



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“SECUESTRO DE CARBONO (MONÓXIDO DE CARBONO) MEDIANTE EL USO DE BIOFILTRO INOCULADO CON *STENOTROPHOMONAS SP.*”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

CARLOS EMILIO GUTIÉRREZ TOVAR

DIRIGIDA POR

Dr. JORGE NOEL GRACIDA RODRÍGUEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2026

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“SECUESTRO DE CARBONO (MONÓXIDO DE CARBONO) MEDIANTE EL USO DE BIOFILTRO INOCULADO CON *STENOTROPHOMONAS SP.*”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**CARLOS EMILIO GUTIÉRREZ TOVAR**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. JORGE NOEL GRACIDA RODRÍGUEZ**

**SINODALES**

**Dr. JORGE NOEL GRACIDA RODRÍGUEZ**  
DIRECTOR

**Dra. EVELYN ZAMUDIO PÉREZ**  
SINODAL

**Dra. MONSERRAT ESCAMILLA GARCÍA**  
SINODAL

**Dr. JOSE LUIS AVALOS DIAZ**  
SINODAL

Centro Universitario, Querétaro, Qro. México  
Fecha de aprobación por el Consejo Académico (Marzo 2026)

## **Agradecimientos**

Esto es para todas las personas que han creído en mí desde un principio y quienes lo han hecho durante el camino.

Gracias Dios por darme salud, estabilidad y la posibilidad de poder realizar este trabajo.

Para mi madre y padre que me han enseñado de la resiliencia, perseverancia y el no elegir el camino sencillo. Gracias por su amor eterno, realmente nada sería posible sin su esfuerzo cuando fuimos niños, ahora lo entiendo.

Para mi hermana, por su inmensa fe en mí y por inspirarme a crecer más. Gracias por ser un ejemplo a seguir.

Para mi hermosa novia Karla, por acompañarme durante todo mi proceso, desde cosas sencillas como picar piedra, hasta darme ánimos de continuar. Te amo.

Para el Dr. Gracida, por impulsarme con este trabajo y ser honesto, riguroso y directo cuando tiene que serlo.

Para mis amigos, saben perfectamente quienes son, gracias por hacer de mi vida mejor.

Me doy gracias a mí por no haberme rendido.

Gracias por creer en mí, este logro es de todos y será solo el comienzo.

Toma el tiempo que necesites, pero porfavor no te olvides de vivir.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido

ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE CUADRO.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Situación del CO en el Estado de Querétaro.....	3
2.2. Emisión de CO en México en relación con otros países.....	6
2.3. Riesgos a la salud.....	7
2.4. Casos de intoxicación.....	7
2.5. El CO en el medio ambiente.....	8
2.6. Ozono troposférico como consecuencia del CO.....	8
2.7. El ozono troposférico.....	10
2.8. Normas oficiales mexicanas NOM relacionadas.....	10
2.9. Tratamientos actuales para disminuir la emisión de CO y sus contras.....	11
2.10. Biofiltros.....	12
2.11. Formación de biopelícula.....	14
2.12. Parámetros importantes de la biofiltración.....	15
2.12.1. Materiales de empaque.....	16
2.12.2. Contenido de humedad y tiempo de residencia.....	16
2.12.3. Temperatura.....	17
2.12.4. pH.....	17
2.12.5. Nutrientes necesarios.....	17
2.12.6. Entrada de contaminantes.....	17
2.12.7. Tiempo de residencia en lecho fijo (TRLF).....	18
2.12.8. Tiempo de aclimatación y microorganismos.....	18
2.12.9. Ventajas y desventajas de los biofiltros.....	19
2.13. Bacterias usadas en biofiltros para remoción de CO.....	19
2.14. Carboxihidrogenasa E.C. 1.2.5.3 (CODH).....	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 General.....	22

3.2 Específicos .....	22
4. METODOLOGÍA .....	23
4.1 Recolección de muestras .....	23
4.2 Aislamiento de microorganismos .....	23
4.3 Caracterización de crecimiento del microorganismo aislado en distintos soportes en microcosmos .....	23
4.4 Cuantificación de la biopelícula en los soportes .....	24
4.5 Secuenciación del microorganismo .....	25
4.6 Elaboración de biofiltros .....	25
4.6.1 Tamaño de partícula .....	27
4.6.2 Tiempo de retención en el lecho fijo (TRLF) .....	27
4.6.3 Concentración del contaminante .....	28
4.6.4 Uso de prototipo en motor de combustión .....	28
4.7 Análisis estadístico .....	28
4.7.1 Cálculo de eficiencia de remoción .....	29
4.7.2 Pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas .....	29
5. RESULTADOS .....	30
5.1 Caracterización de crecimiento de biofilm en soportes .....	30
5.2 Cuantificación de UFC .....	32
5.3 Secuenciación del microorganismo .....	33
5.4 Evaluación de Tamaño de partícula .....	35
5.5 Evaluación de TRLF .....	37
5.6 Evaluación de concentración de entrada del contaminante .....	39
5.7 Evaluación de prototipo en motor de combustión .....	41
6. DISCUSIÓN .....	43
6.1 Selección de soporte .....	43
6.2 Secuenciación del microorganismo .....	44
6.2.1 Aplicaciones de <i>Stenotrophomonas</i> sp. en la biorremediación .....	45
6.3 Tratamientos de biofiltros .....	46
6.4 Tratamiento de prototipo en escape de motor de combustión .....	50
7. CONCLUSIONES .....	51
8. BIBLIOGRAFÍA .....	53

## ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro 1. Factores de emisión de CO (g/km) de vehículos de carga ligera y pesada y su tipo de combustible. ....	3
Cuadro 2. Emisiones de CO por categoría (SEDESU, 2021).....	4
Cuadro 3. Fotorreacciones del ozono .....	8
Cuadro 4. Ventajas y desventajas del biofiltro .....	19
Cuadro 5. Resultados de la cuantificación de UFC/mL en diluciones de 10 <sup>-3</sup> a 10 <sup>-5</sup> , inoculadas en cajas petri. ....	33
Cuadro 6. Resultados de similitud de la base de datos en BLASTn (NCBI,2025). .	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Emisiones de CO en el estado de Querétaro (SEDESU, 2021). .....	4
Figura 2. Distribución de emisiones por municipio (SEDESU, 2021). .....	5
Figura 3. Ilustración gráfica de filtro de lecho percolador: Empaque de filtros y distintas fases, (1-3), recolector de muestras (4), bomba (5), contenedor de nutrientes (6), regulador (7), drenaje de recolección de nutrientes (8). .....	14
Figura 4. Reacción de la enzima CODH y su metabolismo en O. carboxidovorans (BRENDA:EC1.2.5.3). .....	21
Figura 5. Estructura de la enzima CODH, binúcleo de Mo-Cu marcado en verde. PDB:1n5w. ....	21
Figura 6. Ligando de CUM y sus interacciones con la cadena polimérica. ....	21
Figura 7. Superficie de la enzima CODH. Cadenas pequeñas A y D (verde), cadenas medias C y F (morado) y cadenas largas B y E (naranja), H <sub>2</sub> O (rojo), (PDBe, 2002). .....	22
Figura 8. Diagrama del funcionamiento de los biofiltros. ....	27
Figura 9. Comparación de crecimiento de biopelícula en soportes. a) Se presentan los soportes de vermiculita, piedra pómez, corteza de madera y piedra volcánica, respectivamente, una semana después del inoculado. b) Se muestran los mismos soportes (vermiculita, .....	32
Figura 10. Árbol filogenético del alineamiento de secuencias resultantes de BLAST- NCBI. ....	35
Figura 11. Resultados de % de remoción del contaminante en la prueba Tamaño de partícula, Filtro 1 (Azul) y el Control (Rojo) con un tamaño >9.5 mm, el Filtro 2 (Verde) de 9.5 a 6.3 mm, y el Filtro 3 (Morado) de 6.3 a 4.76 mm. .	36
Figura 12. Boxplot de Remoción del CO variando el tamaño de partícula. ....	37
Figura 13. Resultados de % de remoción del contaminante en la prueba de Tiempo de retención en el lecho fijo (TRLF) Filtro 1-Azul (23 cm), Filtro 2- Verde (33 cm), Control- Rojo (33 cm) y Filtro 3- Morado (43 cm). .....	38
Figura 14. Boxplot de Remoción de CO con variable Tiempo de retención en lecho fijo (TRLF). Puntos rojos (outliers). ....	39
Figura 15. Resultados del % de remoción de concentración de entrada del contaminante. El control (Rojo) y el filtro 1(Azul) alimentados en un intervalo de 10-110 (ppm), el filtro 2 (Verde) alimentado en un intervalo de 50- 300 (ppm) y el filtro 3 (Morado) alimentado a un intervalo de 100-600 (ppm). .....	40
Figura 16. Boxplot de remoción de CO con variable de concentración. ....	41
Figura 17. Gráfico de eficiencia de remoción del prototipo evaluado en escape de motor de combustión. Remoción del Control (Rojo), Remoción del Filtro (Azul). ....	42
Figura 18. Gráfico Boxplot de las remociones del Filtro (Rojo) y del Control (Azul). ....	43

## RESUMEN

El monóxido de carbono (CO) es un gas contaminante que representa el 78.9 % de las emisiones generadas por fuentes móviles en el estado de Querétaro. Su principal origen es la combustión incompleta de vehículos motorizados. La exposición prolongada puede causar afectaciones al sistema cardiovascular y nervioso, e incluso ser letal en casos de intoxicación. Este estudio tiene como objetivo desarrollar un filtro capaz de reducir las emisiones de CO mediante la actividad enzimática de *Stenotrophomonas* sp. La bacteria se aísla a partir de muestras de agua recolectadas en plantas tratadoras de la ciudad de Querétaro, utilizando un medio selectivo sin fuente de carbono para su aislamiento.

Se evalúan cuatro parámetros clave: tipo de soporte, tamaño de partícula, tiempo de residencia en el lecho fijo (TRLF) y concentración del contaminante. Estas variables permiten identificar las condiciones óptimas para maximizar los rendimientos en la remoción del CO. Se prueban cuatro filtros: tres inoculados con parámetros distintos y un control sin inóculo. A partir de los datos recolectados, se diseña un prototipo con las características óptimas para su evaluación en un motor de combustión. Los resultados mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ; en pruebas post-hoc de Dunn) entre los filtros inoculados y el control, sin embargo no se mostraron diferencias significativas entre sí, únicamente en la evaluación de la concentración del contaminante. Se hace un prototipo para medir la eficiencia en un escenario real mediante la medición de la eficiencia en el escape de un vehículo motorizado, el resultado no mostró la misma eficiencia de remoción que en situaciones controladas.

## ABSTRACT

Carbon monoxide (CO), a polluting gas, accounts for 78.9% of emissions generated by mobile sources in the state of Querétaro. Its primary origin is the incomplete combustion of motorized vehicles. Prolonged exposure can cause damage to the cardiovascular and nervous systems and may even be lethal in cases of poisoning. This study aims to develop a filter capable of reducing CO emissions through the enzymatic activity of *Stenotrophomonas* sp. The bacterium is isolated from water samples collected at wastewater treatment plants in the city of Querétaro, using a selective medium without a carbon source for its isolation. Four key parameters are evaluated: support type, particle size, residence time in the fixed bed (RTFB), and contaminant concentration. These variables make it possible to identify optimal conditions to maximize CO removal efficiency. Four filters are tested: three inoculated with different parameters and one control without inoculum. Based on the collected data, a prototype is designed with optimal characteristics for evaluation in a combustion engine. The results showed significant differences ( $p > 0.05$ ; in Dunn's post-hoc tests) between the inoculated filters and the control; however, no significant differences were observed among the inoculated filters themselves, except in the evaluation of contaminant concentration. A prototype was developed to measure efficiency under real conditions by assessing performance at the exhaust of a motorized vehicle, but the results did not show the same removal efficiency as under controlled conditions.

## 1. INTRODUCCIÓN

El alto crecimiento poblacional en la ciudad de Querétaro ha traído consigo beneficios como mayores oportunidades de empleo, desarrollo económico y una mejor calidad de vida en comparación con el promedio de la república mexicana . Con ello se tiene el primer lugar de bienestar general en toda la república en el año 2021 . Esto ha resultado en una fuerte inmigración hacia el territorio federativo de Querétaro, ocupando el 3er lugar entre los estados con mayor inmigración entre los años 2015-2020. Durante esos años, llegaron 686,545 personas al estado, lo que se ha reflejado en un incremento de aproximadamente 531,800 automóviles. De acuerdo con datos del INEGI (2020), en promedio, cada persona y media trae consigo un coche a la ciudad.

El INEGI (2020) reporta que existen más de 35 millones de automóviles particulares en todo el territorio nacional, y cerca de 19 millones de vehículos registrados para transporte de carga. Por otro lado, se cuenta con 1 millón de unidades de transporte público y 702 mil automóviles destinados a servicios gubernamentales. Según la Norma Informativa de Estadística de Transporte Urbano de Pasajeros, en Querétaro solo se cuenta con la opción de transporte urbano denominada QroBus. En 2023, este sistema de transporte fue utilizado por 271,321 personas. Si tomamos en cuenta la cantidad de habitantes del último censo realizado por el INEGI, Querétaro tiene 2,368,467 habitantes, lo que indica que solo el 11.45 % de las personas en el estado utilizan el transporte público. Esto posiciona a Querétaro como una de las ciudades con menor uso del transporte público en México.

Comparando la cantidad de gente que usa el transporte público con la que posee un vehículo particular, se puede interpretar que el uso de vehículos particulares es alto. La deficiente movilidad, especialmente debida a la planeación del crecimiento urbano, ha generado problemas y ha contribuido a la emisión de gases de efecto invernadero. Los principales contaminantes que se evalúan constantemente en la zona metropolitana de Querétaro son: dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ), monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ), ozono ( $\text{O}_3$ ), dióxido de azufre ( $\text{SO}_2$ ), partículas menores a 2.5

micrómetros (PM 2.5) y partículas menores a 10 micrómetros (PM 10). Estos contaminantes generan diversas enfermedades, y existen estudios que señalan que la exposición a ellos se asocia de manera significativa con el incremento de la mortalidad por causas cardiovasculares y respiratorias en varias ciudades del mundo, así como responsables al efecto invernadero.

El monóxido de carbono (CO) es un subproducto de la combustión incompleta de combustibles fósiles como el carbón, el petróleo y la madera. Este gas, incoloro e inodoro, está presente en los gases de escape de los vehículos y el humo de tabaco. Representa un grave riesgo para la salud, su inhalación puede ser letal, además de que puede afectar la fertilidad y provocar daño fetal. Exposiciones prolongadas o repetidas a este también ocasionan daños en la sangre y el sistema nervioso central. Por estas razones, se recomienda trabajar con CO en áreas ventiladas o con protección respiratoria adecuada. Aunque el CO es químicamente estable y poco reactivo, lo cual reduce los riesgos de reactividad, su presencia en ambientes con actividad humana intensiva, como el tráfico vehicular, incrementa los niveles en el aire.

En condiciones naturales, el CO también se encuentra en la atmósfera. No obstante, aproximadamente dos tercios de su concentración actual provienen de actividades antropogénicas, donde la principal fuente de emisión son los vehículos impulsados por gasolina. Entre las fuentes naturales de CO se encuentran la quema de biomasa, como en los incendios forestales, y los procesos de oxidación de compuestos orgánicos, como el metano y el isopreno. La baja solubilidad del CO en agua, de aproximadamente 2.3 mL/100 mL a 20 °C, facilita su permanencia en la atmósfera, convirtiéndose en un problema para la salud humana.

## 2. ANTECEDENTES

El monóxido de carbono (CO) es un contaminante que, aunque presente de forma natural en la atmósfera, en un 66 % proviene de actividades humanas. Este gas es el contaminante más emitido por fuentes móviles, superando incluso al dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), se estima que alrededor del 86.4 % de las emisiones de CO son generadas por fuentes móviles (SEDEMA, 2018).

En términos de emisión por tipo de vehículo, las fuentes de CO se cuantifican en gramos por kilómetro recorrido (g/km), diferenciándose entre vehículos de carga pesada y ligera, y según el tipo de combustible empleado (diésel o gasolina). De acuerdo con esta categorización, los vehículos de carga pesada impulsados por gasolina emiten la mayor cantidad de CO, con un promedio de 46.5 g/km, mientras que los vehículos de carga ligera que emplean diésel producen la menor cantidad de emisiones, con un promedio de 4.6 g/km. Esta diferencia destaca la variabilidad de las emisiones según el tipo y el uso del vehículo, lo cual resulta clave para abordar estrategias de mitigación específicas que reduzcan el impacto de las emisiones de CO en la calidad del aire (Liñán-Abanto et al., 2021).

**Cuadro 1. Factores de emisión de CO (g/km) de vehículos de carga ligera y pesada y su tipo de combustible.**

Tipo de vehículo		Emisión de CO en g/km (promedio)
Carga pesada	Diesel	2.766-8.03 (5.699)
	Gasolina	34.763-70.261 (46.505)
Carga Ligera	Diesel	2.5436-10.036 (4.584)
	Gasolina	4.315-7.720 (6.256)

### 2.1. Situación del CO en el Estado de Querétaro

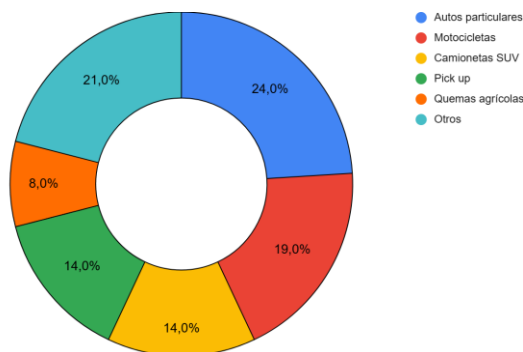
En el estado de Querétaro, de igual manera que en CDMX, el CO es el contaminante más emitido por fuentes móviles, siendo contribuyente del 78.9 % de toneladas emitidas por los contaminantes analizados. La mayor parte de las

emisiones de monóxido de carbono (CO) provienen de los vehículos motorizados, los cuales representan el 75.75 % de las emisiones totales de este gas. En menor medida, el 22.85 % de las emisiones de CO se originan en fuentes de área, como la quema agrícola y los incendios forestales, mientras que solo el 1.4 % corresponde a fuentes fijas, principalmente actividades industriales.

En la Figura 1, se presentan los valores de emisiones de CO para el año 2021, categorizados según los distintos tipos de vehículos que circulan en Querétaro. Esta información refleja la influencia de los vehículos motorizados en la calidad del aire del estado y subraya la importancia de implementar políticas de movilidad y regulación de emisiones, enfocadas en reducir el impacto de este tipo de contaminantes en la región.

**Cuadro 2. Emisiones de CO por categoría (SEDESU, 2021).**

Subcategoría	CO (moles de toneladas/año)
Autos particulares	35,586
Motocicletas	28,762.99
Camionetas SUV	21,104.28
Pick Up	20,516.93
Quemas agrícolas	12,856.31
Otros	31,449.97
<b>Total</b>	<b>150,277.31</b>



**Figura 1. Emisiones de CO en el estado de Querétaro (SEDESU, 2021).**

Los municipios del estado de Querétaro con mayor emisión de CO son Santiago de Querétaro seguido de El Marqués, San Juan del Río y Corregidora. En la Figura 2 se observa la distribución de emisiones por municipio del estado de Querétaro, 2021.

