

CONAMA 2020

CONGRESO NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE

BIOFUNGUS

Implantación de un proceso de depuración de aguas residuales en dos fases mediante hongos filamentosos





Autor Principal: Eva Mena Gil (Empresa Municipal de Aguas y Saneamiento de Murcia S.A.)

Otros autores: Francisco Javier Navarro Sánchez (Empresa Municipal de Aguas y Saneamiento de Murcia S.A.); Simón Nevado Santos (Empresa Municipal de Aguas y Saneamiento de Murcia S.A.); Alfonso Monreal Bernal (Aquatec Proyectos para el Sector del Agua S.A.U.)

ÍNDICE

1. Biofungus. Implantación de un proceso de depuración de aguas residuales en dos fases mediante hongos filamentosos
2. Palabras clave
3. Resumen
4. Introducción
5. Objetivos
6. Metodología
7. Resultados
8. Discusión
9. Conclusiones
10. Bibliografía

BIOFUNGUS. IMPLANTACIÓN DE UN PROCESO DE DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES EN DOS FASES MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS

PALABRAS CLAVE: Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales, hongos oleaginosos, desnitrificación, valorización de residuos, eficiencia energética

RESUMEN

El objetivo del proyecto BIOFUNGUS es la optimización de un proceso de depuración biológico de aguas residuales mediante la aplicación de hongos oleaginosos como alternativa a procesos tradicionales basados en bacterias aerobias. El proyecto supone la continuación del proyecto Ignis Fungus, desarrollado por la Empresa Municipal de Aguas y Saneamiento de Murcia (EMUASA) de 2014 a 2016, durante el que se demostró que el hongo *Mucor circinelloides* presenta un adecuado crecimiento en aguas residuales, reduciendo la carga orgánica y el contenido en amonio (NH_4^+) del agua de forma similar a los procesos bacterianos aerobios (rendimientos $\approx 90\%$). Sin embargo, el contenido en nitratos (NO_3^-) del efluente tratado era elevado, superando el límite establecido por la legislación. Para solventar este inconveniente, en este segundo proyecto se están investigando otras estirpes con una mayor tasa de eliminación efectiva de NO_3^- y se validará el funcionamiento de un sistema de depuración en dos fases, nitrificación-desnitrificación, junto con la aplicación de la tecnología de lecho fluidificado (en adelante MBBR) mediante el uso de soportes poliméricos (carriers). Para hacer frente a la creciente preocupación por la presencia, tanto en aguas residuales como aguas potables, de contaminantes emergentes y en previsión de que el contenido en este tipo de compuestos se limite, a lo largo del proyecto se valorará la capacidad de los hongos para eliminar y/o acumular contaminantes emergentes (CE).

Desde un punto de vista ambiental, se busca un proceso de depuración con un menor consumo energético y contribuir a la economía circular mediante el aprovechamiento de residuos de industrias varias como sustrato para el cultivo de los hongos y de los subproductos del proceso (biogás y fango).

El proyecto está liderado por Emuasa y cuenta con la participación del Departamento de Genética y Microbiología de la Universidad de Murcia (en adelante UM) y el Centro Tecnológico del Medioambiente (en adelante CETENMA). Los trabajos se han iniciado en 2020 y se prolongarán durante los dos próximos 2 años, disponiendo para su ejecución de la financiación del Centro para el Desarrollo Tecnológico e Industrial (en adelante CDTI).

INTRODUCCIÓN

El tratamiento biológico del agua residual urbana (ARU) convencional se basa en la utilización de un cultivo de bacterias aerobias, el cual es alimentado con el agua residual a depurar, con el objetivo de degradar la materia orgánica contenida en la misma, generándose como principales productos de dicha degradación H_2O , CO_2 y nueva biomasa.

La aplicación de biomasa aerobia para el tratamiento biológico del ARU viene estudiándose y aplicándose desde hace más de 50 años, sin embargo, recientemente se está considerando la utilización de otros tipos de microorganismos, en particular hongos y algas, como alternativa a las bacterias para el tratamiento de aguas residuales tanto urbanas como industriales, así como para la degradación de diversos tipos de residuos.

