



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AIRE

DESULFURACIÓN ANÓXICA DE BIÓGAS PARA ELIMINAR
ALTAS CARGAS DE H₂S

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
MAURICIO FLORES CORTES

TUTOR PRINCIPAL
Dr. GUILLERMO QUIJANO GOVANTES (INSTITUTO DE INGENIERÍA)

COMITÉ TUTORAL
Dra. FLOR DE MARÍA CUERVO LÓPEZ (UAM-IZTAPALAPA)
M. I. MERCEDES ESPERANZA RAMÍREZ CAMPEROS (INSTITUTO MEXICANO
DEL TRATAMIENTO DE AGUAS)

Juriquilla, Qro.

Septiembre 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Armando González Sánchez

Secretario: Dra. Flor de María Cuervo López

Vocal: Dr. Julián Carrillo Reyes

1^{er} Suplente: M. I. Mercedes Esperanza Ramírez Camperos

2^{do} Suplente: Dr. Guillermo Quijano Govantes

Lugar donde se realizó la tesis:

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN PROCESOS AVANZADOS DE
TRATAMIENTO DE AGUAS, UNIDAD ACADÉMICA JURQUILLA, INSTITUTO DE
INGENIERIA, UNAM

TUTOR DE TESIS:

Dr. Guillermo Quijano Govantes

FINANCIAMIENTO

Esta tesis se llevó a cabo con el apoyo de los siguientes proyectos de investigación:

- Proyecto PAPIIT IA100719 (DGAPA-UNAM)
- Proyecto 247006 Clúster de Biocombustibles Gaseosos (Fondo de Sustentabilidad Energética SENER– CONACYT)

M. Flores-Cortes agradece la beca de CONACYT para realizar estudios de maestría (Beca #11026).

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	9
NOMENCLATURA	10
RESUMEN	11
1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	12
1.1. El biogás como energía renovable	12
1.2. Limitaciones para el uso del biogás	14
1.3. Sistemas fisicoquímicos de eliminación de H ₂ S	15
1.4. Biofiltros percoladores y sus limitaciones	16
1.5. Procesos anóxicos desnitrificantes de desulfuración	18
2. HIPÓTESIS	20
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo general	20
3.2. Objetivos particulares	20
4. METODOLOGÍA	21
4.1. Obtención del inóculo	21
4.2. Medio de cultivo	21
4.3. Biolavador anóxico desnitrificante	22
4.4. Parámetros de operación, desempeño del sistema de desulfuración y ecuaciones de balance de nitrógeno	23
4.5. Procedimientos analíticos	25
4.5.1. Análisis de H ₂ S en fase gaseosa	25
4.5.2. Análisis en fase líquida	25
4.5.3. Análisis microbiológico.	26
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
5.1. Desempeño de remoción de H ₂ S bajo condiciones anóxicas desnitrificantes	27
5.2. Desempeño de oxidación de H ₂ S	31
5.3. Consumo de N-NO ₃ ⁻ y balance de nitrógeno	36

5.4. Comparación de los resultados con estudios reportados en la literatura	40
5.5. Análisis de las comunidades bacterianas	43
6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO	56
7. BIBLIOGRAFÍA.	58

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su apoyo incondicional en todo momento.

A mi tutor el Dr. Guillermo Quijano por su constante compromiso.

A las tutoras Dra. Flor del Cuervo y M. en C. Mercedes E. Ramírez por sus revisiones y aportaciones a esta investigación.

A mis compañeros de la maestría por su apoyo.

A la UNAM por todo el apoyo brindado.

A todo el equipo de investigadores del Instituto de Ingeniería, Unidad Académica Juriquilla.

A los técnicos Jaime Pérez y a Gloria Moreno por su apoyo en el trabajo de laboratorio

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biofiltro percolador típico con flujos de gas y líquido operados en contra-corriente.	17
Figura 2. Esquema del montaje experimental de desulfuración en dos etapas bajo condiciones anóxicas desnitrificantes, donde: (1) sensor de pH, (2) sensor de potencial REDOX, (3) puerto de muestreo líquido, (4) puertos de muestreo de gas, (5) rotámetro calibrado.	22
Figura 3. Operación del sistema de desulfuración, donde; eficacia de eliminación (círculos) y capacidad de eliminación (cuadros). Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H ₂ S, respectivamente.	28
Figura 4. Operación del sistema de desulfuración, donde: sulfato (círculos blancos), nitrato (círculos negros) y carbono inorgánico total (triángulos rojos). Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H ₂ S, respectivamente.	29
Figura 5. Operación del sistema de desulfuración, donde: potencial REDOX (triángulos rojos), desempeño de oxidación (rombos blancos). Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H ₂ S, respectivamente.	32
Figura 6. Tasa de consumo de nitrato (círculos grises), consumo molar de nitrato (cuadros negros), consumo molar de H ₂ S (triángulos rojos) durante la operación del sistema de operación. Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H ₂ S, respectivamente.	38
Figura 7. Abundancia relativa de los filos presentes en el inóculo.	43
Figura 8. Abundancia relativa de clases de proteobacterias presentes en el inóculo.	44
Figura 9. Abundancia relativa de los filos establecidos bajo la operación con 2,500 ppm _v de H ₂ S y TRH de 23 h.	46
Figura 10. Abundancia relativa de clases de proteobacterias presentes bajo la operación con 2,500 ppm _v de H ₂ S y TRH de 23 h.	47
Figura 11. Abundancia relativa los filos establecidos bajo la operación con 5,000 ppm _v de H ₂ S y TRH de 17 h.	49
Figura 12. Abundancia relativa de clases de proteobacterias establecidas bajo la operación con 5,000 ppm _v de H ₂ S y TRH de 17 h.	50

Figura 13. Abundancia relativa de filos establecidos bajo la operación con 10,000 ppm _v de H ₂ S y TRH de 17 h.	52
Figura 14. Abundancia relativa de clases de proteobacterias establecidas bajo la operación de 10,000 ppm _v de H ₂ S y TRH de 17 h.	53
Figura 15. Evolución de las poblaciones microbianas desde el inóculo a las diferentes condiciones operacionales. Abundancia relativa (%).	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición típica del biogás (adaptada de Gabriel y Sierra, 2017).	13
Tabla 2. Contenido de H ₂ S según la fuente de origen del biogás.	15
Tabla 3. Procesos fisicoquímicos de desulfuración del biogás.	16
Tabla 4. Composición del medio de sales minerales.	21
Tabla 5. Condiciones de operación estudiadas en el biolavador.	25
Tabla 6. Desempeño de la columna de absorción del sistema de desulfuración en las diferentes fases experimentales estudiadas.	27
Tabla 7. Desempeño del sistema de desulfuración en las diferentes fases experimentales estudiadas.	35
Tabla 8. Concentraciones promedio de sulfato y nitrato en la purga de líquido en las diferentes fases de operación del sistema de desulfuración.	36
Tabla 9. Tasas de remoción promedio de N-NO ₃ ⁻ en las fases experimentales con gas y líquido operados en continuo.	37
Tabla 10. Comparación de biotecnologías de desulfuración con los resultados obtenidos en la presente tesis.	42
Tabla 11. Caracterización bacteriana del inóculo considerando microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.	45
Tabla 12. Caracterización bacteriana bajo la operación estable a 2,500 ppm _v de H ₂ S y TRH de 23 h. Sólo se consideran microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.	48
Tabla 13. Caracterización bacteriana bajo la operación estable a 5,000 ppm _v de H ₂ S y TRH de 17 h. Sólo se consideran microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.	51
Tabla 14. Caracterización bacteriana bajo la operación estable a 10,000 ppm _v de H ₂ S y TRH de 17 h. Sólo se consideran microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.	54

NOMENCLATURA

Parámetro	Definición	Unidades
CE	Capacidad de eliminación	$\text{g H}_2\text{S m}^{-3}\text{h}^{-1}$
CIT	Carbono inorgánico total	g m^{-3}
C_e	Concentración de entrada de H_2S en el gas	g m^{-3}
C_s	Concentración de salida de H_2S en el gas	g m^{-3}
$C_{e\text{N-NO}_3}$	Concentración de entrada de N-NO_3^-	g m^{-3}
$C_{s\text{N-NO}_3}$	Concentración de salida de N-NO_3^-	g m^{-3}
DOX	Desempeño de oxidación	%
EE	Eficacia de eliminación	%
F	Flujo de gas	$\text{m}^3 \text{h}^{-1}$
Q	Flujo de líquido	$\text{m}^3 \text{h}^{-1}$
r_d	Flujo másico de nitrógeno dirigido a desnitrificación	$\text{gN-NO}_3^- \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$
r_e	Flujo másico de nitrógeno a la entrada del reactor	$\text{gN-NO}_3^- \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$
r_p	Flujo másico de nitrógeno que sale del reactor por la purga de líquido	$\text{gN-NO}_3^- \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$
REDOX	Potencial de óxido-reducción	mV
$R_{\text{N-NO}_3}$	Tasa de consumo de N-NO_3^-	$\text{gN-NO}_3^- \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$
TRH	Tiempo de residencia hidráulica en el reactor de tanque agitado	h
TRG	Tiempo de residencia del gas en la columna de absorción	min
VRL	Velocidad de recirculación de líquido	m h^{-1}
V_L	Volumen de líquido total del sistema	m^3
V_c	Volumen de la columna	m^3
YMB	Rendimiento de producción de biomasa	(g N-biomasa/ g N-NO_3^-)

RESUMEN

En el presente trabajo se presenta un biolavador innovador operado bajo condiciones anóxicas desnitrificantes para la purificación de biogás altamente contaminado con H₂S (2,500 - 10,000 ppm_v). El biolavador consistió en una columna de absorción de 1.6 L de volumen total acoplada a un reactor de tanque agitado de 1.5 L de volumen total. El tanque agitado se operó con un volumen de líquido de 1.3 L, el cual se recirculó de forma continua a través de la columna de absorción por medio de una bomba peristáltica (velocidad del líquido de 2.9 m h⁻¹).

Este sistema permite superar las limitaciones previamente reportadas en biofiltros percoladores convencionales tales como taponamiento por acumulación de azufre elemental o dilución de biogás, obteniendo eficacias de eliminación de H₂S entre 97.0 y 99.5% bajo condiciones estables y sin limitación de nitrato. Se monitorizó el desempeño de oxidación a sulfato obteniendo un valor promedio durante la etapa de operación en continuo del 50%.

Se probaron diferentes tiempos de retención hidráulico (TRH) de 46, 23 y 17h, y tiempos de retención del gas (TRG) de 13 y 16 minutos, evaluando diferentes cargas de operación que estuvieron entre 17.2 y 68.9 g H₂S m⁻³ h⁻¹.

Se desarrolló la caracterización de las comunidades bacterianas predominantes en el reactor bajo las concentraciones de H₂S de 2500, 5000 y 10000 ppm_v identificando las bacterias involucradas en los procesos de oxidación de azufre acoplados a la reducción del nitrato bajo condiciones anóxicas, tales como *sulfurimonas*, *thiobacillus*.

Palabras clave: biogás; biolavador; desulfuración anóxica; energía renovable; H₂S.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1.1. El biogás como energía renovable

El panorama global energético basado en los combustibles fósiles está caracterizado por un continuo crecimiento en la demanda de energía, mientras que las reservas internacionales se están agotando debido a su origen no renovable (Fortuny y col., 2008). Por otra parte, tanto la extracción como la quema de combustibles fósiles están asociadas a la emisión de contaminantes atmosféricos tales como, dióxido de azufre, monóxido de carbono y dióxido de carbono principalmente (Aránguez y col., 1999). Esto tiene impactos negativos al ambiente ampliamente documentados (Fortuny y col., 2008). Para asegurar el futuro sustentable, el uso de energías renovables ha ido en aumento en todo el mundo. Una de las principales tecnologías para la generación de energía renovable está basada en la digestión anaerobia de residuos orgánicos (Barrera y col., 2013). La digestión anaerobia consiste en la descomposición biológica de materia orgánica en ausencia de oxígeno, generando una corriente gaseosa (biogás) y una corriente líquida (digestato) (Gaete, 2007).

En este contexto el biogás es un combustible versátil que puede remplazar a los combustibles de origen fósil y además permite reducir las emisiones de CO₂ provenientes del uso de combustibles no renovables ya que se evita la liberación de carbono almacenado en forma de energía fósil (De Juana y col., 2003). El biogás es un combustible de origen renovable que se obtiene de la degradación anaerobia de materia orgánica. Aunque el biogás es una mezcla compuesta principalmente por CH₄ y CO₂, cuando se produce a partir de sustratos ricos en azufre éste puede contener altas concentraciones de ácido sulfhídrico (H₂S), las cuales pueden llegar a ser de 10,000 – 30,000 ppm_v. El uso de biogás en motores de ciclo combinado para la generación de energía térmica y eléctrica requiere que la

concentración de H₂S sea ≤ 500 ppm_v para evitar problemas de corrosión. Existen tecnologías fisicoquímicas y biológicas de remoción de H₂S del biogás. Sin embargo, las tecnologías fisicoquímicas son energéticamente demandantes al requerir altas temperaturas y presiones para su operación, o bien alta demanda de agua y químicos potencialmente tóxicos, por lo que no son amigables con el ambiente. Por otro lado, las biotecnologías presentan menores costos de tratamiento comparadas con las tecnologías fisicoquímicas ya que operan a presión y temperatura ambiente. Además presentan menor consumo de agua y reactivos químicos por lo que son amigables con el ambiente.

Tabla 1. Composición típica del biogás (adaptada de Gabriel y Sierra, 2017).

Compuesto	Composición (%)
CH ₄	30-75
CO ₂	15-60
H ₂ O	5-10
H ₂ S	0.002-0.5
Metil siloxanos volátiles	0-0.02
NH ₃	<1
O ₂	0-1
CO	<0.6
N ₂	0-2

En la actualidad varios países emplean el biogás como fuente de energía para producir electricidad, siendo los principales productores europeos Alemania, Reino Unido, Dinamarca, Italia y España (Gabriel y Sierra, 2017). En otras partes del mundo, el biogás también se aprovecha como fuente de energía, teniendo a Estados Unidos a la cabeza en el continente Americano (Ortega y col., 2015). La generación combinada de electricidad y calor (por medio de sistemas de cogeneración térmica/eléctrica, también conocidos como motores de ciclo combinado) es el principal sistema de aprovechamiento energético del biogás. La mayor parte del calor y potencia eléctrica generados se utilizan en la propia

instalación de producción de biogás, mientras que los excedentes de energía eléctrica pueden verse a la red estatal o municipal (Aguilar y col., 2009).