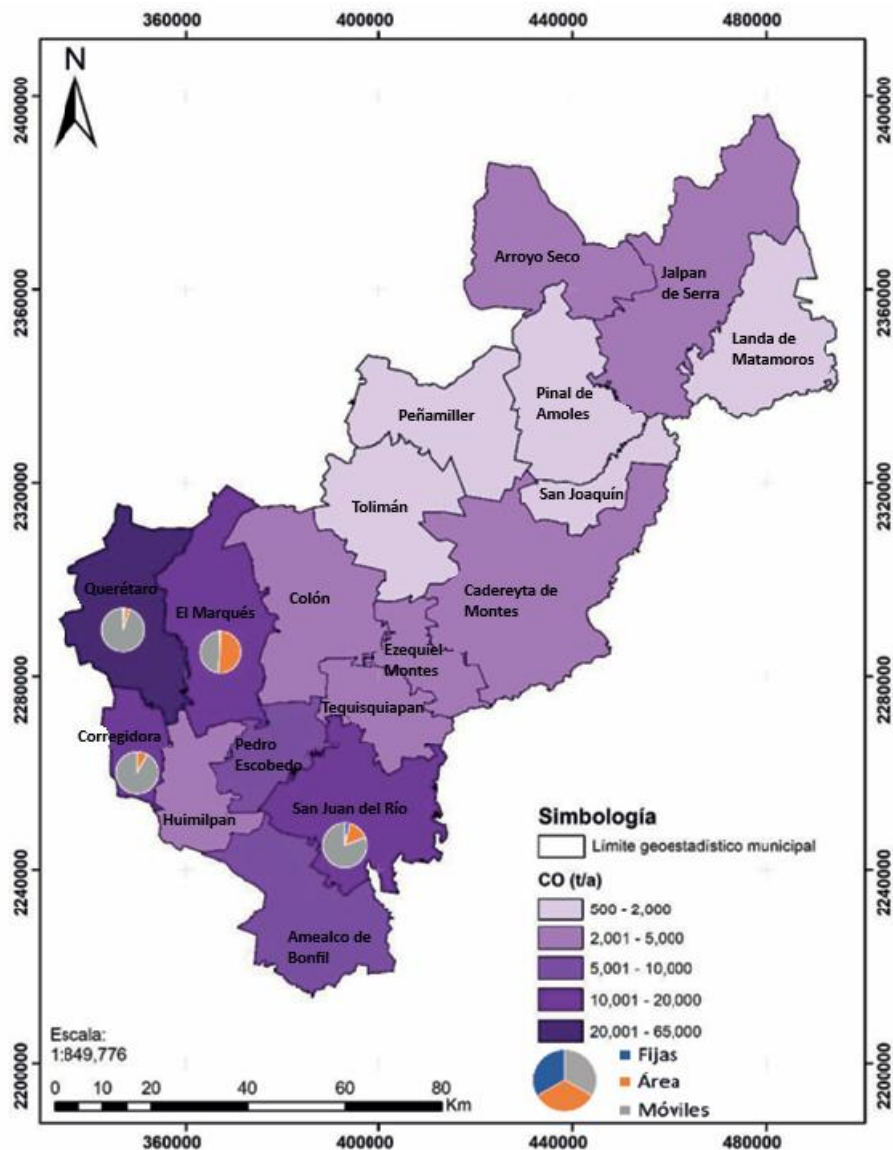


Figura 2. Distribución de emisiones por municipio (SEDESU, 2021).

En Querétaro, las emisiones de monóxido de carbono (CO) superan las 150,000 toneladas anuales, consolidándose como el contaminante atmosférico predominante en el estado, con una diferencia significativa frente al segundo contaminante, los Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs), que alcanzan una emisión de 96,024.62 toneladas por año. Esta situación, se atribuye principalmente a factores como el incremento constante de vehículos en la ciudad, la alta densidad vehicular, la

ineficacia del sistema de transporte público y una infraestructura inadecuada para el elevado flujo vehicular que enfrenta la región. Estos factores se identifican como los principales responsables de que el CO sea el contaminante de mayor impacto en el aire de Querétaro (SEDESU, 2021).

Esta situación plantea la necesidad urgente de políticas de movilidad sostenible de estrategias para reducir las emisiones, considerando tanto la modernización del transporte como mejoras en la infraestructura urbana que reduzcan la dependencia del transporte privado y, en consecuencia, las emisiones de CO.

## 2.2. Emisión de CO en México en relación con otros países.

Entre 2014 y 2016, se realizaron estudios en la Ciudad de México que incluyeron muestreos y simulaciones de emisiones de monóxido de carbono (CO) y otros contaminantes. Este trabajo se centró en analizar cómo factores como la velocidad del viento, la estación del año, las horas de muestreo (día y noche) y la densidad de tráfico influyen en la concentración de CO. Se concluyó que la Ciudad de México emite aproximadamente 281,000 toneladas de CO al año, con una concentración media anual de 0.49 ppm, siendo el invierno la estación con los niveles más altos de CO (0.60 ppm) debido a la menor velocidad del viento, que dificulta la dispersión del contaminante (Liñan-Abato, 2021).

El estudio también confirmó una fuerte correlación entre la densidad de tráfico y la concentración de CO, observándose un incremento de hasta tres veces en el nivel de CO durante las horas de mayor flujo vehicular. La principal fuente de estas emisiones (86.4 %) proviene de vehículos motorizados.

Además, se compararon los niveles de CO de la Ciudad de México con los de otras ciudades como Tokio y Nagoya en Japón y Beijing en China. Se encontró que la concentración de CO en la Ciudad de México es 32 % mayor que en Tokio, mientras que Beijing presenta una concentración 45 % superior a la de la Ciudad de México. Esto refuerza la relación directa entre la densidad vehicular y las concentraciones de CO atmosférico, y subraya la importancia de implementar estrategias para reducir la dependencia de vehículos de combustión en zonas urbanas densamente pobladas (Kondo et al., 2006; Han et al., 2009).

### 2.3. Riesgos a la salud

Por ser incoloro e insípido es peligroso por la dificultad de detección. Los límites permisibles de su exposición son de 9 ppm si se expone durante 8 h y de 35 ppm si se expone durante 1 h (EPA, 2024). Sin embargo se puede considerar una dosis letal a una concentración de 700 ppm durante 1 h de exposición (CDC, 1996). Su peligrosidad yace en su alta afinidad a la hemoglobina que es 240 veces más afín que el oxígeno, formando así la carboxihemoglobina reemplazándolo por la unión habitual del O<sub>2</sub> (Barret et al., 1985). Al igual que con la hemoglobina, el CO tiene una afinidad 60 veces mayor a la mioglobina que el O<sub>2</sub>, causando una desaceleración cardiaca y consecuentemente una potencial hipotensión (Nelson et. al, 2002). Este efecto tóxico del CO al cuerpo está altamente asociado a la disminución de la capacidad de transportar oxígeno, esto debido a la alta afinidad del CO a grupos heme de proteínas como globinas y por la citocromo oxidasa de mitocondria (CYP-540 y A3) y la NADPH reductasa, inhibiendo el transporte de electrones en la cadena respiratoria y precipita la cascada inflamatoria. La alteración de la mioglobina puede traer mutaciones celulares (Bolaños et. al, 2017).

### 2.4. Casos de intoxicación

Entre 1999 y 2004 en Estados Unidos se registraron 16,447 casos de intoxicación por monóxido de carbono (CO), mientras que en años recientes se ha observado un aumento en las hospitalizaciones por esta causa, alcanzando hasta 40,000 personas anuales que requieren atención médica. Las principales fuentes de exposición al CO en EE. UU. incluyen incendios abiertos (42 %), accidentes en industrias con alta exposición (26 %) y fallos en sistemas de calefacción como hornos (19 %) (Hampson, 1998).

La intoxicación por CO provoca varios síntomas iniciales, principalmente náuseas, dolores de cabeza, dificultad para respirar (disnea) y taquicardia. Los efectos más específicos sobre el sistema cardiovascular incluyen la prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma, isquemia miocárdica, hipotensión y arritmia ventricular (Grieb et al., 2009). En cuanto al sistema nervioso, los síntomas neurológicos y psicológicos asociados con la exposición al CO incluyen epilepsia, polineuropatía,

demencia, síndrome de Parkinson, psicosis, alucinaciones, mareos y confusión (Reumuth et al., 2019).

La gravedad de estos efectos subraya la importancia de prevenir la exposición al CO y disponer de sistemas de monitoreo, especialmente en áreas de alto riesgo como industrias, sistemas de calefacción en hogares y zonas propensas a incendios.

## 2.5. El CO en el medio ambiente

El CO no tiene un ciclo biogeoquímico propio, pero sí participa de manera indirecta en el ciclo de carbono y del oxígeno. Los ciclos biogeoquímicos son un proceso cíclico que describe el comportamiento de un elemento químico esencial para la vida y cómo a través de ella se origina la misma. Éste contribuye a la formación de ozono troposférico y otros gases de efecto invernadero como el metano. Puede afectar a la estabilidad química de la atmósfera de 2 formas principales: (1) puede contribuir directamente absorbiendo y emitiendo longitudes de onda de entre 1800 y 2300  $\text{cm}^{-1}$  y, (2) afecta la fuerza radioactiva de forma indirecta, alterando químicamente la abundancia de otros gases activos, principalmente el metano, ozono y dióxido de carbono (Solomon, 1998).

## 2.6. Ozono troposférico como consecuencia del CO

El ozono troposférico se forma principalmente mediante reacciones fotoquímicas entre  $\text{NO}_x$ ,  $\text{CO}_x$  y COVs. El CO puede reaccionar con grupos OH, reduciendo así la disponibilidad de estos radicales, estos radicales forman parte de las reacciones químicas de producción de ozono y metano, reaccionando en la descomposición de estos gases, como se observa en la Cuadro 3, estos OH reaccionan con el metano, descomponiéndose, sin embargo, si está presente el CO inhibe esta reacción. Además, el CO participa en la producción de  $\text{HO}_2$ , éste reacciona con NO, formando así  $\text{NO}_2$ , éste posteriormente fotorreacciona generando NO y O monoatómico. Eventualmente, éste Oxígeno propicia la producción de  $\text{O}_3$  (DeMore, et. al, 1997).

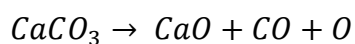
Cuadro 3. Fotorreacciones del ozono

Número de reacción	Reacciones
--------------------	------------

	<b>Fotodisociaciones</b>
R1	$O_3 + hv \rightarrow O_2 + O(D)$
R2	$NO_2 + hv \rightarrow NO + O$
	<b>Reacciones químicas</b>
R3	$O(D) + H_2O \rightarrow 2OH$
R4	$O(D) + N_2 \rightarrow O + N_2$
R5	$O(D) + O_2 \rightarrow O + O_2$
R6	$O + O_2 \rightarrow O_3$
R7	$O + NO_2 \rightarrow NO + O_2$
R8	$OH + O_3 \rightarrow HO_2 + O_2$
R9	$OH + HO_2 \rightarrow H_2O + O_2$
R10	$HO_2 + O_3 \rightarrow OH + 2O_2$
R11	$NO + HO_2 \rightarrow NO_2 + OH$
R12	$NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2$
R13	$CO + OH + O_2 \rightarrow CO_2 + HO_2$
R14	$HO_2 + HO_2 \rightarrow H_2O_2 + O_2$
R15	$CH_4 + OH + O_2 \rightarrow CH_4O_2 + H_2O$
R16	$NO_2 + OH \rightarrow HNO_3$

Por otra parte, se realizó un estudio en el cuál se simularon las condiciones del evento del meteorito de Chicxulub, en el cual se determina que la volatilización de  $CaCO_3$  puede llegar a formar CO como se observa en la ecuación 1.

**Ecuación 1**



Provocando esto cantidades enormes de CO y cómo es que esto afectó las condiciones de vida en el lugar. Mediante simulaciones y varias especulaciones debido a la dificultad de poder simular de manera exacta el suceso, se concluyó que

la temperatura durante aquella época pudo aumentar entre 2 y 5 °C, esto debido a la alta concentración de O<sub>3</sub>, originado por el aumento de CO (Kawaragi et. al, 2009).

## 2.7. El ozono troposférico

El ozono troposférico (OT) es también un contaminante que requiere una estricta regulación debido a las consecuencias ambientales y de salud que puede acarrear. El OT es considerado un contaminante secundario, lo que implica que no se emite directamente en grandes cantidades desde una fuente específica, sino que se forma principalmente a través de reacciones fotoquímicas en presencia de compuestos como óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), monóxido de carbono (CO) y compuestos orgánicos volátiles (COVs).

Entre las principales afectaciones ambientales del OT se encuentran: (1) el OT es un gas altamente oxidante, que causa estrés oxidativo en diversas células del organismo; (2) puede inducir problemas pulmonares graves e incluso la muerte cuando se expone a concentraciones entre 50-70 µg/m<sup>3</sup> durante un promedio de 8 h (WHO, 2008); (3) puede generar compuestos aún más nocivos para la salud humana, como formaldehído y acetaldehído (Chen, et al., 2012); (4) afecta el sistema fotosintético de las plantas, disminuyendo la productividad agrícola de varios cultivos (Ferretti, et al., 2024); y (5) es el tercer gas con mayor contribución al efecto invernadero, promoviendo cambios climáticos locales, como el aumento de temperatura y alteraciones en los patrones de precipitación (WHO, 2008).

Controlar las concentraciones de ozono troposférico es esencial debido a su amplia gama de efectos adversos en el medio ambiente y la salud, especialmente considerando su estrecha relación con las emisiones de CO y otros contaminantes atmosféricos.

## 2.8. Normas oficiales mexicanas NOM relacionadas

La Norma Oficial Mexicana NOM-021-SSA1-1993 establece los criterios para evaluar y regular la calidad del aire ambiente respecto al monóxido de carbono (CO). Define que el límite permisible de concentración de CO en la atmósfera de

espacios abiertos es de 11 ppm, equivalente a  $12.595 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , en un promedio de exposición de 8 h. Este límite se ha establecido con base en concentraciones que se consideran nocivas para la salud de la población. La norma también destaca la importancia de mantener los espacios ventilados en caso de fumar, ya que la exposición en áreas cerradas podría generar concentraciones elevadas de CO, perjudiciales para la salud (SEGOB, 1993).

Comparando estos valores con los estándares de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), el límite de 11 ppm de CO que establece la NOM para espacios abiertos, bajo una exposición de 8 h, es superior al límite de 9 ppm que recomienda la EPA. La diferencia podría deberse a que los valores de la NOM-021-SSA1-1993 se basan en información de 1994, mientras que los valores de la EPA han sido actualizados en 2024, lo cual representa una brecha de 30 años en el desarrollo de estos estándares.

Para realizar una medición precisa de CO en el ambiente, la norma indica que se debe utilizar la NOM-PA-CCAM-001/93, que especifica los métodos de medición adecuados para determinar la concentración de CO y la calibración de los equipos necesarios. Esta NOM establece el uso de un fotómetro de absorción infrarroja con capacidad de medir la absorción de energía del CO, con un rango de detección de 0 a  $50 \pm 0.5$  ppm. La concentración de CO en la muestra de aire se determina utilizando un patrón de CO en el detector, directamente o a través de una celda de filtración, y la absorción registrada se convierte en una señal eléctrica que refleja la concentración de CO (SEGOB, 1994).

## 2.9. Tratamientos actuales para disminuir la emisión de CO y sus contras

Existen actualmente sistemas funcionales para disminuir las emisiones de monóxido de carbono (CO), siendo los catalizadores uno de los métodos más empleados. Estos dispositivos son eficaces y de uso común; sin embargo, su costo es elevado debido al uso frecuente de metales preciosos, como el platino y el paladio (Dey & Dhal, 2020). Aunque el uso de catalizadores es altamente efectivo, los procesos de extracción de sus principales componentes, platino y paladio, generan un considerable impacto ambiental. La extracción de estos metales preciosos,

principalmente a través de actividades mineras, demanda una gran cantidad de energía y agua.

Sudáfrica, uno de los mayores productores de platino a nivel mundial, presenta un consumo de agua estimado en 400 m<sup>3</sup> por kilogramo de materiales del grupo del platino (PGM), y un consumo de energía que varía entre 168 y 256 GJ por kilogramo de estos materiales. Además, estas actividades emiten entre 40 y 50 toneladas de CO<sub>2</sub> por kilogramo de PGM extraído (Cairncross & Kisting, 2015). A esto se suman otros problemas, como la contaminación del aire, el agua y el suelo, debido a los desechos de la actividad minera, que contienen metales pesados como zinc, arsénico, mercurio, cadmio y plomo. Estos metales están asociados a diversas enfermedades mutagénicas, además de causar daños al sistema nervioso y reproductivo (Dehkordi et al., 2024).

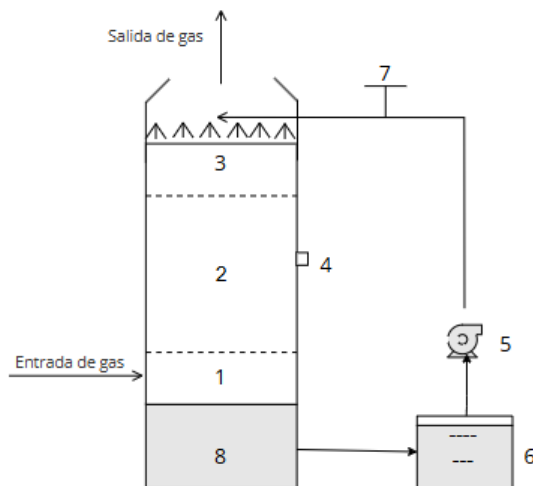
#### 2.10. Biofiltros

Un filtro de aire es aquel que retiene partículas sólidas o compuestos suspendidos en el medio ambiente, ayudando así a que el aire sea más limpio y seguro. Por lo tanto, debido a la gran variedad de contaminantes que existen, hay distintos tipos de filtros, desde formas, papeles filtrantes, tamaños, etc. Usualmente una característica importante de los filtros son sus medios filtrantes, existen de: papel de celulosa, algodón, nitrocelulosa, etc. Lo que tienen estos medios filtrantes en común son su alta porosidad y su diámetro entre fibras, reteniendo así partículas disueltas (Criollo et. al 2020). Los biofiltros son reactores de lechos empacados con formación de biopelículas en las que residen microorganismos, estos son los encargados de degradar los contaminantes de interés. El principio de funcionamiento de los biofiltros se basa en la oxidación de las sustancias contaminantes, que es llevada a cabo por las bacterias que viven en la biopelícula, que son alimentadas por las sustancias orgánicas presentes en el aire. Se utilizan frecuentemente para el tratamiento de COVS, olores provenientes de plantas de tratamiento de aguas, instalaciones de fabricación de productos químicos (Quang, 2021).

La degradación de los compuestos disueltos en el aire depende de la capacidad de los microorganismos para degradar dichos compuestos. La columna debe ser empacada con el material que permita la propagación de las comunidades de preferencia con alta área de superficie para una mayor facilidad de adhesión.

Posteriormente, la adición de células a partir de un cultivo axénico, sea fúngico o bacteriano, a la capa de la columna del filtro. Los microorganismos entran en una etapa de aclimatación, esta tiende a ser una limitante, debido que es necesario largos periodos de tiempo para su máximo punto de eficiencia. A continuación, entran los contaminantes mientras que dentro de la columna ocurren los procesos metabólicos para que se liberen usualmente enzimas y metabolitos secundarios (Sheoran et al. 2022). Se pueden clasificar según su operación de la siguiente manera:

- Biofiltros de lecho percoladores: Estos suelen tener un flujo constante de eluyente (agua con o sin suplementos nutritivos) resultando así en el resembrado de los hongos o bacterias, controlando pH e incrementando la eficiencia. Como se observa en la Figura 3 consisten de un tanque vertical cilíndrico, con un fluído que recircula el filtro, usualmente medio de cultivo para mantener las condiciones idóneas en el sistema. En éste se agregan soportes, pueden ser orgánicos o inorgánicos, en una altura usual de 90 a 150 cm. En la parte central del filtro hay una tubería que conecta con unos aspersores ubicados en su parte superior. Estos son usualmente utilizados en el tratamiento de aguas residuales (Sheoran et al. 2022).
- Biofiltro de lecho escurrido: Consiste en una columna empacada con un soporte inerte. Mediante el lecho se alimenta el sustrato por degradar diluido con aire y una corriente líquida que tiene como objetivo aportar nutrientes necesarios para la formación de microorganismos. Estos se recomiendan para compuestos solubles en agua (Pérez, 2010).
- Biolavador: A diferencia de los anteriores, el compuesto a degradar es absorbido por en la fase líquida ubicada en una torre de absorción llena de líquido. Su funcionamiento consiste en hacer fluir gas a contracorriente a través del líquido. Posteriormente, el líquido es alimentado a un reactor empacado de un material inerte recubierto de biopelícula (Pérez, 2010).



