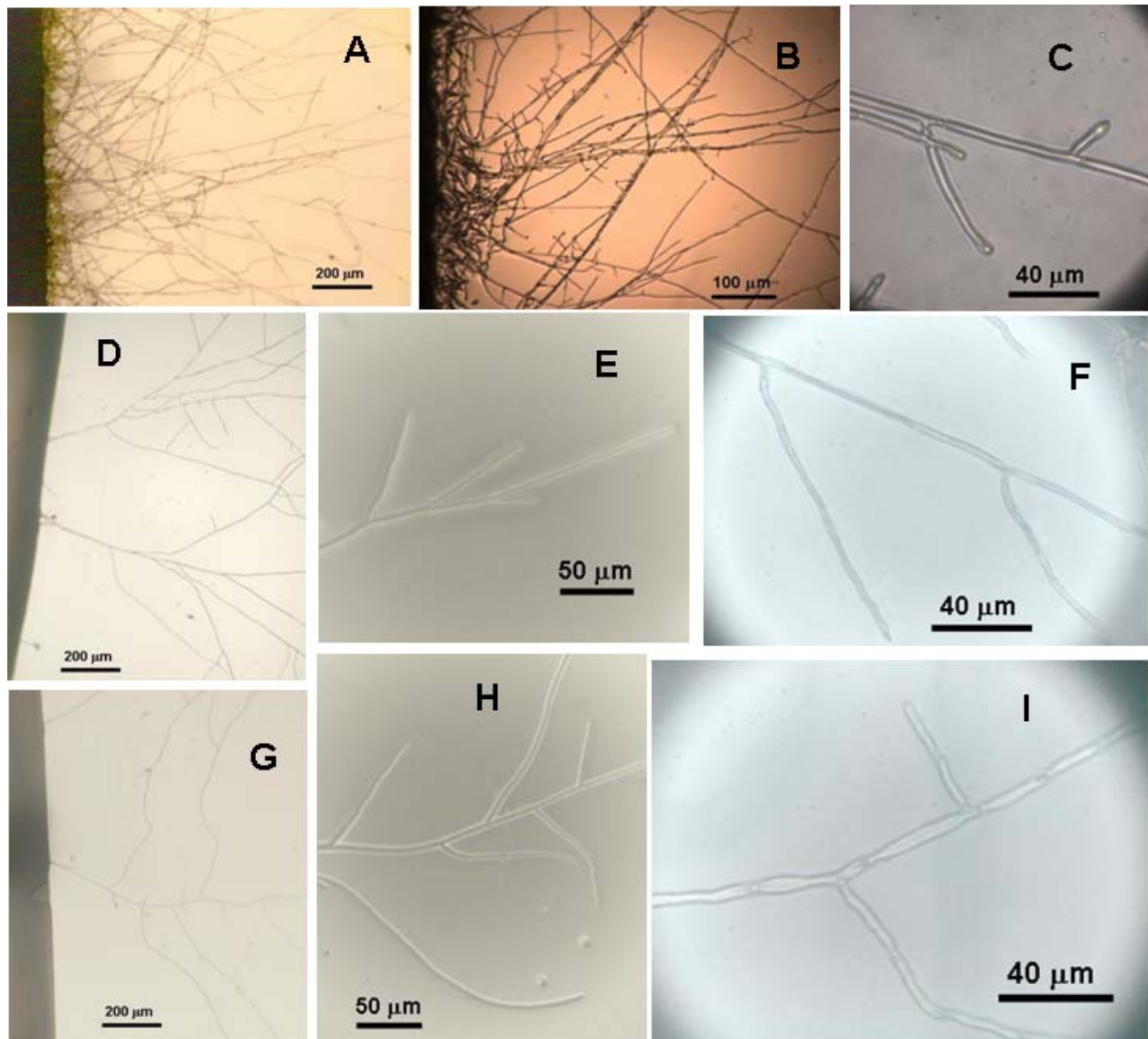


Figura 5.2 Imágenes de las hifas aéreas de *F. solani* crecido con diferentes fuentes de carbono, utilizando microcultivos. Las fotografías A, B y C corresponden al hongo crecido en glicerol, las fotografías D, E y F en 1-hexanol y finalmente las fotografías G, H, e I en n-hexano.

Los resultados experimentales obtenidos para la longitud promedio de los segmentos,  $L_{AV}$  (Tabla 5.1), muestran que para la biomasa crecida en glicerol esta fue 2.3 veces mayor que el  $L_{AV}$  obtenido cuando el hongo fue crecido en 1-hexanol y n-hexano.

Los resultados obtenidos para la longitud promedio de los segmentos, sugiere que para un  $L_{AV}$  pequeño, existen mayor número de segmentos en la hifa, para una misma longitud, obteniendo de este modo más ramificaciones. Esto concuerda con la disminución en la fracción de la hifa principal,  $\lambda$  (de acuerdo al siguiente orden; glicerol > 1-hexanol > n-hexano), siendo en promedio 26% menor para el hongo

crecido en l-hexanol y n-hexano que para el hongo crecido en glicerol. Por otro lado, las constantes de proporcionalidad de las ramificaciones,  $\gamma$ , fueron 28 veces mayores para el hongo crecido en l-hexanol y n-hexano que cuando fue crecido en glicerol.

El cambio morfológico observado en *F. solani* sugiere que el crecimiento en una fuente de carbono más hidrofóbica y volátil (n-hexano) favorece el crecimiento ramificado del hongo, mejorando de esta forma el área de contacto del hongo con la fuente de carbono presente en la fase gaseosa. Este efecto es semejante al observado sobre el coeficiente de partición e hidrofobicidad superficial del Capítulo 4. Rahardjo et al. [2000] también observaron la función del crecimiento aéreo en hongos filamentosos, determinando la contribución de los micelios aéreos en el consumo de oxígeno utilizando el hongo *Aspergillus oryzae*.

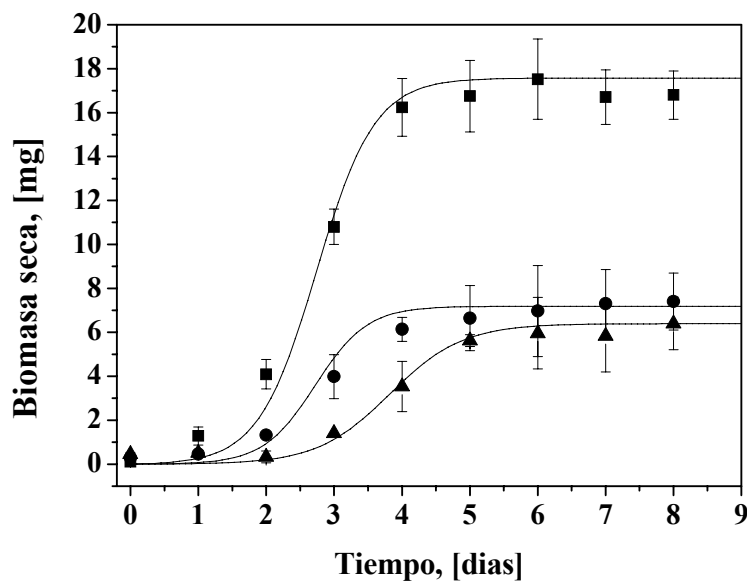


Figura 5.3 Crecimiento de la biomasa de *F. solani* bajo tres fuentes de carbono y resultado de la simulación del modelo de crecimiento. Datos experimentales para (■) glicerol, (●) l-hexanol, (▲) n-hexano y simulación del modelo (—).

Se debe considerar que dichos parámetros morfológicos se establecen para cada condición de trabajo, tipo y concentración de fuente de carbono utilizada.

La Figura 5.3 muestra una menor producción de biomasa cuando el hongo fue crecido utilizando como fuentes de carbono l-hexanol y n-hexano. Esta disminución fue aproximadamente 3 veces menos en comparación al hongo crecido en glicerol. Esto puede estar relacionado a la volatilidad de la fuente de carbono, encontrándose menos disponible para el hongo, comparando con el crecimiento en glicerol. Sin embargo, el modelo de crecimiento desarrollado (Ecuación 5.8) tiene una buena correlación con los

resultados experimentales, esto debido a que la concentración de la fuente de carbono y su variación en el tiempo no fueron consideradas en la velocidad específica de crecimiento, utilizando para este caso una velocidad calculada constante en el tiempo (ecuación 5.10), utilizando únicamente parámetros morfológicos observables a las condiciones específicas de estudio.

La Figura 5.4a muestra la simulación realizada para la variación del número total de puntas en los micelios del hongo, cuando fueron utilizadas las diferentes fuentes de carbono para crecimiento.

La simulación del modelo de crecimiento fue realizada utilizando los valores experimentales presentados en la Tabla 5.1. La Figura 5.4a muestra que para una fuente de carbono más hidrofóbica (1-hexanol y n-hexano) y volátil, el número de puntas en el hongo se incrementa. Esto sugiere un cambio importante en su morfología como una manera de adaptarse a la fuente de carbono, para su consumo.

Los resultados obtenidos para el número total de puntas,  $N_{Total}$ , utilizando n-hexano y 1-hexanol como fuentes de carbono, estuvieron de acuerdo con el incremento en la constante de proporcionalidad de las ramificaciones ( $\gamma$ ) y con la disminución de la longitud promedio de los segmentos ( $L_{AV}$ ) entre las ramificaciones, cuando el hongo fue crecido en 1-hexanol y n-hexano. Esto sugiere una adaptación del hongo a la fuente de carbono, generando un incremento en la longitud crítica y número de ramificaciones (Tabla 5.1), como una forma de mejorar el área de contacto entre la biomasa y la fuente de carbono, cuando esta es más volátil.

La Figura 5.4b muestra la simulación obtenida de la relación entre el crecimiento por unidad de longitud de la hifa ( $G$ , estimada como un parámetro equivalente a la cantidad de ramificaciones) y el número total de puntas en una hifa individual,  $N_{ti}$ . Los perfiles resultantes de la simulación estuvieron de acuerdo a la establecido teóricamente por Viniegra et al. [1993] y Caldwell y Trinci [1973].

La Figura 5.4b muestra que para el hongo crecido en 1-hexanol y n-hexano, el crecimiento por unidad de longitud de la hifa,  $G$ , resulta una constante alrededor de 2 a 3 número de puntas (en la hifa individual), correspondiente a un tiempo de crecimiento de 3.5 días aproximadamente, mientras que el crecimiento por unidad de longitud de la hifa ( $G$ ) para el hongo crecido en glicerol resulta una constante alrededor de 5 a 6 número de puntas (en la hifa individual), correspondiente a un tiempo de crecimiento de 4.3 días aproximadamente.

Los resultados de la Figura 5.4b indican que es posible considerar constante a la longitud promedio de los segmentos,  $L_{AV}$ , a las condiciones experimentales en los biofiltros, de acuerdo a la relación  $G = (N_s/N_{ti}) L_{AV}$ , donde  $N_s$  corresponde el número de segmentos en la hifa. Esto es verdadero para un tiempo de crecimiento mayor a 2 días cuando es utilizado 1-hexanol y n-hexano, mientras que cuando el hongo es crecido en glicerol el tiempo debe ser mayor a 3 días. Esto indica la posibilidad de considerar el parámetro morfológico  $L_{AV}$  determinado experimentalmente para su utilización en el modelo del sistema de biofiltración.

La diferencia entre el crecimiento por unidad de longitud de la hifa ( $G$ ) constante fue aproximadamente 1150 [ $\mu\text{m}$ ] para glicerol y 400 [ $\mu\text{m}$ ] para el crecimiento en 1-hexanol y n-hexano, esto puede estar relacionado a que la longitud promedio de los segmentos ( $L_{AV}$ ) decrece alrededor de 2.3 veces desde glicerol a 1-hexanol y n-hexano.

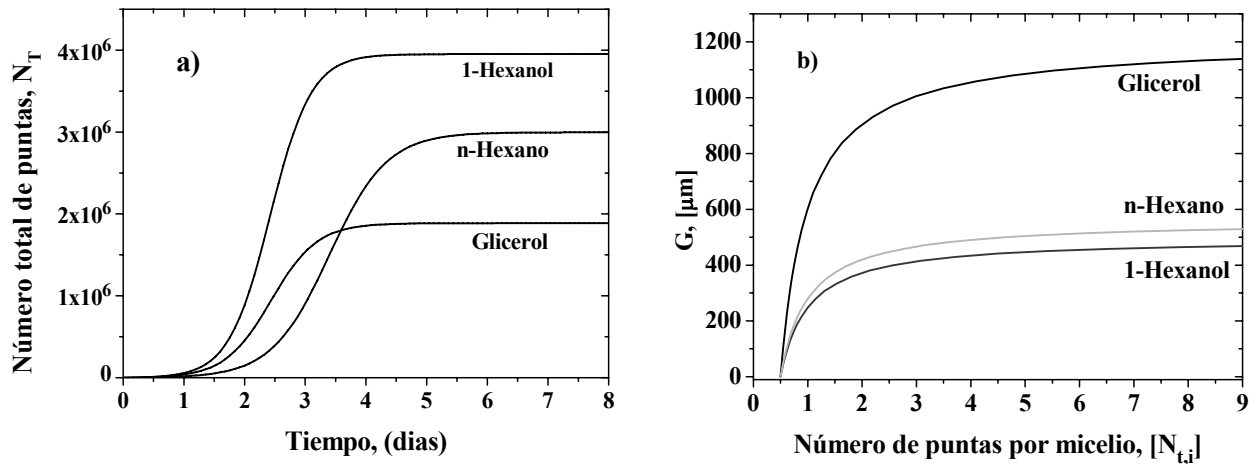


Figura 5.4 a) Simulación de la variación del número total de puntas ( $N_{\text{Total}}$ ) durante el crecimiento de *F. solani* bajo diferentes fuentes de carbono. b) Simulación de la correlación existente entre el crecimiento por unidad de longitud de la hifa ( $G$ ) y el número de puntas por micelio ( $N_{t,i}$ ) obtenidos de microcultivos de *F. solani*.

## 5.4 CONCLUSIONES PARCIALES

Las características morfológicas de *Fusarium solani* cambian de acuerdo a la fuente de carbono utilizada para crecimiento. Si el crecimiento es realizado en una fuente de carbono más hidrofóbica y volátil, el hongo incrementa su superficie de contacto aumentando el transporte entre la fuente de carbono en la fase gaseosa y la biomasa.

Esta mejora en el aumento del área de contacto del hongo está relacionada al incremento del número de ramificaciones y longitud de las hifas, lo cual incrementa la biodisponibilidad de compuestos hidrofóbicos y volátiles.

Este cambio morfológico en el hongo dado por su crecimiento en diferentes fuentes de carbono, genera un cambio en el crecimiento total de la biomasa, provocando cambios en la permeabilidad, que tiene como consecuencia cambios en la fracción de vacío y caída de presión si el hongo es crecido en algún medio poroso. Por ejemplo si el hongo es crecido en glicerol, este tendrá una biomasa final más densa por

unidad de área ocupada, lo cual genera un problema mayor de transporte entre el compuesto en la fase gaseosa y las hifas, por el contrario si el hongo crece en n-hexano su densidad por unidad de área será menor, favoreciendo el transporte y circulación del COV a través de los diferentes micelios.

El modelo desarrollado tuvo una buena correlación con los datos experimentales al predecir el crecimiento de la biomasa a partir de parámetros morfológicos y experimentos de crecimiento de biomasa independientes.

## NOMENCLATURA MODELO MATEMÁTICO DE CRECIMIENTO

$d_h$	: Diámetro promedio de las hifas, [L]
$G$	: Crecimiento por unidad de hifa, [L]
$L_{av}$	: Longitud media de los segmentos de hifa, [L]
$L_{max,m}$	: Longitud distal máxima promedio de la hifa individual, [L]
$L_{max,B}$	: Longitud distal máxima promedio de las ramificaciones, [L]
$L_C$	: Longitud crítica de ramificación, [L]
$L_o$	: Longitud inicial de la hifa, [L]
$L_h$	: Longitud total individual de las hifas, [L]
$L_{h,m}$	: Longitud individual de las hifas principales, [L]
$L_{hi}$	: Longitud de las ramificaciones, [L]
$L_{h,Total}$	: Longitud total de las hifas, [L]
$N_{TB}$	: Numero de ramificaciones en la hifa individual
$N_{t,i}$	: Número total de puntas en una hifa individual
$N_0$	: Número inicial de esporas
$N_S$	: Número promedio de segmentos en la hifa
$u_r$	: Velocidad de crecimiento apical del micelio, [L/T]
$u_{rB}$	: Velocidad de extensión lineal de las ramificaciones, [L/T]
$X_{AV}$	: Biomasa promedio de los segmentos, [M]
$X_h$	: Biomasa individual de la hifa, [M]
$X_{max,m}$	: Biomasa máxima promedio de las hifas principales, [M]
$X_{max,B}$	: Biomasa máxima promedio de las ramificaciones, [M]
$X_{h,Total}$	: Biomasa total, [M]

### *Símbolos*

$\alpha$	: Constante de proporcionalidad
----------	---------------------------------

- 
- $\beta$  : Constante de proporcionalidad
- $\rho_h$  : Densidad de la hifa, [M/L<sup>3</sup>] [ $1.1 \times 10^{-9}$  mg  $\mu\text{m}^{-3}$ ]
- $\rho_g$  : Densidad del gas (considerado aire =  $1.16 \times 10^{-6}$  kg  $\text{cm}^{-3}$ ), [M/L<sup>3</sup>]
- $\mu$  : Velocidad específica de crecimiento, [1/T]
- $\mu_{\text{calc}}$  : Velocidad específica de crecimiento calculada, [1/T]
- $\phi$  : Frecuencia de ramificación, [1/T]
- $\gamma$  : Constante de proporcionalidad de las ramificaciones
- $\lambda$  : Fracción de hifa principal
- $\tau$  : Tiempo a la longitud crítica de ramificación

# CAPITULO SEIS

## RESULTADOS Y DISCUSIONES III:

### Biofiltración de n-Hexano

“La teoría es asesinada tarde o temprano  
por la experiencia”. *A. Einstein*

---

#### 6.1 INTRODUCCIÓN

Las tecnologías de control biológico de aire contaminado (biofiltración) son alternativas económicas y ambientalmente amigables, las cuales están teniendo un incremento en su uso industrial. La biofiltración es una estrategia de control en donde el aire contaminado pasa a través de una columna empacada que contiene microorganismos activos capaces de degradar contaminantes [Vergara-Fernández et al., 2007; Shareefdeen y Singh, 2005]. En general, los biofiltros obtienen altas tasas de eliminación para compuestos solubles en agua y fácilmente biodegradables [Miller y Allen, 2004].

La baja solubilidad de los compuestos hidrofóbicos en medios líquidos es una de las principales limitaciones para su tratamiento en sistemas de biofiltración, debido a la presencia de películas acuosas que cubren la biomasa. Sin embargo, estas limitaciones podrían ser reducidas con el uso de hongos como agente biológico [Kennes y Veiga, 2004, Vergara-Fernández et al., 2006]. Los hongos poseen importantes ventajas para la eliminación de COVs hidrofóbicos en biofiltros de lecho fijo en fase gaseosa, incluyendo su gran variedad de enzimas (hidrolíticas y oxidativas), la habilidad para degradar una gran número de

COVs, su resistencia a la baja humedad y pH, su facilidad para colonizar el espacio vacío con las hifas aéreas y su capacidad de penetrar el sólido, incrementando la disponibilidad de nutrientes. Por otro lado, los hongos crecen más lento que las bacterias, requiriendo estos mayores tiempos de puesta en marcha en los biofiltros de lecho fijo, su crecimiento filamentosos promueve el incremento en la caída de presión y bajo algunas condiciones podrían producir esporas que pueden presentar algunos efectos sobre la salud.

El objetivo de este capítulo fue determinar el efecto del uso de fuentes de carbono alternativas para el incremento de la biomasa fúngica, lo cual puede ser muy importante para aumentar la velocidad de puesta en marcha e incrementar la capacidad de eliminación del biofiltro. El presente estudio compara la utilización de cuatro fuentes de carbono diferentes en la puesta en marcha y capacidad de eliminación de un biofiltro inoculado con *Fusarium solani* para la eliminación de n-hexano.

## 6.2 COLUMNAS DE BIOFILTROS DE LECHO FIJO

El uso de otras fuentes de carbono para favorecer el crecimiento fúngico en biofiltros de lecho fijo para la eliminación de n-hexano fue estudiada recientemente por Spigno et al. [2003] y Arriaga y Revah [2005a], los cuales reportaron el uso de extracto de malta como fuente de carbono alternativa, utilizando el hongo *A. niger* y *F. solani*, respectivamente. Spigno et al. [2003] y Arriaga y Revah [2005a] utilizaron el extracto de malta en conjunto con el n-hexano, mientras que en este estudio el n-hexano no fue adicionado hasta que las fuentes de carbono alternativas fueran totalmente utilizadas (agotamiento de la fuente de carbono) y la biomasa generada (Figura 6.1).

La Figura 6.1 muestra la capacidad de eliminación (CE), la velocidad de producción de CO<sub>2</sub>, y la caída de presión ( $\Delta P$ ) como una función del tiempo, en los cuatro biofiltros de lecho fijo estudiados. La actividad de *F. solani* fue determinada por consumo de n-hexano y producción de CO<sub>2</sub>.

Comparando el biofiltro B1 con los biofiltros B2, B3 y B4, el biofiltro B4 obtuvo la mejor puesta en marcha. Por otro lado, el biofiltro B4 obtuvo la menor CE de los cuatro biofiltros ( $160 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) con un 15% menos de biomasa final promedio que en el biofiltro B1 (Tabla 6.1). Sin embargo, aunque la caída de presión ( $\Delta P$ ) está relacionada al crecimiento fúngico, lo que resulta en una reducción en la permeabilidad del lecho [Auria et al., 1995], el biofiltro B1 obtuvo un  $\Delta P$  final de  $43 \text{ mmH}_2\text{O m}^{-1}$  de lecho, mientras que en el biofiltro B4 fue de  $55 \text{ mmH}_2\text{O m}^{-1}$  de lecho. Esto puede ser explicado por la mayor capacidad de retención de agua del salvado de trigo presente en el biofiltro B4. Finalmente, los  $\Delta P$  finales obtenidos en los biofiltros B2 y B3 fueron similares a los obtenidos en el biofiltro B1.

La baja CE obtenida con el biofiltro B4 puede estar relacionada al menor coeficiente de partición de n-hexano obtenido, de acuerdo a Davison et al. [2000], siendo un 45% menor al encontrado en el biofiltro B1 (Tabla 6.1). Sin embargo, en el biofiltro B4 el estado estacionario fue alcanzado en promedio 20



días antes que en los otros biofiltros. Además, comparando la CE en el estado estacionario de los biofiltros B2 y B3 con el biofiltro B1 (CE de  $230 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ), la CE fue similar para el biofiltro B3 ( $225 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) y levemente menor para el biofiltro B2 ( $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ). Esto puede ser debido a la menor biomasa promedio final obtenida en el biofiltro B2 en comparación con el biofiltro B1. La Figura 6.1 muestra que la adaptación a la biodegradación de n-hexano fue mejor en el biofiltro B3 que en el biofiltro B2, esto debido a que 1-hexanol es el primer compuesto de la ruta de degradación de n-hexano, reduciendo de esta forma el tiempo requerido para la inducción enzimática.

De acuerdo a lo reportado por Vergara-Fernández et al. [2006], el coeficiente de partición de n-hexano en *F. solani* disminuye cuando es expuesto una semana a n-hexano, luego de ser crecido en glicerol y 1-hexanol. Entonces, observando los resultados del coeficiente de partición de n-hexano en la Tabla 6.1 y comparándolos con Vergara-Fernández et al. [2006], es posible indicar que no se produce un cambio importante en el coeficiente de partición de n-hexano cuando el hongo fue expuesto a n-hexano por más de una semana. Estos resultados sugieren, que la mejor adaptación a la degradación de n-hexano observada en el biofiltro B3 esta de acuerdo con el coeficiente de partición final obtenido ( $0.35 \text{ g}^{-1}$ ), el cual fue similar para el biofiltro B1, mientras que en el biofiltro B2 fue 51% mayor. Entonces, es posible establecer que el coeficiente de partición de n-hexano afecta la CE final en los biofiltros, sin embargo no tiene un efecto directo en la puesta en marcha de los biofiltros de lecho fijo, esto porque durante este periodo el hongo crecido en las fuentes de carbono alternativas se encuentra en proceso de adaptación, entonces el coeficiente de partición de n-hexano está cambiando.

Los valores obtenidos de coeficiente de partición de n-hexano en los biofiltros de lecho fijo, una vez terminada su operación, con el hongo crecido en glicerol y 1-hexanol y posteriormente adaptado a n-hexano son similares a los obtenidos por Vergara-Fernández et al. [2006].

Aunque los biofiltros B1, B2 y B3 presentaron diferencias en la adaptación a la degradación de n-hexano y en el coeficiente de partición de n-hexano final, el estado estacionario de cada una de ellos fue obtenido alrededor de los 35 días de operación. El tiempo al cual fue alcanzado el estado estacionario y las CEs promedio de  $220(\pm 30.9) \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  obtenidas en los diferentes biofiltros, son similares a los reportados por Arriaga y Revah [2005a] y Spigno et al. [2003], ambos utilizando extracto de malta para acelerar la puesta en marcha. Por otro lado, el biofiltro B4 alcanzó el estado estacionario luego de 15 días de operación, es decir 20 días menos que los otros biofiltros, obteniendo un 27% menos de CE. Sin embargo, el resultado de CE en el biofiltro B4 es similar al reportado por Kibazohi et al. [2004], utilizando una mezcla de turba-perlita para la eliminación de n-hexano y lodos activados de una planta de tratamiento como agente biológico.

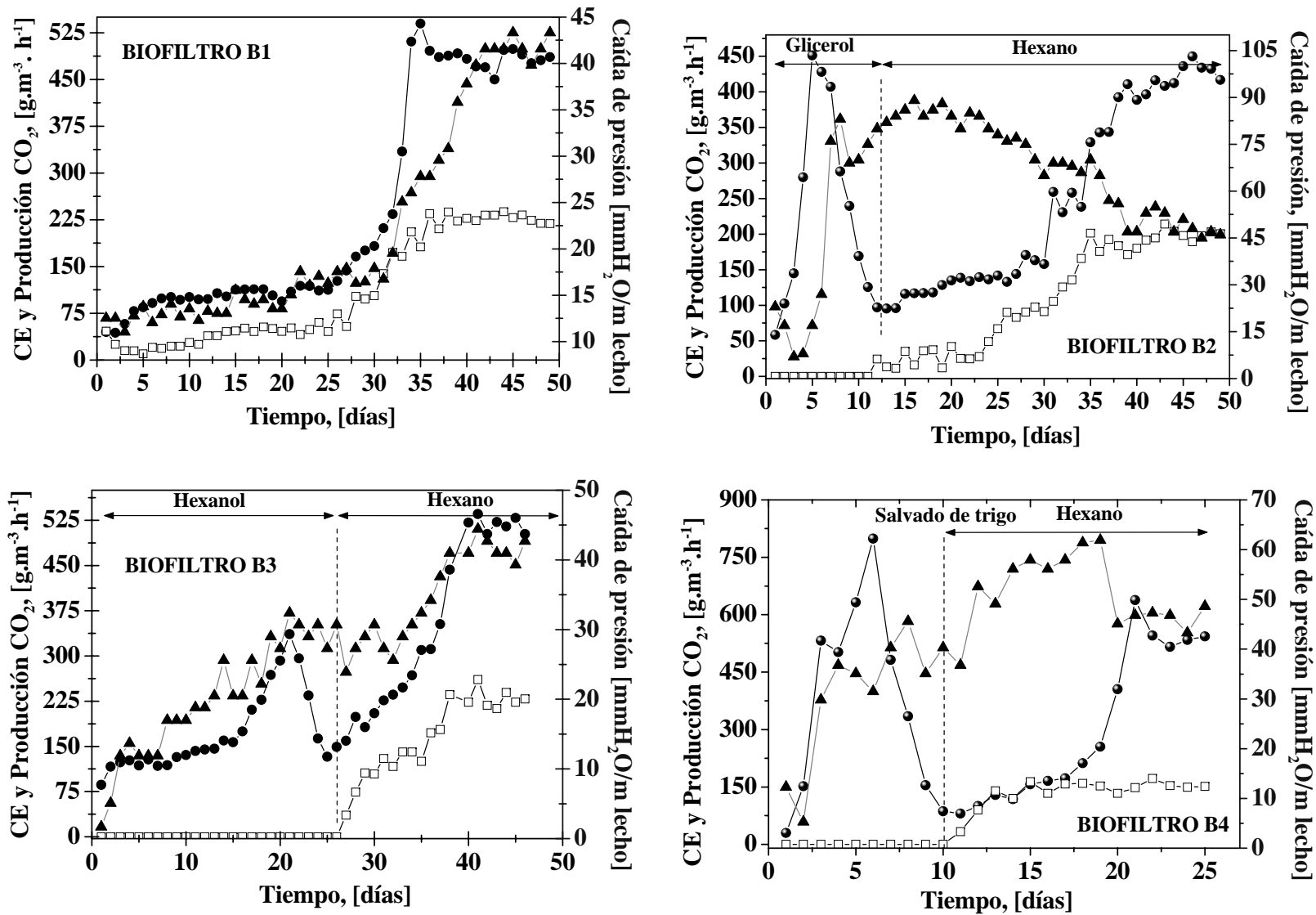


Figura 6.1 Evolución de la capacidad de eliminación de n-hexano, producción de CO<sub>2</sub> y caída de presión en los biofiltros B1, B2, B3 y B4 inoculados con *Fusarium solani*, con una carga de entrada de n-hexano de 325 [g m<sup>-3</sup> reactor h<sup>-1</sup>]. (□) CE, (●) producción de CO<sub>2</sub> y (▲) caída de presión.

En general, los  $\Delta P$  finales obtenidos en todos los biofiltros fueron mayores a los 12 mmH<sub>2</sub>O m<sup>-1</sup> de lecho reportados por Kibazohi et al. [2004] para la eliminación de n-hexano, utilizando un consorcio microbiano, para una velocidad superficial similar a la utilizada en este trabajo. Sin embargo, estas fueron similares a los 50 mmH<sub>2</sub>O m<sup>-1</sup> de lecho reportado por Arriaga y Revah [2005a] para un biofiltro fúngico, utilizando una velocidad superficial similar a la utilizada en este trabajo. Estos resultados verifican que el  $\Delta P$  en biofiltros fúngicos es mayor al observado en biofiltros de lecho fijo bacterianos.

Para la determinación de la mineralización y la realización del balance de carbono, fue usado el rendimiento celular de 1-hexanol y glicerol obtenidos experimentalmente, además de los valores de análisis elemental realizados a *F. solani*. Los rendimientos celulares obtenidos fueron 0.82 g g<sup>-1</sup> y 0.49 g g<sup>-1</sup> para 1-hexanol y glicerol, respectivamente. Por otro lado, los valores obtenidos de análisis elemental para *F. solani* fueron; carbono 48.01(±0.88)%, hidrógeno 5.74(±0.22)% y nitrógeno 6.47(±0.16)%.

Luego de 50 días fue obtenido un promedio final de biomasa de ~101 mg g<sup>-1</sup> de perlita seca en el biofiltro B1 (Tabla 6.1) y suponiendo el rendimiento celular de 1-hexanol similar al de n-hexano, el 73.3% del carbono consumido fue recuperado como CO<sub>2</sub>, mientras que el 4% fue convertido a biomasa y el resto, 22.7%, fue retenido como carbonatos, intermediarios y lixiviado durante la adición de agua de acuerdo a García-Peña et al. [2001] y Arriaga y Revah [2005a]. Estos valores de mineralización (transformación de n-hexano a CO<sub>2</sub>) fueron levemente menores al 76% reportado por Arriaga y Revah [2005b] para n-hexano utilizando el mismo hongo. Sin embargo, los resultados de mineralización fueron mayores que los 48% reportados por García-Peña et al. [2001] para la eliminación de tolueno con el hongo *Paecilomyces variotii* en un biofiltro de lecho fijo.

En el biofiltro B2, luego de 50 días de operación fue obtenida una biomasa final promedio de ~60.3 mg g<sup>-1</sup> perlita seca (Tabla 6.1), donde 30.8% de la biomasa corresponde a crecimiento en glicerol y 69.2% en n-hexano. La menor biomasa correspondiente al crecimiento en glicerol puede ser explicada por el rendimiento celular de glicerol utilizado como fuente de carbono alternativa. Utilizando el análisis elemental y el rendimiento celular de n-hexano y glicerol fue obtenido que un 70.8% y 62.9% del carbono consumido fue recuperado como CO<sub>2</sub>, mientras que 2.2% y 2.9% fue convertido a biomasa, respectivamente. El resto, 27% del carbono para n-hexano y 34.2% para glicerol, puede ser explicado como en el caso del biofiltro B1.

El biofiltro B3 fue operado durante 47 días, tiempo en el cual fue obtenida una biomasa final promedio de ~85 mg g<sup>-1</sup> perlita seca (Tabla 6.1), donde 46.7% fue obtenida con 1-hexanol y el resto con n-hexano. Del balance de carbono realizado fue obtenido para n-hexano y 1-hexanol un consumo de carbono recuperado como CO<sub>2</sub> de 70.8% y 37.3%, mientras que un 3.0% y 2.3% fue convertido a biomasa, respectivamente. El restante 26.2% del carbono para n-hexano, puede ser explicado como en el biofiltro B1. Sin embargo, la baja recuperación de carbono como CO<sub>2</sub> y el restante 60.4% de carbono, cuando fue

usado 1-hexanol, puede ser explicado por la volatilidad de 1-hexanol, siendo este arrastrado con el aire desde la perlita, y por los carbonatos e intermediarios que se pudieran generar.

El biofiltro B4 fue operado 27 días, debido a que el estado estacionario fue obtenido en el día 13. La biomasa promedio final fue de 86.3 mg g<sup>-1</sup> de perlita seca (Tabla 6.1), con una recuperación de carbono como CO<sub>2</sub> para n-hexano de 70.2%. En este biofiltro no fue determinada la cantidad de carbono como biomasa, debido a que no fue posible discriminar la biomasa generada con n-hexano y salvado de trigo. La baja recuperación como CO<sub>2</sub> en la puesta en marcha de los biofiltros con glicerol y 1-hexanol puede también estar relacionada con las fuentes de carbono presente en el lixiviado generado.

### 6.3 EXPERIMENTOS POR LOTES

Un vez finalizados los experimentos en los biofiltros de lecho fijo, fueron tomadas muestras de cada módulo del biofiltro, las cuales fueron analizadas en microcosmos y determinada su cantidad de biomasa final y humedad. Por otro lado, fueron evaluados el coeficiente de partición de n-hexano en biomasa, pH y velocidad específica de consumo ( $V_{max}$ ). El crecimiento fúngico en los biofiltros de lecho fijo fue verificado por observación en un microscopio óptico NIKON.

La Tabla 6.1 muestra que en los biofiltros B1 y B4 fueron obtenidas la mayor cantidad de biomasa final. La biomasa obtenida en el biofiltro B4 esta relacionada a la presencia de salvado de trigo, el cual tiene una gran variedad de nutrientes para el crecimiento de microorganismos. Sin embargo, comparando los biofiltros B1, B2 y B3, fue observado que el biofiltro B2 obtuvo 29% menos biomasa que el biofiltro B3 y 40% menos que el biofiltro B1, esto puede ser explicado por la fuente de carbono utilizada inicialmente para crecimiento en cada biofiltro (que puede afectar la posterior transferencia de masa de n-hexano a la biomasa) y por el rendimiento celular de cada fuente de carbono. El rendimiento celular de 1-hexanol (~0.82) puede ser considerado similar al rendimiento celular de n-hexano, siendo aproximadamente un 40% mayor que el rendimiento en glicerol (0.49). Este mayor rendimiento celular esta relacionado con la proporción de átomos de carbono presente en cada molécula para una misma cantidad de fuente de carbono adicionada. Por ejemplo, en 1-hexanol (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O) el carbono presente corresponde a un 70.6%, mientras que para glicerol es de un 34.6% (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>), esto indica que cuando es adicionada la misma cantidad de cada fuente de carbono, el total de carbono disponible para la producción de biomasa es mayor cuando es utilizado 1-hexanol. La cantidad de biomasa promedio obtenida en los diferentes biofiltros de lecho fijo es similar a lo reportado por Arriaga y Revah [2005b].

La Tabla 6.1 muestra los perfiles de cantidad de biomasa a lo largo del reactor. Para todos los biofiltros se observa un perfil de mayor a menor biomasa desde el primer hasta el último módulo, obteniendo aproximadamente dos veces más biomasa en el primer módulo que en último módulo, en

todos los casos. Estos perfiles pueden estar relacionados con la disminución del gradiente de concentración de n-hexano en fase gaseosa a lo largo del biofiltro, disminuyendo el transporte de materia hacia el hongo.

Por el contrario a lo observado con la biomasa, la humedad fue homogénea a lo largo de todos los biofiltros, obteniendo valores promedio de  $52(\pm 3)\%$  (Tabla 6.1). Estos valores se encuentran en el óptimo para la utilización de hongos de acuerdo a Cox et al. (1996). Por otro lado, cuando el pH en los biofiltros no fue controlado, este se incrementó hasta valores promedio de  $7.8(\pm 0.5)$  (Tabla 6.1). Arriaga y Revah [2005a] también observaron un incremento en el pH luego de 45 días de operación, siendo posteriormente controlado adicionando medio mineral hasta valores de 4.1.

El coeficiente de partición de n-hexano obtenido al finalizar la operación de los biofiltros de lecho fijo (Tabla 6.1) muestra que cuando el hongo fue crecido inicialmente en una fuente de carbono más hidrofóbica, el coeficiente de partición de n-hexano disminuyó, lo cual favorece la solubilidad de n-hexano en la biomasa, incrementando su disponibilidad. Además, cuando los hongos fueron crecidos en n-hexano se obtuvo un coeficiente de partición final promedio 47% menor al obtenido cuando el hongo fue crecido en glicerol y salvado de trigo. Estos valores de coeficiente de partición están de acuerdo a lo reportado por Vergara-Fernández et al. [2006], trabajando en sistemas *in vitro*.

La Tabla 6.1 muestra la velocidad de consumo volumétrica máxima de n-hexano ( $V_{\max}$ ) obtenida utilizando el modelo de Gompertz (Acuña et al., 1999) (Ver aplicación y significado del modelo de Gompertz en Anexo D). Para todos los biofiltros, los valores de  $V_{\max}$  obtenidos tuvieron el siguiente orden  $B1 > B3 > B2 > B4$ . Los consumos de n-hexano determinados utilizando  $V_{\max}$  fueron para cada biofiltro,  $49.5 \text{ g}_{\text{hexano}} \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  para el biofiltro B1,  $25.4 \text{ g}_{\text{hexano}} \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  para el biofiltro B2,  $37.7 \text{ g}_{\text{hexano}} \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  para el biofiltro B3 y  $26.5 \text{ g}_{\text{hexano}} \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  para el biofiltro B4. Estos resultados confirman los valores en la evolución de la CE en cada biofiltro y que un incremento de biomasa resulta en un aumento en la CE.

La mayor CE en el biofiltro B1 está relacionada con el menor coeficiente de partición de n-hexano y mayor cantidad de biomasa, mientras que la menor  $V_{\max}$  obtenida en los biofiltros B2 y B4 está relacionada al mayor coeficiente de partición de n-hexano y menor adaptación del hongo a la biodegradación de n-hexano.

El menor coeficiente de partición de n-hexano en el biofiltro B4 sugiere que puede existir un efecto de dilución de la fibra presente en este biofiltro producto del salvado de trigo, el cual afecta la eficiencia de eliminación del biofiltro, al existir una menor transferencia de masa del n-hexano a la biomasa. Los valores de  $V_{\max}$  obtenidos se encuentran en el rango reportado por Arriaga y Revah [2005b].

Tabla 6.1 Medición de pH, % humedad, biomasa, coeficiente de partición de n-hexano (K), velocidad específica de consumo ( $V_{max}$ ), % mineralización de n-hexano y eficiencias de eliminación (%RE) para muestras de biomasa tomadas al final de los experimentos en los biofiltros de lecho fijo B1, B2, B3 y B4.

Parámetros	Etapa	Biofiltro B1	Biofiltro B2	Biofiltro B3	Biofiltro B4
pH	E1	8.5(±0.2)	8.0(±0.1)	8.8(±0.2)	8.7(±0.15)
	E2	7.6(±0.1)	7.3(±0.1)	7.9(±0.05)	7.8(±0.09)
	E3	7.5(±0.05)	7.3±(0.05)	7.2(±0.1)	7.6(±0.04)
% Humedad	E1	51.0(±1.2)	51.1(±0.9)	45.6(±1.1)	49.7(±0.7)
	E2	52.9(±1.4)	54.9(±1.7)	53.2(±0.8)	55.0(±1.2)
	E3	53.4(±2.1)	57.2(±2.3)	56.0(±1.7)	56.1(±1.6)
Biomasa <sup>(1)</sup>	E1	130(±5.2)	81(±3.8)	104(±4.3)	120(±4.8)
	E2	98(±2.4)	53(±1.9)	82(±3.5)	75(±2.2)
	E3	74(±1.9)	47(±0.9)	69(±1.2)	64(±3.2)
K <sup>(2)</sup>		0.31(±0.01)	0.63(±0.04)	0.35(±0.09)	0.56(±0.08)
$V_{max}$ <sup>(3)</sup>		4.3(±0.21)	3.7(±0.16)	3.9(±0.11)	2.7(±0.24)
%Mineralización n-hexano <sup>(4)</sup>		60.7	57.2	58.4	70.2
%RE		76.5	71.3	66.2	69.1

B1: n-hexano, B2: glicerol y n-hexano, B3: 1-hexanol y n-hexano, B4: salvado de trigo y n-hexano, <sup>(1)</sup>Promedio de biomasa final [ $\text{mg}_{\text{biomasa}} \cdot \text{g}^{-1} \text{perlita seca}$ ], <sup>(2)</sup>Promedio en el biofiltro, <sup>(3)</sup>de acuerdo al modelo de Gompertz [ $\text{mg}_{\text{hexano}} \cdot \text{g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{h}^{-1}$ ] (ver Anexo D y M), <sup>(4)</sup> de acuerdo a la producción teórica de  $\text{CO}_2$  (ver Anexo B).

## 6.4 INFLUENCIA DE LA CARGA DE ENTRADA EN LA CAPACIDAD DE ELIMINACION

La Figura 6.3 muestra la influencia de la carga de entrada de n-hexano en el funcionamiento de los diferentes biofiltros. Estos experimentos fueron realizados después de alcanzado el estado estacionario en cada uno de los biofiltros de lecho fijo. De la Figura 6.3 se observa que en el biofiltro B1 un 100% de eficiencia de eliminación fue obtenido para cargas críticas de  $95 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ , con una CE máxima de  $225 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ .

