



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO
UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARÍA

PROGRAMA CONJUNTO DE DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA

Biofiltración de un conjunto de compuestos hidrofílicos y aromáticos hidrofóbicos
odorantes de emisiones gaseosas industriales

Tesis presentada para la obtención del Grado Académico de

DOCTOR EN BIOTECNOLOGÍA

Alumno: Sr. Sebastian Erick Amaro Belmar

Profesor guía: Dr. Germán Aroca Arcaya

Julio 2026



CONSTANCIA DE VALIDACIÓN Y CONFIDENCIALIDAD DE MONOGRAFÍA A REPOSITORIO ACADÉMICO

1.- IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO ACADÉMICO

Tipo de monografía (marcar una opción): ☐ Memoria o trabajo de título ☒ Tesis de Postgrado

Título del trabajo: Biofiltración de un conjunto de compuestos hidrofílicos y aromáticos hidrofóbicos odorantes de emisiones gaseosas industriales

Nombre del candidato(a): Sebastian Erick Amaro Belmar

Carrera / Grado: Doctor en Biotecnología

Campus: Casa Central **Departamento:** Doctorado Biotecnología

2.- VALIDACIÓN DEL PROFESOR GUÍA/DIRECTOR DE TESIS

Yo, German Aroca Arcaya, en mi calidad de profesor(a) guía/director(a) del trabajo académico mencionado anteriormente **DEJO CONSTANCIA** que:

- He revisado esta versión del documento y corresponde a la versión final aprobada del trabajo.
- El trabajo cumple con los requisitos académicos y de formato establecidos por la institución.

3.- EVALUACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD POR PROPIEDAD INDUSTRIAL (marcar una opción)

☒ El trabajo **NO contiene** información que amerite confidencialidad y puede ser publicado de inmediato en repositorio con acceso abierto.

☐ El trabajo **CONTIENE** información con potenciales implicancias de propiedad industrial o intelectual y requiere un periodo de confidencialidad (**embargo**) por (marcar una opción):

☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 2 años ☐ 3 años ☐ 5 años ☐ 10 años

Fundamentación de la necesidad de confidencialidad (obligatorio si se solicita embargo):

4.- FIRMAS

Profesor(a) guía o director(a) de memoria o tesis:

Fecha: 31-07-2026

Firma:

Estudiante o Candidato(a):

Fecha: 31-07-2026

Firma:

Este formulario debe ser insertado como página 2 de la memoria o tesis, completado y firmado por estudiante y profesor(a) antes de la entrega en portal PRISMA de Biblioteca USM.

ÍNDICE.

ÍNDICE DE TABLAS.	1
ÍNDICE DE FIGURAS.	2
ÍNDICE DE ECUACIONES.	4
AGRADECIMIENTOS.	5
1 INTRODUCCIÓN.	10
HIPOTESIS.	17
OBJETIVOS DEL ESTUDIO.	17
OBJETIVO GENERAL.	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	17
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	18
2.1 COMPUESTOS ODORANTES EN EMISIONES GASEOSAS INDUSTRIALES.	18
2.1.1 ANTECEDENTES DE LAS EMISIONES ODORANTES.	18
2.1.2 RESEÑA DE LA CONTAMINACIÓN POR OLORES EN EL ÁMBITO NACIONAL.	18
2.1.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EMISIONES OLOROSAS.	19
2.1.4 CUANTIFICACIÓN DEL OLOR	21
2.1.5 TECNOLOGÍAS DE ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES ODORANTES.	22
2.1.6 MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS.	23
2.1.6.1 Incineración u oxidación.	23
2.1.6.2 Absorción.	24
2.1.6.3 Adsorción.	24
2.1.6.4 Condensación.	25
2.1.7 MÉTODOS BIOLÓGICOS.	26
2.1.7.1 Compuestos y microorganismos de interés en la eliminación de olor.	29
2.1.8 ENZIMAS Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA FÚNGICA.	35
2.1.8.1 Lignino peroxidasa.	37
2.1.8.2 Manganese Peroxidasa.	39
2.1.8.3 Manganese Independiente Peroxidasa o Versátil Peroxidasa.	40
2.1.8.4 Lacasa.	41
2.1.9 APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LAS ENZIMAS LIGNOLÍTICAS FÚNGICAS.	44
2.1.9.1 Hongos y enzimas fúngicas en biorremediación.	45
3 MATERIALES Y MÉTODOS.	50
3.1 MÉTODOS ANALÍTICOS.	50
3.1.1 MEDICIÓN DE CONCENTRACIÓN DE SULFURO DE HIDRÓGENO Y AMONÍACO EN FASE GASEOSA.	50

3.1.2	DETERMINACIÓN DE FENOL, INDOL Y P-CRESOL EN FASE LIQUIDA Y GASEOSA.	50
3.1.3	MEDICIÓN DE AMONÍACO, NITRITO Y NITRATOS EN FASE LIQUIDA.	51
3.1.4	DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES DE SULFATO.	52
3.1.5	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA.	52
3.2	MICROORGANISMOS SELECCIONADOS.	53
3.2.1	BACTERIAS PARA LA REMOCIÓN DE AMONÍACO Y ÁCIDO SULFÚDRICO.	53
3.2.2	HONGOS CANDIDATOS PARA LA REMOCIÓN DE INDOL Y P-CRESOL.	54
3.2.3	MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS EN LA CARACTERIZACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS HONGOS.	54
3.2.3.1	Métodos de crecimiento inicial y cultivo.	54
3.2.3.2	Métodos para la selección de uno de los hongos propuestos.	56
3.3	MONTAJE Y OPERACIÓN DEL SISTEMA DE BIOFILTRACIÓN.	56
3.3.1	SISTEMA DE GENERACIÓN DE GASES.	56
3.3.1.1	Generación de amoníaco.	56
3.3.1.2	Generación de ácido sulfúdrico.	57
3.3.1.3	Generación de Indol y p-cresol.	58
3.3.2	DESCRIPCIÓN DEL MONTAJE Y OPERACIÓN DE LOS BIOFILTROS.	59
3.3.2.1	Descripción del biofiltro de escurrimiento.	59
3.3.2.2	Descripción del biofiltro fúngico.	60
3.3.3	DISEÑO DE LAS EXPERIENCIAS DE REMOCIÓN DE COMPUESTOS.	62
3.3.3.1	Biofiltros independientes, primeras etapas del montaje y operación de los equipos.	62
3.3.3.2	Biofiltros conectados en serie.	63
3.3.4	BALANCES DE MASA DE INDOL Y PARA CRESOL EN BIOFILTRO DE LECHO FIJO.	65
3.3.5	DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN Y PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE COMPUESTOS, Y REMOCIÓN DE OLOR.	67
3.3.6	DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.	68
3.3.7	ESTIMACIONES DE LA BIOMASA FÚNGICA PRESENTE EN LA COLUMNA.	69
3.4	RESUMEN DE LA METODOLOGÍA.	70

4 RESULTADOS. **72**

4.1	RESULTADOS DE LA SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS.	72
4.1.1	SELECCIÓN DEL CONSORCIO BACTERIANO.	72
4.1.2	SELECCIÓN DE HONGO PARA LAS EXPERIENCIAS.	72
4.1.2.1	Cinéticas de crecimiento de los hongos en medio líquido y en presencia de fenol.	73
4.2	RESULTADOS DE CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE LOS BIOFILTROS.	77
4.2.1	CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE AMONÍACO.	77
4.2.1.1	Eliminación de olor de amoníaco	78
4.2.1.2	Balance de nitrógeno.	79
4.2.2	CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE ÁCIDO SULFÚDRICO.	80
4.2.2.1	Eliminación de olor de ácido sulfúdrico	81
4.2.2.2	Discusión de los resultados de eliminación de amoníaco y ácido sulfúdrico.	83
4.2.2.3	Balance de azufre.	85
4.2.3	CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE INDOL.	86
4.2.3.1	Eliminación de olor de indol y p-cresol	88
4.2.3.2	Discusión conjunta de los resultados de la eliminación de indol y p-cresol.	91
4.2.3.3	Balance de masa para indol y p-cresol en el biofiltro de lecho fijo.	93

4.2.4	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN EL BIOFILTRO DE LECHO FIJO.	94
4.2.5	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS ASOCIADOS A LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.	96
4.3	OTROS RESULTADOS.	98
4.3.1	ESTIMACIÓN DE LA BIOMASA DE HONGOS PRESENTES EN LA COLUMNA.	98
4.3.1.1	Discusión de los resultados asociados a la biomasa fúngica	99
5	CONCLUSIONES.	101
6	RECOMENDACIONES.	102
7	ANEXOS.	103
7.1	ANEXO A: MATERIALES Y MÉTODOS.	103
7.1.1	CURVAS DE CALIBRADOS DE CONCENTRACIONES DE INDOL, FENOL Y P-CRESOL EN FASE LÍQUIDO Y GASEOSA.	103
7.1.2	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA.	104
7.1.3	CONCENTRACIÓN DE INDOL Y P-CRESOL EN FASE GASEOSA EN SISTEMA DE GENERACIÓN DE GASES.	104
7.1.4	REMOCIÓN DE INDOL Y P-CRESOL EN LA COLUMNA FÚNGICA.	105
7.1.5	EQUIPO PARA LA MEDICIÓN DE AMONÍACO Y ÁCIDO SULFÚDRICO.	106
7.1.6	FOTOGRAFÍA DEL SISTEMA DE BIOFILTROS.	106
7.1.7	CÁLCULOS PARA LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL SOPORTE ORGÁNICO.	107
7.1.8	MODELO PARA LA ESTIMACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL ESCOBAJO.	108
7.2	ANEXO B: RESULTADOS.	111
7.2.1	CONCENTRACIONES DE ÁCIDO SULFÚDRICO Y SULFATOS EN EL BIOFILTRO BACTERIANO.	112
7.2.2	DATOS DE CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN Y EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE AMONÍACO EN EL BIOFILTRO DE ESCRURIMIENTO OPERANDO COMO PARTE DEL SISTEMA.	113
7.2.3	CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN Y EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE ÁCIDO SULFÚDRICO EN EL BIOFILTRO DE ESCRURIMIENTO OPERANDO COMO PARTE DEL SISTEMA.	114
7.2.4	DATOS DE CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN Y EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE P-CRESOL EN EL BIOFILTRO FÚNGICO OPERANDO COMO PARTE DEL SISTEMA COMPLETO.	115
7.2.5	DATOS DE CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN Y EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE INDOL EN EL BIOFILTRO FÚNGICO OPERANDO COMO PARTE DEL SISTEMA COMPLETO.	116
7.2.6	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA CON EL BIOFILTRO OPERANDO INDEPENDIENTEMENTE.	117
7.2.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LAS MEDICIONES DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS PARA EL BIOFILTRO FÚNGICO OPERANDO EN SERIE CON EL BIOFILTRO BACTERIANO.	118
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	120

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 2-1 Compuestos volátiles en emisiones gaseosas industriales que causan molestias.	20
Tabla 3-1 Medio utilizado para la activación y propagación de <i>Thiobacillus thioparus</i>	53
Tabla 3-1 Medio utilizado para la activación y propagación de <i>Nitrosomonas europaea</i>	53
Tabla 3-2 Medio de cultivo de los hongos en placas Petri.	54
Tabla 3-3 Medio de Kirk modificado para el cultivo de los hongos.	54
Tabla 3-4 Concentraciones de la solución de trazas utilizadas para el cultivo de hongos.	55
Tabla 3-5 Composición del medio de recirculación del biofiltro de escurrimiento.	60
Tabla 3-6 Parámetros físicos del escobajo de uva utilizado en el biofiltro fúngico.	62
Tabla 4-1 Datos del balance masa para indol y p-cresol realizado en la columna fúngica operando independientemente.	93
Tabla 4-2 Datos del del balance de masa para indol y p-cresol, en el biofiltro de lecho fijo operando en el sistema completo.	94
Tabla 4-3 Valores de actividad enzimática de lacasa, manganeso peroxidasa y manganeso independiente peroxidasa, se muestra la media de cada medición realizada en duplicado.	94
Tabla 7-1. Datos de la medición de biomasa fúngica.	111
Tabla 7-2. Concentraciones de amoníaco en el aire de entrada del sistema de biofiltración.	112
Tabla 7-3. Concentraciones de ácido sulfhídrico en la entrada y salida del sistema de biofiltración.	112
Tabla 7-4. Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de amoníaco.	113
Tabla 7-5. Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de ácido sulfhídrico.	114
Tabla 7-6. Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de p-cresol.	115
Tabla 7-7. Capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de indol.	116
Tabla 7-8. Datos de actividades por zona del biofiltro de lecho fijo operando independientemente.	117

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1-1. Producción de carnes en Chile en el periodo 2002 a 2012.	11
Figura 1-2. Distribución porcentual de la producción de ganado porcino en Chile.....	12
Figura 1-3. Esquema de la zona de cría y engorda de cerdos en una planta de producción.	13
Figura 2-1. Esquema de funcionamiento de incineradores para eliminar olores.	24
Figura 2-2. Esquema de funcionamiento de los procesos de absorción y adsorción.	25
Figura 2-3. Esquema de un biofiltro de lecho fijo para el tratamiento de gases.	27
Figura 2-4. Esquema de un biofiltro de lecho escurrido.	28
Figura 2-5. Anthracophyllum discolor (A) y Stereum hirsutum (B) en la naturaleza.	35
Figura 2-6. Estructura de los monómeros y unidades estructurales de la lignina.	37
Figura 2-7. Ciclo catalítico de la enzima Lignino Peroxidasa.	38
Figura 2-8. Ciclo catalítico de la enzima manganeso peroxidasa.	40
Figura 2-9. Ciclo catalítico de la enzima lacasa.	43
Figura 2-10. Estructura del ABTS y modelo del mecanismo de acción con la enzima lacasa.	43
Figura 3-1. Esquema y detalle de las partes del sistema de generación de amoníaco y ácido sulfhídrico.	57
Figura 3-2. Esquema y detalle de las partes del sistema de generación de Indol y para cresol.	58
Figura 3-3. Esquema del sistema de generación único de gases.	59
Figura 3-4. Esquemas de los biofiltros utilizados en el estudio.	61
Figura 3-5. Conexión en serie de los biofiltros y detalles.	64
Figura 3-6. Esquema del sistema completo de generación y tratamiento de gases odorantes.	65
Figura 3-7. Imágenes referenciales de escobajo, turba y vermiculita utilizada en el estudio.	65
Figura 3-8. Etapas para realizar los balances de masa de indol y p-cresol.	66
Figura 3-9. Resumen de las principales etapas de la metodología.	71
Figura 4-1. Cinéticas de crecimiento de Anthracophyllum discolor (A) y Stereum hirsutum (B).	72
Figura 4-2. Cinéticas de crecimiento de los hongos en medio líquido y en presencia de fenol.	74
Figura 4-3. Cinéticas de crecimiento los hongos en medio líquido y en presencia de fenol.	75
Figura 4-4. Cinéticas de crecimiento de los hongos en medio líquido y en presencia de fenol.	76
Figura 4-5. Porcentajes de remoción y capacidades de eliminación para amoníaco.	77
Figura 4-6. Porcentajes de remoción y capacidades de eliminación de olor para amoníaco.	78
Figura 4-7. Remoción de olor para NH ₃ en función de la carga de compuesto.	79
Figura 4-8. Concentraciones de NH ₃ /NH ₄ ⁺ en el biofiltro bacteriano.	79
Figura 4-8. Porcentajes de remoción y capacidades de eliminación de ácido sulfhídrico.	81
Figura 4-10. Eficiencia de remoción de olor y capacidades de eliminación en AOV para H ₂ S.	82
Figura 4-11. Remoción de olor para H ₂ S en función de la carga de compuesto.	83
Figura 4-12. Concentraciones asociadas al balance de azufre en el biofiltro de escurrimiento.	85
Figura 4-13. Capacidades de eliminación de indol y eficiencias de remoción de indol.	86
Figura 4-14. Capacidades de eliminación y eficiencias de remoción de p-cresol.	88
Figura 4-15. Capacidades de eliminación de olor para indol en AOV para el biofiltro fúngico.	89
Figura 4-16. Capacidades de eliminación de olor de p-cresol en OAV para el biofiltro fúngico.	90
Figura 4-17. Remoción de olor de indol en función de la carga del compuesto.	91
Figura 4-18. Remoción de olor de p-cresol en función de la carga del compuesto.	91
Figura 4-19. Valores de actividad enzimática en la columna fúngica.	95

Figura 4-20. Valores de actividad enzimática.	96
Figura 4-21. Evolución de la biomasa fúngica en la tercera etapa del estudio.....	98
Figura 7-1. Curvas de calibrados de concentraciones de indol, fenol y para cresol en fase líquido y gaseosa.	103
Figura 7-2. Curva de calibrado de glucosa por métodos DNS.	104
Figura 7-3. Concentraciones de indol y p-cresol en la corriente gaseosa para distintas temperaturas del baño calefactor.....	104
Figura 7-4. Ejemplo de cromatogramas de indol y p-cresol en fase gaseosa.	105
Figura 7-5. Equipo Dräger X-am 5000.	106
Figura 7-6. Biofiltro de lecho fijo montado en el laboratorio.....	106
Figura 7-7. Fotografía de un pedúnculo de escobajo y su asociación con una figura geométrica simple.	108
Figura 7-8. Racimo de escobajo y modelo de racimo para estimar la fracción de huecos y densidades del material.	108
Figura 7-9. Ejemplo de mediciones de masa de racimos de escobajo para determinar la densidad aparente del material.	110

ÍNDICE DE ECUACIONES.

Ecuación 2-2. Mecanismo oxidación de la enzima lacasa.....	41
Ecuación 3-1 Capacidad de eliminación de un compuesto odorante en un biofiltro.....	67
Ecuación 3-2 Eficiencia de remoción de un compuesto odorante en un biofiltro.....	67
Ecuación 3-3. Cálculo del valor de actividad de olor para un compuesto.	67
Ecuación 3-4 Eficiencia de remoción de un compuesto odorante en un biofiltro.....	68
Ecuación 3-3 Cálculo de la actividad enzimática.	69
Ecuación 7-1. Densidad de la madera de escobajo.	107
Ecuación 7-2. Fracción de huecos del escobajo.	107
Ecuación 7-3. Área específica del escobajo.	107
Ecuación 7-4. Densidad aparente del escobajo.	107

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a Dios por permitirme llegar al final de este camino y por darme la oportunidad de compartir esta experiencia con personas amantes del conocimiento.

Agradezco, de manera muy especial, a mi esposa, Gabriela Canabes, porque sin su apoyo incondicional, paciencia y amor, jamás habría sido posible escribir estas palabras.

A mis hijos, Gabriel y Martina, gracias por su paciencia y por comprender las innumerables horas en que este desafío me convirtió en un padre ausente.

A mi madre, Alicia Belmar, por el esfuerzo y sacrificio de toda una vida, que hicieron posible que hoy pueda estar aquí.

Expreso mi sincero agradecimiento a la Universidad Técnica Federico Santa María y a la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso por brindarme la oportunidad de cursar este programa y crecer tanto en el ámbito académico como personal.

Agradezco a todo el equipo que participó en esta investigación y, de manera muy especial, a mi profesor Germán Aroca, por su paciencia, confianza y por aceptar el desafío de guiar a un estudiante poco ortodoxo.

Mi gratitud también para Manuel Valenzuela, quien me enseñó con generosidad innumerables aspectos del trabajo de laboratorio que desconocía por completo. Más que un colega, encontré en él a un verdadero amigo.

A María Paz Aguilar, gracias por su permanente apoyo, su alegría y su capacidad de entregar ánimo en los momentos más difíciles.

A mi profesor Michael Seeger, por su constante disposición, su sonrisa sincera y el apoyo que siempre me brindó durante el desarrollo del programa.

A mi amigo Esli Lobaina, quien nunca permitió que el cansancio ni las dificultades se apoderaran de mí. Su amistad fue una fuente permanente de fortaleza y alegría.

Finalmente, agradezco a todos mis amigos, colegas y compañeros de trabajo por su apoyo, comprensión y ayuda para alcanzar esta meta.

Quisiera también aprovechar esta oportunidad para ofrecer mis más sinceras disculpas por cualquier desilusión, desencuentro o momento en que, producto de las exigencias de este desafío, pude haber afectado a alguno de ustedes.

Que nuestro Padre celestial, Dios, bendiga siempre a cada uno de ustedes y a sus familias.

Muchas gracias.

Sebastián.

RESUMEN.

El tratamiento de emisiones gaseosas contaminadas provenientes de actividades industriales constituye un desafío ambiental relevante, debido al incremento de las exigencias regulatorias y a la necesidad de desarrollar tecnologías eficientes y sostenibles para el control de contaminantes atmosféricos. En este estudio se evaluó un sistema biológico híbrido para el tratamiento de una mezcla compleja de compuestos odorantes con características hidrofílicas e hidrofóbicas. El sistema propuesto estuvo compuesto por dos biofiltros conectados en serie: un biofiltro de escurrimiento colonizado por las bacterias *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea*, destinado a la remoción de amoníaco y ácido sulfhídrico, y un biofiltro de lecho fijo colonizado por el hongo ligninolítico *Anthracophyllum discolor*, orientado al tratamiento de indol y p-cresol.

La corriente gaseosa utilizada para alimentar el sistema contenía amoníaco y ácido sulfhídrico como compuestos hidrofílicos, además de indol y p-cresol como compuestos hidrofóbicos. Inicialmente, ambos biofiltros fueron operados de manera independiente con el objetivo de establecer valores de referencia para evaluar posteriormente el desempeño del sistema integrado. El biofiltro de escurrimiento alcanzó capacidades de eliminación total de amoníaco y ácido sulfhídrico asociadas a cargas de entrada de hasta 8 y 4 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$, respectivamente. Por otro lado, el biofiltro de lecho fijo presentó capacidades de eliminación total cercanas a 12 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para indol y 20 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para p-cresol.

Posteriormente, ambos biofiltros fueron conectados en serie y operados durante 90 días utilizando una única corriente gaseosa contaminada con los cuatro compuestos. Bajo esta configuración, el sistema alcanzó capacidades de eliminación total asociadas a cargas de entrada de 8 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para amoníaco, 6 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para ácido sulfhídrico, 12 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para indol y 30 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para p-cresol. La comparación con la operación independiente de cada biofiltro evidenció que la presencia simultánea de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos no afectó negativamente el desempeño del sistema, demostrando la complementariedad entre ambas etapas de tratamiento.

El biofiltro fúngico utilizó como soporte un material lignocelulósico de escobajo de uva, el cual favoreció el establecimiento de *A. discolor* y la actividad de enzimas ligninolíticas asociadas a la degradación de compuestos aromáticos recalcitrantes. Durante la operación del sistema se determinaron actividades máximas de 6 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ para lacasa, 6 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ para manganeso peroxidasa y 5 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ para manganeso independiente peroxidasa. El análisis estadístico indicó que la actividad enzimática no presentó dependencia significativa con el tiempo de operación del biofiltro, evidenciando estabilidad de la actividad oxidativa durante el período evaluado.

Respecto a la remoción de olor, expresada como actividad de olor (AOV), mostró valores de aproximadamente 100 y 200 AOV para amoníaco en el biofiltro de escurrimiento y en el sistema integrado, respectivamente. Para ácido sulfhídrico se alcanzaron valores superiores a 10.000 AOV en el biofiltro bacteriano y cercanos a 20.000 AOV en el sistema de dos etapas. En el caso del indol, la remoción total alcanzó aproximadamente 15.000 AOV en el biofiltro fúngico y cerca de 30.000

AOV en el sistema integrado, mientras que para p-cresol se obtuvieron valores superiores a 10.000 y 20.000 AOV en el biofiltro fúngico y en el sistema completo, respectivamente.

Para todos los compuestos, los valores de remoción porcentual de olor respecto de la carga de compuesto en la entrada de los biofiltros mostro valores similares entre la situación base y el sistema de dos biofiltros conectados en serie, excepto el caso del H_2S en donde se aprecia una mayor remoción respecto de la situación base.

Los resultados obtenidos demuestran que un sistema híbrido compuesto por un biofiltro bacteriano de escurrimiento y un biofiltro fúngico de lecho fijo permite tratar eficientemente mezclas complejas de contaminantes gaseosos con propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas, posicionando esta configuración como una alternativa prometedora para futuras aplicaciones a escala industrial.

ABSTRACT.

The treatment of contaminated gaseous emissions generated by industrial activities represents a significant environmental challenge due to the increasing stringency of regulatory requirements and the need to develop efficient and sustainable technologies for the control of atmospheric pollutants. In this study, a hybrid biological system was evaluated for the treatment of a complex mixture of odor-causing compounds with hydrophilic and hydrophobic characteristics. The proposed system consisted of two biofilters connected in series: a biotrickling filter colonized by the bacteria *Thiobacillus thioparus* and *Nitrosomonas europaea*, aimed at the removal of ammonia and hydrogen sulfide, and a fixed-bed biofilter colonized by the ligninolytic fungus *Anthracophyllum discolor*, designed for the treatment of indole and p-cresol.

The gaseous stream used to feed the treatment system contained ammonia and hydrogen sulfide as hydrophilic compounds, as well as indole and p-cresol as hydrophobic compounds. Initially, both biofilters were operated independently in order to establish reference values for the subsequent evaluation of the integrated system performance. The biotrickling filter achieved complete removal capacities for ammonia and hydrogen sulfide associated with inlet loads of up to 8 and 4 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$, respectively. Conversely, the fixed-bed biofilter showed complete removal capacities close to 12 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ for indole and 20 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ for p-cresol.

Subsequently, both biofilters were connected in series and operated for 90 days using a single contaminated gas stream containing the four compounds. Under this configuration, the system achieved complete removal capacities associated with inlet loads of 8 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ for ammonia, 6 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ for hydrogen sulfide, 12 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ for indole, and 30 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ for p-cresol. Comparison with the independent operation of each biofilter demonstrated that the simultaneous presence of hydrophilic and hydrophobic compounds did not negatively affect system performance, confirming the complementary behavior of both treatment stages.

The fungal biofilter used grape stalk, a lignocellulosic material, as support medium, which promoted the establishment of *A. discolor* and the activity of ligninolytic enzymes associated with the degradation of recalcitrant aromatic compounds. During system operation, maximum enzymatic activities of 6 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ for laccase, 6 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ for manganese peroxidase, and 5 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ for manganese-independent peroxidase were determined. Statistical analysis indicated that enzymatic activity was not significantly dependent on the biofilter operating time, demonstrating the stability of oxidative activity throughout the evaluated period.

Regarding odor removal, expressed as odor activity values (OAV), ammonia removal showed values of approximately 100 and 200 OAV in the biotrickling filter and in the integrated system, respectively. For hydrogen sulfide, values higher than 10,000 OAV were achieved in the bacterial biofilter and values close to 20,000 OAV were obtained in the two-stage system. In the case of indole, complete removal reached approximately 15,000 OAV in the fungal biofilter and nearly

30,000 OAV in the integrated system, while for p-cresol values higher than 10,000 and 20,000 OAV were obtained in the fungal biofilter and in the complete system, respectively.

For all compounds, the percentage odor removal values with respect to the compound load at the biofilter inlet showed similar values between the baseline situation and the system of two biofilters connected in series, except for the case of H₂S where a greater removal was observed compared to the baseline situation.

The results demonstrate that a hybrid system composed of a bacterial biotrickling filter and a fungal fixed-bed biofilter can efficiently treat complex mixtures of gaseous pollutants with hydrophilic and hydrophobic properties, positioning this configuration as a promising alternative for future industrial-scale applications.

1 INTRODUCCIÓN.

Las emisiones gaseosas provenientes de instalaciones industriales y actividades con potencial impacto ambiental generan efectos significativos sobre el entorno. Uno de los más relevantes es la generación de olores, los cuales pueden propagarse a grandes distancias debido a los procesos de dispersión atmosférica y a los bajos umbrales de detección olfativa de ciertos compuestos odorantes, [1]. Los olores constituyen una de las principales causas de denuncias y reclamos asociados a problemas ambientales en numerosos países. En Chile, según el informe “Antecedentes para la regulación de olores en Chile”, se han identificado diversos establecimientos cuyas actividades presentan un alto potencial de generar molestias odoríferas. Entre estas fuentes destacan las plantas de tratamiento de aguas residuales y los vertederos [2]; establecimientos de cría y engorde de animales y mataderos [3]; curtiembres y plantas de procesamiento de subproductos animales [4], [5]; fábricas de celulosa [6], industria pesquera y de procesamiento de productos del mar [7].

Desde el punto de vista químico, los compuestos presentes en las emisiones gaseosas asociadas a actividades industriales presentan una naturaleza muy diversa. En particular, en la industria de cría y engorda de animales, estos compuestos pueden clasificarse según su naturaleza química en tres grupos principales: compuestos nitrogenados volátiles (VNC), como el amoníaco (NH_3); compuestos volátiles de azufre reducido (VRSC), también denominados compuestos de azufre reducido total (TRS), entre los que destaca el sulfuro de hidrógeno (H_2S); y compuestos orgánicos volátiles (COV). A su vez, los COV pueden subdividirse en diferentes categorías, tales como ácidos grasos volátiles (AGV), hidrocarburos alifáticos —incluyendo alcanos, alquenos y terpenos—, así como compuestos aromáticos y heterocíclicos aromáticos. La combinación y concentración de estos compuestos determinan en gran medida las características odorantes de las emisiones y su potencial impacto sobre las comunidades circundantes.

En las plantas de crianza y engorda de cerdos, muchos de estos compuestos se encuentran presentes en las emisiones gaseosas asociadas al estiércol porcino y constituyen los principales responsables de los olores molestos característicos de esta actividad [10]. Diversos estudios han descrito efectos aditivos y sinérgicos entre algunos de estos compuestos, los cuales, al actuar de manera conjunta, pueden generar intensidades odorantes significativamente mayores que las producidas por cada compuesto de forma individual [11]. En el caso de las emisiones generadas durante el procesamiento de subproductos animales y en las instalaciones de faenamiento, se han identificado compuestos pertenecientes a todas las categorías químicas previamente descritas [12]. Esta diversidad química, sumada a los extremadamente bajos umbrales de detección olfativa de algunos de estos compuestos, dificulta la eliminación completa de los contaminantes odorantes mediante una única operación de tratamiento, lo que representa un desafío importante para el control y abatimiento de olores en este tipo de instalaciones.

En Chile, esta problemática se encuentra presente en la industria de producción porcina [8], un sector de gran relevancia económica y con importante proyección de desarrollo para el país. Sin embargo, el crecimiento de la población en las cercanías de estos establecimientos, sumado a la limitada disponibilidad de tecnologías de tratamiento de olores que sean simultáneamente eficientes y de

bajo costo, ha incrementado los conflictos socioambientales asociados a esta actividad, generando numerosas denuncias y reclamos por molestias odoríferas por parte de las comunidades vecinas.

Un caso emblemático ocurrió en 2012 en la comuna de Freirina, Región de Atacama, donde una planta de crianza y faenamiento de cerdos provocó un episodio crítico de emisión de malos olores y proliferación de vectores de interés sanitario. Esta situación generó una fuerte reacción de la comunidad local, que culminó con el cierre de las instalaciones y evidenció la necesidad de fortalecer la gestión ambiental de los olores en el país.

Como consecuencia de este evento, el Ministerio del Medio Ambiente impulsó el desarrollo de una estrategia nacional para la gestión de olores, orientada a establecer herramientas de prevención, control y regulación de las emisiones odorantes. En este contexto, se inició el proceso que condujo a la publicación de la primera Norma de Emisión de Olores para Planteles Porcinos en Chile [9], constituyendo un hito relevante en la regulación ambiental de este tipo de emisiones.

Como actividad industrial, la producción de carne de cerdo constituye un sector de gran relevancia para la economía nacional, representando aproximadamente el 37 % de la producción total de carnes en Chile. Además, esta industria ha experimentado un importante crecimiento durante las últimas décadas, consolidándose como uno de los principales rubros pecuarios del país. La evolución de las cantidades de carne de cerdo producidas desde el año 2002 se presenta en la Figura 1-1 [10].

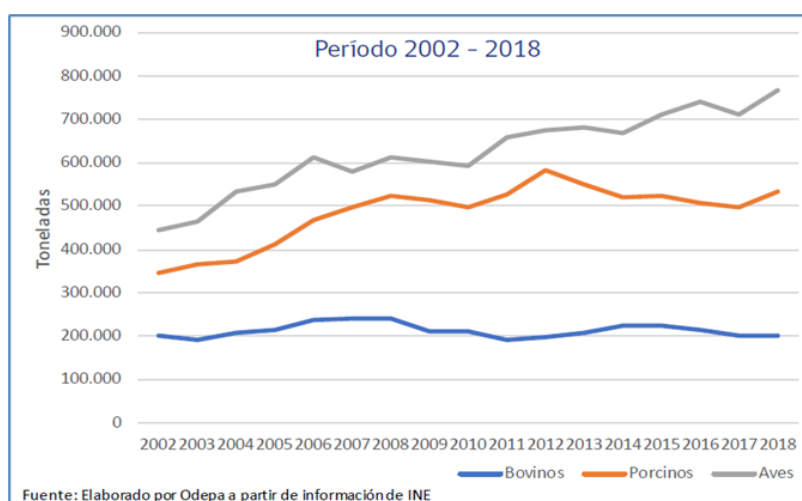


Figura 1-1. Producción de carnes en Chile en el periodo 2002 a 2012.

Comparación de las carnes de ave, bovinos y porcinos, tomado del informe “La industria Porcina Oportunidades y Desafíos 2019”.

Las instalaciones de producción porcina en Chile se localizan principalmente en zonas rurales, alejadas de los centros urbanos. Sin embargo, el crecimiento de la población en sectores rurales, junto con la insuficiente implementación de tecnologías de tratamiento capaces de mitigar eficazmente las emisiones odorantes, ha incrementado los conflictos entre estas actividades productivas y las comunidades cercanas. Como consecuencia, se han registrado numerosas denuncias y reclamos asociados a molestias por olores, lo que ha impulsado la búsqueda de soluciones tecnológicas y el desarrollo de marcos regulatorios para abordar esta problemática.

Aunque este tipo de contaminación no suele estar directamente asociado a la generación de enfermedades, sí produce importantes molestias y una disminución de la calidad de vida de la población expuesta [11].

Con el propósito de evidenciar las áreas de mayor impacto potencial, la Figura 1-2 presenta la distribución regional del número de cabezas de ganado porcino en Chile durante el año 2019.

En términos generales, las plantas de crianza y engorda de cerdos están conformadas por galpones que contienen áreas destinadas al alojamiento de los animales. Estas instalaciones disponen de pisos ranurados que permiten el paso de las fecas, la orina y las aguas de lavado —conocidas en conjunto como purines— hacia una estructura inferior denominada fosa o pozo. Los purines acumulados constituyen una de las principales fuentes de generación de compuestos odorantes y, debido a la necesidad de ventilación de estas instalaciones, las emisiones gaseosas pueden ser liberadas a la atmósfera cuando no se dispone de sistemas adecuados de tratamiento[12]. La Figura 1-3 muestra un esquema representativo de una planta de crianza y engorda de cerdos. En este tipo de instalaciones se han identificado más de 300 compuestos asociados a olores molestos [5].

Entre los compuestos generados durante la descomposición anaerobia de los purines destaca el sulfuro de hidrógeno (H_2S), considerado uno de los principales responsables de los malos olores característicos de estas emisiones. En determinadas condiciones, este compuesto puede alcanzar concentraciones que representan un riesgo para la salud humana y animal. Otro compuesto presente en concentraciones significativas es el amoníaco (NH_3) [13]. En cuanto a los compuestos orgánicos volátiles (COV), el indol y el p-cresol han sido identificados como dos de los compuestos más representativos de estas emisiones, contribuyendo de manera importante al deterioro de la calidad del aire y a la generación de molestias odoríferas en el entorno [14].

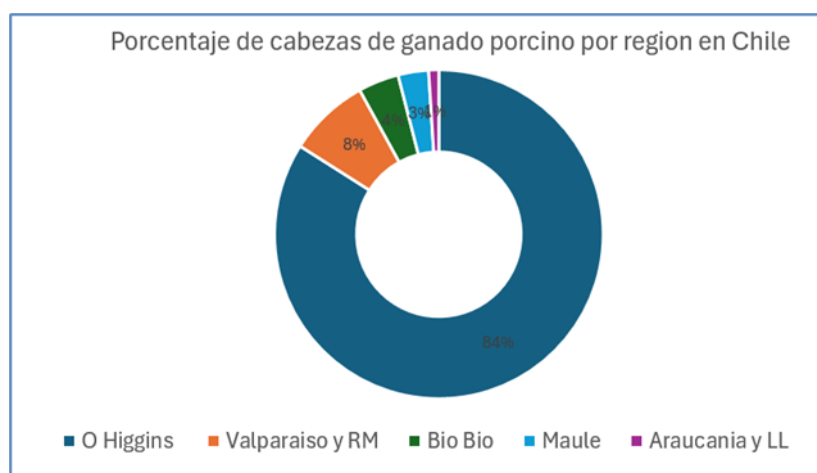


Figura 1-2. Distribución porcentual de la producción de ganado porcino en Chile.

Se muestra la distribución por regiones para el año 2019, se observa que el 84% de la producción se concentra en la región de O Higgins, el 8% en las regiones Metropolitana y de Valparaíso, el 4% en la región del Bio Bio, 3% en la región del Maule y 1% en las regiones de Los Lagos y La Araucanía, tomado del informe “la industria Porcina Oportunidades y Desafíos 2019”.

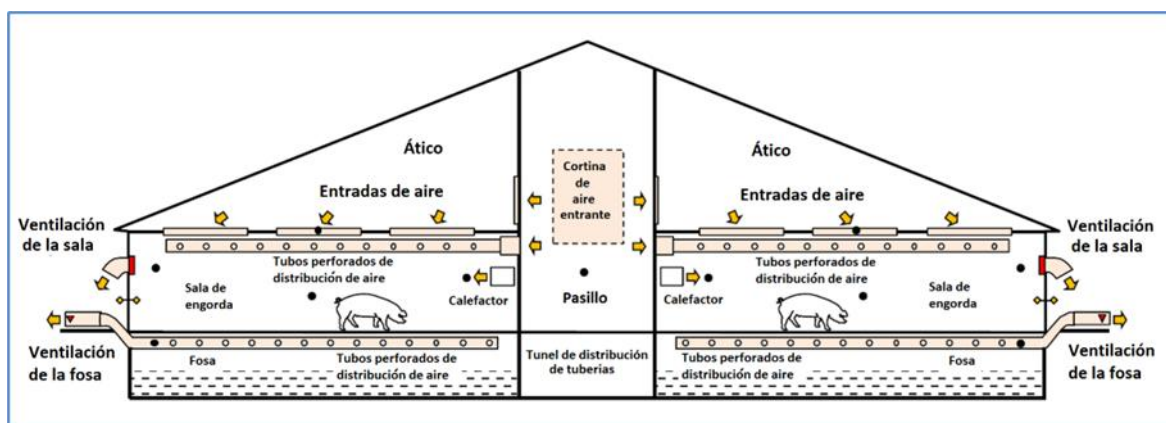


Figura 1-3. Esquema de la zona de cría y engorda de cerdos en una planta de producción.

Se observa las habitaciones de los cerdos y los pozos que reciben los purines, ventiladores extraen continuamente aire de los pozos generando el problema de los malos olores, basado en [15]

Las tecnologías convencionales utilizadas para el tratamiento de emisiones gaseosas industriales causantes de molestias por olores se basan principalmente en procesos fisicoquímicos, tales como la absorción, la adsorción [16] y la incineración. Si bien estas tecnologías pueden alcanzar elevadas eficiencias de remoción, presentan importantes desventajas asociadas a los altos costos de inversión y operación, especialmente cuando deben tratar grandes caudales de aire contaminado [17].

En el ámbito de la biotecnología ambiental, la biofiltración ha surgido como una alternativa de tratamiento de bajo costo y elevada eficiencia. Esta tecnología ha sido ampliamente implementada para el control de olores provenientes de emisiones gaseosas industriales, ya sea como una operación única [18] o como una etapa complementaria destinada a remover compuestos residuales que no han sido eliminados en tratamientos fisicoquímicos previos [19]. No obstante, aunque los biofiltros suelen alcanzar altas eficiencias de eliminación de compuestos odorantes y de reducción de olor en corrientes con elevadas concentraciones de contaminantes, en numerosos casos el problema no se resuelve completamente. Esto se debe a la presencia de compuestos que, debido a sus características fisicoquímicas, atraviesan el sistema de tratamiento y, adicionalmente, poseen umbrales de detección olfativa extremadamente bajos, por lo que continúan generando molestias incluso a concentraciones muy reducidas [20].

Como se ha señalado anteriormente, los compuestos presentes en las emisiones gaseosas provenientes de instalaciones industriales generadoras de olores son químicamente diversos. Algunos de ellos son relativamente fáciles de eliminar debido a su naturaleza hidrofílica, lo que favorece su rápida absorción en la película acuosa que recubre el medio filtrante y facilita su posterior biodegradación. Entre estos compuestos destacan el amoníaco (NH_3) [21] y el sulfuro de hidrogeno (H_2S) [22]. Para su tratamiento se han utilizado exitosamente biofiltros de lecho fijo y biofiltros percoladores o de escurrimiento, alcanzándose elevadas eficiencias de remoción.

Tradicionalmente, las bacterias han sido los microorganismos más empleados en este tipo de sistemas. Entre ellas, el género *Thiobacillus* destaca por su capacidad para oxidar compuestos reducidos de azufre [23], mientras que bacterias del género *Nitrosomonas* son reconocidas por su capacidad para oxidar amoníaco. Ambos grupos microbianos han demostrado un desempeño eficiente en el tratamiento biológico de corrientes gaseosas que contienen amoníaco y sulfuro de hidrógeno [24]. Sin embargo, una limitación importante en la degradación biológica de otros compuestos presentes en las mezclas gaseosas odorantes es su carácter hidrofóbico. A diferencia de los compuestos hidrofílicos, estas sustancias presentan una baja afinidad por la fase acuosa, lo que dificulta su absorción en la biopelícula y reduce significativamente su transferencia de masa desde la fase gaseosa hacia los microorganismos responsables de su degradación. Como consecuencia, la biodisponibilidad de estos compuestos disminuye, limitando su velocidad de biodegradación y reduciendo la eficiencia global del biofiltro. Esta situación suele traducirse en menores eficiencias de eliminación de contaminantes odorantes y, por ende, en una reducción insuficiente de las molestias por olor [25].

Con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad de compuestos hidrofóbicos en sistemas biológicos de tratamiento, se han propuesto principalmente dos estrategias. La primera corresponde al uso de biorreactores de partición en dos fases líquidas, en los cuales se incorpora una fase orgánica inmiscible con el agua que actúa como reservorio de los contaminantes hidrofóbicos, favoreciendo su captura y posterior transferencia hacia los microorganismos degradadores [26]. La segunda estrategia consiste en la utilización de hongos filamentosos, los cuales han demostrado un elevado potencial para la degradación de compuestos orgánicos hidrofóbicos presentes en emisiones gaseosas industriales [27], [28]. En este contexto, se ha demostrado que los hongos presentan una mayor capacidad de retención de compuestos hidrofóbicos debido a la presencia de proteínas específicas denominadas hidrofobinas, localizadas en la superficie de su pared celular. Estas proteínas facilitan la interacción entre la célula fúngica y los contaminantes hidrofóbicos, favoreciendo su captura y aumentando su biodisponibilidad para el microorganismo [29]. Actualmente, se reconocen dos clases principales de hidrofobinas: las de tipo I, presentes tanto en ascomicetos como en basidiomicetos, y las de tipo II, descritas exclusivamente en ascomicetos [30]. Debido a sus propiedades anfipáticas, estas proteínas poseen diversas aplicaciones industriales, entre ellas la dispersión de materiales hidrofóbicos en medios acuosos, la inmovilización de moléculas sobre superficies sólidas y su utilización como agentes antiincrustantes y surfactantes biológicos [31], [32]. Adicionalmente, los hongos ligninolíticos o degradadores de madera poseen mecanismos especializados para la transformación de compuestos recalcitrantes, basados en la producción de un complejo enzimático extracelular altamente oxidativo. Diversas especies fúngicas productoras de este complejo han sido ampliamente estudiadas debido a su capacidad para degradar una amplia variedad de contaminantes orgánicos persistentes [33], [34]. Dentro de este complejo enzimático, las lacasas destacan como una de las enzimas más relevantes en la degradación de la lignina y, por consiguiente, han sido ampliamente investigadas por su capacidad para transformar compuestos aromáticos y otros contaminantes orgánicos recalcitrantes [35]. Aunque comúnmente se reportan pesos moleculares cercanos a 60 kDa, también se han descrito lacasas con pesos moleculares del orden de 30 kDa [36]. Estas enzimas no son exclusivas de los hongos, ya que también han sido identificadas en plantas, algunos insectos [37] y bacterias [38]. Sin embargo, las

lacasas de origen fúngico son las que presentan mayor interés biotecnológico debido a su elevada actividad catalítica y amplia diversidad. Se han descrito en más de 60 especies pertenecientes a los grupos *Ascomycetes*, *Deuteromycetes* y *Basidiomycetes*, siendo los hongos de pudrición blanca de la madera los principales productores de estas enzimas [39]. Además de su aplicación en procesos de biorremediación, las lacasas poseen múltiples usos industriales en áreas como el tratamiento de efluentes, la industria papelera, la producción de biocombustibles y la síntesis de compuestos de interés comercial [40]. Otras enzimas relevantes presentes en el complejo ligninolítico son la lignina peroxidasa (LiP), la manganoso peroxidasa (MnP) y la manganoso independiente peroxidasa. La lignina peroxidasa posee un potencial oxidativo comparable al de las lacasas y ha demostrado capacidad para actuar sobre una amplia gama de compuestos fenólicos y no fenólicos sin requerir la presencia de mediadores redox [41]. Por su parte, la manganoso peroxidasa participa activamente en la degradación de la lignina y presenta actividad sobre diversos sustratos orgánicos, incluyendo fenoles, aminas, compuestos no fenólicos y ácidos grasos insaturados [42]. Estas características convierten al sistema ligninolítico fúngico en una herramienta de gran interés para la degradación biológica de compuestos odorantes complejos y otros contaminantes orgánicos persistentes.

Existen numerosos antecedentes que respaldan el uso de hongos en procesos de biotratamiento de contaminantes orgánicos. Entre ellos, la especie *Pleurotus ostreatus* ha sido utilizada para la degradación de compuestos fenólicos presentes en aguas residuales [43]. De manera similar, *Trametes versicolor* ha demostrado capacidad para degradar estos compuestos cuando se encuentra inmovilizado en soportes vegetales, formando biocompuestos con potencial aplicación en sistemas de tratamiento [44]. Por otra parte, *Aspergillus fumigatus* ha sido estudiado por su capacidad metabólica para degradar p-cresol [45], mientras que la degradación de benzo[a]pireno ha sido reportada mediante el empleo de *Fusarium solani* [46]. Esta última especie también ha sido evaluada, en conjunto con *Rhodococcus erythropolis*, para el tratamiento de corrientes gaseosas contaminadas con mezclas de tolueno, benzo[a]pireno y formaldehído [47]. Asimismo, se ha demostrado que la presencia de *Fusarium solani* puede modificar los coeficientes de partición entre fases líquidas y sólidas, favoreciendo la solubilización y biodisponibilidad de compuestos hidrofóbicos [48]. Otros hongos ligninolíticos, como *Anthracyllum discolor* y *Stereum hirsutum*, han sido empleados en el tratamiento de residuos lignocelulósicos, demostrando una elevada capacidad para degradar lignina [49]. Además, *Anthracyllum discolor* ha sido utilizado exitosamente en procesos de bioadsorción y biodegradación de pentaclorofenol [50], [51]. Por otra parte, la inmovilización de manganoso peroxidasa obtenida de esta especie sobre micropartículas de arcilla ha permitido la degradación de diversos hidrocarburos aromáticos policíclicos, tales como pireno y antraceno, así como, en menor medida, fluorantreno y fenantreno [52].

