



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

---

UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA

DE BIOTECNOLOGÍA

*“DEGRADACIÓN AEROBIA DE CLORURO DE  
VINILO”*

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS**

**P r e s e n t a**

**I. Q. I. ANGÉLICA JAIME FONSECA**

**D i r i g i d a**

**DRA. ELVIA INÉS GARCÍA PEÑA**

**Co-Dirección**

**DRA. CLAUDIA GUERRERO BARAJAS**



México, Distrito Federal Septiembre 2010.



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México D.F. siendo las 12:00 horas del día 21 del mes de Septiembre del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de Bioprocesos para examinar la tesis titulada:  
Degradación aerobia de cloruro de vinilo

Presentada por el alumno:

Jaime

Apellido paterno

Fonseca

Apellido materno

Angélica

Nombre(s)

Con registro: 

B	0	8	1	9	4	5
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Bioprocesos

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

Dra Elva Inés García Peña

Dra Claudia Guerrero Barajas (co-dirección)

Dr Juan Silvestre Aranda Barradas

Dr Luis Gilberto Torres Bustillos

Dr Edgar Salgado Manjarrez

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
UNIDAD PROFESIONAL  
INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA  
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de México el día 21 del mes Septiembre del año 2010, el (la) que suscribe ANGÉLICA JAIME FONSECA alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Bioprosesos con número de registro B081945 , adscrito a la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Elvia Inés García Peña y cede los derechos del trabajo intitulado "DEGRADACIÓN AEROBIA DE CLORURO DE VINILO", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección [anyolin1423@yahoo.com.mx](mailto:anyolin1423@yahoo.com.mx) [inesppu3@yahoo.com.mx](mailto:inesppu3@yahoo.com.mx) . Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Angélica Jaime Fonseca

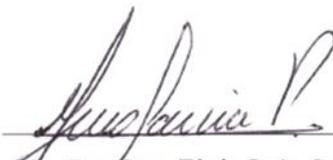
Nombre y firma

---

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“Yo Angélica Jaime Fonseca declaro que esta tesis, así como los resultados en ella reportados, son producto de mi trabajo y que hasta donde yo sé, no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona, ni tampoco contiene material que haya sido utilizado para obtener algún grado o diploma en alguna otra institución educativa excepto donde se reconoce como tal. Declaro igualmente que hago justo reconocimiento en la tesis a las personas que contribuyeron con su trabajo y, finalmente, declaro que esta tesis es producto de mi propio trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a la concepción del proyecto, al estilo de la presentación o a la expresión escrita.”

I.Q.I. Angélica Jaime Fonseca

  
Vo. Bo. Dra. Elvia Inés García Peña

---

## AGRADECIMIENTOS

Debo agradecer de manera especial y sincera a mi Directora de Tesis la Dra. Elvia Inés García Peña por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas que ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntas, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis. Muchas gracias Doctora.

Agradezco a mi co-Director de Tesis Dra. Claudia Guerrero Barajas por el material proporcionado durante la realización de este proyecto.

Agradezco a mis asesores: Dr. Luis Torres Bustillos, Dr. Edgar Salgado Manjarrez y el Dr. Juan Aranda Barradas por sus valiosos comentarios y tiempo dedicado a la corrección de este documento.

Agradezco a Sandra Carrillo por el apoyo que me ha brindado hasta el momento.

Agradezco a mis amigos de la maestría, Jose, Michel, Eve, Ian y Rox por todo el apoyo que me brindaron a mí y a mi niño, pero sobretodo agradecerles por los momentos tan especiales que pasamos juntos, gracias a todos muégano.

El agradecimiento más profundo va para mi familia. Sin su apoyo, colaboración e inspiración habría sido imposible llevar a cabo este trabajo, agradeciendo todo el amor que me brindan día con día, gracias.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Agradezco al Instituto Politécnico Nacional-Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología por lo mucho que me ha dado.

---

## DEDICATORIA

Mi tesis la quisiera dedicar con todo cariño y amor a mis padres quienes me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Muchas gracias Carlitos y a ti Chayita por todo el apoyo que me han dado, por haberme permitido hacer una carrera, por brindarme todo su amor y guía para poder llegar hasta donde estoy, por esto y más quisiera agradecerles el que estén a mi lado en todo momento los quiero con todo mi corazón y este trabajo es gracias a ustedes, los quiero.

*A mis hermanas:*

A Mónica por ser una persona que lucha hasta obtener lo que se propone y que por ser la mayor es una persona que siempre ha puesto el ejemplo de perseverancia. A quien admiro por tener la valentía que tiene.

A Paty a quien admiro por su inteligencia y por compartir conmigo su nobleza y paciencia.

A Bety quien me ha apoyado con su inteligencia y con su nobleza me ha enseñado a ayudar siempre.

A Diana por ser una persona tan trabajadora y quien ha compartido su alegría conmigo.

*Gracias por estar conmigo en todo momento y sobre todo gracias por formar parte de mi vida.*

A mis sobrinos Evan y Mitzel quienes alegran mi vida con su sonrisa.

A César quien hace 7 años comenzó a ser parte de mi vida y los años que faltan. A quien agradezco por todo el apoyo que me ha dado pero sobre todo gracias por el regalo más grande que me pudo dar, mi chaparrini. Gracias mi niño, Te amo.

A ti hijo, mi chaparrini, quien me ha motivado con su vida te amo mi corazón.

***Gracias a todos por formar parte importante de mi vida.***

---

## RESUMEN

Debido a las altas concentraciones que se emiten de cloruro de vinilo el proceso de oxiclорación para la producción del PCV, así como la acumulación de este contaminante a consecuencia de la degradación incompleta de compuestos altamente clorados como el tricloroetileno o percloroetileno se ha incrementado el interés por desarrollar tecnologías biológicas para la degradación de este compuesto, ya sea mineralizarlo o transformarlo a un contaminante menos agresivo para el medio ambiente como para el ser humano.

Se han evaluado diversos métodos para el control y eliminación de compuestos clorados. Los tratamientos biológicos muestran algunas ventajas, siendo la biofiltración un sistema donde se aprovecha la capacidad de los microorganismos para degradar compuestos recalcitrantes. En el presente trabajo se presenta una propuesta para la degradación del CV y otros contaminantes por medio del desarrollo de un consorcio microbiano capaz de degradar compuestos organo-clorados como el cloruro de vinilo (CV), cis-dicloroetileno, trans-dicloroetileno, tricloroetileno (TCE) y eteno. Para lo cual se utilizó tezontle como soporte, dado que investigaciones anteriores han demostrado que proporciona nutrientes y humedad necesarios para el desarrollo y mantenimiento de microorganismos.

En la primera etapa del estudio se evaluó si el consorcio microbiano es capaz de degradar diferentes concentraciones de CV 20, 40 y 60  $\mu\text{M}$  encontrando que en un periodo de 15 días se obtienen porcentajes de remoción del 55, 76 y 83% respectivamente con velocidades de consumo de 0.96, 2.57 y 4.23  $\mu\text{M}/\text{día}$ .

Posteriormente, se llevaron a cabo experimentos con el fin de elucidar el efecto que tiene la degradación en una mezcla de contaminantes, ya que en una corriente real no se encuentran contaminantes puros. Debido a lo anterior, el consorcio microbiano fue expuesto a una mezcla de sustratos (eteno y CV). El consorcio degradó ambos contaminantes sin observar fase de adaptación, durante el proceso el mecanismo de degradación predominante fue la mineralización del contaminante (producción de  $\text{CO}_2$  y

H<sub>2</sub>O). Durante ciertas etapas de cinética a las diferentes concentraciones evaluadas se determinó la acumulación momentánea del intermediario metabólico, eteno. Al aumentar la concentración de este último compuesto y con una concentración pequeña de CV (20 µM) se observó la inhibición de la degradación del contaminante objetivo (CV), el consorcio microbiano consumió preferentemente el sustrato de fácil degradación. Las concentraciones que se evaluaron en mezcla de sustratos fueron 20, 60, 80 y 93 µM encontrando que las concentraciones que presentaron los mejores porcentajes de remoción fueron las concentraciones de 60 y 80 µM.

Como parte importante de la investigación se demostró que el consorcio era capaz de degradar otro tipo de contaminantes además del CV y eteno. Lo anterior se evaluó debido a que el CV y otros de los intermediarios de la degradación anaerobia del tricloroetileno (TCE), cis-trans-dicloroetileno (DCE), pueden estar presentes en efluentes gaseosos. El consorcio fue capaz de degradarlos bajo condiciones aerobias obteniendo porcentajes de remoción de 89%, 49% y 58% respectivamente.

Por medio de la adaptación del consorcio a contaminantes como eteno y CV los porcentajes de remoción para el CV aumentaron, mientras que los tiempos de remoción fueron menores a los obtenidos con el consorcio adaptado a diclorometano (DCM) como sustrato selectivo. Mediante la adaptación, el porcentaje de remoción se incrementó del 57% al 76%.

En el sistema de biofiltración de 250 mL se evaluó la degradación del eteno a dos diferentes concentraciones 40 y 270 µM. Estas fueron consumidas en 7 horas de cinética. Mientras que el sistema de biofiltración de 1.9L fue posible degradar hasta un 83% de CV (550 µM) en un tiempo máximo de 160 horas. Después de 72 horas de operación el consumo del contaminante se detuvo, debido posiblemente a la pérdida de humedad del sistema o a la falta de nutrientes para el consorcio microbiano.

---

## ABSTRACT

Due to the high concentrations of vinyl chloride emitted in the oxychlorination process for the production of the polyvinyl chloride or PVC, and the accumulation of this contaminant as a result of an incomplete degradation of highly chlorinated compounds such as trichloroethene or perchloroethylene, there is an increasing interest in developing biological technologies for the degradation of this compound, either by mineralization or transformation into a less aggressive contaminant for both the environment and humans.

Several methods have been evaluated for controlling and removing chloride compounds. Biological treatments have some advantages over conventional technologies, being the biofiltration a system in which the microorganism's capability is taking into account to degrade recalcitrant components. This work presents a method for the degradation of vinyl chloride and other contaminants through the development of a microbial consortium, able of degrading organochlorine compounds such as vinyl chloride (VC), cis and trans-dichloroethene (DCE), trichloroethene (TCE) and ethene. To achieve this, lava rock was used as a support, as previous studies have shown that provides nutrients and moisture needed for the development and sustenance of microorganisms.

At the first stage of this study, the potential of the consortium to degrade VC at different concentrations 20, 40 and 60  $\mu\text{M}$  was evaluated. Reductions of 55, 76 and 83%, respectively, were obtained after 15 days with velocities of consumption of 0.96, 2.57 and 4.23  $\mu\text{M}/\text{day}$ .

Afterwards, a series of experiments were done to elucidate the effect of degradation in a mixture of pollutants since in a real flow, pollutants are not pure components. The microbial consortium was exposed to a mixture of substrates (ethene and VC). The consortium degraded both molecules, without observing the lag phase. In this process, mineralization was the predominant mechanism of degradation ( $\text{CO}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}$  production). During certain kinetics stages, at the tested concentrations, it was determined the instant

accumulation of the metabolic intermediate, ethene. Degradation inhibition of the contaminant target (VC) was observed by increasing the concentration of ethene and for smaller concentrations of VC (20  $\mu\text{M}$ ) as the microbial consortium preferably consumed easily degradable substrate. The concentrations evaluated in mixed substrates were 20, 60, 80 and 93  $\mu\text{M}$ , finding that the best removal percentages at concentrations of 60 and 80  $\mu\text{M}$ .

As an important part of the work, it was also showed that the consortium was able to degrade other contaminants in addition to VC and ethene. This was evaluated because the VC and other intermediaries in the anaerobic degradation of TCE, cis-trans-DCE might be present in the gaseous emissions. The consortium was able to degrade these components under aerobic conditions obtaining removal percentages of 89%, 49% and 58%, respectively.

Through the adaptation of the consortium to contaminants such as ethene and the VC, the removal percentage of VC increased, whereas clearance times were lower than those obtained with the consortium adapted to DCM as a substrate selective. Through adaptation, the removal percentage increased from 57% to 76%.

The biofiltration system of 250 mL was evaluated for ethane degradation at two different concentrations 40 and 270  $\mu\text{M}$ . These were consumed in 7 kinetics hours. While the 1.9 L biofiltration system was able to degrade up to 83% of VC (550  $\mu\text{M}$ ) in a maximum of 160 hours. After 72 hours of operation, the pollutant degradation was stopped, possibly due to loss of system moisture or lack of nutrients for the growing of the microbial consortium.

---

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>ABSTRACT</b> .....	9
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	11
ÍNDICE DE FIGURAS.....	14
ÍNDICE DE TABLAS .....	16
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	18
<b>1. CARACTERÍSTICAS Y TOXICIDAD DEL CLORURO DE VINILO</b> .....	21
1.1.Producción de cloruro del vinilo .....	21
1.2.Fuentes de emisión del CV .....	23
1.2.1.Producto de la dechloración de productos altamente clorados.....	23
1.2.2.Residuos y productos en la producción de la resina de PVC .....	25
1.2.3.Otras emisiones de CV .....	27
1.3.Toxicidad del CV .....	27
1.4.Degradación del CV .....	28
<b>2. TECNOLOGIAS DE BIODEGRADACIÓN</b> .....	31
2.1.La biofiltración.....	32
2.2.Mecanismos de la biofiltración .....	33
2.3.Factores importantes en un sistema de biofiltración .....	35
2.3.1.Efecto del material del empaque .....	35
2.3.2.Efecto de la temperatura.....	37
2.3.3.Efecto del pH.....	38
2.3.4.Efecto de la humedad .....	38

---

<b>II. OBJETIVOS</b> .....	41
1.OBJETIVO GENERAL .....	41
2.OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	41
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	43
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....	45
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	48
1.Estrategia experimental .....	48
2.Reactivos .....	50
3.Establecimiento de la biopelícula.....	50
3.1.Columnas de 250 mL .....	50
3.2.Columna de 1.9 L .....	52
4.Experimentos cinéticos .....	53
4.1.Microcosmos .....	53
4.2.Macrocosmos.....	55
4.3.Pruebas en biofiltro .....	56
4.3.1.Columnas 250 mL .....	56
4.3.2.Columna 1.9 L.....	57
5.Determinaciones analíticas.....	58
5.1.Técnicas cromatográficas .....	58
5.2.Cuenta Microbiana .....	59
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	61
1.Establecimiento de la biopelícula.....	61
2.Experimentos cinéticos .....	63
2.1.Microcosmos .....	63
2.1.1.CV como única fuente de carbono y energía .....	64

---

2.1.2.Mezcla de Sustratos.....	67
2.1.3.Evaluación de Intermediarios.....	75
2.1.3.1.Tricloroetileno.....	75
2.1.3.2. <i>Cis</i> -dicloroetileno.....	77
2.1.3.3. <i>Trans</i> -dicloroetileno.....	80
2.2.Macrocosmos.....	81
2.2.1.Adaptación al CV.....	82
2.2.2.Adaptación al eteno.....	84
2.2.3.Cinéticas de degradación en sistemas de microcosmos.....	87
2.2.3.1.Evaluación del consorcio adaptado a CV.....	87
2.2.3.2.Evaluación del consorcio adaptado a eteno.....	89
2.3.Cinéticas de degradación en columnas de biofiltración 250 mL.....	91
2.4.Cinéticas de degradación en columna de biofiltración de 1.9 L.....	94
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>99</b>
<b>VIII.PERSPECTIVAS.....</b>	<b>102</b>
<b>IX. REFERENCIAS.....</b>	<b>104</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.2.1-1</b> Ruta propuesta de la transformación biológica .....	24
<b>FIGURA 1.2.2-1</b> Emisiones al medio ambiente en el proceso.....	26
<b>FIGURA 1.4-1</b> Degradación intracelular de CV [ORC 2003].....	29
<b>FIGURA 1.4-2</b> Degradación co-metabólica de CV [ORC 2003] .....	30
<b>FIGURA 2.2-1</b> Fenómeno presente en la operación de los biofiltros [Devanny y col. 1999] .....	34
<b>FIGURA 2.2-2</b> Aspectos biológicos de la biofiltración [Revah-Moiseev y López 2004] .....	35
<b>FIGURA 1-1</b> Estrategia experimental.....	49
<b>FIGURA 3.1-1</b> Sistema de biofiltración de 250 ml, a) alimentado con glucosa,.....	51
<b>FIGURA 3.2-1</b> Sistema de biofiltración 1.9 L .....	52
<b>FIGURA 3.2-2</b> Sistema de biofiltración, alimentación del DCM .....	53
<b>FIGURA 4.1-1</b> Diagrama experimental para la degradación de diferentes sustratos y sus concentraciones. ....	54
<b>FIGURA 4.1-2</b> Sistemas en microcosmos .....	55
<b>FIGURA 4.2-1</b> Sistemas en macrocosmos.....	55
<b>FIGURA 4.3.1-1</b> Sistema de biofiltración 250 ML.....	57
<b>FIGURA 4.3.2-1</b> Sistema de biofiltración 1.9 L. ....	58
<b>FIGURA 1-1</b> Formación de algas tras dos meses de operación del sistema de biofiltración de 250 ML.....	61
<b>FIGURA 1-2</b> Desarrollo de la biopelícula a) una semana de su montaje,.....	62
<b>FIGURA 2.1.1-1</b> Degradación de cv como única fuente de carbono y energía. ....	65
<b>FIGURA 2.1.2-1</b> Proceso de degradación del cv bajo condiciones aerobias. ....	68
<b>FIGURA 2.1.2-2</b> Degradación de cv a una concentración de 20 $\mu$ M en mezcla con eteno a 10 $\mu$ M. .....	69
<b>FIGURA 2.1.2-3</b> Degradación en mezcla de sustratos a 60 $\mu$ M DE CV .....	71
<b>FIGURA 2.1.2-4</b> Degradación de mezcla de sustratos a 80 $\mu$ M DE CV .....	72
<b>FIGURA 2.1.2-5</b> Diferentes concentraciones evaluadas en mezcla y sus porcentajes de remoción para el contaminante objetivo (CV) .....	73
<b>FIGURA 2.1.3.1-1</b> Degradación de tce bajo condiciones aerobias.....	76
<b>FIGURA 2.1.3.2-1</b> Degradación de cis-DCE.....	79
<b>FIGURA 2.1.3.3-1</b> Degradación <i>trans</i> -DCE.....	80
<b>FIGURA 2.2.1-1</b> Adaptación del consorcio a cv durante 4 adiciones sucesivas .....	83
<b>FIGURA 2.2.2-1</b> Adaptación del consorcio a eteno.....	85

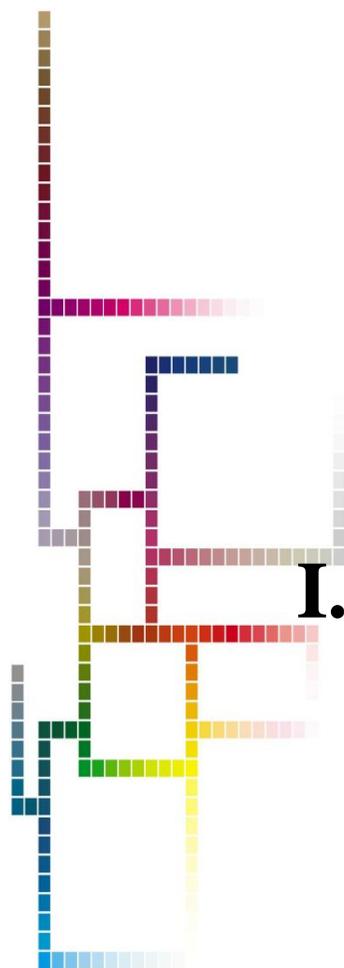
---

<b>FIGURA 2.2.3.1-1</b> Comparación entre las diferentes adaptaciones del inóculo. se muestran las dos diferentes concentraciones que presentaron los mejores porcentajes de remoción en comparación con la evaluación realizada con el inóculo adaptado a CV.....	88
<b>FIGURA 2.2.3.2-1</b> Diferencias entre los diferentes sustratos a los que se adaptó el inóculo .....	90
<b>FIGURA 2.3-1</b> Cinética de degradación en columna de biofiltración de 250 ML.....	92
<b>FIGURA 2.3-2</b> Diferentes flujos de alimentación de eteno en el sistema de biofiltración .....	93
<b>FIGURA 2.4-1</b> Cinética de degradación de cv en una columna de biofiltración de 1.9L.....	94
<b>FIGURA 2.4-2</b> Diferencias en los porcentajes de remoción y velocidades de consumo obtenidas para las dos alimentaciones analizadas en la columna de biofiltración de 1.9L .....	96
<b>FIGURA 2.4-3</b> Diferencias en las colonias obtenidas en el consorcio microbiano capaz de degradar CV .....	97

---

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA II-1</b> Compuestos organoclorados definidos por la EPA [KAO 1994].....	20
<b>TABLA 1.1-1</b> Producción mundial del monómero de cv en 2005 [Burroso 2006].....	22
<b>TABLA 1.2.2-1</b> Composición típica de los gases procedentes del proceso de cloración-oxi cloración[Müller y col. 1993] .....	26
<b>TABLA 1.3-1</b> Límites de exposición del CV [EPA.USA 2000] .....	28
<b>TABLA 1.4-1</b> Principales microorganismos degradadores de CV [Field y Alvarez 2004] .....	31
<b>TABLA 2.3.1-1</b> Características de medios filtrantes para biofiltración [ULLOA 2005].....	36
<b>TABLA 3.1-1</b> Medio mineral, enriquecimiento inicial .....	51
<b>TABLA 2.1.1-1</b> Porcentajes de remoción y velocidades de consumo obtenidas con el consorcio microbiano evaluando el CV como única fuente de carbono y energía. ....	66
<b>TABLA 2.1.2-1</b> Mezcla de sustratos, concentración de CV y eteno. ....	68
<b>TABLA 2.1.2-2</b> Degradación de contaminantes en mezcla y su estimación en la producción de CO <sub>2</sub> .....	70
<b>TABLA 2.1.2-3</b> UFC/g de soporte para las concentraciones de mayores porcentajes de remoción .....	74
<b>TABLA 2.2.1-1</b> Diferencias en las etapas de adaptación del CV.....	83
<b>TABLA 2.2.2-1</b> Etapas de adaptación a eteno.....	86



# I. INTRODUCCIÓN

## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la disminución de la calidad del aire a consecuencia de la contaminación atmosférica es uno de los principales problemas debido a un conjunto de factores como la calidad y cantidad de combustibles utilizados por los distintos procesos industriales, las actividades productivas de población y por las condiciones meteorológicas (locales y globales) y fisiográficas que modifican la química atmosférica.

Por contaminación del aire se han propuesto muchas definiciones, una de ellas:

*“La contaminación del aire se puede definir como la presencia en la atmosfera exterior de uno o más contaminantes y sus combinaciones, en cantidades tales y con tal duración que sean o puedan a afectar la vida humana, de animales, plantas y que interfiera con el goce de la vida, la propiedad o el ejercicio de las actividades” [Wark y Warner 2004]*

Por ello, la importancia del control de la contaminación atmosférica tiene que ver no sólo con los daños directos que causa a la salud del ser humano (enfermedades, hipersensibilidad), a la flora y la fauna (alteraciones foliares, reducción del crecimiento, pérdida de especies) o las alteraciones al medio ambiente (atenuación de la radiación solar, aumento de emisiones calóricas, cambios en la precipitación), sino también con los impactos negativos sobre la economía como resultado de las pérdidas derivadas de los efectos directos e indirectos, así como por los gastos relacionados con la aplicación de medidas para controlar dicha contaminación .

El Inventario Nacional de Emisiones de México (INEM, 1999) establece diferentes fuentes de emisión de contaminantes al medio ambiente, en donde se distinguen seis contaminantes:

- óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>)
- óxidos de azufre (SO<sub>x</sub>)
- *compuestos orgánicos volátiles (COV)*

- monóxido de carbono (CO)
- partículas suspendidas (PM<sub>10</sub> / PM<sub>2.5</sub>)
- amoníaco (NH<sub>3</sub>).

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) constituyen probablemente la segunda clase más extendida y diversa de emisiones, después de las partículas, constituyen importantes contaminantes ambientales porque muchos son móviles, persistentes y tóxicos. El ambiente consta de un complejo sistema de interacción de medios (por ejemplo, la atmósfera, suelo, aguas superficiales y subterráneas) por tanto los COVs no quedan necesariamente en el ambiente donde se originan. Muchos COVs pueden tener una corta vida media de unas pocas horas debido a la degradación, mientras que en otros pueden ser muy persistentes y mostrar la degradación de poco más de un período de años. En las zonas más urbanas, los COVs pueden contribuir sustancialmente al riesgo de cáncer asociado con contaminantes tóxicos del aire [Squillace y col. 1999].

Los compuestos organoclorados forman parte de los COVs y constituyen uno de los tipos de contaminantes atmosféricos que más preocupación ha despertado en las dos últimas décadas, ya que la velocidad de degradación biológica en suelos y aguas es baja, lo que agrava sus efectos. Asimismo, estos compuestos son capaces también de generar radicales libres en la atmósfera, dañando de este modo la capa de ozono.

Una gran cantidad de compuestos clorados son producidos anualmente para una variedad de productos industriales, agrícolas y de los usos comerciales, incluidos los disolventes, lubricantes, intermediarios en la industria química, los pesticidas, productos farmacéuticos y equipos médicos [Olaniran. y col. 2004].

Aunque, una serie de compuestos clorados se producen naturalmente en el suelo y medio ambiente marino, la gran mayoría es de origen antropogénico. Un gran número de estos compuestos persiste en el medio ambiente a causa de su resistencia a la degradación química y biológica, causando contaminación medioambiental y problemas en la salud humana [Bradley y Chapelle 1997].

La variedad y relevancia medioambiental de estos productos se ve reflejada en el informe de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), "Clean Air Act Amendments" (CAAA) de 1990, en el que se identifican 189 contaminantes atmosféricos, de los que más de 40 son organoclorados. En este informe se definen cinco categorías de hidrocarburos contaminantes, de las que todas, exceptuando los nitrogenados, incluyen hidrocarburos clorados, como se observa en la Tabla I-1.