La CE máxima y carga crítica de entrada de n-hexano obtenidas en el biofiltro B1 fueron aproximadamente 38% y 26% mayor a las reportadas por Arriaga y Revah [2005a] utilizando el hongo *F. solani* y Spigno et al. [2003] utilizando el hongo *A. niger*, respectivamente. Por otro lado, el 100% de

eficiencia de eliminación para los biofiltros B3 y B4 fue obtenida para una carga crítica de entrada de n-hexano de  $52 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$  con una CE máxima de 200 y  $160 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ , respectivamente.

Las CEs obtenidas en los biofiltros B3 y B4 fueron aproximadamente un 47% menor a los obtenidos en el biofiltro B1. Esto puede ser explicado en el biofiltro B3 por la menor cantidad de biomasa, mientras que para el biofiltro B4 debido al mayor coeficiente de partición, que disminuye la transferencia de masa de n-hexano. Por otro lado, el biofiltro B2 obtuvo la menor carga crítica de entrada de n-hexano (cerca de  $35 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ ), lo cual está relacionado a su mayor coeficiente de partición de n-hexano y menor cantidad de biomasa, lo cual disminuye la transferencia de masa y velocidad de biodegradación de n-hexano, respectivamente.

La carga crítica de alimentación de n-hexano observada en el biofiltro B1, indica que el hongo crecido en una fuente de carbono más hidrofóbica (n-hexano) incrementa la hidrofobicidad de la biomasa y disminuye la limitación por transporte entre el COV y la fase biológica.

Comparando los biofiltros B2 y B4 es posible observar que aunque sus coeficientes de partición de n-hexano en biomasa fueron similares, el biofiltro B3 obtuvo una mayor carga crítica de entrada de n-hexano, lo cual está relacionado a la mayor cantidad de biomasa, disminuyendo el efecto del coeficiente de partición.

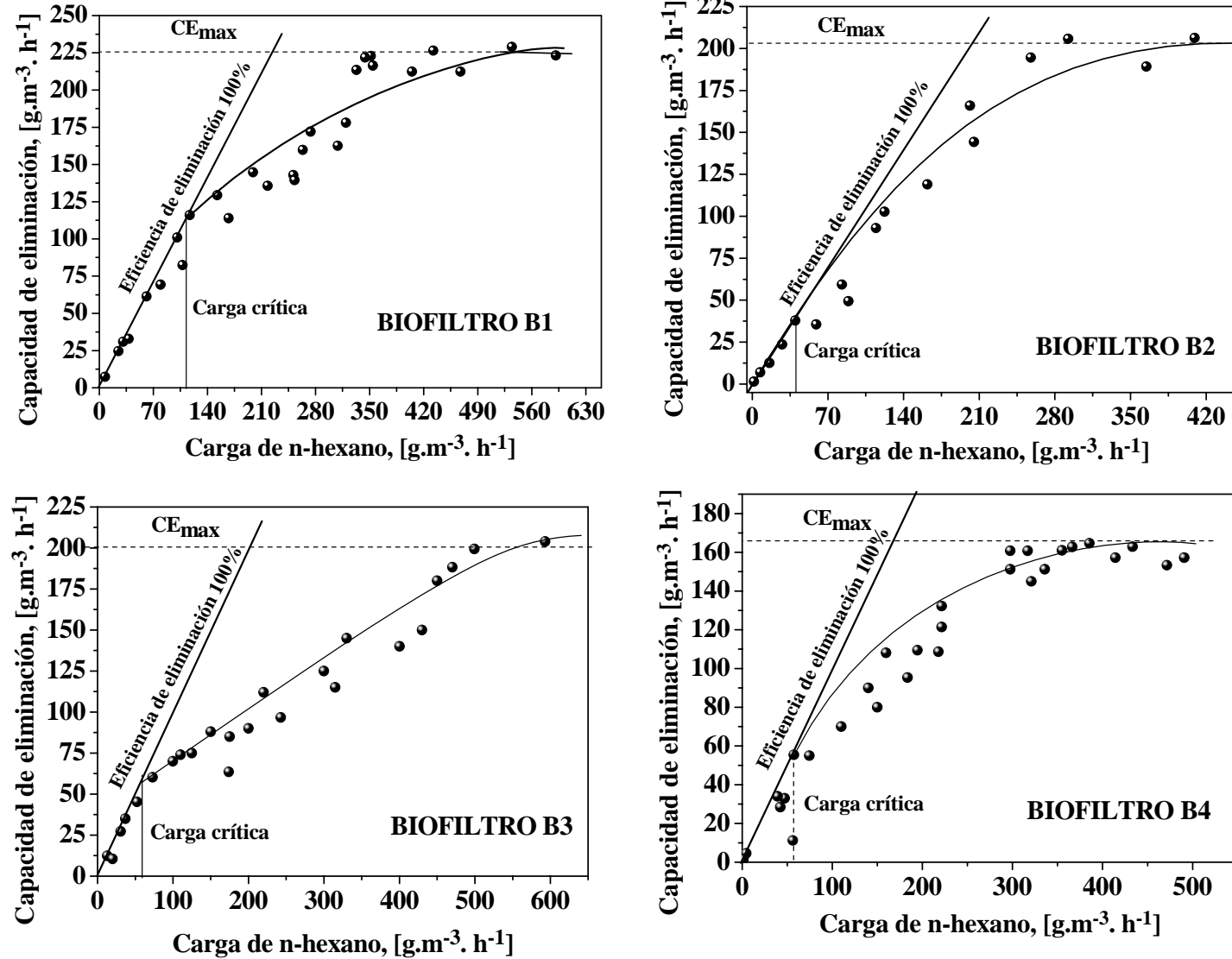


Figura 6.2 Efecto de la carga de n-hexano en la capacidad de eliminación en los biofiltros B1, B2, B3 y B4. La velocidad de flujo fue de 1.2 L min<sup>-1</sup> y un tiempo de residencia de 1.3 min.



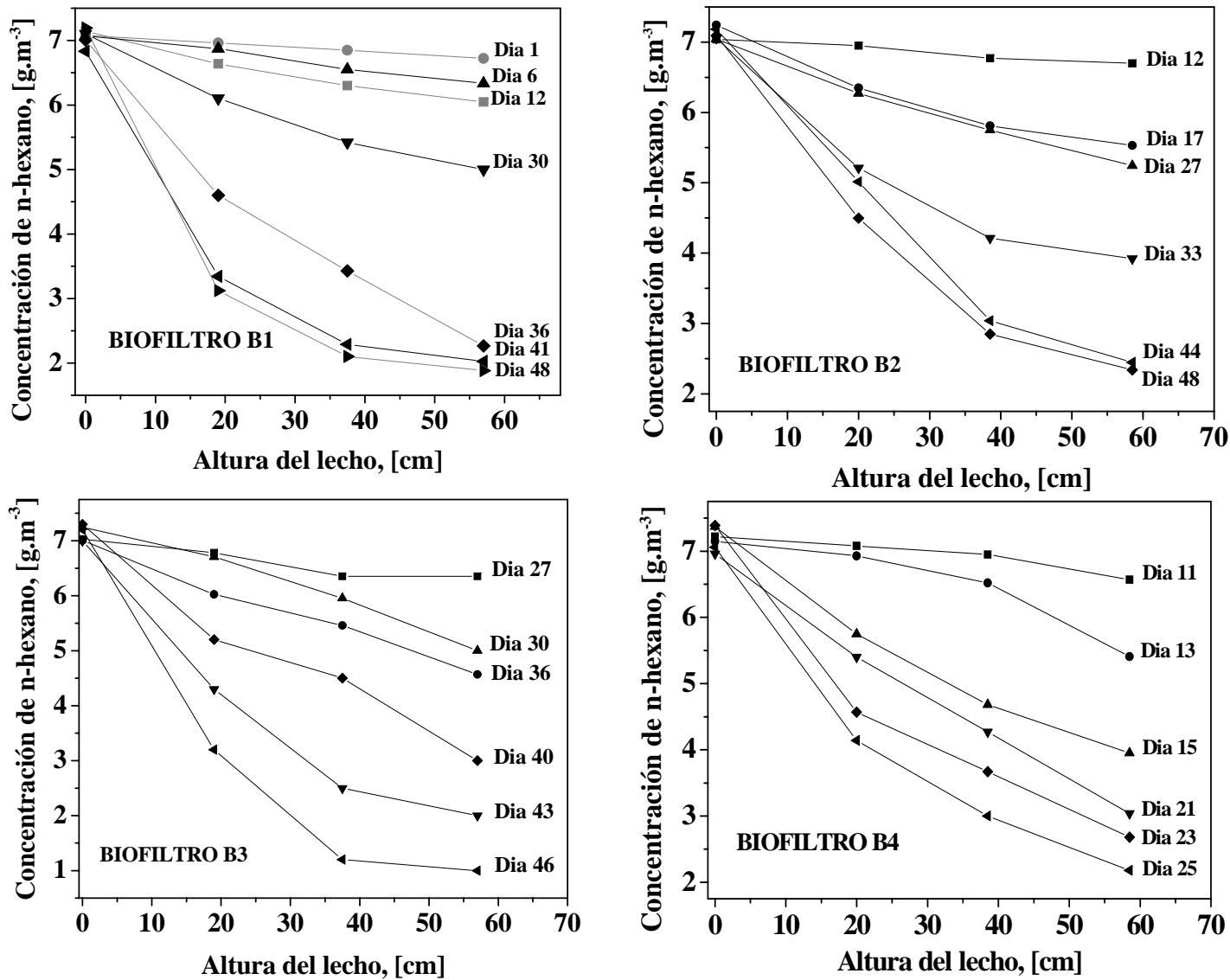


Figure 6.3 Variación de la concentración de n-hexano a través de las diferentes columnas de biofiltración.

## 6.5 EVOLUCIÓN DEL PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE n-HEXANO A LO LARGO DE LOS BIOFILTROS

La Figura 6.3 muestra los perfiles de concentración de n-hexano a través del lecho obtenidos para los biofiltros B1, B2, B3 y B4, a diferentes tiempos de operación.

De la Figura 6.3 se puede ver que la mayor eliminación de n-hexano ocurre en el primer módulo en todos los biofiltros, esto debido a la mayor carga de n-hexano presente en esta sección, favoreciendo la transferencia de materia de n-hexano desde la fase gaseosa a la biomasa [Vergara-Fernández et al., 2006]. La disminución de la concentración de n-hexano es posteriormente proporcional en los siguientes módulos de los biofiltros, generando perfiles de biodegradación menos pronunciados al existir un menor gradiente de concentración de n-hexano entre la fase gaseosa y la biomasa.

Esta mayor biodegradación observada en el primer módulo (perfiles de concentración más pronunciados) (Figura 6.3), coincide con la mayor cantidad de biomasa final existente en esta etapa para todos los biofiltros (Tabla 6.1), disminuyendo paulatinamente hasta el módulo 3. Estos resultados verifican que el menor crecimiento (menor cantidad de biomasa) encontrados en los módulos 2 y 3 de los biofiltros puede ser debido a la menor disponibilidad de n-hexano.

## 6.6 CONCLUSIONES PARCIALES

El trabajo realizado en este capítulo verifica la factibilidad de la utilización de hongos filamentosos como agente biológico en la eliminación de compuesto orgánicos volátiles hidrofóbicos. Fue observada su mayor capacidad de eliminación de COVs hidrofóbicos en comparación con biofiltros bacterianos, dada principalmente por las características hidrofóbicas de los hongos, la que disminuye la limitación por transporte existente entre un compuesto hidrofóbico y una biopelícula bacteriana, las cuales se encuentran rodeadas por películas de líquido.

Es posible observar una mayor caída de presión generada por la morfología de crecimiento de los hongos filamentosos, por otro lado, la menor velocidad de crecimiento de los hongos produce una puesta en marcha más lenta de estos biofiltros fúngicos en comparación con biofiltros bacterianos.

Los resultados muestran que es factible mejorar el tiempo de puesta en marcha de un biofiltro fúngico para la eliminación de COV hidrofóbicos utilizando otras fuentes de carbono como iniciador del crecimiento y generación de biomasa. Por otro lado, estas fuentes de carbono poseen un efecto sobre el coeficiente de partición y en la adaptación a la biodegradación del COV, existiendo un aumento en el coeficiente de partición y generando por lo tanto una disminución de la solubilidad de n-hexano en la

biomasa, cuando la fuente de carbono utilizada para la puesta en marcha es menos hidrofóbica que n-hexano.

Cuando fue utilizado salvado de trigo como fuente de carbono de iniciación, la puesta en marcha fue disminuida 20 días, con respecto a los biofiltros utilizando glicerol, 1-hexanol y n-hexano. Sin embargo esta disminución en el tiempo de puesta en marcha debe ser contrastada con la obtención de una menor capacidad de eliminación.



# CAPITULO SIETE

## RESULTADOS IV:

### Desarrollo modelo matemático

“La formulación de un problema, es más importante que su solución”. *A. Einstein*

---

#### 7.1 FORMULACIÓN DEL MODELO TEÓRICO

El desarrollo de un modelo matemático que describa los fenómenos físicos y biológicos que están ocurriendo en el interior de un biorreactor, considera una serie de pasos que permiten describir y entender sus interacciones. La metodología seguida para establecer el modelo matemático que describe el transporte de materia y biodegradación del COV hidrofóbico en el biofiltro inoculado con hongos filamentosos constituyó los siguientes pasos: 1° Definición del sistema; 2° Definición de variables; 3° Balances de materia y modelos cinéticos; 4° Cambio de variables y determinación de números adimensionales; 5° Estrategia de solución.

En la Figura 7.1 se muestra un esquema de la estrategia general utilizada para el planteamiento, desarrollo y solución del modelo matemático y su validación experimental. El desarrollo tiene como objetivo principal establecer la relación existente entre la capacidad de eliminación del biofiltro de lecho fijo y el área superficial obtenida producto del crecimiento fúngico. Para esto, el modelo determina la concentración de salida de n-hexano en el tiempo, y la relaciona con la evolución de la capacidad de eliminación (CE) y el aumento del área de transporte al crecer el hongo filamentosos al consumir n-hexano.

La capacidad de eliminación (CE) de la columna de biofiltración es definida con la ecuación:  $CE = Q \cdot (C_{gi} - C_{go}) / V_r$ . Donde,  $C_{gi}$  es la concentración inicial de n-hexano,  $C_{go}$  es la concentración de salida de n-hexano,  $Q$  es el flujo volumétrico del gas y  $V_r$  es el volumen total de reactor.

### 7.1.1 Definición del sistema

El concepto básico del modelo desarrollado esta esquematizado en la Figura 7.2. En esta figura se muestra un esquema de la columna empacada (biofiltro de lecho fijo), de la cual fue tomado un segmento del empaque ampliándose para mostrar las partículas de soporte.

Estas partículas se esquematizan con una cubierta de hongos creciendo adherida alrededor de ellas, con micelios saliendo en forma aérea del soporte, aumentando de esta forma la superficie de contacto del hongo con el contaminante.

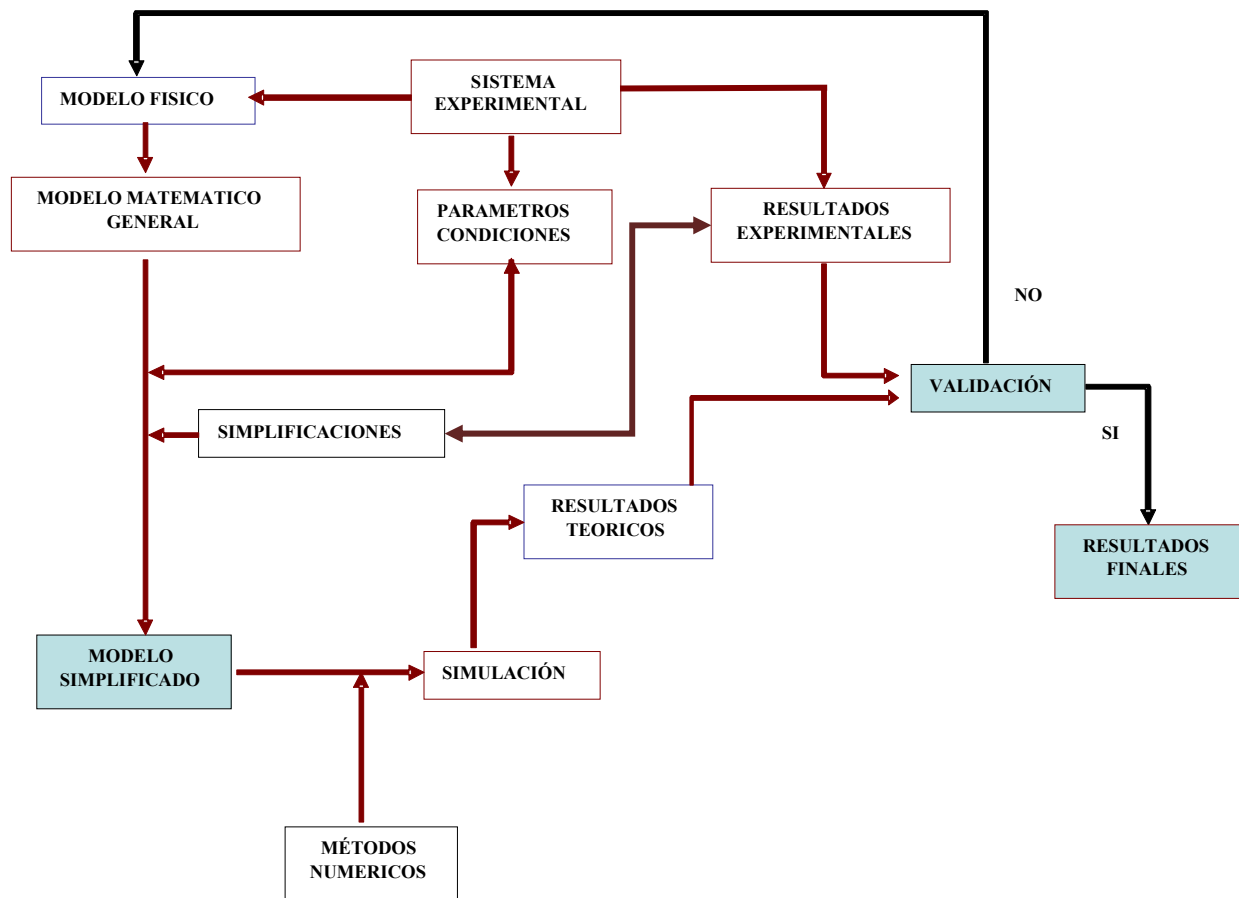


Figura 7.1 Esquema de la estrategia general utilizada para el desarrollo y solución del modelo matemático.

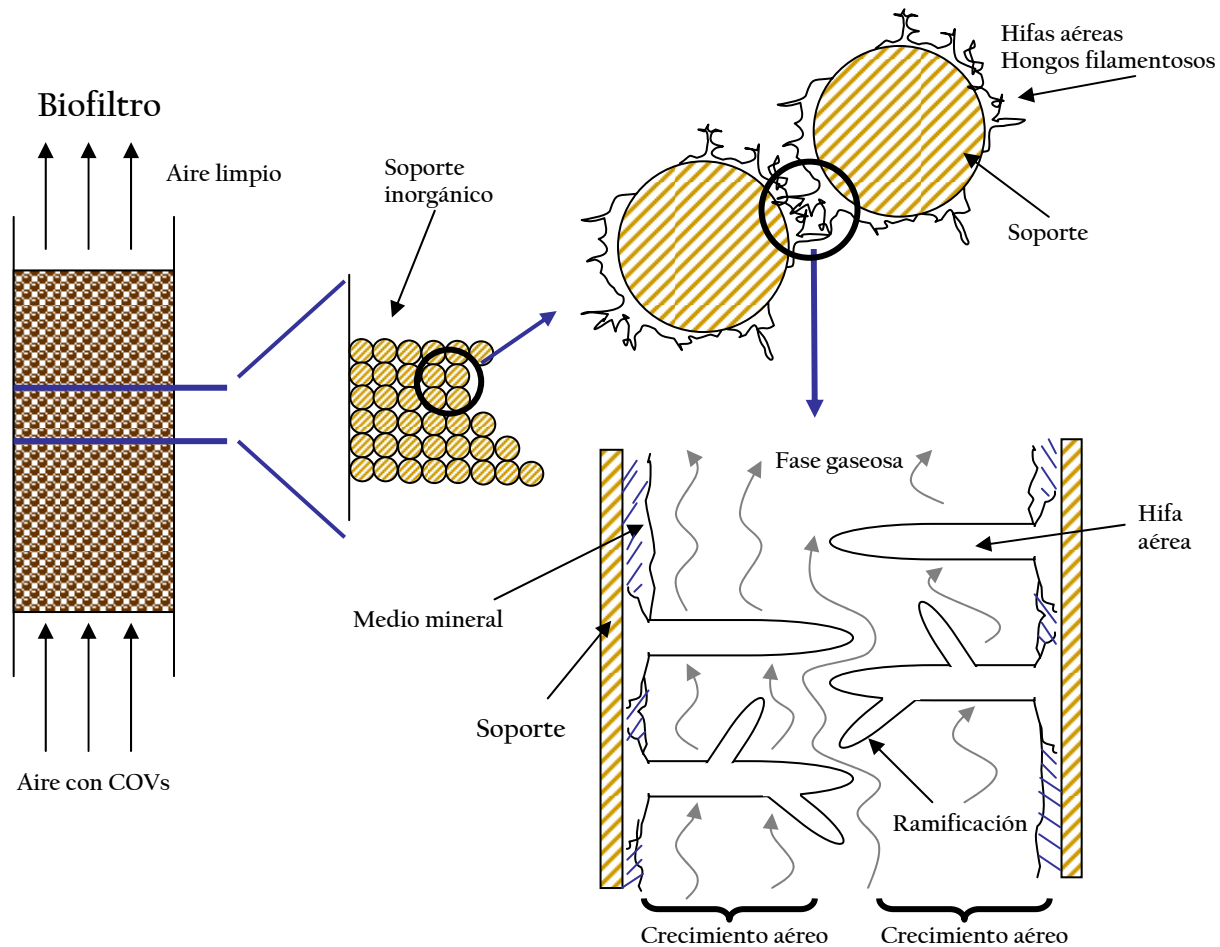


Figura 7.2 Representación esquemática del concepto básico del modelo para una sección de la columna del biofiltro.

Realizando un aumento a las partículas colonizadas por los hongos, se puede observar el sistema supuesto para la descripción de la transferencia de materia y reacción. En este esquema se muestra parte del crecimiento aéreo de las hifas sobre el soporte, existiendo un transporte directo del contaminante desde la fase gaseosa hasta las hifas.

La biodegradación de COVs en un biofiltro, es un proceso aerobio, en donde el oxígeno es utilizado como el último aceptor de electrones, por lo tanto su concentración debe ser suficiente para la oxidación del COV, de manera que no se generen zonas anaerobias en el reactor. A pesar de esto, los balances de materia para el oxígeno no fueron realizados, ya que la cantidad de oxígeno presente en el biofiltro fue considerada en todo momento en exceso, debido a la baja solubilidad de n-hexano y las bajas concentraciones de trabajo, lo cual no genera una limitación de oxígeno para su oxidación.

A continuación se enumeran las principales consideraciones del modelo, las que también nos entregan las limitaciones del mismo:

1. El sistema en estudio (biofiltro de lecho fijo) opera en forma isotérmica.
2. No existe limitación por oxígeno en la biopelícula aérea de los hongos.
3. La adsorción de n-hexano en el soporte es despreciable y el soporte es inerte biológicamente.
4. El crecimiento de los hongos es función de las concentraciones de n-hexano y fuente de nitrógeno.
5. La reacción de biodegradación de n-hexano y utilización de nitrógeno ocurre en la superficie del hongo.
6. El n-hexano es utilizado por el hongo para crecimiento y mantenimiento celular.
7. El tiempo en el cual ocurre el transporte en la fase gaseosa es mucho menor al tiempo de crecimiento de los hongos en el biofiltro.

### 7.1.2 Elemento de estudio

Realizando un aumento a las hifas de la Figura 7.2 se muestran los mecanismos de transporte y reacción involucrados en el sistema de estudio (Figura 7.3). El COV presente en la fase gaseosa (n-hexano) es transformado, luego transportado a través de la membrana y finalmente utilizado en el interior del hongo. El nutriente de interés para el estudio (nitrógeno) se encuentra en el líquido adsorbido en el soporte adicionado inicialmente a la columna del biofiltro de lecho fijo, de donde es utilizado por el hongo. La adsorción de n-hexano en el soporte fue supuesta despreciable de acuerdo a Arriaga y Revah [2005].

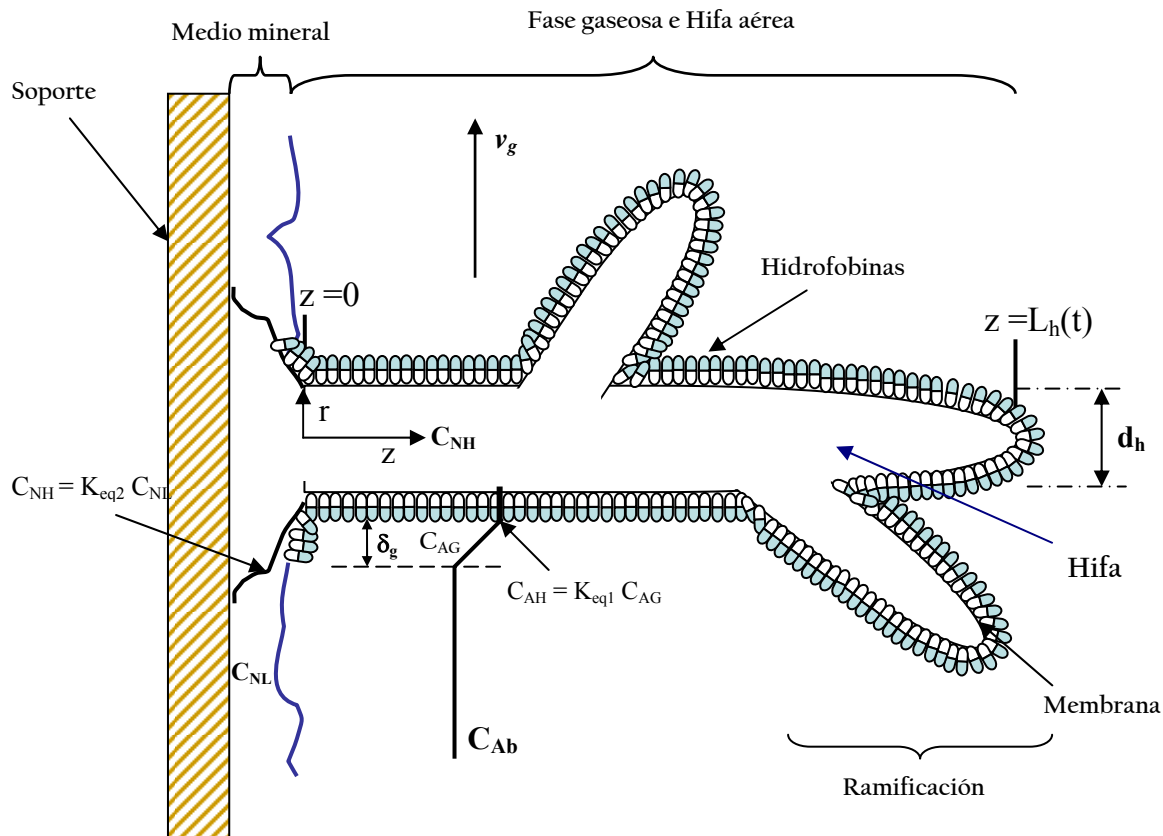


Figura 7.3 Representación esquemática del concepto básico del modelo matemático desarrollado.



## 7.2 CINÉTICA DE CRECIMIENTO DEL HONGO FILAMENTOSO

La velocidad de crecimiento apical del micelio,  $u_r$ , es proporcional a la longitud media de los segmentos de las hifas ( $L_{av}$ ) y esta dada por la ecuación (7.1) [Nielsen, 1993; McIntyre et al., 2001]:

$$u_r = \mu L_{av} \quad (7.1)$$

Donde  $\mu$  es la velocidad específica de crecimiento del hongo, y  $L_{av}$  es la longitud media de los segmentos de las hifas. La velocidad específica de crecimiento es función de la concentración de n-hexano y nutriente disponibles para el crecimiento, concentraciones determinadas por los fenómenos de transporte y difusión en el biofiltro, considerando una cinética tipo Haldane para la fuente de carbono y de Monod para el nutriente [Dunn et al., 1992; Shuler et al., 2003]. Esta viene dada por la ecuación (7.2):

$$\mu = \mu_{\max} \left[ \frac{C_{AH}}{C_{AH} + K_{AH} + \frac{C_{AH}^2}{K_I}} \right] \left[ \frac{C_{NH}}{C_{NH} + K_{NH}} \right] \quad (7.2)$$

En donde,  $\mu$  es la velocidad específica de crecimiento,  $\mu_{\max}$  es la velocidad específica de crecimiento máxima;  $K_{AH}$  y  $K_{NH}$  son las constantes de afinidad para n-hexano y fuente de nitrógeno, respectivamente;  $K_I$  es la constante de inhibición de n-hexano y  $C_{AH}$  y  $C_{NH}$  son las concentraciones de n-hexano y fuente de nitrógeno en la pared del hongo, respectivamente.

## 7.3 BALANCES DE MATERIA EN EL BIOFILTRO

Para el desarrollo del modelo, fue considerado un flujo de gas unidireccional (fluido ideal Newtoniano) el cual contiene el contaminante, pasando a través del medio poroso con una fracción de vacío inicial uniforme. La fase líquida fue considerada solo necesaria para mantener la humedad del biofiltro y adicionar los nutrientes necesarios en el soporte, siendo despreciable la solubilidad de n-hexano en ella [Alonso et al., 1998; Arriaga y Revah, 2005a].

Para establecer la variación de la concentración de COV en la fase gaseosa y su biodegradación, se desarrollo el balance de materia en la película de gas, balance de materia para la fuente de nitrógeno, balance de materia del contaminante en el seno del gas y la expresión de crecimiento del hongo.

Se consideró que el biofiltro trabaja en condiciones isotérmicas, lo que fue realizado

experimentalmente controlando la temperatura del reactor, por lo tanto no se desarrollan los balances de energía al sistema.

La ecuación (7.2) establece la velocidad específica de crecimiento para determinar la elongación de la hifa en el tiempo. Entonces, para poder obtener esta velocidad específica de crecimiento debemos establecer la variación de la concentración de n-hexano y nutrientes en la pared del hongo. Para esto, el primer paso desarrollado fue un balance global de materia en la columna del biofiltro de lecho fijo, que establezca la variación de la concentración de n-hexano en el seno del gas a lo largo del reactor y en el tiempo. Este se muestra en la siguiente sección (7.3.1).

### 7.3.1 Balance global de materia de la fase gaseosa en el biofiltro (seno del gas)

A continuación se describen los fenómenos de transporte de materia que ocurren a lo largo del biofiltro, los cuales interaccionan con los procesos difusivos y de biorreacción alrededor del hongo. En un lecho empacado el transporte de materia esta dado principalmente por la combinación de dos mecanismos. El primero de ellos es la convección originada por el movimiento del fluido debido a una diferencia de presiones y el segundo la dispersión producida por gradientes de concentración y retromezclado del fluido debido a la presencia del empaque sólido y el crecimiento de las hifas aéreas [López-Isunza y Flores-De Hoyos, 2004]. La Figura 7.4, muestra el detalle del elemento de volumen seleccionado de la columna del biofiltro de lecho fijo para ilustrar el balance de materia.

La ecuación de balance de materia para un componente “A” contenido en la fase gaseosa en un lecho fijo heterogéneo a lo largo del tiempo de operación esta dada por la ecuación (7.3) [Iliuta y Larachi, 2004; Pencheva et al., 2003]:

$$\varepsilon_R \left[ \frac{\partial C_{Ab}}{\partial t} + v_g(t) \frac{\partial C_{Ab}}{\partial z} - D_{Dz} \left( \frac{\partial^2 C_{Ab}}{\partial z^2} \right) - D_R \left( \frac{\partial^2 C_{Ab}}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C_{Ab}}{\partial r} \right) \right] = \varepsilon_R \left[ k_g(t) a_v(t) (C_{Ab} - C_{AG}) \right] \quad (7.3)$$

En donde,  $C_{Ab}$  es la concentración de n-hexano en el seno del gas en la columna del biofiltro,  $C_{AG}$  es la concentración de n-hexano en la interfase formada entre el seno del gas y la película alrededor de la hifa,  $\varepsilon_R$  es la fracción de vacío del biofiltro,  $v_g$  es la velocidad longitudinal (o intersticial) promedio de la fase gaseosa,  $D_{Dz}$  es el coeficiente de dispersión axial,  $D_R$  es el coeficiente de dispersión radial,  $k_g$  es el coeficiente de transferencia de materia y  $a_v$  es el área superficial por unidad de volumen de las hifas más el empaque.

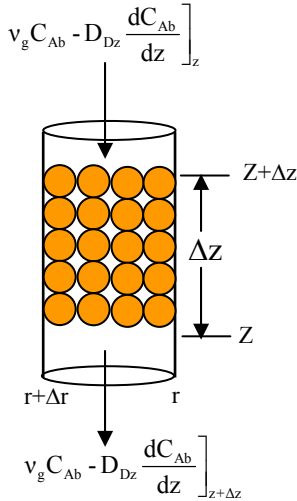


Figura 7.4 Esquema del balance de materia en el elemento de volumen del biofiltro.

En la ecuación (7.3), el primer término describe la acumulación del componente “A” en la fase gaseosa presente en el lecho fijo; el segundo término representa al transporte convectivo debido al flujo a través del reactor originado por un gradiente de presión; el tercer y cuarto término representan a la dispersión axial y radial, respectivamente, de acuerdo a la Ley de Fick [Taylor y Krishna, 1993; Bird et al., 2002]. El término del lado derecho describe un término de fuente o generación debido al transporte de materia a través de la interfase entre el seno del gas y la capa límite de gas alrededor de la hifa.

Se debe notar que la dispersión axial fue incluida, debido a que por lo general los estudios teóricos en biofiltros están basados en la idealización de un flujo pistón. Sin embargo, en la realidad esto podría no ser el caso. Las desviaciones del flujo pistón ideal pueden ser causadas por canalizaciones del fluido, por la existencia de zonas estancadas debido a la no-uniformidad en el tamaño de las partículas del material de empaque y también debido a un inadecuado sistema de distribución del flujo de alimentación [Zarook et al., 1998]. Por otro lado, la dispersión radial es despreciada, debido a que generalmente los gradientes radiales en la concentración no son importantes, de acuerdo a las observaciones en trabajos experimentales realizados por Hodge y Devinny [1995], Devinny y Ramesh [2005]. Entonces, el balance de materia fue reducido a la ecuación (7.4):

$$\epsilon_R \left[ \frac{\partial C_{Ab}}{\partial t} + v_g \frac{\partial C_{Ab}}{\partial z} - D_{Dz} \left( \frac{\partial^2 C_{Ab}}{\partial z^2} \right) \right] = \epsilon_R \left[ k_g a_v (C_{Ab} - C_{AG}|_{r_i}) \right] \quad (7.4)$$

La dispersión axial del fluido en el reactor (retromezclado) puede ser descrita en términos de condiciones de frontera axiales que consideran la continuidad de la densidad de flujo (flux) a la derecha

de  $z = 0$  y  $z = H$ , respectivamente [Illueta y Larachi, 2004; López-Isunza y Flores-De Hoyos, 2004]. Entonces, la condición inicial y de frontera para la ecuación (7.4) son:

$$\text{C.I.} \quad t = 0 \quad C_{Ab} = C_{Ab0} \quad (7.5)$$

$$\text{C.F.1} \quad z = 0 \quad v_g C_{Ab}|_{z=0-} = v_g C_{Ab}|_{z=0+} - D_{Dz} \left. \frac{\partial C_{Ab}}{\partial z} \right|_{z=0+} \quad (7.6)$$

$$\text{C.F.2} \quad z = H \quad \left. \frac{\partial C_{Ab}}{\partial z} \right|_{H-} = 0 \quad (7.7)$$

La primera condición de frontera, señala que el flux convectivo a la entrada es igual al dado por los términos de convección y dispersión de materia inmediatamente al inicio del lecho; la segunda condición de frontera indica un valor constante en la concentración de salida. Entonces ahora para poder obtener la variación de  $C_{AG}$  se realizó un balance de materia a la película de gas alrededor de la hifa. Con esta ecuación se relacionó la concentración en el gas y la concentración en la pared del hongo.

### 7.3.2 Determinación de $C_{AG}$ en la película de gas

Para el desarrollo de la ecuación de conservación del COV en la película de gas, se muestra un esquema idealizado del fenómeno en la Figura 7.5. Se consideró que la hifa posee una forma cilíndrica regular. En esta el flujo de gas que contiene al COV pasa a alrededor de la hifa formando una película de gas, en donde el contaminante es trasportando hasta el hongo en donde es biodegradado.

Dada la geometría cilíndrica supuesta para la hifa, fue utilizada la ecuación de balance del contaminante en coordenadas cilíndricas. Esta viene dada por la ecuación (7.8) [Bird et al., 2002]:

$$\frac{\partial C_{AG}}{\partial t} + \left( \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} (r N_{Ar}) + \frac{1}{r} \frac{\partial N_{A\theta}}{\partial \theta} + \frac{\partial N_{Az}}{\partial z} \right) = R_A \quad (7.8)$$

Donde  $C_{GA}$  es la concentración de n-hexano en la película de gas alrededor de la hifa,  $N_{Ar}$  es la densidad de flujo molar en la dirección radial,  $N_{A\theta}$  es la densidad de flujo molar en la dirección angular,  $N_{Az}$  es la densidad de flujo molar en la dirección axial y  $R_A$  es la velocidad de reacción.

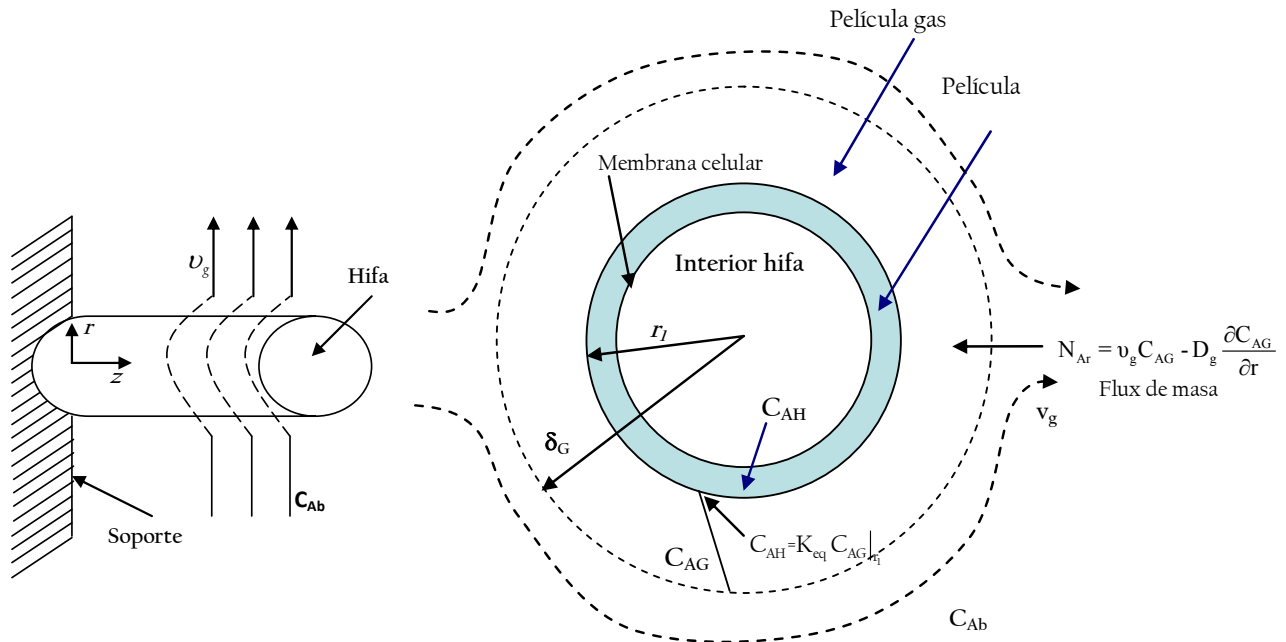


Figura 7.5 Esquema flujo de gas a través de la hifa y un corte transversal de la hifa cilíndrica.

La Figura 7.5 permite observar las condiciones de frontera para el sistema. Estas condiciones de frontera incorporan la interacción de la pared de las hifas y la interfase gas-hifas del hongo.

En la fase gaseosa no existe reacción biológica, por lo cual sólo se presenta la difusión molecular de la especie contenida en el gas, mientras que se consideró que la reacción biológica ocurre en la superficie de las hifas del hongo. Dada la geometría de la hifa y la mayor longitud respecto del diámetro, solo es considerada la dirección radial y angular de la ecuación de transporte. De acuerdo a esto la ecuación (7.8) se reduce a la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial C_{AG}}{\partial t} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} (r N_{Ar}) + \frac{1}{r} \frac{\partial N_{A\theta}}{\partial \theta} = 0 \quad (7.9)$$

Aplicando la ley de Fick y suponiendo densidad constante (flujo incompresible).

$$N_{Ar} = -D_g \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} + x_A (N_{Ar} + N_{Br}) = -D_g \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} + v_{gr} C_{AG} \quad (7.10a)$$

$$N_{A\theta} = -D_g \frac{\partial C_{AG}}{\partial \theta} + x_A (N_{A\theta} + N_{B\theta}) = v_{g\theta} C_{AG} \quad (7.10b)$$

Las ecuaciones (7.10a y b) representan el flux de materia en la película gaseosa en dirección radial y angular, donde  $D_g$  es el coeficiente de difusión molecular y  $v_g$  es la velocidad del gas en esta película.

Reemplazando el flux (ecuaciones (7.10a y b)) en la ecuación de conservación (ecuación (7.9)), suponiendo que la densidad y la difusividad se mantienen constantes, fue obtenida la siguiente ecuación en la película de gas alrededor de la hifa:

$$\frac{\partial C_{AG}}{\partial t} + v_{gr} \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} + \frac{v_{g\theta}}{r} \frac{\partial C_{AG}}{\partial \theta} = D_g \left[ \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} \right) \right] \quad (7.11)$$

Donde  $C_{GA}$  es la concentración de n-hexano en la película de gas alrededor de la hifa,  $D_g$  es el coeficiente de difusión molecular y  $v_{gr}$  y  $v_{g\theta}$  son los perfiles de velocidad del gas alrededor de la hifa en la dirección radial y angular, respectivamente.