1.2. Limitaciones para el uso del biogás

Uno de los principales obstáculos para el aprovechamiento generalizado del biogás es que debe purificarse antes de su aprovechamiento en calderas, turbinas y sistemas de cogeneración térmica/eléctrica (Ortega y col., 2015). De acuerdo con la Tabla 1, existen diversos contaminantes, tales como el ácido sulfhídrico (H_2S), amoníaco (NH_3), metil siloxanos volátiles, entre otros, los cuales deben eliminarse para aprovechar el biogás (Noyola y col., 2006). Debido a su amplia ocurrencia, el H_2S es uno de los contaminantes del biogás más importantes ya que es corrosivo para los equipos de aprovechamiento energético. La combustión del H_2S produce SO_2 y SO_3 , que en presencia de agua forman H_2SO_4 (Persson y Wellinger, 2006). A partir de 500 ppm_v (750 mg H_2S m⁻³_{biogás} en condiciones normales), el H_2S produce corrosión en calderas, motores, turbinas, tuberías y sistemas de cogeneración térmica y eléctrica (Etcharren, 2005). Por encima de 1,000 ppm_v de H_2S se acorta la vida del aceite del motor y pone en peligro el sistema de combustión interna del mismo (Gabriel y Sierra, 2017).

Entre los efluentes que generan biogás altamente contaminado con H_2S están las vinazas (tanto de vino como de caña de azúcar), así como aguas residuales de la industria papelera, de la producción de ácido cítrico y de la producción de aceites comestibles (Lens y col., 1998). El biogás obtenido a partir de estos efluentes puede tener concentraciones de H_2S entre 10,000 y 30,000 ppm_v, lo que representa todo un reto para su eliminación (Barrera y

col., 2013). La concentración de H₂S presente en el biogás depende su fuente de procedencia como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Contenido de H₂S según la fuente de origen del biogás (Gabriel y Sierra 2017).

País	Fuente de origen	Concentración de H₂S (ppm_v)
Alemania	Agrícola	10 - 30,000
	Plantas tratadoras de aguas residuales	< 8,000
	Rellenos sanitarios	< 8,000
Estados Unidos	Rellenos sanitarios	< 200
	Productos de digestión anaerobia	< 200
	Estiércol de ganado	5,786 ± 1,286
	Estiércol	3,100
	Rellenos sanitarios	< 1,000
	Agrícolas	< 1,000
Finlandia	Relleno sanitarios	20 - 500
	Plantas tratadoras de aguas residuales	< 1-4
	Plantas de biogás	3 - 3,000
Francia	Residuos domésticos	100 - 900
	Plantas tratadoras de aguas residuales	1,000 - 4,000
	Desechos agrícolas	3,000 - 10,000
	Derivados de materias primas industriales	400

1.3. Sistemas fisicoquímicos de eliminación de H₂S

El proceso de remoción de H₂S se conoce como desulfuración o endulzamiento del biogás. Hoy en día existen procesos fisicoquímicos para la eliminación del H₂S (concentraciones de entre 1000-5000 ppm_v) tales como la adsorción con carbón activado, membranas, absorción con Fe(OH)₃ y la absorción en soluciones alcalinas (lavado químico), con eficacias de eliminación de entre el 95-99% (Gabriel y Sierra, 2017). Sin embargo, el costo de estos tratamientos es muy elevado debido a que presentan una alta demanda energética (particularmente los procesos de adsorción regenerativos), así como un alto consumo de

reactivos químicos y de agua en el caso del lavado químico (Llaneza y col., 2010). Por otra parte, el uso intensivo de energía y de compuestos tóxicos (como NaOH y aminas) en los procesos fisicoquímicos de desulfuración reduce la sustentabilidad del tratamiento e incrementa significativamente su costo (González, 2006). En la Tabla 3 se muestran los métodos fisicoquímicos más utilizados para la desulfuración del biogás.

Tabla 3. Procesos fisicoquímicos de desulfuración del biogás (Gabriel y Sierra 2017).

Proceso	Ejemplo	Base	Regeneración	Objetivo
Absorción química	Alcanolaminas	Formación de complejos entre solvente y gas ácido.	Solvente gastado, calor.	H ₂ S
Absorción física	Selexol Purisol, Rectisol.	Absorción en disolvente orgánico como función de la presión parcial.	Solvente gastado, calor.	CO ₂ y H ₂ S
Absorción física y química	Sulfinol	Absorción química en soluciones alcalinas	Solvente gastado, calor.	H ₂ S, CO ₂ , VOC
Adsorción química	Esponja de hierro	Adsorción del H ₂ S sobre virutas de madera impregnadas de hierro.	Limitado 1 o 2 veces por la acumulación de S ⁰ , la pérdida de agua y la hidratación.	H ₂ S
	Óxidos de cinc	Adsorción sobre óxido de cinc	Limitado 1 o 2 veces por la acumulación de S ⁰ , la pérdida de agua y la hidratación.	
	Adsorbentes derivados de lodos	Reacción con óxidos metálicos, tipos alcalinos, superficies oxidantes.	No reportado	
Adsorción física	Tamices moleculares (zeolitas)	Adsorción sobre zeolitas o carbón activado (impregnado).	Posible con gas caliente, pero no de forma indefinida; costoso.	H ₂ S
	Carbón activado			

Por otra parte, existen las tecnologías biológicas de desulfuración presentan menores costos de operación/inversión y son amigables con el medio ambiente (Quijano y col., 2018).

1.4. Biofiltros percoladores y sus limitaciones

Los biofiltros percoladores están entre los sistemas biológicos más utilizados para la desulfuración de biogás. Estos biorreactores son los más aplicados a escala industrial para

remover concentraciones relativamente bajas de H_2S (e.g. $<2,000$ ppm_v) (Montebello y col., 2014). Un biofiltro percolador consiste en una columna empacada por donde se hace pasar el biogás a tratar (Gabriel y Sierra, 2017). El empaque de estas columnas suele ser un soporte inerte a las reacciones que se lleven a cabo durante el proceso. Entre los materiales de soporte más utilizados están los empaques de plástico, cerámicos y metálicos (Duan y col. 2006). La columna empacada está conectada a un tanque de almacenamiento de líquido (medio de sales minerales para el crecimiento de los microorganismos) donde se monitorizan parámetros como el pH, potencial REDOX y concentración de oxígeno disuelto. El líquido se recircula a través de la columna empacada donde los microorganismos crecen en forma de biopelícula sobre el material de soporte (López y Gabriel, 2016). La Figura 1 presenta el esquema de un biofiltro percolador típico (Fortuny y col., 2008).

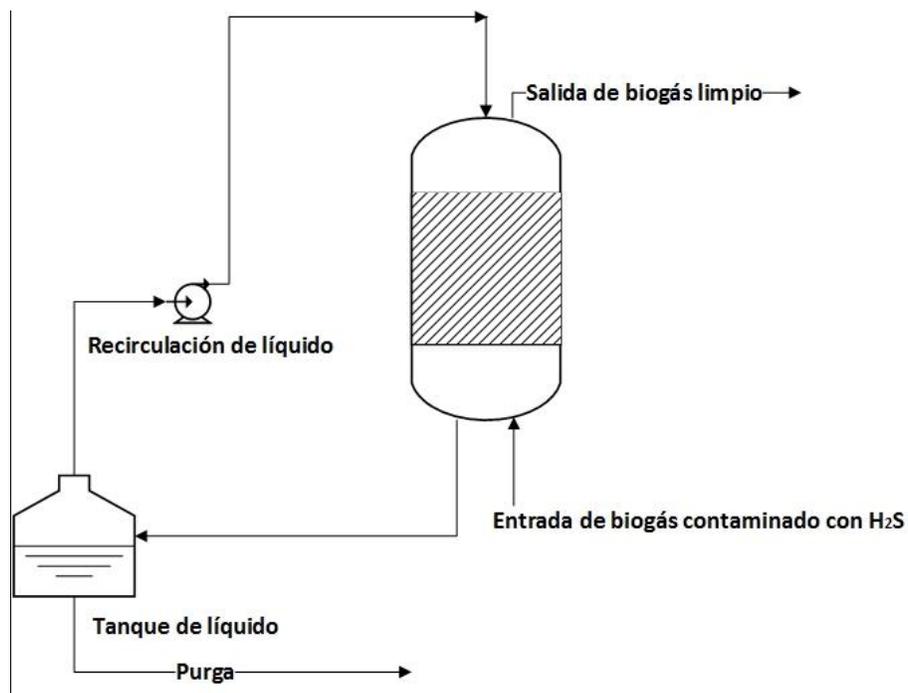


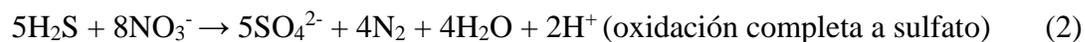
Figura 1. Biofiltro percolador típico con flujos de gas y líquido operados en contracorriente.

El biogás con altas concentraciones de H₂S (e.g. > 2,000 ppm_v) es difícil de tratar en biofiltros percoladores aerobios ya que se requiere una alta tasa de suministro de O₂ para la oxidación completa de H₂S hasta SO₄²⁻ (Barrera y col., 2013). Uno de los principales retos de la desulfuración de este tipo de biogás es la dosificación de O₂ para evitar la formación de azufre elemental y el taponamiento del lecho. Por el contrario, con un exceso de suministro de O₂ puede ocurrir dilución del biogás y pérdida de poder calorífico, además de generar una mezcla posiblemente explosiva. Por lo tanto, es necesario desarrollar tecnologías biológicas eficientes y robustas para la purificación de biogás altamente contaminado con H₂S (Gabriel y Sierra, 2017). En este contexto, es común que los procesos de desulfuración en biofiltros percoladores aerobios operados con cargas de H₂S superiores a ~50 g m⁻³ h⁻¹ reporten problemas operacionales debidos a la acumulación de azufre elemental, lo cual se traduce en taponamiento del lecho, paros operacionales y pérdida en la eficiencia de remoción de H₂S (Fortuny y col., 2011; Rodriguez y col., 2014; Lopez y col., 2016; Montebello y col., 2014; Chaiprapat y col., 2015).

1.5. Procesos anóxicos desnitrificantes de desulfuración

Las bacterias autotróficas que oxidan sulfuro bajo condiciones anóxicas desnitrificantes son comúnmente neutrófilas y mesófilas pertenecientes a los géneros *Allochromatium*, *Chlorobium*, *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodovulum*, *Thiocapsa*, entre otros (Friedrich y col., 2001; Ramírez, 2007). Asimismo, las bacterias sulfuro-oxidantes son microorganismos autótrofos que utilizan el CO₂ como fuente de carbono (Pokorna y col., 2015). Entre los microorganismos más reportados en procesos de desulfuración biológica se encuentra *Thiobacillus* que es un género predominante, destacando *Thiobacillus*

thioparus, *Thiobacillus versutus*, *Thiobacillus neopolitanus*, *Thiobacillus thiooxidans* y *Thiobacillus denitrificans* (Cadenhead y col., 1990). *T. denitrificans* se caracteriza por tener una alta resistencia a sustancias tóxicas, requerimientos nutricionales simples y actividad sulfuro-oxidante en un amplio rango de valores de pH (Fernández y col., 2014). En los procesos anóxicos desnitrificantes de desulfuración, el NO_3^- actúa como aceptor de electrones siendo reducido a N_2 , mientras que el H_2S es el donador de electrones y puede ser oxidado a azufre elemental (S^0), o bien a SO_4^{2-} (Reyes y col., 2004). Las reacciones de desulfuración y desnitrificación simultánea se presentan a continuación (López y col., 2018):



Una de las principales ventajas de los sistemas anóxicos sobre los aerobios es que el oxígeno necesario para llevar a cabo la oxidación del H_2S proviene del nitrato, mientras que en sistemas aerobios el oxígeno debe proveerse por aireación (o dosificación de O_2 puro), lo cual implica dilución del biogás, pérdida de poder calorífico y una posible formación de mezcla explosiva (Gabriel y Sierra, 2017). En los sistemas anóxicos, no existe riesgo de dilución de biogás o formación de mezclas potencialmente explosivas (Fernandez y col., 2013). Sin embargo, a pesar de las ventajas de los procesos anóxicos, estos procesos se han estudiado en biofiltros percoladores con columnas empacadas y desafortunadamente presentan problemas de acumulación de azufre elemental y taponamiento de lecho, lo que finalmente se traduce en paros por mantenimiento. (Fernandez y col., 2014; Maestre y col., 2010; Montebello y col., 2012; Almenglo y col., 2016a).

2. HIPÓTESIS

Un biolavador operado bajo condiciones anóxicas autotróficas desnitrificantes permitirá la remoción eficiente de altas cargas de H_2S sin presentar los problemas de operación encontrados en biofiltros percoladores en la columna empacada.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Desarrollar un biolavador de dos etapas separando la etapa de absorción y la de oxidación biológica de H_2S operado bajo condiciones anóxicas autotróficas desnitrificantes como una alternativa a los biofiltros percoladores aerobios para la desulfuración de biogás altamente contaminado con H_2S .

3.2. Objetivos particulares

- 1) Diseñar un biorreactor innovador que permita superar las limitaciones de biofiltros percoladores aerobios, tales como taponamiento debido a la acumulación de azufre elemental y la dilución del biogás debido a un exceso de aireación, separando las etapas de absorción y oxidación de H_2S en módulos independientes bajo condiciones anóxicas desnitrificantes.
- 2) Evaluar el desempeño del sistema a diferentes cargas de H_2S y tiempos de retención de biogás en la columna de absorción.
- 3) Evaluar el desempeño de oxidación de HS^- a sulfato bajo las condiciones de carga y tiempo de retención del gas propuestas.
- 4) Evaluar el efecto de las condiciones operacionales en las poblaciones bacterianas presentes en el sistema de desulfuración.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Inóculo

Se utilizó lodo secundario de recirculación de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas (Santa Rosa Jáuregui, Santiago de Querétaro) como inóculo. El biolavador se inoculó con 10% de lodo con respecto al volumen total de líquido del sistema.

4.2. Medio de cultivo

La Tabla 4 presenta el medio de sales minerales utilizado para garantizar el crecimiento de los microorganismos anóxicos autotróficos desnitrificantes sin limitación de nutrientes. Como aceptor de electrones se utilizó NO_3^- a una concentración en el medio de sales minerales de $1,800 \pm 141 \text{ g NO}_3^- \text{ m}^{-3}$ (correspondiente a $2,470 \pm 193 \text{ gNaNO}_3 \text{ m}^{-3}$) con un ph final de 8.

Tabla 4. Composición del medio de sales minerales.

