

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»
«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»
«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»
«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

**“DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO DE UN COMPLEJO BIOLÓGICO DE
MICROORGANISMOS PARA EL TRATAMIENTO Y ELIMINACIÓN DE
H₂S EN UNA CORRIENTE DE BIOGÁS”**

TESIS

QUE PRESENTA

EDUARDO SHARINI MUÑOZ EQUIHUA

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN BIOCIENCIAS

DIRECTOR

DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN

CO-DIRECTOR

DR. SANTIAGO GUTIÉRREZ VARGAS

Irapuato, Gto., Agosto de 2024.

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»

«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»

«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»

«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0418/2024.

Asunto: TEMA DE TRABAJO.

C.

DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación del C. **Eduardo Sharini Muñoz Equihua**, me permito comunicar a Usted que el tema señalado fue:

“DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO DE UN COMPLEJO BIOLÓGICO DE MICROORGANISMOS PARA EL TRATAMIENTO Y ELIMINACIÓN DE H₂S EN UNA CORRIENTE DE BIOGÁS”.


Y que dicho trabajo ha sido totalmente elaborado y cuenta con mi aprobación.

Asimismo, me permito proponer a:

**DR. JOSÉ ELEAZAR BARBOZA CORONA
DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCON CASTRO
DR. RUBEN SALCEDO HERNÁNDEZ
DR. CARLOS EDUARDO MOLINA GUERRERO**

Para que junto conmigo integren el Jurado.

A T E N T A M E N T E
“LA VERDAD OS HARA LIBRES”
Irapuato, Gto., 8 de Agosto de 2024.
DIRECTOR DE TESIS


DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN.

**CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA**

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao.

C.P.36824 A.P. 311. Irapuato, Gto., México.

Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»

«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»

«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»

«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0419/2024.

Asunto: REVISIÓN DE TESIS.

Irapuato, Gto., 12 de Agosto de 2024.

C.

DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA,
P R E S E N T E.

Habiendo revisado la Tesis del Pasante C. **Eduardo Sharini Muñoz**
Equihua

Titulada:

**“DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO DE UN COMPLEJO BIOLÓGICO DE
MICROORGANISMOS PARA EL TRATAMIENTO Y ELIMINACIÓN DE H₂S EN
UNA CORRIENTE DE BIOGÁS”**

Damos nuestra aprobación para la impresión de la misma.

DIRECTOR

DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN

SINODAL

DR. JOSÉ ELÉAZAR BARBOZA CORONA

SINODAL

DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO

SINODAL

DR. RUBÉN SALCEDO HERNÁNDEZ

SINODAL

DR. CARLOS EDUARDO MOLINA GUERRERO

**CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA**

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao.

C.P.36824 A.P. 311. Irapuato, Gto., México.

Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx



-2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.-

-2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.-

-2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.-

-30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

C.

DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación del C. **Eduardo Sharini Muñoz Equihua**, nos permitimos comunicar a Usted que el trabajo de Tesis: **"DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO DE UN COMPLEJO BIOLÓGICO DE MICROORGANISMOS PARA EL TRATAMIENTO Y ELIMINACIÓN DE H₂S EN UNA CORRIENTE DE BIOGÁS"**, que fue desarrollado bajo la dirección de la Dra. Ma. Fabiola León Galván profesora de la División de Ciencias de la Vida, y la Co-Dirección del Dr. Santiago Gutiérrez Vargas, ha sido terminado. El escrito fue revisado por el Dr. José Eleazar Barboza Corona, la Dra. María Cristina del Rincón Castro, el Dr. Rubén Salcedo Hernández y el Dr. Carlos Eduardo Molina Guerrero y se autorizó la impresión y empastado del mismo.

Así mismo, nos permitimos proponer para la integración del Jurado a los Señores;

DR. JOSÉ ELEAZAR BARBOZA CORONA	PRESIDENTE
DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO	SECRETARIO
DR. RUBEN SALCEDO HERNÁNDEZ	VOCAL
DR. CARLOS EDUARDO MOLINA GUERRERO	VOCAL
DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN	VOCAL

A T E N T A M E N T E
"LA VERDAD OS HARA LIBRES"
Irapuato, Gto., 14 de Agosto de 2024.

DIRECTOR

DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN

REVISOR

DR. JOSÉ ELEAZAR BARBOZA CORONA

REVISOR

DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO

REVISOR

DR. RUBÉN SALCEDO HERNÁNDEZ

REVISOR

DR. CARLOS EDUARDO MOLINA GUERRERO.

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao.

C.P.36824 A.P. 311. Irapuato, Gto., México.

Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»
«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»
«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»
«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISION DE CIENCIAS DE LA VIDA.

DIRECCION.

Oficio: DICIVA/0435/2024.

Asunto: **Autorización de Modalidad de Titulación.**

C.

EDUARDO SHARINI MUÑOZ EQUIHUA,
DOCTORADO EN BIOCENCIAS,
P R E S E N T E.

Por medio de la presente y una vez revisado que ha cumplido íntegramente el plan de estudios del Programa Académico y, con base en el Artículo 79 del Reglamento Académico de la Normatividad de la Universidad de Guanajuato, me permito indicarle que doy mi autorización para que se titule por la **modalidad de Trabajo de Tesis.**

Sin otro asunto y enviándole un cordial saludo, se despide.

A T E N T A M E N T E

“LA VERDAD OS HARA LIBRES”

Irapuato, Gto., 26 de Agosto de 2024.

EL DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA


DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR.



C.c.p. Archivo.
RCS/mcla

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km. 9 Carretera Irapuato-Silao;
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 01 (462) 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx

Resumen

En este trabajo se estudiaron los medios de cultivo así como las variables termodinámicas para eliminación de H_2S mediante métodos biológicos. Debido a que este es un compuesto no deseable por ser corrosivo durante el proceso de combustión de biogás, así como su exposición puede ser tóxica para los seres humanos y animales; se hace esencial su remoción.

Dado que en la actualidad los principales métodos de eliminación de H_2S son mediante técnicas fisico-químicas; en el presente trabajo se consideraron varias temperaturas (10, 20 y 30°C), así como distintos tiempos de residencia (47, 94 y 141 segundos) para determinar la mejor cinética de eliminación de altas concentraciones de H_2S (3000-5000 ppm) mediante métodos biológicos.

A partir de los resultados que se obtuvieron se puede concluir que la temperatura y tiempo de residencia adecuados son indispensables para una remoción eficiente de H_2S .

Finalmente, se ha mostrado la factibilidad técnica del uso de un sistema de biofiltración como alternativa a los métodos fisico-químicos que actualmente se emplean para la eliminación de H_2S de las corrientes de biogás.

Palabras clave: Biogás, biofiltración, sulfuro de hidrógeno, ácido sulfhídrico

Abstract

In this work, the culture media as well as the thermodynamic variables for H_2S removal by biological methods were studied. Because this is an undesirable compound because it is corrosive during the biogas combustion process, and its exposure can be toxic to humans and animals, its removal is essential.

Since currently the main methods for H_2S removal are by physical-chemical techniques, in this work various temperatures (10, 20 and 30°) were considered, as well as different residence times (47, 94 and 141 seconds) to determine the best kinetics for removing high concentrations of acid (3000-5000 ppm) by biological methods.

From the results obtained, it can be concluded that the appropriate temperature and residence time are essential for efficient H_2S removal.

Finally, the technical feasibility of using a biofiltration system as an alternative to the physicochemical methods currently used to remove H_2S from biogas streams has been shown.

Keywords: Biogas, biofiltration, hydrogen sulphide, sulphidric acid

Índice general

Índice de figuras	VI
Índice de tablas	VIII
1. Marco Teórico	1
1.1. Biogás	1
1.1.1. Digestión Anaerobia	1
1.2. Contaminantes del biogás	3
1.3. Sulfuro de Hidrógeno	6
1.3.1. Técnicas fisicoquímicas	7
1.3.2. Métodos biológicos	10
2. Justificación	16
3. Hipótesis	17
4. Objetivos	18
4.1. Objetivo General	18
4.2. Objetivos Especificos	18
5. Metodología	19
5.1. Diseño del filtro	19
5.2. Aislamiento de microorganismos	20
5.2.1. Muestreo	20
5.2.2. Microorganismos presentes en vermicomposta	20
5.2.3. Identificación molecular	21
5.3. Determinación de las variables termodinámicas.	22
5.4. Cinética de eliminación	22
5.4.1. Crecimiento en medio sólido	23
5.5. Proceso de biofiltración	23
5.5.1. Prueba piloto	23
5.5.2. Prueba de saturación del soporte orgánico	23
5.6. Comparación de medios filtrantes	25
5.7. Análisis de azufre	25

6. Resultados y discusión	27
6.1. Diseño del biofiltro	27
6.2. Aislamiento de microorganismos	29
6.3. Identificación molecular	29
6.4. Crecimiento en medio sólido	31
6.5. Determinación de la eficiencia de remoción	32
6.5.1. Inoculación con YPD	32
6.5.2. Inoculación con LB	34
6.5.3. Inoculación con YPD-LB 1:1	34
6.6. Prueba piloto	36
6.7. Prueba de saturación del soporte orgánico	38
6.8. Comparación de materiales filtrantes	39
6.9. Análisis de Azufre	41
7. Conclusiones	46
Bibliografía	47

Índice de figuras

1.1.	Diagrama del proceso de digestión anaerobia para la producción de biogás.	2
1.2.	Biolavador (Delhoménie and Heitz, 2005)	12
1.3.	Biofiltro (Delhoménie and Heitz, 2005)	13
1.4.	Biofiltro de escurrimiento (Delhoménie and Heitz, 2005)	14
5.1.	Estrategia Experimental	19
5.2.	Termociclador C1000 Thermal Cycler (Biorad)	21
5.3.	Diagrama de flujo del sistema de biofiltración. (1) Almacen de biogás (2) Bomba de recirculación (3) Termómetro de entrada (4) Soporte orgánico empacado (5) Termómetro interno (6) Termómetro de salida (7) Almacen de agua (8) Sistema de calentamiento (9) Termómetro del sistema de recirculación (10) Bomba de recirculación	24
5.4.	Analizador Gasboard 3200L	24
5.5.	Equipo de Microscopia Electronica de Barrido JSM-6010PLUS/LA	26
5.6.	Equipo de Difracción de Rayos X Rigaku Next CG	26
6.1.	Diseño del prototipo del biofiltro	28
6.2.	Prototipo del sistema de biofiltración. a) Prototipo nivel laboratorio; b) Sistema de lecho empacado; c) Sistema de enchaquetado; d) Termómetros (1.-Entrada; 2.-Filtro; 3.-Salida)	28
6.3.	Biofiltro (Chen et al., 2016)	29
6.4.	Biofiltro (Arellano-García et al., 2009)	29
6.5.	Placas petri	30
6.6.	Gel de agarosa con las muestras de PCR colonia. Carriles: 1) Marcador de peso molecular 2) Muestra MT3S 3) Muestra MT14F 4) Muestra MT5F 5) Muestra MT22S 6) Muestra MT18S 7) Muestra MT25F 8) Muestra MT10F 9) Muestra MT1F 10) Muestra MT15S 11) Muestra MT5S 12) Muestra MT20F 13) Muestra MT22S 14) Muestra MT99F 15) Muestra MT24S	30
6.7.	Sistema de fermentación en medio sólido	31
6.8.	Crecimiento de los inóculos durante el proceso de fermentación en estado sólido	32
6.9.	Eficiencia de eliminación del soporte orgánico con los diferentes inóculos y temperaturas de 10, 20 y 30°C con diferentes tiempos de residencia	37
6.10.	Concentraciones de H_2S durante el proceso de filtración con los soportes orgánicos inoculados con los medios LB, YPD and LB+ YPD (L+Y) en temperaturas de 10, 20 y 30°C con diferentes tiempos de residencia	37
6.11.	Eficiencia del proceso de eliminación de H_2S en la prueba piloto realizada	38
6.12.	Concentración de metano (CH_4) durante el proceso de eliminación de H_2S en la prueba piloto realizada	39