En la ecuación (7.11), el primer término describe la acumulación del componente “A” presente en la película gaseosa; el segundo y tercer términos representan al transporte convectivo debido al flujo alrededor de la hifa; el primer término luego de la igualdad representan la difusión radial, de acuerdo a la Ley de Fick.

La condición inicial y de frontera para la ecuación (7.11) son:

$$C.I \quad t = 0 \quad C_{AG} = 0 \quad \forall \left[ (r, \theta): r_1 < r < \delta_G; 0 \leq \theta < \frac{\pi}{2} \right] \quad (7.12)$$

$$C.F.1 \quad r \rightarrow \infty \quad C_{AG} = C_{Ab} \quad \forall \theta \quad (7.13)$$

$$C.F.2 \quad r = r_1 \quad -D_g \left. \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} \right|_{r_1} = \left( \frac{\mu}{Y_A} + m_C \right) \frac{\rho_h}{\delta_h} \pi d_h L_h(t) \quad \forall \theta \left[ 0 \leq \theta \leq \frac{\pi}{2} \right] \quad (7.14)$$

$$C.F.3 \quad \theta = 0 \quad C_{AG} = C_{Ab} \quad \forall \theta [r_1 \leq r] \quad (7.15)$$

$$C.F.4 \quad \theta = \frac{\pi}{2} \quad C_{AG} = C_{Ab} \quad \forall \theta [r_1 \leq r] \quad (7.16)$$

La primera condición de frontera indica, que fuera de la película de gas la concentración del compuesto “A” corresponde a la concentración en el seno del gas. La segunda condición de frontera indica que, en la pared del hongo, el flux de gas es igual a la velocidad de biorreacción, dada por el consumo de n-hexano asociado al crecimiento microbiano y al mantenimiento de la viabilidad celular [Shuler et al., 2003], en donde  $Y_A$  es el rendimiento de la fuente de carbono en la célula;  $\rho_h$  es la densidad de la hifa;  $m_C$

es el coeficiente de mantenimiento celular y  $\delta_h$  es el espesor de la película de hidrofobinas y pared del hongo.

De acuerdo a la ecuación (7.2) la velocidad específica de crecimiento es función de la concentración de n-hexano y fuente de nitrógeno, es por esto, que es necesaria una condición de equilibrio que permita relacionar la concentración de n-hexano en la película de gas con la concentración en el hongo. En forma general esta viene dada por la siguiente ecuación:

$$C_{AH} = K_{eq1} C_{AG} \Big|_{r_i} \quad (7.17)$$

Donde,  $1/K_{eq1}$  representa el coeficiente de partición del COV en la biomasa y  $C_{AH}$  es la concentración de n-hexano en la pared del hongo. Entonces utilizando la ecuación (7.17) junto con la ecuación (7.11) fue determinada la variación de la concentración de n-hexano en la pared del hongo en el tiempo.

#### Determinación del perfil de velocidad alrededor de la hifa

Para determinar los perfiles de velocidad en la dirección angular y radial alrededor de la hifa de la ecuación (7.11), se utilizó el criterio establecido por Slattery [1999], basado en el número de Reynolds para establecer el tipo de flujo predominante en el sistema.

Este criterio establece los siguientes casos limites; para un número de Reynolds mucho menor a 1.0 el flujo predominante es el *Flujo Reptante*, y para un número de Reynolds mucho mayor a 1.0 el flujo predominante es el *Flujo Potencial*. El número de Reynolds ( $N_{Re}$ ) utilizado es definido de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$N_{Re} = \frac{d_h v_g \rho_g}{\mu_g} \quad (7.18)$$

El número de Reynolds fue evaluado utilizando las dimensiones del biofiltro experimental. El diámetro del reactor fue de 0.07 cm, un tiempo de residencia de 1.3 min y una fracción de vacío inicial de 0.69 (obtenido experimentalmente). Entonces el número de Reynolds utilizando un diámetro de hifa ( $d_h$ ) de 2.1  $\mu\text{m}$  fue de 0.0023. Con este resultado fue determinado que el flujo predominante alrededor de las hifas en este sistema es el *Flujo Reptante*.

Para la determinación de los perfiles de velocidad fueron realizadas las siguientes consideraciones: a) fluido newtoniano, b) flujo incompresible, c) sistema isotérmico, d) régimen estacionario y e) se

desprecian los efectos sobre el soporte. Entonces, los perfiles de velocidad obtenidos a partir de las funciones de corriente [Slattery, 1999] fueron (Anexo N):

$$v_r = v_g \cos\theta \left[ 1 - \frac{r_1^2}{r^2} \right] \quad (7.19)$$

$$v_\theta = v_g \sin\theta \left[ \frac{r_1^2}{r^2} - 1 \right] \quad (7.20)$$

Entonces introduciendo estos perfiles de velocidad en la ecuación (7.11) se obtiene la concentración de n-hexano alrededor de la hifa.

Como se mencionó con anterioridad, el hongo necesita además de la fuente de carbono una serie de nutrientes para su crecimiento (nitrógeno, fósforo, azufre, etc), siendo uno de los principales y el utilizado en este estudio la fuente de nitrógeno. Debido a esto, en la ecuación de velocidad específica de crecimiento (ecuación (7.2)) es considerada la variación de la concentración de nitrógeno en la velocidad. Es por esto, que debemos obtener una ecuación que indique la forma en la cual la fuente de nitrógeno cambia en el tiempo, hasta que esta es consumida totalmente por el hongo. Para esto se desarrollo el balance de materia de la fuente de nitrógeno a lo largo de las hifas del hongo que se muestra a continuación.

### 7.3.3 Balance de materia del nutriente (Fuente de nitrógeno)

Los hongos presentes en el sistema biofiltro de lecho fijo necesitan de una serie de macro y micro-nutrientes para su desarrollo, además de la fuente de carbono. La ausencia de alguno de estos nutrientes detiene el crecimiento del hongo, sin embargo este sigue utilizando la fuente de carbono para el mantenimiento celular. En este caso la fuente de nutrientes se encuentra presente en el soporte. Estos nutrientes son adicionados al biofiltro al momento de la puesta en marcha del sistema. Los nutrientes son adsorbidos por el soporte de donde el hongo los utiliza para su crecimiento.

Se consideró que una vez que el nutriente llega a la pared del hongo, este difunde a lo largo de la hifa y es consumido a través de ella junto con la fuente de carbono.

Por simplificación fue considerada que la concentración en la pared del hongo es la que difunde a lo largo de la hifa, esto debido a que el modelo de crecimiento celular utiliza las concentraciones extracelulares. Despreciando la curvatura del sistema ya que los principales efectos de transferencia de materia son apreciados en dirección axial, la ecuación de conservación para la fuente de nitrógeno viene dada por:



$$\frac{\partial C_{NH}}{\partial t} + \frac{\partial N_{NH}}{\partial z_1} = R_{NH} \quad (7.21)$$

Donde  $C_{NH}$  es la concentración de nitrógeno en la pared del hongo,  $N_{NH}$  es la densidad de flujo molar del nitrógeno en la dirección axial de la hifa y  $R_{NH}$  es la velocidad de reacción del nitrógeno. Aplicando la ley de Fick y considerando solo los términos difusivos en la hifa y solución diluida, la ley de Fick se reduce a la siguiente ecuación:

$$N_{NHZ} = -D_{NH} \frac{dC_{NH}}{dz_1} \quad (7.22)$$

Reemplazando el flux (ecuación (7.22)) y el término de velocidad de reacción en el balance de materia (ecuación (7.21)) se obtiene la ecuación que describe la variación de la concentración de la fuente de nitrógeno en la hifa.

$$\frac{\partial C_{NH}}{\partial t} = D_{NH} \frac{\partial^2 C_{NH}}{\partial z_1^2} - \left( \mu_{\max} \left[ \frac{C_{AH}}{C_{AH} + K_{AH} + \frac{C_{AH}^2}{K_I}} \right] \left[ \frac{C_{NH}}{C_{NH} + K_{NH}} \right] \right) \frac{\rho_h}{Y_N} \quad (7.23)$$

Donde,  $D_{NH}$  es el coeficiente de difusión molecular de la fuente de nitrógeno en el hongo;  $Y_N$  es el rendimiento de la fuente de nitrógeno en la célula y  $\rho_h$  es la densidad de la hifa. El primer término representa la acumulación de la fuente de nitrógeno; el primer término luego de la igualdad representa los efectos difusionales y el último término representa la velocidad de reacción. Las condiciones de fronteras y la condición inicial para esta ecuación son las siguientes:

$$C.I \quad t = 0 \quad C_{NH} = C_{NH_0} \quad (7.24)$$

$$C.F.1 \quad z_1 = 0 \quad C_{NH} = K_{eq2} C_{NL} \quad (7.25)$$

$$C.F.2 \quad z_1 = L_h(t) \quad \frac{\partial C_{NH}}{\partial z_1} = 0 \quad (7.26)$$

La primera condición de frontera representa el equilibrio existente entre la concentración del nutriente en el líquido adsorbido en el soporte y la concentración del nutriente en la hifa. La segunda condición de frontera indica que no existe flux en el ápice del hongo.

A continuación se muestra la Tabla 7.1 que resume las ecuaciones que definen el modelo y las variables de cada una. De la tabla se puede observar que el sistema de ecuaciones desarrollado que describe el modelo, se encuentra completo, existiendo igual cantidad de variables como de ecuaciones.

**Tabla 7.1** Lista de ecuaciones y variables que describen el sistema desarrollado

Definición	Ecuaciones del modelo	Variables de cada ecuación
Cinética de crecimiento del hongo filamentosos	$\mu = \mu_{\max} \left[ \frac{C_{AH}}{C_{AH} + K_{AH} + \frac{C_{AH}^2}{K_I}} \right] \left[ \frac{C_{NH}}{C_{NH} + K_{NH}} \right]$	$C_{AH}$ y $C_{NH}$
Balance global de materia de la fase gaseosa en el biofiltro	$\epsilon_R \left[ \frac{\partial C_{Ab}}{\partial t} + v_g \frac{\partial C_{Ab}}{\partial z} - D_{Dz} \left( \frac{\partial^2 C_{Ab}}{\partial z^2} \right) \right] = \epsilon_R \left[ k_g a_v (C_{Ab} - C_{AG} _{r_i}) \right]$	$C_{AB}$ y $C_{AG}$
Determinación de CAG en la película de gas	$\frac{\partial C_{AG}}{\partial t} + v_{gr} \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} + \frac{v_{g\theta}}{r} \frac{\partial C_{AG}}{\partial \theta} = D_g \left[ \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial C_{AG}}{\partial r} \right) \right]$ $C_{AH} = K_{eq1} C_{AG} _{r_i}$	$C_{AG}$ , $C_{AH}$
Balance de materia del nutriente	$\frac{\partial C_{NH}}{\partial t} = D_{NH} \frac{\partial^2 C_{NH}}{\partial z_1^2} - \left( \mu_{\max} \left[ \frac{C_{AH}}{C_{AH} + K_{AH} + \frac{C_{AH}^2}{K_I}} \right] \left[ \frac{C_{NH}}{C_{NH} + K_{NH}} \right] \right) \frac{\rho_h}{Y_N}$	$C_{NH}$ y $C_{AH}$
<b>Total</b>	4 ecuaciones	4 variables

## 7.4 ADIMENSIONALIZACIÓN DEL MODELO

Para simplificar el modelo propuesto, este fue trabajado en estado pseudo-estacionario. Esto es posible debido a que el tiempo característico de operación del biofiltro y crecimiento de la biomasa son mucho mayores a los tiempos en que ocurren los fenómenos de transporte en el interior del biorreactor.

### 7.4.1 Adimensionalización de la ecuación de crecimiento

A continuación se muestran las variables adimensionales definidas para la concentración de la fuente de nitrógeno en la pared del hongo y la concentración de n-hexano en la fase gaseosa.

$$e_{NH} = \frac{C_{AH}}{C_{NH_0}}; \quad e_{AG} = \frac{C_{AG}}{C_{Abo}}$$

Reemplazando en la ecuación de velocidad de crecimiento se obtiene la siguiente ecuación:

$$\mu = \mu_{\max} \times \left[ \frac{e_{AG}}{e_{AH} + K_1 + \frac{e_{AG}^2}{K_1^*}} \right] \left[ \frac{e_{NH}}{e_{NH} + K_2} \right] \quad (7.27)$$

Donde:  $K_1 = \frac{K_{AH}}{C_{Abo} K_{eq1}}; \quad K_2 = \frac{K_{NH}}{C_{NLo} K_{eq2}}; \quad \frac{1}{K_1^*} = \frac{K_{eq1} C_{Abo}}{K_1}$

### 7.4.2 Adimensionalización balance de materia global de la fase gaseosa en el biofiltro

A continuación se muestran las variables adimensionales definidas para el balance de materia global en la fase gaseosa: concentración de n-hexano en el seno del gas, altura del biofiltro de lecho fijo y concentración de n-hexano en la película de gas.

$$e_{Ab} = \frac{C_{Ab}}{C_{Abo}}; \quad Z = \frac{z}{H}; \quad e_{AG} = \frac{C_{AG}}{C_{Abo}}$$

Reemplazando y reordenando en el balance de materia y las condiciones de frontera e inicial se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$\frac{\partial \mathbf{e}_{Ab}}{\partial Z} - \frac{1}{\text{Pe}_1} \left( \frac{\partial^2 \mathbf{e}_{Ab}}{\partial Z^2} \right) = S_t (\mathbf{e}_{Ab} - \mathbf{e}_{AG}) \quad (7.28)$$

$$\text{C.F.1} \quad Z=0 \quad \mathbf{e}_{Ab}|_Z = \mathbf{e}_{Ab}|_{Z+\Delta Z} - \frac{1}{\text{Pe}_1} \frac{\partial \mathbf{e}_{Ab}}{\partial Z} \Big|_{Z+\Delta Z} \quad (7.29)$$

$$\text{C.F.2} \quad Z=1 \quad \frac{\partial \mathbf{e}_{Ab}}{\partial Z} = 0 \quad (7.30)$$

$$\text{Donde:} \quad \text{Pe}_1 = \frac{H v_g}{D_{Dz}} = \text{Número de Peclet} \quad S_t = \frac{k_g a_v H}{v_g} = \text{Número de Stanton}$$

Siendo el número de Peclet la razón entre el transporte por convección del gas en el seno del fluido y el transporte debido a fenómenos de difusión. El número de Stanton muestra la razón entre el transporte en la película de gas y el transporte del contaminante en el seno del gas.

### 7.4.3 Adimensionalización del balance de materia en la película de gas

A continuación se muestran las variables adimensionales definidas para el balance de materia en la película de gas alrededor de la hifa: concentración de n-hexano en la película de gas, radio de la hifa y largo de la hifa.

$$\mathbf{e}_{AG} = \frac{C_{AG}}{C_{Ab0}}; \quad \xi = \frac{r}{r_1}; \quad \lambda(t) = \frac{L_h(t)}{2r_1}$$

Reemplazando en el balance de materia, condiciones de frontera e inicial se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$\cos\theta \left[ 1 + \frac{1}{\xi^2} \right] \frac{\partial \mathbf{e}_{AG}}{\partial \xi} + \frac{\sin\theta}{\xi} \left[ \frac{1}{\xi^2} - 1 \right] \frac{\partial \mathbf{e}_{AG}}{\partial \theta} = \frac{1}{\text{Pe}_2} \left[ \frac{1}{\xi} \frac{\partial}{\partial \xi} \left( \xi \frac{\partial \mathbf{e}_{AG}}{\partial \xi} \right) \right] \quad (7.31)$$

$$\text{C.F.1.} \quad \xi = \infty \quad \mathbf{e}_{AG} = \frac{C_{Ab}}{C_{Ab0}} \quad (7.32)$$

$$\text{C.F.2. } \xi = 1 \quad -\frac{\partial e_{AG}}{\partial \xi} = \left[ w_1 \times \left( \frac{e_{AG}}{e_{AG} + K_1 + \frac{e_{AG}^2}{K_1^*}} \right) \left( \frac{e_{NH}}{e_{NH} + K_2} \right) + w_2 \right] \times \lambda(t) \quad (7.33)$$

$$\text{C.F.3. } \theta = 0 \quad e_{AG} = \frac{C_{AG}}{C_{Abo}} \quad (7.34)$$

$$\text{C.F.4. } \theta = \frac{\pi}{2} \quad e_{AG} = \frac{C_{AG}}{C_{Abo}} \quad (7.35)$$

$$\text{Donde: } Pe_2 = \frac{\Gamma_1 V_g}{D_g} = \text{Número de Peclet} \quad w_1 = \frac{\mu_{\max}}{Y_A} \times \frac{\rho_h 4\pi r_1^3}{\delta_h D_g C_{Abo}}; \quad w_2 = m_C \times \frac{\rho_h 4\pi r_1^3}{\delta_h D_g C_{Abo}}$$

$$K_1 = \frac{K_{AH}}{C_{Abo} K_{eq1}}; \quad K_2 = \frac{K_{NH}}{C_{NLo} K_{eq2}}; \quad \frac{1}{K_1^*} = \frac{K_{eq1} C_{Abo}}{K_1}$$

Siendo el número de Peclet la razón entre el transporte por convección en la película de gas y el transporte debido a fenómenos de difusión.

#### 7.4.4 Adimensionalización del balance de materia del nutriente

A continuación se muestran las variables adimensionales utilizadas para la ecuación de balance de materia del nutriente: largo de la hifa, tiempo de transporte y crecimiento de la hifa, concentración de n-hexano y nutriente.

$$e_{AG} = \frac{C_{AG}}{C_{Abo}}; \quad Z_1 = \frac{z_1}{d_h}; \quad e_{NH} = \frac{C_{NH}}{C_{NHo}}; \quad \tau = \frac{D_{NH} t}{d_h}$$

Reemplazando en el balance de materia, condiciones de frontera e inicial se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$\frac{\partial e_{NH}}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 e_{NH}}{\partial Z_1^2} - \Phi^2 \left[ \frac{e_{AG}}{e_{AG} + K_1 + \frac{e_{AG}^2}{K_1^*}} \right] \left[ \frac{e_{NH}}{1 + e_{NH} \beta} \right] \quad (7.36)$$

$$\text{C.F.1. } Z_1 = 0 \quad e_{NH} = C_{NL} / C_{NL0} \quad (7.37)$$

$$\text{C.F.2. } Z_1 = 1 \quad \frac{\partial e_{NH}}{\partial Z_1} = 0 \quad (7.38)$$

Donde:  $\beta = \frac{1}{K_2}$ ;  $\Phi = L_h \sqrt{\frac{\mu_{\max} \times \rho_h}{Y_N \times D_{NH} \times K_{NH}}}$ ; Número de Thiele

## 7.5 SOLUCIÓN DEL MODELO POR DIFERENCIAS FINITAS

Normalmente cuando se tienen problemas con ecuaciones diferenciales y/o condiciones de frontera no lineales, o cuando el problema está dado por ecuaciones diferenciales acopladas, se recurre a métodos numéricos para su solución. Estos métodos entregan un valor aproximado de la solución en varios puntos del dominio de solución. En el método de diferencias finitas que se implementó en este caso, los puntos de interés se localizan en la intersección de las líneas de malla en el cual es discretizado el problema. En la Figura 7.6 se muestra un esquema de la solución del sistema de ecuaciones del modelo desarrollado.

### 7.5.1 Discretización crecimiento de la hifa

A continuación se muestra la discretización realizada de la ecuación (5.3) que define el crecimiento de la hifa. Para solucionar la sección no lineal de la ecuación, esta fue evaluada en un tiempo anterior “k-1”, siendo k el parámetro que indica el tiempo de iteración del método. Para disminuir el error en la utilización de este método se trabaja con un  $\Delta t$  pequeño.

Se define la primera derivada en el tiempo como:

$$\left( \frac{dL_h}{dt} \right) = \frac{L_h^{k+1} - L_h^k}{\Delta t} \quad (7.39)$$

Reemplazando en la ecuación (5.3) y reordenando se obtiene la ecuación (7.40).

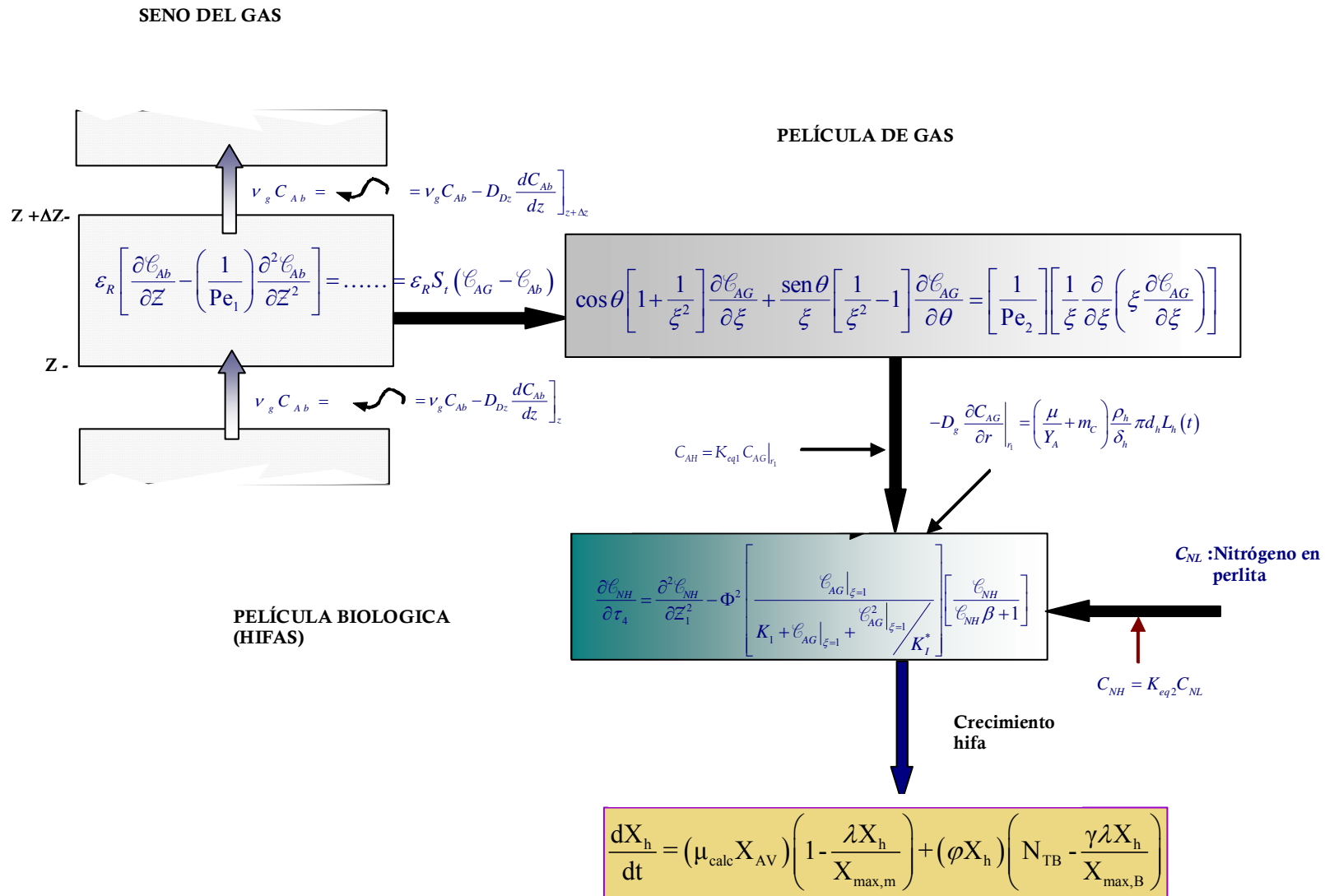


Figura 7.6 Estrategia conceptual de solución del modelo matemático

$$L_{hi}^{k+1} = L_{hi}^k + \Psi_1^{k-1} \left[ 1 - \frac{\lambda L_{hi}^k}{L_{max,m}} \right] + \Psi_2^{k-1} \left[ N_{TR} - \frac{\gamma \lambda L_{hi}^k}{L_{max,B}} \right] \quad (7.40)$$

C.I.  $t = 0 \quad L_h = d_h$  (7.41)

Donde:  $\Psi_1^{k-1} = [\mu^{k-1} L_{AV} \Delta t]$  ;  $\Psi_2^{k-1} = [\phi^{k-1} L_{hi}^{k-1} \Delta t]$

### 7.5.2 Discretización del balance de materia en el seno del gas

En la Figura 7.7 se muestra el esquema de discretización utilizado para las ecuaciones (7.28, 7.29 y 7.30) que define el balance de materia en el seno del gas a lo largo del biofiltro y sus condiciones de frontera.

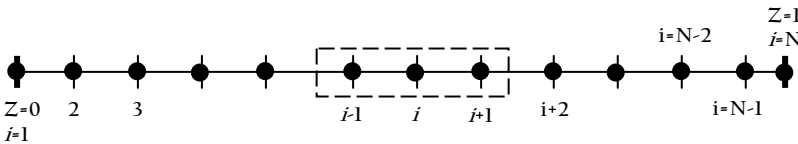


Figura 7.7 Esquema de discretización del balance de materia en el seno del gas.

Para la discretización del balance de materia se define la primera y segunda derivada. Estas definiciones también son utilizadas para la discretización de los demás balances de materia en la película de gas y en la hifa.

*Primera derivada:*

$$\frac{\partial e_{Ab}}{\partial Z} \Big|_i \cong \frac{\alpha_1 e_{Ab}|_{i+1} + \alpha_2 e_{Ab}|_i + \alpha_3 e_{Ab}|_{i-1}}{\alpha_4 (\Delta Z)} \quad (7.42)$$

Donde las  $\alpha$  representan los parámetros involucrados en los tres tipos de discretización posibles; hacia atrás, hacia adelante y centrada, como se muestra en la Tabla 7.2:

Tabla 7.2 Parámetro  $\alpha$  para las diferentes diferenciaciones

Diferenciación finita	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\alpha_4$	$\alpha_5$
Hacia adelante	1	-1	0	0	1
Hacia atrás	0	1	-1	1	0
Centrada	1	0	1	1	1



*Segunda derivada:*

$$\left. \frac{\partial^2 \mathbf{e}_{Ab}}{\partial Z^2} \right|_i = \frac{\mathbf{e}_{Ab}|_{i+1} - 2\mathbf{e}_{Ab}|_i + \mathbf{e}_{Ab}|_{i-1}}{(\Delta Z)^2} \quad (7.43)$$

Reemplazando la primera y segunda derivada en el balance de materia al seno del gas se obtiene la siguiente ecuación:

$$\frac{\alpha_1 \mathbf{e}_{Ab}|_{i+1} + \alpha_2 \mathbf{e}_{Ab}|_i + \alpha_3 \mathbf{e}_{Ab}|_{i-1}}{\alpha_4 (\Delta Z)} - \frac{1}{Pe_1 (\Delta Z)} [\mathbf{e}_{Ab}|_{i+1} - 2\mathbf{e}_{Ab}|_i + \mathbf{e}_{Ab}|_{i-1}] = S_t (\Delta Z) [\mathbf{e}_{AG}|_i - \mathbf{e}_{Ab}|_i] \quad (7.44)$$

Reordenando la ecuación (7.44) a una forma tridiagonal y definiendo  $r_1$ ,  $r_2$ ,  $r_3$  y  $r_4$  se obtiene la ecuación (7.45):

$$r_1 \mathbf{e}_{Ab}|_{i-1} + r_2 \mathbf{e}_{Ab}|_i + r_3 \mathbf{e}_{Ab}|_{i+1} = r_4 \mathbf{e}_{AG}|_i \quad 2 \leq i \leq N - 1 \quad (7.45)$$

Donde:  $r_1 = \left[ \frac{\alpha_3}{\alpha_4} - \frac{1}{(\Delta Z) Pe_1} \right]; \quad r_2 = \left[ \frac{\alpha_2}{\alpha_4} + \frac{2}{(\Delta Z) Pe_1} + S_t (\Delta Z) \right]$

$$r_3 = \left[ \frac{\alpha_1}{\alpha_4} - \frac{1}{(\Delta Z) Pe_1} \right]; \quad r_4 = S_t (\Delta Z)$$

Discretización de las condiciones de frontera:

*Condición de frontera I:*

Para la discretización de esta condición de frontera fue utilizada la representación de la primera deriva en diferencias finitas con diferenciación hacia delante. Reemplazando y ordenado se obtiene la siguiente condición de frontera discretizada:

$$\mathbf{e}_{Ab}|_1 + \left[ \frac{1 - Pe_1 \Delta Z}{Pe_1 \Delta Z - 1} \right] \mathbf{e}_{Ab}|_2 = 0 \quad i = 1 \quad (7.46)$$

*Condición de frontera 2:*

Para la discretización de esta condición de frontera fue utilizada la representación de la primera derivada en diferencias finitas con diferenciación hacia atrás. Reemplazando y ordenado se obtiene la siguiente condición de frontera discretizada:

$$\mathbf{e}_{Ab}|_N - \mathbf{e}_{Ab}|_{N-1} = 0 \quad i = N \quad (7.47)$$

Ahora reescribiendo el sistema de ecuaciones obtenido en forma de una matriz tridiagonal, para la determinación de la concentración en cada intervalo en el biofiltro, se obtiene la siguiente matriz:

$$\begin{pmatrix} 1 & \left[ \frac{1 - Pe_1 \Delta Z}{Pe_1 \Delta Z - 1} \right] & 0 & \dots & 0 \\ r_1 & r_2 & r_3 & \dots & \vdots \\ 0 & \dots & \ddots & \ddots & 0 \\ \vdots & \dots & r_1 & r_2 & r_3 \\ 0 & \dots & 0 & -1 & 1 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} \mathbf{e}_{Ab}|_1 \\ \mathbf{e}_{Ab}|_2 \\ \vdots \\ \mathbf{e}_{Ab}|_{N-1} \\ \mathbf{e}_{Ab}|_N \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ r_4 \mathbf{e}_{AG}|_2 \\ \vdots \\ r_4 \mathbf{e}_{AG}|_{N-1} \\ 0 \end{pmatrix} \quad (7.48)$$

**7.5.3 Discretización del balance de materia en la película de gas alrededor de la hifa**

Para la discretización del balance a la película de gas (ecuación (7.31)), primero se trabajó con el término no lineal en forma conservativa, de manera de disminuir los errores de aproximación. Esta ecuación fue discretizada en forma general para todos los sistemas coordenados, para posteriormente reducirlo al de interés. Para los términos de la primera y segunda derivada se utilizó las definiciones entregadas en la sección anterior. Para la discretización de la ecuación (7.31) fue utilizado el esquema mostrado en la Figura 7.8.

La discretización es realizada para un “j” constante a diferentes “i”. Entonces el término no lineal obtenido se muestra en la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{\xi^\alpha} \frac{\partial}{\partial \xi} \left( \xi^\alpha \frac{\partial \mathbf{e}_{AG}}{\partial \xi} \right) \Big|_{ij} \cong \frac{1}{(\Delta \xi)^2} \left[ \left( \frac{\xi_{i+\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right)^\alpha \left[ \mathbf{e}_{AG}|_{i+1,j} - \mathbf{e}_{AG}|_{i,j} \right] - \left( \frac{\xi_{i-\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right)^\alpha \left[ \mathbf{e}_{AG}|_{i,j} - \mathbf{e}_{AG}|_{i-1,j} \right] \right] \quad (7.49)$$

Donde  $\alpha$  es el parámetro asociado al sistema coordenado utilizado en la dicretización, como se muestra en la Tabla 7.3.

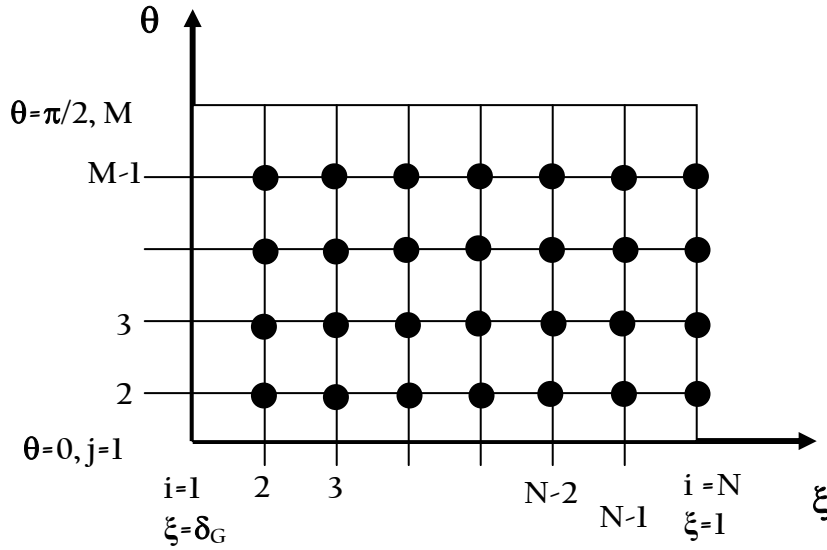


Figura 7.8 Esquema dominio discretizado utilizado para la solución del balance de materia en la película de gas alrededor de la hifa.

Tabla 7.3 Parámetro asociado al sistema de coordenadas

$\alpha$	Sistema de coordenadas
0	Cartesianas
1	Cilíndricas
2	Esféricas

Reemplazando en la ecuación (7.31), la primera derivada y el término no lineal (ecuación (7.49)) para un valor de  $\alpha = 1$  (coordenadas cilíndricas) se obtiene la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned}
 \cos\theta_j \left[ 1 + \frac{1}{\xi_i^2} \right] & \left[ \frac{\alpha_1 \mathbf{e}_{AG}|_{i+1,j} + \alpha_2 \mathbf{e}_{AG}|_{i,j} + \alpha_3 \mathbf{e}_{AG}|_{i-1,j}}{\alpha_4 (\Delta\xi)} \right] + \\
 \frac{\text{sen}\theta_j}{\xi_i} \left[ \frac{1}{\xi_i^2} - 1 \right] & \left[ \frac{\alpha_1 \mathbf{e}_{AG}|_{i,j+1} + \alpha_2 \mathbf{e}_{AG}|_{i,j} + \alpha_3 \mathbf{e}_{AG}|_{i,j-1}}{\alpha_4 (\Delta\theta)} \right] \tag{7.50} \\
 & = \frac{1}{\text{Pe}_2} \left[ \frac{1}{(\Delta\xi)^2} \left[ \left( \frac{\xi_{i+\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right) \left[ \mathbf{e}_{AG}|_{i+1,j} - \mathbf{e}_{AG}|_{i,j} \right] - \left( \frac{\xi_{i-\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right) \left[ \mathbf{e}_{AG}|_{i,j} - \mathbf{e}_{AG}|_{i-1,j} \right] \right] \right]
 \end{aligned}$$

Reordenando la ecuación (7.50) y definiendo las variables  $A_{ij}$ ,  $B_{ij}$ ,  $C_{ij}$  y  $D_{ij}$  se obtuvo la siguiente ecuación en forma tridiagonal.

$$A_{ij} \mathbf{e}_{AG}^{k,cal} \Big|_{i-1,j} + B_{ij} \mathbf{e}_{AG}^{k,cal} \Big|_{i,j} + C_{ij} \mathbf{e}_{AG}^{k,cal} \Big|_{i+1,j} = D_{ij} \left( \alpha_1 \mathbf{e}_{AG}^k \Big|_{i,j+1} + \alpha_3 \mathbf{e}_{AG}^k \Big|_{i,j-1} \right) \quad 1 < i < N - 1 \quad (7.51)$$

Donde:

$$A_{ij} = \cos \theta_j \left[ 1 + \frac{1}{\xi_i^2} \right] \left( \frac{\alpha_3}{\alpha_4} \right) - \frac{1}{\text{Pe}_2(\Delta \xi)} \left( \frac{\xi_{i-\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right)$$

$$B_{ij} = \cos \theta_j \left[ 1 + \frac{1}{\xi_i^2} \right] \left( \frac{\alpha_2}{\alpha_4} \right) + \frac{\text{sen} \theta_j}{\xi_i} \left[ \frac{1}{\xi_i^2} - 1 \right] \left( \frac{\alpha_2 \Delta \xi}{\alpha_4 \Delta \theta} \right) + \frac{1}{\text{Pe}_2(\Delta \xi)} \left( \frac{\xi_{i+\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right) + \frac{1}{\text{Pe}_2(\Delta \xi)} \left( \frac{\xi_{i-\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right)$$

$$C_{ij} = \cos \theta_j \left[ 1 + \frac{1}{\xi_i^2} \right] \left( \frac{\alpha_1}{\alpha_4} \right) - \frac{1}{\text{Pe}_2(\Delta \xi)} \left( \frac{\xi_{i+\frac{1}{2}}}{\xi_i} \right)$$

$$D_{ij} = -\frac{\text{sen} \theta_j}{\xi_i} \left[ \frac{1}{\xi_i^2} - 1 \right] \frac{\Delta \xi}{\alpha_4 \Delta \theta}$$

*Condición de frontera 1:*

$$\xi = \infty \quad \mathbf{e}_{AG}^{k,cal} \Big|_{1,j} = \frac{C_{Ab}}{C_{Abo}} \quad i = 1 \quad (7.52)$$

*Condición de frontera 2:*

Para la discretización de la condición de frontera 2 fue utilizada la diferenciación hacia atrás y para la parte no lineal la evaluación al tiempo anterior “k-1”.

$$-\mathbf{e}_{AG}^{k,cal} \Big|_{N-1,j} + \left( 1 + \Omega_N^{k-1} \lambda^{k-1} \right) \mathbf{e}_{AG}^{k,cal} \Big|_{N,j} = -w_2 \Delta \xi \lambda^{k-1} \quad i = N \quad (7.53)$$

Ahora reescribiendo el sistema de ecuaciones en forma de una matriz tridiagonal, se obtiene la siguiente matriz:

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ A_{ij} & B_{ij} & C_{ij} & \dots & \vdots \\ 0 & \dots & \ddots & \ddots & 0 \\ \vdots & \dots & A_{N-1,j} & B_{N-1,j} & C_{N-1,j} \\ 0 & \dots & 0 & -1 & (1 + \Omega_N^{k-1} \lambda^{k-1}) \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} \mathbf{e}_{AG}|_1 \\ \mathbf{e}_{AG}|_2 \\ \vdots \\ \mathbf{e}_{AG}|_{N-1} \\ \mathbf{e}_{AG}|_N \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} C_{Ab}/C_{Abo} \\ D_{ij} (\alpha_1 \mathbf{e}_{AG}^k|_{i,j+1} + \alpha_3 \mathbf{e}_{AG}^k|_{i,j-1}) \\ \vdots \\ D_{ij} (\alpha_1 \mathbf{e}_{AG}^k|_{N,j+1} + \alpha_3 \mathbf{e}_{AG}^k|_{N,j-1}) \\ -w_2 \Delta \xi \lambda^{k-1} \end{pmatrix} \quad (7.54)$$

### 7.5.4 Discretización del balance de materia difusión y reacción de la fuente de nitrógeno

Se implementó el método de diferencias finitas con cambio de espaciamento a la ecuación (7.36) y la discretización fue llevada acabo alrededor del nodo “i”, como se muestra en el esquema de la Figura 7.9.

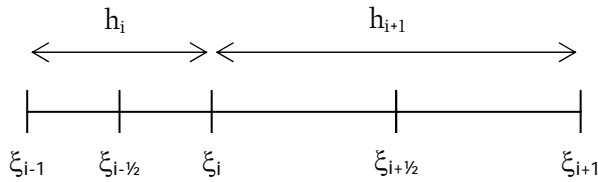


Figura 7.9 Esquema discretización alrededor del nodo “i”.

Para la discretización de la ecuación de difusión-reacción de la fuente de nitrógeno a lo largo de la hifa, fue utilizado el método de Crack-Nicholson con malla variable. Aplicando el método a la ecuación (7.36) para cualquier sistema coordenado, definido por  $\alpha$ :

$$\left[ \frac{\partial \mathbf{e}_{NH}}{\partial \tau} \right]_i^{k+\frac{1}{2}} = \left[ \frac{1}{\xi^\alpha} \frac{\partial}{\partial \xi} \left( \xi^\alpha \frac{\partial \mathbf{e}_{NH}}{\partial \xi} \right) \right]_i^{k+\frac{1}{2}} - \Phi^2 \left( \frac{\mathbf{e}_{AG}}{\mathbf{e}_{AG} + K_1 + \frac{\mathbf{e}_{AG}^2}{K_I^*}} \right)_i^k \left( \frac{\mathbf{e}_{NH}|_i^{k+\frac{1}{2}}}{\mathbf{e}_{NH}|_i^k \beta + 1} \right) \quad (7.55)$$

Mientras que la derivada temporal fue definida de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\left[ \frac{\partial \mathbf{e}_{NH}}{\partial \tau} \right]_i^{k+\frac{1}{2}} = \frac{\mathbf{e}_{NH}|_i^{k+1} - \mathbf{e}_{NH}|_i^k}{\Delta \tau} \quad k \geq 1 \quad e \quad i = 1, 2, \dots, N \quad (7.56)$$

*Término de reacción:*

Para el término de reacción de n-hexano, los valores de la concentración son evaluados en un tiempo anterior “k-1”, resolviendo de esta forma la no linealidad, y aproximando este a un valor constante inmediatamente anterior. Igual aproximación fue realizada para el término de consumo de nitrógeno. De esta forma fue obtenida la siguiente ecuación:

$$\Phi^2 \frac{R_1^k}{\left(\mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k \beta + 1\right)} \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+\frac{1}{2}} \cong (1 - \lambda) \Phi^2 \frac{R_1^k}{\left(\mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k-1} \beta + 1\right)} \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k + \lambda \Phi^2 \frac{R_1^k}{\left(\mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k \beta + 1\right)} \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+1} \quad (7.57)$$

*Término difusivo:*

Para el término difusivo utilizando coordenadas cartesianas ( $\alpha=0$ ) y ordenando, se obtiene la siguiente ecuación para malla variable.

$$\begin{aligned} \left[ \frac{\partial^2 \mathbf{e}_{NH}}{\partial Z_1^2} \right]_i^{k+\frac{1}{2}} &= \frac{(1 - \lambda)}{(h_i + h_{i+1})^2} \left[ \left( \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^k - \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k \right) - \left( \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k - \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^k \right) \right] \\ &+ \frac{\lambda}{(h_i + h_{i+1})^2} \left[ \left( \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^{k+1} - \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+1} \right) - \left( \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+1} - \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^{k+1} \right) \right] \end{aligned} \quad (7.58)$$

Reemplazando cada término en la ecuación (7.36), agrupando términos semejantes y ordenando, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \lambda A_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^{k+1} + [1 + \lambda B_i^k] \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+1} + \lambda C_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^{k+1} &= -(1 - \lambda) A_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^k \\ &- [-1 + (1 - \lambda) B_i^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k - (1 - \lambda) C_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^k \end{aligned} \quad (7.59)$$

Donde:

$$\wp_{2i} = \frac{\Delta \tau}{(h_i + h_{i+1})^2} \quad ; \quad A_i = C_i = -\wp_{2i}$$

$$B_i^k = 2\wp_{2i} + \Phi^2 \Delta \tau \frac{R_1^k}{C_{NH} \Big|_i^k \beta + 1} \quad ; \quad B_i^{k-1} = 2\wp_{2i} + \Phi^2 \Delta \tau \frac{R_1^k}{C_{NH} \Big|_i^{k-1} \beta + 1}$$

$$\text{Condición inicial:} \quad \tau = 0 \quad \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^1 = 0 \quad (7.60)$$

$$\text{Condición de frontera 1:} \quad Z_1 = 0 \quad \mathbf{e}_{NH} \Big|_1^k = \frac{C_{NL}}{C_{NLo}} \quad ; \quad i = 1 \quad (7.61)$$

$$\text{Condición de frontera 2:} \quad Z_1 = \frac{L_h(t)}{d_h} \quad \mathbf{e}_{NH} \Big|_N^k = \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-1}^k \quad ; \quad i=N \quad (7.62)$$

Para cada valor de “k”, la ecuación (7.59) representa un sistema tridiagonal de ecuaciones lineales para los valores de  $\mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^{k+1}$ ,  $\mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+1}$  y  $\mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^{k+1}$ .