**Tabla I-1 Compuestos organoclorados definidos por la EPA [KAO 1994]**

Alifáticos y cíclicos		Aromáticos	Oxigenados	Pesticidas y Herbicidas
Saturados	Insaturados			
Clorometano	Cloropreno	Benzotricloruro	Ácido dicloroacético	Más de 10
Cloroformo	Cloruro alílico	Bifenilos policlorados	Clorometil éter	
Clorometano	Cloruro de vinilo	Cloruro de bencilo	Dicloroetil éter	
1,2-diclorometano	1,1-dicloroetileno	Clorobenceno	1-cloro-2,3-epoxipropano	
1,1-dicloroetano	1,2-dicloropropeno	1,4,diclorobenceno	2-cloroacetofenona	
Diclorometano	Hexaclorobutadieno	Hexaclorobenceno		
1,2-dicloropropano	Hexaclorociclopentadieno	2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina		
Hexacloroetano	Tetracloroetileno	2,3,7,8-tetraclorodibenzo furano		
1,1,2,2-tetracloroetano	Tricloroetileno	1,2,4-triclorobenceno		
Tetracloruro de carbono				
1,1,1-tricloroetano				
1,1,2-tricloroetano				

Los compuestos organoclorados son un grupo de compuestos que han sido ampliamente utilizados desde la década de los cincuenta como pesticidas en la agricultura o en distintas actividades industriales. Su elevada persistencia ocasiona que se acumulen a lo largo de las redes tróficas, por lo que se han convertido en uno de los grupos de contaminantes ambientales de mayor importancia. Son considerados tóxicos porque pueden tener efectos a corto plazo (agudos) o a largo plazo (crónicos). Esta categoría de contaminantes agrupa a

muchas sustancias con efectos variados, a diferentes concentraciones a las que dichos efectos pueden presentarse. Los compuestos van desde los que son cancerígenos, como el 1,3-butadieno y el cloruro de vinilo, hasta los solventes químicos como el tolueno y el etilbenceno que a las concentraciones que se hallan en el aire ambiente pueden limitarse a tener efectos irritantes [LLC 1997].

El cloruro de vinilo es un compuesto organoclorado alifático insaturado que ha sido clasificado por la EPA como uno de los 189 principales contaminantes del medio ambiente, siendo este uno de los productos químicos mejor estudiados debido a la evidencia de ser cancerígeno en informes de casos humanos en la década de 1970, por esta razón hubo cambios drásticos en la producción y métodos para la producción del cloruro de polivinilo (PVC).

## **1. CARACTERISTICAS Y TOXICIDAD DEL CLORURO DE VINILO**

### **1.1. Producción de cloruro del vinilo**

El cloruro de vinilo (CV) es un gas inflamable incoloro a temperatura ambiente con un suave aroma dulce.

El método más común para la producción del monómero de CV es el craqueo térmico de dicloruro de etileno (1,2-dicloroetano). Más del 95% de la producción mundial de CV en 2006 fue obtenido mediante este método. Un método menos común es por hidrocloración de acetileno [Cowfer y Gorenssek 2006]. El CV también se origina de la degradación de otras sustancias tales como tricloroetano, tricloroetileno, y tetracloroetileno.

El CV ha sido producido comercialmente en los Estados Unidos por más de 70 años. En 1988, la producción de CV en los E.U. fue 4.1 millones de toneladas, y aumentó a alrededor de 6.2 millones toneladas en 1993 [ACGIH 2005]. En Taiwán, China, la

producción ha aumentado de 12.000 toneladas en 1971 [Luo y col. 1999] a 1.7 millones de toneladas en 2005 [Burroso 2006].

En 1999, la capacidad de producción mundial fue de alrededor de 30 millones de toneladas [SIDS 2001]. En el 2005 fue de 35 millones de toneladas (Dow Chemical Company, 2007). La Tabla 1.1-1 muestra la producción del monómero de cloruro de vinilo en diferentes países y regiones [Burroso 2006].

**Tabla 1.1-1 Producción mundial del monómero de CV en 2005 [Burroso 2006].**

<b>Región</b>	<b>Capacidad de los países (en miles de toneladas)</b>
<i>América del Norte</i>	
EE.UU. / Canadá	8 934
México	270
<i>América del Sur</i>	
Brasil	635
Otros	410
Europa Occidental	6 650
Europa Central y Oriental	2 195
África y Oriente Medio	1 557
<i>Asia</i>	
Japón	3 050
China	3 443
China, Provincia de Taiwan	1 710
Corea	1 466
Otros Asia	2 304
Oceanía	0
<b>Total</b>	<b>32 624</b>

El CV se utiliza principalmente (> 95%) en la fabricación de PVC, que comprende alrededor del 12% del uso de plástico. Otros usos importantes son en revestimientos para el suelo, de los consumidores bienes, aplicaciones eléctricas y de transporte [IARC 2008].

Además de las aplicaciones anteriores, se ha utilizado en el pasado como refrigerante, como un disolvente de extracción para materiales sensibles al calor, en la producción de cloroacetaldehído, como propulsor de aerosoles, en drogas y productos cosméticos, estos usos están prohibidos en los E.U. por La Agencia de Protección del Medio Ambiente desde 1974 [ATSDR 2006].

## **1.2.Fuentes de emisión del CV**

No se sabe que el CV se produzca naturalmente, sin embargo se ha reportado su presencia en los gases de vertedero y las aguas subterráneas como un producto de la degradación de los disolventes clorados que se depositaron. En los últimos años, la liberación industrial de CV en el aire en los E.U. poco a poco disminuyó de 333 toneladas en 2001 a 305 toneladas en 2002, 293 ton en 2003, 297 ton en 2004 y 248 ton en 2005 (National Library of Medicine, 2007).

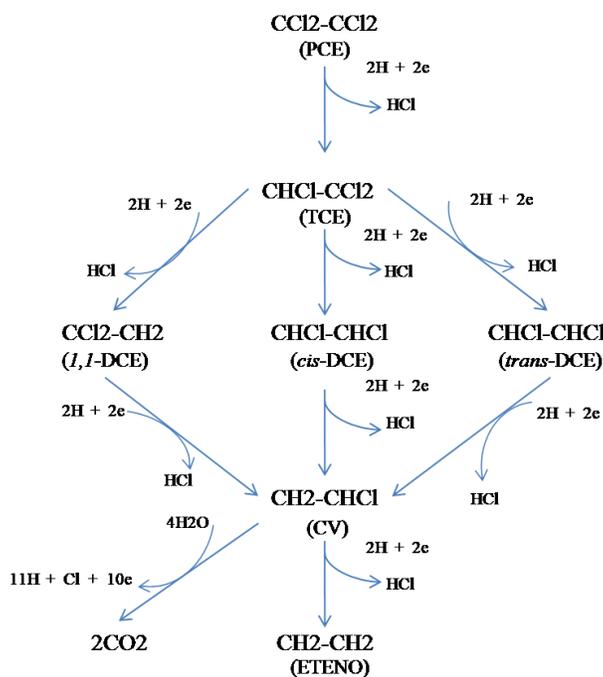
El CV es altamente volátil, en unos pocos días, se degrada en el aire a otras sustancias, algunas de las cuales pueden ser perjudiciales, ya que en la troposfera es fotoquímicamente oxidado y los productos de la degradación que se aportan son cloroacetaldehído, HCl, epóxido cloroetileno, formaldehído, ácido fórmico y monóxido de carbono [Müller y col. 1978]. Se ha informado que la vida media en el ambiente es alrededor de 1.5 días [Atkinson y Pitts 1977].

A continuación se mencionan las principales vías por las cuales el CV es producido y liberado al medio ambiente.

### **1.2.1. Producto de la decloración de productos altamente clorados**

El CV es uno de los productos de la degradación microbiana en condiciones anaerobias de la deshalogenación reductiva de compuestos altamente clorados como son: percloroetileno (PCE), tricloroetileno (TCE) [Tartakovsky y col. 2005]. La ruta de la decloración reductiva del PCE a productos no clorados como el eteno fué propuesta por Maymo-Gatelle y col. en

1997 como se muestra en la figura 1.2.1-1. Sin embargo, la dechloración reductiva de PCE y TCE a menudo conduce a la acumulación de intermediarios, principalmente cis-DCE y VC en el subsuelo y las aguas subterráneas.



**Figura 1.2.1-1 Ruta propuesta de la transformación biológica de etenoclorados en condiciones anaerobias [Maymo-Gatell y col. 1997]**

El PCE es utilizado como uno de los disolventes industriales tradicionales para la limpieza y desengrasado de partes metálicas y componentes electrónicos, además de la limpieza en seco. El manejo descuidado, almacenamiento y eliminación, así como la estabilidad química de la estos compuestos, los han hecho, algunos de los compuestos más frecuentemente contaminantes obtenidos de las aguas subterráneas. Aunque CV puede ser degradado a compuestos menos clorados y finalmente a dióxido de carbono y eteno, cuando esto no sucede hay una acumulación de este contaminante en vertederos y alrededores.

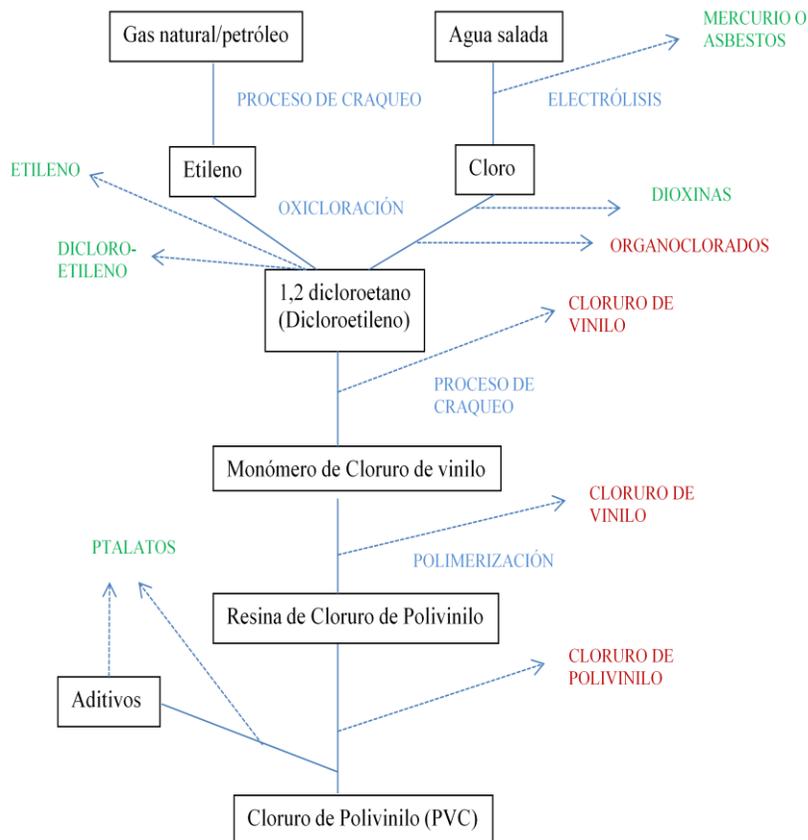
Diferentes estudios realizados en campos contaminados con PCE/TCE [McCarty 1997] han demostrado que, bajo condiciones específicas, PCE y TCE puede ser intrínsecamente biodegradado anaeróbicamente a etileno por medio de bacterias metanogénicas, acetogénicas, y sulfidogénicas [Kielhorn y col. 2000]

Al descender el número de átomos de cloro aumenta la tendencia a la degradación aerobia. Debido a que el CV es un producto de la degradación anaerobia de compuestos altamente clorados como el PCE y TCE hay una acumulación de este contaminante ya que las tasas de biodegradación del CV bajo estas condiciones disminuyen. Siendo este un problema medioambiental por ser un contaminante más agresivo que el contaminante principal (PCE y TCE) [Kielhorn y col. 2000].

### **1.2.2. Residuos y productos en la producción de la resina de PVC**

Otra de las formas en las que podemos encontrar gases de CV es por medio de la polimerización para la producción del PVC. El CV fue utilizado por primera vez comercialmente en la década de los 20's, pero no fue hasta la década de los 30's que las técnicas fueron empleadas para polimerizar CV en formas estables de PVC [Kielhorn y col. 2000].

Todas las etapas del ciclo de producción del PVC comprenden descargas tóxicas al medio ambiente, figura 1.2.2-1 ya que su producción requiere de muchos productos químicos tóxicos, ya sea como materias primas o como el uso de aditivos que no pueden ser eliminados dañando directamente el medio ambiente [Kielhorn y col. 2000].



**Figura 1.2.2-1 Emisiones al medio ambiente en el proceso de producción de PVC [Strutt 1997]**

De este modo, el proceso para la producción del PVC emite en por lo menos 3 etapas gases de compuestos organoclorados tales como el CV y el PCE a diferentes concentraciones (Tabla 1.2.2-1) siendo esta una de las principales fuentes de emisión de gases de CV.

**Tabla 1.2.2-1 Composición típica de los gases procedentes del proceso de Cloración-oxicloraación[Müller y col. 1993]**

COMPUESTO	UNIDADES	CONCENTRACIÓN
Oxígeno	% vol.	4.0-7.0
Monóxido de carbono	% vol.	0.5-1.0
Eteno	% vol.	0.2-0.5
Etano	% vol.	0.02-0.1
Cloruro de Metilo	ppm	2.0-30
Cloruro de Vinilo	ppm	15-60
Cloruro de Etilo	ppm	30-400
1,2-dicloroetano	ppm	5-100

### 1.2.3. Otras emisiones de CV

El CV fue identificado en el humo de cigarrillos (14-27 ng / cigarro). Los niveles medidos están correlacionados con el contenido de cloro en el tabaco [Hoffmann y col. 1976].

En la actualidad no ha habido ningún informe de niveles de cloruro de vinilo en los alimentos, farmacéuticos o de los productos cosméticos en los últimos años [IARC 2008].

### 1.3. Toxicidad del CV

La exposición de la población de este contaminante es posible por varias vías: la inhalación de aire contaminado con el CV, sobre todo en las proximidades de fábricas o plantas productoras del CV/PVC o en lugares de eliminación de residuos, consumo de agua contaminada, la ingestión de alimentos, bebidas y medicamentos envasados con PVC y la absorción a través de la piel de por medio de cosméticos forrados con PVC. Sin embargo, la exposición varía en función de las medidas reglamentarias de cada país, la ocurrencia de accidentes o la propagación de sustancias precursoras [Kielhorn y col. 2000].

Durante los primeros años de producción de PVC los trabajadores eran expuestos a concentraciones mayores de 1000 ppm (2600 mg/m<sup>3</sup>). Como resultado, algunos de estos trabajadores sufría de un síndrome patológico específico llamado “*Enfermedad del cloruro de vinilo*” con síntomas incluyendo dolor de cabeza, mareos, fatiga, falta de apetito, náuseas, insomnio, dificultad para respirar, dolor de estómago, dolor en el hígado, hormigueo en los brazos y piernas, pérdida de libido y pérdida de peso [Thiess y Versen 1974]. Los hallazgos clínicos incluyen esclerodermia, cambios en articulaciones de los dedos, ampliación del hígado y del bazo, etc. [Lange y col. 1974].

En el 2000 la Agencia de Protección Ambiental (EPA, E.U.) estableció diferentes niveles de exposición al CV, Tabla 1.3-1

**Tabla 1.3-1 Límites de exposición del CV [EPA.USA 2000]**

DESCRIPCIÓN	CONCENTRACIÓN
Nivel de riesgo mínimo	0.08 mg/m <sup>3</sup>
La concentración a la que un trabajador pueden estar expuesto sin efectos adversos en un día laboral normal de 8 horas o una semana laboral de 40 horas	2.6 mg/m <sup>3</sup>
Límite máximo de exposición, concentración que no debe superarse en cualquier momento	13 mg/m <sup>3</sup>
Concentración calculada en el aire para que la exposición durante un período específico de tiempo se espera que cause la muerte del 50% de una población definida con animales de experimentación	585 mg/m <sup>3</sup>

En 1978-79, la clasificación de este contaminante es A1 (cancerígeno confirmado en humanos). En 1999, un valor de 1 ppm se aceptó como nivel de riesgo mínimo. Muchos países, regiones o las organizaciones han establecido normas de exposición para el CV en el lugar de trabajo, en México se establece un límite máximo de 5ppm considerándolo cancerígeno al humano.

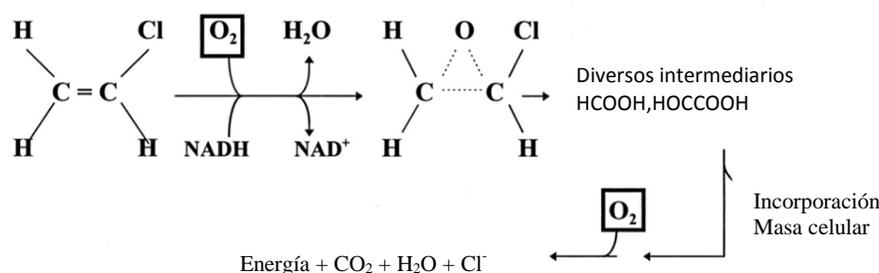
#### **1.4.Degradación del CV**

La tendencia a la oxidación aerobia de compuestos clorados aumenta con la disminución del número de los átomos de cloro unidos a los átomos de carbono [Vogel y col. 1987]. Varios estudios de laboratorio y de campo han demostrado que el CV puede ser fácilmente degradado en condiciones aerobias [Phelps y col. 1991], utilizándolo como fuente principal de carbono para el crecimiento microbiano. Recientemente, también se ha demostrado que el dicloroetileno se oxida aeróbicamente y es mineralizado a CO<sub>2</sub>, sin necesidad de añadir ningún co-sustrato utilizándolo como única fuente de carbono por algunos microorganismos [Coleman y col. 2002].

El metabolismo de CV en la presencia de oxígeno se puede llevar a cabo por medio de dos mecanismos posibles.

- 1) En primer lugar el CV puede servir como sustrato primario para el crecimiento microbiano y es degradado completamente a dióxido de carbono y agua. Este proceso ocurre intracelularmente y no requieren ningún compuesto de inducción-oxigenasa, como el metano para el metabolismo CV en esta vía oxidativa. El empleo de oxígeno puede estimular la degradación de CV sin la necesidad de utilizar tratamientos o tecnologías adicionales.

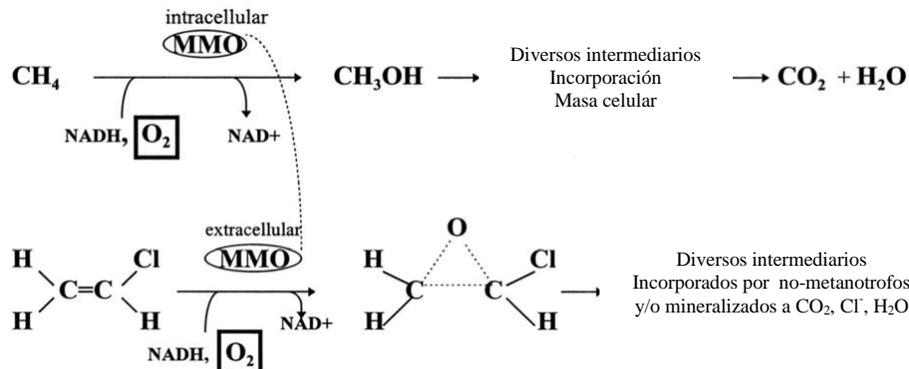
El metabolismo directo intracelular de CV, por medio de la oxidación da un compuesto intermediario que en última instancia se degrada a dióxido de carbono y el agua [Davis y Carpenter 1990]. Un intermedio de epóxido inestable, se degrada en varios fragmentos (como el ácido fórmico y el ácido oxiglicólico) que a su vez son transformados a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Esto causa una ventaja de energía neta al microorganismo. El mecanismo propuesto de degradación de CV se ilustra en el figura 1.4-1.



**Figura 1.4-1 Degradación intracelular de CV [ORC 2003]**

- 2) Otras investigaciones sugieren un segundo mecanismo de degradación que implica compuestos metanótrofos capaces de convertir el CV extracelularmente por medio del co-metabolismo. En el co-metabolismo, la formación de un intermediario requiere un sustrato que induce a la enzima (en este caso el metano) que al parecer no se requiere en el metabolismo aerobio de degradación intracelular de CV. Cuando la degradación co-metabólica de CV ocurre, algunos microorganismos metanótrofos producen oxigenasas, por ejemplo la metano monooxigenasa (MMO), que se filtra de la célula y degrada al CV extracelularmente de forma

fortuita, sin beneficiar energéticamente al microorganismo. Este tipo de degradación co-metabólica se ilustra en la figura 1.4-2.



**Figura 1.4-2 Degradación co-metabólica de CV [ORC 2003]**

Ambos mecanismos propuestos para la biodegradación del CV son procesos que demandan oxígeno. Además de las exigencias de respiración aerobia, el oxígeno juega un papel integral en las reacciones enzimáticas tanto intracelular como extracelular. Por lo tanto el uso de oxígeno ayuda en el sustento de las poblaciones microbianas y a mejorar la velocidad de degradación aerobia de CV [ORC 2003]

Es importante entender la diversidad, ecología y mecanismos de degradación para el aislamiento de nuevos organismos que son capaces de asimilar el CV, diferentes estudios utilizan cultivos mixtos que pueden proporcionar información importante sobre la oxidación de CV en ambientes competitivos. Adicionalmente los datos obtenidos de cultivos mixtos pueden ser usados para la comparación de velocidad y estabilidad de degradación en comparación con cultivos puros [Sing y col. 2004]

Algunos microorganismos capaces de la degradación del CV se ven resumidos en la Tabla 1.4-1.

**Tabla 1.4-1 Principales microorganismos degradadores de CV [Field y Alvarez 2004]**

<b>Función del CV</b>	<b>Co-sustrato</b>	<b>Redox</b>	<b>Microorganismo</b>
Donador de Electrones	-----	Aerobio	<i>Mycobacterium sp.</i>
			<i>Mycobacterium aurum L1</i>
			<i>Nocardilides</i>
			<i>Pseudomonas DL1</i>
Co-oxidación	Butano	Aerobio	Cultivo mixto
	Formato		Oxidadores de Metano
Cometabolismo	Metano	Anaerobio	Biopelícula metanogénica
Aceptor de Electrones	Halorespiración	Anaerobio	Dehalocoides
			Cultivo mixto

## 2. TECNOLOGIAS DE BIODEGRADACIÓN

La biodegradación es una tecnología que utiliza microorganismos presentes en el suelo o agua subterránea para eliminar compuestos que ocasionan contaminación de los mismos. Los organismos, tales como bacterias, levaduras y hongos, utilizan los productos químicos en suelo o agua subterránea para la nutrición y la energía. Para favorecer este proceso, se pueden adicionar nutrientes minerales (como nitrógeno y fósforo), aceptores de electrones (habitualmente oxígeno), contenido de humedad y sustratos primarios del suelo para subsidiar y mantener la actividad biológica. Los microorganismos digieren los químicos y los convierten en gases inofensivos y agua.

Para el control de vapores y gases es necesario tomar en cuenta los principios fisicoquímicos, entre los factores que son considerados para la selección de un equipo de tratamiento se encuentran:

- a) Características del contaminante: Toxicidad, corrosividad, combustibilidad, biodegradabilidad, presión de vapor, etcétera.

- b) Las características de la corriente contaminada: Flujo, temperatura, humedad, composición (incluyendo partículas suspendidas), concentración de los contaminantes y masa total de los mismos.
- c) La eficiencia de remoción requerida, de acuerdo con las normatividades existentes.
- d) La necesidad de servicios especiales y la posible generación de desechos y subproductos.
- e) La posibilidad de recuperar, reutilizar o reciclar el contaminante.
- f) Los costos de inversión y operación [*Revah-Moiseev y López 2004*]

Dentro de los sistemas biológicos, las tres configuraciones más utilizadas, son los biofiltros de lecho escurrido, los biolavadores y los biofiltros.

## **2.1.La biofiltración**

El uso de técnicas de biofiltración para el control de la contaminación atmosférica se ha convertido en una popular alternativa de tratamiento para los flujos de gases contaminados en las últimas décadas [*Devinny y col. 1999*]. A diferencia de las tecnologías convencionales, como la térmica y catalítica, la incineración, la limpieza o la adsorción de carbono, la biofiltración permite eficaz control de la contaminación, así como gastos de funcionamiento relativamente bajos, además de no haber la generación de corrientes secundarias que pueden necesitar un tratamiento posterior. Las principales limitaciones para el uso de biofiltros es el espacio que estos necesitan, además de los frecuentes reemplazos del medio de empaque debido al deterioro que este sufre [*Shareefdeen 2002; Revah-Moiseev y López 2004*].