**Figura 3. Ilustración gráfica de filtro de lecho percolador: Empaque de filtros y distintas fases, (1-3), recolector de muestras (4), bomba (5), contenedor de nutrientes (6), regulador (7), drenaje de recolección de nutrientes (8).**

Como se muestra en la Figura 3, el filtro puede estar empacado con más de un tipo de material según el fluido a tratar. Se utiliza usualmente una etapa con un único material de empaque, puede ser tierra, fertilizante o carbón activado en el caso de un compuesto sólido a tratar, se utilizan más etapas en el caso de ser un fluido gaseoso; el número de capas varía según el medio usado y cómo es que se distribuye el gas en todo el filtro.

### 2.11. Formación de biopelícula

La formación de biopelículas es utilizada por las bacterias como un medio de movilidad o la comunicación intercelular, provocando que las bacterias puedan vivir libremente en esta matriz semisólida. Algunas bacterias, forman biofilms a partir de la producción de polisacáridos y también a partir de la percepción del quórum. El quórum significa “número suficiente”, muchas procariotas utilizan mecanismos de señalización para poder comunicarse intracelularmente con células de su misma especie y algunas vías están reguladas por la densidad de células que haya en el

espacio, por ejemplo, la formación de biofilm. Por lo tanto, la formación de biofilm requiere de este sistema de quorum para poder iniciar su formación.

Los biofiltros pueden utilizar bacterias u hongos, generalmente filamentosos quienes se han probado con éxito. Ellos tienen mayor adaptabilidad a pH y concentración de humedad. Algunos de los principales hongos utilizados en biofiltros son: *Ascomycota* y *Basidiomycota* (Pleissner et al., 2014).

La formación de biofilm comúnmente se divide en 4 etapas:

1. Adherencia reversible: En esta etapa, el microorganismo se adhiere a una superficie, en este punto se le conoce como forma planctónica (microorganismos libres). La unión es temporal y se puede remover el biofilm con métodos adecuados. En bacterias Gram-negativas se ha observado que los flagelos, fimbrias y los curli son importantes para este punto, se concluye que la motilidad es un factor importante que ayuda a la bacteria a adherirse a una superficie.
2. Adherencia irreversible: Una vez anclada la bacteria, se empieza a formar una monocapa bacteriana y es cuando se comienza la formación de la matriz extracelular
3. Maduración: En esta etapa la bacteria empieza a secretar exopolisacárido, la composición de este es diferente en cada bacteria, puede variar entre alginato, celulosa, glucosa, galactosa, etc. También se ha identificado que la misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales, puede producir distintos exopolisacáridos.
4. Dispersión: Algunas bacterias empiezan a ser desprendidas del biofilm para poder colonizar nuevas superficies concluyendo el desarrollo del biofilm (Lasa et al, 2005).

#### 2.12. Parámetros importantes de la biofiltración

El contenido de humedad, contaminantes, concentración de nutrientes, pH, tasa de carga, temperatura, oxígeno, tiempo de residencia, concentración de contaminantes y el grado de contacto que hay entre el contaminante y el biofiltro. Buena parte de la depuración depende de la concentración de microorganismos que hay en el biofilm. Los parámetros utilizados para evaluar esta concentración y eficiencia son: la capacidad de carga de población (L), capacidad de eliminación (EC) y eficiencia de remoción (RE) (Sheoran et al., 2022).

### 2.12.1. Materiales de empaque

La cama central de un biofiltro, típicamente compuesta por materia orgánica como composta, turba, carbón activado, suelo o una combinación de sustratos inertes, desempeña un papel crucial en mantener las condiciones ideales para los microorganismos que descomponen contaminantes. Este soporte debe cumplir varias funciones clave, como mantener su estructura dimensional durante el proceso, proporcionar espacio suficiente libre y retener humedad. La cama debe contener entre un 50-80 % de espacio vacío, lo que permite un flujo de aire adecuado y continuo a través del biofiltro (Wu et al., 2018).

Para optimizar el crecimiento de los microorganismos y mejorar la circulación de aire, se pueden utilizar diversos medios de soporte que también aportan nutrientes. Entre los ejemplos más comunes de estos medios se encuentran la corteza de madera, fibras de coco, carbón granulado, perlita, piedra pómez y granos de poliestireno, cada uno con características que favorecen la retención de humedad y la aireación (Sheoran et al., 2022).

### 2.12.2. Contenido de humedad y tiempo de residencia

La concentración de humedad debe ser entre un 35-60 % con una entrada del aire del 90-95 % para mantener estas condiciones dentro del biofiltro.

Aquí se presenta un reto a resolver debido a que, en los filtros de lecho empacado, cuando el aire entra en contacto con éste, se pierde tiempo y espacio para hacer que interactúe el contaminante con la biopelícula, siendo esta biopelícula la encargada de remover el contaminante. El reto a resolver está presente en optimizar los diseños de incremento de biofilm, remezclar el medio y ajustar en sí la técnica de biofiltro (Sheoran et al., 2022).

### 2.12.3. Temperatura

La temperatura es un parámetro importante a considerar cuando se habla de actividad microbiana, esto debido a que el crecimiento de distintos microorganismos depende de factores como este, para que se pueda realizar de manera óptima. Se ha identificado que la mayor eficiencia ronda entre las temperaturas 25-40 °C, siendo así que los microorganismos en su mayoría son mesófilos (Lu et al., 2021).

### 2.12.4. pH

Esta característica es una de las más importantes a considerar, la mayoría de microorganismos utilizados en los biofiltros son neutrófilos. Por lo tanto, se debe mantener el pH del medio entre los 7.5-8.0. El constante flujo de los contaminantes por el biofiltro origina cambios en el pH, esto debido a que se pueden generar derivados inorgánicos ácidos, un ejemplo el H<sub>2</sub>S. También el contaminante que pudiera estar tratando, puede hacer que el pH se reduzca, La mejor manera para evitar esto es adicionar constantemente buffers, como el carbonato de calcio o piedra caliza (Sheoran et al., 2022).

### 2.12.5. Nutrientes necesarios

Se requieren de varios nutrientes como el nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, oxígeno y carbono. Los más importantes a enfocarse son el carbono y el nitrógeno, el asegurarse de expandir de manera homogénea el nitrógeno puede generar un aumento de rendimiento significativo, en un estudio evaluando la remoción del tolueno se propone una proporción de masa estequiométrica de 3.8, identificando que los microorganismos controlan el 13 % de su masa como nitrógeno y un 50 % de carbono (Zhang et al., 2020).

### 2.12.6. Entrada de contaminantes

Los compuestos más estudiados con este enfoque han sido los COVs, sin embargo existen pruebas con diferentes contaminantes como el H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, PM, NO<sub>3</sub>, etc. La fijación de los biofiltros funciona mejor cuando el contaminante es menor a 1000 ppm. Mayor concentración puede significar en obstáculos al sustrato, restando la interacción microbiana (Omri et al., 2013). Por lo tanto, a mayor concentración de contaminante, menor fijación del contaminante haciendo que baje el coeficiente de

disposición. Vergara-Fernández en 2017 sometió al tolueno a una concentración de 35 ppm en un biofiltro inoculado con *Rhodococcus erythropolis* y *Fusarium solani*, este compuesto tuvo una eficiencia de remoción del 99 % (Vergara-Fernandez et al.2017).

#### 2.12.7. Tiempo de residencia en lecho fijo (TRLF)

El tiempo de residencia del contaminante en el lecho es primordial para la eficiencia de degradación de contaminantes. A medida que el tiempo de residencia es mayor, mayor será la remoción, debido a que las moléculas del contaminante están mayor tiempo en contacto con los microorganismos y estos pueden degradarlos más, esto se puede mejorar colocando mayores volúmenes de lecho, disminuyendo el caudal o aumentar la superficie de contacto. Para aumentar el tiempo de contacto, algunos reactores reciclan una porción del escape a través del biorreactor, también en algunos casos se mezcla el soporte constantemente esto para que el cultivo microbiano se disperse más fácilmente. Al igual se pueden realizar diferentes biofiltros en serie (Lu et al., 2021).

#### 2.12.8. Tiempo de aclimatación y microorganismos

Los medios comúnmente utilizados para favorecer el crecimiento de bacterias en biofiltros incluyen suelo rico en nutrientes, composta y estiércol, debido a que estos materiales promueven el desarrollo y sostenibilidad de los microorganismos. El mecanismo de remoción del contaminante puede depender de una población microbiana específica o de una comunidad de microorganismos, según las características del compuesto a tratar.

En el caso de los contaminantes susceptibles de ser degradados por una bacteria en particular, el proceso se basa en la presencia de enzimas específicas que catalizan su transformación. Sin embargo, cuando el contaminante requiere una degradación más compleja, el proceso puede involucrar una descomposición en etapas, llevada a cabo por distintas especies microbianas. Este enfoque en cadena permite convertir el contaminante en productos finales seguros, como agua (H<sub>2</sub> O) o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub> ) (Villaverde et al., 2000).

El tiempo necesario para la aclimatación de un biofiltro varía en función de factores como la configuración del sistema, las condiciones ambientales y la naturaleza del contaminante. Si bien el inicio del funcionamiento puede requerir únicamente unos días, alcanzar el rendimiento óptimo del biofiltro puede extenderse durante varios meses, dado que los microorganismos necesitan establecerse y adaptarse para maximizar su actividad metabólica.

#### 2.12.9. Ventajas y desventajas de los biofiltros

En el Cuadro 4 se muestran ventajas y desventajas que presenta el uso de biofiltros.

**Cuadro 4. Ventajas y desventajas del biofiltro**

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Son económicos Utilizan poca energía Disminuye los contaminantes Fácil de manejo y fácil fabricación Ocupa poco espacio	No apropiado para casos repentinos (industria) Problemas de secado Problemas de estancamiento Olores Nido de insectos

#### 2.13. Bacterias usadas en biofiltros para remoción de CO

La bacteria *Oligotropha carboxidovorans*, también conocida como *Afipia carboxidovorans*, pertenece al filo *Pseudomonadota*. Esta bacteria es mesófila, motil y aerobia, y fue aislada por primera vez en aguas residuales de Gotinga, Alemania. Se caracteriza por ser carboxidotrófica, es decir, utiliza monóxido de carbono (CO) como fuente de energía, mostrando altas tasas de crecimiento en condiciones autotróficas gracias a una cadena de electrones altamente tolerante al CO. La síntesis de energía en los carboxidotrofos está relacionada con la enzima carboxihidrogenasa (CODH) (Zhang, 2021). El uso de CO como fuente de carbono es común en diversas bacterias; sin embargo, este compuesto resulta tóxico para

muchos organismos, ya que reacciona con varios metales pesados, limitando así la cantidad de bacterias capaces de metabolizarlo.

*Oligotropha carboxidovorans* posee un operón denominado *coxMSL*, el cual forma parte de un clúster de 12 genes que permite el uso de monóxido de carbono (CO) como fuente de carbono, este operón se activa únicamente en presencia de CO (Motterlini, 2009). Esta bacteria ha sido utilizada previamente en biofiltros tras ser aislada de aguas tratadas, sin embargo, estudios han demostrado que *O. carboxidovorans* no crece adecuadamente en competencia de nutrientes con otros organismos, estos tienden a proliferar con mayor rapidez (Prado et al., 2008) en medio selectivo, sin embargo, se ha logrado una eficiencia de remoción de CO de hasta un 85 % utilizando medios adecuados. Se han empleado dos tipos de soportes: piedra volcánica y piedra volcánica combinada con estiércol, utilizándose este último como agente de adherencia de la cepa a la piedra volcánica. Los resultados indicaron que las mejores condiciones de funcionamiento del biofiltro inoculado con *O. carboxidovorans* se lograron con un tiempo de retención en lecho fijo (TRLF) de 3 min y una concentración de 3950 mg/m<sup>3</sup> de CO (Jin et al., 2009).

#### 2.14. Carboxihidrogenasa E.C. 1.2.5.3 (CODH)

Esta enzima es comúnmente encontrada en bacterias carboxidotróficas, en el caso de *Afpia carboxidovornas* utiliza esta enzima para crecer de manera aeróbica y quimiolitotrófica utilizando el CO como única fuente de carbono y energía, es una enzima fundamental para el metabolismo facultativo que cataliza la oxidación de CO a CO<sub>2</sub> (Zhang et al., 2010). Se tiene registro que está presente en *Bradyrhizobium japonicum*, *Aeropyrum pernix*, *Hydrogenophaga pseudoflaba*, *Desulfovibrio vulgaris*. El CO<sub>2</sub> producido es asimilado por el ciclo de Benson-Braham, mientras que los electrones son transferidos a la vía de la quinona al sitio FAD y continúa a través de la cadena transportadora de electrones hacia un aceptor terminal O<sub>2</sub>, así como se muestra en la Figura 4 (Wilcoxen, 2011). La localización fisiológica de la enzima está en la parte interna de la membrana citoplasmática. La enzima CODH está codificada por un mega-plásmido localizado en el clúster genético *coxBCMSLDEFGHIK*. Así mismo, la sección *coxMSL* codifica una enzima heterotrimérica ( $\alpha\beta\gamma$ ) y el operón incluye dos genes (*coxF* y *coxI*), prediciendo la

producción de proteínas homólogas a la XdhC de *E.coli*, conocida esta proteína a la inserción de grupos Mo=S (Hille, 2015).

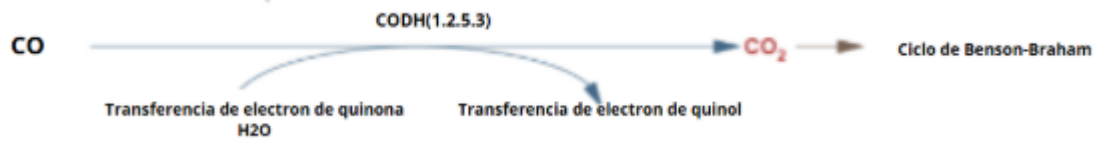


Figura 4. Reacción de la enzima CODH y su metabolismo en *O. carboxidovorans* (BRENDA:EC1.2.5.3).

La estructura de la enzima es heterodimérica (heterohexámero), contiene a su vez 5 ligandos, contiene un núcleo binuclear de Mo-Cu denominado CU(I)-S-MO(VI)(=O)OH CLUSTER (CUM), en el que el cobre está ligado al centro de la molibdopterina mediante enlaces disulfuro como se observa en la Figura 5 marcado en verde, así mismo, se puede observar en la Figura 6 la interacción del ligando con los sitios específicos de la cadena. Por otra parte, como se observa en la Figura 7, la enzima está conformada por 6 cadenas, cadena polipeptídica pequeña A y D, con una longitud de 166 aminoácidos cada una; la cadena larga polipeptídica B y E con una longitud de 740 aminoácidos cada una; por último, la cadena media polipeptídica C y F con una longitud de 270 aminoácidos cada uno (PDBe, 2002).



Figura 5. Estructura de la enzima CODH, binúcleo de Mo-Cu marcado en verde. PDB:1n5w.

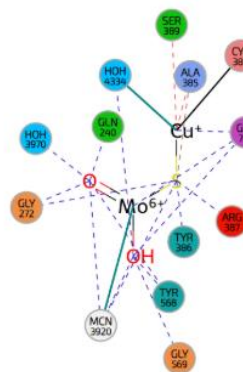


Figura 6. Ligando de CUM y sus interacciones con la cadena polimérica.

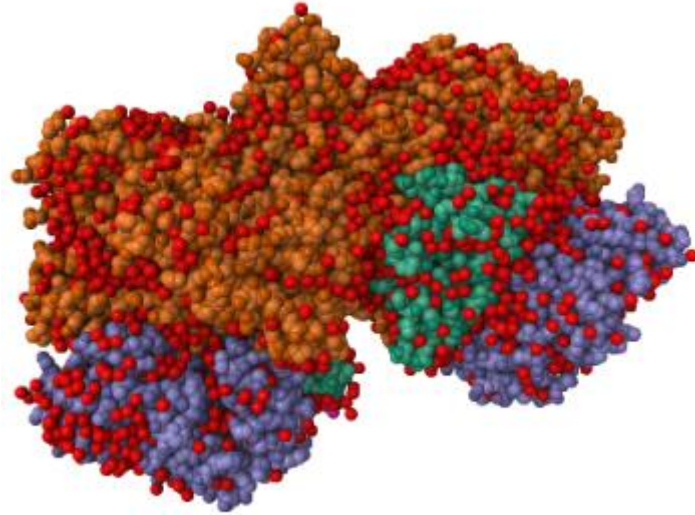


Figura 7. Superficie de la enzima CODH. Cadenas pequeñas A y D (verde), cadenas medias C y F (morado) y cadenas largas B y E (naranja), H<sub>2</sub>O (rojo), (PDBe, 2002).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 General

Evaluar la biodegradación de CO mediante el uso de un biofiltro percolador cultivado con bacteria aislada en aguas residuales usando material sustentable.

#### 3.2 Específicos

- Evaluar el crecimiento de la bacteria aislada en diferentes soportes, en presencia de CO a nivel laboratorio.
- Diseñar y elaborar un reactor de lecho fijo para evaluar el tiempo de residencia , concentración de entrada y tamaño de partícula óptimos del material de empaque.
- Evaluar el funcionamiento del reactor de lecho fijo optimizado para la remoción de CO contenido en gases del escape de un motor de combustión.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Recolección de muestras

Tomando como referencia los aislamientos previos realizados el Instituto Leibniz DSMZ y la información que se recuperó de BacDive, la bacteria conocida como *Oligotropha carboxidovorans* fue aislada principalmente de muestras acuáticas, específicamente de aguas residuales (BacDive, 2022). Se recolectaron muestras del tanque previo a la oxigenación, del tanque en oxigenación y del tanque donde se añadieron compuestos clorados, conocidos como “tanque 1”, “tanque 2” y “tanque 3”, respectivamente, de la Comisión Estatal del Agua del estado de Querétaro (CEA). Las muestras se sumergieron en probetas de 1 L a una profundidad de aproximadamente 1 m y se dejaron sedimentar durante 30 min. Posteriormente, en tubos Falcon previamente esterilizados a 121 °C y 15 PSI durante 15 min, se recolectaron 10 mL del sobrenadante de cada tanque por duplicado. Finalmente, las muestras fueron almacenadas en una hielera a 4 °C (DOF, 1980).

### 4.2 Aislamiento de microorganismos

De las muestras recolectadas en el punto previo, se elaboró el medio de cultivo conocido como medio oxidante de monóxido de carbono, encontrado en MediaDive como “DSM 1227”. La composición consistió de (g/L)  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.12),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.25),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1.18), NaCl (1.00) y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0.96),  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (3), ajustado a un pH de 7.2 en agitación constante de 150 rpm a 30 °C durante 48 h (DSMZ, 2022). Posteriormente, se realizó medio de cultivo de agar nutritivo en cajas Petri. Se cultivaron inóculos en un medio estéril, del medio líquido conocido como medio oxidante de monóxido de carbono en las cajas Petri con el agar solidificado, se incubaron durante 24 h a 30 °C. Al final se almacenaron las cajas Petri envueltas en parafilm y en un refrigerador a 4 °C.

