



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
(INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA)

BIOFILTRACIÓN DE METANO Y SULFURO DE HIDRÓGENO DE BIOGÁS DILUIDO

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
AMAIRANY DANIELA SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

TUTOR PRINCIPAL
DR. ADALBERTO NOYOLA ROBLES
INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR

DR. CUTBERTO JOSÉ JUVENCIO GALÍNDEZ MAYER
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS-IPN

DR. IVÁN MORENO ANDRADE
INSTITUTO DE INGENIERÍA

DR. ARMANDO GÓNZALEZ SÁNCHEZ
INSTITUTO DE INGENIERÍA

DRA. GABRIELA ELEONORA MOELLER CHÁVEZ
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DEL ESTADO DE MORELOS

MÉXICO, D. F. DICIEMBRE 2015

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Moeller Chávez Gabriela Eleonora
Secretario: Dr. Moreno Andrade Iván
Vocal: Dr. Galíndez Mayer Curberto José Juvencio
1 er. Suplente: Dr. Adalberto Noyola Robles
2 do. Suplente: Dr. González Sánchez Armando

Lugar o lugares donde se realizó la tesis: Instituto de Ingeniería, UNAM, México D.F.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Adalberto Noyola Robles

FIRMA

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México-UNAM y al Programa de Posgrado de Maestría y Doctorado en Ingeniería.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Al Instituto de Ingeniería y al Grupo de Investigación de Digestión Anaerobia.

Al Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías del IPN.

Al Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas.

A Área de biología molecular de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Al Dr. Adalberto Noyola por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo y por las asesorías brindadas.

Al Dr. Armando González Sánchez, al Dr. Juvencio Galíndez Mayer y al Dr. Iván Moreno Andrade por todo su apoyo, por las horas dedicadas al trabajo, por su colaboración y experiencia, por la paciencia ante mis dudas y por escuchar atentamente los problemas que a lo largo de la realización de este trabajo surgieron.

A la Dra. Gabriela Moeller Chávez por la revisión de este documento.

A mis padres Daniel y Margarita y mis hermanos Diego y Karen por ser mi motor, por las sonrisas y la fuerza, por el amor y la comprensión, por creer en mí y darme la oportunidad de crecer, por darme la mejor familia del mundo.

A Tania Gómez y Miguel León por acompañarme en las largas jornadas de trabajo, por apoyarme incondicionalmente y por brindarme su amistad.

A mis amigos Josúe Morales, Mitzi Nava, Stephy Galeazzi, Fer García, Fabi Colmenares, Vane Rodríguez, Andy Muñoz y Pau Labastida por todo su apoyo y cariño, por estar en las buenas y en las malas, por los consejos, los abrazos y las locuras.

A mis compañeros de maestría, por compartir sus experiencias y por el apoyo brindado, especialmente a Víctor, Emilio, Adrián, Bernardo, Lups y Marianita.

A Gabriel Arenas por su amor, su comprensión y su paciencia, por ayudarme a ser una mejor persona, por las aventuras, por ser un novio increíble. Te amo.

RESUMEN

El tratamiento anaerobio de las aguas residuales ha sido crecientemente utilizado debido a las ventajas que presenta frente a los procesos aerobios (menor consumo de energía y menor producción de lodos) además de la producción de biogás, que puede ser aprovechado. El biogás se compone principalmente de metano (CH_4) y dependiendo de las características del agua residual se pueden tener cantidades significativas de sulfuro de hidrógeno (H_2S). Se ha reportado que hasta un 40% del CH_4 producido queda disuelto en el efluente, y cuando este es manipulado, el CH_4 se libera a la atmósfera. Además en el caso particular de las pequeñas plantas de tratamiento, el biogás no puede ser aprovechado, por lo que generalmente es venteadado a la atmósfera, lo que contribuye al calentamiento global, ya que el CH_4 es un gas de efecto invernadero con un potencial 34 veces mayor al CO_2 . En esta investigación se propone el uso de un sistema de biofiltración para la mitigación de las emisiones gaseosas generadas durante el tratamiento de aguas residuales municipales por vía anaerobia.

En esta tesis se realizaron pruebas a nivel microcosmos evaluando la capacidad de eliminación (CE) de un cultivo metanótrofo en suspensión. Se probaron concentraciones de H_2S de 0 a 1000 ppm_v, obteniendo que la velocidad de degradación de CH_4 disminuye considerablemente a concentraciones de H_2S de 200, 300, 500 y 700 ppm_v. Fue así como se establecieron las concentraciones de H_2S que se alimentaron en los sistemas de biofiltración operados en continuo (250, 500 y 750 ppm_v), empacados con diferentes materiales de soporte (composta, esponja de poliuretano y anillos Raschig) con objeto de evaluar el efecto del H_2S sobre la capacidad de eliminación (CE) de CH_4 .

Los biofiltros fueron operados en dos etapas. La primera de ellas consistió en la alimentación del sistema solo con una corriente de CH_4 en aire al 4%. En esta etapa de operación la alimentación se llevó a cabo de forma intermitente (12h con alimentación - 12h sin alimentación) durante los primeros 20 días, donde todos los biofiltros mostraron un alto desempeño en términos de eficiencia de remoción. Posteriormente la alimentación se llevó a cabo de manera continua, obteniendo mayores capacidades de eliminación en el biofiltro empacado con composta. Se pudo observar que la temperatura es un factor importante que afecta directamente la capacidad de eliminación del sistema. Esta etapa terminó una vez que se llegó a un estado estacionario en términos de capacidad de eliminación de CH_4 .

Para la segunda etapa de operación de los biofiltros se alimentó también a la corriente gaseosa H_2S (250, 500 y 750 ppm_v). El biofiltro empacado con composta alcanzó eficiencias de remoción (ER) de CH_4 de 100% y 92.5% a concentraciones de 250 y 500 ppm_v de H_2S respectivamente, pero a 750 ppm_v disminuyó hasta 17%, aparentemente debido a la caída de pH en el sistema como consecuencia de la acumulación de sulfatos. Los biofiltros empacados con materiales inorgánicos presentaron un decremento en la eficiencia de remoción al alimentarlos con 250 ppm_v de H_2S .

Finalmente las pruebas de biología molecular (DGGE) mostraron que conforme el tiempo de operación fue mayor, las comunidades microbianas fueron cada vez más específicas. Además, mediante las pruebas de microscopía electrónica de barrido se pudo observar que la composta presentó mayor densidad microbiana respecto a los otros materiales.

Índice general

1. Introducción	1
2. Marco teórico	3
2.1 Tratamiento anaerobio de aguas residuales	3
2.2 Biogás	5
2.3 Metano diluido	6
2.4 Sulfuro de hidrógeno	9
2.5 Métodos de tratamiento químicos y biológicos de gases	11
2.6 Métodos biotecnológicos	12
2.6.1 Biofiltro	15
2.6.2 Biofiltros percoladores o de lecho escurrido	16
2.6.3 Biolavadores	17
2.7 Oxidación Biológica	18
2.7.1 Biofiltración de metano	18
2.7.2 Biofiltración de Sulfuro de Hidrógeno	23
2.7.3 Eliminación de metano y sulfuro de hidrógeno	26
2.8 Principal limitación del proceso de biofiltración de CH ₄	27
3. Justificación y objetivos	30
3.1 Justificación	30
3.2 Objetivo general	31
3.3 Objetivos particulares	31
3.4 Metas	32
4. Materiales y Métodos	32
4.1 Sistema experimental	32
4.3 Diseño y operación de las columnas de biofiltración	33
4.3.1 Métodos analíticos	36
4.4 Material Biológico	36
4.4.1 Métodos analíticos	37
4.5 Estudio del efecto del H ₂ S a nivel microcosmos	37
4.5.1 Métodos analíticos	38
4.6 Estudio del efecto del H ₂ S en los sistemas de biofiltración	39
4.6.1 Métodos analíticos	40
4.7 Estudio de las comunidades microbianas	40
4.7.1 Extracción de ácidos nucleicos	41
4.7.2 Determinación de la concentración de DNA en las muestras	42
4.7.3 Amplificación de fragmentos del gen codificante	42

4.7.4 Separación de los fragmentos por electroforesis en gel de poliacrilamida con gradiente desnaturalizante (DGGE).....	43
4.8 Análisis por microscopía electrónica de barrido	45
5. Resultados	46
5.1 Aclimatación de los microorganismos metanótrofos	46
5.2 Efecto del H ₂ S sobre el consorcio metanótrofo en suspensión a nivel microcosmos.....	47
5.2.1 Caracterización cinética del cultivo usando concentraciones de H ₂ S de 0 a 300 ppm _v	47
5.2.2 Caracterización cinética del cultivo usando concentraciones de H ₂ S de 200 a 1000 ppm _v	53
5.3 Evaluación del desempeño de los biofiltros	59
5.3.1 Primera etapa de operación (Operación del sistema solo con CH ₄ diluido)	59
5.4 Evaluación del desempeño de los biofiltros operados con H ₂ S	65
5.4.1 Capacidad de eliminación de CH ₄ bajo diferentes concentraciones de H ₂ S	65
5.4.2 Producción de SO ₄ ²⁻	68
5.4.3 pH	70
5.5 Estudio de las comunidades microbianas	72
5.5.1 Extracción y amplificación del DNA.....	72
5.4.2 Análisis del perfil de bandas en geles de poliacrilamida (DGGE)	73
5.6 Imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido	77
6. Conclusiones	81
7. Bibliografía	82
8. Anexos	88

Índice de Tablas

Tabla 2.1 Registro de digestores anaerobios que han sido instalados y operados durante 1989 y 2009 en México. Tomado de: (Cervantes, 2010).	4
Tabla 2.2 Técnicas de tratamiento de aire contaminado Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005).	11
Tabla 2.3 Conversiones biológicas importantes mediante el tratamiento biotecnológico de emisiones gaseosas. Modificado de: (McNevin y Barford, 2000).	14
Tabla 2.4 Características de los sistemas de tratamiento biológico para gases Tomado de: (Morgan-Sagastume <i>et al.</i> 1999).	14
Tabla 2.5 Parámetros de rendimiento utilizados en biofiltración. Modificado de: (Nikiema <i>et al.</i> , 2007).	20
Tabla 2.6 Experimentos sobre biofiltración de metano reportados por diversos autores. Modificada de (Nikiema <i>et al.</i> , 2007).	21
Tabla 2.7 Experimentos sobre biofiltración de H ₂ S reportados por diversos autores.	25
Tabla 4.1 Materiales de empaque utilizados en los sistemas de biofiltración.	32
Tabla 4.2 Medio mineral para el enriquecimiento de metanótrofos (Rocha-Rios <i>et al.</i> , 2009).	36
Tabla 4.3 Descripción de los experimentos a nivel microcosmos para la primera cinética.	38
Tabla 4.4 Descripción de los experimentos a nivel microcosmos para la segunda cinética.	38
Tabla 4.5 Condiciones del cromatógrafo GOW-MAC.	39
Tabla 4.6 Experimentos realizados para la evaluación de la eficiencia del sistema de biofiltración bajo diferentes concentraciones de H ₂ S.	39
Tabla 4.7 Condiciones de operación de los biofiltros (alimentación de H ₂ S).	40
Tabla 4.8 Muestras para el análisis de las comunidades microbianas.	41
Tabla 4.9 Reactivos para reacción de amplificación (Tomada de: Gómez Borraz, 2012).	42
Tabla 4.10 Composición de una solución al 100% de agentes desnaturalizantes (Volumen final de 100 mL) (Tomada de: (Gómez Borraz, 2012)).	43
Tabla 5.1 Tasas específicas de crecimiento del cultivo metanótrofo.	47
Tabla 5.2 Efecto del H ₂ S sobre la velocidad de degradación de CH ₄	51
Tabla 5.3 Efecto del H ₂ S sobre la velocidad de degradación de CH ₄	56
Tabla 5. 4 Condiciones de operación de los biofiltros (etapa de arranque).	59
Tabla 5. 5 Condiciones de operación de los biofiltros (alimentación en continuo).	61
Tabla 5. 6 Condiciones de operación de los biofiltros (alimentación de H ₂ S).	65
Tabla 5. 7 Concentración y pureza del DNA de las muestras.	72
Tabla 5. 8 Coeficiente S _D a partir del perfil de bandas del gel de poliacrilamida (Primera etapa de operación)	75
Tabla 5. 9 Coeficiente S _D a partir del perfil de bandas del gel de poliacrilamida (Segunda etapa de operación)	75

Índice de Figuras

Figura 2. 1 Esquema de un reactor UASB. Tomado de: (Chong <i>et al.</i> , 2012)	3
Figura 2. 2 Distribución de tamaño de las plantas en función del caudal de influente en Latinoamérica. Tomado de: (Noyola <i>et al.</i> , 2012)	4
Figura 2. 3 Degradación anaerobia de la materia orgánica en aguas residuales.	6
Figura 2. 4 Solubilidad del metano en agua a diferentes temperaturas y salinidad. Tomado de: (Liu <i>et al.</i> , 2014)	8
Figura 2. 5 Sistema de biofiltración propuesto para tratar las corrientes de metano provenientes de un sistema de tratamiento anaerobio.	9
Figura 2. 6 Mecanismo de degradación del contaminante Tomado de: (Cárdenas <i>et al.</i> , 2003).....	13
Figura 2. 7 Intervalos de aplicación de métodos químicos y biológicos. Tomado de: (Revah y Ortiz, 2004).	14
Figura 2. 8 Esquematación de un biofiltro. Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005).....	16
Figura 2. 9 Esquematación de un biofiltro de lecho escurrido. Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005). .	17
Figura 2. 10 Sistema de tratamiento de gases por medio de un biolavador. Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005)	18
Figura 2. 11 Rutas metabólicas para la oxidación del metano y la asimilación del formaldehído. CyTC, citocromo C; FADH, formaldehído deshidrogenasa; FDH, formiato deshidrogenasa. Tomado de (Hanson y Hanson, 1996).	19
Figura 2. 12 Ciclo de óxido-reducción del azufre. Tomado de: (Espinoza <i>et al.</i> , 2010).....	24
Figura 2. 13 Mecanismos de degradación del contaminante a) en un biofiltro b) en filtros percoladores. Tomado de: (Devanny y Ramesh, 2005).	28
Figura 2. 14 Proceso de transferencia de masa en el tratamiento de gases. Tomado de: (Kraakman <i>et al.</i> , 2011a). .	29
Figura 4. 1 Esquema del biofiltro utilizado en los experimentos.	33
Figura 4. 2 Etapas de operación de los biofiltros.	34
Figura 4. 3 Operación del sistema de biofiltración utilizado en régimen continuo (la bolsa Tedlar se utiliza para muestrear la salida de la corriente gaseosa tratada).	35
Figura 5. 1 Cinética de crecimiento de los microorganismos metanótrofos presentes en el inóculo.....	46
Figura 5. 2 Efecto del H ₂ S sobre velocidad de oxidación de CH ₄ y la producción de CO ₂ , donde R se refiere al duplicado de los experimentos.	50
Figura 5. 3 Efecto de la concentración de H ₂ S sobre velocidad volumétrica y específica de eliminación de CH ₄	52
Figura 5. 4 Efecto de la concentración de H ₂ S sobre velocidad volumétrica de producción de CO ₂	52
Figura 5. 5 Producción de sulfatos en pruebas de microcosmos	53
Figura 5. 6 Efecto de altas concentraciones de H ₂ S sobre velocidad de oxidación de CH ₄ , donde R se refiere al duplicado de los experimentos.	56
Figura 5. 7 Efecto de altas concentraciones de H ₂ S sobre velocidad volumétrica y específica de eliminación de CH ₄	57
Figura 5. 8 Efecto de altas concentraciones de H ₂ S sobre velocidad volumétrica de producción de CO ₂	57
Figura 5. 9 Producción de sulfatos en pruebas de microcosmos con altas concentraciones de H ₂ S.	58
Figura 5. 10 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado de composta durante la etapa de operación intermitente.	60
Figura 5. 11 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con esponja de poliuretano durante la etapa de operación intermitente.....	61

Figura 5. 12 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con anillos Raschig durante la etapa de operación intermitente.....	61
Figura 5. 13 Capacidad de eliminación del biofiltro de composta (alimentación en continuo).....	62
Figura 5. 14 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con esponja de poliuretano (alimentación en continuo).	62
Figura 5. 15 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con anillos Raschig (alimentación en continuo).	63
Figura 5. 16 Temperatura ambiente durante la operación del sistema	63
Figura 5. 17 CE de CH ₄ del biofiltro empacado con composta en función de la ML.	64
Figura 5. 18 Efecto del H ₂ S sobre la eficiencia de eliminación del biofiltro empacado con composta.	66
Figura 5. 19 Efecto del H ₂ S sobre la eficiencia de eliminación del biofiltro empacado con esponja de poliuretano ...	67
Figura 5. 20 Efecto del H ₂ S sobre la eficiencia de eliminación del biofiltro empacado con anillos Raschig	68
Figura 5. 21 Acumulación de sulfatos en los sistemas de biofiltración.....	69
Figura 5. 22. Imágenes de los empaques de biofiltración a) Composta operada con CH ₄ b) Composta operada con CH ₄ y H ₂ S c) Esponja de poliuretano operada con CH ₄ d) Esponja de poliuretano operada con CH ₄ y H ₂ S e) Anillos Raschig operados con CH ₄ f) Anillos Raschig operados con CH ₄ y H ₂ S.....	70
Figura 5. 23 pH en el biofiltro empacado con composta durante la operación con H ₂ S.....	71
Figura 5. 24 pH en los biofiltros empacados con materiales inorgánicos durante la operación con H ₂ S a) Biofiltro empacado con esponja de poliuretano, b) Biofiltro empacado con anillos Raschig.....	71
Figura 5. 25 Fragmentos amplificados de PCR (Cebadores Bac 341f-907r); a) Muestras de la operación sin H ₂ S b) Muestras de la operación con H ₂ S.....	73
Figura 5. 26. Gel de poliacrilamida para las diferentes muestras de los biofiltros durante la operación sin H ₂ S.....	74
Figura 5. 27 Gel de poliacrilamida para las diferentes muestras de los biofiltros durante la operación sin H ₂ S.....	74
Figura 5. 28 Índice ponderado de riqueza (Rr) de las muestras de los biofiltros durante la primera etapa de operación.	76
Figura 5. 29 Índice ponderado de riqueza (Rr) de las muestras de los biofiltros durante la operación con H ₂ S.	76
Figura 5. 30 Micrografías de los materiales de empaque; a) Composta. b) Esponja de poliuretano. c) Anillos Raschig.	77
Figura 5. 31 Micrografía 10,000 X; biopelícula sobre esponja de poliuretano.....	78
Figura 5. 32 Micrografías de los microorganismos presentes en la composta.....	79
Figura 5. 33 Micrografías de la biopelícula sobre esponja de poliuretano; a) Parte superior del biofiltro. b) Parte inferior del biofiltro.	79
Figura 5. 34 Micrografías de la biopelícula sobre anillos Raschig; a) Parte superior del biofiltro. b) Parte inferior del biofiltro.	80

Lista de abreviaturas

ANOVA: Análisis de varianza

CE: Capacidad de eliminación

Cs: Carga superficial

Cv: Carga volumétrica

DGGE: (denaturing gradient gel electrophoresis) electroforesis en gel de poliacrilamida con gradiente desnaturante

DQO: Demanda química de oxígeno

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EF: Eficiencia de remoción

H: Constante de Henry

K_{la}: Coeficiente volumétrico de transferencia de masa

M_{Ls}: Carga másica de entrada superficial

M_{Lv}: Carga másica de entrada volumétrica

PCR: Reacción de polimerasa en cadena

ppmv: partes por millón volumen

PTAR: Planta de tratamiento de aguas residuales

R_r: (*Range weighted richness*) rango ponderado de riqueza

S_D: Coeficiente de Sorensen-Dice

TRLV: Tiempo de residencia de lecho vacío (min)

UASB: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*

1. INTRODUCCIÓN

En México y Latinoamérica los sistemas de tratamiento de aguas residuales mediante procesos anaerobios comienzan a ser utilizados debido a las diferentes ventajas que ofrece respecto a los tratamientos aerobios convencionales. En la mayoría de los casos, las plantas de tratamiento basadas en procesos anaerobios son pequeñas, con excepciones particularmente en Brasil, donde existen instalaciones que tratan caudales de 1 m³/s o mayores. Es importante mencionar que en México existe un gran número de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales (PTAR) pequeñas (<25 L/s), las cuales corresponden al 75% del total, además las PTAR de flujo más pequeño (<5 L/s) representan el 45% del total (Noyola *et al.*, 2012).

Algunos autores han reportado que las pequeñas plantas de tratamiento, pueden presentar problemas de funcionamiento debido los bajos recursos técnicos y financieros del operador, generando efluentes de baja calidad y en el caso de los reactores anaerobios la liberación del biogás a la atmósfera sin un tratamiento previo (Noyola *et al.*, 2012). Otro problema asociado a los sistemas de tratamiento anaerobios operados en países con climas templados (temperatura alrededor de los 20°C), es el metano que queda disuelto el efluente (el cual contiene CH₄ disuelto sobresaturado aproximadamente de 15-20 mgCH₄•L⁻¹), ya que además de representar una pérdida, contribuye al calentamiento global (Noyola *et al.*, 2006), debido a que el CH₄ es el segundo gas de efecto invernadero más importante con un potencial de calentamiento 34 veces superior al CO₂ (Myhre *et al.*, 2013).

Debido a la problemática del CH₄ disuelto y el biogás que no puede ser aprovechado en las pequeñas instalaciones de tratamiento anaerobio (menores a 20 L/s, como límite de referencia), se debe establecer una propuesta con la finalidad de utilizar un sistema compacto y económico para tratar las corrientes provenientes de esos sistemas y evitar el venteo del CH₄ a la atmósfera. La oxidación biológica en biofiltros es una buena alternativa para controlar este problema. La idea de utilizar la biofiltración para la eliminación del CH₄ deriva del hecho de que algunas especies de bacterias son capaces de degradar el CH₄, generando subproductos de oxidación como el CO₂, H₂O, sales y biomasa, que son menos perjudiciales para el medio ambiente (Nikiema *et al.*, 2007).

Además, es importante tomar en cuenta el efecto del sulfuro de hidrógeno sobre la eliminación biológica del metano, ya que este es un compuesto que puede estar presente en el biogás producido dependiendo de la cantidad de sulfatos presentes en las aguas residuales. Cáceres *et al.* (2014) mencionan que la oxidación

de CH₄ en una corriente al 15% (v/v) por *Methylomicrobium album* y *Methylocystis sp.*, se ve inhibida a concentraciones de 0.05% (v/v) de H₂S, indicando que la concentración del H₂S en la fase gaseosa puede afectar el crecimiento de ambas especies de metanótrofas. Por otro lado, Long *et al.* (2013) reportan que la oxidación de CH₄ en rellenos sanitarios se ve inhibida por la presencia de H₂S a una concentración de 0.05% (v/v) en corrientes diluidas de CH₄ (5%).

Hasta el momento, el estudio del efecto del H₂S sobre la oxidación biológica de CH₄ se ha realizado para el caso de rellenos sanitarios, por lo que es importante conocer el efecto que tiene este gas sobre la comunidad microbiana alimentada por una corriente de biogás diluido (CH₄ <4% v/v en aire) proveniente de una PTAR anaerobia que trate aguas residuales municipales con desorción de metano del efluente..

Este trabajo está enfocado a investigar el efecto que tiene el H₂S y el material de empaque en un sistema de biofiltración de CH₄, evaluando la capacidad de eliminación del sistema bajo diferentes concentraciones de H₂S y evaluando el cambio de las comunidades microbianas presentes en la biopelícula de los diferentes materiales de empaque.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES

El tratamiento de aguas residuales mediante procesos anaerobios ofrece diferentes ventajas respecto a los tratamientos aerobios convencionales, ya que se elimina el gasto de energía eléctrica necesaria para la aireación, se disminuye la cantidad de lodos debido a una menor producción de biomasa e involucra la generación de biogás que puede ser utilizado como una fuente de energía (Bandara *et al.*, 2012; Hatamoto *et al.*, 2011).

Existen diferentes tecnologías desarrolladas para el tratamiento anaerobio de aguas residuales, de las cuales el reactor UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*) ha sido ampliamente utilizado. En la Figura 2.1 se muestra el esquema de un reactor UASB. Los lodos se encuentran en la parte inferior del reactor; en condiciones apropiadas las partículas dispersas se lavan mientras que los componentes más densos se retienen. Las reacciones biológicas se llevan a cabo en la cama de lodos. Los compuestos orgánicos solubles en el influente y los hidrolizados en el reactor, se transforman en biogás, el cual está compuesto principalmente de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) (55-65% y 35-44% respectivamente). El biogás producido y el lodo impulsado por las burbujas de gas atrapadas en éste se separan del efluente por el separador GLS (gas-líquido-sólido), mientras que los deflectores evitan el lavado de los flocos de lodo (Lettinga *et al.*, 1983).

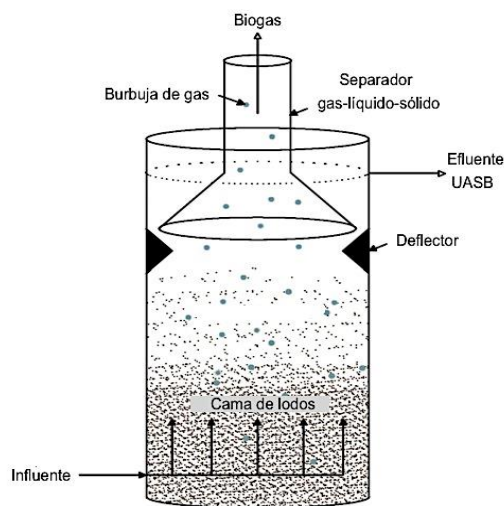


Figura 2. 1 Esquema de un reactor UASB. Tomado de: (Chong *et al.*, 2012)

El estudio realizado por Noyola *et al.* (2012) menciona que en México y Latinoamérica existe un gran número de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) municipales pequeñas (<25 L/s) (Figura 2.2). En México, éstas corresponden al 75% del total, de las cuales, las PTAR de flujo más pequeño (<5 L/s) representan el 60%. Así también, los autores mencionan que las pequeñas plantas de tratamiento pueden presentar problemas de funcionamiento debido los bajos recursos técnicos y financieros del operador, generando efluentes de baja calidad y en el caso de los reactores anaerobios la liberación del biogás a la atmósfera sin un tratamiento previo.

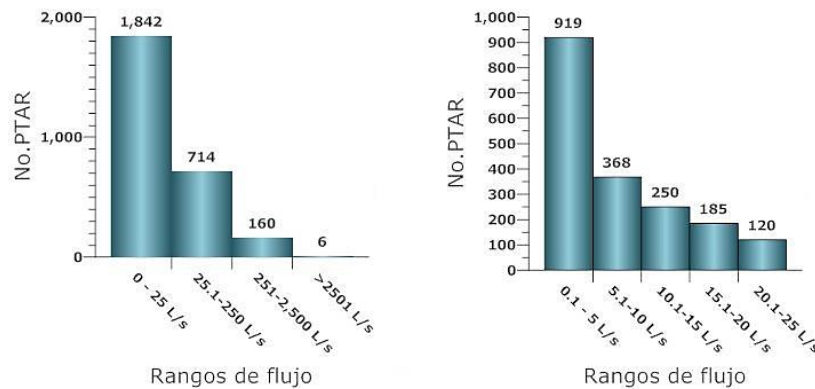


Figura 2. 2 Distribución de tamaño de las plantas en función del caudal de influente en Latinoamérica. Tomado de: (Noyola *et al.*, 2012).

En México los sistemas anaerobios para el tratamiento de aguas residuales han jugado un papel importante, no solo por contribuir a incrementar el volumen total tratado; si no también por disminuir los costos operativos de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Según lo reportado por Cervantes en el año 2010, México cuenta con 135 reactores anaerobios tratando efluentes de diferentes sectores productivos, así como aguas residuales domésticas (Tabla 2.1). El volumen total instalado es de cerca de 350,000 m³ (Cervantes, 2010).

Tabla 2.1 Registro de digestores anaerobios que han sido instalados y operados durante 1989 y 2009 en México. Tomado de: (Cervantes, 2010).

Tipo de Efluente	Volumen instalado (m ³)	Carga tratada (kg DQO•día ⁻¹)	Número de reactores
Municipal	71,825 (21%)	283,008 (18%)	49
Industrial	272,338 (79%)	1, 327,267 (82%)	86
Total	344,163	1,610,275	135

En los últimos años, las tecnologías anaerobias se han aplicado ampliamente en el tratamiento de aguas residuales industriales, sin embargo, su aplicación en el tratamiento de aguas residuales domésticas y municipales sigue siendo muy limitada debido a la baja concentración de materia orgánica (baja producción de metano) y la temperatura a la que son operados (Noyola *et al.*, 2006). Por otro lado, si el biogás producido no es recuperado, puede causar problemas de olores principalmente por el H₂S, además de ser una fuente de emisiones de CH₄ a la atmósfera lo que contribuye al calentamiento global (efecto invernadero)(Noyola *et al.*, 2006; Van Haandel *et al.*, 2006).

2.2 BIOGÁS

El biogás es producido por microorganismos en condiciones anaerobias a partir de la materia orgánica. Su composición oscila entre 55-65% CH₄, 35-44% CO₂, 0.8-1.2% H₂S y trazas de oxígeno (O₂), monóxido de carbono (CO), el amoníaco (NH₃), argón (Ar₂) y otros compuestos orgánicos volátiles (COV) (Bandara *et al.*, 2012; Janssen *et al.*, 2009; Noyola *et al.*, 2006; Rasi *et al.*, 2011). La composición del biogás puede variar dependiendo de las características de las aguas residuales así como de las diferentes tecnologías empleadas para su tratamiento (Rasi *et al.*, 2011). En el caso particular de las aguas residuales domésticas, la digestión anaerobia produce una mezcla de CH₄ (70-80%), nitrógeno (10-25%) y dióxido de carbono (5-10%) (Noyola *et al.*, 2006).

El biogás es una fuente de energía que puede ayudar a disminuir los costos de operación implicados en el tratamiento de las aguas residuales y en los procesos de acondicionamiento de lodos. Sin embargo la utilización del biogás para la producción de energía sólo es posible cuando la concentración de CH₄ en éste es de más del 30% y cuando las corrientes de biogás son de aproximadamente 50 m³·h⁻¹. Para flujos de biogás de 10-15 m³·h⁻¹ con una concentración de CH₄ superior al 20% es posible eliminarlo quemándolo en antorchas (Rocha-Rios *et al.*, 2009).

En el tratamiento de aguas residuales domésticas, la producción de biogás es reducida debido a la baja concentración de materia orgánica suministrada, que cuando se trata un bajo flujo, se limita en gran medida la utilización del biogás por motivos económicos y de escala (Noyola *et al.*, 1988; 2012). No obstante, en cualquier caso aunque el biogás producido no pueda ser utilizado, éste debe ser tratado para evitar su emisión a la atmósfera.

2.3 METANO DILUIDO

El metano (CH₄) es el hidrocarburo más simple atómicamente y estable, y es uno de los componentes más importantes de biogás.

En la digestión anaerobia (Figura 2.3), los polímeros de la materia orgánica son hidrolizados por las bacterias heterótrofas a monómeros. Estas moléculas son fermentadas produciendo principalmente ácidos grasos volátiles, acetato, formiato y alcohol. El CO₂ y el H₂ son también productos que están presentes en esta etapa del proceso. Posteriormente estos productos intermedios se transforman en acetato en presencia de bacterias acetogénicas, de acuerdo con la siguiente reacción:

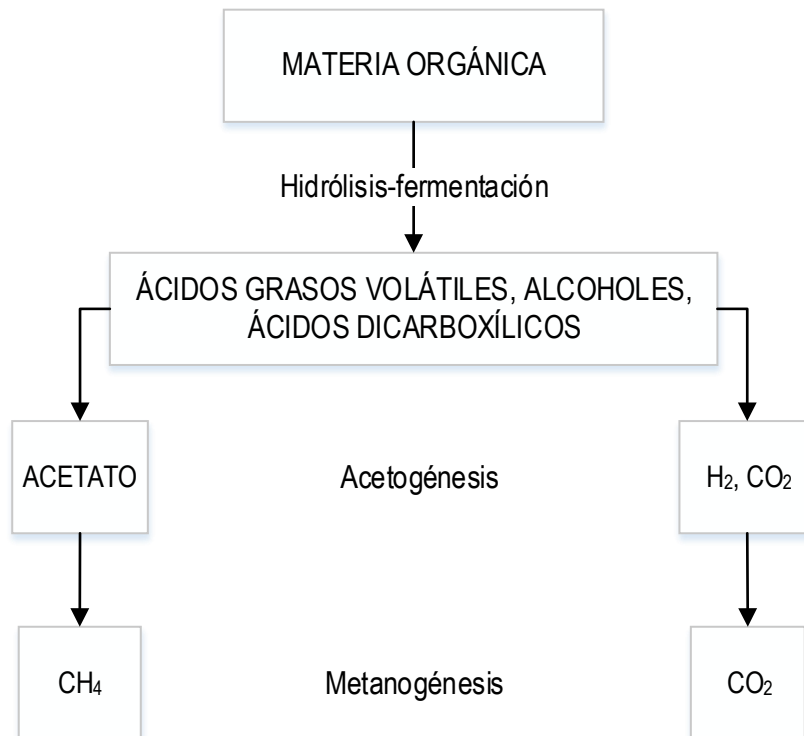


Figura 2. 3 Degradación anaerobia de la materia orgánica en aguas residuales.

Posteriormente, el acetato y el hidrógeno se transforman en CH₄ y CO₂ por la acción de microorganismos metanógenos, todos ellos pertenecientes al dominio Archaea (Nikiema *et al.*, 2007).