Los antecedentes descritos evidencian el potencial de los hongos filamentosos para la degradación de compuestos orgánicos hidrofóbicos y recalcitrantes, tanto en sistemas acuosos como gaseosos. En particular, diversos estudios han demostrado que las limitaciones observadas en la remoción biológica de olores se relacionan principalmente con la presencia de compuestos hidrofóbicos dentro de mezclas complejas de contaminantes odorantes. Asimismo, se ha establecido que las hidrofobinas presentes en la superficie de las hifas fúngicas favorecen la interacción y captura de estos compuestos, aumentando su biodisponibilidad para los microorganismos. A ello se suma la

capacidad de numerosos hongos ligninolíticos para producir complejos enzimáticos extracelulares capaces de oxidar y transformar compuestos aromáticos de elevada recalcitrancia.

Considerando estos antecedentes, resulta razonable plantear que una mezcla compleja de compuestos odorantes, compuesta por contaminantes hidrofílicos e hidrofóbicos en proporciones similares a las presentes en las emisiones gaseosas de una planta de producción porcina, podría ser tratada eficientemente mediante un sistema de biofiltración en dos etapas. En este esquema, una primera etapa bacteriana estaría destinada a la remoción de compuestos hidrofílicos, mientras que una segunda etapa fúngica permitiría mejorar la eliminación de compuestos hidrofóbicos y recalcitrantes. Sobre la base de estos antecedentes, se plantea la siguiente hipótesis de investigación.

HIPOTESIS.

Un sistema de biofiltración de dos etapas, compuesto por un biofiltro de escurrimiento inoculado con un consorcio bacteriano para la remoción de compuestos hidrofílicos y un biofiltro fúngico de lecho fijo conectado en serie para la degradación de compuestos hidrofóbicos, permitirá tratar eficientemente una corriente gaseosa contaminada con una mezcla compleja de compuestos odorantes. La combinación de ambos sistemas favorecerá la eliminación de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes en la emisión, logrando una mayor eficiencia de remoción de olor que la obtenida mediante una única etapa de tratamiento biológico.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO.

Objetivo General.

Caracterizar un sistema de biofiltración de dos etapas a escala piloto, compuesto por dos biofiltros conectados en serie con un volumen de lecho vacío de 5 L cada uno, para el tratamiento de una corriente gaseosa que contiene una mezcla de compuestos odorantes modelo hidrofílicos e hidrofóbicos, tales como amoníaco, sulfuro de hidrógeno, indol y p-cresol. El estudio busca evaluar la biodegradación de estos compuestos y la eliminación del olor de la corriente gaseosa, permitiendo comparar el desempeño del sistema de dos etapas propuesto con el de sistemas operados de manera independiente, es decir, un biofiltro bacteriano para compuestos hidrofílicos y un biofiltro fúngico para compuestos hidrofóbicos.

Objetivos Específicos.

Para este estudio se han propuesto los siguientes objetivos específicos:

- Seleccionar microorganismos con capacidad de degradación de compuestos odorantes hidrofílicos (amoníaco y sulfuro de hidrógeno) e hidrofóbicos (indol y p-cresol), para su aplicación en un sistema de biofiltración de gases.
- Determinar la carga máxima de compuestos odorantes tratable a escala piloto mediante biofiltros operados de forma independiente: uno colonizado por bacterias para la eliminación de compuestos hidrofílicos y otro colonizado por hongos para la degradación de compuestos hidrofóbicos, evaluando la reducción del olor mediante valores de actividad odorante (OAV).
- Evaluar la carga máxima de compuestos odorantes tratable a escala piloto mediante un sistema de dos biofiltros conectados en serie, donde el primer reactor esté colonizado por bacterias y el segundo por hongos, para el tratamiento de una mezcla de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos (amoníaco, sulfuro de hidrógeno, indol y p-cresol), evaluando la reducción del olor mediante valores de actividad odorante (OAV).
- Identificar la presencia y actividad del complejo enzimático asociado a la biodegradación de compuestos hidrofóbicos odorantes en el biofiltro colonizado por hongos.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 COMPUESTOS ODORANTES EN EMISIONES GASEOSAS INDUSTRIALES.

2.1.1 Antecedentes de las emisiones odorantes.

El olor ha sido definido por la Real Academia Española como la impresión que los efluvios producen en el sentido del olfato. Desde una perspectiva biológica, el sistema olfativo cumple una función adaptativa relevante, ya que permite obtener información del entorno y advertir sobre posibles situaciones de riesgo o peligro [53]. No obstante, en la sociedad contemporánea se observa una tendencia predominante hacia la minimización de los olores en la mayoría de las actividades cotidianas, reservándose su aceptación principalmente para fragancias o compuestos percibidos como agradables [54].

En el ámbito de la ingeniería y las ciencias ambientales, la contaminación es definida por el Parlamento Europeo como la introducción directa o indirecta, como resultado de la actividad humana, de sustancias, energía (incluyendo calor, ruido o vibraciones) en el aire, agua o suelo, que puedan generar efectos perjudiciales para la salud humana o el medio ambiente, o bien afectar negativamente el uso y disfrute legítimo de estos recursos [55]. En este contexto, la contaminación por olores se refiere a la exposición a emisiones odorantes desagradables asociadas a actividades humanas que liberan compuestos volátiles al ambiente, los cuales pueden deteriorar la calidad del aire y afectar el bienestar de la población expuesta [56].

La Revolución Industrial constituyó un punto de inflexión en la historia de la contaminación ambiental, debido al aumento significativo en la diversidad y concentración de contaminantes liberados al ambiente [57]. Diversos estudios han establecido asociaciones entre la exposición a contaminación atmosférica y el incremento en la incidencia de enfermedades en la población, además de proponer estrategias generales de mitigación basadas en la reducción de emisiones. En este contexto, Chile ha sido identificado como uno de los países con mayores impactos en salud asociados a contaminación del aire en Sudamérica, con estimaciones de aproximadamente 240 muertes por millón de habitantes atribuibles a esta causa [58]. Si bien la contaminación por sustancias odorantes no ha sido asociada de manera consistente con efectos letales o enfermedades graves, sí constituye un problema relevante de calidad ambiental, debido a las molestias significativas que genera en la población expuesta y su impacto en la calidad de vida.

2.1.2 Reseña de la contaminación por olores en el ámbito nacional.

Como se ha indicado previamente, en Chile, de acuerdo con el informe “Antecedentes de la Regulación de Olores en Chile” [59], se han identificado aproximadamente 2.000 establecimientos con actividades potencialmente generadoras de molestias por olores. Entre los principales procesos asociados a este tipo de impacto se encuentran las plantas de tratamiento de aguas residuales, las instalaciones de crianza y engorda de animales, las curtiembres, los mataderos, las plantas de procesamiento de grasas, las plantas de celulosa, la industria pesquera y de procesamiento de productos del mar, así como los rellenos sanitarios.

La generación de molestias odorantes en estos sectores se relaciona principalmente con el elevado volumen de emisiones, la proximidad a zonas residenciales y la duración de los eventos de emisión. En este contexto, las instalaciones de crianza y engorda de animales, junto con las plantas de tratamiento de aguas residuales, constituyen las fuentes más relevantes de reclamos por parte de la población [60].

Diversos casos han evidenciado el impacto social de este tipo de contaminación en Chile. Por ejemplo, las plantas productoras de harina de pescado en la ciudad de San Antonio generaron molestias significativas a mediados de la década de 1990, principalmente asociadas al almacenamiento de materia prima previo a su procesamiento [61], [62]. Asimismo, la planta de tratamiento de aguas servidas La Farfana, ubicada en la comuna de Maipú, Región Metropolitana, produjo episodios de molestia odorante en la población durante el año 2003 [63]. Más recientemente, el caso de la planta de producción porcina de la empresa Agrosuper, emplazada en la comuna de Freirina, evidenció severos problemas de contaminación por olores desde el año 2010, lo que culminó con el cierre definitivo de las instalaciones en diciembre de 2012 [11].

2.1.3 Caracterización química de emisiones olorosas.

Existe una amplia gama de compuestos químicos responsables de la contaminación por olores asociados a emisiones provenientes de procesos industriales. Si bien en el ámbito de la producción animal estos compuestos presentan una naturaleza química diversa, todos ellos tienen su origen común en la descomposición biológica de la materia orgánica, particularmente en procesos de digestión anaerobia [3], [4].

Como se ha señalado previamente, estos compuestos pueden clasificarse según su naturaleza química en tres grandes grupos:

- Compuestos nitrogenados volátiles (VNC): entre los que se encuentran el amoníaco (NH_3), aminas y pirazinas.
- Compuestos volátiles de azufre reducido (VRSC o TRS): entre los que destacan el sulfuro de hidrógeno (H_2S) y diversos mercaptanos, como metilmercaptano, dimetil sulfuro y dimetil disulfuro.
- Compuestos orgánicos volátiles (COV): que incluyen ácidos grasos de cadena corta, como ácido butírico, isovalérico y hexanoico; además de alcanos, alquenos (incluidos terpenos), compuestos aromáticos y heterocíclicos aromáticos.

Estos compuestos no solo difieren en su estructura química, sino también en sus propiedades fisicoquímicas, tales como la constante de Henry, la solubilidad en agua y la hidrofobicidad. Esta última está relacionada con la polaridad molecular y su capacidad de interacción con el agua, y suele expresarse mediante el coeficiente de partición octanol/agua ($\log K_{ow}$) [64].

La Tabla 2.1 presenta algunos de estos compuestos junto con sus propiedades fisicoquímicas, incluyendo el $\log K_{ow}$ como indicador de su hidrofobicidad. A partir de esta información se observa la existencia de compuestos con distintos grados de hidrofobicidad, desde compuestos

relativamente hidrofílicos hasta otros fuertemente hidrofóbicos, como el tolueno, incluido en la tabla a modo de referencia comparativa.

Tabla 2-1 Compuestos volátiles en emisiones gaseosas industriales que causan molestias.

Basado en [4], [65], [66]

Compuesto	Temperatura fusión/ebullición [°C]	Constante Henry (mol/m ³ Pa)	Solubilidad agua [g/L]	Log Kow	Umbral olfativo (µg/m ³)	Percepción
Compuestos Nitrogenados Volátiles						
Amoníaco	-33,3	0,59	Miscible	-2,66	1000000	Orina
Trimetilamina	2,9	0,099	Miscible	0,27	30	Pescado
Piridina	115,2	1,1	Miscible	0,76	40	Agrio, podrido
Compuestos Volátiles Sulfurados Reducidos						
Sulfuro de hidrogeno	-60,7	0,001	Miscible	0,5	25,7	Huevos podridos
Dimetil sulfuro	38	0,0053	20,5 10 ⁻³	0,92	2,5	Repollo sulfuroso
Dimetil disulfuro	109,7	0,0058	2,5 10 ⁻³	1,77	47,9	Podrido
Compuestos Orgánicos Volátiles: Ácidos Grasos Volátiles						
Acido butírico	163,5	47	Miscible	0,79	14,5	Vomito, picante
Acido isovalérico	176,5	27	40	1,21	6,9	Agrio, sudor
Ácido hexanoico	3	13	10,82	1,84	5	Chivo
Ácido decanoico	31	6,5	4,09	4,09	61	Rancio
Compuestos Orgánicos Volátiles: Compuestos Aromáticos						
Tolueno	110,6	0,0016	0,47	2,73	80	Dulce, benceno
Para cresol	202,5	3,158	24 @40°C	1,98	0,04	Corral, animal
Compuestos Orgánicos Volátiles: Compuestos Aromáticos Orgánico-Heterocíclicos						
Indol	52 / 254	0,16	1,9 @20°C	2,14	0,6–7,1	Nafta fecas
3-metilindol	266	4,7	0,5	2,26	0,05–6,4	Fecas

En este tipo de emisiones se encuentran, además, numerosos compuestos orgánicos volátiles (COV) tanto hidrofílicos como hidrofóbicos, muchos de los cuales no presentan carácter odorante. No obstante, algunos de estos compuestos inodoros comparten similitudes estructurales con compuestos odorantes relevantes. Ejemplos de ello son el fenol y su análogo estructural p-cresol (4-metilfenol), así como el naftaleno en relación con el indol (2,3-benzopirrol), lo que sugiere posibles relaciones entre estructura química y comportamiento odorante.

La caracterización química de este tipo de emisiones se complementa con métodos orientados a la cuantificación de olores molestos. En este contexto, se ha avanzado en la correlación entre la intensidad del olor y el tono hedónico con el nivel de molestia percibido por la población expuesta, lo que ha contribuido al desarrollo y ajuste de criterios normativos de evaluación de olores, como ha ocurrido en países como Alemania [67], [68].

En cuanto a la regulación de emisiones odorantes en Chile, en 2018 se inició el proceso de elaboración de la primera norma de emisión de olores, cuyo resultado fue promulgado y entró en

vigencia el 6 de febrero de 2023 mediante el Decreto Supremo N° 9/2022 del Ministerio del Medio Ambiente. Esta normativa constituye el primer instrumento regulatorio nacional específico para la emisión de olores en planteles porcinos, estableciendo exigencias diferenciadas en función del tamaño de las instalaciones.

2.1.4 Cuantificación del olor

En Chile, la medición de olores puede realizarse mediante la norma NCh3190, homologación directa de la norma europea EN 13725:2022. Esta norma estandariza el método de olfatometría dinámica, el cual utiliza el olfato humano como instrumento de medición bajo condiciones estrictamente controladas de laboratorio, con el objetivo de reducir la subjetividad inherente a la percepción olfativa.

El procedimiento comienza con la toma de muestra en la fuente emisora. El aire odorante se recolecta en bolsas fabricadas con materiales inertes, diseñados para no adsorber ni emitir compuestos que interfieran con la muestra. Posteriormente, la muestra es evaluada mediante un panel de personas seleccionadas y calibradas, el cual actúa como sistema de detección sensorial. Esto se debe a que los métodos analíticos instrumentales tradicionales, como la cromatografía, no siempre permiten reproducir adecuadamente la percepción humana frente a mezclas complejas de compuestos odorantes.

Los panelistas son seleccionados y entrenados utilizando como gas de referencia el n-butanol, debiendo presentar una sensibilidad olfativa dentro de rangos definidos (ni hiposmia ni hipersensibilidad). Además, deben cumplir condiciones de control previo a las mediciones, tales como no fumar, evitar el uso de perfumes y no consumir café u otras sustancias que puedan alterar la percepción olfativa.

La medición se realiza mediante un olfatómetro dinámico, equipo en el cual la muestra odorante se mezcla inicialmente con aire limpio y filtrado mediante carbón activado, de modo que la concentración percibida resulte imperceptible para los panelistas. Posteriormente, el sistema incrementa progresivamente la proporción de muestra en la mezcla, reduciendo la dilución hasta alcanzar el umbral de detección, definido como el punto en el cual el panelista percibe una diferencia entre el aire de referencia y el aire con olor. El ensayo continúa hasta que se obtiene la respuesta del panel bajo criterios estadísticos establecidos.

El resultado se expresa en Unidades de Olor Europeas por metro cúbico (ouE/m³), definidas como la cantidad de contaminante odorante necesaria para que el 50 % de un panel de evaluadores sea capaz de detectar su presencia. En términos prácticos, si una muestra debe diluirse n veces con aire limpio para alcanzar el umbral de detección, se considera que su concentración original es de n unidades de olor.

Otra metodología para la evaluación de impacto odorante se basa en el concepto de Valor de Actividad de Olor (OAV, Odor Activity Value). A diferencia de la olfatometría dinámica, este enfoque

no evalúa directamente una muestra de aire mediante un panel humano, sino que combina análisis químico instrumental con información sensorial de referencia.

El OAV se define como el cociente entre la concentración de un compuesto en una muestra y su umbral de detección olfativa (odor threshold value), determinado previamente mediante ensayos con paneles humanos y recopilado en bases de datos estandarizadas [69]. El resultado corresponde a un valor adimensional que permite estimar la contribución potencial de cada sustancia al impacto odorante total.

Cuando el OAV de un compuesto es menor que 1, su concentración se encuentra por debajo de su umbral de percepción olfativa y, por lo tanto, no se espera que contribuya significativamente al olor percibido. Por el contrario, los compuestos con valores de OAV elevados son considerados los principales contribuyentes al olor de una mezcla, y suelen denominarse “compuestos clave del aroma” o “odorantes principales”.

Si bien la relación entre el Valor de Actividad de Olor (OAV) y la olfatometría dinámica no ha sido completamente dilucidada, Rincón et al. [69] evaluaron la viabilidad del OAV como herramienta para predecir la concentración de olor (ouE/m^3). En este estudio, se analizaron muestras de gas mediante técnicas instrumentales (GC/MS) y olfatometría dinámica conforme a la norma EN 13725, considerando un total de 22 compuestos odorantes.

Los valores de OAV obtenidos fueron correlacionados con las concentraciones de olor medidas experimentalmente, observándose correlaciones lineales moderadas, con coeficientes de determinación (R^2) en el rango de 0,67 a 0,73. Estos resultados sugieren que el OAV puede constituir una herramienta útil como aproximación predictiva del impacto odorante, aunque su capacidad de predicción depende de la complejidad de la mezcla y de las interacciones entre compuestos.

2.1.5 Tecnologías de eliminación de contaminantes odorantes.

Los métodos para el control de compuestos orgánicos volátiles (COV) en emisiones provenientes de fuentes fijas pueden clasificarse en dos grandes grupos: métodos fisicoquímicos y métodos biológicos, los cuales pueden aplicarse de manera independiente o combinada con el objetivo de mejorar la eficiencia global de remoción de los contaminantes.

La selección de una tecnología de tratamiento o de una estrategia integrada depende de múltiples factores asociados tanto a las características del contaminante como a las condiciones del flujo gaseoso. Entre estos se incluyen la concentración de los compuestos, sus propiedades físicas y químicas, su corrosividad, abrasividad y toxicidad, así como variables operacionales como la temperatura, presión y humedad de la corriente gaseosa. En el caso de corrientes que contienen material particulado, también se debe considerar la distribución de tamaños de partícula.

Adicionalmente, es relevante evaluar la factibilidad de tratamientos térmicos, como la incineración, cuando las características del contaminante lo permiten. Finalmente, la selección del sistema de tratamiento debe considerar aspectos económicos que aseguren la viabilidad del proceso en el

tiempo, así como el cumplimiento de las exigencias normativas vigentes orientadas a la reducción del impacto ambiental y a la calidad del aire emitido.

2.1.6 Métodos fisicoquímicos.

Los métodos fisicoquímicos utilizados para el control de contaminantes presentes en corrientes gaseosas, tales como SO_2 , NO_x , ozono, CO y compuestos orgánicos volátiles (COV), incluyen principalmente los procesos de absorción, adsorción, condensación y oxidación catalítica o térmica.

Si bien estas tecnologías presentan elevadas eficiencias de remoción en diversas aplicaciones, también presentan limitaciones importantes. En muchos casos, el contaminante no es destruido, sino transferido a otra fase, lo que genera la necesidad de gestionar residuos secundarios. Adicionalmente, estos sistemas suelen implicar un alto consumo de agua, energía o combustibles, lo que se traduce en elevados costos de inversión y operación. En particular, los procesos de absorción pueden generar efluentes líquidos que requieren tratamiento posterior; los sistemas de adsorción requieren regeneración o disposición del material adsorbente; y los procesos de incineración demandan altas temperaturas y suministro continuo de combustible. A pesar de estas limitaciones, constituyen tecnologías de alta eficiencia y, en algunos casos, representan la única alternativa técnicamente viable para el tratamiento de determinadas emisiones.

2.1.6.1 Incineración u oxidación.

En el proceso de incineración, el gas que contiene el contaminante es capturado, precalentado y posteriormente oxidado a altas temperaturas, lo que generalmente requiere la presencia de un combustible auxiliar en el sistema [70]. Estos sistemas presentan eficiencias de eliminación superiores al 95 % [71]. y se clasifican en dos tipos principales: oxidación térmica y oxidación catalítica [72].

La principal desventaja de esta tecnología está asociada al costo operativo, derivado del consumo de combustible y, en el caso de la oxidación catalítica, de la disponibilidad y vida útil del catalizador. El esquema básico de funcionamiento de este tipo de equipos se presenta en la Figura 2-1.

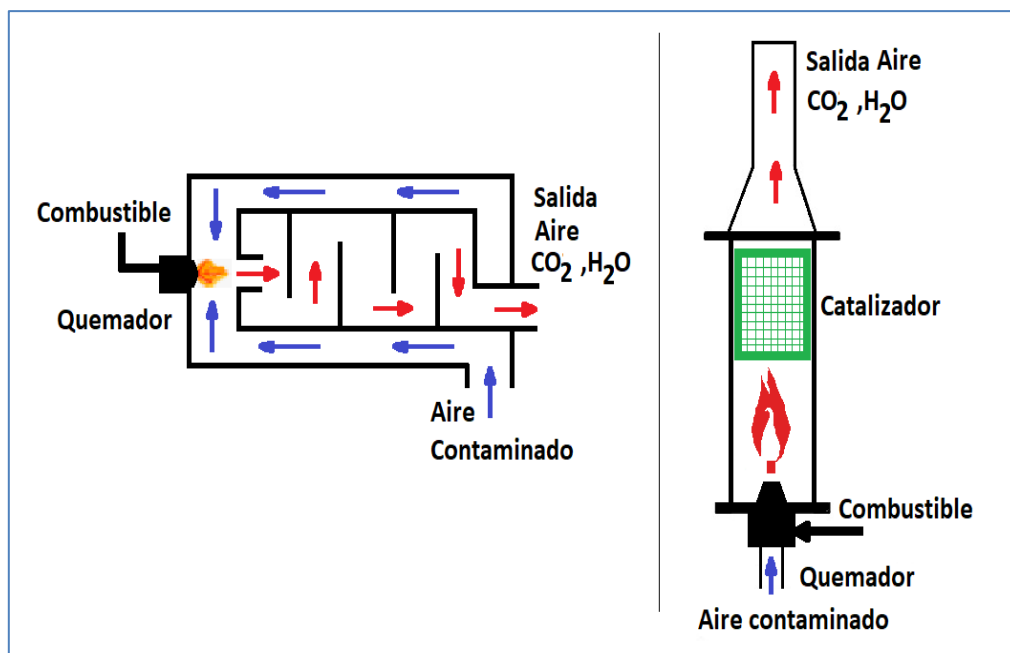


Figura 2-1. Esquema de funcionamiento de incineradores para eliminar olores.

A la izquierda se muestra un incinerador horizontal sin catalizador, a la derecha se muestra un incinerador vertical con un catalizador. (Elaboración propia 2024).

2.1.6.2 Absorción.

La absorción es un proceso de transferencia de masa en el cual un contaminante presente en una corriente gaseosa es transferido hacia una fase líquida, impulsado por un gradiente de concentración. Los absorbentes utilizados pueden incluir agua, soluciones alcalinas como hidróxido de sodio, e incluso hidrocarburos, dependiendo de la naturaleza del compuesto a remover.

Estos sistemas operan generalmente en configuración de contracorriente, lo que favorece la eficiencia de transferencia de masa entre fases. En términos de desempeño, pueden alcanzar eficiencias de remoción entre 70 % y 99 % [73],[74].

Una de las principales limitaciones de esta tecnología es la generación de una corriente líquida residual que contiene los contaminantes absorbidos, la cual requiere tratamiento o disposición posterior adecuada [75].

2.1.6.3 Adsorción.

En el proceso de adsorción, las moléculas del contaminante presentes en la fase gaseosa se transfieren hacia la superficie de un sólido, donde son retenidas mediante fuerzas intermoleculares débiles, principalmente de naturaleza electrostática o de Van der Waals. El adsorbente más ampliamente utilizado es el carbón activado [76] ; sin embargo, actualmente se investigan otros materiales carbonosos y de ingeniería para la remoción de compuestos orgánicos volátiles (COV) [77], [78]

Este proceso puede alcanzar eficiencias de remoción entre 95 % y 98 %. No obstante, una de sus principales limitaciones es el costo asociado a la regeneración o reemplazo del material adsorbente una vez saturado [79].

La Figura 2-2 muestra un esquema representativo de los sistemas de absorción y adsorción.

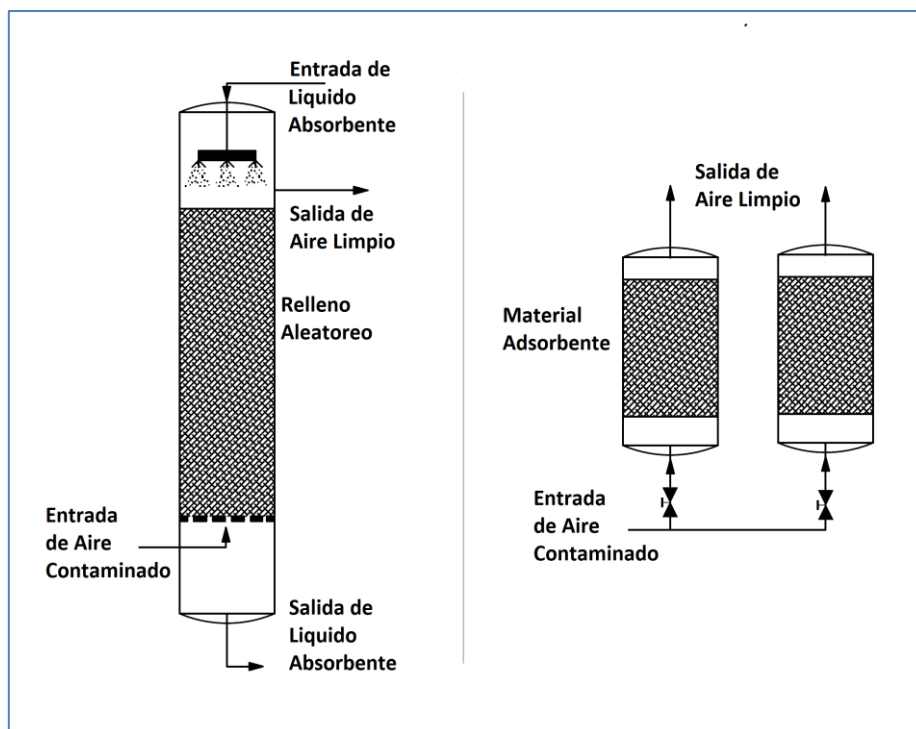


Figura 2-2. Esquema de funcionamiento de los procesos de absorción y adsorción.

A la izquierda torre de absorción en contracorriente rellena con un relleno aleatorio, el líquido puede contener compuestos que reaccionan con el contaminante, a la derecha esquema de funcionamiento de un sistema de adsorción, mientras uno de los reactores está operando el otro está renovando o limpiando el material adsorbente (Elaboración propia 2024).

2.1.6.4 Condensación.

Este proceso implica la transferencia del contaminante desde la fase gaseosa hacia la fase líquida mediante un cambio de fase inducido por el aumento de la presión, la disminución de la temperatura o la combinación de ambos efectos. En estos sistemas se han reportado eficiencias de remoción del orden del 90 % [80].

Esta tecnología resulta particularmente útil cuando el contaminante presenta valor comercial o puede ser recuperado como subproducto, transformándose en un insumo potencialmente aprovechable dentro del proceso industrial [81].

2.1.7 Métodos biológicos.

El tratamiento biológico de compuestos químicos consiste en la exposición de efluentes contaminados a un medio biológicamente activo constituido por microorganismos o consorcios microbianos capaces de metabolizar, total o parcialmente, los contaminantes presentes, transformándolos en productos de menor o nulo impacto ambiental, tales como dióxido de carbono, agua, compuestos inorgánicos y biomasa [82]. La eficiencia de estos procesos está fuertemente condicionada por la biodegradabilidad de los compuestos, observándose una mayor susceptibilidad a la degradación en sustancias de origen natural, mientras que los compuestos xenobióticos, caracterizados por estructuras químicas no presentes de forma natural en el ambiente, tienden a presentar una mayor recalcitrancia [83].

En este contexto, los sistemas biológicos de tratamiento de aire se consideran tecnologías ambientalmente sostenibles, debido a su reducido consumo energético, su operación en condiciones moderadas de temperatura, presión y pH, y la ausencia de reactivos químicos peligrosos. Adicionalmente, los microorganismos utilizados pueden ser gestionados sin generar impactos ambientales significativos. En comparación con tecnologías convencionales como la incineración, estos sistemas presentan una menor huella de carbono, dado que no requieren el aporte de combustibles externos para su operación [84].

No obstante, una limitación fundamental de estos sistemas corresponde a la transferencia del contaminante desde la fase gaseosa hacia la fase líquida o hacia la biopelícula donde se localizan los microorganismos responsables de la degradación. Asimismo, su funcionamiento requiere condiciones aeróbicas que permitan la oxidación completa de los contaminantes hasta productos finales estabilizados.

Entre las tecnologías disponibles, los biofiltros de lecho fijo constituyen una de las alternativas más empleadas. Estos sistemas consisten en biorreactores en los cuales una corriente gaseosa contaminada atraviesa un medio de soporte sólido de naturaleza orgánica, previamente inoculado con microorganismos degradadores. Dicho material no solo actúa como soporte para el desarrollo de biopelículas, sino que también puede aportar nutrientes esenciales para el crecimiento microbiano, de modo que sus propiedades físicas y químicas influyen directamente en el rendimiento del proceso [85].

En aplicaciones industriales, particularmente en el tratamiento de emisiones gaseosas provenientes del procesamiento de productos de origen animal, estos sistemas han demostrado una elevada eficiencia de remoción [86], [87]. Sin embargo, su desempeño puede verse limitado por la disponibilidad de nutrientes y por un control inadecuado del pH [4]. En cuanto a los materiales de soporte, se han utilizado residuos vegetales como fibra de coco en combinación con turba y compost [66], así como astillas de madera. En este último caso, se ha reportado que tamaños de partícula superiores a 20 mm contribuyen a disminuir la caída de presión en el lecho, mejorando así las condiciones hidráulicas de operación del sistema [88].

Los biofiltros de lecho fijo orgánico presentan diversas ventajas en comparación con las tecnologías tradicionales de tratamiento, destacando su baja complejidad tanto en la instalación como en la operación. En términos generales, no generan productos tóxicos secundarios; sin embargo, pueden formarse compuestos intermedios asociados a la actividad metabólica de los microorganismos [5]. Asimismo, se caracterizan por un bajo requerimiento energético, aunque demandan la sustitución o renovación periódica del lecho orgánico.

Como principal desventaja, estos sistemas presentan dificultades para mantener variables operacionales como la temperatura, la humedad y el pH en rangos óptimos para el desarrollo de la microbiota, lo que puede provocar una disminución en su eficiencia y en su capacidad de eliminación de contaminantes.

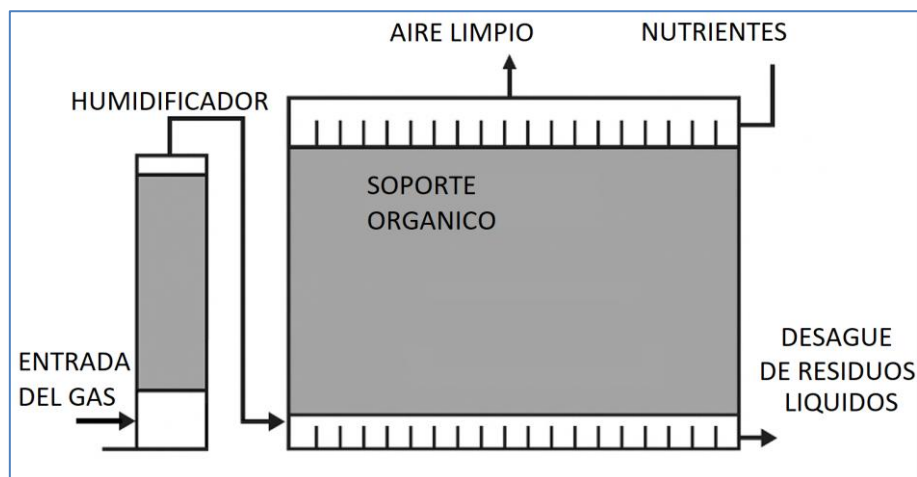


Figura 2-3. Esquema de un biofiltro de lecho fijo para el tratamiento de gases.

El sistema recibe el aire contaminado por la parte inferior el cual pasa el lecho del equipo, el contaminante entra en contacto con microorganismo que metabolizan el contaminante y lo convierte en productos inocuos, el soporte orgánico generalmente aporta nutrientes para los microorganismos, basado en Sheridan et al. [88].

La segunda tecnología corresponde a los biofiltros de lecho escurrido, los cuales son similares a los biofiltros de lecho fijo y también se emplean para el tratamiento de emisiones gaseosas. Sin embargo, a diferencia de estos últimos, el material de soporte suele ser de naturaleza sintética, sobre el cual se desarrolla la biopelícula microbiana. Dado que dicho soporte no aporta nutrientes, se recircula continuamente una solución enriquecida con nutrientes esenciales para el crecimiento de los microorganismos a través del sistema.

En estos equipos, los contaminantes en fase gaseosa ingresan en contracorriente y son transferidos al líquido recirculante, donde quedan biodisponibles para su posterior degradación biológica por parte de los microorganismos [22].

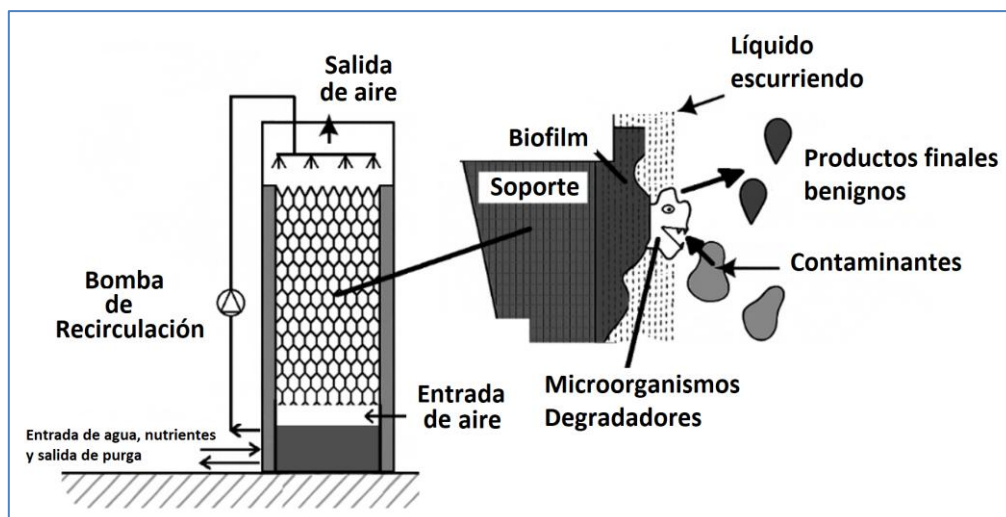


Figura 2-4. Esquema de un biofiltro de lecho escurrido.

El sistema recibe el aire contaminado por la parte inferior el cual pasa el lecho del equipo, el contaminante entra en contacto con microorganismo (degradadores) que metabolizan el contaminante y lo convierte en productos inocuos, una corriente líquida recircula continuamente por el equipo aportando agua y nutrientes. Basado en, Deshusses et al [22].

Esta tecnología ha sido ampliamente empleada en el tratamiento de emisiones gaseosas en plantas de tratamiento de aguas residuales, alcanzando eficiencias de remoción superiores al 95% [89]. En estudios relacionados con el tratamiento de olores en plantas de crianza de animales, estos biofiltros han demostrado una adecuada capacidad de eliminación de amoníaco, del orden del 79%; sin embargo, presentan una menor eficiencia en la remoción de olores, cercana al 45%, lo cual se asocia a la presencia de compuestos hidrofóbicos en la corriente gaseosa [90]. En experiencias realizadas en plantas de compostaje, se han reportado eficiencias de remoción de amoníaco del 94% y de olores del 86% [91].

Mediante el control de la fase líquida recirculante es posible ajustar variables operacionales como la temperatura y el pH, así como suplir o incrementar las concentraciones de nutrientes requeridos para el óptimo desarrollo de los microorganismos. No obstante, la alta dependencia del control de estas variables constituye también una desventaja, ya que fallas operacionales en la regulación de la fase líquida pueden afectar severamente el sistema e incluso provocar la pérdida total de la actividad microbiana [22].

En ambas tecnologías, los contaminantes gaseosos deben transferirse desde la fase gaseosa hacia la fase líquida o hacia la biopelícula desarrollada sobre el soporte del biofiltro. Posteriormente, estos compuestos son adsorbidos por la biopelícula y finalmente degradados por los microorganismos. En el caso de los biofiltros de lecho fijo, parte del contaminante debe adicionalmente difundirse desde el material de soporte hacia la biopelícula.

En este contexto, cobra especial relevancia el análisis de los fenómenos de transferencia de masa, considerando parámetros como el tiempo de residencia, la fracción de vacíos del material de soporte, las velocidades de flujo, la posible formación de caminos preferenciales en el sistema, así como la

solubilidad del contaminante en fase acuosa. Estos aspectos adquieren particular importancia cuando se trata de compuestos hidrofóbicos, cuya eliminación resulta más compleja, lo que exige la optimización de las condiciones de operación para maximizar el desempeño de estos sistemas [15], [25].

2.1.7.1 Compuestos y microorganismos de interés en la eliminación de olor.

Entre la amplia variedad de compuestos identificados como responsables de la generación de malos olores, destacan los compuestos hidrofílicos amoníaco (NH_3) y ácido sulfhídrico (H_2S), debido a su elevada contribución al impacto odorante asociado a diversas actividades industriales y agropecuarias. Asimismo, dentro de los compuestos hidrofóbicos de importancia se encuentran el indol y el p-cresol, compuestos asociados principalmente a la degradación anaerobia de materia orgánica y a las emisiones provenientes de residuos animales [13].

El amoníaco (NH_3) es un gas incoloro a temperatura ambiente, caracterizado por presentar un olor penetrante e irritante. Se genera naturalmente mediante la degradación de materia orgánica nitrogenada, procesos metabólicos de microorganismos presentes en el suelo, actividad vegetal y descomposición de residuos animales. Además, posee una importante generación antropogénica asociada a actividades industriales y agropecuarias, destacando los sistemas de tratamiento de aguas residuales, la producción animal intensiva, especialmente en instalaciones de cría y engorda, y el uso de fertilizantes nitrogenados.

Este compuesto presenta una elevada solubilidad en agua debido a su carácter polar, lo que favorece su transferencia desde la fase gaseosa hacia medios acuosos. En condiciones ambientales, el amoníaco gaseoso posee una densidad relativa aproximada de 0,6 respecto al aire y su punto de ebullición corresponde a $-33,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ [92]. En sistemas de producción animal, su formación está principalmente asociada a la hidrólisis de la urea presente en la orina.

El sulfuro de hidrogeno (H_2S) es un gas incoloro, inflamable y altamente tóxico en concentraciones elevadas, reconocido por su característico olor a huevos podridos. Debido a su bajo umbral de detección olfativa, puede ser percibido por el ser humano a concentraciones cercanas a 0,0005 ppm; sin embargo, exposiciones a concentraciones mayores pueden provocar fatiga olfativa y pérdida temporal de la capacidad de percepción del olor, aumentando considerablemente el riesgo para las personas expuestas [93].

El H_2S se encuentra presente de forma natural en ambientes asociados a actividad volcánica, fuentes termales sulfurosas, emanaciones submarinas y depósitos de hidrocarburos. Entre sus principales fuentes antropogénicas se encuentran las refinerías de petróleo, plantas de procesamiento de gas natural, industrias petroquímicas, plantas de celulosa, instalaciones de producción animal, industrias alimentarias y curtiembres. Su generación en residuos agropecuarios está asociada principalmente a la degradación anaerobia de compuestos azufrados por microorganismos sulfato reductores.

Debido a sus propiedades químicas, tanto el NH_3 como el H_2S presentan una alta afinidad por fases acuosas, característica que permite su tratamiento mediante tecnologías biológicas como biofiltros,

donde microorganismos especializados transforman estos contaminantes en compuestos menos perjudiciales.

Respecto a los estudios de remoción asociados a estos compuestos, la eliminación biológica de compuestos azufrados y nitrogenados ha sido ampliamente investigada mediante diferentes configuraciones de sistemas de biofiltración. En este contexto, se han reportado elevadas eficiencias de eliminación para compuestos reducidos de azufre y nitrógeno, tanto en sistemas de laboratorio como a escala piloto e industrial.

La remoción de disulfuro de metilo mediante un biofiltro utilizando bagazo de caña como material soporte e inoculado con *Hyphomicrobium* VS alcanzó una eficiencia de eliminación del 97,6 %, con una capacidad de eliminación de 0,61 (g/m³·h) [94].

Asimismo, se ha estudiado la eliminación simultánea de ácido sulfhídrico y dimetil sulfuro mediante dos biofiltros conectados en serie, demostrando la capacidad de estos sistemas para tratar corrientes gaseosas con múltiples compuestos odorantes [95].

En el caso específico del ácido sulfhídrico, se han reportado eficiencias de eliminación cercanas al 99 % en biofiltros bacterianos utilizando espuma de poliuretano como medio soporte, evaluados a escala piloto [96]. Estos resultados evidencian la elevada capacidad de los microorganismos sulfo-oxidantes para transformar el H₂S en productos menos tóxicos, principalmente sulfatos y azufre elemental.

Por otra parte, la eliminación de amoníaco mediante sistemas biológicos también ha mostrado resultados favorables. A escala piloto, un biofiltro percolador utilizado para el tratamiento de gases provenientes de una planta de compostaje alcanzó eficiencias de eliminación cercanas al 95 % para este compuesto [91].

Además, se ha investigado la eliminación conjunta de amoníaco y ácido sulfhídrico mediante sistemas compuestos por dos biofiltros conectados en serie, utilizando bacterias coinmovilizadas. Estos sistemas alcanzaron eficiencias de eliminación del 100 %, demostrando la factibilidad del empleo de consorcios microbianos especializados y la utilización de un mismo medio de recirculación para el tratamiento simultáneo de contaminantes nitrogenados y azufrados [97]. A escala industrial, la aplicación de biofiltración para la eliminación de amoníaco en corrientes gaseosas que contienen múltiples compuestos ha reportado eficiencias cercanas al 80 % para este contaminante. Sin embargo, cuando se evalúa la reducción global de olor, las eficiencias disminuyen aproximadamente al 49 %, debido principalmente a la presencia de compuestos hidrofóbicos, como indoles y fenoles, cuya baja solubilidad limita su transferencia hacia la fase acuosa y, por lo tanto, su biodegradación dentro del sistema [90].

Dentro de los microorganismos evaluados para la eliminación biológica de amoníaco y ácido sulfhídrico destacan diversas especies bacterianas con capacidad metabólica para transformar compuestos reducidos de nitrógeno y azufre. Entre ellas se encuentra *Thiobacillus thioparus*, una bacteria gramnegativa perteneciente al género *Thiobacillus*, reconocida por su capacidad para oxidar compuestos inorgánicos reducidos de azufre mediante un metabolismo quimiolitotrófico, utilizando estos compuestos como fuente de energía. Algunas especies pertenecientes a este género también han sido empleadas en procesos de biolixiviación de minerales sulfurados debido a su capacidad oxidativa [98].

Thiobacillus thioparus presenta una morfología bacilar y generalmente posee un único flagelo que le confiere movilidad. Es una bacteria mesófila, cuyo crecimiento óptimo se encuentra habitualmente entre 20 y 40 °C. Durante la oxidación de compuestos reducidos de azufre, como el sulfuro de hidrógeno, azufre elemental o tiosulfato, puede generar sulfato como producto final, aunque dependiendo de las condiciones ambientales también pueden acumularse compuestos intermediarios de azufre. Esta capacidad metabólica convierte a esta especie en un microorganismo de interés para sistemas de tratamiento biológico de gases contaminados con compuestos azufrados.

Por otra parte, *Nitrosomonas europaea* es una bacteria nitrificante perteneciente al grupo de las bacterias oxidantes de amonio (AOB, por sus siglas en inglés), cuya principal función metabólica corresponde a la oxidación del amonio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-), utilizando esta reacción como fuente de energía para su crecimiento. Se encuentra ampliamente distribuida en ambientes naturales y antropogénicos, incluyendo suelos, aguas residuales, superficies expuestas a contaminación nitrogenada y sistemas de tratamiento biológico.

Esta bacteria presenta metabolismo aeróbico y requiere oxígeno molecular para llevar a cabo el proceso de nitrificación. Su desarrollo ocurre preferentemente en condiciones de pH moderado a ligeramente alcalino, generalmente entre 6 y 9, y presenta temperaturas óptimas de crecimiento cercanas a 20–30 °C [99]. Debido a su capacidad para reducir las concentraciones de amoníaco en corrientes gaseosas, *Nitrosomonas europaea* ha sido ampliamente estudiada como microorganismo modelo en biofiltros y biofiltros percoladores destinados al tratamiento de emisiones provenientes de actividades agropecuarias e industriales.

La utilización conjunta de microorganismos sulfo-oxidantes, como *Thiobacillus thioparus*, y bacterias nitrificantes, como *Nitrosomonas europaea*, permite el desarrollo de consorcios microbianos capaces de tratar simultáneamente compuestos reducidos de azufre y nitrógeno. Esta estrategia resulta especialmente relevante en emisiones provenientes de instalaciones de producción animal, donde el amoníaco y el ácido sulfhídrico se encuentran frecuentemente presentes como contaminantes principales.

En relación con los compuestos hidrofóbicos asociados a la generación de olores, los cresoles corresponden a compuestos químicos aromáticos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y en diversos ambientes contaminados. En estado puro pueden presentarse como sólidos o líquidos incoloros, dependiendo de la temperatura, y poseen un olor característico descrito como similar al de la madera o al alquitrán.

El para-cresol (p-cresol o 4-metilfenol) es un compuesto fenólico constituido por un anillo bencénico sustituido con un grupo hidroxilo (-OH) y un grupo metilo (-CH₃) ubicados en las posiciones 1 y 4, respectivamente. Debido a sus propiedades químicas, es utilizado como materia prima en la fabricación de desinfectantes, desodorantes, productos químicos industriales y plaguicidas [100]. Este compuesto se encuentra presente en diversos alimentos, en el humo generado por la combustión de madera y tabaco, en el alquitrán de hulla y en mezclas derivadas de la combustión de alquitrán de madera y ácidos cresílicos utilizados en procesos de preservación de madera [101].

El indol es un compuesto orgánico aromático heterocíclico que se presenta como un sólido a temperatura ambiente. En ambientes naturales puede generarse mediante procesos microbiológicos asociados a la degradación del aminoácido triptófano, principalmente por acción de bacterias presentes en el tracto gastrointestinal de animales y seres humanos [102]. Este compuesto forma parte de numerosos productos naturales y estructuras alcaloides, encontrándose también en heces humanas y animales, donde contribuye significativamente al olor fecal característico debido a su bajo umbral de percepción olfativa [103]. Sin embargo, a concentraciones extremadamente bajas presenta notas aromáticas florales, por lo que también forma parte de algunas esencias utilizadas en perfumería [104].

Tanto el indol como el p-cresol se encuentran entre los principales compuestos responsables del olor característico asociado a las emisiones provenientes de planteles porcinos, debido a que se generan principalmente durante la degradación microbiana de proteínas y aminoácidos presentes en los purines. A diferencia del amoníaco y el ácido sulfhídrico, estos compuestos presentan una baja solubilidad en agua y una mayor afinidad por fases orgánicas, por lo que son clasificados como compuestos hidrofóbicos.

Esta característica representa un desafío para los sistemas convencionales de biofiltración, debido a que la transferencia desde la fase gaseosa hacia la biopelícula acuosa constituye una etapa limitante para su biodegradación. Por esta razón, la incorporación de microorganismos con capacidad degradadora de compuestos aromáticos, particularmente hongos con sistemas enzimáticos oxidativos extracelulares, constituye una estrategia de interés para mejorar la eliminación de estos contaminantes odorantes.

Respecto a los estudios asociados a la eliminación de compuestos similares al indol y p-cresol, se ha demostrado que los hongos presentan una elevada capacidad para degradar compuestos aromáticos complejos presentes tanto en matrices líquidas como gaseosas. Esta capacidad está asociada principalmente a la producción de enzimas oxidativas extracelulares, características de los

hongos ligninolíticos, que les permiten transformar una amplia variedad de compuestos recalcitrantes y xenobióticos.