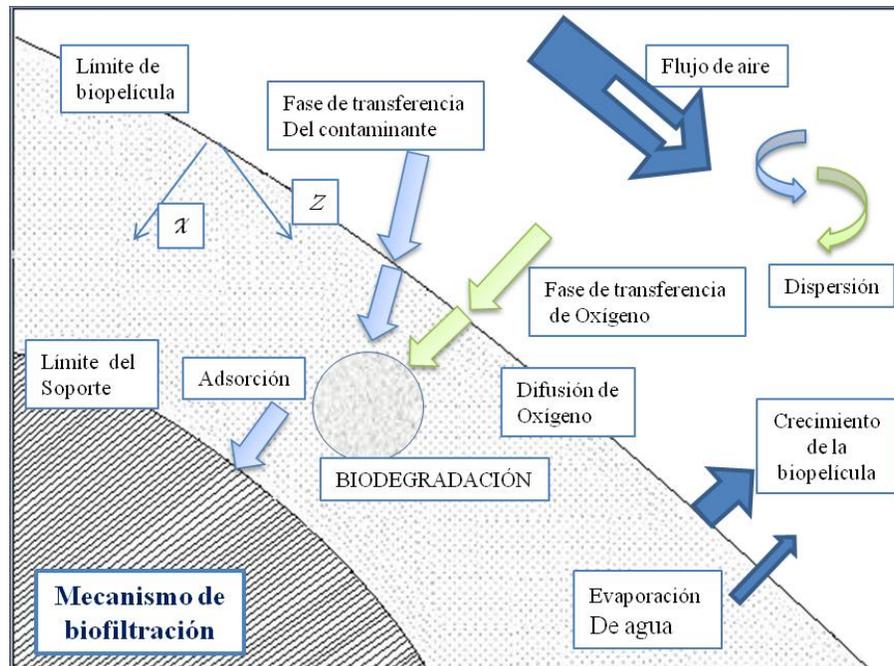
En las últimas décadas, una intensa investigación y el desarrollo han llevado a incluir el tratamiento de una más amplia gama de compuestos, tales como compuestos orgánicos volátiles (COVs) y las sustancias tóxicas del aire. Diseños de reactores biológicos han evolucionado desde simples camas abiertas a unidades técnicamente controladas [*Devinny y col. 1999*].

---

## 2.2. Mecanismos de la biofiltración

La degradación de los contaminantes por los microorganismos no puede realizarse directamente de la fase gas sino requiere de un paso previo de transferencia a un medio líquido en donde se encuentran los microorganismos formando la biopelícula. Este transporte se lleva a cabo debido a un gradiente de concentración entre las dos fases. Para que la biofiltración sea competitiva con los otros métodos de tratamiento este fenómeno de transferencia aire-líquido debe ser rápido, ya que típicamente los tiempos de residencia en los biofiltros son cortos [Revah-Moiseev y López 2004]

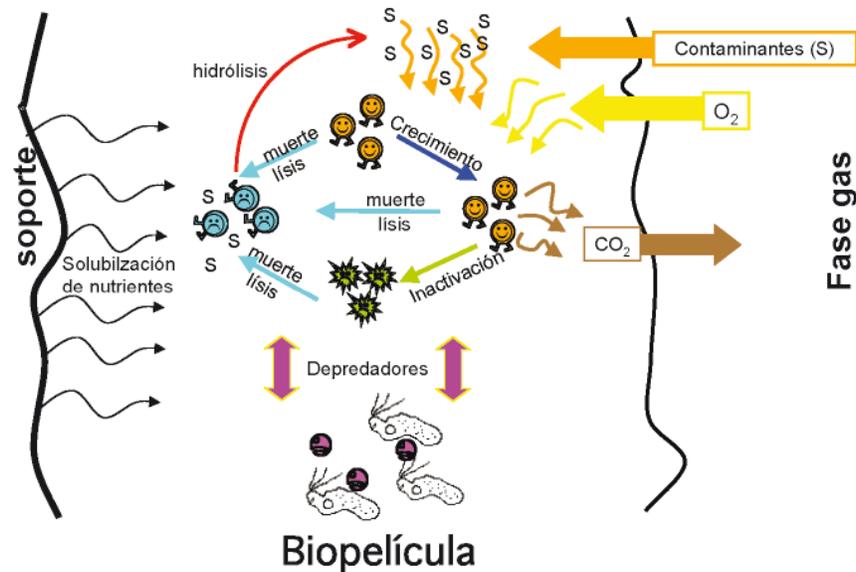
El transporte de los contaminantes al interior de la biopelícula se lleva a cabo por difusión. En la interfase gas-líquido, los contaminantes y el oxígeno se encuentran en equilibrio. Para concentraciones bajas de sustrato (contaminante) los microorganismos activos en la parte exterior de la biopelícula consumen rápidamente el contaminante impidiendo que los microorganismos que se encuentran en el interior entren en contacto con el sustrato. Por otro lado, a altas concentraciones de un contaminante fácilmente degradable, se favorece el crecimiento excesivo de la biopelícula, el oxígeno presente será consumido en esta porción de la biopelícula permitiendo la formación de zonas anaerobias en la parte interior. En los filtros de escurrimiento a recirculación de la fase líquida provoca el desprendimiento de la biopelícula. Otros fenómenos, tales como la retro-difusión del CO<sub>2</sub> producido y la formación de algunos subproductos también suceden dentro de la biopelícula [Revah-Moiseev y López 2004]. El fenómeno general para la biofiltración se muestra en la figura 2.2-1.



**Figura 2.2-1 Fenómeno presente en la operación de los biofiltros [Devanny y col. 1999]**

Los microorganismos utilizan el contaminante como fuente de carbón y energía (compuestos orgánicos) o sólo como fuente de energía (ciertos compuestos nitrogenados y azufrados). Además los microorganismos requieren de nutrientes inorgánicos que son tomados del soporte o adicionados, en el caso de soportes inertes. La utilización del contaminante implica producción de más biomasa y la oxidación parcial o total del contaminante. A su vez la biomasa, bajo ciertas condiciones, sufre una oxidación por respiración endógena reduciéndose la acumulación.

Además de la biomasa activa, en la biopelícula pueden existir microorganismos inactivos, es decir, microorganismos que no son capaces de oxidar el contaminante o bien microorganismos depredadores. Una representación del ciclo de la población microbiana se muestra en la figura 2.2-2. Mediante la muerte y lisis de la población algunos nutrientes son reciclados. En los procesos biológicos de control de contaminación de aire no es posible considerar la esterilización del gas por motivos económicos. Por lo tanto, las poblaciones dentro de los equipos deben ser capaces de oxidar los contaminantes en condiciones altamente competitivas de no esterilidad.



**Figura 2.2-2 Aspectos biológicos de la Biofiltración [Revah-Moiseev y López 2004]**

### 2.3. Factores importantes en un sistema de biofiltración

Las variables que determinan el funcionamiento de un biofiltro tendrán incidencia directa en la capacidad de eliminación del contaminante. En general los factores que afectan a la eficacia de eliminación de los contaminantes serán: la selección adecuada del medio filtrante, la temperatura, la humedad del lecho, selección de los microorganismos adecuados, el pH o acidez y la presencia de compuestos tóxicos o inhibitorios que pudieran ingresar en la corriente contaminada. Estos factores se describen a continuación:

#### 2.3.1. Efecto del material del empaque

Para que un biofiltro llegue a operar en forma eficiente el medio debe proporcionar un ambiente adecuado que favorezca el crecimiento microbiano y además mantener una alta porosidad que permita que el aire fluya en forma fácil. Las propiedades críticas en la elección del material filtrante serán:

- a) Porosidad homogénea del lecho, entre el 40 y el 80%
- b) Retención de agua, entre el 40 y un 80 % de masa.

- c) pH neutro
- d) Alta superficie específica
- e) Alta resistencia a la compactación
- f) Presencia de nutrientes inorgánicos como N, P, K y S y alta concentración de microorganismos.
- g) Alto contenido de materia orgánica, entre el 35 y 55 %.

Los medios utilizados para biofiltración varían de forma importante. Los materiales utilizados son sólidos porosos orgánicos, sólidos inorgánicos naturales o materiales sintéticos [Deviny y Ramesh 2005].

Los medios de tipo orgánico más utilizados, son la turba, composta, estiércol, madera, lodos digeridos de plantas de tratamiento, aserrín, etc. Dentro de los medios inorgánicos se incluyen al carbón activo y la perlita [Kennes y Thalasso 1998]. Estos medios han sido eficazmente utilizados en biofiltración, junto a los medios de tipo sintético como anillos de polipropileno y las espumas de poliuretano. Un resumen de las propiedades importantes de estos medios se muestra en la Tabla 2.3.1-1.

**Tabla 2.3.1-1 Características de medios filtrantes para biofiltración [Ulloa 2005]**

Densidad poblacional de microorganismos	Alta	Media-baja	Alta	Ninguna	Ninguna
Parámetro	Composta	Turba	Suelo	Carbón activo, perlita	Material sintético
Área superficial	Media	Alta	Baja – Media	Alta	Alta
Permeabilidad al aire	Media	Alta	Baja	Media-alta	Muy alta
Contenido de nutrientes asimilables	Alta	Media-alta	Alta	Ninguna	Ninguna
Absorción de contaminantes	Media	Media	Media	Alta	Alta
Tiempo de vida útil	2-4 años	2-4 años	>30 años	>5 años	>15 años
Costo	Bajo	Bajo	Muy bajo	Medio-alto	Muy alto

### 2.3.2. Efecto de la temperatura

La temperatura es una de las variables más importantes en la determinación de las tasas de crecimiento de los microorganismos y los tipos de especies presentes en una comunidad microbiana [Wani y col. 1997]. Para la operación con éxito, la temperatura del sistema debe permanecer relativamente constante. La temperatura del biofiltro está influido principalmente por la temperatura de la corriente de aire de entrada [Corsi y Seed 1995]. A medida que aumenta la temperatura, hay un aumento metabólico así como de las tasas de crecimiento de las células, disminuyendo la absorción [McNervin y Barford 2000]. Sin embargo, por encima de una cierta temperatura crítica, se producen la inactivación de determinadas proteínas clave y un cese repentino de crecimiento [Madigan y col. 1997]. La temperatura óptima para la variedad de especies muy diversas se lleva a cabo a temperaturas en el rango de las mesofílicas (20-45 ° C) con 35-37°C señaladas con frecuencia como la temperatura óptima [Swanson y Loehr 1997].

Más recientemente, algunos estudios de operaciones termófilas (45-75 ° C) también han sido publicados [Liere y Groenestijn 2003]. En el otro extremo del espectro, se investigaron los efectos del frío (temperaturas -18 ° C y +8 ° C) en la biofiltración de compuestos fenólicos en la producción de lana mineral. La eliminación era viable siempre que la temperatura de la gas de entrada era lo suficientemente alta (27-34 ° C) [Lehtomäki y col. 1992].

El efecto de la temperatura en las eficiencias de remoción del xileno mostró que a 10°C la eficiencia fue del 89% cuando se tiene un flujo de 90 g/m<sup>3</sup>h y al incrementar el flujo a 530 g/m<sup>3</sup>h la eficiencia decrece a 43%. A una temperatura de 30°C el porcentaje de remoción se mantiene por arriba de los 90% obteniendo un resultado similar a una temperatura de 20°C lo que mostró gran diferencia cuando se utiliza una temperatura de 10°C ya que a esta temperatura la eficiencia se ve considerablemente reducida.[Jeong y col. 2009].

### 2.3.3. Efecto del pH

La mayoría de los microorganismos prefieren un rango de pH específico, por lo tanto, un cambio en el pH podría afectar en gran medida su actividad. La acidificación de la biopelícula del filtro podría ser un problema para el tratamiento de productos químicos, cuyo resultado de la biodegradación de los productos finales se tienen ácidos como el H<sub>2</sub>S, y diferentes compuestos clorados [Devinny y col. 1999].

Malachowky y col en 1994 mencionan que una concentración de 1 mg/L de CV es degradado en un 70% a un pH de 5 a 10, mientras que se obtiene una óptima degradación con un pH de 6 a 7, pero a un pH de 3 a 4 solo es posible degradar menos del 40% de la concentración, demostrando que las condiciones de pH extremos limita la degradación de CV.

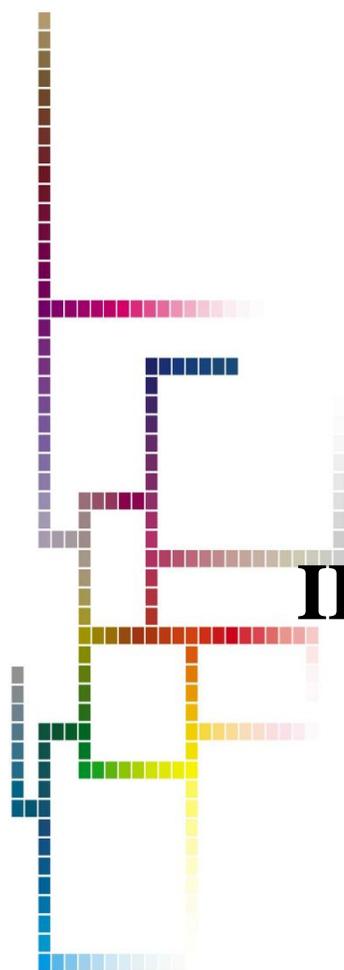
### 2.3.4. Efecto de la humedad

El rango de humedad óptimo para el funcionamiento del biofiltro está entre el 40 – 60 %. La dificultad para mantener este nivel deseado es un parámetro crítico de operación de los biofiltros [Warren y Oler 1997].

- Ante un exceso en la humedad, por sobre el 60 %, se generarán bajos tiempos de retención del gas debido a que los poros estarán llenos de agua y existirán problemas con la transferencia de oxígeno debido a la reducción de la interfase aire/agua por unidad de volumen de la biopelícula. Por otro lado, la excesiva humedad creará zonas anaeróbicas que promoverán la formación de olores y bajas velocidades de degradación. Los nutrientes serán lavados del medio filtrante y se generará un lixiviado que requiere de disposición con otro tratamiento.
- Un déficit en la humedad (inferior al 30%) ocasionará la desactivación de los microorganismos, la sequedad originará una contracción seguido de grietas en el medio que reducirán los tiempos de retención. Con respecto a la actividad

---

microbiológica, esta se verá afectada por el contenido de humedad, teniendo en cuenta que el agua sirve como medio dentro de las células, disolviendo los químicos que constituyen la vida de los microorganismos, por ello cada célula deberá controlar su contenido de agua. Al disminuir la humedad del lecho, los microorganismos consumen parte de la energía destinada a su crecimiento en succionar agua de la superficie del lecho, lo que limita su metabolismo y por lo tanto la eliminación del contaminante [*Deshusses 1999*].



## II. OBJETIVOS

## II. OBJETIVOS

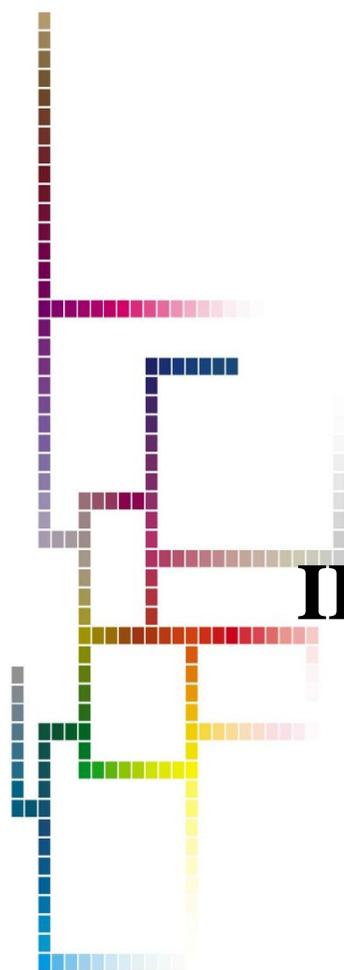
### 1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de la presente investigación fue el desarrollo de un consorcio microbiano mixto capaz de degradar compuestos organoclorados como son: cloruro de vinilo (CV), tricloroetileno (TCE), *cis*-dicloroetileno (*cis*-DCE), *trans*-dicloroetileno (*trans*-DCE) y eteno en sistemas tipo lote.

### 2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Los objetivos particulares de este trabajo fueron los siguientes:

- Evaluar el efecto de adaptación de un consorcio microbiano a diclorometano sobre su capacidad de degradación de CV a diferentes concentraciones.
- Determinar el efecto de adaptar un consorcio microbiano al contaminante blanco (cloruro de vinilo y eteno)
- Establecer la degradación de cloruro de vinilo y eteno en un sistema de biofiltración con biopelícula previamente adaptada.



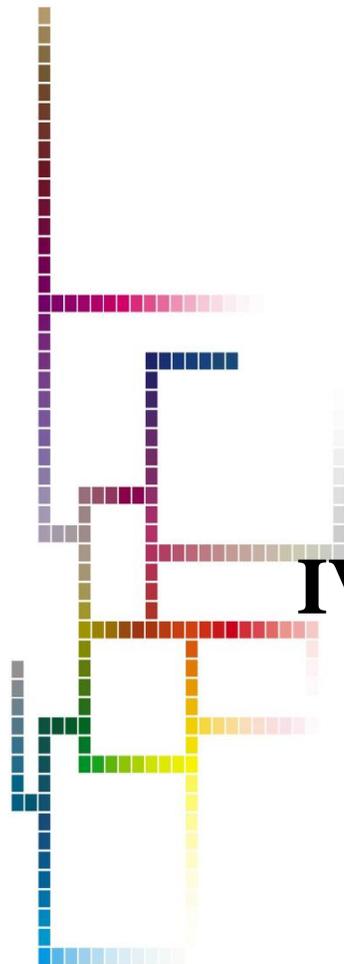
## III. HIPÓTESIS

### III. HIPÓTESIS

Si un consorcio microbiano mixto es capaz de desarrollarse con di-clorometano como sustrato, entonces, será capaz de mineralizar el cloruro de vinilo e intermediarios precursores como el *cis,trans*-DCE y TCE.

Al adaptar un consorcio microbiano en presencia de CV y eteno, es posible reducir tiempos de remoción de estos contaminantes, aumentando los porcentajes y velocidades de consumo.

En un sistema de biofiltración, sin limitación de nutrientes, ni de biomasa activa, es posible reducir tiempos de remoción de CV de días a horas.



## IV. JUSTIFICACIÓN

---

## IV. JUSTIFICACIÓN

La contaminación atmosférica ha sido indudablemente uno de los mayores problemas que se han tenido que enfrentar. Los contaminantes emitidos continuamente por la actividad humana tienen efectos locales, regionales o globales. A nivel local, en las grandes ciudades y las zonas industriales, cabe destacar como principales contaminantes las partículas suspendidas totales (PST), los compuestos orgánicos volátiles (COV) y el ozono (O<sub>3</sub>) que afectan directamente la salud humana.

Para combatir la contaminación atmosférica se han desarrollado tecnologías físicas, químicas y biológicas de tratamiento de efluentes gaseosos, de las cuales cabe destacar la depuración biológica de gas, en donde se aprovecha la capacidad que tienen los microorganismos para degradar los contaminantes y transformarlos en productos no o menos contaminantes, principalmente agua y CO<sub>2</sub>.

Se han realizado una gran cantidad de estudios dirigidos a establecer y mejorar la degradación de los compuestos orgánicos volátiles por medio de tecnologías biológicas. Uno de los compuestos orgánicos volátiles que ha recibido mayor atención es el CV debido a la evidencia de ser cancerígeno en estudios realizados en animales, incluidos los informes de casos de humanos en la década de 70's por la exposición a este gas en la producción del PVC. Además de que el CV se puede obtener de manera microbiana, por medio de la deshalogenación reductiva de los cloroetenos altamente clorados como el percloroetileno (PCE), tricloroetileno (TCE) y los isómeros *cis*, *trans*-dicloroetileno, siendo el CV un contaminante aún mas tóxico que los contaminantes precursores.

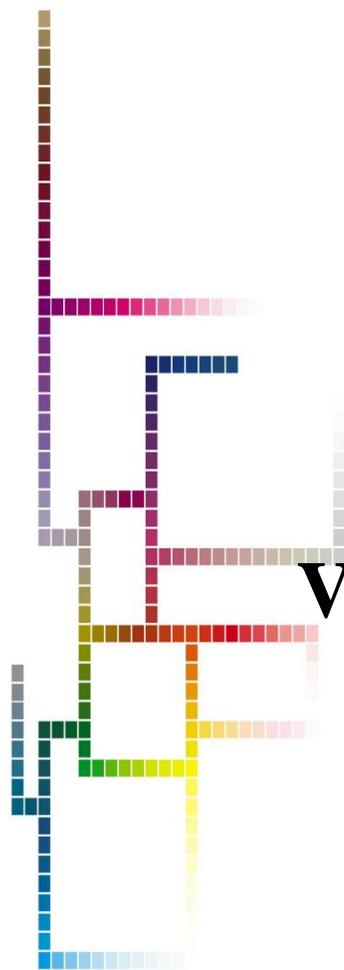
Diversos estudios se han enfocado en la degradación del CV y algunos intermediarios bajo sistemas en lote (microcosmos), así como sistemas de biofiltración en donde la degradación de cada contaminante dependerá de varios aspectos, entre ellos la capacidad máxima que tenga el microorganismo o la población microbiana para degradar este tipo de contaminantes, así como de los factores limitantes que existan en el sistema como por

---

ejemplo, concentración de sustrato, contenido de agua (humedad), presencia de nutrientes, etc.

Diversas bacterias han sido aisladas para el uso de CV como única fuente de carbono y energía bajo condiciones aerobias, incluyendo varias cepas de *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Ralstonia*, entre otras, además se han estudiado la capacidad y ventajas que tiene el uso de consorcios mixtos en la degradación de compuestos clorados, ya que el conocimiento de la capacidad que tienen los microorganismos en la degradación de estos contaminantes han dado resultados que rebasan los obtenidos con poblaciones mixtas naturales.

Por lo anterior la presente investigación se realizó con el fin de degradar el CV, así como otros intermediarios, por medio de un consorcio microbiano desarrollado en tezontle como soporte bajo condiciones aerobias. Se evaluó la capacidad que tiene el consorcio microbiano en utilizar al CV como única fuente de carbono y energía bajo sistemas de microcosmos y sistemas de biofiltración de 250 mL y 1.9 L.



# V. MATERIALES Y MÉTODOS

---

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Estrategia experimental

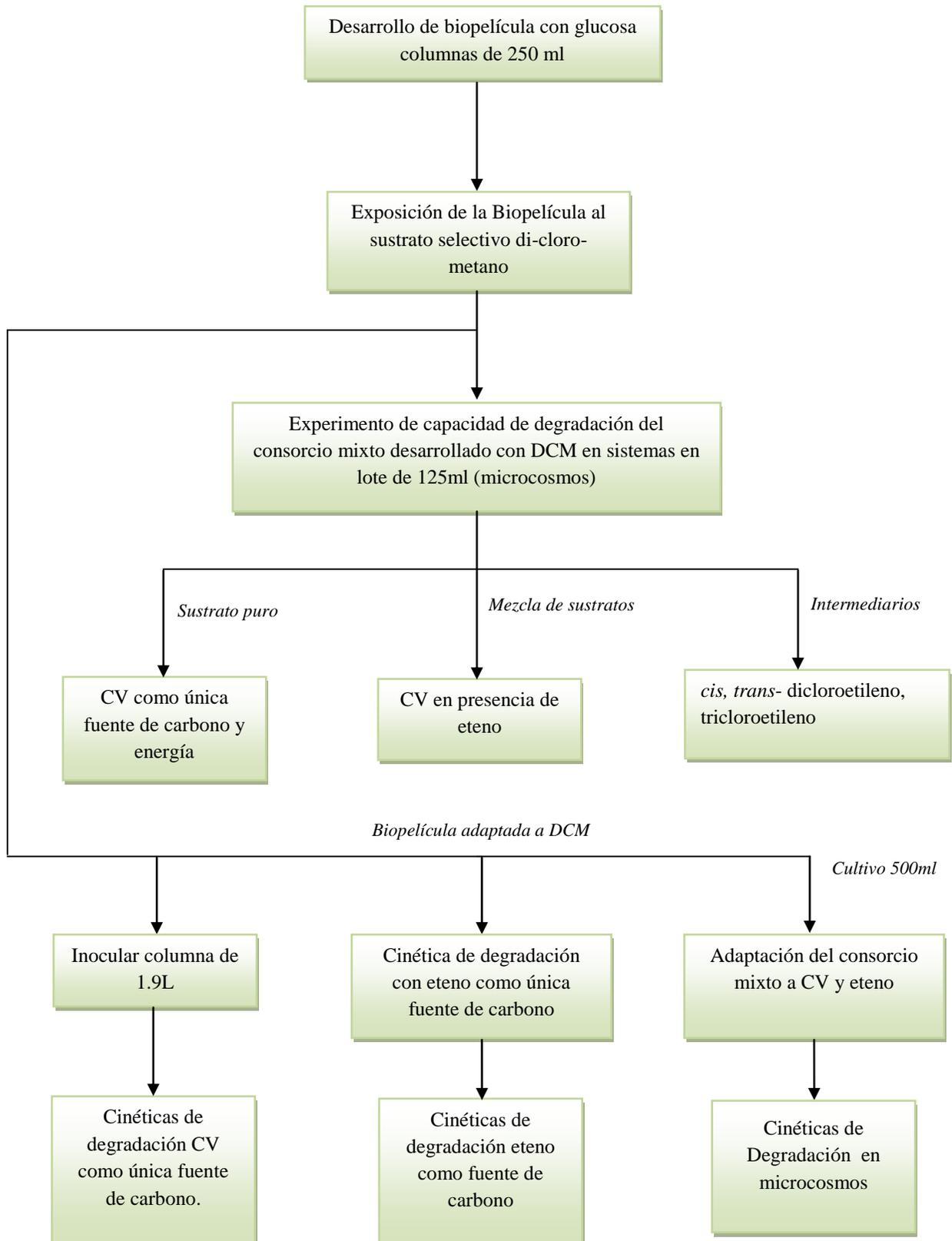
A continuación se describe el desarrollo experimental realizado para la obtención de un consorcio microbiano mixto capaz de degradar compuestos organoclorados como son el CV, *cis*, *trans*-DCE y/o TCE a partir de un sustrato selectivo de características similares (diclorometano).

El monitoreo de la actividad de degradación se realizó por medio de estudios en microcosmos y/o un sistema de biofiltración operado en lote, en la figura 1-1 se muestra la estrategia experimental desarrollada durante el estudio de la degradación de compuestos altamente clorados por medio de un consorcio microbiano.

La técnica de enriquecimiento en medios líquidos o en medios sólidos con vapores de diferentes sustancias, permitió la adaptación y la obtención de cultivos capaces de crecer en los sustratos de interés (CV y/o eteno). Los cultivos se fueron adaptando a partir de microorganismos que estuvieron en contacto con un solvente selectivo con características similares al contaminante objetivo con tales sustancias y que fue desarrollado en una matriz sólida de un biofiltro (tezontle).