6.13. Eficiencia del proceso de eliminación de H_2S en la prueba de saturación del soporte orgánico	40
6.14. Concentración de metano (CH_4) en la prueba de saturación del soporte orgánico . . .	40
6.15. Concentración de H_2S en los diferentes materiales utilizados como medio filtrante . . .	41
6.16. Eficiencia de eliminación de H_2S de los diferentes materiales utilizados como medio filtrante	42
6.17. Microscopia Electrónica de Barrido del soporte orgánico antes de su inoculación y uso como filtro de biogás. a)(SEI, 5kV, WD9mm, x1000); b)(SEI, 5kV, WD9mm, x2500); c)(SEI, 5kV, WD9mm, x10000)	43
6.18. Microscopia Electrónica de Barrido del soporte orgánico posterior a su inoculación y uso como filtro del biogás. a)(SEI, 5kV, WD9mm, x5000); b)(SEI, 5kV, WD9mm, x6500); c)(SEI, 5kV, WD9mm, x12000)	44

Índice de tablas

1.1.	Clasificación de los digestores anaerobios. (Korres et al., 2013)	3
1.2.	Factores importantes dentro de la digestión anaerobia. (Korres et al., 2013)	4
1.3.	Composición del biogás. (Ford, 2012)	4
1.4.	Condiciones ambientales e inhibidores durante la producción de biogás. (Kumar, 2012)	4
1.5.	Principales contaminantes del biogás y posible impacto en su aplicación. (Korres et al., 2013)	5
1.6.	Fuentes de energía de quimiotrófos (Syed et al., 2006)	11
1.7.	Características de los principales biorreactores. (Delhoménie and Heitz, 2005)	15
5.1.	Medios enriquecidos para el crecimiento de microorganismos	20
5.2.	Parámetros del biogás crudo utilizado para la prueba de saturación del soporte orgánico	25
5.3.	Parámetros del biogás crudo utilizado para la prueba con diversos medios filtrantes	25
6.1.	Microorganismos identificados en el crecimiento en cajas petri	31
6.2.	Concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 , H_2S y porcentaje de eficiencia de filtración con soporte orgánico inoculado con medio YPD a temperaturas de 10, 20 y 30°C en tres diferentes tiempos de residencia	33
6.3.	Concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 , H_2S y porcentaje de eficiencia de filtración con soporte orgánico inoculado con medio LB a temperaturas de 10, 20 y 30°C en tres diferentes tiempos de residencia	35
6.4.	Concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 , H_2S y porcentaje de eficiencia de filtración con soporte orgánico inoculado con medio LB y YPD relación 1:1, a temperaturas de 10, 20 y 30°C en tres diferentes tiempos de residencia	36
6.5.	Análisis del porcentaje en masa de elementos presentes en el soporte orgánico, anterior y posterior a uso como filtro de biogas, mediante difracción de Rayos X	42

Introducción

El uso de biocombustibles como fuentes de energía ha aumentado a nivel internacional; principalmente el biogás ha generado interés en el ámbito ambiental e industrial ya que su contenido energético es alto y se evita la liberación de gases de efecto invernadero (Abatzoglou and Boivin, 2009; Ford, 2012; Kumar, 2012; Naegele et al., 2013). El potencial de este biocombustible es muy amplio si se considera la teóricamente ilimitada disponibilidad de materia prima; ya que como fuente de sustrato, se pueden utilizar: desechos de plantas de tratamientos de aguas residuales, desechos orgánicos agroindustriales, estiércol de cerdo, agua residual de destilerías, residuos de ganado y también fracción orgánica de basura (Kleerebezem and Mendez, 2002; Lastella et al., 2002); teniendo como uso energético calefacción, alumbrado y/o electricidad.

El biogás es una mezcla de gases generada por digestión anaerobia; su principal componente es el metano (CH_4) en un rango del 50 al 75 %, sin embargo, en el proceso de la digestión microbiana se pueden llegar a generar otros gases traza como oxígeno, nitrógeno, vapor de agua y ácido sulfhídrico (H_2S) (Abbasi et al., 2012; Ford, 2012; Varnero et al., 2012). En particular, el H_2S es indeseable en una corriente de biogás, debido a que genera corrosión en la maquinaria en la cual se utiliza como combustible, se pueden formar compuestos como SO_2 y SO_3 durante la combustión del biogás y concentraciones elevadas de H_2S pueden resultar nocivas para las personas afectando sistema respiratorio, nervioso y cardiovascular (Stanek et al., 2011) 10 ppm es la concentración máxima segura para la exposición a este compuesto. Por ello se hace necesaria la remoción de H_2S en las corrientes de biogás.

Actualmente existen tecnologías para la purificación del biogás las cuales pueden ser fisicoquímicas o biológicas. Dentro de las primeras se encuentran los métodos de adsorción, el cual se basa en la capacidad de ciertos sólidos de extraer con preferencia determinadas sustancias de una solución, concentrándola sobre su superficie por adherencia; el adsorbente más empleado es el carbón activado debido a su amplia área de superficie y grupos funcionales (Llaneza et al., 2010; Viera et al., 2015). Los métodos de absorción se basan en la transferencia de masa entre la sustancia gaseosa a depurar y un líquido absorbedor; los sistemas más empleados son la absorción con compuestos de hierro, absorción con compuestos orgánicos y absorción con agua. No obstante, la aplicación de los métodos de absorción química tienen como limitantes que requieren del empleo de sustancias reactivas, de las cuales la mayoría son corrosivas sin mencionar la disposición de los desechos generados por estos métodos (Dubois and Thomas, 2010; Varnero et al., 2012). La separación mediante membranas también es una técnica física que se basa en la difusión de algunos compuestos que pasan a través de una membrana selectiva. A pesar de que los

métodos físico-químicos son rápidos y eficientes, su costo y producción de contaminantes secundarios es desfavorable. Debido a ello, se han desarrollado métodos biológicos para la eliminación de H_2S (Delhoménie and Heitz, 2005; Fan et al., 2011; Varnero et al., 2012; Ho et al., 2013; Viera et al., 2015). Los métodos biológicos son los procesos con la mayor relación costo-eficiencia y son ambientalmente amigables; estos se basan en la capacidad de ciertos microorganismos sulfo-oxidantes para oxidar compuestos reducidos de azufre transformándolos en azufre elemental (S^0) o sulfatos $(SO_4)^{-2}$.

En la actualidad los principales métodos de eliminación de H_2S son mediante técnicas físico-químicas. En este trabajo se estudió la remoción de H_2S mediante métodos biológicos, considerando variables como la temperatura (10, 20 y 30°C) y tiempo de residencia (47, 94 y 141 segundos) para determinar la mejor cinética de eliminación de altas concentraciones de H_2S (3000-5000 ppm). A partir de los resultados que se obtuvieron se puede concluir que las variables propuestas son indispensables para una remoción eficiente de H_2S , mostrando así la factibilidad técnica del uso de un sistema de biofiltración como alternativa a los métodos físico-químicos que actualmente se emplean para la eliminación de H_2S de las corrientes de biogás.

Capítulo 1

Marco Teórico

1.1. Biogás

Actualmente se ha visto un gran interés a nivel internacional en el uso de biocombustibles para su uso como fuentes de energía, estos pueden ser bioetanol, biodiesel o biogás; este último ha generado especial interés tanto en la industria como dentro de los grupos ambientalistas debido principalmente que: (i) Su liberación en la atmósfera contribuye al efecto invernadero con consecuencias y costos de remediación significativos, y (ii) su contenido energético es alto y su explotación representa ingresos significativos o costos evitados. (Abatzoglou and Boivin, 2009; Ford, 2012; Kumar, 2012; Naegele et al., 2013). El biogás es una mezcla de gases generada cuando la materia orgánica experimenta una digestión anaerobia (AD por sus siglas en inglés). El potencial de este biocombustible es enorme, considerando la teóricamente ilimitada disponibilidad de la materia prima, ya que el proceso de AD se puede realizar a partir de desechos de plantas de tratamiento de aguas residuales y orgánicos agroindustriales (Ford, 2012; Korres et al., 2013), así como diferentes tipos de sustratos para su producción, como pueden ser: estiércol de cerdo, agua residual de destilerías, residuos de ganado, fracción orgánica de basura, lodos de aguas residuales municipales, incluyendo también aguas residuales de la industria del pescado (Kleerebezem and Mendez, 2002; Lastella et al., 2002).

En 2006 la Agencia Europea del Medio Ambiente definió el biogás como: *Un gas, rico en metano (CH_4) que se produce mediante la fermentación de estiércol de animales, aguas residuales de desecho humano o residuos de cultivos en un contenedor hermético. Se utiliza como combustible para estufas, lámparas, pequeñas máquinas y para generar electricidad. Los residuos de la producción de biogás son usados como fertilizante orgánico de bajo grado. Los combustibles de biogás no suelen causar ninguna contaminación a la atmósfera y, debido a que provienen de fuentes de energía renovable, tienen gran potencial para su uso futuro.*(Ford, 2012).

1.1.1. Digestión Anaerobia

Generalmente, el proceso de digestión anaerobia tiene cuatro etapas: 1) hidrólisis, 2) acidogénesis, 3) acetogénesis y 4) metanogénesis (Lorenzo Acosta and Obaya Abreu, 2005;

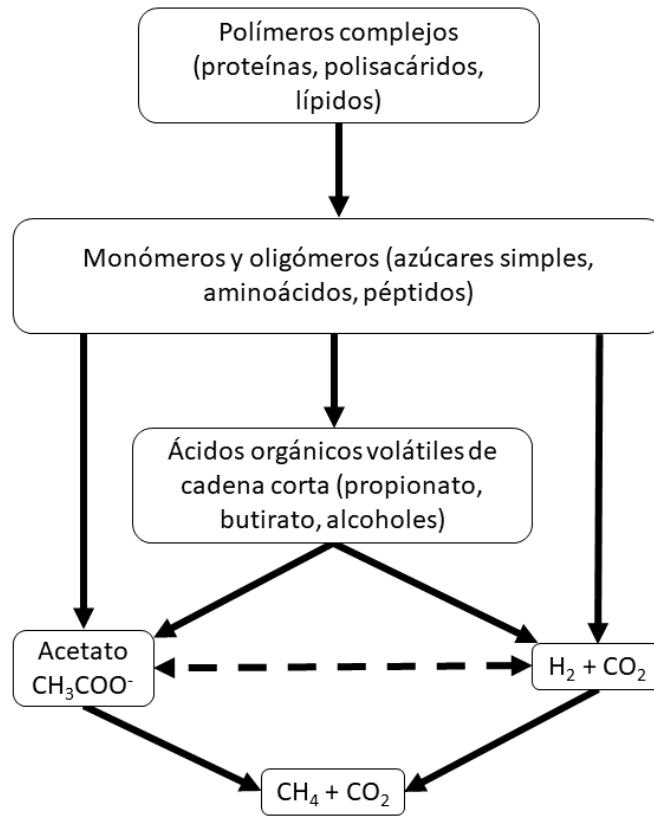


Figura 1.1: Diagrama del proceso de digestión anaerobia para la producción de biogás.

Kumar, 2012) Figura (1.1).

Hidrólisis

En esta etapa los compuestos orgánicos son solubilizados por enzimas secretadas por bacterias hidrolíticas que actúan en el exterior celular por lo que se consideran exoenzimas. La hidrólisis es, por lo tanto, la conversión de los polímeros en sus respectivos monómeros.

Acidogénesis

En esta etapa los compuestos orgánicos solubles que comprenden los productos de la hidrólisis son convertidos en ácidos orgánicos tales como acético, propiónico y butírico, principalmente.

Acetogénesis

Se le conoce también como acidogénesis intermediaria en la cual los productos correspondientes son convertidos en ácido acético, hidrógeno y CO_2 .