### 4.3 Caracterización de crecimiento del microorganismo aislado en distintos soportes en microcosmos

Se realizaron experimentos para ver el crecimiento de la bacteria aislada en distintos soportes, inoculando con un medio de cultivo compuesto por (g/L)

MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub> O (0.12), KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> (0.25), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> (1.18), NaCl (1.00), NH<sub>4</sub> Cl (0.96), C<sub>2</sub> H<sub>3</sub> NaO<sub>2</sub> (3) y ajustado a un pH de 7.0 (Thermo Scientific Orion Star A11). El medio de cultivo fue esterilizado previamente en autoclave a 120 °C y 15 PSI, siguiendo el protocolo de Jin et al. (2009).

Para asegurar la ausencia de otros microorganismos, los soportes fueron esterilizados en autoclave a 120 °C y 15 PSI durante 15 min. Los soportes evaluados fueron piedra pómez, turba, piedra volcánica, vermiculita, corteza de madera y carbón activado, con el fin de analizar su influencia en el crecimiento de la bacteria. El experimento se llevó a cabo en un ambiente herméticamente sellado (30 L) que permitió inyectar CO, alcanzando concentraciones superiores a 1000 ppm en el ambiente, mediante el uso de septos estériles, lo que permitió monitorear el efecto de diferentes soportes sobre el crecimiento bacteriano. El CO se inyectó cada 24 h durante un periodo de dos semanas, utilizando un filtro para reducir el riesgo de contaminación. La concentración del CO se determinó mediante la cuantificación en ppm con el uso del medidor de CO (VEVOR CO-01).

La recolección de CO se realizó a partir de cigarrillos (SHOT, British American Tobacco, Inglaterra) utilizando una bomba de vacío para su transporte, se almacenó en globos de hule (número 36, marca "Globos payaso"). Paralelamente, otro globo fue inflado a un caudal de 10.28 L/min. Posteriormente, el CO de uno de los globos fue transferido al globo grande mediante un tubo, aprovechando la diferencia de presión para diluir el CO, obteniendo así una mezcla de CO en el globo grande para después medir su concentración de CO dentro del mismo.

#### 4.4 Cuantificación de la biopelícula en los soportes

La viabilidad de la biopelícula se evaluó por triplicado mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Al finalizar el periodo de crecimiento de la bacteria, se observó la presencia de biopelícula en la muestra. Posteriormente, la muestra se sometió a agitación en un matraz Erlenmeyer de 250 mL (Pyrex) a 150 rpm durante 30 min, diluida en 200 mL de solución salina al 0.9 % para evitar estrés osmótico. Posteriormente, se tomaron 1 mL de muestra y 9 mL de la solución salina, realizando diluciones seriadas 1:10 hasta alcanzar 10<sup>-5</sup>, asegurando la homogeneización con un vortex (Corning LSE) antes de cada pipeteo. Las muestras

fueron sembradas en placas Petri mediante la técnica de goteo y distribuidas con una barra de vidrio estéril, incubándose a 30 °C por 48 h (Thermo Scientific Forma Series 3). Finalmente, se realizó el conteo de UFC (Felisa FE-500), seleccionando las dos muestras con mayor crecimiento (Pantanella, 2011).

#### 4.5 Secuenciación del microorganismo

A partir de muestras recolectadas de los soportes inoculados con el medio, se aislaron las bacterias tomando una muestra con un asa estéril, se cultivó en un agar nutritivo y se sellaron con parafilm. Se incubaron durante 24 h a una temperatura de 30 °C. Posteriormente se enviaron al laboratorio de microbiología IPICYT, para que se pudiera extraer el ADN, analizar e identificar el gen 16S para su posterior análisis filogenético.

#### 4.6 Elaboración de biofiltros

Para el sistema experimental se emplearon tubos de PVC con un diámetro de 1.5 in. Con el fin de evaluar diversas variables en el rendimiento del sistema, se variaron tres características: el tamaño de partícula del soporte, el tiempo de retención en el lecho fijo (TRLF) y la concentración de alimentación del contaminante. Cada experimento contó con tres valores distintos de acuerdo con la característica evaluada, y se incluyó un filtro control sin bacterias inoculadas para referencia.

La inoculación de los soportes se realizó utilizando 700 mL de medio de cultivo, compuesto por (g/L):  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.12),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.25),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1.18), NaCl (1.00) y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0.96),  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (3), ajustado a un pH de 7.0. El medio se esterilizó a 120 °C y 15 PSI durante 15 min y se inoculó a partir de una cepa cultivada en agar nutritivo en caja Petri. Posteriormente, el medio se agitó a 120 rpm durante 48 h a 30 °C. El soporte constituido por piedra pómez y piedra volcánica fue esterilizado a 120 °C y 15 PSI durante 15 min. Los soportes se dejaron en agitación junto con el medio de cultivo previamente inoculado durante 24 h a 120 rpm. Finalmente, las piedras se retiraron mediante un colador y se añadieron al tubo de PVC.

La recolección de CO se realizó conforme al procedimiento descrito en la sección 4.3. Una vez obtenido el CO diluido en aire, se conectó una válvula de regulación

para controlar la velocidad de flujo de alimentación. Como se observa en la Figura 8, este flujo pasó a través de un humidificador, que consistió en un recipiente con agua y un tapón perforado doble: por un orificio se introdujo un tubo de vidrio que llegó al fondo del recipiente y se conectó a la válvula de regulación; por el otro orificio se liberó el CO diluido y humidificado. Este proceso permitió mantener los filtros humedecidos para optimizar el rendimiento.

Posteriormente, el contaminante se distribuyó mediante conectores tipo "T". Cada conector contó con una tapa de rosca adaptada para embonar con precisión en el filtro, cumpliendo dos objetivos: (1) sellar el sistema lo mejor posible para evitar fugas y (2) permitir el montaje y desmontaje sencillo del filtro, lo cual facilitó la medición del flujo de alimentación de contaminante en cada filtro. La medición del flujo se realizó a una distancia aproximada de 2 cm para evitar obstruir la salida y acumular el flujo, lo cual podría distorsionar los datos. La distancia evitó que el contaminante se diluyera rápidamente en el ambiente, preservando la precisión de las mediciones. Así mismo, la medición de la concentración del CO tanto como para la entrada y salida del filtro, se determinó mediante el uso del medidor de CO (VEVOR CO-01).

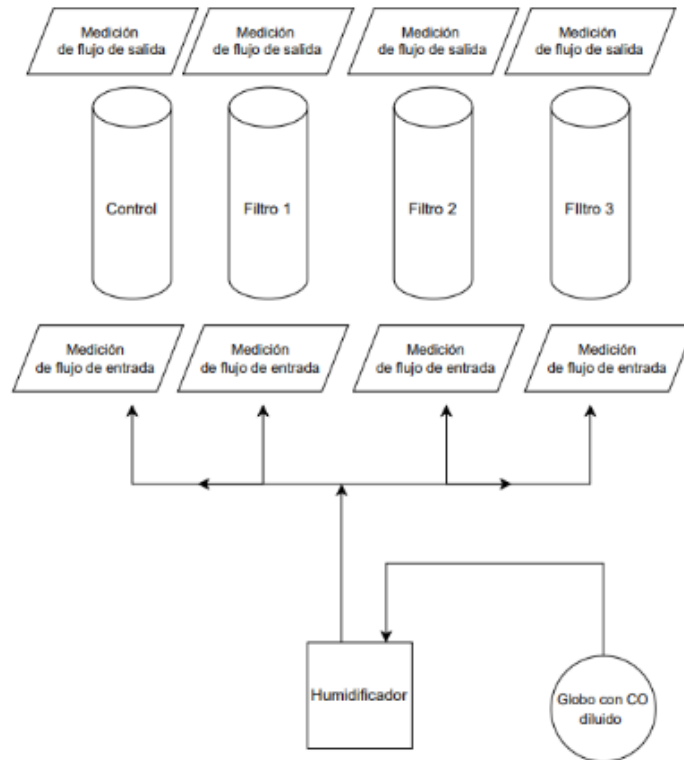


Figura 8. Diagrama del funcionamiento de los biofiltros.

#### 4.6.1 Tamaño de partícula

Se emplearon tres tamaños distintos de partículas: el filtro 1 y el control con un tamaño mayor a 9.5 mm, el filtro 2 de 9.5 a 6.3 mm, y el filtro 3 de 6.3 a 4.76 mm. Estos estuvieron rellenos con una mezcla 50:50 (v/v) de piedra volcánica y piedra pómez como soporte en cada filtro. La alimentación del filtro se mantuvo con un caudal de 126 mL/h y un rango de concentración de 50 a 250 ppm. La medición de concentración de entrada y salida del CO se describe en la sección 4.6. La experimentación con estas condiciones duró un mes, y los análisis se realizaron cada 24 h.

#### 4.6.2 Tiempo de retención en el lecho fijo (TRLF)

Se utilizó un tamaño de partícula de entre 4.7 y 6.3 mm para todos los filtros. Además, se empleó una mezcla 50:50 (v/v) de piedra volcánica y piedra pómez como soporte en cada filtro. La variable entre cada filtro fue la longitud, con el objetivo de analizar si una mayor permanencia del contaminante en el filtro resultó en una mayor remoción. Las longitudes fueron: 23 (filtro 1), 33 (filtro 2, control) y 43 cm respectivamente (filtro 3). Las mediciones se realizaron de la misma manera

descrita en la sección 4.6. La experimentación duró un mes, y se alimentó el filtro cada 24 h, con una duración de 2 h. La alimentación del filtro se mantuvo con un caudal de 126 mL/h y una concentración de 50 a 250 ppm.

#### 4.6.3 Concentración del contaminante

Se utilizaron tubos de PVC de 1.5" de diámetro con la longitud con la que se obtuvo el mejor resultado en el experimento de TRLF y de la misma manera se utilizó el lecho con el tamaño de partícula con mejor valor de remoción en la fase experimental de tamaño de partícula. El material de empaque fue una mezcla 50:50 (v/v) de piedra volcánica y piedra pómez como soporte en cada filtro. La alimentación del filtro se mantuvo con un caudal de 126 mL/h y un rango de concentración variada. El control y el filtro 1 estuvieron alimentados en un intervalo de 10-110 (ppm), el filtro 2 fue alimentado en un intervalo de 50-300 (ppm) y el filtro 3 fue alimentado en un intervalo de 100-600 (ppm). Las mediciones se realizaron de la misma manera descrita en la sección 4.6.

#### 4.6.4 Uso de prototipo en motor de combustión

Se probó la viabilidad del biofiltro en la reducción de emisiones de CO en un motor de combustión, para probar su funcionamiento en un contexto real. Una vez obtenidos los datos sobre las condiciones óptimas de operación del biofiltro, se construyó un prototipo con las características idóneas. Este prototipo fue evaluado utilizando el medidor de monóxido de carbono (VEVOR CO-01). En primer lugar, se registró la cantidad de CO emitido por el vehículo sin el biofiltro durante un periodo de 5 min. Posteriormente, se instaló el biofiltro en el escape de un motor (Motor: 2.4 L, VVT, 16 válvulas) y se operó durante 15 min diarios, una vez al día, por quince días. Al final del periodo de prueba, se midió nuevamente la cantidad de CO emitido con el biofiltro instalado. Esto permitió calcular y comparar la cantidad de CO emitido con y sin el biofiltro, evaluando así si la remoción fue significativa para el control de emisiones.

#### 4.7 Análisis estadístico

Se evaluó la eficiencia de remoción del contaminante con las condiciones experimentales descritas en la sección 4.6 mediante análisis estadísticos separados en tres fases independientes, estas fueron correspondientes a: tamaño de partícula,

concentración de entrada y TRLF. Para los tratamientos y el control, se calcularon la media, desviación estándar, el error estándar de la media, y los intervalos de confianza al 95% (IC95%) de porcentaje de remoción. Estos valores se utilizaron para representar los resultados en gráficas de barras y líneas con barras de error.

#### 4.7.1 Cálculo de eficiencia de remoción

La eficiencia de remoción se determinó mediante la siguiente ecuación :

**Ecuación 2**

$$\% \text{ de remoción} = \frac{C_{\text{entrada}} - C_{\text{salida}}}{C_{\text{entrada}}}$$

donde  $C_{\text{entrada}}$  y  $C_{\text{salida}}$  representan las concentraciones del contaminante antes y después de la filtración, respectivamente.

#### 4.7.2 Pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas

Con el fin de evaluar si existían diferencias estadísticamente significativas en la eficiencia de remoción del CO entre los diferentes tipos de filtros que se evaluaron durante las pruebas 4.6, se llevaron a cabo análisis estadísticos utilizando los datos obtenidos al momento de medir por triplicado la concentración de entrada y la concentración de salida de cada filtro por día. A partir de estas mediciones individuales, se calculó el porcentaje de remoción para cada muestra obtenida, empleando la fórmula estándar mostrada en la ecuación 2. Esto permitió obtener un conjunto robusto de datos individuales que representaron de manera precisa la variabilidad natural del sistema de filtración.

Una vez calculado el porcentaje de remoción por muestra, los datos se organizaron por grupo experimental y fueron sometidos a un análisis estadístico. Previamente a la comparación entre tratamientos, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene, respectivamente. Estas pruebas determinaron la validez del uso de análisis estadísticos paramétricos, como el análisis de varianza (ANOVA) (Field, 2018). Si los

datos cumplieron dichos supuestos, se aplican un ANOVA de un factor, el cual permitió comparar las medias de remoción entre más de dos grupos independientes y establecer si al menos uno de ellos era significativamente diferente de entre los demás.

Debido a la naturaleza ambiental de los datos, el uso de porcentajes como variable de respuesta y la posible presencia de asimetría en las distribuciones, también se consideró necesario aplicar una prueba no paramétrica, como la prueba de Kruskal-Wallis, que permitió comparar las distribuciones de tres o más grupos sin asumir normalidad ni igualdad de varianzas (Ghasemi & Zahediasl, 2012). Esta prueba fue especialmente útil cuando se trabajó con datos experimentales en los que las condiciones ideales para pruebas paramétricas no pudieron garantizarse plenamente. Finalmente, el análisis se complementó con herramientas gráficas como diagramas de caja (boxplots), que permitieron visualizar de manera clara la dispersión, la mediana y los valores atípicos de los porcentajes de remoción para cada grupo.

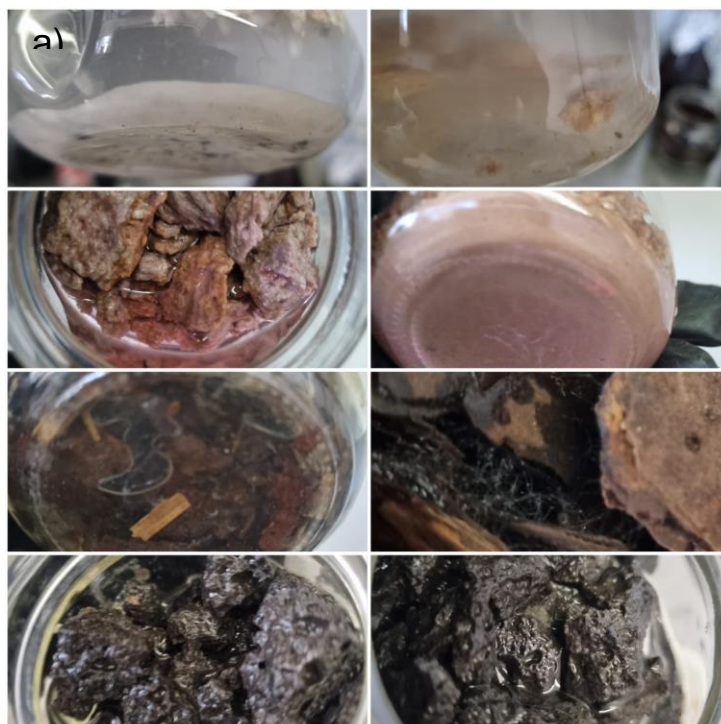
## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Caracterización de crecimiento de biofilm en soportes**

Durante la primera semana de crecimiento en los soportes evaluados bajo condiciones de microcosmos, se observaron diferencias notables entre los materiales. En el carbón activado se formó un depósito rígido en el fondo del envase, sin evidencia de desarrollo de biopelícula en ninguna de las réplicas. En la vermiculita se identificaron zonas con tonalidades que variaron de amarillo a amarillo-crema en la superficie de las piedras; sin embargo, no se detectó formación de biopelícula. La turba presentó un depósito en el fondo del envase acompañado de una consistencia viscosa en el lecho, y en una de las muestras se registró contaminación por hongo filamentoso en la superficie. En el caso de la piedra pómez, el medio de cultivo mostró turbidez con coloración blanco-amarillenta y presencia de biopelícula en algunas piedras. En la segunda réplica de este soporte se observaron tonalidades rosadas en el medio, además de formación de biofilm en las piedras y acumulación de material en el fondo. La corteza de madera, en su primera muestra, no presentó crecimiento de biofilm ni contaminación por hongos;

sin embargo, en la segunda se evidenció un desarrollo notorio de biofilm, predominantemente en el fondo del envase, sin indicios de hongos filamentosos. Finalmente, la piedra volcánica mostró formación de un depósito en el fondo y crecimiento de colonias blancas sobre las piedras; en su segunda réplica se identificó contaminación con hongo filamentosos, ausencia de turbidez en el medio y presencia de aglomerados bacterianos de color blanco.

Durante la segunda semana, los resultados presentaron variaciones. En la piedra volcánica se evidenció la formación de un biofilm de tonalidad grisácea, acompañado de estructuras puntiformes blancas tanto en el depósito del fondo como en la superficie de las piedras. En la segunda réplica se desarrollaron colonias blancas adicionales y un biofilm de color verde oscuro. La turba presentó puntos blancos en el depósito del fondo del envase, fenómeno que también se observó en la réplica, la cual, además, mostró contaminación por hongo filamentosos. En la vermiculita se registró la formación de un depósito sólido en el fondo del envase y la aparición de estructuras puntiformes blanco-amarillentas en la superficie de las piedras. La corteza de madera presentó turbidez en el medio y abundante contaminación por hongo filamentosos, acompañada de un biofilm de aspecto blanco-transparente y brillante, distribuido de manera generalizada en la superficie del soporte. La piedra pómez mostró elevada turbidez y un incremento en la viscosidad del medio; en la segunda réplica se observó la formación constante de un depósito en el fondo, así como coloración rosada en el medio, diferencia notable con respecto a su duplicado. Finalmente, en el carbón activado, tanto en la muestra original como en su réplica, se detectó contaminación por hongo filamentosos, además de la formación de un depósito sólido en el fondo del envase, sin indicios de biofilm en ninguna de las réplicas.



**Figura 9. Comparación de crecimiento de biopelícula en soportes. a) Se presentan los soportes de vermiculita, piedra pómez, corteza de madera y piedra volcánica, respectivamente, una semana después del inoculado. b) Se muestran los mismos soportes (vermiculita,**

## 5.2 Cuantificación de UFC

En la cuantificación de unidades formadoras de colonia (UFC) mediante la técnica de diluciones seriadas inoculadas mediante el frote de asa estéril en agar nutritivo, se determinó que el soporte con mayor crecimiento, incluso a la dilución  $10^{-5}$ , correspondió a la piedra pómez en su segundo duplicado, seguido por la piedra volcánica en su primer duplicado. No obstante, el segundo duplicado de piedra volcánica no presentó crecimiento en la mayoría de las cajas, registrando únicamente una UFC en la dilución  $10^{-3}$ .