Una vez que se evidenció el desarrollo de un consorcio microbiano mixto en la matriz sólida de crecimiento se evaluó la de dichos consorcios para degradar diferentes compuestos clorados mediante el monitoreo del consumo de los sustratos y de la producción o consumo de CO<sub>2</sub> u O<sub>2</sub>, respectivamente.

Los experimentos en microcosmos permitieron realizar estudios cinéticos de degradación de CV y otros sustratos, así como de algunos intermediarios de la ruta metabólica de degradación en compuestos altamente clorados (*cis*, *trans*-DCE), así como de uno de los precursores del CV (TCE).



**Figura 1-1 Estrategia experimental**

---

## 2. Reactivos

Todos los químicos que se utilizaron fueron grado reactivo:  $(\text{NH}_4)_5\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$ . Peptona de Caseína GE Dibco, Cloruro de Metileno Q.P. Reazol. SCOTTY 14L de CV 1010 ppmv Supelco.

## 3. Establecimiento de la biopelícula

### 3.1. Columnas de 250 mL

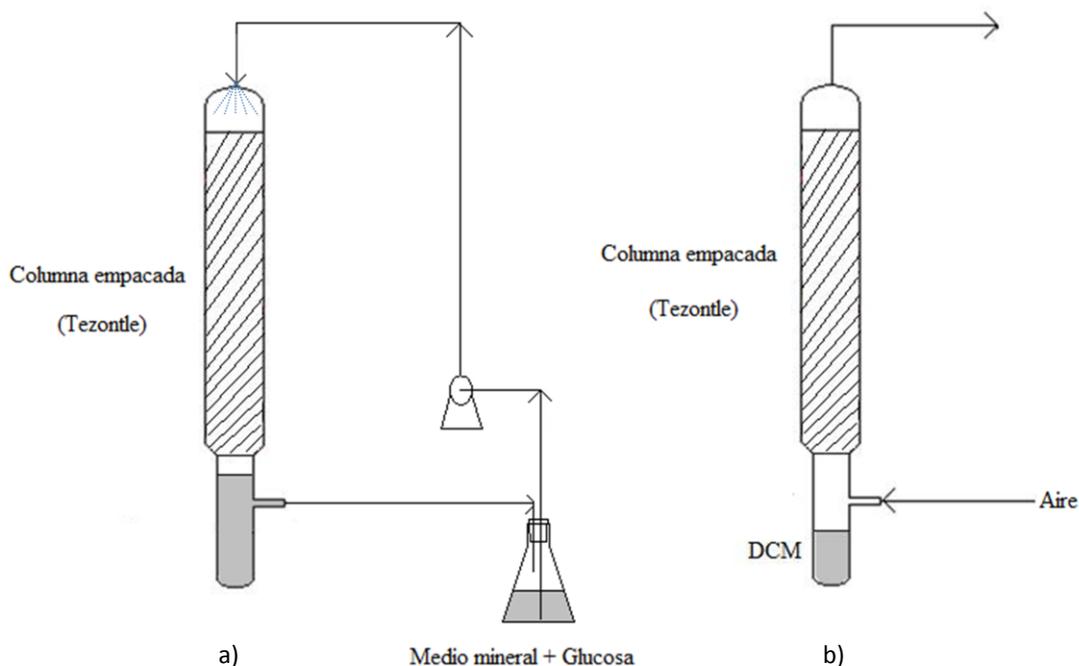
Se empacaron dos columnas de vidrio de 14 cm de altura, 2.5 cm de diámetro y un volumen total de 250 mL, figura 3.1-1. Las columnas fueron incubadas en una cámara a 30°C. Cada reactor contenía aproximadamente 180 g de tezontle con diámetro promedio de 1 cm como material de empaque o soporte, el empaque no se esterilizó ya que en los procesos biológicos para el control de aire contaminado no es posible considerar la esterilización del gas por motivos económicos. Por lo tanto, las poblaciones dentro de los equipos deben ser capaces de oxidar los contaminantes en condiciones altamente competitivas de no esterilidad.

El enriquecimiento inicial de las poblaciones microbianas en el tezontle se llevó a cabo usando un medio mineral que contenía glucosa como única fuente de carbono a una concentración de 1 g/L [Meza y col. 2003] (Tabla 3.1-1), dicho medio se alimentó con ayuda de una bomba peristáltica y por medio de aspersores fue posible alimentarlo de manera uniforme.

**Tabla 3.1-1 Medio mineral, enriquecimiento inicial**

COMPUESTO	CANTIDAD
$(\text{NH}_4)_5\text{SO}_4$	3 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.6 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	2.4 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.5 g
$\text{CaSO}_4$	0.15
$\text{FeSO}_4$	0.03 g
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	1g
Agua destilada	1 L

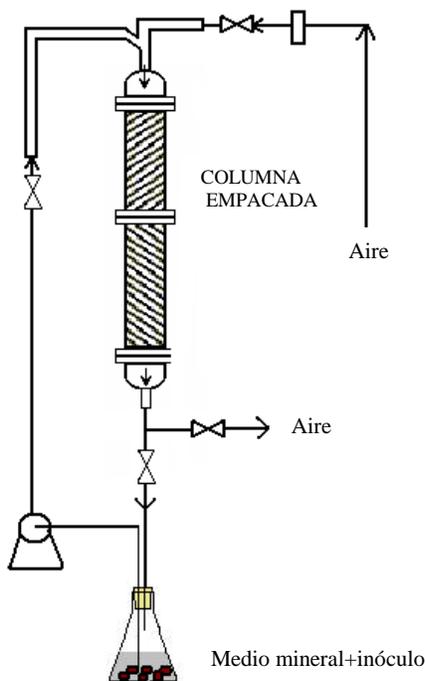
A partir de la 4<sup>a</sup> semana de operación se alimentó el sustrato selectivo para los microorganismos capaces de degradar compuestos clorados, en este caso el Di-Cloro-Metano. El sustrato que fue alimentado una vez por semana durante dos días, haciéndolo volatilar puro por la parte del saturador de la columna, figura 3.1-1 b).



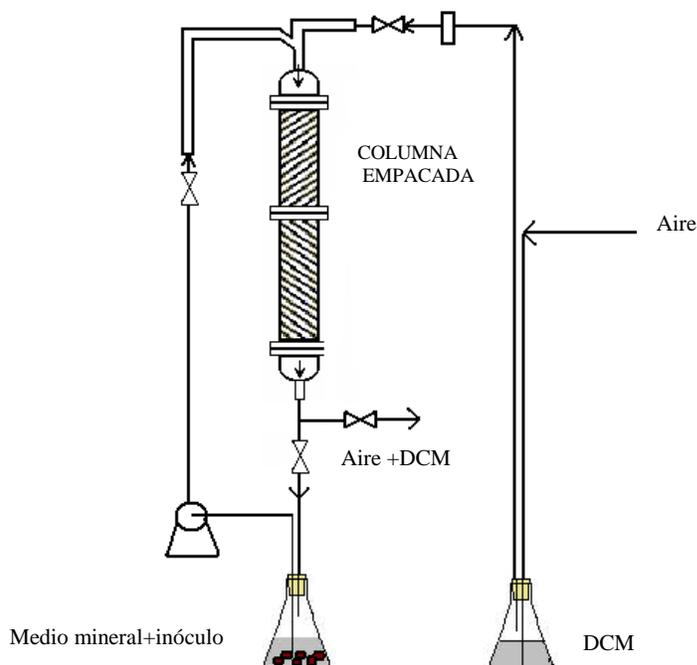
**Figura 3.1-1 Sistema de Biofiltración de 250 mL, a) alimentado con Glucosa, b) alimentado con DCM.**

### 3.2. Columna de 1.9 L

Al cabo de seis meses de operación y desarrollo de la biopelícula de las columnas de 250 mL se tomaron 10 g de tezontle como inóculo de una columna de biofiltración de 1.9 L. El inóculo fue colocado directamente en el medio mineral que se hizo recircular en la columna de biofiltración como se muestra en la figura 3.2-1. De igual manera durante las primeras semanas de operación se favoreció el desarrollo de la biopelícula con glucosa como sustrato. A partir de la 4<sup>a</sup> semana de operación se alimentó el di-clorometano como sustrato selectivo, adaptando de esta manera a los microorganismos a compuestos clorados (figura 3.2-2).



**Figura 3.2-1 Sistema de Biofiltración 1.9 L**



**Figura 3.2-2 Sistema de biofiltración, alimentación del DCM**

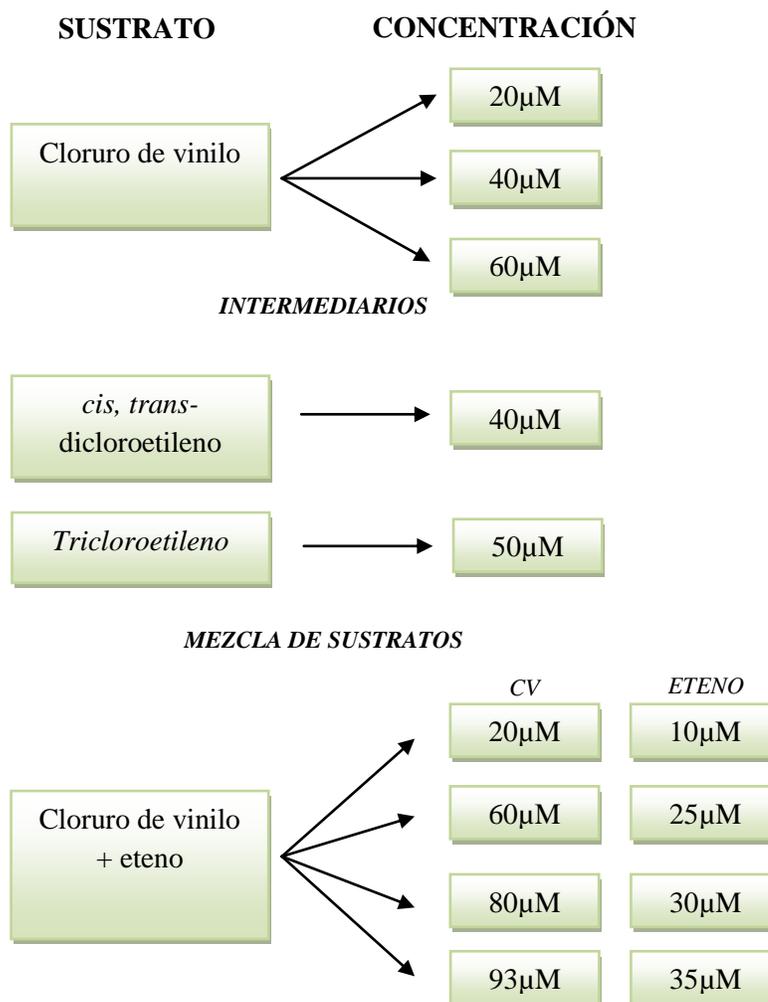
Se preparó una solución de DCM al 50% v/v y por medio de una corriente de aire se hizo volatilar dicha solución haciendo circular a lo largo de la columna sólo la fase gaseosa sin ninguna fase líquida (medio mineral). De esta manera el DCM fue alimentado una vez por semana durante dos días.

## 4. Experimentos cinéticos

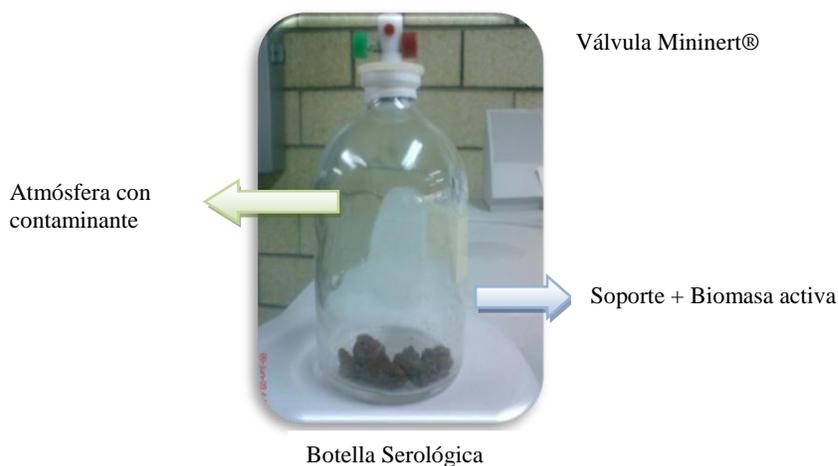
### 4.1. Microcosmos

Experimentos de degradación de CV y de algunos intermediarios presentes en la ruta de degradación de CV (cis, trans-DCE y TCE) se llevaron a cabo en sistemas cerrados, para lo cual se usaron botellas serológicas de 125 mL (microcosmos) selladas con válvulas Mininert<sup>®</sup>, bajo condiciones aerobias sin ninguna fase líquida, figura 4.1-2. Cada uno de los contaminantes se alimentó en fase gas con el objetivo de exponer a los microorganismos a cada sustrato. Cada botella contenía 4 g de soporte con biopelícula

adaptada a DCM a diferentes concentraciones de los sustratos como lo muestra la figura 4.1-1. Las botellas se incubaron en condiciones controladas de temperatura a 30°C sin agitación, realizando cada experimento por duplicado.



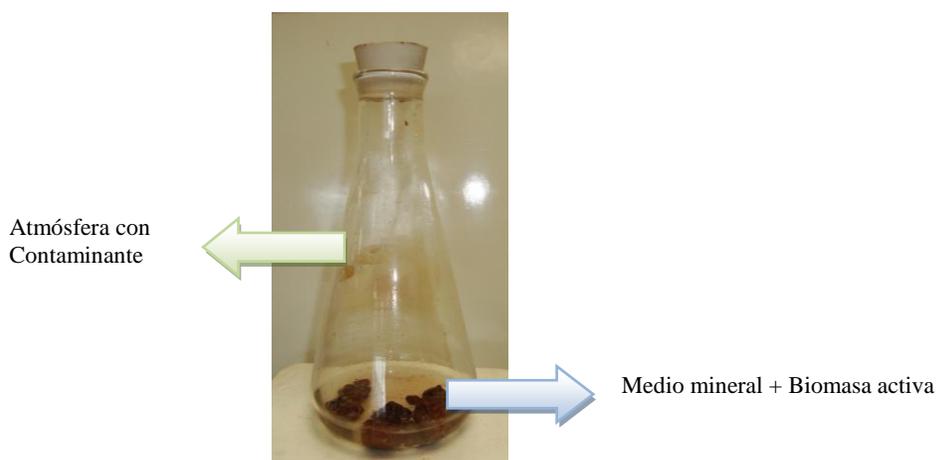
**Figura 4.1-1 Diagrama experimental para la degradación de diferentes sustratos y sus concentraciones.**



**Figura 4.1-2 Sistemas en Microcosmos**

## 4.2. Macrocosmos

Adicionalmente, se llevaron a cabo experimentos de degradación de CV y eteno adaptando el inóculo a estos contaminantes. Dichos experimentos se llevaron a cabo en Matracas Erlenmeyer de 500 mL, sellados y bajo condiciones aerobias cada uno de ellos contenía 10 g de Tezontle con biomasa previamente desarrollada con DCM, además de una fase líquida de 90 mL de medio mineral (Tabla 3.1-1) sin glucosa [Sing y col. 2004]. Como sustrato se utilizó CV y eteno inyectando un volumen inicial de 34 mL y 0.05 mL respectivamente. Los matracas se incubaron en condiciones controladas a 30°C sin agitación.



**Figura 4.2-1 Sistemas en Macrocosmos**

---

## 4.3. Pruebas en biofiltro

### 4.3.1. Columnas 250 mL

Columnas de vidrio de 14 cm de altura, 2.5 cm de diámetro y un volumen total de 250 mL, figura 4.3.1-1 empacadas con aproximadamente 180 g de tezontle fueron evaluadas como sistemas de biofiltración para la degradación de eteno incubando las columnas en una cámara de acrílico con temperatura controlada de 30°C.

Se realizaron cinéticas de degradación utilizando como única fuente de carbono y energía eteno, empleando dos diferentes flujos de eteno, 1.5 y 3.5 mL/min. El sistema consistió en utilizar un distribuidor de gas dentro del cual se hacía una dilución del gas alimentando y un flujo de aire de 1 L/min, el distribuidor de gas permitió la alimentación simultánea de dos columnas de biofiltración. Cada columna se alimentó con un flujo de 250 mL/min, flujo con el cual se obtuvo un tiempo de contacto (EBRT, Empty Bed Residence Time) de 1 min y las concentraciones obtenidas para cada flujo de eteno fueron de 40  $\mu\text{M}$  y 270  $\mu\text{M}$ , respectivamente.



**Figura 4.3.1-1 Sistema de Biofiltración 250 mL**

La muestra de aire a la entrada se tomó directamente del espacio vacío entre el saturador y la columna y la muestra de aire a la salida se obtuvo en una botella serológica adaptada a la salida de la columna.

#### **4.3.2. Columna 1.9 L**

El sistema de biofiltración empacado con tezontle (figura 4.3.2-1) se operó en una columna de vidrio de 5.5 cm de diámetro interno por 94 cm de largo y un volumen de empaque de 1.9 L.

Se realizaron cinéticas de degradación con CV como sustrato haciendo dos alimentaciones a concentraciones de  $340 \pm 3$  y  $600 \pm 4$   $\mu\text{M}$  utilizando la columna de biofiltración como un sistema de adiciones sucesivas sin flujo de aire en un periodo de tiempo promedio de 120 h.

Se instalaron puntos de muestreo a la entrada y salida del biofiltro, las muestras se tomaron directamente jeringa para gases Hamilton de 0.250 mL de capacidad.



**Figura 4.3.2-1 Sistema de Biofiltración 1.9 L.**

## **5. Determinaciones analíticas**

### **5.1. Técnicas cromatográficas**

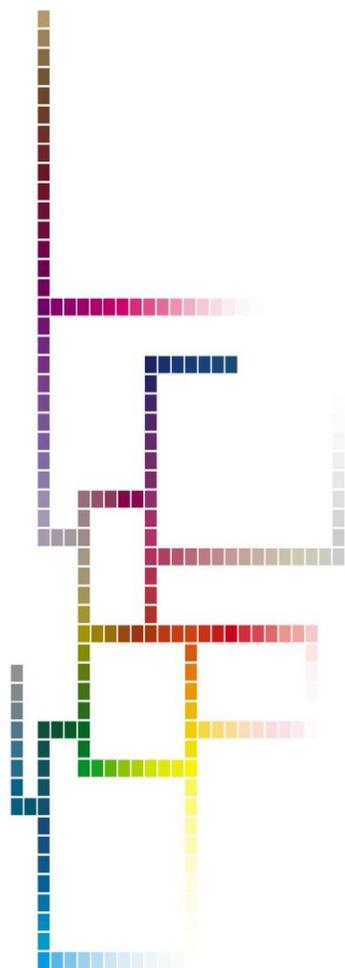
La cuantificación de CV, eteno, *cis*, *trans*-DCE y TCE fué llevada a cabo en un cromatógrafo de gases modelo Claurus 500 de Perkin Elmer equipado con un detector de ionización de flama (GC-FID) y una columna capilar SPB 624 Supelco de 60 m de longitud por 0.25 mm de diámetro. Para la detección de los compuestos estudiados, se inyectaron periódicamente (dependiendo de la velocidad de degradación) 250  $\mu$ L del espacio gaseoso de los microcosmos, con una jeringa para gases Hamilton de 0.250 mL de capacidad. Las condiciones de operación para el análisis fueron: inyector 150 °C y detector 200 °C. El horno fue operado con el siguiente programa de temperatura: 40 °C (2 min), y 5 °C/min hasta incrementar la temperatura a 100 °C (1min), 20 °C/min hasta llegar a 200 °C.

Cuantificación de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. La determinación de la respiración (consumo de oxígeno y producción de bióxido de carbono) se realizó inyectando 250 µL del espacio gaseoso del microcosmos a un cromatógrafo de gases GOW MAC (serie 580) con un detector de conductividad térmica (GC-TCD), con una columna concéntrica CTR-1, (Alltech, EUA) con helio como gas acarreador a un flujo de 60 mL/min. Las temperaturas de operación fueron: inyector 72 °C, detector 118 °C y columna 36 °C. La corriente fue de 100 mA.

Las lecturas proporcionadas por el cromatógrafo (área bajo la curva) se convirtieron en concentraciones (µM) en fase gas, mediante curvas estándar.

## **5.2.Cuenta Microbiana**

Un gramo de tezontle con la biopelícula adherida se disolvió en 9 mL de solución de peptona de caseína al 85%, haciendo diluciones hasta  $1 \times 10^7$ . El volumen de siembra en placa fue de 0.1 mL de las últimas diluciones en agar nutritivo. Las cajas fueron incubadas por 72 h a 37 °C. Después del periodo de incubación, las colonias fueron contadas y reportadas como UFC g<sup>-1</sup> de soporte.



## **VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Establecimiento de la biopelícula

Un material de empaque utilizado en sistemas de biofiltración es el tezontle [Cox y Deshusses 2002] ya que tiene la ventaja de proporcionar una gran superficie específica y estructura porosa que facilita la colonización por microorganismos [Khavanin y col. 2006], además de ser un producto mineral de bajo costo. La primera etapa del proyecto consistió en empaquetar columnas de 250 mL como se menciona en la sección 3.1. Con el medio enriquecido con glucosa se obtuvo una cuenta en placa de  $28 \times 10^6$  UFC/gramo de soporte.

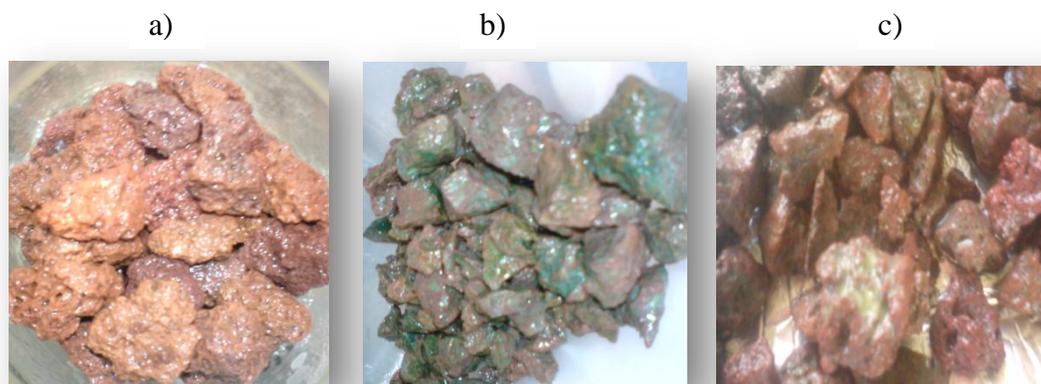
Posterior al desarrollo de microorganismos se establecieron dos diferentes formas de alimentación del DCM ya que los dos primeros meses de operación se observó crecimiento de algas en el soporte y en el medio mineral, figura 1-1.



**Figura 1-1 Formación de algas tras dos meses de operación del sistema de biofiltración de 250 mL.**

El crecimiento de algas no era deseable ya que no permitía el desarrollo de las bacterias capaces de degradar el contaminante objetivo CV. Al alimentar el DCM directamente al medio mineral, este se volatilizaba con gran facilidad lo que no permitía que llegara a las columnas de biofiltración, por lo cual se decidió alimentarlo al sistema volatilizándolo directamente del saturador. Adicionalmente se cubrió cada una de las columnas con papel aluminio evitando así las reacciones fotosintéticas que permiten el desarrollo de algas, de manera similar como lo reportan Oh y col en el 2004 para la producción de hidrógeno en donde utilizan un biofiltro percolador, cubren dicho biofiltro con papel aluminio para evitar la formación de algas obteniendo así resultados favorables en la inhibición del crecimiento de microorganismos indeseables.

Al volatilizar el DCM directamente en las columnas de biofiltración una vez por semana se observó la disminución en el desarrollo de algas como se puede observar en la figura 1-2



**Figura 1-2 Desarrollo de la Biopelícula a) una semana de su montaje, b) dos meses de operación c) actual**

Existen reportes sobre el uso de tezontle como soporte para un sistema de biofiltración, en un periodo de operación mayor a un año no se observó degradación del material de empaque, ya que se reporta que la vida útil de este material es larga por lo que ha sido exitosamente usado en sistemas industriales sin deterioro incluso después de 5 años de operación continua [Langolf y Kleinheinz 2006].

Durante un estudio realizado para la remoción de metanol se utilizó como soporte tezontle encontraron que dicho material no presenta adsorción significativa, lo cual indica que la eliminación del contaminante es por medio de la acción de los microorganismos [Prado y col. 2005]

## 2. Experimentos cinéticos

### 2.1. Microcosmos

Los microcosmos se han utilizado para simular condiciones naturales en estudios de la actividad microbiana. Se ha establecido que es una técnica para la medición de las capacidades de remoción de contaminantes en sistemas pequeños. Dada la heterogeneidad que normalmente se encuentran en estos procesos, es un técnica que puede ayudar a encontrar las estrategias para definir y mejorar los sistemas de biofiltración [Acuña y col. 1999]

La degradación del contaminante se llevó a cabo en sistemas de microcosmos evaluando su oxidación, esto es, la descomposición microbiana del contaminante, donde el compuesto actúa como sustrato principal para el crecimiento microbiano, así como donador de electrones, mientras que los electrones que se generan por la oxidación del compuesto son transferidos a un aceptor de electrones como el oxígeno.

Existen diferentes indicadores disponibles para mostrar que la biodegradación de los disolventes clorados se está produciendo:

1. Reducción de la concentración inicial
2. Presencia de productos finales (metabolitos)
3. Estudio respirométrico ( $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$ )

---

Los datos disponibles fueron evaluados en términos de estos indicadores en combinación para evaluar la eficacia de la biodegradación de cada sustrato.