Metanogénesis

En esta etapa metabólica el CH_4 es producido a partir del ácido acético o de mezclas de H_2 y CO_2 , pudiendo formarse también a partir de otros sustratos tales como ácido fórmico y metanol. El rol de las bacterias metanogénicas se define por el tipo de sustrato disponible. La producción de metano a partir de acetato se conoce como acetoclástica,

mientras que la generación a partir de hidrógeno, se conoce como hidrogenotrófica.

De acuerdo a su diseño y configuración, los digestores anaerobios pueden tener diversas clasificaciones basados en el contenido sólido seco (DS por sus siglas en inglés) del sustrato de alimentación (Tabla 1.1) (Korres et al., 2013). Existen también diversos factores a tomarse en cuenta en el desarrollo de la industria de la digestión anaerobia (Tabla 1.2) (Korres et al., 2013). Los principales componentes de esta mezcla son el metano(CH_4), en un rango del 50 al 75 %, y el dióxido de carbono (CO_2), en un rango del 25 al 50 % además de otros gases traza como oxígeno, nitrógeno, vapor de agua y sulfuro de hidrógeno (Tabla 1.3) (Abbasi et al., 2012; Ford, 2012; Varnero et al., 2012), así como algunos compuestos contaminantes como siloxanos, hidrocarburos y compuestos halogenados (Arespacochaga et al., 2014) y puede presentar diversos usos energéticos, como calefacción, alumbrado o electricidad (Ford, 2012; Varnero et al., 2012; Wellinger et al., 2013). Sin embargo existen condiciones ambientales así como compuestos inhibidores que se pueden formar durante el proceso de digestión anaerobia (Tabla 1.4) los cuales pueden hacer que varíe la composición final del biogás(Kumar, 2012; Korres et al., 2013).

Tabla 1.1: Clasificación de los digestores anaerobios. (Korres et al., 2013)

Clasificación	Tipo de digestor
Alimentación del sustrato	Batch y digestor continuo
Temperatura de operacion	Mesofílico, termofílico y psicofílico
Contenido DS del sustrato	Digestor seco y húmedo
Tipo de sustrato	Alto contenido de sólidos (20-40 % DS) y bajo contenido de sólidos (20 % DS)
Complejidad de proceso AD	Etapas simple / multietapas / multifase
Escala del digestor	Granja familiar, procesamiento de alimentos y digestor centralizado

1.2. Contaminantes del biogás

Adicionalmente al CH_4 y el CO_2 , el biogás contiene humedad, polvo, compuestos azufrados y compuestos traza orgánicos, los cuales presentan un impacto negativo en el uso del biogás. En la Tabla (1.5) se presentan los principales contaminantes del biogás y el posible impacto que pueden tener (Korres et al., 2013).

Partículas sólidas y agua

El biogás puede contener partículas de polvo y vapor de agua; estos componentes son removidos para prevenir corrosión en los equipos en los cuales se utilice. La cantidad del

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

Tabla 1.2: Factores importantes dentro de la digestión anaerobia. (Korres et al., 2013)

Técnicos	Biológicos	Económicos	Ambientales y de regulación
Diseño del reactor. Sistema de control de proceso. Productos finales y procesamiento. Operaciones del digestor. Régimen de operación de temperatura. Tipo de materia prima. Escala del proceso.	Estabilización del digestato. Estabilización del inóculo. Características de la materia prima. Mono o co-digestión. Substancias inhibitorias.	Capital, costo y financiamiento. Incentivos. Co-productos y mercados. Digestores en granja o centralizados.	Colección de materia prima. Conexiones de utilidad. Permisos y aprobaciones regulatorias. Problemas de manejo de nutrientes.

Tabla 1.3: Composición del biogás. (Ford, 2012)

Componente	Porcentaje (%)
Metano	50-75
Dióxido de carbono	25-50
Nitrógeno	0-10
Hidrógeno	0-1
Sulfuro de hidrógeno	0-3
Oxígeno	0-2

Tabla 1.4: Condiciones ambientales e inhibidores durante la producción de biogás. (Kumar, 2012)

Parámetros de operación	Inhibidores
Presión parcial de hidrógeno	Oxígeno
Concentración de microorganismos	Compuestos azufrados
Tipo de sustrato	Ácidos orgánicos (ácidos grasos y aminoácidos)
Cultivo, agitación y volumen de carga	Nitratos (NO_3^-)
Luz	Amonio (NH_4^+)
Temperatura	Amoniaco (NH_3)
pH (acidez y alcalinidad)	Metales pesados
Proporción de carga orgánica	Taninos
Nutrientes (C/N/P)	Desinfectantes, herbicidas e insecticidas
Elementos traza	Grado de descomposición de la materia orgánica
Precipitados	Espuma

Tabla 1.5: Principales contaminantes del biogás y posible impacto en su aplicación. (Korres et al., 2013)

Contaminante	Posible impacto
Polvo, espuma y partículas sólidas	Obstrucción de las tuberías, compresores y tanques de almacenamiento.
Agua	Corrosión en las tuberías, compresores, tanques de almacenamiento y maquinaria. Formación de ácidos por reacción con H_2S y CO_2 . Condensación y/o congelamiento.
H_2S	Corrosión en los compresores, tanques de almacenamiento y maquinaria. Concentraciones elevadas pueden resultar nocivas para los operadores. Formación de SO_2 y SO_3 durante la combustión del biogás.
CO_2	Disminución del poder calorífico.
Siloxanos	Formación de SiO_2 y cuarzos microcristalinos debido a la combustión.
NH_3	Produce corrosión cuando se disuelve en agua.
O_2 /aire	Se pueden producir mezclas explosivas en concentraciones elevadas de O_2 .
Compuestos halogenados	Corrosión en equipos de combustión.

vapor de agua presente en el biogás depende del proceso de AD, características del sustrato de alimentación y el tipo de proceso (seco o húmedo). Cuanto menor sea la temperatura, menor contenido de vapor de agua presentará pudiendo presentar condensación, el cual puede reaccionar con el H_2S para formar hidrógeno iónico y/o H_2SO_4 que puede causar corrosión en el metal (Korres et al., 2013).

Dióxido de carbono

El CO_2 presente en el biogás está en los rangos de 30 a 50% dependiendo de la fuente de alimentación y las condiciones de proceso. El CO_2 es generalmente removido para aumentar el contenido energético del gas producido aumentando así su valor calorífico y ayudando a la eliminación de uno de los gases de efecto invernadero (Harasimowicz et al., 2007; Korres et al., 2013).

Compuestos halogenados

Los compuestos halogenados presentes en el biogás, son sustancias que contiene cloro, bromo y fluor, principalmente (ej. tetracloruro, clorobenceno, cloroformo y trifluorometano). En un proceso de digestión anaerobia la concentración de compuestos halogenados en el biogás, generalmente es baja; las concentraciones más altas de este tipo de compuestos

se encuentran en biogases producidos de vertederos industriales y plantas de tratamiento de aguas residuales. Estos compuestos se rompen durante el proceso de combustión, sin embargo, los productos de esta combustión en fase acuosa pueden formar cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno y fluoruro de hidrógeno, los cuales contribuyen a la corrosión de las maquinarias.

Siloxanos

Los siloxanos (C_2H_6OSi) son compuestos volátiles los cuales contienen enlaces Si-O con radicales orgánicos unidos al Si. Los radicales orgánicos pueden incluir metil, etil y otros grupos funcionales orgánicos. Los siloxanos más comunes presentes en el biogás son: Hexametildisiloxano, Hexametilciclotrisiloxano, Octametiltrisiloxano, Octametilciclotetrasiloxano, Hexametiltetrasiloxano, Decametilciclopentasiloxano, Dodecametilpentasiloxano, Dodecametilciclohexasiloxano y Trimetilsilanol. Durante la combustión de biogás, los siloxanos son convertidos en dióxido de silicio microcristalino (SiO_2), un residuo con propiedades físicas y químicas similares al cristal. Estos depósitos cristalinos tienen un espesor de superficie de algunos milímetros; grandes depósitos de (SiO_2) puede llevar a severos daños en los motores. Los siloxanos están presentes comúnmente en gases de vertederos y aguas residuales, sin embargo, están ausentes o presentes en baja cantidad en biogases producidos mediante digestión anaerobia de desechos agrícolas o desechos alimenticios (Korres et al., 2013). Parte de los siloxanos presentes en el biogás, es removida durante el tratamiento de otros contaminantes como H_2S y el vapor de agua.

1.3. Sulfuro de Hidrógeno

Este contaminante, a parte de su mal olor, es un compuesto no deseable debido a que durante el proceso de recuperación de energía este compuesto se transforma en dióxido de azufre (SO_2) y ácido sulfúrico (H_2SO_4); por lo que su remoción se hace necesaria para el uso del biogás (Abatzoglou and Boivin, 2009).

La mayor parte del azufre presente en el biogás se encuentra en forma de sulfuro de hidrógeno (H_2S), este compuesto es producto de la degradación de proteínas y otros compuestos que contienen azufre presentes en la parte orgánica del material de alimentación del digestor (Syed et al., 2006; Korres et al., 2013), este se genera por actividad de bacterias sulfato-reductoras presentes en el digestor, las cuales utilizan ácido acético o propiónico para producir el sulfuro de hidrógeno (Truong and Abatzoglou, 2005). El H_2S es un gas tóxico e irritante y le da un olor característico a esta mezcla de gases, es incoloro, inflamable y corrosivo (Jin et al., 2005b; Amirfakhri et al., 2006; Ford, 2012; Viera et al., 2015). Su exposición hacia los humanos es predominantemente mediante inhalación, este puede causar irritación en los ojos, nariz y/o garganta, dolores de cabeza, náuseas y dificultades para respirar especialmente en la población con problemas de asma (Kim et al., 2008). Su exposición en altas concentraciones y duraciones pueden afectar el sistema respiratorio, nervioso y cardiovascular; (Stanek et al., 2011) siendo 10 ppm una concentración máxima segura para la exposición a este compuesto (Jin et al., 2005a). La concentración de este compuesto en digestores que utilizan estiércol como fuente principal de alimentación, varía entre 10 y 10,000 ppm (Abatzoglou and Boivin, 2009; Korres

et al., 2013). Por lo que su presencia genera una desventaja para el traslado del gas por tuberías para el sistema de combustión, su almacenamiento en tanques y otras estructuras metálicas (Varnero et al., 2012; Arespacochaga et al., 2014) así como para la salud de la población en general, por lo que se han desarrollado diversas técnicas para su eliminación y purificación del biogás.

Actualmente existen tecnologías de purificación de biogás, estas pueden dividirse en dos categorías (Llaneza et al., 2010; Varnero et al., 2012; Ho et al., 2013; Viera et al., 2015).