La mayoría de los tratamientos anaerobios de las aguas residuales se realizan en rangos de temperaturas mesofílicas (con un intervalo óptimo entre 35 y 37°C); esto se atribuye al hecho de que la mayoría de las reacciones biológicas responsables de la biodegradación anaerobia de la materia orgánica se realiza mucho más lento en condiciones psicrófilas. Es importante mencionar que una gran variedad de aguas residuales domésticas, municipales e industriales, son tratadas a temperatura ambiente bajo condiciones climáticas templadas. Sin embargo, las mejoras en el diseño y condiciones de operación del reactor han permitido una operación exitosa (uso de inóculos adaptados a bajas temperaturas, un sistema de dos fases que consiste de un reactor UASB y un reactor EGSB (*expanded granular sludge bed*)) (Dhaked *et al.*, 2010; Lettinga *et al.*, 2001). Por otro lado, la disminución de la temperatura induce cambios en las propiedades físicas y químicas del agua residual por lo que el rendimiento del reactor puede verse afectado significativamente. Por ejemplo, el metano disuelto en el efluente bajo estas condiciones puede impactar en forma importante en la escasa recuperación del metano total producido (Bandara *et al.*, 2011).

En los sistemas anaerobios para el tratamiento de aguas residuales municipales la producción de CH₄ real está por debajo del valor teórico (0.35 N m³•kg DQO eliminada; N se refiere a temperatura y presión normal: 273 K y 1 atm), encontrándose valores entre 0.08 y 0.18 N m³•kg DQO eliminada (Noyola *et al.*, 2006). Es importante tener en cuenta la fracción de los productos gaseosos disueltos en el efluente con el fin de explicar la desviación de la producción teórica de biogás con relación al biogás producido y captado. Se ha encontrado que una proporción de hasta un 36-40% de la producción de CH₄ en el reactor queda disuelto en el efluente (Lobato *et al.*, 2012; Noyola *et al.*, 1988).

El rendimiento de producción de CH₄ dependerá de la concentración de DQO y sulfatos (SO₄²⁻) en las aguas residuales, así como de la temperatura del agua, ya que a temperatura más alta será menos el CH₄ que se disuelve, como lo indican las constantes de la ley de Henry (Noyola *et al.*, 2006)

Considerando que el sistema líquido-gas sigue la ley de Henry:

$$C_G = H C_L^* \quad (2)$$

C_G Concentración del gas ($mg L^{-1}$)

H Constante de Henry

C_L^* Concentración del líquido en el equilibrio ($mg L^{-1}$)

En la Figura 2.4 se puede observar cómo la solubilidad del CH₄ en la fase líquida aumenta conforme la temperatura disminuye (Bandara *et al.*, 2011; Giménez *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014; Matsuura *et al.*, 2010).

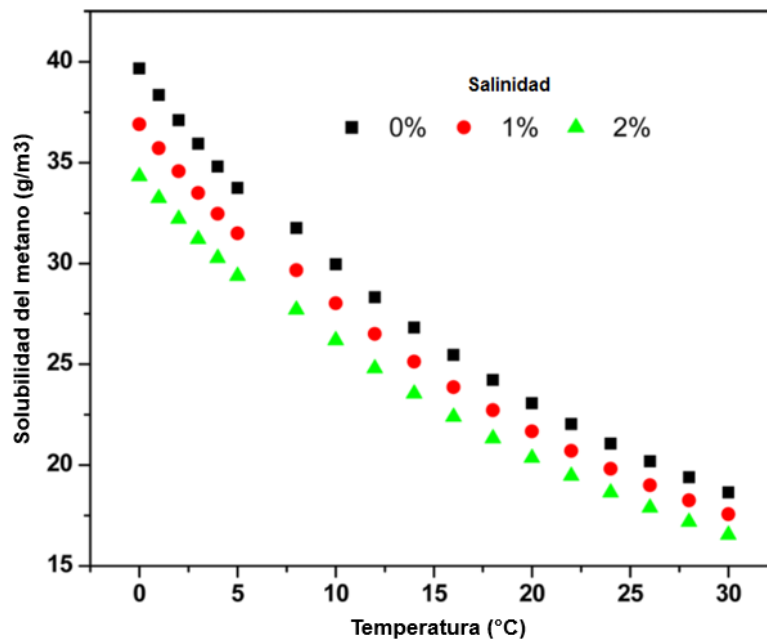


Figura 2. 4 Solubilidad del metano en agua a diferentes temperaturas y salinidad. Tomado de: (Liu *et al.*, 2014)

La descarga de CH₄ disuelto en el efluente del reactor representa una pérdida, además de contribuir al calentamiento global si se desorbe posteriormente a la atmósfera, ya que el CH₄ es el segundo gas de efecto invernadero más importante con un potencial de calentamiento 34 veces superior al CO₂ (Myhre *et al.*, 2013).

Existen pocos estudios en los que se ha investigado la eliminación de CH₄ disuelto de los procesos de tratamiento anaerobio de aguas residuales por oxidación biológica (Hartley y Lant, 2006; Hatamoto *et al.*, 2010a; Matsuura *et al.*, 2010; Barcón *et al.*, 2015). La oxidación biológica en biofiltros es una buena alternativa para reducir las emisiones de CH₄ a la atmósfera, cuando su concentración en el biogás está por debajo de su límite de explosión en el aire (5%) (Rocha-Rios *et al.*, 2009). Por lo tanto, es importante conocer el papel que juegan las comunidades microbianas en esos sistemas para eficientar el control de las emisiones de gases de efecto invernadero procedentes de los procesos antes señalados.

Debido a la problemática del CH₄ disuelto y el biogás que no puede ser aprovechado en las pequeñas instalaciones de tratamiento anaerobio (menores a 20 L/s, como límite de referencia), se debe establecer una propuesta con la finalidad de utilizar un sistema compacto y económico para tratar las corrientes

provenientes de esos sistemas (Figura 2.5). La finalidad del sistema será oxidar biológicamente el CH_4 presente en ambas corrientes (gaseosa y líquida) generadas. Por corrientes se entiende tanto el biogás producido y captado en la parte superior del reactor, como el efluente líquido tratado, el cual contiene CH_4 disuelto sobresaturado (aproximadamente de $15\text{-}20 \text{ mgCH}_4 \cdot \text{L}^{-1}$) en las condiciones de operación del reactor (temperatura alrededor de los 20°C).

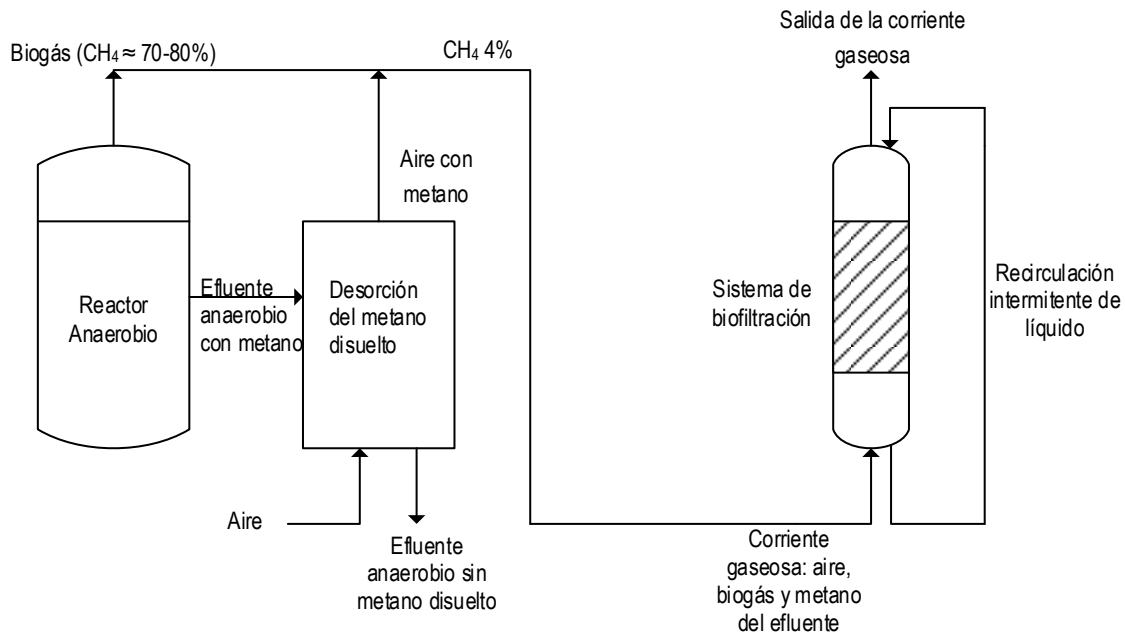


Figura 2. 5 Sistema de biofiltración propuesto para tratar las corrientes de metano provenientes de un sistema de tratamiento anaerobio.

2.4 SULFURO DE HIDRÓGENO

Uno de los problemas asociados con las plantas de tratamiento de aguas residuales es la generación de malos olores. Uno de los compuestos que contribuye en gran medida a la generación de éstos es el sulfuro de hidrógeno (H_2S), el cual es un producto natural de la descomposición anaerobia de la materia orgánica principalmente por la reducción de sulfatos (SO_4^{2-}) (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

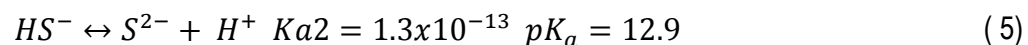
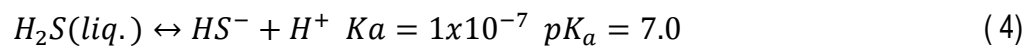
El H_2S es un compuesto peligroso importante con las siguientes características: gas inflamable y venenoso, percibido en el aire a concentraciones de $0.02\text{-}0.13 \text{ ppm}_v$ y altamente tóxico (Gonzalez-Sanchez *et al.*, 2009; Noyola *et al.*, 2006).

La exposición de los seres humanos a bajas concentraciones de H₂S puede causar dolores de cabeza, náuseas e irritación de ojos y garganta, así como la rinitis, queratoconjuntivitis, fotofobia, tos intensa y bronconeumonía. Las concentraciones altas pueden causar parálisis del sistema respiratorio, pérdida del conocimiento y muerte. La exposición durante pocos minutos a concentraciones de H₂S igual a 0.2% (2000 ppm_v) puede ser letal para los seres humanos (Noyola *et al.*, 2006). Por otro lado, el H₂S es un compuesto corrosivo y ataca diferentes materiales (hierro, cobre, cemento, etc.); a concentraciones superiores a 500 ppm_v las instalaciones sufren graves problemas de corrosión (Janssen, 2009).

Las concentraciones de H₂S en el biogás varían notablemente entre las diferentes plantas de tratamiento de aguas dependiendo del tipo de planta y el tipo de agua residual que estas traten, encontrándose valores alrededor de 1000 ppm_v–10,000 ppm_v (Rasi *et al.*, 2011), en el tratamiento de aguas residuales municipales se han encontrado valores entre 45-537 ppm_v y hasta 1000 ppm_v en el biogás de los digestores de lodos anaerobios (Noyola *et al.*, 2006). Además se ha reportado que alrededor del 0.8-1% del H₂S queda disuelto en el efluente (Souza *et al.*, 2012).

El alto contenido de H₂S puede ser resultado de una alta cantidad de sulfatos en las aguas residuales (Morgan-Sagastume *et al.* 1999). Los sulfatos pueden estar presentes en las aguas residuales municipales debido a la recolección de desechos industriales ricos en este anión (generalmente añadido como ácido sulfúrico en el proceso de producción) o al contenido natural en el suministro de agua (Noyola *et al.*, 2006).

El H₂S es un gas altamente soluble (Constante de Henry: 0.41 (mol·m⁻³)_{aire} / (mol·m⁻³)_{agua} a 25°C) y se disocia en agua de acuerdo con las siguientes reacciones de equilibrio:



Los problemas de olor asociados con el H₂S son por lo tanto muy dependientes del pH de las aguas residuales (Noyola *et al.*, 2006). El sulfuro de hidrógeno gaseoso H₂S (g), constituye el principal contaminante en el gas natural y biogás, y tiene que ser controlado por su impacto en la salud, los equipos involucrados y el medio ambiente (González-Sánchez y Revah, 2007).

Algunas de las causas generales de la generación de olores en plantas de tratamiento pueden ser las siguientes:

- Deficiencias en la operación de la planta de tratamiento, por ejemplo la acumulación de materia orgánica fresca en el tratamiento preliminar de la planta, el almacenamiento de lodos en forma inadecuada, la acidificación de reactores en el caso de sistemas anaerobios, etc.
- En el caso del efluente de una planta de tratamiento anaerobia, por sus condiciones de pH y posible turbulencia generada en el momento de ser descargado el efluente, es posible el desprendimiento de H₂S disuelto en el agua tratada (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

2.5 MÉTODOS DE TRATAMIENTO QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE GASES

En la Tabla 2.2 se muestran algunas técnicas para el tratamiento de aire contaminado.

Tabla 2.2 Técnicas de tratamiento de aire contaminado Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005).

Tecnología	Principio	Consideraciones
Absorción	El contaminante es transferido del gas a un líquido absorbente por un gradiente de concentración. Las soluciones absorbentes incluyen agua, sosa cáustica, aminas y algunos hidrocarburos. El absorbente empleado dependerá de las características de solubilidad de los compuestos orgánicos volátiles (COV) a remover.	La eficiencia depende de la solubilidad del contaminante, que también depende de la temperatura, presión y el pH. Pueden lograrse con torres de aspersión o empacadas.
Lavadores químicos	Proceso de absorción con reacción. Se usa para controlar olores oxidando los contaminantes con hipoclorito u otro oxidante químico. El oxidante se consume al reaccionar por lo que es necesario agregarlo continuamente.	Se pueden generar compuestos indeseables por la oxidación química parcial. Pueden ser torres de aspersión o empacadas.

Incineración	Los contaminantes son oxidados a CO ₂ y H ₂ O en quemadores. Se requiere generalmente una corriente de combustible suplementario. Pueden emitirse además NO _x , CO, HCL y otros COV potencialmente peligrosos.	La combustión sólo es posible cuando la concentración de metano en el aire está dentro de los límites de explosividad.
Membranas selectivas	El aire contaminado pasa a través de membranas selectivas en donde los COV son selectivamente absorbidos y concentrados.	Tecnología emergente, altos costos.
Oxidaciones avanzadas	Uso de oxidantes más potentes (UV, O ₃) o catalizadores que general (TiO ₂) para oxidar a los contaminantes del aire.	Tecnología emergente, altos costos.
Sistemas biológicos	Ciertos contaminantes orgánicos e inorgánicos son mineralizados a CO ₂ , H ₂ O, S°, SO ₄ , NO ₃ por medio de microorganismos que se encuentran inmovilizados o en suspensión.	Comprenden sistemas como biocubiertas, biofiltros. Estos son de gran interés por los bajos costos de operación; incluye reactores de partición de dos fases.

Muchos investigadores coinciden en afirmar que los tratamientos fisicoquímicos son más costosos que los biológicos y cuando se trata de gases con bajas concentraciones de contaminantes y altos flujos de gas, esta diferencia se ve incrementada. Es por ello, que se favorecen los procesos biológicos sobre los procesos fisicoquímicos (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

2.6 MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS

En el tratamiento biológico de gases, el aire contaminado pasa a través de los poros del lecho empacado y la degradación de los contaminantes ocurre una vez que éstos se transfieren a un medio líquido, donde son utilizados por los microorganismos como fuente de carbono y energía (compuestos orgánicos) o como fuente de energía (compuestos inorgánicos) (Cárdenas *et al.*, 2003). Estos sistemas se basan en la capacidad de los microorganismos, incluyendo bacterias, levaduras y hongos, para transformar ciertos contaminantes orgánicos e inorgánicos en compuestos que tienen muy bajo impacto en la salud y el medio ambiente tales

como el CO_2 y H_2O (Figura 2.6). Algunas limitaciones de estos procesos son la biodegradabilidad y la solubilidad de los contaminantes.

Una de las ventajas más importantes de los tratamientos biológicos para corrientes gaseosas sobre los procesos fisicoquímicos es que pueden llevarse a cabo a temperatura ambiente ($10\text{-}40^\circ\text{C}$) y a presión atmosférica, por lo que los costos de operación son bajos (Revah *et al.*, 1996). Para el tratamiento biológico de gases existen básicamente tres procesos: la biofiltración, los biolavadores y los biofiltros percoladores (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

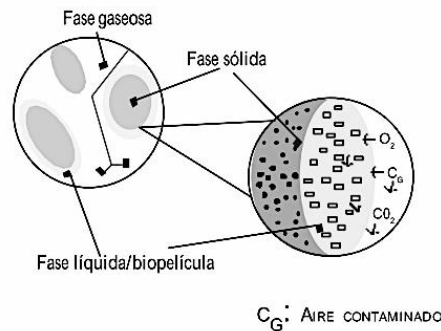


Figura 2. 6 Mecanismo de degradación del contaminante Tomado de: (Cárdenas *et al.*, 2003).

La selección de la tecnología de tratamiento más rentable se determina por la naturaleza y concentración de sustancias contaminantes y por las tasas de flujo del gas a tratar. En la Figura 2.7, se muestran los rangos de concentración de contaminantes (compuestos volátiles orgánicos) y de flujos de aire en los cuales son más rentables algunas de las principales tecnologías de control (Revah y Ortiz, 2004).

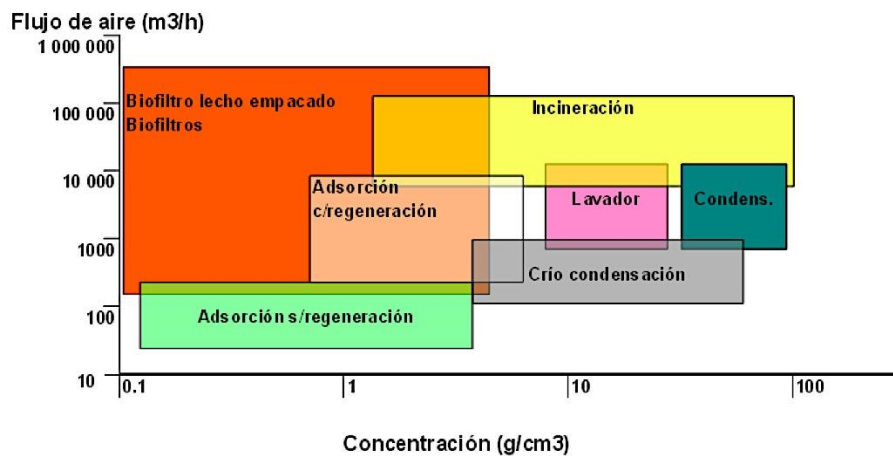


Figura 2. 7 Intervalos de aplicación de métodos químicos y biológicos. Tomado de: (Revah y Ortiz, 2004).

Algunas transformaciones biológicas importantes llevadas a cabo mediante procesos de biológicos así como las bacterias responsables de ello se muestran en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Conversiones biológicas importantes mediante el tratamiento biotecnológico de emisiones gaseosas. Modificado de: (McNevin y Barford, 2000).

Transformación	Reacción general		Bacterias típicas	Ambiente en función del O ₂
	Reactivos	Productos		
Oxidación de compuestos orgánicos volátiles (COV)	COV	CO ₂ , H ₂ O	Bacterias quimioheterótrofas	Aerobio
Nitrificación	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	Bacterias nitrificantes	Aerobio
Oxidación de sulfuro	H ₂ S	S ⁰ , SO ₄ ²⁻	Bacterias sulfooxidantes	Aerobio
Oxidación de metano	CH ₄	CO ₂ , H ₂ O	Bacterias metanotrófos	Aerobio
Desnitrificación	NO ₃ ⁻	N ₂	Bacterias desnitrificantes	Anaerobio

Este tipo de tecnologías se podrían aplicar para la eliminación de CH₄ y así evitar la emisión del biogás en pequeñas plantas de tratamiento de aguas residuales anaerobias, donde la baja producción de biogás limita que este pueda ser quemado y/o aprovechado en la generación de energía.

La Tabla 2.4 resume las características más importantes de cada unidad de tratamiento así como sus ventajas y desventajas.

Tabla 2.4 Características de los sistemas de tratamiento biológico para gases Tomado de: (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

Tipo de sistema	Biofiltro	Biofiltro Percolador	Biolavador
Composición del medio	Microorganismos inmovilizados en soportes naturales con fuente de nutrientes.	Soporte inerte con biopelícula en su superficie.	Empaque inerte.
Circulación de agua	No hay.	Circulación continua.	Circulación continua.

Área de aplicación	Compuestos con concentraciones menores a 1mg/L con coeficientes de Henry menores a 10.	Concentraciones de compuestos menores a 0.5 mg/L con coeficientes de Henry menores a 1.	Compuestos con concentraciones menores a 5mg/L y coeficientes de Henry menores a 0.01.
Ventajas	Alta superficie de contacto gas-líquido, fácil arranque y operación, bajos costos de inversión y operación, soporta períodos sin alimentación.	Mejor control de la reacción, posibilidad de evitar acumulación de subproductos, equipos compactos, baja caída de presión.	Comparables a las del biofiltro percolador.
Desventajas	Poco control sobre los fenómenos de reacción, baja adaptación a altas fluctuaciones de flujo de gas, mayor requerimiento de área.	Baja superficie de contacto gas-líquido, generación de lodos, no resiste periodos sin alimentación, necesidad de suministrar nutrientes, arranque complejo, altos costos de inversión, operación y mantenimiento.	Comparables a las del biofiltro percolador.

2.6.1 BIOFILTRO

En los biofiltros, el gas contaminado pasa por un reactor empacado de material húmedo en donde se ha desarrollado una película de microorganismos sobre la superficie y los macroporos del soporte (Figura 2.8). El contaminante es transferido desde el gas a esta biopelícula húmeda en donde es transformado eventualmente en CO₂ y H₂O, siendo estos compuestos arrastrados a la salida. Los materiales de empaque pueden ser tierra, diferentes tipos de compostas, desechos de madera, turba, bagazo de caña, cáscaras de cacahuate, etc. con un área específica (área de contacto por unidad de volumen de columna) y espacios vacíos grandes. La elección del tipo de material es señalado a menudo como el parámetro clave en el diseño,

ya que determina la eficiencia de remoción y el tiempo de vida del biofiltro (Lebrero *et al.*, 2011; Revah y Ortiz, 2004).

Las propiedades mecánicas del empaque pueden ser mejoradas mezclando materiales orgánicos tales como madera o cortezas así como plásticos inertes o cerámicos. El medio posee la superficie y los nutrientes necesarios para que en ella se desarrolle una biopelícula de microorganismos que serán los responsables de la degradación de los compuestos indeseables en el gas. Una fracción de espacios vacíos alto (producidos por el material de empaque) favorece una baja caída de presión del gas en el lecho empacado, así como una adecuada oxigenación del filtro y distribución del flujo de gas (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

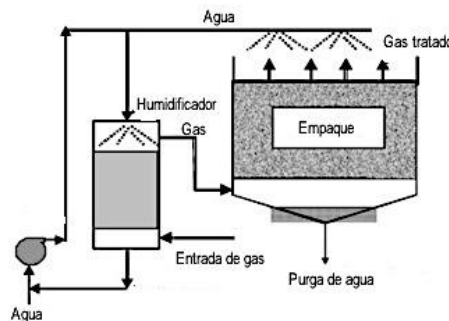


Figura 2. 8 Esquematzación de un biofiltro. Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005)

2.6.2 BIOFILTROS PERCOLADORES O DE LECHO ESCURRIDO

Los biofiltros de lecho escurrido (Figura 2.9) generalmente consisten en columnas empacadas con material de empaque generalmente inorgánico, tal como plásticos, resinas, cerámicas o rocas, que permite el desarrollo de una película microbiana que favorece el aumento de la densidad celular. Por lo general el área específica del empaque es relativamente baja (100 a $300 \text{ m}^2/\text{m}^3$) y se prefieren volúmenes vacíos altos (90 a 95%) para minimizar la caída de presión en la columna y el riesgo de que el espacio vacío sea obstruido por el crecimiento microbiano (Lebrero *et al.*, 2011; Revah y Ortiz, 2004). En este dispositivo, el aire contaminado se hace pasar a contracorriente a través de una columna empacada donde el líquido fluye continuamente hacia abajo, y el flujo se recircula a través del lecho empacado. El contaminante se solubiliza primero en el líquido y luego es transferido a los microorganismos que crecen adheridos a la superficie de los soportes. El líquido proporciona a la biopelícula humedad, nutrientes, y control sobre el pH, además que permite la eliminación de los productos inhibitorios (Noyola *et al.*, 2006).

Estos equipos son muy recomendados cuando los compuestos de oxidación no son volátiles y se acumulan en la fase líquida.

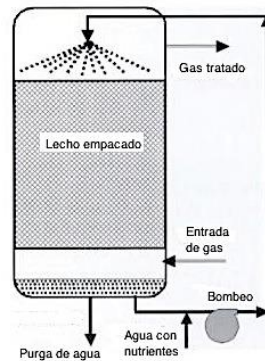


Figura 2. 9 Esquematación de un biofiltro de lecho escurrido. Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005).

2.6.3 BIOLAVADORES

Como primer paso el gas entra en contacto con agua en una torre de aspersión o empacada con material inerte en donde serán absorbidos o disueltos en el agua los compuestos indeseables del gas. Posteriormente, el agua con los componentes disueltos es tratada aeróbicamente para su degradación biológica en un tanque separado (Figura 2.10). En contraste con los biofiltros, en los biolavadores el agua es una fase móvil que permite un mejor control de las condiciones de reacción tales como la adición de nutrientes y disoluciones tampón, temperatura, pH y fuerza iónica. Sin embargo, con este diseño, los biolavadores poseen una baja área de contacto entre el gas y el agua lo que restringe su uso a compuestos con constantes adimensionales de Henry menores a 5 (Morgan-Sagastume *et al.* 1999).

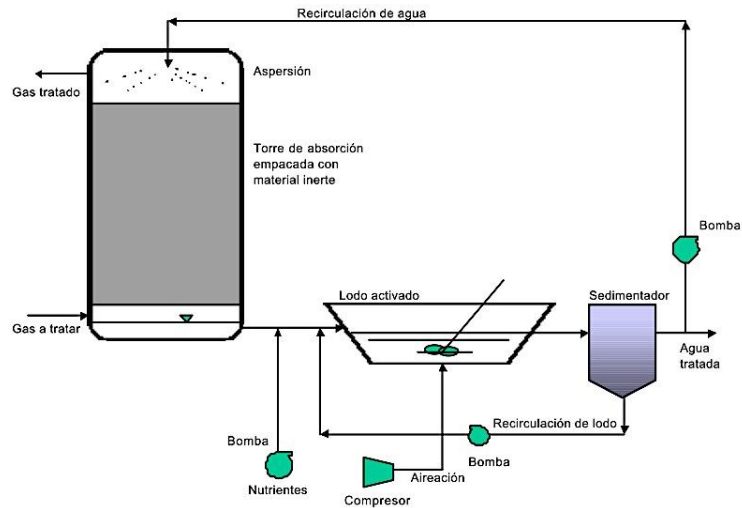


Figura 2. 10 Sistema de tratamiento de gases por medio de un biolavador. Tomado de: (Revah y Morgan-Sagastume, 2005)

2.7 OXIDACIÓN BIOLÓGICA

2.7.1 BIOFILTRACIÓN DE METANO

El CH_4 es el segundo gas de efecto invernadero más importante con un potencial 34 veces superior al dióxido de carbono (Myhre *et al.*, 2013); las emisiones naturales de CH_4 representan alrededor de 250 millones de toneladas al año). En ciertos ambientes naturales (o artificiales) los microorganismos metanótrofos (Singh *et al.*, 2010), grupo único de bacterias Gram-negativas aerobias, utilizan el metano como única fuente de carbono y energía (Hatamoto *et al.*, 2010a; Nikiema *et al.*, 2007) oxidándolo a dióxido de carbono.

La oxidación del metano por los microorganismos metanótrofos ocurre de manera muy general, a través de las siguientes reacciones (Hanson y Hanson, 1996) y como se ilustra en la Figura 2.11:

1. El CH_4 es oxidado a metanol (CH_3OH) por la enzima metano monooxigenasa (MMO).
2. Posteriormente el CH_3OH es transformado en formaldehído (HCHO).
3. Y finalmente, el HCHO puede destinarse hacia una ruta metabólica desasimilatoria, que es cuando se llega a oxidar hasta CO_2 , o bien hacia las rutas asimilatorias para la síntesis de algunos componentes celulares.

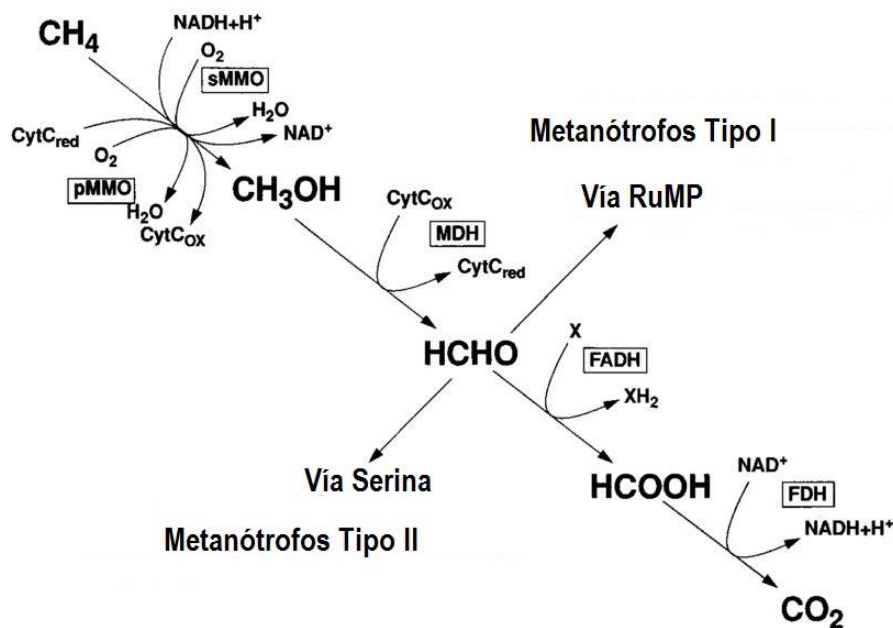


Figura 2. 11 Rutas metabólicas para la oxidación del metano y la asimilación del formaldehído. CyTC, citocromo C; FADH, formaldehído deshidrogenasa; FDH, formiato deshidrogenasa. Tomado de (Hanson y Hanson, 1996).

Los microorganismos metanótrofos pueden subdividirse en tres grandes grupos quimiotaxonómicos (Nikiema *et al.*, 2007):

- Tipo I:** En este grupo se incluyen los géneros *Methylomonas*, *Methylomicrobium*, *Methylobacter*, *Methylocaldum*, *Methylophaga*, *Methylosarcina*, *Methylothermus*, *Methylohalobius* y *Methylosphaera*. Éstas asimilan el formaldehído por la vía ribulosa monofosfato (RuMP) y sus membranas celulares se componen principalmente de ácidos grasos con 16 o 14 átomos de carbono.
- Tipo II:** Aquí se ubican los géneros *Methylocystis*, *Methylocella*, *Methylocapsa* y *Methylosinus*. Éstos utilizan la vía serina para la asimilación del formaldehído. Sus membranas celulares contienen ácidos grasos de 18 átomos de carbono.
- Tipo X:** El género *Methylococcus*, combina las propiedades de los tipos I y II, es decir, ácidos grasos con 16 átomos de carbono y la asimilación de formaldehído a través del ciclo de ribulosa monofosfato y la ruta de la serina.

La biofiltración es una opción prometedora para el control de las emisiones de CH₄ contenido en el biogás a la atmosfera. En un principio, el proceso se utilizó para la eliminación de olores, pero a partir de entonces la biofiltración también resultó ser viable para la eliminación de compuestos orgánicos volátiles (COVs) y compuestos inorgánicos volátiles (CIVs). La idea de utilizar la biofiltración para la eliminación del CH₄ deriva del hecho de que algunas especies de bacterias son capaces de degradar el CH₄, generando subproductos de oxidación como el CO₂, H₂O, sales y biomasa, que son menos perjudiciales para el medio ambiente (Nikiema *et al.*, 2007).

El contacto entre los microorganismos y el CH₄ se lleva a cabo en la biopelícula inmovilizada sobre el lecho del filtro. El suministro de aire está asegurado por un sistema de ventilación forzada. La circulación de los gases en el filtro biológico puede llevarse a cabo ya sea de arriba hacia abajo o viceversa. Existen diferentes parámetros para definir el rendimiento de un biofiltro tal como la carga de entrada (M_L), la capacidad de eliminación (EC) y la eficiencia de eliminación (%E o ER) los cuales se definen en la Tabla 2.5 (Nikiema *et al.*, 2007).

Tabla 2.5 Parámetros de rendimiento utilizados en biofiltración. Modificado de: (Nikiema *et al.*, 2007).

Parámetro	Ecuación	Definición	Unidades
M_{LS} : Carga másica de entrada superficial	$M_{LS} = \frac{[CH_4]_0 * Q}{S}$	La carga másica superficial y volumétrica representa la masa de contaminante que ingresa al biofiltro por unidad de área transversal o	(g•m ⁻² •d ⁻¹)
M_{LV} : Carga másica de entrada volumétrica	$M_{LV} = \frac{[CH_4]_0 * Q}{V}$	volumen ocupado por el medio filtrante, respectivamente y por unidad de tiempo.	(g•m ⁻³ •d ⁻¹)
TRLV : Tiempo de residencia de lecho vacío (min)	$TRLV = \frac{V}{Q}$	Está definido como el volumen de biofiltro dividido por el caudal de aire que ingresa al biofiltro.	(min)
%E o ER : Eficiencia de remoción	$\%E \text{ o } ER = \frac{[CH_4]_0 - [CH_4]_e}{[CH_4]_0} * 100$	Se define como la fracción del contaminante eliminado por el biofiltro.	(%)

CE: Capacidad de eliminación	$CE = M_{LV} * \frac{ER}{100}$	Es la masa de contaminante degradada por unidad de volumen de medio filtrante por unidad de tiempo.	(g•m ⁻³ •d ⁻¹)
Cs: Carga superficial	$C_s = \frac{Q}{A}$	Define la cantidad de aire o contaminantes que serán tratados; la carga volumétrica y superficial corresponden al volumen de gas que se trata por unidad de volumen del medio filtrante o del área, transversal, respectivamente, en una unidad de tiempo	(m ⁻³ •m ⁻² •h ⁻¹)
Cv: Carga volumétrica	$C_v = \frac{Q}{V}$		(m ⁻³ •m ⁻³ •h ⁻¹)

Donde

- V = Volumen del reactor
Q = Caudal
A = Área superficial transversal a la dirección del flujo
[CH₄]₀ = Concentración a la entrada del contaminante
[CH₄]_e = Concentración a la salida del contaminante

En la Tabla 2.6 se presentan los resultados de biofiltración de CH₄ obtenidos por diversos autores.