La utilización de hongos filamentosos en los procesos de depuración de aguas es una aproximación novedosa, que ha sido propuesta por varios autores debido a su capacidad para favorecer la floculación de materia en suspensión, la reducción de sólidos y patógenos, y la eliminación o degradación de compuestos tóxicos. Entre las especies de hongos más estudiadas se incluyen especies de *Mucor*, con la que se han obtenido resultados muy prometedores en relación con la reducción de sólidos totales y en suspensión, turbidez y Demanda Química de Oxígeno (DQO) (Fakhru'l-Razi & Molla, 2012), obteniéndose rendimientos similares a los de los tratamientos mediante cultivos convencionales con bacterias. También se han estudiado otras especies de hongos como el *Aspergillus niger*, obteniéndose rendimientos de eliminación de DQO del 72% (Coulibaly, 2002). Otros autores como Guest et al. (Guest & Smith, 2002), han estudiado la aplicación de hongos para la desnitrificación del ARU demostrando su aplicabilidad.

Además de la degradación de materia orgánica que se produce durante el proceso de depuración, son varias las ventajas adicionales de la utilización de estos microorganismos, entre otras, una mayor estabilidad frente a sustancias inhibitorias, menores tiempos de retención del proceso, menor volumen de fango generado y la obtención de un residuo de fango con un mayor poder calorífico que el fango convencional. Más en detalle, se ha demostrado que pueden ser una fuente de subproductos de valor añadido como la amilasa, quitina, quitosano, glucosamina, ácido láctico y diversos compuestos antimicrobianos (Sankaran & Khanal, 2010). La capa externa del hongo, debido al crecimiento de sus hifas (micelio), actúa de barrera que protectora para el microorganismo capturando compuestos inhibitorios y al mismo tiempo captando nutrientes. Además, el mayor número de genes en los hongos les confiere una mayor selectividad reproductiva, lo que se traduce en mejor adaptación ambiental (Bennett & Lasure, 1991). Otro aspecto muy interesante de los hongos es que contienen un grupo de enzimas extracelulares que facilitan la biodegradación de compuestos refractarios tales como los fenólicos, tintes o PHAx, mucho menos sensibles a la degradación bacteriana. Esta particularidad se ha aprovechado para evaluar su utilización en el tratamiento de aguas residuales complejas, tales como las contaminadas con tintes (Blánquez, Sarrà, & Vicent, 2008) (Fu & Viraraghavan, 2001), o los efluentes de bodegas y almazaras (D'Annibale, Ricci, Quarantino, Federici, & Fenice, 2004) (Jauani, Guillén, Penninckx, Martínez, & Martínez, 2005) (Salgado, Abrunhosa, Venancio, Domínguez, & Belo, 2016) o para la eliminación de contaminantes emergentes (Ferrando Climent, y otros, 2015) (Shereve, y otros, 2016) (Cruz Morató, y otros, 2014).

Actualmente se están utilizando distintas especies de hongos filamentosos para ensayos de tratamiento de aguas residuales a escala de laboratorio, pero fue el estudio previo desarrollado

en el proyecto Ignis-Fungus (Navarro-Sánchez, Moya, Gadea, & Rodríguez, 2016) uno de los primeros en llevarlo a la práctica y analizar el proceso a escala piloto en una Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) con condiciones e influentes reales de planta. Durante este proyecto, a escala laboratorio se demostró la capacidad del hongo no solo de crecer en ARU, sino también de clarificar el medio debido a su naturaleza de organismo filamentosos, ayudando a las posteriores operaciones de separación sólido-líquido. Se comprobó que *Mucor circinelloides* tiene la capacidad de consumir materia orgánica del agua residual con rendimientos de eliminación de superiores al 80%. En cuanto al trabajo realizado con la planta piloto, los principales resultados obtenidos fueron, por una parte, el diseño y construcción de un sistema de tratamiento de aguas residuales urbanas apto para la aplicación en condiciones reales de las estirpes seleccionadas de *Mucor* como elemento depurador y, además, la validación de dicho sistema, incluyendo la determinación de sus rendimientos de depuración, de generación de biomasa residual y consumos energéticos. Se obtuvieron rendimientos elevados en eliminación de DQO (94%) y de eliminación de NH_4^+ (97-99%), sin embargo, la concentración de NO_3^- resultante siempre fue superior a la definida en la autorización de vertido de la EDAR Murcia Este. Finalmente, se comprobó que el lodo resultante de depuración con hongo *Mucor*, presentaba un mayor poder calorífico y un menor contenido en cenizas que el lodo de depuración convencional mediante bacterias, suponiendo un valor añadido a la circularidad de este residuo.