1. Las que implican fenómenos fisicoquímicos.
2. Las que implican procesos biológicos.

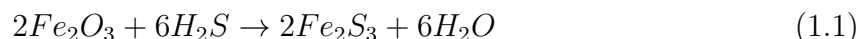
1.3.1. Técnicas fisicoquímicas

Métodos de adsorción

La adsorción es la unión de los átomos, iones o moléculas de un gas o de un líquido (adsorbato) a la superficie de un sólido (adsorbente) (Viera et al., 2015). Los métodos de purificación por adsorción o de lecho seco, se basan en la capacidad de ciertos sólidos de extraer con preferencia ciertas sustancias de una solución, concentrándola sobre su superficie por adherencia. Para la purificación de gases combustibles, los adsorbentes más empleados son: alúminas, sílicagel, carbón activado y tamices moleculares (zeolitas) (Llaneza et al., 2010). El proceso de adsorción se lleva a cabo sobre la superficie del adsorbente donde las moléculas son retenidas por fuerzas electrostáticas débiles y los factores que influyen en el mismo son la humedad, selectividad, temperatura presión y presencia de partículas (Varnero et al., 2012). Si la superficie utilizada contiene óxido de hierro u óxido de zinc la adsorción es química e irreversible, en cambio, en superficies de zeolitas o carbón activado la reacción es física por lo que los lechos pueden ser regenerados (Viera et al., 2015). El proceso de adsorción que requiere menos energía es el que utiliza carbón activado debido a que opera con temperatura y presión menores; la reacción se realiza en los poros y el sulfuro de hidrógeno reacciona con el oxígeno produciendo azufre y agua. El uso de tamices moleculares permite una operación a temperaturas cercanas a la ambiental. Los tamices moleculares con alta afinidad por las moléculas polares, presentan un área superficial de hasta $590 \text{ cm}^2/\text{g}$ teniendo tamaños de poros bien definidos, lo que permite una remoción selectiva de diferentes compuestos (Varnero et al., 2012). El proceso más utilizado a nivel mundial es el “Pressure Swing Adsorption” (PSA), el cual puede utilizar tanto zeolitas como carbón activado o ambos. Este proceso sigue un ciclo de presurización-adsorción-despresurización-desorción (Llaneza et al., 2010). La adsorción ha sido ampliamente utilizada en la industria para la purificación de biogás, la desulfurización puede realizarse en diversos adsorbentes dependiendo de la temperatura de la corriente de alimentación del gas, (Ortiz et al., 2014) el uso de carbón activado en este proceso ha sido ampliamente estudiado debido a su amplia área de superficie y grupos funcionales; (Ortiz et al., 2014) las zeolitas son también ampliamente utilizadas para proceso de adsorción debido a su alta selectividad y compatibilidad hacia los componentes polares como el H_2S . Las zeolitas hidrofílicas con un alto contenido de Al son generalmente más apropiadas para la adsorción de compuestos polares mientras que las zeolitas hidrofóbicas

son efectivas en la retención de compuestos no polares (Cosoli et al., 2008).

El uso de pellets de óxido de hierro es una técnica tradicional para la remoción de H_2S . El óxido de hierro (Fe_2O_3) se transforma en sulfuro férrico (Fe_2S_3) mediante la reacción con H_2S como se expresa en la ecuación (1.1)



Con la exposición al oxígeno, el Fe_2S_3 es oxidado a azufre elemental y óxido ferrico (ec. 1.2).



Conjuntando las reacciones (1.1) y (1.2), tenemos la ecuación (1.3)



La eficiencia de esta técnica de remoción depende de la temperatura y contenido de humedad. El óxido ferrico tiene la ventaja debido al bajo costo y su fácil operación y mantenimiento, no obstante dentro de las desventajas de esta técnica se incluye la gran cantidad de calor liberado durante el proceso de regeneración; también se ve afectado severamente si el gas en la corriente de entrada presenta alto contenido de agua.

Los adsorbentes derivados de lodos para la remoción de H_2S de una corriente de biogás, fue estudiado por (Yuan and J. Bandosz, 2007). Dos tipos de lodos fueron usados en diferentes proporciones como material adsorbente. Estos incluían lodos deshidratados de aguas residuales municipales y lodos de una planta de galvanizado.

El lodo de las aguas residuales contienen diversos metales de transición, mientras que en las muestras de lodo metálico se incrementó el hierro, zinc y azufre. El óxido férrico y la limadura de hierro fueron agregadas como parte del tratamiento de las aguas residuales por lo que estuvieron presentes en el lodo. Las aguas residuales y los lodos metálicos fueron mezclados en relaciones 50:50, 70:30, y 90:10 (relación masa) y la pirólisis fue llevada a cabo a 650, 800 y 950° para crear los materiales adsorbentes; los cuales se empacaron en una columna y se les hizo pasar biogás sintético. Se encontró que la capacidad adsorbente del metal, disminuye cuando se incrementa la temperatura de pirólisis; también se encontró que el agua favorece la actividad de adsorción.

Métodos de absorción

Este tipo de métodos se basan en la transferencia de masa entre la sustancia gaseosa a depurar y un líquido denominado “absorbedor”. Los métodos de purificación por absorción son recomendados para la eliminación del H_2S presente en mezclas gaseosas, ya que este contaminante es extremadamente reactivo con la mayoría de los metales, incrementándose la absorción en la medida que aumenta su concentración, la presión, la humedad y la

temperatura (Llaneza et al., 2010). La aplicación de los métodos de absorción química tienen como limitantes que requieren del empleo de sustancias reactivas, de las cuales la mayoría son corrosivas. Los sistemas más empleados son (Dubois and Thomas, 2010; Varnero et al., 2012):

- Absorción con compuestos de hierro: Se utiliza limadura de hierro colocada en columnas de purificación que se encuentran humedecidas de forma discontinua con agua y rellenas con otro material (el más común es aserrín) para ayudar a la hidrodinámica del sistema (Varnero et al., 2012).
- Absorción con compuestos orgánicos: Las soluciones de aminas se combinan por el grupo amino con CO_2 y H_2S para dar hidrógeno, carbonato de amonio o sulfuros de amonio. Las aminas se operan en procesos calientes debido a que el calor favorece la reacción química. Por lo tanto, estos procesos operan usualmente a temperatura hasta 48° . Otros productos orgánicos utilizados para la reducción del contenido de CO_2 y de H_2S en el biogás son el Townsend, en el que se emplea etilenglicol con dióxido de azufre y el Purox donde se aplica una solución de amonio de hidroquinona (Varnero et al., 2012).
- Absorción con agua: En este método denominado también limpieza húmeda, el absorbente utilizado es el agua, la cual se pone en contacto con el biogás en torres o columnas donde se efectúa la transferencia de masa del CO_2 y H_2S al agua que fluye a contracorriente. La temperatura de operación va de los 5 a los 10° pudiéndose llevar a cabo también a temperatura ambiente; las presiones de trabajo son mayores a los 1726 KPa. El agua es regenerada en una torre donde el CO_2 y el H_2S pasan a la atmósfera y el agua se reincorpora al proceso de absorción, siendo necesario reponer entre el 10 y 20% de ésta por cada lote (Varnero et al., 2012).

Método de separación con membranas

Este método se basa en la difusión de algunos compuestos que pasan a través de una membrana selectiva, generalmente construida con polímeros orgánicos porosos en diferentes configuraciones. Así la corriente gaseosa a purificar se desplaza a través de una membrana selectiva, debido a la fuerza motriz generada por diferencias de presión. Este método se ha utilizado para separar selectivamente determinados gases que están presentes en los gases combustibles de forma general (Llaneza et al., 2010).

El proceso de permeación de un gas a través de una membrana polimérica se lleva a cabo en varios pasos: 1) Adsorción del gas en una interfase de la membrana. 2) Solución del gas en la membrana en esa interfase. 3) Difusión activada del gas en y a través de la membrana. 4) Desprendimiento del gas de la solución por la interfase opuesta. 5) Desorción del gas de la última interfase (Varnero et al., 2012).

Los materiales de las membranas son formulados especialmente para separar selectivamente determinados gases presentes en el biogás; las más comúnmente utilizadas para la separación de gases son las membranas poliméricas debido a que su costo es menor que las inorgánicas, son de más fácil fabricación, son estables en altas presiones y son fácilmente escalables (Khan et al., 2010). Se han obtenido resultados satisfactorios en estudios a nivel piloto usando membranas de poliamida y acetato de celulosa que demostraron ser

efectivas en la remoción de $CO_{2(g)}$ y $H_2S_{(g)}$ del biogás.

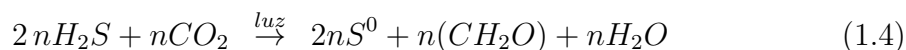
A pesar de que los métodos físico-químicos son rápidos y eficientes, su costo y producción de contaminantes secundarios son desfavorables (Ho et al., 2013), por lo que se han desarrollado métodos biológicos para su eliminación.

1.3.2. Métodos biológicos

La biofiltración es una tecnología empleada en el control de contaminantes. La eficiencia de la biofiltración se basa en la población bacteriana presente en el biofiltro y el tipo de material de empaque; una vez que el biofiltro está en funcionamiento, la eficiencia depende de la temperatura, humedad, flujo, concentración de entrada del contaminante y estructura (Kim et al., 2008).

La biodesulfuración es el proceso en el cual se emplean microorganismos para remover azufre o compuestos de azufre (Ho et al., 2013; Viera et al., 2015). De los métodos anteriormente expuestos, los métodos biológicos son los procesos con la mayor relación costo-eficiencia y ambientalmente amigables (Delhoménie and Heitz, 2005; Fan et al., 2011). Se basa en la capacidad de ciertos microorganismos aerobios sulfo-oxidantes, como *Thiobacillus ferroxidans*, *Methylobacterium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Starkeya*, *Sulfolobus* y anaerobios como *Allochromatium*, *Chlorobium*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodovulum* y *Thiocapsa*, para oxidar compuestos reducidos de azufre transformándolos en azufre elemental (S^0) o sulfatos (SO_4)⁻² (Amirfakhri et al., 2006; Llana et al., 2010). Respecto a las necesidades de fuentes de energía y carbono, se pueden distinguir los siguientes grupos (Kim et al., 2008; Varnero et al., 2012):

- Fotoautótrofos. Las bacterias fototróficas del tipo “verde sulfurosa” (GSB), como *Chlorobium limicola* remueve el H_2S en presencia de luz, CO_2 y nutrientes inorgánicos bajo condiciones estrictamente anaeróbicas hasta la formación de azufre o sulfato. La reacción fotoquímica general (ec. 1.4) realizada por GSB (Syed et al., 2006) para oxidar el S^{2-} a S^0 es :



- Quimioautótrofos. Estos fijan CO_2 como fuente de carbono y obtienen energía celular de la oxidación de compuestos inorgánicos, como el H_2S , sin la necesidad de luz. La biodegradación de H_2S de los quimiotrófos ocurre en condiciones aerobias con un O_2 como aceptor de electrones o en condiciones anaerobias con aceptores alternativos de electrones (ej. nitrato), dependiendo del tipo de bacteria. Algunos ejemplos de las fuentes de energía de los quimiotrófos se pueden ver en la Tabla (1.6).

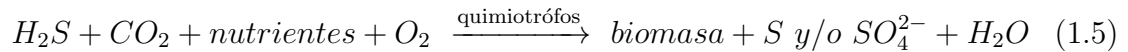
El metabolismo de especies como *Thiobacillus*, *Thermothrix*, *Thiothrix* y *Beggiato* ha sido ampliamente estudiado para la oxidación de compuestos azufrados tanto inorgánicos (azufre elemental, sulfuro de hidrógeno, tiosulfato) como orgánicos (

Tabla 1.6: Fuentes de energía de quimiotrófos (Syed et al., 2006)

Bacteria	Donador de electrones	Aceptor de electrones	Fuente de carbono	Productos
<i>Thiobacillus</i> sp. (general)	$S^0, H_2S, S_2O_3^{2-}$	O_2	CO_2	SO_4^{2-}
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	$S^0, H_2S, S_2O_3^{2-}$	O_2, NO_3^-	CO_2	SO_4^{2-}, N_2
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Fe^{2+}, S^0, H_2S	O_2	CO_2	Fe^{3+}, SO_4^{2-}

metanetiol, dimetilsulfuro, dimetildisulfuro). Estos microorganismos crecen en suelo, habitats acuosos, sistemas de lodos activados, etc. bajo condiciones aerobias, microaerofilicas y anaerobias. El género *Thiobacillus sp.* ha sido ampliamente utilizado en estudios de conversión de H_2S y otros compuestos azufrados mediante procesos biológicos.

La reacción en la ecuación (1.5) se presenta en sistemas aerobios de remoción de azufre (Syed et al., 2006).



- Mixótrofos. Son microorganismos que presentan metabolismo facultativo, pudiendo usar una fuente de carbono orgánica o inorgánica y la oxidación de compuestos inorgánicos reducidos como fuentes de energía. Los principales microorganismos estudiados que se emplean para la desulfuración son los géneros *Beggiatoa*, *Xanthomonas*, *Sulfolobus*, *Lectospirillum* y especialmente *Chlorobium* y *Thiobacillus*. *Pseudomonas acidovorans* y *Pseudomonas putida* también son mixótrofos que degradan el H_2S y otros compuestos orgánicos de azufre.