Escribiendo la ecuación (7.59) para cada nodo se tiene para  $i = 2, k = 1, 2, \dots$

$$\begin{aligned} [1 + \lambda B_2^k] \mathbf{e}_{NH} \Big|_2^{k+1} + \lambda C_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_3^{k+1} = & -(1 - \lambda) A_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_1^k - [-1 + (1 - \lambda) B_2^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_2^k \\ & - (1 - \lambda) C_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_3^k - \lambda A_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_1^{k+1} \end{aligned} \quad (7.63)$$

Para los nodos  $i = 3, 4, \dots, N - 2, k = 1, 2, \dots$

$$\begin{aligned} \lambda A_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^{k+1} + [1 + \lambda B_i^k] \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^{k+1} + \lambda C_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^{k+1} = & -(1 - \lambda) A_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i-1}^k - [-1 + (1 - \lambda) B_i^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_i^k \\ & - (1 - \lambda) C_i \mathbf{e}_{NH} \Big|_{i+1}^k \end{aligned} \quad (7.64)$$

Para el nodo  $i = N - 1, k = 1, 2, \dots$

$$\begin{aligned} \lambda A_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-2}^{k+1} + [1 + \lambda B_{N-1}^k] \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-1}^{k+1} = & -(1 - \lambda) A_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-2}^k - [-1 + (1 - \lambda) B_{N-1}^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-1}^k \\ & - (1 - \lambda) C_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_N^k - \lambda C_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_N^{k+1} \end{aligned} \quad (7.65)$$

Para cada “k”, el sistema de ecuaciones en forma matricial resulta como se muestra a continuación.

$$\begin{pmatrix} 1 + \lambda B_2^k & \lambda C_2 & 0 & \dots & 0 \\ \lambda A_3 & 1 + \lambda B_3^k & \lambda C_3 & \ddots & \vdots \\ 0 & \ddots & \ddots & \ddots & 0 \\ \vdots & \ddots & \lambda A_{N-2} & 1 + \lambda B_{N-2}^k & \lambda C_{N-2} \\ 0 & \dots & 0 & \lambda A_{N-1} & 1 + \lambda B_{N-1}^k \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{e}_{NH} \Big|_2^{k+1} \\ \mathbf{e}_{NH} \Big|_3^{k+1} \\ \vdots \\ \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-2}^{k+1} \\ \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-1}^{k+1} \end{pmatrix} = - \begin{pmatrix} (1 - \lambda) A_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_1^k + [-1 + (1 - \lambda) B_2^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_2^k + (1 - \lambda) C_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_3^k + \lambda A_2 \mathbf{e}_{NH} \Big|_1^{k+1} \\ (1 - \lambda) A_3 \mathbf{e}_{NH} \Big|_2^k + [-1 + (1 - \lambda) B_3^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_3^k + (1 - \lambda) C_3 \mathbf{e}_{NH} \Big|_4^k \\ \vdots \\ (1 - \lambda) A_{N-2} \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-3}^k + [-1 + (1 - \lambda) B_{N-2}^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-2}^k + (1 - \lambda) C_{N-2} \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-1}^k \\ (1 - \lambda) A_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-2}^k + [-1 + (1 - \lambda) B_{N-1}^{k-1}] \mathbf{e}_{NH} \Big|_{N-1}^k + (1 - \lambda) C_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_N^k + \lambda C_{N-1} \mathbf{e}_{NH} \Big|_N^{k+1} \end{pmatrix} \quad (7.66)$$

### Mallas computacionales variables

Para la malla computacional fue considerada una capa límite de espesor  $\delta$ . La capa límite es la región del dominio en que la solución analítica da un cambio del 90% con respecto al valor de la condición de frontera en  $Z = 1$ . Entonces, la sección de la capa límite (dominio de la capa límite) estará dada por la siguiente ecuación:

$$Z_\delta = Z - \delta \quad (7.68)$$

El espaciamiento de los nodos ( $h_\delta$ ) en el dominio de la capa límite  $[1 - \delta, 1]$  está dado por:

$$h_\delta = \frac{Z - Z_\delta}{N_\delta - 1} \quad (7.69)$$

Donde  $N_\delta$  es el número de nodos en la capa límite. En el resto del dominio  $0 \leq Z \leq 1 - \delta$ , fueron considerados nodos interiores con espaciamiento constante  $h_c$ .

Si  $N_c$  es el número de nodos incluyendo los externos en  $0 \leq Z \leq 1 - \delta$ , el espaciamiento  $h_c$  está dado por la siguiente ecuación:

$$h_c = \frac{Z_\delta}{N_c - 1} \quad (7.70)$$

## 7.6 EFECTO DEL CRECIMIENTO SOBRE LA CAÍDA DE PRESIÓN

La caída de presión en un lecho poroso puede ser relacionada con la velocidad del fluido por la ecuación de Ergun. Si el flujo de gas se encuentra en régimen laminar (ósea cuando el Número de Reynolds de la partícula es  $Re < 1$ , Auria et al., 1993) la ecuación de Ergun se puede reducir a la ecuación de Darcy's [Auria et al., 1995] (ecuación 7.71). Entonces dadas las condiciones de operación del biofiltro estudiado, flujo de aire de  $1.2 \text{ L min}^{-1}$ , tiempo de residencia de 1.3 min, correspondiente a una velocidad superficial de  $27.5 \text{ m h}^{-1}$ , el número de Reynolds en el sistema fue de alrededor de  $1.3 \times 10^{-3} (< 1)$ .

$$\left( \frac{\Delta P}{L} \right) = \alpha v_g = \left( \frac{1}{K} \right) v_g \quad (7.71)$$



Donde  $K$  es la conductividad hidráulica;  $\Delta P$ , es la caída de presión entre la entrada y salida del medio poroso (cm);  $L$ , longitud del empaque (cm);  $v_g$  es la velocidad superficial del fluido ( $\text{cm s}^{-1}$ ) y  $\alpha$  es una constante de proporcionalidad.

La ecuación (7.71) es válida para líquidos con densidad constante. Cuando el fluido es un gas, la ecuación puede ser usada considerando un promedio de la densidad del gas entre la entrada y salida. La permeabilidad intrínseca,  $k$ , es definida como:

$$k = \frac{K\mu_f}{\rho_g g} \quad (7.72)$$

Donde  $\rho_g$ , es la densidad del gas ( $\text{g cm}^{-3}$ );  $g$ , es la aceleración de gravedad ( $\text{cm s}^{-2}$ ) y  $\mu_f$ , es la viscosidad dinámica del fluido ( $\text{g cm}^{-1} \text{s}^{-1}$ ). La permeabilidad intrínseca en un medio poroso puede ser definida con la ecuación (7.73) [Auria et al., 1993]:

$$k = \frac{\epsilon_R^3 d_E^2}{72\zeta^2 (1 - \epsilon_R)^2} \quad (7.73)$$

Donde:  $\zeta$ , es el factor de tortuosidad (1.58 para esferas);  $\epsilon_R$ , es la fracción de vacío y  $d_E$  es el diámetro medio del soporte.

Durante el crecimiento de los hongos, la permeabilidad del medio cambia debido a los cambios en la fracción del vacío en el reactor, generando un aumento en la caída de presión del sistema.

### 7.6.1 Variación de la fracción de vacío

La fracción de vacío en el reactor cambia en el tiempo, debido al crecimiento de los micelios aéreos. Esta fracción de vacío puede ser evaluada como una función de la variación del largo total de las hifas en el reactor de acuerdo a la ecuación (7.74):

$$\epsilon_R = \frac{\text{volumen vacío en el reactor}}{\text{volumen total del reactor}} = \frac{V_R - (V_E + V_{\text{Tot(H)}})}{V_R} \quad (7.74)$$

Donde,  $V_R$  es el volumen total de reactor;  $V_E$  es el volumen total del empaque (soporte) utilizado y  $V_{\text{Tot(H)}}$  es el volumen total ocupado por el hongo en el reactor. Considerando que las hifas poseen una forma regular cilíndrica fue obtenida la siguiente ecuación:

$$\varepsilon_R(t) = \frac{V_R - [V_E + d_h^2 L_{Tot(R)}(t)]}{V_R} \quad (7.75)$$

Donde,  $d_h$  es el diámetro de la hifa y  $L_{Tot(R)}(t)$  es el largo de la hifa en el tiempo.

## 7.7 COEFICIENTES DE DIFUSIÓN Y TRANSFERENCIA DE MATERIA

### 7.7.1 Estimación del coeficiente de difusión molecular del gas

La difusión molecular del gas,  $D_g$ , fue determinada utilizando la correlación de Fuller et al. [1966]. Esta ecuación utiliza los volúmenes de difusión atómicos, los cuales son sumados para cada molécula de gas [Lobo, 2004; Taylor y Krishna, 1993] (Anexo Ñ).

### 7.7.2 Estimación del coeficiente de difusión de la fuente de nitrógeno en líquido

Como una aproximación, la difusión molecular de la fuente de nitrógeno ( $\text{NaNO}_3$ ) en la biopelícula fue determinada considerando su difusión en medio líquido,  $D_{NH}$ , utilizando la correlación de Nernts-Haskell para difusión de soluciones de electrolitos [Lobo, 2004] (Anexo O).

### 7.7.3 Estimación del coeficiente de transferencia de materia

El coeficiente de transferencia de materia en la fase gaseosa fue determinado de acuerdo a Harmants y Tramper [1991]. Ellos utilizaron el procedimiento mostrado en el Anexo P para determinar el coeficiente de transferencia de materia para un biofiltro de lecho escurrido tratando diclorometano en fase gaseosa. Esta estimación esta basada en la utilización de la relación de los números adimensionales Reynolds ( $Re$ ), Sherwood ( $Sh$ ) y Schimdt ( $Sc$ ).

## NOMENCLATURA MODELO MATEMÁTICO

- $a_v$  : Área por unidad de volumen del soporte y biomasa, [ $L^2/L^3$ ]
- $C_{Ab}$  : Concentración de COV (n-hexano) en el seno del gas, [ $M/L^3$ ]
- $C_{Abo}$  : Concentración inicial de COV (n-hexano) en el seno del gas, [ $M/L^3$ ]
- $C_{AG}$  : Concentración de COV (n-hexano) en la película de gas, [ $M/L^3$ ]
- $C_{AH}$  : Concentración de COV extracelular (en la pared de la hifa), [ $M/L^3$ ]
- $C_{NH}$  : Concentración de la fuente de nitrógeno en la hifa, [ $M/L^3$ ]
- $C_{NL}$  : Concentración de la fuente de nitrógeno en el líquido, [ $M/L^3$ ]

$C_{NLo}$  : Concentración de la fuente de nitrógeno inicial en el líquido,  $[M/L^3]$   
 $d_h$  : Diámetro promedio de las hifas,  $[L]$   
 $D_{Dz}$  : Coeficiente de dispersión axial,  $[L^2/T]$   
 $D_R$  : Coeficiente de dispersión radial,  $[L^2/T]$   
 $D_g$  : Difusividad del COV (n-hexano),  $[L^2/T]$   
 $D_{NH}$  : Difusividad de la fuente de nitrógeno en la hifa,  $[L^2/T]$   
 $H$  : Altura del biofiltro,  $[L]$   
 $k_g$  : Coeficiente de transferencia de materia del gas,  $[1/T]$   
 $K_{AH}$  : Constante de afinidad del COV (n-hexano),  $[M/L^3]$   
 $K_{NH}$  : Constante de afinidad de la fuente de nitrógeno,  $[M/L^3]$   
 $K_I$  : Constante de inhibición del COV,  $[M/L^3]$   
 $K_{eq1}$  : Constante de equilibrio de n-hexano/pared hifas  
 $K_{eq2}$  : Constante de equilibrio de la fuente de nitrógeno/pared hifas  
 $L_{av}$  : Longitud media de los segmentos de hifa,  $[L]$   
 $L_{max,m}$  : Longitud distal máxima promedio de la hifa individual,  $[L]$   
 $L_{max,B}$  : Longitud distal máxima promedio de las ramificaciones,  $[L]$   
 $L_C$  : Longitud crítica de ramificación,  $[L]$   
 $L_o$  : Longitud inicial de la hifa,  $[L]$   
 $L_h$  : Longitud total individual de las hifas,  $[L]$   
 $L_{h,m}$  : Longitud individual de las hifas principales,  $[L]$   
 $L_{hi}$  : Longitud de las ramificaciones,  $[L]$   
 $L_{h,Total}$  : Longitud total de las hifas,  $[L]$   
 $m_C$  : Coeficiente de mantenimiento celular,  $[1/T]$   
 $N_A$  : Densidad de flujo molar del COV,  $[M/[L^2T]]$   
 $N_{NH}$  : Densidad de flujo molar de la fuente de nitrógeno,  $[M/[L^2T]]$   
 $N_{TB}$  : Numero de ramificaciones en la hifa individual  
 $N_{t,i}$  : Número total de puntas en una hifa individual  
 $N_0$  : Número inicial de esporas  
 $r$  : Coordenada radial  
 $R$  : Velocidad de reacción,  $[M/[L^3T]]$   
 $t$  : Tiempo de operación del biofiltro y crecimiento del hongo,  $[T]$

$u_r$	: Velocidad de crecimiento apical del micelio, [L/T]
$u_{rB}$	: Velocidad de extensión lineal de las ramificaciones, [L/T]
$V_{\text{Tot(H)}}$	: Volumen total ocupado por la hifas aéreas en el reactor, [L <sup>3</sup> ]
$V_R$	: Volumen total de reactor, [L <sup>3</sup> ]
$V_E$	: Volumen total del empaque (soporte), [L <sup>3</sup> ]
$v_g$	: Velocidad longitudinal (o intersticial) promedio de la fase gaseosa, [L/T]
$u_g$	: Velocidad en la película de gas, [L/T]
$x$	: Coordenada x del sistema cartesiano, [L]
$y$	: Coordenada x del sistema cartesiano, [L]
$Y_A$	: Rendimiento celular del COV (n-hexano), [M/M]
$Y_N$	: Rendimiento celular de la fuente de nitrógeno, [M/M]
$z$	: Coordenada axial, [L]

### *Símbolos*

$\alpha$	: Constante de proporcionalidad
$\beta$	: Constante de proporcionalidad
$\rho_h$	: Densidad de la hifa, [M/L <sup>3</sup> ] [ $1.1 \times 10^{-9}$ mg $\mu\text{m}^{-3}$ ]
$\rho_g$	: Densidad del gas (considerado aire = $1.16 \times 10^{-6}$ kg $\text{cm}^{-3}$ ), [M/L <sup>3</sup> ]
$\mu$	: Velocidad específica de crecimiento, [1/T]
$\mu_g$	: Viscosidad del fluido ( $1.083 \times 10^{-5}$ kg $\text{cm}^{-1} \text{min}^{-1}$ ), [M/L T]
$\mu_{\text{max}}$	: Velocidad específica de crecimiento máxima, [1/T]
$\varphi$	: Frecuencia de ramificación, [1/T]
$\delta_g$	: Espesor de la película de gas, [L]
$\varepsilon_R$	: Fracción de vacío en el reactor
$\gamma$	: Factor de tortuosidad
$\theta$	: Coordenada angular
$\gamma$	: Constante de proporcionalidad de las ramificaciones
$\lambda$	: Fracción de hifa principal
$\tau$	: Tiempo a la longitud crítica de ramificación

# CAPITULO OCHO

## RESULTADOS Y DISCUSIONES V:

### Validación Experimental del Modelado Matemático

“La mayoría de las ideas fundamentales en la ciencia son esencialmente sencillas y, por regla general pueden ser expresadas en un lenguaje comprensible para todos”. *A. Einstein*

---

Para la simulación y verificación experimental del modelo desarrollado en el Capítulo siete (Desarrollo del Modelo Matemático) se utilizaron los valores experimentales obtenidos en el Capítulo cuatro (Parámetros Físicoquímicos y Cinéticos), Capítulo cinco (Estudio Morfológico de *Fusarium solani*) y los resultados del biofiltro B1 del Capítulo seis (Biofiltración de n-Hexano).

#### 8.1 PARÁMETROS FÍSICOS DEL MODELO

##### 8.1.1 Coeficiente de difusión de la fuente de nitrógeno en agua

Utilizando la ecuación de Nerst-Haskell (Anexo O) y los datos mostrados en la Tabla 8.1 fue determinado el coeficiente de difusión de  $\text{NaNO}_3$  en agua. El resultado es mostrado en el resumen de la Tabla 8.5.

Tabla 8.1 Datos utilizados en la determinación del coeficiente de difusión de la fuente de nitrógeno.

Parámetro	Símbolo	Valor	Unidad	Referencia
Temperatura	T	303.5	K	---
Constante de gases ideales	R	8.315	Joule/(K mol)	Perry y Chilton, 1997
Constante de Faraday	Fa	96488	Coulomb/g-equiv.	Lobo, 2004
Conductancia catión	$\lambda_+^0$	50.1	(amp/cm <sup>2</sup> )(Volt/cm)(g-equiv/cm <sup>3</sup> )	Lobo, 2004
Conductancia anión	$\lambda_-^0$	71.4	(amp/cm <sup>2</sup> )(Volt/cm)(g-equiv/cm <sup>3</sup> )	Lobo, 2004
Número de valencia catión	n <sub>+</sub>	1	Adimensional	---
Número de valencia anión	n <sub>-</sub>	1	Adimensional	---

### 8.1.2 Coeficiente de difusión de n-hexano en aire

Utilizando la ecuación de Fuller (Anexo Ñ) y los datos de la Tabla 8.2 fue determinado el coeficiente de difusión de n-hexano en aire. El resultado se muestra en la Tabla 8.5.

Tabla 8.2 Datos utilizados en la determinación del coeficiente de difusión de n-hexano en aire.

Parámetro	Símbolo	Valor	Unidad	Referencia
Temperatura	T	303.5	K	---
Presión	P	1	atm	---
Peso molecular aire	M <sub>A</sub>	28.84	g/mol	calculado
Peso molecular n-hexano	M <sub>B</sub>	86.17	g/mol	calculado
Volumen atómico de difusión C	v <sub>BC</sub>	15.9	cm <sup>3</sup> /mol	Lobo, 2004
Volumen atómico de difusión H	v <sub>BH</sub>	2.31	cm <sup>3</sup> /mol	Lobo, 2004

### 8.1.3 Coeficiente de dispersión axial

Utilizando la ecuación propuesta por Edwards y Richarson [1968] (Anexo Q) y los datos de la Tabla 8.3 fue determinado el coeficiente de dispersión axial, para el biofiltro en estudio. Este coeficiente fue obtenido para los parámetros de operación y dimensiones del biofiltro BI (Capítulo seis). El resultado se muestra en la Tabla 8.5.

Tabla 8.3 Datos utilizados en la determinación del coeficiente de dispersión axial en el biofiltro.

Parámetro	Símbolo	Valor	Unidad	Referencia
Fracción de vacío <sup>(*)</sup>	$\epsilon$	0.685	m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	Determinado en este trabajo
Diámetro de partícula	d <sub>p</sub>	0.004	m	Determinado en este trabajo
Difusividad del n-hexano	D <sub>g</sub>	0.029	m <sup>2</sup> h <sup>-1</sup>	Calculado
Velocidad superficial del gas (empacado)	v <sub>g</sub>	48.91	m h <sup>-1</sup>	Calculado

(\*)  $\epsilon$ =volumen vacío / volumen de lecho

### 8.1.4 Coeficiente de transferencia en la fase gaseosa

El coeficiente de transferencia de materia en fase gaseosa, fue determinado utilizando relaciones entre números adimensional, de acuerdo a Harmants y Tramper [1991] (Anexo P). En la Tabla 8.4 se muestran los datos utilizados para el cálculo. El resultado se muestra en la Tabla 8.5.

Tabla 8.4 Datos utilizados en la determinación del coeficiente de transferencia en fase gaseosa.

Parámetro	Símbolo	Valor	Unidad	Referencia
Densidad fase gaseosa	$\rho_g$	1160	$\text{g m}^{-3}$	Harmants y Tramper [1991]
Diámetro de partícula	$d_p$	0.0024	m	Determinado en este trabajo
Difusividad del n-hexano	$D_g$	0.029	$\text{m}^2 \text{h}^{-1}$	Calculado
Viscosidad dinámica del gas	$\mu_g$	64.98	$\text{g m}^{-1} \text{h}^{-1}$	Harmants y Tramper [1991]
Velocidad superficial del gas	$v_g$	48.91	$\text{m h}^{-1}$	Calculado

### 8.1.5 Resultados parámetros físicos

En la Tabla 8.5 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes coeficientes de difusión y transferencia de materia.

Tabla 8.5 Resultados coeficientes de difusión, dispersión axial y transferencia de materia.

Parámetro	Símbolo	Valor	Unidad
Difusión fuente de nitrógeno/agua	$D_{\text{NaNO}_3}$	$5.746 \times 10^{-6}$	$\text{m}^2 \text{h}^{-1}$
Difusión n-Hexano/aire	$D_{\text{Hex, aire}}$	0.0285	$\text{m}^2 \text{h}^{-1}$
Coefficiente de dispersión axial	$D_{\text{DZ}}$	0.079	$\text{m}^2 \text{h}^{-1}$
Coefficiente de transferencia de materia	$k_g$	36.56	$\text{m h}^{-1}$
Área superficial específica	$a_v$	2542.37 <sup>(*)</sup>	$\text{m}^2 \text{m}^{-3}$

(\*) Esta fue determinada de acuerdo a Geankoplis [2000], suponiendo a la perlita como partículas esféricas.  $a_v$  = área superficie / volumen de sólido.

Como se puede ver de la Tabla 8.5, los valores obtenidos para el coeficiente de difusión de n-hexano en aire son similares a los reportados por Zhu et al. [2004]. Mientras que los valores para el coeficiente de dispersión axial, se encuentran en el mismo rango a los obtenidos para tolueno, xileno y etilbenceno en un biofiltro de lecho fijo por Nguyen et al. [1997].

## 8.2 ESTRATEGIA CONCEPTUAL DE SOLUCIÓN DEL MODELO

Para la solución del modelo matemático, la columna del biofiltro de lecho fijo fue dividida en una serie de pequeñas columnas, las cuales representan un biorreactor en donde fue realizado cada cálculo. El tamaño de cada subdivisión de la columna es función del número de nodos que fueron utilizados para simular el modelo. Entonces los resultados de salida de una subdivisión entregan los resultados de entrada a la subdivisión siguiente.

Para cada subdivisión fueron realizados los cálculos de variación de la concentración de n-hexano en la película de gas alrededor de la hifa y consumo en la pared de la hifa, entregando la eliminación de n-hexano en cada segmento del biofiltro. Luego integrando a lo largo de toda la columna fue obtenido el consumo de n-hexano total en el tiempo y a lo largo del biofiltro. Este cálculo fue realizado junto a la

determinación de la variación del nutriente en cada segmento de biofiltro. Uniendo ambos resultados fue obtenida la elongación de la hifa en el tiempo y su afecto en la fracción de vacío (permeabilidad) y caída de presión en el biofiltro de lecho fijo.

### 8.2.1 Estrategia computacional de solución

Para resolver el sistema de ecuaciones diferenciales parciales que conforman el modelo matemático desarrollado, fue utilizado el lenguaje FORTRAN. El conjunto de programas, esta compuesto de un programa principal y cuatro subprogramas. Además de esto se encuentran los archivos de datos de entrada al programa y la generación de cuatro archivos para la salida de resultados (Anexo R, se muestran los programas más importantes). En la Figura 8.1 se muestra el diagrama de flujo del programa.

#### Programa Principal

En el Programa Principal se definen las variables de entrada que son comunes en todos los sub-programas, luego de esto el programa principal llama al *Subprograma Película* (en donde se obtiene la variación de contaminante en la película alrededor de la hifa). Una vez realizados los cálculos en el *Subprograma Película*, este vuelve al *Programa Principal*. Posteriormente, el *Programa Principal* llama al *Sub-Programa Menu\_LR*, en donde se obtiene la variación de n-hexano en el seno del gas a lo largo del reactor.

A continuación, el *Programa Principal* llama al *Sub-Programa Menu\_Nu*, en el cual se determina la variación de la fuente de nitrógeno en el tiempo. Por último es llamado el *Sub-Programa Menu\_Crecimiento\_Hifa*, en el cual se determina el alargamiento de la hifa en el tiempo, integrando los resultados obtenidos en los *Sub-Programas Película* y *Menu\_Nu*.

Finalmente, realizados todos los cálculos en cada uno de los subprograma, el *Programa Principal* abre los archivos 4,File= 'Largo.Dat' y 6,File= 'Seno Reactor.Dat', en donde son escritos los resultados de interés.

#### Subprograma Película

En este subprograma el primer paso fue seleccionar el tipo de discretización que fue utilizada para los cálculos, esto es: asía adelante, atrás o centrada; para esto se llama a la *Subrutina Metodora*. Luego de ser seleccionado el método, se llama a la *Subrutina Cond\_Inicialra*, la cual asigna y calcula condiciones iniciales y de frontera. Entonces, son llamadas las *Subrutinas ABCRA* y *Calculora* para la determinación de las constantes ABC y los valores independientes de la matriz tridiagonal. Una vez realizados estos cálculos, el programa toma los valores determinados y los ingresa a la *Subrutina Tridiag*, para la solución de la matriz tridiagonal, la cual es un subprograma común para la solución de todas las ecuaciones utilizadas en todos los subprogramas.



### SubPrograma Menu\_LR

Al igual que en el subprograma anterior el primer paso fue seleccionar el tipo de discretización que fue utilizado. Luego de ser seleccionado el método, se llama a la *Subrutina Cond\_Inicial\_LR*, la cual asigna y determina condiciones iniciales y de frontera, además de calcular la variación de los segmentos de discretización a lo largo del reactor. Posteriormente son llamadas las Subrutinas *ABC\_LR* y *Calculo\_LR* para la determinación de las constantes ABC y los valores independientes de la matriz tridiagonal. Una vez realizados estos cálculos, el programa llama a la *Subrutina Tridiag*.

### Subprograma Menu\_Nu

El primer paso de este subprograma es llamar la *Subrutina Datos\_Variable\_Nu* en la cual son leídos todos los datos específicos para este subprograma. Luego el programa llama a la *Subrutina Malla\_Nu*, la cual determina los tamaños de cada una de las mallas utilizadas. Esto debido a que para la solución de la ecuación diferencial, fue utilizada una discretización dividiendo el dominio en dos mallas constantes.

Posteriormente el programa llama a la *Subrutina Met\_Sol\_Nu*, en la cual se entrega la opción de seleccionar el método de solución de la ecuación, ya sea por el método implícito o el método de Crank-Nicholson, en este caso los mejores resultados fueron obtenidos para el método de Crank-Nicholson. Entonces, una vez elegido el método se llama a la *Subrutina ABC\_Nu* y *Subrutina Calculo\_Nu* para calcular los valores de ABC y los valores independientes de la matriz tridiagonal, respectivamente. Luego son llamadas las subrutinas que asignan las condiciones de frontera e inicial (*Subrutina Cond\_Inicial\_Nu* y *Subrutina Cond\_Frontera\_Nu*). Finalmente es llamada la *Subrutina Tridiag* para realizar el cálculo de la matriz tridiagonal.

### Subprograma Menu\_Crecimiento\_Hifa

Este subprograma esta compuesto de un cuerpo principal, en el cual inicialmente se ingresan los parámetros utilizados en la simulación. Luego el subprograma adquiere los datos de las concentraciones de n-hexano y fuente de nutriente en el tiempo de los *Subprogramas Pelicula* y *Menu\_Nu*. Con estos valores se determina la variación de la velocidad específica de crecimiento, frecuencia de ramificación y alargamiento de la hifa.

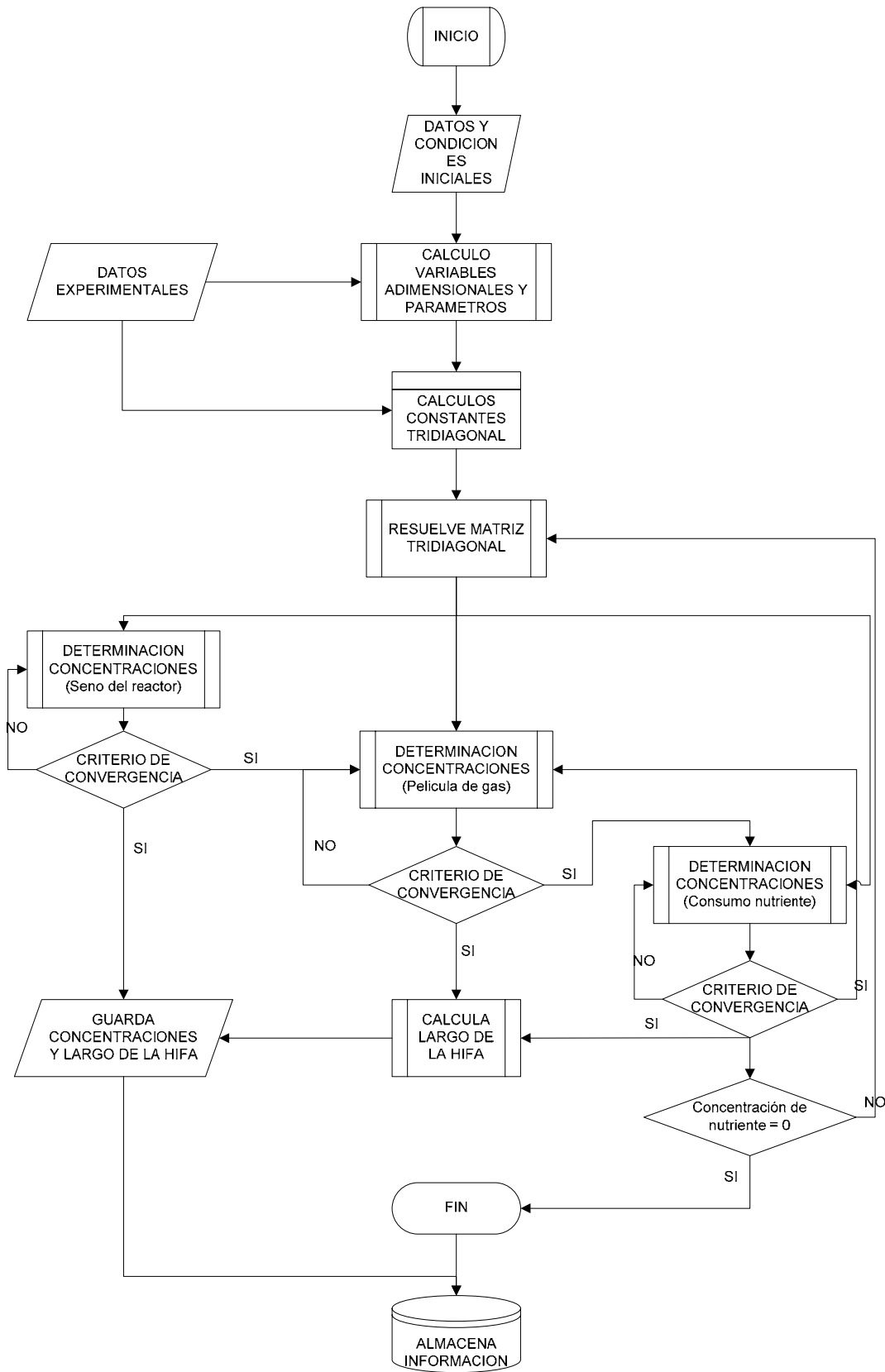


Figura 8.1 Diagrama de flujo del programa

## 8.3 VERIFICACIÓN EXPERIMENTAL Y SIMULACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO

Para la validación del modelo matemático fueron utilizados los resultados del biofiltro B1 para la eliminación de n-hexano del Capítulo seis. El sistema de biofiltración utilizado, corresponde a una columna de vidrio de 1 m con un diámetro interno de 0.07 m, la cual fue separada en tres etapas de igual tamaño.

Los biofiltros fueron empacados con 2.5 L de perlita (con una fracción de vacío de 68% y tamaño de partícula entre 3.4 y 4.8 mm).

El aire saturado con n-hexano fue mezclado con aire húmedo proveniente del humidificador y posteriormente introducido por el tope del biofiltro con un flujo de  $1.2 \text{ L min}^{-1}$ . El flujo utilizado correspondió a un tiempo de residencia en el lecho vacío de 1.3 min, trabajando a una carga de entrada de n-hexano de  $325 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ .

### 8.3.1 Verificación del modelo matemático

Las Figuras 8.2, 8.3, 8.4 y 8.5 muestran las comparaciones entre los resultados experimentales obtenidos en el biofiltro y la predicción del modelo desarrollado. Además, se muestran algunas simulaciones en las cuales se indica algunos de los rangos de operación en los cuales es posible establecer el trabajo del sistema de biofiltración.

#### Capacidad de eliminación (CE)

La Figura 8.2 muestra la comparación entre los datos experimentales de la capacidad de eliminación obtenidos en el biofiltro B1 y la variación de la capacidad de eliminación determinada a través del modelo matemático para diferentes coeficientes de rendimiento celular. Esta última simulación fue realizada para determinar los rangos de variación del rendimiento celular en el proceso de crecimiento de los hongos. La Figura 8.2 fue obtenida con los diferentes balances de materia que determinan la variación de la concentración de n-hexano a lo largo del biofiltro y en el tiempo, además de la ecuación (3.20) que define la capacidad de eliminación del biofiltro de lecho fijo.

Los resultados de la simulación indican que la variación del rendimiento celular durante el proceso de crecimiento debe ser considerada en el modelo, de manera de tener una mejor predicción de los resultados experimentales.

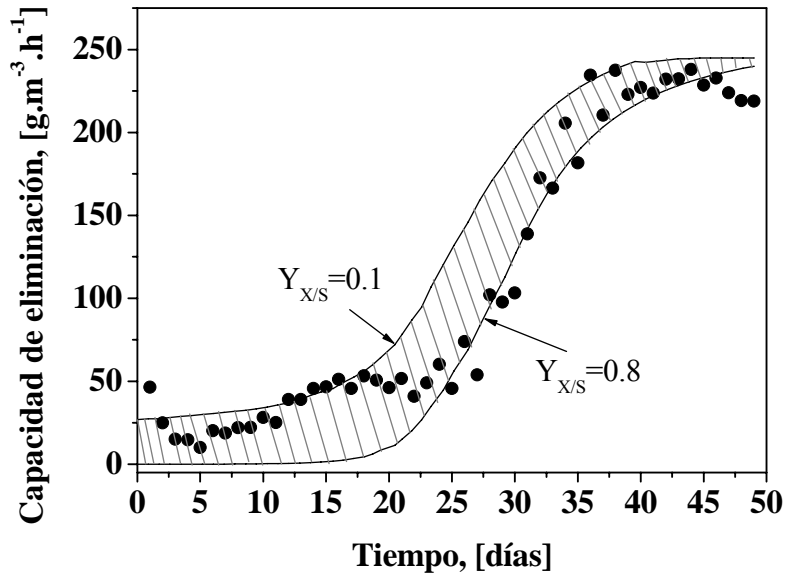


Figura 8.2 Capacidad de eliminación experimental y simulación del modelo matemático. (●) Resultados experimentales y (–) modelo de capacidad de eliminación. Variación de la simulación de la CE para un rango de coeficientes de rendimiento celular de n-hexano en *F. solani* entre 0.1 y 0.8 g<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>. Obtenida con la ecuación (3.20) y (7.4).

Existen dos procesos biológicos que influyen en la biodegradación de n-hexano por el hongo. El primero de ellos es el catabolismo, el cual es un proceso intracelular de degradación del compuesto a productos más simples (ejemplo: glucosa a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O). El catabolismo produce la energía para la célula. El segundo proceso es el anabolismo, el cual envuelve la síntesis de compuestos más complejos (ejemplo: glucosa a glicógeno) y requiere energía.

Estas reacciones que ocurren en las células pueden ser clasificadas en tres categorías: (I) degradación de nutriente, (II) biosíntesis de pequeñas moléculas y (III) biosíntesis de grandes moléculas. Estos pasos ocurren por lo general en forma simultánea, cuando esto sucede se dice que la célula está acoplada energéticamente, entregando como resultado de estas reacciones metabólicas la formación de material para nuevas células. Por otro lado, si existe un desacoplamiento energético en la célula, esto quiere decir que la velocidad a la cual se produce la energía es diferente a la cual crecen las células, el rendimiento celular constante para crecimiento no representa la realidad de la producción de biomasa. Esto podría ser una de las explicaciones de la mayor CE que se observa en la Figura 8.2 con respecto a la predicción del modelo para bajos valores de rendimiento celular cuando comienza la etapa de crecimiento en el hongo. Así también se puede explicar la baja CE obtenida con la simulación durante la etapa de latencia, para altos coeficientes de rendimiento celular. Esta explicación fue verificada variando el rendimiento celular en el hongo y realizando la simulación, en donde la zona achurada entre la línea de

rendimiento celular  $0.1 \text{ g}^{-1} \text{ g}^{-1}$  y la de rendimiento celular  $0.8 \text{ g}^{-1} \text{ g}^{-1}$  indica la posible variación del perfil de CE determinada con el modelo. En la Figura 8.2 se puede apreciar que a medida que el rendimiento celular para crecimiento disminuye, aumenta la CE durante los primeros días de operación, lo cual indica que existe algún grado de desacoplamiento energético en el hongo. Sin embargo, también se puede observar que se produce un desplazamiento de la zona de crecimiento acelerado. Es decir, al considerar un rendimiento celular de  $0.1 \text{ g}^{-1} \text{ g}^{-1}$  inicialmente, estamos considerando que no existe un consumo importante de n-hexano asociado al crecimiento y a medida que aumentamos el rendimiento hasta  $0.8 \text{ g}^{-1} \text{ g}^{-1}$ , se considera que el mayor consumo de n-hexano está dado por el crecimiento.

Posteriormente, cuando la biomasa aumenta (después del día 25) la CE también aumenta, obteniendo un mejor ajuste del modelo teórico para valores de rendimiento celular de  $0.8 \text{ g}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

Los valores máximos obtenidos de CE fueron similares a los obtenidos por Spigno et al. [2003] utilizando el hongo *Aspergillus niger* y mayores a los reportados por Arriaga y Revah [2005a,b] utilizando *Fusarium solani*.

### Perfil de concentración

En la Figura 8.3 se muestra la comparación entre los perfiles de concentración de n-hexano experimentales a lo largo del biofiltro, para diferentes días de operación, con los perfiles entregados por el modelo. Esta figura es obtenida con la ecuación (7.4).

Como se puede observar, el modelo predice bien los perfiles a los diferentes tiempos de operación. Existiendo la mayor diferencia en el primer módulo del biofiltro, en los tres días simulados. Como se puede observar de la Figura 8.3, los datos experimentales y el modelo revelan un perfil de concentración cóncavo a lo largo de la columna, lo cual se aleja de un modelo de dispersión. Esto puede ser explicado parcialmente por el número de Peclet obtenido a las condiciones de trabajo,  $Pe=366$ . Según lo reportado por Spigno et al. [2003] en un biofiltro fúngico para la eliminación de n-hexano, para concentraciones menores a  $9.0 \text{ g m}^{-3}$  y con un número de Peclet mayor de 30 es posible observar el comportamiento mostrado en la Figura 8.3. También es posible observar a más días de operación, que los perfiles de concentración se alejan aun más de un modelo de dispersión, indicando esto un aumento en el número de Peclet generados por la disminución en la fracción de vacío en el lecho.

La brusca caída de la concentración en el primer módulo del biofiltro luego de 48 días de operación, está relacionada a la mayor cantidad de biomasa generada en este módulo (Tabla 6.1 y Figura 8.4), producto de la mayor concentración de n-hexano a la entrada del biofiltro, lo cual favorece la transferencia de materia hacia la biomasa.

La Figura 8.4 muestra el perfil de biomasa obtenido experimentalmente en el biofiltro luego de ser operado durante 48 días. Este fue obtenido con las ecuaciones (7.4) y (5.8) del balance de materia a lo

largo del biofiltro y de la ecuación de elongación de la hifa a partir del estudio morfológico, respectivamente. En este periodo de operación no fue posible obtener muestras de biomasa que permitieran determinar su evolución en el tiempo. Sin embargo, fue realizada una simulación que muestra como esta biomasa fue cambiando en el reactor.

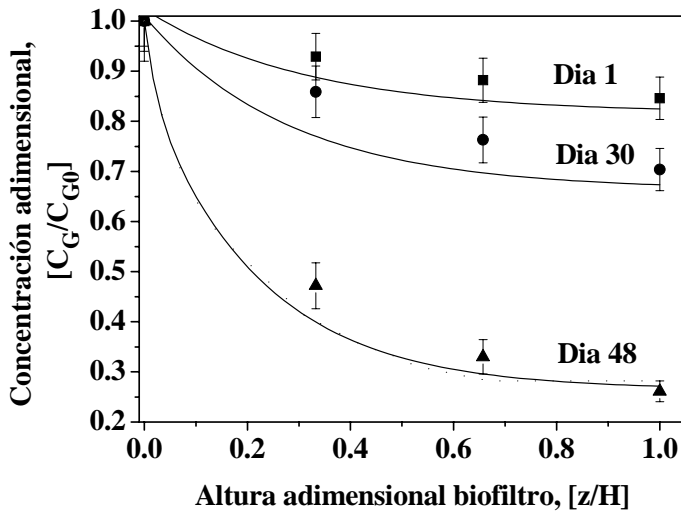


Figura 8.3 Perfiles de concentración de n-hexano a lo largo del biofiltro para diferentes tiempo de operación y su comparación con el modelo. (■) Día 1, (●) día 30, (▲) día 48 y (-) modelo. Obtenida con la ecuación (7.4).