El proyecto Biofungus trata de mejorar el proceso validado en el anterior proyecto, tanto en rendimientos de depuración del proceso (eliminación de materia orgánica y nutrientes) como en ratios económico/energéticos. Se están evaluando mutantes de la estirpe CBS277.47 de *Mucor* que sean capaces de asimilar la mayor parte de los nitratos. En caso de que los rendimientos con esta estirpe no sean los adecuados, se estudiarán varias alternativas de hongos capaces de desnitrificar. Se han realizado experimentos donde se ha demostrado la capacidad de ciertas especies de hongos como *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* o *Gibberella fujikuroi* capaces de realizar procesos de desnitrificación observándose tasas mayores de desnitrificación en hongos que en bacterias (Shoun, Kim, Uchiyama, & Sugiyama, 1992) (Tanimoto, Hatano, Kim, Uchiyama, & Shoun, 1992) (Usuda, Toritsuka, Matsuo, Kim, & Shoun, 1995).

OBJETIVOS

El objetivo general del proyecto Biofungus es el desarrollo experimental de un proceso de depuración de aguas residuales mediante la aplicación de hongos oleaginosos, obteniendo agua con una calidad adecuada para poder ser devuelta al cauce público y una biomasa residual apta para ser utilizada como materia prima en la producción de un nuevo tipo de biocombustible, constituido por mezclas de biomasa vegetal y lodos fúngicos.

El proyecto está liderado por Emuasa y cuenta con la participación del Departamento de Genética y Microbiología de la UM y el CETENMA. Los trabajos se han iniciado en 2020 y se prolongaran durante los dos próximos 2 años, disponiendo para su ejecución de la financiación del CDTI. El plan de trabajo incluye las siguientes tareas:

1. Definición en laboratorio de las condiciones adecuadas para el cultivo y generación de biomasa fúngica oleaginosa utilizando aguas residuales de EDAR y/o residuos industriales con

alto contenido en DQO como sustratos. Aislar estirpes especializadas en consumo de materia orgánica y en procesos de nitrificación-desnitrificación.

2. Evaluación a escala piloto de un proceso de depuración de ARU en dos etapas basado en de hongos oleaginosos con cultivo de hongos incorporado, donde se garantice la reducción del contenido en nitratos y la ratio económico-energética.

3. Caracterización del potencial de biometanización (BMP) mediante ensayos en discontinuo de muestras de fango fúngico y evaluación de resultados que permitan determinar los rendimientos de la operación de digestión anaerobia de este tipo de fango.

METODOLOGÍA

A nivel laboratorio se buscarán las condiciones óptimas para el cultivo y el tratamiento de aguas residuales con *Mucor*, así como mutantes y nuevas estirpes con características adecuadas para la realización del proceso. Así mismo, se evaluarán otras estirpes especializadas en procesos de desnitrificación.

Por necesidad del proceso de depuración, el hongo debe mantenerse largos periodos de tiempo en un estado óptimo para la inoculación del reactor. Con este fin se establecerá en el laboratorio cultivos del hongo que se mantendrán durante largos periodos de tiempo, utilizándose alícuotas para inocular periódicamente corrientes de aguas residuales y así comprobar la viabilidad del micelio generado

El arranque de la planta se realizará conforme a las condiciones obtenidas en el proyecto Ignis Fungus. Para el cultivo de biomasa fúngica en los tanques de cultivo de la planta piloto, se siguen las condiciones de cultivo previamente identificadas en los ensayos de laboratorio efectuados por la UM. La estirpe inicialmente inoculada es la CBS277.49, ya que fue con la que se obtuvieron los mejores resultados durante el proyecto anterior, pero aún hay margen de optimización en las condiciones de operación.

Los parámetros de control adoptados son: (i) DQO), pH, Nitrógeno Total (NT), NH_4^+ y NO_3^- y (ii) En corrientes de lodo: Materia Seca (MS), Materia Volátil (MV) y Sólidos Suspendidos en el Licor Mezcla (MLSS). Los métodos analíticos utilizados son los definidos en Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (AWWA, 2012).

Los criterios de calidad que determinan si los resultados obtenidos en la planta piloto son aceptables vienen determinados por los límites de emisión del efluente definidos en la Autorización de Vertido (AV) de la EDAR Murcia Este: (i) $\text{DQO} < 150 \text{ mg/l}$, (ii) $\text{NT} < 150 \text{ mg/l}$, (iii) $\text{NH}_4^+ < 15 \text{ mg/l}$ y (iv) $\text{NO}_3^- < 15 \text{ mg/l}$.