Compuesto	Concentración final (g L^{-1})
KH_2PO_4	1.0
K_2HPO_4	1.0
MgCl_2	2.0
CaCl_2	0.25
NaHCO_3	1.0
NaNO_3	2.470
Micronutrientes	Concentración final (g L^{-1})
H_3BO_3	2.86×10^{-3}
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81×10^{-3}
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22×10^{-3}
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.079×10^{-3}
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.39×10^{-3}
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0494×10^{-3}

4.3. Biolavador anóxico desnitrificante

El biolavador consistió en una columna de absorción sin empaque (diámetro interno: 8 cm, altura: 40 cm) acoplada a un biorreactor de tanque agitado (Fig. 2) separando así la etapa de absorción y oxidación biológica de H_2S . El tanque agitado (diámetro interno: 12.4 cm, altura: 12.5 cm) se implementó con control de temperatura a 25°C , agitación magnética de 300 rpm y estuvo provisto de medición en línea de pH y potencial de óxido-reducción (REDOX). El medio líquido se recirculó de forma continua a través de la columna de absorción a una velocidad superficial de 2.9 m h^{-1} por medio de una bomba peristáltica. Una vez operado en continuo, se estudiaron tiempos de retención hidráulica (TRH) en el tanque agitado de 46, 23 y 17 h (correspondientes con flujos de líquido de $0.5, 1.0$ y 1.3 mL min^{-1}) con base a las tasas de dilución, empleando otra bomba peristáltica.

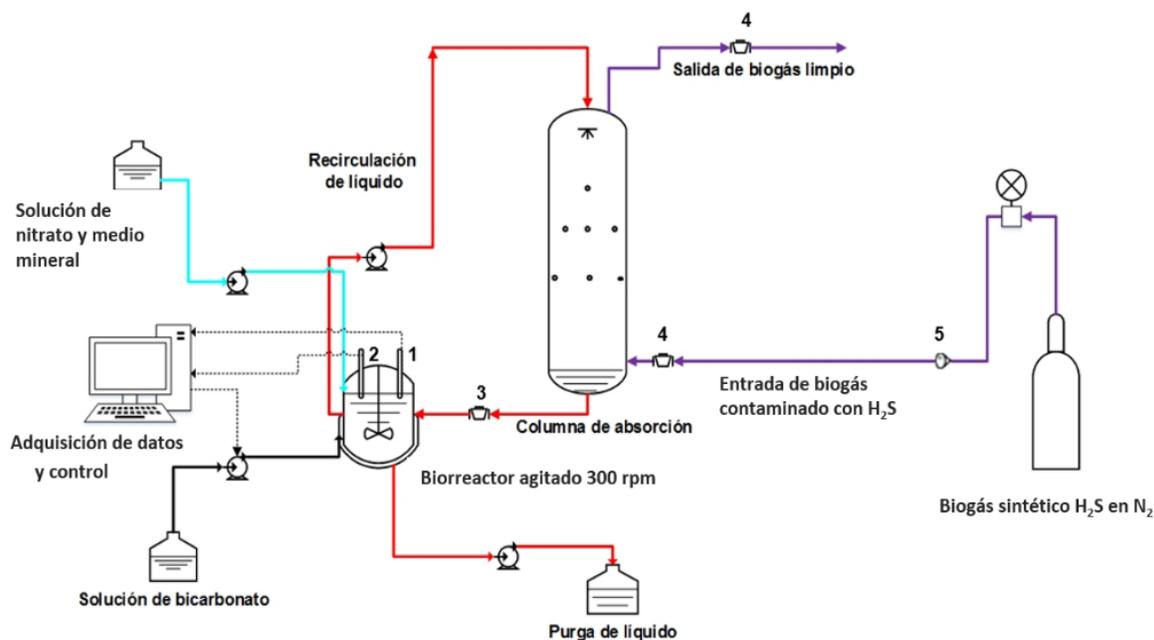


Figura 2. Esquema del montaje experimental de desulfuración en dos etapas bajo condiciones anóxicas desnitrificantes, donde: (1) sensor de pH, (2) sensor de potencial REDOX, (3) puerto de muestreo líquido, (4) puertos de muestreo de gas, (5) rotámetro calibrado.

El tanque agitado estuvo provisto de un sistema de control de pH mediante una unidad de control digital Vernier® (Oregon, Estados Unidos) conectada a la tarjeta de adquisición de datos y a una bomba peristáltica para la dosificación de una solución stock de 80 g L⁻¹ de NaHCO₃, que al mismo tiempo suministró carbono inorgánico se empleó para controlar el pH a un valor de 8.0 ± 0.2.

4.4. Parámetros de operación, desempeño del sistema de desulfuración y ecuaciones de balance de nitrógeno

Los parámetros de operación estudiados fueron los siguientes:

Tiempo de residencia del gas (TRG)

$$\text{TRG} = \frac{V_c}{F} \quad (3)$$

Tiempo de residencia hidráulica (TRH)

$$\text{TRH} = \frac{V_L}{Q} \quad (4)$$

El desempeño del proceso de desulfuración se evaluó por medio de los siguientes parámetros:

Eficacia de eliminación del H₂S en fase gaseosa (EE)

$$\text{EE} = \frac{(C_e - C_s)}{C_e} \times 100\% \quad (5)$$

Capacidad de eliminación de H₂S (CE)

$$\text{CE} = (C_e - C_s) \times \frac{F}{V_L} \quad (6)$$

Tasa de consumo de NO₃⁻ (R_{NO3})

$$R_{N-NO_3} = (C_{e N-NO_3} - C_{s N-NO_3}) \times \frac{Q}{V_L} - \frac{d[C]_{N-NO_3}}{dt} \quad (7)$$

Desempeño de oxidación de H₂S (DOX)

$$DOX = \left(\frac{g_{S-SO_4^{2-}}}{g_{S-H_2S \text{ Consumido}}} \right) \times 100\% \quad (8)$$

Flujo de nitrógeno dirigido a desnitrificación

$$r_d = \frac{Q}{V_L} \times (SO_4^{2-})_{\text{salida}} \times \frac{1.03 g NO_3^-}{g SO_4^{2-}} \times \frac{14 g N}{62 g NO_3^-} \quad (9)$$

Flujo de nitrógeno dirigido a biomasa

$$r_b = \frac{Q}{V_L} \times \frac{g \text{ biomasa}}{m^3} \times \frac{0.14 g N}{g \text{ biomasa}} \quad (10)$$

La Tabla 5 presenta las condiciones de operación estudiadas en el biolavador durante las seis etapas experimentales estudiadas, en las cuales se investigaron diferentes concentraciones de H₂S en biogás, TRG y TRH. Las cargas de H₂S estudiadas estuvieron entre 16.1 y 64.4 gH₂S m⁻³ h⁻¹, considerando el volumen de líquido del sistema de desulfuración.

Tabla 5. Condiciones de operación estudiadas en el biolavador.

Fase experimental	Días de operación	Concentración de H ₂ S en biogás (ppm _v)	TRG (min)	Carga (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	TRH (h)
I	0 – 21	2,500	13	16.1	Operación en lote
II	22 – 29	2,500	13	16.1	46
III	30 – 58	2,500	13	16.1	23
IV	59 – 62	5,000	13	32.2	23
V	63 – 73	5,000	13	32.2	17
VI	74 – 86	10,000	16	64.4	17

4.5. Procedimientos analíticos

Para determinar los parámetros de desempeño del sistema se determinó experimentalmente la concentración de nitrato, sulfato, proteína y carbono inorgánico total (CIT) en fase líquida, así como la concentración de H₂S en fase gaseosa. Los procedimientos analíticos se describen a continuación.

4.5.1. Análisis de H₂S en fase gaseosa

Se analizó la concentración de H₂S por medio de cromatografía de gases (GC-FID, con detector fotométrico de llama, equipo SRI-8610C, EUA) usando N₂ como gas acarreador a una presión de 50 psi. El detector y horno se mantuvieron a 150 y 400°C, respectivamente. Se tomaron muestras de gas a la salida de la columna de absorción para este análisis.

4.5.2. Análisis en fase líquida

Se monitorizó el consumo de NO₃⁻ y la formación de SO₄²⁻ por medio de cromatografía de iones empleando un equipo DIONEX ICS-1500 equipado con una columna IonPac AS23 (4 mm ×250 mm) y detector de conductividad. Se utilizó una solución de Na₂CO₃/NaHCO₃ (en una relación de 4.5/0.8 mmol L⁻¹ respectivamente) como fase móvil a una velocidad de 0.8 ml min⁻¹. El CIT se determinó con un analizador TOC-L (Shimadzu, Japón). Las

muestras líquidas para determinación de nitrato, sulfato y carbono inorgánico total se filtraron previamente (0.22 µm). La concentración de biomasa se determinó indirectamente por análisis de proteína empleando el método de Lowry modificado, el cual tiene una digestión previa de la muestra en NaOH (concentración 2M) en baño María a 100°C por 20 minutos. Posteriormente, se sigue el método convencional de la reacción de Folín (Lowry y col., 1951).

4.5.3 Análisis microbiológico

Con la finalidad de conocer los cambios poblacionales a lo largo del proceso de desulfuración se realizó la caracterización de las comunidades bacterianas en diferentes etapas de operación del biolavador tomando muestras de líquido en el tanque agitado. El ADN genómico se extrajo utilizando el kit PowerSoil® (MOBIO, Estados Unidos) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La concentración de ADN fue cuantificada por espectrofotometría utilizando un NANODrop 2000c (Thermo Scientific, Estados Unidos). Las muestras de ADN fueron enviadas al Research and Testing Laboratory (RTL, Lubbock, USA) para el análisis de secuenciación masiva Illumina MiSeq de células bacterianas (16S rRNA, primers: 28F 5'- GAGTTTGATCNTGGCTCAG-3', 388R 5'- TGCTGCCTCCCGTAGGAGT-3'). Las secuencias fueron analizadas utilizando el software QUIIME y la selección de unidades taxonómicas operativas se llevó a cabo utilizando el algoritmo UPERASE. El análisis de búsqueda Chimera se realizó con el software UCHIME ejecutado con el modo *de novo*. La clasificación taxonómica de cada unidad taxonómica operativa se realizó con una secuencia de consenso basada en el RDP classifier y comparada con secuencias de la NCBI database (Barragan y col., 2017).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Desempeño de remoción de H₂S bajo condiciones anóxicas desnitrificantes

Con el fin de aclimatar y favorecer el enriquecimiento de bacterias anóxicas desnitrificantes, el sistema de desulfuración se operó en lote durante 22 días para aclimatar a las comunidades microbianas provenientes del lodo secundario utilizado como inóculo. Es importante mencionar que en este periodo no hubo recambio de líquido (operación en lote con respecto al líquido), pero el gas se operó en continuo con un tiempo de residencia en la columna de absorción de 13 min (correspondiente con un flujo de 0.1 L min⁻¹) obteniéndose una eficacia de eliminación de H₂S promedio en la columna de absorción del 99.3 ± 0.37% (figura 3 y tabla 6).

Tabla 6. Desempeño de la columna de absorción del sistema de desulfuración en las diferentes fases experimentales estudiadas.

Fase experimental	EE En la columna de absorción (%)	[H ₂ S] _{Entrada} (ppm _v)	[H ₂ S] _{Salida} (ppm _v)
I	99.3 ± 0.37	2,500	17.4 ± 10.8
II	99.5 ± 0.6	2,500	9.1 ± 4.7
III	98.8 ± 1.6	2,500	36.4 ± 42.7
IV	60.6 ± 7.80	5,000	1420.5 ± 297.5
V	97.4 ± 1.2	5,000	103.1 ± 54.7
VI	95.6 ± 2.80	10,000	323.2 ± 149.3

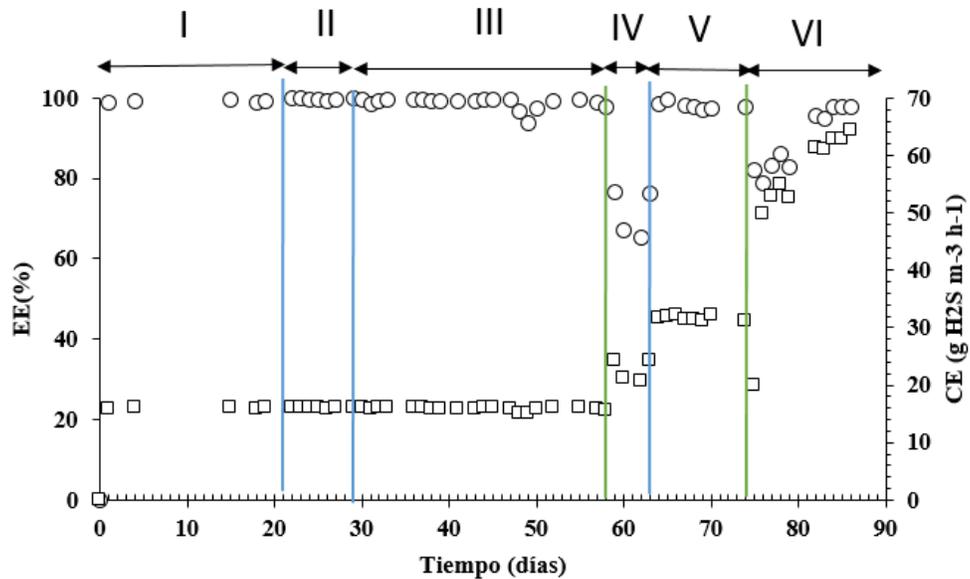


Figura 3. Operación del sistema de desulfuración, donde; eficacia de eliminación (círculos) y capacidad de eliminación (cuadros). Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H₂S, respectivamente.

Como se observa en la Figura 4, a los 22 días de operación en lote el nitrato adicionado inicialmente ($\sim 2,000 \text{ g m}^{-3}$) se consumió completamente. De igual forma, el CIT adicionado inicialmente ($\sim 3,000 \text{ g m}^{-3}$) se consumió hasta alcanzar una concentración de 1000 g m^{-3} . Se observó que al consumirse por completo el nitrato, el consumo de CIT también se detuvo. Estos resultados confirmaron la remoción anóxica autotrófica de H₂S ya que el único aceptor de electrones provisto fue el nitrato, mientras que la única fuente de carbono fue el CO₂ (suministrado por adición de NaHCO₃).