Tabla 2.6 Experimentos sobre biofiltración de metano reportados por diversos autores. Modificada de (Nikiema *et al.*, 2007).

Tipo de reactor	Condiciones de operación	Carga másica de entrada	Capacidad de eliminación	Autores
Arcilla y tierra de relleno sanitario	Mezcla 45% v/v CH ₄ , 45% v/v CO ₂ , condiciones óptimas de humedad	202 g/m ² d	40-50 g/m ² d	Bajic y Zeiss (2001)
Multicapas: Composta + arena	Mezcla 50% v/v CH ₄ , 50% v/v CO ₂	288 g/m ² d	164-283 g/m ² d	(De Visscher <i>et al.</i> , 1999)

Composta de corteza de pino	Aireado en el fondo TRLV: 49 min	420 g/m ² d	ER>70%	Du Plessis <i>et al.</i> , (2003)
Composta	Aireado en el fondo	590 g/m ² d	530-590 g/m ² d	Haubrichis y Widmann (2006)
Bolitas de papel reciclado	Mezcla 30% v/v CH ₄ , 70% v/v aire	105 g/m ² d	47 g/m ² d	
Composta + bolitas de papel reciclado		105-485 g/m ² d	47 g/m ² d	
Composta y trocitos de madera		485 g/m ² d	475 g/m ² d	
Composta de hojas	Aireado por arriba	500 g/m ² d	325-400 g/m ² d	Hettiaratchi y Stein (2001); Wilshusen <i>et al.</i> , (2004)
Composta de residuos municipales	39% v/v CH ₄ puro		200-250 g/m ² d	
Composta de residuos de jardín			200-250 g/m ² d	
Composta de trocitos de madera			<50 g/m ² d	
Tubos de vidrio	Aireado en el fondo	200 g/m ² d	ER=96-98%	Stein y Hettiaratchi (2001)
	Percolación	750 g/m ² d	ER=27-28%	
	Mezcla 0.25-1.0% v/v CH ₄			
Biofiltro empacado de tobermolita	Volumen de operación: 5L; TRLV: 20 min Mezcla 5% v/v CH ₄ , 95% v/v aire	97 g/m ³ h	32-41 g/m ³ h	(Kim <i>et al.</i> , 2014)

Reactor de tanque agitado (De partición de dos fases)	Volumen de operación: 2L; Mezcla 3% v/v CH ₄ , 97% v/v aire	200 g/m ³ h	160 g/m ³ h	(Rocha-Rios <i>et al.</i> , 2009)
Biofiltro de lecho escurrido	Volumen: 5L; empacado con esponja de poliuretano, Mezcla 3% v/v CH ₄ , 97% v/v aire	140 g/m ³ h	51 g/m ³ h	(Rocha-Rios <i>et al.</i> , 2009)

2.7.2 BIOFILTRACIÓN DE SULFURO DE HIDRÓGENO

Los microorganismos desempeñan un papel importante en el ciclo global de diversos elementos tales como el azufre, nitrógeno, carbono y hierro. Los compuestos inorgánicos de azufre, sirven como fuente de azufre para su asimilación e incorporación en los compuestos orgánicos o son empleados como donadores o aceptores de electrones en el transporte desasimilativo durante los procesos de respiración y fotosíntesis de algunos procariontes. Químicamente las reacciones óxido-reductoras de los compuestos azufrados son complejas debido a que los átomos de azufre existen en 9 estados de oxidación desde (+6) hasta (-2). Los 3 estados de oxidación más abundantes en la naturaleza son: -2 en forma del anión sulfuro de hidrógeno (HS⁻), 0 en forma de azufre elemental (S⁰) y +6 en forma de sulfato (SO₄²⁻) (Espinoza *et al.*, 2010). Los agentes químicos o biológicos contribuyen a la transformación del azufre de un estado a otro (Tang *et al.*, 2009). El azufre experimenta transformaciones cíclicas en su estado de oxidación de -2 (HS⁻) a +6 (SO₄²⁻), debido a procesos químicos, geológicos y biológicos. La Figura 2.12 muestra el ciclo de oxidorreducción del azufre y la participación de los microorganismos en las transformaciones del azufre.

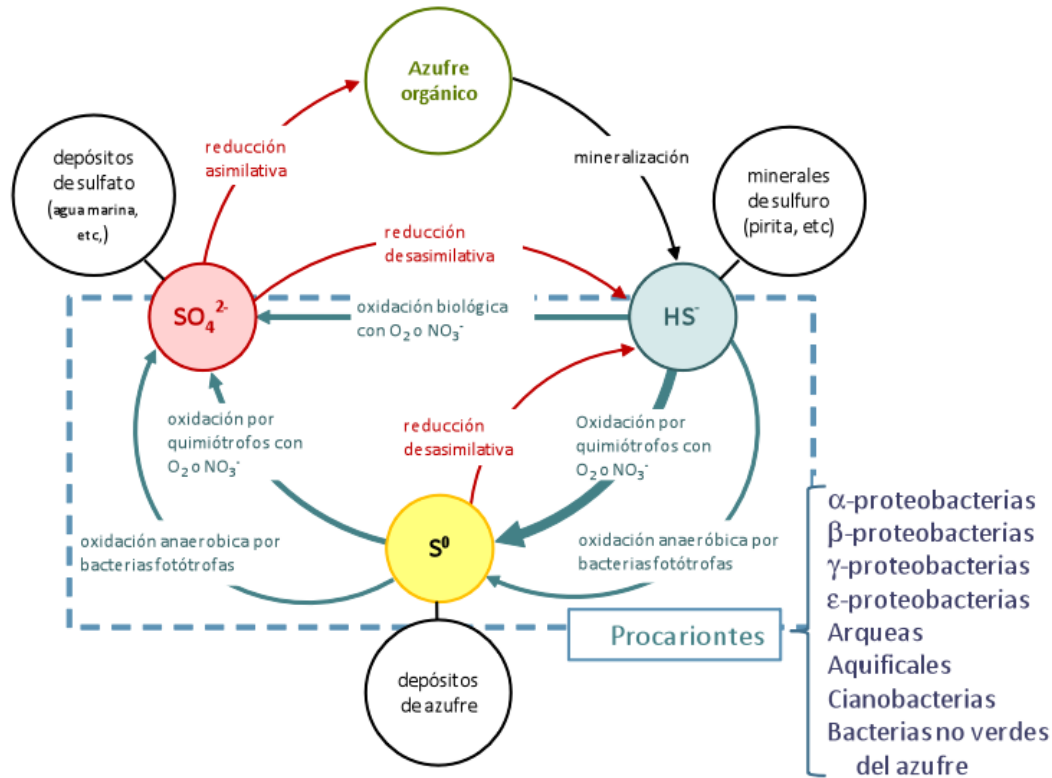


Figura 2. 12 Ciclo de óxido-reducción del azufre. Tomado de: (Espinoza *et al.*, 2010).

El H_2S es el principal gas volátil del azufre. Esta sustancia se forma principalmente por la reducción bacteriana de sulfato. Por otro lado, el sulfuro funciona como un donador de electrones para las bacterias fotótrofas o quimiolitótrofas que convierten estos compuestos en azufre elemental (S^0) o sulfato (SO_4^{2-}) (Tang *et al.*, 2009).

El tratamiento biológico en biofiltros y filtros percoladores se utiliza ampliamente para el control de H_2S porque es eficaz y relativamente económico. En los procesos biológicos, el H_2S que se encuentra en la fase gaseosa se absorbe primero en una solución acuosa o en la biopelícula donde los microorganismos sulfooxidantes lo transforman en especies tales como azufre elemental y sulfatos (González-Sánchez *et al.*, 2008). Las bacterias sulfato-reductoras y sulfooxidantes juegan un papel fundamental en muchos entornos industriales. La actividad de estas bacterias en algunos casos puede crear problemas en el medio ambiente o en el área de producción de diversas industrias.

La mayoría de las bacterias sulfooxidantes usan oxígeno molecular (O_2) como aceptor final de electrones. Existen varios factores que influyen en la cinética y estequiometría de la oxidación química del sulfuro en

soluciones acuosas, como la relación molar de oxígeno, el pH, la temperatura y la presencia de catalizadores o inhibidores. También se ha reportado que la oxidación del sulfuro de hidrógeno se acelera al incrementar el pH (González-Sánchez y Revah, 2007).



Entre los microorganismos que oxidan el H₂S se encuentra *Thiobacillus* que debido a sus simples requisitos nutritivos, su alta eficacia y resistencia a sustancias tóxicas, así como su tolerancia a un amplio rango de pH lo hacen adecuado para su uso en aplicaciones de ingeniería. La reacción más común es la oxidación directa de sulfuro a azufre y sulfatos por medio de oxígeno que es proporcionado por el aire. En otros casos la oxidación de sulfuro a sulfato se lleva a cabo por la reducción de NO₃ a N₂ (*Thiobacillus denitrificans*). En particular, *Thiobacillus ferrooxidans* presenta un proceso muy simple y eficaz para el tratamiento de H₂S ya que el oxidante es regenerado por los microorganismos (Noyola *et al.*, 2006). El amplio rango de estados de oxidación del azufre (de -2 a +6) es la causa de que exista una gran variedad de enzimas redox capaces de transformar diferentes compuestos de azufre.

En la Tabla 2.7 se presentan los resultados de biofiltración de H₂S obtenidos por diversos autores.

Tabla 2.7 Experimentos sobre biofiltración de H₂S reportados por diversos autores.

Tipo de reactor	Condiciones de operación	Carga másica de entrada	Capacidad de eliminación	Autores
Reactor de tanque agitado	TRLV: 1-6 s Alimentación: 2.5-18 ppmv	202 g/m ² d	ER>98%	(González-Sánchez <i>et al.</i> , 2008)
2 biofiltros de lecho escurrido conectados en serie	Volumen de operación: 2.5L; Material de empaque: anillos de polietileno; TRLV: 60 s	150 g/m ³ d	ER>96-99%	(Cáceres <i>et al.</i> , 2012)

Biofiltro	Material de empaque: composta TRLV: 50 s	168 g/m ³ d	ER=100%	(Morgan-Sagastume y Noyola, 2006)
Biofiltro	Material de empaque : Torba; TRLV: 60 s	0.2-1.3 g/m ³	ER>99%	(Omri <i>et al.</i> , 2013)
Biofiltro	Material de empaque : Polimero (bio carrier); TRLV: 14.6 min; Volumen de operación: 730 L	4.691-1.532 g/m ³	ER>93%	(Su <i>et al.</i> , 2013)
Biofiltro	Las células se inmovilizaron en alginato de calcio TRLV: 28 s	600 g/m ³ d	ER>98%	(Chung <i>et al.</i> , 1996)
Biofiltro	Material de empaque: fibra de coco; TRLV: 313s		ER>94.7%	(Chaiprapat <i>et al.</i> , 2011)

2.7.3 ELIMINACIÓN DE METANO Y SULFURO DE HIDRÓGENO

Como se mencionó anteriormente la cantidad de H₂S presente en el biogás dependerá de la composición de las aguas residuales tratadas. Se han realizado diversos estudios en los que se ha evaluado la biodegradación de CH₄ y H₂S de forma independiente, sin embargo, existen pocos trabajos referentes al efecto que tiene el H₂S sobre la eliminación biológica de CH₄ (Long *et al.*, 2013; Cáceres *et al.*, 2014).

Cáceres *et al.* (2014) mencionan que la oxidación de CH₄ en una corriente al 15% (v/v) por *Methylobacterium album* y *Methylocystis sp.*, se ve inhibida a concentraciones de 0.05% (v/v) de H₂S, indicando que la concentración del H₂S en la fase gaseosa puede afectar el crecimiento de ambas especies de metanótrofos. Por otro lado, Long *et al.* (2013) reportan que la oxidación de CH₄ en rellenos sanitarios se ve inhibida por la presencia de H₂S a una concentración de 0.05% (v/v) en corrientes diluidas de CH₄ (5%).

Hasta el momento el estudio del efecto del H_2S sobre la oxidación biológica de CH_4 se ha realizado para el caso de rellenos sanitarios, por lo que es importante conocer el efecto que tiene este gas sobre la comunidad microbiana proveniente de los lodos de una PTAR y utilizando corrientes diluidas de CH_4 (<4% v/v en aire).

2.8 PRINCIPAL LIMITACIÓN DEL PROCESO DE BIOFILTRACIÓN DE CH_4

Una de las limitaciones de los biofiltros cuando se tratan compuestos altamente hidrofóbicos como el CH_4 es la transferencia de masa (Estrada *et al.*, 2014). Esto es debido a que para que un contaminante que se encuentra en la fase gas pueda ser degradado por los microorganismos éste debe transferirse previamente a un medio líquido el cual está en contacto con los microorganismos de la biopelícula. En la Figura 2.13 se muestra un esquema general de los procesos de transferencia de masa en los biofiltros y filtros percoladores, donde el transporte se lleva a cabo debido a un gradiente de concentración entre las dos fases y el transporte de los contaminantes al interior de la biopelícula se lleva a cabo por difusión.

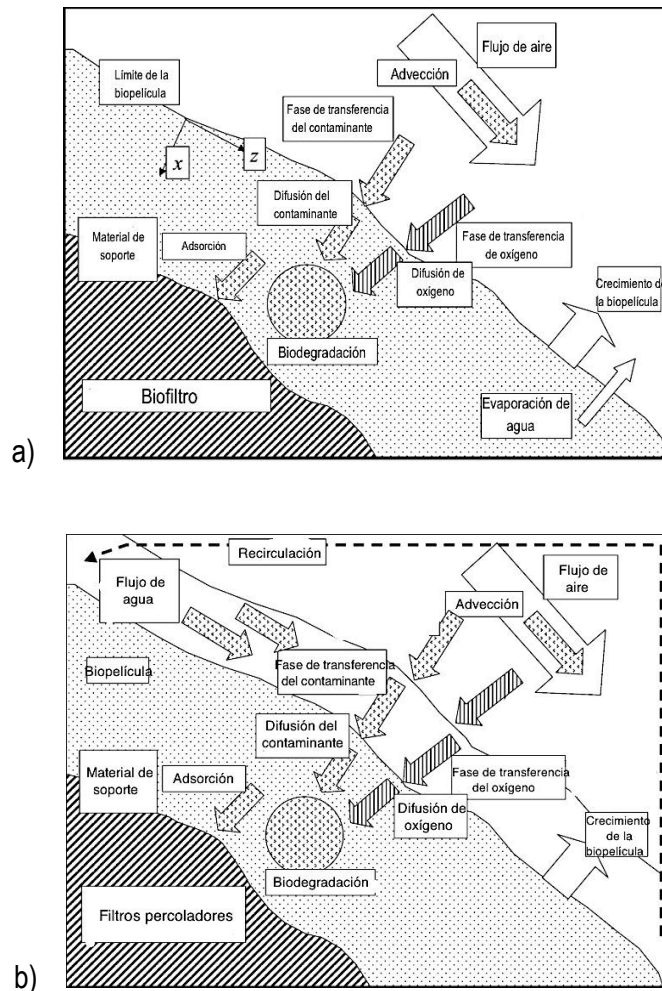


Figura 2. 13 Mecanismos de degradación del contaminante a) en un biofiltro b) en filtros percoladores. Tomado de: (Deviny y Ramesh, 2005).

La transferencia de masa de los compuestos de interés (contaminante y oxígeno) de la fase gas a la fase líquida en los sistemas de tratamiento biológico de gases, a menudo se describe con la teoría de las dos películas de Lewis y Whitman (1924). Este modelo utiliza dos fases (gas y líquido) que tienen diferentes concentraciones y que no están en equilibrio de acuerdo a la ley de Henry. Sólo en la interfase gas-líquido existe tal equilibrio y los compuestos de interés se mueven desde o hacia esta interfase con una cierta velocidad, que depende del tipo de compuesto y las propiedades de las fases líquida y gaseosa. Estas velocidades se definen con los coeficientes de transferencia de masa. El coeficiente de transferencia de masa total (K_T) es una combinación de los diferentes coeficientes de transferencia de masa parciales, teniendo un coeficiente de transferencia de masa para la fase de gas (k_G), un coeficiente de transferencia de masa para la fase líquida (k_L), y un coeficiente de transferencia de masa para la biopelícula (k_B) como se muestra en la ecuación:

$$1/K_T = 1/k_G + 1/k_L + 1/k \quad (8)$$

Los coeficientes de transferencia de masa están en función de las propiedades físico-químicas de los contaminantes, las propiedades del medio, las características internas del reactor, así como de las condiciones de funcionamiento del sistema. La tasa de transferencia de masa volumétrica R ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{s}^{-1}$) de la fase gaseosa a la fase acuosa (donde los microorganismos se encuentran en suspensión o formando la biopelícula) se lleva a cabo a una velocidad que se describe en la ecuación (9).

$$R = K_L a \left(\frac{C_G}{H} - C_L \right) = \left(\frac{D_{AL}}{\delta \text{ biopelícula}} \right) \left(\frac{C_G}{H} - C_L \right) \quad (9)$$

Donde D_{AL} ($\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$) es el coeficiente de difusión del contaminante en la fase gaseosa a la fase líquida, H (adimensional) es la constante de Henry, y δ biopelícula (m) es el espesor de la biopelícula. C_G y C_L son las concentraciones de contaminantes (g m^{-3}) en el gas y líquido, respectivamente.

La transferencia de masa se lleva a cabo por difusión y por convección, esta última se refiere a que los compuestos son transportados por el movimiento de las corrientes en el medio. Es importante mencionar que la difusividad de los compuestos del gas en la biopelícula será menor que en la fase líquida. De la ecuación (9), se puede deducir que R puede aumentar de diferentes maneras:

- a) Reduciendo el espesor de la película líquida, por ejemplo, reduciendo el flujo de agua o aumentando el mezclado.
- b) Aumentando el área de contacto gas-líquido a través de un soporte o aumentando el mezclado.
- c) Reduciendo el coeficiente de Henry, lo que aumenta el gradiente de concentraciones, esto puede lograrse aumentando la afinidad entre la fase líquida y el contaminante (fase gas).

Como se observa en la Figura 2.14, en un biofiltro de lecho escurrido el contaminante o el oxígeno puede ser transferido desde la corriente de flujo de gas (F) a las células a través de dos películas de agua o interfases, una es el agua libre (L) que fluye a través del empaque, y la otra es la que se encuentra adherida a la biopelícula. En ambas interfases, el contaminante (u oxígeno) se transfiere de acuerdo a la ley de Henry (Kraakman *et al.*, 2011a).

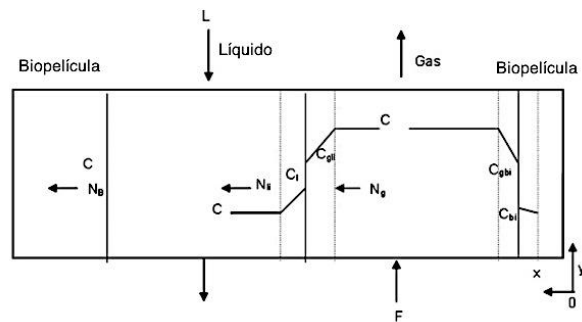


Figura 2. 14 Proceso de transferencia de masa en el tratamiento de gases. Tomado de: (Kraakman *et al.*, 2011a).

El diseño de un sistema de tratamiento biológico de gases es relativamente sencillo, pero el proceso de tratamiento es más complejo por la serie de procesos físicos, químicos y biológicos que involucra.

Debido a la complejidad de varios de los pasos implicados en la eliminación de los contaminantes, los biofiltros se consideran a menudo como "cajas negras", donde los contaminantes desaparecen como resultado de la acción de los microorganismos, por lo que es importante el desarrollo de modelos adecuados como base para la comprensión conceptual del funcionamiento de los biofiltros (Deshusses, 1995). Los procesos clave en la biofiltración son el transporte convectivo y la solubilidad de los compuestos volátiles en el lecho, la difusión de los compuestos a los microorganismos, y la biodegradación por los microorganismos; en general la eficiencia de remoción de un contaminante requiere del crecimiento y actividad de la biopelícula (Schwarz *et al.*, 2001).

Cabe mencionar que durante el funcionamiento del biofiltro, la biopelícula crecerá gradualmente, por lo que en algún momento, la difusión ya no proporcionará todos los compuestos necesarios al interior de la biopelícula y una parte de ésta quedará inactiva, además de que el crecimiento de la biopelícula puede afectar la distribución del tamaño de los poros del material de empaque (Devinny y Ramesh, 2005).

Por otro lado uno de los principales problemas de diseño de los biofiltros está asociado a la estructura de los poros, que pueden ser muy diferentes dependiendo del material de soporte usado para la formación de la biopelícula. Los materiales naturales como suelos o composta pueden compactarse fácilmente durante la operación y los poros resultan pequeños, generando grandes caídas de presión. Por otro lado, los materiales sintéticos (plástico, cerámica y metal) tienen, por lo general, mayor porosidad del lecho que los materiales naturales, pero cuando el crecimiento de la biomasa no es uniforme, es probable que ocurra el taponamiento de la estructura porosa y por lo tanto una mala distribución del flujo (canalización). La caída de presión del lecho, que se encuentra entre las variables de proceso clave que determinan los costos de funcionamiento, es también dependiente de la estructura de los poros en el biofiltro. Cuando el espesor de la biopelícula es del mismo orden de magnitud que el radio medio del poro, la acumulación de biomasa influye fuertemente en el comportamiento hidrodinámico del sistema, además de que el transporte del contaminante se determina por el tamaño del poro y la caída de presión a través de éste. Es por esto que la eficiencia de eliminación y la caída de presión dependen de la estructura de los poros en el biofiltro (Schwarz *et al.*, 2001).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

3.1 JUSTIFICACIÓN

La contribución al desarrollo sostenible enfocado a las plantas de tratamiento de aguas residuales involucra, además de la remoción de contaminantes y la producción de agua tratada adecuada para reúso, la disminución de las emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera y el uso de una menor cantidad de energía para su operación. El tratamiento de aguas residuales mediante procesos anaerobios ofrece algunas ventajas respecto a los procesos aerobios ya que se reduce el gasto de energía eléctrica necesaria para la aireación, se disminuye la cantidad de lodos debido a una menor producción de biomasa e involucra la recuperación del metano que puede ser utilizado como una fuente de energía. De esta manera se disminuyen las emisiones de este gas a la atmósfera ya que el metano es considerado un gas de efecto

invernadero con un potencial 34 veces superior al dióxido de carbono (Myhre *et al.*, 2013). Por otro lado, los compuestos azufrados son contaminantes que pueden estar presentes en los efluentes y al ser sometidos a tratamientos anaerobios llevan a la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) tanto en su forma disuelta como en su forma gaseosa, el cual es altamente tóxico, corrosivo y produce malos olores. Parte de ambos compuestos se recuperan en la corriente gaseosa para su posterior tratamiento, mientras que otra parte queda disuelta en el efluente, generando problemas posteriores de emisiones a la atmósfera. Bajo condiciones normales del proceso de digestión anaerobia se ha encontrado que el metano se puede disolver hasta un 40% del total producido (Noyola *et al.*, 1988), dependiendo de la concentración de DBO y de la temperatura del agua (Hartley y Lant, 2006; van der Ha *et al.*, 2011). En México y en América Latina se han identificado un número importante de pequeñas plantas de tratamiento de aguas residuales que utilizan un proceso anaerobio, en las que el biogás producido no es quemado, lo que conlleva a su liberación a la atmósfera (Noyola *et al.*, 2012). Por esta razón, el uso de un biofiltro aerobio permitiría llevar a cabo la oxidación del metano y el sulfuro de hidrógeno para mitigar las emisiones a la atmósfera, lo que requeriría del crecimiento de organismos metanotrófos y bacterias sulfooxidantes en el medio, lo que puede generar una competencia o inhibición (Giménez *et al.*, 2012), lo cual es un fenómeno importante que debe considerarse como objeto de estudio.

3.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del material de empaque y el sulfuro de hidrógeno sobre la biofiltración de una corriente diluida de metano.

3.3 OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de sulfuro de hidrógeno sobre la velocidad de eliminación de metano de un consorcio metanótrofo en suspensión.
- ✓ Evaluar la capacidad de eliminación de metano en un biofiltro utilizando diferentes materiales de empaque a diferentes cargas másicas de entrada de metano y sulfuro de hidrógeno.
- ✓ Evaluar el cambio de las comunidades microbianas presentes en la biopelícula de tres materiales de

empaques, utilizados para la biofiltración de metano y sulfuro de hidrógeno.

3.4 METAS

- ✓ Determinación de la carga másica de entrada (M_L) y material de empaque que permitan una eficiencia de eliminación >75%.
- ✓ Identificación del efecto de distintas concentraciones de sulfuro de hidrógeno en un biofiltro para la oxidación de metano
- ✓ Comparación de las comunidades microbianas presentes en el sistema, sujetas a diferentes condiciones de operación.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 SISTEMA EXPERIMENTAL

El sistema experimental constó de tres columnas de biofiltración de gases operadas en paralelo. Se utilizaron diferentes materiales de empaque: un material de empaque orgánico (composta), y dos materiales de empaque inorgánicos anillos Raschig (polietileno) y esponja de poliuretano (Tabla 4.1). La composta fue extraída de un sistema de biofiltración de tamaño real utilizado para la eliminación de compuestos causantes de mal olor .provenientes de la PTAR de Ciudad Universitaria, el cual consta de dos biofiltros de composta de 8.03 m³

Tabla 4.1 Materiales de empaque utilizados en los sistemas de biofiltración.

Material de soporte	Densidad (g•ml ⁻¹)	Porosidad	Área específica (m ² •m ⁻³)	Referencia
---------------------	--------------------------------	-----------	----------------------------------------------------	------------

Composta	$\rho_{\text{real}}=1.16$ $\rho_{\text{aparente}}=0.59$	0.5		(Moreno Gutiérrez, 2008; Morgan-Sagastume <i>et al.</i> , 2003)
Esponja de poliuretano	0.035	0.97	600	(González-Sánchez <i>et al.</i> , 2008)
Anillos Raschig (Poliétileno)	1.18	0.7	100	(Atkinson, 2002; Mendoza Oliveros, 2010)

4.3 DISEÑO Y OPERACIÓN DE LAS COLUMNAS DE BIOFILTRACIÓN

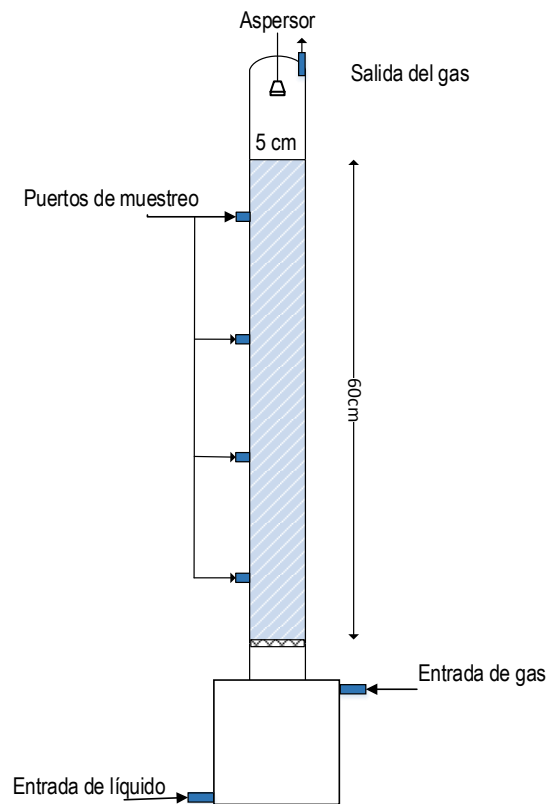


Figura 4. 1 Esquema del biofiltro utilizado en los experimentos.

En la Figura 4.1 se ilustra el esquema general de los biofiltros utilizados en los experimentos, los cuales son columnas de PVC transparente de 98 cm de altura total, con 60 cm de lecho empacado y 5 cm de diámetro; el volumen ocupado por el empaque es de 1.18 L. Cada 15 cm se tiene un puerto de muestreo para

monitorear la remoción de los contaminantes a través de la altura del lecho. En la parte superior de la columna se tiene un sistema de aspersion para mantener la humedad suficiente y brindar al sistema los nutrientes que necesita. Cada biofiltro cuenta con un reservorio de medio mineral en la parte inferior, el cual se recircula 3 veces por día a $0.005 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ que corresponde a una velocidad lineal de $2.5 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$, y se renueva por medio mineral fresco semanalmente.

Para poder evaluar el efecto del H_2S sobre la eficiencia de degradación de CH_4 el sistema fue operado en dos etapas (Figura 4.2).

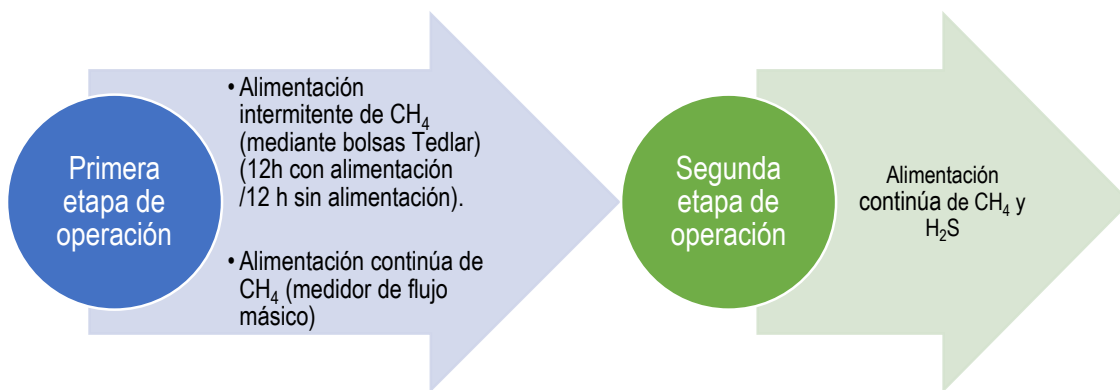


Figura 4. 2 Etapas de operación de los biofiltros.

Para la primera fase del experimento, la alimentación al sistema se realizó inicialmente con bolsas Tedlar de 20 L con una concentración de metano en aire al 2% mediante bombas peristálticas, regulando el flujo con un flujómetro de gases (Cole-Parmer). Posteriormente la alimentación se realizó a partir de un tanque de CH_4 , del cual se tomó la cantidad necesaria, con la ayuda de un medidor de flujo másico de presión diferencial para gases de $5\text{-}500 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ (Cole-Parmer). Con este arreglo se obtuvo una concentración de CH_4 en aire del 4%, la cual se encuentra debajo de su límite de explosión en aire (5-15%) (Rocha-Rios *et al.*, 2009) (Figura 4.3).

Para la segunda fase, adicionalmente las columnas se alimentaron con una corriente de H_2S en concentraciones de 250, 500 y 750 ppm_v . Estas concentraciones se establecieron con base en los resultados obtenidos en el experimento previo a nivel microcosmos que se describe en la sección 4.5.

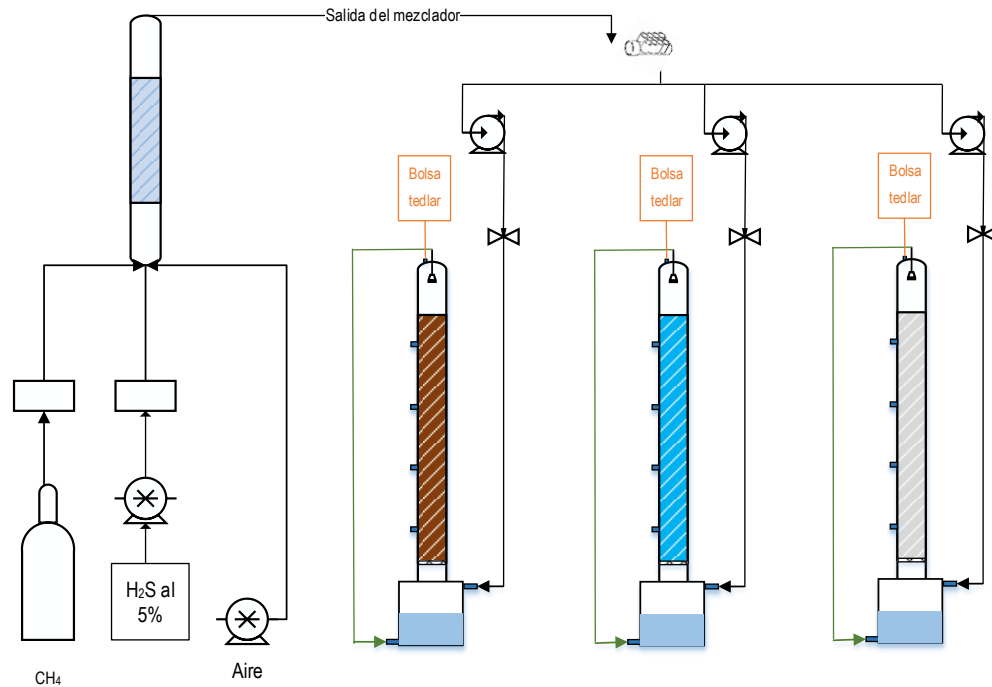


Figura 4. 3 Operación del sistema de biofiltración utilizado en régimen continuo (la bolsa Tedlar se utiliza para muestrear la salida de la corriente gaseosa tratada).