RESULTADOS

El trabajo de laboratorio por parte de la UM comienza con la definición en laboratorio de las condiciones adecuadas para la generación de biomasa fúngica oleaginosa. Se han utilizado ARU y aguas residuales con alto contenido de DQO proveniente de industria como sustratos para el cultivo. Y en ambos casos se demuestra el crecimiento del hongo *Mucor* en los residuos utilizados como sustrato (Figura 1a).

Se están estudiando diferentes parámetros para la caracterización de las estirpes aisladas, entre ellos: curvas de crecimiento de *Mucor* en aguas residuales, proporción de precultivo con respecto al cultivo final, modificación del pH de los cultivos y consumo de materia orgánica.

Estudios en laboratorios han demostrado que especies de hongos como *Fusarium oxysporum* son capaces de desnitrificar (Shoun & Tanimoto, Denitrification by the fungus *Fusarium oxysporum* and involvement of cytochrome P-450 in the respiratory nitrite reduction. , 1991), e incluso actuar de forma sinérgica con especies de bacterias desnitrificantes aumentando la eficiencia del proceso. El esfuerzo actual se centra en la búsqueda de estirpes y mutantes con características específicas para el crecimiento y el tratamiento del agua residual en la EDAR. Se muestra por tanto en la Figura 1b la necesidad de hongos especializados en nitratos. En la Figura 1c y 1d, se presenta cómo se aíslan estas estirpes en laboratorio mediante el cambio de color del medio de cultivo. Cuando el hongo *Mucor* consume preferentemente nitrato el medio de cultivo mezclado con naranja de metilo cambia del rojo al amarillo. Finalmente, sobre un cultivo, se aíslan las esporas del hongo mutante donde se observa este consumo preferente (Figura 1d). Es así como se buscan estirpes del *Mucor* responsables de la desnitrificación, de forma que pueda replicarse el tratamiento análogo al convencional bacteriano de una EDAR.

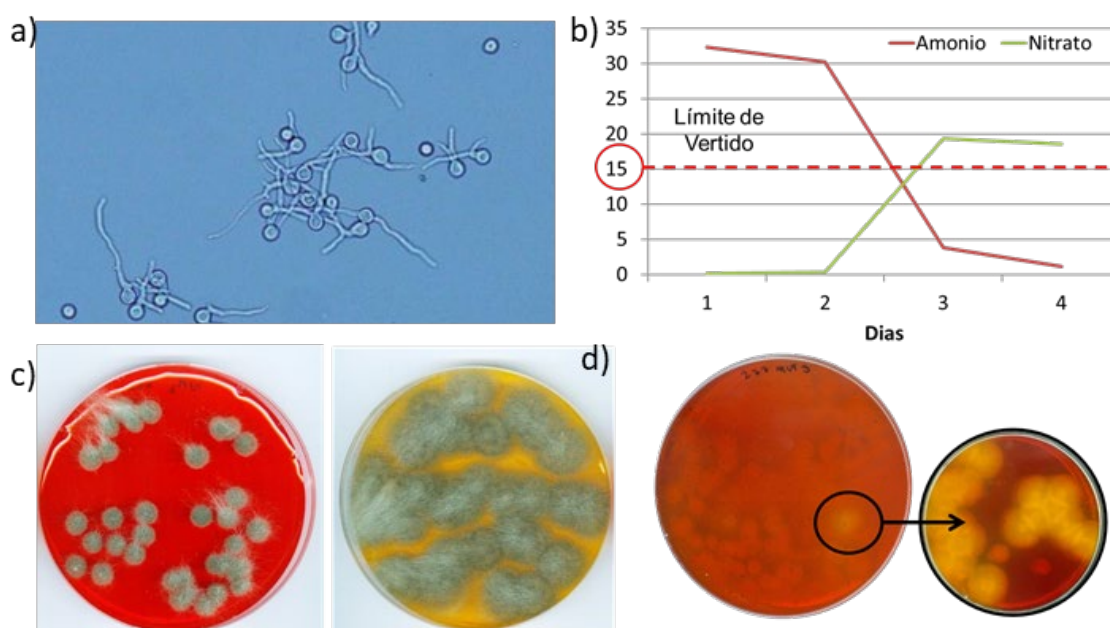


Figura 1. a) Esporas de *Mucor* crecidas en agua residual. b) Variación de concentraciones de nutrientes en presencia de *Mucor*. c) Cultivo de hongo *Mucor* especializado en consumo de amonio o nitratos. d) Aislamiento de estirpe mutante especializado en consumo de nitratos.