Antes de probar el funcionamiento de las columnas empacadas se debía determinar que los microorganismos presentes en el consorcio microbiano adheridos al soporte y desarrollado con un solvente selectivo, di-clorometano, fueran capaces de degradar el contaminante de interés, CV, bajo condiciones aerobias.

En la primera etapa se utilizó CV como única fuente de carbono y energía para posteriormente realizar pruebas con algunos intermediarios que se presentan en la ruta de degradación para la producción de CV, adicionalmente se evaluaron los porcentajes de degradación cuando en la fase gaseosa se presenta una mezcla de contaminantes (eteno y CV).

### **2.1.1. CV como única fuente de carbono y energía**

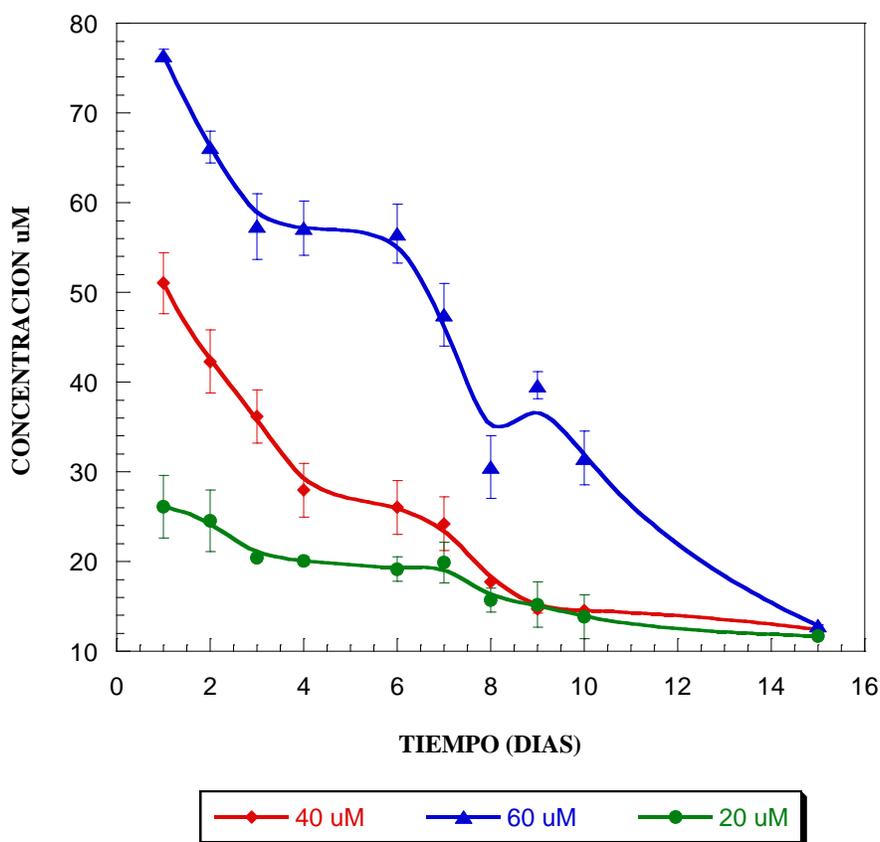
Una vez desarrollada la biopelícula después de 6 meses de operación utilizando DCM como única fuente de carbono y energía se evaluó si el consorcio microbiano era capaz de degradar un compuesto aún más tóxico y recalcitrante como el CV, para ello se usaron concentraciones crecientes de 20, 40 y 60  $\mu\text{M}$  sin ninguna fase líquida.

Se llevaron a cabo mediciones periódicas del consumo de CV, mediante lo cual se determinó la capacidad de degradación de CV del consorcio microbiano que fue adaptado a DCM en un periodo de 15 días.

El consorcio microbiano inició el consumo de CV casi inmediatamente posterior a la alimentación del contaminante, lo cual sugiere que efectivamente al desarrollar microorganismos con sustratos de características similares, en este caso el DCM, se

favorece la degradación de compuestos con estructuras aun más complejas que el sustrato principal.

Los resultados de la figura 2.1.1-1 muestra el comportamiento del consorcio en presencia del CV en un periodo de degradación de 15 días. La concentración al final de la cinética para las diferentes concentraciones evaluadas fue de  $10 \pm 2 \mu\text{M}$ . Se puede decir que la velocidad de degradación del contaminante se incrementó linealmente al aumentar concentración del mismo. Bradley y Chapelle en 1998 reportan el efecto contrario. En dicho trabajo durante 2 días de evaluación, a menor concentración hay un mayor porcentaje de remoción, a una concentración de CV de  $0.2 \mu\text{M}$  se obtuvo un porcentaje de mineralización del 70% mientras que a una concentración de  $57 \mu\text{M}$  un 10% de mineralización.



**Figura 2.1.1-1 Degradación de CV como única fuente de carbono y energía.**

Los porcentajes de remoción obtenidos en el trabajo anterior se reportan para concentraciones bajas, por lo cual dicho consorcio consume el contaminante rápidamente. El consorcio utilizado en el presente trabajo alcanza un porcentaje de remoción de 30% a una concentración de 51  $\mu\text{M}$  durante 2 días de evaluación, superior al reportado por Bradley y Chapelle en 1998.

En la figura 2.1.1-1 se puede observar que el consorcio microbiano no requiere un tiempo de adaptación al contaminante. La degradación se inició inmediatamente después de la adición del contaminante, mientras que otros autores reportan tiempos de adaptación entre 20 y 110 días [Coleman y col. 2002], debido a que el consorcio fue previamente adaptado a un contaminante selectivo con características similares al contaminante objetivo.

La Tabla 2.1.1-1 muestra los porcentajes de remoción y velocidades de consumo obtenidos para las diferentes concentraciones evaluadas, donde se puede observar un aumento en ambos parámetros al incrementar la concentración del contaminante.

**Tabla 2.1.1-1 Porcentajes de remoción y velocidades de consumo obtenidas con el consorcio microbiano evaluando el CV como única fuente de carbono y energía.**

CONCENTRACION $\mu\text{M}$	% REMOCIÓN	VELOCIDAD DE CONSUMO $\mu\text{M}/\text{día}$
20	55	0.96
40	76	2.57
60	83	4.23

Las concentraciones que se utilizaron son mayores a las concentraciones reportadas en un estudio realizado por Malachosky y col. 1993, donde se evaluó la degradación de CV a una concentración de 1 mg/L por medio de diferentes especies de *Rhodococcus* en un tiempo de 8 días, alcanzando porcentajes de remoción del 70 al 90%, después de 2 días de adaptación del consorcio.

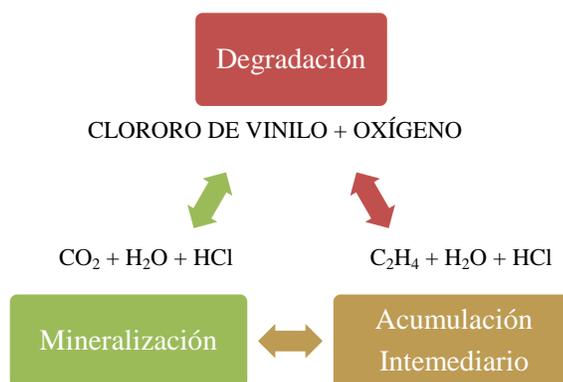
Davis y Carpenter en 1990 demostraron que es posible degradar el CV bajo condiciones aerobias en ausencia de una fase de adaptación. En ese trabajo un inóculo de material acuífero fue capaz de degradar una concentración de 1ppm en 108 días, mientras que durante la 1ª semana de incubación se degradó el 25% de la concentración de CV mineralizando el 65% del contaminante.

Diferentes microorganismos han sido reportados como capaces de utilizar el CV como única fuente de carbono y energía. *Mycobacterium aurum*, es capaz de degradar el CV produciendo como intermediario inicial epoxi-clorooxirano, producto catalizado por una alqueno monooxigenasa [Hartmans y Bont 1992].

El CV puede ser degradado por vía co-metabólica bajo condiciones anaerobias. En un trabajo reportado por He y col. en el 2002, encontraron que una concentración de 250  $\mu\text{mol}$  de CV fue degradada en 50 días con un tiempo de adaptación de 10 días y bajo la presencia de piruvato, el intermediario metabólico obtenido fue eteno. Además observaron que al tener  $\text{H}_2$  como aceptor de electrones el CV fue consumido sin presentar fase de adaptación, llevando a cabo la degradación mediante diferentes especies de *Dehalococcoides*.

### **2.1.2. Mezcla de Sustratos**

Considerando que bajo condiciones reales, las emisiones al aire contienen una mezcla de gases, la siguiente parte del proyecto consistió en evaluar el efecto de un segundo contaminante (eteno) sobre la degradación del contaminante objetivo (CV). Además de establecer el mecanismo de degradación, ya que durante el mismo se pueden presentar los procesos mostrados en la figura 2.1.2-1.



**Figura 2.1.2-1 Proceso de degradación del CV bajo condiciones aerobias.**

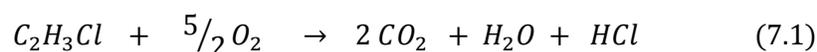
Para evaluar el efecto de distintas concentraciones de CV y eteno fueron utilizados 4 g de soporte con biomasa ( $16 \times 10^5$  UFC/gramo de soporte) previamente adaptada a DCM. En la Tabla 2.1.2-1, se resumen las diferentes concentraciones evaluadas.

**Tabla 2.1.2-1 Mezcla de sustratos, concentración de CV y eteno.**

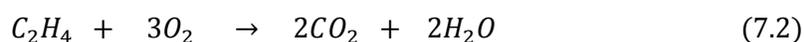
CV $\mu\text{M}$	ETENO $\mu\text{M}$
20	10
60	25
80	30
93	35

Las relaciones estequiométricas que pueden presentarse en los mecanismos de degradación de ambos contaminantes se muestran a continuación:

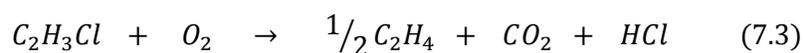
- Degradación del CV hasta su mineralización.



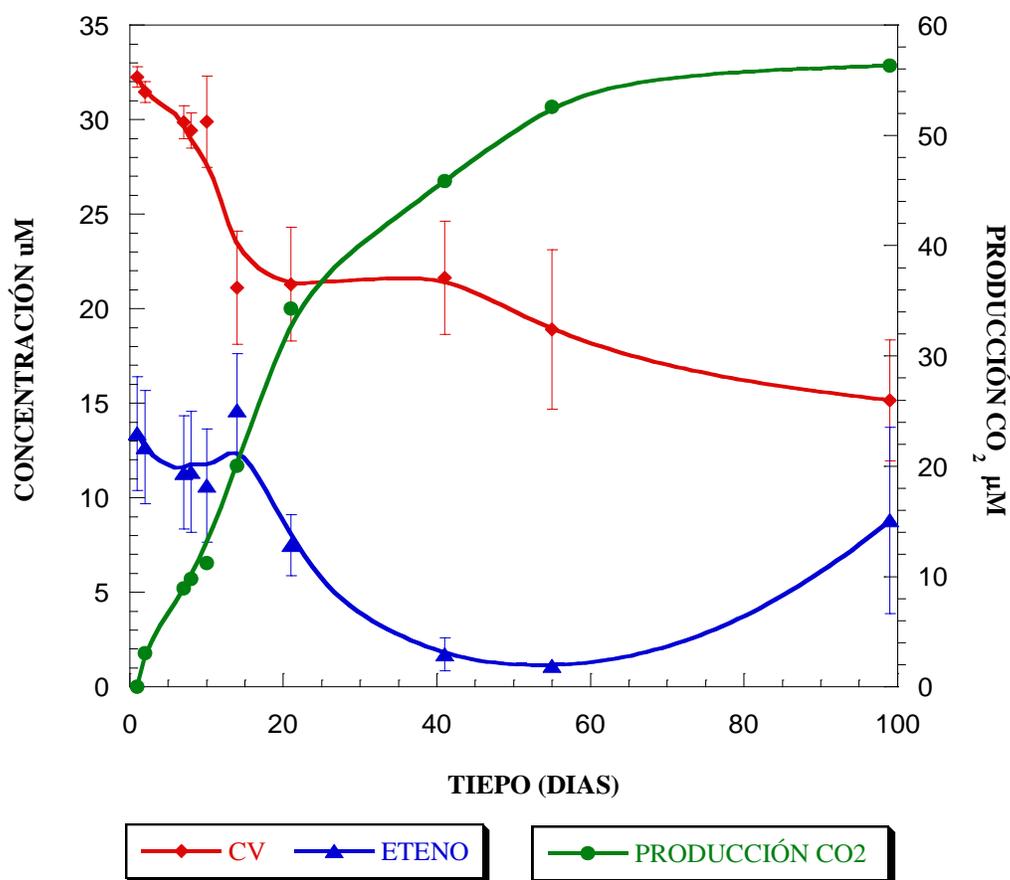
- Degradación del eteno hasta su mineralización.



- Degradación del CV a través de la acumulación de eteno como intermediario metabólico.



La degradación del CV a una concentración de 20  $\mu\text{M}$  en presencia de una concentración de 10  $\mu\text{M}$  de eteno se muestra en la figura 2.1.2-2. Durante la primera etapa de cultivo no se presentó una degradación significativa de alguno de los contaminantes. Posterior a un periodo de adaptación de 10 días el CV comienza a consumirse y simultáneamente se determinó un incremento momentáneo de eteno, lo cual nos indica que el proceso de degradación se llevó a cabo mediante la acumulación de un intermediario metabólico (ecuación 7.3), el cual se acumula entre los días 11 al 21 y posteriormente es consumido. Durante esta etapa de consumo de eteno, la concentración de CV permanece constante hasta el día 40, tiempo en el que la concentración de eteno disminuyó a 2  $\mu\text{M}$ . El consorcio comienza nuevamente a degradar el CV. El consumo de CV promueve la acumulación de eteno, de esta forma en el día 55 se determina nuevamente la acumulación del intermediario.



**Figura 2.1.2-2 Degradación de CV a una concentración de 20  $\mu\text{M}$  en mezcla con eteno a 10  $\mu\text{M}$ .**

La capacidad de degradación de un contaminante recalcitrante o de difícil degradación, tal como el CV, puede disminuir por la presencia de un segundo contaminante de más fácil degradación, lo cual se puede observar en la figura anterior.

En la Tabla 2.1.2-2, se observa que para el día 14 se degradaron 8  $\mu\text{M}$  de CV produciéndose 4  $\mu\text{M}$  de eteno, lo que indica que por 1 mol de CV degradado se produjo  $\frac{1}{2}$  mol de eteno. La degradación sigue la estequiometría presentada en la ecuación 7.3, por cada mol de CV consumido se produce medio de eteno. Los datos experimentales coincidieron con las cantidades teóricas obtenidas en las ecuaciones estequiométricas. Finalmente, para una concentración inicial de 20  $\mu\text{M}$  se obtuvo un porcentaje de remoción del 53% para el CV y de 34% para eteno.

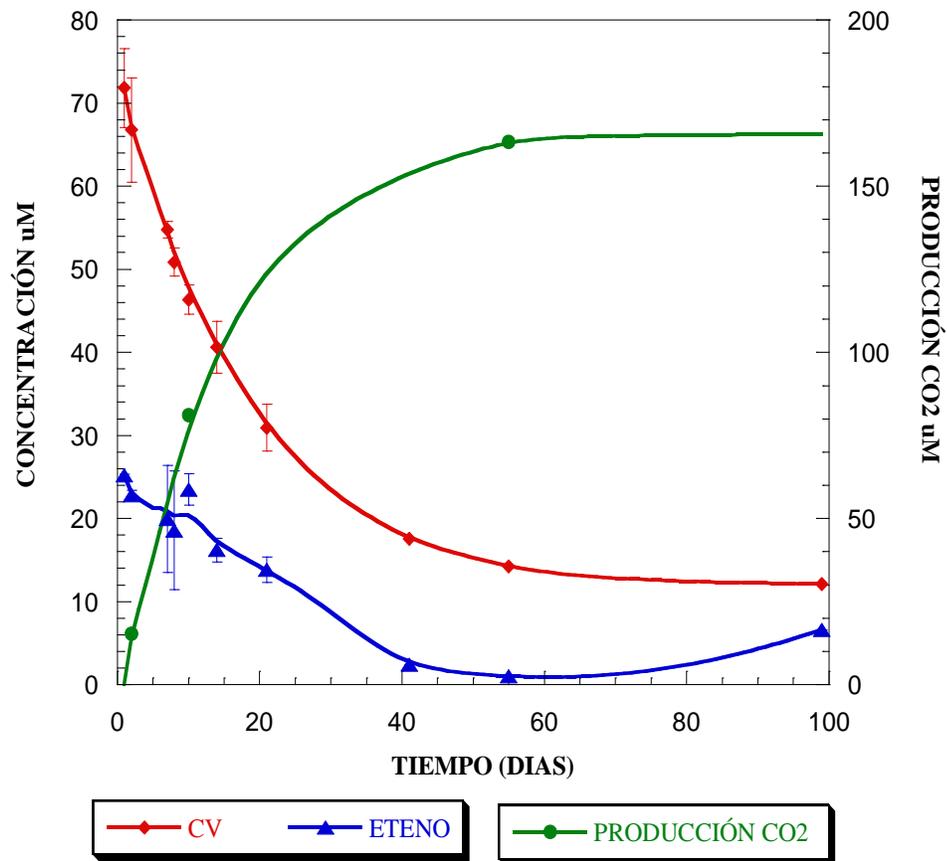
**Tabla 2.1.2-2 Degradación de contaminantes en mezcla y su estimación en la producción de  $\text{CO}_2$**

TIEMPO DIAS	CONCENTRACIÓN $\mu\text{M}$		CONSUMO $\mu\text{M}$		PRODUCCIÓN DE $\text{CO}_2$ $\mu\text{M}$		PRODUCCIÓN DE $\text{CO}_2$ TOTAL $\mu\text{M}$
	CV	ETENO	CV	ETENO	CV	ETENO	
1	32.25	13.40	----	----	----	----	0.00
2	31.45	12.68	1.60	0.72	1.60	1.44	3.04
7	29.86	11.33	3.18	1.35	3.18	2.70	8.92
8	29.42	11.37	0.88	0.04*	0.88	0.00	9.80
10	29.89	10.64	0.00	0.73	0.00	1.45	11.25
14	21.10	14.63	<b>8.79</b>	<b>3.99*</b>	8.79	0.00	20.04
21	21.30	7.50	0.00	7.14	0.00	14.27	34.31
41	21.64	1.73	0.00	5.77	0.00	11.54	45.85
55	18.90	1.11	5.49	0.62	5.49	1.24	52.58
99	15.16	8.80	3.74	7.70*	3.74	0.00	56.32

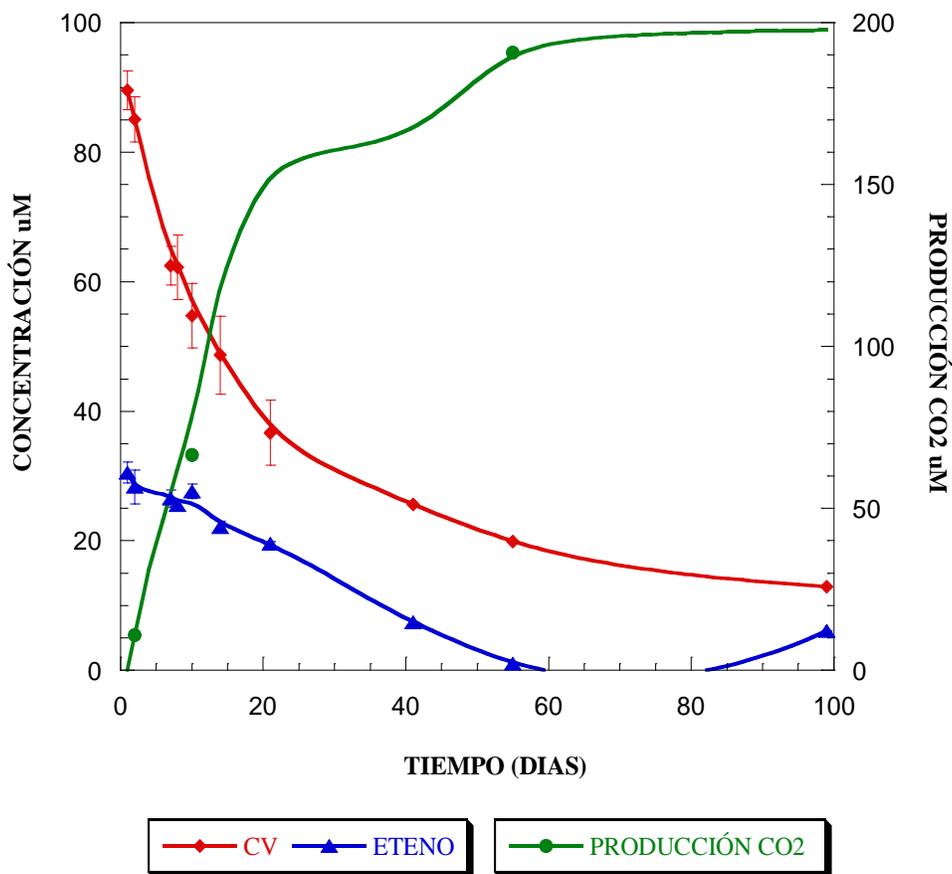
\*Producción

En la Tabla 2.1.2-2 se muestran también las producciones de  $\text{CO}_2$  calculadas en base a las concentraciones molares de ambos contaminantes utilizando las relaciones estequiométricas (ecuaciones 7.1 y 7.2). Las concentraciones de contaminantes utilizadas fueron muy bajas, por lo cual no se pudo corroborar experimentalmente la producción de  $\text{CO}_2$  y el consumo de  $\text{O}_2$ , por estar por debajo de los límites de detección.

De igual manera y con el objetivo de establecer la concentración para la cual se obtienen los mejores porcentajes de remoción de la mezcla de contaminantes, las siguientes concentraciones fueron evaluadas: 60 y 80  $\mu\text{M}$  de CV. Las cinéticas de degradación se muestran en las figuras 2.1.2-3 y 2.1.2-4.



**Figura 2.1.2-3 Degradación en mezcla de sustratos a 60  $\mu\text{M}$  de CV**



**Figura 2.1.2-4 Degradación de mezcla de sustratos a 80  $\mu\text{M}$  de CV**

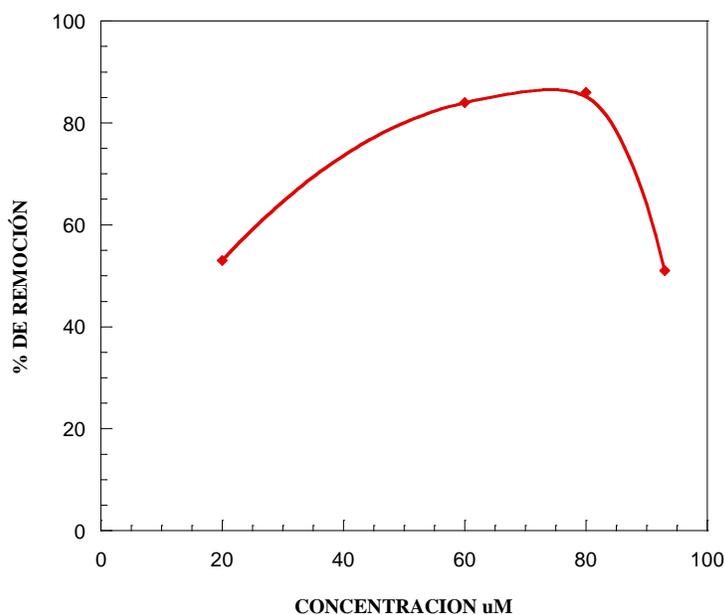
Las cinéticas de consumo de sustrato (CV) para ambas concentraciones muestran que el consorcio inició el consumo de los contaminantes inmediatamente después de su adición. Se midió un incremento momentáneo en la concentración del intermediario metabólico en el día 11 del cultivo. A partir de este momento, ambos contaminantes se consumieron simultáneamente. Para el día 55 nuevamente se acumuló el intermediario metabólico en respuesta a la degradación del contaminante objetivo (CV).

El consorcio fue capaz de degradar ambas concentraciones de CV. El día 41 de cultivo se alcanzó un porcentaje de remoción de 77% y 71% para las concentraciones de 60 y 80  $\mu\text{M}$  de CV respectivamente, alcanzando la transformación completa (90%) en un periodo de 99 días. El eteno es un sustrato de fácil degradación por lo que el consorcio lo consume a una concentración final de  $1 \pm 0.5 \mu\text{M}$  en un tiempo de 55 días, posteriormente se presenta un

incremento del mismo en respuesta del proceso de degradación del CV. Al final del proceso se obtuvieron porcentajes de remoción de  $96 \pm 0.5\%$  en ambas concentraciones.

Adicionalmente se evaluó la degradación de una mezcla de  $93 \mu\text{M}$  para el CV y  $35 \mu\text{M}$  de eteno obteniendo un porcentaje de remoción  $51\%$  y  $81\%$  respectivamente, en un periodo de 99 días.

Los porcentajes de remoción determinados para las diferentes concentraciones de CV en mezcla con eteno son el punto de partida para la operación de una columna de biofiltración, encontrando que las concentraciones de CV que presentaron mejores porcentajes de remoción fueron las de  $60$  y  $80 \mu\text{M}$  (figura 2.1.2-5). Los mayores porcentajes de remoción pudieron deberse al aumento en la biomasa determinada (Tabla 2.1.2-3), ya que bajo condiciones aerobias, el eteno y el CV pueden servir como fuentes de carbono y fuente de energía para el crecimiento bacteriano [Hartmans y Bont, 1992].