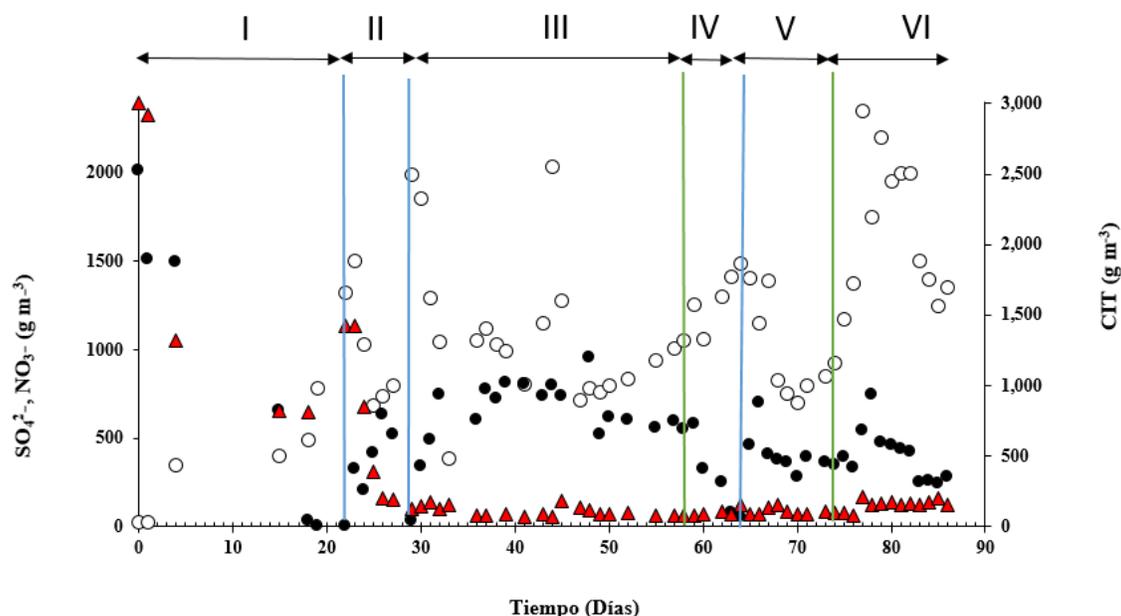


Figura 4. Operación del sistema de desulfuración, donde: sulfato (círculos blancos), nitrato (círculos negros) y carbono inorgánico total (triángulos rojos). Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H_2S , respectivamente.

A partir del día 22 se procedió a operar el sistema de desulfuración en continuo con respecto al líquido (la fase gaseosa ya operaba en continuo). Para este fin, se alimentó medio mineral fresco provisto de una concentración de nitrato de $1,800 \pm 141 \text{ g m}^{-3}$ (Con base a ecuación 2), estableciendo un TRH de 46 h y (correspondiente con un flujo de purga de líquido equivalente al de la alimentación de 0.5 ml min^{-1}). Bajo estas condiciones se obtuvo una eficacia de eliminación de H_2S promedio de $99.5 \pm 0.6\%$ (correspondiente con una CE de $16.1 \pm 0.1 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$). Sin embargo, la concentración de nitrato decayó a un valor de 30 g m^{-3} en el día 29 de operación en continuo. Por lo tanto, en el día 29 de operación se aumentó el flujo de alimentación de líquido al doble para obtener un TRH de 23 h (correspondiente con una tasa de dilución de 0.046 h^{-1}). Bajo este TRH y a partir del día 37 de operación las concentraciones de nitrato, sulfato y de CIT se mantuvieron en valores promedio de $510 \pm 130 \text{ g m}^{-3}$, $1090 \pm 484 \text{ g m}^{-3}$ y $90 \pm 9 \text{ g m}^{-3}$, respectivamente.

Asimismo, bajo estas condiciones (fase experimental III) se obtuvo una eficacia de eliminación de H₂S promedio de $98.8 \pm 1.6\%$ (correspondiente con una CE de $15.9 \pm 0.24 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

A partir del día 58, la concentración de H₂S se aumentó a 5,000 ppm_v manteniendo un TRG de 13 min (fase experimental IV). Este incremento en la carga de H₂S requirió de un incremento en el suministro de nitrato (ecuación 2) para tener disponibilidad de aceptor de electrones para la oxidación completa del HS⁻ a sulfato. Por lo tanto, el incremento en la carga de H₂S también involucró una disminución del TRH a 17 h para incrementar el suministro de nitrato (fase experimental V). Bajo estas condiciones, se obtuvieron valores de nitrato, sulfato y CIT de $405 \pm 151 \text{ g m}^{-3}$, $1060 \pm 308 \text{ g m}^{-3}$ y $170 \pm 19 \text{ g m}^{-3}$, respectivamente. Asimismo, bajo estas condiciones en operación estable se obtuvo una eficacia de eliminación de H₂S promedio de $97.4 \pm 1.2\%$ (correspondiente con una CE de $31.1 \pm 0.33 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

El día 74 se incrementó nuevamente la concentración de H₂S a 10,000 ppm_v (fase experimental VI) y se ajustó el TRG a 16 min (correspondiente con una carga de H₂S de $55.1 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), manteniéndose el TRH de 17 h. Bajo estas condiciones se obtuvieron valores de nitrato, sulfato y CIT de $342 \pm 146 \text{ g m}^{-3}$ y $1701 \pm 399 \text{ g m}^{-3}$ $105 \pm 25 \text{ g m}^{-3}$, respectivamente. En la fase experimental VI se obtuvo una eficacia de eliminación de H₂S promedio de $95.7 \pm 2.7\%$ (correspondiente con una CE de $61.2 \pm 3.2 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

Es importante mencionar que en todas las condiciones de trabajo sin limitación por nitrato (Con base a la ecuación 2) se llevó a cabo el proceso anóxico desnitrificante con eficacias de remoción $\geq 95\%$. En todos los casos se consiguió una purificación que permite usar el biogás en sistemas de aprovechamiento (Gabriel y Sierra, 2017), tales como motores de

ciclo combinado para la producción de energía térmica y eléctrica al tener concentraciones de salida de H_2S menores a 500 ppm_v. Por lo tanto, el principal objetivo del presente trabajo se cumplió con el sistema innovador desarrollado. Entre las principales ventajas del presente sistema sobre los biofiltros percoladores convencionales se pueden destacar las siguientes: (i) aunque pudo haber la formación de azufre elemental se evitan paros por mantenimiento debido a taponamiento por acumulación de este elemento (ya que no hay empaque en la columna de absorción, la cual está separada del módulo de oxidación biológica), (ii) no hay dilución del biogás o generación de mezcla potencialmente explosiva al evitar el uso O_2 , y (iii) se remueve nitrógeno que es un contaminante que debe eliminarse en el contexto del tratamiento de aguas residuales incluyendo la fracción líquida del digestato cuando ésta no se valoriza como fertilizante ya que puede llegar a contener altas concentraciones de nitrógeno en forma amoniacal (hasta 2200 g $\text{N-NH}_4 \text{ m}^{-3}$). Durante los 86 días de operación del sistema no hubo problemas de operación relacionados con la presencia de azufre elemental (Ver tabla 10), lo cual es digno de resaltarse considerando las altas cargas de H_2S utilizadas (e.g. 16.1-64.4g $\text{H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

5.2. Desempeño de oxidación de H_2S

La Figura 5 presenta los datos de DOX y de potencial REDOX durante la operación del sistema de desulfuración. Durante la operación en lote (fase experimental I), se observó que inicialmente hubo una disminución drástica en el potencial REDOX debido fundamentalmente a la absorción de H_2S , indicando que la especie predominante en el medio líquido fue precisamente el sulfuro (HS^- , especie reducida). Sin embargo, a partir del

día 4 los valores de DOX y de potencial REDOX aumentaron, lo cual confirmó la oxidación progresiva de sulfuro a sulfato.

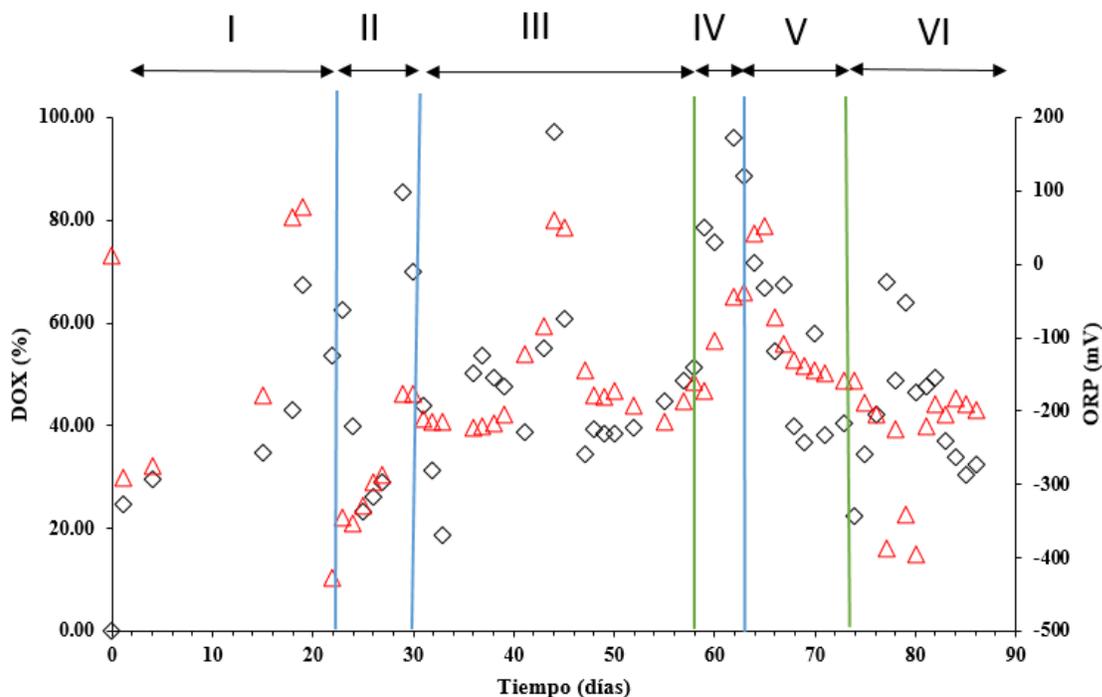


Figura 5. Operación del sistema de desulfuración, donde: potencial REDOX (triángulos rojos), desempeño de oxidación (rombos blancos). Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H₂S, respectivamente.

En el día 19 de operación se determinó un valor de potencial REDOX de 77.6 mV, correspondiendo con una concentración de sulfato de 781 g m⁻³ y DOX de 67.21%. Estos resultados indicaron que el proceso anóxico desnitrificante se llevó a cabo ya que la única fuente de carbono fue el NaHCO₃ y el único aceptador de electrones provisto fue el nitrato, llevándose a cabo la oxidación del HS⁻. De acuerdo con Janssen y col. (1998), valores de potencial REDOX por debajo de -200 indican predominancia de sulfuro, mientras que

valores por encima de -100 indican predominancia de sulfato, por lo tanto, el sulfato fue la especie predominante al final de la fase experimental I.

A partir del día 22 el sistema se operó en continuo con respecto al líquido. El presente sistema de desulfuración involucra diversas especies químicas que impactan de forma simultánea al potencial REDOX, tales como sulfuro, azufre elemental, sulfato y nitrato (y sus posibles metabolitos reducidos). Por lo tanto, es complejo relacionar con exactitud valores de potencial REDOX con predominancia de una determinada especie química de azufre (e.g. sulfuro, azufre elemental o sulfato) (Janssen y col., 2000). Por esta razón se monitorizó la concentración de sulfato en fase líquida para conocer la relación entre el valor de potencial REDOX con la especie de azufre predominante. Desde el inicio de la operación en continuo el día 22 (fase experimental II) se observó un aumento en el potencial REDOX debido a la oxidación progresiva del H₂S absorbido. En este contexto, con un TRH de 46 h y concentración de H₂S de 2,500 ppm_v. Para el día 29 se alcanzó un valor máximo de potencial REDOX de -177 mV, el cual correspondió con un valor máximo de DOX de 85%, indicando que se alcanzó una oxidación con predominancia de sulfato. Posteriormente con el cambio de TRH a 23 h (fase experimental III), se observaron valores fluctuantes de potencial REDOX, alcanzando un valor máximo de 60 mV el día 44. En este periodo de operación se registró un valor promedio de DOX de 47.29 ± 16.11 .

El día 58 se realizó el cambio de concentración de H₂S a 5,000 ppm_v correspondiente a la fase experimental IV (días 59-62 de operación) y se mantuvo el TRH de 23 horas. Bajo estas condiciones, aunque se observó un descenso en la eficacia de eliminación de H₂S el día 60 al 75.67%, en el desempeño de oxidación hasta alcanzar un valor promedio de $83.36 \pm 11.01\%$. La reducción en la eficacia de eliminación de H₂S estuvo relacionada con limitación de nitrato (figura 4), por lo tanto, los días 63-73 (fase experimental V) se

disminuyó el TRH a 17 h para incrementar el suministro de nitrato. Bajo estas condiciones se incrementó la eficacia de eliminación de H₂S hasta alcanzar un valor promedio estable de $97.55 \pm 1.15\%$ y un DOX promedio de $53.83 \pm 15.17\%$. Durante los días 74-86 (fase experimental VI), la concentración de H₂S se incrementó a 10,000 ppm_v, se mantuvo el TRH de 17 h, pero se aumentó el tiempo de retención del gas a 16 min, correspondiendo con una carga de H₂S de $55.1 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. El incremento de carga de H₂S tuvo como resultado una disminución del potencial REDOX hasta un valor mínimo de -400 mV . Sin embargo, para el día 81 el potencial REDOX alcanzó valores en torno a -200 mV y un valor de DOX promedio de $42.78 \pm 13.08\%$.

Los resultados obtenidos mostraron que el sistema biolavador desarrollado presenta relativamente altas tasas de oxidación de HS⁻ hasta sulfato comparadas con estudios previos en biofiltros percoladores operados bajo condiciones anóxicas desnitrificantes (ver Sección 5.4). Los valores de DOX registrados bajo operación continua y sin limitación de nitrato estuvieron entre 41.6 ± 13.1 y $82.1 \pm 10.0\%$. Es importante mencionar que dado que no se utilizó soporte para la adhesión de los microorganismos, el tiempo de retención de la biomasa coincidió con el TRH. Esta es una de las posibles causas por las que no se alcanzó la oxidación completa de sulfuro bajo las condiciones de operación en continuo. Este argumento se basa en el hecho de que los valores promedio de DOX decrecen conforme el TRH disminuye como se muestra en la Tabla 7, la cual presenta un resumen general del desempeño del sistema de desulfuración. Por otra parte, existe el riesgo de lavado de biomasa en el tanque agitado a TRH menores a 17 h que corresponden a tasas de dilución mayores a 0.058 h^{-1} , valores cercanos a las tasas máximas de crecimiento de $0.062\text{--}0.21 \text{ h}^{-1}$ reportadas en la literatura para bacterias sulfuro-oxidantes autotróficas (Gonzalez y col., 2007).