Actualmente, la planta piloto para depuración en dos etapas se encuentra en fase de diseño y construcción. Se parte de la planta utilizada en el proyecto Ignis Fungus (Figura 2), desarrollado en la EDAR Murcia Este. Esta planta tiene capacidad para tratar hasta 2 m³/h de agua residual, y actualmente, se está modificando para su adecuación de la segunda etapa de depuración anóxica.



Figura 2. A la izquierda, vista de la etapa aerobia planta piloto Biofungus. A la derecha, diferentes carriers bajo estudio en el reactor aerobio.

El nuevo proceso de depuración se muestra en la Figura 3. En la línea de agua, este cuenta con reactores aerobio MBBR y anóxico independientes para su dosificación por separado de estirpes con diferente especialización. Puesto que ya se comprobó que el rendimiento de depuración descende progresivamente tras la siembra inicial del hongo en el reactor, ahora se plantea el cultivo in-situ y su dosificación periódica para mantener un elevado rendimiento de eliminación de materia orgánica y nutrientes. Se incorpora por tanto al esquema de la planta dos tanques de cultivo con control de pH, temperatura y dosificación de nutrientes. Será objeto del proyecto optimizar las condiciones del cultivo para maximizar su producción y minimizar el consumo energético.

Se analizará a su vez la coexistencia y posibles sinergias entre los hongos empleados y las bacterias que habitan en la propia agua residual. Además, los sistemas MBBR se basan en el crecimiento de biomasa en forma de biopelícula en unos soportes plásticos que están en continuo movimiento en el reactor biológico denominados “carriers”. Estos soportes son de pequeño tamaño, pero tienen una elevada superficie específica por unidad de volumen, lo que posibilita el crecimiento de mayor cantidad de biomasa y de mayor efectividad que la que la de los flóculos biológicos de reactores convencionales. A su vez, la geometría de los carriers y la distribución de la biomasa sobre los mismos favorecen diferentes reacciones o procesos en la propia biomasa. Se probarán diferentes tipos de soportes para encontrar la mejor compatibilidad hongos y geometría del soporte.

El agua influente a planta, tras su paso por el reactor aerobio, pasa a una fase de decantación donde es clarificada. El fango obtenido se recircula al biológico. El agua clarificada pasa entonces al tanque anóxico donde habita y se dosifica la estirpe del hongo especializada en desnitrificación. Tras esta etapa se localiza otro decantador para el clarificado final y recuperación de la biomasa fúngica.

La línea de fango se compone de las recirculaciones de fango de los reactores aerobio y anóxico y las purgas de los decantadores al tanque de concentración.

La planta incluye también un sistema de control y adquisición de datos que permite establecer consignas de funcionamiento y el registro de datos de proceso para su posterior análisis.

Las unidades que componen cada etapa y sus principales características se presentan en la Tabla 1.

Figura 3. Esquema del proceso de depuración con biomasa fúngica.

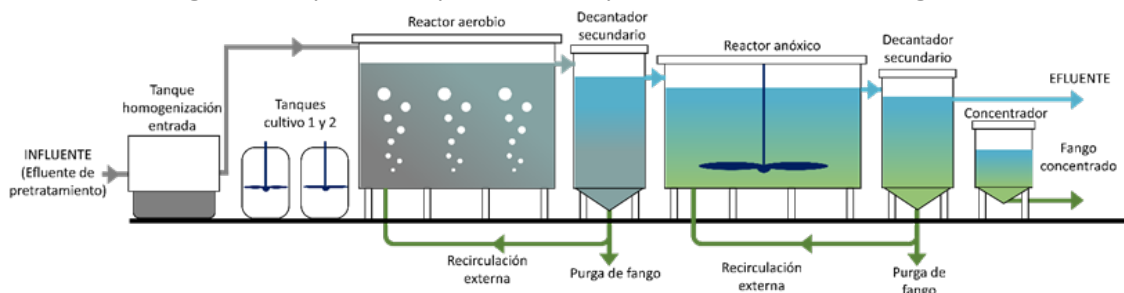


Tabla 1. Características de los equipos y unidades que componen la planta piloto Biofungus.