En el caso de la corteza de madera, se observaron valores elevados de UFC en las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ . De hecho, en el primer duplicado de la corteza 1 no fue posible realizar el conteo de colonias debido a la alta densidad, la cual impidió distinguirlas de manera individual. Sin embargo, en la dilución  $10^{-5}$  los valores registrados fueron menores en comparación con los obtenidos en piedra volcánica y piedra pómez.

El carbón activado presentó un crecimiento prácticamente nulo en ambos duplicados. En cuanto a la vermiculita, los duplicados mostraron un comportamiento similar, con un crecimiento considerable en las primeras diluciones, aunque en la dilución  $10^{-5}$  los valores permanecieron por debajo de los observados en otros soportes. Finalmente, en las muestras de turba se observaron diferencias marcadas entre duplicados: el primero mostró un crecimiento prácticamente nulo, mientras que el segundo presentó un comportamiento dentro del rango esperado; sin embargo, en la dilución  $10^{-5}$  no se registró crecimiento.

**Cuadro 5. Resultados de la cuantificación de UFC/mL en diluciones de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ , inoculadas en cajas petri.**

Soporte	Dilución (UFC/mL)		
	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Piedra pómez 1	135	33	1
Piedra pómez 2	344	110	23
Turba 1	2	0	1
Turba 2	54	16	0
Piedra Volcánica 1	816	116	14
Piedra Volcánica 2	1	0	0
Corteza 1	-	166	6
Corteza 2	548	78	5
Vermiculita 1	87	2	7
Vermiculita 2	75	10	3
Carbón Activado 1	1	0	0
Carbón Activado 2	2	0	0

### 5.3 Secuenciación del microorganismo

Los resultados de la secuenciación del gen 16s realizada por el IPICYT muestran las bases nitrogenadas en el siguiente orden:

```
>Secuencia_1
GGGGGTATCGGACTACTGGGCGTAAGCGTGCGTAGGTGGTTGTTTAAGTCTGT
TGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAACTGCAGTGGAACTGGACA ACTAGA
GTGTGGTAGAGGGTAGCGGAATTCCCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATC
GGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCAACACTGACACTGAG
GCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCT
```

AAACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTGA  
CGCGTTAAGTTCGCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAGAGGA  
ATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTTCGATGCAACG  
CGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTGCGAGA ACTTTCCAGAGATGGATTGGT  
GCCTTCGGGAACTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTGTCGTCAGCTCGTGTCTG  
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCAG  
CACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGACCGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG  
TGGGGATGACGTCCAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTACT  
ACAATGGTGGGGACAGAGGG

>Secuencia\_2:

CACACGGCAACCGTGGCAGCGCCCTCCCGAAGGTTAAGCTACCTGCTTCTGGT  
GCAACAAACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTAT  
TCACCGCAGCAATGCTGATCTGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTGC  
AGTTGCAGACTCCAATCCGGACTGAGATGGGGTTTCTGGGATTGGCTTACCGT  
CGCCGGCTTGCAGCCCTCTGTCCCCACCATTGTAGTACGTGTGTAGCCCTGGC  
CGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCG  
GCGGTCTCCTTAGAGTTCCCACCATTACGTGCTGGCAACTAAAGACAAGGGTTG  
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCATGACACGAGCTGACGACGGCCA  
TGCAGCACCTGTGTTTCGAGTTCCCGAAGGCACCAATCCATCTATGGAAAGTTCT  
CGACATGTCAAGGCCAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAAGTAAACCACATA  
CTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACC  
GTA CTCCCCAGGCGGCGAACTTAACGCGTTAGCTTCGATACTGCGTGCCAAATT  
GCACCCGACATCCAGTTCGCATCGTTTAGGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAA  
TCCTGTTTGTCTCCCACGCTTTCGTGCCTCAGTGTGAGTGTGGTCCAGGTAGC  
TGCCTTCGCCATGGATGTTCTCCCGATCTCTACGCATTTCACTGCTACACCGG  
GAATTCCGCTACCCTCTACCACACTCTAGTTGTCCAGTTTCCACTGCAGTTCCC  
TCGGTTGAGCCCAGGGCTGTTCAACACAGACCTAAGACGACTCACCTACTCAC  
GACTTTACGCCGAGTAGTTCCTGAGTAACGACTAGCACCCATCGTATACGCG  
GGGCGGGCGGCGGATGATGAAAAAA

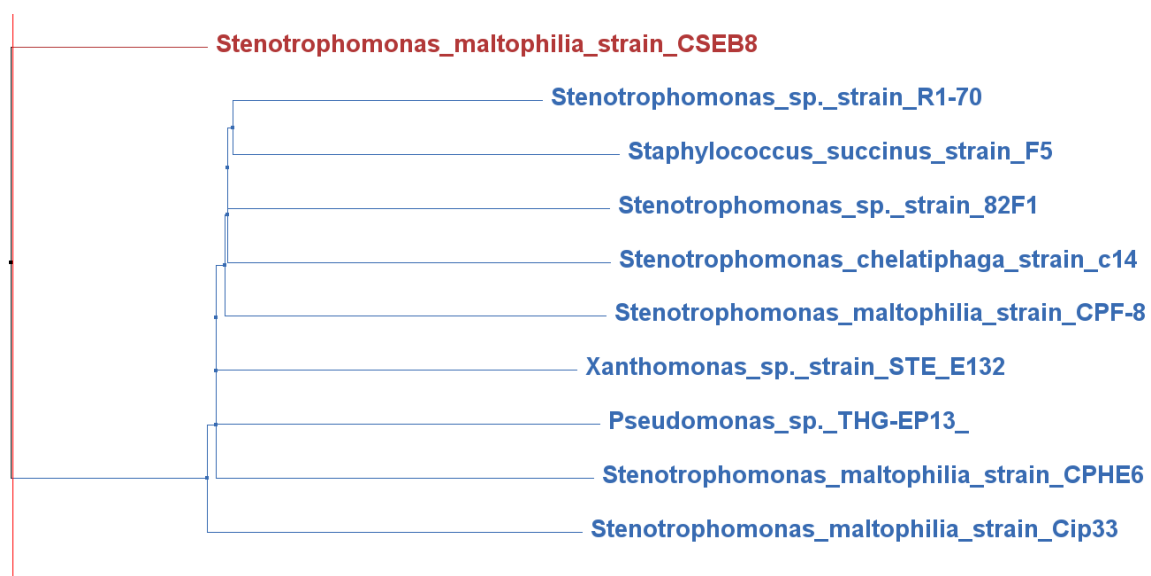
Al ingresar ambas secuencias en el *software* BLASTn de NCBI, se obtuvieron, como se muestra en el Cuadro 6, dos microorganismos de interés pertenecientes al género *Stenotrophomonas*. No obstante, se observó divergencia a nivel de especie: una de las secuencias correspondió a *Stenotrophomonas maltophilia*, mientras que la otra se identificó como una especie no especificada, asociada a la cepa Cf14. Los valores de alineamiento reportaron un *E-value* de 0.0, un *query cover* entre 97 % y 98 %, así como un *Max score* de 1655 y 1653, respectivamente.

Adicionalmente, se construyó el árbol filogenético representado en la Figura 10, el cual muestra la relación evolutiva entre los géneros *Stenotrophomonas*, *Xanthomonas* y *Pseudomonas*, así como entre las distintas especies dentro de cada género.

El alineamiento se realizó utilizando secuencias obtenidas a partir de los resultados del análisis BLASTn, seleccionando aquellas con mayor similitud respecto a la secuencia del gen 16S rRNA previamente obtenida de la muestra bacteriana en estudio. Las secuencias fueron alineadas para la posterior construcción del árbol filogenético mediante el *software* Jalview.

**Cuadro 6. Resultados de similitud de la base de datos en BLASTn (NCBI,2025).**

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident
<a href="#">Stenotrophomonas sp. strain Cf14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1655	1655	97%	0.0	98.01%
<a href="#">Stenotrophomonas maltophilia gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: IAM 1566</a>	1653	1653	98%	0.0	97.82%



**Figura 10. Árbol filogenético del alineamiento de secuencias resultantes de BLAST- NCBI.**

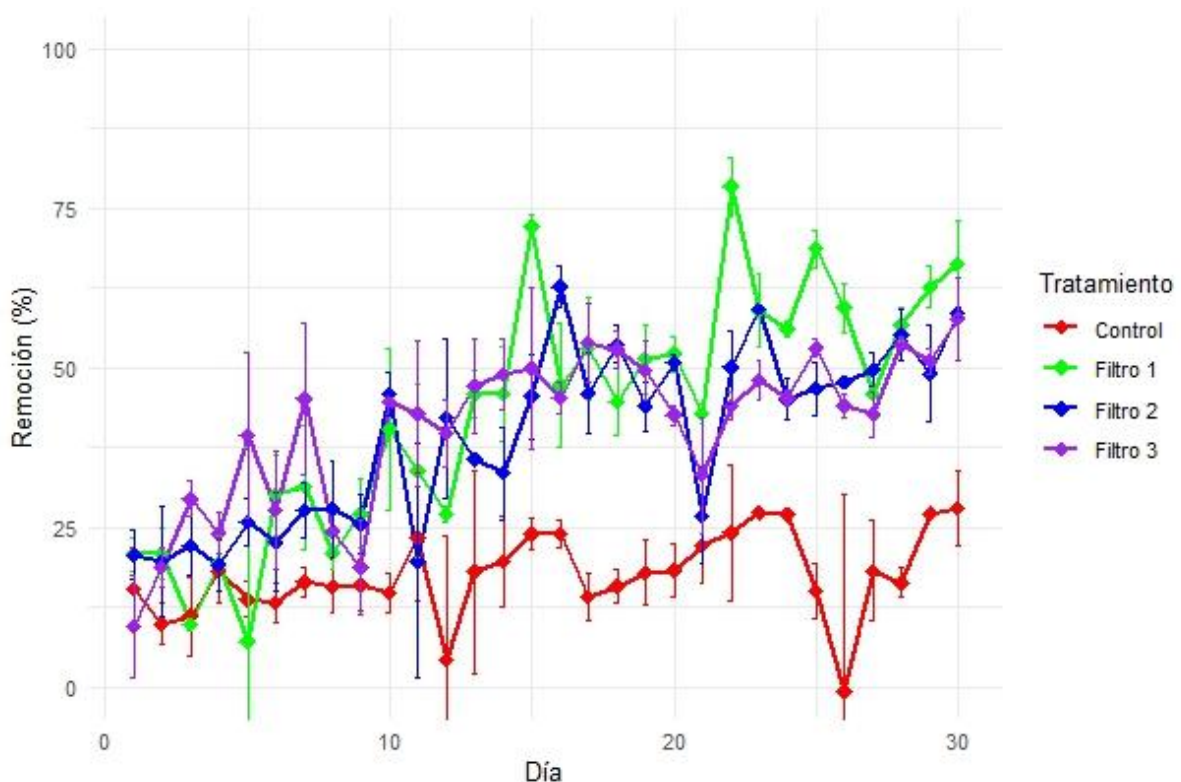
#### 5.4 Evaluación de Tamaño de partícula

Como se observa en la Figura 11, los valores de remoción de los diferentes filtros fueron significativamente similares; sin embargo, el control, que presentó el mismo tamaño de partícula que el Filtro 1, mostró una remoción considerablemente menor en comparación con los Filtros 1, 2 y 3. La remoción inicial en todos los filtros osciló entre 9 % y 24 %.

En los filtros inoculados con *Stenotrophomonas* sp., la remoción aumentó progresivamente con el tiempo hasta estabilizarse alrededor del día 14. En los

primeros 15 días, el filtro 1 incrementó su remoción del 21.47 al 72.43 %, lo que representa un aumento del 48.96 %. En la segunda etapa, del día 15 al 30, la remoción disminuyó ligeramente, pasando del 72.43 al 65.58 %, es decir, una reducción del 6.85 %. El filtro 2 presentó un incremento del 20.42 al 45.56 % en los primeros 15 días (aumento de 25.14 %), seguido de un aumento del 45.56 al 58.47 % en la segunda etapa (incremento de 12.91 %). Por su parte, el filtro 3 aumentó su remoción del 9.94 al 53.62 % en la primera etapa (incremento de 43.68 %), y posteriormente del 53.62 al 60.16 % en la segunda etapa (incremento de 6.54 %).

En contraste, el control incrementó su remoción del 15.92 al 23.91 % en los primeros 15 días (aumento de 8 %) y del 23.91 al 27 % en la segunda etapa (incremento de 3.09 %), manteniendo un comportamiento relativamente constante durante todo el experimento. Entre los filtros inoculados, el que mostró la mayor eficacia de remoción fue el número 1, alcanzando un 78.41 % al día 22. Considerando que el control correspondiente removió un 24.15 %, se atribuye a la acción de la bacteria una contribución de 54.26 % en la remoción del contaminante.



**Figura 11. Resultados de % de remoción del contaminante en la prueba Tamaño de partícula, Filtro 1 (Azul) y el Control (Rojo) con un tamaño >9.5 mm, el Filtro 2 (Verde) de 9.5 a 6.3 mm, y el Filtro 3 (Morado) de 6.3 a 4.76 mm.**

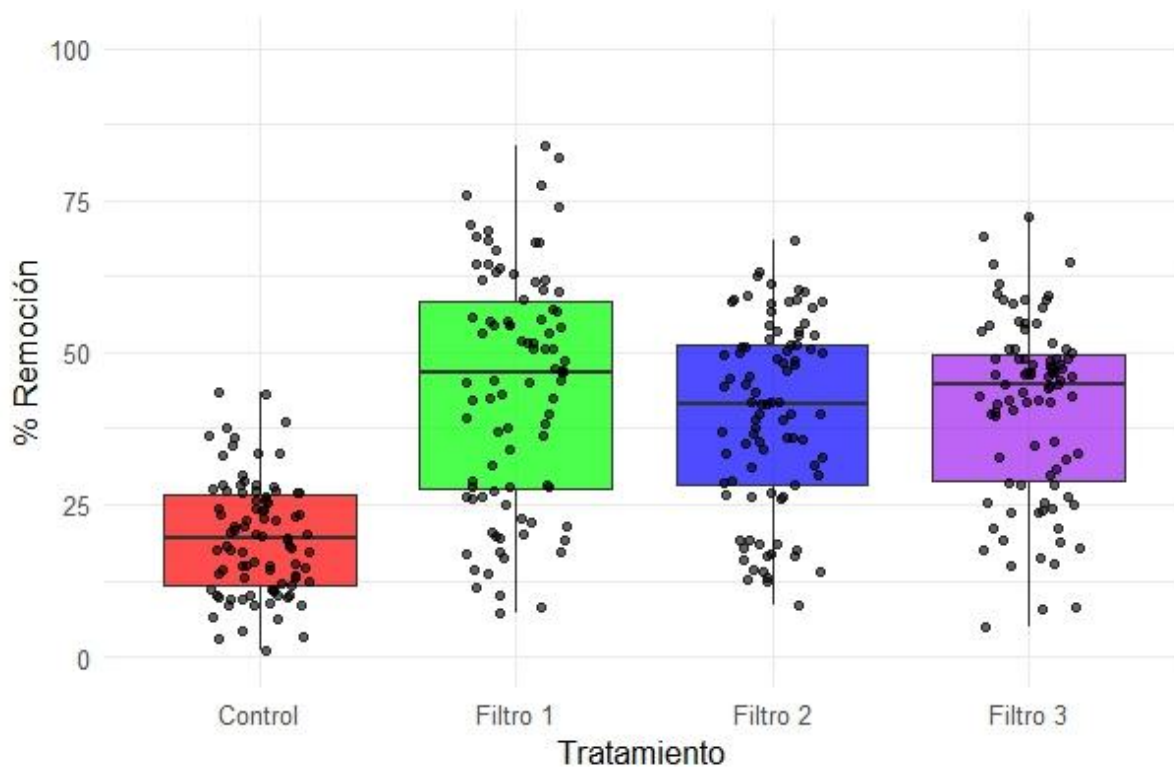


Figura 12. Boxplot de Remoción del CO variando el tamaño de partícula.

### 5.5 Evaluación de TRLF

Como se observa en la Figura 13, los valores de remoción se mantuvieron en un intervalo similar a lo descrito en el apartado 5.4, mostrando una clara tendencia creciente en los filtros inoculados (1, 2 y 3) en comparación con el control. El filtro 1 alcanzó el valor máximo de remoción, con un 69.75 % al día 25.

En esta prueba, las diferencias entre variantes fueron menores respecto al experimento anterior. Al inicio, el filtro 1 presentó una remoción del 15 %, el filtro 2 del 16 %, el Filtro 3 del 20 % y el control del 7 %. Transcurrida la segunda semana, los valores incrementaron a 29 % en el Filtro 1, 27 % en el Filtro 2, 20 % en el Filtro 3 y 9 % en el control. Al finalizar el mes, los filtros registraron incrementos adicionales: 10 % en el Filtro 1, 15 % en el Filtro 2, 10 % en el Filtro 3 y 9 % en el control.

Si bien el Filtro 1 fue el que alcanzó la máxima remoción puntual, el Filtro 2 presentó el mejor desempeño en términos de eficiencia promedio, con un 41.57 % de remoción. En contraste, el control mostró un rendimiento promedio de 17.57 %, lo que permite atribuir aproximadamente un 24 % de eficiencia de remoción a la acción de la bacteria inoculada.

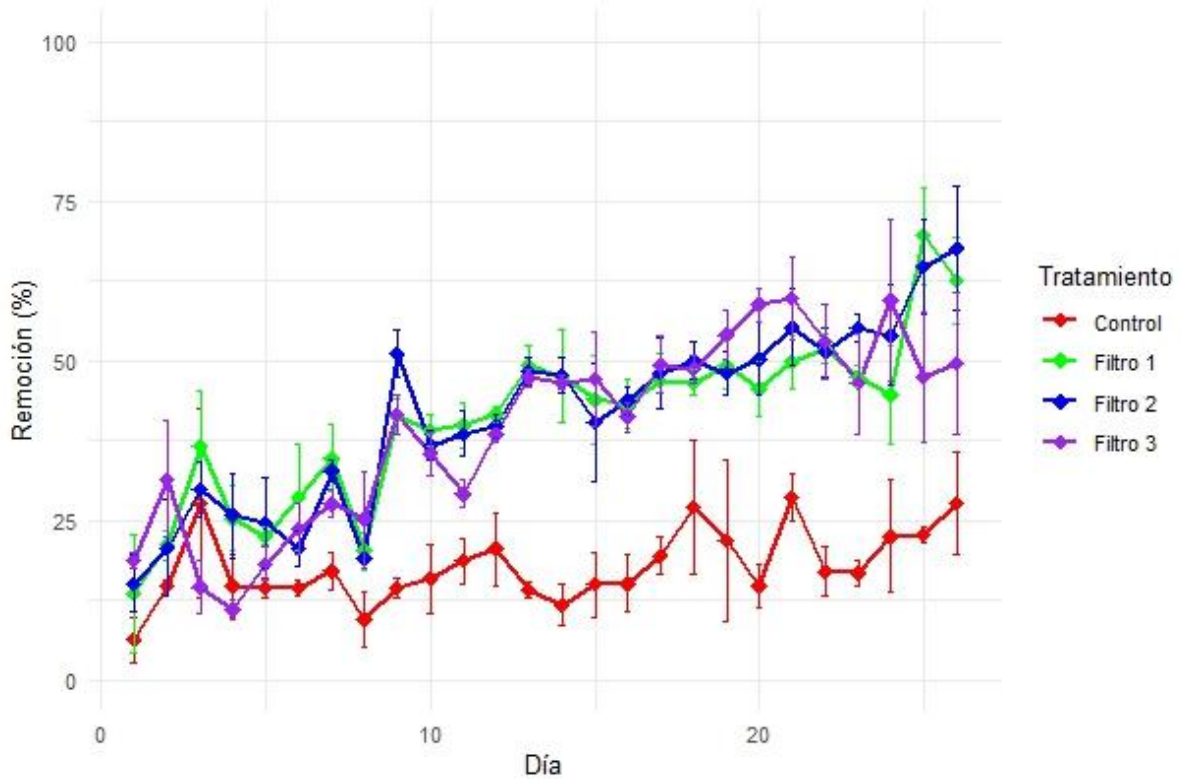


Figura 13. Resultados de % de remoción del contaminante en la prueba de Tiempo de retención en el lecho fijo (TRLF) Filtro 1-Azul (23 cm), Filtro 2- Verde (33 cm), Control- Rojo (33 cm) y Filtro 3- Morado (43 cm).