Los biofiltros fueron inoculados con un consorcio metanótrofo, el cual se menciona en el apartado siguiente (4.4); después de la inoculación, el biofiltro fue alimentado con metanol como única fuente de carbono y energía ($8 \text{ mL CH}_3\text{OH} \cdot \text{L}^{-1}$ en medio mineral salino), con una tasa de alimentación de $4.9 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ en intervalos de 15 minutos y un flujo de aire de $0.06 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ para desarrollar una concentración de biomasa adecuada. Posteriormente, los biofiltros fueron alimentados con las corrientes de CH_4 y H_2S .

4.3.1 MÉTODOS ANALÍTICOS

Diariamente se colectaron muestras de gases a la salida de los biofiltros mediante bolsas Tedlar de 10L. La composición de las muestras (CH₄, H₂S, CO₂) se determinó mediante un analizador continuo de gases de mezcla multicomponente ULTRAMAT (Siemens).

4.4 MATERIAL BIOLÓGICO

Para la obtención del consorcio metanótrofo se llevó a cabo la técnica descrita por Rocha-Rios *et al.*, (2009). Para ello, se tomó una muestra de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales Coyoacán. Un litro de lodo activado se filtró a través de papel filtro (8 µm). El filtrado se centrifugó y las células se suspendieron en 0.5 L de medio mineral en un recipiente de 5 litros. El medio mineral se describe en la Tabla 4.2. Durante 15 minutos se hizo pasar una mezcla de 2% de CH₄ en aire a través del volumen libre del recipiente, manteniendo abierta la salida y después de ese tiempo se cerraron las entradas y salidas del sistema para mantener una atmósfera enriquecida con CH₄. El recipiente se colocó sobre una parrilla de agitación para permitir el mezclado de ambas fases (líquido y gas), a temperatura ambiente. Semanalmente se realizó un recambio del medio de cultivo.

Tabla 4.2 Medio mineral para el enriquecimiento de metanótrofos (Rocha-Rios *et al.*, 2009).

Reactivo		Concentración (mg•L ⁻¹)
Nitrato de sodio	2000	2000
Sulfato de magnesio heptahidratado	200	200
Sulfato ferroso heptahidratado	1	1
Fosfato de sodio dibásico	200	200
Fosfato de sodio monobásico	90	90
Sulfato de cobalto heptahidratado	5*10 ⁻³	5*10 ⁻³
Ácido bórico	0.01	0.01
Sulfato de manganeso pentahidratado	0.01	0.01
Sulfato de zinc heptahidratado	0.07	0.07
Trióxido de molibdeno	0.01	0.01
Cloruro de potasio	400	400
Cloruro de Calcio	1.5	1.5

Ajustando el pH a 7.

4.4.1 MÉTODOS ANALÍTICOS

La concentración de biomasa se midió a través de determinaciones de densidad óptica a 600 nm usando un espectrofotómetro (HACH 5000) (Rocha-Rios *et al.*, 2013); se realizó una correlación de la densidad óptica en función del peso seco de las células; para esto, una muestra de 10 mL se hizo pasar a través de un filtro a peso constante, el cual se colocó en la estufa durante una hora, posteriormente se determinó por diferencia de peso, los gramos de biomasa en la muestra.

$$\text{Sólidos (mg/L)} = \frac{\text{P2(filtro + muestra)} - \text{P1 (filtro)}}{\text{Volumen de muestra}} \quad (10)$$

4.5 ESTUDIO DEL EFECTO DEL H₂S A NIVEL MICROCOSMOS

Las pruebas en lote se realizaron para estudiar los efectos del H₂S sobre la biodegradación del CH₄, con las células aclimatadas. Esto se juzgó necesario para fijar las condiciones de alimentación de los biofiltros. La capacidad de eliminación de CH₄ se evaluó en un sistema sin H₂S y bajo diferentes concentraciones de H₂S (de 50 a 1000 ppm_v). Todas las pruebas se realizaron utilizando botellas serológicas de 160 ml, colocando 10 mL de medio mineral con la biomasa previamente aclimatada. Las botellas serológicas fueron selladas con válvulas Mininert®. Se mantuvo la temperatura constante (25°C) y la agitación de las botellas fue de 120 rpm. Se tomaron muestras de la atmósfera gaseosa mediante el uso de una jeringa sample lock de 1mL. Por otra parte, se realizó un control solo con medio mineral en ausencia de biomasa. La realización del control permitió determinar la cantidad de CH₄ que es absorbido por el medio, y de esta manera poder estimar la cantidad de CH₄ eliminada por oxidación biológica. Se midió regularmente la concentración de CH₄ y CO₂ durante 6 días, para poder estimar la tasa de degradación de CH₄ (gCH₄•gSST⁻¹•h⁻¹) y producción de CO₂ (gCO₂•L⁻¹•h⁻¹). Al finalizar el experimento se determinó la cantidad de sulfatos (SO₄²⁻) y la concentración de biomasa, para determinar el crecimiento bajo las diferentes concentraciones de H₂S.

Se realizaron 2 cinéticas probando en cada una diferentes concentraciones de H₂S (Tabla 4.3 y 4.4).

Tabla 4.3 Descripción de los experimentos a nivel microcosmos para la primera cinética.

	Frasco (control)	Frasco 1	Frasco 2	Frasco 3	Frasco 4	Frasco 5	Frasco 6
Medio mineral (10 mL)	■	■	■	■	■	■	■
Biomasa (130 mgSST·L ⁻¹)	□	■	■	■	■	■	■
CH ₄ (4%)	■	■	■	■	■	■	■
H ₂ S (ppm _v)	□	50	75	100	150	200	300

□ Ausencia ■ Presencia

Tabla 4.4 Descripción de los experimentos a nivel microcosmos para la segunda cinética.

	Frasco (control)	Frasco 1	Frasco 2	Frasco 3	Frasco 4	Frasco 5	Frasco 6
Medio mineral 10 (mL)	■	■	■	■	■	■	■
Biomasa (95 mgSST·L ⁻¹)	□	■	■	■	■	■	■
CH ₄ (4%)	■	■	■	■	■	■	■
H ₂ S (ppm _v)	□	200	300	400	500	750	1000

□ Ausencia ■ Presencia

La velocidad de oxidación de CH₄ se calculó mediante el cambio de la concentración de CH₄ respecto al tiempo. Estos valores representan la capacidad de eliminación de CH₄ del cultivo aclimatado bajo diferentes concentraciones de H₂S.

4.5.1 MÉTODOS ANALÍTICOS

La medición de CH₄ en la atmósfera gaseosa se realizó mediante un cromatógrafo de gases GOW-MAC utilizando una columna empacada de Porapak Q y detector TCD. Las condiciones del cromatógrafo se muestran en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Condiciones del cromatógrafo GOW-MAC

Temperatura del inyector	150°C
Temperatura del detector	100°C
Temperatura de la columna	23°C
Corriente	200 mA
Flujo de hidrógeno (H ₂)	30 ml• min ⁻¹

La concentración de sulfatos (SO₄²⁻) se determinó mediante un método turbidimétrico (APHA/AWWA/WEF, 1998).

4.6 ESTUDIO DEL EFECTO DEL H₂S EN LOS SISTEMAS DE BIOFILTRACIÓN

Para evaluar el efecto que tiene el H₂S sobre la oxidación biológica del CH₄, se utilizaron los 3 biofiltros empacados con diferentes materiales ya descritos previamente. El sistema se operó hasta lograr un estado estacionario en términos de capacidad de eliminación de CH₄.

Para cada biofiltro (composta, esponja de poliuretano y anillos Raschig) el desempeño del sistema puede expresarse en términos de la eficiencia de remoción de gas CH₄.

La matriz de experimentos realizados se muestra en la Tabla 4.6. Para el diseño de experimentos se plantearon 9 corridas con una duración de 7 días para cada una.

Tabla 4.6 Experimentos realizados para la evaluación de la eficiencia del sistema de biofiltración bajo diferentes concentraciones de H₂S.

Biofiltro	Concentración de H ₂ S (ppm _v)
Composta	250
	500
	750
Esponja de poliuretano	250
	500
	750
Anillos Raschig	250
	500
	750

El programa estadístico utilizado para tratar los resultados fue Sigma Plot 12.5 (Systat Software Inc., USA).

Las condiciones de operación para cada etapa se muestran en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7 Condiciones de operación de los biofiltros (alimentación de H₂S).

TRLV (min)	19
Q (l min ⁻¹)	0.062
ML CH ₄ (g m ⁻³ h ⁻¹)	61
ML ¹ H ₂ S (g m ⁻³ h ⁻¹)	≈0.7877
ML ² H ₂ S (g m ⁻³ h ⁻¹)	≈1.7806
ML ³ H ₂ S (g m ⁻³ h ⁻¹)	≈3.4640

¹Corriente de alimentación con ≈250 ppm_v de H₂S; ²Corriente de alimentación con ≈500 ppm_v de H₂S, ³Corriente de alimentación con ≈750 ppm_v de H₂S.

4.6.1 MÉTODOS ANALÍTICOS

Diariamente se colectaron muestras de gases a la salida de los biofiltros mediante bolsas Tedlar de 10L. La composición de las muestras (CH₄, H₂S, CO₂) se determinó mediante un analizador continuo de gases de mezcla multicomponente ULTRAMAT (Siemens).

La medición del pH se realizó mediante un potenciómetro OAKTON.

La determinación de sulfatos se realizó al inicio de la operación del sistema con H₂S y al finalizar la alimentación con cada una de las concentraciones de H₂S establecidas anteriormente (Tabla 4.7). La determinación se realizó en los lixiviados generados por la composta y en el medio líquido recirculado en los biofiltros con empaques inorgánicos mediante un método turbidimétrico (APHA/AWWA/WEF, 1998).

4.7 ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS

Se colectaron muestras (Tabla 4.8) de cada uno de los biofiltros para llevar a cabo el análisis de las comunidades microbianas presentes al finalizar cada una de las etapas de operación.

Tabla 4.8 Muestras para el análisis de las comunidades microbianas.

Muestra	Operación sin H ₂ S	Operación con H ₂ S
I: Inóculo	✓	
C: Composta inicial	✓	
BC: Biofiltro de composta	✓	✓
BE: Biofiltro de esponja de poliuretano	✓	✓
BA: Biofiltro de anillos rasching	✓	✓

Las primeras muestras de BC, BE y BA se tomaron 5 meses después del arranque de los biofiltros operados sin H₂S. La toma de muestras durante la operación con H₂S se realizó un mes después de alimentar éste compuesto al sistema (BC_{H₂S}, BE_{H₂S} y BA_{H₂S}). Las muestras se preservaron a -20°C hasta su análisis.

4.7.1 EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Para la extracción del DNA se utilizó el kit de extracción Power Soil DNA Isolation Kit (Método mecánico de lisis celular). Para las muestras de empaques inorgánicos se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Se tomó un segmento del material de empaque y se colocó en un tubo Eppendorf de 2mL con PBS 1X y se realizaron un lavado como se indica a continuación.
2. Muestra + PBS 1X (1.5 mL) → Vortex 60s, centrifugación 10000 x g por 1 min. Se decantó el sobrenadante.

La muestra se resuspendió en 200µl de PBS 1X; posteriormente se siguió el procedimiento establecido por el fabricante.

4.7.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE DNA EN LAS MUESTRAS

Después de cada extracción, se procedió a leer las muestras en Nanodrop para determinar los nanogramos/L y pureza del DNA.

4.7.3 AMPLIFICACIÓN DE FRAGMENTOS DEL GEN CODIFICANTE

Posterior a la extracción, se procedió a llevar a cabo reacciones de PCR para amplificar los fragmentos de DNA deseados de la muestra. Para el gen codificante del ARN ribosómico 16S se utilizaron los cebadores universales para bacteria 341f (CCTACGGGGGCAGCAG) y 907r (CCGTCAATTCMTTGGAGTTT).

Para efectuar la reacción de amplificación, se utilizó un volumen de reacción de 50µl; la concentración de los reactivos se muestra en la Tabla 4.9 (Gómez Borraz, 2012).

Tabla 4.9 Reactivos para reacción de amplificación (Tomada de: Gómez Borraz, 2012).

Reactivo	Concentración
PCR Buffer Gold	1 X
MgCl ₂	2 mM
Seroalbúmina bovina	12.5 µg
Mezcla de desoxinucleótidos trifosfato	20 nM
Dimetilsulfóxido grado biología molecular	2.5 µM
Cebador directo	0.1 µM
Cebador inverso	0.1 µM
Ampli Taq Gold polimerasa	2 U
DNA molde	30 ng
Agua bidestilada	Cbp

Las condiciones de reacción para el par de cebadores fueron propuestas por Bodelier *et al.*, (2005) y son las que se mencionan a continuación (programa de PCR en un termociclador Master Cycler de Eppendorf).

BAC 341f-907r

1. Desnaturalización inicial: 94°C, 5 min.

2. 10 ciclos que constan de:
 - Desnaturalización: 94°C, 1 min.
 - Hibridación: 65°C, 1 min.

Nota: Esta temperatura de disminuyó 1°C cada ciclo hasta alcanzar 45°C, temperatura a la cual se efectuaron 15 ciclos adicionales.

- Extensión 72°C, 2 min
3. Extensión final: 72°C, 7 min.

Con el fin de comprobar que los fragmentos amplificados fueron los deseados se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% durante 40 min a 85 V, colocando las muestras amplificadas junto a un marcador de peso molecular con un rango de 100 a 5000 pb (Gene Ruler Express DNA Ladder, Fermentas).

4.7.4 SEPARACIÓN DE LOS FRAGMENTOS POR ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA CON GRADIENTE DESNATURALIZANTE (DGGE)

Para llevar a cabo la separación de secuencias presentes en las muestras, se procedió a correr las mismas en geles de poliacrilamida (6%) mediante una electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (Urea-Formamida) cuya composición se muestra en la Tabla 4.10, con un sistema D-Code de BioRad.

Tabla 4.10 Composición de una solución al 100% de agentes desnaturalizantes (Volumen final de 100 mL) (Tomada de: (Gómez Borraz, 2012)).

Reactivo	Cantidad final
Urea	40 g
Formamida	40 mL
Buffer tris-acetato-EDTA pH 8.0	2 mL
Acrilamida bis-acrilamida 37:5:1	15 mL para gel al 6%

Se prepararon geles de 16x16 cm con un volumen aproximado de 30 mL.

Se tomaron alícuotas de 15 mL de amplificado y se les adicionó 8 mL de buffer de carga 2X. El gradiente desnaturante utilizado fue de 40-60%. Las condiciones para la electroforesis fueron 82 V y 15.5 h.

Los geles se revelaron en una solución de SYBR Gold al 1% (en TAE 1X) durante 40 min. Luego se visualizaron en un fotodocumentador de la marca BioRad con luz UV y se les tomó fotografías con el software Quantity One.

4.7.4.1 ANÁLISIS DEL PERFIL DE BANDAS EN GELES DE POLIACRILAMIDA

Para la evaluación de la comunidad microbiana se identificaron y seleccionaron las bandas de cada una de las muestras. Una vez identificadas las bandas se procedió a calcular el coeficiente de similitud de Sorensen-Dice (S_D) para poder comparar las comunidades con atributos similares (Gómez Borraz, 2012; Marzorati *et al.*, 2008).

$$S_D = \frac{2n_{AB}}{n_A + n_B} \quad (11)$$

Donde:

n_A : Número de bandas en el carril A

n_B : Número de bandas en el carril B

n_{AB} : Número de bandas en ambos carriles

También se calculó el rango ponderado de riqueza Rr (*Range weighted richness*) que brinda una estimación del nivel de diversidad microbiana en muestras ambientales (Marzorati *et al.*, 2008), utilizando la ecuación 12.

$$Rr = N^2 * Dg \quad (12)$$

Donde:

N: Número de bandas

Dg: Gradiente desnaturante desde la primera hasta la última banda

4.8 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Este análisis sólo se llevó a cabo al final del tratamiento con H₂S. Para esto, se tomaron muestras del material de empaque de los diferentes biofiltros, las cuales se cortaron en fragmentos de aproximadamente 5 mm de esponja de poliuretano y anillos Raschig. Por otro lado, la composta se colocó en un papel filtro de (8 µm) y posteriormente se cortó un fragmento de 5 mm. Los fragmentos obtenidos se colocaron en solución de glutaraldehído al 1% durante 2 horas. Después se retiraron y se enjuagaron con regulador PBS 1X. Posteriormente se realizó la deshidratación con etanol (50, 60, 70, 80 y 100 %). Por último se llevó a cabo un secado a punto crítico y se conservaron las muestras en un desecador hasta su observación y análisis en un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-7600F).

5. RESULTADOS

5.1 ACLIMATACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS METANÓTROFOS

El inóculo, presentó un crecimiento celular, medido indirectamente como absorbancia, como se muestra en la Figura 5.1.

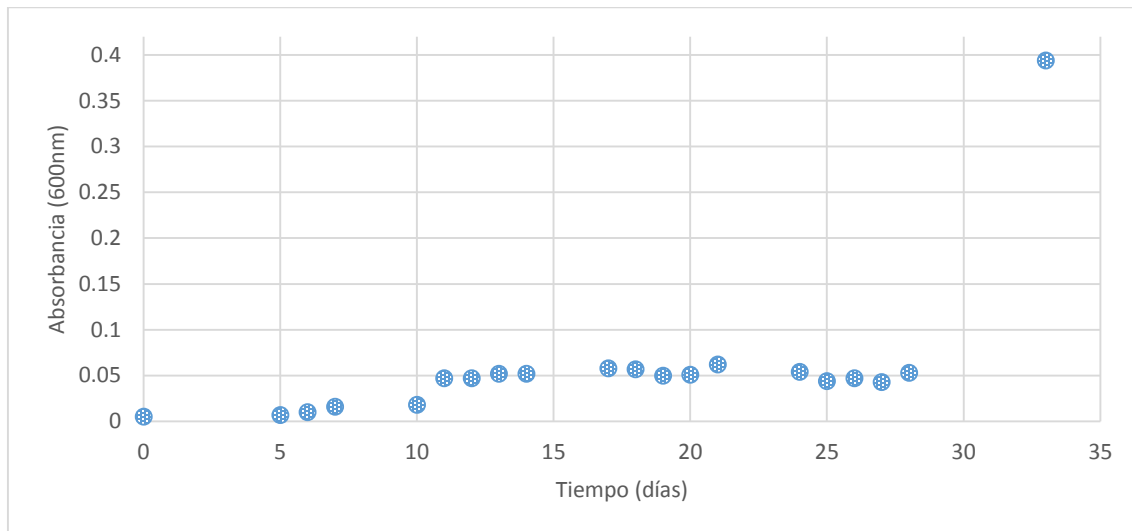


Figura 5. 1 Cinética de crecimiento de los microorganismos metanótrofos presentes en el inóculo.

La cantidad de biomasa a los 28 días fue de $170 \text{ mgSST}\cdot\text{L}^{-1}$ y corresponde a un valor de absorbancia de 0.051.

Con la finalidad de aumentar el crecimiento celular y la actividad microbiana, se suspendió la alimentación de metano al 2% en aire y se cambió a metanol ($8 \text{ mLCH}_3\text{OH}\cdot\text{L}^{-1}\text{medio}$) como única fuente de carbono y energía. Esta modificación se basa en que se ha observado que el consumo de metano es mayor cuando las células se incuban con metanol en una atmósfera de metano (Benstead *et al.*, 1998). Además, al estar el CH_3OH en estado líquido, la cantidad de biomasa en el medio de cultivo aumentó considerablemente durante los siguientes 7 días, obteniéndose un valor de absorbancia de 0.394, equivalente a $290 \text{ mgSST}\cdot\text{L}^{-1}$. Los biofiltros fueron inoculados con este inóculo aclimatado.

5.2 EFECTO DEL H₂S SOBRE EL CONSORCIO METANÓTROFO EN SUSPENSIÓN A NIVEL MICROCOSMOS.

Esta prueba se realizó con la biomasa aclimatada en suspensión para probar el efecto de diferentes concentraciones de H₂S sobre el cultivo metanótrofo. La tasa de degradación de CH₄ (gCH₄•gSST⁻¹•h⁻¹) y producción de CO₂ (gCO₂•L⁻¹•h⁻¹), así como la tasa de crecimiento μ (h⁻¹) se estimaron a 25°C y 8 rpm durante 6 días.

5.2.1 CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DEL CULTIVO USANDO CONCENTRACIONES DE H₂S DE 0 A 300 PPM_v

Para la primera cinética las botellas se inocularon con 130 mgSST•L⁻¹ de biomasa y se probaron concentraciones de H₂S de 0 a 300 ppm_v.

5.2.1.1 DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

Durante el experimento se pudo observar que la velocidad de crecimiento del cultivo disminuyó a mayores concentraciones de H₂S (Tabla 5.1). Este efecto puede explicarse dado que este compuesto es un inhibidor del crecimiento celular debido a que reacciona y precipita micronutrientes metálicos, en particular con el hierro, contenido en los citocromos (Espinoza *et al.*, 2010).

Tabla 5.1 Tasas específicas de crecimiento del cultivo metanótrofo.

Concentración de H ₂ S (ppm _v)	μ (h ⁻¹)
0	3.6x10 ⁻³
50	2.5x10 ⁻³
75	2 x10 ⁻³
100	0
200	0
300	0

Para la prueba realizada sin H₂S la tasa específica de crecimiento encontrada es muy similar a la reportada en la literatura, con valores entre 1x10⁻³-1.2x10⁻² para distintos tipos de microorganismos metanótrofos a 25°C (Kevbrina *et al.*, 2001). Sin embargo, es importante mencionar que el cultivo con el que se realizaron

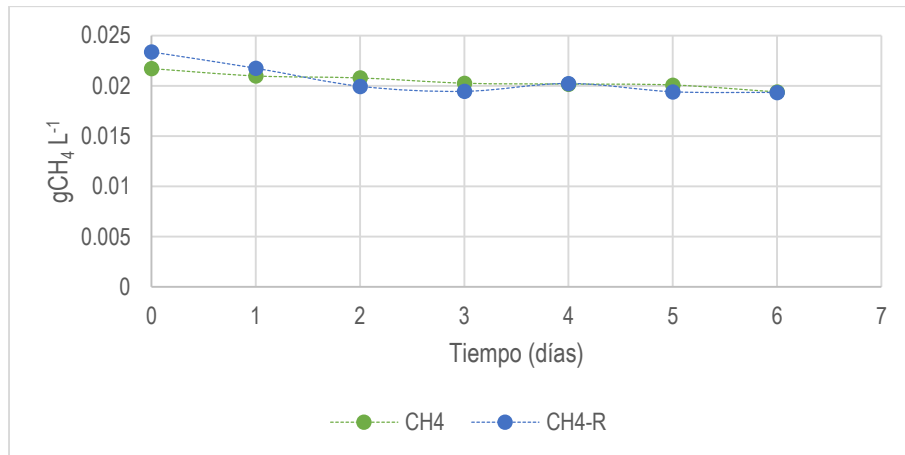
las pruebas no se trata de un cultivo puro. Es notorio como el crecimiento se inhibió a partir de la concentración de 100 ppm_v.

5.2.1.2 VELOCIDAD DE DEGRADACIÓN DE CH₄ Y PRODUCCIÓN DE CO₂

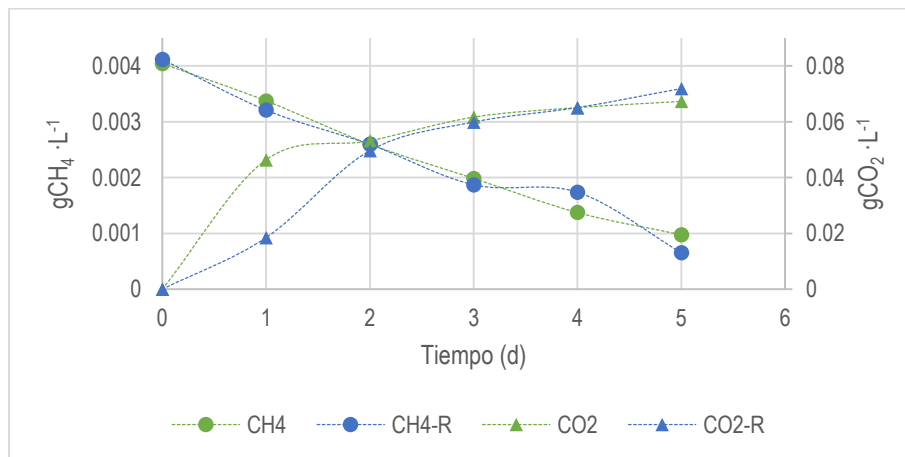
Para la evaluación de la degradación de CH₄ y producción de CO₂ bajo diferentes concentraciones de H₂S, se monitoreo la concentración de CH₄ y CO₂ en la fase gas (Figura 5.2), donde R se refiere al duplicado de los experimentos,; se puede observar que la producción de CO₂ incrementa como resultado de la degradación de CH₄ ($\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$).

Concentración
de H₂S (ppm_v)

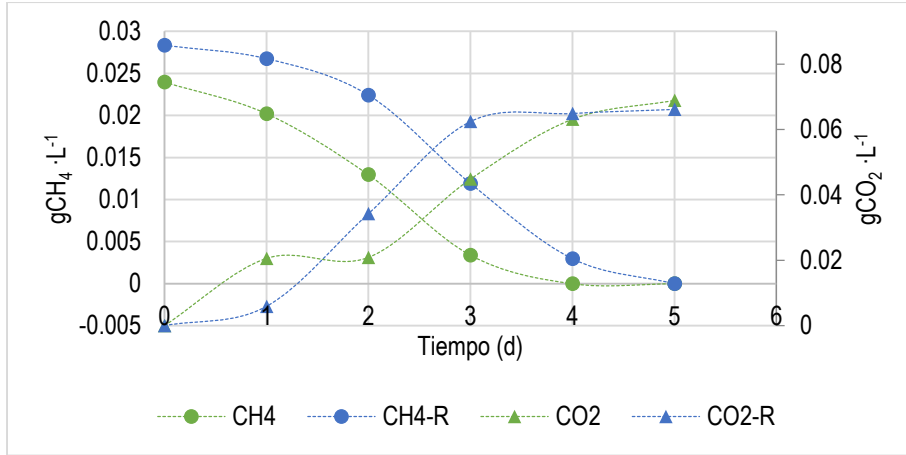
Control



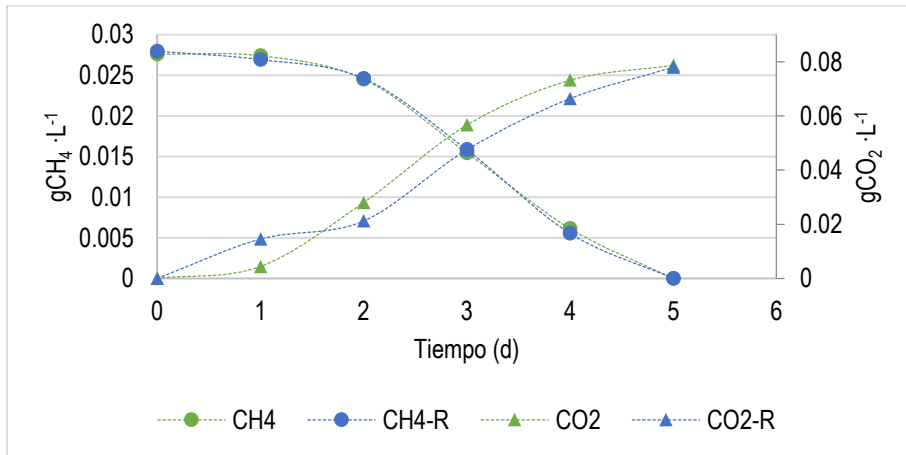
0



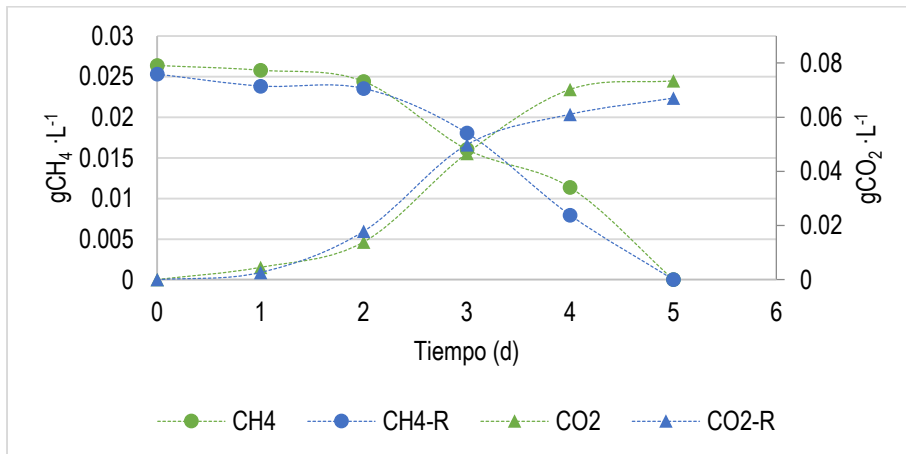
50



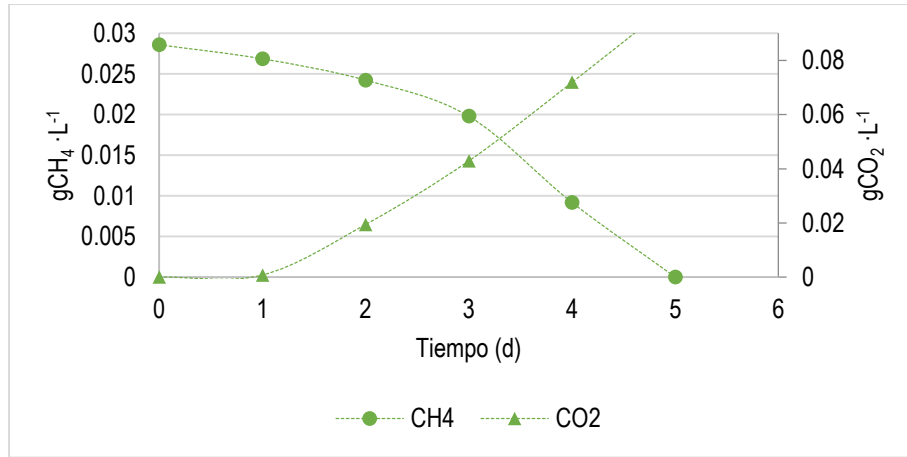
75



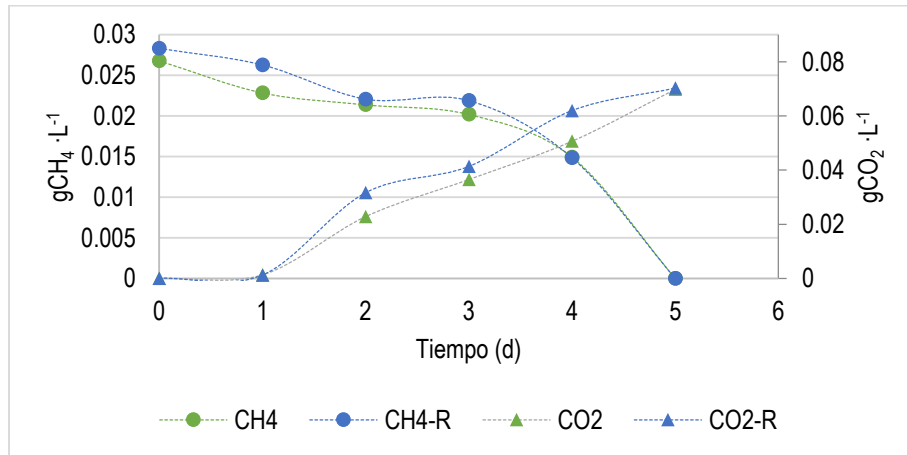
100



150



200



300

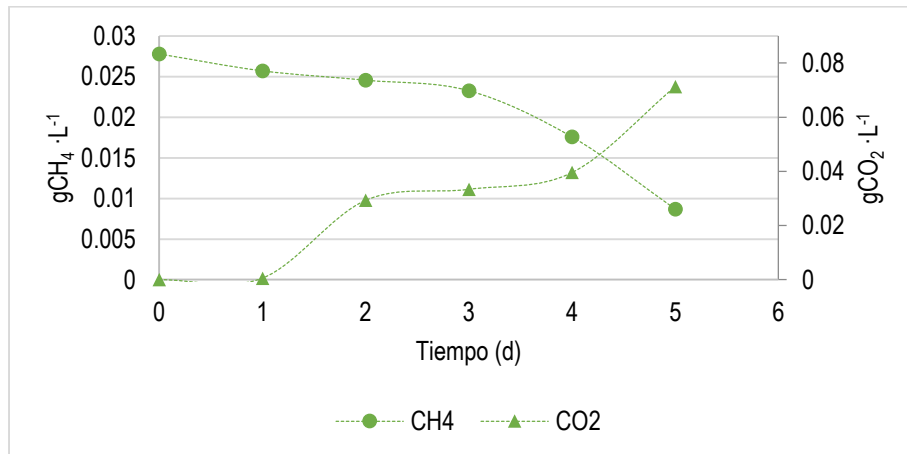


Figura 5. 2 Efecto del H₂S sobre velocidad de oxidación de CH₄ y la producción de CO₂, donde R se refiere al duplicado de los experimentos.

Para determinar las velocidades de degradación de CH₄ y producción de CO₂ los datos obtenidos se ajustaron a un modelo matemático logístico.

$$MC_{CH_4} = \frac{a}{1 + e^{(b-c)t}} \quad (13)$$

Las velocidades volumétricas y específicas de degradación de CH₄ y la velocidad volumétrica de producción de CO₂ bajo las diferentes concentraciones de H₂S (Tabla 5.2), se obtuvieron al derivar los resultados del ajuste de los datos experimentales al modelo logístico, tomando los valores al tercer día de la cinética, debido a que en este tiempo se encontraron las velocidades máximas de degradación. Esto puede explicarse ya que al inicio de la cinética, como en todo proceso en lote o “batch” el gradiente de concentración de CH₄ fue mayor, ya que al paso del tiempo como consecuencia del consumo de CH₄ la concentración de éste en la fase gas disminuyó.