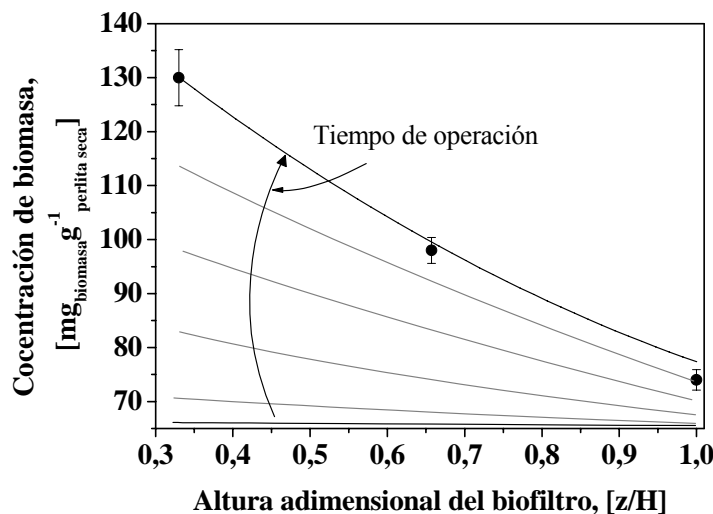


Figura 8.4 Perfil de biomasa a lo largo del biofiltro luego de 48 días de operación y su simulación durante el tiempo de operación. (●) Resultados experimentales, (-) modelo. Obtenido con la ecuación (7.4) y la ecuación (5.8).

Se puede observar que debido a la mayor concentración de n-hexano en el primer módulo del biofiltro, la cantidad de biomasa fue aumentando en el tiempo en mayor grado que en los otros dos módulos. Esto se debe a que a medida que el n-hexano gaseoso pasa a través de la columna y es degradado por el hongo, su concentración disminuye en los siguientes módulos, reduciendo de esta forma la transferencia de materia hacia el hongo y por lo tanto su disponibilidad para ser utilizado para crecimiento.

La Figura 8.4 indica la buena predicción de este perfil de biomasa final por el modelo matemático desarrollado, existiendo una pequeña desviación en el último módulo.

### Caída de presión

La Figura 8.5 muestra la comparación de los resultados experimentales de la caída de presión ( $\Delta P$ ) en el biofiltro y la predicción del modelo. Esta figura fue obtenida con las ecuaciones (5.8) de elongación de la hifa y la ecuación (7.71) que corresponde a la ecuación de Darcy's, que es relacionada con el cambio en la fracción de vacío en el biofiltro de lecho fijo.

De la Figura 8.5 se puede observar la buena predicción realizada por el modelo, la cual se aproxima muy bien a la realidad física. Sin embargo, en los primeros días de operación, antes de obtener un crecimiento importante de la biomasa la  $\Delta P$  no fue bien determinada por el modelo, esto se debe presumiblemente al líquido estático presente en el lecho necesario para mantener la humedad del sistema, el cual no fue incluido en el modelo, situación también observada en el modelo desarrollado por Iliuta y Karachi [2004]. La  $\Delta P$  final obtenida fue similar a la reportada previamente por Arriaga y Revah [2005b] para un biofiltro fúngico utilizado para la eliminación de n-hexano.

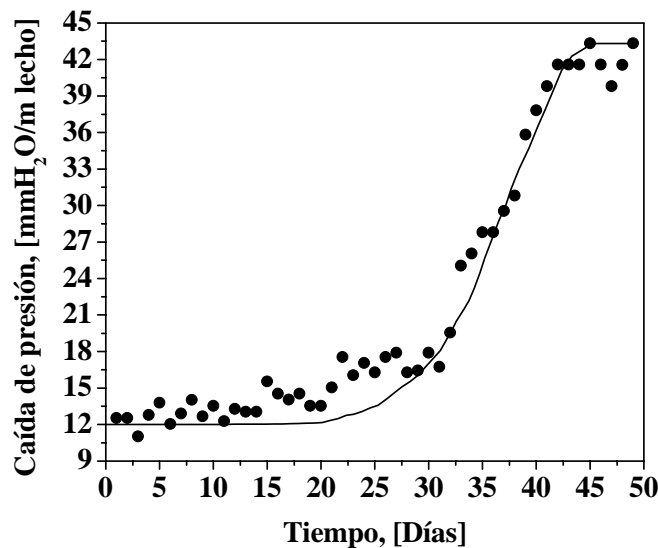


Figura 8.5 Evolución experimental de la caída de presión en el biofiltro y predicción del modelo. (●) Datos experimentales y (—) modelo caída de presión. Obtenida con las ecuaciones (5.8) y (7.71).

Los resultados de las Figuras 8.2, 8.3, 8.4 y 8.5 muestran que el modelo matemático desarrollado predice el funcionamiento de un biofiltro fúngico, de acuerdo a los datos experimentales obtenidos a las condiciones de operación del biofiltro.

### 8.3.2 Simulación del modelo

La simulación del modelo desarrollado, tuvo como objetivo verificar la sensibilidad de este frente a diferentes cambios en algunos parámetros de transferencia de materia y biológicos.

Las simulaciones realizadas fueron: a) evolución de la velocidad específica de crecimiento, b) efecto del diámetro de la hifa en el área de transporte total generada para biodegradación en el biofiltro durante el periodo de operación, c) efecto del coeficiente de partición de n-hexano ( $K$ ) en la capacidad de eliminación (CE), d) efecto del mantenimiento celular en la CE, e) efecto de la constante de inhibición de Haldane en la CE y f) efecto de la  $\mu_{\max}$  en la CE.

Las diferentes simulaciones realizadas fueron obtenidas utilizando los mismos parámetros con los cuales fue verificado experimentalmente el modelo, variando solo el parámetro de interés.

#### Evolución de la velocidad específica de crecimiento

En la Figura 8.6 se puede observar como disminuye la velocidad específica de crecimiento del hongo a medida que transcurre el tiempo de operación. Esto debido a que cuando que el hongo esta en crecimiento la fuente de nitrógeno disminuye (manteniéndose constante la fuente de carbono, debido a que es un ingreso continuo). Entonces, a medida que la fuente de nitrógeno es utilizada, de acuerdo al modelo doble de crecimiento propuesto (siendo el modelo de Haldane para la fuente de carbono y Monod para el nitrógeno), la velocidad baja hasta cero, cuando el nutriente es consumido totalmente, momento en el cual se detiene el crecimiento y el consumo de n-hexano se lleva a cabo solo para el mantenimiento celular.

La Figura 8.6 muestra que el modelo matemático predice la evolución de la velocidad de específica de crecimiento de acuerdo a lo teóricamente esperado.

#### Efecto del diámetro de la hifa en el área de transporte

En la simulación de la Figura 8.7 se muestran los resultados del efecto en el área superficial específica de transporte (ASET) generada debido al cambio en el diámetro de la hifa. Esta simulación fue realizada para una misma cantidad de biomasa final en el biofiltro, la cual fue controlada en el modelo con el agotamiento de la fuente de nitrógeno.



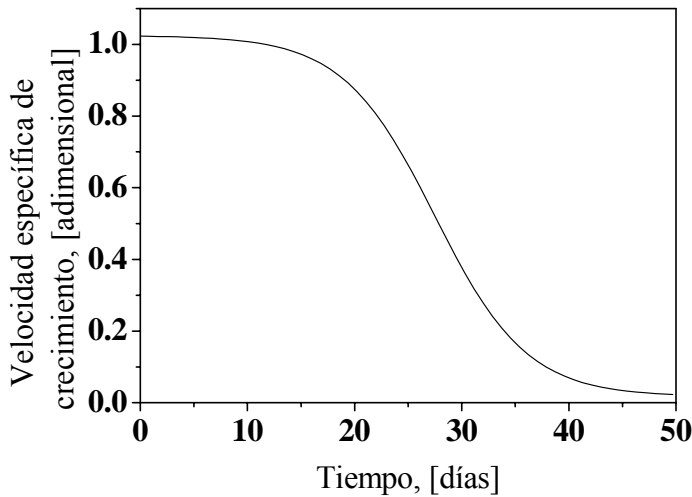


Figura 8.6 Evolución de la velocidad específica de crecimiento en el periodo de operación del sistema de biofiltración. Obtenida de la ecuación (7.2).

Como se puede observar de la Figura 8.7 a medida que el diámetro de la hifa disminuye, el ASET en el biofiltro generada por las hifas del hongo es mayor, para una misma cantidad de biomasa final. Se puede observar que si el diámetro de la hifa disminuye a la mitad, de  $2.1 \mu\text{m}$  a  $1.05 \mu\text{m}$ , el modelo predice un aumento en el área final de aproximadamente del doble. Sin embargo, este aumento en el ASET produce un efecto en la permeabilidad del lecho, generándose una disminución de la  $\epsilon_R$  de 0.57 a 0.27, lo cual puede producir problemas de transporte de materia en el sistema.

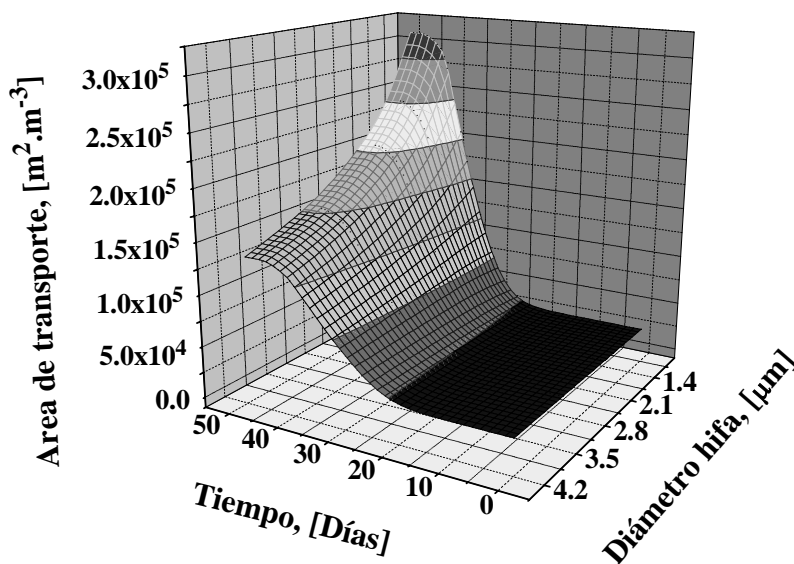


Figura 8.7 Simulación del efecto del diámetro de la hifa en el área específica de transporte para un biofiltro inoculado con el hongo filamentoso *Fusarium solani*.

El valor final obtenido de la simulación del ASET de  $1.91 \times 10^5 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$  para un diámetro de hifa de  $2.1 \mu\text{m}$ , correspondiente al hongo crecido en n-hexano, fue similar al valor de  $1.8 \times 10^5 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$  obtenido por Arriaga [2005], en un biofiltro inoculado con *F. solani* para la eliminación de n-hexano.

Determinando teóricamente el ASET generada en un biofiltro bacteriano de acuerdo a la ecuación reportada por Iliuta y Laranchi [2004] (ecuación 8.1), es posible realizar una comparación con el área generada en un biofiltro fúngico a las mismas condiciones de trabajo:

$$a_{ab} = \frac{3}{d_p} \left( 1 + \frac{2\delta_b}{d_p} \right) \left[ (2-n) \frac{2\delta_b}{d_p} + 2 \right] \quad (8.1)$$

Donde,  $a_{ab}$  es el ASET para un biofiltro bacteriano,  $d_p$  es el diámetro de la partícula,  $\delta_b$  es el espesor de la biopelícula y  $n$  es el número de puntos de contacto (o coordinación) entre las partículas, el cual fue estimado utilizando la relación de Dullien [1979]:

$$\varepsilon^0 = 1.072 - 0.1193n + 0.004312n^2 \quad (8.2)$$

Siendo  $\varepsilon^0$  la fracción de vacío inicial en el lecho. Utilizando el espesor máximo de biopelícula obtenido por Iliuta y Laranchi [2004] de  $350 \mu\text{m}$  para un biofiltro bacteriano, fue posible establecer utilizando similares condiciones a las utilizadas en el biofiltro BI que el área máxima generada en un biofiltro bacteriano es de  $1.5 \times 10^3 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ .

Al comparar los valores de ASET entre ambos tipos de biofiltros (fúngicos y bacterianos), el área obtenida en un biofiltro fúngico fue 127 veces mayor a la obtenida en un biofiltro bacteriano. Además, si consideramos que solo el 43% de las hifas generadas son aéreas según Arriaga [2005], el ASET obtenida para un biofiltro fúngico fue 48 veces mayor que el ASET del biofiltro bacteriano. Estos resultados son independientes de la cantidad de biomasa generada en los biofiltros, siendo estos resultados posibles de corregir para cada situación específica dependiendo de la cantidad de biomasa final generada en cada tipo de biofiltro. Por otro lado, comparando la CE máxima reportada por Zhu et al. [2004] de  $41 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  obtenidas para la eliminación de n-hexano en un biofiltro bacteriano, con la CE de  $248 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  obtenida en este trabajo, se observa que para un aumento de 48 veces en el área de transporte, la CE aumenta aproximadamente 6 veces. Esta diferencia en el área específica de transporte entre biofiltros bacterianos y fúngicos, al ser comparada con el aumento en la CE, sugiere la existencia de limitaciones de transporte en el sistema, ya que se podría esperar una mayor CE por unidad de área de transporte generada en el biofiltro fúngico. Entonces, con la simulación de la Figura 8.7 es posible establecer la importancia del

crecimiento aéreo y las propiedades hidrofóbicas del hongo en su mayor CE de COVs hidrofóbicos en biofiltros.

### Efecto del coeficiente de partición de n-hexano en la CE

Las Figuras 8.8 y 8.9 muestran el efecto del coeficiente de partición de n-hexano en biomasa sobre la CE del biofiltro. La Figura 8.9 fue realizada graficando la CE máxima obtenida luego de 48 días de operación del biofiltro, obtenida con la ecuación (3.20).

De la Figura 8.8 se puede observar que si el coeficiente de partición disminuye a la mitad, la CE del sistema aumenta de 220 a 250  $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$  aproximadamente. Pero además, se puede observar que el tiempo de puesta en marcha del biofiltro y el tiempo en el cual se alcanza la CE máxima son aproximadamente 10 días menos que los otros casos. Por otro lado, si el coeficiente de partición aumenta el doble, la capacidad de eliminación máxima que es posible obtener luego de 48 días disminuye bruscamente en el biofiltro, siendo alrededor de 145  $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ . Esto se debe a la menor disponibilidad de n-hexano en la biomasa. Incluso se observa que para el tiempo de operación establecido, no es posible alcanzar el estado estacionario cuando se trabaja con coeficiente de partición dos veces mayores al valor experimental.

Esta simulación indica la importancia del coeficiente de partición en la CE existente en un biofiltro fúngico. Es decir, esto indica la importancia de la transferencia de masa del contaminante desde la fase gaseosa a la biomasa para aumentar la capacidad de eliminación de n-hexano.

De acuerdo a lo discutido anteriormente y a lo que se muestra en la Figura 8.9, se puede ver que a medida que el coeficiente de partición disminuye (mayor solubilidad), la CE aumenta, lo que tiene relación a la mayor disponibilidad de n-hexano en la biomasa, mientras que si el coeficiente de partición aumenta la CE disminuye.

Finalmente, el comportamiento observado en la Figura 8.9, cuando el coeficiente de partición es menor de 0.1, se aprecia que la CE es constante, lo que indica que aunque disminuya más el coeficiente de partición no existiría una mejoría en la CE, esto es debido a que el biofiltro entra en una zona en la cual se encuentra limitado por reacción, a las condiciones a las cuales fue operado el reactor y realizadas las simulaciones. De aquí es factible dividir la operación del biofiltro de acuerdo al coeficiente de partición en una zona limitada por reacción y otra limitada por transporte (Figura 8.9), considerando la biomasa máxima obtenida para un diámetro de hifa de 2.1  $\mu\text{m}$ .

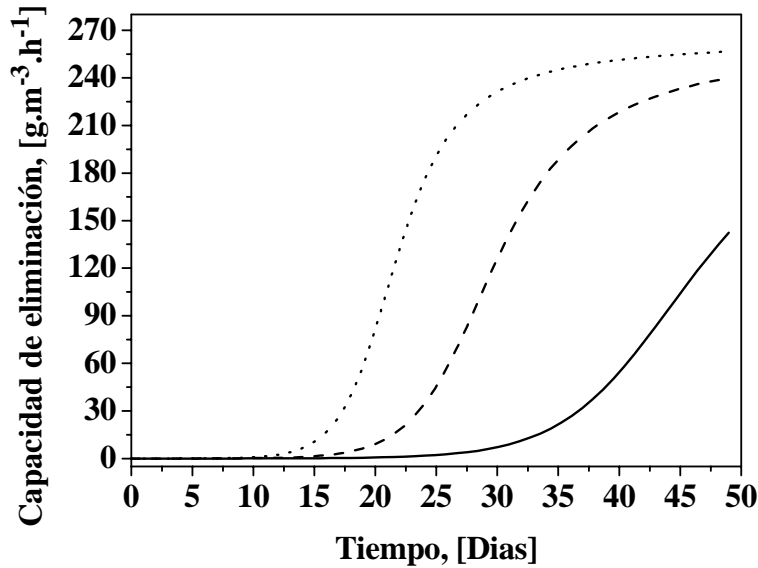


Figura 8.8 Efecto del coeficiente de partición de n-hexano (K) en la evolución de la capacidad de eliminación en el biofiltro. (—) Simulación para  $2 \times K=0.4 \text{ g g}^{-1}$ , (---) simulación para  $K=0.2 \text{ g g}^{-1}$  y (···) simulación para  $K/2=0.1 \text{ g g}^{-1}$ .

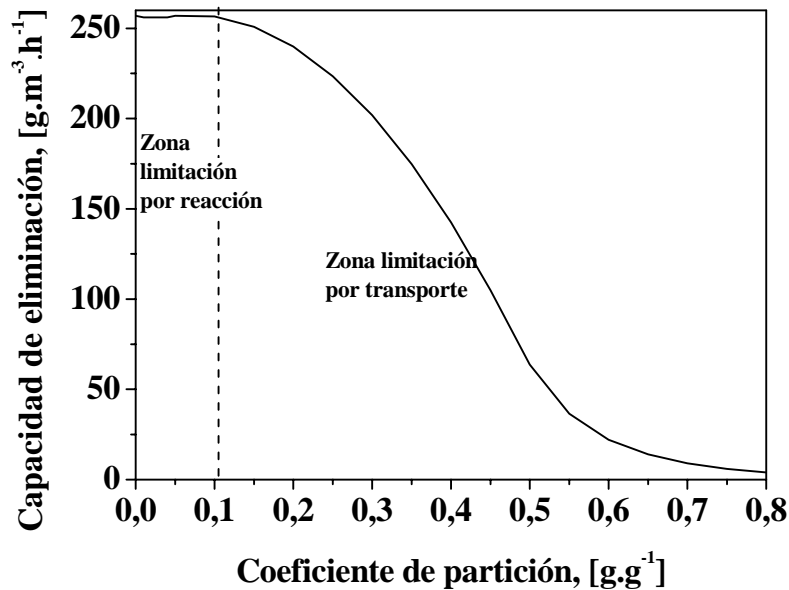


Figura 8.9 Efecto del coeficiente de partición de n-hexano sobre la capacidad de eliminación del biofiltro fúngico, luego de 48 días de operación. Para un diámetro de hifa de  $2.1 \mu\text{m}$ . Obtenida con la ecuación (3.20)

### Efecto del mantenimiento celular en la CE

La Figura 8.10 muestra el efecto del coeficiente de mantenimiento celular ( $m_c$ ) de *F. solani* sobre la CE del biofiltro. De la Figura 8.10 se puede observar un bajo efecto en la CE, existiendo un aumento en los últimos días de operación del biofiltro, lo cual tiene relación a la mayor cantidad de biomasa presente en estos días, mientras que durante los primeros días de operación el consumo de n-hexano está dado principalmente para crecimiento celular.

Inicialmente, es posible observar una baja utilización de la fuente de carbono para mantenimiento celular, lo cual se debe a que el consumo de n-hexano durante el periodo de crecimiento solo corresponden a un 2% del n-hexano total consumido (Capítulo cuatro). Sin embargo, una vez agotada la fuente de nitrógeno y terminado el crecimiento, el consumo de n-hexano debido al mantenimiento celular corresponde al 100%, aunque según lo observado por Arriaga y Revah [2005a,b] la CE disminuye luego de alcanzado el estado estacionario, indicando esto la importancia de la adición de nutrientes en biofiltros para el mantenimiento de una alta CE. Esto puede estar relacionado a la tasa de consumo de n-hexano por mantenimiento celular, la cual es aproximadamente 25 veces menor a la tasa de consumo en la etapa de crecimiento, de acuerdo Vergara-Fernández et al. [2006].

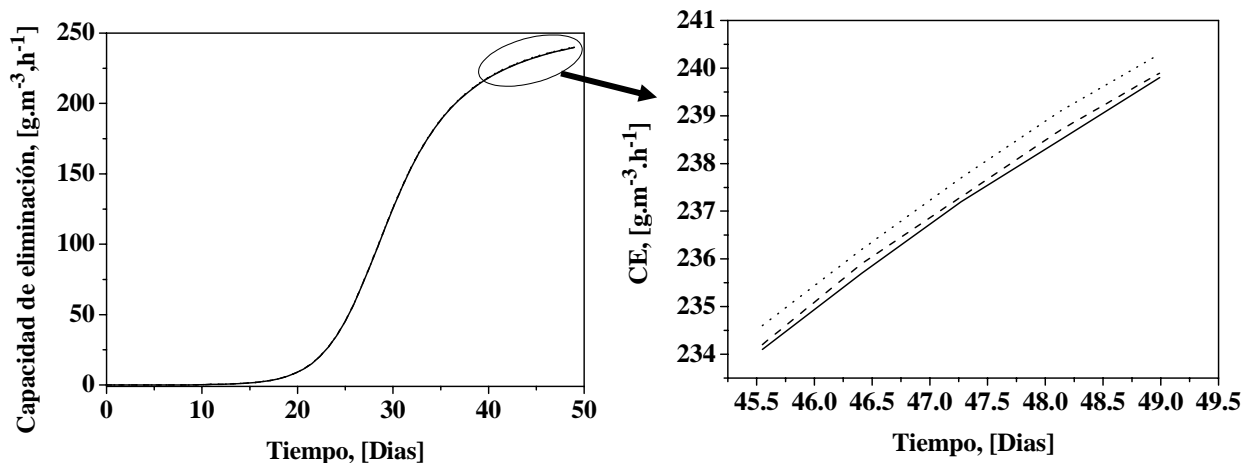


Figura 8.10 Simulación del efecto del mantenimiento celular sobre la capacidad de eliminación del biofiltro. (····) Simulación para  $2 \times m_c = 3.02 \times 10^{-4} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , (---) simulación para  $m_c = 1.51 \times 10^{-4} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  y (—) simulación para  $m_c/2 = 7.55 \times 10^{-5} \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Obtenida con la ecuación (3.20)

### Efecto de la constante de inhibición en la CE

La Figura 8.11 muestra el efecto de la constante de inhibición del modelo de Haldane sobre la CE del biofiltro fúngico. Obtenida de las ecuaciones (3.20) y (7.2). De la Figura 8.11 se puede observar que bajo las condiciones de operación del biofiltro no existe un efecto importante de inhibición, esto se debe a que la

inhibición fue observada en *Fusarium solani* para concentraciones superiores a  $7.0 \text{ g m}^{-3}$  de n-hexano, concentración máxima a la cual fue operado el biofiltro B1 y fueron realizadas las simulaciones. Como se puede apreciar en la Figura 8.10 y 8.11 los efectos de parámetros cinéticos sobre la CE del sistema no son importantes, lo que puede indicar que el biofiltro se encuentra limitado principalmente por transporte.

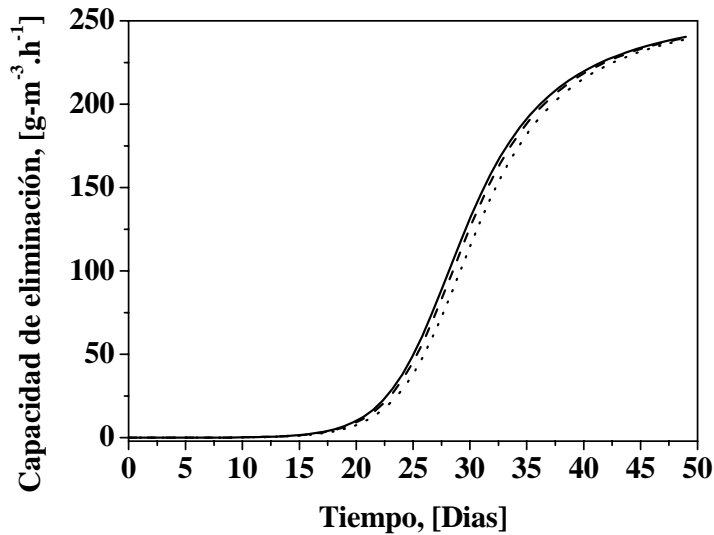


Figura 8.11 Simulación del efecto de la constante de inhibición de Haldane para *F. solani* utilizando n-hexano como fuente de carbono. (····) Simulación para  $2 \times K_I = 60.2 \text{ g m}^{-3}$ , (---) simulación para  $K_I = 30.1 \text{ g m}^{-3}$  y (—) simulación para  $K_I/2 = 15.0 \text{ g m}^{-3}$ . Obtenida con la ecuación (3.20) y (7.2)

#### Efecto de la velocidad máxima de crecimiento en la CE

La Figura 8.12 muestra el efecto de la velocidad máxima de crecimiento sobre la CE. Se puede observar de la Figura 8.12, que al aumentar al doble la velocidad máxima de crecimiento ( $2\mu_{\max}$ ), disminuye aproximadamente en 20 días el tiempo en el cual es alcanzado el estado estacionario (máxima capacidad de eliminación) en el biofiltro. Sin embargo, la CE máxima no aumenta, esto se debe a que la cantidad de fuente de nitrógeno en el biofiltro es la misma y por lo tanto la biomasa final generada es la igual que para la velocidad máxima de crecimiento inicial. Esto ocurre al no existir una adición extra de fuente de carbono y nutrientes en el medio. Por otro lado, se observa que al disminuir a la mitad la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{\max}/2$ ) la CE disminuye bruscamente, no alcanzando el estado estacionario a los 48 días de operación y consiguiendo una CE máxima en este periodo de  $45 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ . Esto no significa que no será alcanzada la CE máxima obtenida en las otras dos simulación, sino que el tiempo para alcanzar dicho estado estacionario debe ser mayor.

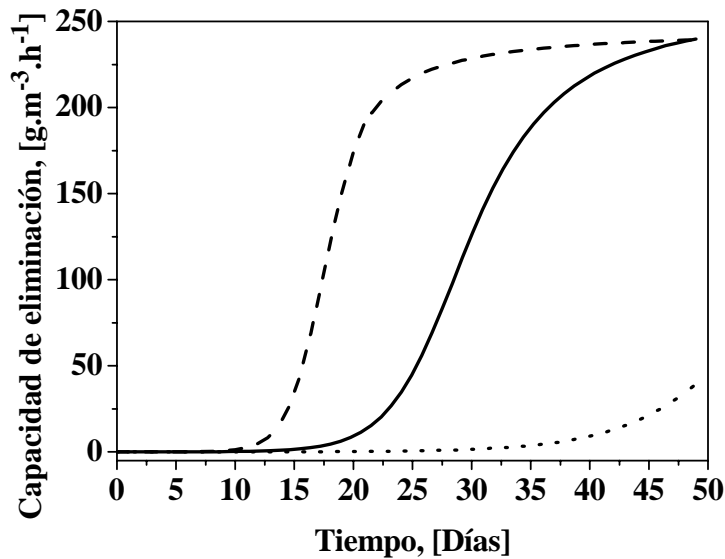


Figura 8.12 Simulación del efecto de la velocidad máxima de crecimiento de *F. solani* en n-hexano sobre la capacidad de eliminación del biofiltro. (—) Simulación para  $\mu_{\max}=0.0518 \text{ h}^{-1}$ , (---) simulación para  $\mu_{\max}/2=0.0259 \text{ h}^{-1}$  y (····) simulación para  $2 \times \mu_{\max}=0.1036 \text{ h}^{-1}$ .

## 8.4 CONCLUSIONES PARCIALES

La formación de hifas aéreas en biofiltros inoculados con hongos filamentosos, aumenta la capacidad de eliminación de los COVs hidrofóbicos, debido al aumento en el área de transporte disponible, cuando este es comparado con biofiltros bacterianos. Las características hidrofóbicas del hongo, expresadas en su coeficiente de partición también poseen un efecto importante en el aumento en la capacidad de eliminación, lo cual fue verificado con la simulación realizada al biofiltro para diferentes valores de coeficiente de partición.

La mayor área de transporte dada por el crecimiento de hifas aéreas, tiene un efecto sobre la permeabilidad del lecho, disminuyendo la fracción de vacío y por lo tanto aumentando la caída de presión en el biofiltro. Este efecto en la permeabilidad del lecho también se ve afectada por el diámetro de la hifa, cuya característica morfológica puede variar dependiendo de la fuente de carbono en la cual el hongo es crecido inicialmente.

La simulación del modelo bajo diferentes escenarios, indica que para el biofiltro fúngico, a las condiciones de trabajo, son más importantes los efectos de transporte de materia que los cinéticos (reacción de biodegradación).

El modelo propuesto es desarrollado en estado cuasi-estacionario, basado en balances de materia de la fuente de carbono a lo largo de seno del reactor, una película gaseosa alrededor de la hifa y un

balance de materia de la fuente de nutriente, acoplados a una ecuación de crecimiento que considera los principales parámetros morfológicos del hongo. El modelo desarrollo al momento de ser simulado predice de buena forma la capacidad de eliminación del sistema y el funcionamiento del biofiltro en el tiempo. El modelo puede ser mejorado adicionando el efecto del desacoplamiento energético de los microorganismos en los primeros días de operación.



# CAPITULO NUEVE

## CONCLUSIONES

“La vida es el arte de sacar conclusiones suficientes a partir de datos insuficientes”. *Samuel Butler*

---

### 9.1 CONCLUSIONES GENERALES

1. El uso de hongos filamentosos aumenta la capacidad de eliminación de compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos en biofiltros de lecho fijo.
2. Las propiedades hidrofóbicas de los hongos filamentosos aumenta la capacidad de eliminación de COVs hidrofóbicos, favoreciendo la partición del COVs en la biomasa
3. La morfología de crecimiento de los hongos filamentosos favorece la mayor capacidad de eliminación de COV hidrofóbicos, al existir mayor área de transporte y contacto directo entre el COVs en fase gaseosas y la biomasa.
4. Es factible modelar el crecimiento fúngicos en biofiltros de lecho fijo que permitan comprender los diferentes fenómenos físico-químicos y biológicos que favorecen la eliminación de COV hidrofóbicos en biofiltros fúngicos

## 9.2 CONCLUSIONES ESPECÍFICAS

Los estudios realizados para determinar algunos de los efectos que causa el medio de cultivo y el tipo de fuente de carbono sobre el hongo *Fusarium solani*, indicaron que las condiciones de cultivo, ya sea en medio sólido o líquido, y el tipo de fuente de carbono, más ó menos hidrofóbica, influyen en algunas de las propiedades fisicoquímicas de *Fusarium solani*, entre ellas el coeficiente de partición de n-hexano, hidrofobicidad superficial y contenido de lípidos.

En forma general, el crecimiento del hongo en una fuente de carbono más hidrofóbica incrementa la hidrofobicidad superficial y la solubilidad de n-hexano gaseoso en la biomasa, permitiendo esto una mayor biodisponibilidad del COVs hidrofóbico para ser biodegradado, disminuyendo de esta forma una de las limitaciones del uso de biofiltros bacterianos, la limitación por transporte.

Los resultados de partición de n-hexano gaseoso en la biomasa crecida inicialmente en diferentes fuentes de carbono, para crecimiento superficial fueron 0.2 para 1-hexanol, 0.5 para glicerol, 0.6 para glucosa y 0.2 para biomasa de *F. solani* obtenida de un biofiltro alimentado con n-hexano gaseoso. Estos resultados muestran un incremento de la solubilidad de n-hexano en biomasa de hasta 200 veces si es comparada con la solubilidad en agua. Estos cambios en el hongo no solo estuvieron relacionados al contenido de lípidos determinado, si no posiblemente también a los diferentes contenidos o clases de moléculas incluyendo hidrofobinas y lipoproteínas que se encuentran presentes en la superficie del hongo.

El estudio de las características morfológicas de *Fusarium solani*, indicaron que estas también son afectadas por el tipo de fuente de carbono utilizada para crecimiento. Los resultados indicaron que cuando el crecimiento fue realizado en una fuente de carbono más hidrofóbica y volátil, el hongo incrementó su superficie de contacto aumentando el transporte entre la fuente de carbono en la fase gaseosa y la biomasa. La determinación de este tipo de efectos sobre el hongo permite seleccionar la mejor fuente de carbono al momento de acelerar la puesta en marcha de biofiltros fúngicos.

El mayor área de contacto del hongo esta relacionada al incremento del número y longitud de las ramificaciones (81% de aumento para n-hexano y 1- hexanol en comparación con glicerol) y la longitud de las hifas principales (59% de aumento para n-hexano y 1- hexanol en comparación con glicerol), pero probablemente también a su menor diámetro de hifa. Este último resultado fue reflejado con la reducción del diámetro en aproximadamente un 30.5% para el hongo crecido en 1-hexanol y n-hexano comparado con el hongo crecido en glicerol.

Los cambios morfológicos en el hongo debido a su crecimiento en diferentes fuentes de carbono, puede generar un cambio en la permeabilidad del lecho, lo que tiene como consecuencia cambios en la fracción de vacío y caída de presión del biofiltro. Este resultado fue verificado posteriormente con la

simulación del modelo, en donde se muestra que variaciones en el diámetro de la hifa puede generar cambios de hasta dos veces en el área específica de transporte del hongo.

Realizando una comparación entre el área específica de transporte generada por el hongo crecido en n-hexano y en glicerol para una misma cantidad de biomasa final, este tiene una biomasa final más densa por unidad de área ocupada cuando es crecido en glicerol, lo cual genera un problema mayor de transporte entre el compuesto en la fase gaseosa y las hifas, por el contrario si el hongo crece en n-hexano su densidad por unidad de área será menor, favoreciendo el transporte y circulación del COV a través de los diferentes micelios.

En los estudios en columnas de biofiltración se puede observar la factibilidad de la utilización de hongos filamentosos como agente biológico en la eliminación de compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos.

En este estudio fue observada la mayor capacidad de eliminación de COVs hidrofóbicos al utilizar biofiltros fúngicos en comparación con biofiltros bacterianos. Esta mayor capacidad de eliminación tiene relación con la información determinada sobre las características hidrofóbicas de los hongos y la mayor área de transporte. Sin embargo, fue observada una mayor caída de presión, generada por las características de crecimiento de los hongos filamentosos, además de una puesta en marcha lenta. Esta menor velocidad de crecimiento de los hongos frente a COVs hidrofóbicos puede ser mejorada utilizando otras fuentes de carbono como iniciador del crecimiento y generación de biomasa. Sin embargo, estas fuentes de carbono alternativas para crecimiento, poseen un efecto sobre el coeficiente de partición de n-hexano en biomasa y en la adaptación a la biodegradación del COV.

Comparando el biofiltro control (crecimiento solo con n-hexano) con los otros biofiltros (iniciados con otras fuentes de carbono), el biofiltro empacado con salvado de trigo como fuente de carbono alternativa obtuvo una disminución de 20 días en la partida del biofiltro. Por otro lado, este biofiltro obtuvo la menor capacidad de eliminación al estado estacionario de los cuatro biofiltros estudiados ( $160 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ).

Se pudo observar que el coeficiente de partición de n-hexano afecta la capacidad de eliminación final en los biofiltros, sin embargo no tiene un efecto directo en la puesta en marcha de los biofiltros, esto porque durante este periodo el hongo crecido en las fuentes de carbono alternativas se encuentra en proceso de adaptación, cambiando sus propiedades y estructura.

Los resultados obtenidos de la evaluación de la caída de presión, verificaron que esta es mayor a la observada en biofiltros bacterianos, para todos los casos. Sin embargo, no es tan alto como para tener problemas de operación en el sistema.

El estudio de la carga de entrada de n-hexano, realizados después de alcanzado el estado estacionario en los biofiltros, entregó para el biofiltro control B1 un 100% de eficiencia de eliminación para

cargas críticas de  $95 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ , con una capacidad de eliminación máxima de  $225 \text{ g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$ . Las capacidades de eliminación obtenidas en los biofiltros B3 y B4 fueron consistentemente menores a la obtenida en el biofiltro B1. Estas diferencias están relacionadas al coeficiente de partición de n-hexano y cantidad de biomasa obtenida. La menor carga crítica observada en el biofiltro control B1, indica que el hongo crecido en una fuente de carbono más hidrofóbica (n-hexano) incrementa la hidrofobicidad de la biomasa y disminuye la limitación por transporte entre el COV y la fase biológica.

El modelo matemático desarrollado obtuvo una buena correlación con los resultados experimentales obtenidos con el biofiltro fúngico para la eliminación de n-hexano, determinando de buena forma la capacidad de eliminación, perfil de biodegradación de n-hexano a lo largo del biofiltro a diferentes tiempos de operación y evolución de la caída de presión en el biofiltro.

Una vez realizado un análisis de sensibilidad del modelo frente a cambios en diferentes parámetros de operación, físicos y cinéticos, este obtuvo un buen comportamiento, determinando posibles escenarios de forma correcta y entregando valores en rangos razonables. La simulación del modelo bajo diferentes escenarios, indica que para el biofiltro fúngico, a las condiciones de trabajo son más importantes los efectos de transporte de materia sobre los cinéticos (reacción de biodegradación).

La variación observada durante los primeros días de operación en la capacidad de eliminación del biofiltro, indica que existe algún grado de desacoplamiento energético en el hongo. Si embargo, cuando la biomasa aumenta (después del día 25) la capacidad de eliminación también aumenta, obteniendo un mejor ajuste del modelo teórico a las condiciones reales de operación del biofiltro control B1.

El modelo desarrollado predice bien los perfiles de concentración a lo largo del biofiltro a los diferentes tiempos de operación. Existiendo la mayor diferencia en el primer modulo del biofiltro en los tres días simulados.

La brusca caída de la concentración en el primer modulo del biofiltro luego de 48 días de operación, esta relacionada a la mayor cantidad de biomasa generada en este modulo con respecto a los otros dos siguientes, producto de la mayor concentración de n-hexano a la entrada del biofiltro favoreciendo la transferencia de materia de n-hexano hacia la biomasa.

El modelo posee una buena predicción de la caída de presión, existiendo una desviación durante los primeros días de operación, lo cual puede estar relacionado al líquido estático presente en el lecho, necesario para mantener la humedad del sistema, el cual no fue incluido en el modelo.

La simulación del modelo matemático muestra el efecto en el área superficial específica de transporte generada en el biofiltro debido al cambio en el diámetro de la hifa, observándose que a medida que el diámetro de la hifa disminuye, el área superficial específica de transporte en el biofiltro generada por las hifas del hongo es mayor, para una misma cantidad de biomasa final. Se puede observar que si el

diámetro de la hifa disminuye a la mitad, de 2.1  $\mu\text{m}$  a 1.05  $\mu\text{m}$ , el modelo predice un aumento en el área final de aproximadamente del doble.

### Perspectivas

Para un mejor entendimiento del funcionamiento y operación de los biofiltros fúngicos, es recomendable realizar un estudio más profundo de las posibles fuentes de carbono y la forma de ser utilizadas para acelerar la puesta en marcha de este tipo de biofiltro. Además de esto, es importante estudiar el efecto que tiene la temperatura y el crecimiento del hongo en el secado del lecho, pudiendo generar condiciones de esporulación no deseadas. Entonces, es importante estudiar cuales son las mejores condiciones en las cuales se minimice la posibilidad de generación de esporas que puedan generar una contaminación por estas al ambiente. Sin embargo, este debe ser cruzado con estudios de capacidad de eliminación de forma de encontrar un óptimo en su operación.

El estudio de la estructura de la pared del hongo y como esta cambia frente a diferentes condiciones de operación y fuentes de carbono puede entregar información relevante de las propiedades hidrofóbicas del hongo. Este estudio puede ser realizado determinando en forma más detallada los tipos y características de lipoproteínas existentes en la pared, así como de las hidrofobinas. Un estudio de la presencia de hidrofobinas, tipo y cantidad, es también necesario para un mejor entendimiento de las propiedades hidrofóbicas.

El estudio a nivel de biología molecular es también de interés, ya que esta puede entregar información necesaria que permita favorecer las condiciones que hacen al hongo mas hidrofóbico y/o realizar modificaciones a nivel molecular que permita favorecer la producción de moléculas hidrofóbicas en el hongo, que aumente su hidrofobicidad y por lo tanto disminuya más las limitaciones de transferencia de materia de COV hidrofóbicos bajo diferentes condiciones de operación.

Con respecto al modelo matemático desarrollado, este puede ser mejorado adicionando el efecto del desacoplamiento energético de los microorganismos en los primeros días de operación. Esto puede ser realizado incluyendo en el modelo una función que interprete el cambio del coeficiente de rendimiento celular en el tiempo de operación. El modelo matemático desarrollado, también puede ser mejorado y generalizado adicionando ecuaciones de transporte suficientes que permitan trabajar con mezcla de fuentes de carbono.

Además de lo anterior, el modelo también puede ser mejorado considerando la variación en el tiempo de algunos de los parámetros de transporte, como; coeficiente de transferencia de materia y dispersión axial. Además de esto, es factible adicionar al modelo los efectos de la temperatura en los diferentes fenómenos involucrados en el biofiltro, por ejemplo, considerar el efecto de la temperatura en la velocidad de crecimiento de los microorganismos, efecto de la temperatura en la partición de n-hexano en

la biomasa, efecto del calor metabólico generado, entre otros. Para esto es necesaria la incorporación de los balances de energía.