Se ha reportado la eliminación de contaminantes xenobióticos mediante hongos en sistemas líquidos y sólidos, demostrando su potencial para la biodegradación de compuestos aromáticos de difícil degradación [105]. En sistemas gaseosos, se evaluó la eliminación de α -pineno mediante un biofiltro inoculado con especies del género *Ophiostoma*. El sistema operó a escala piloto, utilizando una columna de 7,5 cm de diámetro y 70 cm de altura, rellena con roca volcánica hasta una altura de 25 cm, obteniéndose una adecuada capacidad de remoción del compuesto [28].

Asimismo, se estudió la eliminación simultánea de n-hexano y metanol en fase gaseosa mediante un biofiltro de lecho escurrido inoculado con hongos. En este sistema, la solución nutritiva fue tamponada a pH 4 y el material de relleno correspondió a pellets de tierra de diatomeas, observándose la capacidad de los microorganismos fúngicos para desarrollarse bajo condiciones ácidas y degradar compuestos orgánicos volátiles hidrofóbicos [106]

La ventaja del empleo de consorcios fúngico-bacterianos también ha sido evaluada en comparación con sistemas exclusivamente bacterianos. En biofiltros de 2,6 L rellenos con perlita e inoculados con un cultivo mixto de bacterias y hongos, se estudió la eliminación de n-hexano bajo condiciones neutras y ácidas. Para una carga de entrada cercana a $140 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$, se alcanzaron capacidades de eliminación de 60 y $100 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$ en los sistemas operados en condiciones neutras y ácidas, respectivamente, demostrando una mejora asociada a la presencia de hongos dentro del consorcio microbiano [107].

Por otra parte, Yang et al. evaluaron la eliminación de clorobenceno presente en una corriente gaseosa mediante un biofiltro de recirculación inoculado con hongos. El sistema correspondió a una columna fabricada en polímero de 10 cm de diámetro y 120 cm de altura, con un volumen de relleno de 8,64 L, operada en contracorriente y con tiempos de residencia de lecho vacío entre 28 y 90 s. Para concentraciones de entrada entre 649 y 2020 mg/m^3 , se reportaron eficiencias de eliminación cercanas al 91 %, evidenciando la capacidad de los hongos para remover compuestos aromáticos clorados presentes en fase gaseosa [108].

En relación con compuestos odorantes específicos provenientes de actividades agropecuarias, como el indol y el p-cresol, se ha estudiado la capacidad de diferentes especies fúngicas para utilizarlos como fuente de carbono y energía. Jones et al. demostraron que *Aspergillus fumigatus* fue capaz de crecer en presencia de p-cresol como única fuente de carbono. Durante la incubación del medio suplementado con este compuesto se observó un aumento progresivo de la biomasa micelial, acompañado de la desaparición del p-cresol presente en el medio, confirmando la capacidad metabólica del microorganismo para degradar este compuesto aromático [45],

En otro estudio, Benavides et al. evaluaron la degradación de compuestos fenólicos asociados a residuos lignocelulósicos provenientes de la extracción de aceite de oliva mediante los hongos de pudrición blanca *Anthracoophyllum discolor* y *Stereum hirsutum*. Se estudió el efecto de la incorporación controlada de cobre y manganeso como inductores de la actividad enzimática oxidativa, alcanzándose porcentajes de degradación de lignina cercanos al 94 % [109].

Estas especies también han demostrado capacidad para eliminar compuestos fenólicos clorados altamente persistentes. En este sentido, se evaluó la adsorción de pentaclorofenol mediante biomasa viva granulada de *Anthracyllum discolor*, estudiando el efecto del pH y la concentración inicial del contaminante. Los resultados indicaron que la adsorción fue favorecida bajo condiciones ácidas, alcanzándose las mayores eficiencias de remoción a valores bajos de pH.

Asimismo, Diez et al. estudiaron la degradación de 2,4-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol y pentaclorofenol mediante *Anthracyllum discolor* inmovilizado en granos de trigo dentro de columnas de suelo alofánico acidificado. Los resultados demostraron que la eliminación de estos compuestos ocurrió mediante procesos combinados de adsorción y biodegradación. El 2,4,6-triclorofenol presentó una menor degradación respecto al 2,4-diclorofenol, mientras que la actividad enzimática disminuyó cuando el sistema fue alimentado con pentaclorofenol. [111], [112].

Posteriormente, Cea et al. evaluaron la biorremediación de suelos contaminados con pentaclorofenol mediante *Anthracyllum discolor* en tres condiciones experimentales: suelo fresco, suelo fresco suplementado con paja de trigo y suelo fresco con paja de trigo inoculado con el hongo. Los resultados indicaron una degradación eficiente del contaminante debido a la acción conjunta del hongo y los microorganismos autóctonos del suelo. Además, la incorporación de paja de trigo favoreció la actividad enzimática y aumentó la degradación del pentaclorofenol, demostrando la capacidad de *A. discolor* para desarrollarse sobre sustratos lignocelulósicos y degradar compuestos fenólicos [110], [111], [112].

Considerando los antecedentes disponibles, se seleccionaron dos especies de hongos ligninolíticos para el desarrollo de este estudio: *Anthracyllum discolor* y *Stereum hirsutum*.

Anthracyllum discolor es un hongo basidiomiceto ligninolítico nativo de Chile, caracterizado por presentar cuerpos fructíferos con forma de concha, de aproximadamente 8 a 30 mm de ancho, coloración anaranjada y presencia de estrías superficiales. Se encuentra distribuido sobre ramas secas de diversas especies leñosas nativas. Esta especie ha sido ampliamente estudiada por su capacidad para degradar compuestos aromáticos de alta complejidad, incluyendo contaminantes de tres, cuatro y cinco anillos aromáticos, presentando elevadas tasas de remoción. Se ha asociado su capacidad degradadora principalmente a la actividad de enzimas ligninolíticas, especialmente manganeso peroxidasa [146].

Por otra parte, *Stereum hirsutum* es un hongo ligninolítico cosmopolita ampliamente distribuido, presente en Chile desde la zona central hasta el extremo austral. Su capacidad para degradar madera y otros materiales lignocelulósicos ha sido estudiada durante décadas [147]. Además, ha sido identificado como agente asociado a enfermedades en cultivos de vid [148] y como productor de enzimas ligninolíticas extracelulares [149]. Junto con *A. discolor*, esta especie ha sido utilizada en procesos de deslignificación y eliminación de compuestos fenólicos, demostrando su potencial para aplicaciones ambientales [150].

Las cepas utilizadas en este estudio para ambas especies fueron proporcionadas por el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

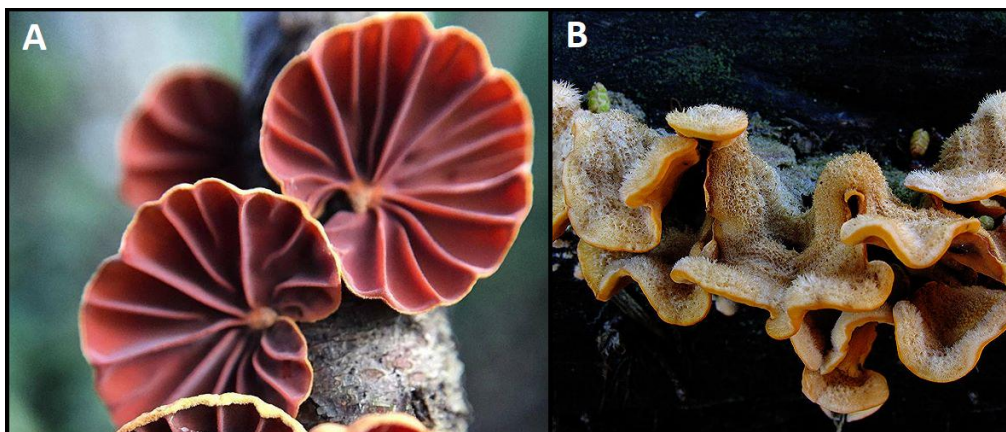


Figura 2-5. *Anthracophyllum discolor* (A) y *Stereum hirsutum* (B) en la naturaleza.

La especie *A discolor*, habita en la zona sur de Chile y Argentina y en su forma natural presenta un carpóforo con forma de concha de color rosado-anaranjado. *S hirsutum* es una especie cosmopolita que presenta en forma natural una forma de costra de aspecto esponjoso, pero dura. Imágenes tomadas de (A): *Anthracophyllum discolor* [fotografía] Ladera Sur, 2022, <https://laderasur.com/articulo/las-sorpresas-del-museo-del-hongo-la-iniciativa-de-arte-pionera-en-chile-que-se-inspira-en-la-ciencia-del-reino-fungi/anthracophyllum-discolor-veronica-lopez>. (B): *Stereum hirsutum* [fotografía], Sociedad Micológica Extremeña, 2016, <https://micoex.org/2016/09/17/stereum-hirsutum/>.

En el tratamiento biológico de corrientes gaseosas que contienen mezclas de compuestos odorantes se han descrito tanto efectos sinérgicos como antagónicos asociados a su eliminación. En particular, diversos estudios han señalado que la presencia simultánea de compuestos hidrofílicos puede generar un efecto inhibitorio sobre la remoción de compuestos hidrofóbicos, debido principalmente a diferencias en los mecanismos de transferencia desde la fase gaseosa hacia la biopelícula y a la disponibilidad del contaminante para los microorganismos degradadores.

Esta interacción entre contaminantes puede reducir la eficiencia global de eliminación de olores cuando se emplean sistemas biológicos de una sola etapa. Por esta razón, se han propuesto estrategias como los sistemas multietapa, donde diferentes unidades de tratamiento o comunidades microbianas especializadas permiten optimizar la eliminación de compuestos con propiedades fisicoquímicas diferentes, mejorando la eficiencia global del proceso [113].

2.1.8 Enzimas y actividad enzimática fúngica.

Durante gran parte de la historia de la clasificación biológica, los hongos fueron incluidos dentro del reino Plantae debido a ciertas características morfológicas y a su naturaleza sésil. Sin embargo, a partir del desarrollo de herramientas moleculares y estudios filogenéticos, se estableció que los hongos constituyen un reino independiente, denominado Fungi, claramente diferenciado de las plantas y los animales [114].

El reino Fungi comprende diversos grupos taxonómicos, dentro de los cuales destacan los filos *Ascomycota* y *Basidiomycota*, que en conjunto incluyen más del 95 % de las especies de hongos descritas actualmente [115], [116]. Dentro de ambos grupos se encuentran los denominados hongos de pudrición blanca, organismos de gran importancia ecológica debido a su capacidad única para degradar eficientemente los principales componentes estructurales de la madera, incluyendo celulosa, hemicelulosa y, especialmente, lignina, pudiendo conducir finalmente a la mineralización de estos compuestos.

En los ecosistemas forestales, la actividad de los hongos de pudrición blanca cumple un papel fundamental en el ciclo del carbono, ya que permite la transformación de biomasa vegetal recalcitrante y favorece la formación de materia orgánica estable en el suelo. Este proceso resulta esencial para la generación de humus y la disponibilidad de nutrientes dentro de los sistemas naturales.

La degradación de la madera por estos hongos está asociada principalmente a la producción de un complejo sistema enzimático extracelular, compuesto por enzimas oxidativas capaces de modificar y romper estructuras aromáticas complejas. El proceso comienza con el crecimiento de las hifas fúngicas, estructuras filamentosas con diámetros aproximados entre 1 y 2 μm , que penetran en las paredes celulares y lúmenes de los tejidos vegetales, generando una amplia superficie de contacto entre el microorganismo y el sustrato lignocelulósico.

A través de esta interacción, las enzimas extracelulares son secretadas hacia la matriz vegetal, donde participan en la oxidación y despolimerización de la lignina. Este proceso modifica químicamente la estructura lignocelulósica, generando inicialmente alteraciones en la superficie del material y posteriormente un aumento de su porosidad, facilitando el acceso de los microorganismos y enzimas a componentes previamente protegidos [117].

La capacidad de los hongos de pudrición blanca para degradar estructuras aromáticas complejas no se limita exclusivamente a la lignina presente en la madera, sino que también permite la transformación de diversos contaminantes ambientales que presentan estructuras químicas similares a los componentes lignocelulósicos. Entre estos compuestos se encuentran sustancias fenólicas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, clorofenoles y diversos compuestos xenobióticos. Esta capacidad oxidativa ha favorecido la aplicación de estos microorganismos en procesos de biorremediación y en el tratamiento biológico de corrientes gaseosas contaminadas con compuestos orgánicos volátiles y odorantes hidrofóbicos.

La degradación de la lignina por hongos de pudrición blanca está asociada principalmente a la acción de un complejo sistema enzimático extracelular de carácter oxidativo. Dentro de las enzimas ligninolíticas más estudiadas se encuentran la lignina peroxidasa (LiP), la manganeso peroxidasa (MnP), la versatile peroxidasa (VP) —también denominada peroxidasa independiente de manganeso o lignina peroxidasa versátil— y las lacasas (Lac). Estas enzimas son capaces de romper enlaces presentes en estructuras aromáticas complejas degradando el polímero de lignina y otros compuestos similares. [118]

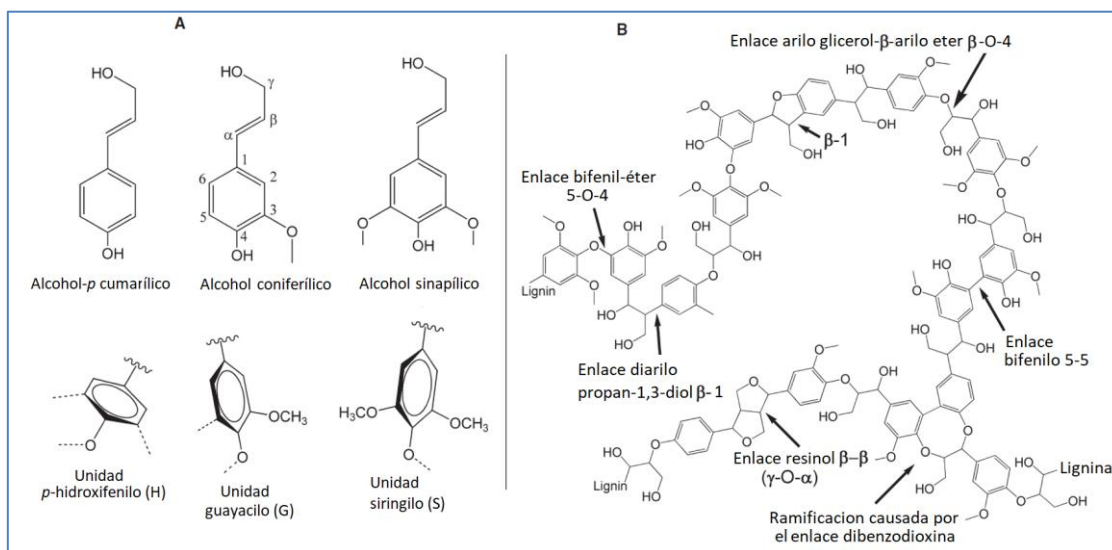


Figura 2-6. Estructura de los monómeros y unidades estructurales de la lignina.

En A. se muestran los monómeros primarios (arriba) y unidades estructurales en la lignina (abajo) indicadas como unidades de *p*-hidroxifenilo (H), guayacilo (G) y siringilo (S). En B se muestra un esquema de la estructura de una lignina donde se indican los enlaces más frecuentes, imagen basada en Bladrian et.al [119] .

2.1.8.1 Lignino peroxidasa.

La lignina peroxidasa (LiP) es una de las enzimas ligninolíticas más importantes asociadas a la degradación oxidativa de la lignina, siendo producida principalmente por hongos de pudrición blanca pertenecientes al filo *Basidiomycota*. Esta enzima corresponde a una glicoproteína del tipo oligomanosa, con pesos moleculares generalmente comprendidos entre 38 y 43 kDa, y se caracteriza por presentar un elevado potencial de óxido-reducción, lo que le permite oxidar compuestos con altos potenciales redox que no pueden ser transformados mediante otras enzimas oxidativas.

La LiP posee una baja especificidad de sustrato, lo que le permite actuar sobre una amplia variedad de estructuras aromáticas presentes en la lignina y en compuestos xenobióticos con características químicas similares. Esta enzima puede oxidar unidades fenólicas y no fenólicas mediante la generación de radicales libres, permitiendo la ruptura de enlaces químicos estables dentro de la estructura lignocelulósica.

Entre las principales reacciones catalizadas por la LiP se encuentran la escisión de enlaces carbono-carbono (C-C) en las cadenas laterales propílicas de las unidades estructurales de la lignina, la hidroxilación de grupos metileno bencílicos, la oxidación de alcoholes bencílicos a aldehídos o cetonas, la oxidación de estructuras fenólicas y la apertura del anillo aromático en unidades no fenólicas de lignina. Estas últimas representan aproximadamente el 90 % de la estructura total de la lignina y corresponden a las fracciones más recalcitrantes del polímero.

El mecanismo catalítico de la LiP corresponde al ciclo característico de las peroxidases dependientes de peróxido de hidrógeno. En su estado basal, la enzima contiene un grupo hemo en estado férrico

(Fe^{3+}). La reacción se inicia mediante la oxidación de la enzima nativa por H_2O_2 , generando el intermediario denominado compuesto I, que presenta una deficiencia electrónica equivalente a dos electrones. Posteriormente, el compuesto I puede oxidar una molécula de sustrato y reducirse al compuesto II, el cual posee una deficiencia electrónica equivalente a un electrón. Una segunda reacción de oxidación del sustrato permite que el compuesto II regrese al estado nativo de la enzima, completando el ciclo catalítico.

Cuando existe una concentración excesiva de H_2O_2 , este puede reaccionar con el compuesto II y generar el compuesto III, una forma inactiva de la enzima que disminuye su actividad catalítica. Para evitar este proceso y favorecer la oxidación de moléculas que no tienen acceso directo al sitio activo de la enzima, la LiP puede utilizar mediadores redox. Uno de los mediadores más estudiados es el alcohol veratrílico, el cual participa en la transferencia de electrones desde sustratos complejos hacia la enzima, permitiendo la oxidación indirecta de compuestos recalcitrantes y evitando la inactivación enzimática,[120].

El mecanismo catalítico de la lignina peroxidasa se representa esquemáticamente en la Figura 2-7, donde se muestran las etapas de formación y reducción de los intermediarios enzimáticos durante el proceso oxidativo.

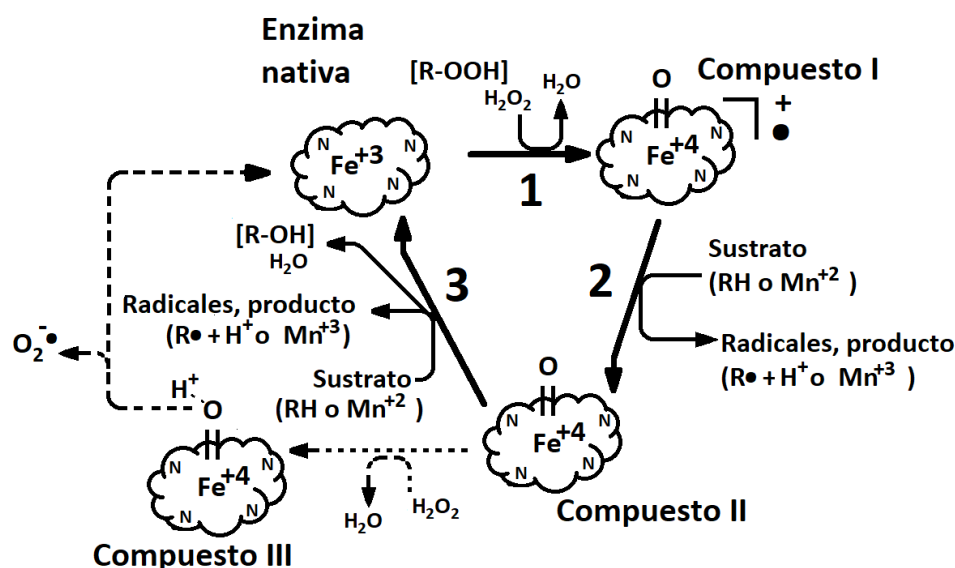


Figura 2-7. Ciclo catalítico de la enzima Lignina Peroxidasa.

La enzima nativa es oxidada por H_2O_2 (1) y genera el compuesto I, deficiente en dos electrones, el compuesto I oxida un compuesto (2) y se reduce al compuesto II, deficiente en un electrón, otra oxidación (3) de otra molécula por el compuesto II devuelve la peroxidasa a su estado de reposo nativo. Cuando hay exceso de H_2O_2 , este se combina con el compuesto II generando el compuesto III, (una forma inactiva de la enzima); en casos donde los sustratos no son directamente accesibles al grupo hemo de LiP y no se produce la oxidación directa del sustrato, se requerirá de un mediador redox. El alcohol veratrílico es usado como tal pasando a catión radical VA, oxidante potente que actúa como mediador de transferencia de electrones (Elaboración propia, 2024).

2.1.8.2 Manganese Peroxidase.

La enzima manganese peroxidase (MnP) es una de las enzimas ligninolíticas más importantes producidas por los microorganismos degradadores de lignina. Al igual que la lignine peroxidase (LiP), corresponde a una hemo-peroxidase que requiere peróxido de hidrógeno (H_2O_2) para desarrollar su actividad catalítica. Su presencia ha sido ampliamente descrita en hongos de podredumbre blanca, donde participa junto con la lignine peroxidase y la lacasa en los procesos oxidativos responsables de la degradación de la lignina.

El potencial redox del sistema MnP-Mn es menor que el del sistema LiP; sin embargo, la MnP presenta una elevada especificidad por el ion manganeso en estado reducido (Mn^{2+}), el cual actúa como sustrato reductor durante el ciclo catalítico de la enzima. La MnP cataliza la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} , generando una especie altamente oxidante. No obstante, el Mn^{3+} es inestable en medios acuosos debido a su tendencia a sufrir procesos de hidrólisis y precipitación.

Para solucionar esta limitación, los hongos de podredumbre blanca producen metabolitos orgánicos capaces de actuar como agentes quelantes de iones metálicos, entre ellos oxalato, malonato y glicolato. Estos compuestos estabilizan al Mn^{3+} mediante la formación de complejos solubles, permitiendo su difusión hacia la matriz lignocelulósica y favoreciendo la oxidación de diversos componentes de la lignina.

Los complejos Mn^{3+} -quelato poseen una alta capacidad oxidante y pueden actuar sobre compuestos fenólicos y no fenólicos. En el caso de los sustratos fenólicos, el Mn^{3+} provoca la transferencia de un electrón desde el compuesto orgánico, generando un radical fenoxilo intermediario que posteriormente puede experimentar diferentes reacciones químicas, originando productos de degradación de menor complejidad estructural.

Para los sustratos no fenólicos, la oxidación mediada por Mn^{3+} requiere generalmente la participación de un segundo mediador químico, capaz de favorecer la formación de radicales altamente reactivos que permiten la ruptura de enlaces presentes en estructuras complejas de la lignina [35].

El ciclo enzimático de la manganese peroxidase se presenta en la Figura 2-8.

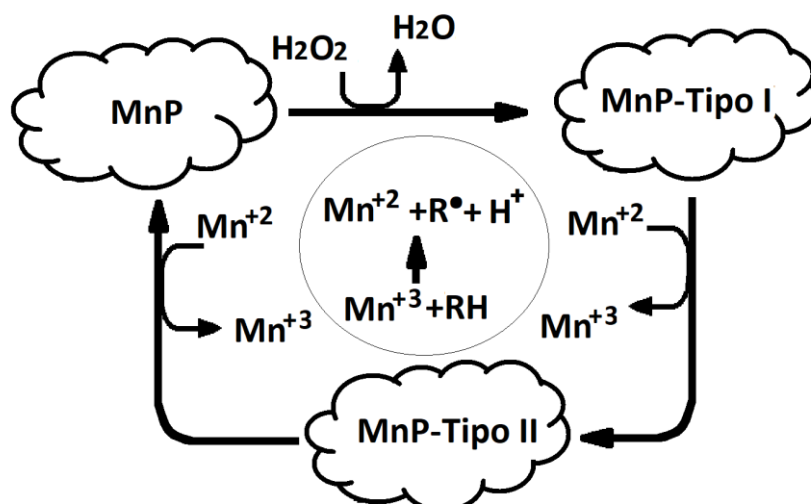


Figura 2-8. Ciclo catalítico de la enzima manganoso peroxidasa.

El ciclo implica la transformación de la enzima nativa al compuesto MnP-Tipo I mediante la acción del peróxido de hidrogeno; luego, la enzima para a la forma MnP-Tipo II mediante la oxidación de Mn^{+2} a Mn^{+3} . En la tercera parte del ciclo se produce el retorno a la forma nativa de la enzima desde la forma MnP-Tipo II mediante la oxidación de otro ion Mn^{+2} a Mn^{+3} , el Mn^{+3} formado se une a quelantes y en su forma quelada, media la oxidación de sustratos orgánicos RH para reducirse a Mn^{+2} , reiniciando el ciclo (Elaboración propia, 2024).

Elevadas concentraciones de manganeso pueden provocar la inhibición de la actividad de la manganoso peroxidasa (MnP), debido a la generación excesiva de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), lo que puede romper el ciclo catalítico de la enzima. Este fenómeno también ha sido asociado con efectos negativos sobre la biomasa fúngica y el crecimiento micelial de los hongos productores de MnP.

La actividad de la MnP puede ser estimulada mediante la acción conjunta de otras enzimas ligninolíticas, como la lignino peroxidasa (LiP), así como por la presencia de sulfato de cobre ($CuSO_4$) y determinados compuestos orgánicos, entre ellos el lactato. Este último favorece la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} , facilitando la generación del complejo oxidante Mn^{3+} -quelato responsable de la degradación de diversos compuestos presentes en la lignina.

La estabilidad de la enzima está fuertemente condicionada por el pH del medio; valores superiores a 7,5 provocan la pérdida de actividad catalítica de la MnP, debido a la alteración de la estructura proteica y a la disminución de la eficiencia del ciclo oxidativo [121].

2.1.8.3 Manganeso Independiente Peroxidasa o Versátil Peroxidasa.

La enzima peroxidasa versátil (VP), también denominada peroxidasa independiente de manganeso o manganeso-independiente, corresponde a una peroxidasa ligninolítica híbrida capaz de combinar características catalíticas propias de la manganoso peroxidasa (MnP) y la lignino peroxidasa (LiP).

Esta enzima puede utilizar el ciclo catalítico característico de la MnP, mediante la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} , así como el mecanismo oxidativo de la LiP, empleando compuestos aromáticos como el alcohol veratrílico como mediador redox.

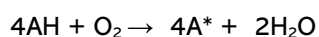
La VP presenta una amplia capacidad oxidativa, pudiendo actuar sobre diversos sustratos fenólicos y no fenólicos. Además, posee la capacidad de oxidar hidroquinonas y otros compuestos fenólicos que no son eficientemente transformados por la lignina peroxidasa ni por la manganosa peroxidasa, lo que le confiere una mayor versatilidad catalítica. Debido a estas características, es considerada una tercera clase de peroxidasa ligninolítica con propiedades intermedias entre la LiP y la MnP [122].

Estudios cristalográficos, espectroscópicos, de mutagénesis dirigida y análisis cinéticos han demostrado que la versatilidad funcional de esta enzima está asociada a la presencia de diferentes sitios catalíticos dentro de una misma estructura proteica. Estos sitios presentan homología con los centros activos identificados en otras peroxidases ligninolíticas, permitiendo que la VP pueda interactuar con una mayor diversidad de sustratos y desarrollar diferentes rutas oxidativas durante la degradación de la lignina [123].

2.1.8.4 Lacasa.

Las lacasas constituyen un grupo de enzimas ampliamente distribuidas en diversos organismos, incluyendo hongos, bacterias, plantas e insectos. Estas enzimas presentan masas moleculares generalmente comprendidas entre 50 y 100 kDa y corresponden a glicoproteínas con puntos isoeléctricos (pI) y valores óptimos de actividad predominantemente en condiciones ácidas. Se clasifican dentro del grupo de las oxidasas multicobre azules debido a la presencia de centros de cobre involucrados en sus procesos catalíticos [120].

Las lacasas requieren cobre molecular y oxígeno como elementos esenciales para desarrollar reacciones oxidativas sobre una amplia variedad de sustratos, incluyendo compuestos fenólicos, aminas aromáticas, lignina y algunos compuestos no fenólicos. Su mecanismo de acción se basa en la transferencia de electrones desde el sustrato hacia el centro metálico de la enzima, generando radicales libres como intermediarios de reacción, de acuerdo con la Ecuación 2-2.



Ecuación 2-1. Mecanismo oxidación de la enzima lacasa.

- AH: Donante de electrones
- A* : Radical generado en el proceso oxidativo

La especie transitoria A* es altamente reactiva y puede seguir diferentes rutas químicas. Una de ellas corresponde al acoplamiento radicalario, en el cual dos radicales fenoxilo pueden combinarse para formar dímeros o polímeros. Este proceso puede repetirse sucesivamente, dando origen a compuestos macromoleculares insolubles.

La presencia de mediadores redox permite ampliar considerablemente el rango de sustratos susceptibles de oxidación por las lacasas, incluso aquellos con elevados potenciales redox que no pueden ser transformados directamente por la enzima. A diferencia de la lignina peroxidasa (LiP) y la manganeso peroxidasa (MnP), las lacasas no requieren peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como co-sustrato para llevar a cabo la oxidación de sus sustratos, utilizando directamente oxígeno molecular como aceptor final de electrones.

El sitio activo de las lacasas contiene cuatro átomos de cobre distribuidos en tres tipos de centros catalíticos: un cobre tipo 1 (T1), un cobre tipo 2 (T2) y dos cobres tipo 3 (T3). Los dos centros de cobre tipo 3 se encuentran acoplados antiferromagnéticamente, mientras que los centros T2 y T3 forman un agrupamiento trinuclear capaz de enlazar y reducir el oxígeno molecular, el cual actúa como aceptor final de electrones durante el ciclo catalítico.

El cobre tipo 1 (T1) es responsable de la coloración azul característica de estas proteínas, debido a su elevada absorbancia alrededor de 605 nm, asociada principalmente a la unión covalente entre el cobre y el residuo de cisteína. Este centro presenta un elevado potencial redox y constituye el sitio donde ocurre la oxidación inicial del sustrato. Algunas lacasas presentan modificaciones en este centro metálico y carecen de la coloración azul característica, siendo denominadas lacasas blancas o amarillas [124].

El ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), denominado ABTS, corresponde a un compuesto aromático sintético con grupos nitrogenados que puede ser oxidado por la enzima lacasa, generando una especie radicalaria capaz de participar en la oxidación de estructuras presentes en la lignina.

En el mecanismo de acción, el ABTS actúa como un mediador redox entre la enzima y el sustrato lignocelulósico. Durante el ciclo catalítico, la lacasa utiliza oxígeno molecular como aceptor final de electrones, reduciéndolo hasta agua, mientras que simultáneamente transfiere un electrón al mediador ABTS, generando el radical catiónico $ABTS^{\bullet+}$. Esta especie oxidada presenta una elevada capacidad oxidante y puede difundirse hacia la matriz lignocelulósica, donde participa en la oxidación de compuestos fenólicos y no fenólicos asociados a la estructura de la lignina.

Posteriormente, el mediador oxidado retorna a su estado reducido mediante la transferencia de electrones desde los compuestos de lignina, permitiendo la regeneración del ciclo catalítico. De esta manera, la presencia de ABTS amplía significativamente el rango de sustratos susceptibles de oxidación por la lacasa, permitiendo la degradación de estructuras que no pueden ser atacadas directamente por la enzima debido a limitaciones de tamaño molecular o potencial redox.

La Figura 2-9 muestra un esquema representativo del ciclo catalítico de las lacasas, además, el esquema del mecanismo de acción del sistema lacasa-ABTS se presenta en la Figura 2-10.

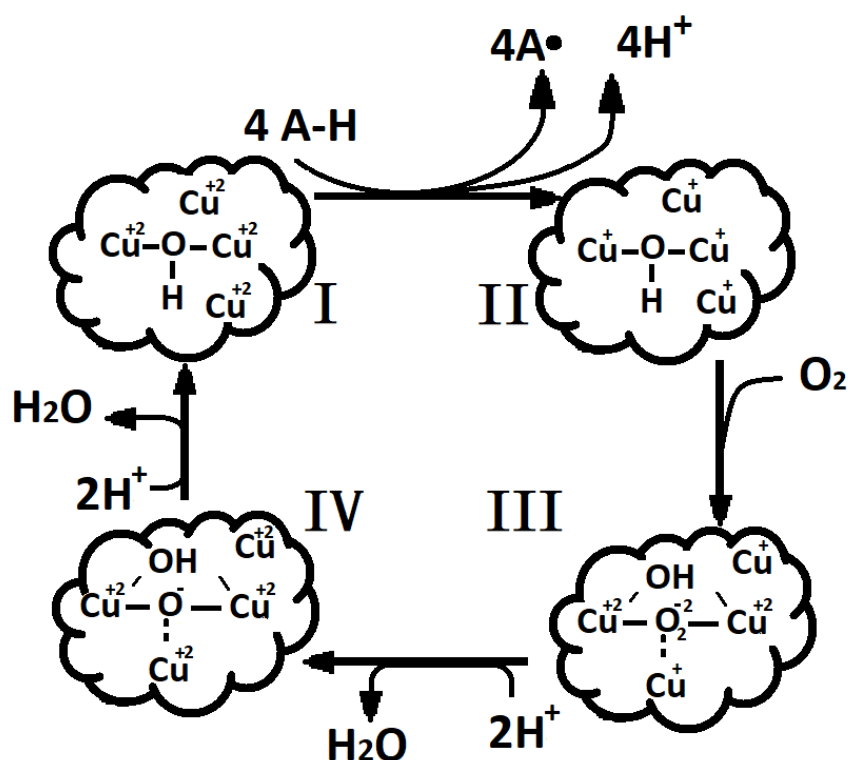


Figura 2-9. Ciclo catalítico de la enzima lacasa.

En la primera etapa, la enzima se reduce uniéndose al sustrato fenólico, catalizando su oxidación y liberando los electrones que serán transferidos al oxígeno. Los 4 electrones del sustrato son transferidos al oxígeno molecular, que actúa como el aceptor final de electrones; este proceso reduce al oxígeno molecular formando 2 moléculas de agua en dos etapas sucesivas. Tras la transferencia de los 4 electrones, la enzima regresa a su estado de actividad, lista para iniciar un nuevo ciclo de catálisis (Elaboración propia, 2024).

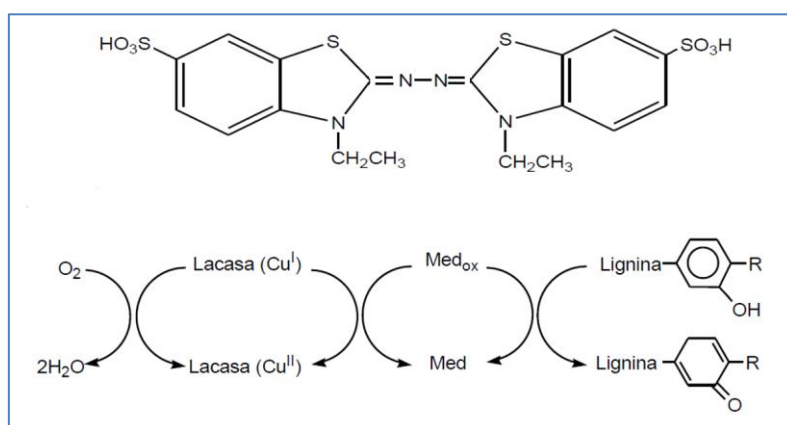


Figura 2-10. Estructura del ABTS y modelo del mecanismo de acción con la enzima lacasa.

Estructura del ABTS (arriba) y modelo del mecanismo de acción de una reacción lacasa-mediador (abajo), el oxígeno presente oxida a la enzima, la cual oxida al mediador tomando un electrón y generando un radical libre, luego el mediador oxidado difunde en las fibras y oxida a la lignina, cuando el oxígeno es reducido a agua el ciclo se repite, imagen tomada de Webster et al. [117].

2.1.9 Aplicaciones biotecnológicas de las enzimas lignolíticas fúngicas.

Actualmente, las enzimas fúngicas son utilizadas en diversos procesos industriales, incluyendo las industrias papelera, textil, alimentaria y ambiental. Una característica relevante de estas enzimas es su elevada capacidad catalítica, asociada a una baja especificidad de sustrato, lo que les permite actuar sobre una amplia variedad de compuestos químicos. Además, su origen biológico y su capacidad de operar bajo condiciones moderadas de temperatura y presión les confieren ventajas desde el punto de vista ambiental. Sin embargo, la producción de enzimas a escala industrial continúa siendo un proceso costoso; por esta razón, el empleo de residuos vegetales como sustratos para su producción se ha estudiado como una alternativa para reducir los costos asociados al proceso [122].

En la industria papelera, el proceso de blanqueamiento tiene como objetivo eliminar o disminuir el contenido de lignina residual presente en la pulpa, otorgando al papel su característica coloración blanca. Este proceso genera efluentes industriales con cantidades importantes de compuestos lignínicos y derivados aromáticos, los cuales representan una fuente de contaminación ambiental [125]. En este contexto, el uso de enzimas ligninolíticas, especialmente lacasas, ha demostrado una elevada eficiencia en la remoción y transformación de lignina residual [126]. Además, se ha investigado la aplicación de lacasas en procesos de reciclaje de papel y en el tratamiento de efluentes provenientes de la industria papelera, debido a su capacidad para degradar compuestos aromáticos persistentes [127], [128]. Por otra parte, la producción de colorantes sintéticos utilizados en la industria textil genera residuos que pueden presentar características tóxicas, mutagénicas y/o recalcitrantes debido a la complejidad de sus estructuras químicas. En este ámbito, las enzimas oxidativas, particularmente lacasas y peroxidasas, han sido ampliamente estudiadas como alternativas biotecnológicas para la eliminación de estos contaminantes presentes en residuos industriales líquidos [129].

Las enzimas ligninolíticas producidas por hongos, especialmente las lacasas, también poseen aplicaciones relevantes en la industria alimentaria. Estas enzimas pueden emplearse para mejorar la calidad de productos vegetales mediante el control de procesos oxidativos, así como en la clarificación del vino a través de la eliminación de compuestos fenólicos responsables de fenómenos de turbidez y alteraciones en las propiedades organolépticas. Asimismo, la estabilización de jugos de frutas y la prolongación de la vida útil de bebidas como la cerveza constituyen aplicaciones potenciales asociadas al uso de lacasas. Muchas de estas aplicaciones se relacionan con la capacidad de estas enzimas para eliminar oxígeno residual presente durante los procesos de elaboración y almacenamiento [123].

La capacidad de las lacasas para catalizar reacciones oxidativas sin requerir cofactores adicionales, junto con su baja especificidad frente a diversos compuestos fenólicos, las convierte en herramientas prometedoras para el desarrollo de biosensores. Estos dispositivos pueden emplearse en la detección de compuestos como catecoles presentes en té, trazas de compuestos fenólicos en vinos, así como ligninas y fenoles en efluentes industriales. Además, mediante la combinación con otras enzimas, las lacasas pueden integrarse en biosensores con un amplio rango de detección de diferentes sustratos [128].

Finalmente, la capacidad de las lacasas para utilizar oxígeno molecular como sustrato ha permitido su aplicación en sistemas de generación de energía, como las celdas de biocombustible enzimáticas.

En estos dispositivos, la enzima es inmovilizada en el cátodo de la celda y cataliza la reducción del oxígeno a agua, contribuyendo al desarrollo de tecnologías de generación energética limpia [129].

2.1.9.1 Hongos y enzimas fúngicas en biorremediación.

Además de las aplicaciones industriales previamente descritas, el uso de enzimas ligninolíticas en procesos ambientales ha adquirido gran relevancia debido a su baja especificidad de sustrato y su amplio rango de acción oxidativa. Estas características permiten su aplicación en el tratamiento de una amplia variedad de contaminantes recalcitrantes generados por diversas actividades industriales.

Entre los contaminantes susceptibles de ser tratados mediante estas enzimas se encuentran los xenobióticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), compuestos pertenecientes al grupo BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) y bifenilos policlorados (PCB). Estos últimos son compuestos altamente persistentes en el ambiente y han sido asociados con efectos carcinogénicos y mutagénicos, debido a su elevada estabilidad química y resistencia a la degradación natural [49], [109],[130].

Diversos estudios han demostrado la capacidad de hongos ligninolíticos para participar en procesos de biorremediación de contaminantes ambientales. Por ejemplo, se han empleado hongos productores de enzimas oxidativas para la degradación de atrazina en suelos semiáridos con baja disponibilidad de humedad. Asimismo, lacasas producidas por *Trametes versicolor* y *Pleurotus ostreatus* han demostrado capacidad para degradar compuestos como bifenilos policlorados (PCB) y fenoles.

De manera similar, la lacasa obtenida a partir de *Trametes villosa* ha sido utilizada en procesos de remediación de suelos contaminados mediante la degradación de 2,4-diclorofenol. Por otra parte, *Cerrena unicolor* es capaz de producir lacasa bajo condiciones limitantes de nitrógeno, presentando potencial para la degradación de biomasa lignocelulósica; se ha reportado una reducción del contenido de lignina en bagazo de caña de azúcar de hasta un 36 % después de 24 h de tratamiento a 30 °C [131].

Aunque la biofiltración es una tecnología ampliamente estudiada y aplicada para el control de contaminantes, requiere una evolución constante debido a la necesidad de adaptarse a nuevos desafíos ambientales, requerimientos operacionales y normativas cada vez más exigentes [132]. En este contexto, la incorporación de estrategias provenientes de otros campos de la biorremediación, como el uso de microorganismos ligninolíticos, representa una alternativa prometedora para mejorar la eficiencia de los sistemas convencionales.

La capacidad de los hongos como agentes biorremediadores ha sido estudiada por diversos autores debido a su capacidad enzimática para degradar una amplia variedad de compuestos recalcitrantes. Carbajal et al. [44] evaluaron la capacidad de eliminación de compuestos fenólicos mediante hongos de podredumbre blanca cultivados sobre un material biocompuesto de sílice-alginato-hongo. En este estudio se analizó la degradación de 2,6-dimetoxifenol, ácido gálico, guayacol y fenol, obteniéndose

una eliminación de fenol (10 mM) de hasta un 48 %. La lacasa fue identificada como la principal enzima ligninolítica asociada al proceso de degradación.

En el año 2004, Kennes et al. [133], propusieron el uso de hongos en sistemas de biofiltración destinados al tratamiento de gases residuales que contienen compuestos hidrofóbicos, tales como estireno, α -pineno, benceno y alquil-bencenos. En este trabajo se identificaron diversas especies fúngicas con capacidad para degradar compuestos orgánicos volátiles (COV), destacando su potencial aplicación en el control de la contaminación atmosférica. Además, los hongos de podredumbre blanca fueron señalados como candidatos especialmente adecuados para su incorporación en biofiltros debido a su capacidad de crecimiento bajo condiciones adversas, incluyendo bajos valores de pH y niveles de humedad que pueden limitar el desarrollo de otros microorganismos.

Posteriormente, en 2007, Rubilar et al. [134], emplearon hongos de podredumbre blanca para el tratamiento de suelos contaminados con pentaclorofenol (PCP). Para ello utilizaron las especies fúngicas *Bjerkandera adusta* y *Anthracophyllum discolor*, cultivadas en medio Kirk y en “granos secos de destilería con solubles” (DDGS). Los resultados demostraron una elevada capacidad de eliminación de PCP, alcanzando valores de hasta un 95 % después de 28 días de tratamiento.

En sistemas de biofiltración en fase gaseosa, Arriaga et al. [107], en el año 2005, señalaron que la eliminación de contaminantes hidrofóbicos suele estar limitada por los fenómenos de transferencia de masa desde la fase gaseosa hacia la fase acuosa, donde ocurre principalmente la biodegradación. Como alternativa, propusieron el empleo de hongos en consorcios hongo-bacteria para mejorar la eficiencia de eliminación de estos contaminantes. Los resultados obtenidos indicaron que, para una carga de hexano cercana a $140 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$, se alcanzaron capacidades de eliminación de hasta $100 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$ en sistemas operados bajo condiciones ácidas.

Diversos estudios han evaluado el uso de materiales lignocelulósicos como soporte en sistemas de biofiltración, debido a que estos materiales proporcionan una matriz física adecuada para la colonización microbiana y, al mismo tiempo, pueden constituir una fuente de compuestos lignocelulósicos aprovechables por microorganismos con capacidad ligninolítica, especialmente hongos degradadores de lignina.

En el año 2017, Melse et al. [21] utilizaron tres biofiltros empacados con astillas de madera como material soporte para el tratamiento de gases provenientes de un secador de estiércol avícola y de dos granjas de crianza de cerdos. El estudio consideró la eficiencia de remoción de contaminantes y la caída de presión en los biofiltros como una limitación operacional del proceso, sin especificar los microorganismos responsables de la degradación. Los autores concluyeron que los biofiltros presentan un importante potencial para la reducción de emisiones contaminantes; sin embargo, destacaron la necesidad de considerar la caída de presión asociada a las características del material filtrante, el crecimiento de biomasa fúngica y la distribución homogénea de humedad dentro del lecho, debido a su influencia sobre el desempeño del sistema.

Chunping et al. [113], en el año 2018, estudiaron procesos de biofiltración de compuestos orgánicos volátiles (COV) que contenían mezclas de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos. Los autores señalaron que uno de los principales desafíos futuros consiste en desarrollar estrategias capaces de mejorar las eficiencias de remoción de ambas familias de contaminantes. En mezclas complejas, los compuestos hidrofóbicos generalmente presentan menores eficiencias de eliminación debido a las limitaciones asociadas a su transferencia desde la fase gaseosa hacia la fase acuosa, donde ocurre principalmente el proceso biodegradativo.

En 2019, Gospodarek et al. [135] indicaron que, debido al aumento de la conciencia ambiental y a la implementación de nuevas regulaciones, la eliminación de compuestos orgánicos volátiles ha adquirido una importancia creciente. En su estudio compararon diferentes estrategias biológicas, evaluando tecnologías de biofiltración de lecho fijo y biofiltración de escurrimiento en función de su capacidad de eliminación de COV. Los resultados demostraron que los biofiltros de escurrimiento presentan mayores eficiencias para la eliminación de compuestos hidrofílicos, mientras que los sistemas de lecho fijo muestran un mejor desempeño en la remoción de compuestos hidrofóbicos.

Considerando los compuestos hidrofóbicos evaluados en este estudio, existe un creciente interés en la aplicación de procesos de biorremediación para la eliminación de indol y otros compuestos aromáticos asociados a emisiones y residuos industriales. En este contexto, se han publicado diversos estudios orientados a comprender los mecanismos de degradación de estos contaminantes mediante microorganismos y sus sistemas enzimáticos asociados.

Ma et al. [136] estudiaron la biodegradación de indol utilizando cepas bacterianas y enzimas oxigenasas involucradas en las rutas metabólicas de transformación del compuesto. Sin embargo, la degradación de indol mediante hongos ha sido reportada desde la década de 1990. Kamatht et al. [137] evaluaron la biodegradación de indol utilizando el hongo *Aspergillus niger*, demostrando que el microorganismo es capaz de adaptarse a la presencia del contaminante luego de una fase de latencia de aproximadamente 30 horas, durante la cual se observó inhibición de la absorción de glucosa.

Posteriormente, el indol fue metabolizado mediante una ruta degradativa inducida por el propio contaminante, en la cual se identificaron intermediarios como indoxilo (3-hidroxiindol), ácido N-formilantranílico, ácido antranílico, ácido 2,3-dihidroxibenzoico y catecol. El estudio demostró que las enzimas responsables de la degradación fueron inducidas por la presencia de indol después de varias horas del inicio del crecimiento fúngico.

Katapodis et al. [138] cultivaron el hongo *Sporotrichum thermophile* en un sistema de fermentación de dos fases utilizando indol como contaminante objetivo, obteniendo eliminaciones de hasta 3 g/L en medio líquido. Los autores señalaron la necesidad de continuar investigando el potencial de los hongos en la eliminación de compuestos orgánicos recalcitrantes. Sin embargo, Prenafeta et al. [139] indicaron que el carácter termofílico de esta especie y de otros hongos empleados en procesos similares podría representar una limitación para aplicaciones industriales, debido a posibles riesgos asociados a su carácter patógeno para seres humanos.