Tabla 5.2 Efecto del H₂S sobre la velocidad de degradación de CH₄

Concentración de H ₂ S (ppm _v)	Velocidad volumétrica de degradación de CH ₄ x10 ⁻⁴ (gCH ₄ •L ⁻¹ •h ⁻¹)	Velocidad específica de degradación de CH ₄ (gCH ₄ •gSST ⁻¹ •h ⁻¹)	Velocidad volumétrica de producción de CO ₂ x10 ⁻³ (gCO ₂ •L ⁻¹ •h ⁻¹)
0	5.2±1	7.6x10 ⁻² ±1.6x10 ⁻²	2.28±5.1
50	3.8±1.3	6.12x10 ⁻² ±2.1x10 ⁻²	2.09±6.5
75	4.91±1.5	7.75x10 ⁻² ±2.4x10 ⁻³	2.06±3
100	3.43±0.44	5.42x10 ⁻² ±6.9x10 ⁻³	1.75±0.604
150	3.03	4.78x10 ⁻²	1.69 ³ ±0.11
200	1.64±0.26	2.59x10 ⁻² ±4.1x10 ⁻³	1.29±0.25
300	1.43	2.25x10 ⁻²	1.01

Las velocidades específicas de eliminación de metano fueron similares a las reportados por Rocha-Rios *et al.*, (2009) y Zúñiga, (2010) entre 7x10⁻³-1.4x10⁻² y 6.7x10⁻³-9.16x10⁻² gCH₄•g_{biomasa}⁻¹•h⁻¹ respectivamente. En las Figuras 5.3 y 5.4 se puede observar como las tasas de degradación de CH₄ y producción de CO₂ disminuyen a mayores concentraciones de H₂S. Se tuvieron rendimientos de CO₂ entre 0.719 y 1 molCO₂•molCH₄⁻¹.

A partir de 200 ppm_v la disminución en la velocidad de degradación de CH₄ es más notoria. En diferentes estudios se ha reportado que el H₂S a partir de 500 ppm_v presenta un efecto negativo sobre la degradación de CH₄ (Lee, 2011; Long *et al.*, 2013; Cáceres *et al.*, 2014).

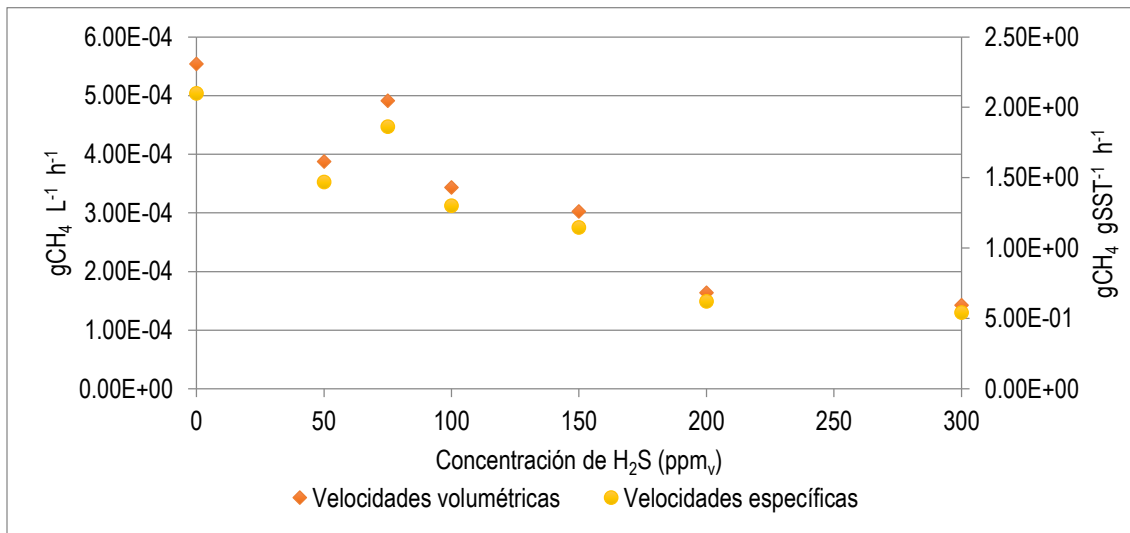


Figura 5.3 Efecto de la concentración de H₂S sobre velocidad volumétrica y específica de eliminación de CH₄.

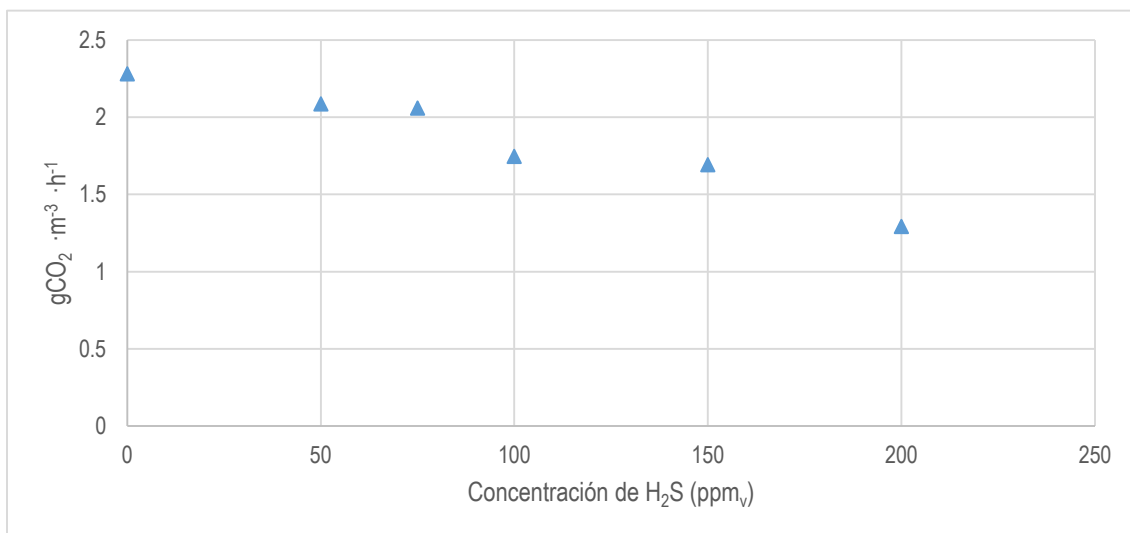


Figura 5.4 Efecto de la concentración de H₂S sobre velocidad volumétrica de producción de CO₂.

5.2.1.3 ACUMULACIÓN DE SULFATOS (SO₄²⁻)

La producción de sulfatos (SO₄²⁻) indicó la transformación del sulfuro. Como se observa en la Figura 5.5, como esperado, la concentración de sulfatos fue mayor en las botellas con altas concentraciones de H₂S.

Por otro lado González-Sánchez, (2006) reporta que existe una reacción química espontánea del sulfuro con el oxígeno disuelto, lo que provoca una disminución de la inhibición del proceso biológico por las altas concentraciones de sulfuro; por lo tanto en los sistemas con bajas concentraciones de H₂S (0-150 ppm_v) esta reacción pudo contribuir a que la inhibición por este gas fuera menor.

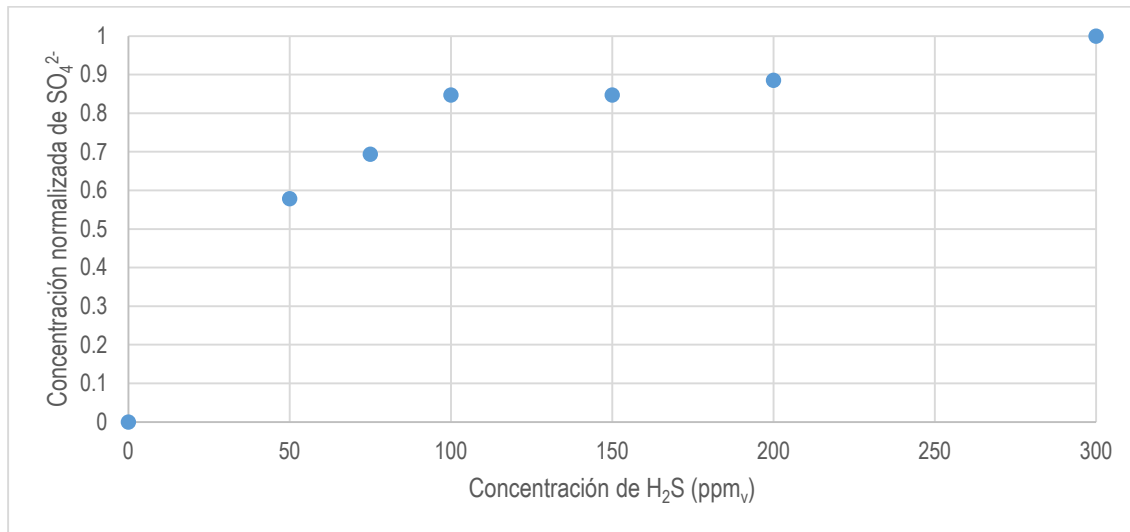


Figura 5. 5 Producción de sulfatos en pruebas de microcosmos

5.2.2 CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DEL CULTIVO USANDO CONCENTRACIONES DE H₂S DE 200 A 1000 PPM_v

Al observar una mayor influencia del H₂S sobre la velocidad de degradación de CH₄ a altas concentraciones (200-300 ppm_v), se procedió a realizar otra cinética probando concentraciones de H₂S de 200 a 1000 ppm_v.

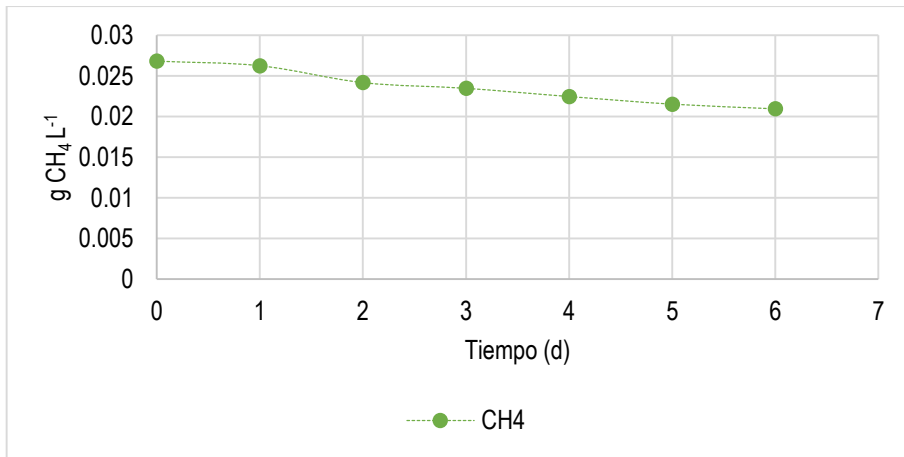
La concentración inicial de biomasa para estas pruebas fue de 95 mg SST L⁻¹, bajo estas condiciones no se observó crecimiento celular.

5.2.2.1 VELOCIDAD DE DEGRADACIÓN DE CH₄ Y PRODUCCIÓN DE CO₂

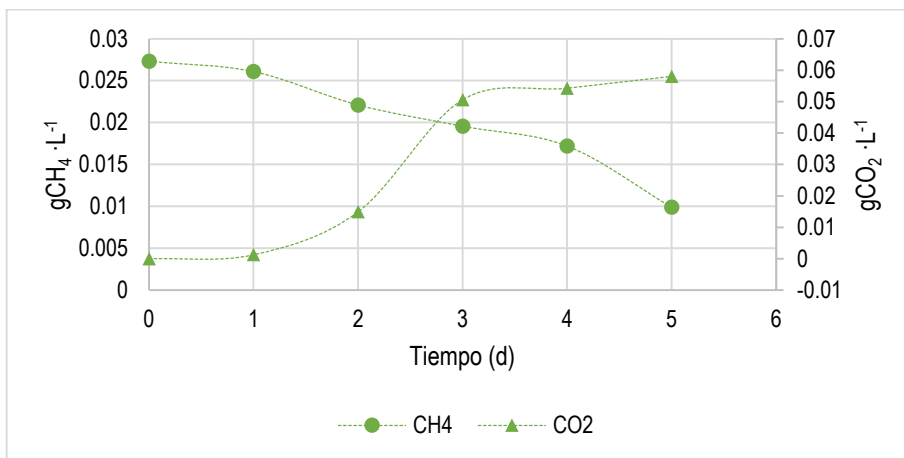
Se procedió a monitorear la concentración de CH₄ y CO₂ para estimar las velocidades de oxidación de CH₄ y producción de CO₂ (Figura 5.6).

Concentración
de H₂S (ppm_v)

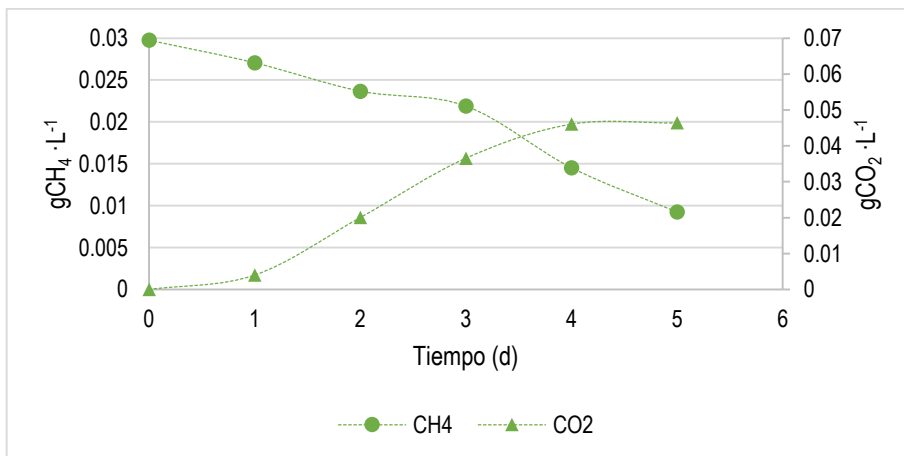
Control



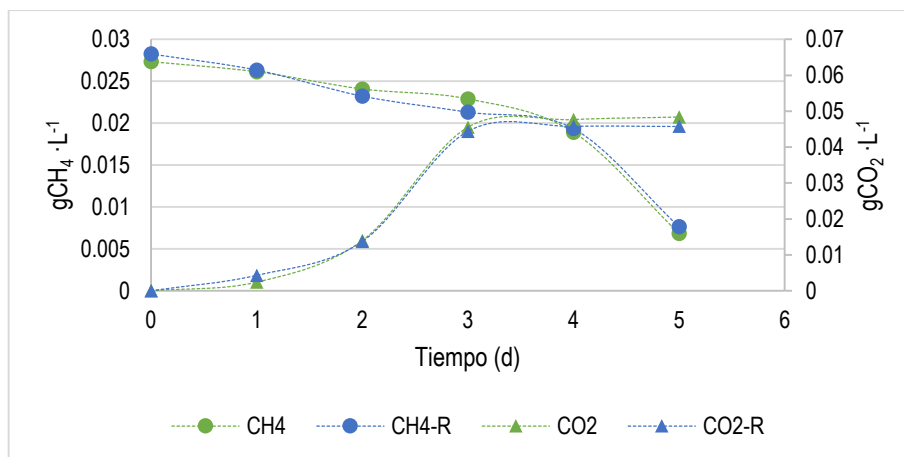
200



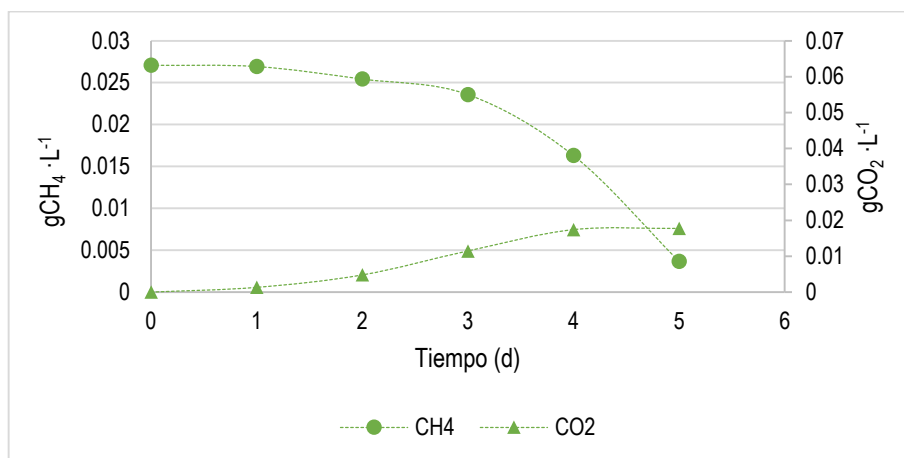
300



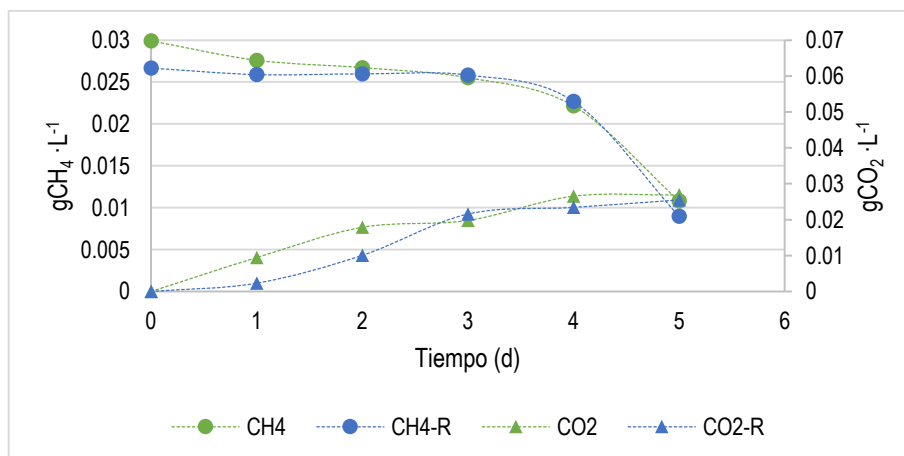
400



500



750



1000

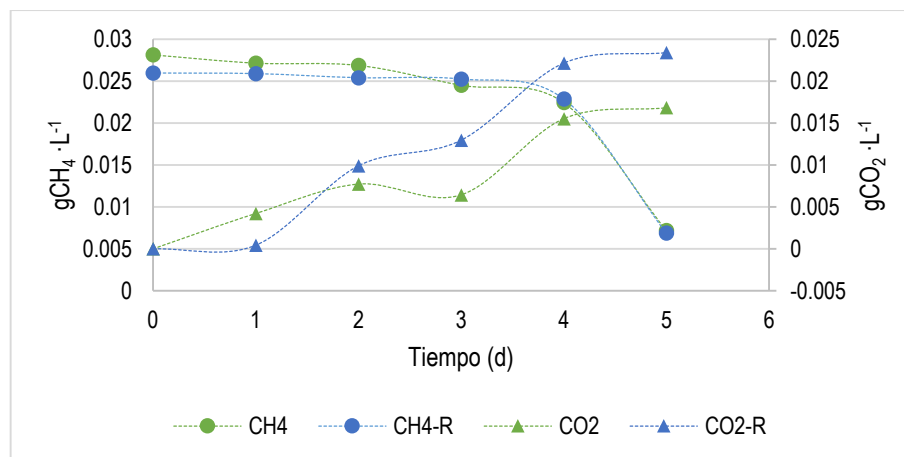


Figura 5. 6 Efecto de altas concentraciones de H₂S sobre velocidad de oxidación de CH₄, donde R se refiere al duplicado de los experimentos.

A partir de estos resultados se obtuvieron las velocidades volumétricas y específicas de degradación de CH₄ y producción de CO₂ (Tabla 5.3).

Tabla 5.3 Efecto del H₂S sobre la velocidad de degradación de CH₄

Concentración de H ₂ S (ppm _v)	Velocidad volumétrica de degradación de CH ₄ x10 ⁻⁴ (gCH ₄ L ⁻¹ h ⁻¹)	Velocidad específica de degradación de CH ₄ (gCH ₄ g SST ⁻¹ h ⁻¹)	Velocidad volumétrica de producción de CO ₂ (gCO ₂ L ⁻¹ h ⁻¹)
200	2.1	3.33x10 ⁻²	2.01x10 ⁻³
300	1.1	1.78x10 ⁻²	1.53x10 ⁻³
400	1.014±0.2.8	1.59x10 ⁻² ±4.5 x10 ⁻³	1.85x10 ⁻³ ±4.6 x10 ⁻⁵
500	0.6344	1.00x10 ⁻²	8.3x10 ⁻⁴
750	0.7931±0.28	1.2x10 ⁻² ±4.5 x10 ⁻³	8.54x10 ⁻⁴ ±2.4 x10 ⁻⁵
1000	0.7086±0.35	1.1x10 ⁻² ±5.5 x10 ⁻³	4.58x10 ⁻⁴ ±1.8 x10 ⁻⁴

Las velocidades volumétricas y específicas de degradación de CH₄ así como la velocidad volumétrica de producción de CO₂ fueron menores a las observadas en la cinética anterior. Por otro lado el rendimiento de CO₂ fue de 0.3374 hasta 0.7366, también menores a la cinética anterior, lo que indica una disminución en la producción de CO₂ como consecuencia de una menor degradación de CH₄. En las figuras 5.7 y 5.8 se muestra que la tasa de degradación disminuye considerablemente a partir de 300 ppm_v y 500 ppm_v.

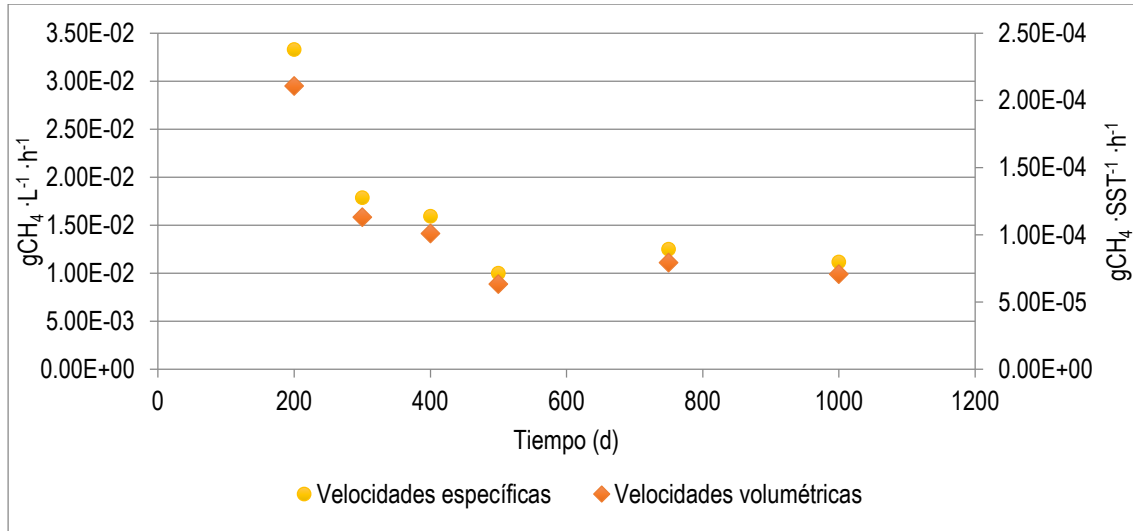


Figura 5. 7 Efecto de altas concentraciones de H₂S sobre velocidad volumétrica y específica de eliminación de CH₄.

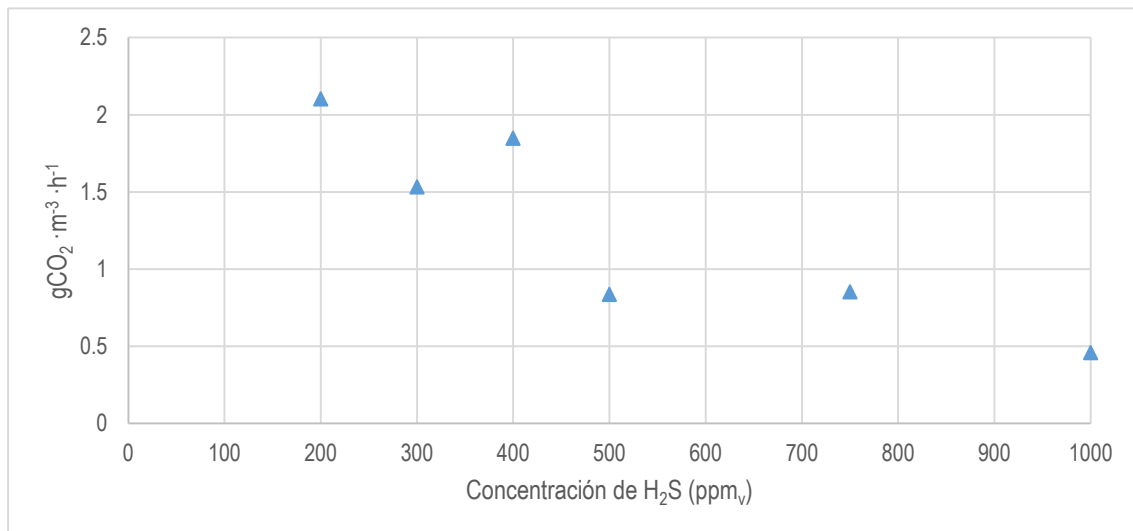


Figura 5. 8 Efecto de altas concentraciones de H₂S sobre velocidad volumétrica de producción de CO₂.

5.2.2.2 ACUMULACIÓN DE SULFATOS (SO₄²⁻)

Por otro lado la producción de SO₄²⁻ aumentó conforme la concentración inicial de H₂S fue mayor (Figura 5.9).

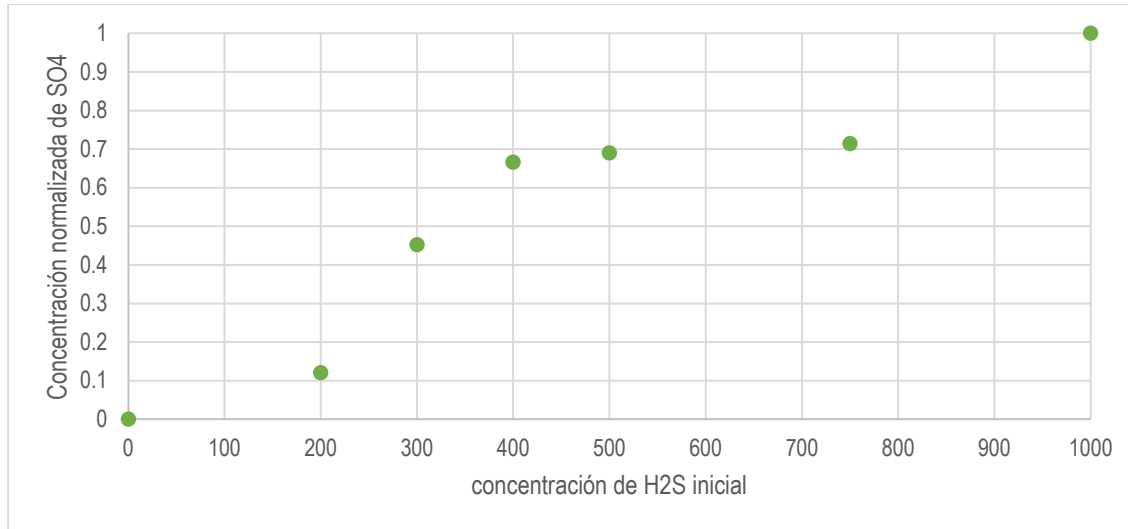


Figura 5. 9 Producción de sulfatos en pruebas de microcosmos con altas concentraciones de H₂S.

Es importante mencionar que las velocidades encontradas en los microcosmos a concentraciones de H₂S de 200 y 300 ppm_v fueron distintas en las dos cinéticas realizadas. Lo cual se podría explicar dado que la concentración inicial de biomasa fue diferente para ambos experimentos.

Se realizó una estimación teórica de la transferencia máxima de CH₄ (Q_s) con la finalidad de explicar si la transferencia de masa fue la limitante en el experimento mediante la siguiente ecuación:

$$Q_s = k_L a (C_L^* - C_L) \quad (14)$$

Se consideró un coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_{La}) de 12.5 h⁻¹ (Klöckner y Büchs, 2012) el cual está estimado con base en el tamaño y agitación del frasco (450 mm de diámetro y 120 rpm) y C_L^{*} como la concentración inicial de CH₄, C_L fue cero para estimar la tasa máxima de transferencia. El valor calculado fue de 0.2712 gCH₄•L⁻¹•h⁻¹ esto indica que la limitación en los experimentos está dada por la velocidad de reacción (actividad microbiana).

El valor calculado fue 26 gCH₄•L⁻¹•d⁻¹. Esto indica que la limitación en los experimentos está dada por la velocidad de reacción (actividad microbiana).

Debido a que a las concentraciones de H₂S de 300, 500 y 750 de las pruebas en lote, la velocidad de degradación de CH₄ disminuyó considerablemente, se decidió probar el efecto de éstas en los sistemas de

biofiltración en continuo. De esta forma, las concentraciones de H₂S a evaluar se fijaron en 250, 500 y 750 ppm_v.

5.3 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LOS BIOFILTROS

5.3.1 PRIMERA ETAPA DE OPERACIÓN (OPERACIÓN DEL SISTEMA SOLO CON CH₄ DILUIDO)

5.3.1.1 OPERACIÓN INTERMITENTE

En el arranque de la operación del sistema, los biofiltros se alimentaron de forma intermitente durante 20 días con una corriente al 2% y 4% de CH₄ en aire durante 12 horas; transcurrido este tiempo la alimentación se suspendió hasta el día siguiente. Las condiciones de operación se muestran en la Tabla 5.4.

Tabla 5. 4 Condiciones de operación de los biofiltros (etapa de arranque).

TRLV (min)	19
Q (l•min ⁻¹)	0.062
ML ¹ (g•m ⁻³ •h ⁻¹)	31
ML ² (g•m ⁻³ •h ⁻¹)	63
VS (m•h ⁻¹)	1.836

¹Corriente de alimentación con 2% de CH₄ en aire; ²Corriente de alimentación con 4% de CH₄ en aire.

En las Figuras 5.10, 5.11 y 5.12 se muestra el comportamiento de cada uno de los biofiltros durante la primera etapa de operación; se puede observar que al aumentar la carga másica de entrada (ML) la capacidad de eliminación (CE) también incrementa en todos los casos.

Durante los primeros 15 días de operación se observaron eficiencias de remoción (ER) de CH₄ entre 80-90% en el biofiltro de composta, que corresponden a CE entre 25-28 g•m⁻³•h⁻¹. Posteriormente la ML se aumentó a 63 g•m⁻³•h⁻¹ obteniendo ER entre 80-100% correspondientes a CE entre 50-63 g•m⁻³•h⁻¹.

Para los biofiltros empacados con esponja de poliuretano y anillos Raschig se obtuvieron ER entre 70-80% y 60-67% respectivamente las cuales corresponden a capacidades de eliminación entre 22-25 g•m⁻³•h⁻¹ y 18-21 g•m⁻³•h⁻¹, durante los primeros 15 días de operación; al incrementar la ML se observaron ER entre 80-100% y 80-90% que corresponden a 50-63 g•m⁻³•h⁻¹ y 50-57 g•m⁻³•h⁻¹ para el biofiltro empacado con esponja de poliuretano y anillos Raschig respectivamente.

Durante esta etapa de operación, los tres biofiltros mostraron un alto desempeño en términos de eficiencia de remoción de CH₄, en parte probablemente debido a que la operación intermitente permitió que durante las 12 horas sin alimentación, el metano residual (adsorbido) fuera consumido por la biomasa, y al alimentar el sistema las siguientes 12 horas, el gradiente de concentración (gas-líquido-biopelícula, gas-biopelícula) entre las fases fuera el máximo. De la misma manera, el aumento en la ML favoreció a que el gradiente de concentración fuera el mayor entre las fases, lo que mejora la transferencia de masa en el sistema (Kraakman *et al.*, 2011b; López *et al.*, 2014) y por lo tanto la disponibilidad para ser utilizado por los microorganismos. Esto se ve reflejado en capacidades de eliminación más altas.

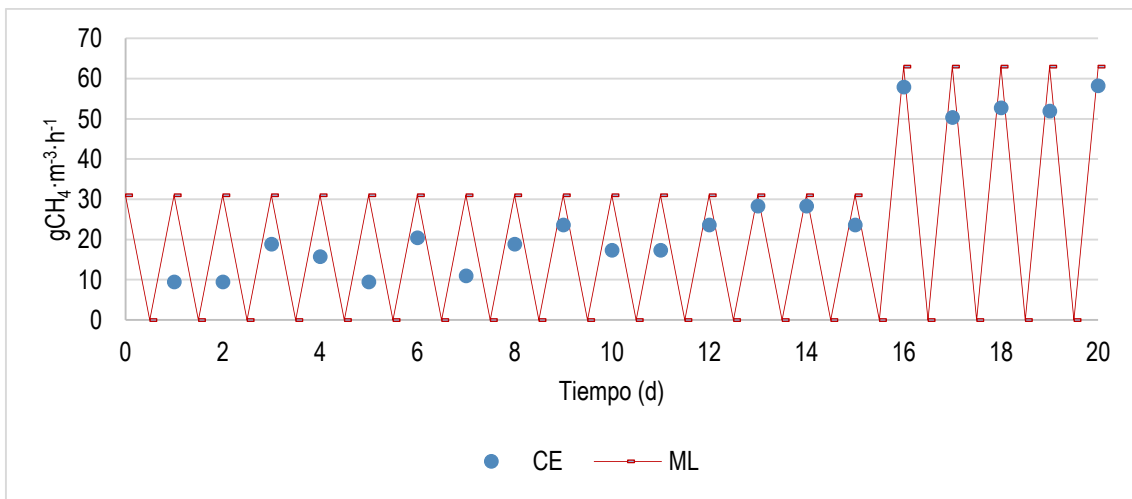


Figura 5. 10 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado de composta durante la etapa de operación intermitente.