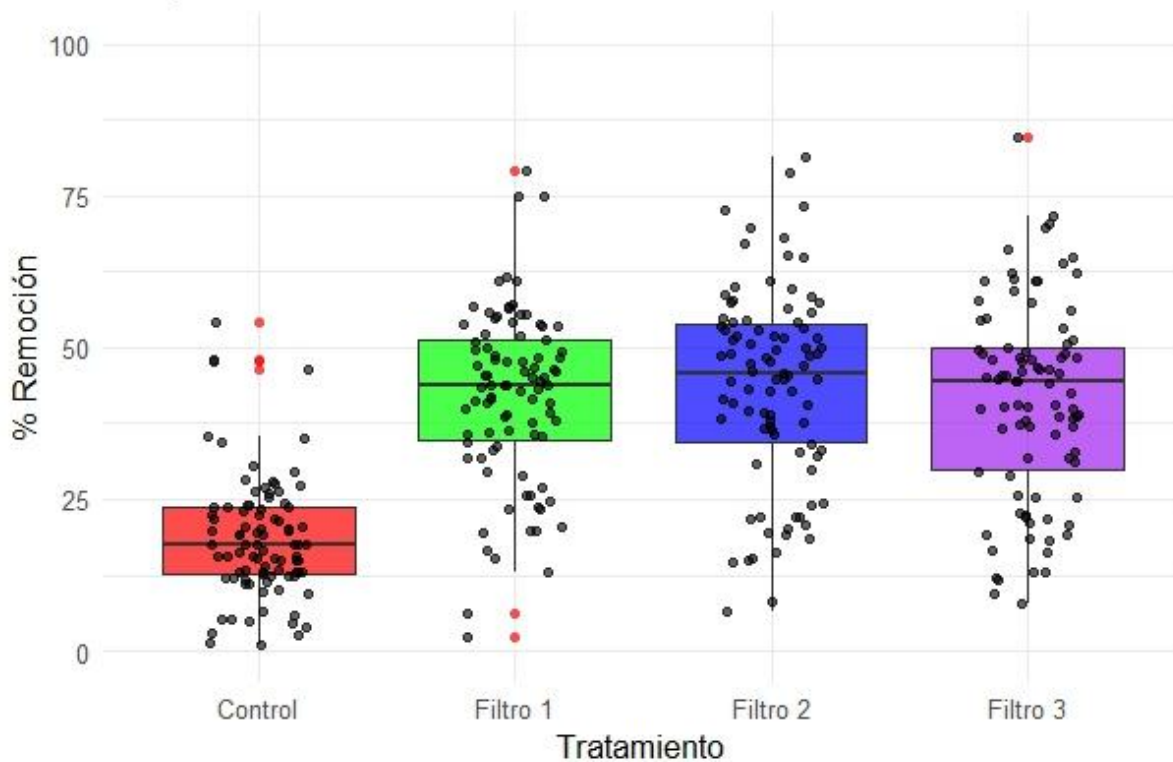


Figura 14. Boxplot de Remoción de CO con variable Tiempo de retención en lecho fijo (TRLF). Puntos rojos (outliers).

### 5.6 Evaluación de concentración de entrada del contaminante.

En esta prueba se observó una marcada diferencia entre los tratamientos, evidenciando que, a medida que la concentración aumenta, la eficiencia de remoción disminuye. Al igual que en las pruebas anteriores, las eficiencias de remoción iniciaron con valores similares entre sí, mientras que el control mantuvo su actividad en un rango entre 6 y 24 %.

En cuanto a los filtros inoculados, el 1 presentó un intervalo de remoción de entre 25 y 64 %, alcanzando el valor máximo de remoción y registrando un promedio de 43.18 %. Durante la primera etapa aumentó su eficiencia en un 15 %, mientras que en la segunda etapa incrementó en un 25 %.

El 2 mostró eficiencias en un intervalo de entre 19 y 54 %. Durante las dos primeras semanas incrementó su remoción en un 23 %, mientras que en la segunda etapa apenas presentó un aumento del 1 %. Aunque alcanzó valores máximos de 54 %, concluyó el experimento con un 43 % de eficiencia y un promedio de 34.49 %.

Por su parte, el Filtro 3 tuvo un comportamiento más variable, con valores entre 6 % y 39 %. En la primera etapa inició con 23 % y alcanzó un 36 % al día 15, lo que representó un incremento del 13 %. Sin embargo, en las siguientes dos semanas disminuyó hasta un 30 %, es decir, 6 % menos que en el día 15, aunque alcanzó un pico máximo de 39 % en el día 19.

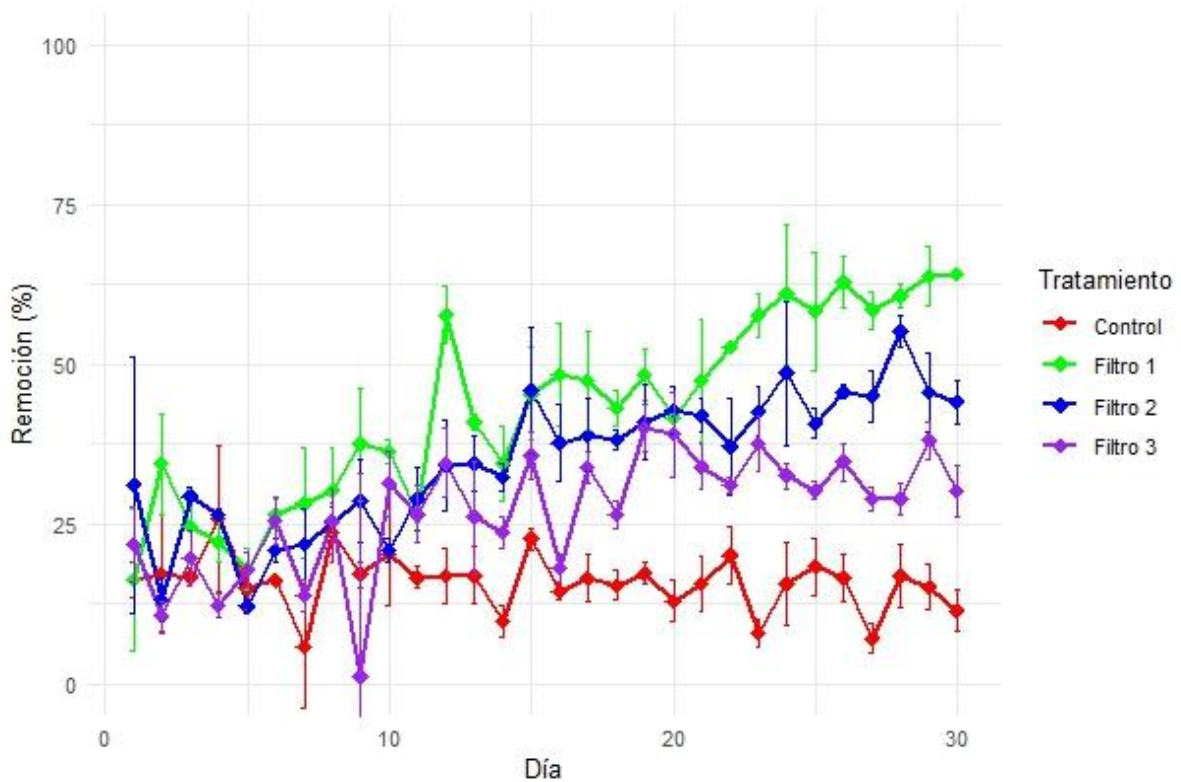


Figura 15. Resultados del % de remoción de concentración de entrada del contaminante. El control (Rojo) y el filtro 1 (Azul) alimentados en un intervalo de 10-110 (ppm), el filtro 2 (Verde) alimentado en un intervalo de 50- 300 (ppm) y el filtro 3 (Morado) alimentado a un intervalo de 100-600 (ppm).

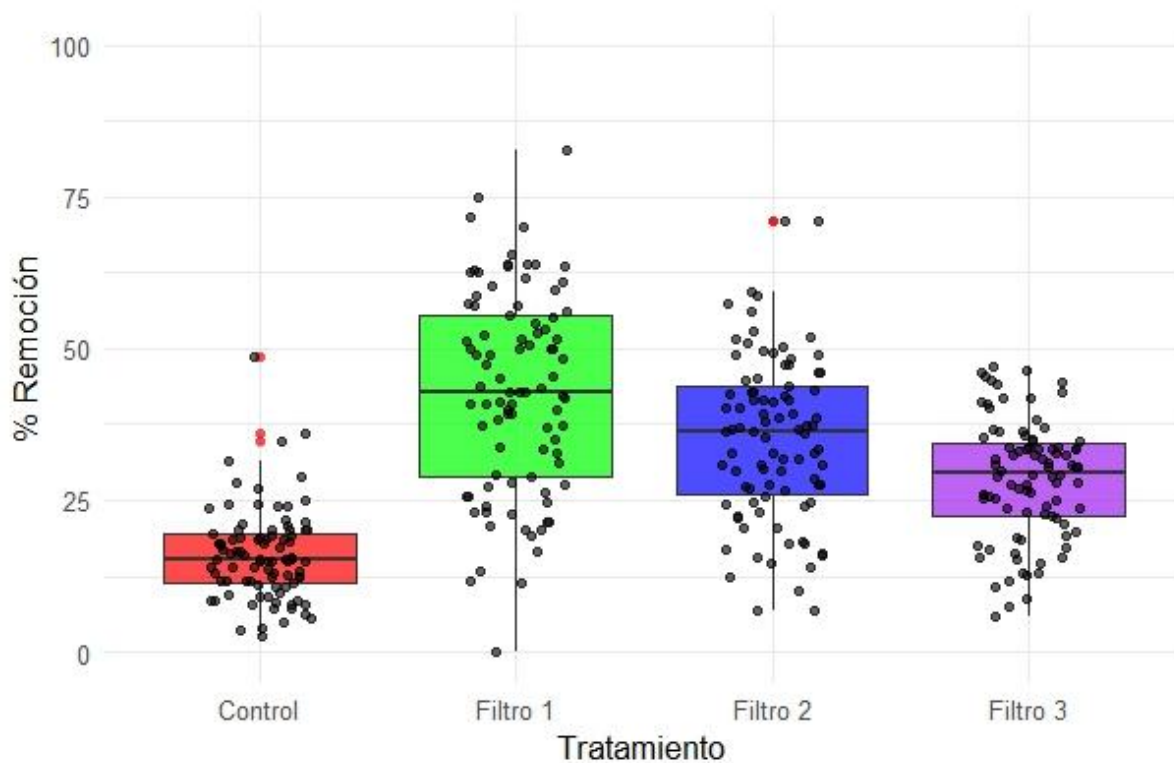


Figura 16. Boxplot de remoción de CO con variable de concentración.

### 5.7 Evaluación de prototipo en motor de combustión

Los resultados de este apartado se muestran en las Figuras 17-18. Como se observa, la duración en esta ocasión fue de 15 días. Los valores máximos de remoción del filtro fueron de 30% aproximadamente, así mismo como lo es del control. Aunque si bien hay una tendencia de mayor remoción del filtro, al final de los 15 días, el control obtuvo valores mayores que el filtro inoculado. El control mantuvo un comportamiento constante de remoción va entre el 5-10% sin tomar en cuenta el valor que se dispara en el día 12, teniendo un valor del 20% de remoción. Por parte del filtro inoculado, muestra un comportamiento inicial similar al de las otras pruebas, tiene un ascenso lento hasta alcanzar el día 6, a partir de ese punto el filtro tiene una bajada de eficiencia de la cual no logra recuperarse.

Por parte de la Figura 18, se muestra una distribución de datos variable, teniendo datos que en ambos casos van desde el 0% de remoción hasta un 42% por parte del filtro y un 45% por parte del control. En el caso del filtro, el rango intercuartílico (RIQ) es mayor que el control, infiriéndonos que los datos en comparación al control son más dispersos. Así mismo por parte de del Q3 del filtro, se muestra que su

distribución de datos es más amplia que el control, la distribución de datos del control es baja.

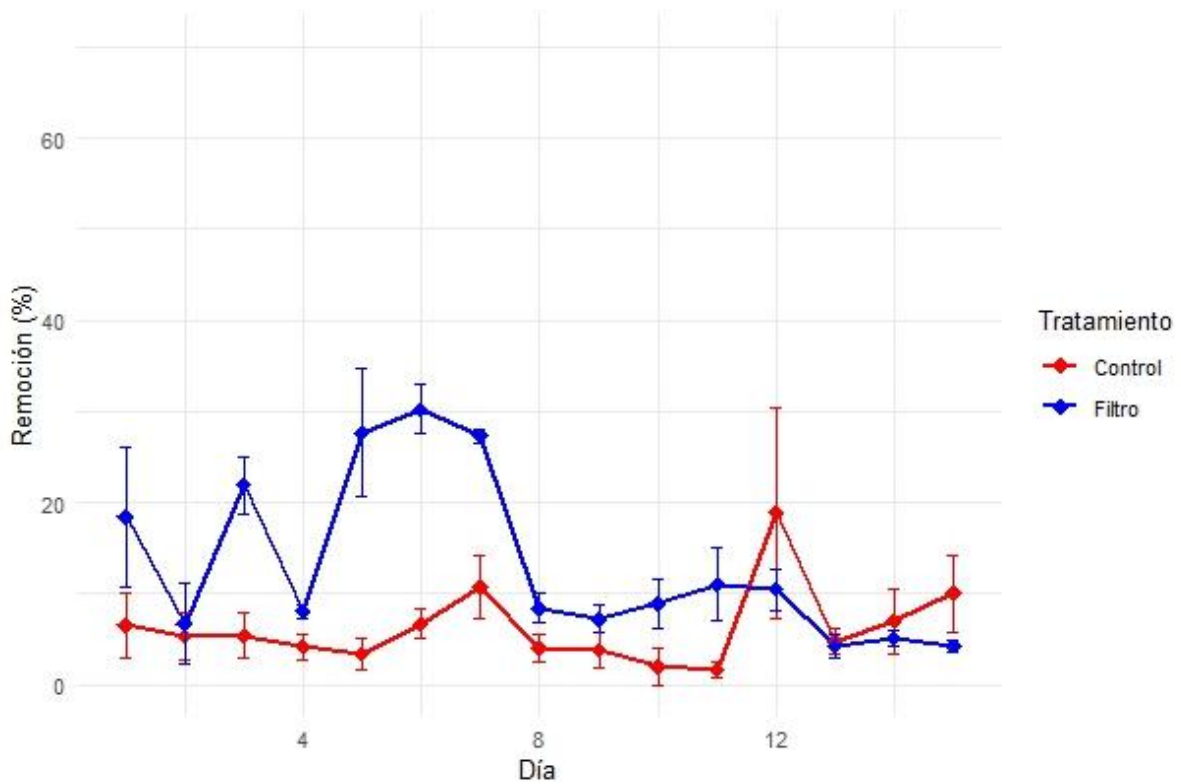


Figura 17. Gráfico de eficiencia de remoción del prototipo evaluado en escape de motor de combustión. Remoción del Control (Rojo), Remoción del Filtro (Azul).

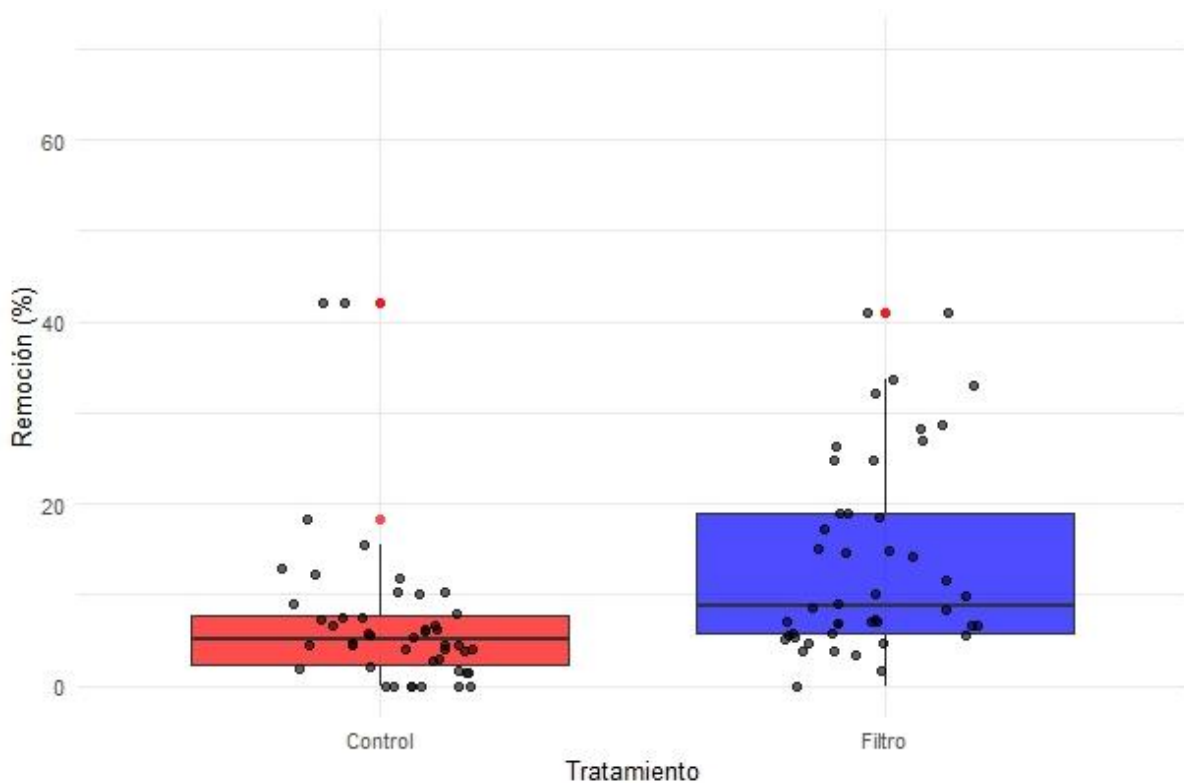


Figura 18. Gráfico Boxplot de las remociones del Filtro (Rojo) y del Control (Azul).

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 Selección de soporte

Durante la inoculación del soporte se evidenció la presencia de contaminación en varias muestras de los soportes, particularmente en aquellos con mayor contenido de materia orgánica, como la corteza de madera y la turba. Estos materiales suelen ser comúnmente empleados como soportes debido a que aportan fuentes de carbono que favorecen el crecimiento microbiano incluso sin necesidad de un inóculo (Shareefdeen et al., 2005). Una de las razones es debido a su alto porcentaje de porosidad, siendo el de la piedra pómez del 90 % aproximadamente y de la piedra volcánica del 80 % aproximadamente (Ismail et al., 2014). Sin embargo, se ha documentado que la bacteria de interés para el biofiltro presenta dificultades para competir en dichos sustratos, siendo desplazada por otros microorganismos, principalmente hongos (Jin et al., 2009), fenómeno que también se observó en las muestras de corteza de madera y turba. Por esta razón, se descartó su utilización, a

pesar de que la corteza de madera mostró resultados favorables en términos de conteo de UFC.