**Figura 2.1.2-5 Diferentes concentraciones evaluadas en mezcla y sus porcentajes de remoción para el contaminante objetivo (CV)**

**Tabla 2.1.2-3 UFC/g de soporte para las concentraciones de mayores porcentajes de remoción**

<b>Biomasa UFC/g de soporte</b>		
<b>Concentración</b>	<b>60µM</b>	<b>80µM</b>
<b>Inicial</b>	1.6x10 <sup>6</sup>	1.60x10 <sup>6</sup>
<b>Final</b>	6x10 <sup>7</sup>	5x10 <sup>7</sup>

La presencia de un contaminante de fácil degradación y otro de difícil degradación en una mezcla puede tener un efecto positivo o bien negativo de inhibición. En un estudio realizado por Zhao y col. 2009, se demostró que al tener una mezcla de diferentes cloroetenos la degradación del cis-DCE se ve afectada por la presencia de CV. Se observó que el tiempo de degradación de dicho contaminante aumenta al incrementar la concentración de un contaminante de fácil degradación como el CV. La diferencia entre el cis-DCE y el CV consiste en que este último tiene en su estructura un enlace C-Cl lo que lo hace un contaminante de más fácil degradación. Al aumentar la concentración del cis-DCE el consorcio consume ambos contaminantes de forma similar a la observada en el presente trabajo.

Por otro lado, dichos autores (Zhao y col. 2009) también encontraron que la degradación del cis-DCE se llevó a cabo en un menor tiempo en presencia de PCE. Al evaluar su degradación en presencia de un contaminante que tiene en su estructura un mayor número de enlaces C-Cl, la degradación se llevó a cabo en 20 días, mientras que al evaluarlo con un contaminante como el CV o t-DCE el tiempo de degradación se incremento entre 50 y 80 días.

El efecto descrito anteriormente fue observado durante los experimentos de la mezcla de CV-eteno. El eteno es, para el consorcio microbiano el contaminante de más fácil degradación, debido a que presenta enlaces C-H a diferencia del CV que presenta en su estructura un enlace C-Cl requiriendo mayor energía para romper dicho enlace.

### 2.1.3. Evaluación de Intermediarios

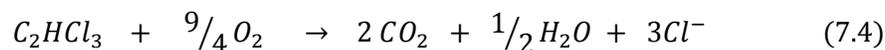
Como se mencionó anteriormente una de las formas de emisión del CV es por medio de la degradación de compuestos altamente clorados, Figura 1.2.1-1. Bajo condiciones anaerobias la degradación de estos compuestos produce intermediarios que son aun más tóxicos que el contaminante inicial y que deben ser degradados bajo condiciones aerobias. Por tal motivo la siguiente parte del proyecto consistió en evaluar si el consorcio era capaz de degradar contaminantes con mayor nivel de cloración que el CV como el TCE y *cis*, *trans*-DCE.

Las botellas serológicas fueron inyectadas con TCE y *cis*, *trans*-DCE de soluciones patrón preparados a una concentración de 1000  $\mu\text{M}$  en fase gas. Las cantidades de los sustratos fueron calculadas utilizando la constante de Henry [Gossett 1987] con 50 mL de fase acuosa y 75 mL fase gas. La constante de Henry (concentraciones en fase gas/concentración en fase acuosa) a 26°C para TCE, *cis*-DCE y *trans*-DCE fueron 0.4062, 0.1603 y 0.3942 respectivamente.

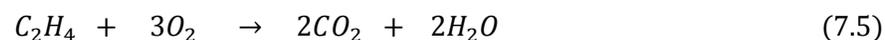
#### 2.1.3.1. Tricloroetileno

La cinética de degradación del TCE sin ningún otro sustrato se evaluó durante 55 días. Las relaciones estequiométricas que se presentan a continuación describen dicho proceso:

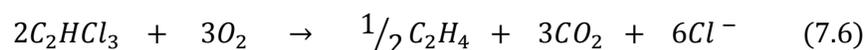
- Degradación del TCE hasta su mineralización



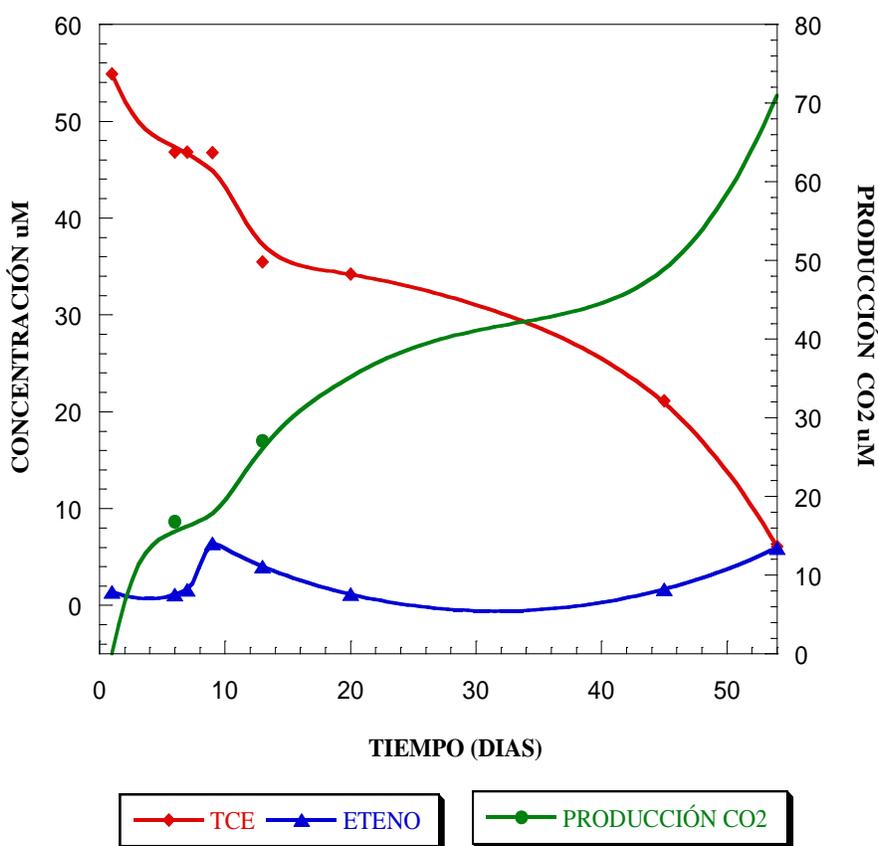
- Degradación del eteno hasta su mineralización



- Degradación del TCE a través de la acumulación del eteno como intermediario metabólico.



La cinética de consumo de TCE se muestra en la figura 2.1.3.1-1. El consorcio inicio la remoción del contaminante casi inmediatamente después de su adición, del día 9 al 11 de cultivo se observa la remoción de 11  $\mu\text{M}$  de TCE al mismo tiempo hay un aumento en la concentración de uno de los intermediarios finales de la ruta de degradación, eteno (ecuación 7.6). La acumulación de este sustrato provocó que los microorganismos comenzaran a consumirlo inhibiendo el consumo del contaminante objetivo (TCE). El día 20 la concentración de eteno disminuye en aproximadamente 1  $\mu\text{M}$ , etapa en la cual comienza nuevamente el consumo del TCE. Para el día 45 se degradan 15  $\mu\text{M}$  de TCE, produciéndose 4  $\mu\text{M}$  de eteno. Los datos experimentales corresponden a lo planteado en las relaciones estequiométricas que comprenden la producción de un intermediario (ecuación 7.6). Por cada mol consumido de TCE se producen  $\frac{1}{4}$  mol de eteno. Lo anterior indica que el proceso de degradación predominante implica la acumulación momentánea del intermediario metabólico.



**Figura 2.1.3.1-1 Degradación de TCE bajo condiciones aerobias**

Una concentración inicial de 55  $\mu\text{M}$  fue degradada con un porcentaje de remoción del 89% durante 55 días de cultivo. La estimación de la producción de  $\text{CO}_2$  debida a la degradación de ambos contaminantes fue de 70  $\mu\text{M}$ .

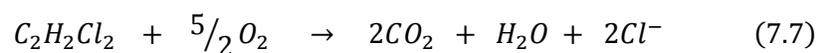
Cutright y Meza en el 2007, demostraron que al utilizar un consorcio mixto compuesto de *Mycobacterium sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* y *Nocardia paraffinae* previamente adaptado a TCE fue capaz de degradar una concentración de 228 mg/L en 24 horas bajo condiciones aerobias. Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que la degradación de TCE mediante el consorcio se llevó a cabo en un mayor tiempo. Esto pudo deberse a que el consorcio no fue adaptado a este contaminante, ya que como se menciona en el trabajo anterior al adaptar el consorcio al contaminante se disminuyen los tiempos de degradación.

En 1994, Malachowsky y col. encontraron que un inóculo de *Rhodococcus* no fue capaz de degradar una concentración mayor de 10 mg/L (equivalente a 70  $\mu\text{M}$ ) de TCE, mientras que un inóculo constituido por diferentes especies de *Rhodococcus* fue capaz de degradar concentraciones de 150 mg/L, de ahí la importancia de utilizar consorcios mixtos, razón por la cual en el presente trabajo se decidió utilizar un consorcio microbiano evidenciando así la capacidad de degradación para contaminantes altamente recalcitrantes.

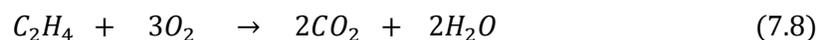
### 2.1.3.2. *Cis*-dicloroetileno

El segundo intermediario evaluado fue el *cis*-dicloroetileno. Las relaciones estequiométricas que pueden representar la cinética se muestran a continuación:

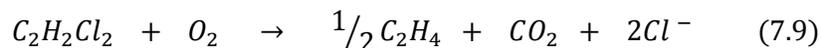
- Degradación del *cis*, *trans*-DCE hasta su mineralización.



- Degradación del eteno hasta su mineralización

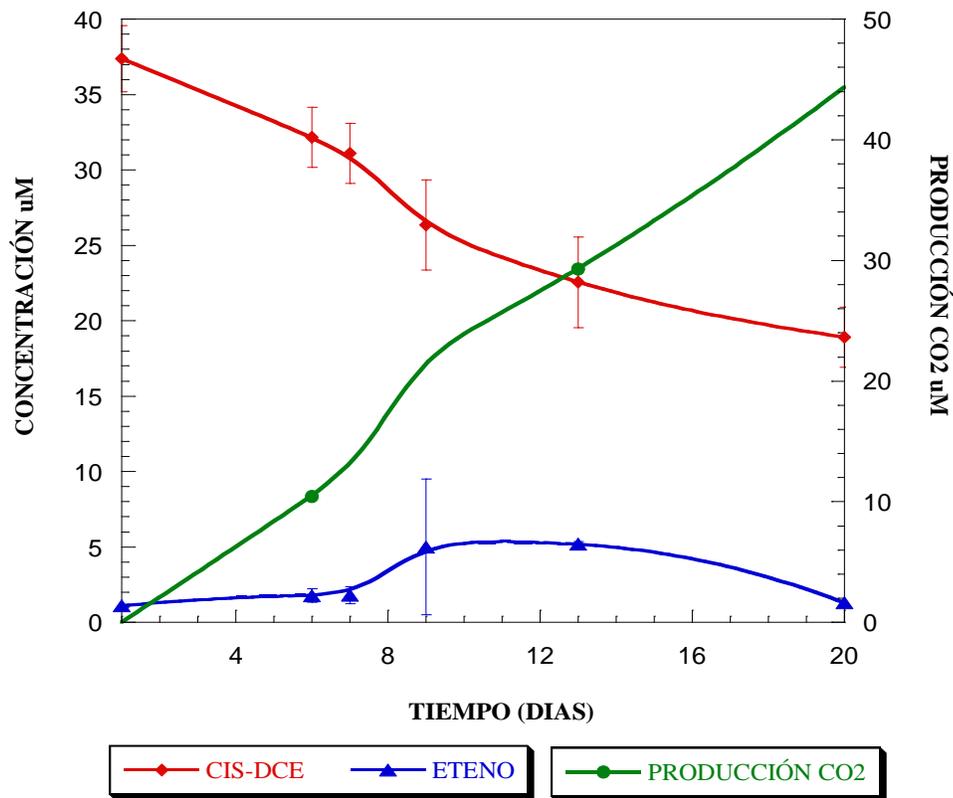


- Degradación del *cis, trans*-DCE a través de la acumulación del eteno como intermediario metabólico.



La oxidación aerobia de *cis*-DCE a  $CO_2$  ha sido estudiada en sistemas de microcosmos por medio de cultivos mixtos enriquecidos encontrando que existen bacterias capaces de crecer en *cis*-DCE en ausencia de otras fuentes de carbono [Coleman y col. 2002]. En un estudio reciente, Zhao y col., 2009, determinaron la capacidad de un consorcio microbiano para degradar el *cis*-DCE como única fuente de carbono y energía, en 7 días el consorcio previamente adaptado a este contaminante fue capaz de degradar completamente una concentración de 70  $\mu M$ .

La cinética de degradación de *cis*-DCE se muestra en la figura 2.1.3.2-1. A una concentración inicial de 40  $\mu M$  se observó que del día 7 al 9 se degradaron 4.7  $\mu M$  de *cis*-DCE produciéndose como intermediario metabólico eteno (3  $\mu M$ ). La presencia de este último no inhibió el consumo del contaminante objetivo (*cis*-DCE). A partir del día 13 de cultivo se consumieron ambos contaminantes obteniendo concentraciones finales de 18  $\mu M$  y 1  $\mu M$  para el *cis*-DCE y eteno, respectivamente.



**Figura 2.1.3.2-1 Degradación de cis-DCE**

El porcentaje de remoción después de 20 días fue del 49%, mientras que la estimación de CO<sub>2</sub> obtenido de acuerdo a las relaciones estequiométricas y consumo de dicho contaminante fue de 44 μM. Bradley y col. en 1998 demostraron que un consorcio fue capaz de degradar este contaminante bajo condiciones anaerobias con un 5% de mineralización, mientras que bajo condiciones aerobias hay una recuperación de CO<sub>2</sub> del 67% en 50 días.

### 2.1.3.3. Trans-dicloroetileno

Se llevó a cabo la cinética de degradación del *trans*-DCE. En la figura 2.1.3.3-1 se observa que el proceso de degradación predominante es el de mineralización del contaminante, en una etapa se determinó una pequeña concentración de eteno como intermediario metabólico, el cual fue consumido rápidamente. Efecto contrario al reportado por He y col. en el 2003 quienes durante la degradación co-metabólica de intermediarios como el *cis*, *trans*-DCE en una concentración inicial de 50  $\mu\text{M}$  obtuvieron como intermediario el CV, compuesto que inmediatamente fue degradado a eteno. Este último es el producto final de la ruta de degradación de dichos contaminantes.

Para una concentración inicial de 40  $\mu\text{M}$  el mayor consumo se determinó durante los primeros 13 días de cultivo, entre los días 13 al 40 la concentración se mantuvo en  $20 \pm 1$   $\mu\text{M}$  para posteriormente ser consumido a una concentración de 16  $\mu\text{M}$  a los 55 días de cultivo.

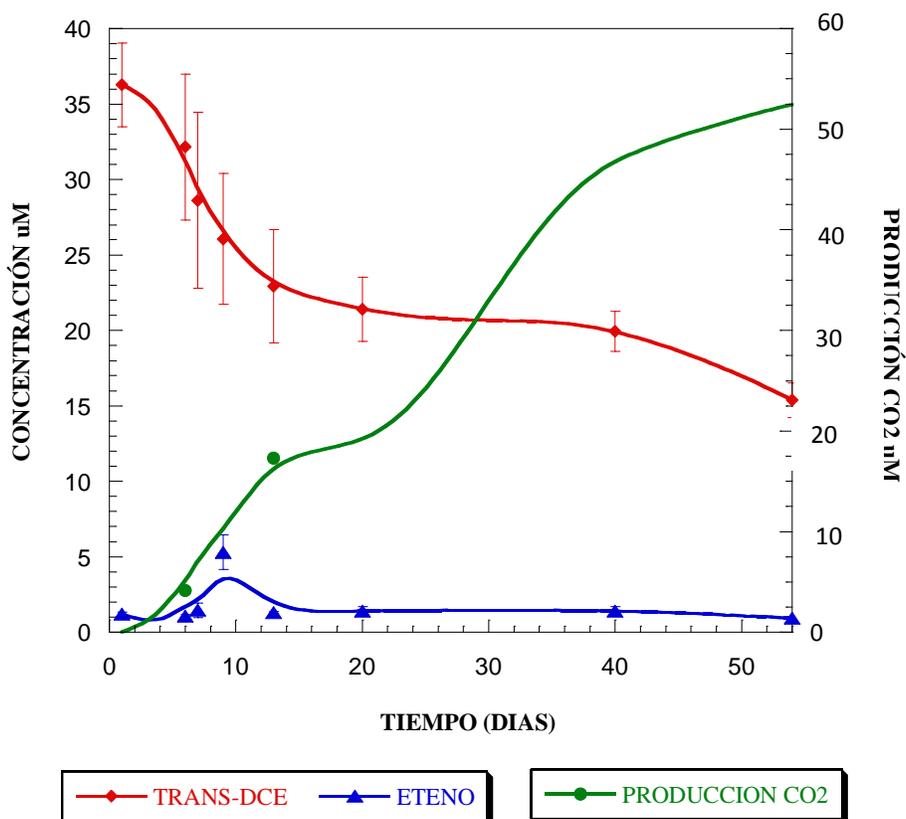


Figura 2.1.3.3-1 Degradación *trans*-DCE

Los porcentajes de remoción para dicho contaminante en un periodo de 55 días fueron de 58%, mientras que la estimación de CO<sub>2</sub> se tiene en una concentración de 52 μM. Dichos resultados fueron similares a los reportados por Bradley y Chapelle en 1999 quienes utilizando un inóculo obtenido de sedimentos, lograron una degradación total de una concentración de 5 μM de DCE bajo condiciones aerobias en 8 días [Bradley y Chapelle 1999].

Los porcentajes de remoción bajo condiciones aerobias obtenidos en el presente trabajo para los isómeros *cis*, *trans*-DCE en 20 días de evaluación fueron de 49 y 41% respectivamente. En general, en estudios previos se ha observado una mayor degradación cuando la molécula se encuentra menos halogenada: VC > *trans*-DCE > *cis*-DCE > TCE [Semprini y col. 1990]. Diferentes investigaciones muestran que la degradación del *trans*-DCE es favorecida en comparación con el *cis*-DCE [Federle y col. 1990; Olaniran y col. 2008]. Adicionalmente otros autores señalan que la posición del grupo funcional es un factor importante para la biodegradación de diferentes isómeros durante la degradación del xileno [García-Peña y col. 2008].

## 2.2. Macrocosmos

Debido a los largos tiempos de remoción reportados anteriormente se iniciaron experimentos dirigidos a incrementar la población capaz de degradar CV y eteno. Para alcanzar este objetivo se realizó la adaptación del consorcio microbiano a los contaminantes específicos a ser degradados, CV y eteno en matraces de 500 mL perfectamente sellados con 10 g de soporte cada uno con biopelícula adherida y previamente adaptada a DCM, los sistemas fueron adicionados con 90 mL de solución de medio mineral. Lo anterior aseguró las condiciones ambientales adecuadas tales como la humedad y disponibilidad de nutrientes.

Los estudios realizados por Prado y col. 2005 demostraron que un consorcio expuesto previamente a las características de toxicidad del contaminante, el tiempo en el cual los

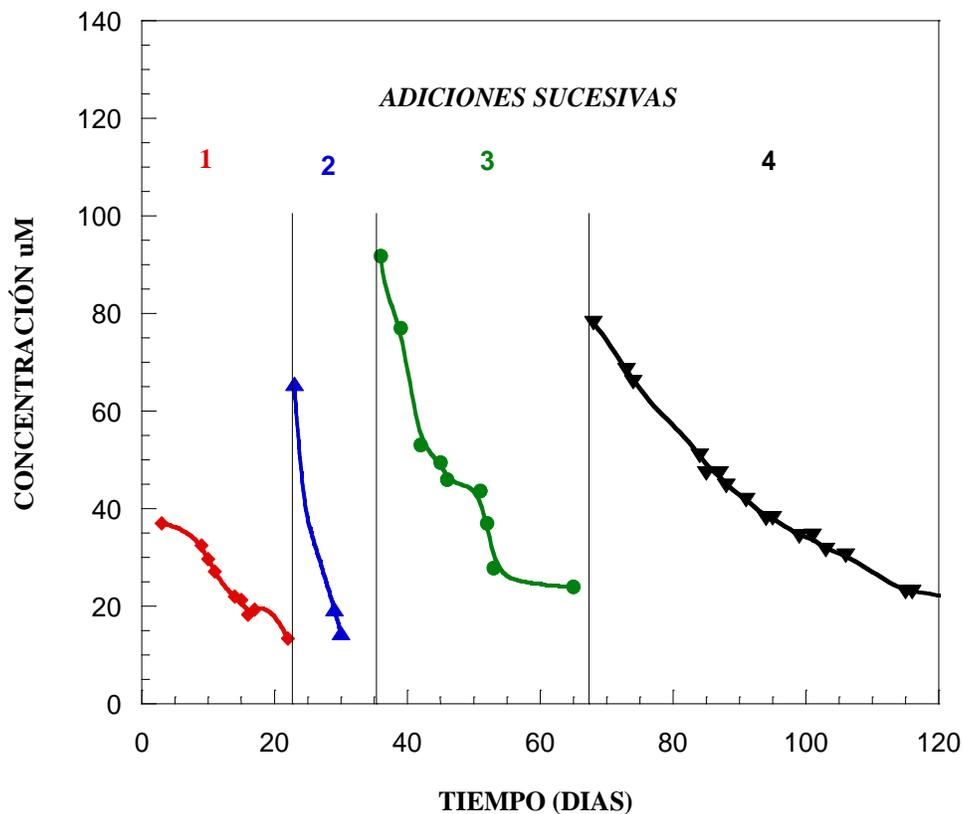
---

microorganismos degradan completamente el contaminante es significativamente más corto y por lo tanto se reducen los tiempos de degradación.

### **2.2.1. Adaptación al CV**

El consorcio previamente adaptado a DCM como sustrato selectivo fue expuesto a concentraciones crecientes de CV. La primer parte de la adaptación se realizó exponiendo al consorcio a una concentración de 40  $\mu\text{M}$  evaluando su degradación durante un tiempo de 22 días, dicha concentración fue degradada hasta una concentración final de 14  $\mu\text{M}$ .

El sistema fue aireado y se llevaron a cabo adiciones sucesivas del contaminante, la siguiente concentración evaluada fue de 65  $\mu\text{M}$  la cual fue degradada hasta obtener una concentración final de 15  $\mu\text{M}$  en un tiempo de 8 días. Durante la tercera etapa de adaptación se incrementó nuevamente la concentración de CV a 90  $\mu\text{M}$ , en un tiempo de cultivo de 30 días la concentración final obtenida fue de 23  $\mu\text{M}$ . Finalmente, durante la última fase de adaptación se decidió disminuir el volumen del medio mineral a un volumen de 35 mL y adicionar una concentración de CV de 80  $\mu\text{M}$ , en un tiempo de 61 días la concentración fue degradada a una concentración final de 20  $\mu\text{M}$ . Los datos anteriormente descritos se muestran en la figura 2.2.1-1



**Figura 2.2.1-1 Adaptación del consorcio a CV durante 4 adiciones sucesivas**

En la Tabla 2.2.1-1 se pueden apreciar las cinéticas de degradación y las distintas velocidades de consumo obtenidas en cada etapa de adaptación.

**Tabla 2.2.1-1 Diferencias en las etapas de adaptación del CV**

<b>Etapa de Adaptación</b>	<b>Concentración inicial de CV µM</b>	<b>Tiempo de remoción (días)</b>	<b>% Remoción</b>	<b>Velocidad de consumo µM/día</b>
1	40	22	64.03	1.078
2	65	8	77.73	7.28
3	90	30	73.87	2.25
4	80	37	77.73	1.55

Considerando el tiempo de remoción y la velocidad de consumo, durante la segunda etapa de adaptación, 30 días, se observó el mejor porcentaje de remoción del 77.73%, ya que al no haber limitaciones de oxígeno, sustrato y medio mineral necesarios para la degradación del contaminante existe una mayor actividad microbiana. Al prolongar el tiempo de cultivo en sistemas líquidos de tipo lote utilizando CV como única fuente de carbono y energía se favorece el aumento de la velocidad de crecimiento microbiano en dicho contaminante [Hartmans y Bont 1992].