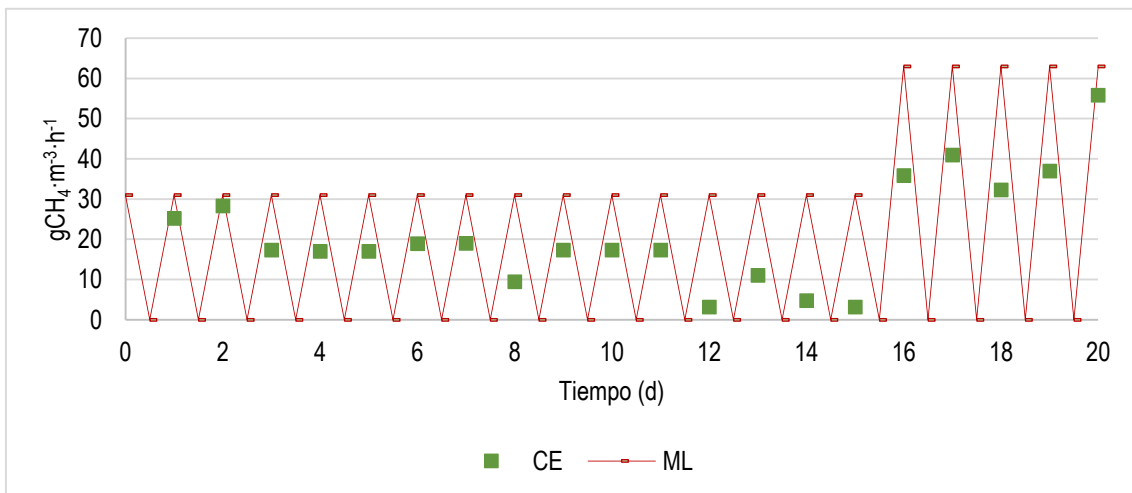


Figura 5. 11 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con esponja de poliuretano durante la etapa de operación intermitente.

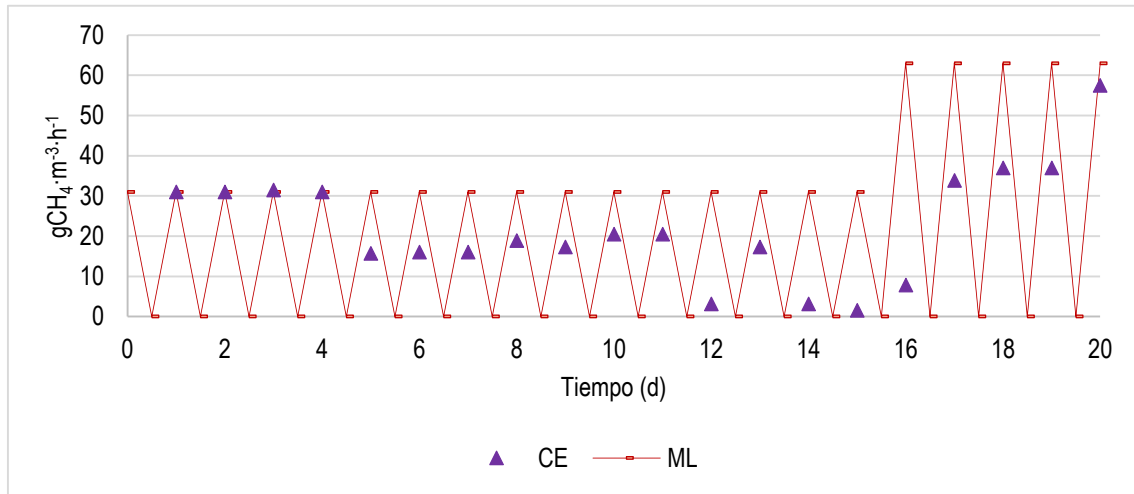


Figura 5. 12 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con anillos Raschig durante la etapa de operación intermitente.

5.3.1.2 OPERACIÓN EN CONTINUO

Posteriormente, la alimentación a los biofiltros se llevó a cabo de forma continua (Figuras 5.13, 5.14 y 5.15). El sistema fue alimentado inicialmente con CH₄ al 2% en aire, y con la finalidad de mejorar la transferencia de masa en el sistema esta concentración se incrementó hasta 4% de CH₄ en la corriente de alimentación. Las condiciones de operación se muestran en la Tabla 5.5.

Tabla 5. 5 Condiciones de operación de los biofiltros (alimentación en continuo).

TRLV (min)	19
Q (l·min ⁻¹)	0.062
ML ¹ (g·m ⁻³ ·h ⁻¹)	35
ML ² (g·m ⁻³ ·h ⁻¹)	46
ML ³ (g·m ⁻³ ·h ⁻¹)	61
VS (m·h ⁻¹)	1.836

¹Corriente de alimentación con 2.3% de CH₄ en aire; ²Corriente de alimentación con 3% de CH₄ en aire; ³Corriente de alimentación con 4% de CH₄ en aire.

Al inicio de esta etapa de operación se observó que las eficiencias de eliminación disminuyeron en todos los biofiltros. Posteriormente se alcanzó un estado estacionario en donde las capacidades de eliminación fueron mayores para los empaques de composta y esponja de poliuretano. El biofiltro empacado con anillos Raschig no mostró diferencias.

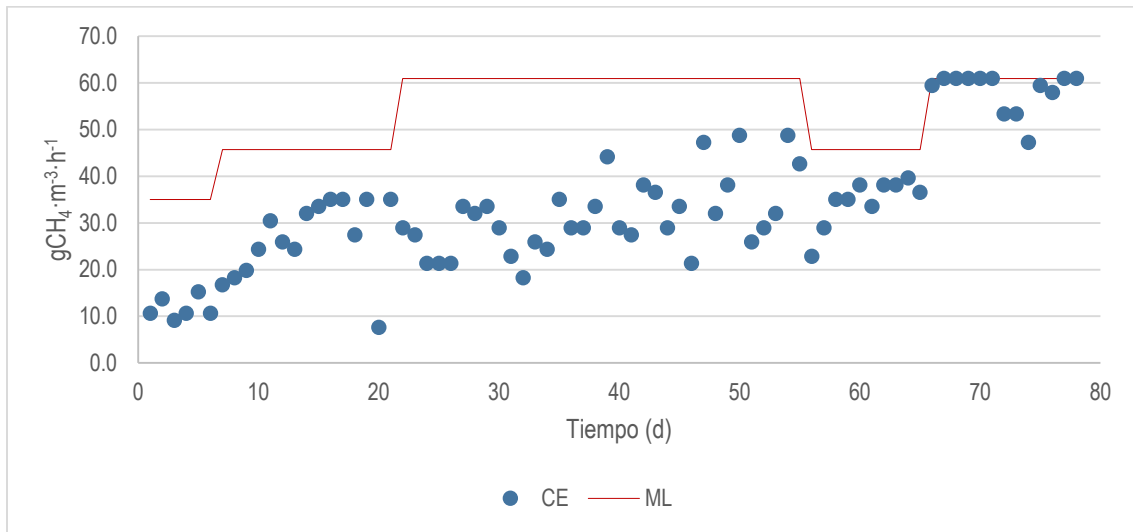


Figura 5. 13 Capacidad de eliminación del biofiltro de composta (alimentación en continuo).

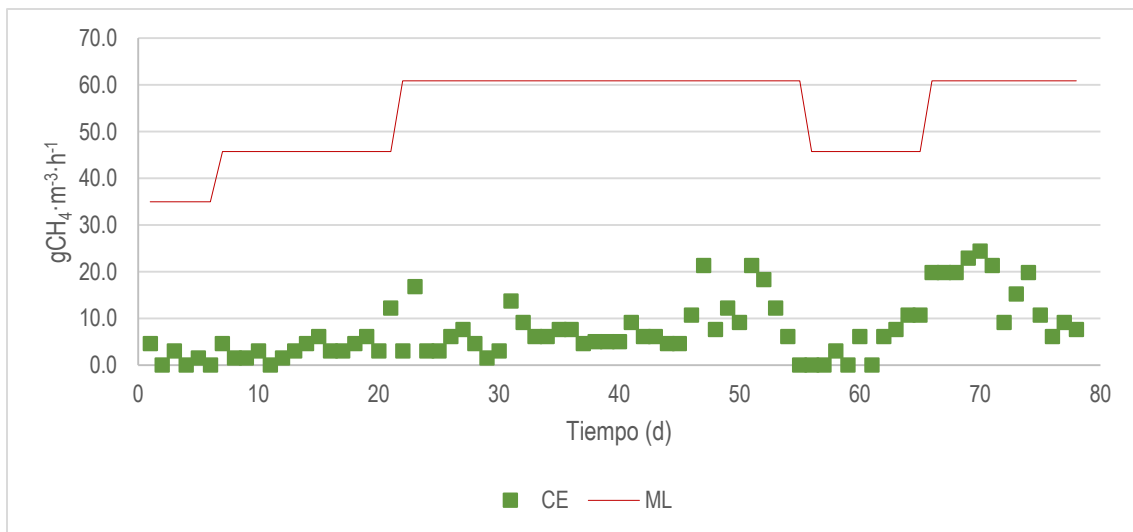


Figura 5. 14 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con esponja de poliuretano (alimentación en continuo).

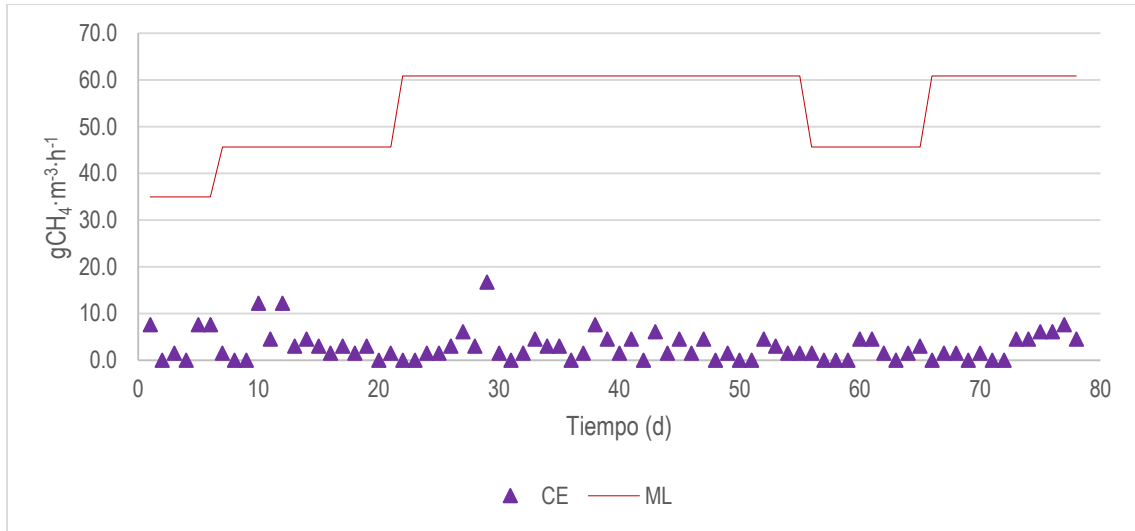


Figura 5. 15 Capacidad de eliminación del biofiltro empacado con anillos Raschig (alimentación en continuo).

Durante la etapa de operación en continuo, se observó una disminución en la temperatura ambiente respecto a la etapa de operación intermitente (Figura 5.16), lo que pudo ocasionar que la actividad microbiana disminuyera. Hanson y Hanson (1996) reportan que las tasas de oxidación de CH_4 a bajas temperaturas (0-5°C) pueden disminuir hasta un 38% respecto a los valores encontrados a 25°C. Por otro lado en el estudio realizado por Lisovitskaya *et al.* (2014) la biofiltración de CH_4 se lleva a cabo de forma eficiente (99.7%) cuando la temperatura se encuentra entre 17 y 23°C mientras que esta eficiencia decrece hasta 52.6% cuando la temperatura disminuye (-7 y 1°C).

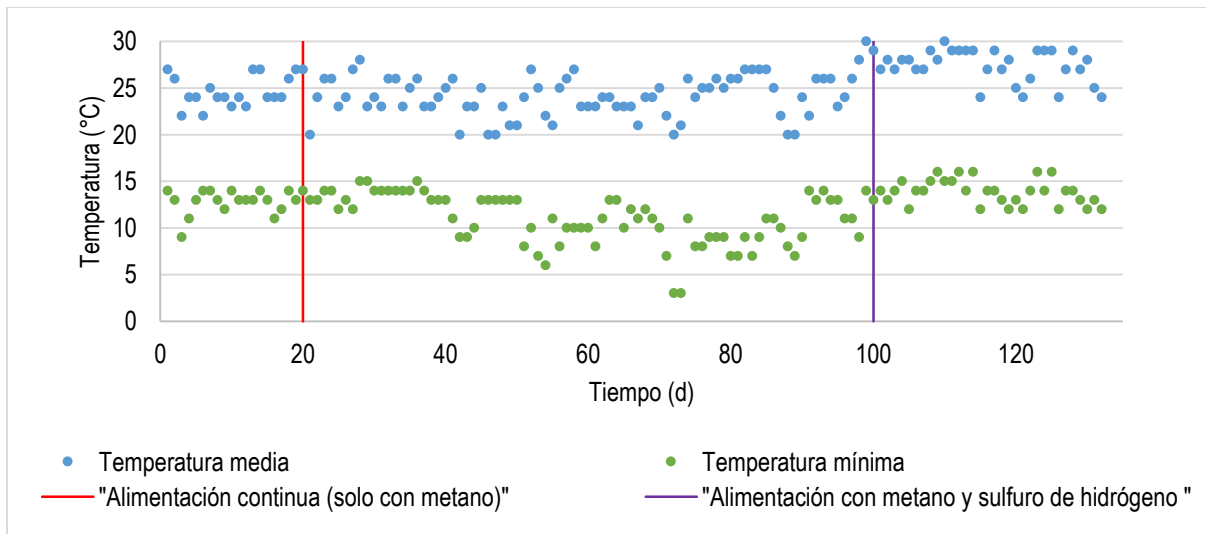


Figura 5. 16 Temperatura ambiente durante la operación del sistema

El biofiltro empacado de composta mostró un mejor desempeño en términos de eficiencia de remoción de CH_4 al paso del tiempo de operación en comparación a los biofiltros operados con empaques inorgánicos. Este fenómeno se puede atribuir a que en los biofiltros con empaques inorgánicos la velocidad de transferencia de masa disminuyó debido a que se irrigaba medio mineral salino tres veces por día y con esto se aumentó el espesor de la película líquida (Devinny y Ramesh, 2005).

Además es importante mencionar que se observó a simple vista una menor cantidad de biomasa en los sistemas empacados con materiales inorgánicos (como se explicará en la sección 5.6). Al tener menor cantidad de microorganismos, la capacidad de eliminación de CH_4 de los sistemas de biofiltración fue menor.

En el caso particular del biofiltro empacado con composta, se observa de forma clara (Figura 5.17) que al incrementar la ML, también aumenta la CE. Durante la operación del sistema bajo diferentes cargas másicas de entrada de CH_4 (35, 46 y $61 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$) se alcanzaron CE de hasta 15, 38 y $61 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ respectivamente. En un estudio realizado por Nikiema y Heitz, (2010) se observa un comportamiento similar en biofiltros empacados con arcilla operados con ML entre 0 y $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$. Para el caso particular del biofiltro empacado con esponja de poliuretano, el efecto de la ML se observa en menor medida alcanzando CE de 6.8 y hasta $25 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ para ML de 35,45 y $61 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$. El empaque de anillos Raschig no demostró una eficiente oxidación del metano por lo que no fue posible observar un efecto del incremento en la ML.

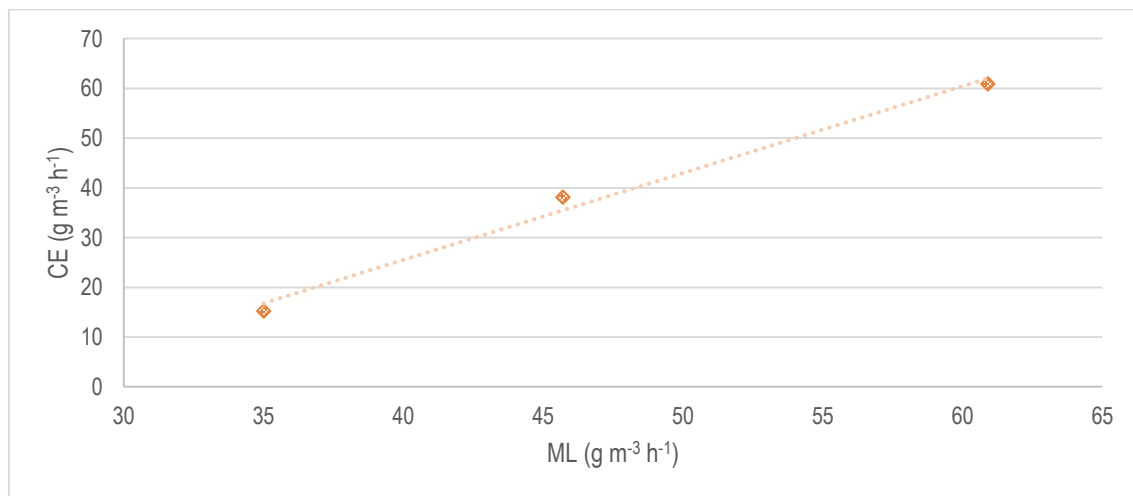


Figura 5. 17 CE de CH_4 del biofiltro empacado con composta en función de la ML.

5.4 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LOS BIOFILTROS OPERADOS CON H₂S

Como se presentó anteriormente, mediante las pruebas de microcosmos se eligieron las concentraciones de H₂S adecuadas para estudiar la degradación de CH₄ en presencia de ese gas en los sistemas de biofiltración alimentados en continuo. Las condiciones de operación de los biofiltros durante esta etapa se muestran en la Tabla 5.6.

Tabla 5. 6 Condiciones de operación de los biofiltros (alimentación de H₂S).

TRLV (min)	19
Q (l min ⁻¹)	0.062
ML CH ₄ (g m ⁻³ h ⁻¹)	61
ML ¹ H ₂ S (g m ⁻³ h ⁻¹)	≈0.7877
ML ² H ₂ S (g m ⁻³ h ⁻¹)	≈1.7806
ML ³ H ₂ S (g m ⁻³ h ⁻¹)	≈3.4640

¹Corriente de alimentación con ≈250 ppm_v de H₂S; ²Corriente de alimentación con ≈500 ppm_v de H₂S, ³Corriente de alimentación con ≈750 ppm_v de H₂S.

5.4.1 CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE CH₄ BAJO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE H₂S

Al alimentar el sistema con ≈250ppm_v de H₂S, en el biofiltro de composta (Figura 5.18) se observó que durante los tres primeros días de operación la capacidad de eliminación se redujo de 61 gCH₄·m⁻³·h⁻¹ hasta 21 gCH₄·m⁻³·h⁻¹. Esta disminución puede atribuirse a que, como parte de la oxidación biológica del CH₄, éste compuesto debe transferirse primero a la fase líquida (película estancada) de la composta, para posteriormente ser utilizado por los microorganismos, por lo que al alimentar H₂S al sistema, éste quedó adsorbido preferentemente por ser más soluble en agua, limitando así la transferencia del metano a la fase acuosa y por lo tanto su oxidación. A continuación se llevó a cabo la biodegradación aerobia que convierte el sulfuro a sulfatos, obteniendo ER de H₂S entre 99 y 100%, lo cual pudo ser debido a que la composta ya contenía microorganismos sulfuro-oxidantes.

A partir del cuarto día de operación, la CE incrementó hasta alcanzar 92.5% de eficiencia de remoción, lo que indicó que el sistema se estabilizó en términos de adsorción y degradación de los contaminantes. Después el sistema se alimentó con ≈500ppm_v de H₂S alcanzando capacidades de eliminación de hasta 61

$\text{gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. Tres días después de alimentar el sistema con $\approx 750 \text{ ppm}_v$ de H_2S se observó una caída en la ER de CH_4 , llegando hasta 17% que corresponde a $9 \text{ gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. Esto se pudo deber a la caída de pH en el sistema (este efecto se explicará más adelante), ya que como se ha reportado, el pH óptimo para la oxidación de metano y crecimiento de los microorganismos metanótrofos se encuentra entre 4 y 6 (Hanson y Hanson, 1996).

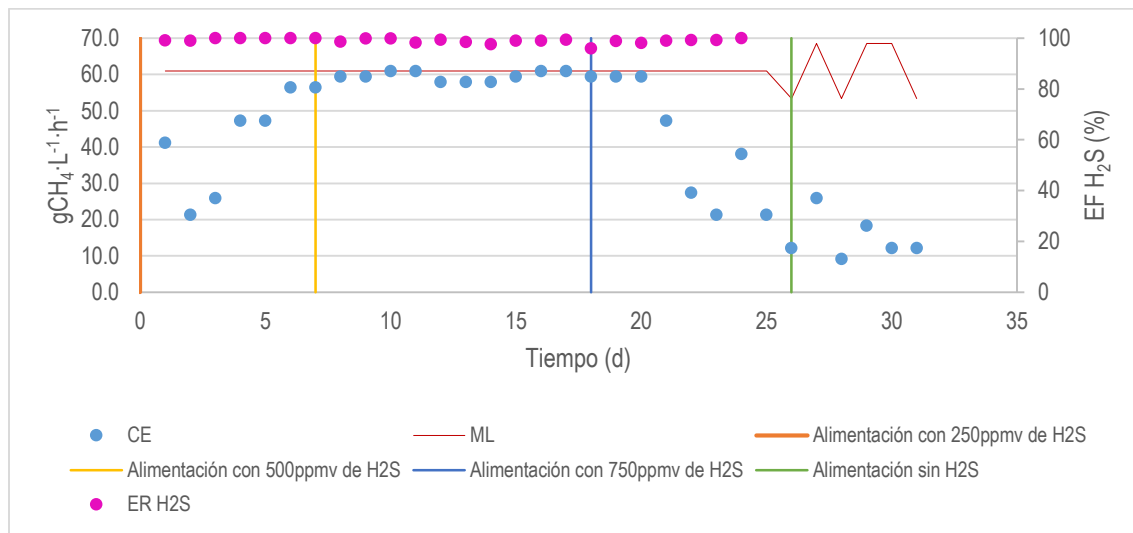


Figura 5. 18 Efecto del H_2S sobre la eficiencia de eliminación del biofiltro empacado con composta.

En el biofiltro empacado con esponja de poliuretano (Figura 5.19), después de 6 días de operación con H_2S ($\approx 250 \text{ ppm}_v$) la CE disminuyó de 18.3 hasta $9.1 \text{ gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ y al incrementar la concentración de H_2S a $\approx 500 \text{ ppm}_v$ la CE de CH_4 se mantuvo entre 7.3 y $9.1 \text{ gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$; sin embargo, al alimentar $\approx 750 \text{ ppm}_v$ de H_2S la CE disminuyó hasta $1.5 \text{ gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. En el biofiltro empacado con anillos Raschig (Figura 5.20) la CE disminuyó de 12.2 a $4.6 \text{ gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ al alimentar el sistema con $\approx 250 \text{ ppm}_v$, posteriormente la CE se mantuvo en $1.5 \text{ gCH}_4 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ a concentraciones de H_2S de 500 y 750 ppm_v de H_2S .

A diferencia del biofiltro empacado con composta, los biofiltros empacados con materiales inorgánicos no presentaron el mismo perfil de degradación de CH_4 . Esto se le atribuye a la menor cantidad de biomasa en estos sistemas (Sección 5.6). Además, como se presentó anteriormente, el H_2S es mas soluble que el metano en agua, por lo que éste pudo quedar absorbido preferentemente en la película líquida del material de soporte, limitando la transferencia hacia la fase líquida y la posterior degradación del CH_4 .

Respecto a la eficiencia de eliminación de H_2S a concentraciones de H_2S de 250 y 500 ppm_v se alcanzaron ER de este gas entre 99 y 100% para ambos materiales de empaque (esponja de poliuretano y anillos

Raschig). Sin embargo, al alimentar el sistema con 750 ppm_v después de 7 días de operación, la ER de H₂S disminuyó hasta 0% en el caso del biofiltro empacado con esponja de poliuretano y 60% en el biofiltro empacado con anillos Raschig.

Es importante mencionar que los biofiltros empacados con materiales inorgánicos (esponja de poliuretano y anillos Raschig) se irrigaban 3 veces por día con medio mineral salino a un pH de 7, además de que éste se reemplazaba con medio mineral fresco semanalmente; Bajo las condiciones mencionadas, la solubilidad de H₂S es de 0.01 mol·L⁻¹ (González-Sánchez, 2006), lo que pudo contribuir a que el H₂S quedara absorbido en el medio mineral y por lo tanto en la película líquida del material de soporte. Sin embargo, debido a la baja capacidad del sistema para llevar a cabo la oxidación biológica de este compuesto, el proceso de transferencia del gas al líquido se vio limitado al tener un bajo gradiente de concentración. Por lo anterior, cuando se alimentó al sistema una corriente con 750 ppm_v de H₂S la eficiencia de eliminación de este gas disminuyó. A lo anterior puede sumarse la posible falta de microorganismos capaces de degradar ese gas, ya que los biofiltros fueron inoculados con un cultivo aclimatado a CH₄ lo cual indica que la capacidad para llevar a cabo la oxidación biológica del sulfuro era reducida.

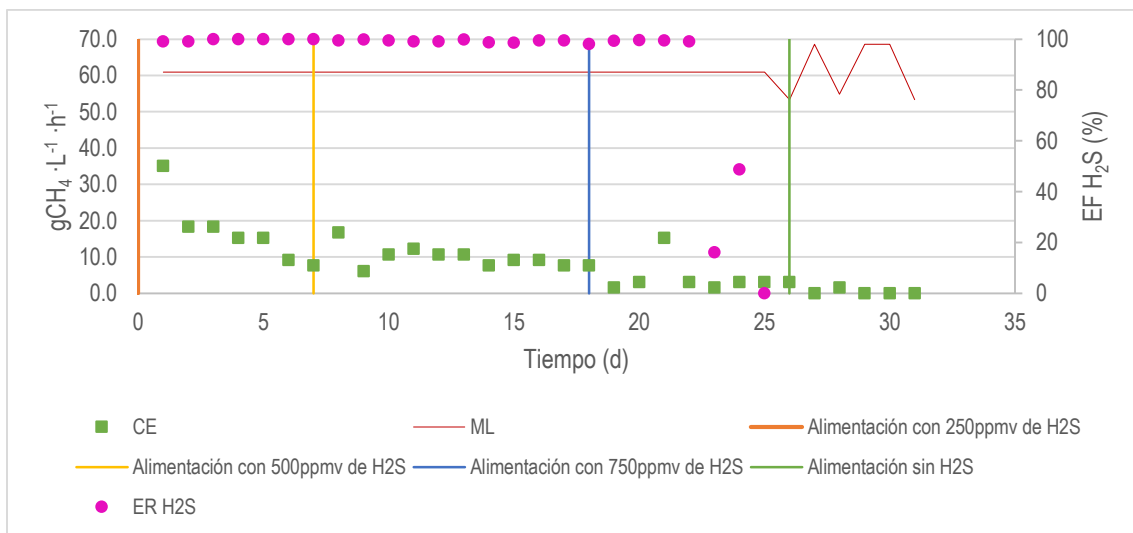


Figura 5. 19 Efecto del H₂S sobre la eficiencia de eliminación del biofiltro empacado con esponja de poliuretano

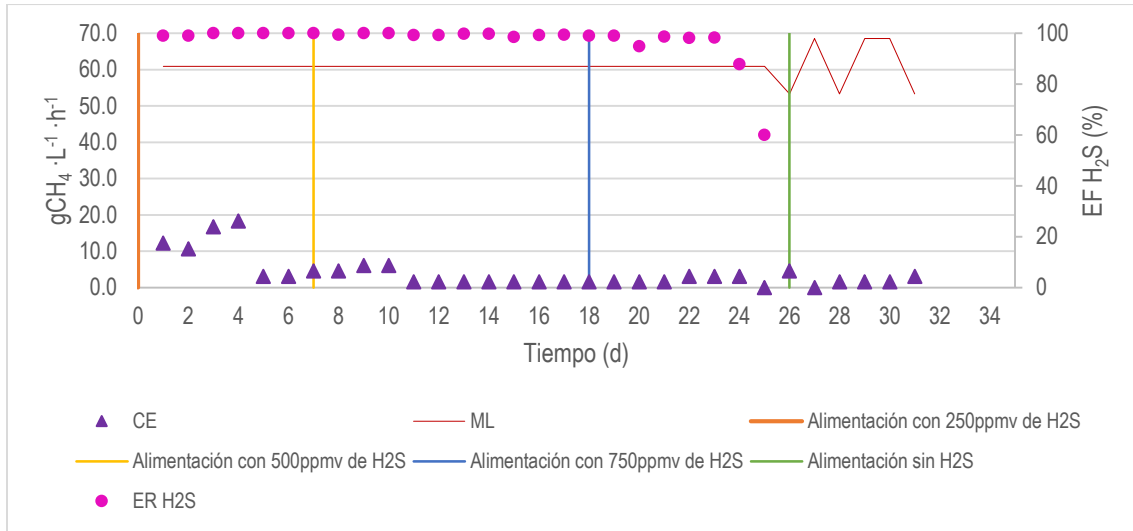


Figura 5. 20 Efecto del H₂S sobre la eficiencia de eliminación del biofiltro empacado con anillos Raschig

Se realizó un análisis estadístico utilizando un ANOVA de dos vías para medidas repetidas. Para dicho análisis se consideró que cada una de las concentraciones usadas de H₂S corresponden con los sujetos y el factor que define la tendencia entre los sujetos es el tipo de material. Mientras que el factor entre los sujetos es el tiempo en el que se efectuó la medición de la eliminación de CH₄. El nivel de significancia para la comparación estadística fue $2\alpha=0.05$. Para el contraste de medidas fue usada la prueba de Holm-Sidak, con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Mediante los resultados del análisis mencionado (Anexo 1), se encontró que el único factor que reporta una diferencia estadísticamente significativa es el tipo de material de empaque ($P=0.001$); de tal modo que la composta muestra mayor capacidad de eliminación, seguida de la esponja de poliuretano y de los anillos Raschig. Sin embargo, no existe diferencia significativa en la CE de CH₄ entre los valores medidos usando esponja de poliuretano y anillos Raschig como materiales de empaque.

5.4.2 PRODUCCIÓN DE SO₄²⁻

Se estimó el valor teórico de sulfatos producidos mediante un balance de masa, considerando las ppm_v de H₂S a la entrada y la eficiencia de remoción del sistema. Como se observa en la Figura 5.21, la masa de sulfatos determinada experimentalmente fue menor al valor teórico calculado, esto por la posible formación de intermediarios tales como el azufre elemental (S⁰). La acumulación de azufre elemental se observa en la Figura 5.22, donde la coloración blanca del empaque es un indicador de la presencia de este compuesto.