Tabla 7. Desempeño del sistema de desulfuración en las diferentes fases experimentales estudiadas.

Fase experimental	EE (%)	CE (gH ₂ S m _{Liq} ⁻³ h ⁻¹)	DOX (%)	Concentración de proteína (g m ⁻³)
I	99.34 ± 0.37	15.9 ± 0.1	Operación en lote	121.1 ± 9.8
II	99.70 ± 0.27	16.1 ± 0.1	45.59 ± 22.80	No determinada
III	98.72 ± 1.55	15.9 ± 0.24	47.50 ± 16.11	25.5 ± 1.5
IV	60.66 ± 7.80	15.8 ± 1.86	83.36 ± 11.01	30.4 ± 3.5
V	97.55 ± 1.15	31.1 ± 2.3	53.83 ± 15.17	27.0 ± 5.2
VI	95.63 ± 2.80	61.2 ± 3.2	42.78 ± 13.08	81.9 ± 24.1

El desempeño de oxidación de cualquier sistema de desulfuración es un parámetro muy importante. Esto se debe a que la estrategia de valorización del azufre recuperado en el proceso de desulfuración dependerá en gran medida de la especie obtenida. Por ejemplo, el azufre elemental tiene aplicaciones industriales como la producción de ácido sulfúrico, la síntesis de CS₂ para vulcanización, la producción de fertilizantes, pólvora y baterías (Janssen y col., 2001; Simmonds y col., 2014). Sin embargo, para comercializar el azufre elemental a nivel industrial éste debe tener una pureza mínima del 99.2% (CAS 9073-75-0, *azufre en polvo*). La formación de por lo menos el 10% de sulfato es prácticamente inevitable aun cuando se controle la dosificación del aceptor de electrones para conseguir la oxidación incompleta del HS⁻ (Janssen y col., 1998). Por lo tanto, la valorización de azufre elemental a partir de procesos de desulfuración requeriría una etapa de purificación posterior que podría no ser económicamente viable (Quijano y col., 2018). Sin embargo, cuando la especie resultante es principalmente sulfato (Tabla 8), ésta se puede valorizar en la producción de fertilizantes, la cual es una de las vías más atractivas para el uso sostenible de los efluentes de sistemas de desulfuración (San Valero y col., 2019). Por lo tanto, es importante la búsqueda de estrategias que permitan mejorar el desempeño de oxidación en el biolavador desarrollado en la presente tesis.

Tabla 8. Concentraciones promedio de sulfato y nitrato en la purga de líquido en las diferentes fases de operación del sistema de desulfuración.

Fase experimental	[SO ₄ ²⁻] (g m ⁻³)	[NO ₃ ⁻] (g m ⁻³)
I	Operación en lote	Operación en lote
II	1153 ± 481.0	353.8 ± 214.4
III	1090 ± 484.0	669.1 ± 29.9
IV	1204 ± 128.4	386.6 ± 172.2
V	1060 ± 308.0	404.7 ± 150.5
VI	1701 ± 399.0	341.8 ± 145.7

5.3. Consumo de N-NO₃⁻ y balance de nitrógeno

La concentración de proteína se determinó en los primeros días de operación, obteniéndose un valor de 121 ± 9.8 g m⁻³. Esta concentración de proteína determinada en la primera etapa de operación en lote se utilizó como referencia para observar de forma indirecta cambios en la concentración de biomasa durante la operación en continuo del sistema de desulfuración. Es importante mencionar que esta concentración inicial de proteína incluye a la biomasa del inóculo y no a la biomasa específica anóxica desnitrificante ya que la muestra se tomó en el primer día de la fase experimental I.

En relación con el crecimiento de biomasa en el biolavador, las concentraciones de proteína determinadas en las fases experimentales I, III, V y VI (Ver tabla 7). Estos resultados indicaron que a pesar de no contar con un soporte para la retención de biomasa en el sistema, la biomasa sulfuro-oxidante fue capaz de adaptarse a las condiciones de operación, incluso bajo las condiciones de recambio de líquido más exigentes (TRH = 17 h, tasa de dilución de 0.058 h⁻¹). En la fase experimental II no se determinó la concentración de proteína ya que el color oscuro observado al inocular el reactor no desapareció hasta la fase

experimental III cuando la biomasa inicialmente inoculada ya había sido diluida por la operación en continuo de la fase líquida. Esto tuvo como objetivo evitar la medición de biomasa que no era sulfuro-oxidante y así observar la tendencia real de la biomasa que llevó a cabo el proceso de desulfuración. Por otra parte, la medición de proteína tuvo como objetivo conocer la fracción de N-NO_3^- que se destinó a la formación de biomasa, así como realizar un balance de nitrógeno.

La tasa de remoción de N-NO_3^- (ecuación 7) se determinó para las fases experimentales II-VI, donde tanto el gas como el líquido se operaron en continuo (Tabla 7).

Tabla 9. Tasas de remoción promedio de N-NO_3^- en las fases experimentales con gas y líquido operados en continuo.

Fase experimental	$R_{\text{N-NO}_3^-}$ ($\text{gN-NO}_3 \text{ mLiq}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	$r_d \text{ N-NO}_3^-$ ($\text{gN-NO}_3 \text{ mLiq}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	$r_b \text{ N-NO}_3^-$ ($\text{gN-NO}_3 \text{ mLiq}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	$r_p \text{ N-NO}_3^-$ ($\text{gN-NO}_3 \text{ mLiq}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	YBM (g N- biomasa/ g N- NO_3^-)	N-NO_3^- recuperado (%)
III	11.8 ± 5.5	10.6 ± 3.2	0.30 ± 0.01	5.31 ± 0.31	0.025	92
IV	15.2 ± 2.9	12.8 ± 1.4	0.36 ± 0.04	4.02 ± 1.80	0.023	87
V	22.7 ± 5.2	19.4 ± 3.9	0.53 ± 0.07	5.27 ± 1.96	0.023	88
VI	23.5 ± 3.1	22.4 ± 4.8	0.93 ± 0.10	4.45 ± 1.90	0.039	99

La Figura 6 muestra los valores de $R_{\text{N-NO}_3^-}$ con respecto a las diferentes fases experimentales al igual que el consumo molar de nitrato y H_2S , calculando la relación molar durante la etapa de operación estable del reactor obtuvimos un valor promedio de $1.44 \pm 0.55 \text{ mol NO}_3^-/\text{mol H}_2\text{S}$, el estequiométrico con base a la ecuación 2 es de $1.6 \text{ mol NO}_3^-/\text{mol H}_2\text{S}$. Se observó que a medida que se aumentó la carga de H_2S , el consumo de N-NO_3^- también aumentó. El valor máximo de $R_{\text{N-NO}_3^-}$ fue de $26.3 \text{ gN-NO}_3^- \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, lo cual representa un consumo muy importante de nitrógeno en el contexto del tratamiento de aguas residuales, o bien de efluentes residuales que deben tratarse como la fracción líquida

de digestato por su alto contenido de nitrógeno (Bahr y col., 2013). Estos resultados indican que el sistema de desulfuración permite la remoción de entre 178 y 564 gN-NO₃⁻ por m³ de reactor por día, bajo las condiciones de operación estudiadas.

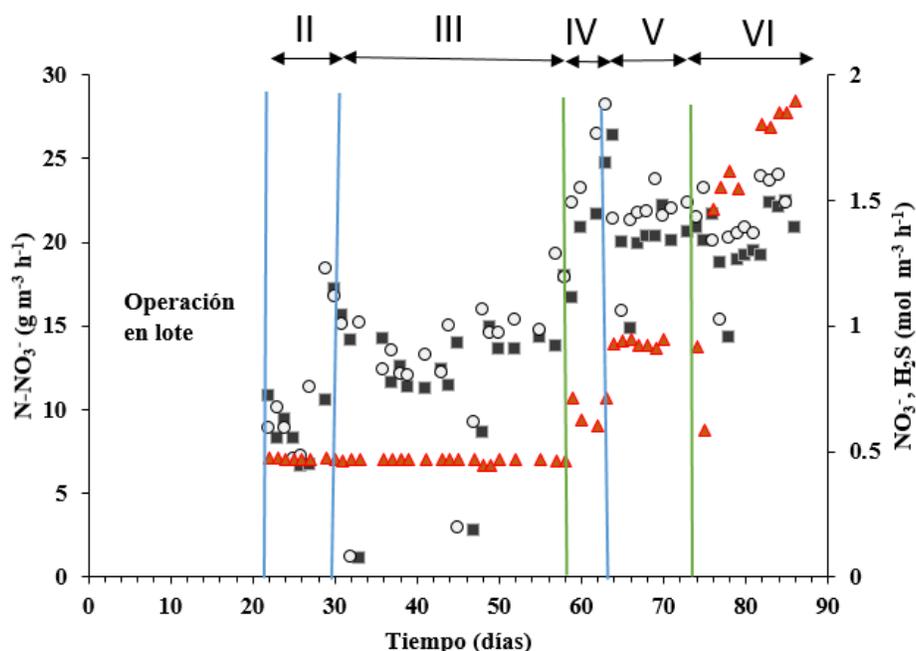


Figura 6. Tasa de consumo de nitrato (círculos grises), consumo molar de nitrato (cuadros negros), consumo molar de H₂S (triángulos rojos) durante la operación del sistema de operación. Líneas verticales azules y verdes representan cambio de TRH e incremento de concentración de H₂S, respectivamente.

Una vez conocida la concentración de biomasa y las tasas de consumo de N-NO₃⁻, se realizó un balance de nitrógeno, considerando los flujos de nitrógeno dirigidos a desnitrificación y a crecimiento de biomasa, así como el N-NO₃⁻ en la purga de líquido (Tabla 10). El flujo másico dirigido a desnitrificación (r_d , gN-NO₃⁻ m⁻³ h⁻¹) se determinó con base en el sulfato formado ya que, por medio de la estequiometría (ecuación 2) de la reacción se conoce cuántos moles de N-NO₃⁻ se requieren para formar un mol de SO₄²⁻ (ver ecuación 9).

El flujo másico dirigido a biomasa (r_b , $\text{gN-NO}_3^- \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) se determinó con base en la producción de biomasa, medida a través de la concentración de proteína (ecuación 10). De acuerdo con Bailey y col. (1986), cada gramo de biomasa bacteriana contiene aproximadamente 0.14 g de nitrógeno. Por lo tanto empleando la ecuación 10 calculamos el flujo de nitrógeno dirigido a biomasa

La Tabla 11 presenta los flujos de nitrógeno consumido, nitrógeno dirigido a desnitrificación y nitrógeno dirigido a biomasa en las fases experimentales III-VI. La fase experimental I no se consideró dado que el líquido fue operado en lote, mientras que en la fase experimental II aún se observó biomasa del inóculo que no necesariamente correspondió con biomasa sulfuro-oxidante. Los resultados obtenidos mostraron que los flujos de N-NO_3^- dirigidos a biomasa y a desnitrificación corresponden con el N-NO_3^- consumido en el sistema, con recuperaciones de nitrógeno que van del 87 al 99%. Por lo tanto, los balances de masa indicaron que la mayor parte del nitrógeno consumido se dirigió al proceso de desnitrificación y sólo una pequeña fracción del nitrógeno consumido se destinó a la formación de biomasa. Esto corresponde con lo reportado en literatura, que indica que la biomasa autotrófica presenta muy bajos rendimientos (tabla 9) de biomasa comparado con microorganismos aerobios (Doran, 1995).

5.4. Comparación de los resultados con estudios reportados en la literatura

En esta sección se presenta un resumen de los resultados reportados en la literatura en tecnologías biológicas de desulfuración aerobias y anóxicas, a modo de comparación con los resultados obtenidos en la presente tesis. El sistema experimental más utilizado para llevar a cabo la oxidación completa de HS^- a sulfato, a escala laboratorio y piloto, es el biofiltro percolador (Tabla 11). El principal problema operacional reportado tanto en sistemas aerobios como anóxicos es la interrupción de la operación debido a la acumulación de azufre elemental en el lecho empacado. En este trabajo, se obtuvieron eficacias de eliminación de entre 97 y 99% con las que se logró obtener biogás con concentraciones de $[\text{H}_2\text{S}] < 500\text{ppm}_v$, siempre y cuando no haya limitación por nitrato. Es importante destacar que la velocidad de recirculación de líquido (VRL) en el presente trabajo fue hasta 7 veces más baja que la utilizada en algunos estudios, lo que implica un ahorro de energía muy importante en bombeo de líquido. Cabe destacar que la mayoría de trabajos que utilizan sistemas anóxicos no reportan el desempeño de oxidación de sulfuro a sulfato. Por esta razón, prácticamente no hay información del porcentaje de sulfuro que realmente se oxida completamente a sulfato en sistemas anóxicos de desulfuración. Por otra parte, en los sistemas aerobios los valores de DOX reportados están entre 10 y el 65% (Ver tabla 10), los cuales son similares a los obtenidos el presente estudio.

Prácticamente en todos los estudios incluidos en la Tabla 11, los mayores valores de eficacia de remoción se obtuvieron con los TRG más altos. Las cargas estudiadas en este trabajo son competitivas con las reportadas en otros trabajos tanto aerobios como anóxicos. El biolavador desarrollado en el presente estudio requirió valores de TRG hasta 8 veces más altos que los reportados en la literatura. Esto tiene como consecuencia que el sistema

desarrollado en el presente estudio debe ser de mayor volumen comparado con algunos biorreactores reportados. Sin embargo, esta desventaja se compensa por el hecho de que en todo el tiempo experimental no se necesitó parar la operación del reactor por acumulación de azufre elemental o de biomasa. Asimismo, como se indicó anteriormente, la baja velocidad de recirculación de líquido significa un ahorro energético muy importante con respecto a los sistemas de desulfuración previamente reportados que presentan valores de VRL hasta 7 veces más altas que en el presente estudio.

Tabla 10. Comparación de biotecnologías de desulfuración con los resultados obtenidos en la presente tesis.