# REFERENCIAS

- Acevedo F, JC Gentina y A Illanes (2002) Archivos de Ingeniería bioquímica, Fundamentos de Ingeniería Bioquímica. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Universidad Católica de Valparaíso. Santiago-Chile. Pp 348.
- Acuña ME, F Pérez, R Auria y S Revah (1999) Microbiological and kinetics aspects of a biofilter for the removal of toluene from waste gases. *Biotechnology Bioengineering*. 63: 175-184.
- Agosin E, M Cotoras, G Muñoz, R San Martín y D Volpe (1997) Comparative properties of *Trichoderma harzianum* spore produced under solid state and submerged culture conditions. In: Advances in Solid State Fermentation, Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Solid State Fermentation. Montpellier, France. 463-473.
- Aizpuru A, B Dunat, P Christen, R Auria, I García-Peña y S Revah (2005) Fungal biofiltration of toluene on ceramic rings. *Journal Environmental Engineering*. 396-402.
- Alonso C, X Zhu y S Makram (2000) Parameter estimation in biofilter systems. *Environmental Science Technology*. 34: 2318-2323.
- Alonso C, MT Suidan, GA Sorial, FL Smith, P Biswas, PJ Smith y RC Brenner (1998) Gas treatment in trickle-bed biofilters: biomass, how much is enough?. *Biotechnology Bioengineering*. 54: 583-594.
- Arriaga S (2005) Comparación del transporte y biodegradación de hexano entre bacterias y hongos con diferentes configuraciones de reactores. Tesis de Doctorado en Ciencias (Ingeniería Química), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
- Arriaga S y S Revah (2005a) Removal of n-hexane by *Fusarium solani* with a gas-phase biofilter. *Journal Industrial Microbiology Biotechnology*. 32:548-553.
- Arriaga S y S Revah (2005b) Improving n-hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter. *Biotechnology Bioengineering*. 90(1):107-115.
- Arriaga S, R Muñoz, S Hernández, B Guieysse and S Revah (2006) Gaseous hexane biodegradation by *Fusarium solani* in two liquid phase packed-bed and stirred-tank bioreactors. *Environmental Science. Technology*. 40: 2390-2395.
- Auria R, G Frere, M Morales, ME Acuña, S Revah (2000) Influence of mixing and water addition on the removal rate of toluene vapors in a biofilter. *Biotechnology Bioengineering*. 68(4):448-455.
- Auria R, I Ortiz, E Villegas y S Revah (1995) Influence of growth and high mould concentration on the pressure drop in solid state fermentations. *Process Biochemistry*. 30(8): 751-756.
- Auria R, M Morales, E Villegas y S Revah (1993) Influence of mold growth on the pressure drop in aerated solid state fermentors. *Biotechnology Bioengineering*. 41: 1007-1013.
- Berthe-Corti L y S Fetzner (2002) Bacterial metabolismo of n-alkanes and amonia under oxic, suboxic and anoxic conditions. *Acta Biotechnonology*. 22(3-4):299-336.

- Bibeau L, K Kiared, A Leroux, R Brzenzinski, G Viel y M Heitz (1997) Biological purification of exhaust air containing toluene vapor in a filter-bed reactor. *Canadian Journal Chemical Engineering*. 75: 921-929.
- Bibeau L, K Kiared, R Brzenzinski, G Viel, y M Heitz (2000) Treatment of air polluted with xylenes using a biofilter reactor. *Water, Air, and Soil Pollution*. 118:377-393.
- Bird RB, WE Stewart y EN Lightfoot (2002) Transport phenomena. Second edition. John Wiley & Sons, Inc. USA. Pp. 895.
- Blenkinsopp SA y JW Costerton (1991) Understanding bacterial biofilms. *Trends in Biotechnology*. 9:138-143.
- Bohn H (1992) Consider biofiltration for decontaminated gases. *Chemical Engineering Progress*. 4:34-40.
- Bohn H y R Bohn (1988) Soil beds weed out air pollutants. *Chemical Engineering*. 95(4):73-76.
- Booth C (1971) The Genus *Fusarium*. CMI. Kew, Surrey. pp. 19-31.
- Bovill R, J Bew, N Cook, M D'Agostino, N Wilkinson, J Baranyi (2000) Predictions of growth for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* during fluctuating temperature. *International Journal Food Microbiology*. 59: 157-165.
- Braun-Lulleman A, C Johannes, A Majcherczyk y A Hutterman (1995) The use of white-rot fungi as active biofilters, in Biological Unit Process for Hazardous Waste Treatment, *Proceedings of the Third International In Situ and On-Site Bioreclamation Symposium*, Hinche, RE, Skeen RS, and Sayles, GD., Eds., Battelle Press, Columbus, OH, p. 235.
- Caldwell IY y APJ Trinci (1973) The growth unit of the mould *Geotrichum candidum*. *Arch. Mikrobiol.* 88: 1-10.
- Chang K y C Lu (2003) Biofiltration of toluene and acetone mixtures by a trickle-bed air biofilter. *World Journal Microbiology Biotechnology*. 19:791-798.
- Card TR (1998) Fundamentals: chemistry and characteristics of odors and VOCs. In: Rafson H, ed. *Odor and VOC Control Handbook*, New York: McGraw Hill. p2.1.1-2.1.36.
- Carlesen M, AB Spohr, J Nielsen y J Villadsen (1996) Morphology and physiology of an  $\alpha$ -amylase producing strain of *Aspergillus oryzae* during batch cultivations. *Biotechnology Bioengineering*. 49: 266-276.
- Cadena-Méndez M, JM Cornejo-Cruz, JM Prieto, J Gaitán- González, S Carrasco-Sosa, R González-Camarena, E Favela-Torres, M Gutiérrez-Roja y G Saucedo-Castañeda (1993) Características de medición de un metabolímetro para fermentadores de sustrato sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*. 14:311-319.
- Chang K y C Lu (2003) Biofiltration of toluene and acetone mixtures by a trickle-bed air biofilter. *World Journal Microbiology Biotechnology*. 19:791-798.
- Choi SC y YS Oh (2002) Simultaneous removal of benzene, toluene and xylenes mixture by a constructed microbial consortium during biofiltration. *Biotechnology Letters*. 24: 1269-1275.
- Chung Y, C Huang y C Tseng (1997) Removal of hydrogen sulphide by immobilized *Thiobacillus* sp. strain CH11 in a biofilter. *Journal Chemical Technology Biotechnology*. 69, 58 – 62.



- Cox HHJ, FJ Magielsen, HJ Doddema y W Harder (1996) Influence of the water content and water activity on styrene degradation by *Exophiala jeanselmei* in biofilters. *Applied Microbiology Biotechnology*. 45:851-856.
- Cox PW, GC Paul y CR Thomas (1998) Image analysis of the morphology of filamentous microorganisms. *Microbiology*. 144:817-827.
- Davison BH, JW Barton, KT Klasson y AB Francisco (2000) Influence of high biomass concentrations on alkane solubilities. *Biotechnology Bioengineering*: 68(3): 279-284.
- De Header B, A Overmeire, H Van Langenhove y W Verstraete (1994) Ethene removal from a synthetic waste gas using a dry biobed. *Biotechnology Bioengineering*: 44: 642-648.
- Deeb RA y L Alvarez-Cohen (1999) Temperature effects and substrate interactions during the aerobic biotransformation of BTEX mixtures by toluene-enriched consortia and *Rhodococcus rhodochrous*. *Biotechnology Bioengineering*. 62 (5): 526-536.
- Den W y M Pirbazari (2002) Modeling and design of vapor-phase biofiltration for chlorinated volatile organic compounds. *AIChE Journal*. 48(9): 2084-2103.
- Deshusses MA y CT Johnson (2000) Development and validation of a simple protocol to rapidly determine the performance of biofilters for VOC treatment. *Environmental Science Technology*. 34: 461-467.
- Deshusses MA, G Hamber y IJ Dunn (1995) Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 1. Dynamic model development. *Environmental Science Technology*. 29: 1048-1058.
- Devinny J, M Deshusses y T Webster (1999) Biofiltration for air pollution control. *Lewis Publishers*. CRC Press LLC. Boca Raton, Florida. USA. Pp 299.
- Devinny JS y J Ramesh (2005) A phenomenological review of biofilter models. *Chemical Engineering Journal*. 113: 187-196.
- Doyle RJ y M Rosenberg (1990) Microbial Cell Surface Hydrophobicity. Washington D.C. American Society of Microbiology.
- Dunn IJ, E Heinzle, J Ingham y JE Prenosil (1992) Biological reaction engineering, Principles, applications and modelling with PC simulation. VCH Publishers, Inc., New York, NY(USA).
- Dullien FAL (1979) Porous media. Fluid transport and pore structure. Academic, New York.
- Edwards MF y JF Richardson (1968) Gas dispersion in packed beds. *Chemical Engineering Science*. 23:109-123.
- Ergas S, K Kinney, M Fuller y K Scow (1994) Characterization of a compost biofiltration system degrading dichloromethane. *Biotechnology Bioengineering*. 44: 1048-1054.
- Estévez E, MC Veiga y C Kennes (2004) Fungal biodegradation of toluene in gas-phase biofilters. In: Verstraete, W. (Ed.), Proceedings of the 5<sup>th</sup> European Symposium on Environmental Biotechnology. Oostende, Belgium, 25-28 April, pp.337-340.
- Forts L y LM Conroy (1998) Health effects and exposure assessments of VOCs. In: Rafson H.J Editor. Odor and VOC Control Handbook. McGraw-Hill, New York, USA.

- Fuller EN, PD Schettler y JC Giddings (1996) *Industrial Engineering Chemical* 58: 19.
- García-Peña EI, S Hernández, E Favela-Torres, R Auria, S Revah (2001) Toluene biofiltration by the fungus *Scedosporium apiospermum* TBI. *Biotechnology Bioengineering*. 76(1):61-69.
- Garnier P, R Auria, C Augur y S Revah (1999) Cometabolic biodegradation of methyl t-butyl ether by *Pseudomonas aeruginosa* grown on pentane. *Applied Microbiology Biotechnology*. 51: 498-503.
- Geankoplis CJ (2000) *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. 3ra edición. Grupo Patria Cultural, S.A. de C.V. Mexico DF. Pp. 1008.
- Gutiérrez-Rojas M, R Auria, JC Benet y S Revah (1995) A mathematical model for solid state fermentation of mycelial fungi on inert support. *Chemical Engineering Journal*. 60:189-198.
- Hamidi-Esfahani Z, SA Shojaosadati y A Rinzema (2004) Modelling of simultaneous effect of moisture and temperatura on *A. niger* growth in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 21: 265-272.
- Hartmants S y J Tramper (1991) Dichloromethane Removal From Waste Gases With a Trickle-Bed Bioreactor. *Bioprocess Engineering*. 6: 83-92.
- Hodge DS y JS Devinny (1995) Modeling removal of air contaminants by biofiltration. *Journal Environmental Engineering*. 121(1): 21-32.
- Höhener P, C Duwig, G Pasteris, K Kaufman, N Dakhel y H Harás (2003) Biodegradation of petroleum hydrocarbon vapors: laboratory studies on rates and kinetics in unsaturated alluvial sand. *Journal Contaminant Hydrology*. 66: 93-115.
- Hwang SJ y HM Tang (1997) Kinetics behavior of the toluene biofiltration process. *Journal Air Waste Management Association*. 47: 664-673.
- Ikasari L y DA Mitchell (2000) Two-phase model of the kinetics of growth of *Rhizopus oligosporus* in membrane culture. *Biotechnology Bioengineering*. 68:619-627.
- Iliuta I y F Laranchi (2004) Transient biofilter aerodynamics and clogging for VOC degradation. *Chemical Engineering Science*. 59:3293-3302.
- Iliuta I y F Larachi (2004) Biomass accumulation and clogging in trickle-bed bioreactors. *AIChE Journal*. 50(10): 2541-2551.
- Jennings DH y G Lysek (1999) *Fungal Biology. Understanding the fungal lifestyle*. Second Edition. Bios Scientific Publishers. Springer. New York. Pp. 166.
- Jones JBG (1994) Fungal adhesion. *Mycological Research*. 98:961-981.
- Jorio H, L Bibeau, G Viel y M Heitz (2000) Effects of gas flow rate and inlet concentration on xylene vapors biofiltration performance. *Chemical Engineering Journal*. 76 (3): 209-221.
- Jorio H, G Payre y M Heitz (2003) Mathematical modeling of gas-phase biofilter performance. *Journal Chemical Technology Biotechnology*. 78:834-846.
- Kennes C, H Huub, J Cox, HJ Doddema y W Harder (1996) Design and performance of biofilters for the removal of alkylbenzene vapors. *Journal Chemical Technology Biotechnology*. 66, 300-304.

- Kennes C y F Thalasso (1998) Waste gas treatment technology. *Journal Chemical Technology Biotechnology*. 72, 303-319.
- Kennes C y MC Veiga (2004) Fungal biocatalysts in the biofiltration of VOC-polluted air. *Journal Biotechnology*. 113: 305-319.
- Kiared K, B Fundenberger, R Brzezinski, G Viel y M Heitz (1997) Biofiltration of air polluted with toluene under steady-State conditions: experimental observations. *Industrial Engineering Chemical Research*. 36, 4719-4725.
- Kibazohi O, S Yun, WA Anderson (2004) Removal of hexane in biofilters packed with perlite and a peat-perlite mixture. *World J Microbiol Biotechnol*. 20:337-343.
- Kirchner K, S Wagner y HJ Reham (1992) Exhaust gas purification using biocatalysts (fixed bacteria monocultures)- The influence of biofilm diffusion rate ( $O_2$ ) on the overall reaction rate. *Applied Microbiology Biotechnology*. 37: 277-279.
- Kleinheinz GT y ST Bagley (1998) Biofiltration for the removal and “detoxification” of a complex mixture of volatile organic compounds. *Journal Industrial Microbiology Biotechnology*. 20: 101-108.
- Klotz SA, DJ Drutz, J Zajic (1985) Factors governing adhesion of *Candida* species to plastic surfaces. *Infect Immun*. 50: 97-101.
- Krabben P, J Nielsen y ML Michelsen (1997) Analysis of single hyphal growth and fragmentation in submerged cultures using a population model. *Chemical Engineering Science*. 52 (15): 2641-2652.
- Larralde-Corona CP, F López-Isunza, G Viniegra-González (1992) A kinetic model for germ tube elongation of *Aspergillus niger*. 9th Int. Biotechnol. Symp. Abstract 335, August 16-21, Crystal City, VA.
- Larralde-Corona P (1996) Cinética de crecimiento de microorganismos filamentosos. Tesis Doctoral, Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
- Larralde-Corona PC, F López-Isunza y G Viniegra-González (1997) Morphometric evaluation of the specific growth rate of *Aspergillus niger* grown in agar plates at high glucose levels. *Biotechnology Bioengineering*: 56(3): 287-294.
- Leson G y AM Winer (1991) Biofiltration: an innovative air pollution control technology for VOC emissions. *Journal Air Waste Management Association*. 41:1045-1054.
- Levin M y M Gealt (1997) Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos. Editorial Mc Graw Hill. España.
- Lewandowski GA y LJ DeFilippi (1998) Biological treatment of hazardous waste. Wiley-Interscience Publication, USA. Chap. 5: pag. 119-150.
- Lobo RO (2004) Principios de transferencia de masa. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Segunda impresión. México. Pp. 532.
- López-Isunza F, CP Larralde-Corona y G Viniegra-González (1997) Mass transfer and growth kinetics in filamentous fungi. *Chemical Engineering Science*. 52 (15): 2629-2639.

- López-Insunza F, S Flores y De Hoyos (2004). Modelos de reactores de enzimas inmovilizadas en lechos fijos. (en *Rectores Enzimáticos*, editor Sergio Huerta Ochoa). Universidad Autónoma Metropolitana. División CBS. México. Pp. 232.
- López-Franco R, S Bartnicki-García and CE Bracker (1994) Pulsed Growth of Fungal Hyphal Tips. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91(25): 12228-12232.
- Madigan MT, JM Martinko y J Parker (1999) *Biología de los microorganismos*. Prentice Hall, 8ª Edición. Madrid. Pp. 1064.
- Magaña-Reyes M, Morales M y Revah S (2005) Methyl tert-butyl ether and tert-butyl alcohol degradation by *Fusarium solani*. *Biotechnology Letter*: 27:1797-1801.
- Maier RM, IL Pepper y CP Yerba (2000). *Environmental microbiology*. Academic Press. California. Pp. 585.
- McIntyre M, J Dynesen y J Nielsen (2001) Morphological characterization of *Aspergillus nidulans*: growth, septation and fragmentation. *Microbiology*. 147: 239-246.
- Miller MJ y DG Allen (2004) Transport of hydrophobic pollutants through biofilms in biofilters. *Chemical Engineering Science*. 59:3515-3525.
- Mirpuri R; W Jones y J Bryers (1997) Toluene degradation kinetics for planktonic and biofilm-grown cells of *Pseudomonas putida* 54G. *Biotechnology Bioengineering*. 53 (69): 535-546.
- Mitchell DA, OF von Meien, N Krieger y FDH Dalsenter (2004) A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 17: 15-26.
- Moe WM y B Qi (2004) Performance of a fungal biofilter treating gas-phase solvent mixtures during intermittent loading. *Water Research*. 38: 2259-2268.
- Mohseni M y DG Allen (2000) Biofiltration of mixtures of hydrophilic and hydrophobic volatile organic compounds. *Chemical Engineering Science*. 55: 1545-1558.
- Morales M, S Hernández, T Cornabé, S Revah y R Auria (2003) Effect of drying on biofilter performance: modeling and experimental approach. *Environmental Science Technology*. 37:985-992.
- Nandakumar MP, MS Thakur, KSMS Raghavarao y NP Ghildyal (1994) Mechanism of solid particle degradation by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. *Process Biochemical*. 29: 545-551.
- Nielsen J (1993) A simple morphologically structured model describing the growth of filamentous microorganisms. *Biotechnology Bioengineering*. 41: 715-727.
- Nielsen J y J Villadsen (2003) *Bioreaction engineering principles*. Second Edition. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. USA. Pp. 528.
- NIOSH. National Institute for Occupational Safety and Health (2004) Pocket guide to chemical hazards. Publication No. 97-140. <http://www.cdc.gov/niosh/npg/npgdname.html>.
- Nopharatana M, T Howes y DA Mitchell (1998) Modelling fungal growth on surfaces. *Biotechnology Technology*. 12: 313-318.

- Ottengraf SPP y AHC van den Oever (1983) Kinetics of organic compound removal from waste gases with a biological filter. *Biotechnology Bioengineering*. 25:3089-3102.
- Ottengraf SPP, JJP Meesters, AHC Van der Oever y HR Rozema (1986) Biological elimination of volatile xenobiotic compounds in biofilters. *Bioprocess Engineering*. 1: 61-69.
- O'toole G, HB Kaplay, R Kolter (2000) Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*. 54:49-79.
- Okazaki N, S Sugama y T Tanaka (1980) Mathematical model for surface culture of Koji mold. *Journal Fermentation Technology*. 58: 471-476.
- Pazouki M y T Panda (2000) Understanding the morphology of fungi. *Bioprocess Engineering*. 22: 127-143.
- Pencheva T, I Hristozov y AG Shannon (2003) Mathematical modeling of continuous biotechnological processes. *International Journal Mathematical Science Technology*. 34(4): 593-599.
- Perry RH y C Green (1997) Perry's Chemical Engineers' Handbook, 7aed., Nueva York: McGraw-Hill Book Compani.
- Pol A van Haren F, H. Op den Camp, C van der Drift (1998) Styrene removal from waste gas with a bacterial biotrickling filter. *Biotechnology Letters*. 20(4), 407-410.
- Pomeroy D (1982) Biological treatment of odorous air. *Journal Water Pollutant Contr. Fed*. 54:1541-1545.
- Qindong W, TM Sandrock, BG Turgeon, OC Yorder, SG Wirsal and JR Aist (1998) A Fungal Kinesin Required for Organelle Motility, Hyphal Growth, and Morphogenesis. *Mol. Cell. Biol*. 9: 89-101.
- Rahardjo YSP, FJ Weber, EP le Comte, J Tramper and A Rinzema (2002) Contribution of Aerial Hyphae of *Aspergillus oryzae* to Respiration in a Model Solid-State Fermentation System. *Biotechnol. Bioeng*. 78(5): 539-544.
- Rihn MJ, X Zhu, MT Suidan, BJ Kim y BR Kim (1997) The effect of nitrate on VOC removal in the trickle bed biofilters. *Water Research*. 31(12): 2997-3008.
- Ruiz-Herrera y Ruiz-Medrano (2004) Chitin biosíntesis in fungi. Arora D.K. Editor. Handbook of Fungal Biotechnology 2<sup>nd</sup> Edition. Micology Series N°20. New York. Pp 592.
- Sangsurasak P y DA Mitchell (1995) Incorporation of death kinetics into a 2-D dynamic heat transfer model for solid-state fermentation. *Journal Chemical Technology Biotechnology*. 64: 253-260.
- Saucedo-Castañeda G, MT Trejo-Hernández, BK Lonsane, JM Navarro, S Roussos, D Dufour y M Raimbault (1994) On-line automated monitoring and control systems for CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> in aerobic and anaerobic solid state fermentation. *Process Biochemistry*. 29:13-24.
- Schlegel HG (1997) General microbiology. Cambridge University Press. 7 Edition. United Kingdom.
- Schroder ED (2002) Trends in application of gas-phase bioreactors, *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*. 1:65-74.

- Shareefdeen Z y BC Baltzis (1994) Biofiltration of toluene vapor under steady-state and transient conditions: theory and experimental results. *Chemical Engineering Science*. 49, 4347-4360.
- Shareefdeen Z y Singh A (2005) Biotechnology for odor and air pollution control. Springer-Verlag, Heildeberg, 406pp.
- Shoda M (1991) Methods for the biological treatment of exhaust gases. *Biological Degradation of Wastes*. 31-46.
- Shuler ML, F Kargi y G Lidén (2003) Bioprocess engineering, Basic concepts. Second Edition. Prentice Hall of India. New Delhi. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA.
- Slattery JC (1999) Advanced transport phenomena. Cambridge University Press. New York, USA.. pp. 709.
- Smits JP, HM van Sonsbeek, J Tramper, W Know, W Geelhoed, M Peeters y A Rinzema (1999) Modelling fungal solid-state fermentation: the role of inactivation kinetics. *Bioprocess Engineering*. 20: 391-404.
- Smits TH, Wick LY, Harms H y Keel C (2003) Characterization of the surface hydrophobicity of filamentous fungi. *Environmental Microbiology*. 5: 85-91.
- Spigno G, C Pagella, MD Fumi, R Molteni y DM De Faveri (2003) VOCs removal from waste gases: gas-phase bioreactor for the abatement of hexane by *Aspergillus niger*. *Chemical Engineering Science*. 58:739-746.
- Spigno G y DM De Faveri (2005) Modeling of a vapor-phase fungi bioreactor for the abatement of hexane: fluid dynamics and kinetic aspects. *Biotechnology Bioengineering*. 89(3):319-328.
- Swanson WJ y RC Loehr (1997) Biofiltration: fundamentals, design and operations principles, and applications. *Journal Environmental Engineering*. 538-546.
- Szewczyk KW y L Myszka (1994) The effect of temperature on the growth of *A. niger* in solid-state fermentation. *Bioprocess Engineering*. 10: 123-126.
- Taylor R y R Krishna (1993) Multicomponent mass transfer. John Wiley & Sons, Inc. USA. Pp. 579.
- van Beilen JB, Z Li, WA Duetz, THM Smits y B Witholt (2003) Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment. *Oil Gas Science Technology-Review*. 58(4):427-440.
- van Groenestijn JW y JX Liu (2002) Removal of alpha-pinene from gases using biofilters containing fungi. *Atmospheric Environment*, 36:5501-5508.
- Veiga MC y C Kennes (2001) Parameters affecting performance and modeling of biofilters treating alkylbenzene-polluted air. *Applied Microbiology Biotechnology*. 55:254-258.
- Villena GK y M Gutiérrez-Correa (2003) Biopelículas de *Aspergillus Níger* para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos. *Revista peruana biología*. 10(1):78-87.
- Vinarov AY, ZN Robysheva, VN Smirnov y DP Sokolov (2002) Studies of the stability of microbial association use in industrial biofiltering of gaseous discharges. *Applied Biochemical Microbiology*. 38(5):445-449.



- Viniegra-González G (1997) Solid-state fermentation: Definition, Characteristics, Limitations and Monitoring. In: *Advances in Solid State Fermentation, Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Solid State Fermentation*. Montpellier, France; 5-18.
- Viniegra G (2003) Producción de enzimas por *Aspergillus*. *BioTecnología Revista Sociedad Mexicana Biotecnología y Bioingeniería*. 8(2):18-30.
- Viniegra-González G, G Saucedo-Castañeda, F López-Isunza y E Favela-Torres (1993) Symmetric branching model for the kinetics of mycelial growth. *Biotechnology Bioengineering*. 42(1): 1-10.
- Vergara-Fernández A, I Lara, N Alarcón and G Aroca. (2007) Effects of gas flow rate, inlet concentration and temperature on biofiltration of vapors toluene in a biofilter. *Journal Environmental Management*. 84: 115-122.
- Vergara-Fernández A, B Van Haaren and S Revah (2006) Phase partition of gaseous hexane and surface hydrophobicity of *Fusarium solani* when grown in liquid and solid media with hexanol and hexane. *Biotechnology Letters*. 28:2011-2017.
- Weber F y S Hartmans (1996) Prevention of clogging in a biological trickle-bed reactor removing toluene from contaminated air. *Biotechnology Bioengineering*. 50: 91-97.
- Wessels JGH (1996) Fungal hydrophobins: proteins that function at an interface. *Trends in plant science*. 1(1):9-15.
- Wessels JGH (1999) Fungi in their own right. *Fungal Genetics and Biology*. 27:134-145.
- Woertz JR, K.A Kinney y PJ Szaniszló (2001) A fungal vapor-phase bioreactor for the removal of nitric oxide from waste gas streams. *Journal Air Waste Management Association*. 51:895-902.
- Wösten HAB y ML de Vocht (2000) Hydrophobins, the fungal coat unraveled. *Biochimica et Biophysica Acta*: 1469:79-86.
- Wosten H y J Wiley (2000) Surface active proteins enable microbial aerial hyphae to grow in the air. *Microbiology*. 146:767-773.
- Yarden O (2004) Chitin Biosynthesis in Fungi. Arora D.K. Editor. *Handbook of Fungal Biotechnology* 2<sup>nd</sup> Edition. Micology Series N°20. New York. Pp 592.
- Zarook SM, AA Shaikh y SM Azam (1998) Axial dispersion in biofilters. *Biochemical Engineering Journal*. 1: 77-84.
- Zhu X, MT Suidan, A Pruden, C Yang, C Alonso, BJ Kim y BR Kim (2004) Effect of substrate Henry's constant on biofilter performance. *Journal Air Waste Management Association*. 54: 409-418.
- Zhu X, MT Suidan, C Alonso, T Yu, BJ Kim y BR Kim (2001) Biofilm structure and mass transfer in a gas phase trickled bed biofilter. *Water Science Technology*. 43(1): 285-293.





# ANEXOS

## ANEXO A

### *Determinación de biomasa fúngica por respirometría*

El uso de soportes sólidos heterogéneos en sistemas de biofiltración dificulta la estimación del contenido de biomasa, debido a las interferencias de los sustratos y la dificultad de separar la biomasa de las estructuras granulares del soporte. Una forma posible de estimar la producción de biomasa es a través de respirometría, porque de la relación estequiometría entre la síntesis de biomasa y consumo de oxígeno es posible relacionarlo con la producción de dióxido de carbono con un balance de masa [Cadena et al., 1993; Saucedo-Castañeda et al., 1994]. Entonces, es posible estimar la velocidad de producción de biomasa ( $dx/dt$ ), por medición de la evolución de dióxido de carbono,  $R=d(\text{CO}_2)/dt$ , considerando el coeficiente de rendimiento respiratorio,  $Y_r$ .

$$\frac{dX}{dt} = \frac{R}{Y_r} \quad (\text{A.1})$$

Donde;  $X$  es la concentración celular,  $R$  es la velocidad producción de dióxido de carbono y  $Y_r$  es al rendimiento respiratorio. La ecuación (A.1) indica que la producción de dióxido de carbono es proporcional a la velocidad de crecimiento de la biomasa, pero esto no es caso general, porque un balance de masa más riguroso requiere el uso del coeficiente de mantenimiento,  $m_c$ , el cual considera la actividad respiratorio no asociada con la producción de biomasa, como en la ecuación (A.2).

$$R=Y_r \left( \frac{dX}{dt} \right) + m_c X \quad (\text{A.2})$$

Donde;  $m_c$  es el coeficiente de mantenimiento celular. En muchos casos, el proceso de crecimiento se expresa como una cinética de primer orden (ley exponencial), con una constante específica de crecimiento,  $\mu$ .

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (\text{A.3})$$

Entonces, a cuando el coeficiente de mantenimiento,  $m_c$ , no es despreciable, el valor de  $\mu$  puede ser estimado utilizando la ecuación (A.4), tomando la ecuación (A.2) y (A.3), porque la solución de la ecuación (A.3) es  $X=X_0 e^{\mu t}$  y  $R$  puede ser expresado como proporcional a  $X$ .

$$R=Y_r \left( \frac{dX}{dt} - m_c X \right) = Y_r (\mu - m) X_0 e^{\mu t} \quad (\text{A.4})$$

Aplicando el logaritmo en ambos lados de la ecuación (A.4), la expresión obtenida es:

$$\ln R = \ln A + \mu t \quad (\text{A.5})$$

El valor de A puede ser relacionado a  $Y_r$ ,  $X_0$ ,  $\mu$  y  $m_c$  de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A = Y_r (\mu - m_c) X_0$$

## ANEXO B

### *Porcentaje de mineralización fuente de carbono*

El porcentaje de mineralización de las diferentes fuentes de carbono fueron determinadas utilizando la ecuación teórica de oxidación. A continuación se muestra un ejemplo para el n-hexano a  $\text{CO}_2$  y agua.



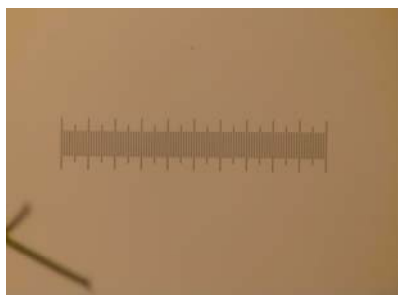
Esta ecuación nos permite determinar la cantidad de moles teóricos generados por oxidación de n-hexano. Entonces el porcentaje de mineralización viene dado por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Mineralización} = \frac{\text{moles experimentales de } \text{CO}_2 \text{ generados}}{\text{moles teóricos de } \text{CO}_2 \text{ generados}} \times 100 \quad (\text{B.2})$$

## ANEXO C

### *Fotografía portaobjeto para calibración análisis de imagen*

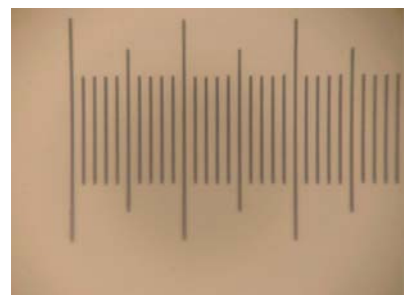
En las siguientes Figuras se muestra el portaobjeto utilizado par calibrar el programa de análisis de imagen, para los objetos 4X, 10X y 20X.



Objetivo 4X



Objetivo 10X



Objetivo 20X

Figura C.1 Fotografías par calibración de programa para análisis de imágenes

## ANEXO D

*Modelo integrado de Gompertz*

El modelo sigmoideal Gompertz es utilizado en biología, botánica, zoología y ecología para describir el crecimiento de plantas, árboles, microorganismos, animales y seres humanos cuyo comportamiento se caracteriza por curvas en forma de “S”, es decir, que incrementan su tasa de cambio monótonamente a partir de un punto fijo hasta alcanzar un punto de inflexión después del cual la tasa de cambio decrece hasta aproximarse asintóticamente a un valor final. Otra característica es que no son simétricas con respecto a su punto de inflexión.

El modelo Gompertz está dado por la siguiente ecuación:

$$S_C = A \cdot e^{(-B \cdot e^{-Kt})} \quad (D.1)$$

Donde,  $S_C$  y  $t$  son las variables y  $A$ ,  $B$  y  $K$  son los parámetros del modelo. Derivando la ecuación (D.1) se obtiene la tasa de cambio de la variable  $S_C$ .

$$\frac{dS_C}{dt} = K \cdot S_C \cdot B \cdot e^{-Kt} \quad (D.2)$$

El término  $B \cdot e^{-Kt}$  puede escribirse en términos de  $S_C$  mediante la siguiente igualdad:

$$B \cdot e^{-Kt} = \log_e \left( \frac{A}{S_C} \right) \quad (D.3)$$

Por lo tanto la ecuación (D.2) se transforma a la siguiente ecuación:

$$\frac{dS_C}{dt} = K \cdot S_C \cdot \log_e \left( \frac{A}{S_C} \right) \quad (D.4)$$

La segunda derivada de la ecuación (D.1) permite identificar la velocidad de cambio de la tasa de cambio  $S_C$ :

$$\frac{d^2S_C}{dt^2} = K \cdot A \cdot e^{(-B \cdot e^{-Kt})} \cdot (B \cdot e^{-Kt})^2 - K \cdot A \cdot e^{(-B \cdot e^{-Kt})} \cdot B \cdot e^{-Kt} \quad (D.5)$$

La ecuación (D.5) se puede escribir de la siguiente manera:

$$\frac{d^2S_C}{dt^2} = K \left( \log_e \frac{A}{S_C} - 1 \right) \frac{dS_C}{dt} \quad (D.6)$$

En el punto de inflexión de la curva  $dS_C/dt$  es máxima y la ecuación (D.6) es cero, por tanto:

$$\log_e \frac{A}{S_C} = 1 \rightarrow S_C = \frac{A}{e} \quad (D.7)$$

La tasa máxima se obtiene evaluando la ecuación (D.4) para  $S_C = A/e$ .

$$V_{\max} = \left. \frac{dS_C}{dt} \right|_{s_c=A/e} = K \left( \frac{A}{e} \right) \log_e \left( \frac{A}{A/e} \right) = K \frac{A}{e} = 0.368 \cdot A \cdot K \quad (D.8)$$

Si  $t_c$  es el tiempo al que se alcanza el punto de inflexión y la tasa máxima de consumo entonces, el punto de inflexión tiene las coordenadas  $(t_c, A/e)$ . La siguiente relación de los parámetros B y K permite calcular  $t_c$ .

$$t_c = \frac{\ln B}{K} \quad (D.9)$$

Al ser un modelo empírico, el modelo no considera la reducción en la tasa por la reducción de la concentración de sustrato. En este sentido es considerado como una relación de orden cero. Además, el valor de K ( $h^{-1}$ ) es independiente de la cantidad de muestra utilizada. El ajuste de datos experimentales de consumo de sustratos con éste modelo reduce el error al tratar de ajustar con una línea. A pesar de que el modelo de Gompertz no tiene un enfoque fenomenológico, es posible asociar los valores de las constantes a tasas de consumo observadas experimentalmente.

## ANEXO E

### *Cálculos de la producción de CO<sub>2</sub> y consumo de O<sub>2</sub>*

Las áreas, de oxígeno  $A_{O_2}$ , de nitrógeno  $A_{N_2}$ , de dióxido de carbono,  $A_{CO_2}$  y de la mezcla de gases,  $A_m$  obtenidas en el cromatógrafo de gases de conductividad térmica se relacionaron de acuerdo con las siguientes expresiones, para calcular los porcentajes de CO<sub>2</sub> y oxígeno en las muestras.

$$\%O_2 = \frac{A_{O_2}}{A_{N_2}} \times B \quad (E.1)$$

$$\%CO_2 = \frac{A_{CO_2} (A_{N_2} + A_{O_2})}{A_{N_2} + A_m} \times A \quad (E.2)$$

Para la determinación de las constantes A y B se utilizó una mezcla patrón con la siguiente composición: 5 cmol/mol, CO<sub>2</sub>; 15 cmol/mol, O<sub>2</sub> y 80.9 cmol/mol.

Se obtuvo los siguientes valores: A = 74.97 y B = 87.22.

## ANEXO F

### *Curva patrón de n-hexano*

Se muestran las curvas patrón (área vs. concentración) para inyecciones de muestras de 100 y 250  $\mu$ L de gas (Figura F1 y Figura F2).

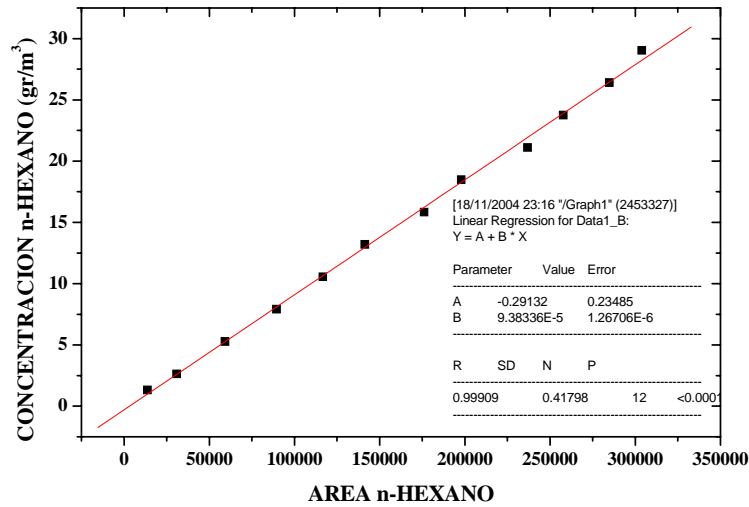


Figura F1. Curva patrón inyección 250  $\mu$ L n-hexano gaseoso. Ajuste:  $C_{Hex} = -0.29132 + (9.38336E - 5) \times A_{Hex}$

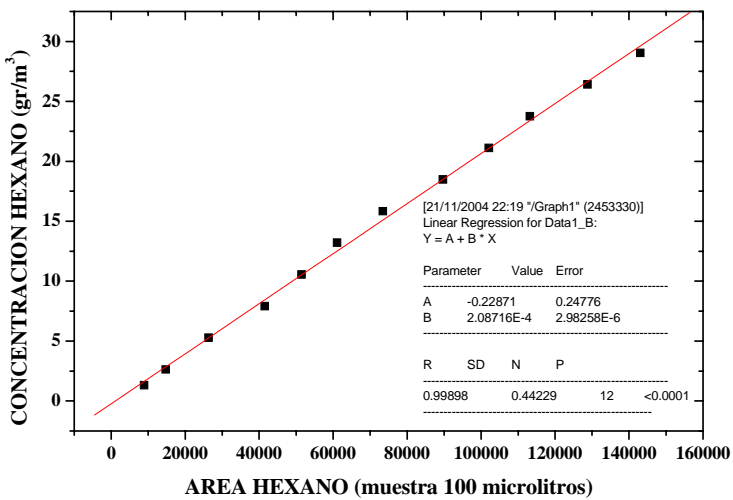


Figura F2. Curva patrón inyección 100  $\mu$ L n-hexano gaseoso. Ajuste:  $C_{Hex} = -0.22871 + (2.08716E - 4) \times A_{Hex}$

## ANEXO G

### *TG Perlita*

En la Figura G1 se muestra la pérdida de peso para la perlita obtenido por termogravimetría (por duplicado), para una muestra inicial de 122 mg, utilizado como blanco.

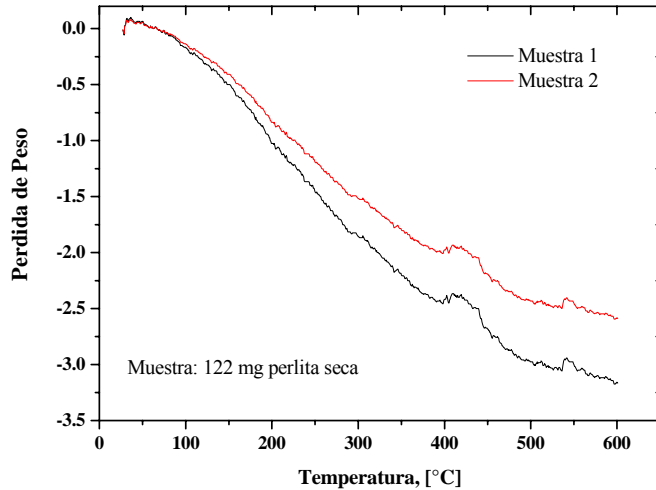


Figura G1. Resultado termogravimetría para la perlita (Blanco).

## ANEXO H

### *Curva de calibrado proteínas*

En la Figura H1 se muestra la curva de calibrado utilizada para la determinación de proteínas para experimentos en microcosmos y columnas de biofiltración.

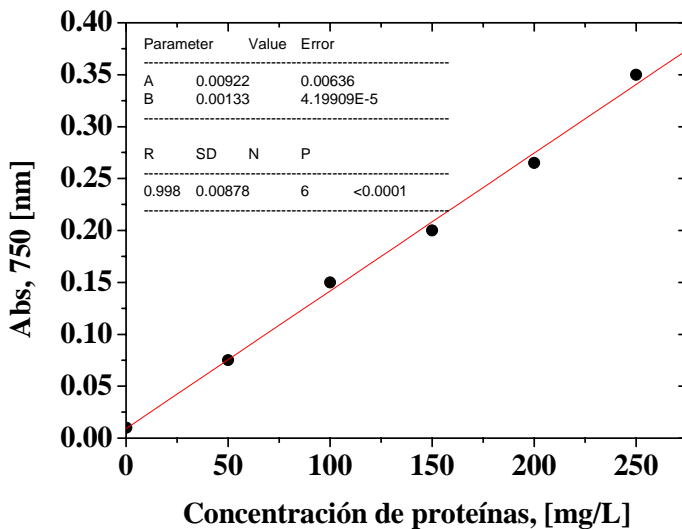


Figura H1 Curva de calibrado de proteínas por el método de Lowry

## ANEXO I

### *Coefficiente de partición*

Se muestra el ajuste de la curva del coeficiente de partición de n-hexano en agua, utilizado como control en los diferentes experimentos de partición.