En 2013, Chen et al. [140] utilizaron el hongo endófito *Phomopsis liquidambari* para la degradación de indol. Inicialmente, el microorganismo logró una degradación del 41,7 % después de 120 horas para una concentración inicial de 0,1 g/L. No obstante, la incorporación de hojarasca como material lignocelulósico incrementó significativamente la eficiencia de degradación, alcanzando un 99,1 % en 60 horas. Este resultado demostró que la incorporación de materiales lignocelulósicos puede estimular la producción de enzimas oxidativas como lacasas y lignino peroxidasas, favoreciendo la degradación del contaminante.

En relación con el compuesto p-cresol, también se han reportado investigaciones sobre su biodegradación mediante hongos. Clauben et al. [141] en 1998, estudiaron el uso del hongo *Scedosporium apiospermum* debido a su capacidad para degradar fenol y p-cresol. En este estudio se identificaron metabolitos intermediarios y enzimas relacionadas con el proceso degradativo, permitiendo proponer diferentes rutas metabólicas involucradas en la transformación de ambos compuestos por este microorganismo.

Kennes et al. [133] en 1991, utilizaron la cepa BKM-F-1767 del hongo *Phanerochaete chrysosporium* para el biotratamiento de p-cresol, demostrando que el microorganismo era capaz de tratar concentraciones de hasta 0,15 g/L en presencia de glucosa. Al igual que en los estudios relacionados con la biodegradación de indol, se evidenció la necesidad de establecer condiciones adecuadas que permitieran inducir la actividad de las enzimas ligninolíticas. En esta misma investigación se evaluó la biodegradación conjunta de p-cresol y fenol, ambos en concentraciones de 0,05 g/L, demostrándose que la presencia de fenol no afectó la cinética de degradación del p-cresol.

Atagana et al. [142] estudiaron la biodegradación de cresoles en suelos contaminados con creosota, utilizando siete hongos no basidiomicetos (*Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Monicillium*, *Trichoderma* y *Penicillium*) y dos hongos basidiomicetos (*Pleurotus* y *Phanerochaete*). Los resultados determinaron que la suplementación con nutrientes fue necesaria para mejorar la degradación de los compuestos fenólicos, alcanzándose eficiencias de eliminación entre un 84 % y un 100 %.

Singh et al. [143] estudiaron la biodegradación de p-cresol presente en aguas residuales mediante el hongo filamentoso *Gliomastix indicus*. Se determinó que el p-cresol presenta un efecto inhibitorio cuando su concentración supera los 0,05 g/L en medio líquido, afectando el crecimiento y la capacidad degradativa del microorganismo.

Wang et al. [144] utilizaron la cepa PDY-07 de *Candida albicans* para la biodegradación anaerobia de fenol y meta-cresol en cultivos por lotes. Los resultados indicaron un mayor potencial de degradación para fenol en comparación con meta-cresol. En este sistema se observó un efecto de inhibición cruzada, donde el fenol afectó la utilización de meta-cresol y, a su vez, el meta-cresol inhibió la degradación del fenol. La máxima biodegradación de meta-cresol se obtuvo con una concentración de 0,2 g/L de fenol, debido a que el hongo utilizó preferentemente este compuesto como fuente de carbono y energía.

A partir de las investigaciones señaladas, se considera suficientemente documentado que:

- Los hongos ligninolíticos han sido utilizados exitosamente en el tratamiento de compuestos fenólicos y constituyen candidatos adecuados para el desarrollo de nuevos procesos de biorremediación de compuestos orgánicos volátiles (COV). Para ello, es necesario proporcionar al microorganismo las condiciones que permitan maximizar la expresión de enzimas ligninolíticas en el biofiltro, debido a que su baja especificidad catalítica resulta fundamental para la biodegradación de compuestos como fenol, indol, p-cresol y otros compuestos aromáticos similares, haciendo viable su incorporación en este estudio.
- El soporte utilizado en un biofiltro de lecho fijo destinado al crecimiento de hongos y al tratamiento biológico de compuestos hidrofóbicos debe presentar características que permitan, por una parte, aportar material lignocelulósico aprovechable por los hongos (característica relacionada con la inducción y expresión de enzimas ligninolíticas) y, por otra, favorecer el paso adecuado del flujo de aire a través del lecho filtrante, evitando una caída de presión excesiva que pueda afectar el desempeño del sistema.
- Es factible estudiar la implementación de un sistema compuesto por dos equipos complementarios: un biofiltro de escurrimiento colonizado por un consorcio bacteriano para el tratamiento de compuestos hidrofílicos presentes en mezclas complejas y, adicionalmente, un biofiltro de lecho fijo colonizado por hongos para el tratamiento de compuestos hidrofóbicos.

El análisis de los estudios presentados indica la necesidad de avanzar en líneas de investigación orientadas al desarrollo de sistemas capaces de tratar mezclas complejas de contaminantes hidrofílicos e hidrofóbicos presentes en emisiones gaseosas. La integración de etapas biológicas complementarias permitiría abordar de manera más eficiente la problemática asociada a la generación de olores molestos, contribuyendo a validar la hipótesis y los objetivos propuestos en este estudio.

3 MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 MÉTODOS ANALÍTICOS.

El presente estudio considera la medición de compuestos químicos en fase líquida y gaseosa, incluyendo amoníaco, ácido sulfhídrico, fenol, indol y p-cresol, además de la determinación de algunos metabolitos asociados a los procesos de biodegradación, tales como nitritos y nitratos.

3.1.1 Medición de concentración de sulfuro de hidrógeno y amoníaco en fase gaseosa.

La concentración de ácido sulfhídrico y amoníaco en las corrientes de entrada y salida del biofiltro fue determinada mediante un equipo portátil de detección infrarroja de gases y vapores combustibles, marca Dräger, modelo XM5000, Alemania [145].

3.1.2 Determinación de fenol, indol y p-cresol en fase líquida y gaseosa.

Los compuestos fenol, indol y p-cresol fueron determinados mediante cromatografía de gases utilizando un equipo GC Perkin Elmer Clarus 680, equipado con una columna capilar Supelco Analytical Equity™-1. Esta columna corresponde a una columna de sílice fundida con una longitud de 30 m, un diámetro interno de 0,53 mm y un espesor de película de 3 µm. El cromatógrafo se encontraba equipado con un detector de ionización de llama (FID).

Para la determinación de fenol, las condiciones cromatográficas utilizadas fueron una temperatura inicial del horno de 50 °C, seguida de una rampa de calentamiento de 15 °C/min hasta alcanzar 200 °C, manteniéndose esta temperatura durante 5 minutos. Se utilizó helio como gas portador, con un flujo de 2,5 mL/min. El tiempo total de análisis del método fue de 15 minutos [146], [147].

Para la obtención de las curvas de calibración de fenol e indol en fase líquida, se utilizó 2-propanol como estándar interno, a una concentración de 2 g/L. Para el fenol se prepararon siete soluciones con concentraciones comprendidas entre 0,1 y 4 g/L, mientras que para el indol se prepararon cinco soluciones con concentraciones entre 0,03 y 3 g/L.

De cada dilución se tomaron 0,5 mL de solución y se mezclaron con 0,5 mL del estándar interno. Posteriormente, se tomaron 0,5 µL de la mezcla utilizando una jeringa SGE™ con guía para émbolo, la cual fue inyectada en el cromatógrafo de gases. A partir de los resultados obtenidos, se construyeron las curvas de calibración mediante la relación entre las áreas de los picos de fenol/estándar interno e indol/estándar interno en función de la concentración del analito.

Para el compuesto p-cresol se prepararon ocho soluciones con concentraciones comprendidas entre 0,01 y 2,5 g/L. Posteriormente, se tomaron 0,5 µL de cada solución utilizando una jeringa SGE™ con guía para émbolo y se inyectaron en el cromatógrafo de gases para obtener las áreas correspondientes a los picos cromatográficos de p-cresol.

La determinación de las concentraciones de fenol, indol y p-cresol en las muestras líquidas se realizó mediante la inyección de 0,5 µL de muestra en el cromatógrafo de gases. Las áreas de los picos obtenidas, o la relación de áreas en el caso de fenol e indol, fueron utilizadas para calcular la concentración de cada compuesto mediante sus respectivas curvas de calibración.

Para la obtención de las curvas de calibración de fenol, indol y p-cresol en fase gaseosa, se prepararon soluciones líquidas en viales cerrados, estimando las concentraciones de los compuestos en la fase gaseosa mediante equilibrio entre las fases líquida y gaseosa.

Para ello, se utilizaron cinco viales de vidrio de 125 mL, cada uno conteniendo 25 mL de fase líquida. Los viales fueron sellados herméticamente y mantenidos en un baño termostático a 25 °C durante 12 horas, con el objetivo de alcanzar el equilibrio de partición del compuesto entre ambas fases.

Posteriormente, se extrajeron 4 mL del espacio de cabeza de cada vial utilizando una jeringa SGE™ y la muestra gaseosa fue inyectada en el cromatógrafo de gases para obtener las áreas correspondientes a los picos cromatográficos de cada compuesto.

3.1.3 Medición de amoníaco, nitrito y nitratos en fase líquida.

Para la determinación de nitratos se utilizó un kit Hach basado en el método del ácido cromotrópico (Chromotropic Acid Method 10020, rango de medición 0,2 a 30,0 mg/L NO_3^- -N (HR), Test 'N Tube™ Vials) y un espectrofotómetro DR3900 [148].

El método se basa en la reacción del ácido cromotrópico con los nitratos presentes en la muestra en medio ácido, mediante la adición de H_2SO_4 . La reacción genera una coloración amarilla cuya intensidad es proporcional a la concentración de nitrato presente en la muestra. La absorbancia asociada a esta coloración fue determinada mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 410 nm.

Para la determinación de nitritos se utilizó un kit Hach basado en el método de diazotización (Diazotization Method 10019, rango de medición 0,003 a 0,500 mg/L NO_2^- -N (LR), Test 'N Tube™ Vials) y un espectrofotómetro DR3900 [149].

El método se fundamenta en la reacción de diazotización de los nitritos presentes en la muestra, mediante la cual el nitrito reacciona con sulfanilamida en medio ácido, formando un ion diazonio. Posteriormente, este intermediario reacciona con N-(1-naftil) etilendiamina, generando un compuesto azoico coloreado cuya intensidad es proporcional a la concentración de nitrito presente en la muestra. La determinación permite cuantificar concentraciones de hasta 180 µg/L de nitrógeno en forma de nitrito, mediante una lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 543 nm.

Para la determinación de amoníaco/amonio en medio líquido se utilizó un kit Hach basado en el método del salicilato (Salicylate Method 10031, rango de medición 0,4 a 50,0 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ (HR), Test 'N Tube™ Vials; aplicación para agua, aguas residuales y agua de mar) y un equipo de lectura Hach DR-3900 [150].

El método se fundamenta en la reacción del amoníaco presente en la muestra con salicilato e hipoclorito en medio alcalino, generando un compuesto coloreado denominado indofenol. En la primera etapa de la reacción, el amoníaco reacciona con el hipoclorito formando monoclaramina; posteriormente, esta especie reacciona con el salicilato para producir 5-aminosalicilato. Este compuesto se oxida en presencia de un catalizador de nitroprusiato, dando origen al compuesto indofenol de color azul. La intensidad de la coloración desarrollada es proporcional a la concentración de amoníaco/amonio presente en la muestra y fue determinada mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 635 nm.

3.1.4 Determinación de concentraciones de sulfato.

Para la determinación de sulfatos en solución acuosa se utilizó un kit Hach TNTplus® 865 Sulfato (rango de medición 150–900 mg/L SO_4^{2-} , Método 10227, aplicación para agua potable, aguas residuales, agua bruta y análisis de procesos) y un equipo analizador Hach DR-3900 [151].

El método se basa en la precipitación del sulfato de bario, mediante la reacción entre los iones sulfato presentes en la muestra y el cloruro de bario, formando un precipitado blanco de sulfato de bario (BaSO_4). La intensidad de la turbidez generada por el precipitado es proporcional a la concentración de sulfato presente en la muestra y permite su cuantificación mediante el análisis espectrofotométrico.

3.1.5 Determinación de la concentración de glucosa.

La determinación de glucosa se realizó mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), basado en la cuantificación de azúcares reductores libres mediante la reducción del ácido dinitrosalicílico, generando un compuesto nitroaminado coloreado cuya intensidad es proporcional a la concentración de grupos reductores presentes en la muestra [152].

La muestra para el análisis se obtuvo a partir del sobrenadante generado luego de la centrifugación de una alícuota a 4400 rpm durante 15 min. Posteriormente, el sobrenadante fue filtrado, y la mayor parte del volumen obtenido fue almacenado congelado para su posterior determinación.

Para el análisis, 1 mL de muestra fue mezclado con 1 mL de reactivo DNS y sometido a un baño María en ebullición durante 5 min. Luego, la muestra fue enfriada y se adicionaron 10 mL de agua destilada. Finalmente, se determinó la absorbancia de la solución mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 540 nm.

3.2 MICROORGANISMOS SELECCIONADOS.

3.2.1 Bacterias para la remoción de amoníaco y ácido sulfhídrico.

De acuerdo con la revisión bibliográfica presentada en el punto 2.1.6.1, correspondiente a los microorganismos estudiados para la remoción de olores [98], se seleccionaron las bacterias *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* para su utilización en el proceso de remoción de ácido sulfhídrico y amoníaco, respectivamente.

La bacteria *Thiobacillus thioparus* fue activada mediante la inoculación del cultivo inicial en un matraz de 250 mL que contenía 50 mL de medio de cultivo. Se ajustó el pH a 6,5. Posteriormente, el matraz fue incubado a 250 °C y 100 rpm durante 48 horas. La composición del medio de cultivo fue la que muestra la Tabla 3-1. La propagación se realizó utilizando como inóculo el caldo de cultivo obtenido del matraz de activación, empleando nuevamente el mismo medio de cultivo bajo las mismas condiciones de incubación de 25 °C y 100 rpm.

Tabla 3-1 Medio utilizado para la activación y propagación de *Thiobacillus thioparus*.

Sales minerales	Concentración (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1
K ₂ HPO ₄	4
KH ₂ PO ₄	4
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1
CaCl ₂	0,1
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,02
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,02
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	10

La bacteria *Nitrosomonas europaea* fue activada en un matraz hidratando la biomasa liofilizada con 50 ml del medio de cultivo cuya composición se muestra en la Tabla 3-2 la suspensión se mantuvo por 48 horas a 25 °C y 100 rpm. La propagación de esta bacteria se realizó a 25°C y sin agitación utilizando como inóculo caldo de cultivo del matraz de activación y el mismo medio de cultivo por 72 horas.

Tabla 3-2 Medio utilizado para la activación y propagación de *Nitrosomonas europaea*.

Sales minerales	Concentración (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,5
K ₂ HPO ₄	0,5
HEPES	12
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1
CaCl ₂ 2H ₂ O	0,005
Fe-EDTA	0,075
NaHCO ₃	0,5
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	10

3.2.2 Hongos candidatos para la remoción de indol y p-cresol.

De acuerdo con la revisión bibliográfica, los hongos *Anthracoxyllum discolor* y *Stereum hirsutum* fueron seleccionados como candidatos para la remoción de los compuestos hidrofóbicos indol y p-cresol. Como fue indicado previamente, las cepas utilizadas en este estudio fueron donadas por la Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biotecnología, Temuco, Chile.

3.2.3 Métodos analíticos utilizados en la caracterización y selección de los hongos.

3.2.3.1 Métodos de crecimiento inicial y cultivo.

Los hongos fueron transferidos desde tubos de ensayo inclinados, conservados a 4 °C, hacia placas Petri que contenían el medio de cultivo descrito en la Tabla 3-3. Las placas fueron incubadas a 30 °C durante un periodo de 5 a 7 días para permitir la propagación del micelio, previo a su utilización en la preparación del inóculo.

Tabla 3-3 Medio de cultivo de los hongos en placas Petri.

Compuesto	Concentración (g/L)
Agar	15
Extracto de Malta	3,5
Glucosa (C ₆ H ₁₂ O ₆)	10

La cinética de crecimiento se determinó mediante la inoculación de discos de micelio de 6 mm de diámetro, obtenidos desde las placas Petri previamente descritas, en botellas de 125 mL que contenían 50 mL de medio modificado de Kirk [134], cuya composición se presenta en las Tablas 3-3 y 3-4, suplementado con glucosa a una concentración de 5 g/L. Los frascos fueron mantenidos a una temperatura de 30 °C y bajo agitación constante de 120 rpm.

Tabla 3-4 Medio de Kirk modificado para el cultivo de los hongos.

Compuesto	Concentración (g/L)
Peptona	2
KH ₂ PO ₄	2
Glucosa	5
MgSO ₄	0,5
CaCl ₂	0,1
Tiamina	2
Solución de sales minerales	10

Tabla 3-5 Concentraciones de la solución de trazas utilizadas para el cultivo de hongos.

Sales minerales	Concentración (mg/L)
KH_2PO_4	2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1
$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	50
NaCl	10
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	0,1
H_3BO_3	0,1
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1

Para determinar la cinética de crecimiento de los hongos en fase líquida se utilizaron botellas de vidrio de 125 mL. En cada botella se adicionaron inicialmente 23,5 mL de medio de cultivo, las cuales fueron esterilizadas en autoclave a 121 °C durante 20 min. Posteriormente, se incorporó a cada botella la solución de sales minerales y tiamina hasta alcanzar un volumen final de 25 mL.

Las botellas fueron inoculadas con biomasa fúngica obtenida a partir de las placas Petri previamente descritas. La inoculación se realizó mediante la incorporación de dos discos circulares de 6 mm de diámetro obtenidos desde una placa colonizada con el hongo. Posteriormente, las botellas fueron incubadas en un equipo termoagitador a 30 °C y 100 rpm.

Los ensayos fueron realizados por duplicado, utilizando cuatro botellas para evaluar la cinética de crecimiento de biomasa fúngica y consumo de glucosa.

La determinación de biomasa fúngica en medio líquido se realizó mediante el método de peso seco [152]. Para ello, se prepararon capachos de aluminio previamente identificados y secados en estufa a 105 °C durante 24 horas. Luego se registró la masa del capacho seco y se adicionó el pellet de biomasa obtenido a partir de las muestras centrifugadas a 4400 rpm durante 15 min. Posteriormente, la biomasa fue sometida a dos lavados y nuevamente secada durante 24 horas. Finalmente, se determinó la masa del conjunto capacho-biomasa seco y, mediante diferencia de peso, se obtuvo la masa de biomasa fúngica.

La concentración de biomasa fúngica fue calculada considerando la masa obtenida y el volumen original de muestra utilizado para la determinación.

3.2.3.2 Métodos para la selección de uno de los hongos propuestos.

Para seleccionar una de las dos especies fúngicas, *Anthracoxyllum discolor* o *Stereum hirsutum*, ambas fueron sometidas a cinéticas de crecimiento en medio líquido en presencia de fenol, con el objetivo de evaluar su resistencia al compuesto y determinar las concentraciones inhibitorias.

Para ello, se prepararon 24 botellas de vidrio de 125 mL, a las cuales se adicionaron 23,5 mL de medio de cultivo. Posteriormente, las botellas fueron esterilizadas en autoclave a 121 °C durante 20 min. Luego, se incorporaron trazas, tiamina y fenol a cada botella hasta alcanzar un volumen final de 25 mL.

Las botellas fueron inoculadas utilizando biomasa fúngica obtenida desde placas Petri homogéneamente colonizadas. La inoculación se realizó mediante la incorporación de dos discos circulares de 6 mm de diámetro, obtenidos con un sacabocado desde la placa colonizada, los cuales fueron adicionados a cada botella. Posteriormente, las botellas fueron incubadas en un termoagitador a 30 °C y 100 rpm.

Durante el ensayo se analizó una botella cada 24 horas, determinando la concentración de fenol, glucosa y biomasa fúngica. Los ensayos fueron realizados por duplicado, utilizando un total de 12 botellas para cada especie fúngica.

El experimento fue repetido bajo diferentes condiciones de concentración de glucosa y fenol en el medio de cultivo. En el primer ensayo se utilizó una concentración de 1 g/L de glucosa y 0,5 g/L de fenol; en el segundo ensayo se emplearon 1 g/L de glucosa y 1 g/L de fenol; finalmente, en el tercer ensayo se utilizaron 0,75 g/L de glucosa y 2 g/L de fenol.

3.3 MONTAJE Y OPERACIÓN DEL SISTEMA DE BIOFILTRACIÓN.

3.3.1 Sistema de generación de gases.

El primer paso consistió en la implementación de sistemas de generación de corrientes de aire con concentraciones controladas de amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol.

3.3.1.1 Generación de amoníaco.

Para la generación de la corriente gaseosa de amoníaco se utilizó una botella cerrada de 20 L que contenía una solución de amoníaco de concentración conocida. En el interior de la botella se hizo burbujear una corriente de aire, permitiendo el arrastre del amoníaco hacia la fase gaseosa y la generación de la corriente contaminada.

La botella fue alimentada con amoníaco concentrado con el objetivo de mantener la concentración de salida dentro de los niveles requeridos para las diferentes experiencias experimentales.

3.3.1.3 Generación de Indol y p-cresol.

Para la generación de los compuestos indol y p-cresol, una corriente gaseosa de aire previamente saturada con humedad fue conducida a través de dos frascos de vidrio conectados en serie, los cuales contenían indol y p-cresol en estado puro, respectivamente.

Los frascos de vidrio fueron parcialmente sumergidos en un baño térmico, cuya temperatura fue utilizada como variable de control para modificar la concentración de indol y p-cresol en la corriente gaseosa de salida. El sistema de control térmico estuvo asociado a una resistencia eléctrica utilizada como actuador para regular la temperatura del baño. El esquema del sistema de generación de indol y p-cresol se presenta en la Figura 3-2.

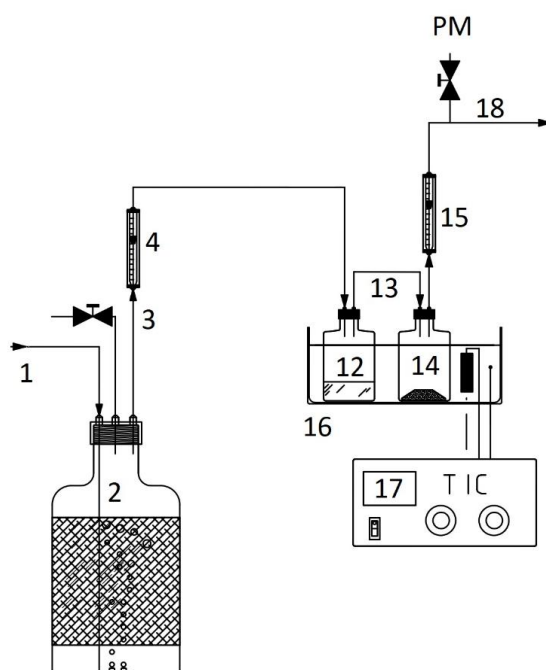


Figura 3-2. Esquema y detalle de las partes del sistema de generación de Indol y para cresol.

- 1 Punto de toma de aire desde el sistema de compresores
- 2 Botella con agua y relleno de anillos rasching para la humidificación del aire
- 3 Flujo de aire húmedo
- 4 Rotámetro de lectura de flujo de aire
- 12 Botella con p-cresol puro
- 13 Flujo de aire húmedo contaminado con p-cresol
- 14 Botella con indol puro
- 15 Rotámetro de lectura de flujo de aire
- 16 Baño térmico para las botellas que contienen indol y p-cresol
- 17 Controlador de temperatura del baño térmico
- 18 Flujo de aire húmedo contaminado con indol y p-cresol
- PM Puntos de toma de muestras

Durante el desarrollo del estudio fue necesario integrar los sistemas individuales de generación de gases con el objetivo de producir una corriente gaseosa contaminada con los cuatro compuestos de interés: amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol. El esquema del sistema integrado de generación se presenta en la Figura 3-3.

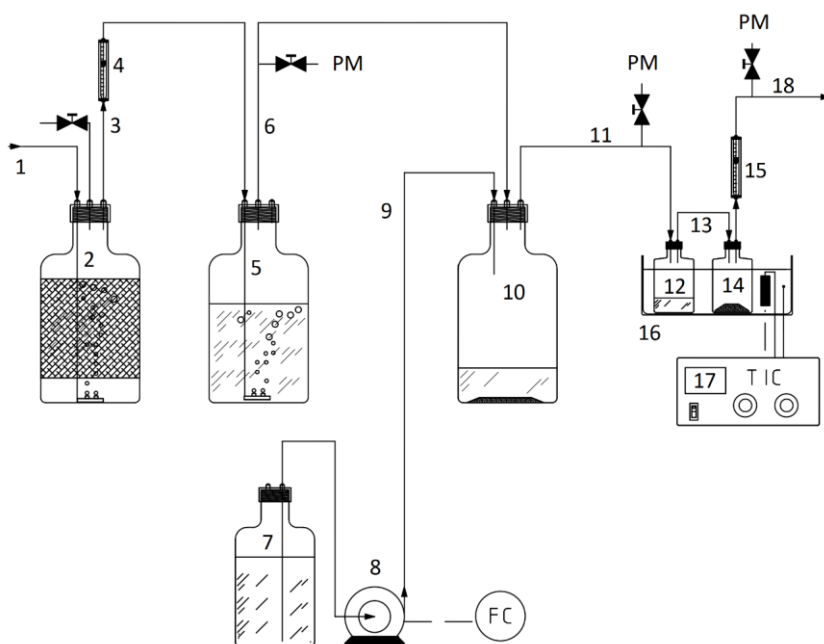


Figura 3-3. Esquema del sistema de generación único de gases.

3.3.2 Descripción del montaje y operación de los biofiltros.

Se implementaron dos biofiltros: un biofiltro de escurrimiento, colonizado por bacterias, y un biofiltro de lecho fijo, colonizado por hongos.

3.3.2.1 Descripción del biofiltro de escurrimiento.

Para el montaje del biofiltro de escurrimiento se utilizó una columna de PVC transparente con un diámetro interno de 7,7 cm y una altura de relleno de 1,0 m, correspondiente a un volumen de empaque de 5 L. Como material de relleno del biofiltro se utilizaron anillos Raschig de polipropileno de 10 mm de diámetro exterior [154].

La composición del medio de cultivo utilizado se presenta en la Tabla 3-6. El volumen de medio de recirculación empleado en la columna fue de 2 L, el cual fue recirculado continuamente mediante una bomba peristáltica desde la zona inferior del biofiltro hacia la parte superior del sistema.

El biofiltro fue inoculado con el consorcio bacteriano previamente descrito, y en este sistema se realizaron ensayos de remoción de amoníaco y ácido sulfhídrico. El esquema del equipo se presenta en la Figura 3-6.

Tabla 3-6 Composición del medio de recirculación del biofiltro de escurrimiento.

Compuesto	Concentración (g/L)
KH_2PO_4	0,6
K_2HPO_4	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1
NaCl	0,5
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,001

3.3.2.2 Descripción del biofiltro fúngico.

Se montó un biofiltro de lecho fijo utilizando como soporte físico un cilindro de PVC transparente con tapas aperturables a la estructura cilíndrica. La entrada de la corriente de aire se ubicó en la parte inferior del cilindro y la salida en la parte superior, ambas mediante conexiones fabricadas con cañería de PVC de 1 pulgada de diámetro nominal.

En el cuerpo del cilindro se realizaron tres perforaciones de 10 mm de diámetro, las cuales fueron utilizadas como puntos intermedios de muestreo. Durante los periodos en que no se realizaron mediciones, estos orificios permanecieron sellados mediante tapones de goma. Las dimensiones del biofiltro fueron un diámetro interno de 0,15 m y una altura de lecho de 0,3 m, correspondiente a un volumen de relleno de 5 L.

El sistema dispuso de cinco puntos de muestreo distribuidos a lo largo del biofiltro, considerando la entrada, la salida y los tres puntos intermedios. Como material de soporte para el crecimiento del microorganismo se utilizó una mezcla de materiales lignocelulósicos y minerales.

El soporte principal utilizado fue escobajo o raspón de uva, el cual representa entre un 3,0 y 7,0 % del peso del racimo de uva. Este material destaca por su elevada área superficial y una fracción de huecos que permite el paso del aire entre los pedúnculos con una baja pérdida de carga. Actualmente, el raspón carece de aplicaciones industriales relevantes y es considerado un residuo; por ello, su utilización en procesos de remediación ambiental resulta de interés [153].

La estructura abierta del escobajo lo convierte en un material adecuado para el soporte y crecimiento de hongos, particularmente hongos lignolíticos, los cuales pueden utilizarlo adicionalmente como fuente de carbono y/o energía. El escobajo utilizado en las experiencias fue obtenido desde Viña Matetic, comuna de San Antonio, Chile. Sus características físicas se presentan en la Tabla 3-5.

Además del escobajo, el material de relleno del biofiltro incluyó turba y vermiculita. La turba corresponde a un material orgánico generado a partir de la descomposición de material vegetal y es ampliamente utilizada como sustrato en jardinería y agricultura debido a su capacidad de retención de agua, característica que favorece condiciones adecuadas para el crecimiento fúngico. La vermiculita es un mineral perteneciente al grupo de las micas, constituido por silicatos de hierro y magnesio, que presenta una elevada capacidad de retención de agua y nutrientes minerales, incluyendo potasio, magnesio, calcio y amonio.

Para el montaje del biofiltro se utilizaron 200 g de escobajo en condiciones asépticas, el cual fue mezclado con 94 g de turba y 47 g de vermiculita previamente esterilizadas. Posteriormente, la mezcla fue humectada con 100 mL de medio de cultivo previamente esterilizado y se incorporó el hongo desarrollado en dos placas Petri.

La mezcla compuesta por escobajo, vermiculita, turba y biomasa fúngica fue utilizada para rellenar el cilindro de PVC. Finalmente, el biofiltro fue ensamblado mediante la conexión de las entradas y salidas de la corriente de aire. El esquema del biofiltro se presenta en la Figura 3-4.

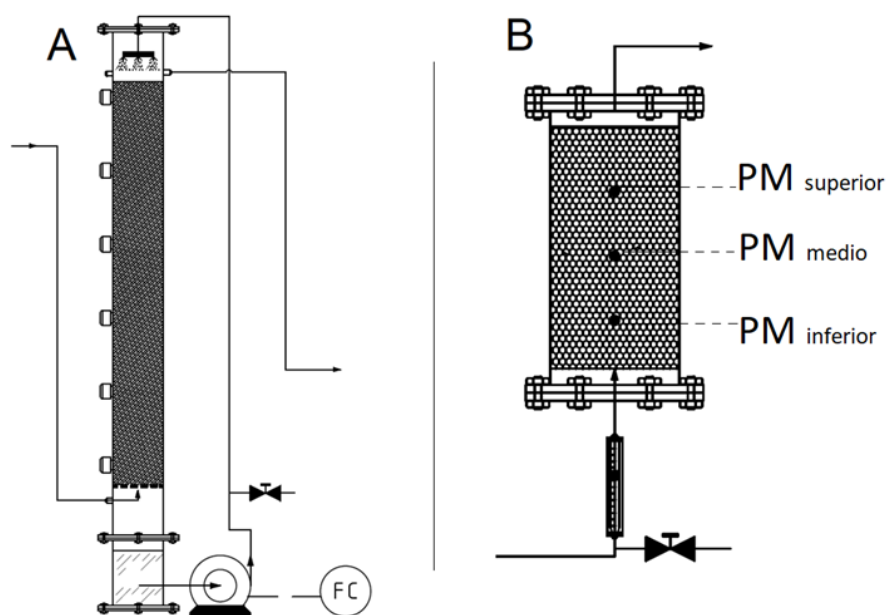


Figura 3-4. Esquemas de los biofiltros utilizados en el estudio.

A: biofiltro de escurrimiento inoculado con bacterias para el tratamiento de amoníaco y ácido sulfhídrico, se muestra el cuerpo del equipo y el sistema de bombeo auxiliar que recircula continuamente medio que está en el fondo del equipó, se muestran además la entrada de gas contaminado por la zona inferior y la salida de gas tratado por la zona superior.

B: biofiltro fúngico para el tratamiento de indol y para cresol en el cual se destacan los tres puntos de toma de muestras, (PM), del cuerpo del equipo, se muestra en la zona inferior la entrada de gas contaminado con un rotámetro como medidor del flujo de entrada y la línea de salida del aire tratado por la parte superior del equipo.

Tabla 3-7 Parámetros físicos del escobajo de uva utilizado en el biofiltro fúngico.

Densidad	750	(g/L)
Densidad aparente	60-70	(g/L)
Fracción de huecos	>90	%
Área específica	200-250	m ² /m ³

3.3.3 Diseño de las experiencias de remoción de compuestos.

3.3.3.1 Biofiltros independientes, primeras etapas del montaje y operación de los equipos.

Para la puesta en marcha del biofiltro de lecho fijo, el equipo fue instalado sobre una estructura elevada que permitió la conexión de la línea de alimentación de aire en la zona inferior de la columna. Posteriormente, el sistema fue sanitizado y rellenado con escobajo previamente esterilizado, el cual fue humectado mediante la adición de 200 mL de agua destilada estéril. Después de 10 minutos, el exceso de agua fue eliminado por drenaje natural del soporte.

La inoculación del biofiltro se realizó utilizando biomasa fúngica obtenida desde dos placas Petri completamente colonizadas. El material fúngico fue transferido a un vaso precipitado que contenía 30 mL de medio Kirk modificado, donde fue fragmentado utilizando una espátula con el objetivo de favorecer su distribución homogénea en el medio líquido. Posteriormente, la suspensión conteniendo el hongo fue adicionada por la parte superior del biofiltro, distribuyéndose sobre el soporte de escobajo.

Luego de la inoculación, el sistema se mantuvo durante 24 horas antes de iniciar la alimentación con aire limpio, con el objetivo de favorecer la adhesión inicial del hongo al soporte lignocelulósico. Posteriormente, se realizaron pruebas preliminares de operación destinadas a verificar la ausencia de fugas, estabilidad del flujo gaseoso y correcto funcionamiento hidráulico del sistema.

Una vez validado el funcionamiento del equipo, se inició la alimentación con la corriente gaseosa conteniendo los compuestos odorantes. Durante la operación del biofiltro, se adicionaron 50 mL de medio de cultivo por la parte superior de la columna tres veces por semana, con el objetivo de mantener la humedad del lecho y favorecer las condiciones necesarias para el crecimiento y actividad metabólica del hongo.

Con los biofiltros operando se evaluó la eficiencia de remoción y la capacidad de eliminación de los contaminantes para flujos de aire comprendidos entre 2 y 5 L/min, correspondientes a tiempos de residencia de cámara vacía entre 1 y 2,5 min. Para ello, se determinaron las concentraciones de indol y p-cresol en la corriente de entrada y salida del biofiltro. Adicionalmente, se realizaron tres mediciones de actividad enzimática de lacasa, manganeso independiente peroxidasa y manganeso

peroxidasa, además de un balance de masa, con el objetivo de evaluar la presencia y/o biodegradación de indol y p-cresol dentro de la columna.

Para iniciar la operación del biofiltro de escurrimiento, el sistema fue previamente sanitizado y ensamblado. Posteriormente, la columna fue rellenada con anillos Raschig de polipropileno previamente esterilizados. Una vez completado el llenado del reactor, se inició el flujo de aire desde la parte inferior hacia la parte superior del equipo, manteniendo la circulación continua del gas a través del lecho empacado.

Posteriormente, se adicionó el medio de recirculación desde la parte superior de la columna y se activó la bomba peristáltica encargada de mantener la recirculación continua del líquido desde la zona inferior del biofiltro. El sistema se mantuvo operando durante 24 horas con aire limpio, con el objetivo de verificar la ausencia de fugas, problemas hidráulicos o presencia de microorganismos contaminantes de rápido crecimiento que pudieran interferir con la posterior inoculación bacteriana.

Una vez verificada la estabilidad operacional del sistema, el biofiltro fue inoculado mediante la adición de 25 mL del cultivo de propagación correspondiente a cada especie bacteriana. Posteriormente, el sistema se mantuvo durante 72 horas bajo condiciones de operación sin alimentación de contaminantes, permitiendo la adaptación inicial de la biomasa bacteriana al medio de recirculación y al material de soporte.

En este biofiltro se utilizó un flujo de aire de 5 L/min, asociado a un tiempo de residencia de cámara vacía de 1 min, utilizando una corriente gaseosa que contenía ácido sulfhídrico y amoníaco.

En el biofiltro bacteriano se realizaron mediciones de las concentraciones de amoníaco y ácido sulfhídrico en la entrada y salida del equipo, además de la determinación de amoníaco/amonio, nitritos, nitratos y sulfatos presentes en el medio líquido de recirculación. Finalmente, se calcularon las capacidades de eliminación y las eficiencias de remoción de los contaminantes evaluados.

3.3.3.2 Biofiltros conectados en serie.

Luego de las actividades descritas en el punto 3.3.3.1, ambos biofiltros (bacteriano y fúngico) fueron conectados en serie y operados bajo esta configuración durante 90 días. En esta etapa, el biofiltro de escurrimiento se utilizó como primera etapa del sistema, mientras que el biofiltro de lecho fijo se empleó como segunda etapa.

El sistema en serie fue alimentado mediante un único sistema de generación de gases, construido a partir de la integración de los sistemas de generación de amoníaco y ácido sulfhídrico con el sistema de generación de indol y p-cresol. En esta fase se utilizó un flujo variable entre 2 y 5 L/min de una corriente de aire contaminada con los cuatro compuestos: amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol.

Se evaluaron la capacidad de eliminación y la eficiencia de remoción de todos los contaminantes en el sistema completo. El esquema de la conexión en serie de ambos biofiltros se presenta en la Figura 3-5.

En el biofiltro fúngico se realizaron además mediciones adicionales, incluyendo un segundo balance de masa para estimar el porcentaje de retención de indol y p-cresol, así como dos determinaciones de la masa total de biomasa fúngica presente en el sistema. Adicionalmente, durante esta etapa se realizaron mediciones semanales (cada siete días) de actividad enzimática de lacasa, manganeso independiente peroxidasa y manganeso peroxidasa.

En el biofiltro de escurrimiento colonizado por bacterias, se llevaron a cabo mediciones de amoníaco, ácido sulfhídrico, nitritos, nitratos y sulfatos en el medio líquido de recirculación del sistema. Un esquema completo del sistema de generación de contaminantes y de las columnas de tratamiento conectadas en serie, junto con el detalle de los elementos que lo componen, se presenta en la Figura 3-6.

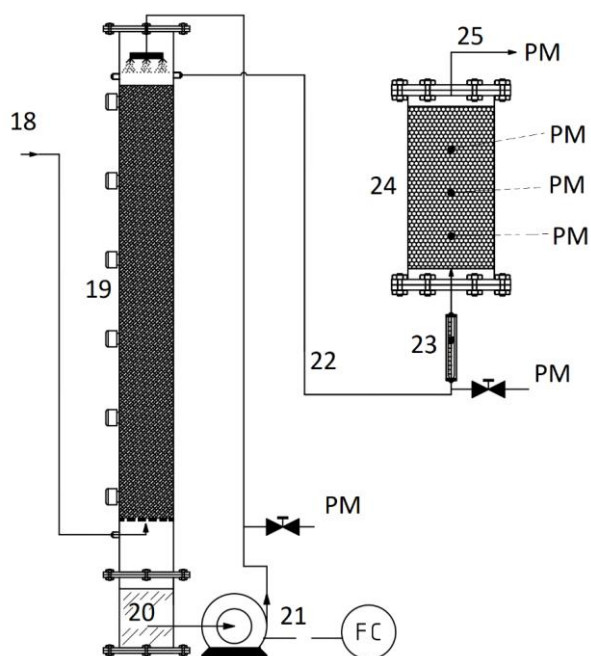


Figura 3-5. Conexión en serie de los biofiltros y detalles.

- 18 Aire con NH_3 , H_2S Indol y p-creso desde el sistema de generación de gases
- 19 Biofiltro bacteriano de escurrimiento y lecho polimérico
- 20 Medio de recirculación
- 21 Bomba peristáltica de recirculación de medio
- 22 Aire tratado por la columna bacteriana
- 23 Rotámetro de control de flujo
- 24 Biofiltro fúngico de lecho orgánico
- 25 Aire tratado por ambos biofiltros
- PM Puntos de toma de muestras

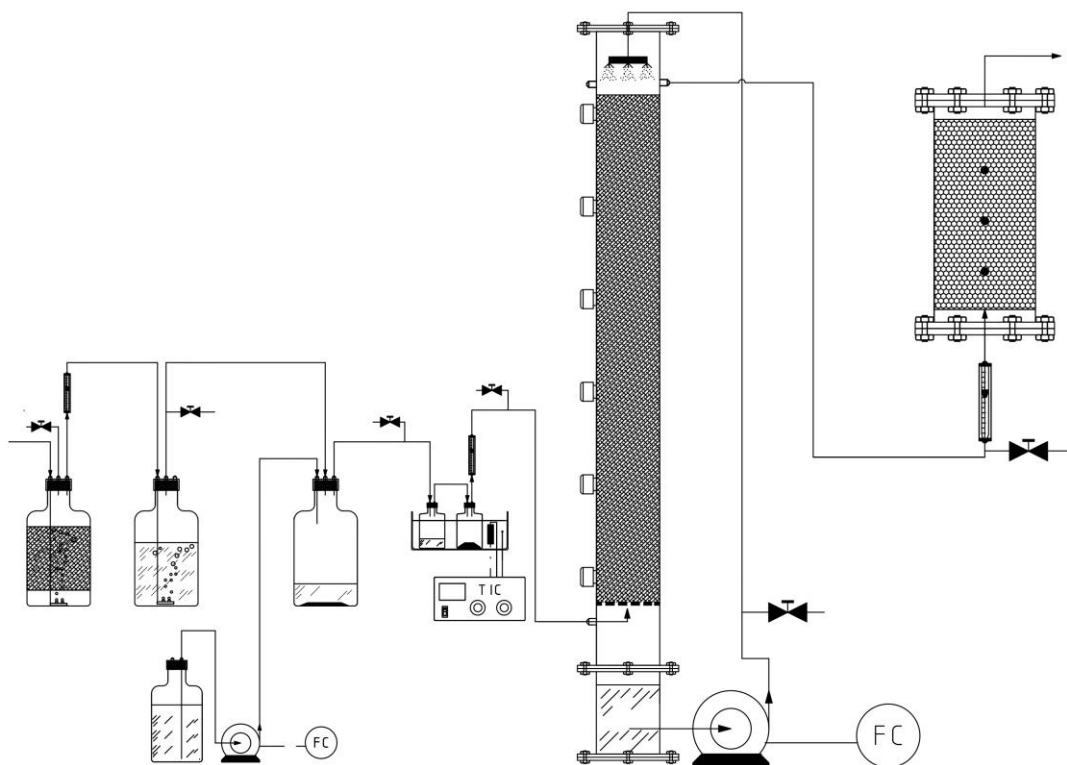


Figura 3-6. Esquema del sistema completo de generación y tratamiento de gases odorantes. El sistema considera los biofiltros conectados en serie, alimentados por un único sistema de generación de gases



Figura 3-7. Imágenes referenciales de escobajo, turba y vermiculita utilizada en el estudio.

3.3.4 Balances de masa de indol y para cresol en biofiltro de lecho fijo.

Se realizaron dos balances de masa para los compuestos odorantes en el sistema. Para ello, se determinó la masa total del compuesto que ingresó y salió del biofiltro durante el periodo de análisis. Adicionalmente, se cuantificó la masa retenida en la columna en los momentos inicial y final del mismo periodo. Posteriormente, los resultados fueron comparados con el fin de evaluar la biodegradación en el sistema.

La masa total de compuesto odorante ingresada y emitida por la columna durante el periodo de análisis se calculó a partir de la concentración media de entrada y salida en dicho intervalo, la cual fue multiplicada por el caudal volumétrico de la corriente de aire contaminada.

Para la determinación de la masa retenida en la columna, se tomaron muestras de escobajo en tres zonas del biofiltro. Estas muestras fueron colocadas en matraces con 50 mL de solución de etanol al 30 % (v/v) y sometidas a agitación durante 24 horas a 100 rpm y 25 °C. Posteriormente, el sobrenadante fue filtrado y del filtrado se tomaron 50 µL para su análisis por cromatografía de gases (GC). La concentración obtenida, junto con el volumen total de la solución de extracción, permitió determinar la cantidad de compuesto retenido en el material de soporte.

En el primer balance de masa se utilizaron muestras de escobajo entre 0,4 y 0,45 g, mientras que en el segundo balance se utilizaron muestras de 2 g. El primer balance se realizó en el biofiltro operando de manera independiente, con un tiempo de residencia de 2,5 min durante 70 días. El segundo balance se llevó a cabo con el biofiltro conectado al sistema de escurrimiento, durante un periodo de 39 días. El esquema de la secuencia de pasos del procedimiento de medición se presenta en la Figura 3-8.

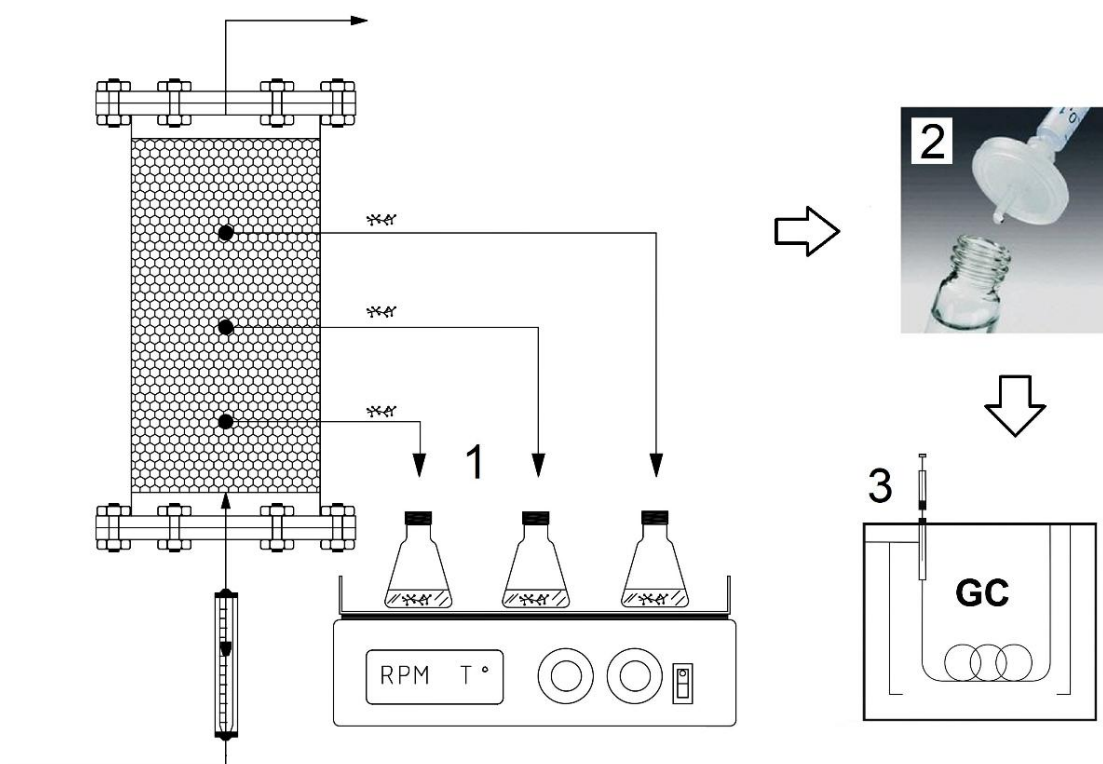


Figura 3-8. Etapas para realizar los balances de masa de indol y p-cresol.

- 1.- Las muestras de escobajo de tres zonas de la columna se llevan a matraces con 50 ml de solución al 30% volumen de etanol con agitación por 24 horas a 100 (RPM) y 25 (°C)
- 2.- El líquido sobrenadante se filtra.
- 3.- Se toman 50 (uL) del líquido filtrado y se analizan por GC para medir concentraciones de indol y p-cresol.