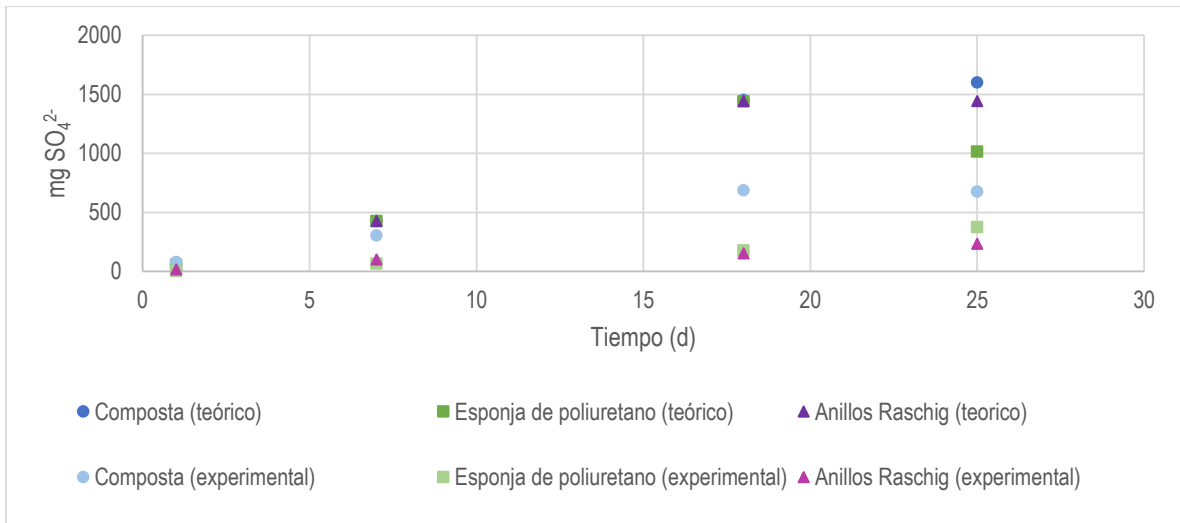
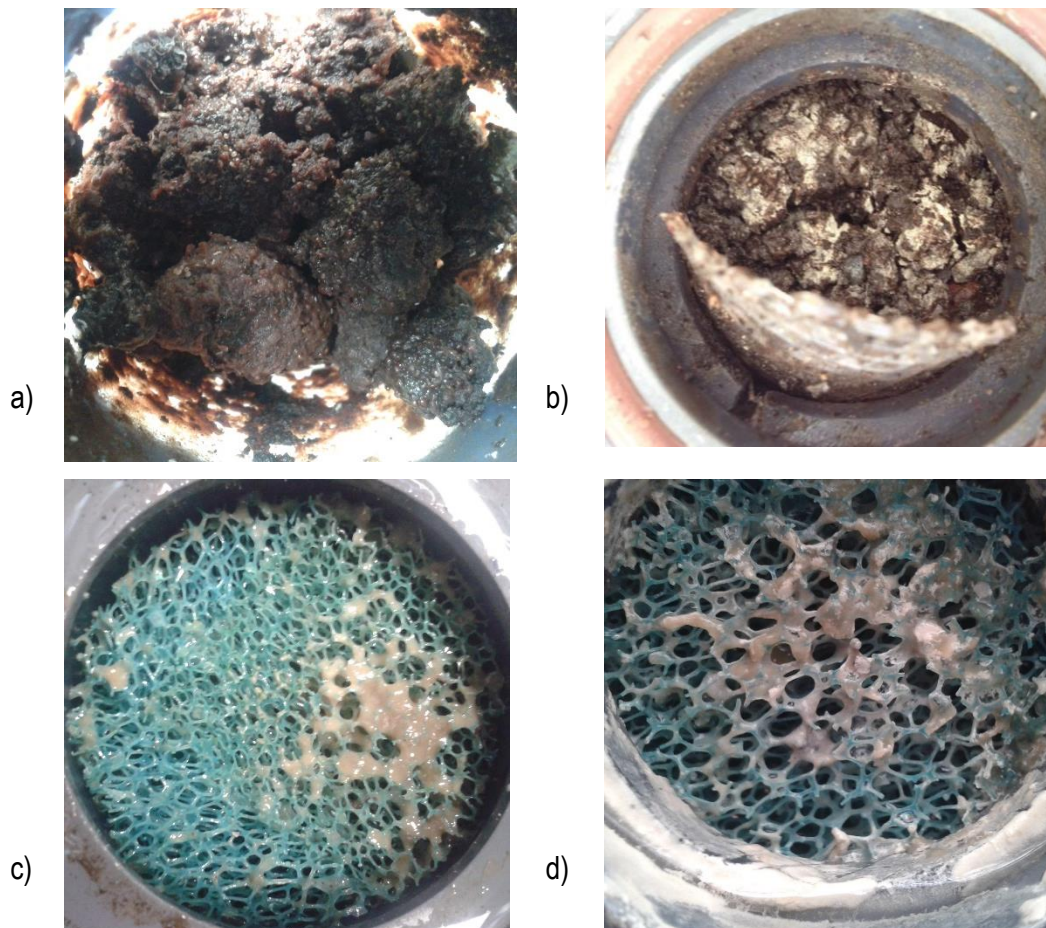


Figura 5. 21 Acumulación de sulfatos en los sistemas de biofiltración



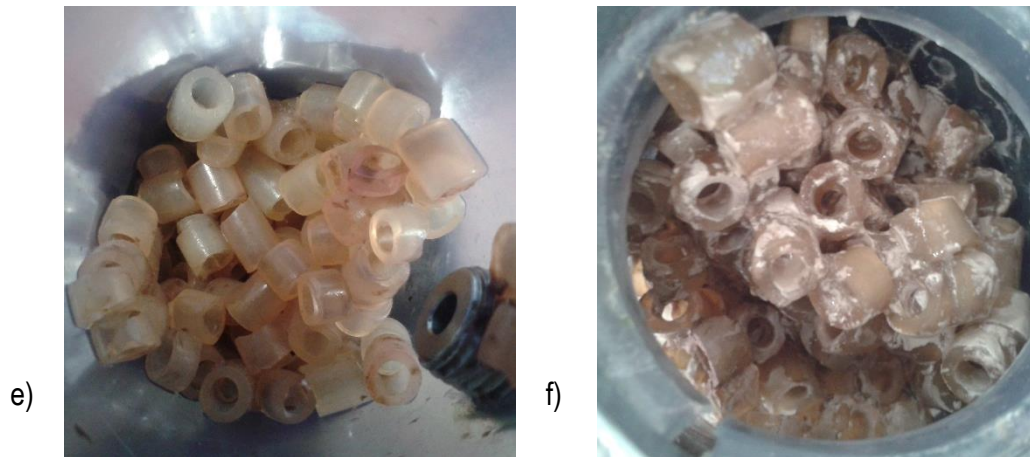


Figura 5. 22. Imágenes de los empaques de biofiltración a) Composta operada con CH_4 b) Composta operada con CH_4 y H_2S c) Esponja de poliuretano operada con CH_4 d) Esponja de poliuretano operada con CH_4 y H_2S e) Anillos Raschig operados con CH_4 f) Anillos Raschig operados con CH_4 y H_2S

5.4.3 PH

Inicialmente el pH se midió en los lixiviados generados por la composta y en el medio líquido de los biofiltros con empaques inorgánicos.

Durante los primeros días de operación con H_2S , el pH de la composta fue de 7.3. Con la transformación del contaminante después de 17 días de operación, el pH disminuyó hasta 5.12 (Figura 5.23). Posteriormente se tomaron medidas de pH de la parte inferior (0 cm), medio (30 cm) y superior (60 cm) del biofiltro. Se puede observar que en la parte inferior se obtuvieron valores de pH más bajos (entre 0-1.58). Una vez que se terminó la operación con sulfuro, se añadió cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) para neutralizar el pH del sistema. Para no modificar la distribución y estructura de la composta, se preparó una solución al 1% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y se agregó hasta alcanzar un valor de pH de 7.

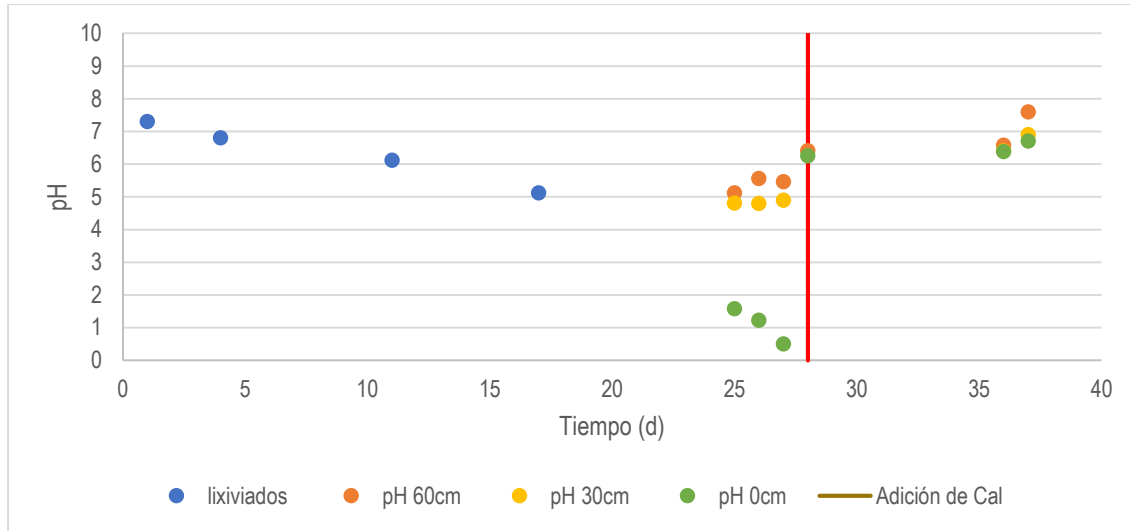


Figura 5. 23 pH en el biofiltro empacado con composta durante la operación con H₂S

En los biofiltros empacados con materiales inorgánicos la variación del pH fue menor (Figura 5.24), esto debido a que el medio mineral salino recirculado en los sistemas sirvió como amortiguador, además del recambio del medio semanalmente.

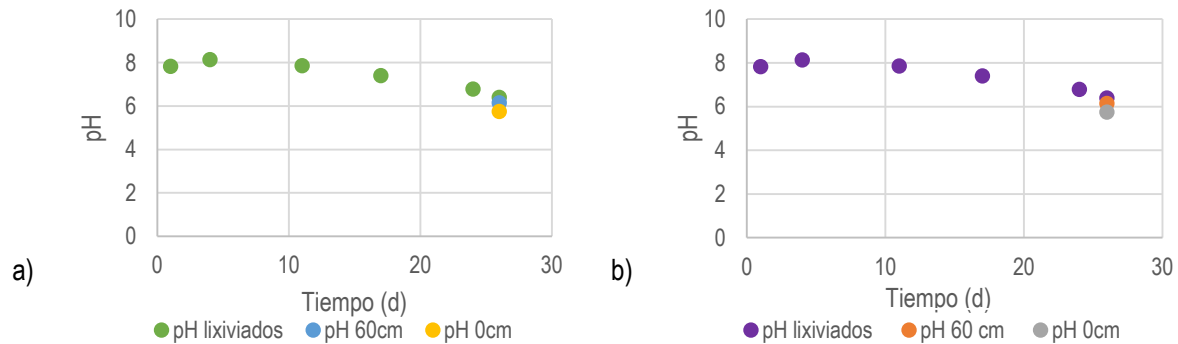


Figura 5. 24 pH en los biofiltros empacados con materiales inorgánicos durante la operación con H₂S a) Biofiltro empacado con esponja de poliuretano, b) Biofiltro empacado con anillos Raschig

La disminución del pH es resultado de la acumulación de SO₄²⁻ dando lugar al ácido sulfhídrico (H₂SO₄) como parte de la degradación del H₂S (Morgan-Sagastume *et al.*, 2003). Esto explica la disminución de la actividad biológica ya que como se mencionó anteriormente los microorganismos metanótrofos muestran mayor actividad a valores de pH entre 4 y 6.

5.5 ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS

Se realizaron pruebas de biología molecular para conocer la composición de las comunidades microbianas presentes en los biofiltros durante la operación sin y con H₂S.

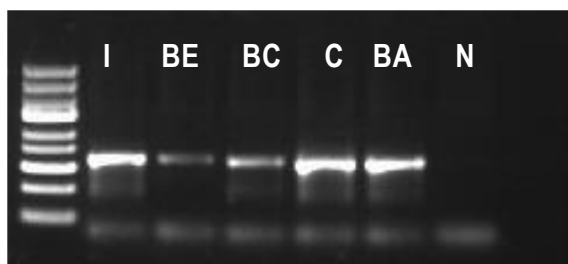
5.5.1 EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA

Como primer paso se llevó a cabo la extracción de DNA mediante el kit Power Soil. La concentración de DNA se muestra en la Tabla 5.7.

Tabla 5. 7 Concentración y pureza del DNA de las muestras.

Muestra	Concentración (ng/μl)	260/280	260/230
C	38.1	1.87	1.82
I	23.95	1.75	1.36
BC (operación sin H ₂ S)	38.4	1.84	1.8
BE (operación sin H ₂ S)	7.43	1.95	1.73
BA (operación sin H ₂ S)	8.15	1.84	1.41
BC (operación con H ₂ S)	28.2	1.66	1.78
BE (operación con H ₂ S)	40.3	1.88	1.82
BA (operación con H ₂ S)	24.7	1.85	1.59

Posteriormente se probaron los cebadores para bacteria 341f-907r, en la Figura 5.25 se muestra la imagen del gel de agarosa después de la reacción de PCR.



I: Inóculo

BE: Biofiltro esponja de poliuretano

BC: Biofiltro composta

a

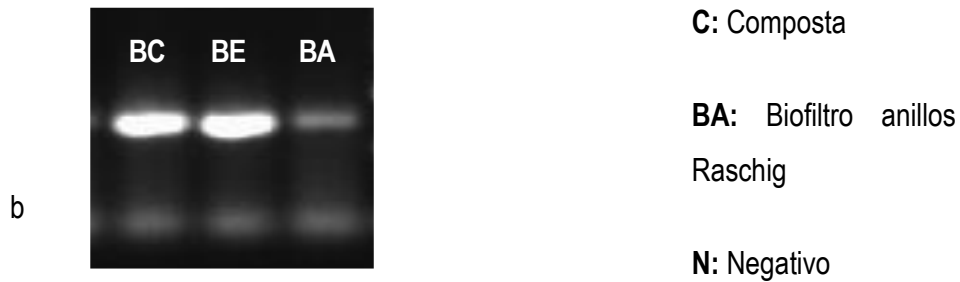


Figura 5. 25 Fragmentos amplificados de PCR (Cebadores Bac 341f-907r); a) Muestras de la operación sin H₂S
b) Muestras de la operación con H₂S.

5.4.2 ANÁLISIS DEL PERFIL DE BANDAS EN GELES DE POLIACRILAMIDA (DGGE)

Una vez obtenidos los amplificados, las muestras se corrieron en un gel de poliacrilamida al 6% (Figuras 5.26 y 5.27) para poder separar los fragmentos amplificados dependiendo del contenido de guanina-citosina (GC) de su secuencia específica. Cada banda representa una descripción detallada de las poblaciones microbianas, lo cual permite evaluar la diversidad de la comunidad microbiana del medio en estudio (Marzorati *et al.*, 2008).

Mediante la identificación de las bandas se observó que durante la operación del sistema sin H₂S (Figura 5.26) las muestras I, C y BC tuvieron mayor número de bandas, respecto a los biofiltros empacados con materiales inorgánicos. Por otro lado, las muestras tomadas durante la operación con H₂S (Figura 5.27) tuvieron notoriamente menos bandas respecto a las muestras tomadas a los 5 meses de operación, lo que indica que al inicio de la operación el sistema tiene una comunidad microbiana más diversa.

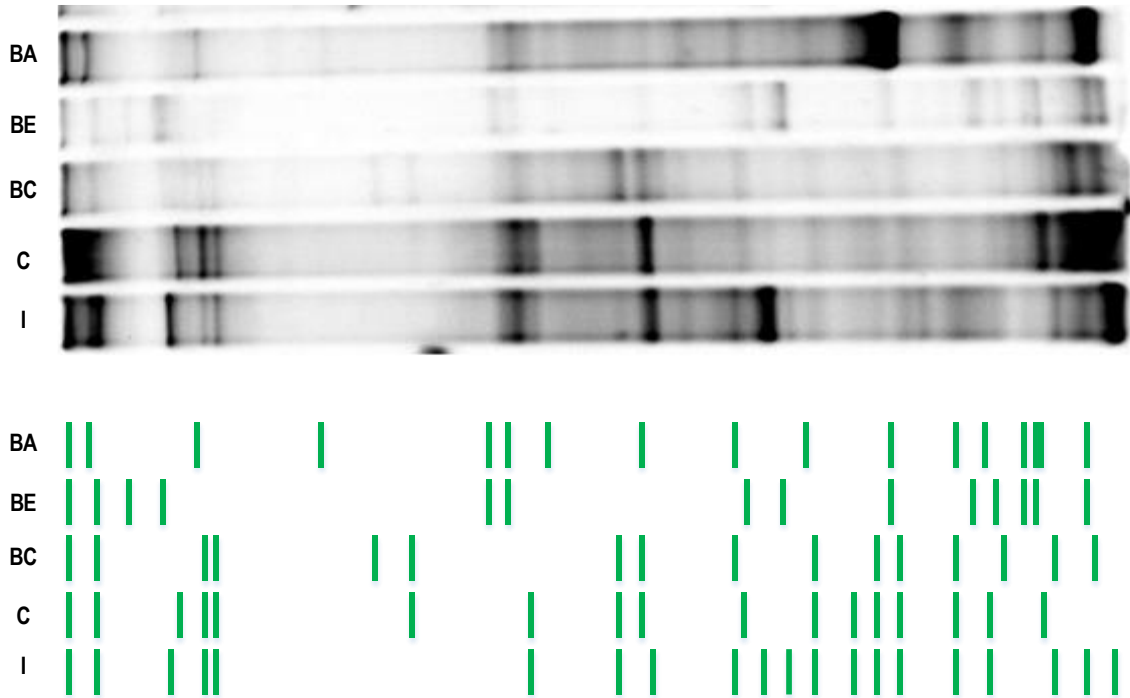


Figura 5. 26. Gel de poliacrilamida para las diferentes muestras de los biofiltros durante la operación sin H₂S

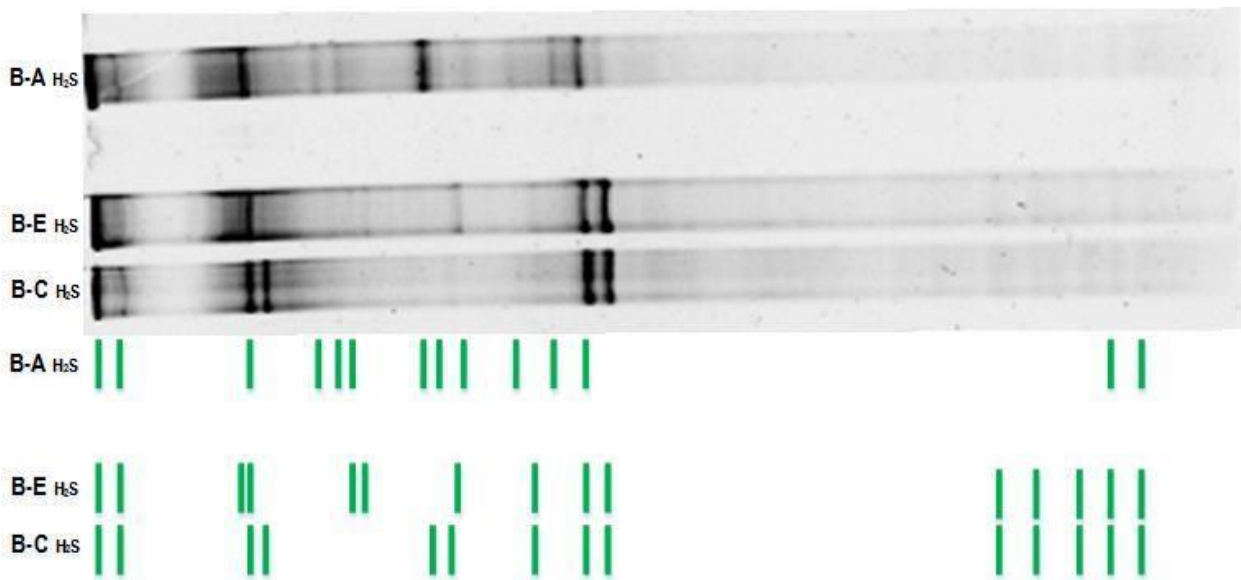


Figura 5. 27 Gel de poliacrilamida para las diferentes muestras de los biofiltros durante la operación sin H₂S

Una vez que se realizó la identificación de las bandas, se procedió a calcular el índice de Sorensen-Dice (S_D). Con este índice se pueden estimar cuales muestras tienen comunidades microbianas más parecidas y cuáles son las comunidades que difieren en un mayor grado (Gómez Borraz, 2012). En la Tabla 5.8 se puede

observar que las muestras (I, C y BC) procedentes del inóculo obtenido de lodo aerobio y composta muestran mayor similitud (índice S_D entre 0.6038-0.7407), ya que por la naturaleza de estas muestras muestran una comunidad microbiana más diversa.

Por otro lado, al finalizar la operación con H_2S (Tabla 5.9) las muestras de BE y BC son las que muestran mayor similitud (S_D de 0.6207). Por lo tanto el biofiltro empacado con anillos Raschig tiene una comunidad que difiere en mayor medida respecto a los otros materiales, lo que podría explicar la baja eficiencia de eliminación obtenida para este sistema.

Tabla 5. 8 Coeficiente S_D a partir del perfil de bandas del gel de poliacrilamida (Primera etapa de operación)

Índice (S_D)	BA	BE	BC	C	I
BA	1	0.5714	0.4255	0.4490	0.4583
BE		1	0.5532	0.4490	0.5417
BC			1	0.7407	0.6038
C				1	0.7273
I					1

Tabla 5. 9 Coeficiente S_D a partir del perfil de bandas del gel de poliacrilamida (Segunda etapa de operación)

Índice (S_D)	BA_{H_2S}	BE_{H_2S}	BC_{H_2S}
BA_{H_2S}	1	0.4828	0.3571
BE_{H_2S}		1	0.6207
BC_{H_2S}			1

Por otro lado, también se calculó el rango ponderado de riqueza R_r (*Range weighted richness*) que brinda una estimación del nivel de diversidad microbiana en muestras ambientales (Figura 5.28 y 5.29).

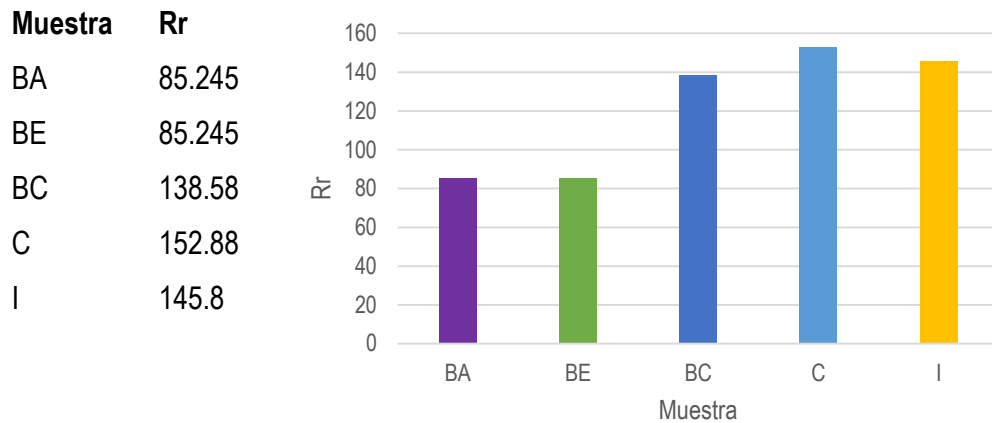


Figura 5. 28 Índice ponderado de riqueza (Rr) de las muestras de los biofiltros durante la primera etapa de operación.

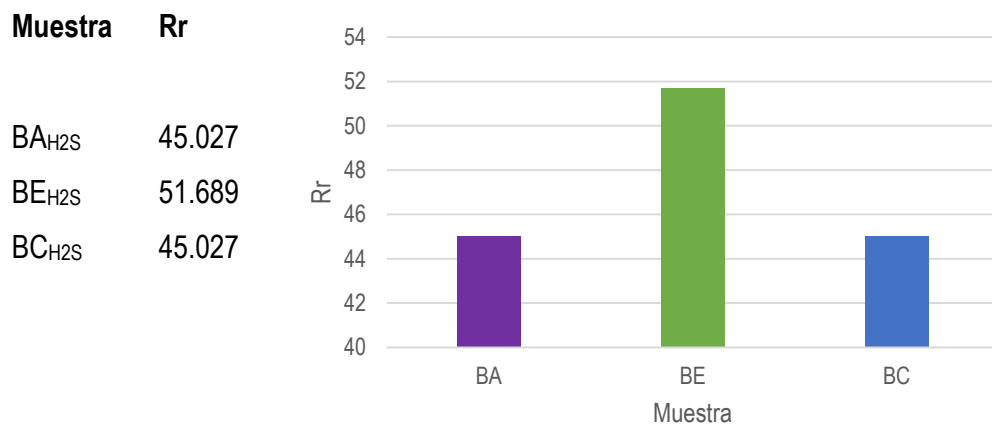


Figura 5. 29 Índice ponderado de riqueza (Rr) de las muestras de los biofiltros durante la operación con H₂S.

En la Figura 5.28 podemos observar que el índice de riqueza es mayor para las muestras iniciales I y C 145.8 y 152.88 respectivamente, valores parecidos a los reportados por Marzorati *et al.*, (2008), donde se reporta que un índice $Rr > 30$ es típico de ambientes muy habitables, que se caracteriza por una alta diversidad microbiana (lodos activados, tierra de jardín, etc.). En las muestras tomadas directamente de los biofiltros (BA, BE y BC) los valores de Rr fueron menores (entre 85.245-138.58) ya que el sistema se va haciendo cada vez más específico a un tipo de sustrato y por lo tanto las comunidades microbianas se vuelven más especializadas. Es notorio que el consorcio microbiano en la primera etapa (solo alimentados con metano) es mucho más diverso en BC que en los otros dos biofiltros.

Por otro lado, en la Figura 5.29 se puede observar que el índice ponderado de riqueza es menor que en la primera fase de operación, esto debido a que el medio va siendo más exclusivo de un tipo de microorganismos al alimentar solo una fuente de carbono (CH₄). En sentido contrario a lo encontrado en la

primera etapa, en esta fase de alimentación con H₂S el biofiltro empacado con esponja de poliuretano tuvo mayor riqueza en su población microbiana.

5.6 IMÁGENES OBTENIDAS MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Se ha reportado que para favorecer el crecimiento de los microorganismos sobre un material de empaque, éste debe ser poroso y presentar una alta fracción de espacios vacíos (Anet *et al.*, 2013; Revah y Ortiz, 2004; Sakuma *et al.*, 2006). En la Figura 5.30 se puede observar que los anillos Raschig tienen una superficie más lisa y una menor cantidad de espacios vacíos respecto a los otros materiales utilizados. Esto afectó negativamente la adhesión de los microorganismos y por lo tanto la formación de la biopelícula, lo cual pudo repercutir en la capacidad de eliminación del biofiltro empacado con este material. En el caso de la esponja de poliuretano esta presenta una estructura porosa en forma de panal, lo que favoreció la colonización de este material. Se ha reportado que la esponja de poliuretano tiene un tamaño de poro adecuado y permite que la distribución de la fase gaseosa en el sistema sea homogénea, esto permite que se genere un entorno adecuado para la inoculación y crecimiento de los microorganismos (Li *et al.*, 2013).

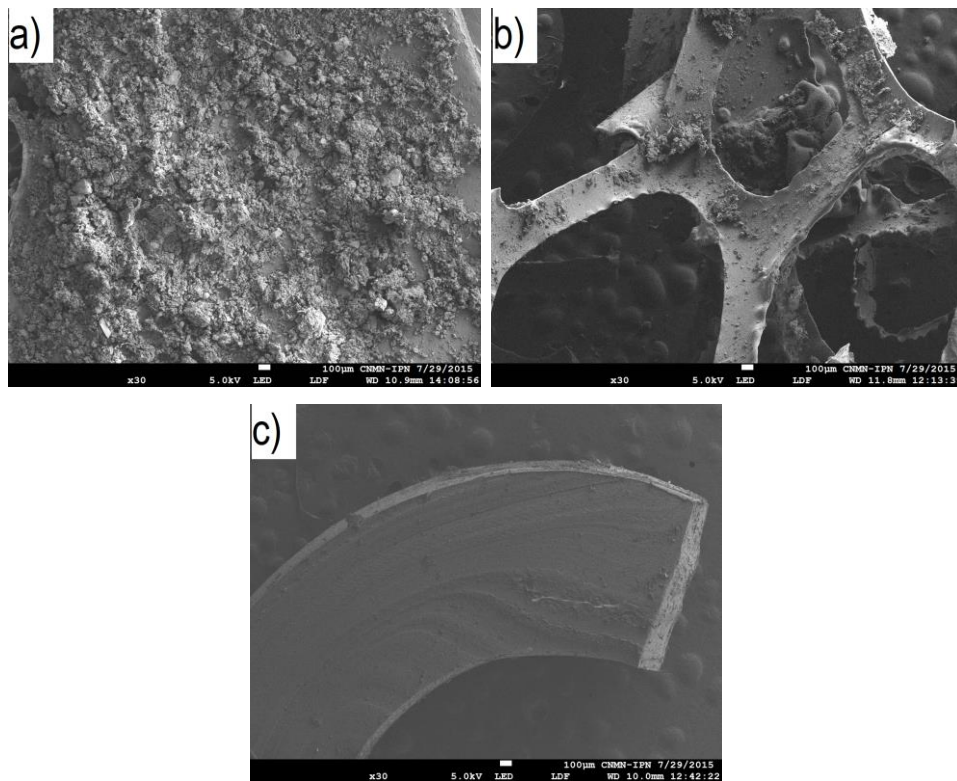


Figura 5. 30 Micrografías de los materiales de empaque; a) Composta. b) Esponja de poliuretano. c) Anillos Raschig.

En la micrografía 5.31 se puede observar cómo se encuentra adherida la biopelícula a la esponja de poliuretano. La aparente presencia de sustancias exopoliméricas (EPS) puede ser debida a la excreción de exopolisacáridos por los microorganismos, ya que estas sustancias son componentes clave para la formación de la biopelícula.

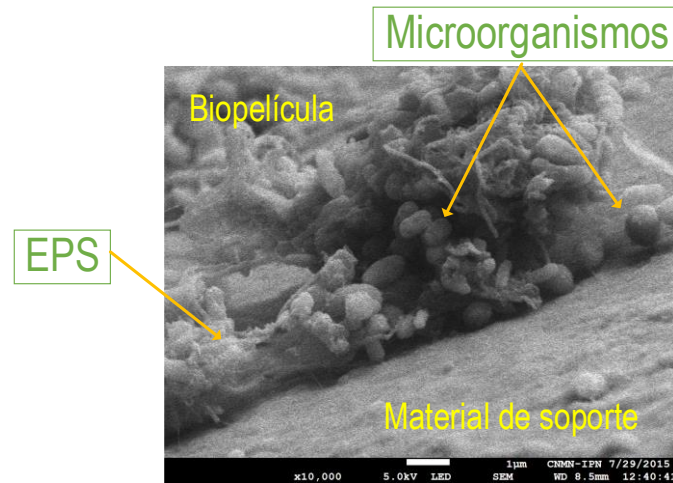


Figura 5. 31 Micrografía 10,000 X; biopelícula sobre esponja de poliuretano.

En la Figura 5.32 se puede observar que la composta tiene un gran número de microorganismos en forma esférica (cocos) y bacilar. Madigan *et al.*, (2003) reportan la morfología de las bacterias metanótrofas donde especies como *Methylomicrobium*, *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylocystis*, *Methylocella* tienen morfología bacilar mientras que *Methylobacterium* y *Methylococcus* presentan una morfología de coco a cocobacilo. Por otro lado es importante mencionar que bacterias como *Thiosphaera*, *Sulfolobus*, *Pseudomonas* y *Alcaligenes* son los principales microorganismos encargados de la biodegradación del H₂S (Li *et al.*, 2013) y estos tienen forma de bacilo, por lo que en las micrografías se puede tener una comunidad microbiana diversa. La alta densidad microbiana puede explicar el hecho de que la composta fue el material con el que se obtuvieron capacidades de eliminación más altas respecto a los otros materiales.

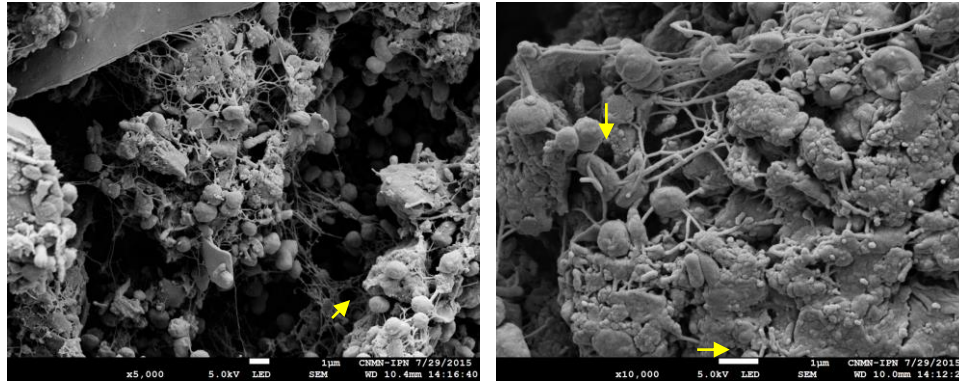


Figura 5. 32 Micrografías de los microorganismos presentes en la composta.

En el caso de la esponja de poliuretano (Figura 5.33) las micrografías muestran que la biopelícula está constituida principalmente de bacilos y cocos, además de largas cadenas de células bacilares, estas cadenas están asociadas al género *Beggiatoa*, estos microorganismos crecen en medios ricos en H_2S oxidándolo hasta S^0 o SO_4^{2-} (Madigan *et al.*, 2003).

Se observa que hay mayor densidad microbiana en la parte inferior del sistema (Figura 5.33b). Esto se debe a que la disponibilidad del sustrato es más alta a la entrada del sistema y por lo tanto se favorece un mayor crecimiento microbiano (Li *et al.*, 2013).

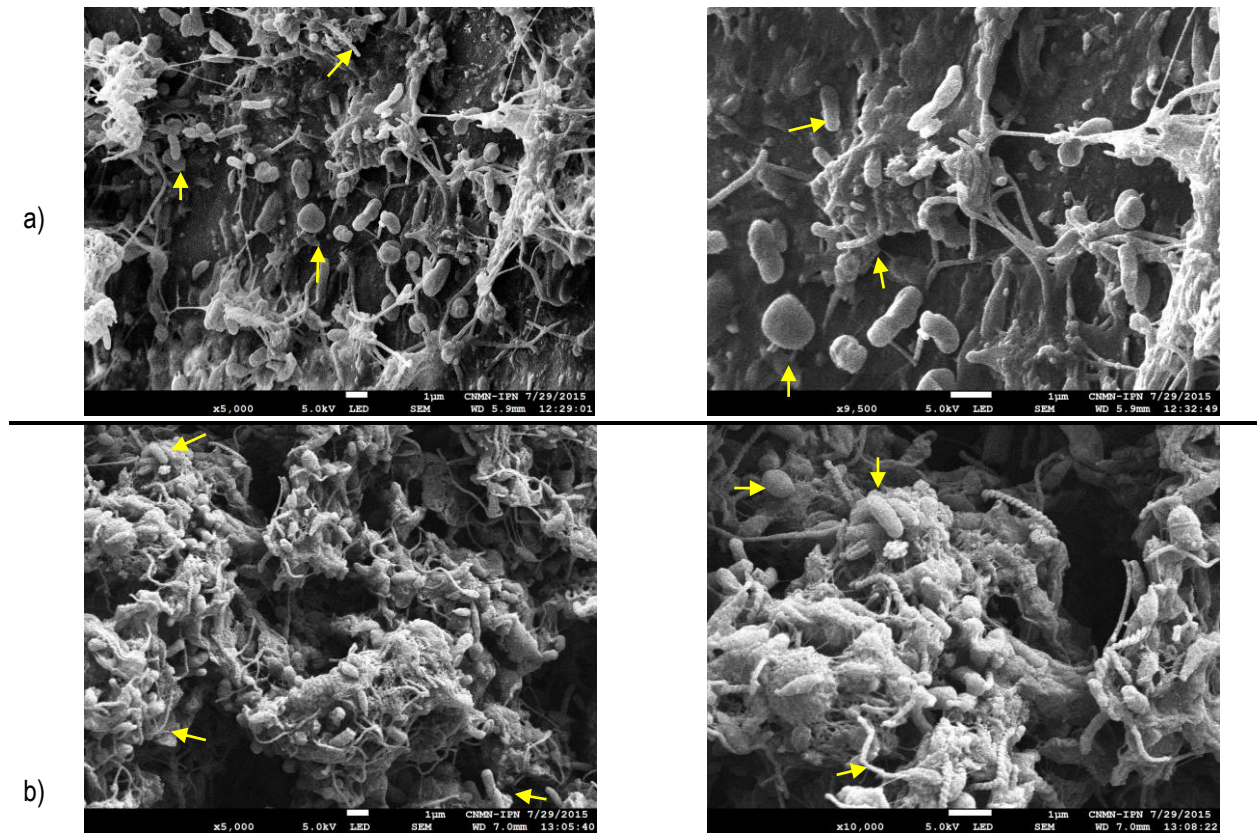


Figura 5. 33 Micrografías de la biopelícula sobre esponja de poliuretano; a) Parte superior del biofiltro. b) Parte inferior del biofiltro.