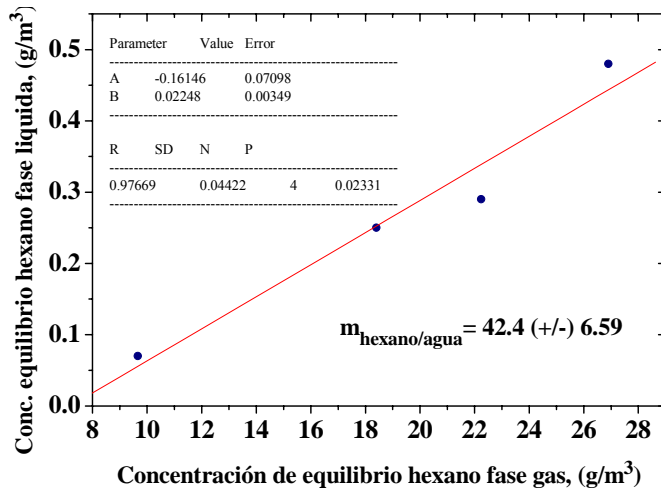
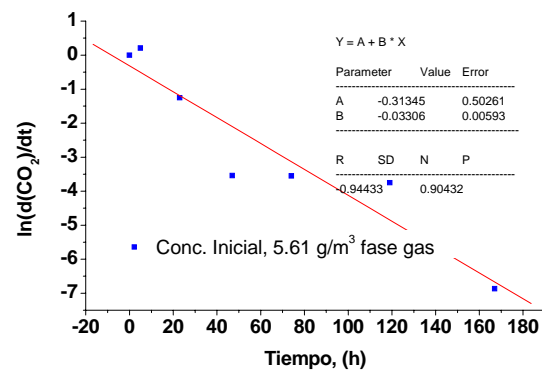
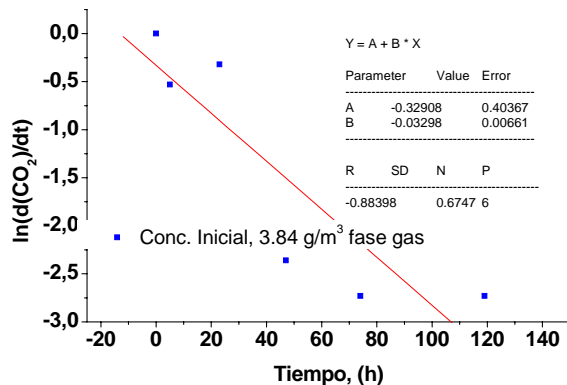
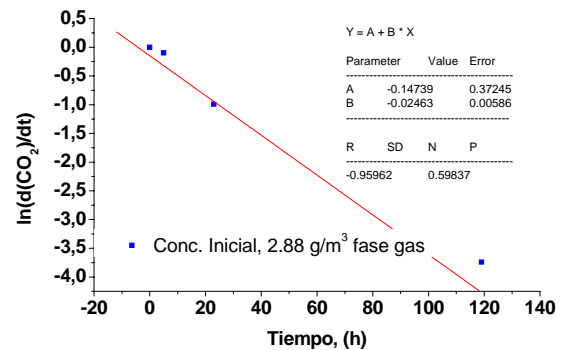
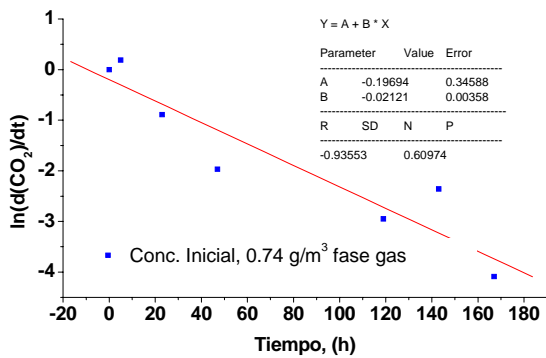


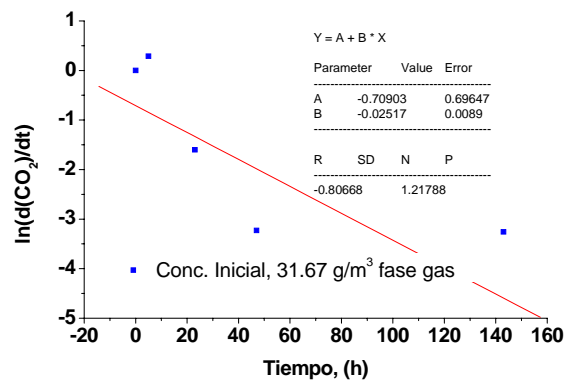
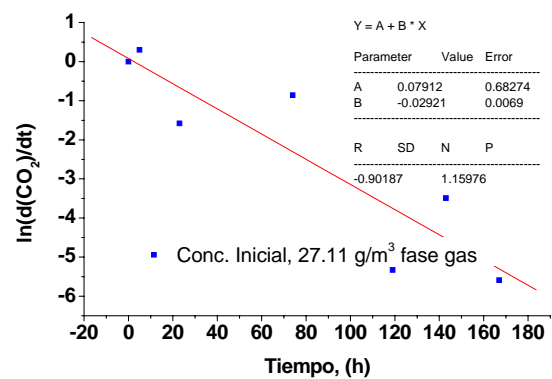
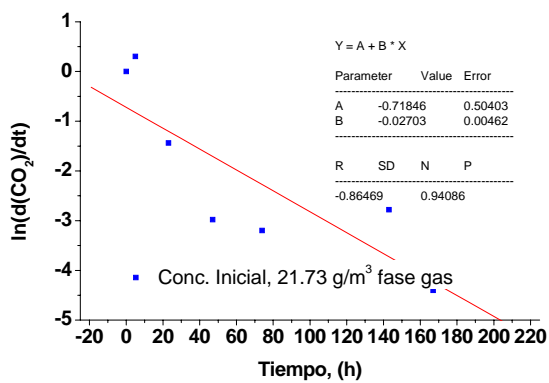
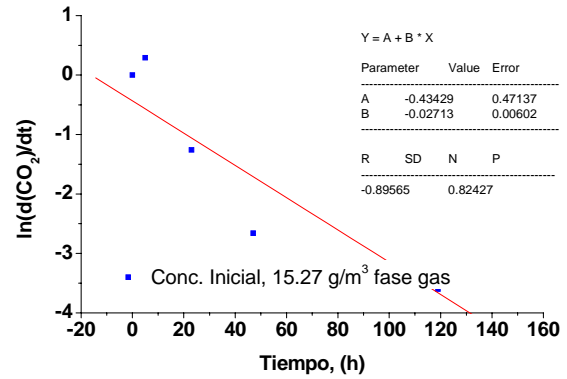
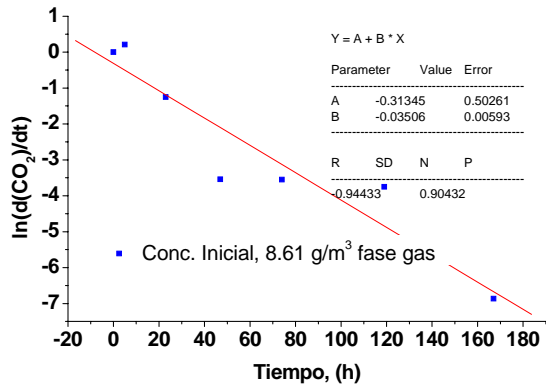
Figura II Curva de ajuste coeficiente de partición de hexano en agua a 30°C y 1 atm.

## ANEXO J

### Velocidad específica de crecimiento

En las siguientes figuras se muestran las regresiones de CO<sub>2</sub> obtenidas de los experimentos de respirometría para cada concentración de n-hexano.



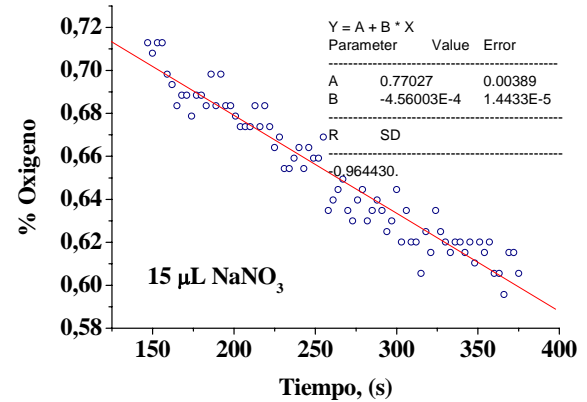
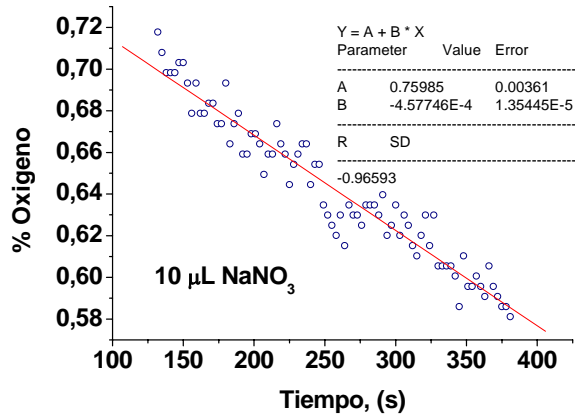
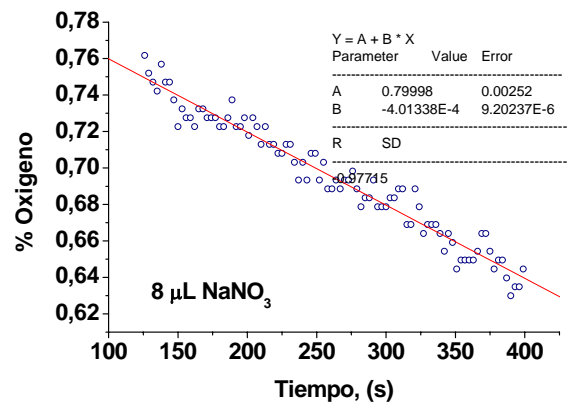
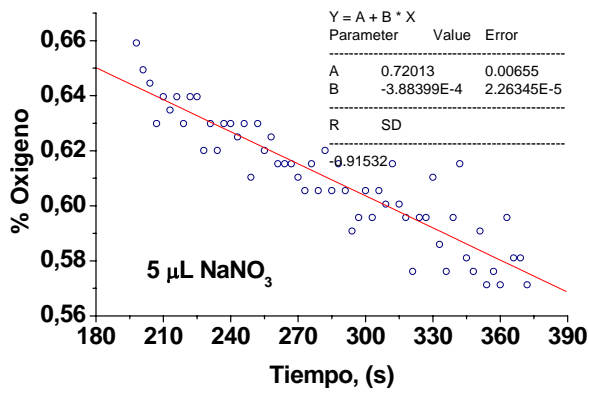
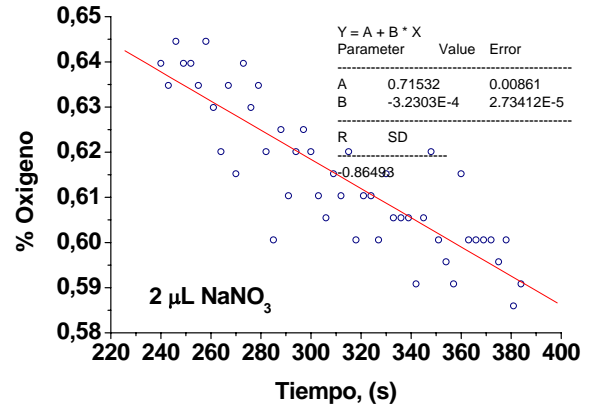
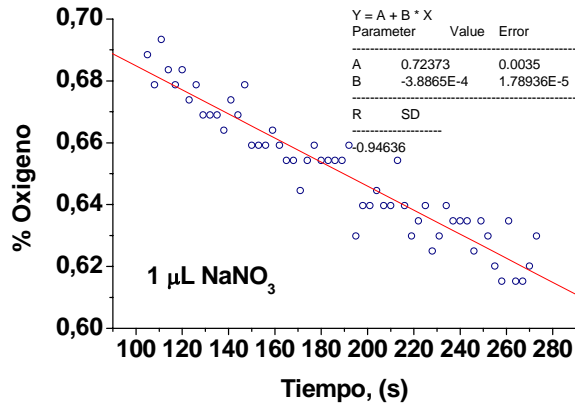


## ANEXO K

### Constante de afinidad $\text{NaNO}_3$

En las siguientes figuras se muestran un ejemplo de las regresiones de las curvas de consumo para diferentes adiciones de la solución de  $\text{NaNO}_3$ , utilizando el software Origin 6.1. Cada uno de los experimentos fue realizado por triplicado, entregando tres regresiones para cada concentración inicial de  $\text{NaNO}_3$ . Con los resultados de estas regresiones se construye el perfil “Químico-Biológico” a diferentes concentraciones de  $\text{NaNO}_3$ .





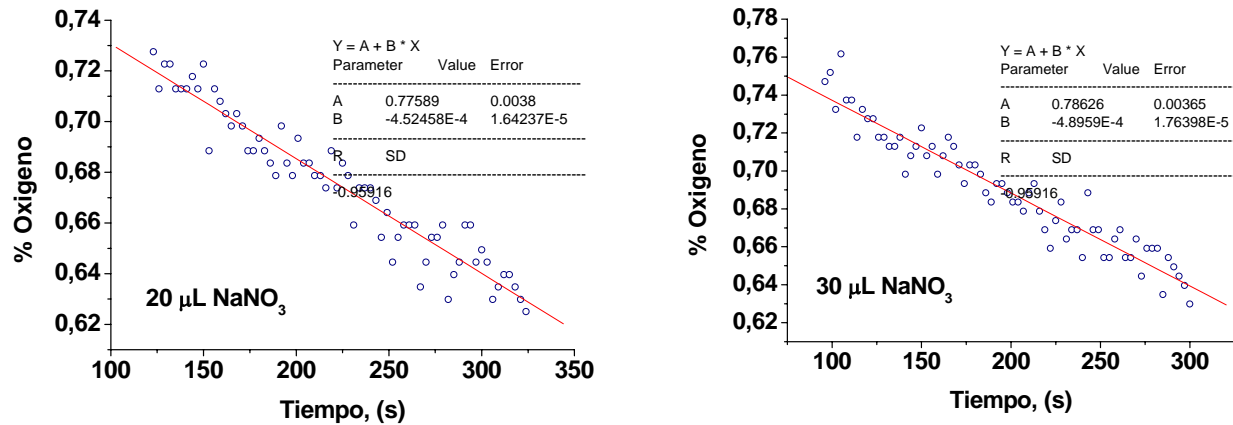


Figura K1 Regresión lineal para un perfil químico-biológico.

## ANEXO L

### *Determinación de la frecuencia de ramificación*

Una posible interpretación se puede hacer en función de una expresión general para la frecuencia de ramificación, calculada a partir del inverso del tiempo,  $\tau$ , que tarda una hifa en alcanzar la distancia crítica,  $L_C$ , después de la cual se ramifica. Esta ecuación se deriva de la ecuación empírica de elongación de las hifas principales (ecuación (L.1)).

$$\frac{dL_h}{dt} = (\mu_{\text{calc}} L_{AV}) \left[ 1 - \frac{\lambda L_h}{L_{\text{max},m}} \right] \quad (\text{L.1})$$

Integrando la ecuación (L.1), utilizando las siguientes condiciones, se obtiene  $\tau$ .

$$\text{C.1} \quad t = 0 \quad L_h = L_0 = d_h \quad (\text{L.2})$$

$$\text{C.2} \quad t = \tau \quad L_h = L_C \quad (\text{L.3})$$

Donde  $L_0$  es la distancia inicial que se supone igual al diámetro de la hifa. Entonces la solución de la ecuación (L.1) es la siguiente:

$$\tau = \frac{L_{\text{max},m}}{u_r} \left[ \ln \left( \frac{L_{\text{max},m} - \lambda L_0}{L_{\text{max},m} - \lambda L_C} \right) \right] \quad (\text{L.4})$$

Entonces, la expresión para la frecuencia de ramificación resulta en la ecuación (L.5):

$$\varphi = \frac{u_r}{L_{\text{max},m} \left[ \ln \left( \frac{L_{\text{max},m} - \lambda L_0}{L_{\text{max},m} - \lambda L_C} \right) \right]} \quad (\text{L.5})$$

## ANEXO M

*Ajuste modelo de Gompertz en muestras de biofiltros*

En la Tabla M.1 se muestran los parámetros obtenidos para el ajuste del modelote Gompertz para muestras de las columnas de biofiltración al final de su operación. En la Figura M.1 se muestra un ejemplo del ajuste del modelo para el biofiltro B1.

Tabla M.1 Parámetros A, K y  $t_c$  del modelo Gompertz para el consumo de hexano en microcosmos.

	A	K	$R^2$	$V_{max} = 0.368AK$	$t_c$
	[ $mg \cdot g^{-1} \text{biomasa}$ ]	[ $h^{-1}$ ]	(-)	[ $mg \cdot g \text{biomasa}^{-1} \cdot h^{-1}$ ]	[h]
Biofiltro B1	3.11	3.72	0.99	4.3	0.55
Biofiltro B2	3.39	3.01	0.98	3.7	0.35
Biofiltro B3	3.40	3.1	0.95	3.9	0.37
Biofiltro B4	2.83	2.68	0.97	2.7	0.39

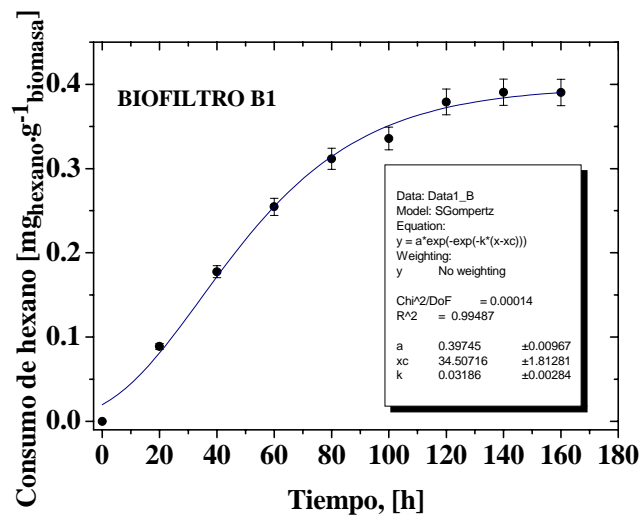


Figura M.1 Ejemplo de una curva de ajuste del modelo de Gompertz para B1.

## ANEXO N

*Determinación perfiles de velocidad*

Para la determinación de los perfiles de velocidad fueron realizadas las siguientes consideraciones: a) fluido newtoniano, b) fluido incompresible (a las condiciones de trabajo), c) sistema isotérmico, d) estado estacionario y e) se desprecian los efectos sobre el soporte.

$$v_z = 0; \quad v_r = v_r(r, \theta); \quad v_\theta = v_\theta(r, \theta) \quad (N.1)$$

Entonces, de acuerdo a Slattery [1999] las funciones de corriente vienen dadas por las ecuaciones (N.2) y (N.3).

$$v_r = \frac{1}{r} \frac{\partial \psi}{\partial \theta} \quad (N.2)$$

$$v_{\theta} = -\frac{\partial\psi}{\partial r} \quad (\text{N.3})$$

Utilizando la ecuación de Navier-Stokes en términos de la función de corriente, considerando *Flujo Reptante* y estado estacionario, se obtiene la ecuación (N.4) que describe el sistema en estudio:

$$E^4\psi = \left[ \frac{\partial^2\psi}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial\psi}{\partial r} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2\psi}{\partial \theta^2} \right] = 0 \quad (\text{N.4})$$

Con las siguientes condiciones de frontera:

$$\text{C.F.1} \quad r = r_1 \quad v = 0; \quad \frac{1}{r} \frac{\partial\psi}{\partial \theta} = 0; \quad \frac{\partial\psi}{\partial r} = 0 \quad (\text{N.5})$$

$$\text{C.F.2} \quad r \rightarrow \infty \quad v = v_g e_x; \quad v_r = \frac{1}{r} \frac{\partial\psi}{\partial \theta} \quad (\text{N.6})$$

Escribiendo la velocidad del gas en forma matricial y suponiendo que el diámetro de la hifa es menor a la distancia entre ellas, se obtiene la relación entre la función de corriente y la velocidad del gas.

$$\begin{pmatrix} \cos\theta & -\text{sen}\theta & 0 \\ \text{sen}\theta & \cos\theta & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} v_r^{\infty} \\ v_{\theta}^{\infty} \\ v_z^{\infty} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_g \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (\text{N.7})$$

De donde se obtuvo la relación entre la velocidad del gas y la función de corriente (ecuación (N.8)). Luego dado que la función de corriente es arbitraria para una constante se obtiene la forma de la función solución a utilizar (ecuación (N.9)):

$$v_r = v_g \cos\theta = \frac{1}{r} \frac{d\psi}{d\theta} \quad (\text{N.8})$$

$$r \rightarrow \infty; \quad \psi = \int_0^{\psi} d\psi = \int_0^{\theta} \frac{d\psi}{d\theta} d\theta = r v_g \text{sen}\theta \quad (\text{N.9})$$

Para resolver la ecuación de Navier-Stokes, se propone la siguiente solución:

$$\psi = F(r) \text{sen}\theta \quad (\text{N.10})$$

Reemplazando en la ecuación (N.4) y ordenando se obtiene la ecuación diferencial (N.11) y las condiciones de frontera a resolver:

$$r^4 \frac{d^4 F}{dr^4} + 2r^3 \frac{d^3 F}{dr^3} - 3r^2 \frac{d^2 F}{dr^2} + 3r \frac{dF}{dr} - 3F = 0 \quad (\text{N.11})$$

$$\text{C.F.1} \quad r = r_1 \quad F(r) = 0 \quad (\text{N.12})$$

$$\text{C.F.2} \quad r = r_1 \quad \frac{dF(r)}{dr} = 0 \quad (\text{N.13})$$

$$\text{C.F.3} \quad r \rightarrow \infty \quad F(r) = r v_g \quad (\text{N.14})$$

Resolviendo la ecuación diferencial (N.11) se obtiene la función de corriente (ecuación (N.15)):

$$\psi = v_g \left( r + \frac{r_1^2}{r} \right) \text{sen}\theta \quad (\text{N.15})$$

Derivando la ecuación (N.15) y reemplazando en las ecuaciones (N.2) y (N.3), se obtuvieron los perfiles de velocidad en la película de gas alrededor de las hifas:

$$v_r = v_g \cos\theta \left[ 1 - \frac{r_1^2}{r^2} \right] \quad (\text{N.16})$$

$$v_\theta = v_g \text{sen}\theta \left[ \frac{r_1^2}{r^2} - 1 \right] \quad (\text{N.17})$$

## ANEXO Ñ

### *Estimación del coeficiente de difusión molecular del gas*

Esta ecuación utiliza los volúmenes de difusión atómicos, los cuales son sumados para cada molécula de gas. La ecuación resultante es:

$$D_g = \frac{0.0010T^{1.75}}{P \left[ \left( \sum v_i \right)_A^{1/3} + \left( \sum v_i \right)_B^{1/3} \right]^2} \left( \frac{1}{M_A} + \frac{1}{M_B} \right)^{1/2} \quad (\text{Ñ.1})$$

Donde  $\left( \sum v_i \right)_A$  y  $\left( \sum v_i \right)_B$  representan la sumatoria de los volúmenes de difusión de los átomos  $i$  que componen las moléculas A y B siendo las moléculas de COV y aire, respectivamente, M es la masa molar. Las constantes T y P corresponden a la temperatura (K) y presión (atm) absoluta, respectivamente. Una de las ventajas de esta ecuación es que puede ser utilizada para mezclas de gases polares, de no polares, y para mezclas de ambos.

## ANEXO O

### *Estimación del coeficiente de difusión en soluciones de electrolitos*

La teoría de difusión de una sola sal en solución diluida está bien desarrollada y la expresión utilizada para estimar el coeficiente de difusión es la ecuación de Nernst-Haskell.

$$D^0 = \frac{RT \left( \frac{1}{n_+} + \frac{1}{n_-} \right)}{Fa^2 \left( \frac{1}{\lambda_+^0} + \frac{1}{\lambda_-^0} \right)} \quad (\text{O.1})$$

Donde  $D^0$  es el coeficiente de difusión a dilución infinita, basado en la concentración molecular del soluto ( $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ); Fa, constante de Faraday ( $964888 \text{ coulomb} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{equiv.}$ ); R constante de los gases ( $8.315 \text{ Joule} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ); T temperatura (K),  $n_+$ ,  $n_-$  valencia del catión y del anión, respectivamente;  $\lambda_+^0$ ,  $\lambda_-^0$  conductancia a

dilución infinita a la temperatura T, del catión y del anión, respectivamente ( $\text{amp cm}^{-2}$ )( $\text{Volt.cm}^{-1}$ )( $\text{g-equiv.cm}^{-3}$ ).

## ANEXO P

### *Cálculo del coeficiente de transferencia de masa en fase gas ( $k_g$ )*

El valor de  $k_g$  fue calculado utilizando la ecuación (P.1).

$$\text{Sh} = \frac{k_g \times d}{D_{\text{DM,g}}} \quad (\text{P.1})$$

Donde  $d$  es el diámetro del empaque,  $k_g$  es el coeficiente de transferencia de masa en fase gas,  $D_{\text{DM,g}}$  es el coeficiente de difusión del compuesto en fase gaseosa y  $\text{Sh}$  es el número de Sherwood. Para la determinación del número de  $\text{Sh}$  se utilizó la ecuación (P.2).

$$\text{Sh} = 2 + 0.57 \times \text{Re}^{0.5} \times \text{Sc}^{0.33} \quad (\text{P.2})$$

Donde:

$$\text{Re} = \frac{\rho_g \times v_g \times d}{\mu_g} \quad (\text{P.3})$$

$$\text{Sc} = \frac{\mu_g}{\rho_g \times D_{\text{DM,g}}} \quad (\text{P.4})$$

Donde  $v_g$  es la velocidad superficial del gas,  $\mu_g$  es la viscosidad dinámica del aire a 30°C y  $\rho_g$  es la densidad del aire.

## ANEXO Q

### *Dispersión axial en el biofiltro*

Los dos principales mecanismos que generan la dispersión en lechos empacados son, primero la difusión molecular y segunda la generación de mezclado a partir del flujo en canales, generalmente llamado difusión por retomezclado. El primero tiene predominancia a bajos números de Reynolds y el segundo a altos números de Reynolds. Para el primer caso se puede definir el coeficiente de dispersión longitudinal,  $D_{\text{Dz}}$ , como una relación con la difusión molecular, luego sumando el efecto del retomezclado e introduciendo un factor de corrección empírico, se obtiene la siguiente ecuación.

$$D_{\text{Dz}} = \left( \frac{0.25}{\epsilon_R} + \frac{0.28}{\epsilon_R} \left( \frac{\epsilon_R v_g d_p}{D_g} \right)^{1.4} \right) D_g + \frac{0.5 v_g d_p}{1 + \left( \frac{9.7 D_g}{v_g d_p} \right)} \quad (\text{Q.1})$$

En donde  $D_g$  es la difusión molecular del gas en el seno del gas,  $d_p$  corresponde al diámetro de partícula de soporte y  $\epsilon_R$  es la fracción de vacío en el reactor.

## ANEXO R

### PROGRAM PRINCIPAL

```

INTEGER KHI, TI, POS, NLR, INCIM
PARAMETER (TI=18000, POS=200)
DOUBLE PRECISION CAGPROM, CNHUL, ZLRP(POS), DELTALRZP
DOUBLE PRECISION KI, K2, KIA, LHIFA, RHIFA, LHIFANEW
DOUBLE PRECISION CAGPT(POS, TI), CABSAL, CAG0
DOUBLE PRECISION CABPT(POS, TI)
DOUBLE PRECISION LHIFAPT(POS, TI)
DOUBLE PRECISION VESPEC, Ur, FRER, LHTIP, LHTIR
DOUBLE PRECISION VESPECPT(POS, TI), UrPT(POS, TI), FRERPT(POS, TI), LHTIPPT(POS, TI), LHTIRPT(POS, TI)

OPEN (4, FILE= 'LARGO.DAT')
OPEN (5, FILE= 'PELICULA.DAT')
OPEN (6, FILE= 'SENO REACTOR.DAT')
OPEN (7, FILE= 'VELOCIDADES.DAT')

INCIM=5
NLR=30
LHIFA=2.6D-6

ZLRP(1)=0.0
ZLRP(NLR)=1.0D00

DELTALRZP=ZLRP(NLR)/(NLR-1)

DO I3=1, NLR-1
    ZLRP(I3+1)=ZLRP(I3)+DELTALRZP
ENDDO

DO KHI=2, 18000
    IF (INCIM.EQ. KHI) THEN
        WRITE(4,*) 'TIEMPO ', KHI
        WRITE(4,*) 'POSICION          LARGO'
        WRITE(5,*) 'TIEMPO ', KHI
        WRITE(5,*) 'POSICION          PELICULA'
        WRITE(6,*) 'TIEMPO ', KHI
        WRITE(6,*) 'POSICION          CAG SENO'
        WRITE(7,*) 'TIEMPO ', KHI
        WRITE(7,*) 'VESPEC          UR          FRER'
    ENDIF

DO KPOS=1, NLR
    IF (KHI.GT. 2) THEN
        LHIFA=LHIFAPT(KPOS, KHI-1)
    ENDIF

    CALL PELICULA (CAGPROM, LHIFA, KI, K2, KIA, RHIFA, KPOS, CAG0)
    CAGPT(KPOS, KHI)=CAGPROM
    CALL MENU_LR (CAGPROM, NLR, CABSAL)
    CABPT(KPOS, KHI)=CABSAL
    CAG0=CABSAL
    CALL MENU_NU (CAGPROM, LHIFA, CNHUL, KI, K2, KIA, RHIFA)
    CALL MENU_CRECIMIENTO_HIFA (KI, K2, KIA, LHIFA, RHIFA, CAGPROM, CNHUL, KHI,
LHIFANEW, VESPEC, Ur, FRER, LHTIP, LHTIR)

    IF (KHI.EQ. 2) THEN
        LHIFAPT(KPOS, KHI-1)=LHIFA
    ENDIF

    LHIFAPT(KPOS, KHI)=LHIFANEW
    VESPECPT(KPOS, KHI)=VESPEC

```

```

UrPT(KPOS,KHI)=UR
FRERPT(KPOS,KHI)=FRER
LHTIPPT(KPOS,KHI)=LHTIP
LHTIRPT(KPOS,KHI)=LHTIR

IF (INCIM.EQ. KHI) THEN
  WRITE(4,*) KPOS,LHIFANEW*(2D7)
  WRITE(5,*) KPOS, CAGPROM
  WRITE(6,*) ZLRP(KPOS), CABSAL
  WRITE(7,*) VESPEC, UR, FRER
ENDIF

ENDDO

IF (INCIM.EQ. KHI) THEN
  INCIM=INCIM+305
ENDIF

ENDDO

ENDPROGRAM PRINCIPAL

SUBROUTINE PELICULA (CAGPROM, LHIFA,K1,K2,K1A, RHIFA,KPOS, CAG0)!      PROGRAM MENU
  INTEGER OPCION, S
  PARAMETER (E=100)
  INTEGER NRA, KKRA
  INTEGER INC,MMRA, KPOS
  DOUBLE PRECISION BI, DELTAXC, DELTAYC
  DOUBLE PRECISION COMP(E,E)
  DOUBLE PRECISION A(E), B(E), C(E), R(E), U(E)
  DOUBLE PRECISION CAG(E,E), CAGP(E,E)
  DOUBLE PRECISION w
  DOUBLE PRECISION LHIFA, K1,K2,K1A, LAMBDA, CNHN
  DOUBLE PRECISION XRA(E), YRA(E)
  DOUBLE PRECISION ALPHA1RA, ALPHA2RA, ALPHA3RA, ALPHA4RA
  DOUBLE PRECISION SUMACAG, CAGPROM
  DOUBLE PRECISION W1, W2, CAGF1, CAGFN, PE2, CAG0, RHIFA, OMEGA

  !BI=BIOT, DELTAS
  !VAR. D COMP D THETAS Y CONV
  !VAR. DE LA MAT TRIDIAGONAL

  CALL DATOSRA (NRA,MMRA,CAGF1, CAGFN, PE2, CAG0, LHIFA, RHIFA, W1,W2,K1,K2,K1A, CNHN)
  CALL METODORA (ALPHA1RA, ALPHA2RA, ALPHA3RA, ALPHA4RA)
  CALL COND INICIALRA (NRA, MMRA, CAG0, CAG, XRA,YRA, CAGP, DELTAYC, DELTAXC, LHIFA,
RHIFA,LAMBDA, OMEGA,W1,K1,K1A,K2,CAGFN, CNHN)

  INC=1

  DO IT=1,10000
    !NUMERO DE ITERACIONES MAXIMA
    DO KKRA=MMRA-1,2, -1
      !CICLO DE JOTAS

      CALL ABCRA (NRA,MMRA,XRA,YRA,PE2,A,B,C,LAMBDA,DELTAXC,DELTAYC, KKRA, ALPHA1RA, ALPHA2RA,
ALPHA3RA, ALPHA4RA,CNHN,CAGFN, W1, K1,K2,K1A,LHIFA,RHIFA )
      CALL CALCULORA (NRA,MMRA,KKRA,ALPHA4RA,DELTAXC,DELTAYC,XRA,YRA, R, CAGP, ALPHA1RA,
ALPHA3RA, CAGF1, W2, LAMBDA)
      CALL TRIDIAG (A, B, C, R, U, NRA)

      DO I=1,NRA
        CAG(I,KKRA)=U(I)
      ENDDO

      w=1.0
      !PARAMETRO DE RELAJACION

      DO I=1,NRA
        CAG(I,KKRA)=CAG(I,KKRA)*w+(1-w)*CAGP(i,KKRA)
      ENDDO
      !METODO DE RELAJACION
      DO I=1,NRA
        CAGP(I,KKRA)=CAG(I,KKRA)
      ENDDO
      ENDDO
      DO I=1,NRA
        CAG(I,MMRA)=CAG(I,MMRA-1)
      ENDDO
    ENDDO
  ENDDO

```



```

                CAG(I,1)=CAG(I,2)                                !CONDICION DE FRONTERA EN j=MM (Y=t)
ENDDO

CALL COMPARACIONRA (IT, NRA, INC, MMRA, COMP, CAG, CAGP) !LLAMA SUBROUTINA DE COMPRACION

DO J=1,MMRA
    DO I=1, NRA
        IF (COMP(I,J) .LT. 0.01) THEN                            !TOLERANCIA DE COMPARACION
            ELSE
                GOTO 90
        ENDIF
    ENDDO
ENDDO
GOTO 93

90 WRITE(*,*) IT
    ENDDO

    93    SUMACAG=0.0
        DO KK=1, MMRA
            SUMACAG=CAG(NRA,KK)+SUMACAG
        ENDDO
        CAGPROM=SUMACAG/MMRA
END SUBROUTINE PELICULA

SUBROUTINE COMPARACIONRA (IT, NRA, INC, MMRA, COMP, CAG, CAGP)
    INTEGER INC, NRA
    DOUBLE PRECISION COMP(NRA,MMRA), CAG(NRA,MMRA),CAGP(NRA,MMRA)

    IF(INC .EQ. IT) THEN
        DO LL=1, MMRA
            DO L=1, NRA
                COMP(L,LL)=ABS((CAGP(L,LL)-CAG(L,LL))/CAG(L,LL))
            ENDDO
        ENDDO
        DO LL=1, MMRA
            DO L=1, NRA
                CAGP(L,LL)=CAG(L,LL)
            ENDDO
        ENDDO
    INC=INC+10

    ENDIF
END SUBROUTINE COMPARACIONRA

SUBROUTINE MENU_LR (CAGPROM, NLR, CABSAL)

    INTEGER OPCION                                !OPCION DEL MENU
    PARAMETER (E=100)
    INTEGER NLR, NLRi                               !NUMERO NODOS
    INTEGER INC,MMLR
    DOUBLE PRECISION DELTALRZ, DELTALRZi
    DOUBLE PRECISION THETALRZ(E), COMPLR(E)        !VAR. D COMP D THETAS Y CONV
    DOUBLE PRECISION ALR(E),BLR(E),CLR(E),RLR(E),CAGU(E),PeI    !VAR. DE LA MAT TRIDIAGONAL
    DOUBLE PRECISION CAB(E),CABC(E)
    DOUBLE PRECISION W,CABA(E)
    DOUBLE PRECISION ZLR(E)
    DOUBLE PRECISION ALPHALR1,ALPHALR2,ALPHALR3,ALPHALR4
    DOUBLE PRECISION CAGPROM, CABSAL
    DOUBLE PRECISION ST

    CALL DATOSLR (PeI,St)
    CALL METODOLR (ALPHALR1,ALPHALR2,ALPHALR3,ALPHALR4)
    CALL COND_INICIAL_LR (NLR,CAB,ZLR,CABC,DELTALRZ)
    CALL ABC_LR (NLR,PeI,ST,DELTALRZ,ALR,BLR,CLR,ALPHALR1,ALPHALR2,ALPHALR3,ALPHALR4)

    INC=1
    DO IT=1,2000                                !NUMERO DE ITERACIONES MAXIMA

        CALL CALCULO_LR (NLR,CAGPROM,RLR,E,DELTALRZ,St) !LLAMA SUBROUTINA CALCULO VALORES INDP. MATRIZ
        CALL TRIDIAG (ALR,BLR,CLR,RLR,CAGU,NLR) !LLAMA SUBROUTINA TRIDIAGONAL

```

```

DO ILR=1,NLR
  CAB(ILR)=CAGU(ILR)
ENDDO

W=0.5                                !PARAMETRO DE RELAJACION

DO ILR=1,NLR
  CAB(ILR)=CAB(ILR)*W+(1-W)*CABC(ILR)    !METODO DE RELAJACION
ENDDO
DO ILR=1,NLR
  CABC(ILR)=CAB(ILR)
ENDDO

CALL COMPARACIONLR (IT,NLR,INC,MMLR,COMPLR,CAB,CABA)  !LLAMA SUBROUTINA DE COMPRACION

DO ILR=1, NLR
  IF (COMPLR(ILR) .LT. 0.0000000000001) THEN    !TOLERANCIA DE COMPARACION
    ELSE
    GOTO 90
  ENDDIF
ENDDO
GOTO 93
90  ENDDO

ENDSUBROUTINE MENU_LR

!***** INCREMENTO ITERACION *****
SUBROUTINE COND_INICIAL_LR (NLR,CAB,ZLR,CABC,DELTALRZ)

  DOUBLE PRECISION CAB(NLR),ZLR(NLR),CABC(NLR)    !THETA: VAR INDEPENDIENTE
  DOUBLE PRECISION DELTALRZ                      !DELTAS

  INTEGER NLR

  ZLR(1)=0.0
  ZLR(NLR)=1.0D00

  DELTALRZ1=ZLR(NLR)/(NLR-1)
  DELTALRZ=DELTALRZ1/(NLR-1)                    !INCREMENTO DELTALRZ

  DO L=1, NLR-1
    ZLR(L+1)=DELTALRZ+ZLR(L)                    !INCREMENTO ITERACION EN Z
  ENDDO
END SUBROUTINE COND_INICIAL_LR

!***** COEFICIENTES DE LA MATRIZ TRIDIAGONAL *****
SUBROUTINE ABC_LR (NLR,Pe1,ST,DELTALRZ,ALR,BLR,CLR,ALPHALR1,ALPHALR2,ALPHALR3,ALPHALR4)

  INTEGER NLR                                !NUMERO DE NODOS
  DOUBLE PRECISION Pe1,DELTALRZ, ST          !Z: POSICION, Pe1: PECLET
  DOUBLE PRECISION ALR(NLR),BLR(NLR),CLR(NLR)
  DOUBLE PRECISION ALPHALR1,ALPHALR2,ALPHALR3,ALPHALR4

  BLR(1)=1.0                                !COEF. B PARA C.F. 1
  CLR(1)=(1.0-Pe1*DELTALRZ)/(Pe1*DELTALRZ-1.0)  !COEF. C PARA C.F. 1

  DO L=2, NLR-1
    ALR(L)=((ALPHALR3/ALPHALR4)-(1.0/(DELTALRZ*Pe1)))    !COEFICIENTE A TRIDIAGONAL
    CLR(L)=((ALPHALR1/ALPHALR4)-(1.0/(DELTALRZ*Pe1)))    !COEFICIENTE C TRIDIAGONAL
    BLR(L)=((ALPHALR2/ALPHALR4)+(2.0/(DELTALRZ*Pe1)))+(St*DELTALRZ)  !COEFICIENTE B TRIDIAGONAL
  ENDDO

  ALR(NLR)=-1.0D00    !COEF. A PARA C.F. 2
  BLR(NLR)=1.0D00    !COEF. B PARA C.F. 2

END SUBROUTINE ABC_LR

!***** VALORES INDEPENDIENTES DE LA MATRIZ *****

```

SUBROUTINE CALCULO\_LR (NLR,CAGPROM,RLR,E,DELTALRZ,St)

```

      INTEGER NLR                                !INTER DE POSICION
      DOUBLE PRECISION CAGPROM,St                !X:POSICION,THETA:VAR IND
      DOUBLE PRECISION RLR(NLR),DELTALRZ

      RLR(1)=0.0

      DO L=2, NLR-1
         RLR(L)=St*DELTALRZ*(CAGPROM)
      ENDDO

      RLR(NLR)=0.0
END SUBROUTINE CALCULO_LR

```

SUBROUTINE COMPARACIONLR (IT, NLR, INC, MMLR, COMPLR, CAB, CABA)

```

      INTEGER INC, NLR
      PARAMETER (E=100)
      DOUBLE PRECISION COMPLR(NLR), CAB(NLR),CABA(NLR)

      IF(INC.EQ. IT) THEN
         DO L=1, NLR
            COMPLR(L)=ABS((CABA(L)-CAB(L))/CAB(L))
         ENDDO
         DO L=1, NLR
            CABA(L)=CAB(L)
         ENDDO

         INC=INC+40
      ENDIF

END SUBROUTINE COMPARACIONLR