En la turba y en la vermiculita se registró la formación de depósitos densos en el fondo de los envases, lo cual podría dificultar el paso del contaminante a través del filtro. Este aspecto resulta relevante, para garantizar un flujo óptimo se recomienda que el biofiltro conserve un espacio vacío entre el 40 % y el 80 % de su volumen (Wu et al., 2018). Considerando estas limitaciones, así como los resultados de crecimiento microbiano y la evidencia reportada por Jin et al. (2009), quienes emplearon piedra volcánica, en el presente estudio se seleccionaron como soportes piedra volcánica y piedra pómez. Ambos materiales presentan características similares: baja o nula concentración de carbono, elevada porosidad y estructura inorgánica. Estas propiedades resultan ventajosas para el funcionamiento del biofiltro, ya que contribuyen al adecuado flujo del contaminante y favorecen la adherencia de los microorganismos. Adicionalmente, estos materiales son reutilizables y cuentan con atributos valiosos como el tamaño, la forma y la estabilidad estructural. No obstante, en algunos casos es necesario administrar nutrientes para sostener el crecimiento microbiano (Ortiz et al., 2003).

## 6.2 Secuenciación del microorganismo

Obtenidos mediante BLAST por el *E-value*, *query cover* y el *Max score* permiten inferir con gran certeza que se trata de una *Stenotrophomonas* sp. Esta bacteria Gram negativa pertenece al filo *Pseudomonadota*. Su temperatura óptima de crecimiento se encuentra alrededor de 30 °C y presenta morfología uniforme, observándose como bacilos rectos o curvados. No forman endosporas y pueden poseer dos o más flagelos polares (Ghosh et al., 2020). Además, junto con otras especies del filo *Pseudomonadota*.

De un total de 768 muestras de aislamiento reportadas para este género, el 45 % son aislados de animales, el 33 % de ambientes acuáticos, el 13 % de suelos y el 7 % de plantas (Vasileuskaya-Schulz et al., 2011).

Las secuencias analizadas mostraron identidades cercanas al 99 %, lo que indica una alta similitud genética entre las secuencias comparadas en el alineamiento.

Esta elevada identidad se refleja en la Figura 10 mediante distancias cortas en las ramas entre las secuencias pertenecientes al mismo género.

Esto puede deberse a la alta conservación del gen 16S rRNA, el cual es ampliamente utilizado en la identificación bacteriana debido a esta característica; sin embargo, su capacidad de resolución puede ser limitada cuando se analizan especies estrechamente relacionadas de ser algo baja debido a esta característica de preservación que tiene el gen.

#### 6.2.1 Aplicaciones de *Stenotrophomonas* sp. en la biorremediación

Diversos estudios han registrado la importancia de *Stenotrophomonas* sp. en los ciclos elementales de diferentes ambientes ecológicos, debido a su potencial en la regulación del crecimiento vegetal, ya que participa en la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos, la producción de reguladores como el ácido indolacético y la protección de plantas contra patógenos (Berg et al., 1994; Nakayama et al., 1999). Asimismo, *Stenotrophomonas* sp. ha demostrado eficacia como agente de biocontrol en plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, protegiéndolas de hongos, y bacterias patógenas. Un ejemplo es *S. maltophilia* W81, aislada de la rizosfera de *Beta vulgaris* (betabel), que inhibió el crecimiento de *Pythium ultimum*, un oomiceto que afecta raíces y semillas (Dunne et al., 1997).

El análisis genómico de diversas cepas de *Stenotrophomonas* sp. ha revelado la capacidad de sintetizar enzimas involucradas en la degradación de hidrocarburos y metales pesados. Entre estas funciones se incluyen la degradación de queratina (Yamamura et al., 2002), nitrofenol (Liu et al., 2007) e hidrocarburos macrocíclicos (Urszula et al., 2009). Asimismo, se ha documentado su participación en la biorremediación de fertilizantes e insecticidas como fipronil y diazinón, e incluso en la utilización del DDT como fuente de carbono (Pan et al., 2016). Adicionalmente, *Stenotrophomonas* sp. se ha empleado dentro de consorcios microbianos suplementados con hierro en biofiltros para el tratamiento de compuestos orgánicos volátiles (COVs) y emisiones de olores como H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub> en aguas domésticas, logrando una remoción completa de estos contaminantes (Sáez-Orviz et al., 2025).

Estos antecedentes permiten inferir que el potencial biotecnológico y ambiental de *Stenotrophomonas* sp. es elevado, debido a la presencia de clústeres de genes que

favorecen su adaptación a sistemas contaminados, tanto con compuestos xenobióticos como con sustancias de origen natural que pueden tener repercusiones sobre la salud. Asimismo, desempeñan un papel relevante en la rizosfera de plantas, contribuyendo a la regulación del crecimiento y ofreciendo protección frente a microorganismos patógenos. En este contexto, resulta comprensible que la bacteria haya logrado sobrevivir en condiciones de alta concentración de CO. Dado que otras bacterias del filo *Pseudomonadota*, como *O. carboxidovorans*, presentan el clúster genético *cox*, es posible que mecanismos homólogos estén presentes en *Stenotrophomonas*. No obstante, esta relación debe ser confirmada experimentalmente mediante análisis moleculares, como la detección del clúster *coxBCMSLDEFGHIK* mediante PCR, qPCR o Whole Genome Sequencing (WGS).

### 6.3 Tratamientos de biofiltros

Del punto 5.4, las pruebas de tamaño de partícula, las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y de homogeneidad de varianzas (Levene) indicaron que los supuestos del ANOVA no se cumplen, dado que en todos los casos los valores de  $p$  fueron menores a 0.05. Por este motivo, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la cual confirmó diferencias altamente significativas entre tratamientos ( $p < 0.0001$ ). Las pruebas post-hoc, tanto de Tukey como de Dunn, mostraron patrones consistentes: los filtros inoculados (F1, F2 y F3) presentaron diferencias significativas respecto al control ( $p < 0.0001$  en todos los casos). No obstante, entre los filtros inoculados no se observaron diferencias significativas, lo que sugiere que, si bien existen diferencias globales entre tratamientos, las variantes con inóculo presentan un comportamiento equivalente entre sí.

La Figura 12 muestra la distribución de los datos correspondientes al porcentaje de remoción. El filtro 1 presentó una mediana del 48%, con un rango intercuartílico de 26% a 60%. El primer cuartil (Q1) comprendió valores entre 26% y 48%, mientras que el segundo cuartil (Q2) se extendió de 48% a 60%. Esta distribución evidencia que en Q2 existe una menor dispersión de datos, lo que indica una mayor consistencia entre los valores registrados. Este comportamiento puede atribuirse a que en este intervalo el biofiltro alcanzó un punto de estabilización en su eficiencia

de remoción, asociado al asentamiento progresivo de la comunidad microbiana y a la adaptación del sistema al contaminante tratado.

De acuerdo con Jiménez (2005), en un estudio sobre eliminación de estireno, se alcanzó una eficiencia de remoción del 80 % al día 10. Aunque el ensayo concluyó en esa misma fecha, los resultados sugieren la necesidad de extender las investigaciones para evaluar un comportamiento prolongado del biofiltro. Por su parte, Álvarez (2009) reporta que, al emplear un biofiltro anaerobio en el tratamiento de aguas residuales domésticas, la eficiencia alcanzó un 50 % al día 7, incrementándose posteriormente hasta aproximadamente un 90 % al día 18. De forma similar, Quispe (2016) documenta un sistema de tratamiento de efluentes domésticos que alcanzó su mayor eficiencia al día 14, con una remoción de 95.98 %.

En consecuencia, la menor dispersión observada en Q2 puede interpretarse como el momento en que el biofiltro alcanzó su máxima estabilidad operativa y, por ende, una eficiencia de remoción sostenida. Estos resultados, al compararse con lo reportado en la literatura, permiten deducir que la estabilización del sistema es un proceso gradual pero consistente. Garzón Zúñiga et al. (2011) evaluaron un biofiltro para la filtración de aguas residuales con contaminantes recalcitrantes y observaron que los biofiltros empacados con granulometría mediana y grande mostraron comportamientos similares, mientras que los de granulometría fina alcanzaron menores niveles de remoción. De manera semejante, Medina Mazari (2006) y Garzón Zúñiga (2006) reportaron, al día 17 de la operación de un biofiltro para el tratamiento de DBO<sub>5</sub>, una diferencia aproximada del 20% entre granulometrías.

Estos hallazgos sugieren que el tamaño de partícula influye en el desempeño del biofiltro. Las partículas pequeñas tienden a degradarse más rápidamente, lo que ocasiona la formación de *pasteles* (como se observó en los frascos del punto 5.1), dificultando así el paso del fluido a través del sistema. En contraste, las partículas grandes facilitan el flujo debido a su mayor tamaño de poro, aunque presentan menor superficie de contacto con el contaminante. Estas ventajas y desventajas pueden equilibrarse entre sí, además de que la formación de macroporos entre partículas del empaque podría favorecer el flujo preferencial del fluido, contribuyendo a una mayor homogeneidad en el rendimiento global del biofiltro.

Por parte de las pruebas de TRLF, punto 5.5, la prueba de normalidad Shapiro-Wilk mostró que, mientras los tratamientos inoculados (F1, F2 y F3) cumplieron con una normalidad ( $p > 0.5$ ), el control presentó una desviación respecto a los anteriores, ( $p=0.000017$ ). Por otra parte, la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene indicó diferencias significativas entre las varianzas de los tratamientos ( $p=0.000239$ ), esto concluye que no se cumplen los supuestos de ANOVA. Sin embargo, se aplicó un ANOVA a vía de referencia, lo cual demostró que hay diferencias significativas entre tratamientos ( $F(3,308)= 48.42$ ,  $p<0.0001$ ). Las pruebas post-hoc de Tukey confirman que los tres tratamientos inoculados (F1, F2 y F3) presentaron nuevamente diferencias en comparación al control, con incrementos de eficiencia de remoción de entre 21.6% y 23.7% ( $p<0.0001$  en todos los casos). Aunque si bien, así como en la prueba de tamaño de partícula, no presentaron diferencias significativas de eficiencia de remoción entre los filtros inoculados. Para esto puede explicarse por distintas razones. Al momento de desarmar el filtro se observó que la humedad no alcanzaba a penetrar hasta la superficie superior del mismo. Se identificó que, a partir de una altura de entre 10 y 14 cm, la humedad en el soporte llegaba a su límite, provocando que la sección restante del biofiltro no generará biomasa activa y, en consecuencia, funcionara como una región muerta. Este fenómeno puede justificar la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos inoculados, ya que, independientemente de las condiciones específicas de cada uno, la limitación en la distribución de la humedad restringe el aprovechamiento total del volumen del biofiltro. Morales Ibarría y Revah Moiseev (1999) evaluaron el funcionamiento de un biofiltro para la eliminación de vapores de tolueno. Los resultados mostraron que la capacidad de eliminación pasó de 15  $g/m^3/h$  a 140  $g/m^3/h$  en el segundo día de operación, para posteriormente disminuir a 40  $g/m^3/h$  dos días después al momento de cortar el suministro de humedad. Por otra parte, Cox et al. (1996) reportaron una disminución del 50% en la eficiencia de remoción como consecuencia de una variación en el contenido de humedad, que pasó del 67% al 30%. Estos hallazgos permiten inferir que la concentración de humedad en el sistema tiene un efecto determinante sobre la actividad microbiana, ya que su reducción limita la capacidad del biofiltro para sostener tasas elevadas de remoción.

En la Figura 14 se presenta el *boxplot* correspondiente a las pruebas de TRLF. A diferencia de lo observado en la prueba de tamaño de partícula, en este caso la distribución de valores del Filtro 1 muestra una menor dispersión, alcanzando valores máximos y mínimos muy similares entre los filtros inoculados. No obstante, se aprecia una ligera variación en el grosor de las cajas entre los tratamientos, lo que indica diferencias en la dispersión de los datos. En el caso del Filtro 3, se repite un comportamiento similar al registrado en la prueba de tamaño de partícula: el segundo cuartil (Q2) es menor en comparación con los otros cuartiles de los filtros inoculados. Tal como se explicó anteriormente, este patrón puede atribuirse a que el biofiltro alcanza sus valores máximos de remoción y posteriormente entra en una fase de estabilización, lo que coincide con la tendencia observada en la Figura 14.

En cuanto al control, se observa un agrupamiento estrecho de los datos, con algunos valores atípicos (*outliers*) que, sin embargo, pueden considerarse como no representativos dentro del análisis global. Aun con esta variabilidad, la gráfica confirma nuevamente la marcada diferencia en la eficiencia de remoción entre el control y los tratamientos inoculados, reforzando la evidencia de que la inoculación favorece un mejor desempeño en el sistema.

En el análisis correspondiente a la concentración del contaminante (punto 5.6), las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene indicaron que los supuestos del ANOVA no se cumplían ( $p < 0.05$ ). Por ello, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, que mostró diferencias significativamente significativas entre los grupos ( $p < 0.0001$ ).

La prueba *post-hoc* de Dunn confirmó estas diferencias: los filtros inoculados presentaron un efecto de remoción significativo respecto al control ( $p > 0.05$ ). Entre los filtros, se observaron variaciones en la eficiencia de remoción: Filtro 1 vs. Filtro 2 ( $p = 0.0089$ ), Filtro 1 vs. Filtro 3 ( $p = 2.60 \times 10^{-8}$ ) y Filtro 2 vs. Filtro 3 ( $p = 0.0032$ ), indicando que el Filtro 3 presentó la mayor eficiencia de remoción y diferencias significativas con los demás filtros.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Moussavi et al. (2009), quienes evaluaron la remoción de MTBE (metil ter-butil éter) en un biofiltro a lo largo de tres fases experimentales. Durante la primera etapa, denominada de preinicio y con una

duración de 44 días, se trabajó con concentraciones de entrada de entre 50 y 100 ppm. A partir del día 45, se incrementó la concentración del contaminante a un rango de 100 a 3000 ppm, manteniéndose hasta el día 151. Finalmente, se evaluó el efecto de la tasa de carga (TRLF) bajo condiciones de alta y baja concentración del contaminante.

Los resultados mostraron un efecto claro de la concentración en la eficiencia de remoción del biofiltro. Durante la primera fase, con concentraciones de hasta 100 ppm, la remoción alcanzó el 99 %. Sin embargo, al aumentar la concentración a 1000–1500 ppm, la eficiencia disminuyó ligeramente, alrededor de un 4 %. Al superar las 2000 ppm, el rendimiento del biofiltro descendió de nuevo en una proporción similar. Los autores atribuyeron este comportamiento a que los microorganismos alcanzaron su máximo nivel de biodegradabilidad, lo que implica la existencia de un límite en el potencial de remoción del sistema. Por otra parte, Yoon y Park (2002), evaluaron los efectos de la temperatura, concentración y TRLF en la eficiencia de remoción de un biofiltro para remover COVs, reporta que al momento de que la concentración de entrada fue de 65 g/m<sup>3</sup> la eficiencia de remoción fue del 90 %, sin embargo al aumentar la concentración a 83 g/m<sup>3</sup> la eficiencia disminuyó al 74 %.

Estos comportamientos podrían explicar las diferencias estadísticas observadas entre los tratamientos F1, F2 y F3, ya que el incremento en la concentración del contaminante puede generar un punto de saturación microbiana que limita la eficiencia de remoción, incluso en biofiltros previamente estabilizados.

#### 6.4 Tratamiento de prototipo en escape de motor de combustión

Los resultados del análisis estadístico mediante la prueba Shapiro–Wilk mostraron que las distribuciones de remoción no se ajustaron a la normalidad en ninguno de los grupos (Control:  $W = 0.904$ ,  $p = 0.0012$ ; Filtro:  $W = 0.745$ ,  $p < 0.001$ ). Por su parte, la prueba de Levene presentó un valor cercano al límite de significancia ( $F(1,88) = 3.83$ ,  $p = 0.053$ ), por lo que se consideró adecuado complementar el análisis con una prueba no paramétrica. La prueba de Kruskal–Wallis evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $H = 7.44$ ,  $p = 0.006$ ). Posteriormente, la prueba post-hoc de Dunn confirmó esta diferencia en la remoción

entre el filtro inoculado y el control ( $p.\text{adj} = 0.006$ ). Estos resultados respaldan que existe una diferencia significativa en la eficiencia de remoción entre ambos tratamientos.

Sin embargo, como se observa en la Figura 17, durante el día 8 el filtro inoculado presentó una marcada disminución en su rendimiento, pasando de una eficiencia de remoción cercana al 28% a menos del 10%. Incluso, al finalizar el experimento, el control mostró valores de remoción superiores a los del filtro inoculado. Este comportamiento podría atribuirse a diversos factores, entre ellos el efecto de la temperatura del gas de escape del vehículo, la cual alcanzó valores promedio de 48 °C. Además, la entrada del contaminante teniendo como promedio de 775 ppm pudo haber tenido un impacto importante en la eficiencia del biofiltro. Tal como se observó en las pruebas previas sobre la concentración de entrada, este parámetro representa un factor determinante en el desempeño de sistemas biofiltrantes.

## **7. CONCLUSIONES**

El sistema de biofiltración demostró, en todas sus réplicas, diferencias estadísticamente significativas respecto al control, alcanzando eficiencias de remoción cercanas al 78%. Estos resultados confirman que la acción de *Stenotrophomonas* sp. sobre la remoción de monóxido de carbono representa una alternativa biotecnológica viable. No obstante, al igual que la mayoría de los biofiltros, el sistema presenta ciertas limitaciones inherentes, entre ellas la necesidad de condiciones operativas controladas y un periodo de adaptación prolongado antes de alcanzar su máxima eficiencia de remoción. Asimismo, se evidenció que pequeñas variaciones en las condiciones del entorno pueden generar desequilibrios que afecten el desempeño global del sistema.

Como línea de investigación futura, se propone la implementación de un sistema de enfriamiento que permita reducir la temperatura del gas de entrada antes de su contacto con el biofiltro, con el fin de preservar la actividad microbiana, para el caso de sistemas a mayores temperaturas como lo fue el prototipo. De igual manera, se sugiere enfocar el uso del sistema en vehículos con bajas emisiones de CO (como unidades híbridas o con catalizadores en buen estado), dado que a concentraciones elevadas el biofiltro mostró una disminución considerable en su eficiencia.

Finalmente, se plantea la posibilidad de inmovilizar la enzima en un soporte inerte, con el objetivo de caracterizar su eficiencia catalítica y ampliar el potencial de aplicación del sistema propuesto.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez Malpica, J., & Rodríguez, E. (2009). *Eficiencia de remoción de los parámetros de control para un biofiltro anaerobio utilizado en el tratamiento de agua residual doméstica. Kuxulkab'*, 15(28).

Arias Ortiz, L. O. (2021, agosto). *Evaluación de bienestar y felicidad*. Arias Consultores.

Barret, L., Danel, V., & Faure, J. (1985). Carbon monoxide poisoning, a diagnosis frequently overlooked. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 23(4–6), 309–313.

Berg, G., Knaape, C., Ballin, G., & Seidel, D. (1994). Biological control of *Verticillium dahliae* KLEB by naturally occurring rhizosphere bacteria. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 29, 249–262.

Bolaños Morera, P., & Chacón Araya, C. (2017). Intoxicación por monóxido de carbono. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34(1), 137–146. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152017000100137](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000100137)

Bremmer, S. A., Anderson, H. R., Atkinson, R. W., & McMichael, A. J. (1999). Short-term association between outdoor air pollution and mortality in London, 1992–1994. *Occupational and Environmental Medicine*, 56(4), 237–244.