3.3.5 Determinación de la capacidad de eliminación y porcentajes de remoción de compuestos, y remoción de olor.

Para la determinación de la capacidad de eliminación y la eficiencia de remoción de los compuestos odorantes indol y p-cresol, se tomaron muestras de la fase gaseosa a la entrada y salida del biofiltro fúngico. Estas muestras fueron analizadas mediante cromatografía de gases (GC) para determinar la concentración de los compuestos en ppmv. Para el caso de ácido sulfhídrico y amoníaco la concentración fue determinada mediante el equipo portátil de detección infrarroja de gases y vapores combustibles, marca Dräger, modelo XM5000, Alemania.

La cuantificación se realizó considerando la temperatura del sistema, el peso molecular de cada compuesto y asumiendo comportamiento de gas ideal. A partir de las concentraciones obtenidas, junto con el caudal de aire y el volumen de operación, se calcularon las cargas de entrada y salida, así como la capacidad de eliminación y la eficiencia de remoción, de acuerdo con las Ecuaciones 3-1 y 3-2.

$$C_e = Q \cdot \left(\frac{C_i - C_o}{V_r} \right)$$

Ecuación 3-1 Capacidad de eliminación de un compuesto odorante en un biofiltro.

$$R = 100 \cdot \left(\frac{C_i - C_o}{C_i} \right)$$

Ecuación 3-2 Eficiencia de remoción de un compuesto odorante en un biofiltro.

Donde:

- C_e : Capacidad de eliminación (g/m³h)
- R : Eficiencia de remoción (%)
- C_i : Concentración de entrada del compuesto odorante (mg/L).
- C_o : Concentración de salida del compuesto odorante (mg/L).
- Q : Caudal de aire que contiene a los compuestos odorantes (L/h).
- V_r : Volumen de lecho vacío del biofiltro (L).

Para la determinación de la capacidad de remoción de olor, se utilizaron las concentraciones medidas en los biofiltros y los umbrales de detección de olor de cada compuesto obteniendo los valores de actividad de olor a la entrada y salida de los equipos para todos los compuestos, de acuerdo con la Ecuación 3-3.

$$AOV = \frac{C}{ODT}$$

Ecuación 3-3. Cálculo del valor de actividad de olor para un compuesto.

- C : Concentración del compuesto en el aire en (mg/m³)
- ODT : Umbral de detección olfativo del compuesto (mg/m³)

La determinación de la remoción del olor se realizó utilizando la Ecuación 3.4

$$R_o = 100 \cdot \left(\frac{AOV_i - AOV_o}{AOV_i} \right)$$

Ecuación 3-4 Eficiencia de remoción de un compuesto odorante en un biofiltro.

Donde:

- R_o : Eficiencia de remoción de olor (%)
- AOV_i : Valor de actividad de olor en la entrada el biofiltro
- AOV_o : Valor de actividad de olor en la salida el biofiltro

3.3.6 Determinación de actividad enzimática.

La actividad enzimática se determinó mediante el método modificado de Rubilar [135]. Desde la columna fúngica en operación se tomaron muestras en los puntos de muestreo superior, medio e inferior. Se recolectaron 7,5 g de escobajo por muestra, las cuales fueron transferidas a tubos Falcon y sumergidas en 30 mL de tampón acetato a pH 5.

Las muestras fueron sometidas a agitación a 100 rpm durante 10 min y posteriormente centrifugadas a 4500 rpm durante 1 h. El sobrenadante obtenido fue filtrado al vacío para eliminar sólidos residuales. El filtrado fue transferido a dispositivos Amicon Ultra-15 con membrana PLQK Ultracel-PL de 50 kDa, los cuales fueron nuevamente centrifugados a 4500 rpm durante 10 min. Finalmente, el sobrenadante resultante fue almacenado en tubos Eppendorf de 1 mL y conservado en refrigeración para su posterior análisis.

Se determinó la actividad de las enzimas manganeso peroxidasa, manganeso independiente peroxidasa y lacasa mediante la oxidación de 2,6-dimetoxifenol. La actividad de lignina peroxidasa no fue considerada debido a la ausencia de alcohol veratrílico, requerido para dicho ensayo. Las mediciones se realizaron a una longitud de onda de 468 nm con un tiempo total de reacción de 90 s. Todos los reactivos fueron previamente equilibrados a 30 °C mediante baño maría.

Se prepararon las soluciones:

- Malonato de sodio: 2,602 (% mv) pH 4,5.
- 2,6-dimetoxifenol (DMP) 0,308 (%mv) en agua destilada.
- EDTA : 0,372 (%mv) en agua destilada.
- Peróxido de hidrogeno 45 (ul) al 30% en 100 ml de agua destilada.
- Sulfato de manganeso hidratado 0,335 (%mv) en agua destilada.

Las soluciones de DMP y peróxido de hidrógeno fueron preparadas inmediatamente antes de cada ensayo.

Para la primera lectura (L1), en una celda de cuarzo de 3 mL se adicionaron 400 µL de solución de malonato de sodio, 100 µL de solución de DMP, 1100 µL de agua destilada y 100 µL de

sobrenadante del cultivo. En paralelo, se preparó un blanco idéntico, sustituyendo el sobrenadante por agua destilada. La celda fue introducida en el espectrofotómetro y se registró la absorbancia a los 0, 30, 60 y 90 s.

Para la segunda lectura, en la misma celda se añadieron 100 µL de solución de sulfato de manganeso ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), con el objetivo de evaluar la actividad de manganeso peroxidasa. La celda fue nuevamente analizada en el espectrofotómetro registrando la absorbancia a los 0, 30, 60 y 90 s.

Para la tercera lectura, en la misma celda se adicionaron 200 µL de solución de peróxido de hidrógeno, registrándose nuevamente la absorbancia a los 0, 30, 60 y 90 s, con el fin de determinar la actividad de manganeso independiente peroxidasa o peroxidasa versátil.

El coeficiente de extinción molar del DMP utilizado fue de $49.600 \text{ (M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$ [134], [154], [155].

$$U = \frac{\Delta A \cdot V \cdot 1000}{E \cdot L \cdot V_e}$$

Ecuación 3-5 Cálculo de la actividad enzimática.

Donde:

- U : Actividad enzimática en (U/ml).
- ΔA : Cambio en la absorbancia (adimensional).
- V : Volumen total utilizado de la celda de cuarzo (ml).
- E : Coeficiente de extinción molar del compuesto ($1/\text{M cm}$).
- L : Ancho de la celda de cuarzo (cm).
- V_e : Volumen de extracto en la celda de cuarzo (ml).

3.3.7 Estimaciones de la biomasa fúngica presente en la columna.

La biomasa fúngica fue estimada mediante un método de peso seco modificado. Se tomaron muestras de la columna correspondientes a 2–3 g de escobajo colonizado por el hongo, las cuales se introdujeron en vasos precipitados de 100 mL previamente secados y tarados.

A cada vaso se le adicionaron 50 mL de solución de Tween 80 al 0,4 % (v/v) y se sometieron a agitación durante 10 min. Posteriormente, el escobajo fue retirado cuidadosamente con pinzas, separando el material sólido del hongo de la solución de lavado.

La solución obtenida fue llevada a estufa a 105°C durante 24 h. En paralelo, se preparó un segundo vaso tarado que contenía únicamente 50 mL de solución de Tween 80, el cual fue sometido al mismo tratamiento de secado en estufa.

Una vez finalizado el secado, ambos vasos fueron pesados, obteniéndose en uno la masa correspondiente a la mezcla de biomasa fúngica residual más Tween 80, y en el otro la masa correspondiente únicamente al Tween 80. Por diferencia de masas entre ambos sistemas se determinó la masa de biomasa fúngica presente en la muestra.

3.4 RESUMEN DE LA METODOLOGÍA.

En la fase inicial del estudio se seleccionaron los microorganismos destinados al tratamiento de amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol en emisiones gaseosas. En paralelo, se definieron los métodos analíticos para la determinación de contaminantes tanto en fase gaseosa como en fase líquida.

Los hongos candidatos fueron sometidos a ensayos de crecimiento en medio líquido en presencia de fenol, con el objetivo de seleccionar la especie fúngica más resistente al compuesto odorante.

Posteriormente, se diseñaron los sistemas de generación de compuestos odorantes y la forma de modular sus concentraciones en las corrientes de aire. Una vez definido el sistema de generación de corrientes gaseosas, se realizó el montaje de los biofiltros operados de manera independiente: un biofiltro de escurrimiento con un relleno tradicional colonizado por bacterias para el tratamiento de amoníaco y ácido sulfhídrico, y un biofiltro fúngico de lecho fijo con un soporte innovador colonizado por la especie fúngica seleccionada.

Se evaluaron las capacidades de eliminación y los porcentajes de remoción de los compuestos en cada sistema, así como las remociones de olor en AOV, considerándose estos resultados como condiciones de referencia o control. Estos escenarios permitieron establecer la base de comparación para el objetivo central del estudio, el cual consiste en evaluar la operación de un sistema integrado de dos biofiltros conectados en serie capaz de tratar una mezcla compleja de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos.

En una fase posterior, ambos biofiltros fueron conectados en serie y los sistemas de generación de gases fueron integrados. El biofiltro de escurrimiento se dispuso como primera etapa de tratamiento, mientras que el biofiltro de lecho fijo se configuró como segunda etapa. En este sistema se alimentó una única corriente gaseosa que contenía amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol.

Se evaluaron nuevamente las capacidades de eliminación, porcentajes de remoción y remoción de olor en AOV de todos los contaminantes en el sistema integrado de biofiltros conectados en serie. Los resultados obtenidos fueron comparados con aquellos de los escenarios de control previamente descritos, con el fin de evaluar la hipótesis del estudio.

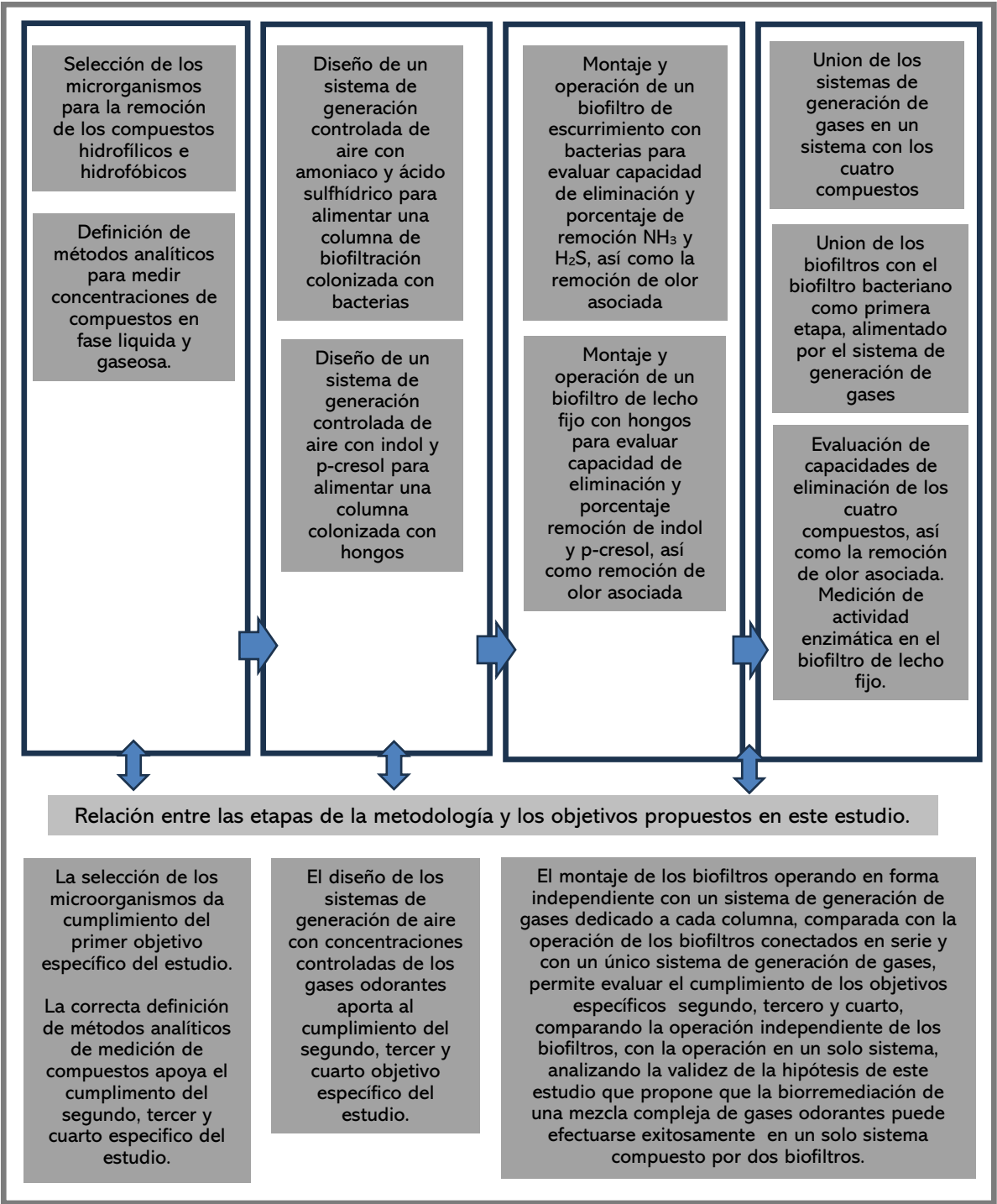
En el biofiltro de lecho fijo se determinó además la actividad enzimática de lacasa, manganoso peroxidasa y manganoso independiente peroxidasa, la cantidad de indol y p-cresol retenido en el soporte y la biomasa fúngica presente en el sistema.

En el biofiltro de escurrimiento se midieron las concentraciones de amonio/amoniaco, nitritos, nitratos y sulfatos en el medio de recirculación, con el objetivo de realizar los balances de masa asociados a amoniaco y ácido sulfhídrico.

La Figura 3-9 presenta un diagrama de las etapas de la metodología y su relación con el cumplimiento de los objetivos del estudio, permitiendo evaluar la validez de la hipótesis planteada.

Figura 3-9. Resumen de las principales etapas de la metodología.

Se relaciona la metodología con el impacto en el cumplimiento de los objetivos específicos del estudio.



4 RESULTADOS.

4.1 RESULTADOS DE LA SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS.

4.1.1 Selección del consorcio bacteriano.

Según se describe en 3.2.1 se utilizaron las especies bacterianas *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* para la remoción de ácido sulfhídrico y amoníaco.

4.1.2 Selección de hongo para las experiencias.

Las dos especies de hongos lignolíticos propuestas para el estudio, *Anthracophyllum discolor* y *Stereum hirsutum*, fueron cultivadas según lo descrito en el punto 3.2.3.1. La Figura 4-1 presenta los resultados obtenidos en este ensayo.

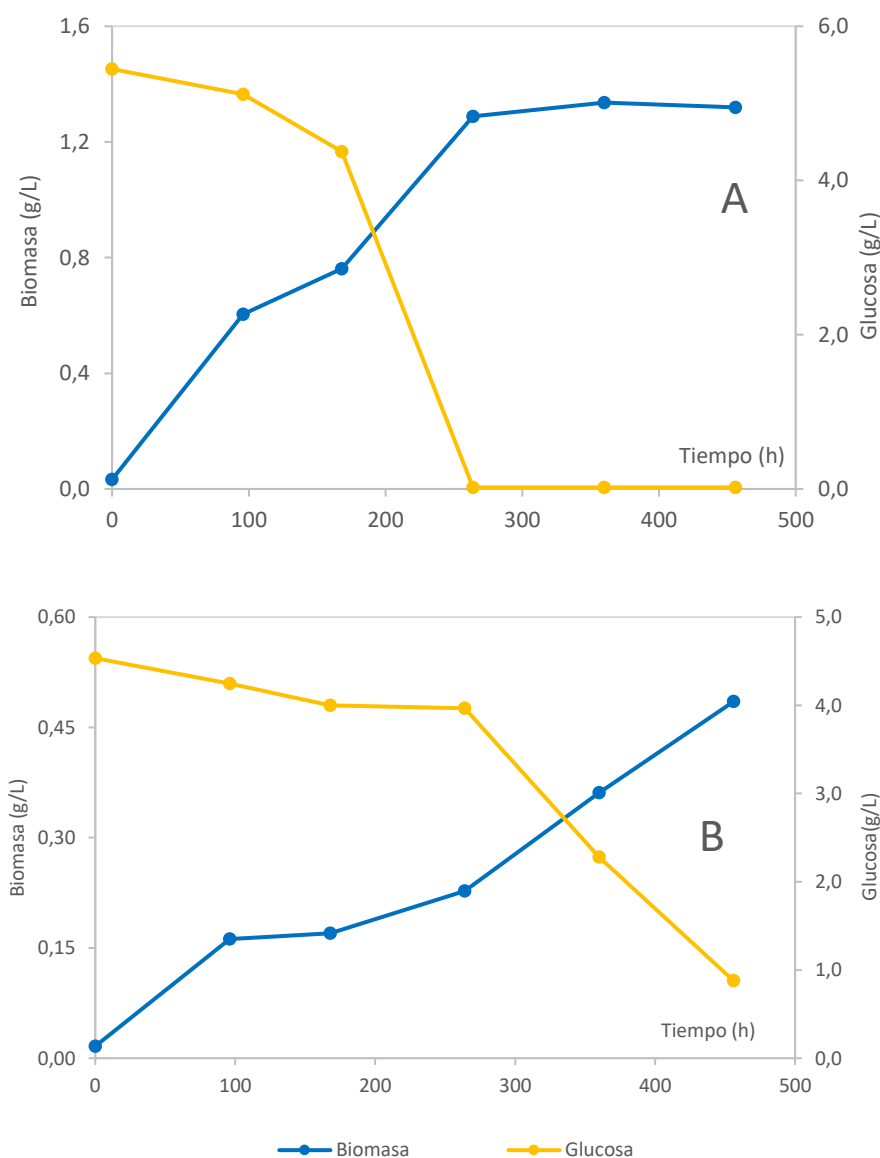


Figura 4-1. Cinéticas de crecimiento de *Anthracophyllum discolor* (A) y *Stereum hirsutum* (B).

Aunque de la Figura 4-1 se concluye que *Anthracophyllum discolor* presentó un mayor crecimiento que su homólogo *Stereum hirsutum*, los resultados aún no son concluyentes para la selección de una especie, considerando que no se ha evaluado su comportamiento en presencia de concentraciones de compuestos odorantes que podrían inhibir su crecimiento.

No obstante, a nivel cualitativo, estos resultados son comparables con estudios previos. En esta línea, Cardona et al. [156] analizaron la biodegradación de tintas industriales utilizando distintos hongos de la pudrición blanca, obteniendo resultados similares en términos de decoloración, pero con diferencias en el crecimiento entre *A. discolor* y *S. hirsutum*, donde el primero presentó una mayor velocidad de crecimiento que el segundo.

4.1.2.1 Cinéticas de crecimiento de los hongos en medio líquido y en presencia de fenol.

Como se describe en el punto 3.2.3.2, una vez completados los ensayos anteriores, se realizaron ensayos cinéticos de crecimiento de ambas especies de hongos, *Anthracophyllum discolor* y *Stereum hirsutum*, en medio líquido con diferentes concentraciones de glucosa y la adición de fenol como compuesto odorante modelo. El objetivo de estos ensayos fue evaluar el crecimiento de ambas especies fúngicas y su resistencia a la presencia de fenol, con el fin de seleccionar el hongo más resistente a este tipo de compuestos odorantes.

El primero de estos ensayos se realizó con concentraciones iniciales de 1 g/L de glucosa y 0,5 g/L de fenol. Aunque no existen estudios directamente comparables, la literatura indica que estos hongos presentan resistencia a compuestos tóxicos. En este sentido, Rubilar et al. [159] estudió la peletización de *Anthracophyllum discolor* para el tratamiento de agua y suelo contaminado con compuestos orgánicos, indicando que los hongos de la pudrición blanca presentan resistencia a altas concentraciones de compuestos orgánicos asociados a contaminación. La Figura 4-2 muestra los resultados de este ensayo.

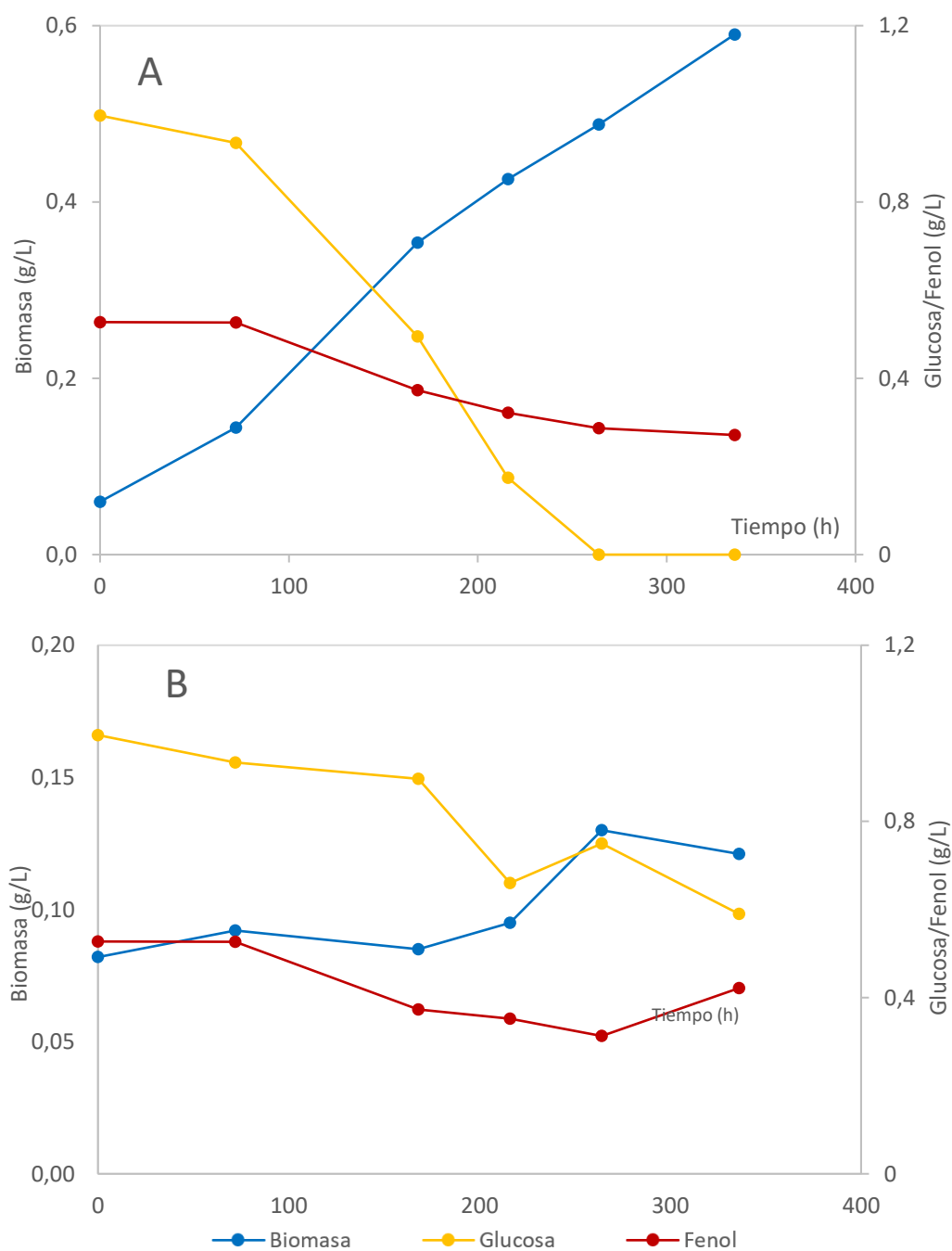


Figura 4-2. Cinéticas de crecimiento de los hongos en medio líquido y en presencia de fenol. Se muestran las cinéticas de *A. discolor* (A) y *S. hirsutum* (B) con una concentración inicial de 1(g/L) de glucosa y 0,5(g/L) de fenol.

Los resultados mostrados en la figura 4-2 A y 4-2 B. indican nuevamente una mayor velocidad de crecimiento para la especie *A. discolor*.

Para el ensayo siguiente, la concentración de glucosa fue de 1 g/L y la concentración de fenol también de 1 g/L. Los resultados de este ensayo se muestran en la Figura 4-3.

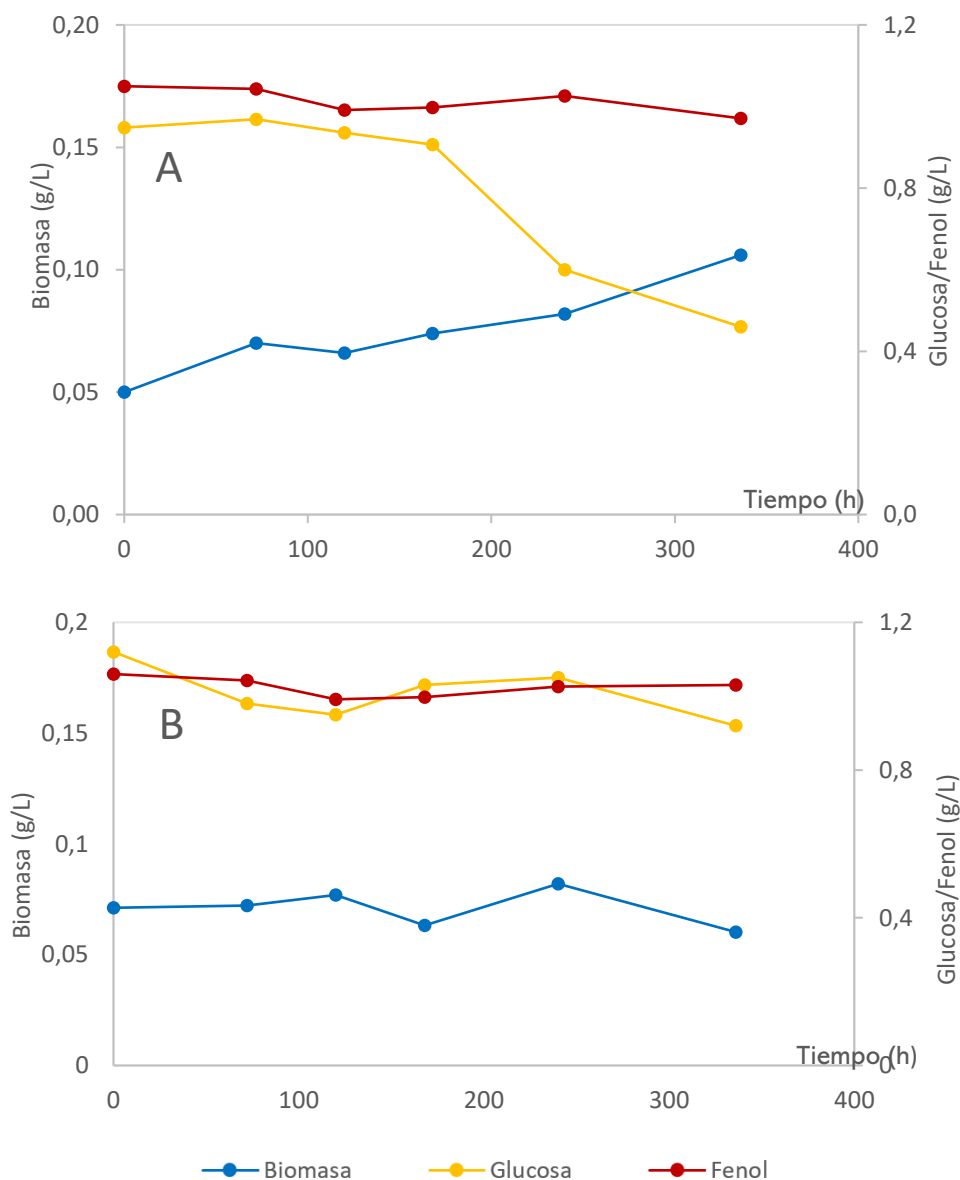


Figura 4-3. Cinéticas de crecimiento los hongos en medio líquido y en presencia de fenol.

Se muestran las cinéticas de : A. *discolor* (A) y *S. hirsutum* (B) con una concentración inicial de 1(g/L) glucosa y 1(g/L) de fenol

En este caso se observó que *Anthracyllum discolor* es capaz de desarrollarse en estas condiciones, consumiendo glucosa, mientras que la especie *Stereum hirsutum* no presenta crecimiento, evidenciando una inhibición de su desarrollo, probablemente asociada a la presencia de fenol en la concentración descrita.

Finalmente, se realizó un ensayo de crecimiento con una concentración de glucosa de 0,75 g/L y una concentración de fenol de 2 g/L. Los resultados cinéticos de este ensayo se muestran en la Figura 4-4.

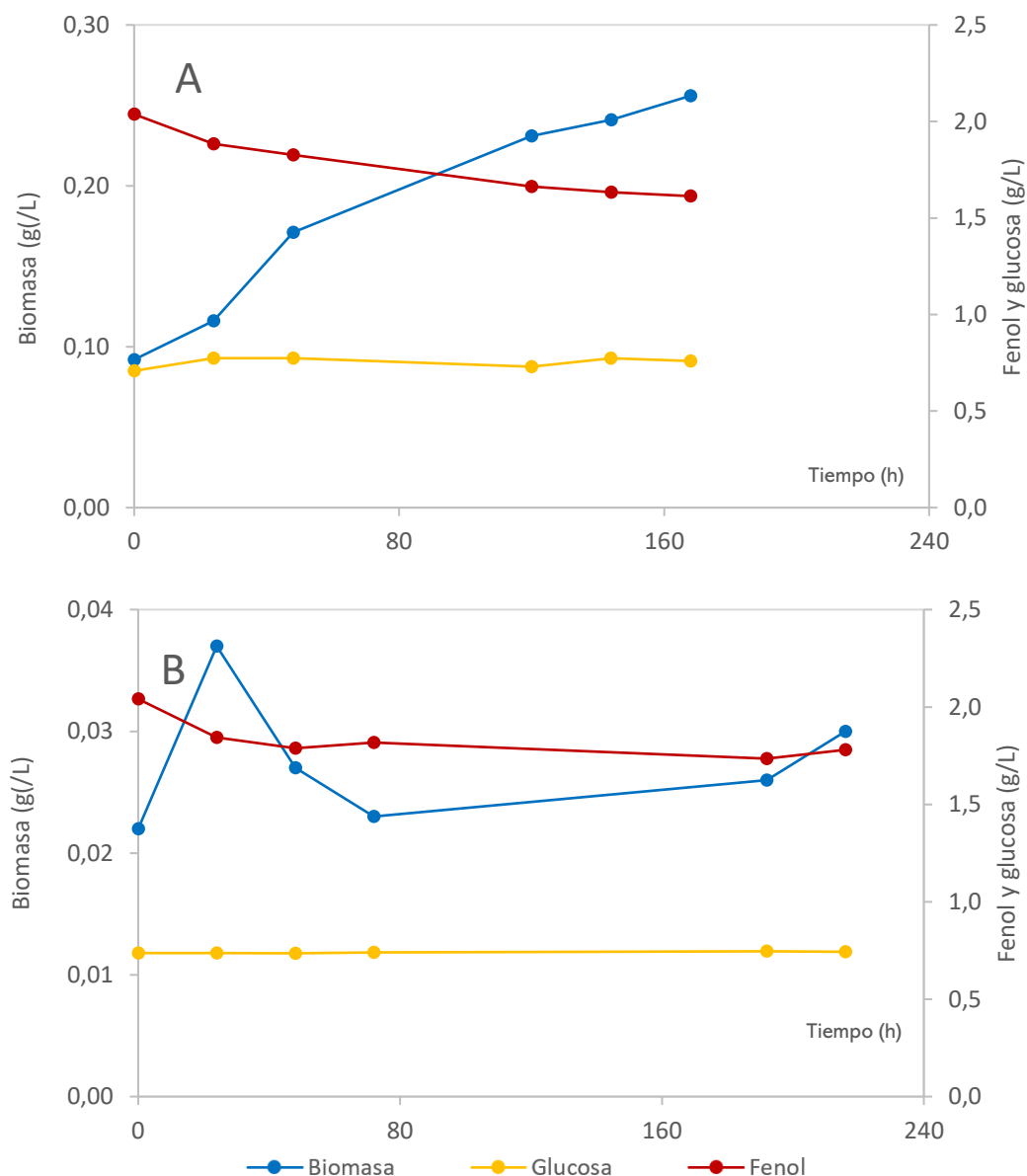


Figura 4-4. Cinéticas de crecimiento de los hongos en medio líquido y en presencia de fenol. Se muestran las cinéticas de: A. *discolor* (A) y *S. hirsutum* (B), con una concentración inicial de 0,75(g/L) de glucosa y 2(g/L) de fenol.

En este último caso se observó que *Anthracophyllum discolor* aún es capaz de desarrollarse en estas condiciones, presumiblemente consumiendo fenol y produciendo un precipitado oscuro en el fondo de los frascos. La concentración de glucosa se mantuvo constante bajo estas mismas condiciones. El crecimiento de la especie *Stereum hirsutum* se encontró completamente inhibido.

Los resultados de estas experiencias indican que *A. discolor* es más resistente a la presencia de fenol que *S. hirsutum*, lo que sugiere que, en condiciones similares a las que serán sometidos los hongos en las columnas y en presencia de contaminantes de estructura análoga al fenol, *A. discolor* podría presentar un mejor desempeño. Por otro lado, la formación de un precipitado oscuro ha sido reportada como parte de la actividad oxidante de la enzima lacasa (ver Ecuación 2.2) [160].

Como resultado, se selecciona la especie *Anthracoxyllum discolor* para continuar con el desarrollo del resto de las experiencias de este estudio.

4.2 RESULTADOS DE CAPACIDAD DE ELIMINACION DE LOS BIOFILTROS.

4.2.1 Capacidad de eliminación de amoníaco.

Se midió la capacidad de eliminación y el porcentaje de remoción de los contaminantes.

La Figura 4-5A muestra los resultados de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de amoníaco para el biofiltro de escurrimiento operando de manera independiente, considerando que en esta condición el sistema fue alimentado con una corriente de aire que contenía amoníaco y ácido sulfhídrico. Por su parte, la Figura 4-5B presenta los mismos parámetros para el sistema de biofiltros conectados en serie, en el cual la corriente gaseosa contenía amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol.

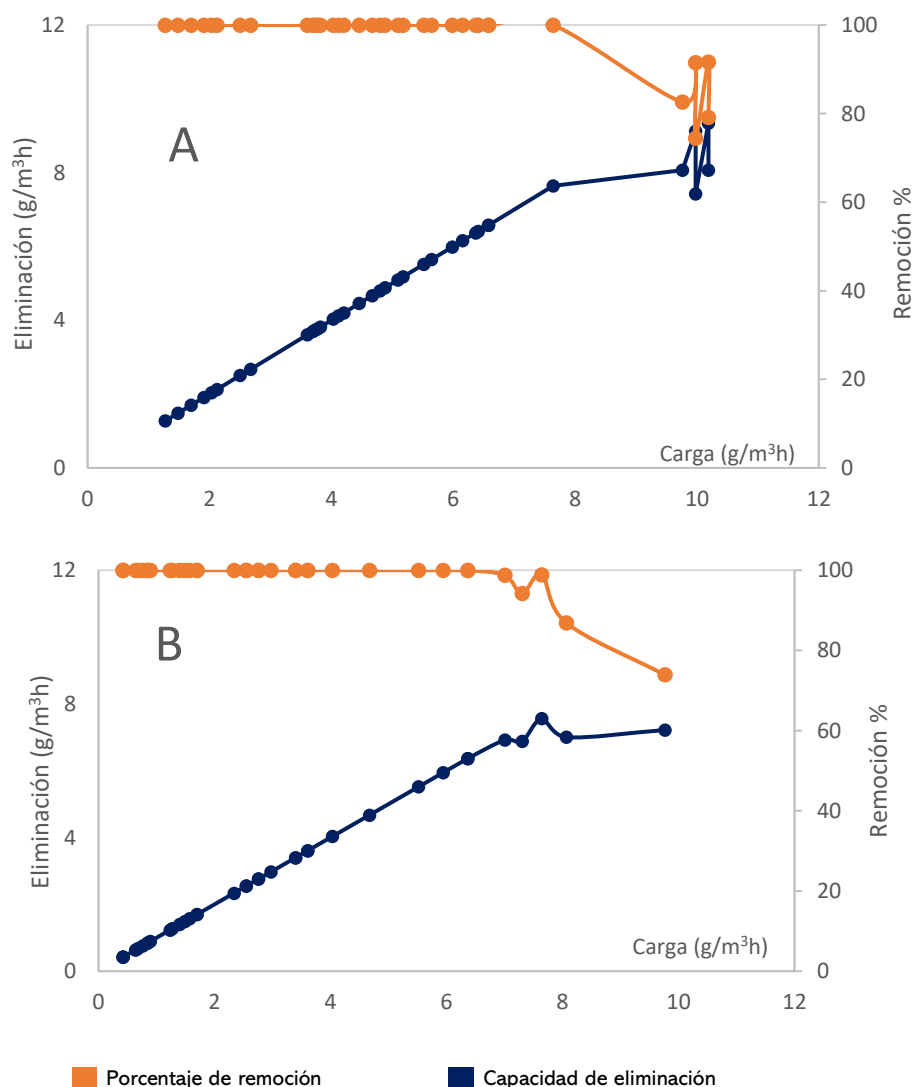


Figura 4-5. Porcentajes de remoción y capacidades de eliminación para amoníaco.

En A se muestra la capacidad de eliminación y porcentaje de remoción en el biofiltro bacteriano operando en forma independiente (caso base), en B, capacidad de eliminación y porcentaje de remoción de amoníaco en el sistema de dos biofiltros conectados en serie.

4.2.1.1 Eliminación de olor de amoniaco

La eliminación de olor, medida en unidades de olor (AOV), para el amoníaco en el biofiltro bacteriano y en el sistema completo puede observarse en la Figura 4-6.

La Figura 4.7 muestra el porcentaje de remoción de olor en función de la carga de entrada de amoniaco al biofiltro bacteriano y al sistema de biofiltros conectados en serie.

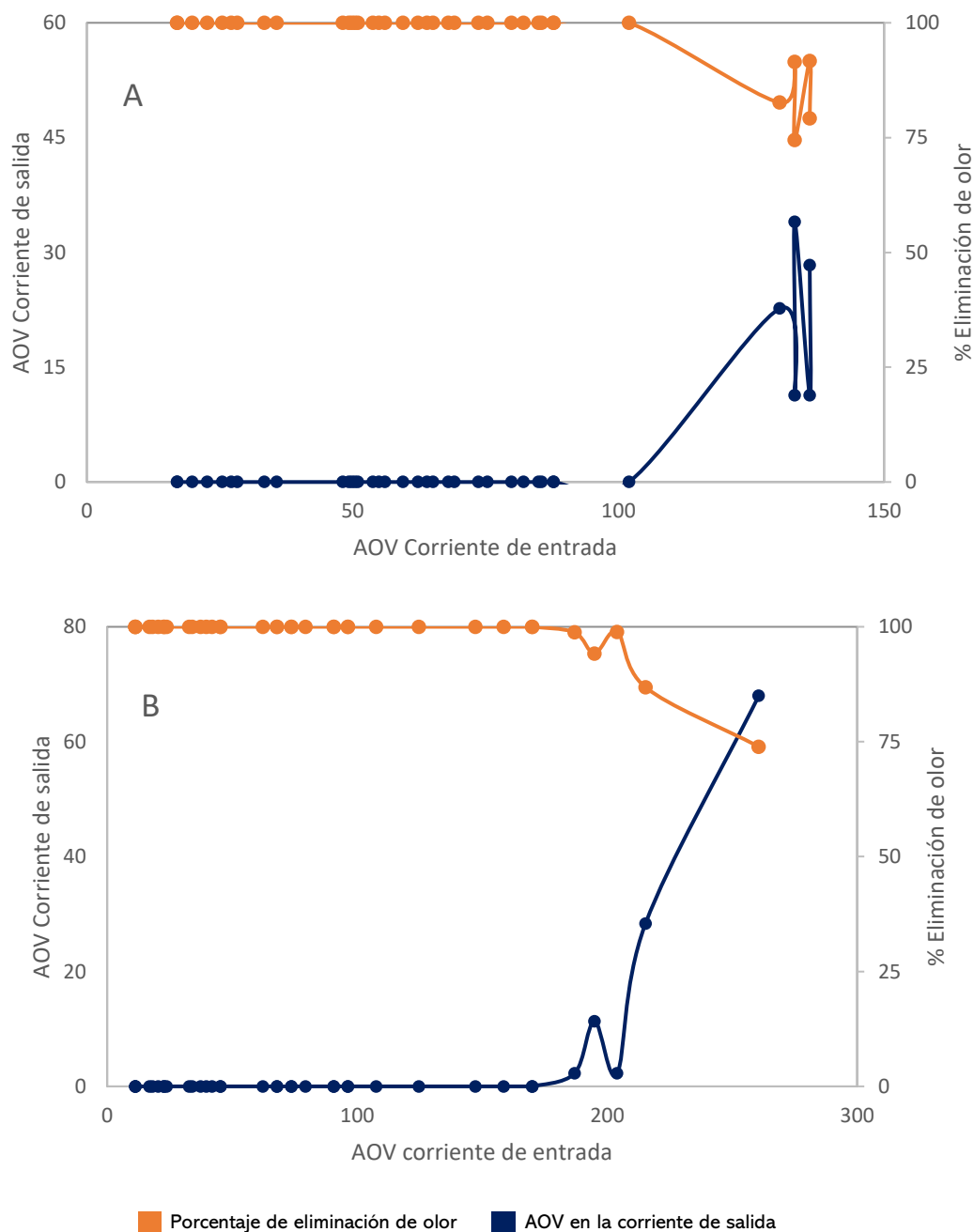


Figura 4-6. Porcentajes de remoción y capacidades de eliminación de olor para amoniaco.

En A se muestra la capacidad de eliminación y porcentaje de remoción de olor respecto de los valores de actividad de olor en la entrada del biofiltro bacteriano operando en forma independiente (caso base), en B, se muestran las mismas variables en el sistema de dos biofiltros conectados en serie.

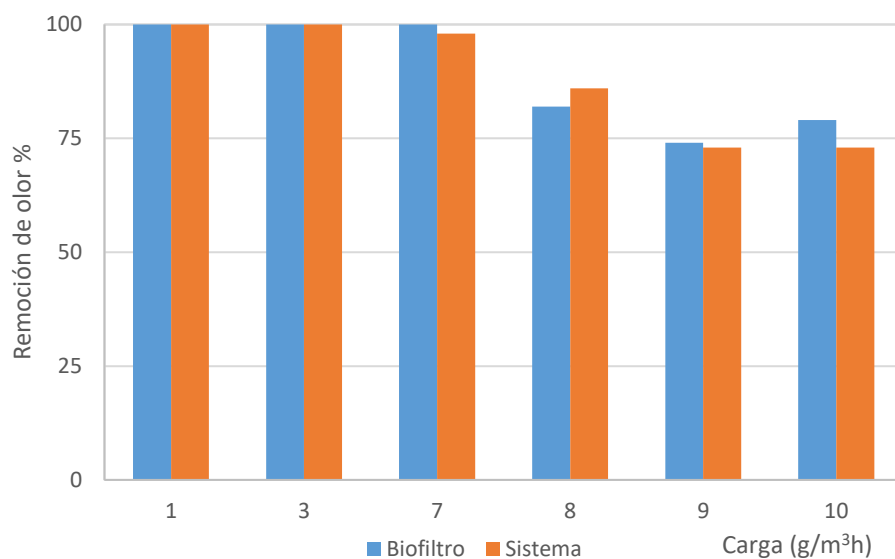


Figura 4-7. Remoción de olor para NH_3 en función de la carga de compuesto.

Se muestran los valores remoción de olor en función de la carga de compuesto que ingresa al biofiltro bacteriano operando independientemente versus el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

4.2.1.2 Balance de nitrógeno.

Se realizó un balance de nitrógeno en el biofiltro bacteriano operando en serie con el biofiltro fúngico, se seleccionó un lapso de 16 días sin interrupciones de flujo ni problemas operativos en el sistema.

La Figura 4-8 muestra las concentraciones de amoníaco en el gas y en el medio recirculante, el volumen de medio recirculante en la columna fue de 1,5 L. El caudal de aire tratado se mantuvo constante en un valor de 5 L/min.

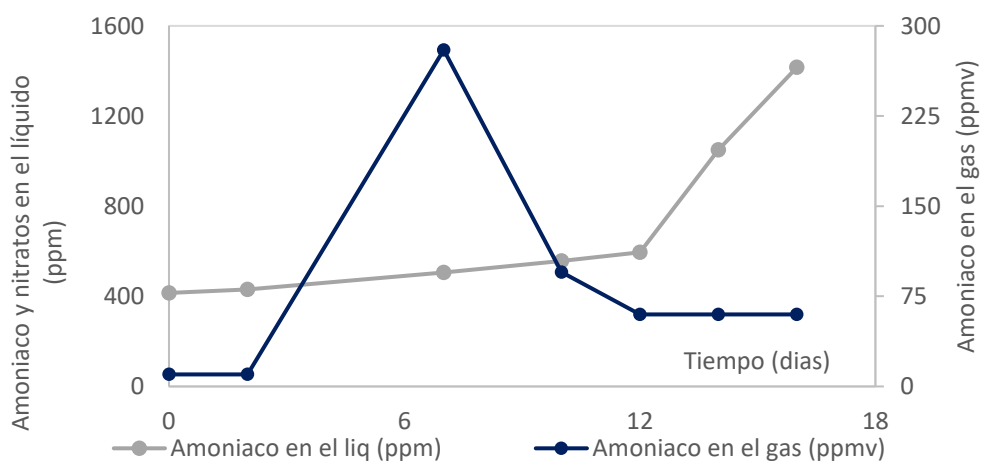


Figura 4-8. Concentraciones de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ en el biofiltro bacteriano.

Se muestran las concentraciones de amoníaco/ amonio y nitratos en el medio líquido recirculante, las concentraciones de nitritos fueron siempre nulas y no se muestran en el gráfico, las concentraciones de nitratos no superaron los 1,5 (ppm) y tampoco aparecen en la gráfica. Se muestran además las concentraciones de amoníaco en fase gaseosa, en la entrada del biofiltro, en la salida del sistema esta concentración siempre fue nula.

El balance de masa indica que la columna fue capaz de contener 0,33 mol de nitrógeno, sin embargo, en el medio recirculante solo se acumularon 0,088 mol en forma de amoníaco o de amonio. Estos valores indican que el amoníaco ingresado a la columna quedo retenido en ella, pero no se oxido a nitrito o nitrato. Esta condición podría estar asociada al pH del medio recirculante, el cual presento un comportamiento oscilante entre valores de 7 a 2,8 debido a la acción de las bacterias sulfo-oxidante, la cual pudo haber causado interferencia en el desempeño de las bacterias amonio oxidantes.

La diferencia entre la cantidad de moles de nitrógeno que ingresaron a la columna en comparación con los moles acumulados en el periodo del balance podría estar asociados a un problema operativo, como un derrame o un desperfecto del sistema de medición.

4.2.2 Capacidad de eliminación de ácido sulfhídrico.

Se midió la capacidad de eliminación y el porcentaje de remoción de ácido sulfhídrico en el biofiltro de escurrimiento y en el sistema de biofiltros.

La Figura 4-8A. muestra los resultados del biofiltro de escurrimiento operando independientemente del biofiltro fúngico y alimentado con una corriente de aire que contenía amoníaco y ácido sulfhídrico.

Por otra parte, la Figura 4-8B muestra la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de ácido sulfhídrico para el sistema de dos biofiltros, el biofiltro de escurrimiento y el biofiltro de lecho fijo, conectados en serie, y alimentados con una corriente de aire contenía amoniaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol.