Tipo de reactor	Tipo de proceso	TRG (min)	Carga de H ₂ S (g-H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	VRL (m h ⁻¹)	TRH (h)	EE (%)	DOX (%)	Observaciones	Referencia
Biofiltro percolador	Aerobio	2.5-3.0	56-84	0.5-20.0	45-57	88-97	N,R,	Acumulación de azufre elemental y biomasa	Fortuny y col., 2011
Biofiltro percolador	Aerobio	2.5-3.0	250-280	1.0-5.0	N.R.	90-99	40	Formación de posible mezcla explosiva. Taponamiento de lecho.	Fortuny y col., 2008
Biofiltro percolador	Aerobio	3.0	56-78	3.8	N.R.	87-95	N.R.	Requiere lavado para retirar el azufre elemental.	Rodríguez y col., 2014
Biofiltro percolador	Aerobio	2.0	56-283	4.4-18.8	26-32	93-100	30	Suministrar la cantidad necesaria de oxígeno para lograr la oxidación completa a sulfato. Variaciones en la velocidad de líquido para el control de la formación de azufre.	López y col., 2016
Biofiltro percolador	Aerobio	1.16-3.0	165-304	2.4-7.1	N.R.	60-90	40	La formación de azufre elemental. Requiere suministro estequiometrico de oxígeno.	Chaiprapat y col., 2015
Biofiltro percolador	Aerobio	1.0-2.1	52-263	7.0	9	60-100	65	Alta formación a azufre elemental., posible taponamiento de lecho.	Montebello y col., 2014
Biofiltro percolador	Anóxico	2.4- 17	78-130	2.6-20.5	N.R.	94.5-99	N,R,	Caídas de presión y posible taponamiento de lecho.	Fernandez y col., 2013
Biofiltro percolador	Anóxico	2.4-3.5	130-170	2.3-20.0	N.R.	94-98	N.R.	Formación de azufre elemental en un 70%. Taponamiento de lecho.	Fernandez y col., 2014
Biofiltro percolador	Anóxico	2.0-2.5	56-140	5.0-12.0	N.R.	84-98	60	Acumulación de azufre, entre el 47 y 52% del total que entra al sistema.	Almenglo y col., 2016a
Biofiltro percolador	Anóxico	4.5-10.0	37-149	7.6-10.0	N.R.	95-98	N,R,	Se detiene la inyección de gas para favorecer la remoción de azufre elemental formado (85%).	Almenglo y col., 2016b
Biofiltro percolador	Anóxico	0.5-3.0	53-63	7.0	9	25-84	N.R.	Posible acumulación de azufre elemental.	Montebello y col., 2012
Biofiltro percolador	Anóxico	3.0	53.6	3.6	46-60	95-99	N.R	Formación de azufre elemental. Taponamiento de lecho.	Maestre y col., 2010
Biolavador	Anóxico	13.8-16.0	17-55	2.9	17-43	97-99	50	No se tapona por acumulación de azufre. No se forma mezcla explosiva. No se diluye el biogás ya que no se usa oxígeno	Presente trabajo

5.5. Análisis de las comunidades bacterianas

El análisis de las comunidades bacterianas se llevó a cabo en las fases experimentales con actividad estable y con eficiencias de remoción de H₂S mayores al 97%. En algunos casos, se pudo caracterizar hasta el nivel de especie. Debido a que el proceso anóxico desnitrificante se llevó a cabo bajo condiciones ligeramente alcalinas (pH = 8.0) y altas cargas de H₂S, fue muy importante en el presente trabajo caracterizar a las poblaciones bacterianas predominantes bajo estas condiciones de trabajo. Asimismo, uno de los principales objetivos de este análisis fue la relación entre microorganismos predominantes y desempeño del proceso de desulfuración anóxico. El primer día de operación del reactor se tomó la muestra de la biomasa, la cual correspondió con el inóculo (lodo secundario) y tuvo como objetivo caracterizar las comunidades bacterianas iniciales en el biorreactor. El filo más abundante estuvo constituido por las proteobacterias, las cuales presentaron una abundancia relativa del 93.85%. Bacteroidetes, actinobacteria, firmicutes y cloroflexi presentaron abundancias relativas del 4.38, 0.81, 0.56 y 0.44%, respectivamente (Figura 7).

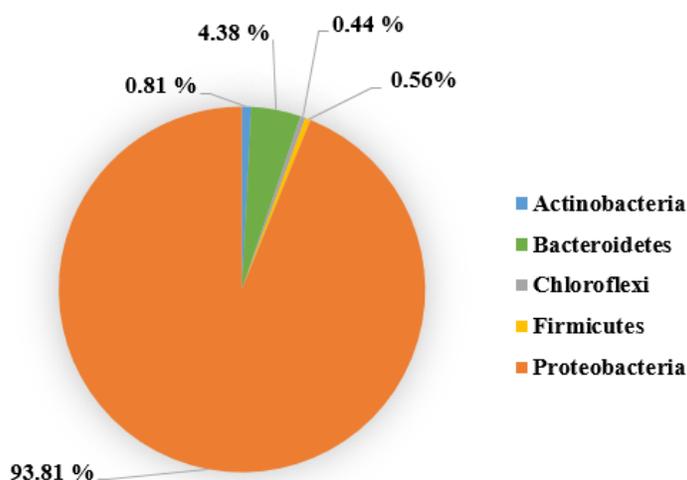


Figura 7. Abundancia relativa de los filos presentes en el inóculo.

La Figura 8 presenta las abundancias relativas de las diferentes clases de proteobacterias presentes en el inóculo. Esta caracterización es muy importante ya que las bacterias sulfurooxidantes son filogenéticamente diversas (Friedrich y col., 2001). Por lo tanto, cambios de abundancia en las clases de proteobacterias debidos a cambios de condiciones en el sistema aportarán información valiosa sobre el proceso anóxico de desulfuración, el cual está poco documentado en la literatura. Las gammaproteobacterias fueron la clase más abundante con el 81.62% de abundancia relativa, seguida de betaproteobacteria, alphaproteobacteria y epsilonproteobacteria con abundancias relativas del 10.61, 6.23 y 1.54%, respectivamente (Figura 8).

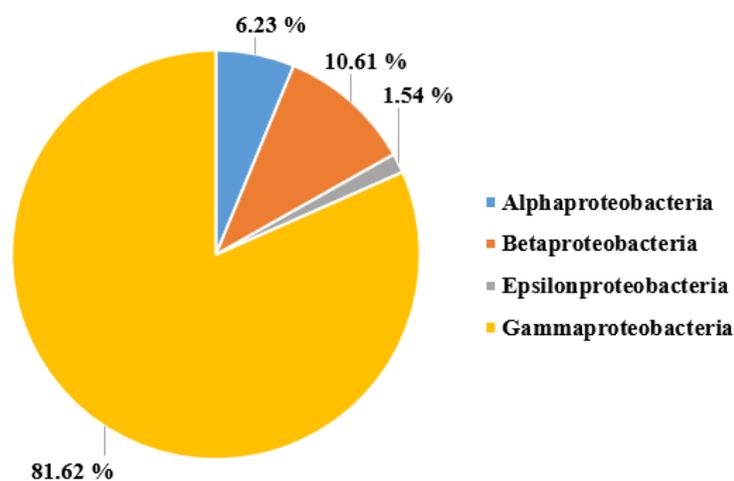


Figura 8. Abundancia relativa de clases de proteobacterias presentes en el inóculo.

A modo de resumen, la Tabla 12 presenta la caracterización bacteriana con aquellos microorganismos con abundancias relativas mayores al 1% en el inóculo. En algunos casos se determinó la especie. Los géneros *Thiothrix* y *Pseudomonas* fueron los más abundantes del inóculo con abundancias relativas del 40.58 y 30.43%, respectivamente. Estos resultados constituyen una referencia a partir de la cual se pueden comparar las

comunidades bacterianas establecidas en el proceso de desulfuración bajo condiciones de pH ligeramente alcalino y altas concentraciones de sulfato y nitrato.

Tabla 11. Caracterización bacteriana del inóculo considerando microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.

Dominio>Filo>Clase>Orden>Familia>Genero>Especie	Abundancia relativa (%)
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Thiotrichales; Thiotrichaceae; <i>Thiothrix</i> ; <i>Unknown</i>	40.58
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas; Pseudomonas sp	30.43
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Comamonadaceae; <i>Simplicispira</i> ; <i>Simplicispira sp</i>	5.60
Bacteria; Bacteroidetes; Cytophagia; Cytophagales; Cytophagaceae; <i>Cytophaga</i> ; <i>Cytophaga sp</i>	2.59
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Comamonadaceae; <i>Acidovorax</i> ; <i>Acidovorax sp</i>	1.68
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Shewanellaceae; Shewanella; Shewanella sp	1.39
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Rhodocyclales; Rhodocyclaceae; <i>Propionivibrio</i> ; <i>Unknown</i>	1.37
Bacteria; Proteobacteria; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; Campylobacteraceae; <i>Arcobacter</i> ; <i>Unknown</i>	1.35

Posteriormente, el día 40 (fase experimental III) durante la operación estable del biorreactor tratando biogás contaminado con 2,500 ppm_v de H₂S y un TRH de 23 h se llevó a cabo la caracterización bacteriana. Bajo estas condiciones, las proteobacterias fueron el filo predominante con una abundancia relativa del 63.78%, seguido de bacteroidetes, ternericutes, firmicutes y actinobacteria con abundancias relativas del 34.43, 1.05, 0.6 y

0.08%, respectivamente (Figura 9). Es importante resaltar la predominancia de las proteobacterias, tanto en el inóculo como en todas las condiciones operacionales.

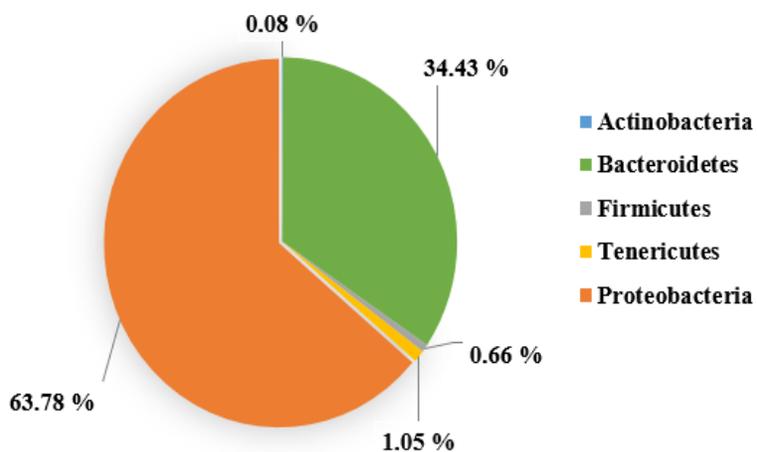


Figura 9. Abundancia relativa de los filos establecidos bajo la operación con 2,500 ppm_v de H₂S y TRH de 23 h.

La caracterización bacteriana mostró que la clase predominante de proteobacterias bajo estas condiciones de operación fueron las epsilonproteobacterias con una abundancia relativa del 43.59%, seguido de alphaproteobacteria, betaproteobacteria y gammaproteobacteria con abundancias relativas del 28.84, 15.42 y 12.14%, respectivamente (Figura 10).

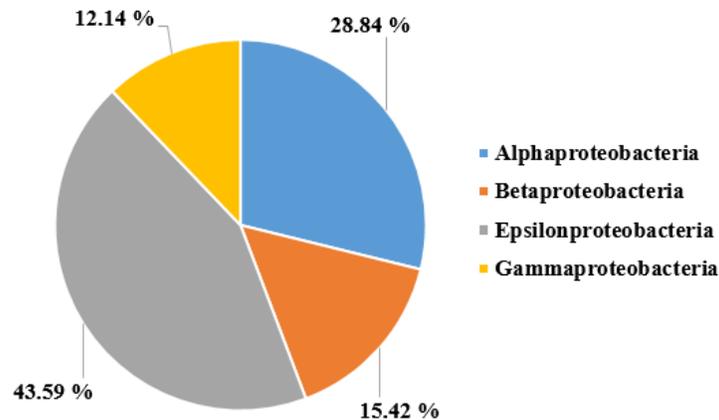


Figura 10. Abundancia relativa de clases de proteobacterias presentes bajo la operación con 2,500 ppm_v de H₂S y TRH de 23 h.

A modo de resumen, la Tabla 13 presenta la caracterización bacteriana con aquellos microorganismos con abundancias relativas mayores al 1% cuando el reactor se operó con biogás contaminado con 2,500 ppm_v de H₂S y TRH de 23 h. En algunos casos se determinó la especie. La familia flavobacteriaceae y el género *Sulfurimonas* presentaron las mayores abundancias relativas con el 29.88 y el 27.8%, respectivamente. Estos resultados son congruentes con el proceso anóxico de desulfuración ya que la familia flavobacteriaceae se caracteriza por su capacidad para reducir nitrato (Rosenberd y col., 2014), mientras que la especie *Sulfurimonas* se caracteriza por su capacidad para oxidar azufre (Sposob y col., 2018). La especie *Stenotrophomonas sp*, conocido por su capacidad para reducir nitrato (Heylin y col., 2007), también fue identificado bajo estas condiciones de trabajo con una abundancia relativa del 6.11%. La especie *Thiobacillus sp* fue identificado con una abundancia relativa del 1.69%. *Thiobacillus sp* ha sido reportado ampliamente en procesos de oxidación de azufre (Sposob y col., 2018).

Tabla 12. Caracterización bacteriana bajo la operación estable a 2,500 ppm_v de H₂S y TRH de 23 h. Sólo se consideran microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.

Dominio>Filo>Clase>Orden>Familia>Genero>Especie	Abundancia relativa (%)
Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; <i>Unknown</i> ; <i>Unknown</i>	29.88
Bacteria; Proteobacteria; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; Helicobacteraceae; <i>Sulfurimonas</i>	27.80
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Phyllobacteriaceae; <i>Unknown</i> ; <i>Unknown</i>	8.31
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Xanthomonadaceae; <i>Stenotrophomonas</i> ; <i>Stenotrophomonas sp</i>	6.11
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; <i>Unknown</i> ; <i>Unknown</i> ; <i>Unknown</i>	5.68
Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; <i>Flavobacterium</i> ; <i>Flavobacterium sp</i>	2.48
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Hyphomicrobiaceae; <i>Devosia</i> ; <i>Unknown</i>	2.22
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Hydrogenophilales; Hydrogenophilaceae; <i>Thiobacillus</i> ; <i>Thiobacillus sp</i>	1.69
Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; <i>Gelidibacter</i> ; <i>Gelidibacter sp</i>	1.66
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; <i>Pannonibacter</i> ; <i>Pannonibacter phragmitetus</i>	1.63
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae ; <i>Sphingopyxis</i> ; <i>Sphingopyxis sp</i>	1.40
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; <i>Sphingopyxis</i> ; <i>Unknown</i>	1.27

La siguiente caracterización de la comunidad bacteriana se llevó a cabo el día 68, correspondiente con la fase experimental V y operando el biorreactor con biogás contaminado con una concentración de H₂S de 5,000 ppm_v y TRH de 17 h. Bajo estas condiciones, las proteobacterias se mantuvieron como el filo predominante con una

abundancia relativa del 60.06%, valor muy semejante al observado en la fase experimental III. El filo bacteroidetes fue el segundo más importante bajo estas condiciones de trabajo con una abundancia relativa de 38.33%, observándose un ligero aumento del ~4% con respecto a la fase experimental III (Figura 11).