```

SUBROUTINE MENU\_NU (CAGPROM, LH, CNHUL, KS1,KS2,KINH, RHIFA)

```

      PARAMETER (ENH=200000)
      INTEGER NNU,KNH                                !NUMERO NODOS Y TIME
      INTEGER MNH,INCNU                               !LINEAS D MATRIZ, INCNU.

      DOUBLE PRECISION ZNU(ENH),CONHF(ENH),CONH0,CONH1,CONHN      !Z:POSICION,CONH:VAR IND
      DOUBLE PRECISION THIELE,DTHAUNU,KS1,KS2,KINH
      DOUBLE PRECISION COMPNU(ENH)                   !VAR D COMP D CONHS Y CONV
      DOUBLE PRECISION BETANU(ENH)                  !VAR DE LA EC DISCRETIZADA
      DOUBLE PRECISION ANU(ENH),BNU(ENH),CNU(ENH),RNU(ENH)       !VAR DE LA MAT TRIDIAG
      DOUBLE PRECISION PANU(ENH),PBNU(ENH),PCNU(ENH),LAMB DANU,H(ENH) !VAR PRECOEFICIENTES

      DOUBLE PRECISION UNU(ENH),CONH(ENH),CONHC(ENH), CAGPROM, LH, CNH, CNHUL, RHIFA

      CALLDATOS_VARIABLE_NU
      (NNU,NNU1,NNU2,DTHAUNU,KNH,THIELE,CONH0,ZNU,CONH1,CONHN,KS1,KS2,KINH,CNH,LH,RHIFA)

      CALL MALLA_NU (NNU,NNU1,NNU2,DTHAUNU,KNH,THIELE,CONH0,CONH1,CONHN,H,ZNU,LH)
      CALL MET_SOL_NU (LAMB DANU)
      CALL PREABC_NU (NNU,ZNU,DTHAUNU,BETANU,THIELE,MNH,PANU,PBNU,PCNU,H,CNH,CAGPROM,KS1,KS2,KINH)
      CALL ABC_NU (NNU,ANU,BNU,CNU,ZNU,DTHAUNU,THIELE,MNH,PANU,PBNU,PCNU,LAMB DANU)
      CALL COND_INICIAL_NU (NNU,CONH0,CONH,ZNU,CONHC)
      CALL COND_FRONTERA_NU (KNH,NNU,CONH1,CONHN,CONHF)

      INCNU=2

      DO KK=2, KNH+2
         CALL CALCULO_NU (NNU,THIELE,CONH,CONHF,ANU,BNU,CNU,RNU,KNH,MNH,PANU,PBNU,PCNU,LAMB DANU)
         CALL TRIDIAG (ANU,BNU,CNU,RNU,UNU,MNH)
         CALL COMPARACION_NU (KK,CONHC,INCNU,MNH,COMPNU,UNU)

         DO I=1, MNH
            IF (COMPNU(I) .LT. 0.0000001) THEN
               IF (I.EQ. MNH+1) THEN
                  GOTO 36
               ELSE

```

```

                                GOTO 20
                                ENDIF
                                ENDIF
                                ENDDO
20    CALL IMPRESION_NU (KK,KNH,ZNU,CONH,INCNU,UNU,CONHF,NNU)      !IMPRIME RESULTADOS OBTENIDOS
                                DO L=1, MNH
                                    CONH(L+1)=UNU(L)
                                ENDDO
                                CONH(NNU)=CONH(NNU-1)              !CONDICION DE FRONTERA 2. CONTINUIDAD

                                IF (KK .EQ. 2) THEN
                                    CNHUL=CONH(NNU)
                                ENDIF
                                ENDDO
36    WRITE(2,*)
                                WRITE(2,*) '*****'

                                ENDSUBROUTINE MENU_NU

!..... MALLA VARIABLE .....

SUBROUTINE MALLA_NU (NNU,NNU1,NNU2,DTHAUNU,KNH,THIELE,CONH0,CONH1,CONHN,H,ZNU,LH)

    INTEGER NNU1,NNU2, NNU
    PARAMETER (ENH=200000)
    DOUBLE PRECISION H(ENH),THIELE, ZNU(ENH),DTHAUNU, CONH0,CONH1,CONHN, KS1,KS2,KINH,CNH, LH

    DO I=1, NNU1-1
        H(I)=(ZNU(NNU)-(ZNU(NNU)/L.01))/(NNU1-1.0)      !TAMAÑO PRIMER ESPACIAMIENTO
    ENDDO

    DO I=NNU1, NNU
        H(I)=(ZNU(NNU)/L.01)/(NNU2)                      !TAMAÑO SEGUNDO ESPACIAMIENTO
    ENDDO

END SUBROUTINE MALLA_NU

!..... DATOS .....

SUBROUTINE DATOS_VARIABLE_NU (NNU,NNU1,NNU2,DTHAUNU,KNH,THIELE,CONH0,ZNU,CONH1,CONHN,KS1,KS2,KINH,CNH,
LH, RHIFA)

    PARAMETER (ENH=200000)
    INTEGER NNU1,NNU2,KNH
    DOUBLE PRECISION ZNU(ENH),THIELE,CONH1,CONHN,CONH0,KS1,KS2,KINH,CNH,CNL0,MI,LH, DTHAUNU, RHIFA

    !PRINT*, 'INTRO. DEL NUM. D NODOS DEL PRIMER INTERVALO (ENTRE LA ZNU(1) Y EL PUNTO 1)'
    NNU1=20

    !PRINT*, 'INTRO. DEL NUM. D NODOS DEL SEGUNDO INTERVALO (ENTRE LA ZNU(N) Y EL PUNTO 1)'
    NNU2=40
    NNU=NNU1+NNU2          !NUMERO DE NODOS TOTALES

    !PRINT*, 'INTRODUCCION DEL INTERVALO DE DELTA THAU'
    DTHAUNU=0.00001

    !PRINT*, 'INTRODUCCION DEL NUMERO DE INTERVALOS DE DELTA THAU'
    KNH=100

    !PRINT*, 'INTRODUCCION DEL NUMERO DE THIELE'
    THIELE=0.004          !FALTA DEFINIRLO CON SUS VARIABLES

    !PRINT*, 'INTRODUCCION DE LA CONDICION INICIAL DE CONH EN EL TIEMPO=0'
    CONH0=1.0

    !PRINT*, 'INTRODUCCION DE Z(0)'
    ZNU(1)=0.0

    m1=0.1                !PARTICION DEL NUTRIENTE EN EL HONGO
    CNL0=6000.0           !CONCENTRACION INICIAL DE NUTRIENTE

```

```

CONHI=m1*CNL0
CONHI=CONHI/CNL0          !CAMBIA EN EL TIEMPO, VER SI ESTA BIEN ???

DH=RHIFA*2.0              !DIAMETRO HIFA
ZNU(NNU)=LH/DH           !CAMBIA EN EL TIEMPO, LH??

CNH=1.0                   !SE DEBE CAMBIAR POR EL ANTERIOR

END SUBROUTINE DATOS_VARIABLE_NU
!***** CONDICION INICIAL *****
SUBROUTINE COND_INICIAL_NU (NNU,CONH0,CONH,ZNU,CONHC)

    PARAMETER (ENH=200000)
    DOUBLE PRECISION ZNU(ENH),CONH0
    INTEGER NNU              !CONH: VAR INDEPENDIENTE
    DOUBLE PRECISION CONH(ENH),CONHC(ENH) !CONHC:CONH DE COMPARACION

        KK=1
        DO L=1, NNU
            CONH(L)=CONH0
            CONHC(L)=CONH0
        ENDDO
END SUBROUTINE COND_INICIAL_NU
!***** CONDICIONES DE FRONTERA *****
SUBROUTINE COND_FRONTERA_NU (KNH,NNU,CONHI,CONHN,CONHF)

    PARAMETER (ENH=200000)
    DOUBLE PRECISION CONHF(ENH),CONHI,CONHN
    INTEGER NNU,KNH,KI      !CONH: VAR IND.

        CONHF(1)=CONHI
        CONHF(NNU)=CONHN
END SUBROUTINE COND_FRONTERA_NU
!***** PRECOEFICIENTES DE LA MATRIZ *****
SUBROUTINE PREABC_NU (NNU,ZNU,DTHAUNU,BETANU,THIELE,MNH,PANU,PBNU,PCNU,H,CNH,CAGPROM,KS2,KSI,KINH)

    PARAMETER (ENH=200000)
    INTEGER NNU              !NUMERO DE NODOS
    INTEGER MNH              !LINEAS DE LA MATRIZ
    DOUBLE PRECISION ZNU(ENH),THIELE,DTHAUNU,CONH,KS2,KSI,KINH,CAGPROM,CNH

    DOUBLE PRECISION BETANU(ENH) !VARIABLES DE LA ECUACION DISCRETIZADA
    DOUBLE PRECISION PANU(ENH),PBNU(ENH),PCNU(ENH),H(ENH) !VARIABLES DE LA MATRIZ TRIDIAGONAL
    INTEGER S

    RI=(CAGPROM/(KSI+CAGPROM+(CAGPROM**2)/KINH)) !CAGPROM EL TIEMPO ANTERIOR EVALUADA EN E-1
    BETANH=1/KS2

    DO I=1, NNU-1
        BETANU(I)=DTHAUNU/(H(I)+H(I+1))**2
    ENDDO

    M1=NNU-1
    DO L=1, NNU-2
        ZNU(L+1)=H(L)+ZNU(L)
    ENDDO

    DO L=2, M1
        PBNU(L-1)=2*BETANU(L-1)+DTHAUNU*(THIELE**2.0)*(RI/(CNH*BETANH+1)) !RI AL TIEMPO ANTERIOR
    ENDDO

    DO L=2, M1
        PANU(L-1)=BETANU(L-1)

```

```

          PCNU(L-1)=BETANU(L-1)
        ENDDO
END SUBROUTINE PREABC_NU

!***** COEFICIENTES DE LA MATRIZ *****

SUBROUTINE ABC_NU (NNU,ANU,BNU,CNU,ZNU,DTHAUNU,THIELE,MNH,PANU,PBNU,PCNU,LAMBDANU)

    PARAMETER (ENH=200000)
    INTEGER NNU
    INTEGER MNH
    DOUBLE PRECISION ZNU(ENH),THIELE,DTHAUNU
    DOUBLE PRECISION ANU(ENH),BNU(ENH),CNU(ENH)
    DOUBLE PRECISION PANU(ENH),PBNU(ENH),PCNU(ENH)
    DOUBLE PRECISION LAMBDANU

    !NUMERO DE NODOS
    !LINEAS DE LA MATRIZ
    !Z: POSICION, THIELE:NUMERO THIELE
    !VAR DE LA MATRIZ TRIDIAG

    MNH=NNU-2

    DO L=1, MNH
        BNU(L)=(1.0+PBNU(L)*LAMBDANU)
    ENDDO
    DO L=2, MNH
        ANU(L)=LAMBDANU*PANU(L)
        CNU(L-1)=LAMBDANU*PCNU(L-1)
    ENDDO

END SUBROUTINE ABC_NU

!***** VALORES INDEPENDIENTES DE LA MATRIZ *****

SUBROUTINE CALCULO_NU (NNU,THIELE,CONH,CONHF,ANU,BNU,CNU,RNU,KK,MNH,PANU,PBNU,PCNU,LAMBDANU)

    PARAMETER (ENH=200000)
    INTEGER NNU, KK
    INTEGER MNH
    DOUBLE PRECISION ZNU(ENH), CONHF(ENH)
    DOUBLE PRECISION THIELE, DTHAUNU
    DOUBLE PRECISION ANU(ENH), BNU(ENH), CNU(ENH), RNU(ENH)
    DOUBLE PRECISION PANU(ENH), PBNU(ENH), PCNU(ENH), LAMBDANU
    DOUBLE PRECISION CONH(ENH)

    !INTER D POSICION Y TIME
    !LINEAS DE LA MATRIZ
    !Z:POSICION,CONH:VAR IND
    !THIELE:NUMERO DE THIELE,
    !VAR D LA MATRIZ TRIDIAG

    RNU(1)=-((1.0-LAMBDANU)*PANU(1)*CONH(1))-(-1.0+(1.0-LAMBDANU)*PBNU(1))*CONH(2)-(1.0-
LAMBDANU)*PCNU(1)*CONH(3)-LAMBDANU*PANU(1)*CONHF(1)

    DO L=2, MNH-1
        RNU(L)=- (1.0-LAMBDANU)*PANU(L)*CONH(L)-(-1.0+(1.0-LAMBDANU)*PBNU(L))*CONH(L+1)-(1.0-
LAMBDANU)*PCNU(L)*CONH(L+2)
    ENDDO

    RNU(MNH)=- (1.0-LAMBDANU)*PANU(MNH)*CONH(MNH)-(-1.0+(1.0-LAMBDANU)*PBNU(MNH))*CONH(MNH+1)-(1.0-
LAMBDANU)*PCNU(MNH)*CONH(NNU)-LAMBDANU*PCNU(MNH)*CONHF(NNU)

END SUBROUTINE CALCULO_NU

!***** COMPARACION *****

SUBROUTINE COMPARACION_NU (KK, CONHC, INCNU, MNH, COMPNU, UNU)
    INTEGER INCNU, NNU
    PARAMETER (ENH=200000)
    DOUBLE PRECISION COMPNU(ENH)
    DOUBLE PRECISION UNU(ENH), CONHC(ENH)

    IF(INCNU.EQ. KK) THEN
        DO L=1, MNH
            COMPNU(L)=ABS((CONHC(L+1)-UNU(L))/UNU(L))
        ENDDO
        DO L=1, MNH
            CONHC(L+1)=UNU(L)
        ENDDO
    ENDIF
END SUBROUTINE COMPARACION_NU

```

SUBROUTINE MENU\_CRECIMIENTO\_HIFA (K1, K2,K1A, LHIFA, RHIFA, CAGPROM, CNHUL,KHI,  
LHIFANEW,VESPEC,Ur,FRER,LHTIP,LHTIR)

PARAMETER (ECH=100000)  
INTEGER KHI, ITHIFA  
DOUBLE PRECISION Ur,LC,Lh0  
DOUBLE PRECISION Lav,Lhmaxm,ALPHAR,Lhmaxr,DELTAHIFA,ALPHAP  
DOUBLE PRECISION KS1,KS2,BETHAN  
DOUBLE PRECISION FII(ECH),FI2(ECH),LhTI(ECH),VESPEC, KINH, DH, LHTIR, LHTIP  
DOUBLE PRECISION CAGPROM, CNHUL, BETANH, FRER  
DOUBLE PRECISION K1, K2, KIA, LHIFA, RHIFA, LHIFANEW

!\*\*\*\*\* DATOS DE CRECIMIENTO DE LA HIFA \*\*\*\*\*

Lav=0.000281 !Largo Promedio de la Hifa, Lav'  
ALPHAP=0.35 !Factor de Proporcionalidad de la hifa principal'  
ALPHAR=2.47 !Factor de Proporcionalidad de la Ramificacion'  
Lhmaxm=0.001477 !Largo máximo de la hifa principal  
Lhmaxr=0.0004521 !Largo máximo de las ramificaciones  
NTrami=7 !Número total de ramificaciones en hifa individual  
KS1=K1 !Constante de Afinidad de Hexano, Ks'  
KS2=K2 !Constante de Afinidad del Nutriente (Nitrogeno), KNH'  
BETANH=1/K2 !Parametro teorico  
KINH=K1A !Constante de Inhibicion de Hexano (Haldane), KIH'  
DELTAHIFA=0.0000000001 !PRINT\*, 'INTRODUCCION DELTHIFA'  
Lh0=(8.34D-6) !Largo Inicial de la Hifa, Lh0'  
dh=RHIFA\*2.0 !Diametro de la Hifa'  
LC=6.656E-4 !Largo Critico de Ramificacion'

VESPEC=0.0518\*(CAGPROM/(CAGPROM+KS1+((CAGPROM\*\*2.0)/KINH)))\*(CNHUL/(CNHUL\*BETANH+1.0))  
Ur=VESPEC\*Lav  
FRER=Ur/(Lhmaxm\*(LOG((Lhmaxm-ALPHAP\*Lh0)/(Lhmaxm-ALPHAP\*LC))))  
FRER=Ur/(KL\*(LOG(LC/Lh0))+(LC-Lh0))

LhTI(1)=Lh0/dh !Largo al tiempo cero  
FII(1)=0.0 !Factor 1 de Alargamiento al tiempo cero  
FI2(1)=0.0 !Factor 2 de Alargamiento al tiempo cero

FII(KHI)=(VESPEC\*Lav\*DELTAHIFA) !FACTOR ALARGAMIENTO HIFA PRINCIPAL  
FI2(KHI)=(FRER\*LhTI(KHI-1)\*DELTAHIFA) !FACTOR ALARGAMIENTO RAMIFICACIONES  
LhTIP=LhTI(KHI-1)  
LhTIR=FII(KHI)\*(1+(ALPHAP\*(LhTI(KHI-1)/Lhmaxm)))+FI2(KHI)\*(NTrami+(ALPHAP\*ALPHAR\*LhTI(KHI-1)/Lhmaxr))  
LhTI(KHI)=LhTIP+LhTIR !ALARGAMIENTO DE LA HIFA  
LHIFANEW=LhTI(KHI)\*dh

ENDSUBROUTINE MENU\_CRECIMIENTO\_HIFA





# Phase partition of gaseous hexane and surface hydrophobicity of *Fusarium solani* when grown in liquid and solid media with hexanol and hexane

Alberto Vergara-Fernández · Brice Van Haaren · Sergio Revah

Received: 20 April 2006 / Revised: 3 August 2006 / Accepted: 18 August 2006 / Published online: 5 October 2006  
© Springer Science+Business Media B.V. 2006

**Abstract** The filamentous fungus, *Fusarium solani*, was grown in liquid and solid culture with glucose, glycerol, 1-hexanol and *n*-hexane. The partition coefficient with gaseous hexane (HPC) in the biomass was lower when grown in liquid medium with 1-hexanol (0.4) than with glycerol (0.8) or glucose (1) The HPC for surface growth were 0.2 for 1-hexanol, 0.5 for glycerol, 0.6 for glucose, and 0.2 for *F. solani* biomass obtained from a biofilter fed with gaseous *n*-hexane. These values show a 200-fold increase in *n*-hexane solubility when compared to water (HPC = 42). Lower HPC values can be partially explained by increased lipid accumulation with 1-hexanol, 10.5% (w/w) than with glycerol (8.5% w/w) or glucose (7.1% w/w). The diameter of the hyphae diminished from 3  $\mu\text{m}$

to 2  $\mu\text{m}$  when *F. solani* was grown on solid media with gaseous *n*-hexane thereby doubling the surface area for gaseous substrate exchange. The surface hydrophobicity of the mycelia increased consistently with more hydrophobic substrates and the contact angle of a drop of water on the mycelial mat was 113° when grown on *n*-hexane as compared to 75° with glucose. The fungus thus adapts to hydrophobic conditions and these changes may explain the higher uptake of gaseous hydrophobic substances by fungi in biofilters.

**Keywords** Biofiltration · *Fusarium solani* · *n*-hexane · Hydrophobicity · Partition coefficient

## Introduction

Biofiltration is a leading technique for controlling low concentrations of volatile organic compounds (VOCs) in the air. In these systems, immobilized microorganisms in a solid support oxidize the VOCs mainly to CO<sub>2</sub> and water (Revah and Morgan-Sagastume 2005). Biofiltration has advantages over other methods as it requires low energy input, it does not use dangerous substances or extreme operational conditions and the polluting agent is destroyed and not transferred to another phase (Devinny et al. 1999). On the other hand, these systems are less efficient treating hydrophobic compounds that are sparingly soluble in the

---

A. Vergara-Fernández · S. Revah (✉)  
Departamento de Procesos y Tecnología,  
Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa,  
c/o IPH, UAM-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco  
No. 186, 09340 México, DF México  
e-mail: srevah@xanum.uam.mx

A. Vergara-Fernández  
Escuela de Ingeniería Ambiental,  
Facultad de Ingeniería, Universidad Católica de  
Temuco, Manuel Montt 56, Casilla 15-D,  
Temuco Chile

B. Van Haaren  
Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Luminy  
(ESIL Biotechnology), Marseille cedex 9 France

biofilms, which usually have a high water content to allow efficient metabolic activities. Furthermore, bacterial biofilms offer a low surface area for the transfer of these contaminants from the gas to the biologically active phase (van Groenestijn and Kraakman 2005). One alternative to improve these limitations is to use filamentous fungi as the biological agents (van Groenestijn and Liu 2002; Arriaga and Revah 2005a, b; Spigno and De Faveri 2005).

Fungi are more tolerant to acidic and low humidity conditions and their improved performance in biofilters treating hydrophobic pollutants has been related to the increased surface area of the aerial mycelia and to a more favorable partition of the pollutant with the fungal biomass. The hydrophobic nature of the fungal mycelia is partly due to hydrophobins (Lugones et al. 1998). These are small proteins coating the aerial structures with a hydrophobic, water-repellent layer and are specific to filamentous fungi. They have important roles in adhesion, in the formation of protective surface coatings and in pathogenicity (Wösten 2001).

Recent work by Arriaga and Revah (2005a, b) and Spigno and De Faveri (2005) showed a greater elimination capacity (EC) of *n*-hexane in biofilters with filamentous fungi. The use of *Fusarium solani* by Arriaga and Revah (2005a) in a Perlite-packed biofilter attained EC values from  $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  to  $130 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  with an inlet *n*-hexane concentration from  $1 \text{ g m}^{-3}$  to  $11 \text{ g m}^{-3}$ . Spigno and De Faveri (2005) found an EC of *n*-hexane of  $150 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  using *Aspergillus niger*.

The object of the present study is to investigate some of the characteristics that allow better performance of fungi to degrade hydrophobic volatile compounds in biofilters. To attain this, the growth and the changes in the surface hydrophobicity and *n*-hexane partition coefficient of *Fusarium solani* were evaluated under different culture conditions and carbon sources.

## Materials and methods

### Microorganisms and microcosm experiments

*Fusarium solani* B1 (Arriaga and Revah 2005a) was grown in liquid and solid media (Perlite, an

inert support, imbibed with liquid mineral medium) in closed environments (microcosms). The liquid medium was inoculated with  $1 \times 10^6$  spores  $\text{ml}^{-1}$  and the solid medium with  $2 \times 10^7$  spores  $\text{g}^{-1}$  dry Perlite. For the experiment E13, reported in Table 1 below, a fungal biomass sample was obtained from a biofilter packed with Perlite and fed continuously with *n*-hexane for 2 months (Arriaga and Revah 2005a).

Closed flasks were also used to evaluate the HPC and kinetic parameters (maximum specific growth rate, affinity constant, inhibition constant, and maintenance coefficient). The experiments were performed by duplicate or triplicate in 125 ml serum bottles sealed with Mininert Teflon Valves (VICI; Precision Sampling, Baton Rouge, LA).

### Kinetic parameters

These were determined for *n*-hexane using the Haldane model (Shuler and Kargi 2001):

$$\mu = \mu_{\max} \left[ \frac{C_H}{K_S + C_H + \frac{C_H^2}{K_I}} \right] \quad (1)$$

where  $\mu_{\max}$  is the maximum specific growth rate ( $\text{h}^{-1}$ ),  $K_S$  and  $K_I$  are the affinity and inhibition constants ( $\text{g m}^{-3}$ ), respectively, and  $C_H$  is *n*-hexane concentration in the gas ( $\text{g m}^{-3}$ ).

Kinetic parameters for *n*-hexane were obtained by respirometry by measuring  $\text{CO}_2$  production. For respirometry test, 1.5 g Perlite was mixed with 10 ml mineral medium and inoculated with a spore suspension.  $\text{CO}_2$  production rates were obtained from the evolved  $\text{CO}_2$  at  $30^\circ\text{C}$  in microcosms using headspace initial *n*-hexane concentrations between  $1.6 \text{ g m}^{-3}$  and  $31 \text{ g m}^{-3}$ . Microcosms consisted of 125 ml closed flasks similar to those used in the gas–liquid partition experiments. The relation between  $\text{CO}_2$  production and biomass growth was obtained from Viniegra-González (1997). The  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  and  $K_I$  values were calculated based on three independent measurements by plotting the  $\text{CO}_2$  production rate against the headspace *n*-hexane concentration.

**Table 1** Effect of the carbon source on the hexane partition coefficient (HPC) at 30°C

No. of Exp.	Carbon source for growth	Biomass (mg <sub>biomass</sub> /g <sub>Perlite</sub> )	HPC (experimental)	HPC wet biomass <sup>a</sup>
<i>Liquid medium</i> <sup>b</sup>				
E1	Glycerol	–	0.19(±0.05)	0.84(±0.22)
E2	Glucose	–	0.24(±0.03)	1.04(±0.11)
E3	1-Hexanol	–	0.08(±0.01)	0.41(±0.05)
<i>Liquid medium/biomass without lipids</i> <sup>b</sup>				
E4	Glycerol	–	0.26(±0.003)	1.05(±0.01)
E5	Glucose	–	0.35(±0.04)	1.36(±0.16)
E6	1-Hexanol	–	0.1(±0.005)	0.50(±0.02)
<i>Perlite medium</i> <sup>b</sup>				
E7	Glycerol	62.9	0.11(±0.01)	0.55(±0.06)
E8	Glucose	49.6	0.12(±0.03)	0.60(±0.13)
E9	1-Hexanol	17.2	0.04(±0.02)	0.22(±0.13)
<i>Perlite medium after n-hexane biodegradation</i> <sup>b,c</sup>				
E10	Glycerol	34.7	0.08(±0.008)	0.42(±0.04)
E11	Glucose	41.0	0.054(±0.012)	0.29(±0.06)
E12	1-Hexanol	24.7	0.033(±0.008)	0.19(±0.04)
<i>Fungi grown in biofilter with n-hexane</i>				
E13	n-Hexane	67.4	0.039(±0.006)	0.20(±0.03)
<i>Controls</i>				
	Water	–	42.4(±6.5)	–
	Lipids (Eq. 4)	–	0.052(±0.012)	–

<sup>a</sup> Obtained from Eq. 5 with 82% (w/w) water

<sup>b</sup> Experiments in closed flasks

<sup>c</sup> 2–8 weeks depending of the carbon source and then one week in n-hexane

The maintenance coefficient was obtained with fungi previously grown in liquid medium with 1-hexanol and washed three times under sterile conditions with 0.01 M phosphate buffer (pH 7). A known amount of biomass was placed in triplicate in microcosms and 4 µl n-hexane were injected obtaining a headspace initial concentration of 30 g m<sup>-3</sup> and then cultivated at 30°C. The evolution of the headspace n-hexane concentration was determined by direct gas chromatography injection. The maintenance coefficient can be expressed as:

$$m_C = \frac{[dC_H/dt]_m}{X} \quad (2)$$

where  $m_C$  is maintenance coefficient (g n-hexane g<sup>-1</sup> biomass h<sup>-1</sup>),  $C_H$  is headspace n-hexane concentration (g n-hexane m<sup>-3</sup> headspace),  $t$  is time (h) and  $X$  is biomass (g).

#### Surface hydrophobicity

Fungal surface hydrophobicity was determined with the contact angle of a water drop on a fungal

mat and was adapted from Smits et al. (2003). The fungus was grown in Petri dishes with the mineral medium in 15 g Noble agar l<sup>-1</sup> with four different carbon sources: 10 g glucose l<sup>-1</sup>; 10 g glycerol l<sup>-1</sup>; 0.5 g 1-hexanol l<sup>-1</sup> and 30 g n-hexane m<sup>-3</sup> in a closed chamber. Sterile membranes were placed on the top of the solidified agar and inoculation was made with a small drop of a suspension of *F. solani* at the center of the membrane. Both an hydrophobic polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane (Durapore, Millipore, 0.45 µm, 47 mm diam) and an hydrophilic mixed cellulose esters membrane (MF, Millipore, 0.45 µm, 47 mm diam) were tested.

The dishes were cultivated at 30°C from 2 weeks to 8 weeks, depending on the extent of the surface growth with each carbon source. When growth had fully developed, the membranes were recovered and put on a glass surface. A 10 µl water was put on the surface and photographed with a digital camera 5 s after the water drop was deposited, neglecting evaporation during this time. The contact angle was measured from the digital photo. Each experiment was repeated four times.

## Hexane partition coefficient (HPC)

Hexane partition coefficient (HPC) experiments were performed with biomass grown in 1-hexanol, glucose and glycerol both in liquid and in solid medium. For some experiments, the HPC was evaluated in biomass where the cell lipids been extracted. To evaluate the HPC, the fungal mycelium was first washed and dried at room temperature in a closed chamber with silica. Different amounts of dried biomass or biomass with Perlite were placed in closed bottles. Then, 2  $\mu\text{l}$  *n*-hexane was added in the headspace and the samples were maintained for 48 h at 30°C. The *n*-hexane headspace concentration ( $C_{\text{headspace}}$ ,  $\text{g m}^{-3}$ ) was determined by direct gas chromatography injection. Hexane concentration in the biomass ( $C_{\text{biomass}}$ ,  $\text{g m}^{-3}$ ) was obtained by mass balance. Control experiments showed negligible sorption of *n*-hexane on Perlite. The partition coefficient  $K_{\text{biomass}}$  can be expressed as:

$$K_{\text{biomass}} = \frac{C_{\text{headspace}}}{C_{\text{biomass}}} \quad (3)$$

The partition coefficient of the dried biomass can be expressed as a function of its composition and the individual partition coefficients of the lipid-free biomass and the lipid component by Eq. 4. Similarly, the partition coefficient for the biomass on a wet basis can be calculated by Eq. 5 that includes the water fraction and the HPC in water, (which correspond to the Henry coefficient).

$$\frac{1}{K_{\text{biomass}}^{\text{dry}}} = \frac{x_{\text{lipid}}}{K_{\text{lipid}}} + \frac{x_{\text{biomass}}^{\text{lipid-free}}}{K_{\text{biomass}}^{\text{lipid-free}}} \quad (4)$$

$$\frac{1}{K_{\text{biomass}}^{\text{wet}}} = \frac{x_{\text{biomass}}^{\text{dry}}}{K_{\text{biomass}}^{\text{dry}}} + \frac{x_{\text{water}}}{K_{\text{water}}} \quad (5)$$

where  $x$  are the mass fractions of water, lipids or biomass and  $K$  are the *n*-hexane partition coefficients in biomass, water and lipids.

Cell lipids were extracted from the biomass with *n*-hexane in a Soxhlet for 18 h. The lipids were recovered and weighed after solvent evaporation. Water content of *F. solani* was

determined by drying the biomass grown on the hydrophilic membranes.

## Analytical methods

Hexane concentration was measured in triplicate by FID-GC according to Magaña-Reyes et al. (2005). CO<sub>2</sub> production was measured in triplicate by TCD-GC according to Aizpuru et al. (2005).

The biomass in the Perlite experiments was measured as volatile solids with a thermogravimetric analyzer according to Arriaga and Revah (2005b). Biomass in liquid media was estimated by both the Lowry and the dry weight methods. Measurements were done in duplicate.

The diameter of the hyphae was measured with a Nikon Optiphot-2 microscope equipped with a Leica DC 300 camera and corresponding acquisition and image analyses software. At least ten hyphal tubes per culture were measured.

## Results and discussions

### Hexane partition coefficients

Table 1 shows the *n*-hexane partition coefficient, HPC with different substrates and growth conditions. HPC was also evaluated in water, as experimental control, and found to be within the reported values (Zhu et al. 2004; Card 1998). For each experimental set, the fungus grown in 1-hexanol showed the lowest partition coefficient (i.e. higher solubility), and the HPC from growth in glycerol and glucose were within the same range.

Experiments E1–E3 show the HPC of *F. solani* grown in liquid medium with the different substrates. Growth on *n*-hexane was extremely slow and is not reported. To evaluate the effect of the cell lipids on the HPC, these were extracted from the biomass and found to be, 10.5% (w/w) lipids when grown on 1-hexanol, 8.5% (w/w) on glycerol and 7.1% (w/w) on glucose. The HPC was evaluated on the lipid-free biomass (experiments E4–E6) and for each carbon source it was consistently higher than with the whole biomass. About a 30% increase was found for glycerol and 1-hexanol and

35% for glucose. These results suggest that growth conditions affect HPC both by accumulating different lipid concentrations and by modifying the non-lipid portion. The HPC in lipids was  $0.052(\pm 0.012)$  obtained with Eq. 4 and from data of experiments E1–E3 and E4–E6.

Experiments E7–E9 show that aerial growth on Perlite favored *n*-hexane solubility with respect to the liquid cultivation (E1–E3) for the three substrates tested. For glucose and 1-hexanol, a decrease of about 50% was observed, while it was about 70% for glycerol. Mycelia produced on solid possibly induces the hydrophobic properties needed for adhesion and aerial growth, these properties being favored by the presence of hydrophobins, according to Agosin et al. (1997).

Experiments E10–E12 show the decrease of the HPC after a one-week exposure to *n*-hexane once growth was attained with the three substrates. The greatest decrease was for glucose (more than 50%) and the lowest for 1-hexanol (around 20%). This result indicates that the fungus adapts to *n*-hexane by favoring the substrate availability. Microscopic observations of the mycelia grown on glycerol and 1-hexanol showed diameters of  $3(\pm 0.29) \mu\text{m}$  and  $2(\pm 0.49) \mu\text{m}$ , respectively. This difference in diameter predicts that for the same biomass, the exposed surface would be twice larger for 1-hexanol as compared to glycerol. Nevertheless, the difference can affect the gas permeability and consequently the transfer of *n*-hexane from the gas to the mycelia.

Table 1 also shows similar HPC with the biomass grown in 1-hexanol (E9 and E12) to the HPC obtained with biomass from the biofiltration experiment, E13. It is possible that the similarity in HPC can be related to the fact that 1-hexanol is the first product of the *n*-hexane degradation pathway.

The water content for the fungus was  $82(\pm 0.4)\%$  (w/w); this value was used to estimate, using Eq. 5, the partition coefficient of the wet biomass. Table 1 shows that the calculated HPC was consistently lower for growth on 1-hexanol as compared to glucose and glycerol. The HPC of *F. solani* grown in biofilters has a 200-fold increase in *n*-hexane bioavailability as compared to water. Although these values were obtained in vitro they may partially explain why fungal

biofilters have shown high performance with hydrophobic substrates, (van Groenestijn and Liu 2002; Arriaga and Revah 2005a, b; Spigno and De Favari 2005).

### Surface hydrophobicity

The contact angle of a water drop on the surface of the fungal colony increases with its hydrophobicity (Doyle and Rosenberg 1990; Smits et al. 2003). As seen in Table 2, it was consistently larger for the biomass grown on hydrophobic than on hydrophilic membranes. For both membranes, contact angles were glucose < glycerol < 1-hexanol. The hydrophobicity of the surface of the fungus grown on *n*-hexane and 1-hexanol showed no significant difference. As with HPC, *F. solani* responded to the substrate used. The contact angles shown in Table 2 can be compared with the data presented by Klotz et al. (1985), indicating an approximate value of  $60^\circ$  for polymethylmethacrylate and acrylic resin and to an angle of  $115^\circ$  for the highly hydrophobic surface of Teflon. Furthermore, it is possible that the hydrophobic substrates favor the presence of the hydrophobins, which improve the adhesion capacity to solid surfaces and determine the structure and stability of biofilm.

### Kinetic parameters

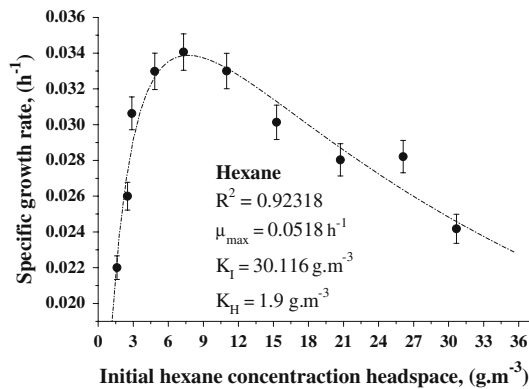
The specific growth rate of *F. solani* with *n*-hexane is represented in Fig. 1 and shows an inhibition by *n*-hexane when is greater than  $7 \text{ g m}^{-3}$  in the gas phase. Using the partition value of the experiment E13 (Table 1) this gas phase concentration corresponds to  $33.3 \text{ g m}^{-3}$  in the

**Table 2** Mean contact angles of a drop of water over the surface of a *F. solani* colony grown with different carbon sources on hydrophobic polyvinylidene fluoride (PVDF) and hydrophilic mixed cellulose esters (MF) membranes

Carbon source	Contact angle ( $\theta$ ) (degrees)	
	MF	PVDF
Glucose	56 ( $\pm 10$ )	75 ( $\pm 6$ )
Glycerol	62 ( $\pm 14$ )	104 ( $\pm 15$ )
1-Hexanol	83 ( $\pm 16$ )	112 ( $\pm 15$ )
<i>n</i> -Hexane	N.D	113 ( $\pm 4$ )

N.D : not determined





**Fig. 1** Variation of the specific growth rate of *F. solani* with headspace *n*-hexane concentration. (●) Experimental, (---) Haldane model (Eq. 1)

biomass (or 33.3 mg kg<sup>-1</sup> of biomass assuming a fungal density of 1 g cm<sup>-3</sup>). The values obtained for  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  and  $K_I$  according to the Haldane model were of 0.052 h<sup>-1</sup>, 1.9 g m<sup>-3</sup> and 30 g m<sup>-3</sup>, respectively. Alkanes are also inhibitory to bacteria; for example, the onset of the inhibition for *Pseudomonas aeruginosa* on pentane gas was around 3.5 g m<sup>-3</sup> (Garnier et al. 1999).

The *n*-hexane consumption rate of E13 under growth conditions in microcosms was evaluated and found to be 7 × 10<sup>-3</sup> g *n*-hexane g<sup>-1</sup> biomass h<sup>-1</sup>, consistent with the value of 6 × 10<sup>-3</sup> g *n*-hexane g<sup>-1</sup> biomass h<sup>-1</sup> found previously in biofilters by Arriaga and Revah (2005a). The evaluation of cellular maintenance with *n*-hexane yielded a value of 1.51 × 10<sup>-4</sup> g *n*-hexane g<sup>-1</sup> biomass h<sup>-1</sup>. This value indicates that, under the microcosms conditions studied, the maintenance was approximately 2% of the total removal. This confirms the importance of the presence of nutrients in biofilters to sustain high uptake rates.

## Conclusion

Cultivation conditions and carbon source influence some physicochemical properties of *Fusarium solani*. Growth on a more hydrophobic carbon source increased its surface hydrophobicity and the solubility of gaseous *n*-hexane. These changes in the fungus were not only related to its lipids

content but possibly also to a different content or class of molecules including hydrophobins, lipoproteins, etc. The improvement in the partition coefficient and the larger surface for gaseous exchange, due to the smaller hyphae diameter, increases the bioavailability of hydrophobic compounds thus allowing higher substrate uptake rates. These characteristics confirm the interest of the use of fungi in biofiltration of hydrophobic substrates.

**Acknowledgements** To Dirección de Investigación de la Universidad Católica de Temuco, Chile and OEA-LASPAU Academia and Professional Programs for the Americas for the Ph. D. scholarship of A. Vergara-Fernández and to Conacyt (Mexican Council for Science and Technology) project SEMARNAT-00120.

## References

- Agosin E, Cotoras M, Muñoz G, San Martín R, Volpe D (1997) Comparative properties of *Trichoderma harzianum* spore produced under solid state and submerged culture conditions. In: Roussos S, Lonsane BK, Raimbault M, Viniegra-Gonzalez G (eds) Advances in solid state fermentation, Proceedings of the 2nd International Symposium on Solid State Fermentation, Montpellier, France. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, p 630
- Aizpuru A, Dunat B, Christen P, Auria R, García-Peña I, Revah S (2005) Fungal biofiltration of toluene on ceramic rings. *J Environ Eng* 13:396–402
- Arriaga S, Revah S (2005a) Removal of *n*-hexane by *Fusarium solani* with a gas-phase biofilter. *J Ind Microbiol Biotechnol* 32:548–553
- Arriaga S, Revah S (2005b) Improving *n*-hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter. *Biotechnol Bioeng* 90:107–115
- Card TR (1998) Fundamentals: chemistry and characteristics of odors and VOCs. In: Rafson H (ed) Odor and VOC control handbook. McGraw Hill, New York pp 2.1.1–2.1.36
- Devigny JS, Deshusses MA, Webster TS (1999) Biofiltration for air pollution control. CRC, Lewis, Boca Raton, Florida, USA, p 299
- Doyle RJ, Rosenberg M (1990) Microbial cell surface hydrophobicity. American Society of Microbiology, Washington DC
- Garnier P, Auria R, Augur C, Revah S (1999) Cometa-bolic biodegradation of methyl t-butyl ether by *Pseudomonas aeruginosa* grown on pentane. *Appl Microbiol Biotechnol* 51:498–503
- Klotz SA, Drutz DJ, Zajic JE (1985) Factors governing adhesion of *Candida* species to plastic surfaces. *Infect Immun* 50:97–101

- Lugones LG, Wösten HA, Wessels JG (1998) A hydrophobin (ABH3) specifically secreted by vegetatively growing hyphae of *Agaricus bisporus* (common white button mushroom). *Microbiology* 144:2345–2353
- Magaña-Reyes M, Morales M, Revah S (2005) Methyl tert-butyl ether and tert-butyl alcohol degradation by *Fusarium solani*. *Biotechnol Lett* 27:1797–1801
- Revah S, Morgan-Sagastume JM (2005) Methods of odor and VOC control. In: Shareefdeen Z, Singh A (eds) *Biotechnology for odor and air pollution control*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg pp 29–63
- Shuler ML, Kargi F (2001) *Bioprocess engineering, basic concepts*, 2nd edn. Prentice-Hall PTR, Englewood Cliffs, NJ
- Smits TH, Wick LY, Harms H, Keel C (2003) Characterization of the surface hydrophobicity of filamentous fungi. *Environ Microbiol* 5:85–91
- Spigno G, De Faveri DM (2005) Modeling of a vapor-phase fungi bioreactor for the abatement of *n*-hexane: fluid dynamics and kinetic aspects. *Biotechnol Bioeng* 89:319–328
- van Groenestijn JW, Kraakman NJ (2005) Recent developments in biological waste gas purification in Europe. *Chem Eng J* 113:85–91
- van Groenestijn JW, Liu JX (2002) Removal of alpha-pinene from gases using biofilters containing fungi. *Atmos Environ* 36:5501–5508
- Viniegra-González G (1997) Solid state fermentation: definition, characteristics, limitations and monitoring. In: Roussos S, Lonsane BK, Raimbault M, Viniegra-Gonzalez G (eds) *Advances in solid state fermentation, Proceedings of the 2nd International Symposium on Solid State Fermentation*, Montpellier, France. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, p 630
- Wösten HA (2001) Hydrophobins: multipurpose proteins. *Annu Rev Microbiol* 55:625–646
- Zhu X, Suidan MT, Pruden A, Yang C, Alonso C, Kim BJ, Kim BR (2004) Effect of substrate Henry's constant on biofilter performance. *J Air Waste Manage Assoc* 54:409–418



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

ANÁLISIS FENOMENOLÓGICO DE LA BIOFILTRACIÓN DE  
COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES HIDROFÓBICOS:  
PAPEL DE LOS HONGOS FILAMENTOSOS

QUE PRESENTA: ALBERTO VERGARA FERNÁNDEZ

Para Obtener el Grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA QUÍMICA)

---

División Ciencias Básicas e Ingeniería.

Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica,

Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

Asesor:

DR. SERGIO REVAH MOISEEV

México, agosto de 2007