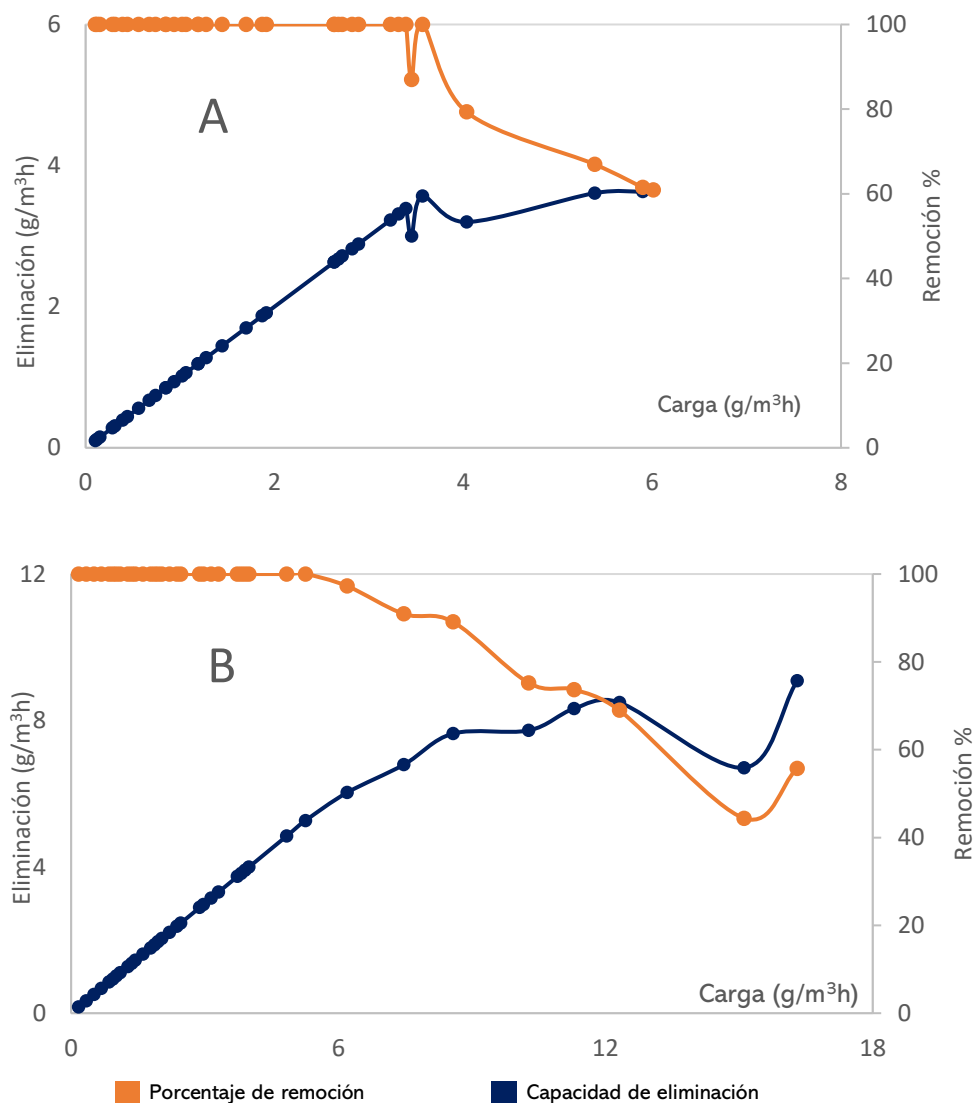


Figura 4-9. Porcentajes de remoción y capacidades de eliminación de ácido sulfhídrico.

En A se muestra la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción en el biofiltro bacteriano operando en forma independiente, en B, se muestra la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción en el sistema de dos biofiltros conectados.

4.2.2.1 Eliminación de olor de ácido sulfhídrico

La eliminación de olor medido en AOV para el ácido sulfhídrico en el biofiltro bacteriano y en sistema puede verse en la Figura 4-10. Se midió la capacidad de eliminación y el porcentaje de remoción de olor de ácido sulfhídrico en el biofiltro de escurrimiento y en el sistema respecto de los valores de actividad de olor en la entrada de los biofiltros.

La Figura 4-10 A. muestra los resultados asociados al biofiltro de escurrimiento operando independientemente del biofiltro fúngico y alimentado con una corriente de aire que contenía

amoníaco y ácido sulfhídrico. Por otra parte, la Figura 4-10 B muestra la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de olor de ácido sulfhídrico para el sistema de dos biofiltros, el biofiltro de escurrimiento y el biofiltro de lecho fijo, conectados en serie y alimentados con una corriente de aire contenía amoníaco, ácido sulfhídrico, indol y p-cresol. Además, la Figura 4.11 muestra los resultados de remoción de olor en función de la carga de H_2S que ingresa al biofiltro bacteriano y al sistema de biofiltros conectados en serie

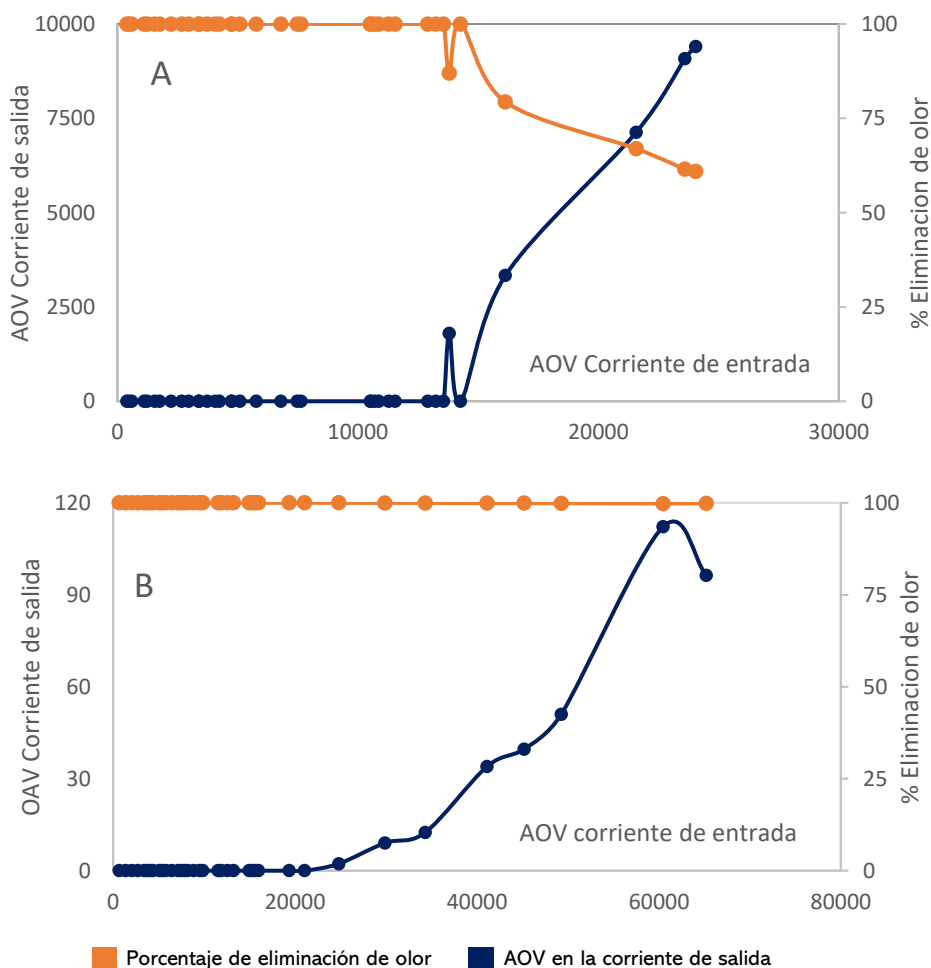


Figura 4-10. Eficiencia de remoción de olor y capacidades de eliminación en AOV para H_2S . En A se muestra la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de olor en el biofiltro bacteriano operando en forma independiente respecto de los valores de actividad de olor en la entrada del equipo, en B se muestra la misma información para el sistema de dos biofiltros conectados en serie.

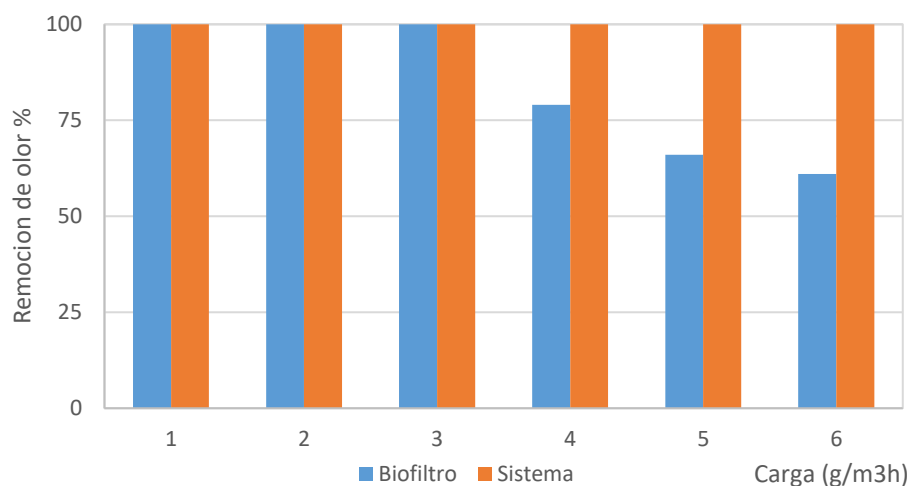


Figura 4-11. Remoción de olor para H_2S en función de la carga de compuesto.

Se muestran los valores remoción de olor en función de la carga de compuesto que ingresa al biofiltro bacteriano operando independientemente versus el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

4.2.2.2 Discusión de los resultados de eliminación de amoníaco y ácido sulfhídrico.

Para el caso del amoníaco, se observan valores de remoción total hasta una carga de amoníaco cercana a $8 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$. Este valor es muy similar en ambas condiciones evaluadas (biofiltro independiente versus biofiltros conectados en serie).

Por otro lado, estos resultados son comparables con los reportados en otros estudios. En la remoción simultánea de ácido sulfhídrico y amoníaco en dos biofiltros de escurrimiento conectados en serie, Ramírez et al. [98] obtuvo valores de remoción total de amoníaco del orden de $9,8 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$. En estudios a nivel piloto, Melse et al. [91] reportó remociones del orden del 79 % en un biofiltro de escurrimiento; en dicho estudio se recomienda evaluar sistemas para la remoción de compuestos poco solubles en agua, con el fin de mejorar la eficiencia de remoción de olor.

A escala industrial en Pekín, Xue et al. [92] utilizó un biofiltro de escurrimiento para la eliminación de olor y amoníaco, operando con un caudal de 58.000 L/min y concentraciones de amoníaco entre $2,8$ y $27,8 \text{ mg/m}^3$, obteniendo una capacidad de eliminación cercana a $11,2 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$ para remoción total.

En conjunto, estos resultados permiten concluir que la remoción de amoníaco en la columna de escurrimiento no es dependiente de la presencia de indol y p-cresol, ya que su coexistencia no genera efectos sinérgicos ni antagónicos sobre la eficiencia de eliminación de este compuesto.

Para la remoción de ácido sulfhídrico en el biofiltro de escurrimiento operando en forma independiente, se observa una capacidad total de eliminación de la carga que ingresa al biofiltro de un valor cercano a $4 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$. Por otro lado, al operar el sistema completo con presencia de indol y p-cresol, el valor máximo de remoción total aumenta hasta un valor cercano a $6 \text{ g/m}^3\cdot\text{h}$.

Los valores reportados por estudios similares utilizando bacterias sulfo-oxidantes varían en un amplio rango.

Sercu et al. [95] reportó eficiencias de remoción del 98% para cargas de ácido sulfhídrico de hasta 83 g/m³h, todo esto en un sistema compuesto por dos biofiltros de escurrimiento conectados en serie para el tratamiento conjunto de ácido sulfhídrico y dimetil sulfuro.

Para la remoción exclusiva de ácido sulfhídrico, Rattanapan et al. [157] utilizando bacterias sulfo-oxidantes inmovilizadas en carbón activado granular (CAG), en este estudio consiguieron eficiencias de remoción mayores al 98% para altas concentraciones del compuesto que se tradujeron en cargas de hasta 125 g/m³h de ácido sulfhídrico.

De modo coincidente con los resultados de este estudio, los valores de remoción descienden drásticamente cuando las bacterias sulfo-oxidantes son coinmovilizadas con bacterias amonio-oxidantes. Ramirez et al. [97] desarrollo este tipo de experiencias en un biofiltro de escurrimiento con las bacterias *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* las que fueron coinmovilizadas en un mismo biofiltro sobre espuma de poliuretano. Se reportaron valores de eliminación de hasta 11 g/m³h para remoción total de ácido sulfhídrico y para amoníaco cercano a 10 g/m³h para amoníaco.

Chung et al. [98] con el mismo consocio bacteriano de *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* coinmovilizadas en alginato de calcio para tratar amoníaco y ácido sulfhídrico, concluyo que la acidificación del medio es un parámetro relevante para mejorar la remoción de estos contaminantes. El estudio indica que, para el cumplimiento de los estándares de aire de Taiwan del año 2000 las cargas máximas pudieron ser tratadas fueron de 4,1 y 5,8 g/m³h de ácido sulfhídrico y amoníaco respectivamente

El análisis de estos estudios sugiere que los valores reportados en este estudio son comparables a otros estudios de características similares que utilizan bacterias sulfo-oxidantes y amonio-oxidantes. además, los valores de remoción asociados a la situación en donde los biofiltros operan independiente en comparación con la situación donde ambos biofiltros operan conectados en serie, sugiere que la presencia de indol y p-cresol en el sistema no genera efectos sinérgicos ni antagónicos medibles en la remoción de ácido sulfhídrico.

Se considera que el método de control del pH en el sistema, el cual no estaba automatizado, permitió que el pH tuviese grandes variaciones, lo que pudo también afectar negativamente el comportamiento de los microorganismos.

Considerando la eliminación de olor de amoníaco, las concentraciones utilizadas y el umbral de detección del compuesto, es posible establecer que el amoníaco es el odorante que presenta los valores de actividad de olor más bajos del sistema. Para el ácido sulfhídrico la situación es diferente dado su bajo umbral de detección olfativa.

El estudio realizado por Rincon et al. [69] aunque no es concluyente sugiere que los valores en OAV para estos compuestos pueden relacionar con unidades de concentración de olor en (ouE/m³). Los

resultados de este estudio sugieren que la configuración en serie de dos biofiltros conectados en serie mejora la eficiencia de remoción de olor de amoníaco y ácido sulfhídrico.

Aunque los datos aportados por este estudio no consideran los efectos antagonistas de estos compuestos respecto de la sensación de olor cuando ambos compuestos están en una misma corriente de aire. Si es posible establecer que ambos compuestos pueden ser tratados en un sistema de dos biofiltros conectados en serie para la eliminación del olor en conjunto con otros compuestos hidrofóbicos como indol y p-cresol.

4.2.2.3 Balance de azufre.

Se desarrolló un balance de azufre en el biofiltro bacteriano, con el objetivo de indagar el comportamiento de las bacterias sulfo-oxidantes.

La Figura 4.12 muestra los resultados de las concentraciones de ácido sulfhídrico en el gas de entrada y salida del sistema para un caudal de aire de 5 L/min. La figura muestra además la evolución de las concentraciones de sulfato acumulado en el medio recirculante.

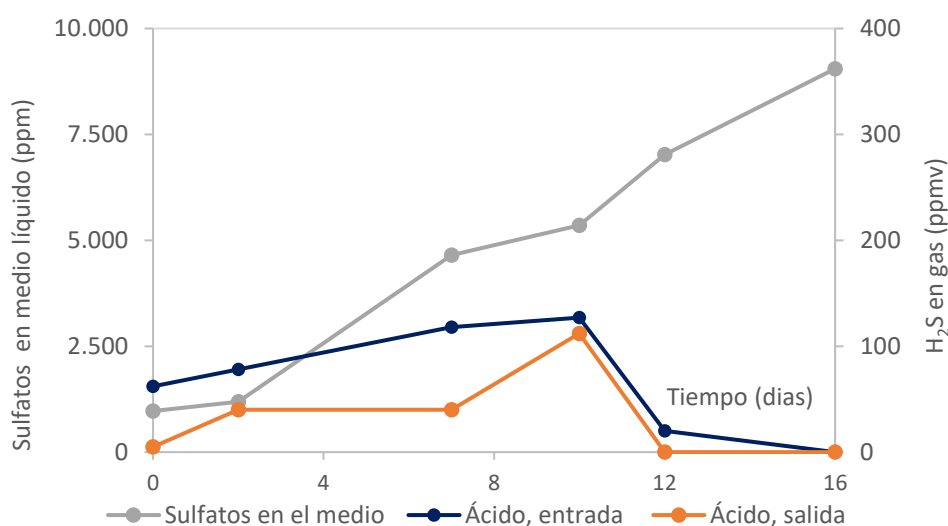


Figura 4-12. Concentraciones asociadas al balance de azufre en el biofiltro de escurrimiento.

Datos tomados en un lapso de 16 días en los cuales no se realizaron purgas ni cambios totales del medio, se muestran las concentraciones de H_2S de entrada y salida del biofiltro y la concentración de sulfatos en el medio recirculante.

El balance indica que 0,156 mol de azufre fueron retenidos por la columna de los cuales 0,124 mol fueron oxidados a sulfato. Esto sugiere que la mayor parte del azufre fue transformado por la acción bacteriana, lo que sugiere nuevamente que el desempeño de las bacterias sulfuro oxidantes no fue afectado por la presencia de indol y p-cresol en el biofiltro bacteriano.

4.2.3 Capacidad de eliminación de indol.

Se realizaron pruebas de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de indol.

Las mediciones se realizaron, por un lado, en el biofiltro de lecho fijo colonizado por el hongo operando en forma independiente y por otro lado en el sistema compuesto por los dos biofiltros conectados en serie.

La Figura 4-13 A muestra los resultados de capacidad de eliminación de indol en el biofiltro fúngico operando independientemente, en cambio la Figura 4-13 B muestra los resultados de capacidad de eliminación de indol en el sistema de dos biofiltros conectados en serie

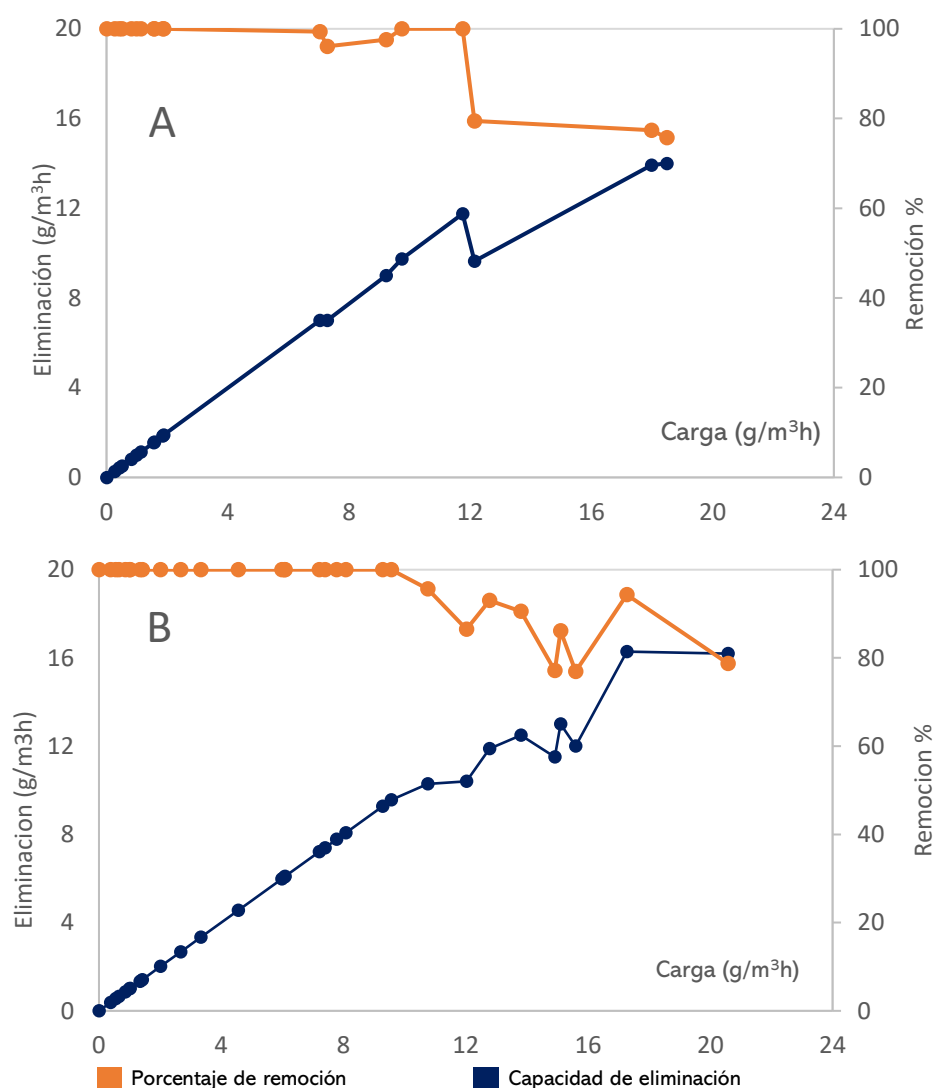


Figura 4-13. Capacidades de eliminación de indol y eficiencias de remoción de indol.

El A se muestra la capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de indol para el biofiltro fúngico operando independientemente del biofiltro bacteriano (caso base). En B se muestra la misma información para el sistema de dos biofiltros conectados en serie.

Los resultados muestran una remoción total de indol para una carga cercana a $10 \text{ g/m}^3\text{h}$.

Aunque no se dispone de evidencia estadística no se observan diferencias significativas entre la remoción del compuesto en el biofiltro de lecho fijo operado en forma independiente y la remoción en la situación en donde ambos biofiltros operaron conectados en serie.

4.2.3 Capacidad de eliminación de p-cresol.

Se realizaron pruebas de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de p-cresol.

Igual que en el caso del compuesto indol, las mediciones se realizaron en el biofiltro de lecho fijo colonizado por el hongo operando en forma independiente y por otro lado en el sistema compuesto por los dos biofiltros conectados en serie.

La Figura 4-14 A muestra los resultados de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de p-cresol en el biofiltro fúngico operando independientemente, por otro lado, la Figura 4-14 B muestra los resultados de capacidad de eliminación de p-cresol en el sistema de dos biofiltros conectados en serie.

Se observa una remoción total para una carga cercana a $20 \text{ g/m}^3\text{h}$ cuando el compuesto fue tratado por el biofiltro fúngico operando independientemente. Por otro lado, cuando se considera el tratamiento del compuesto en el sistema de dos biofiltros operando en serie, se observa un aumento de la capacidad de eliminación del compuesto llegando a un valor cercano a $30 \text{ g/m}^3\text{h}$. Es posible sugerir que la solubilidad parcial del p-cresol en agua de 21 g/L , podría explicar este fenómeno, al considerar que una fracción del compuesto queda retenido en el medio recirculante del biofiltro de escurrimiento.

Para explicar estas observaciones, se realizaron mediciones esporádicas de indol y p-cresol en el medio recirculante. Los resultados de estas mediciones indicaron que no había presencia de indol disuelto, pero si se detectó p-cresol en concentraciones de hasta $1,38 \text{ g/L}$, lo que confirma que una fracción de la carga de este compuesto queda retenida en el líquido recirculante del biofiltro de escurrimiento.

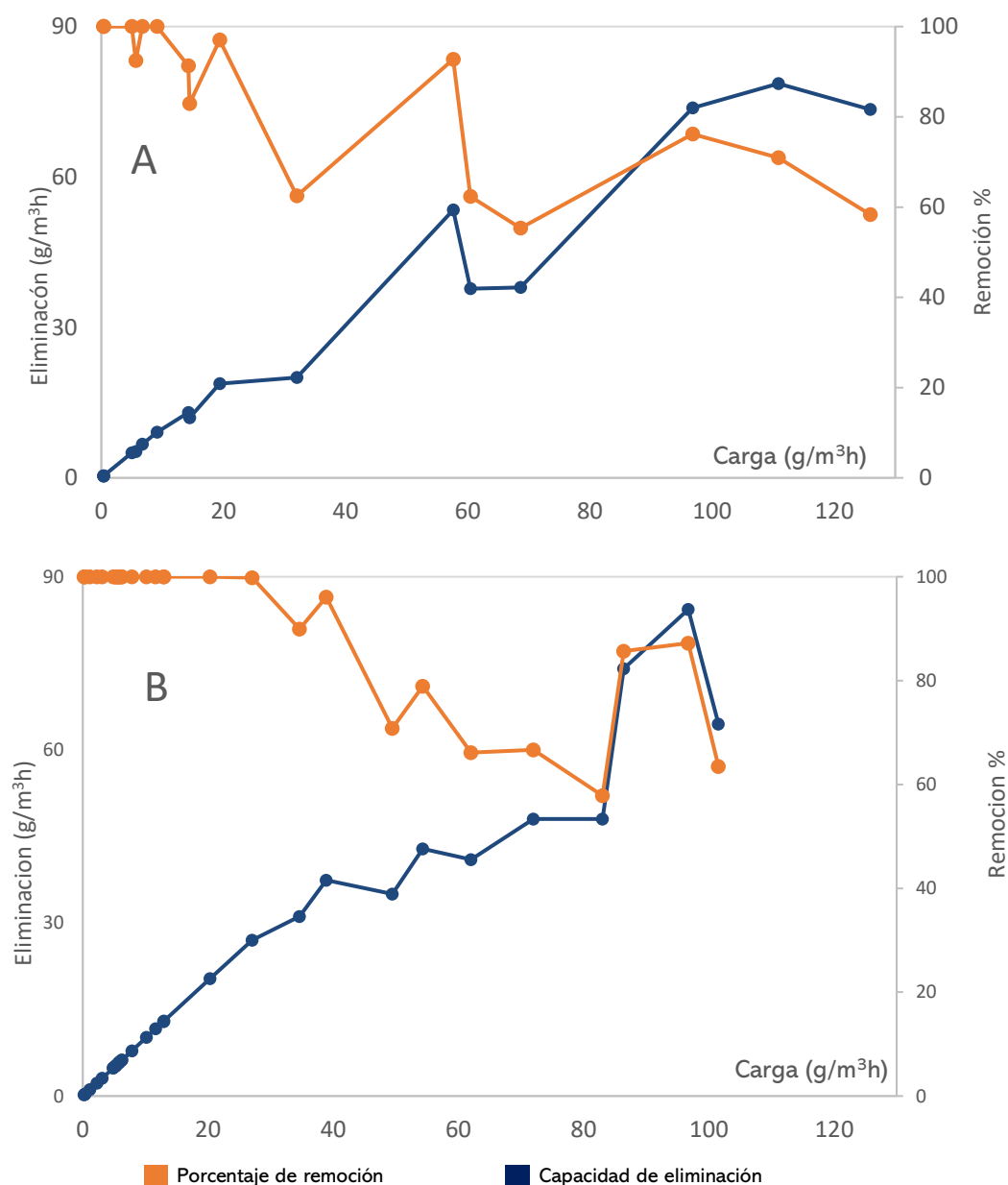


Figura 4-14. Capacidades de eliminación y eficiencias de remoción de p-cresol.

El gráfico A muestra los valores para el biofiltro fúngico operando independientemente del biofiltro bacteriano (caso base), el gráfico B muestra los valores para el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

4.2.3.1 Eliminación de olor de indol y p-cresol

En conjunto con las pruebas anteriores, se realizaron pruebas de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de olor de indol y p-cresol.

Las mediciones se realizaron en el biofiltro de lecho fijo colonizado por el hongo operando en forma independiente, y por otro lado en el sistema compuesto por los dos biofiltros conectados en serie.

La Figura 4-15 A muestra los resultados de la eliminación de olor medido en AOV y los porcentajes de eficiencia de remoción de olor para el compuesto indol en el biofiltro fúngico operando

independientemente, además la Figura 4-15 B muestra los resultados de la eliminación de olor medido en AOV y los porcentajes de eficiencia de remoción de olor para el compuesto indol en el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

La Figura 4-16 A muestra los resultados de la eliminación de olor medido en AOV y los porcentajes de eficiencia de remoción de olor para el compuesto p-cresol en el biofiltro fúngico operando independientemente, además la Figura 4-16 B muestra los resultados de la eliminación de olor medido en AOV y los porcentajes de eficiencia de remoción de olor para el compuesto p-cresol en el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

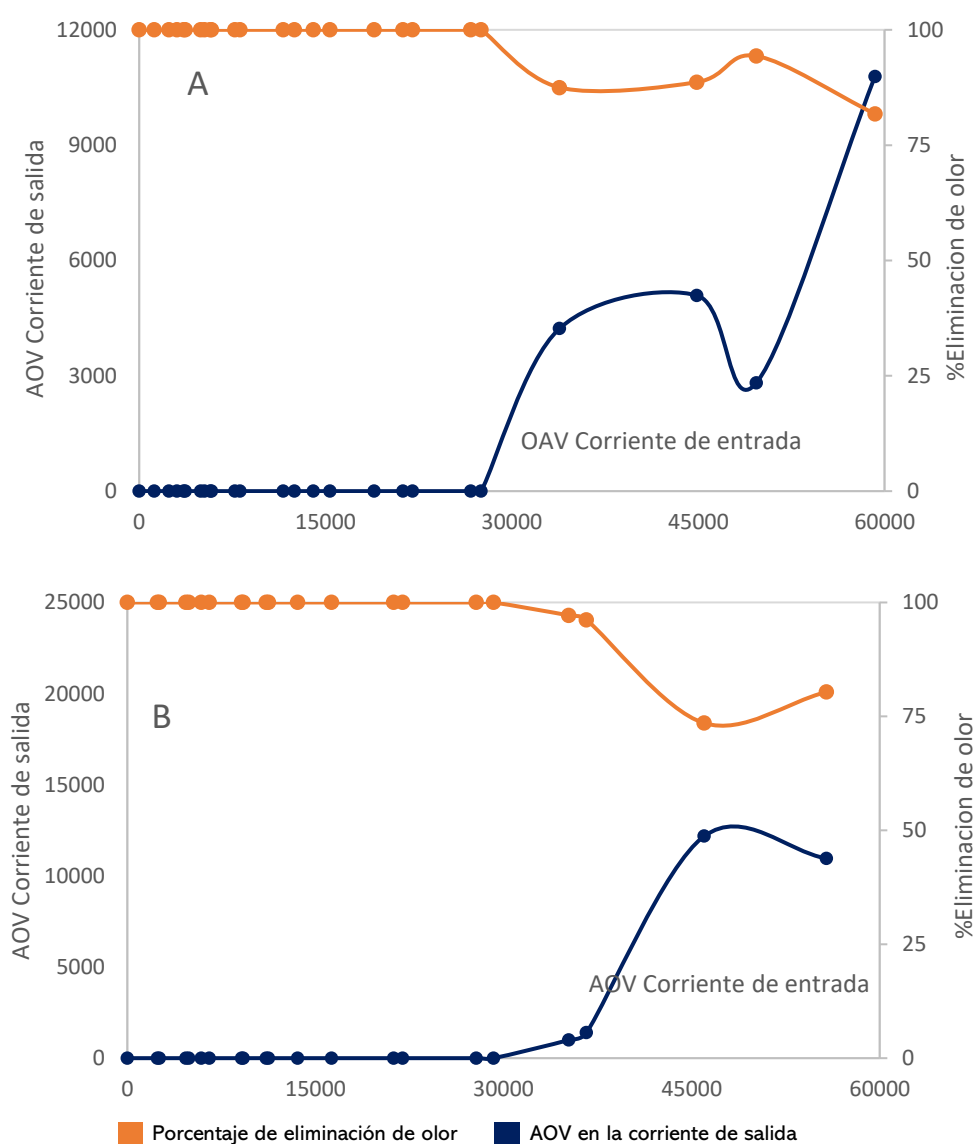


Figura 4-15. Capacidades de eliminación de olor para indol en AOV para el biofiltro fúngico. El grafico A muestra los valores para el biofiltro fúngico operando independientemente del biofiltro bacteriano (caso base), el grafico B muestra los valores para el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

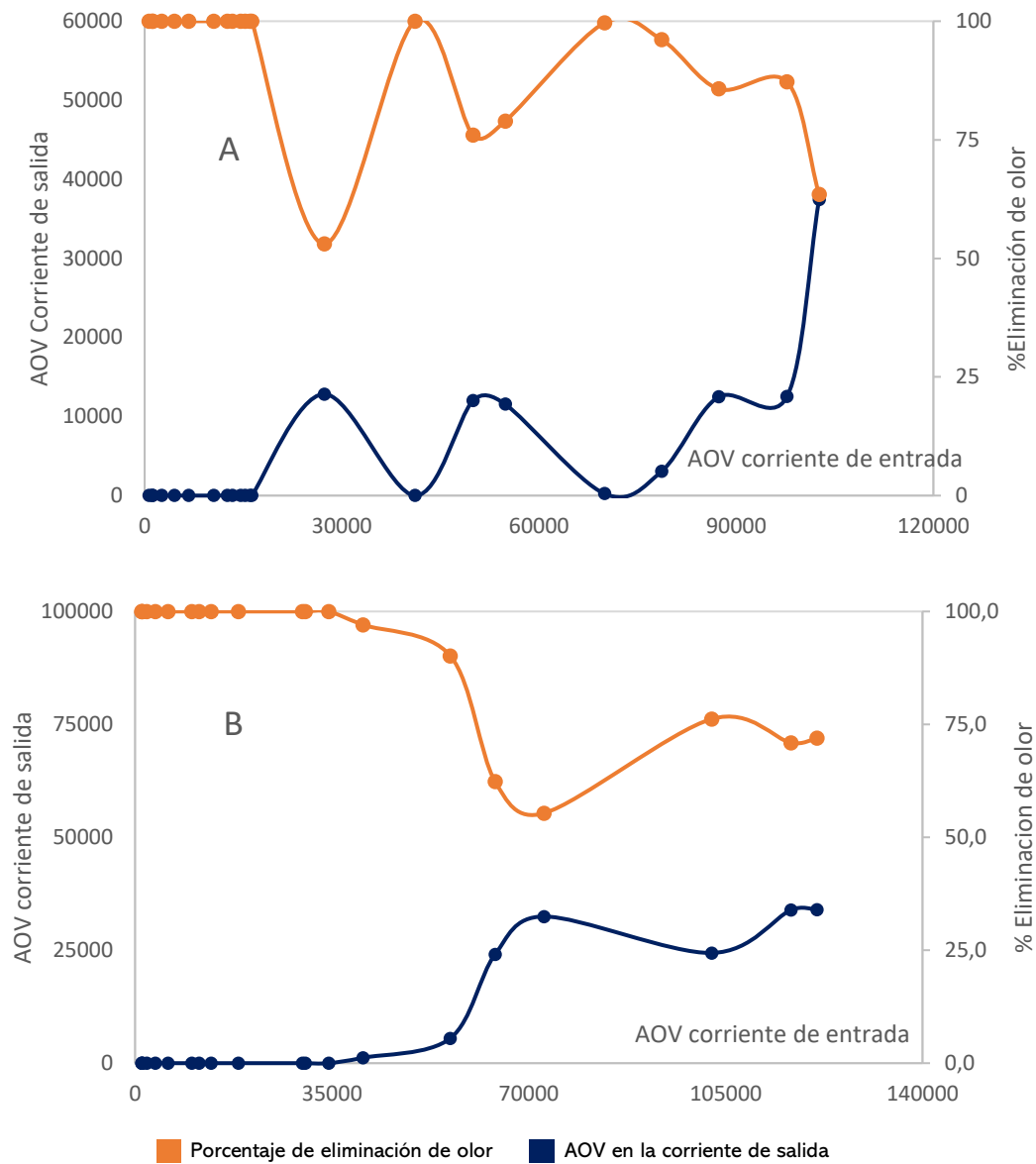


Figura 4-16. Capacidades de eliminación de olor de p-cresol en OAV para el biofiltro fúngico
 El gráfico A muestra los valores para el biofiltro fúngico operando independientemente del biofiltro bacteriano (caso base), el gráfico B muestra los valores para el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

Las Figuras 4-17 y 4-18 muestran los resultados de remoción porcentual de olor los compuestos indo y p-cresol respectivamente, respecto de la carga de compuesto que ingresa al biofiltro fúngico o al sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

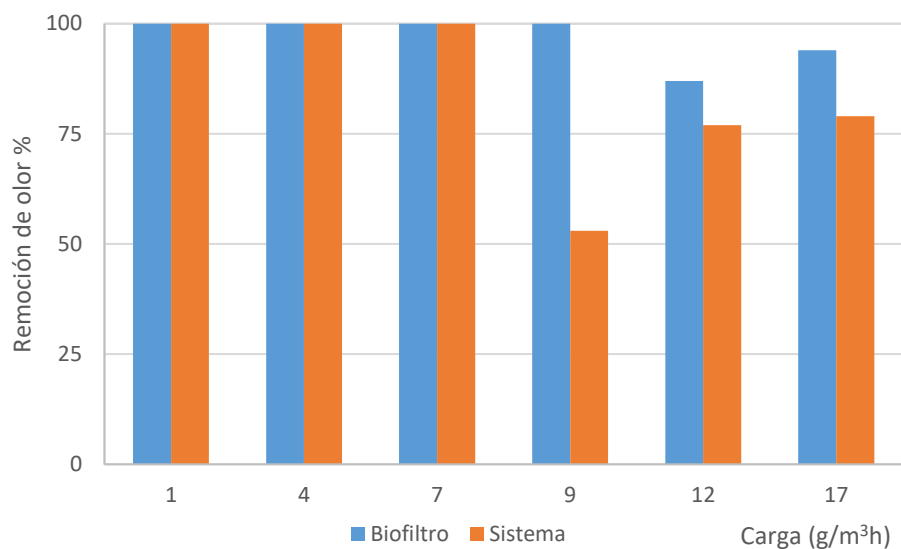


Figura 4-17. Remoción de olor de indol en función de la carga del compuesto

Se muestran los valores remoción de olor en función de la carga de compuesto que ingresa al biofiltro fúngico operando independientemente versus el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

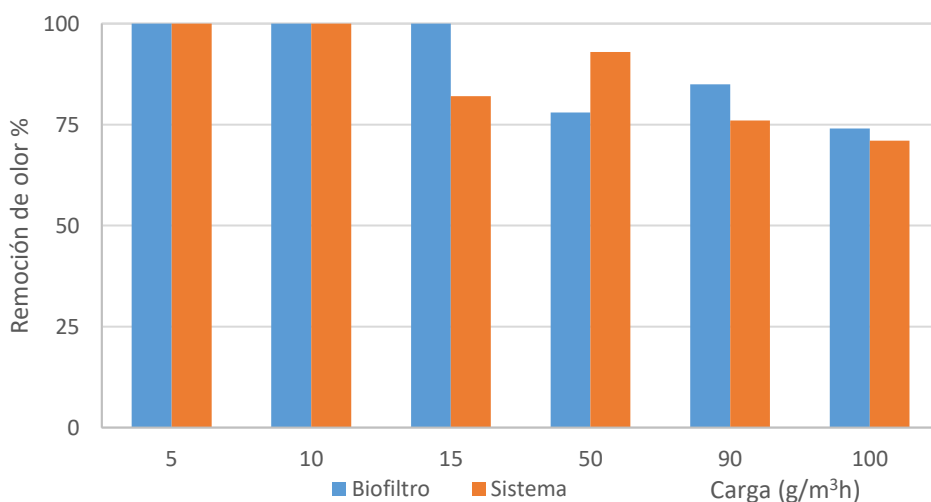


Figura 4-18. Remoción de olor de p-cresol en función de la carga del compuesto

Se muestran los valores remoción de olor en función de la carga de compuesto que ingresa al biofiltro fúngico operando independientemente versus el sistema de ambos biofiltros conectados en serie.

4.2.3.2 Discusión conjunta de los resultados de la eliminación de indol y p-cresol.

En la búsqueda de estudios comparables a los resultados obtenidos no se encontraron otros estudios que reporten biorremediación de indol y p-cresol de manera equivalentes a los presentados en este estudio. Sin embargo, si es posible citar estudios que estudiaron la biorremediación de los mismos compuestos en otros ámbitos.

Kamath et al. [141] estudió la biodegradación de indol utilizando la especie fúngica *Aspergillus niger*, demostrando que el hongo se adapta a una concentración de indol luego de una fase de latencia de 30 horas y describiendo sus rutas metabólicas.

Chen et al. [143] utilizó el hongo endófito *Phomopsis liquidambari* para degradar indol e inicialmente obtuvo una degradación del 41,7% para una concentración de 0,1(g/L), y mejoran la degradación al 99,1% agregando hojarasca y en el caso de p-cresol.

Clauben et.al. [144] utilizó el hongo *Scedesporium apiospermum* por su capacidad de degradar fenol y p-cresol, identificando los metabolitos de degradación y detectando enzimas que permitieron proponer diferentes rutas metabólicas para la degradación del fenol y p-cresol.

Kennes et al. [137], en 1991, utiliza la cepa BKM-F-1767 del hongo *Phanerochaete chrysosporium* para el biotratamiento de p-cresol, demostrando que el hongo podría tratar concentraciones de hasta 0,15 (g/L) en presencia de glucosa, considerando que era necesario proporcionar condiciones para la inducir la actividad de las enzimas ligninolíticas.

Atagana et al. [145] estudió la biodegradación de cresoles en suelos contaminados con creosota y utilizó siete especies de hongos no basidiomicetos y dos especies de hongos basidiomicetos, alcanzando una degradación de los compuestos fenólicos de entre un 84 % y un 100 %.

Singh et al. [146] estudió la biodegradación de p-cresol en aguas residuales con la especie *Gliomastix indicus*. Wang et al, [147] utilizó la cepa PDY-07 de *Candida albicans* para biodegradar fenol y meta cresol en cultivos por lotes en forma.

Katapodis et al [138], estudió la biodegradación de indol por el hongo *Sporotrichum thermophile*, en fermentación líquida de doble fase; los resultados indican que el hongo es capaz de degradar indol hasta una concentración de 3 (g/L).

Ninguno de los estudios mencionados reporta información comparable a la desarrollada en este, debido a que la mayoría de ellos están enfocados en la remediación de suelos o de aguas residuales.

Por otro lado, los estudios que reportan la presencia de estos gases en emisiones gaseosas de establecimientos de cría y tratamiento de subproductos animales, como Jacobson et al [13], Anet et al [4] y Ciganek et al. [158], entre otros, abordan el problema de la generación de olor de modo transversal.

Además, otros estudios realizados con compuestos similares para la limpieza del aire, se pueden mencionar el de Suárez et al [159] que estudió la biorremediación de aire contaminado con fenol en un biofiltro con microorganismos no especificados, encontrando entre un 92 y un 100% de remoción para 100 (ppmv) de entrada y un tiempo de residencia de 92 s, además el estudio de Benavidez et al. [160] que estudió la remoción de vapores de fenol en un biofiltro a escala laboratorio,

encontrando entre 88 y 92 % para concentraciones de entre 500 y 600 ppmv para tiempos de residencia de entre 4,5 a 5,5 s.

Lo anterior indica que este estudio entrega por primera vez valores para la capacidad de eliminación y porcentajes de remoción de los compuestos indol y p-cresol en el aire por medio de un biofiltro de lecho fijo colonizado por hongos operando independientemente y compara estos valores con los de un sistema de dos biofiltros conectados en serie donde además se trata amoníaco y ácido sulfhídrico.

Respecto a las concentraciones de olor medidas en valores de actividad de olor OVA, los resultados de los gráficos 4-13 y 4-14 muestran que el tratamiento del olor en el biofiltro fúngico operando en forma independiente muestra comportamientos similares respecto de la eliminación de olor de ambos compuestos en comparación con el tratamiento en el biofiltro conectado en serie con el biofiltro bacteriano

Aunque no se dispone de otros estudios para comparar estos resultados si es posible concluir que el tratamiento del olor de los compuestos indol y p-cresol puede ser exitosamente realizado en un sistema de dos biofiltros conectados en serie y en una única corriente que además contiene compuestos hidrofílicos como amoníaco y ácido sulfhídrico

4.2.3.3 Balance de masa para indol y p-cresol en el biofiltro de lecho fijo.

La Tabla 4-1 muestra los resultados de los balances de masa para el indol y p-cresol respectivamente en biofiltro fúngico operando independiente,

Tabla 4-1 Datos del balance masa para indol y p-cresol realizado en la columna fúngica operando independientemente.

	Masa ingresada (g)	Masa salida (g)	Masa retenida (g)	Consumo en columna (g)	% Transformado en otros compuestos
Indol	2,633	0	0	2,633	100%
Para cresol	24,026	0	0,446	23,57	98%

Un segundo balance de masa se desarrolló en el biofiltro fúngico operando en serie con el biofiltro bacteriano, la Tabla 4-2 muestra los resultados de los balances para el indol y p-cresol respectivamente.

Tabla 4-2 Datos del del balance de masa para indol y p-cresol, en el biofiltro de lecho fijo operando en el sistema completo.

	Masa ingresada (g)	Masa salida (g)	Masa retenida en columna (g)	Consumo en columna (g)	% Transformado en otros compuestos
Indol	23,42	4,27	0,00	19,15	100%
Para Cresol	149,05	56,21	1,13	91,71	99%

Los resultados de ambos balances de masa indican que el indol y el p-cresol retenido en la columna es transformado por el hongo a otros compuestos, esto sugiere que las limitaciones de la eficiencia del equipo están asociadas a fenómenos de transferencia de masa y no a la biodegradación por parte de los microorganismos.

Los datos sugieren que la posible presencia de amoníaco y ácido sulfhídrico en el biofiltro fúngico no tiene incidencia en el desempeño del hongo como degradador de indol y p-cresol.

4.2.4 Actividad enzimática en el biofiltro de lecho fijo.

Se midió la actividad enzimática de lacasa, manganeso peroxidasa y versátil peroxidasa en el biofiltro de lecho fijo operando independientemente, se realizaron tres ensayos de medición de actividad separados por 20 días.

La Tabla 4-3. muestra los resultados de actividad enzimática obtenidos, los experimentos se realizaron el duplicado y se muestra el valor promedio de las dos mediciones de cada caso.

Tabla 4-3 Valores de actividad enzimática de lacasa, manganeso peroxidasa y manganeso independiente peroxidasa, se muestra la media de cada medición realizada en duplicado.

Zona de la columna	Lacasa (u/L)	MnP (u/L)	VP(u/L)
Superior	3,63	0,74	2,42
Media	3,02	1,21	3,09
Inferior	1,88	1,14	2,76

Además, se midió la actividad enzimática en el biofiltro de lecho fijo operando conectado en serie al biofiltro de escurrimiento, las mediciones se realizaron a partir del séptimo día de la unión de los biofiltros y luego cada siete días.

La Figura 4-19 muestra los resultados de actividad de la columna fúngica para las enzimas manganeso peroxidasa, lacasa y manganeso independiente peroxidasa.

Los resultados muestran la media de los valores obtenidos de actividad para las zonas inferior media y superior de la columna. Se observa que la enzima que presenta una mayor actividad es manganeso peroxidasa.

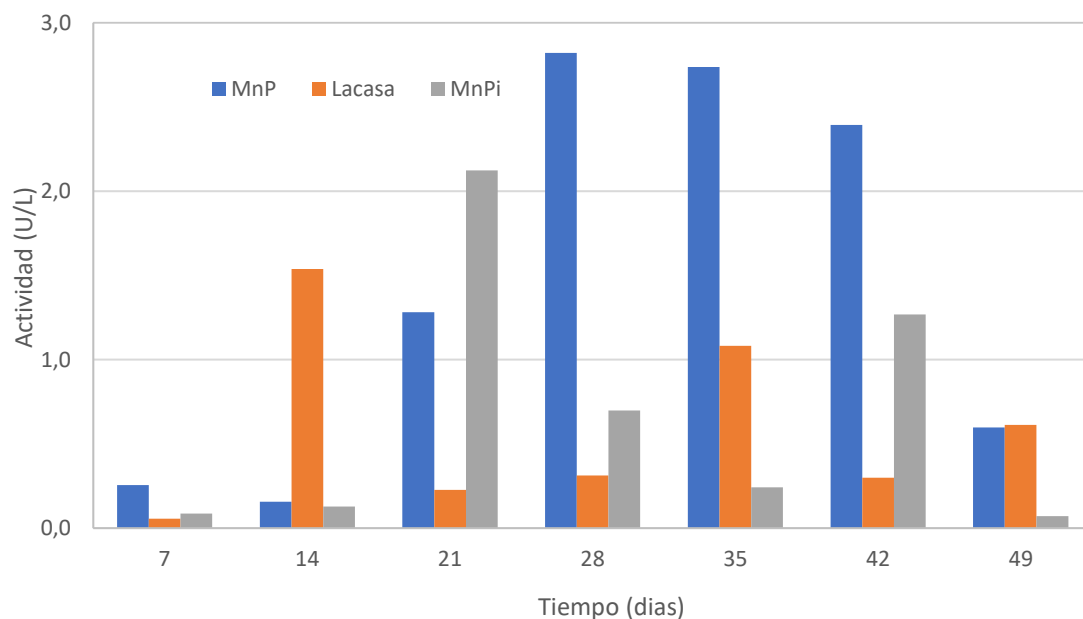


Figura 4-19. Valores de actividad enzimática en la columna fúngica.