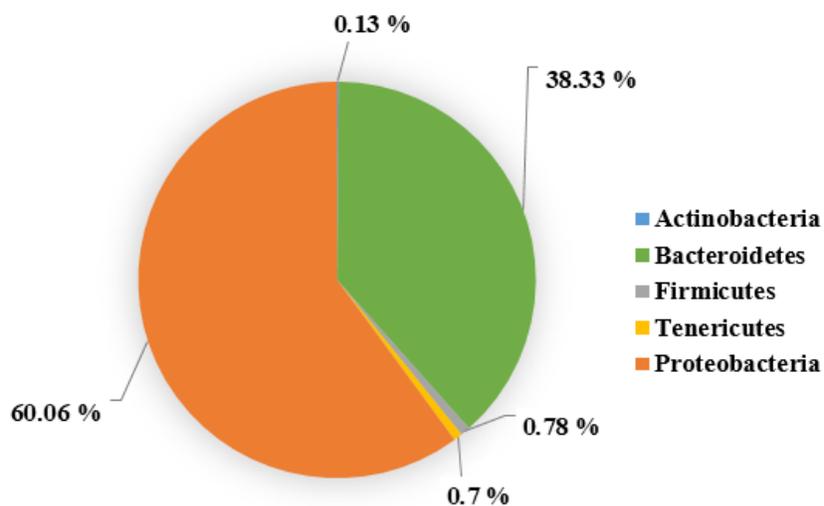


Figura 11. Abundancia relativa los filos establecidos bajo la operación con 5,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h.

El análisis de las diferentes clases de proteobacterias presentes bajo estas condiciones de trabajo muestra que hubo pocos cambios con respecto a la operación con 2,500 ppm_v y TRH de 17 h. Operando el sistema con 5,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h se observó que la clase predominante fueron las epsilonbacterias con un 34.56% de abundancia relativa, seguida alphaproteobacterias, betaproteobacterias y gammaproteobacterias con abundancias relativas del 24.87, 22.49 y 18.07%, respectivamente (Figura 12).

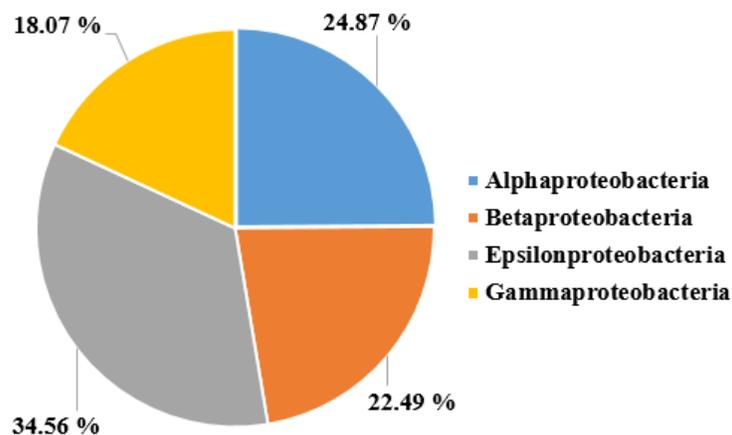


Figura 12. Abundancia relativa de clases de proteobacterias establecidas bajo la operación con 5,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h.

La Tabla 14 presenta la caracterización bacteriana con aquellos microorganismos que presentaron abundancias relativas mayores al 1% cuando el reactor se operó con biogás contaminado con 5,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h. Bajo estas condiciones la especie bacteriana predominante fue *Myroides sp* y el género *Sulfurimonas* con abundancias relativas del 31.95 y 20.72%, respectivamente. Se ha reportado que *Myroides sp* es una bacteria capaz de reducir nitrito pero incapaz de reducir nitrato (Zhang y col., 2008). En este contexto, también se identificó a la especie *Idiomarina sp* con una abundancia relativa del 5.63%, la cual es conocida por su habilidad para reducir nitrato bajo condiciones halófilas (Van Ginkel y col., 2010). Además, el género *Flavobacterium* se encontró con una abundancia relativa del 3.88%, el cual se caracteriza por tener genes desnitrificantes (Rosenberg y col., 2014). De acuerdo con estos resultados, la reducción de nitrato a nitrito puede atribuirse a los géneros *Idiomarina* y *Flavobacterium*, mientras que la reducción de nitrito a N₂ puede atribuirse al género *Myroides*. Por su parte, la oxidación de sulfuro puede atribuirse a la predominancia de *Sulfurimonas*, así como a la presencia de *Parracoccus sp* y *Thiobacillus sp*, las cuales se identificaron con abundancias relativas del

8.54 y 7.19%, respectivamente. Estas tres especies están ampliamente reportadas su capacidad para oxidar HS⁻ (He y col., 2018; Quentmeier y col., 2003; Sposob y col., 2018).

Tabla 13. Caracterización bacteriana bajo la operación estable a 5,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h. Sólo se consideran microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.

Dominio>Filo>Clase>Orden>Familia>Genero>Especie	Abundancia relativa (%)
Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; <i>Myroides</i> ; <i>Myroides sp</i>	31.95
Bacteria; Proteobacteria; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; <i>Helicobacteraceae</i> ; <i>Sulfurimonas</i>	20.72
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae ; <i>Paracoccus</i> ; <i>Paracoccus sp</i>	8.54
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Hydrogenophilales; Hydrogenophilaceae ; <i>Thiobacillus</i> ; <i>Thiobacillus sp</i>	7.19
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Idiomarinaeae; <i>Idiomarina</i> ; <i>Idiomarina sp</i>	5.63
Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Flavobacterium ; Unknown	3.88
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Phyllobacteriaceae; Unknown; Unknown	2.44
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Unknown</i>	2.11
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Xanthomonadaceae; <i>Stenotrophomonas</i> ; <i>Stenotrophomonas sp</i>	1.92
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Comamonadaceae; <i>Acidovorax</i> ; <i>Acidovorax sp</i>	1.32
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Rhodocyclales; Rhodocyclaceae; <i>Thauera</i> ; <i>Thauera sp</i>	1.25

La última caracterización de la comunidad bacteriana se llevó a cabo el día 80, correspondiente con la fase experimental VI y operando el biorreactor con una concentración de H_2S de 10,000 ppm_v y un TRH de 17 h. Bajo estas condiciones las proteobacterias constituyeron el filo predominante con una abundancia relativa del 96.04%, seguido de bacteroidetes, tenericutes y firmicutes con abundancias relativas del 2.96, 0.87 y 0.13%, respectivamente (Figura 13). Este enriquecimiento de proteobacterias a costa de una disminución muy importante de bacteroidetes en la fase VI con respecto a las fases experimentales III y V pudo deberse a las condiciones de salinidad. En la fase VI se tuvieron concentraciones promedio de nitrato y sulfato de 170 y 1,775 g m⁻³, respectivamente. Por lo tanto, estas condiciones halófilas pudieron ejercer una presión selectiva para bacteroidetes.

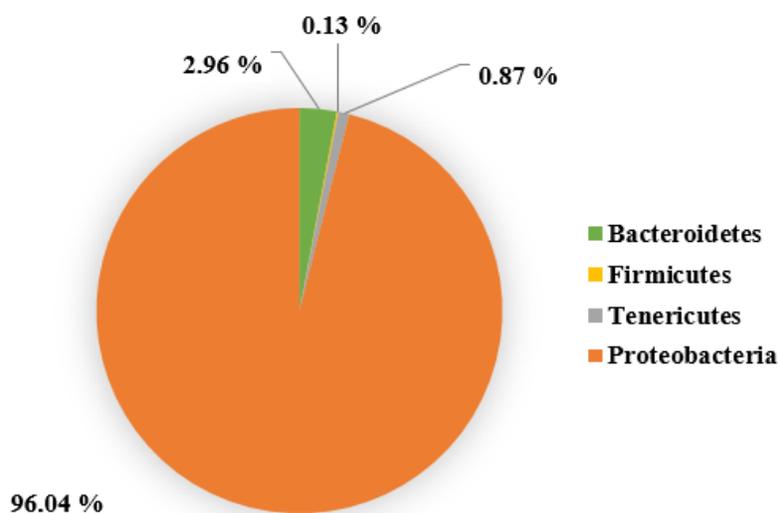


Figura 13. Abundancia relativa de filos establecidos bajo la operación con 10,000 ppm_v de H_2S y TRH de 17 h.

El análisis de las diferentes clases de proteobacterias presentes bajo estas condiciones de trabajo muestra que se enriquecieron de manera importante las gammaproteobacterias con una abundancia relativa del 48.85%, seguido de epsilonproteobacteria, betaproteobacteria y

alphaproteobacteria con abundancias relativas del 36.5, 8.01 y 6.65%, respectivamente (Figura 14). Es importante mencionar que las especies encargadas de los procesos de desulfuración pertenecen a las clases de epsilonproteobacteria y gammaproteobacteria, las cuales fueron las más abundantes en todas las fases experimentales caracterizadas.

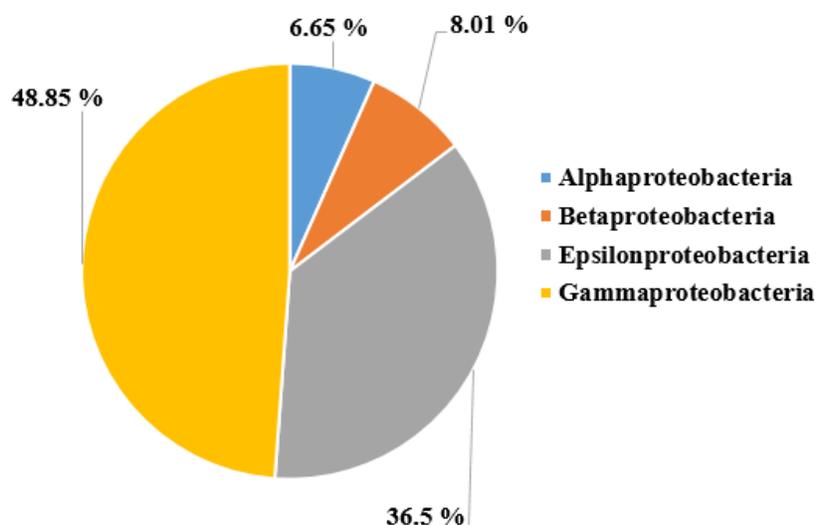


Figura 14. Abundancia relativa de clases de proteobacterias establecidas bajo la operación de 10,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h.

La Tabla 13 presenta la caracterización bacteriana con aquellos microorganismos que presentaron abundancias relativas mayores al 1% cuando el reactor se operó con biogás contaminado con 10,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h. Bajo estas condiciones el género más abundante fue *Sulfurimonas* con una abundancia relativa del 35.05%. También se observó un enriquecimiento de *Idiomarina sp* pasando de una abundancia relativa del 5.63% en la fase experimental V a 28.59% en la fase experimental VI. Otras especies identificadas y que son importantes en procesos de oxidación de azufre son *Thiobacillus sp* y *Paracoccus sp* con abundancias relativas del 4.87 y 1.23%, respectivamente.

Tabla 14. Caracterización bacteriana bajo la operación estable a 10,000 ppm_v de H₂S y TRH de 17 h. Sólo se consideran microorganismos con abundancias relativas mayores al 1%.

Dominio>Filo>Clase>Orden>Familia>Genero>Especie	Abundancia relativa (%)
Bacteria; Pro bacteria; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; <i>Helicobacteraceae</i> ; <i>Sulfurimonas</i>	35.05
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Idiomarinaeae; <i>Idiomarina</i> ; <i>Idiomarina sp</i>	28.59
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Alteromonadaceae; <i>Alishewanella</i> ; <i>Unknown</i>	9.65
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Hydrogenophilales; Hydrogenophilaceae; <i>Thiobacillus</i> ; <i>Thiobacillus sp</i>	4.87
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Unknown</i>	4.31
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodospirillales; Rhodospirillaceae; <i>Thalassospira</i> ; <i>Unknown</i>	3.01
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Pseudomonas sp</i>	2.00
Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; <i>Myroides</i> ; <i>Myroides sp</i>	2.00
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Xanthomonadaceae ; <i>Stenotrophomonas</i> ; <i>Stenotrophomonas sp</i>	1.65
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; <i>Paracoccus</i> ; <i>Paracoccus sp</i>	1.23
Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Comamonadaceae; <i>Acidovorax</i> ; <i>Acidovorax sp</i>	1.06

En la figura 15 se muestra como resumen los resultados obtenidos de las poblaciones bacterianas a partir del inóculo y las diferentes condiciones operacionales del reactor (2500, 5000 y 10000 ppm_v). Se presentan las abundancias relativas a nivel de género (las identificadas con una abundancia menor al 1% son agrupadas en “otros”). Cabe destacar el

6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

En el presente trabajo se desarrolló un biorreactor que permitió superar las limitaciones de biofiltros percoladores aerobios y anóxicos, tales como taponamiento debido a la acumulación de azufre elemental, dilución del biogás y generación de posibles mezclas explosivas, las últimas dos problemáticas siendo particulares de biofiltros percoladores aerobios.

En el biolavador anóxico desarrollado se separaron las etapas de absorción de H_2S y oxidación biológica en módulos independientes. Esta configuración de reactor permitió el tratamiento de cargas de H_2S de entre 16.1 y $64.4 \text{ gH}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a tiempos de retención del gas en la columna de absorción de 13 a 16 min. Con las eficiencias de remoción de H_2S obtenidas, las cuales estuvieron entre el 97.0 y el 99.5% cuando no hubo limitación de nitrato, el biogás a la salida del sistema tuvo concentraciones menores a 500 ppm_v de H_2S , que es el límite máximo generalmente aceptado para sistemas de aprovechamiento energético.

Se caracterizaron las poblaciones bacterianas presentes en el sistema de desulfuración bajo diferentes condiciones de operación, observando la evolución de las poblaciones en función de la concentración de H_2S empleado (entre 2500 , 5000 y 10000 ppm_v). Se identificó la función de las bacterias con abundancias relativas representativas, asociándolas con su función en el proceso de oxidación de azufre y reducción de nitrato en condiciones autotróficas con base en la información reportada en la literatura.