Un biofiltro es un sistema biológico de tratamiento de gas que proporciona una alta porosidad, alta disponibilidad de nutrientes, alta capacidad de retención de humedad y una alta capacidad para el crecimiento microbiano en una matriz de soporte adecuado. Los sistemas más empleados son biolavadores, biofiltros de lecho fijo y biofiltros de escumamiento (Fan et al., 2011; Varnero et al., 2012). Las principales diferencias entre los tres tipos de biorreactores son el diseño, modo de operación y presencia o ausencia de fases estacionarias sólidas (Delhoménie and Heitz, 2005).

Biolavadores (Bioscrubbers)

Los biolavadores (Figura 1.2) presentan dos etapas de desarrollo: en la primera se realiza un proceso de absorción y la segunda es una etapa de regeneración mediante un reactor biológico. En la etapa de absorción, los contaminantes se extraen mediante la absorción con agua en una torre de aspersión o columna y son transferidos a la fase líquida. En la segunda etapa, el líquido recircula al reactor biológico en donde se lleva a cabo la oxidación por medio de los microorganismos que pueden encontrarse libres o inmovilizados. La

fase gaseosa lavada es liberada en la parte alta de la columna mientras que la fase líquida contaminada es separada y bombeada a un reactor. Este reactor contiene las cepas suspendidas en la fase acuosa, y los nutrientes esenciales para su crecimiento y mantenimiento. La mayoría de este tipo de reactores son inoculados con lodo activado proveniente de plantas de tratamiento de aguas residuales; en otros casos, son inoculados directamente con las cepas específicas. Posterior a la etapa de filtración y sedimentación de la biomasa, parte de la solución de desecho puede ser reciclada en la unidad de absorción mientras que la parte de sedimento de biomasa puede ser reintroducida en el biorreactor. Algunas de las ventajas de los biolavadores son: (Varnero et al., 2012; Delhoméie and Heitz, 2005).

- Estabilidad operacional y buen control de los parámetros biológicos (pH, nutrientes).
- Los biolavadores no generan altas caídas de presión.
- Su instalación no requiere de espacios grandes.

No obstante, sus principales limitaciones son:

- Producción de sedimentos de lodos en el fondo del reactor.
- Producción de agua de desecho.

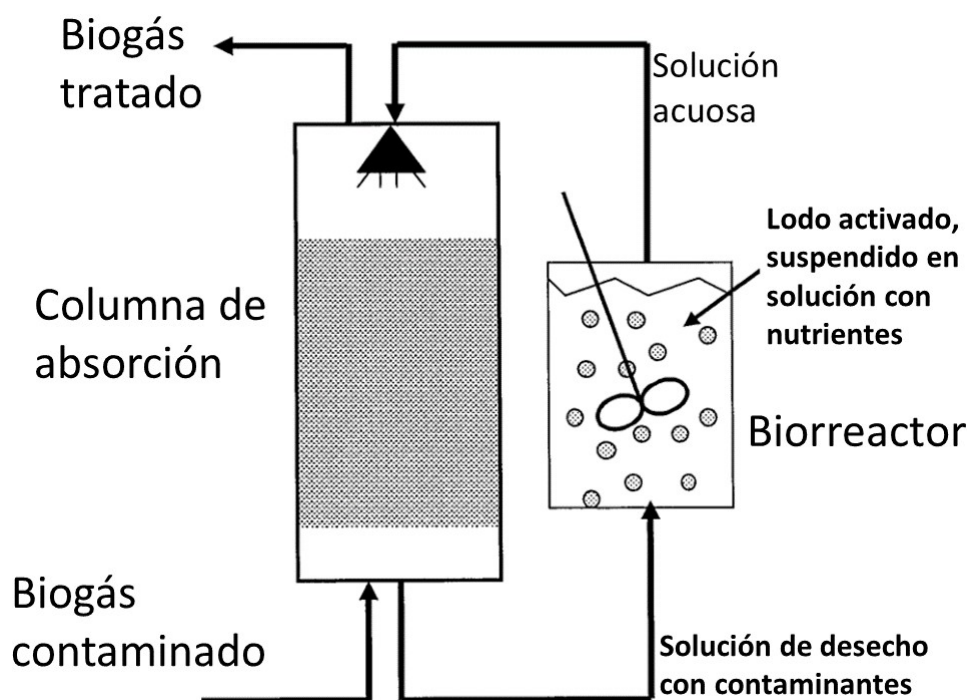


Figura 1.2: Biolavador (Delhoméie and Heitz, 2005)

Biofiltros de lecho fijo

Un biofiltro (Figura 1.3) es un reactor de lecho empacado en el cual los microorganismos

están inmovilizados. El flujo de gas debe pasar a través del material de soporte (fijo y poroso) que deber estar humedecido para que se desarrolle la película de microorganismos. El contaminante es transferido desde el gas a esta biopelícula húmeda en donde es transformado en CO_2 y H_2O . Los materiales utilizados como matriz de soporte pueden ser diferentes tipos de compost, desecho de madera, turba, bagazo de caña, cáscaras de cacahuate, entre otros. También se han estudiado soportes inertes como materiales cerámicos en donde los nutrientes tienen que ser adicionados externamente (Varnero et al., 2012). Existen dos tipos de biofiltro (Delhoménie and Heitz, 2005):

- Biofiltros de diseño abierto, con flujo de gas ascendente; se instala en espacios abiertos ya que requiere de grandes espacios y por ende está expuesto a los cambios climáticos.
- Biofiltros de diseño cerrado; este tipo de biofiltros necesitan volúmenes más pequeños, usualmente son instalados en lugares cerrados y pueden emplear flujo ascendente o descendente.

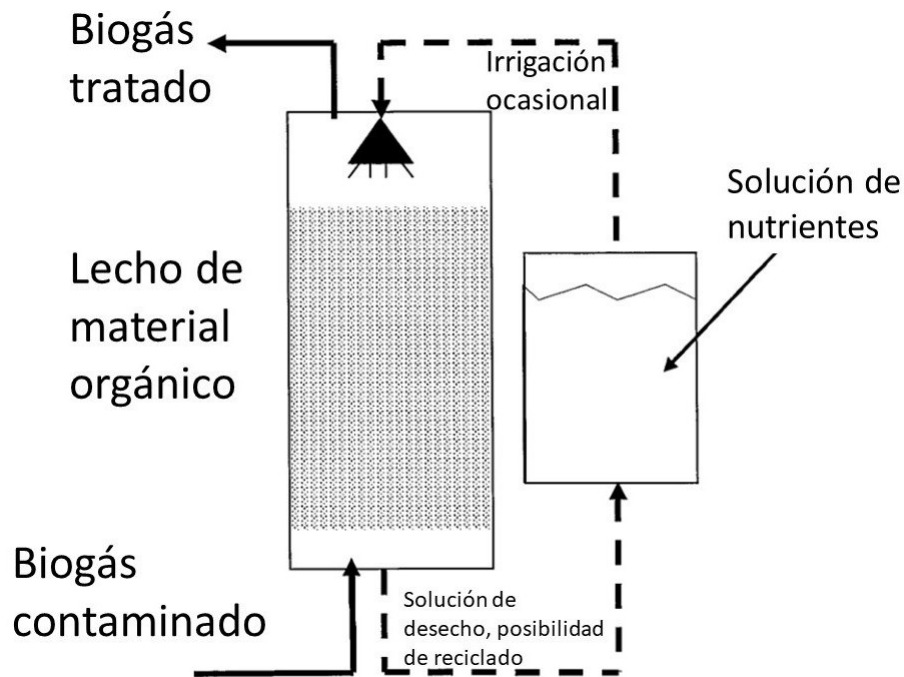


Figura 1.3: Biofiltro (Delhoménie and Heitz, 2005)

Biofiltros de escurrimiento (biotrickling filters)

En los biofiltros de escurrimiento (Figura 1.4) el flujo de gas se hace pasar a través de un lecho fijo en el cual, continuamente se introduce una fase líquida enriquecida en nutrientes a los lechos de relleno o lechos de soporte, compuestos de material inerte y sintético, o bien, de material natural. Los microorganismos son inmovilizados en el material de empaque. Los contaminantes son absorbidos inicialmente en la parte acuosa que rodea la capa biológica (biofilm), posteriormente la reacción biodegradación tiene lugar en el biofilm.

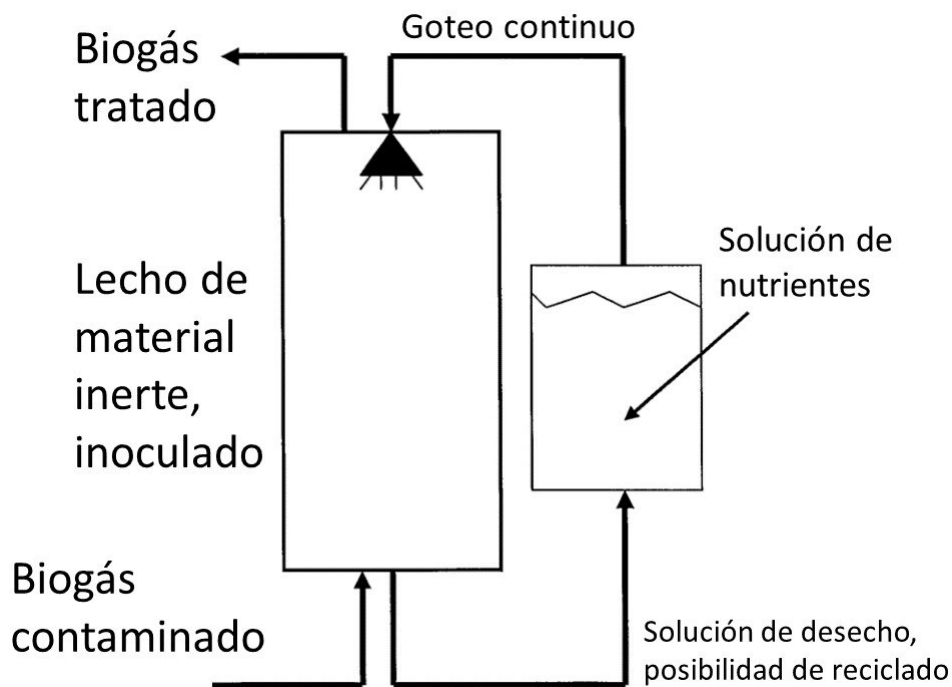


Figura 1.4: Biofiltro de escurrimiento (Delhoménie and Heitz, 2005)

Si los lechos son de materiales inertes o sintéticos, los biofiltros necesitan ser inoculados, principalmente con lodo activado. A pesar de ser más complejos que los filtros convencionales, usualmente son más efectivos, especialmente en el tratamiento de compuestos que generan productos secundarios como el H_2S . La solución se transporta a través del filtro y es reciclada, aunque en ciertos casos el número de reciclajes posibles es limitado (Varnero et al., 2012). La eficiencia de los procesos de biofiltración depende de la temperatura, contenido de humedad, nivel de pH, flujo y estructura física del biofiltro (Delhoménie and Heitz, 2005; Kim et al., 2008).

El principal inconveniente de los biofiltros de escurrimiento es la acumulación en exceso de biomasa en el lecho fijo. El espesor de este biofilm puede llevar a tener problemas de rendimiento, incremento en la caída de presión y creación de zonas anaerobias (Delhoménie and Heitz, 2005).

En la Tabla (1.7), se presentan las características principales de cada uno de los bio-reactores.