En la figura 5.34 se observa una menor colonización del empaque (anillos Raschig), esto como consecuencia de las propiedades de su superficie (poco porosa). Además se observa que hay una mayor densidad microbiana en la parte inferior del biofiltro (Figura 5.34b), como consecuencia de la alta concentración de sustratos.

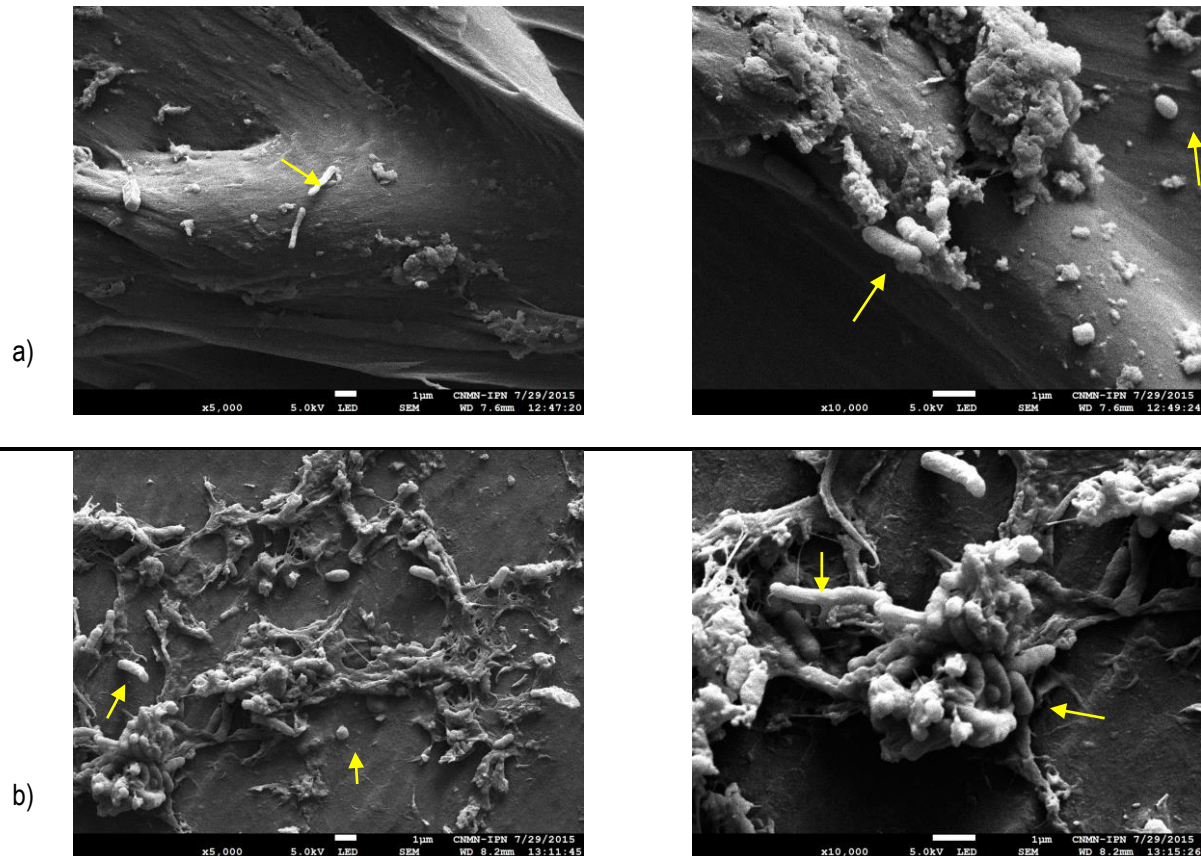


Figura 5. 34 Micrografías de la biopelícula sobre anillos Raschig; a) Parte superior del biofiltro. b) Parte inferior del biofiltro.

Con las imágenes anteriores de forma cualitativa la cantidad de microorganismos fue mayor en el biofiltro empacado con composta, seguido de la esponja de poliuretano y por último los anillos Raschig, este resultado influye en la capacidad de eliminación del sistema.

6. CONCLUSIONES

1. La velocidad de crecimiento de un cultivo metanótrofo en suspensión se ve afectada desde 75 ppm_v de H₂S. Por otro lado la velocidad de degradación de CH₄ y producción de CO₂ disminuyen a partir de concentraciones de H₂S de 200 ppm_v.
2. La operación de los biofiltros de forma intermitente permite mejorar la degradación de CH₄, lo cual se ve reflejado en el aumento de la eficiencia de eliminación.
3. En la etapa de operación en continuo, la capacidad de eliminación de CH₄ fue mayor en el biofiltro empacado con composta, seguido del biofiltro empacado con esponja de poliuretano y anillos Raschig respectivamente.
4. La disminución de la temperatura afecta negativamente la capacidad de eliminación en los biofiltros debido a que la actividad microbiana es menor.
5. Durante la segunda etapa de operación (con H₂S) el biofiltro empacado con composta alcanzó eficiencias de remoción (ER) de CH₄ de 100% y 92.5% a concentraciones de 250 y 500 ppm_v de H₂S respectivamente; sin embargo, a 750 ppm_v la ER disminuyó hasta 17%, lo cual se puede atribuir a la caída de pH en el sistema como consecuencia de la acumulación de sulfatos. Los biofiltros empacados con materiales inorgánicos presentaron un decremento en la eficiencia de remoción al alimentarlos con 250 ppm_v de H₂S
6. En el biofiltro empacado de composta se obtuvieron ER de H₂S del 100%, mientras que en los biofiltros empacados con materiales inorgánicos se alcanzaron valores de 100% durante los primeros 23 días de operación; posteriormente la ER disminuyó hasta 60% y 0% en el biofiltro empacado con esponja de poliuretano y anillos Raschig respectivamente, como consecuencia de la limitación de la transferencia de la fase gas a la fase acuosa y la baja actividad biológica para la oxidación de este compuesto.
7. Se encontró que el único factor que reporta una diferencia estadísticamente significativa es el tipo de material de empaque (P=0.001); de tal modo que la composta muestra una mayor capacidad de eliminación de CH₄, seguida de la esponja de poliuretano y de los anillos Raschig.
8. Mediante las técnicas de biología molecular se pudo identificar un menor número de poblaciones microbianas (número de bandas) al final de la operación de los biofiltros. El índice ponderado de riqueza (Rr) fue mayor para las muestras tomadas durante la primera etapa de operación, lo que indica que al inicio se tiene una alta diversidad microbiana, especializándose posteriormente.
9. Por medio de las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido, la cantidad de microorganismos fue mayor en el biofiltro empacado con composta, seguido de la esponja de poliuretano y por último los anillos Raschig.

7. BIBLIOGRAFIA

- Anet, B., Couriol, C., Lendormi, T., Amrane, A., Cloirec, P., Cogny, G., Fillières, R., 2013. Characterization and Selection of Packing Materials for Biofiltration of Rendering Odourous Emissions. *Water, Air, Soil Pollut.* 224, 1622.
- APHA/AWWA/WEF, 1998. *Standar Methods for the Examination of Water ans Wastewater*, 20th ed.
- Bandara, W.M.K.R.T.W., Kindaichi, T., Satoh, H., Sasakawa, M., Nakahara, Y., Takahashi, M., Okabe, S., 2012. Anaerobic treatment of municipal wastewater at ambient temperature: Analysis of archaeal community structure and recovery of dissolved methane. *Water Res.* 46, 5756–5764.
- Bandara, W.M.K.R.T.W., Satoh, H., Sasakawa, M., Nakahara, Y., Takahashi, M., Okabe, S., 2011. Removal of residual dissolved methane gas in an upflow anaerobic sludge blanket reactor treating low-strength wastewater at low temperature with degassing membrane. *Water Res.* 45, 3533–40.
- Benstead, J., King, G.M., Williams, H.G., 1998. Methanol Promotes Atmospheric Methane Oxidation by Methanotrophic Cultures and Soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1091–1098.
- Bodelier, P.L.E., Meima-Franke, M., Zwart, G., Laanbroek, H.J., 2005. New DGGE strategies for the analyses of methanotrophic microbial communities using different combinations of existing 16S rRNA-based primers. *FEMS Microbiol. Ecol.* 52, 163–74.
- Cáceres, M., Gentina, J.C., Aroca, G., 2014. Oxidation of methane by *Methylomicrobium album* and *Methylocystis* sp. in the presence of H₂S and NH₃. *Biotechnol. Lett.* 36, 69–74.
- Cáceres, M., Silva, J., Morales, M., San Martín, R., Aroca, G., 2012. Kinetics of the bio-oxidation of volatile reduced sulphur compounds in a biotrickling filter. *Bioresour. Technol.* 118, 243–8.
- Cárdenas, B., Revah, S., Hernández, S., Martínez, A., Gutierrez, V., 2003. *Tratamiento biológico de compuestos orgánicos volátiles de fuentes fijas*, Primera ed. ed. México, D.F.
- Cervantes, F.J., 2010. *Tratamiento anaerobio de las aguas residuales en México*. CONCYTEG 5, 554–559.
- Chaiprapat, S., Mardthing, R., Kantachote, D., Karnchanawong, S., 2011. Removal of hydrogen sulfide by complete aerobic oxidation in acidic biofiltration. *Process Biochem.* 46, 344–352.
- Chong, S., Sen, T.K., Kayaalp, A., Ang, H.M., 2012. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment--a state-of-the-art review. *Water Res.* 46, 3434–70.
- Chung, Y.-C., Huang, C., Tseng, C.-P., 1996. Operation optimization of *Thiobacillus thioparus* CH11 biofilter for hydrogen removal. *J. Biotechnol.* 52, 31–38.
- Deshusses, Marc A., H.G. and D.I., 1995. Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 1. Dynamyc model development. *enviromental Sci. Technol.* 29, 1048–1058.

- Devinny, J.S., Ramesh, J., 2005. A phenomenological review of biofilter models. *Chem. Eng. J.* 113, 187–196.
- Dhaked, R.K., Singh, P., Singh, L., 2010. Biomethanation under psychrophilic conditions. *Waste Manag.* 30, 2490–2496.
- Espinoza, J., Revah, S., Le Borgne, S., 2010. Rutas metabólicas de oxidación del azufre en bacterias quimiolitotróficas, relevancia ambiental y biotecnología. *Mensaje Bioquímico XXXIV*, 101–120.
- Estrada, J.M., Lebrero, R., Quijano, G., Pérez, R., Figueroa-González, I., García-Encina, P. a., Muñoz, R., 2014. Methane abatement in a gas-recycling biotrickling filter: evaluating innovative operational strategies to overcome mass transfer limitations. *Chem. Eng. J.*
- Giménez, J.B., Martí, N., Ferrer, J., Seco, a, 2012. Methane recovery efficiency in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAnMBR) treating sulphate-rich urban wastewater: evaluation of methane losses with the effluent. *Bioresour. Technol.* 118, 67–72.
- Gómez Borraz, T.L., 2012. Microbiota asociada al taponamiento en un biorreactor anaerobio de membrana sumergida. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- González-Sánchez, A., 2006. Estudio de la oxidación biológica de compuestos reducidos en azufre por un consorcio alcalófilo en un biorreactor. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.
- González-Sánchez, A., Revah, S., 2007. The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 292–298.
- González-Sánchez, A., Revah, S., M, D., 2008. Alkaline Biofiltration of H₂S Odors. *environmental Sci. Technol.* 42, 7398–7404.
- Gonzalez-Sanchez, A., Tomas, M., Dorado, A.D., Gamisans, X., Guisasola, A., Lafuente, J., Gabriel, D., 2009. Development of a kinetic model for elemental sulfur and sulfate formation from the autotrophic sulfide oxidation using respirometric techniques. *Water Sci. Technol.* 59, 1323–1329.
- Hanson, R.S., Hanson, T.E., 1996. Methanotrophic bacteria. *Microbiol. Rev.* 60, 439–71.
- Hartley, K., Lant, P., 2006. Eliminating Non-Renewable CO₂ Emissions From Sewage Treatment : An Anaerobic Migrating Bed Reactor Pilot Plant Study. *Wile Intersci.*
- Hatamoto, M., Miyauchi, T., Kindaichi, T., Ozaki, N., Ohashi, A., 2011. Dissolved methane oxidation and competition for oxygen in down-flow hanging sponge reactor for post-treatment of anaerobic wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 102, 10299–304.
- Hatamoto, M., Yamamoto, H., Kindaichi, T., Ozaki, N., Ohashi, A., 2010a. Biological oxidation of dissolved methane in effluents from anaerobic reactors using a down-flow hanging sponge reactor. *Water Res.* 44, 1409–18.

- Hatamoto, M., Yamamoto, H., Kindaichi, T., Ozaki, N., Ohashi, A., 2010b. Biological oxidation of dissolved methane in effluents from anaerobic reactors using a down-flow hanging sponge reactor. *Water Res.* 44, 1409–18.
- Janssen, A.J.H., Lens, P.N.L., Stams, A.J.M., Plugge, C.M., Sorokin, D.Y., Muyzer, G., Dijkman, H., Van Zessen, E., Luimes, P., Buisman, C.J.N., 2009. Application of bacteria involved in the biological sulfur cycle for paper mill effluent purification. *Sci. Total Environ.* 407, 1333–43.
- Kevbrina, M. V., Okhapkina, A.A., Akhlynin, D.S., Kravchenko, I.K., Nozhevnikova, A.N., Gal, V.F., 2001. Growth of Mesophilic Methanotrophs at Low Temperatures. *Microbiology* 70, 444–451.
- Kim, T.G., Jeong, S.-Y., Cho, K.-S., 2014. Characterization of tobermorite as a bed material for selective growth of methanotrophs in biofiltration. *J. Biotechnol.* 173, 90–7. doi:10.1016/j.jbiotec.2014.01.010
- Klößner, W., Büchs, J., 2012. Advances in shaking technologies. *Trends Biotechnol.* 30, 307–314.
- Kraakman, N.J.R., Rocha-Rios, J., van Loosdrecht, M.C.M., 2011a. Review of mass transfer aspects for biological gas treatment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91, 873–86.
- Kraakman, N.J.R., Rocha-Rios, J., van Loosdrecht, M.C.M., 2011b. Review of mass transfer aspects for biological gas treatment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91, 873–86.
- Lebrero, R., Bouchy, L., Stuetz, R., Muñoz, R., 2011. Odor Assessment and Management in Wastewater Treatment Plants: A Review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.*
- Lee, E.-H., 2011. Characterization of Methane Oxidation by a Methanotroph Isolated from a Landfill Cover Soil, South Korea. *J. Microbiol. Biotechnol.* 21, 753–756.
- Lettinga, G., Rebac, S., Zeeman, G., 2001. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends Biotechnol.* 19, 363–370.
- Lettinga, G., Roersma, R., Grin, P., 1983. Anaerobic treatment of raw domestic sewage at ambient temperatures using a granular bed UASB reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 25, 1701–23.
- Li, L., Han, Y., Yan, X., Liu, J., 2013. H₂S removal and bacterial structure along a full-scale biofilter bed packed with polyurethane foam in a landfill site. *Bioresour. Technol.* 147, 52–8.
- Lisovitskaya, O., Lebed-Sharlevich, I., Mozharova, N., Kulachkova, S., 2014. Efficiency of methane biotransformation of soil and soil-like biofilters in Moscow. *J. Soils Sediments.*
- Liu, Z., Yin, H., Dang, Z., Liu, Y., 2014. Dissolved methane: a hurdle for anaerobic treatment of municipal wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 48, 889–90.
- Lobato, L.C.S., Chernicharo, C. a L., Souza, C.L., 2012. Estimates of methane loss and energy recovery potential in anaerobic reactors treating domestic wastewater. *Water Sci. Technol.* 66, 2745–53.

- Long, Y.-Y., Liao, Y., Zhang, K., Hu, L.-F., Fang, C.-R., Shen, D.-S., 2013. Can H₂S affect the methane oxidation in a landfill? *Ecol. Eng.* 60, 438–444.
- López, J.C., Quijano, G., Pérez, R., Muñoz, R., 2014. Assessing the influence of CH₄ concentration during culture enrichment on the biodegradation kinetics and population structure. *J. Environ. Manage.* 146, 116–23.
- Marzorati, M., Wittebolle, L., Boon, N., Daffonchio, D., Verstraete, W., 2008. How to get more out of molecular fingerprints: practical tools for microbial ecology. *Environ. Microbiol.* 10, 1571–81.
- Matsuura, N., Hatamoto, M., Sumino, H., Syutsubo, K., Yamaguchi, T., Ohashi, a, 2010. Closed DHS system to prevent dissolved methane emissions as greenhouse gas in anaerobic wastewater treatment by its recovery and biological oxidation. *Water Sci. Technol.* 61, 2407–15.
- McNevin, D., Barford, J., 2000. Biofiltration as an odour abatement strategy. *Biochem. Eng. J.* 5, 231–242.
- Moreno Gutiérrez, A., 2008. Efecto de la carga másica y altura del medio filtrante sobre la remoción de H₂S mediante biofiltración. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Morgan-Sagastume, J.M., Noyola, a, 2006. Hydrogen sulfide removal by compost biofiltration: effect of mixing the filter media on operational factors. *Bioresour. Technol.* 97, 1546–53.
- Morgan-Sagastume, J.M., Noyola, A., Revah, S., Ergas, S.J., 2003. Changes in Physical Properties of a Compost Biofilter Treating Hydrogen Sulfide. *J. Air Waste Manag. Association* 53, 1011–1021.
- Morgan-Sagastume, Juan Manuel Revah, S., Noyola, A., 1999. Malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales: su control a través de procesos biotecnológicos. *Ing. y ciencias Ambient. FEMISCA* 10, 22–29.
- Myhre, G., Shindell, D., Bréon, F.-M., Collins, W., Fuglestvedt, J., Huang, J., Koch, D., Lamarque, J.-F., Lee, D., Mendoza, B., Nakajima, T., Robock, A., Stephens, G., Takemura, T., Zhan, H., 2013. Anthropogenic and Natural Radiative Forcing. *Clim. Chang. 2013 Phys. Sci. Basis. Contrib. Work. Gr. I to Fifth Assess. Rep. Intergov. Panel Clim. Chang.* 659–740.
- Nikiema, J., Brzezinski, R., Heitz, M., 2007. Elimination of methane generated from landfills by biofiltration: a review. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 6, 261–284. doi:10.1007/s11157-006-9114-z
- Nikiema, J., Heitz, M., 2010. The Use of Inorganic Packing Materials during Methane Biofiltration. *Int. J. Chem. Eng.* 2010, 1–8.
- Noyola, A., Capdeville, B., Roques, H., 1988. Anaerobic treatment of domestic sewage with a rotating-stationary fixed-film reactor. *Water Res.* 22, 1585–1592.
- Noyola, A., Morgan-Sagastume, J.M., López-Hernández, J.E., 2006. Treatment of Biogas Produced in Anaerobic Reactors for Domestic Wastewater: Odor Control and Energy/Resource Recovery. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 5, 93–114.

- Noyola, A., Padilla-Rivera, A., Morgan-Sagastume, J.M., Güereca, L.P., Hernández-Padilla, F., 2012. Typology of Municipal Wastewater Treatment Technologies in Latin America. *CLEAN - Soil, Air, Water* 40, 926–932.
- Omri, I., Aouidi, F., Bouallagui, H., Godon, J.-J., Hamdi, M., 2013. Performance study of biofilter developed to treat H₂S from wastewater odour. *Saudi J. Biol. Sci.* 20, 169–176.
- Rasi, S., Läntelä, J., Rintala, J., 2011. Trace compounds affecting biogas energy utilisation – A review. *Energy Convers. Manag.* 52, 3369–3375.
- Revah, S., Morgan-Sagastume, J.M., 2005. Biotechnology for Odor and Air Pollution Control, in: Shareefdeen, Z., Singh, A. (Eds.), . Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, pp. 29–60.
- Revah, S., Ortiz, I., 2004. El desarrollo de bioprocesos para el tratamiento de aire contaminado emitido por fuentes fijas, in: *Fundamentos Y Casos Exitosos de La Biotecnología Moderna*. pp. 625–658.
- Revah, S., Pérez, F., Auria, R., 1996. Generalidades sobre procesos de purificación biológica de aire/gases. *Inst. Ing. UNAM* 1, 17–22.
- Rocha-Rios, J., Bordel, S., Hernández, S., Revah, S., 2009. Methane degradation in two-phase partition bioreactors. *Chem. Eng. J.* 152, 289–292.
- Rocha-Rios, J., Kraakman, N.J.R., Kleerebezem, R., Revah, S., Kreutzer, M.T., van Loosdrecht, M.C.M., 2013. A capillary bioreactor to increase methane transfer and oxidation through Taylor flow formation and transfer vector addition. *Chem. Eng. J.* 217, 91–98.
- Sakuma, T., Hattori, T., Deshusses, M. a, 2006. Comparison of different packing materials for the biofiltration of air toxics. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 56, 1567–1575.
- Schwarz, B.C.E., Deviny, J.S., Tsotsis, T.T., 2001. A bio " lter network model * importance of the pore structure and other large-scale heterogeneities. *Chem. Eng. Sci.* 56, 475–483.
- Singh, B.K., Bardgett, R.D., Smith, P., Reay, D.S., 2010. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nat. Rev. Microbiol.* 8, 779–90.
- Souza, C.L., Chernicharo, C. a L., Melo, G.C.B., 2012. Methane and hydrogen sulfide emissions in UASB reactors treating domestic wastewater. *Water Sci. Technol.* 65, 1229–37.
- Su, J.-J., Chang, Y.-C., Chen, Y.-J., Chang, K.-C., Lee, S.-Y., 2013. Hydrogen sulfide removal from livestock biogas by a farm-scale bio-filter desulfurization system. *Water Sci. Technol.* 67, 1288–93.
- Tang, K., Baskaran, V., Nemati, M., 2009. Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochem. Eng. J.* 44, 73–94.

Van der Ha, D., Bundervoet, B., Verstraete, W., Boon, N., 2011. A sustainable, carbon neutral methane oxidation by a partnership of methane oxidizing communities and microalgae. *Water Res.* 45, 2845–54.

Van Haandel, A., Kato, M.T., Cavalcanti, P.F.F., Florencio, L., 2006. Anaerobic Reactor Design Concepts for the Treatment of Domestic Wastewater. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 5, 21–38.

Zúñiga, N.C., 2010. Degradación de metano en reactores de partición de dos fases líquidas y acumulación de PHB. Universidad Autónoma Metropolitana.

8. ANEXOS

Anexo 1. Análisis estadístico.

Para dicho análisis se consideró que cada una de las concentraciones usadas de H₂S corresponden a con los sujetos y el factor que define la tendencia entre los sujetos es el tipo de material. Mientras que el factor entre los sujetos es el tiempo en el que se efectuó la medición de la eliminación de CH₄. El nivel de significancia para la comparación estadística fue $2\alpha=0.05$. Para el contraste de medidas fue usada la prueba de Holm-Sidak, con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Resumen del procedimiento

Variable dependiente: Capacidad de eliminación de CH₄.

Factores: Carga másica de H₂S, tiempo de operación.

Análisis de la varianza para la capacidad de eliminación.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Coefficiente-F	P-valor
A:Concentración de H ₂ S	456.5	2	228.25		
B:Material	21181.255	2	10590.628	57.455	0.001
A x B	737.318	4	184.329		
C: Tiempo	429.549	6	71.592	0.629	0.705
C x A	1365.073	12	113.756		
B x C	942.49	12	78.541	0.607	0.815
Residual	3104.94	24	129.372		
Total	28217.125	62	455.115		

- La diferencia en los valores medios entre los diferentes materiales es estadísticamente significativa ($P = 0.001$).
- La diferencia en los valores medios entre los diferentes niveles de tiempo (días) no es lo suficientemente grande como para excluir la posibilidad de que la diferencia es sólo debido a la variabilidad de muestreo aleatorio. No hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.705$).
- No hay una interacción estadísticamente significativa entre el material y el tiempo (días) ($P = 0.815$).

Procedimiento

Medias por minimos cuadrados.

Material de empaque	Media
C:Composta	46.299
P:Esponja de poliuretano	10.583
R:Anillos Raschig	4.857
Error estándar	2.963

Tiempo (días)	Media
1	25.719
2	20.708
3	17.588
4	22.673
5	18.447
6	18.786
7	20.137
Error estándar	3.555

Material x tiempo	Media
C x 1	53.3
C x 2	46.9
C x 3	31.433
C x 4	50.767
C x 5	44.173
C x 6	45.727
C x 7	51.794
P x 1	17.767
P x 2	9.133
P x 3	14.733
P x 4	10.147
P x 5	9.14
P x 6	7.08
P x 7	6.08
R x 1	6.09
R x 2	6.091

R x 3	6.597
R x 4	7.107
R x 5	2.027
R x 6	3.55
R x 7	2.537
Error estándar	6.567

Procedimientos por parejas múltiples (método de comparación Holm- Sidak)

Comparación entre materiales				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.050
C vs. R	41.442	9.891	0.002	Yes
C vs. P	35.716	8.524	0.002	Yes
P vs. R	5.726	1.367	0.244	No

Comparación entre el tiempo de operación				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.050
1 vs. 3	8.131	1.617	0.949	No
1 vs. 5	7.272	1.446	0.978	No
1 vs. 6	6.933	1.379	0.983	No
1 vs. 7	5.582	1.11	0.998	No
4 vs. 3	5.086	1.011	0.999	No
1 vs. 2	5.011	0.997	0.999	No
4 vs. 5	4.227	0.841	1	No
4 vs. 6	3.888	0.773	1	No
2 vs. 3	3.12	0.621	1	No
1 vs. 4	3.046	0.606	1	No
7 vs. 3	2.549	0.507	1	No
4 vs. 7	2.537	0.505	1	No
2 vs. 5	2.262	0.45	1	No
4 vs. 2	1.965	0.391	1	No
2 vs. 6	1.923	0.382	1	No
7 vs. 5	1.69	0.336	1	No
7 vs. 6	1.351	0.269	1	No
6 vs. 3	1.198	0.238	0.999	No
5 vs. 3	0.859	0.171	0.998	No
2 vs. 7	0.571	0.114	0.992	No
6 vs. 5	0.339	0.0674	0.947	No

Comparación: tiempo (días) con Composta				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
1 vs. 3	21.867	2.403	0.367	No
7 vs. 3	20.36	2.238	0.473	No
4 vs. 3	19.333	2.125	0.545	No
2 vs. 3	15.467	1.7	0.843	No
6 vs. 3	14.293	1.571	0.897	No
5 vs. 3	12.74	1.4	0.949	No
1 vs. 5	9.127	1.003	0.997	No
7 vs. 5	7.62	0.838	0.999	No
1 vs. 6	7.573	0.832	0.999	No
4 vs. 5	6.593	0.725	1	No
1 vs. 2	6.4	0.703	0.999	No
7 vs. 6	6.067	0.667	0.999	No
4 vs. 6	5.04	0.554	1	No
7 vs. 2	4.894	0.538	0.999	No
4 vs. 2	3.867	0.425	1	No
2 vs. 5	2.727	0.3	1	No
1 vs. 4	2.533	0.278	1	No
6 vs. 5	1.553	0.171	1	No
1 vs. 7	1.506	0.166	0.998	No
2 vs. 6	1.173	0.129	0.99	No
7 vs. 4	1.027	0.113	0.911	No

Comparación: tiempo (días) con esponja de poliuretano				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
1 vs. 7	11.687	1.284	0.992	No
1 vs. 6	10.687	1.175	0.997	No
3 vs. 7	8.653	0.951	1	No
1 vs. 2	8.633	0.949	1	No
1 vs. 5	8.627	0.948	0.999	No
3 vs. 6	7.653	0.841	1	No
1 vs. 4	7.62	0.838	1	No
3 vs. 2	5.6	0.616	1	No
3 vs. 5	5.593	0.615	1	No
3 vs. 4	4.587	0.504	1	No
4 vs. 7	4.067	0.447	1	No
4 vs. 6	3.067	0.337	1	No
5 vs. 7	3.06	0.336	1	No
2 vs. 7	3.053	0.336	1	No

1 vs. 3	3.033	0.333	1	No
5 vs. 6	2.06	0.226	1	No
2 vs. 6	2.053	0.226	1	No
4 vs. 2	1.013	0.111	1	No
4 vs. 5	1.007	0.111	0.999	No
6 vs. 7	1	0.11	0.992	No
5 vs. 2	0.00667	0.000733	0.999	No

Comparación: tiempo (días) con anillos Raschig				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
4 vs. 5	5.08	0.558	1	No
4 vs. 7	4.57	0.502	1	No
3 vs. 5	4.57	0.502	1	No
2 vs. 5	4.065	0.447	1	No
1 vs. 5	4.063	0.447	1	No
3 vs. 7	4.06	0.446	1	No
4 vs. 6	3.557	0.391	1	No
2 vs. 7	3.555	0.391	1	No
1 vs. 7	3.553	0.391	1	No
3 vs. 6	3.047	0.335	1	No
2 vs. 6	2.541	0.279	1	No
1 vs. 6	2.54	0.279	1	No
6 vs. 5	1.523	0.167	1	No
4 vs. 1	1.017	0.112	1	No
4 vs. 2	1.015	0.112	1	No
6 vs. 7	1.013	0.111	1	No
7 vs. 5	0.51	0.0561	1	No
4 vs. 3	0.51	0.0561	1	No
3 vs. 1	0.507	0.0557	1	No
3 vs. 2	0.505	0.0555	0.998	No
2 vs. 1	0.00133	0.000147	1	No

Comparación del tipo de material al tiempo 1 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	47.21	4.936	<0.001	Si
C vs. P	35.533	3.715	0.002	Si
P vs. R	11.677	1.221	0.233	No

Comparación del tipo de material al tiempo 2 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	40.809	4.267	<0.001	Si
C vs. P	37.767	3.949	<0.001	Si
P vs. R	3.042	0.318	0.753	No

Comparación del tipo de material al tiempo 3 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	24.837	2.597	0.044	Si
C vs. P	16.7	1.746	0.176	No
P vs. R	8.137	0.851	0.402	No

Comparación del tipo de material al tiempo 4 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	43.66	4.565	<0.001	Si
C vs. P	40.62	4.247	<0.001	Si
P vs. R	3.04	0.318	0.753	No

Comparación del tipo de material al tiempo 5 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	42.147	4.407	<0.001	Si
C vs. P	35.033	3.663	0.002	Si
P vs. R	7.113	0.744	0.463	No

Comparación del tipo de material al tiempo 6 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	42.177	4.41	<0.001	Si
C vs. P	38.647	4.041	<0.001	Si
P vs. R	3.53	0.369	0.715	No

Comparación del tipo de material al tiempo 7 (días)				
Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0.05
C vs. R	49.257	5.15	<0.001	Si
C vs. P	45.714	4.779	<0.001	Si
P vs. R	3.543	0.37	0.714	No

Anexo 2. Modelos matemáticos ajustados a los datos experimentales

Primer cinética (Biomasa 130mg SST•L⁻¹)

Concentración de H ₂ S (ppm _v)	Modelo $MC_{CH_4} = \frac{a}{1+e^{(b-c)t}}$		r ²	
50		Repetición		Repetición
	a=0.0259	a=0.0294	0.999378	0.999947
	b=3.5288	b=4.5808		
	c=1.6205	c=1.6050		
75		Repetición		Repetición
	a=0.0244	a=0.0278	0.999962	0.999946
	b=5.9260	b=5.3173		
	c=1.9712	c=1.6833		
100		Repetición		Repetición
	a=0.0156	a=0.03805	0.999926	0.999554
	b=7.011	b=5.3462		
	c=2.5582	c=1.2926		
150	a=0.1041 b=5.0031 c=0.8821		0.999724	
200		Repetición		Repetición
	a=0.0396	a=0.0772	0.997631	0.997328
	b=3.1650	b=4.1173		
	c=0.5712	c=0.6356		
300	a=4.42665 b=8.714 c=0.6570		0.999388	

Segunda cinética (Biomasa 95mg SST•L⁻¹)

Concentración de H ₂ S (ppm _v)	Modelo $MC_{CH_4} = \frac{a}{1+e^{(b-c)t}}$		r ²	
300	a=0.05756		0.99852	
	b=3.77603			
	c=0.68423			
200	a=0.01467		0.99977	
	b=1.79809			
	c=0.88845			
400		Repetición		Repetición
	a=0.02122	a=0.00909	0.999637	0.999753
	b=3.5385	b=2.78639		
	c=0.77573	c=1.42853		
500	a=0.32524		0.999995	
	b=8.36613			
	c=0.1.0028			
750		Repetición		Repetición
	a=0.025405	a=5.19961	0.999547	0.99787
	b=3.29381	b=11.8959		
	c=0.612992	c=1.17578		
1000		Repetición		Repetición
	a=1.45366	a=0.00802	0.999962	0.999905
	b=11.1177	b=3.7517		
	c=1.23949	c=1.16591		

Anexo 3. Curva de calibración de sulfatos (SO₄²⁻)