ETAPA	UNIDADES	PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS
Pretratamiento	Tamiz rotativo	0,5 mm tamaño de paso
	Bomba	Q= 200 l/h
Alimentación	Tanque homogenización	V= 500 l
	Bomba	Q= 250 l/h
Cultivo	Tanques cultivo	V= 200 l, aislamiento térmico, control de temperatura y sonda de pH
	Bombas	Q= 50 l/h
Control del cultivo	Depósitos para el almacenamiento de base, ácido y nutrientes	V=100 l
	Bombas dosificadoras	Q=7,5 l/h
Tratamiento Biológico aerobio	Biorreactor con aireación	V= 1.000 l, sonda de Oxígeno (0,1-20 mg/l), y sonda de pH/Temperatura (-5 -70°C).
Decantación A	Decantador	V= 1000 l
	Bomba recirculación	Q= 50 l/h
Tratamiento Biológico anóxico	Biorreactor con agitación	V= 1.000 l, sonda de Oxígeno (0,1-20 mg/l), y sonda de amonio y nitratos.
Decantación B	Decantador	V= 300 l
	Bomba recirculación	Q= 50 l/h
Concentración de lodo	Concentrador de lodo	V= 50 l

DISCUSIÓN

Con las modificaciones de la planta piloto finalizadas se espera alcanzar rendimientos de eliminación de materia orgánica similares a los procesos de depuración bacterianos (>90%). Además, el cultivo in-situ de la biomasa fúngica permitirá reducir drásticamente el elevado consumo energético que supone mantener el cultivo en el agua a depurar.

La aplicación de la estirpe del hongo encargada de consumir nitratos en el reactor anóxico proporcionará al sistema la posibilidad de producir agua con calidad apta según la autorización de vertido.

La estirpe de hongo valorada, CBS277.49, permite nitrificar, oxidando el amonio del agua hasta NO_3^- , pero no desnitrificar. Se está trabajando para encontrar una estirpe especializada en desnitrificación y que permita el cumplimiento de los parámetros de la autorización de vertido.

El nuevo diseño de la planta en dos etapas, además de permitir el uso de dos estirpes simultáneas con diferente especialización, supondrá una disminución en el consumo energético. Esto se debe a que el cultivo del hongo en un tanque de menor tamaño supone menos requerimientos de energía para mantener la temperatura en el rango de 20°C y menor consumo de oxígeno para mantener la producción del cultivo en la propia agua residual durante su etapa de depuración.

Se analizará el efecto de las diferentes geometrías de carriers al no disponer de bibliografía y de un comportamiento conocido de los hongos sobre estos sustratos.

Se desconocen posibles sinergias o inhibiciones entre bacterias y los hongos empleados y es objeto del trabajo futuro de este proyecto. A su vez, la coexistencia de diferentes especies de hongos en la misma etapa del proceso será evaluada. Se desconoce en este momento la demanda de materia orgánica que supondrá o si se efectuarán los procesos de desnitrificación al mismo rendimiento en presencia de elevada concentración de materia orgánica.

Por último, se evaluará el rendimiento de depuración en presencia de CE. Se prevé una mayor tolerancia a compuestos tóxicos y se evaluará la capacidad de degradación/depuración de dichos compuestos.

Respecto al fango fúngico, se demostró en el pasado un mayor contenido lipídico en este fango respecto al fango convencional. Se procederá a la caracterización del potencial de biometanización para integrar dicho fango en un sistema de digestión en la propia planta piloto