Tabla 1.7: Características de los principales biorreactores. (Delhoménie and Heitz, 2005)

Biorreactor	Microorganismos	Fase líquida	Etapas de regeneración
Biolavadores	Suspendidos en el biorreactor, en el medio acuoso de crecimiento	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Móvil ▪ Dispersada continuamente ▪ Reciclada 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La regeneración ocurre en la columna de absorción
Biofiltro de escurrimiento	Inmovilizados en el material filtrante	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Móvil ▪ Goteo continuo sobre el lecho filtrante ▪ Posibilidad de reciclado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ En el lecho filtrante ▪ En el biofilm
Biofiltro de lecho fijo	Inmovilizados en el material filtrante	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Irrigación ocasional del lecho con solución de nutrientes 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ En el lecho filtrante ▪ En el biofilm

Capítulo 2

Justificación

Existen 15.4 millones de cabezas con una generación de 652 millones de m^3 al año suficiente para la sustentabilidad energética de las mismas, sin embargo, las altas concentraciones de H_2S (2000 ppm) aunado a los altos costos de operación de métodos fisico-químicos tradicionales para la eliminación del ácido sulfhídrico limita su óptimo aprovechamiento y potencial energético; por tal motivo existe la necesidad de nuevas alternativas, como los procesos biológicos, que son de bajo costo y autoregenerativos que permiten aprovechar el mayor potencial del biogás en el sector porcícola.

Capítulo 3

Hipótesis

A través de un consorcio biológico-sintético se puede lograr la reducción de H_2S en un 90 %.

Capítulo 4

Objetivos

4.1. Objetivo General

Desarrollar un complejo biológico-sintético de microorganismos para la reducción de H_2S en biogás.

4.2. Objetivos Específicos

1. Desarrollar un prototipo para evaluar condiciones controladas de microorganismos para la reducción de H_2S en biogás.
2. Conformar consorcios biológico-sintéticos para la reducción de H_2S en biogás.
3. Determinar las variables de tiempo de residencia (EBRT) y temperatura para la eliminación de H_2S mediante el consorcio biológico.
4. Determinar la cinética de eliminación de H_2S mediante los consorcios.
5. Comparar la eficiencia de remoción con el método de filtración de carbón activado.

Capítulo 5

Metodología

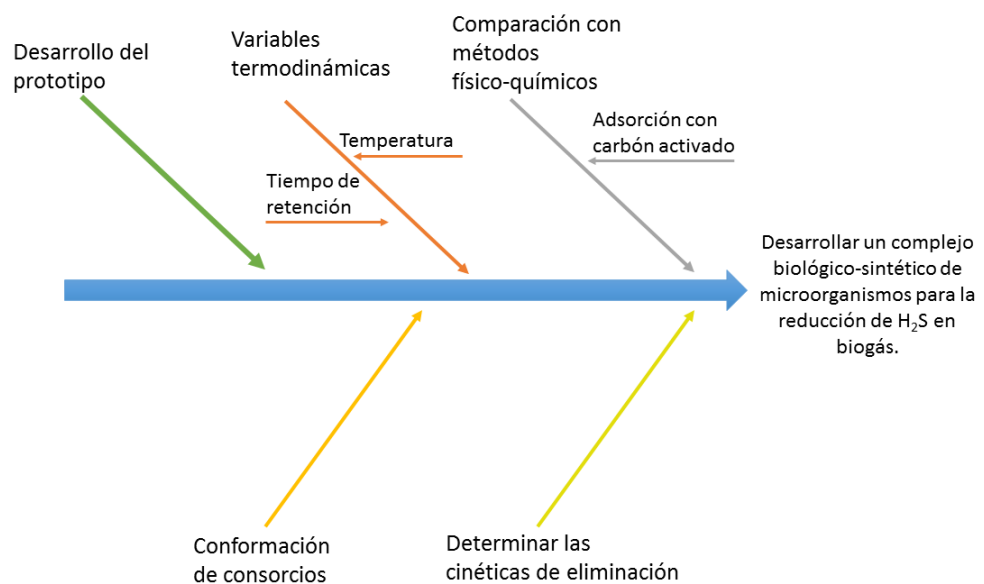


Figura 5.1: Estrategia Experimental

5.1. Diseño del filtro

Se diseñó un dispositivo para poder controlar y evaluar las variables a analizar del biofiltro; temperatura y tiempo de residencia. Para lo cual se utilizó el Software Visio Office y Autocad.

5.2. Aislamiento de microorganismos

5.2.1. Muestreo

Se tomó muestra de una vermicomposta de la cual se realizaron diluciones 1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10,000 para, posteriormente, realizar inoculaciones en diversos medios líquidos, así como en placa y en un sistema de fermentación sólida.

5.2.2. Aislamiento de microorganismos presentes en vermicomposta en diferentes medios de cultivo.

En condiciones estériles se elaboraron medios de cultivo, teniendo como base el medio LB, al cual se le adicionaron nutrientes para un mejor crecimiento de los microorganismos (Tabla 5.1).

Tabla 5.1: Medios enriquecidos para el crecimiento de microorganismos

Medios de cultivo enriquecido	
	Bicarbonato de sodio
	Extracto de carne, peptona, dextrosa y extracto de levadura
LB +	Tiosulfato de sodio
	Lixiviado de vermicomposta (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10,000)

Adicionalmente se elaboró un sistema de fermentación en medio sólido para el crecimiento de los microorganismos, el cual consistió en 100 gr de soporte orgánico, previamente esterilizado, y posteriormente se inoculó con 20 ml de cultivo de microorganismos.

Para la identificación de los microorganismos, en condiciones estériles se elaboró el Agar LB y YPD. Se realizó vertido en placa en caja Petri en los diferentes medios de cultivo. A partir de las muestras problema se prepararon diluciones hasta 1:10,000 con la finalidad de hacer siembra en placa de las alícuotas y posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 h, para crecimiento de microorganismos. Se realizó una identificación cualitativa de los diferentes microorganismos cultivados en todas las placas incubadas con anterioridad, se detectaron sus diferencias en morfología, relieve, tamaño, color, zona de crecimiento, contorno, textura. Las cepas diferentes se identificaron y enumeraron, posteriormente fueron aisladas en cajas Petri; posteriormente cualitativamente se determinó la presencia de cepas iguales, y se seleccionaron solamente una para la enumeración. Para aislar los microorganismos, las cajas Petri con medio de cultivo se fraccionaron en 8 zonas, y en cada espacio se realizó siembra estría de cada una de las cepas identificadas. Los microorganismos aislados entraron a proceso de incubación en condiciones de 37°C durante 24 h para crecimiento de cepas.

5.2.3. Identificación molecular por amplificación de la región intergénica del gen ribosomal 16S por PCR Colonia.

Una vez que crecieron las bacterias aisladas en las placas, se realizó una reacción de PCR mediante la técnica de PCR colonia para su amplificación del gen ribosomal 16S a través de la reacción en cadena de la polimerasa, con las siguientes condiciones: una desnaturalización inicial de 94°C por 10 minutos, seguido de 30 ciclos que constan de 94°C por 45 segundos, 58°C por 1 minuto, 72°C por 2 minutos, finalmente una extensión a 72°C por 7 minutos. Se utilizó un termociclador dual C1000 Thermal Cycler de Biorad (Fig.5.2).



Figura 5.2: Termociclador C1000 Thermal Cycler (Biorad)

Electroforesis del PCR en gel de agarosa.

Posterior al PCR se realizó la electroforesis en gel agarosa para separar los ácidos nucleicos que se lleva a cabo debido a la carga y tamaño molecular de estas (ADN). Primeramente, se preparó el gel agarosa al 1.5%, el cual se depositó en un molde con pozos hasta que se solidificó, de la misma forma se aplicó la metodología para preparar el ADN y mezclarlo con el tampón de carga, que se integró en los pozos de gel de agarosa. Cabe señalar que aparte de las muestras de ADN que se corrieron en el gel de agarosa, también se destinó un pozo a un marcador de tamaño molecular de ADN (Gene Ruler 1Kb) que cumple la función de referencia para comparativo del PCR que se estuvo analizando, además de indicar si ocurre algún error sistemático en el gel o metodología implementada.

Análisis de los patrones electroforéticos.

El gel de agarosa se digitalizó a través de un transiluminador UV. Para obtener visibilidad de los segmentos de ADN amplificados, el gel fue teñido con bromuro de etidio, este paso del proceso se desarrolló cuidadosamente y se usaron guantes para manipular el gel debido a la propiedad mutanogénica del bromuro de etidio. La fotografía resultante del transiluminador se visualizó en software Imagine de BioRad, y se analizó la amplificación del fragmento del gen ribosomal 16S que es de aproximadamente 1500 pb.

Análisis bioinformáticos

Los amplicones obtenidos por PCR fueron secuenciados en el laboratorio de servicios de LAMBAMA ubicado en IPICYT y posteriormente fueron analizados en las plataformas bioinformáticas del NCBI y Ribosomal Database.

5.3. Determinación de las variables termodinámicas.

En este trabajo se propuso la realización de un sistema de biofiltración en el rango mesofílico (20°C) $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Para el proceso de biofiltración se evaluaron 3 tiempos de residencia en los cuales se hizo pasar el biogás por biofiltro.

1. Temperatura del biofiltro

- a) 10°C
- b) 20°C
- c) 30°C

2. Evaluación del tiempo de residencia

- a) 47 segundos
- b) 94 segundos
- c) 141 segundos

Debido a lo anterior se propuso un diseño de experimentos 2^k para poder evaluar los factores mencionados.

5.4. Cinética de eliminación de H_2S por el consorcio seleccionado

La cinética de eliminación de H_2S por el consorcio seleccionado se analizó en función de la concentración con respecto al tiempo.

5.4.1. Cultivo de microorganismos en sistema de fermentación en medio sólido

Posteriormente este inóculo se incubó en un sistema de fermentación en estado sólido (SSF) utilizando un soporte orgánico (OS).

En el sistema de fermentación en medio sólido, se utilizaron 60 gr de soporte orgánico previamente esterilizado y posteriormente inoculado con 10 ml de cada medio con una densidad óptica de 0.7 obtenido en los diferentes medios de cultivo; LB, YPD y otro con ambos medios en relación 1:1. Se cultivó a una temperatura de 37°C durante un tiempo de 72h con aireación y temperatura constantes. Finalmente el producto fue almacenado a una temperatura de 4°C hasta su posterior uso para el proceso de biofiltración.

5.5. Proceso de biofiltración

Para el proceso de filtración del biogás se utilizaron 9g de soporte orgánico inoculado con cada uno de los medios de cultivo obtenidos en SSF. La filtración fue llevada a cabo a 10, 20 y 30°C con cada uno de los tratamientos; se utilizaron tres tiempos de residencia (EBRT) 47, 94 y 141s.

El biogás se hizo recircular desde un almacén de 5.2 litros hacia el sistema de biofiltración con un flujo volumétrico de 54 L/min. La temperatura se midió con un termómetro de carátula, en la entrada, dentro y a la salida del biofiltro. Para mantener una temperatura estable, se utilizó una bomba de recirculación de agua. (Fig. 5.3). El biogás se analizó con un equipo Gasboard 3200L (Fig. 5.4) provisto por la empresa EnergyMet S.A., León Guanajuato, México.

5.5.1. Prueba piloto

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas realizadas con los tratamientos descritos anteriormente se realizó una prueba a nivel piloto. Esta se llevó a cabo en las mejores condiciones que se obtuvieron en los resultados anteriores; para ello se utilizó el mismo sistema de filtración descrito en la Figura (5.3) utilizando un flujo volumétrico de 54 L/min. Durante este proceso se utilizó un volumen de biogás crudo de 108 L el cual se hizo recircular por el sistema de biofiltración durante un tiempo de cuatro horas, tomando muestra y analizando el biogás cada hora.