Cairncross, E., & Kisting, S. (2015). Platinum and gold mining in South Africa. *New Solutions: A Journal of Environmental and Occupational Health Policy*, 25(4), 513–534. <https://doi.org/10.1177/1048291115622027>

Chen, C., Zhao, B., & Weschler, C. J. (2012). Assessing the influence of indoor exposure to outdoor ozone on the relationship between ozone and short-term mortality in U.S. communities. *Environmental Health Perspectives*, 120(2), 235–240.

Cox, H. H. J., Doddema, H. J., Harder, W., & Magielsen, F. J. (1996). Influence of the water content and water activity on styrene degradation by *Exophiala jeanselmei* in biofilters. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 45, 851–856.

Dang, Q. A., & Gostomski, P. A. (2021). Desarrollo de un sistema de control de retroalimentación para un biofiltro diferencial que degrada aire contaminado con tolueno. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129822>

Daniel, J. S., & Solomon, S. (1998). On the climate forcing of carbon monoxide. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 103(D11), 13249–13260. <https://doi.org/10.1029/98JD00822>

Daniels, M., Dominici, F., Zeger, S., & Samet, J. (2004). *The national morbidity, mortality, and air pollution study, Part III: PM10 concentration–response curves and thresholds for the largest U.S. cities*. Health Effects Institute, Report No. 94, Part III.

Davidge, K. S., Motterlini, R., Mann, B. E., Wilson, J. S., & Poole, R. K. (2009). Carbon monoxide in biology and microbiology: Surprising roles for the “Detroit Perfume.” In *Advances in Microbial Physiology* (Vol. 56, pp. 85–167). Elsevier BV. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(09\)05603-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(09)05603-3)

Dehkordi, M. M., Nodeh, Z. P., Dehkordi, K. S., Salmanvandi, H., Khorjestan, R. R., & Ghaffarzadeh, M. (2024). Soil, air, and water pollution from mining and industrial activities: Sources of pollution, environmental impacts, and prevention and control methods. *Results in Engineering*, 23, 102729. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102729>

Delineation of *Stenotrophomonas* spp. by multi-locus sequence analysis and MALDI-TOF mass spectrometry. (2010). *Systematic and Applied Microbiology*, 34(1), 35–39. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.11.011>

DeMore, W. B., Sander, S. P., Golden, D. M., Hampson, R. F., Kurylo, M. J., Howard, C. J., Ravishankara, A. R., Kolb, C. E., & Molina, M. J. (1997). *Chemical kinetics and photochemical data for use in stratospheric modeling*. Jet Propulsion Laboratory.

Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., Servicio de Salud Pública. (2012, junio). *Resumen salud pública: Monóxido de carbono*. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades.

Dey, S., & Dhal, G. (2020). Property and structure of various platinum catalysts for low-temperature carbon monoxide oxidations. *Materials Today Chemistry*, 16, 100228. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2019.100228>

Dirección General de Normas, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Dirección General de Protección y Ordenación Ecológica, Secretaría de Salubridad y Asistencia, Departamento de Vigilancia de Aguas Receptoras, & Confederación de Cámaras Industriales, Departamento Técnico. (1980). *Aguas residuales: Muestreo* (NMX-AA-003-1980). Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.

DSMZ–German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH. (2021). *Carbon Monoxide Oxidizer Medium* (N.º 133).

Dunne, C., Crowley, J. J., Moënne-Loccoz, Y., Dowling, D. N., de Bruijn, F. J., & O’Gara, F. (1997). Biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas maltophilia* W81 is mediated by an extracellular proteolytic activity. *Microbiology*, 143(12), 3921–3931. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-12-3921>

European Chemicals Agency (ECHA). (2023, mayo). *Substance information: Carbon monoxide*. <https://echa.europa.eu/substance-information>

Fan, Y., Zhang, J., Zhang, Q., Ma, X., Liu, Z., Lu, M., Qiao, K., & Li, F. (2021). Biofuel and chemical production from carbon one industry flux gas by acetogenic bacteria. En *Advances in Applied Microbiology* (pp. 1–34). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2021.07.001>

Ferretti, M., Cailleret, M., Haeni, M., Trotsiuk, V., Apuhtin, V., Araminiene, V., Buriánek, V., Cecchini, S., Dalstein-Richier, L., Hůnová, I., Jakovljević, T., Kaoukis, K., Neiryneck, J., Nicolas, M., Prescher, A., Novotný, R., Pavlendova, H., Potočić, N., Rupel, M., & Schaub, M. (2024). The fingerprint of tropospheric ozone on broadleaved forest vegetation in Europe. *Ecological Indicators*, 158, 111486. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.111486>

Garzón Zúñiga, M. A., Escalante Estrada, V. E., & Trejo Vela, N. (2011). *Filtración de aguas residuales con contaminantes recalcitrantes para remoción de macronutrientes: Primera etapa* (Informe final del proyecto RJE). Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. <http://hdl.handle.net/20.500.12013/1555>

Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2), 486–489. <https://doi.org/10.5812/ijem.3505>

Ghosh, R., Chatterjee, S., & Mandal, N. C. (2020). *Stenotrophomonas*. En *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 427–442). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00020-4>

Goldbaum, L. R., Ramirez, R. G., & Absalon, K. B. (1975). What is the mechanism of carbon monoxide toxicity? *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 46(10), 1289–1291.

Grieb, G., Simons, D., Schmitz, L., Piatkowski, A., Grottke, O., & Pallua, N. (2011). Glasgow Coma and laboratory markers are superior to COHb in predicting CO intoxication severity. *Burns*, 37(4), 610–615. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2010.11.007>

Hachhach, M., Russo, V., Murzin, D. Y., & Salmi, T. (2023). Dynamic modelling of trickle bed reactor: Case study of arabinose oxidation. *Powder Technology*, 425, 118608. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2023.118608>

Hampson, N. B. (1998). Emergency department visits for carbon monoxide poisoning in the Pacific Northwest. *Journal of Emergency Medicine*, 16(5), 695–698. [https://doi.org/10.1016/S0736-4679\(98\)00058-2](https://doi.org/10.1016/S0736-4679(98)00058-2)

Han, S., et al. (2009). Temporal variations of elemental carbon in Beijing. *Journal of Geophysical Research*, 114, D23202. <https://doi.org/10.1029/2009JD012027>

Hernández, M. L. O. (2018, febrero 26). *Contaminación urbana del aire: Aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y sociales*. Universidad Autónoma del Estado de México. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/218>

Hille, R., Dingwall, S., & Wilcoxon, J. (2015). The aerobic CO dehydrogenase from *Oligotropha carboxidovorans*. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 20(2), 243–251. <https://doi.org/10.1007/s00775-014-1188-4>

INEGI. (2021). *Estadísticas a propósito del Día Mundial de la Población: Datos nacionales*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

INEGI. (2024). *Estadística de transporte urbano de pasajeros*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2020). *Vehículos de motor registrados en circulación*. Recuperado el 10 de marzo de 2024 de [https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/interactivos/?px=VMRC\\_2&bd=VMRC](https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/interactivos/?px=VMRC_2&bd=VMRC)

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2021). *Satisfacción con la vida*. Recuperado el 6 de noviembre de 2024 de <https://www.inegi.org.mx/app/bienestar/#grafica>

Ismail AI, El-Shafey OI, Amr MH, El-Maghraby MS. Pumice Characteristics and Their Utilization on the Synthesis of Mesoporous Minerals and on the Removal of Heavy Metals. *Int Sch Res Notices*. 2014 Oct 29;2014:259379. doi: 10.1155/2014/259379. PMID: 27355006; PMCID: PMC4897427.

Jiménez, E., & Villegas, A. M. (2005). Diseño de un sistema de biofiltración para la remoción de estireno. *Revista EIA*, 3, 9–20.

Jin, Y., Guo, L., Veiga, M. C., & Kennes, C. (2009). Optimization of the treatment of carbon monoxide-polluted air in biofilters. *Chemosphere*, 74(2), 332–337. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.001>

Kawaragi, K., Sekine, Y., Kadono, T., Sugita, S., Ohno, S., Ishibashi, K., Kurosawa, K., Matsui, T., & Ikeda, S. (2009). Direct measurements of chemical composition of shock-induced gases from calcite: An intense global warming after the Chicxulub impact due to the indirect greenhouse effect of carbon monoxide. *Earth and Planetary Science Letters*, 282(1–4), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2009.02.037>

Kondo, Y., et al. (2006). Temporal variations of elemental carbon in Tokyo. *Journal of Geophysical Research*, 111, D12205. <https://doi.org/10.1029/2005JD006257>

Lasa, I., del Pozo, J. L., Penadés, J. R., & Leiva, J. (2005). Biofilms bacterianos e infección. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28(2), 163–175. Recuperado el 28 de noviembre de 2024.

Lin, J., Li, L., Wenjie, D., Zhang, J., & Liu, J. (2015). Continuous desulfurization and bacterial community structure of an integrated bioreactor developed to treat SO<sub>2</sub> from a gas stream. *Journal of Environmental Sciences*, 37, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.05.029>

Liñán-Abanto, R. N., Salcedo, D., Arnott, P., Paredes-Miranda, G., Grutter, M., Peralta, O., Carabali, G., Serrano-Silva, N., Ruiz-Suárez, L., & Castro, T. (2021). Temporal variations of black carbon, carbon monoxide, and carbon dioxide in Mexico City: Mutual correlations and evaluation of emissions inventories. *Urban Climate*, 37, 100855. <https://doi.org/10.1016/j.uclim.2021.100855>

Liu, Z., Yang, C., & Qiao, C. (2007). Biodegradation of p-nitrophenol and 4-chlorophenol by *Stenotrophomonas* sp. *FEMS Microbiology Ecology*, 277(1), 150–156. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00949.x>

Lu, L., Dong, D., Yeung, M., Sun, Z., & Xi, J. (2021). Sustaining low pressure drop and homogeneous flow by adopting a fluidized bed biofilter treating gaseous toluene. *Chemosphere*, 291, 132951. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132951>

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock: Biología de los microorganismos* (14.<sup>a</sup> ed.; Sociedad Española de Microbiología & Asociación Latinoamericana de Microbiología, Eds.). Pearson Educación.

Medina Mazari, A., & Garzón Zúñiga, M. A. (2006). *Efecto de la granulometría sobre el desempeño de un sistema de biofiltración utilizando material orgánico* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México].

Morales Ibarría, M. G., & Revah Moiseev, S. (1999). *Estudio sobre la operación y modelado de un biofiltro para la eliminación de vapores de tolueno* [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana].

Moussavi, G., Bahadori, M. B., Farzadkia, M., Yazdanbakhsh, A., & Mohseni, M. (2009). Performance evaluation of a thermophilic biofilter for the removal of MTBE from waste air stream: Effects of inlet concentration and EBRT. *Biochemical Engineering Journal*, 45(2), 152–156. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.03.008>

Natarajan, S., Bajaj, H. C., & Tayade, R. J. (2018). Recent advances based on the synergetic effect of adsorption for removal of dyes from wastewater using photocatalytic process. *Journal of Environmental Sciences*, 65, 201–222. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.02.015>

Nelson, L. H. (2002). Carbon monoxide. En Goldfrank's *Toxicologic Emergencies* (7.ª ed., pp. 1689–1704). McGraw-Hill.

Omri, I., Aouidi, F., Bouallagui, H., Godon, J. J., & Hamdi, M. (2013). Performance study of biofilter developed to treat H<sub>2</sub> S from wastewater odour. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.01.005>

Ortiz, I., Revah, S., & Auria, R. (2003). Effects of packing material on the biofiltration of benzene, toluene and xylene vapours. *Environmental Technology*, 24(3), 265–275. <https://doi.org/10.1080/09593330309385559>

Oswaldo, G. T. M. (2020, enero 1). *Análisis de la influencia que tiene la calidad del filtro de aire en la contaminación del aceite de un motor a diésel por material particulado* [Tesis de licenciatura, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18783>

Pan, X., Lin, D., Zheng, Y., Zhang, Q., Yin, Y., Cai, L., Fang, H., & Yu, Y. (2016). Biodegradation of DDT by *Stenotrophomonas* sp. DDT-1: Characterization and genomic functional analysis. *Scientific Reports*, 6, 21332. <https://doi.org/10.1038/srep21332>

Pantarella, F., Berlutti, F., Passeri, D., Sordi, D., Frioni, A., Natalizi, T., Terranova, M. L., Rossi, M., & Valenti, P. (2011). Quantitative evaluation of bacteria adherent and in biofilm on single-wall carbon nanotube-coated surfaces. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2011, 291513. <https://doi.org/10.1155/2011/291513>

Passalacqua Aravena, M. E. (2007). *Evaluación del impacto sobre la salud debido a la contaminación del aire por monóxido de carbono en el Gran Santiago* [Tesis de maestría, Universidad de Chile]. <https://elibro.net/es/ereader/bibliouaq/108328?page=108>

Pleissner, D., Kwan, T. H., & Lin, C. S. K. (2014). Fungal hydrolysis in submerged fermentation for food waste treatment and fermentation feedstock preparation. *Bioresource Technology*, 158, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.139>

Prado, O. J., Veiga, M. C., & Kennes, C. (2008). Removal of formaldehyde, methanol, dimethyl ether and carbon monoxide from waste gases of synthetic resin-producing industries. *Chemosphere*, 70(8), 1357–1365. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.08.043>

Quispe Pulido, A. E. (2015). *Evaluación de la eficiencia entre dos sistemas de biofiltros para el tratamiento de las aguas residuales domésticas de la localidad de Carapongo, Luriganchos Chosica* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Federico Villarreal].

Reimer, L. C., Carbasse, J. S., Koblitz, J., Ebeling, C., Podstawka, A., & Overmann, J. (2021). BacDive in 2022: The knowledge base for standardized bacterial and archaeal data. *Nucleic Acids Research*, *50*(D1), D741–D746. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab961>

Reumuth, G., Alharbi, Z., Houschyar, K. S., Kim, B., Siemers, F., Fuchs, P. C., & Grieb, G. (2019). Carbon monoxide intoxication: What we know. *Burns*, *45*(3), 526–530. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2018.07.006>

Sáez-Orviz, S., Lebrero, R., Terrén, L., Doñate, S., Esclapez, M. D., Saúco, L., & Muñoz, R. (2025). Evaluation of the performance of iron-supplemented pelletised compost as packing material in biofilters for odour abatement in domestic wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, *991*, 179927. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179927>

Satterfield, C. N. (1975). Trickle-bed reactors. *AIChE Journal*, *21*(2), 209–228. <https://doi.org/10.1002/aic.690210202>

Secretaría del Medio Ambiente (SEDEMA). (2018). *Inventario de emisiones de la Ciudad de México 2016: Contaminantes criterio, tóxicos y compuestos de efecto invernadero*. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire. <http://data.sedema.cdmx.gob.mx:9000/datos/storage/app/media/docpub/sedema/inventario-emisiones-2016.pdf>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2013). *Calidad del aire: una práctica de vida*.

Servicios Ambientales Integrales de Consultoría y Cambio Climático. (2022). *Informe de estado y tendencia de la calidad del aire en el estado de Querétaro*. Secretaría de Desarrollo Sustentable. Recuperado el 6 de febrero de 2024 de [http://www.cemcaq.mx/images/informes/INFORME\\_BAJA.pdf](http://www.cemcaq.mx/images/informes/INFORME_BAJA.pdf)

Secretaría de Desarrollo Sustentable. (2023). *INVENTARIO ESTATAL DEMISIONES DE CONTAMINANTES CRITERIO AÑO BASE 2021*. <https://queretaro.gob.mx/documents/291166/1096648/Inventario-emisiones-contaminantes-2021.pdf/d652f6a5-9a69-449d-2cd0-0721ef70ac1c?t=1747247427300>

Shareefdeen, Z., Herner, B., & Singh, A. (2005). Biotecnología para el control de la contaminación atmosférica: Una visión general. En Z. Shareefdeen & A. Singh (Eds.), *Biotecnología para el control de olores y contaminación atmosférica* (pp. 1–20). Springer. [https://doi.org/10.1007/3-540-27007-8\\_1](https://doi.org/10.1007/3-540-27007-8_1)

Sheoran, K., Siwal, S., Kapoor, D., Singh, N., Saini, A. K., Alsanie, W. F., & Thakur, V. K. (2022). Air pollutants removal using biofiltration technique: A challenge at the

frontiers of sustainable environment. *ACS Engineering Au*, 2(5), 378–396. <https://doi.org/10.1021/acsengineeringau.2c00020>

Srivastava, N. K., & Majumder, C. B. (2008). Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 151(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.033>

United States Environmental Protection Agency (EPA). (2004). *Uso de biorreactores para controlar la contaminación del aire (EPA-456)*.

United States Environmental Protection Agency (US EPA). (2024, 7 de febrero). *NAAQS Table*. <https://www.epa.gov/criteria-air-pollutants/naaqs-table>

Urszula, G., Izabela, G., Danuta, W., & Sylwia, L. (2009). Isolation and characterization of a novel strain of *Stenotrophomonas maltophilia* possessing various dioxygenases for monocyclic hydrocarbon degradation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 285–291. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000200014>

Vasileuskaya-Schulz, Z., Kaiser, S., Maier, T., Kostrzewa, M., & Jonas, D. (2011). [Referencia incompleta: falta título del artículo].

Vergara-Fernández, A., Yáñez, D., Morales, P., Scott, F., Aroca, G., Díaz-Robles, L., & Moreno-Casas, P. (2017). 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*, 332, 702–710. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.095>

Villaverde, S., Fernández-Polanco, F., & García, P. (2000). Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters: Start-up influence. *Water Research*, 34(2), 602–610. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00175-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00175-X)

Villén Pérez, L. (2010, junio 17). *Diseño de un biofiltro* [Trabajo final de carrera, Universitat Politècnica de Catalunya]. <https://upcommons.upc.edu/handle/2099/XXXX>

Wilcoxon, J., Zhang, B., & Hille, R. (2011). Reaction of the molybdenum- and copper-containing carbon monoxide dehydrogenase from *Oligotropha carboxydovorans* with quinones. *Biochemistry*, 50(11), 1910–1916. <https://doi.org/10.1021/bi1017182>

World Health Organization (WHO). (2008). *Health risks of ozone from long-range transboundary air pollution*. WHO Regional Office for Europe.

World Health Organization & International Labour Organization. (2021). *Ficha técnica del monóxido de carbono (CSC: 0023)*. INCHEM.

Wu, H., Yan, H., Quan, Y., Zhao, H., Jiang, N., & Yin, C. (2018). Recent progress and perspectives in biotrickling filters for VOCs and odorous gases treatment. *Journal of Environmental Management*, 222, 409–419. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.06.001>

Yamamura, S., Morita, Y., Hasan, Q., Yokoyama, K., & Tamiya, E. (2002). Keratin degradation: A cooperative action of two enzymes from *Stenotrophomonas sp.* *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294(5), 1138–1143. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00574-3](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00574-3)

Yoon, I., & Park, C. (2002). Effects of gas flow rate, inlet concentration and temperature on biofiltration of volatile organic compounds in a peat-packed biofilter. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93(2), 165–169. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80009-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80009-3)

Zhang, B., Hemann, C. F., & Hille, R. (2010). Kinetic and spectroscopic studies of the molybdenum-copper CO dehydrogenase from *Oligotropha carboxidovorans*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 12571–12578. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.076851>

Zhang, J., Li, L., Liu, J., & Wang, Y. (2018). Effects of oxygen and water content on microbial distribution in the polyurethane foam cubes of a biofilter for SO<sub>2</sub> removal. *Journal of Environmental Sciences*, 63, 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.03.017>

Zhang, K., Liu, Y., Deletic, A., McCarthy, D. T., Hatt, B. E., Payne, E. G., Chandrasena, G., Li, Y., Pham, T., Jamali, B., Daly, E., Fletcher, T. D., & Lintern, A. (2020). The impact of stormwater biofilter design and operational variables on nutrient removal: A statistical modelling approach. *Water Research*, 188, 116486. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116486>