Valores para manganeso peroxidasa (MnP), lacasa (lacasa) y manganeso independiente peroxidasa (MnPi), se muestran los resultados, de la actividad media de las zonas superior, medio y baja del biofiltro fúngico, las mediciones se realizaron cada siete días a partir del séptimo día del inicio de la tercera etapa del estudio.

El análisis de las mediciones de actividad enzimática por zona muestra que la mayor actividad enzimática se expresó en la zona media de la columna entre la tercera y sexta semana siendo las enzimas manganeso peroxidasa y manganeso independiente peroxidasa las que se expresaron en mayor proporción frente a la enzima lacasa, que registro la expresión más débil.

Los resultados de actividad enzimática por zona de la columna se muestran en la Figura 4-20.

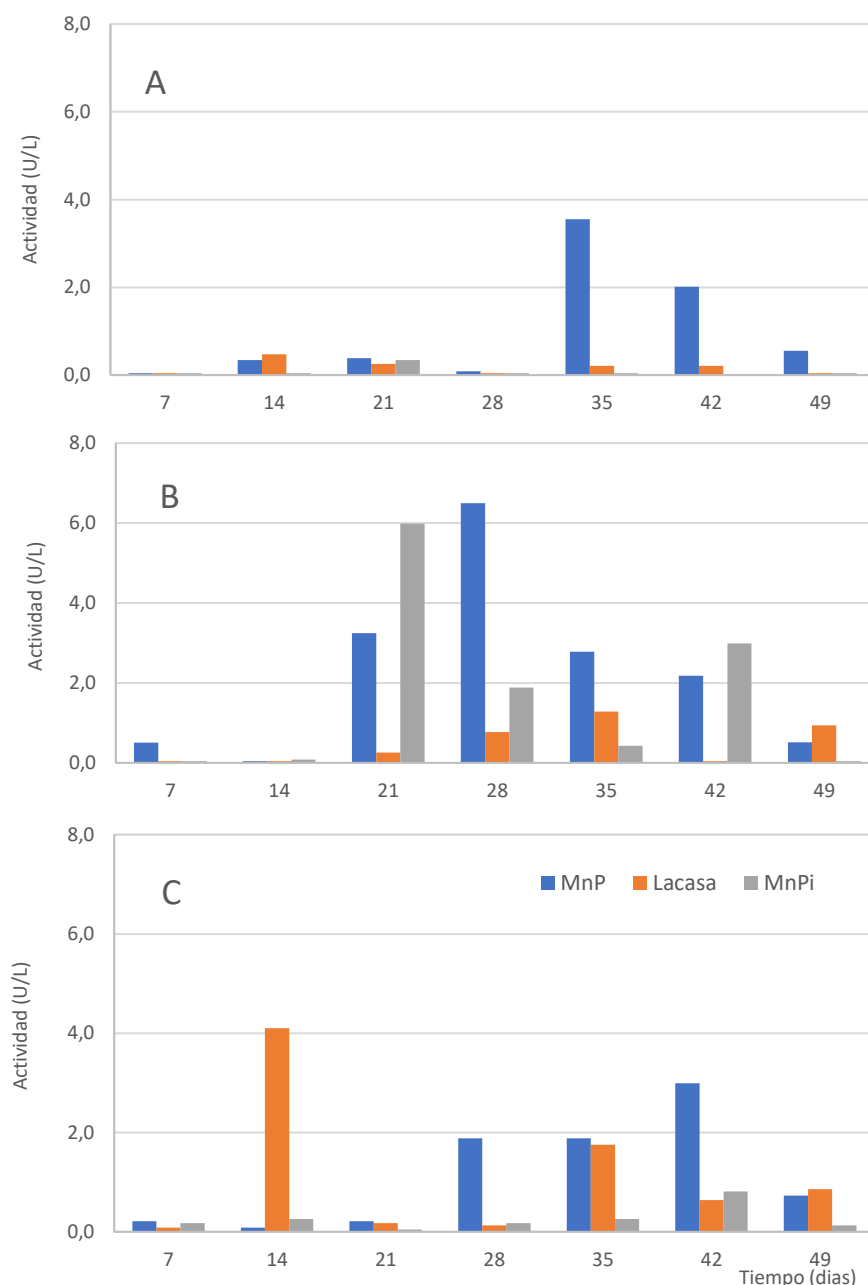


Figura 4-20. Valores de actividad enzimática.

Se muestran los valores para, manganeso peroxidasa (MnP), lacasa y manganeso independiente peroxidasa (MnPi). A: resultados, de la actividad de la zona superior. B: zona media y C: zona baja del biofiltro fúngico, las mediciones se realizaron cada siete días a partir del séptimo día del inicio de la tercera etapa del estudio.

4.2.5 Discusión de los resultados asociados a la actividad enzimática.

Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con investigaciones previas, se observa que los valores de actividad enzimática determinados para lacasa y manganeso independiente peroxidasa (versátil peroxidasa) se encuentran dentro de rangos similares a los reportados en la literatura, mientras que la actividad de manganeso peroxidasa presenta valores inferiores [134]. Sin embargo, existen estudios desarrollados bajo condiciones experimentales diferentes que reportan actividades de lacasa significativamente mayores, alcanzando valores del orden de decenas de U/L en hongos

actuando sobre fenol [44], e incluso valores de cientos o miles de U/L cuando los hongos se desarrollan sobre sustratos lignocelulósicos como bagazo de caña de azúcar o paja de arroz [161], [162].

Las diferencias observadas pueden atribuirse principalmente a las características de los sistemas evaluados. En los estudios mencionados, los hongos crecen directamente sobre superficies colonizadas o sustratos sólidos ricos en lignina, condiciones que favorecen una alta expresión de enzimas ligninolíticas debido al contacto directo entre el microorganismo y la fuente de carbono lignocelulósica. En contraste, en el presente estudio, el hongo se desarrolló dentro de un biofiltro de lecho fijo sometido a una corriente gaseosa contaminada, donde la captura del contaminante ocurre mediante fenómenos de transferencia de masa, adsorción y posterior degradación enzimática. Por lo tanto, las condiciones fisiológicas y ambientales a las que está sometido el microorganismo difieren significativamente respecto de los sistemas utilizados en otros estudios.

Diversos autores han reportado que la incorporación de cobre al medio de cultivo puede incrementar la producción de lacasas mediante la activación de genes relacionados con la expresión de estas enzimas [163]. En este sentido, una estrategia futura para mejorar el desempeño del biofiltro podría considerar la incorporación controlada de cobre en el medio de humidificación, con el objetivo de estimular la expresión de lacasas en el hongo. Esta modificación estaría directamente relacionada con el sistema de humidificación del biofiltro, el cual representa un aspecto susceptible de mejora, particularmente debido a la ausencia de automatización en las condiciones experimentales desarrolladas a escala de laboratorio.

Los valores de actividad enzimática obtenidos durante el periodo de operación muestran, desde una perspectiva cualitativa, una tendencia creciente hasta alcanzar un máximo entre la cuarta y quinta semana, seguido de una disminución durante las semanas sexta y séptima. No obstante, el análisis estadístico mediante una prueba de chi-cuadrado, con un nivel de confianza del 95 %, indicó que la actividad enzimática es independiente del tiempo de operación del biofiltro. En consecuencia, no existe evidencia estadística suficiente para afirmar que la expresión enzimática sea significativamente mayor durante las semanas intermedias del periodo experimental.

Por otra parte, el análisis de correlación mostró una asociación significativa entre la actividad enzimática registrada en los niveles medio e inferior de la columna, una asociación fuerte entre los niveles superior e inferior y una asociación significativa entre los niveles superior y medio. Estos resultados indican que la expresión enzimática presenta un comportamiento homogéneo a lo largo del biofiltro, sugiriendo que los cambios en la actividad en una zona determinada de la columna están relacionados con variaciones similares en las restantes zonas evaluadas. Este comportamiento evidencia una distribución relativamente uniforme de la actividad oxidativa del hongo dentro del soporte lignocelulósico.

Considerando conjuntamente los resultados de actividad enzimática y los balances de masa realizados para los compuestos odorantes, se puede inferir que las enzimas ligninolíticas expresadas por *Anthracophyllum discolor* en el biofiltro fúngico desempeñan un rol fundamental en la

degradación de indol y p-cresol. Además, la comparación entre los valores de actividad enzimática obtenidos durante la operación independiente del biofiltro fúngico y aquellos determinados cuando este operó conectado en serie con el biofiltro bacteriano permite sugerir que la presencia simultánea de amoníaco y ácido sulfhídrico en la corriente gaseosa no genera un efecto inhibitorio significativo sobre la expresión de enzimas ligninolíticas del hongo.

Estos resultados son relevantes debido a que demuestran la capacidad del sistema híbrido propuesto para tratar simultáneamente una mezcla de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos sin afectar el desempeño de las etapas individuales.

4.3 OTROS RESULTADOS.

4.3.1 Estimación de la biomasa de hongos presentes en la columna.

Se estimó la masa de hongo presente en el biofiltro de lecho fijo operando en el sistema completo; para esto se utilizó el método de peso seco modificado.

Se realizaron cinco mediciones de biomasa: la primera de ellas se realizó el sexto día desde la conexión de ambos biofiltros y luego cada siete días. La Figura 4-21 muestra los resultados de estas mediciones.

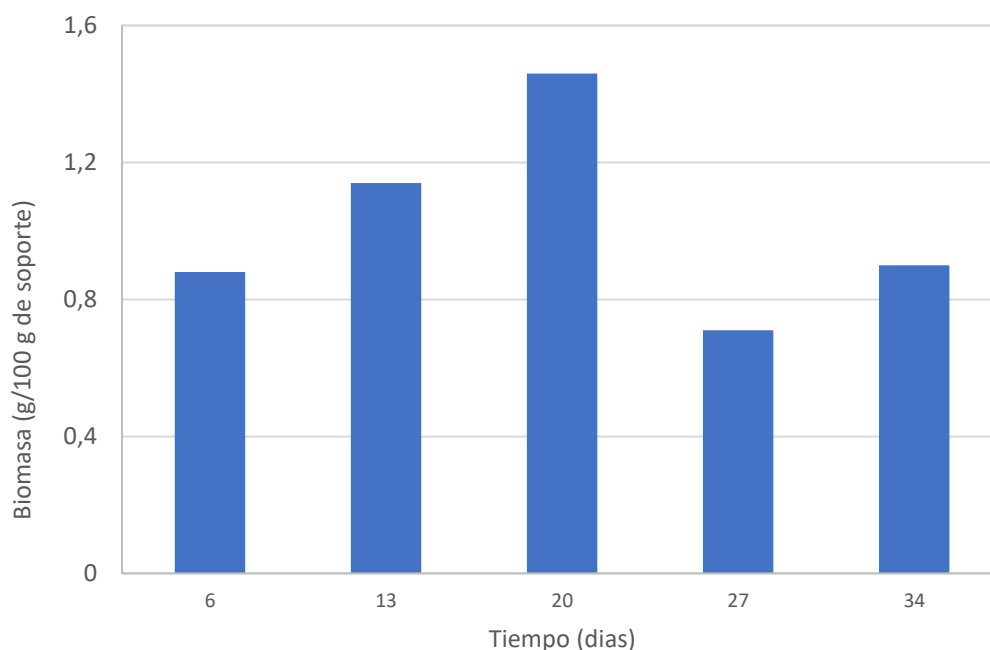


Figura 4-21. Evolución de la biomasa fúngica en la tercera etapa del estudio.

Se midió la masa en gramos de biomasa seca por cada 100 gramos de soporte húmedo, cada valor mostrado representa el promedio de los valores en las zonas superior media e inferior de la columna.

4.3.1.1 Discusión de los resultados asociados a la biomasa fúngica

Los resultados obtenidos para la estimación de biomasa fúngica muestran valores promedio entre 0,71 y 1,46 g de hongo por cada 100 g de escobajo húmedo. No se observaron diferencias significativas entre las masas de biomasa obtenidas en las zonas inferior, media y superior de la columna, lo cual es consistente con la observación visual del sistema, donde se evidenció una colonización aparentemente homogénea del soporte lignocelulósico a lo largo del biofiltro.

Una posible limitación para el desarrollo de la biomasa fúngica podría estar asociada al sistema de humidificación empleado en la columna, basado en la adición periódica de agua o medio líquido desde la zona superior del equipo. Debido a la distribución del líquido por gravedad, se esperaba una mayor disponibilidad de humedad en la zona superior y, consecuentemente, un mayor crecimiento fúngico en esta región. Sin embargo, esta condición no fue observada experimentalmente, evidenciándose una distribución relativamente uniforme de la biomasa dentro del lecho. Esto sugiere que otros factores, tales como la disponibilidad de nutrientes, la transferencia de oxígeno, la estructura porosa del soporte o la distribución del contaminante dentro de la columna, podrían tener una influencia más determinante sobre el crecimiento del hongo.

Los valores de biomasa obtenidos se encuentran dentro del rango reportado para sistemas fúngicos desarrollados sobre materiales lignocelulósicos, aunque resultan inferiores a aquellos obtenidos en procesos optimizados para producción de biomasa fúngica. En el presente estudio no se observaron diferencias significativas en la biomasa durante las cinco semanas de operación evaluadas. Si bien durante las últimas dos semanas se observó una ligera disminución respecto de los valores registrados durante la segunda y tercera semana, este comportamiento no representa una pérdida significativa de biomasa, manteniéndose el sistema en condiciones relativamente estables durante el periodo experimental.

Diversos estudios han reportado valores de biomasa fúngica expresada como relación masa de hongo por masa de soporte con una amplia variabilidad dependiendo del microorganismo, sustrato y configuración del reactor. Por ejemplo, se han informado valores de 0,56 g/100 g para *Ganoderma lucidum* creciendo sobre aserrín de haya en reactores horizontales de tanque agitado [164], mientras que valores cercanos a 10 g/100 g han sido reportados para *Hericium erinaceus* cultivado sobre sustratos basados en cereal mijo. Asimismo, en reactores horizontales con agitación periódica utilizando sustratos de aserrín se han alcanzado valores cercanos a 35 g/100 g [165].

En estudios relacionados con el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* utilizando rastrojo de maíz como soporte, se evaluó la influencia del tamaño del reactor sobre el desarrollo del hongo, obteniéndose relaciones biomasa/masa de soporte entre 0,50 y 0,53 (g/100 g), [166]. En estudios donde el hongo *Pleurotus ostreatus* se cultivó en celdas, se ha determinado que la forma de las celdas y la densidad del sustrato asociada al empaquetamiento del mismo tienen una incidencia sobre la productividad específica de biomasa en ese estudio se llegó a obtener valores de 10,1 g por cada 100 g. En este caso, el diseño del biorreactor también apunta maximizar la masa fúngica y no al tratamiento de un contaminante.

En otros estudios con *Pleurotus ostreatus*, se determinó la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del hongo utilizando rastrojo de maíz como soporte. Los resultados de relación biomasa versus masa del soporte entre 0,50 - 0,53 (g/100 g), [167].

Los estudios indican que los valores obtenidos de masa de hongo sobre masa de soporte están dentro del rango de otros estudios.

En consecuencia, los resultados obtenidos en este estudio indican que la biomasa fúngica desarrollada sobre el escobajo de uva se encuentra dentro del rango reportado para sistemas basados en crecimiento fúngico sobre materiales lignocelulósicos. Además, considerando que el objetivo del biofiltro no fue maximizar la producción de biomasa, sino favorecer la degradación de compuestos odorantes mediante la actividad metabólica del hongo, los valores obtenidos resultan adecuados para el funcionamiento del sistema propuesto.

5 CONCLUSIONES.

El hongo *Anthracoxyllum discolor* presenta una capacidad prometedora para la eliminación de compuestos odorantes aromáticos hidrofóbicos presentes en corrientes gaseosas, cuando se encuentra establecido sobre un soporte orgánico, como el escobajo de uva en un biofiltro de lecho fijo. La selección de la especie fúngica y del soporte permitió establecer las condiciones necesarias para la operación de un sistema de biofiltración capaz de tratar una mezcla compleja de contaminantes con propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas, representativa de las emisiones gaseosas asociadas al manejo de purines en sistemas industriales de crianza y engorde de cerdos. Se establecieron cargas máximas y remociones de olor que el sistema pudo tratar.

Indol y p-cresol fueron retenidos y transformados durante la operación biofiltro de lecho fijo colonizado por *A. discolor*, lo que sugiere la participación del complejo enzimático del hongo en el proceso de biodegradación.

El balance de azufre realizado en el biofiltro de escurrimiento indicó que las bacterias sulfo-oxidantes fueron capaces de transformar una fracción significativa del ácido sulfhídrico ingresado al sistema, generando sulfato como producto final de oxidación.

La comparación entre la capacidad de eliminación del sistema integrado compuesto por ambos biofiltros conectados en serie y la capacidad obtenida durante la operación independiente de cada unidad no mostró diferencias significativas en las cargas contaminantes tratadas. Este comportamiento indica que la presencia simultánea de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos en la corriente gaseosa no generó efectos inhibitorios relevantes sobre las comunidades microbianas presentes en cada etapa del tratamiento.

El sistema presenta una buena capacidad de eliminación de olor tanto para los compuestos hidrofílicos; H_2S y NH_3 , como para los compuestos hidrofóbicos indol y p-cresol.

Estos resultados confirman que una corriente gaseosa contaminada con una mezcla compleja de compuestos odorantes hidrofílicos, representados en este estudio por amoníaco y ácido sulfhídrico, e hidrofóbicos, representados por indol y p-cresol, puede ser tratada eficientemente mediante un sistema híbrido compuesto por dos biofiltros conectados en serie. Con lo anterior se valida la hipótesis planteada en este estudio y se posicionan esta configuración híbrida como una alternativa viable para el tratamiento de emisiones gaseosas complejas.

6 RECOMENDACIONES.

Se recomienda en futuros estudios, implementar un mecanismo de control automático de pH, en este estudio el control del pH manual en el medio recirculante del biofiltro percolador fue difícil de mantener y afectó negativamente el desempeño de las bacterias amonio-oxidantes.

El control de la humedad en la columna fúngica resultó difícil de mantener en valores óptimos para el crecimiento del hongo, se recomienda en futuros estudios implementar un sistema de aspersor automático que suplemente humedad en forma homogénea en el biofiltro de lecho fijo.

La capacidad demostrada por *Anthracophyllum discolor* para eliminar compuestos odorantes aromáticos hidrofóbicos presentes en corrientes gaseosas posiciona a esta especie como un microorganismo candidato para futuras investigaciones orientadas al tratamiento de otros contaminantes de estructura química similar. En particular, resulta de interés evaluar su desempeño frente a compuestos como escatol y ácidos grasos volátiles, los cuales también forman parte de las emisiones odorantes generadas en instalaciones industriales asociadas a la crianza, engorda y faenamiento de animales.

7 ANEXOS.

7.1 ANEXO A: MATERIALES Y MÉTODOS.

7.1.1 Curvas de calibrados de concentraciones de indol, fenol y p-cresol en fase líquido y gaseosa.

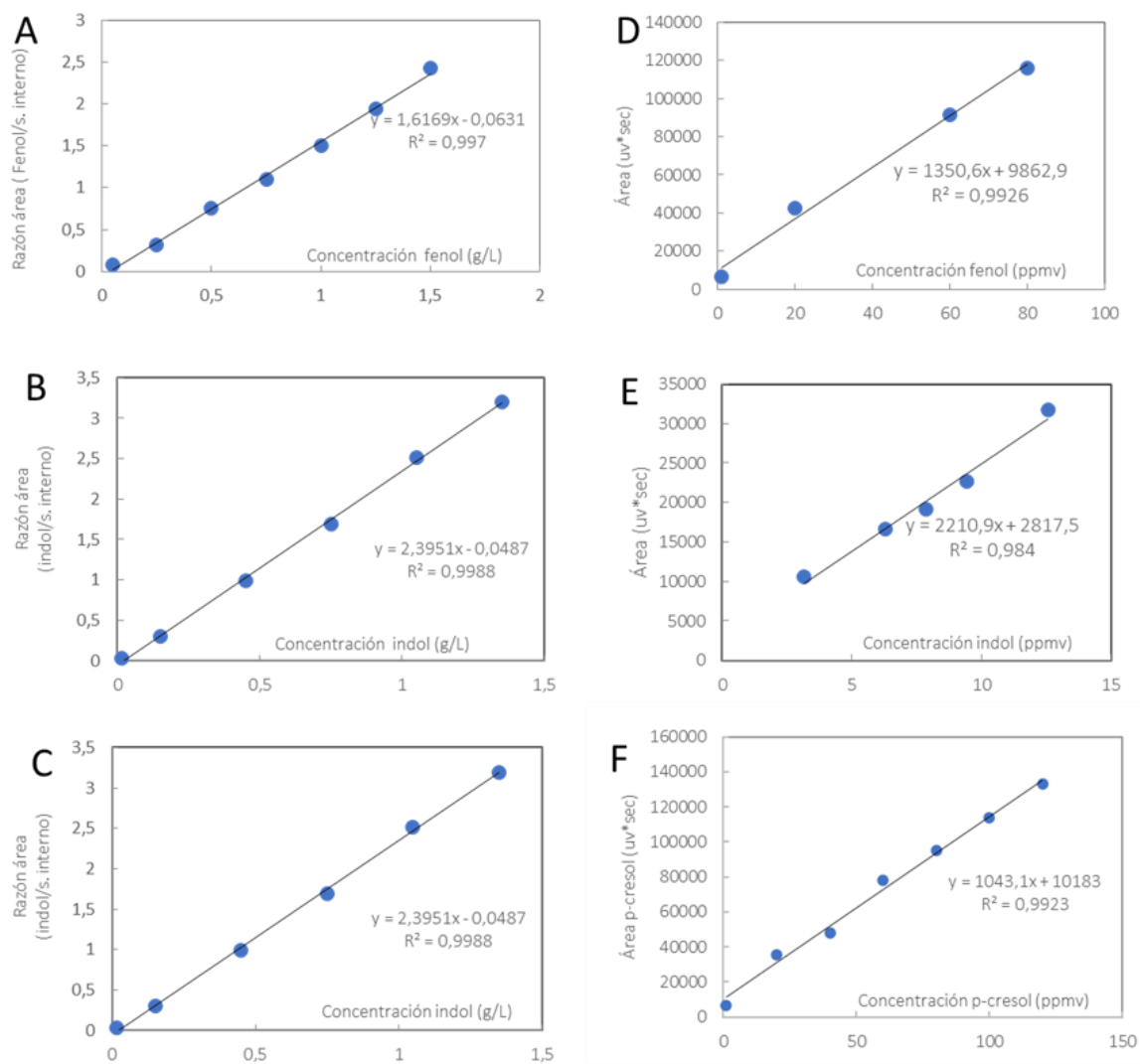


Figura 7-1. Curvas de calibrados de concentraciones de indol, fenol y para cresol en fase líquido y gaseosa. en todos se utilizó como estándar interno el compuesto 2-propanol.

7.1.2 Concentración de glucosa.

Se muestra el gráfico obtenido de absorbancia vs. concentración para la glucosa en fase líquida por el método DNS.

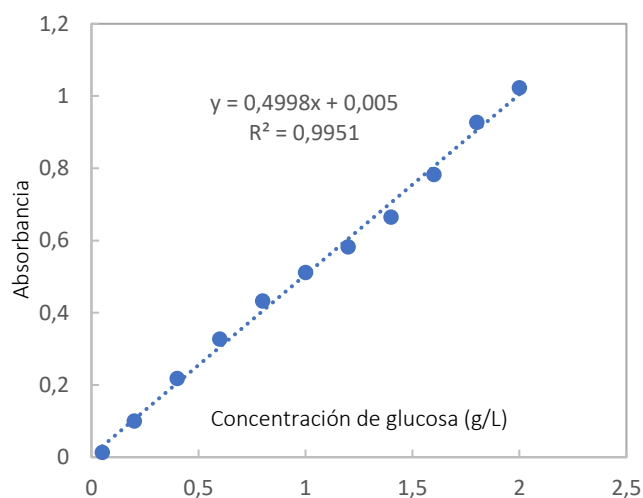


Figura 7-2. Curva de calibrado de glucosa por métodos DNS.

7.1.3 Concentración de indol y p-cresol en fase gaseosa en sistema de generación de gases.

Se muestran los gráficos de las concentraciones de indol y p-cresol en la corriente gaseosa para distintas temperaturas del baño calefactor.

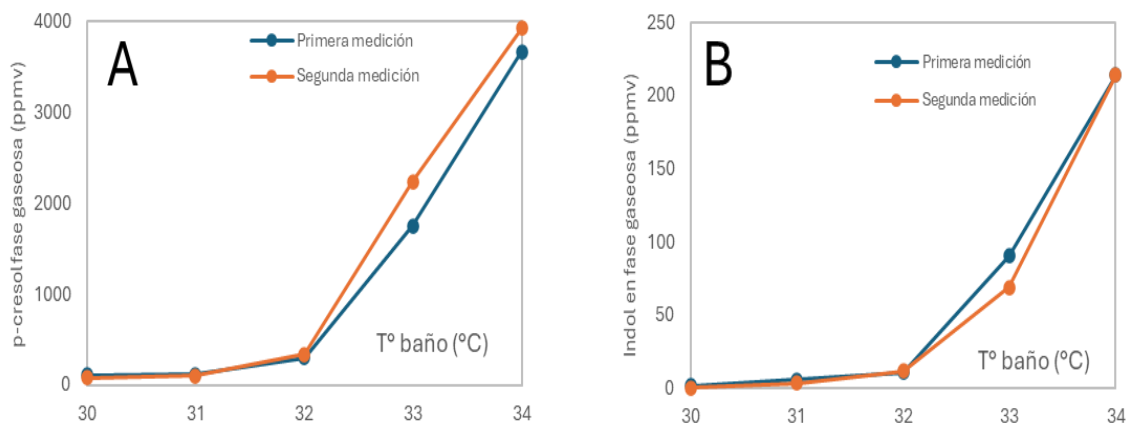


Figura 7-3. Concentraciones de indol y p-cresol en la corriente gaseosa para distintas temperaturas del baño calefactor.

Las mediciones se tomaron a la salida del sistema de generación de gases. A; para-cresol. B; Indol

7.1.4 Remoción de indol y p-cresol en la columna fúngica.

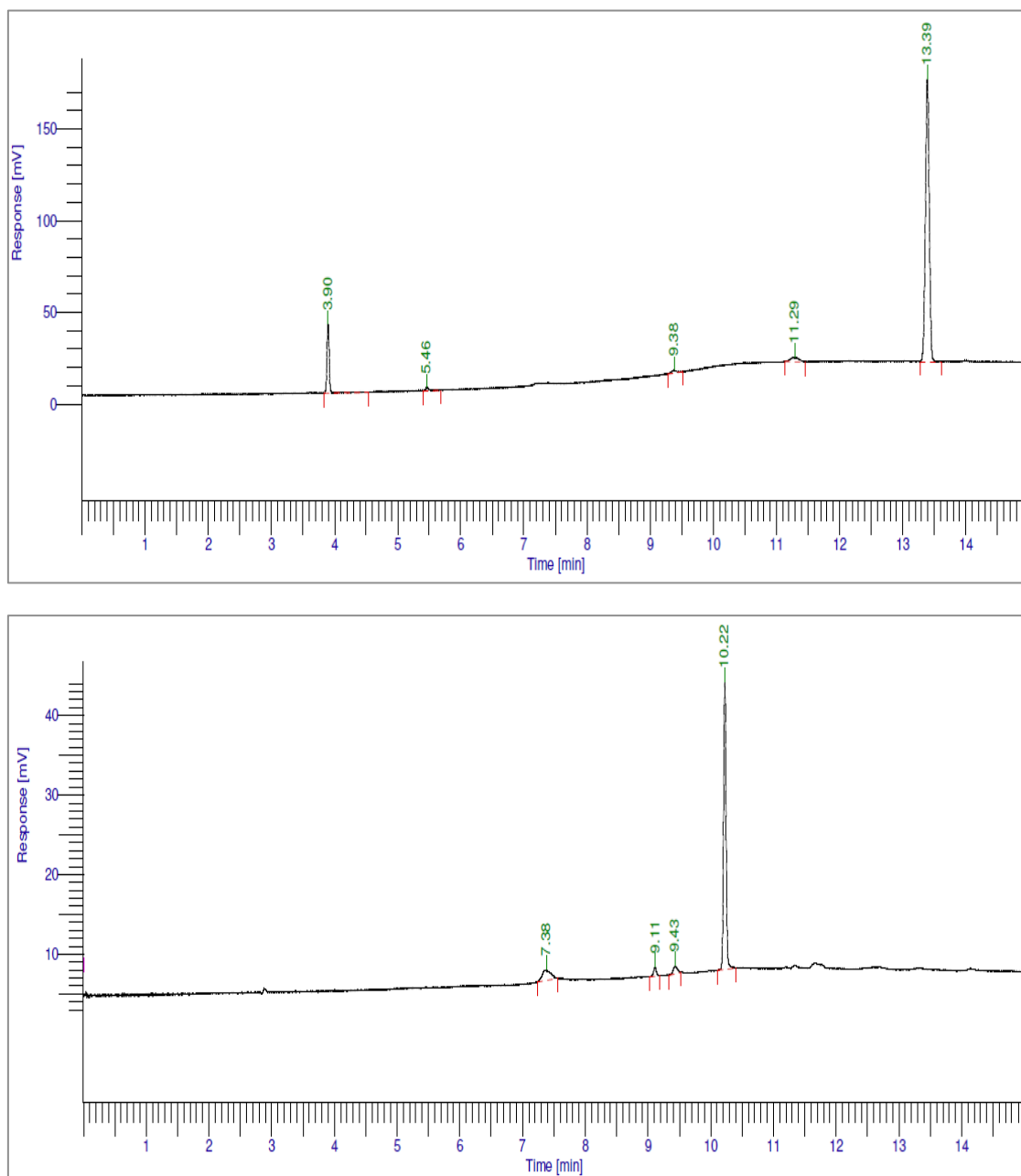


Figura 7-4. Ejemplo de cromatogramas de indol y p-cresol en fase gaseosa.
Se observa el peak de indol a los 13,5 min y el peak de p-cresol a los 10,25 minutos.

7.1.5 Equipo para la medición de amoníaco y ácido sulfhídrico.

Equipo Dräger X-am 5000, detector portátil diseñado para monitorización simultánea de hasta cinco gases, entre ellos, amoníaco y ácido sulfhídrico.



Figura 7-5. Equipo Dräger X-am 5000.

Detector portátil diseñado para monitorización simultánea de hasta cinco gases, entre ellos, amoníaco y ácido sulfhídrico.

7.1.6 Fotografía del sistema de biofiltros.



Figura 7-6. Biofiltro de lecho fijo montado en el laboratorio.

7.1.7 Cálculos para los parámetros físicos del soporte orgánico.

Para calcular los parámetros físicos del escobajo de uva utilizado como soporte de la columna de lecho fijo orgánico, se utilizaron las siguientes relaciones:

Densidad de la madera de escobajo:

$$\rho = \frac{m}{V_m}$$

Ecuación 7-1. Densidad de la madera de escobajo.

Donde:

ρ : Densidad de la madera de escobajo expresada en [g/L].

m : Masa de la muestra de escobajo expresada en [g].

V_m : Volumen de la madera de escobajo expresado en [ml].

Fracción de huecos:

$$\varepsilon = 100 \bullet \left(\frac{\rho \bullet V - m}{\rho \bullet V} \right)$$

Ecuación 7-2. Fracción de huecos del escobajo.

Donde :

ε : Fracción de huecos del material expresado en %.

V : Volumen ocupado por la muestra de escobajo expresado en [L].

ρ : Densidad de la madera de escobajo expresada en [g/L].

m : Masa de la muestra de escobajo expresada en [g].

Área específica del soporte de escobajo:

$$A_e = \frac{A_m}{V}$$

Ecuación 7-3. Área específica del escobajo.

Donde :

A_e : Área específica del soporte expresada en (mm²/mm³)

A_m : Área estimada para la muestra expresada en (mm²).

V : Volumen de la muestra expresado en (mm³).

Densidad aparente del escobajo:

$$\rho_a = \frac{m}{V}$$

Ecuación 7-4. Densidad aparente del escobajo.

Donde:

ρ_a : Densidad aparente del material expresada en [g/L].

m : Masa de la muestra de escobajo expresada en [g].

V : Volumen de la muestra de escobajo expresado en [ml].

7.1.8 Modelo para la estimación de los parámetros físicos del escobajo.

Para caracterizar el escobajo, se utilizó como modelo una rama que contenía 65 pedúnculos; cada pedúnculo se modeló como una figura geométrica, mostrada en a figura 9-7.

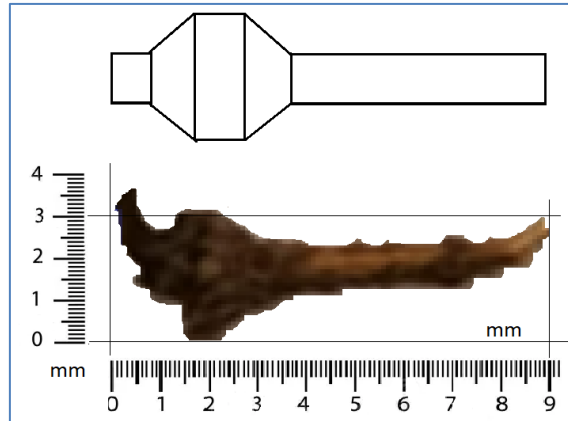


Figura 7-7. Fotografía de un pedúnculo de escobajo y su asociación con una figura geométrica simple.

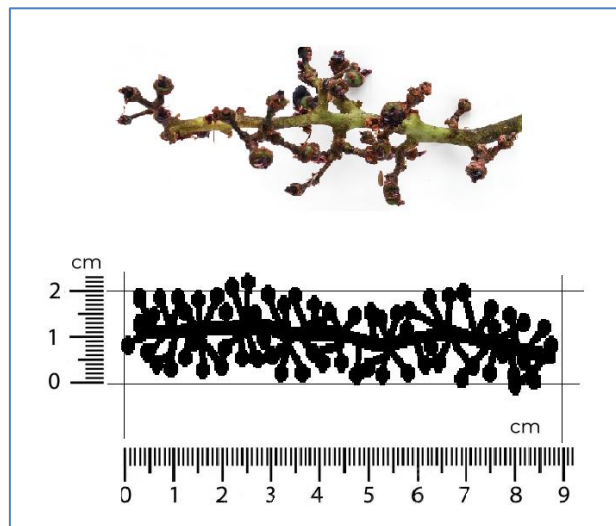


Figura 7-8. Racimo de escobajo y modelo de racimo para estimar la fracción de huecos y densidades del material.

Los cálculos asociados a la determinación del área superficial, densidad, densidad aparente y fracción de huecos se basaron en el pedúnculo modelo, en donde se consideró el área del pedúnculo como la suma de las áreas de todas las partes cilíndricas, las partes cónicas de la figura. Según este criterio, se obtuvo un área de 46 (mm²) para el pedúnculo modelo.

Área de la rama central del racimo.

La rama o estructura central que sostiene a los pedúnculos se modeló según las medidas mostradas en la Figura 7.8

Se consideró un largo del racimo de 90 (mm) y un diámetro medio de la rama central de 3 (mm). Para la determinación del área, se descontaron las 65 inserciones de pedúnculos observadas en la rama analizada, obteniendo un área de 7017 (mm²). Considerando el área de la rama central y las áreas de los 65 pedúnculos se obtiene un área superficial total de la rama de 10.007 (mm²).

Volumen de los pedúnculos, de la rama central y cálculo de la densidad de la madera de escobajo.

Considerando el volumen del cilindro central más la zona ensanchada compuesta por dos conos truncados y un cilindro de mayor diámetro, se estimó el volumen de cada pedúnculo en 18,6 (mm³), el volumen de la rama central en la que están insertos pedúnculos se estimó en 2545 (mm³). Considerando los 65 pedúnculos y la rama central, se estimó el valor del volumen total de la rama modelo en 3754 (mm³). La masa de la rama modelo fue de 2,816 (g); con estos datos se estimó la densidad de la madera de escobajo de acuerdo con la Ecuación 7-1.

Determinación del área específica del escobajo.

Se consideró que el racimo de escobajo ocupa un volumen equivalente al cilindro que lo contiene. Se consideró una altura de cilindro de 90 (mm) un diámetro de 25 (mm); se estimó el volumen del cilindro contenedor de la rama modelo en 44.180 (mm³). Con estos valores se estimó el área específica con la Ecuación 7-3.

Determinación de la fracción de huecos del material.

Con los datos de los volúmenes del material y del cilindro contenedor, se estimó la fracción huecos utilizando la Ecuación 7-2.

Determinación de la densidad aparente del escobajo.

La densidad aparente del escobajo fue calculada a partir de mediciones de la masa de un volumen relleno de escobajo de 500 (ml), en quintuplicado, en condiciones similares de empaquetamiento en las que se armaron las columnas (ver Figura 7-9), se obtuvo una densidad aparente de 39 - 41 (g/L) de escobajo, lo que implica que las columnas que contienen un volumen de relleno de 5 (L) contienen una cantidad aproximada de 200 (g) de escobajo, para el cálculo de este parámetro se utilizó la Ecuación 7-4.



Figura 7-9. Ejemplo de mediciones de masa de racimos de escobajo para determinar la densidad aparente del material.

7.2 ANEXO B: RESULTADOS.

Registro de datos de la medición de biomasa fúngica en la tercera etapa del estudio, referida a la medida en gramos de biomasa seca por cada 100 gramos de soporte húmedo. Las mediciones se realizaron cada siete días a partir del sexto día del comienzo de la tercera etapa.

Tabla 7-1. Datos de la medición de biomasa fúngica.

Referida a la figura 4.13

Primer balance

Muestra	Masa muestra (g)	Masa hongo y tween (g)	Masa tween 80(g)	Masa máxima de hongo seco (g)	Biomasa/Masa Soporte (g/100 g)
Superior	3,6	0,29	0,243	0,047	1,31
Media	2,71	0,252	0,241	0,011	0,41
Inferior	2,89	0,266	0,242	0,024	0,83
Promedio				0,027	0,85

Segundo balance

Muestra	Masa muestra (g)	Masa hongo y tween (g)	Masa tween 80(g)	Masa máxima de hongo seco (g)	Biomasa/Masa Soporte (g/100 g)
Superior	4,08	0,29	0,243	0,047	1,15
Media	2,21	0,264	0,241	0,023	1,04
Inferior	1,79	0,264	0,242	0,022	1,23
Promedio				0,031	1,14

Tercer balance

Muestra	Masa de la muestra (g)	Masa de hongo y tween (g) en vaso 1	Masa de tween 80 (g) en vaso 2	Biomasa estimada seca (g)	Biomasa/Masa Soporte (g/100g)
Superior	3,00	0,299	0,24	0,059	1,97
Media	2,04	0,258	0,24	0,018	0,88
Inferior	2,56	0,281	0,242	0,039	1,52
Promedio				0,039	1,46

Cuarto balance

Muestra	Masa de la muestra (g)	Masa de hongo y tween (g) en vaso 1	Masa de tween 80 (g) en vaso 2	Biomasa estimada seca (g)	Biomasa/Masa Soporte (g/100g)
Superior	4,68	0,314	0,24	0,074	1,58
Media	3,31	0,258	0,24	0,018	0,54
Inferior	2,56	0,242	0,242	0	0,00
Promedio				0,031	0,71

Quinto balance

Muestra	Masa de la muestra (g)	Masa de hongo y tween (g) en vaso 1	Masa de tween 80 (g) en vaso 2	Biomasa estimada seca (g)	Biomasa/Masa Soporte (g/100g)
Superior	2,12	0,266	0,24	0,026	1,23
Media	1,76	0,244	0,245	-0,001	-0,06
Inferior	1,95	0,27	0,24	0,03	1,54
Promedio				0,018	0,90

7.2.1 Concentraciones de ácido sulfhídrico y sulfatos en el biofiltro bacteriano.

Tabla 7-2. Concentraciones de amoníaco en el aire de entrada del sistema de biofiltración.

Se muestran las concentraciones de amoníaco/amonio, nitritos, nitratos en el medio recirculante medidas en el biofiltro de escurrimiento relacionadas a la figura 4.6

Fecha	NH ₃ entra (ppmv)	NH ₃ sale (ppmv)	NH ₃ diferencia (ppmv)	Nitritos medio (ppm)	Nitratos medio (ppm)	NH ₃ medio (ppm)
30-oct	10	0	10	0	1	415
02-nov	10	0	10	0	1	430
05-nov	280	0	280	0	0	505
07-oct	95	0	95	0	1,5	557
09-oct	60	0	60	0	1	595
11-oct	60	0	60	0	1	1050
13-oct	60	0	60	0	1	1416
Promedio	82,1	0	82,1	82,1	0,9	709,9
Nitrógeno capturado como NH ₃ (mol) : 0,344				Nitrógeno acumulado en el medio NH ₃ + NO ₂ + NO ₃ (mol): 0,088		

Tabla 7-3. Concentraciones de ácido sulfhídrico en la entrada y salida del sistema de biofiltración.

Biofiltro de escurrimiento en un lapso de 16 días, se muestra además los datos de las concentraciones de sulfatos en el medio recirculante, información relacionada a la Figura 4.8

Fecha	Entrada (ppmv)	Salida (ppmv)	Diferencia (ppmv)	Sulfatos en medio (ppm)
28-oct	62	5	57	970
30-oct	78	40	38	1190
04-nov	118	40	78	4650
07-nov	127	112	15	5350
09-nov	20	0	20	7020
13-nov	0	0	0	9050
Promedio	68	33	35	4705
Azufre retenido en biofiltro como ácido sulfhídrico (mol)			Azufre acumulado como sulfato en medio recirculante (mol)	
0,156			0,124	

7.2.2 Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de amoníaco en el biofiltro de escurrimiento operando como parte del sistema.

Tabla 7-4. Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de amoníaco.

Biofiltro de escurrimiento operando en serie como parte del sistema.

Temperatura	20 (°C)
PM NH3	17 (g/mol)
Flujo	5 (L/min)
Volumen	5 (L)
Octubre-2024 /Enero 2025	

Entrada NH3 (ppmv) a BFA	Salida NH3 (ppmv) a BFA	Carga Ent (g/m3h)	Cap Eliminacion	% Remocion
10,00	0,00	0,425	0,425	100,0
10,00	0,00	0,425	0,425	100,0
10,00	0,00	0,425	0,425	100,0
15,00	0,00	0,637	0,637	100,0
16,00	0,00	0,679	0,679	100,0
18,00	0,00	0,764	0,764	100,0
20,00	0,00	0,849	0,849	100,0
20,00	0,00	0,849	0,849	100,0
21,00	0,00	0,892	0,892	100,0
29,00	0,00	1,231	1,231	100,0
30,00	0,00	1,274	1,274	100,0
33,00	0,00	1,401	1,401	100,0
35,00	0,00	1,486	1,486	100,0
37,00	0,00	1,571	1,571	100,0
40,00	0,00	1,698	1,698	100,0
40,00	0,00	1,698	1,698	100,0
55,00	0,00	2,335	2,335	100,0
60,00	0,00	2,547	2,547	100,0
60,00	0,00	2,547	2,547	100,0
65,00	0,00	2,760	2,760	100,0
65,00	0,00	2,760	2,760	100,0
70,00	0,00	2,972	2,972	100,0
80,00	0,00	3,396	3,396	100,0
80,00	0,00	3,396	3,396	100,0
85,00	0,00	3,609	3,609	100,0
85,00	0,00	3,609	3,609	100,0
95,00	0,00	4,033	4,033	100,0
110,00	0,00	4,670	4,670	100,0
130,00	0,00	5,519	5,519	100,0
140,00	0,00	5,944	5,944	100,0
150,00	0,00	6,368	6,368	100,0
150,00	0,00	6,368	6,368	100,0
165,00	2,00	7,005	6,920	98,8
172,00	10,00	7,302	6,878	94,2
180,00	2,00	7,642	7,557	98,9
190,00	25,00	8,066	7,005	86,8
230,00	60,00	9,764	7,217	73,9

7.2.3 Capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de ácido sulfhídrico en el biofiltro de escurrimiento operando como parte del sistema.

Tabla 7-5. Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de ácido sulfhídrico.

Biofiltro de escurrimiento operando en serie como parte del sistema.

Temperatura	20 (°C)
PM H ₂ S	34 (g/mol)
Flujo	5 (L/min)
Volumen	5 (L)
Octubre 2024-Enero-2025	

Entrada H ₂ S (ppmv) a BFA	Salida H ₂ S (ppmv) BFA	Carga (g/m ³ /h)	Eliminación(g/m ³)	% Remoción
2	0	0,17	0,17	100,00
4	0	0,34	0,34	100,00
6	0	0,51	0,51	100,00
8	0	0,68	0,68	100,00
10	0	0,85	0,85	100,00
11	0	0,93	0,93	100,00
12	0	1,02	1,02	100,00
13	0	1,10	1,10	100,00
15	0	1,27	1,27	100,00
16	0	1,36	1,36	100,00
17	0	1,44	1,44	100,00
19	0	1,61	1,61	100,00
21	0	1,78	1,78	100,00
22	0	1,87	1,87	100,00
23	0	1,95	1,95	100,00
24	0	2,04	2,04	100,00
26	0	2,21	2,21	100,00
28	0	2,38	2,38	100,00
29	0	2,46	2,46	100,00
34	0	2,89	2,89	100,00
35	0	2,97	2,97	100,00
37	0	3,14	3,14	100,00
39	0	3,31	3,31	100,00
44	0	3,74	3,74	100,00
45	0	3,82	3,82	100,00
46	0	3,91	3,91	100,00
47	0	3,99	3,99	100,00
57	0	4,84	4,84	100,00
62	0	5,26	5,26	100,00
73	2	6,20	6,03	97,26
88	8	7,47	6,79	90,91
101	11	8,58	7,64	89,11
121	30	10,27	7,73	75,21
133	35	11,29	8,32	73,68
145	45	12,31	8,49	68,97
178	99	15,11	6,71	44,38
192	85	16,30	9,09	55,73

7.2.4 Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de p-cresol en el biofiltro fúngico operando como parte del sistema completo.

Tabla 7-6. Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de p-cresol.
Biofiltro de lecho fijo operando en conexión en serie como parte del sistema.

Para-cresol sistema completo		
Entra (g/m3h)	Elimina(g/m3h)	%Remocion
0,20	0,20	100
0,35	0,35	100
0,35	0,35	100
1,15	1,15	100
2,27	2,27	100
3,12	3,12	100
5,30	5,30	100
5,70	5,70	100
5,90	5,90	100
6,23	6,23	100
7,85	7,85	100
4,88	4,88	100
4,90	4,90	100
5,20	5,20	100
5,30	5,30	100
5,70	5,70	100
5,90	5,90	100
6,23	6,23	100
10,19	10,19	100
11,66	11,66	100
12,91	12,91	100
13,00	13,00	100
20,35	20,35	100
27,04	27,00	100
34,61	31,12	90
38,91	37,40	96
49,43	35,00	71
54,29	42,86	79
62,00	41,00	66
72,00	48,00	67
83,00	48,00	58
86,40	74,05	86
96,72	84,33	87
101,55	64,48	64

7.2.5 Datos de capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de indol en el biofiltro fúngico operando como parte del sistema completo.

Tabla 7-7. Capacidad de eliminación y eficiencia de remoción de indol.

Biofiltro fúngico operando en serie como parte del sistema.