5.5.2. Prueba de saturación del soporte orgánico

De acuerdo a las pruebas anteriormente realizadas, se realizó adicionalmente una prueba para saturar el soporte orgánico. Esta prueba se realizó en periodos de 15 minutos (141s EBRT) en los cuales se estuvo alimentando el biofiltro con biogás crudo en cada una de las pruebas y posteriormente se analizaba el mismo. Se realizaron en total 30 corridas por lo que el biofiltro estuvo activo durante un periodo de $7\frac{1}{2}$ horas filtrando un total de 150 L

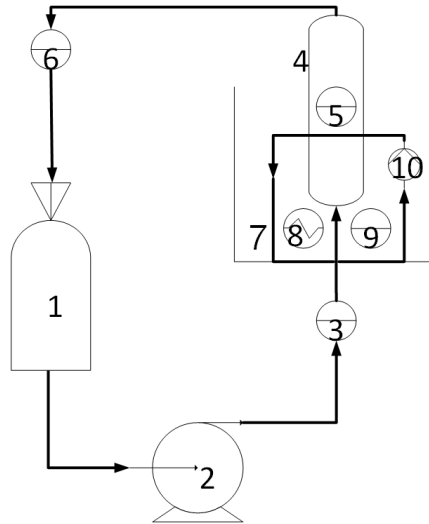


Figura 5.3: Diagrama de flujo del sistema de biofiltración. (1) Almacén de biogás (2) Bomba de recirculación (3) Termómetro de entrada (4) Soporte orgánico empacado (5) Termómetro interno (6) Termómetro de salida (7) Almacén de agua (8) Sistema de calentamiento (9) Termómetro del sistema de recirculación (10) Bomba de recirculación



Figura 5.4: Analizador Gasboard 3200L

de biogás crudo. Las condiciones iniciales del biogás se describen en la Tabla (5.2).

Tabla 5.2: Parámetros del biogás crudo utilizado para la prueba de saturación del soporte orgánico

CH_4 (%)	O_2 (%)	CO_2 (%)	H_2S (ppm)
55.61	36.31	0.96	3799

5.6. Comparación de la eficiencia de remoción con diversos medios filtrantes

Los tratamientos anteriormente descritos se compararon con diversos materiales que se usaron para verificar la eficiencia de los tratamientos. Primeramente se compararon con el soporte orgánico estéril, también se realizó la comparación con una fibra sintética humedecida con agua, se comparó con aserrín y finalmente se comparó con carbón activado. Se realizaron tres pruebas, las cuales fueron llevadas a cabo a una temperatura de 30°C y 5 minutos entre cada prueba. Los parámetros del biogás utilizado para esta prueba se describen en la Tabla (5.3).

Tabla 5.3: Parámetros del biogás crudo utilizado para la prueba con diversos medios filtrantes

CH_4 (%)	O_2 (%)	CO_2 (%)	H_2S (ppm)
46.04	23.06	5.53	4130

5.7. Análisis de azufre

El análisis del azufre presente en el biofiltro se realizó antes y después del proceso de filtración, el cual, fue realizado mediante Microscopia Electronica de Barrido (SEM) con un equipo JSM-6010PLUS/LA (Fig.5.5); así como mediante Difracción de Rayos X (XRD) con un equipo Rigaku Next CG (Fig.5.6).

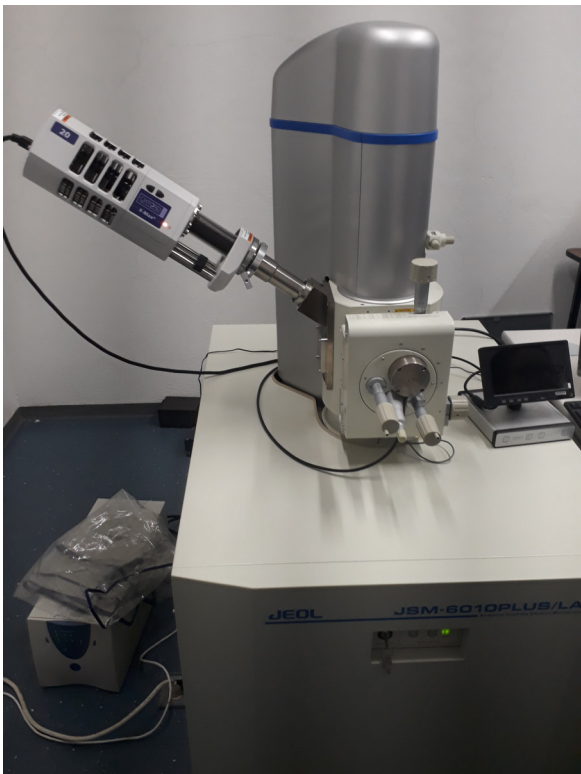


Figura 5.5: Equipo de Microscopia Electronica de Barrido JSM-6010PLUS/LA



Figura 5.6: Equipo de Difracción de Rayos X Rigaku Next CG

Capítulo 6

Resultados y discusión

El uso de filtros biológicos para eliminar el H_2S ha recibido una amplia atención industrial en los últimos años (Khanongnuch et al., 2019b; Soreanu et al., 2008) debido a que es un método más amigable con el ambiente y tiene mejor relación costo-eficiencia tecnológica, que la mayoría de los métodos como la precipitación química y el lavado (Khanongnuch et al., 2019b; Fernández et al., 2014), alcanzando un nivel de eficiencia de eliminación mayores al 90 % (Zhang et al., 2019; Vikromvarasiri et al., 2017a; Pirolli et al., 2016; Vikromvarasiri and Pisutpaisal, 2016). Sin embargo, los materiales mayormente utilizados como soportes para el crecimiento de los microorganismos encargados de esta eliminación, son de origen sintético (Khanongnuch et al., 2019a; Zhang et al., 2019; Vikromvarasiri et al., 2017b; Tóth et al., 2017) a diferencia del material que se usó en este trabajo, el cual fue de origen orgánico.

6.1. Diseño del biofiltro

El diseño del prototipo (Fig. 6.1) se realizó con el programa Autocad, este se construyó de manera que registrara y mantuviera una temperatura constante durante el proceso de filtración (Fig. 6.2), ya que esta afecta directamente la capacidad de eliminación de H_2S como se verá en las siguientes secciones.

En la Figura (6.2a) se puede observar el sistema de filtración a nivel laboratorio que se diseñó para la eliminación de H_2S del biogás. En la Figura (6.2b) se observa el sistema de lecho empacado, el cual se empacó con el soporte orgánico inoculado con los diferentes medios de cultivo (YPD y LB) y se realizaron pruebas de filtrado para la eliminación de H_2S así como las pruebas a nivel piloto y de saturación que se verán en las secciones siguientes. En la Figura (6.2c) se observa el sistema de enchaquetado del biofiltro, al cual se le hizo recircular agua para mantener una temperatura constante durante el proceso de biofiltración. En la Figura (6.2d) se pueden observar los termómetros que se usaron para registrar la temperatura durante el proceso de biofiltración y se midió en tres puntos; en la entrada, en el cuerpo y a la salida del biofiltro (termómetro superior, medio e inferior, respectivamente).

A diferencia de otros diseños de biofiltros, los cuales pueden tener más de una etapa (Fig. 6.3) (Chen et al., 2016) o tener sistemas más complejos (Fig. 6.4) (Arellano-García

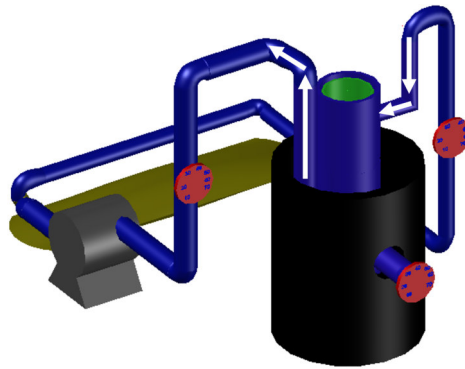


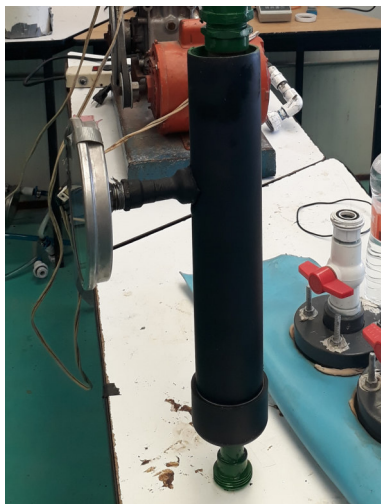
Figura 6.1: Diseño del prototipo del biofiltro



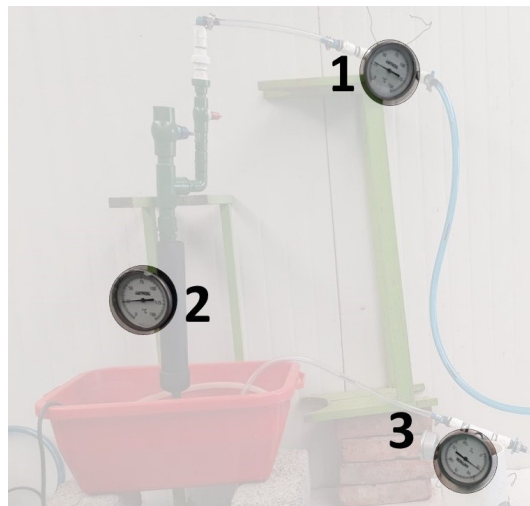
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 6.2: Prototipo del sistema de biofiltración. a) Prototipo nivel laboratorio; b) Sistema de lecho empacado; c) Sistema de enchaquetado; d) Termómetros (1.-Entrada; 2.-Filtro; 3.-Salida)

et al., 2009), en este trabajo se optó por un diseño de biofiltro de lecho fijo empacado con un soporte orgánico; y debido a que su escala fue a nivel laboratorio, se realizó un diseño más sencillo que permitiera facilitar el manejo y operación del mismo.

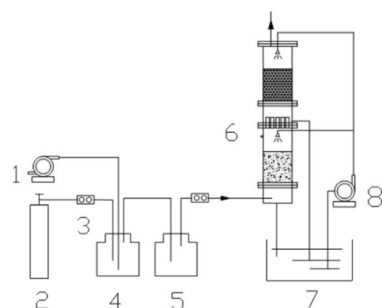


Fig. 1. Schematic of the two-layer BTF. (1: air compressor; 2: H₂S cylinder; 3: gas flow meter; 4: mixing tank; 5: buffering tank; 6: biotrickling filter; 7: recirculation tank; 8: nutrient pump).

Figura 6.3: Biofiltro (Chen et al., 2016)

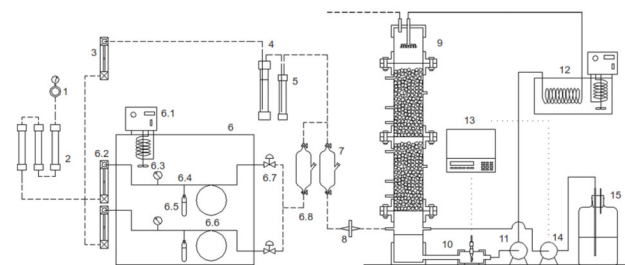


Figure 1. Diagram of gaseous DMS-generating system and BTF. 1: Pressure regulator, 2: Air filters, 3: Flow meter, 4: Humidifier, 5: Water trap, 6: Gaseous DMS-generating system, 6.1: Heater pump recirculator, 6.2: Flow meters, 6.3: Pressure gauge, 6.4: T union, 6.5: Steel vessels, 6.6: Steel-tubing coils, 6.7: Needle valves, 6.8 and 7: Sampling glass bulbs, 8: Membrane filter, 9: *T. thioparus* biotrickling filter, 10: pH probe, 11: Recirculation pump, 12: Constant temperature bath, 13: Electronic controller, 14: NaOH solution pump, 15: NaOH container.

Figura 6.4: Biofiltro (Arellano-García et al., 2009)

6.2. Aislamiento de microorganismos presentes en vermicomposta en diferentes medios de cultivo.

De la muestra que se obtuvo de la vermicomposta se procedió a realizar diluciones 1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10,000 para su inoculación en distintos medios de cultivo así como en placa y medio sólido.