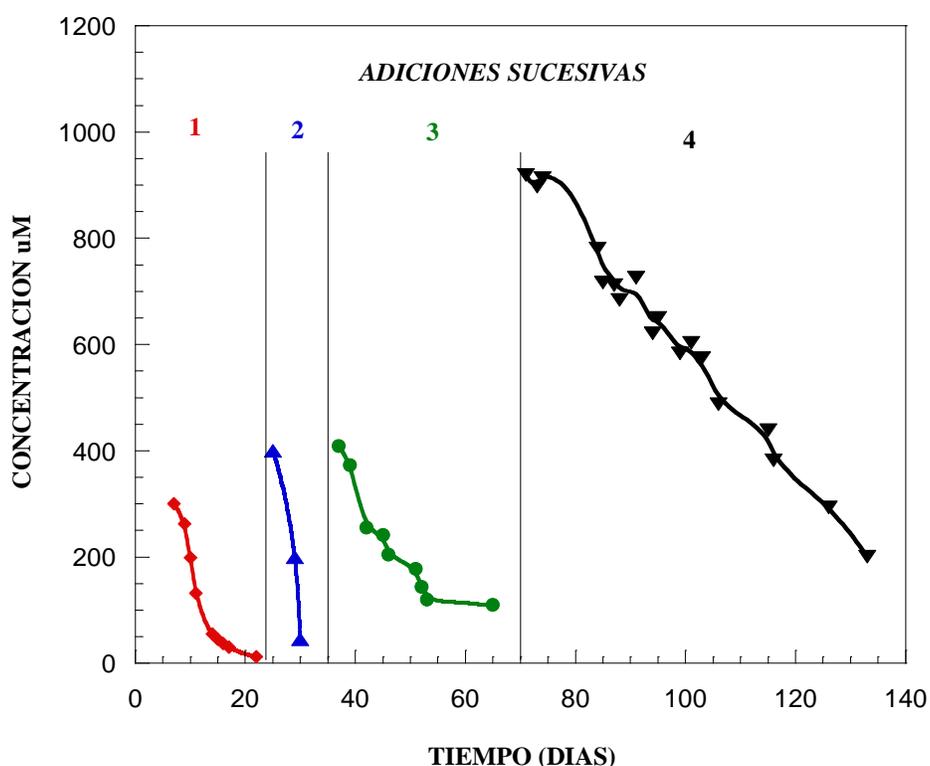
A partir del día 22 de adaptación del consorcio aumenta su velocidad de consumo de 1.08 a 7.3  $\mu\text{M}/\text{día}$  para una concentración de 65  $\mu\text{M}$ . Posteriormente, a partir de los 30 días de adaptación las velocidades de consumo disminuyeron a 2.25  $\mu\text{M}$  aumentando el tiempo en el cual los microorganismos degradan el contaminante a una concentración de 90  $\mu\text{M}$  (3ª etapa). A partir de esta etapa se decidió disminuir tanto la concentración del contaminante objetivo como el volumen de medio mineral presente en el sistema, debido a que una de las posibles causas de esta disminución puede ser la poca difusión del contaminante de la fase gas a la fase acuosa y por lo tanto hacia el consorcio microbiano, sin embargo al disminuir este volumen la velocidad de consumo disminuyó nuevamente a 1.26  $\mu\text{M}$ . Otra de las posibles causas de la reducción de las tasas de degradación es la disminución de pH del sistema por la presencia de HCl (dato no medido), Sing, Löffler y col, en el 2004 demostraron que al hacer adiciones sucesivas de CV el pH del sistema disminuía a 5.0 por la presencia HCl, la presencia de este compuestos indica la mineralización del CV.

### 2.2.2. Adaptación al eteno

Otro de los contaminantes al cual se adaptó el consorcio microbiano fue al eteno ya que es un compuesto producto de la degradación de CV.

El consorcio se adaptó exponiéndolo a diferentes concentraciones de eteno. Al ser el eteno un sustrato de fácil degradación las concentraciones usadas fueron mayores a las evaluadas para el CV.

El comportamiento obtenido durante las diferentes adiciones sucesivas se muestra en la figura 2.2.2-1. La primer etapa de adaptación se llevó a cabo con una concentración de 260  $\mu\text{M}$ , la cual fue degradada a una concentración final de 11.6  $\mu\text{M}$  en un periodo de 20 días. Durante las siguientes dos adiciones sucesivas se usaron concentraciones de 400  $\mu\text{M}$ , en la primera el consorcio capaz de consumir el contaminante hasta una concentración final de 40  $\mu\text{M}$  en un tiempo de 8 días, mientras que en la 3<sup>a</sup> adición sucesiva el contaminante fue consumido en un periodo de 30 días a una concentración final de 100  $\mu\text{M}$ . Posteriormente se aumentó la concentración de eteno a 950  $\mu\text{M}$  el consorcio transformó el 80% en 70 días de cultivo.



**Figura 2.2.2-1 Adaptación del consorcio a Eteno**

La Tabla 2.2.2-1 muestra los porcentajes de remoción y velocidades de consumo obtenidas en cada etapa de adaptación. Durante la 2<sup>a</sup> etapa en aproximadamente 30 días se obtuvieron las mayores velocidades de consumo. Las mayores velocidades se debieron a que el eteno es un sustrato de fácil degradación, la máxima velocidad de degradación fue de 44.3  $\mu\text{M}/\text{día}$ .

**Tabla 2.2.2-1 Etapas de adaptación a eteno**

<b>Etapa de Adaptación</b>	<b>Concentración inicial de eteno <math>\mu\text{M}</math></b>	<b>Tiempo de remoción (días)</b>	<b>% Remoción</b>	<b>Velocidad de consumo <math>\mu\text{M}/\text{día}</math></b>
1	260	20	95.58	17.92
2	400	8	88.6	44.3
3	400	30	52.32	8.5
4	950	70	79.38	11.35

Durante la primera etapa de adaptación (20 días) se consumió un 96% la concentración inicial de eteno con velocidad de consumo de 18  $\mu\text{M}/\text{día}$ . En la segunda etapa aunque hay una disminución en el porcentaje de remoción (88%), la velocidad de consumo se incrementó al doble comparada con de la primer etapa.

Durante la segunda y tercer etapa de adaptación se expuso al consorcio a una misma concentración de contaminante, sin embargo los datos muestran diferencias importantes, ya que después de aproximadamente 50 días el consorcio degradó solo el 52% de la concentración inicial, a una velocidad de consumo menor. Esto puede deberse a una inhibición debida a intermediarios metabólicos o al mismo contaminante.

Acuña y col. 1999 en un estudio en el cual se presenta el efecto de las adiciones sucesivas de tolueno, en donde observaron una reducción en el consumo del contaminante debido probablemente por la limitación de nutrientes o por la acumulación de una sustancia inhibidora. Estudios paralelos utilizando medio líquido con la misma biomasa inicial mostró un aumento de la tasa de consumo de tolueno pero solo hasta la 3<sup>a</sup> adición sucesiva, debido a que el medio se acidificó ( $\text{pH}<3.8$ ).

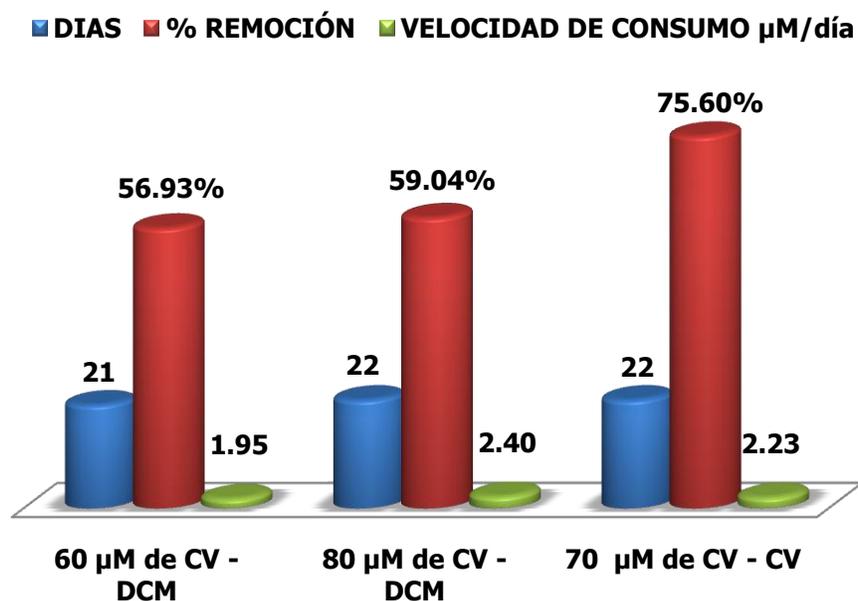
### 2.2.3. Cinéticas de degradación en sistemas de microcosmos

Una vez que el consorcio fue adaptado a CV y eteno se evaluó la capacidad de degradación en sistemas de microcosmos, el principal objetivo fue determinar el efecto que tiene el adaptar el consorcio microbiano al contaminante a degradar, CV.

#### 2.2.3.1. Evaluación del consorcio adaptado a CV

Se expusieron 4 g de consorcio adaptado a CV a una mezcla de CV-eteno de 70  $\mu\text{M}$  y 75  $\mu\text{M}$  respectivamente. El CV fue consumido en un 75%, a una velocidad de consumo de 2.2  $\mu\text{M}/\text{día}$  en un periodo de 22 días. El eteno fue consumido simultáneamente al CV, no se observó inhibición en el consumo del contaminante objetivo por la presencia del contaminante de fácil degradación. El porcentaje de remoción del eteno fue de 95% con una velocidad de consumo de 1.3  $\mu\text{M}/\text{día}$ .

La figura 2.2.3.1-1 muestra una comparación de los rendimientos obtenidos para la degradación del CV cuando el consorcio microbiano fue adaptado a DCM (considerando el mismo periodo de tiempo de cinética) y los rendimientos obtenidos después de 22 días de adaptación del consorcio al contaminante objetivo. Se encontró que los porcentajes de remoción aumentaron al adaptar el consorcio al contaminante que será degradado. En el caso de la adaptación con DCM se obtuvo un porcentaje de remoción de  $58\pm 1\%$  y este se incrementó a 75% habiendo adaptado al consorcio con CV, las velocidades se mantuvieron en un rango entre 2 a 2.4  $\mu\text{M}/\text{día}$ .



**Figura 2.2.3.1-1 Comparación entre las diferentes adaptaciones del inóculo. Se muestran las dos diferentes concentraciones que presentaron los mejores porcentajes de remoción en comparación con la evaluación realizada con el inóculo adaptado a CV.**

Los datos mostraron que al adaptar el inóculo al contaminante objetivo se obtiene un porcentaje de remoción de CV mayor. Además se redujeron tiempos de operación, al utilizar el consorcio adaptado a DCM se obtuvo una remoción de  $85\pm 1\%$  para concentraciones entre 60 y 80  $\mu\text{M}$  en un periodo total de cultivo de 99 días, mientras que al adaptarlo con CV se determinó una remoción del 75% en 22 días.

Con lo anterior se puede concluir que se reducen tiempos de remoción cuando se adapta el consorcio microbiano directamente con el contaminante que será utilizado a lo largo de las cinéticas.

### 2.2.3.2. Evaluación del consorcio adaptado a eteno

Como se mencionó anteriormente, el siguiente contaminante al cual se adaptó el consorcio fue al eteno, siendo este contaminante uno de los productos de la degradación inmediatos de la ruta de degradación del CV. De igual manera se prepararon sistemas en microcosmos para evaluar el efecto de esta adaptación cuando se expone a dos contaminantes, eteno y CV.

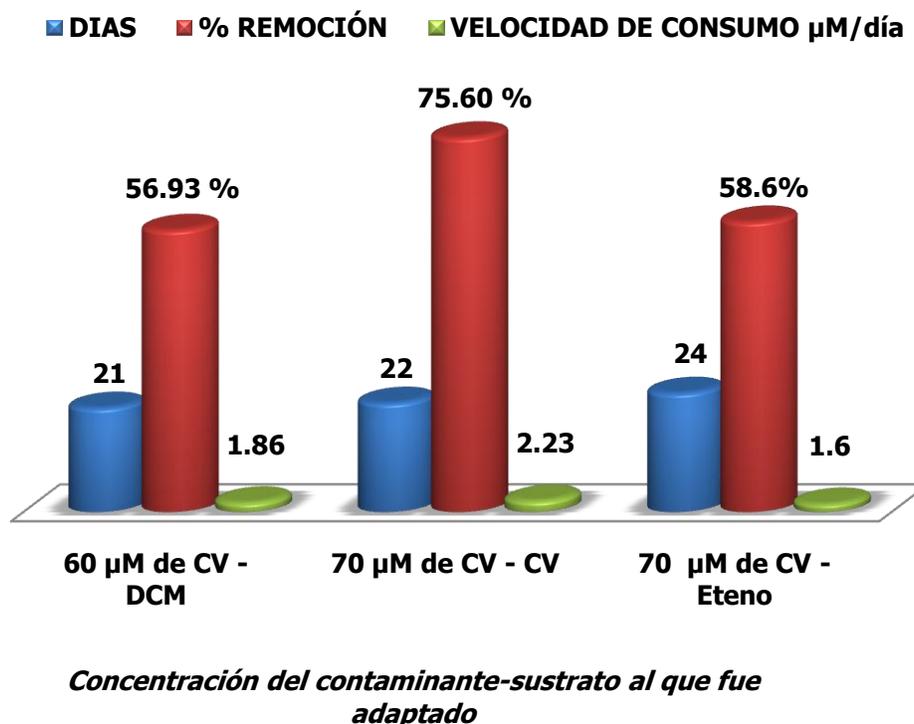
Después de 30 días de adaptación se utilizó el inóculo para evaluar su capacidad de degradar una concentración de 300  $\mu\text{M}$  de eteno, misma que fue completamente asimilada (98%) en 31 días a una velocidad de consumo de 9.6  $\mu\text{M}/\text{día}$ .

Los altos porcentajes de remoción obtenidos para este contaminante se deben a sus características estructurales. Los microorganismos pueden romper con mayor facilidad un enlace C-H que un enlace C-Cl como el que presenta el CV, razón por la cual es más sencillo degradar concentraciones altas de eteno con porcentajes de remoción altos y en tiempos relativamente cortos.

Además se evaluó la degradación de CV en mezcla con eteno utilizando dicho inóculo. La concentración evaluada para el CV fue de 70  $\mu\text{M}$  encontrando que en 24 días el inóculo fue capaz de consumir el 59% de CV, a una velocidad de consumo de 1.6  $\mu\text{M}/\text{día}$ , dicho consumo fue menor al reportado por Verce y col. 2000 quienes reportan el consumo de una concentración de 450  $\mu\text{M}$  de CV en un tiempo de 3.1 días sin fase de adaptación, tras haber enriquecido el consorcio previamente en eteno durante 60 días.

La figura 2.2.3.2-1 muestra la comparación en la degradación de CV utilizando el inóculo adaptado a DCM, CV y por último el inóculo adaptado a eteno, se pueden observar los porcentajes de remoción, velocidades de consumo y tiempos de remoción. Los porcentajes de remoción así como las velocidades de consumo obtenidos cuando se utilizó el inóculo

adaptado a eteno y a DCM son similares. Mientras que los mejores resultados en cuanto a la degradación de CV se obtuvieron con el inóculo adaptado a CV.



**Figura 2.2.3.2-1 Diferencias entre los diferentes sustratos a los que se adaptó el inóculo**

Los datos muestran que el consorcio tiene la capacidad de degradar CV y eteno después de haber sido adaptado al eteno. Verce y col. 2000 reportan que un consorcio microbiano obtenido de una planta de tratamiento fue enriquecido con eteno como única fuente de carbono, después de efectuar varias transferencias en medio fresco el inóculo adaptado fue expuesto a CV como única fuente de carbono y energía encontrando que tras un tiempo de 80 días, el inóculo comienza a consumir CV gradualmente hasta 7.3 mM, sin inhibición aparente.

En el 2002 Coleman y col. evaluaron que al adaptar bacterias gran positivas como *Mycobacterium sp.* y *Corynebacterium sp.* a eteno eran capaces de crecer en CV.

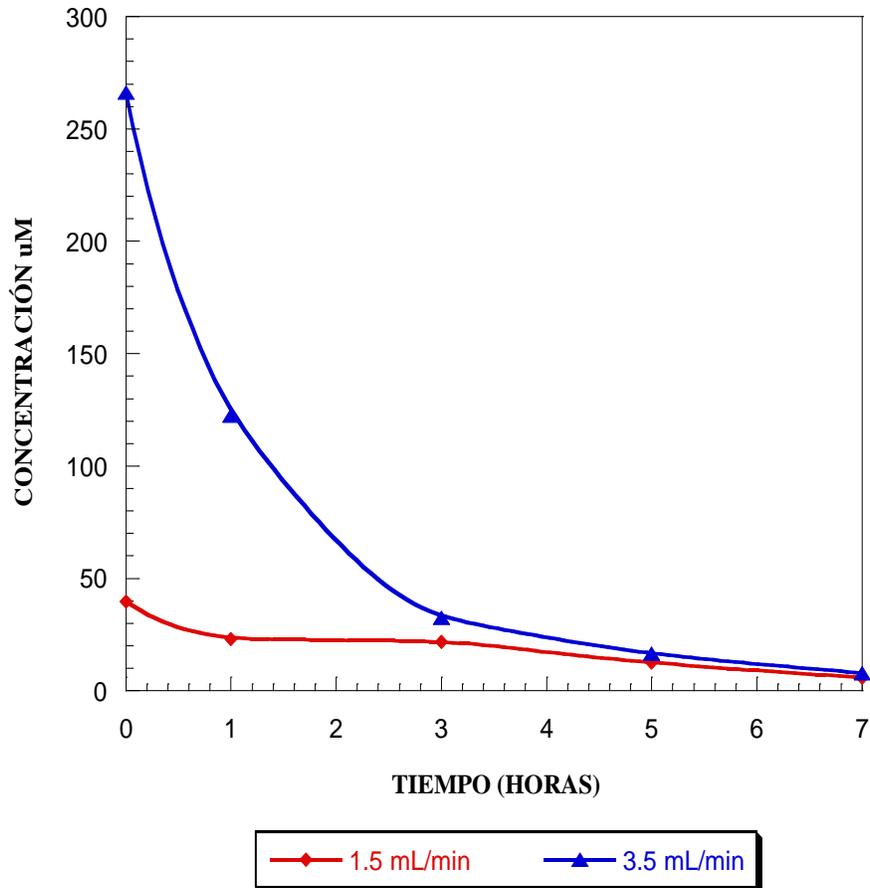
Demostrando que *Corynebacterium* no fue capaz de desarrollarse en CV aunque fue capaz de desarrollarse en eteno como única fuente de carbono. En contraste *Mycobacterium sp.* se adaptó rápidamente al CV como única fuente de carbono

El consorcio microbiano fue capaz de degradar el CV después de ser adaptado durante 30 días a eteno, sin presentar fase de adaptación. El comportamiento es el contrario al que reportan Coleman y col. en el 2002 ya que al adaptar el consorcio a eteno y evaluar la degradación de CV, llevó 40 días de adaptación al mismo.

La capacidad que tienen los microorganismos para degradar CV al ser adaptado previamente a eteno tiene implicaciones significativas para la bioaumentación o inoculación de biofiltros. Dada la toxicidad del CV y su costo, este contaminante es un mal sustrato para el cultivo de la biomasa inicial, es por ello que el uso de eteno para la adaptación del inóculo es más factible por ser menos costoso y tóxico, además de que no presenta periodos de adaptación cuando se cambia de sustrato en el caso de CV lo hace un sustrato de preferencia, de igual manera se presenta en la investigación realizada por Verce y col. 2000.

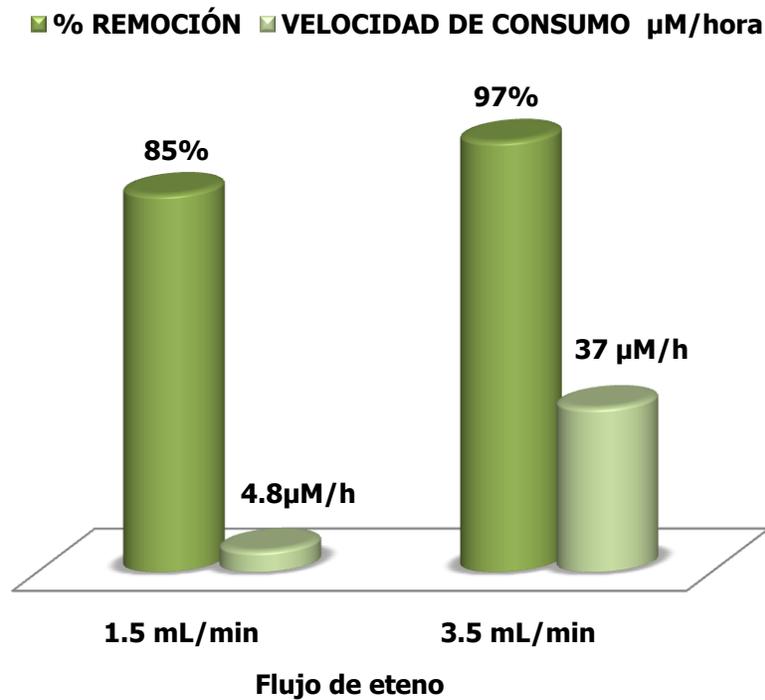
### **2.3. Cinéticas de degradación en columnas de biofiltración 250 mL**

La figura 2.3-1 muestra la degradación de eteno en el sistema de biofiltración para ambas concentraciones (40 y 270  $\mu\text{M}$ ). Como se puede observar el consorcio consumió ambas concentraciones en un tiempo de 7 h obteniendo una concentración final de  $5\pm 1 \mu\text{M}$ .



**Figura 2.3-1** Cinética de degradación en columna de biofiltración de 250 mL

El consorcio consumió ambas concentraciones, observando que el aumento en la concentración del contaminante fue directamente proporcional al aumento en la velocidad de consumo, se determinó un mayor porcentaje de remoción en un mismo tiempo para la concentración mayor, figura 2.3-2



**Figura 2.3-2** Diferentes flujos de alimentación de eteno en el sistema de biofiltración

En las columnas de biofiltración donde se tenía mayor cantidad de biomasa activa los porcentajes de remoción fueron similares a los obtenidos en el caso de sistemas en lote (microcosmos) sin embargo los tiempos fueron mucho menores. En estos experimentos se determinó el consumo de una concentración de 270  $\mu\text{M}$  en un tiempo de 7 h, mientras en los microcosmos una concentración de 300  $\mu\text{M}$  fue consumida en un tiempo de 31 días.

## 2.4. Cinéticas de degradación en columna de biofiltración de 1.9 L

Finalmente, se utilizó una columna de 1.9 L en la cual se llevaron a cabo adiciones sucesivas para determinar el tiempo de degradación del CV a diferentes concentraciones. Antes de cada alimentación el sistema fue aireado por aproximadamente media hora asegurando las condiciones de aerobiosis del sistema.

En la primera alimentación, el proceso se inició con una concentración de 340  $\mu\text{M}$ , alcanzando una concentración final de 50  $\mu\text{M}$  en 120 horas. En la segunda adición se evaluó el consumo de una concentración inicial de 550  $\mu\text{M}$ , después de 160 horas de cinética se obtuvo una concentración final de 95  $\mu\text{M}$ . La figura 2.4-1 muestra las cinéticas de consumo de CV para ambas alimentaciones, durante la segunda alimentación se observó un consumo mayor de CV (de 550 a 111  $\mu\text{M}$ ) en las primeras 72 h, posteriormente la concentración se mantuvo prácticamente constante en una concentración de  $97 \pm 2$   $\mu\text{M}$ .

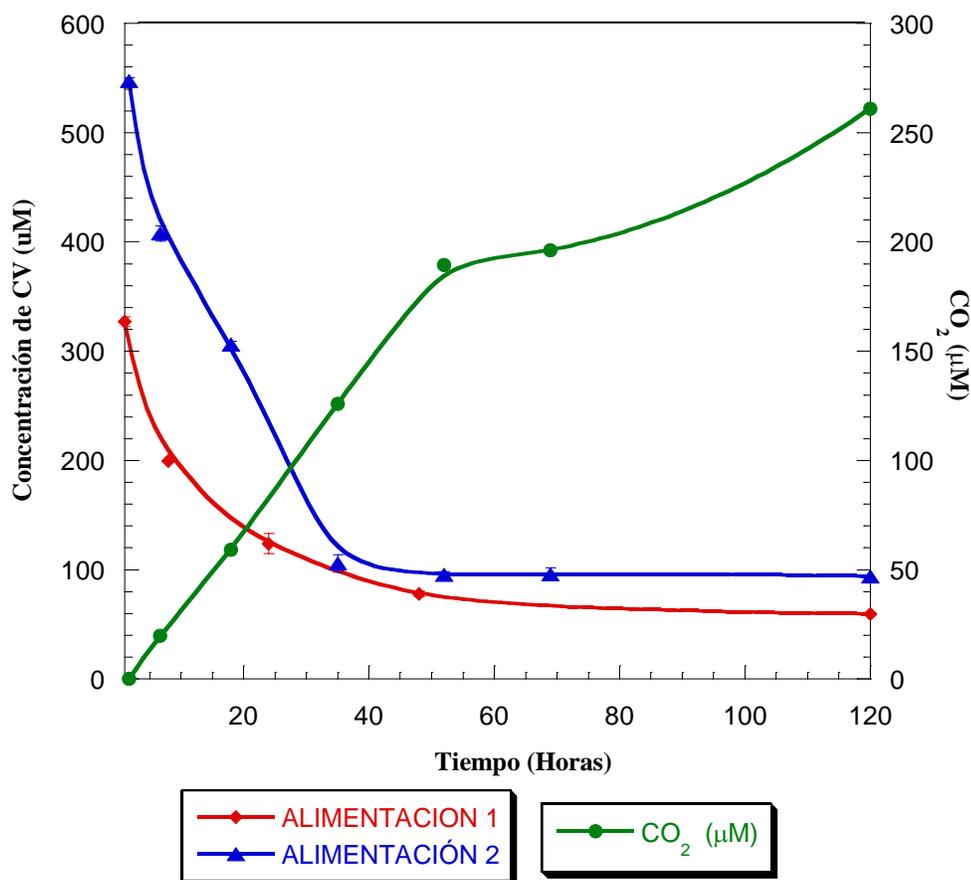


Figura 2.4-1 Cinética de degradación de CV en una columna de biofiltración de 1.9L

En la figura anterior se muestran las mediciones de CO<sub>2</sub> obtenido experimentalmente para la alimentación 2. La concentración de C (carbono) medido experimentalmente como CO<sub>2</sub> fue de 260 μM equivalente a un 57% de producción de CO<sub>2</sub>. La alimentación 1 presentó experimentalmente una concentración de 228 μM equivalente al 44% de CO<sub>2</sub>. Los porcentajes de recuperación de CO<sub>2</sub> fueron similares a las reportadas por otros autores, en un sistema de biofiltración para la remoción de tolueno, encontraron que el 44.5% del carbono se convirtió en CO<sub>2</sub> mientras que la degradación de sustancias intermediarias representó el 32% y con un 14.3% la degradación de carbonatos el 14.3% mientras que el resto se acumula como biomasa (9.2%). [Morales y col. 1998]. Prado y col. en el 2005 encontraron que se recuperaba alrededor del 60% del CO<sub>2</sub> experimental producto de la degradación de metanol.