Se evaluó el desempeño de oxidación de HS^- a sulfato bajo las condiciones de carga y tiempo de retención del gas propuestas, información que es muy escasa en la literatura. Se obtuvo un valor máximo de DOX del 99%, así como un valor promedio de 50% durante la operación continua del sistema. Los valores de DOX promedio pueden considerarse como relativamente bajos si se considera una valorización del efluente líquido del reactor enfocada a la generación de fertilizantes (Tabla 8). Por esta razón se propone como trabajo futuro el desarrollo de estrategias para incrementar la oxidación completa del sulfuro absorbido a sulfato. Dado que el tiempo de retención de la biomasa en el reactor coincide con el TRH (dado que no hay soporte para retener a la biomasa), se sugiere la adición de un soporte en el tanque agitado (módulo de oxidación biológica) para incrementar la concentración de biomasa en el sistema. El trabajo futuro también debe considerar las posibles emisiones de N_2O durante el proceso de reducción de nitrato. Esto tiene particular relevancia ya que el N_2O es un potente gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global que puede ser 298 veces mayor que el CO_2 y que puede acumularse en procesos de desnitrificación (López y col.,2013). Los objetivos de la tesis se cumplieron y se desarrolló una tecnología que puede aplicarse cuando se tiene biogás altamente contaminando con H_2S (hasta 10,000 ppm_v) y se tiene la disponibilidad de corrientes ricas en nitrógeno como es el caso de las plantas de tratamiento de aguas residuales donde la fracción líquida de digestato o los lixiviados de vertederos pueden llegar a presentar concentraciones entre 1600-2600 g $\text{N-NH}_4 \text{ m}^{-3}$. Bajo estas condiciones, el proceso de desulfuración anóxica permite la purificación del biogás y al mismo tiempo se remueve nitrógeno.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- Almenglo F, Bezerra T, Lafuente J, Gabriel D, Ramírez M, Cantero D (2016a) Effect of gas-liquid flow pattern and microbial diversity analysis of a pilot-scale biotrickling filter for anoxic biogas desulfurization. *Chemosphere* 157:215-223.
- Almenglo F, Ramírez M, Gómez JM, Cantero D (2016b) Operational conditions for start-up and nitrate-feeding in an anoxic biotrickling filtration process at pilot scale. *Chemical Engineering Journal* 285:83-91.
- Al Seadi T, Drog B, Fuchs W, Rutz D, Janssen R (2013) Biogas digestate quality and utilization. In *The biogas handbook* 267-301.
- Aránguez E, Ordóñez JM, Serrano J, Aragonés N, Fernández PR, Gandarillas A, Galán I (1999) Contaminantes atmosféricos y su vigilancia. *Revista Española de Salud Pública* 73:123-132.
- Austria FM, Gómez CP (2007) Efectos de cambio climático en los recursos hídricos de México. Instituto Mexicano del Tratamiento de Agua. *Gaceta del IMTA* 7.
- Bahr M, Díaz I, Dominguez A, González A, Muñoz R (2013) Microalgal-biotechnology as a platform for an integral biogas upgrading and nutrient removal from anaerobic effluents. *Environmental science & technology* 48:573-581.
- Bailey JE, Ollis DF (1986) *Biochemical Engineering Fundamentals*. New York, McGraw-Hill. ISBN: 9780070032125.

- Barragan M, Carrillo J, Buitrón G (2017) Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery. *Bioresource Technology* 244:100-107.
- Barrera EL, Spanjers H, Dewulf J, Romero O, Rosa E (2013) The sulfur chain in biogas production from sulfate- rich liquid substrates: a review on dynamic modeling with vinasse as model substrate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 88:1405-1420.
- Cadenhead P, & Sublette KL (1990) Oxidation of hydrogen sulfide by Thiobacilli. *Biotechnology and Bioengineering* 35:1150-1154.
- Chaiprapat S, Charnnok B, Kantachote D, Sung S (2015) Bio-desulfurization of biogas using acidic biotrickling filter with dissolved oxygen in step feed recirculation. *Bioresource Technology* 179:429-435.
- Gabriel D, Sierra H (2017) Purificación y usos del biogás. Servei de Publicacions de la Universitat Autònoma de Barcelona. ISBN: 9788449069628.
- De Juana Sardón JM (2003) Energías renovables para el desarrollo. Editorial Paraninfo. ISBN: 9788428328647.
- Duan H, Koe LC, Yan R, Chen X (2006) Biological treatment of H₂S using pellet activated carbon as a carrier of microorganisms in a biofilter. *Water Research* 40:2629-2636.
- Donachie SP, Hou S, Gregory TS, Malahoff A, Alam M (2003) *Idiomarina loihiensis* sp. nov., a halophilic γ -Proteobacterium from the submarine volcano, Hawaii. *International Journal of Systematic and evolutionary Microbiology* 53:1873-1879.

- Doran PM (1995) Bioprocess engineering principles. Elsevier. ISBN: 9780122208515.
- Etcharren PA (2005) Diseño de un sistema de biofiltración para la eliminación de olores en la fábrica Lubascher y Krause. Universidad Católica de Temuco. Temuco, Chile.
Tesis de Licenciado en Ciencias de la Ingeniería.
- EPA (2004) Uso de biorreactores para controlar la contaminación del aire. Agencia de protección ambiental.
- Fernández M, Ramírez M, Pérez RM, Gómez JM., Cantero D (2013) Hydrogen sulphide removal from biogas by an anoxic biotrickling filter packed with Pall rings. *Chemical Engineering Journal* 225:456-463.
- Fernández M, Ramírez M, Gómez JM, Cantero D (2014) Biogas biodesulfurization in an anoxic biotrickling filter packed with open-pore polyurethane foam. *Journal of Hazardous Materials* 264:529-535.
- Finkmann W, Altendorf K, Stackebrandt E, Lipski A (2000) Characterization of N₂O-producing Xanthomonas-like isolates from biofilters as *Stenotrophomonas nitritireducens* sp. nov., *Luteimonas mephitis* gen. nov., sp. nov. and *Pseudoxanthomonas broegbernensis* gen. nov., sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50:273-282.
- Fortuny M, Baeza JA., Gamisans X, Casas C, Lafuente J, Deshusses MA, Gabriel D (2008) Biological sweetening of energy gases mimics in biotrickling filters. *Chemosphere* 71:10-17.

- Fortuny M, Gamisans X, Deshusses MA, Lafuente J, Casas C, Gabriel D (2011) Operational aspects of the desulfurization process of energy gases mimics in biotrickling filters. *Water Research* 45:5665-5674.
- Friedrich CG, Rother D, Bardischewsky F, Quentmeier A, Fischer J (2001) Oxidation of reduced inorganic sulfur compounds by bacteria: emergence of a common mechanism. *Applied and Environmental Microbiology* 67:2873-2882.
- Gaete C (2007) Tratamiento de agua con elevado contenido de sulfato en un reactor EGSB, utilizando el biogás de producción para la remoción de H₂S. Universidad de La Frontera, Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Temuco, Chile. Tesis de Ingeniería Ambiental.
- González A (2006) Estudio de la oxidación biológica de compuestos reducidos de azufre por un consorcio alcalófilo en un biorreactor. Tesis Doctor en Ciencias Ingeniería Química. Universidad Autónoma Metropolitana. División de Ciencias Básicas e Ingeniería. México DF. Tesis de doctorado.
- González A, Revah S (2007) The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. *Enzyme and Microbial Technology* 40:292-298.
- Gupta P, Singh RS, Sachan A, Vidyarthi AS, Gupta A (2012) A re-appraisal on intensification of biogas production. *Renew Sustentable Energy* 16: 4908–4916.
- Han Y, Perner M (2015) The globally widespread genus *Sulfurimonas*: versatile energy metabolisms and adaptations to redox clines. *Frontiers in Microbiology* 6:989.

- He Z, Huang R, Liang Y, Yu G, Chong Y, Wang L (2018) Index for nitrate dosage calculation on sediment odor control using nitrate-dependent ferrous and sulfide oxidation interactions. *Journal of Environmental Management* 226:289-297.
- Heylen K, Vanparys B, Peirsegaele F, Lebbe L, De Vos P (2007) *Stenotrophomonas terrae* sp. nov. and *Stenotrophomonas humi* sp. nov., two nitrate-reducing bacteria isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57: 2056-2061.
- Im JH, Woo HJ, Choi MW, Han KB, & Kim CW (2001) Simultaneous organic and nitrogen removal from municipal landfill leachate using an anaerobic-aerobic system. *Water research* 35: 2403-2410.
- Janssen JH, Meijer S, Bontsema J, Lettinga G (1998) Application of the redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 60: 147-155.
- Jury C, Benetto E, Weltring J, Schmitt B, Hoffmann L, Greger M, Hübner V (2009) Comparative Life Cycle Assessment of biogas scenarios for Luxemburg. In *Abstract Book of the 6th International Conference on LCA The Agri-Food Sector* 6:137-137.
- Lens NL, Visser A, Janssen JH, Pol LH, Lettinga G (1998) Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 28:41-88.
- Llaneza H, Morís MA, González A, González E (2010) Estudio de viabilidad de sistemas de purificación y aprovechamiento de biogás, Capítulo 1. *Fundación para la Investigación y Desarrollo en Transporte y Energía*.

- López LR, Brito J, Mora M, Almenglo F, Baeza JA, Ramírez M, Gabriel D (2018) Feedforward control application in aerobic and anoxic biotrickling filters for H₂S removal from biogas. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 93:2307-2315.
- López De León LR (2016) Development and application of control strategies in an aerobic biotrickling filter for H₂S removal from biogas streams experimental and modelling study. Universidad de Barcelona. Barcelona, España. Tesis doctoral.
- López JC, Quijano G, Souza TS, Estrada JM, Lebrero R, Muñoz R (2013) Biotechnologies for greenhouse gases (CH₄, N₂O, and CO₂) abatement: state of the art and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97:2277-2303.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193:265-275.
- Maestre JP, Rovira R, Álvarez-Hornos FJ, Fortuny M, Lafuente J, Gamisans X, Gabriel D (2010) Bacterial community analysis of a gas-phase biotrickling filter for biogas mimics desulfurization through the rRNA approach. *Chemosphere* 80:872-880.
- Montebello M, Mora M, López R, Bezerra T, Gamisans X, Lafuente J, Gabriel D (2014) Aerobic desulfurization of biogas by acidic biotrickling filtration in a randomly packed reactor. *Journal of Hazardous Material* 280: 200-208.
- Montebello AM, Fernández M, Almenglo F, Ramírez M, Cantero D, Baeza M, Gabriel D (2012) Simultaneous methylmercaptan and hydrogen sulfide removal in the desulfurization of biogas in aerobic and anoxic biotrickling filters. *Chemical Engineering Journal* 200:237-246.

- Noyola A, Morgan JM, López JE (2006) Treatment of biogas produced in anaerobic reactors for domestic wastewater: odor control and energy resource recovery. *Reviews in Environmental Science and BioTechnology* 5:93-114.
- Persson M, Wellinger A (2006) Biogas upgrading and utilisation. *International Energy Agency Bioenergy* 56:1-34.
- Pokorna D, Zabranska J (2015) Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances* 33:1246-1259.
- Quentmeier A, Hellwig P, Bardischewsky F, Grelle G, Kraft R, Friedrich CG (2003) Sulfur oxidation in *Paracoccus pantotrophus*: interaction of the sulfur-binding protein SoxYZ with the dimanganese SoxB protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 312:1011-1018.
- Ramírez D (2007) Control y eliminación de compuestos volátiles provenientes de un digestor anaerobio mediante biofiltración. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. México DF. Tesis de Maestría en Ciencias de Bioprocesos.
- Reyes J, Razo E, Gomez J (2004) Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research* 38:3313-3321.
- Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (2014). *The Prokaryotes: Actinobacteria*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. ISBN:9783642301391.
- Rodriguez G, Dorado AD, Fortuny M, Gabriel D, Gamisans X (2014) Biotrickling filters for biogas sweetening: oxygen transfer improvement for a reliable operation. *Process Safety and Environmental Protection* 92:261-268.

- San-Valero P, Peña-Roja JM, Álvarez-Hornos FJ, Buitrón G, Gabaldón C, Quijano G. (2019) Fully aerobic bioscrubber for the desulfurization of H₂S-rich biogas. *Fuel* 241:884-891.
- Simmonds AG, Griebel JJ, Park J, Kim KR, Chung WJ, Oleshko VP, Sung YE (2014) Inverse vulcanization of elemental sulfur to prepare polymeric electrode materials for Li-S batteries. *ACS Macro Letters* 3:229-232.
- Sposob M, Cydzik-Kwiatkowska A, Bakke R, Dinamarca C (2018) Temperature-induced changes in a microbial community under autotrophic denitrification with sulfide. *Process Biochemistry* 69:161-168.
- Suganthi R, Priya TS, Saranya A, Kaleeswaran T (2013) Relationship between plasmid occurrence and antibiotic resistance in *Myroides odoratimimus* SKS05-GRD isolated from raw chicken meat. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 29: 983-990.
- Van Ginkel SW, Lamendella R, Kovacik WP, Santo Domingo JW, Rittmann BE (2010) Microbial community structure during nitrate and perchlorate reduction in ion-exchange brine using the hydrogen-based membrane biofilm reactor (MBfR). *Bioresource Technology* 101:3747-3750.
- Xu XJ, Chen C, Guo HL, Wang AJ, Ren NQ, Lee DJ (2016) Characterization of a newly isolated strain *Pseudomonas* sp. C27 for sulfide oxidation: Reaction kinetics and stoichiometry. *Scientific Reports* 6:21032.

- Yu L, Liu Y, Wang G (2009) Identification of novel denitrifying bacteria *Stenotrophomonas* sp. ZZ15 and *Oceanimonas* sp. YC13 and application for removal of nitrate from industrial wastewater. *Biodegradation* 20:391-400.
- Zhang M, Zhang T, Shan MF, Fang HP (2009) Autotrophic denitrification in nitrate-induced marine sediment remediation and *Sulfurimonas denitrificans*-like bacteria. *Chemosphere* 76:677-682.
- Zeng Y, Xiao L, Zhang X, Zhou J, Ji G, Schroeder S, Yan Z (2018) Biogas desulfurization under anoxic conditions using synthetic wastewater and biogas slurry. *International Biodeterioration and Biodegradation* 133:247-255.
- Qiu X, Deshusses MA (2017) Performance of a monolith biotrickling filter treating high concentrations of H_2S from mimic biogas and elemental sulfur plugging control using pigging. *Chemosphere* 186:790-797.
- Quijano G, Figueroa- González I, Buitrón G (2018) Fully aerobic two- step desulfurization process for purification of highly H_2S - laden biogas. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 93:3553-3561.