Indol sistema completo

Entra(g/m3h)	Elimina(g/m3h)	%Remocion
0,00	0,00	100,00
0,37	0,37	100,00
0,55	0,55	100,00
0,65	0,65	100,00
0,86	0,86	100,00
1,00	1,00	100,00
1,01	1,01	100,00
1,34	1,34	100,00
1,41	1,41	100,00
2,01	2,01	100,00
2,67	2,67	100,00
3,33	3,33	100,00
4,56	4,56	100,00
5,98	5,98	100,00
6,06	6,06	100,00
6,09	6,09	100,00
7,21	7,21	100,00
7,39	7,39	100,00
7,77	7,77	100,00
8,07	8,07	100,00
9,28	9,28	100,00
9,56	9,56	100,00
10,76	10,29	95,61
12,02	10,40	86,52
12,78	11,89	93,04
13,80	12,50	90,58
14,91	11,50	77,13
15,10	13,00	86,09
15,60	12,00	76,93
17,26	16,29	94,33
20,58	16,20	78,72

7.2.6 Actividad enzimática con el biofiltro operando independientemente.

Tabla 7-8. Datos de actividades por zona del biofiltro de lecho fijo operando independientemente.

A	Zona	Lacasa (u/L)	MnP (u/L)	VP (u/L)
	Superior	24,8	0,6	5,2
	Media	21,8	1,2	5,4
	Inferior	3,4	1,0	13,1

B	Zona	Lacasa (u/L)	MnP (u/L)	VP (u/L)
	Superior	61,3	0,6	7,3
	Media	2,6	1,2	31,0
	Inferior	25,9	2,0	12,1

C	Zona	Lacasa (u/L)	MnP (u/L)	VP (u/L)
	Superior	14,3	1,0	7,3
	Media	6,3	1,2	7,4
	Inferior	6,0	0,4	13,5

7.2.7 Análisis estadístico para las mediciones de actividades enzimáticas para el biofiltro fúngico operando en serie con el biofiltro bacteriano.

Lacasa				Test de Independencia :			
Nivel de Medición				H0: El tiempo, es independiente del nivel de medición			
Tiempo	Arriba	Medio	Abajo	Total			
1 Primera	0,043	0,043	0,086	0,171	0,02584127	0,06808349	0,07731525
2 Segunda	0,470	0,042	0,200	0,712	0,10744559	0,2830848	0,32146961
3 Tercera	0,256	0,256	0,171	0,683	0,10306929	0,27155466	0,30837604
4 Cuarta	0,043	0,769	0,128	0,940	0,14191872	0,37391049	0,42461078
5 Quinta	0,214	1,282	1,752	3,248	0,49020541	1,29153465	1,46665994
6 Sexta	0,214	0,043	0,641	0,897	0,13540861	0,35675842	0,40513298
7 Septima	0,042	0,940	0,855	1,838	0,27729111	0,73057349	0,8296354
Total	1,281	3,376	3,833	8,490	1,281	3,376	3,833

RC = { $X^2 > X^2_{(0,95, 12)}$ }		
0,99188657	<	21,0261

MnP				Test de Independencia :			
Nivel de Medición				H0: El tiempo, es independiente del nivel de medición			
Tiempo	Arriba	Medio	Abajo	Total			
1 Primera	0,043	0,510	0,214	0,767	0,17397047	0,39356436	0,19946517
2 Segunda	0,342	0,042	0,086	0,470	0,10660511	0,24116721	0,12222768
3 Tercera	0,385	3,248	0,214	3,847	0,87257418	1,97397924	1,00044658
4 Cuarta	0,086	6,497	1,881	8,464	1,91968588	4,34280564	2,20100848
5 Quinta	3,550	2,780	1,880	8,210	1,86218717	4,21272928	2,13508355
6 Sexta	2,009	2,179	2,990	7,178	1,62810956	3,68318767	1,86670276
7 Septima	0,556	0,513	0,727	1,796	0,40736762	0,9215666	0,46706578
Total	6,971	15,769	7,992	30,732	6,971	15,769	7,992

RC = { $X^2 > X^2_{(0,95, 12)}$ }		
0,68433573	<	21,0261

MniP				Test de Independencia :			
Nivel de Medición				H0: El tiempo, es independiente del nivel de medición			
Tiempo	Arriba	Medio	Abajo	Total			
1 Primera	0,043	0,043	0,171	0,257	0,01033492	0,21255056	0,03411452
2 Segunda	0,043	0,085	0,257	0,385	0,01548228	0,31841232	0,05110541
3 Tercera	0,342	5,984	0,043	6,369	0,25612107	5,26744947	0,84542946
4 Cuarta	0,043	1,881	0,171	2,095	0,08424771	1,73265923	0,27809306
5 Quinta	0,043	0,427	0,257	0,727	0,02923134	0,601179	0,09648966
6 Sexta	0,000	2,992	0,812	3,804	0,15297695	3,1461618	0,50496125
7 Septima	0,043	0,043	0,128	0,214	0,00860573	0,17698763	0,02840664
Total	0,557	11,455	1,839	13,851	0,557	11,455	1,839

RC = { $X^2 > X^2_{(0,95, 12)}$ }		
0,98238986	<	21,0261

Conclusión: En todos los casos se concluye que no existe efecto del tiempo en el nivel de medición, con un 95% de confianza

Correlación (Pearson)

Lacasa

Nivel de Medición

Tiempo	Arriba	Medio	Abajo
Primera	0,043	0,043	0,086
Segunda	0,470	0,042	0,200
Tercera	0,256	0,256	0,171
Cuarta	0,043	0,769	0,128
Quinta	0,214	1,282	1,752
Sexta	0,214	0,043	0,641
Septima	0,042	0,940	0,855
Total	1,281	3,376	3,833

Matriz de correlación

	Arriba	Medio	Bajo
Arriba	1		
Medio	-0,3627	1	
Bajo	-0,0122	0,7452	1

Obs: Existe una asociación significativa, de un **74.52%** en los comportamientos de los nivel **Medio y Bajo**.

MnP

Nivel de Medición

Tiempo	Arriba	Medio	Abajo
Primera	0,043	0,510	0,214
Segunda	0,342	0,042	0,086
Tercera	0,385	3,248	0,214
Cuarta	0,086	6,497	1,881
Quinta	3,550	2,780	1,880
Sexta	2,009	2,179	2,990
Septima	0,556	0,513	0,727
Total	6,971	15,769	7,992

Matriz de correlación

	Arriba	Medio	Bajo
Arriba	1		
Medio	0,0381	1	
Bajo	0,6153	0,4736	1

Obs: Existe una asociación fuerte de un **61.53%** en los comportamientos de los nivel Arriba y Bajo.

MnP

Nivel de Medición

Tiempo	Arriba	Medio	Abajo
Primera	0,043	0,043	0,171
Segunda	0,043	0,085	0,257
Tercera	0,342	5,984	0,043
Cuarta	0,043	1,881	0,171
Quinta	0,043	0,427	0,257
Sexta	0,000	2,992	0,812
Septima	0,043	0,043	0,128
Total	0,557	11,455	1,839

Matriz de correlación

	Arriba	Medio	Bajo
Arriba	1		
Medio	0,7956	1	
Bajo	-0,5029	0,0426	1

Obs: Existe una asociación significativa de un **79.56%** en los comportamientos de los nivel **Arriba y Medio**.

La **Correlación**, nos indica el grado de asociación entre las variable, en este caso, los **Niveles**, medidas en el **Tiempo**, por semana.

Conclusión: La asociación más significativa, se puede ver, En los niveles;
Medio-Bajo 74.52% *
Arriba-Bajo 61.53%
Arriba-Medio 79.56% *

*): Significativa

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- [1] D. H. O'Neill y ; V R Phillips, "A Review of the Control of Odour Nuisance from Livestock Buildings: Part 3, Properties of the Odorous Substances which have been Identified in Livestock Wastes or in the Air around them", 1992.
- [2] A. Haya S y I. R, "A Review on Pollution Emissions and Impact from Waste Treatment and Disposal Facilities", *J. Environ. Toxicol. Stud.*, vol. 2, n° 1, 2018, doi: 10.16966/2576-6430.114.
- [3] L. D. Jacobson, J. R. Bicudo, D. R. Schmidt, S. Wood-gay, R. S. Gates, y S. J. Hoff, "AIR EMISSIONS FROM ANIMAL PRODUCTION BUILDINGS", 2003.
- [4] B. Anet *et al.*, "Characterization of gaseous odorous emissions from a rendering plant by GC/MS and treatment by biofiltration", *J. Environ. Manage.*, vol. 128, pp. 981–987, oct. 2013, doi: 10.1016/j.jenvman.2013.06.028.
- [5] J. Luo y M. P. Agnew, "Gas characteristics before and after biofiltration treating odorous emissions from animal rendering processes", *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 22, n° 9, pp. 1091–1103, sep. 2001, doi: 10.1080/09593332208618220.
- [6] S. Deshmukh, A. Jana, N. Bhattacharyya, R. Bandyopadhyay, y R. A. Pandey, "Quantitative determination of pulp and paper industry emissions and associated odor intensity in methyl mercaptan equivalent using electronic nose", *Atmos. Environ.*, vol. 82, pp. 401–409, 2014, doi: 10.1016/j.atmosenv.2013.10.041.
- [7] H. Cheng, J. Wang, y J. Xie, "Progress on odor deterioration of aquatic products: Characteristic volatile compounds, analysis methods, and formation mechanisms", 1 de junio de 2023, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.fbio.2023.102666.
- [8] S. S. Schiffman, J. L. Bennett, y J. H. Raymer, "Quantification of odors and odorants from swine operations in North Carolina", 2001.
- [9] D. LA Ministerio de Medio Ambiente Republica De Chile, "DIARIO OFICIAL I SECCIÓN LEYES, REGLAMENTOS, DECRETOS Y RESOLUCIONES DE ORDEN GENERAL Normas Generales". [En línea]. Disponible en: www.diariooficial.cl
- [10] Daniela Acuña y Maria Jose Pizarro, "La Industria Porcina Oportunidades y Desafíos. ODEPA", abr. 2019.
- [11] N. Barrientos Oradini, M. Fernanda Juppert Ewing, C. Aparicio Puentes, y L. Araya-Castillo, "El Caso Freirina: Un análisis desde la perspectiva de la empresa extendida y la Responsabilidad Social", *Año*, vol. 35, pp. 1065–1096, 2019.
- [12] J. Q. Ni, D. Kaelin, I. M. Lopes, S. Liu, C. A. Diehl, y C. Zong, "Design and performance of a direct and continuous ventilation measurement system for variable-speed pit fans in a pig building", *Biosyst. Eng.*, vol. 147, pp. 151–161, jul. 2016, doi: 10.1016/j.biosystemseng.2016.04.011.
- [13] L. D. Jacobson, J. R. Bicudo, D. R. Schmidt, S. Wood-gay, R. S. Gates, y S. J. Hoff, "AIR EMISSIONS FROM ANIMAL PRODUCTION BUILDINGS", 2003.
- [14] S. F. Spoelstra, "ORIGIN OF OBJECTIONABLE ODOROUS COMPONENTS IN PIGGERY WASTES AND THE POSSIBILITY OF APPLYING INDICATOR COMPONENTS FOR STUDYING ODOUR DEVELOPMENT", 1980.

- [15] A. A. Chan, "Biofiltration of Odorous Gas Emissions".
- [16] B. Ren, Y. Zhao, N. Lyczko, y A. Nzihou, "Current Status and Outlook of Odor Removal Technologies in Wastewater Treatment Plant", 1 de junio de 2019, *Springer Netherlands*. doi: 10.1007/s12649-018-0384-9.
- [17] C. Sun *et al.*, "Characteristics, secondary transformation and odor activity evaluation of VOCs emitted from municipal solid waste incineration power plant", *J. Environ. Manage.*, vol. 326, ene. 2023, doi: 10.1016/j.jenvman.2022.116703.
- [18] R. Cudmore y P. Gostomski, "1 Biofilter Design and Operation for Odor Control-The New Zealand Experience".
- [19] K. Barbusinski, K. Kalembe, D. Kasperczyk, K. Urbaniec, y V. Kozik, "Biological methods for odor treatment – A review", 20 de mayo de 2017, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.jclepro.2017.03.093.
- [20] A. Philip Van Harreveld, "A statistical perspective on biofilter performance in relation to the main process parameters and characteristics of untreated flows", 2007.
- [21] R. W. Melse y J. M. G. Hol, "Biofiltration of exhaust air from animal houses: Evaluation of removal efficiencies and practical experiences with biobeds at three field sites", *Biosyst. Eng.*, vol. 159, pp. 59–69, jul. 2017, doi: 10.1016/j.biosystemseng.2017.04.007.
- [22] M. A. Deshusses y D. Gabriel, "7 Biotrickling Filter Technology".
- [23] L. A. Robertson y J. G. Kuenen, "The Genus *Thiobacillus*", en *The Prokaryotes*, Springer New York, 2006, pp. 812–827. doi: 10.1007/0-387-30745-1_37.
- [24] Y.-C. Chung, C. Huang, C.-P. Tseng, y J. Rushing Pan, "Biotreatment of H₂S-and NH₃-containing waste gases by co-immobilized cells bio@lter".
- [25] M. Ferdowsi, A. Avalos Ramirez, J. P. Jones, y M. Heitz, "Elimination of mass transfer and kinetic limited organic pollutants in biofilters: A review", *Int. Biodeterior. Biodegradation*, vol. 119, pp. 336–348, abr. 2017, doi: 10.1016/j.ibiod.2016.10.015.
- [26] R. Muñoz, S. Villaverde, B. Guieysse, y S. Revah, "Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds", julio de 2007. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.03.005.
- [27] A. Vergara-Fernández, S. Hernández, y S. Revah, "Elimination of hydrophobic volatile organic compounds in fungal biofilters: Reducing start-up time using different carbon sources", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 108, n° 4, pp. 758–765, abr. 2011, doi: 10.1002/bit.23003.
- [28] Y. Jin, M. C. Veiga, y C. Kennes, "Performance optimization of the fungal biodegradation of α -pinene in gas-phase biofilter", *Process Biochemistry*, vol. 41, n° 8, pp. 1722–1728, ago. 2006, doi: 10.1016/j.procbio.2006.03.020.
- [29] A. Vergara-Fernández, S. Hernández, y S. Revah, "Phenomenological model of fungal biofilters for the abatement of hydrophobic VOCs", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 101, n° 6, pp. 1182–1192, dic. 2008, doi: 10.1002/bit.21989.
- [30] J. Bayry, V. Aimanianda, J. I. Guijarro, M. Sunde, y J. P. Latgé, "Hydrophobins-unique fungal proteins", *PLoS Pathog.*, vol. 8, n° 5, may 2012, doi: 10.1371/journal.ppat.1002700.
- [31] H. A. B. Wösten y K. Scholtmeijer, "Applications of hydrophobins: current state and perspectives", 1 de febrero de 2015, *Springer Verlag*. doi: 10.1007/s00253-014-6319-x.
- [32] Ł. P. Tymiński, Z. Znajewska, y G. B. Dąbrowska, "CHARACTERISTICS AND FUNCTIONS OF HYDROPHOBINS AND THEIR USE IN MANIFOLD INDUSTRIES", *Postępy Mikrobiologii* -

- Advancements of Microbiology*, vol. 57, n° 4, pp. 374–384, ene. 2018, doi: 10.21307/pm-2018.57.4.374.
- [33] J. C. Quintero D, G. C. Feijoo, y J. M. Lema R, “PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS CON HONGOS BASIDIOMICETOS CULTIVADOS SOBRE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS PRODUCTION OF LIGNINOLYTIC ENZYMES FROM BASIDIOMYCETE FUNGI ON LIGNOCELLULOSIC MATERIALS”.
- [34] T. Manavalan, A. Manavalan, y K. Heese, “Characterization of Lignocellulolytic Enzymes from White-Rot Fungi”, *Curr. Microbiol.*, vol. 70, n° 4, pp. 485–498, feb. 2015, doi: 10.1007/s00284-014-0743-0.
- [35] L. Pollegioni, F. Tonin, y E. Rosini, “Lignin-degrading enzymes”, 1 de abril de 2015, *Blackwell Publishing Ltd*. doi: 10.1111/febs.13224.
- [36] B. Bertrand *et al.*, “Pleurotus ostreatus laccase recovery from residual compost using aqueous two-phase systems”, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 91, n° 8, pp. 2235–2242, ago. 2016, doi: 10.1002/jctb.4995.
- [37] N. T. Dittmer *et al.*, “Characterization of cDNAs encoding putative laccase-like multicopper oxidases and developmental expression in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, and the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*”, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, vol. 34, n° 1, pp. 29–41, 2004, doi: 10.1016/j.ibmb.2003.08.003.
- [38] H. Claus, “Laccases and their occurrence in prokaryotes”, 1 de marzo de 2003, *Springer Verlag*. doi: 10.1007/s00203-002-0510-7.
- [39] P. Baldrian, “Fungal laccases-occurrence and properties”, marzo de 2006. doi: 10.1111/j.1574-4976.2005.00010.x.
- [40] K. Mayolo-Deloya, M. González-González, y M. Rito-Palomares, “Laccases in Food Industry: Bioprocessing, Potential Industrial and Biotechnological Applications”, 24 de marzo de 2020, *Frontiers Media S.A.* doi: 10.3389/fbioe.2020.00222.
- [41] K. Alma, N. Blanca, y P. Maritza, “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LACASAS Y LIGNINA PEROXIDASAS DE HONGOS DEGRADADORES DE COLORANTES SELECCIONADOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA TEXTIL”.
- [42] M. Hofrichter, “Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP)”, 2002. [En línea]. Disponible en: www.elsevier.com/locate/enzymictec
- [43] J. Melendez, S. Castillo, Y. Peña, y T. Yépez, “DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EFLUENTES SIMULADOS POR ACCIÓN DE LA ENZIMA LACASA OBTENIDA A PARTIR DEL HONGO *Pleurotus Ostreatus* (Degradation of Phenolic compounds in simulated effluents by action of the enzyme laccase obtained from fungus *Pleurotus ostreatus*)”.
- [44] M. Carabajal, M. Perullini, M. Jobbágy, R. Ullrich, M. Hofrichter, y L. Levin, “Removal of Phenol by Immobilization of *Trametes versicolor* in Silica-Alginate-Fungus Biocomposites and Loofa Sponge”, *Clean (Weinh.)*, vol. 44, n° 2, pp. 180–188, feb. 2016, doi: 10.1002/clen.201400366.
- [45] K. H. Jones, P. W. Trudgill, y D. J. Hopper, “Metabolism of p-Cresol by the Fungus *Aspergillus fumigatus*”, 1993. [En línea]. Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/aem>

- [46] E. Veignie, C. Rafin, P. Woisel, y F. Cazier, "Preliminary evidence of the role of hydrogen peroxide in the degradation of benzo[a]pyrene by a non-white rot fungus *Fusarium solani*", *Environmental Pollution*, vol. 129, n° 1, pp. 1–4, 2004, doi: 10.1016/j.envpol.2003.11.007.
- [47] A. Vergara-Fernández *et al.*, "Biofiltration of benzo[A]pyrene, toluene and formaldehyde in air by a consortium of *Rhodococcus erythropolis* and *Fusarium solani*: Effect of inlet loads, gas flow and temperature", *Chemical Engineering Journal*, vol. 332, pp. 702–710, ene. 2018, doi: 10.1016/j.cej.2017.09.095.
- [48] A. Vergara-Fernández, B. Van Haaren, y S. Revah, "Phase partition of gaseous hexane and surface hydrophobicity of *Fusarium solani* when grown in liquid and solid media with hexanol and hexane", *Biotechnol. Lett.*, vol. 28, n° 24, pp. 2011–2017, 2006, doi: 10.1007/s10529-006-9186-4.
- [49] V. Benavides, F. Pinto-Ibieta, A. Serrano, O. Rubilar, y G. Ciudad, "Use of *Anthracophyllum Discolor* and *Stereum Hirsutum* as a Suitable Strategy for Delignification and Phenolic Removal of Olive Mill Solid Waste", *Foods*, vol. 11, n° 11, jun. 2022, doi: 10.3390/foods11111587.
- [50] L. Bosso, F. Lacatena, G. Cristinzio, M. Cea, M. C. Diez, y O. Rubilar, "Biosorption of pentachlorophenol by *Anthracophyllum discolor* in the form of live fungal pellets", *N. Biotechnol.*, vol. 32, n° 1, pp. 21–25, 2015, doi: 10.1016/j.nbt.2014.08.001.
- [51] O. Rubilar, G. R. Tortella, R. Cuevas, M. Cea, S. Rodríguez-Couto, y M. Cristina Diez, "Adsorptive removal of pentachlorophenol by *Anthracophyllum discolor* in a fixed-bed column reactor", *Water Air Soil Pollut.*, vol. 223, n° 5, pp. 2463–2472, jun. 2012, doi: 10.1007/s11270-011-1039-7.
- [52] F. Acevedo *et al.*, "Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by free and nanoclay-immobilized manganese peroxidase from *Anthracophyllum discolor*", *Chemosphere*, vol. 80, n° 3, pp. 271–278, 2010, doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.04.022.
- [53] W. Murguía, "Contaminación por olores: el nuevo reto ambiental".
- [54] D. en Enfermería, P. Adjunto, A. de Miranda Wosny, A. Lorenzini Erdmann, P. Belli Filho, y J. Luzia Leite, "Online ESTÉTICA DE LOS OLORES: EL SENTIDO DEL OLFATO Y LA ENFERMERÍA THE AESTHETICS OF SMELLS: THE SENSE OF SMELL AND NURSING ESTÉTICA DOS ODORES: O SENTIDO DO OLFATO E A ENFERMAGEM". [En línea]. Disponible en: www.eerp.usp.br/rlae
- [55] Union Europea, "Directiva sobre las emisiones industriales (prevención y control integrados de la contaminación)", Luxemburgo, nov. 2010.
- [56] J. M. Ramos Rincón, A. Bermudez, y T. Rojas, "Contaminación odorífera: causas, efectos y posibles soluciones a una contaminación invisible.", *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, vol. 9, n° 1, pp. 165–180, feb. 2018, doi: 10.22490/21456453.2053.
- [57] M. Romero Placeres, L. Francisca Diego Olite, y D. Mireya Álvarez Toste, "Revisión bibliográfica La contaminación del aire: su repercusión como problema de salud", 2006.
- [58] S. M. Hartinger *et al.*, "The 2022 South America report of The Lancet Countdown on health and climate change: trust the science. Now that we know, we must act", 1 de abril de 2023, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.lana.2023.100470.
- [59] ECOTEC, "Antecedentes para la Regulacion de Olores en Chile Resumen Ejecutivo", Santiago, ago. 2010.

- [60] Subsecretaria de Medio Ambiente, "Antecedentes para la regulación de olores en Chile, ECOTEC", Santiago, ago. 2013.
- [61] Silva Ortiz Dolores, "Elaboración de Harina de Pescado", 2003.
- [62] Alfonso Valenzuela, Julio Sanhueza, y Fernando de la Barra, "EL ACEITE DE PESCADO: AYER UN DESECHO INDUSTRIAL, HOY UN PRODUCTO DE ALTO VALOR NUTRICIONAL ARTÍCULOS DE ACTUALIZACIÓN", 2012.
- [63] M. Carolina y B. Curihuentro, "UNIVERSIDAD DE CHILE FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE AGRONOMÍA MEMORIA DE TÍTULO APLICACIÓN DEL MODELO ISC-AERMOD PARA LA ESTIMACIÓN DE DISPERSIÓN DE OLORES. CASO ESTUDIO: PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS LA FARFANA", 2010.
- [64] J. Marrero y R. Gani, "Group-contribution-based estimation of octanol/water partition coefficient and aqueous solubility", *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 41, n° 25, pp. 6623–6633, dic. 2002, doi: 10.1021/ie0205290.
- [65] D. Almarcha, M. Almarcha, S. Nadal, y A. Poulssen, "Assessment of odour and VOC depuration efficiency of advanced biofilters in rendering, sludge composting and waste water treatment plants", *Chem. Eng. Trans.*, vol. 40, n° Special Issue, pp. 223–228, 2014, doi: 10.3303/CET1440038.
- [66] L. Tymczyna, A. Chmielowiec-Korzeniowska, Z. Paluszak, M. Dobrowolska, M. Banach, y J. Pulit, "The use of oak chips and coconut fiber as biofilter media to remove vocs in rendering process*", 2013. [En línea]. Disponible en: www.actabp.pl
- [67] K. Sucker, R. Both, M. Bischoff, R. Guski, y G. Winneke, "Odor frequency and odor annoyance. Part I: Assessment of frequency, intensity and hedonic tone of environmental odors in the field", *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, vol. 81, n° 6, pp. 671–682, may 2008, doi: 10.1007/s00420-007-0259-z.
- [68] K. Sucker, R. Both, M. Bischoff, R. Guski, U. Krämer, y G. Winneke, "Odor frequency and odor annoyance Part II: Dose - Response associations and their modification by hedonic tone", *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, vol. 81, n° 6, pp. 683–694, may 2008, doi: 10.1007/s00420-007-0262-4.
- [69] C. A. Rincón *et al.*, "Odor concentration (OC) prediction based on odor activity values (OAVs) during composting of solid wastes and digestates", *Atmos. Environ.*, vol. 201, pp. 1–12, mar. 2019, doi: 10.1016/j.atmosenv.2018.12.030.
- [70] S. Salvador, J. M. Commandré, y Y. Kara, "Thermal recuperative incineration of VOCs: CFD modelling and experimental validation", *Appl. Therm. Eng.*, vol. 26, n° 17–18, pp. 2355–2366, dic. 2006, doi: 10.1016/j.applthermaleng.2006.02.018.
- [71] B. A. Tichenor y M. A. Palazzolo, "Destruction of Volatile Organic Compounds via Catalytic Incineration".
- [72] D. R. V. Der Vaart, W. M. Vatvuk, y A. H. Wehe, "Thermal and Catalytic Incinerators for the Control of VOCs", *J. Air Waste Manage. Assoc.*, vol. 41, n° 1, pp. 92–98, 1991, doi: 10.1080/10473289.1991.10466828.
- [73] Y. S. Chen y H. S. Liu, "Absorption of VOCs in a rotating packed bed", *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 41, n° 6, pp. 1583–1588, mar. 2002, doi: 10.1021/ie010752h.
- [74] T. K. Poddar, S. Majumdar, y K. K. Sirkar, "Removal of VOCs from air by membrane-based absorption and stripping", 1996.

- [75] P. Makoś-Chelstowska, "VOCs Absorption from Gas Streams Using Deep Eutectic Solvents-A Review".
- [76] C. L. Chuang, P. C. Chiang, y E. E. Chang, "Modeling VOCs adsorption onto activated carbon", *Chemosphere*, vol. 53, n° 1, pp. 17–27, 2003, doi: 10.1016/S0045-6535(03)00357-6.
- [77] X. Zhang, B. Gao, A. E. Creamer, C. Cao, y Y. Li, "Adsorption of VOCs onto engineered carbon materials: A review", 2017, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.05.013.
- [78] L. Zhu, D. Shen, y K. H. Luo, "A critical review on VOCs adsorption by different porous materials: Species, mechanisms and modification methods", 5 de mayo de 2020, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122102.
- [79] X. Li, L. Zhang, Z. Yang, P. Wang, Y. Yan, y J. Ran, "Adsorption materials for volatile organic compounds (VOCs) and the key factors for VOCs adsorption process: A review", *Sep. Purif. Technol.*, vol. 235, mar. 2020, doi: 10.1016/j.seppur.2019.116213.
- [80] R. F. Dunn y M. M. Ei-Halwagi, "SELECTION OF OPTIMAL VOC-CONDENSATION SYSTEMS", 1994.
- [81] P. Jiang *et al.*, "Thermodynamic design and experimental study of a condensation recovery system for VOCs", *Applied Thermal Processes Volume 236 Part D*, feb. 2023, doi: 10.1016/j.applthermaleng.2023.121822Get.
- [82] F. G. Edwards y N. Nirmalakhandan, "Biological treatment of airstreams contaminated with VOCs: An overview", *Water Science and Technology*, vol. 34, n° 3-4-4 pt 2, pp. 565–571, 1996, doi: 10.1016/0273-1223(96)00597-5.
- [83] T. Li, H. Li, y C. Li, "A review and perspective of recent research in biological treatment applied in removal of chlorinated volatile organic compounds from waste air", 1 de julio de 2020, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126338.
- [84] S. K. Padhi y S. Gokhale, "Biological oxidation of gaseous VOCs - Rotating biological contactor a promising and eco-friendly technique", 2014, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.jece.2014.09.005.
- [85] Ó. J. Prado, D. Gabriel, y J. Lafuente, "Economical assessment of the design, construction and operation of open-bed biofilters for waste gas treatment", *J. Environ. Manage.*, vol. 90, n° 8, pp. 2515–2523, 2009, doi: 10.1016/j.jenvman.2009.01.022.
- [86] I. Datta y D. Grant Allen, "6 Biofilter Technology".
- [87] J. Luo y A. Van Oostrom, "Biofilters for controlling animal rendering odour-a pilot-scale study", IUPAC, 1997.
- [88] B. Sheridan, T. Curran, V. Dodd, y J. Colligan, "Biofiltration of odour and ammonia from a pig unit - A pilot-scale study", *Biosyst. Eng.*, vol. 82, n° 4, pp. 441–453, ago. 2002, doi: 10.1006/bioe.2002.0083.
- [89] C. Lafita, J. M. Peña-Roja, F. Sempere, A. Waalkens, y C. Gabaldón, "Hydrogen sulfide and odor removal by field-scale biotrickling filters: Influence of seasonal variations of load and temperature", *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, vol. 47, n° 7, pp. 970–978, jun. 2012, doi: 10.1080/10934529.2012.667302.
- [90] R. W. Melse y G. Mol, "Odour and ammonia removal from pig house exhaust air using a biotrickling filter", 2004. [En línea]. Disponible en: <https://iwaponline.com/wst/article-pdf/50/4/275/421733/275.pdf>

- [91] N. T. Xue, Q. H. Wang, C. F. Wu, X. H. Sun, y W. M. Xie, "A pilot field-scale study on biotrickling filter treatment of NH₃-containing odorous gases from organic waste composting plants", *Journal of Zhejiang University: Science A*, vol. 11, n° 9, pp. 629–637, sep. 2010, doi: 10.1631/jzus.A1000095.
- [92] A. Aguirre Bravo, "Tesis presentada para la obtención del Grado Académico de DOCTOR EN BIOTECNOLOGIA".
- [93] Apolinar Blanca Nicolas, "Propiedades Interfaciales del Ácido Sulfhídrico", Universidad Autonoma del Estado de Mexico, Tuloca, 2017.
- [94] Hector Treto, Ivan Rodriguez, Josefina Jover de la Prida, y Herman Vanlangenhoven, "Remoción de disulfuro de dimetilo mediante biofiltración con bagazo de caña inoculado con *Hypomicrobium VS*", *Afinidad LXVIII* 553, jun. 2011.
- [95] B. Sercu, D. Núñez, H. Van Langenhove, G. Aroca, y W. Verstraete, "Operational and microbiological aspects of a bioaugmented two-stage biotrickling filter removing hydrogen sulfide and dimethyl sulfide", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 90, n° 2, pp. 259–269, abr. 2005, doi: 10.1002/bit.20443.
- [96] M. Ramírez *et al.*, "Removal of hydrogen sulphide by immobilized *Acidithiobacillus thiooxidans* in a Biotrickling filter packed with polyurethane foam", 2008. [En línea]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/237117309>
- [97] M. Ramirez, J. M. Gómez, G. Aroca, y D. Cantero, "Removal of hydrogen sulfide and ammonia from gas mixtures by co-immobilized cells using a new configuration of two biotrickling filters", *Water Science and Technology*, vol. 59, n° 7, pp. 1353–1359, 2009, doi: 10.2166/wst.2009.105.
- [98] Y.-C. Chung, C. Huang, C.-P. Tseng, y J. Rushing Pan, "Biotreatment of H₂S-and NH₃-containing waste gases by co-immobilized cells bio@lter", 2000.
- [99] M. Semenza, G. Curutchet, M. Viera, y E. Donati, "IMPORTANCIA DE THIOBACILLUS CALDUS EN LA LIXIVIACIÓN DE SULFUROS METÁLICOS", 2000.
- [100] G. A. Hill y C. W. Robinson, "Substrate Inhibition Kinetics: Phenol Degradation by *Pseudomonas putida*", 1975.
- [101] P. Y. A. Ahamad y A. A. M. Kunhi, "Degradation of high concentrations of cresols by *Pseudomonas* sp. CP 4".
- [102] S. M. Umer, M. Solangi, K. M. Khan, y R. S. Z. Saleem, "Indole-Containing Natural Products 2019–2022: Isolations, Reappraisals, Syntheses, and Biological Activities", 1 de noviembre de 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/molecules27217586.
- [103] S. Cho, O. Hwang, y S. Park, "Effect of dietary protein levels on composition of odorous compounds and bacterial ecology in pig manure", *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, vol. 28, n° 9, pp. 1362–1370, sep. 2015, doi: 10.5713/ajas.15.0078.
- [104] M. Mindt *et al.*, "Production of indole by *Corynebacterium glutamicum* microbial cell factories for flavor and fragrance applications", *Microb. Cell Fact.*, vol. 21, n° 1, dic. 2022, doi: 10.1186/s12934-022-01771-y.
- [105] M.L. Ravinovich, Ä.B.Bolobova, y L.G. Vasilchenko, "Fungal Descomposition of Natural Aromatic Structures and Xenobiotics a Review", *Appl. Biochem. Microbiol.*, vol. 40, pp. 1–17, 2004.

- [106] A. Zehraoui, A. A. Hassan, y G. A. Sorial, "Biological treatment of n-hexane and methanol in trickle bed air biofilters under acidic conditions", *Biochem. Eng. J.*, vol. 77, pp. 129–135, 2013, doi: 10.1016/j.bej.2013.06.001.
- [107] S. Arriaga y S. Revah, "Improving hexane removal by enhancing fungal development in a microbial consortium biofilter", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 90, n° 1, pp. 107–115, abr. 2005, doi: 10.1002/bit.20424.
- [108] B. Yang, X. Niu, C. Ding, X. Xu, y D. Liu, "Performance of Biotrickling Filter Inoculated with Activated Sludge for Chlorobenzene Removal", *Procedia Environ. Sci.*, vol. 18, pp. 391–396, 2013, doi: 10.1016/j.proenv.2013.04.052.
- [109] V. Benavides, F. Pinto-Ibieta, A. Serrano, O. Rubilar, y G. Ciudad, "Use of Anthracophyllum Discolor and Stereum Hirsutum as a Suitable Strategy for Delignification and Phenolic Removal of Olive Mill Solid Waste", *Foods*, vol. 11, n° 11, jun. 2022, doi: 10.3390/foods11111587.
- [110] L. Bosso, F. Lacatena, G. Cristinzio, M. Cea, M. C. Diez, y O. Rubilar, "Biosorption of pentachlorophenol by Anthracophyllum discolor in the form of live fungal pellets", *N. Biotechnol.*, vol. 32, n° 1, pp. 21–25, 2015, doi: 10.1016/j.nbt.2014.08.001.
- [111] M. C. Diez, F. Gallardo, G. Tortella, O. Rubilar, R. Navia, y C. Bornhardt, "Chlorophenol degradation in soil columns inoculated with Anthracophyllum discolor immobilized on wheat grains", *J. Environ. Manage.*, vol. 95, n° SUPPL., 2012, doi: 10.1016/j.jenvman.2010.09.024.
- [112] M. Cea, M. Jorquera, O. Rubilar, H. Langer, G. Tortella, y M. C. Diez, "Bioremediation of soil contaminated with pentachlorophenol by Anthracophyllum discolor and its effect on soil microbial community", *J. Hazard. Mater.*, vol. 181, n° 1–3, pp. 315–323, sep. 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.05.013.
- [113] C. Yang *et al.*, "Simultaneous Removal of Multicomponent VOCs in Biofilters", 1 de julio de 2018, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.tibtech.2018.02.004.
- [114] J. B. Hagen, "Five kingdoms, more or less: Robert whittaker and the broad classification of organisms", enero de 2012. doi: 10.1525/bio.2012.62.1.11.
- [115] C.J.Alexopoulos, C.W Mims, y M.Blackwell, "Introductory Mycology", New York, ene. 1996. [En línea]. Disponible en: https://archive.org/details/introductorymyco00000alex_q5x1
- [116] B. Kendrick, "Fungi and the History of Mycology", 2001. [En línea]. Disponible en: www.els.net
- [117] J. Webster y R. Weber, "Introduction to Fungi".
- [118] Cordova Bolaños Raquel y Cultid Chamorro Gabriel, "Estudio comparativo de la actividad enzimática de lacasa (lac), lignina peroxidasa (lip) y manganeso peroxidasa (mnp) de 'pleurotus ostreatus' cultivado en residuos lignocelulósicos de raquis de palma de aceite, bagazo de fique y pulpa de café", Universidad de Nariño, 2015.
- [119] P. Baldrian, "Fungal laccases-occurrence and properties", marzo de 2006. doi: 10.1111/j.1574-4976.2005.00010.x.
- [120] P. Singh Nee Nigam, K. Niladevi, y A. Pandey, "Niladevi, K. (2009). Ligninolytic Enzymes. In: Singh nee' Nigam, P., Pandey, A. (eds) Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation.", en *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues*, Springer Netherlands, 2009, 22, pp. 398–410. doi: 10.1007/978-1-4020-9942-7.

- [121] C. Gómez-Dorado, M. Martínez-Salgado, D. Nieto-Mosquera, A. Pedrosa-Rodríguez, R. Rodríguez-Vázquez, y J. Rosas-Acosta, "INDUSTRIA PAPELERA".
- [122] A. T. Jurado, A. A. Cuenca, M. Angel, A. Reyes, y Y. M. Flores, "PANORAMA DE LA INDUSTRIA DE CELULOSA Y PAPEL Y ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTICAS: PRODUCCIÓN, USOS Y PERSPECTIVAS", 2016.
- [123] F. J. Ruiz-Dueñas, M. Morales, E. García, Y. Miki, M. J. Martínez, y A. T. Martínez, "Substrate oxidation sites in versatile peroxidase and other basidiomycete peroxidases", febrero de 2009. doi: 10.1093/jxb/ern261.
- [124] A. Blaquez Moya, "DEPARTAMENTO DE BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA".
- [125] N. Decimal, por J. Colom, T. Vida, y A. Torres, "Biotecnología en la industria papelera. Aplicación a la eliminación del color del papel viejo".
- [126] P. Guías, I. Forestal, S. Javier González Molina Ing Forestal, y S. Ricardo Silva Soto, "CLAUDIO ANDRÉS SBÁRBARO PÉREZ", 2004.
- [127] A. K. Paredes-Juárez, E. Villegas-Villareal, R. Díaz-Godínez, y G. Díaz-Godínez, "Aplicaciones de las enzimas lacasas de *Pleurotus ostreatus*", *Mexican Journal of Biotechnology*, vol. 2, n° 1, pp. 135–144, ene. 2017, doi: 10.29267/mxjb.2017.2.1.135.
- [128] S. M. Barreto, "OBTENCIÓN DE ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTICAS Y POLISACÁRIDOS A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DEL DEPARTAMENTO DE CALDAS EMPLEANDO MACROMICETOS DE PUDRICIÓN BLANCA POR FERMENTACIÓN SUMERGIDA Y FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO".
- [129] S. Ben Younes y S. Sayadi, "Detoxification of Indigo carmine using a combined treatment via a novel trimeric thermostable laccase and microbial consortium", *J. Mol. Catal. B Enzym.*, vol. 87, pp. 62–68, mar. 2013, doi: 10.1016/j.molcatb.2012.10.007.
- [130] E. Sajben-Nagy *et al.*, "Characterization of an extracellular laccase of *Leptosphaerulina chartarum*", *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 30, n° 9, pp. 2449–2458, 2014, doi: 10.1007/s11274-014-1670-8.
- [131] Shraddha, R. Shekher, S. Sehgal, M. Kamthania, y A. Kumar, "Laccase: Microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications", 2011. doi: 10.4061/2011/217861.
- [132] G. Leson y A. M. Winer, "Biofiltration: An innovative air pollution control technology for voc emissions", *J. Air Waste Manage. Assoc.*, vol. 41, n° 8, pp. 1045–1054, 1991, doi: 10.1080/10473289.1991.10466898.
- [133] C. Kennes y M. C. Veiga, "Fungal biocatalysts in the biofiltration of VOC-polluted air", en *Journal of Biotechnology*, sep. 2004, pp. 305–319. doi: 10.1016/j.jbiotec.2004.04.037.
- [134] O. Rubilar, "UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PENTACLOROFENOL (PCF) POR HONGOS DE PUDRICIÓN BLANCA", 2007.
- [135] M. Gospodarek, P. Rybarczyk, B. Szulczyński, y J. Gębicki, "Comparative evaluation of selected biological methods for the removal of hydrophilic and hydrophobic odorous VOCs from air", *Processes*, vol. 7, n° 4, abr. 2019, doi: 10.3390/pr7040187.
- [136] Q. Ma, X. Zhang, y Y. Qu, "Biodegradation and biotransformation of indole: Advances and perspectives", 1 de noviembre de 2018, *Frontiers Media S.A.* doi: 10.3389/fmicb.2018.02625.

- [137] A. V. Kamatht y C. S. Vaidyanathan, "New Pathway for the Biodegradation of Indole in *Aspergillus niger*", 1990. [En línea]. Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/aem>
- [138] P. Katapodis, M. Moukoulis, y P. Christakopoulos, "Biodegradation of indole at high concentration by persolvent fermentation with the thermophilic fungus *Sporotrichum thermophile*", *Int. Biodeterior. Biodegradation*, vol. 60, n° 4, pp. 267–272, 2007, doi: 10.1016/j.ibiod.2007.04.002.
- [139] F. X. Prenafeta-Boldú, R. Summerbell, y G. Sybren De Hoog, "Fungi growing on aromatic hydrocarbons: Biotechnology's unexpected encounter with biohazard?", enero de 2006. doi: 10.1111/j.1574-6976.2005.00007.x.
- [140] Y. Chen, X. G. Xie, C. G. Ren, y C. C. Dai, "Degradation of N-heterocyclic indole by a novel endophytic fungus *Phomopsis liquidambari*", *Bioresour. Technol.*, vol. 129, pp. 568–574, 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2012.11.100.
- [141] M. Clauben y S. Schmidt, "Biodegradation of phenol and p-cresol by the hyphomycete *Scedosporium apiospermum*", 1998.
- [142] H. I. Atagana, "Biodegradation of phenol, o-cresol, m-cresol and p-cresol by indigenous soil fungi in soil contaminated with creosote".
- [143] R. K. Singh, S. Kumar, S. Kumar, y A. Kumar, "Biodegradation kinetic studies for the removal of p-cresol from wastewater using *Gliomastix indicus* MTCC 3869", *Biochem. Eng. J.*, vol. 40, n° 2, pp. 293–303, jun. 2008, doi: 10.1016/j.bej.2007.12.015.
- [144] G. Wang, J. Wen, H. Li, y C. Qiu, "Biodegradation of phenol and m-cresol by *Candida albicans* PDY-07 under anaerobic condition", *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 36, n° 6, pp. 809–814, jun. 2009, doi: 10.1007/s10295-009-0555-6.
- [145] J. Cartanyà, G. Blanco, V. Sancho, N. Ferrer, y D. Babot, "Summary Resumen".
- [146] M. Ruiz-Guerrero y F. Bertocini, "Aplicación de la cromatografía de gases bidimensional en el análisis de derivados azufrados y nitrogenados en gasolina", *Informacion Tecnológica*, vol. 21, n° 1, pp. 43–50, 2010, doi: 10.1612/inf.tecnol.4156it.08.
- [147] P. Cauich-Sanchez, F. Alatríste-Mondragon, E. García-Cano, y C. Aquino-Santiago, "Identification of Anaerobic Nonsporeforming Gram-Positive Bacilli by Biochemical Tests and Gas-Liquid Chromatography", 2001.
- [148] HACH, "Nitrate, HR Chromotropic Acid Method Method 10020 0.2 to 30.0 mg/L NO₃-N (HR) Test 'N TubeTM Vials".
- [149] HACH, "Nitrite Diazotization Method 10019 0.003 to 0.500 mg/L NO₂⁻-N (LR) Test 'N TubeTM Vials".
- [150] HACH, "Nitrogen, Ammonia Salicylate Method Method 10031 0.4 to 50.0 mg/L NH₃-N (HR) Test 'N TubeTM Vials".
- [151] HACH, "TNT 865 Sulfato 150-900 mg/L SO₄²⁻-Rango Alto TNTplus®-Método 10227". [En línea]. Disponible en: www.hach.com
- [152] C. Bello Gil, C. Bocourt, y D. Maqueira, "ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar", [En línea]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120664006>
- [153] A. Pardo, M.A. Perona, y J. Pardo, "Utilización del raspón de uva en la elaboración de sustratos específicos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*", *ITEA*, vol. 101, pp. 59–69, 2005.

- [154] L. N. Levin *et al.*, "Decolorization and detoxification of synthetic dyes by mexican strains of *trametes sp.*", *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 16, n° 23, dic. 2019, doi: 10.3390/ijerph16234610.
- [155] Paulina Gonzalez Gonzalez, "Caracterización de una lacasa producida por *Agrocybe pediades* en medio líquido y determinación del efecto del cobre y hexaclorobenceno como posibles inductores.", Universidad Autonoma de Tlaxcala, Tlaxcala, 2021.
- [156] M. Cardona, J. Osorio, y J. Quintero, "Degradación de colorantes industriales con hongos ligninolíticos Degradation of industrial dyes with white rot fungi", 2009.
- [157] C. Rattanapan, P. Boonsawang, y D. Kantachote, "Removal of H₂S in down-flow GAC biofiltration using sulfide oxidizing bacteria from concentrated latex wastewater", *Bioresour. Technol.*, vol. 100, n° 1, pp. 125–130, ene. 2009, doi: 10.1016/j.biortech.2008.05.049.
- [158] M. Ciganek y J. Neca, "Chemical characterization of volatile organic compounds on animal farms", 2008.
- [159] A. Felipe Suarez Escobar, "Remoción de fenol de una corriente de aire mediante biofiltración", Universidad Libre de Colombia, Bogota, 2011.
- [160] Ana María Benavidez Obregón, "Remoción de vapores de fenol en un biofiltro", Universidad de Los Andes, Bogota, 2004.
- [161] Castillejos Marquez Stefi, "Producción de lacasa a partir de hongos ligninolíticos utilizando vinazas y bagazo de origen mezcalero.", Universidad Tecnológica de Mixteca, Oaxaca, 2015.
- [162] Villareal Gomez Catalina, "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LACASA DE CO-CULTIVOS DE HONGOS LIGNÍCOLAS PARA LA DESLIGNIFICACIÓN DE CASCARILLA DE ARROZ Y BAGAZO DE CAÑA", Universidad de los Andes, Bogota, 2019.
- [163] R. Escudero, E. Luis, S. Daza, O. Danuta, y H. Torres, "Caracterización de actinobacterias raras, degradadoras de lignocelulosa: Demostración de actividad lacasa en dos aislados de *Tsukamurella sp* y *Cellulosimicrobium sp*", 2012, [En línea]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77625401008>
- [164] A. Gregori, M. Švagelj, D. Voglar, y M. Berovic, "Growth characteristics and ergosterol content of *Grifola Frondosa* in various solid-state substrates", *Chem. Biochem. Eng. Q.*, vol. 30, n° 2, pp. 183–188, 2016, doi: 10.15255/CABEQ.2015.2306.
- [165] B. G. Andrej Gregori, "Solid State Cultivation of *Hericium erinaceus* Biomass and Erinacine: A Production", *J. Bioprocess. Biotech.*, vol. 05, n° 03, 2015, doi: 10.4172/2155-9821.1000210.
- [166] J. Amilcar Pineda Insuasti, C. Patricia Soto Arroyave, C. Alejandro Pineda Soto, y C. Augusto Del Río, "Design of a Bioreactor for the Bioconversion of Lignocellulosic Residues into Protein for Human Feeding", vol. 5, n° 6, pp. 72–79, doi: 10.9790/1959-0506037279.
- [167] Espin Neyda, Pazos Daniel, y Izurieta Bolívar, "Estudio de la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 sobre rastrojo de maíz.", *Revista Politecnica 2010*, vol. 31, pp. 65–69, dic. 2012.