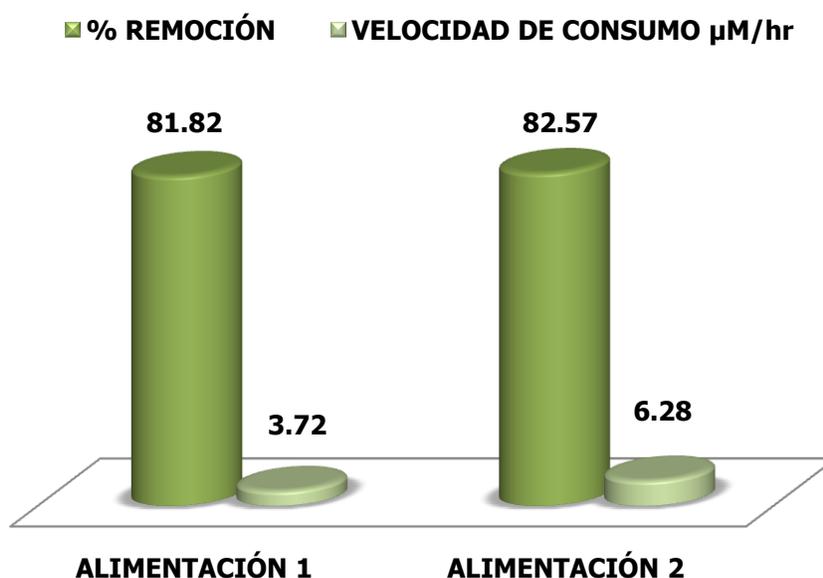
García-Peña y col. en el 2008 evidenciaron que durante la degradación del tolueno, benceno y etilbenceno los porcentajes de recuperación de C como CO<sub>2</sub> fueron del 48, 40 y 53% respectivamente.

Se llevó a cabo la medición de la humedad existente en el sistema antes y después de la segunda alimentación, al inicio del análisis el sistema presentó una humedad del 75%, mientras que al final del análisis se obtuvo un 35%. La pérdida de humedad podría explicar que a partir de las 72 horas de operación no hubo consumo de CV.

El contenido de humedad es uno de los parámetros críticos en la operación de un biofiltro, el suministro de aire seco al sistema durante menos de una semana provoca una disminución rápida en los porcentajes de remoción [Prado y col. 2005]. El eficiente desempeño de un biofiltro durante periodos de tiempo largos, requiere el mantenimiento de las condiciones de operación dentro de los rangos adecuados. En particular, el control de la humedad es necesario [Auria y col. 1998], así como el aporte de nutrientes [Morgenroth y col. 1996] ya que tienen un impacto directo sobre la comunidad microbiana y por tanto en las tasas de eliminación. Algunos autores han mostrado mayores tasas de remoción cuando

se suministran nutrientes y se suministra la humedad necesaria a los sistemas de biofiltración [Acuña y col. 1999]. Acuña y col. 1999 mencionan que al mantener una humedad entre 55 y 70 % los porcentajes de remoción son similares, mientras que al disminuir la humedad más del 50 % los porcentajes disminuyen de manera drástica.

La figura 2.4-2 muestra los porcentajes de remoción así como las velocidades de consumo obtenidos para ambas alimentaciones tomando en cuenta que a las 72 h de cinética ya no hay un consumo significativo del contaminante.



**Figura 2.4-2 Diferencias en los porcentajes de remoción y velocidades de consumo obtenidas para las dos alimentaciones analizadas en la columna de biofiltración de 1.9 L**

Se realizó un conteo en placa para conocer las UFC/g de soporte, al inicio de la cinética (Alimentación 1) se obtuvo una cuenta de  $5.5 \times 10^5$  UFC/g de soporte, mientras que al final del análisis (Alimentación 2) se determinó un valor de  $5.8 \times 10^6$  UFC/g de soporte.

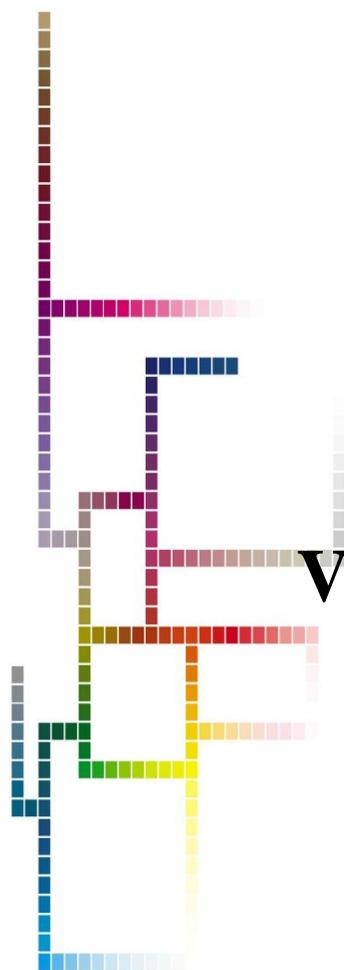
Las placas de agar, figura 2.4-3, sugieren que el consorcio microbiano se compone colonias con morfología semejantes y 3 o 4 distintos colores de colonias (colonias blancas, crema, amarillas de morfología circular). Lo cual sugiere que efectivamente la degradación de CV se llevó a cabo por un consorcio microbiano.



**Figura 2.4-3 Diferencias en las colonias obtenidas en el consorcio microbiano capaz de degradar CV**

Con referencia a la biomasa, se debe tener en cuenta la cinética de crecimiento del microorganismo obteniendo mayor rendimiento metabólico en la fase exponencial, debido a que el aumento de ésta es un indicador del proceso de biorremediación. Se ha logrado estimar que la cantidad suficiente de microorganismos para efectuar en buenas condiciones un proceso de biodegradación es de  $10^3$  a  $10^4$  UFC/g suelo y de heterótrofos totales de  $10^5$  a  $10^6$  UFC/g de suelo, capaces de metabolizar y mineralizar el contaminante a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , compuestos que permiten efectuar el reciclaje en el medio ambiente al ser fácilmente incorporados en los ciclos biogeoquímicos [Romero y col. 2008].

Investigaciones anteriores indican que cultivos puros de bacterias asimiladoras de CV fueron desarrolladas en CV y eteno como única fuente de carbono encontrando que las colonias requirieron de 1 a 3 semanas en desarrollarse, encontrando que colonias blancas, color crema, amarillas y anaranjadas de morfología circular y abultadas [Coleman y col. 2002].



## VII. CONCLUSIONES

---

## VII. CONCLUSIONES

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un consorcio microbiano capaz de degradar el CV. Se desarrolló biomasa con uno de los sustratos de mas fácil degradación, glucosa, posteriormente se adicionó DCM sustrato que permitió la selección de los microorganismos capaces de degradar compuestos clorados.

Después de un periodo de 6 meses de adaptación con un solvente selectivo DCM se obtuvo un consorcio mixto capaz de degradar diferentes concentraciones de CV, 20, 40 y 60  $\mu\text{M}$  CV, se obtuvieron porcentajes de remoción de 55, 76 y 83% respectivamente en 15 días de cultivo

Además se realizaron experimentos evidenciando el efecto que tiene un sustrato de fácil degradación (eteno) con el contaminante objetivo (CV) en sistemas de microcosmos. La mineralización del contaminante fue el mecanismo de gradación que dominó en cada cinética de degradación, sin embargo durante determinado tiempo de cinética el intermediario metabólico obtenido experimentalmente fue el eteno. Se evaluaron diferentes concentraciones de CV encontrando que en las concentraciones que presentaron los mejores porcentajes de remoción fueron de entre 60 y 80  $\mu\text{M}$  de CV.

Conociendo las fuentes de emisión del CV se procedió a evaluar si el consorcio desarrollado con DCM era capaz de degradar intermediarios/precursores en la ruta de degradación del CV tales como TCE, *cis*, *trans*-DCE. En el caso de TCE se obtuvo un porcentaje de remoción del 89% de una concentración inicial de 55  $\mu\text{M}$  durante 55 días de cinética. El consorcio fue capaz de degradar un 50 % del *cis*-DCE en 20 días. El cual fue mayor al obtenido por Bradley y col en 1998, quienes lograron obtener un porcentaje de remoción del 67 % en 50 días de operación, mientras que para el *trans*-DCE en un mismo tiempo de cinética se obtuvo un 41 % de remoción.

---

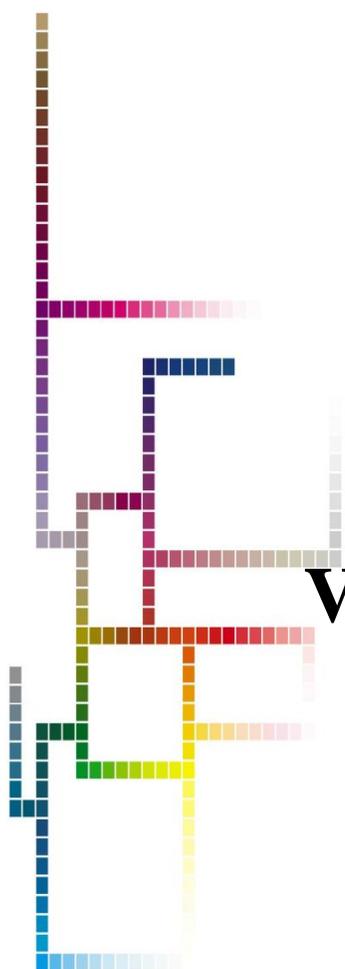
Al adaptar el consorcio microbiano a CV y eteno durante 30 días, los tiempos de remoción se redujeron aumentando las velocidades de consumo en ambos casos. Adaptado con DCM el consorcio microbiano fue capaz de remover el 57 % de CV, mientras que al adaptarlo a CV fue capaz de remover un 76 % en un tiempo promedio de 20 días.

El consorcio fue capaz de degradar concentraciones altas para sustratos de fácil degradación como lo es el eteno ( $400\mu\text{M}$ ).

En un sistema de biofiltración de 250 mL fue posible degradar una concentración de eteno de hasta  $250\mu\text{M}$  en un tiempo de 7 h evidenciando que el consorcio adaptado a DCM es capaz de degradar este tipo de contaminantes bajo condiciones aerobias con porcentajes de remoción del 97 %.

En el sistema de biofiltración de 1.9 L fue posible obtener un porcentaje de remoción del 83 % de CV, en un tiempo de 72 h y para una concentración de inicial de  $500\mu\text{M}$ .

En las columnas de biofiltración donde no hay limitación en biomasa activa, los tiempos y porcentajes de remoción aumentan, pero de la misma manera que los sistemas de microcosmos es importante el suministro de nutrientes y humedad en el sistemas para no detener la actividad biológica de los microorganismos y como consecuencia que no haya degradación de los contaminantes.



## VIII. PERSPECTIVAS

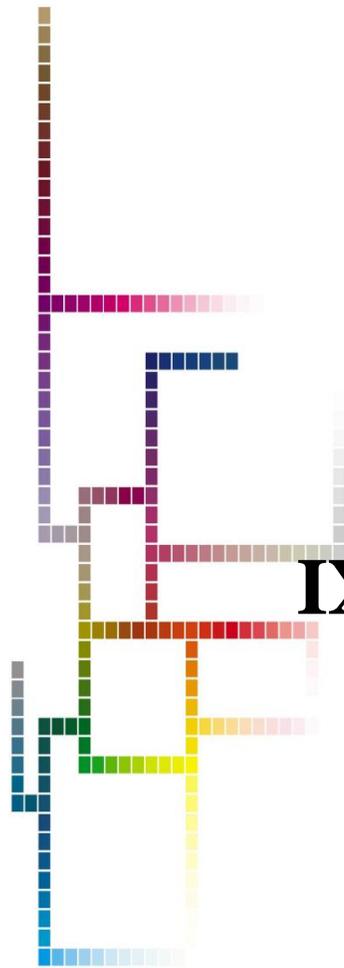
---

## VIII. PERSPECTIVAS

En México, uno de los problemas que existen es la contaminación del aire debido a las diversas actividades humanas, razón por la cual es importante el desarrollo de tecnologías de bajo costo que ayuden a degradar contaminantes que son agresivos a la salud de animales y seres humanos y uno de ellos es el CV. En el presente trabajo se evidenció que el consorcio microbiano desarrollado fue capaz de degradar el CV y algunos intermediarios como cis, trans-DCE y eteno.

En base a los resultados obtenidos, los aspectos que podrían ser explorados con mayor detalle en futuras investigaciones y que permitirían un entendimiento mejor del sistema, se sugieren a continuación:

- ✓ Comprobar en experimentos simultáneos si la disminución en los porcentajes de remoción en los sistemas es debido a la falta de nutrientes y por la pérdida de humedad del sistema.
- ✓ Caracterizar el inóculo desarrollado con el fin de identificar y establecer cuáles son los microorganismos que degradan más eficientemente al CV e intermediarios, así como establecer posibles relaciones de inhibición o incremento en las actividades de degradación de los contaminantes de una población en presencia de las otras. Esto con el fin de hacer que predominen dichos microorganismos en el sistema.
- ✓ Realizar la caracterización de los sistemas de biofiltración evidenciando cual es la máxima capacidad de degradación del CV evaluando diferentes concentraciones, así como, cuales son los mejores parámetros de operación como por ejemplo (humedad, alimentación de nutrientes, disminución de pH, etc.)



## **IX. REFERENCIAS**

## IX. REFERENCIAS

- ACGIH (2005). Documentaion of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values. Cincinnati, OH, American Conference of Government Industrial Hygienists
- Acuña, Pérez, y col. (1999). "Microbiological and kinetic aspects of a biofilter for the removal of toluene from waste gases." Biotechnology and Bioengineering **63**(2): 175-184.
- Atkinson and Pitts (1977). "Rate constants for the reaction of O(3P) atoms with CH<sub>2</sub>-CHF, CH<sub>2</sub>-CHCl, and CH<sub>2</sub>-CHBr over the temperature range 298-442 Å°K." Journal of Chemical Physics **67**: 2488-2491.
- ATSDR (2006) "Toxicological profile for Vinyl Chloride."
- Auria, Aycaguer, y col. (1998). Influence of water content on degradation rates for ethanol in biofiltration. Pittsburgh, PA, ETATS-UNIS, Air & Waste Management Association.
- Bradley and Chapelle (1997). "Kinetics of DCE and VC Mineralization under Methanogenic and Fe(III)-Reducing Conditions." Environmental Science & Technology **31**(9): 2692-2696.
- Bradley and Chapelle (1998). "Effect of Contaminant Concentration on Aerobic Microbial Mineralization of DCE and VC in Stream-Bed Sediments." Environmental Science & Technology **32**(5): 553-557.
- Bradley and Chapelle (1999). "Aerobic Microbial Mineralization of Dichloroethene as Sole Carbon Substrate." Environmental Science & Technology **34**(1): 221-223.
- Burroso (2006) "CEH Product Reviw. Vinyl chloride Monomer (VCM)." Chemical Economics Handbook.
- Coleman, Mattes, y col. (2002). "Biodegradation of cis-Dichloroethene as the Sole Carbon Source by a {beta}-Proteobacterium." Appl. Environ. Microbiol. **68**(6): 2726-2730.
- Coleman, Mattes, y col. (2002). "Phylogenetic and Kinetic Diversity of Aerobic Vinyl Chloride-Assimilating Bacteria from Contaminated Sites." Appl. Environ. Microbiol. **68**(12): 6162-6171.
- Corsi and Seed (1995). "Biofiltration of BTEX: effects of media, multiple substrates, and dynamic mass loadings." In. Proceedings of the Air and Waste Management Associations: 19-23.
- Cowfer and Gorensek (2006) "Vinyl chloride." Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 1-31.
- Cox and Deshusses (2002). "Effect of Starvation on the Performance and Re-acclimation of Biotrickling Filters for Air Pollution Control." Environmental Science & Technology **36**(14): 3069-3073.
- Cutright and Meza (2007). "Evaluation of the aerobic biodegradation of trichloroethylene via response surface methodology." Environment International **33**(3): 338-345.
- Davis and Carpenter (1990). "Aerobic Biodegradation of Vinyl Chloride in Groundwater Samples." Appl. Environ. Microbiol. **56**: 3878-3880.
- Deshusses (1999). "Single-Stage H<sub>2</sub>S and VOC Removal in Biotrickling Filters and Biofilters: A comparaive study at the Hyperion treatment Plant." Technical Paper.
- Devinny, Deshusses, y col. (1999). Biofiltration for air pollution control, Lewis Publishers.
- Devinny and Ramesh (2005). "A phenomenological review of biofilter models." Chemical Engineering Journal **113**(2-3): 187-196.
- EPA.USA (2000).
- Federle, Ventullo, y col. (1990). Spatial distribution of microbial biomass, activity, community structure, and the biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and linear alcohol ethoxylate (LAE) in the subsurface. Heidelberg, ALLEMAGNE, Springer.

- Field and Alvarez (2004). "Biodegradability of chlorinated solvents and related chlorinated aliphatic compounds." Reviews in Environmental Science and Biotechnology **3**(3): 185-254.
- García-Peña, Ortiz, y col. (2008). "Biofiltration of BTEX by the fungus *Paecilomyces variotii*." International Biodeterioration & Biodegradation **62**(4): 442-447.
- Gossett (1987). "Measurement of Henry's law constants for C1 and C2 chlorinated hydrocarbons." Environmental Science & Technology **21**(2): 202-208.
- Hartmans and Bont (1992). "Aerobic vinyl chloride metabolism in *Mycobacterium aurum* L1." Appl. Environ. Microbiol. **58**(4): 1220-1226.
- He, Ritalahti, y col. (2003). "Complete Detoxification of Vinyl Chloride by an Anaerobic Enrichment Culture and Identification of the Reductively Dechlorinating Population as a *Dehalococcoides* Species." Appl. Environ. Microbiol. **69**(2): 996-1003.
- Hoffmann, Patrianakos, y col. (1976). "Chemical studies on tobacco smoke. XXXVI. Chromatographic determination of vinyl chloride in tobacco smoke." Analytical Chemistry **48**(1): 47-50.
- IARC (2008) "IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans." 1,3-Butadiene, Ethylene Oxide and Vinyl Halides (Vinyl Fluoride, Vinyl Chloride and Vinyl Bromide) **97**, 525.
- Jeong, Hirai, y col. (2009). "Removal of xylene by a mixed culture of *Pseudomonas* sp. NBM21 and *Rhodococcus* sp. BTO62 in biofilter." Journal of Bioscience and Bioengineering **108**(2): 136-141.
- KAO (1994). Formation and removal reactions of hazardous air pollutants. Pittsburgh, PA, ETATS-UNIS, Air & Waste Management Association.
- Kennes and Thalasso (1998). "Waste gas Biotreatment Technology." J. Chem. Biotechnol **72**: 303-319.
- Khavanin, Rezaee, y col. (2006). "Biotrickling Filter of Contaminated Air with Methyl Tert Butyl Ether Using Lava Rock Media." Journal of Applied Sciences Research **2**(7): 418-422.
- Kielhorn, Melber, y col. (2000). "Vinyl Chloride: Still a Cause for Concern." Environmental Health Perspectives **108**(7): 579-588.
- Lange, Jühe, y col. (1974). "The so-called vinyl chloride disease-an occupationally caused systemic sclerosis." Int Arch Arbeitsmed **32**: 1-32.
- Langolf and Kleinheinz (2006). "A lava rock-based biofilter for the treatment of alpha-pinene." Bioresource Technology **97**(15): 1951-1958.
- Lehtomäki, Törrönen, y col. (1992). "A feasibility study of biological waste-air purification in a cold climate." Biotechniques for air pollution abatement and odour control policies: proceedings of an International Symposium The Netherlands.
- Liere and Groenestijn (2003). "Thermophilic biofiltration: Biological cleaning of hot and fatty wasty gases." VDI Berichte **1777**: 275-279.
- Luo, Liu, y col. (1999). Plasma p53 protein and anti-p53 antibody expression in vinyl chloride monomer workers in Taiwan. Hagerstown, MD, ETATS-UNIS, Lippincott Williams & Wilkins.
- LLC (1997). MANUALES DEL PROGRAMA DE INVENTARIOS DE EMISIONES DE MEXICO. Asociación de Gobernadores del Oeste Denver. Sacramento, CA. **VOLUMEN II – FUNDAMENTOS DE INVENTARIOS DE EMISIONES**: 8-2.
- Madigan, Martinko, y col. (1997). Brock Biology of Microorganisms. New Jersey.
- Malachowsky, Phelps, y col. (1994). "Aerobic Mineralization of Trichloroethylene, Vinyl chloride, and Aromatic Compounds by *Rhodococcus* Species." Applied and Environmental Microbiology **60**(2): 542-548.

- Maymo-Gatell, Chien, y col. (1997). "Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethane." Sci. **276**: 1568-1571.
- McCarty (1997). Biotic and Abiotic Transformations of Chlorinated Solvents in Ground Water. Proceedings of the Symposium on Natural Attenuation of Chlorinated Organics in Ground Water. Agency. Washington, DC, EPA/540/R-97/504.
- McNervin and Barford (2000). "Biofiltration as an odour abatement strategy." Biochemical Engineering Journal **5**: 231-242.
- Meza, Cutright, y col. (2003). Aerobic biodegradation of trichloroethylene using a consortium of five bacterial strains. Heidelberg, ALLEMAGNE, Springer.
- Morales, Revah, y col. (1998). "Start-up and the effect of gaseous ammonia additions on a biofilter for the elimination of toluene vapors." Biotechnology and Bioengineering **60**(4): 483-491.
- Morgenroth, Schroeder, y col. (1996). Nutrient limitation in a compost biofilter degrading hexane. Pittsburgh, PA, ETATS-UNIS, Air & Waste Management Association.
- Müller, Deller, y col. (1993). "Catalytic purification of waste gases containing chlorinated hydrocarbons with precious metal catalysts." Catalysis Today **17**(1-2): 383-390.
- Müller, Norporth, y col. (1978). "Determination of thiodiglycolic acid in urine specimens of vinyl chloride exposes workers." Int. Arch. occup. environ. Health **41**(3): 199-205.
- Olaniran, Pillay, y col. (2008). "Aerobic biodegradation of dichloroethenes by indigenous bacteria isolated from contaminated sites in Africa." Chemosphere **73**(1): 24-29.
- Olaniran., Pillay., y col. (2004). "Chloroethenes contaminants in the environment: Still a cause for concern." African Journal of Biotechnology **3** (12): 675-682.
- ORC (2003). "Remediation of Vinyl Chloride." ORC Technical Bulletin: 1-3.
- Phelps, Malachowsky, y col. (1991). "Aerobic mineralization of vinyl chloride by a bacterium of the order Actinomycetales." Appl. Environ. Microbiol. **57**(4): 1252-1254.
- Prado, Veiga, y col. (2005). "Treatment of gas-phase methanol in conventional biofilters packed with lava rock." Water Research **39**(11): 2385-2393.
- Revah-Moiseev and López (2004). El desarrollo de Bioprocesos para el tratamiento de aire contaminado emitido por fuentes fijas. Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna. Zapata. México D.F., El Colegio Nacional.
- Romero, Bustos, y col. (2008). Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por Pseudomonas en suelos contaminados por hidrocarburos. NOVA - Publicación Científica EN CIENCIAS BIOMÉDICAS. **6**: 76-84.
- Semprini, Roberts, y col. (1990). "A Field Evaluation of In-Situ Biodegradation of Chlorinated Ethenes: Part 2, Results of Biostimulation and Biotransformation Experiments." Ground Water **28**(5): 715-727.
- Shareefdeen (2002). "Removing volatile organic compound (VOC) emissions from a printed circuit board manufacturing facility using pilot and commercial-scale biofilters." Environmental Progress **21**(3): 196-201.
- SIDS (2001). Initial Assessment Report Vinyl Chloride, UNEP Publications.
- Sing, Löffler, y col. (2004). "Aerobic biodegradation of vinyl chloride by a highly enriched mixed culture." Biodegradation **15**(3): 197-204.
- Sing, Löffler, y col. (2004). "Aerobic biodegradation of vinyl chloride by a highly enriched mixed culture." Biodegradation **15**(3): 197-204.
- Squillace, Moran, y col. (1999). "Volatile Organic Compounds in Untreated Ambient Groundwater of the United States, 1985-1995." Environmental Science & Technology **33**(23): 4176-4187.
- Strutt (1997) "What's wrong with PVC?".

- Swanson and Loehr (1997). "Biofiltration fundamentals, design and operations principles, and applications." Journal of Environmental Engineering-ASCE **123**: 538-546.
- Tartakovsky, Manuel, y col. (2005). "Degradation of trichloroethylene in a coupled anaerobic-aerobic bioreactor: Modeling and experiment." Biochemical Engineering Journal **26**(1): 72-81.
- Thiess and Versen (1974). "Occupational medical thoughts on the so-called "vinyl chloride disease"." Arbeitsmed Sozialmed Präventivmed **7**: 146-148.
- Ulloa (2005). Diseño de un sistema de biofiltración para la eliminación de olores en la fábrica "Lubascher y Krause" Temuco. Facultad de Ingeniería. Temuco, Universidad Católica de Temuco. **Lic. en Ciencias de la Ingeniería**: 162.
- Verce, Ulrich, y col. (2000). "Characterization of an Isolate That Uses Vinyl Chloride as a Growth Substrate under Aerobic Conditions." Appl. Environ. Microbiol. **66**(8): 3535-3542.
- Vogel, Criddle, y col. (1987). "ES Critical Reviews: Transformations of halogenated aliphatic compounds." Environmental Science & Technology **21**(8): 722-736.
- Wani, Branion, y col. (1997). Biofiltration : A promising and cost-effective control technology for odors, VOCs and air toxics. New York, NY, ETATS-UNIS, Dekker.
- Wark and Warner (2004). Contaminación del aire: origen y control. México D.F., Limusa-Wiley.
- Warren and Oler (1997). "Biofiltration: Fundamentals, design, and operations principles, and applications. ." Journal of Environmental Engineering.
- Zhao, Schmidt, y col. (2009). "Inhibition of aerobic metabolic cis-1,2-di-chloroethene biodegradation by other chloroethenes." Water Research **44**(7): 2276-2282.