CONCLUSIONES

Los resultados pasados y actuales del proyecto indican que la estirpe *Mucor circinelloides* crece satisfactoriamente en aguas residuales, así como en aguas residuales provenientes de empresas de productos alimenticios. La utilización de residuos como sustrato permite su valorización, siendo beneficioso para las empresas en cuestión al no tener que tratar o gestionar dichos residuos. El crecimiento del hongo supone la clarificación del medio y consume la materia orgánica presente en el agua residual, lo cual supondrá una alternativa a los procesos convencionales, con unos tiempos de estabilización del proceso más reducidos que los habituales.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Fakhru'l-Razi, A. y Molla A. (2012). Enhancement of bioseparation and dewaterability of domestic wastewater sludge by fungal treated dewatered sludge. *J. Hazard. Mater.* 147, p. 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.01.060>
- [2] Coulibaly, L. (2002). *Bioconversión de macromoléculas dans un réacteur simulant un écoulement piston en régime transitoire. Cas de la bioremédiation d'eaux usées synthétique par Aspergillus niger* [Thèse de doctorat, Université Catholique de Louvain, Unité de génie] <https://hdl.handle.net/2078.1/206193>
- [3] Guest, R. y Smith, D. (2002). A potential new role for fungi in a wastewater MBR biological nitrogen reduction system. *J. of Env. Eng. and Sci.* 6, pp. 433-437. <https://doi.org/10.1139/s02-037>
- [4] Sankaran, S. y Khanal, S. (2010). Use of filamentous fungi for wastewater treatment and production of high value fungal byproducts: A review. *Critical Reviews in Env. Sci. And Tech.* 40, nº 400-449. <https://doi.org/10.1080/10643380802278943>
- [5] Bennett, J. y Lasure, L. (1991). More gene manipulations in fungi. San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02655-5>
- [6] Blánquez, P., Sarrà, A. y Vicent, T. (2008). Development of a continuous process to adapt the textile wastewater treatment by fungi to industrial conditions. *Process Biochemistry* 43, pp. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.10.002>
- [7] Fu, Y. y Viraraghavan, T. (2001). Fungal decolorization of dye wastewaters: A review. *Bioresour. Tech.* 79, pp. 251-262. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00028-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00028-1)
- [8] D'Annibale, A., Ricci, M., Quarantino, D. et al. (2004). *Panus tigrinus* efficiently removes phenols, color and organic load from olive-mill wastewater. *Res. Microbiol.* 155, pp. 596-603. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.04.009>
- [9] Jauani, A., Guillén, F., Penninckx, M., et al. (2005). Role of *Pycnoporus coccineus* laccase in the degradation of aromatic compounds in olive oil mill wastewater. *Enzym. Microb. Technol.* 36, pp. 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.11.011>
- [10] Salgado, J., Abrunhosa, L., Venancio, A., et al. (2016). Combined bioremediation and enzyme production by *Aspergillus* sp. in olive mill and winery wastewaters. *International Biodeterioration & Biodegradation* 110, pp. 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.12.011>
- [11] Ferrando Climent, L., Cruz Morató, C., Marco Urrea, E. et al. (2015). Non conventional biological treatment base don *Trametes versicolor* for the elimination of recalcitrant anticancer drugs in hospital wastewater. *Chemosphere* 136, pp. 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.051>
- [12] Shereve, M., Brockman, A., Hartleb, M., et al. (2016). The White-rot fungus *Trametes versicolor* reduces the estrogenic activity of a mixture of emergin contaminants in wastewater treatment plant effluent. *International Biodeterioration & Biodegradation* 109, pp. 132-140. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.01.018>
- [13] Cruz Morató, C., Marco Urrea, M., Vicent, T., et al. (2014). Hospital wastewater treatment by fungal bioreactor: Removal efficiency for pharmaceuticals and endocrine

- disruptor. *Science of the Total Environment* 493, pp. 365-376. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.117>
- [14] Navarro-Sánchez, F., Moya, N., Gadea, A. et al. (2016) Ignis Fungus: obtención de lodos de EDAR de alto poder calorífico mediante enriquecimiento de hongos oleaginosos. *CONAMA16*, Madrid. <http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/conama2016/CT%202016/1998973586.pdf>
- [15] Shoun, H., Kim, D., Uchiyama, H., et al. (1992). Denitrification by fungi. *FEMS. Microbiol. Lett.* 94, pp. 277-282. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(92\)90643-3](https://doi.org/10.1016/0378-1097(92)90643-3)
- [16] Tanimoto, T., Hatano, K., Kim, D., et al. (1992). Co-denitrification by the denitrifying system of the fungus *Fusarium oxysporum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 93, p. 177–180. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(92\)90525-S](https://doi.org/10.1016/0378-1097(92)90525-S)
- [17] Usuda, K., Toritsuka, N., Matsuo, Y., et al. (1995). Denitrification by the fungus *Cylindrocarpum tonkinense*: Anaerobic cell growth and two isozyme forms of cytochrome P-450_{nor}. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, p. 883–889. <http://doi.org/10.1128/aem.61.3.883-889.1995>
- [18] Shoun, H. y Tanimoto, T. (1991). Denitrification by the fungus *Fusarium oxysporum* and involvement of cytochrome P-450 in the respiratory nitrite reduction. *J. Biol. Chem.* 266, pp. 11078-11082. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)99130-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)99130-1)