Para realizar el aislamiento y la identificación de las bacterias, se utilizaron distintos medios de cultivo, así como un sistema de fermentación sólida y 2 medios en placa para la siembra de las muestras, agar LB y agar YPD; cada uno se inoculó con cada una de las diluciones 1:10,000. En los medios en placa (Fig. 6.5), se observó crecimiento de microorganismos que mostraban diferencias en cuanto a morfología, color y tamaño. De las colonias que crecieron se analizaron mediante la técnica de PCR Colonia.

6.3. Identificación molecular por amplificación de la región intergénica del gen ribosomal 16S por PCR Colonia.

Se analizaron ≈ 100 PCR obtenidos de las diferentes cepas mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.

En la Figura (6.6) se pueden apreciar las bandas correspondientes a la amplificación, las cuales están cerca de las 1500bp, siendo que se esperaba una amplificación de 1492bp, se supone correcta esa lectura. Gracias al proceso de secuenciación y la comparación en las plataformas del NCBI, los microorganismos que se encontraron son los que se mencionan en la Tabla (6.1).

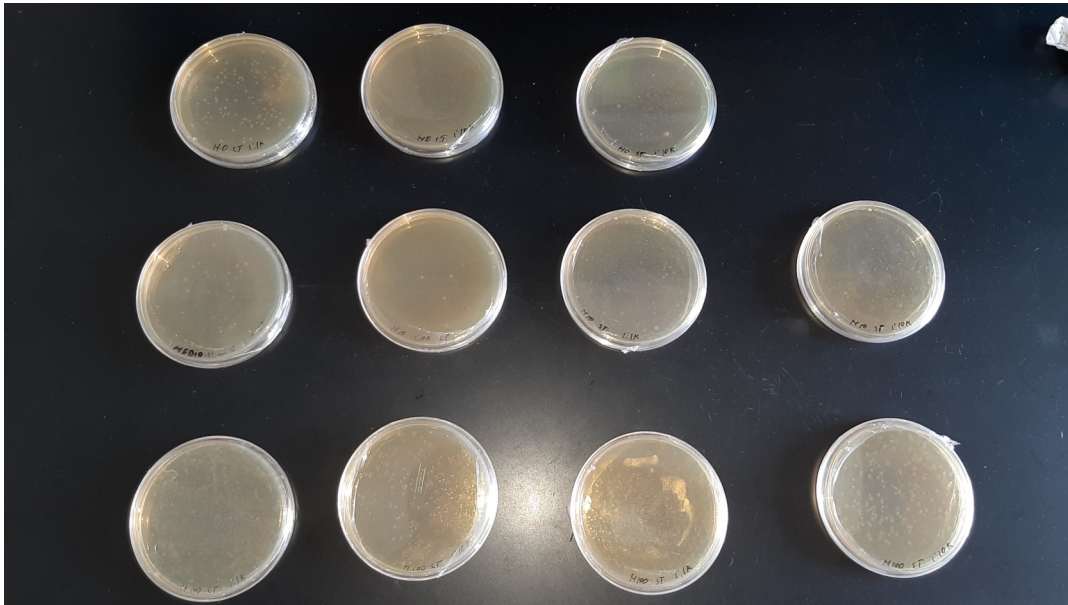


Figura 6.5: Placas petri

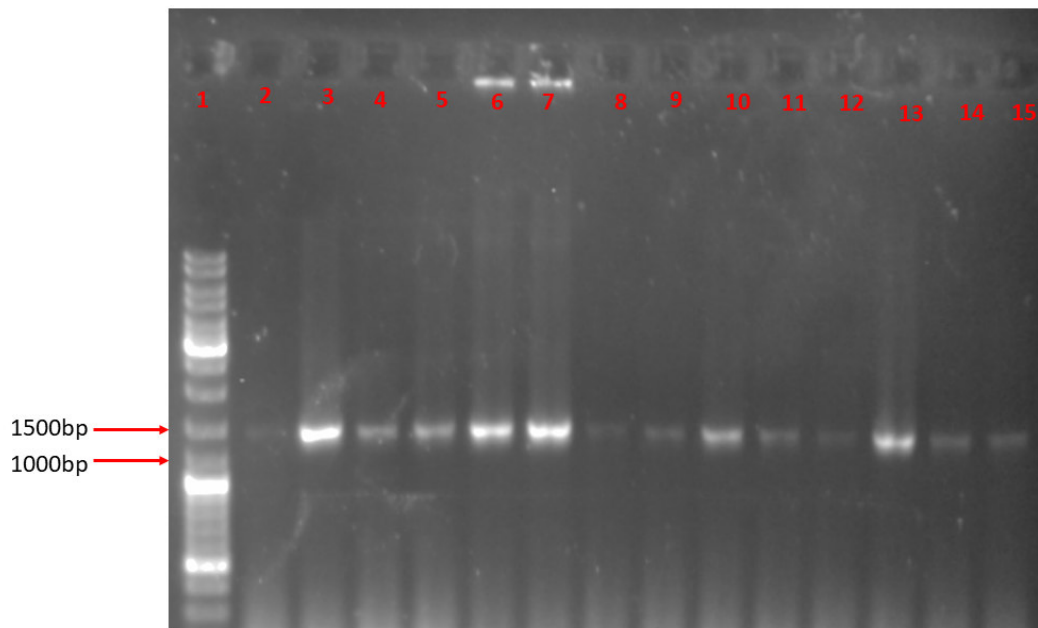


Figura 6.6: Gel de agarosa con las muestras de PCR colonia. Carriles: 1) Marcador de peso molecular 2) Muestra MT3S 3) Muestra MT14F 4) Muestra MT5F 5) Muestra MT22S 6) Muestra MT18S 7) Muestra MT25F 8) Muestra MT10F 9) Muestra MT1F 10) Muestra MT15S 11) Muestra MT5S 12) Muestra MT20F 13) Muestra MT22S 14) Muestra MT99F 15) Muestra MT24S

Tabla 6.1: Microorganismos identificados en el crecimiento en cajas petri

M i c r o o r g a n i s m o s i d e n t i f i c a d o s			
▪ <i>Thioalkalivibrio</i> sp	▪ <i>Acetobacter pas-</i> <i>teurianus</i>	▪ <i>Acinetobacter</i> sp	▪ <i>Lactobacillus</i> sp
▪ <i>Halothiobacillus</i> sp	▪ <i>Halothiobacillus</i> <i>neapolitanus</i>	▪ <i>Clostridium bei-</i> <i>jeirinckii</i>	▪ <i>Bifidobacterium</i> sp

6.4. Cultivo de microorganismos en sistema de fermentación de medio sólido

Se diseñó un sistema de fermentación en medio sólido (Fig. 6.7), el cual consistió en bombas que pasaban aire a un recipiente con agua para humidificarlo y posteriormente pasaba al medio de cultivo sólido. Este medio de cultivo se encontraba en recipientes cerrados pero no herméticos, para que permitieran la salida del exceso de aire y no acumularan presión; los recipientes con el medio de cultivo sólido se encontraban a baño maría para mantener la temperatura deseada para el crecimiento óptimo de los microorganismos de interés.

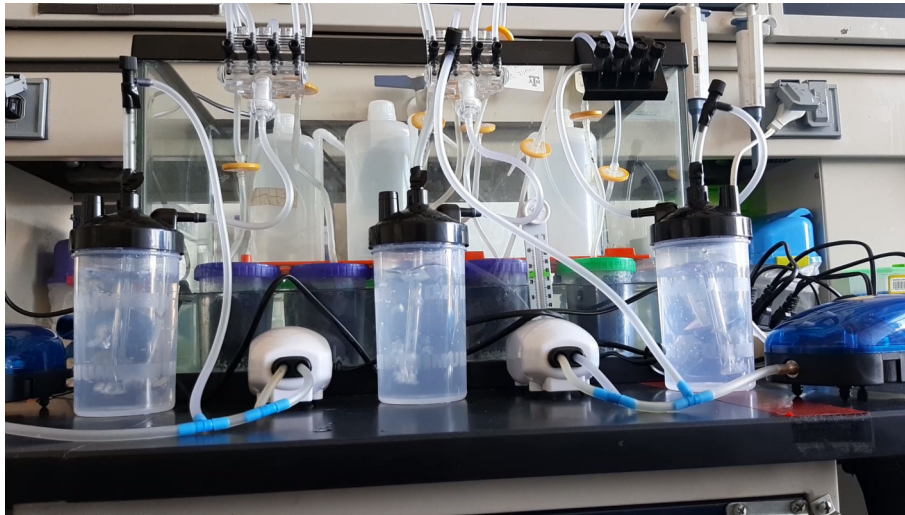


Figura 6.7: Sistema de fermentación en medio sólido

Para el cultivo en el sistema de fermentación en medio sólido, se inoculó el soporte orgánico previamente esterilizado y se incubó durante 72 h. Para la verificación del crecimiento en este sistema de cultivo, se tomó un gramo de muestra a las 24, 48 y 72 h; posteriormente se homogeneizó y se le adicionó 1 ml de agua destilada estéril y posteriormente se le midió absorbancia para la verificación del crecimiento de microorganismos.

Como se puede observar en la Figura (6.8) se presenta crecimiento en ambos cultivos, siendo el de medio LB el que presenta mayor crecimiento, el cual tuvo lugar de las 24 hasta las 72 h. A diferencia del medio LB, en el medio YPD no se observa un crecimiento tan notorio, el mayor crecimiento se da a las 24 h. Este comportamiento se debe en su mayor parte, a que en el medio YPD crecen con más facilidad las levaduras que las bacterias. Sin embargo, este crecimiento que hubo en dicho medio fue un factor elemental en la realización de las pruebas de biofiltración como se observará en la siguiente sección.

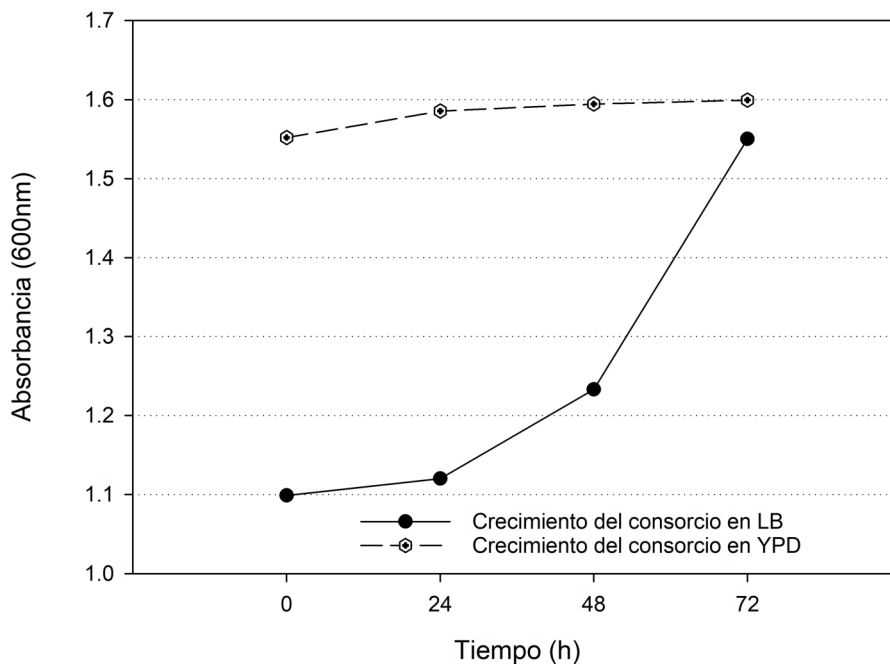


Figura 6.8: Crecimiento de los inóculos durante el proceso de fermentación en estado sólido

6.5. Determinación de la eficiencia de remoción de H_2S por el consorcio biológico

Se realizaron pruebas de eficiencia de remoción de H_2S con el consorcio cultivado en soporte orgánico mediante fermentación en medio sólido. Estas pruebas se realizaron con los microorganismos cultivados en medio YPD y LB. Se utilizaron 9 gr de soporte orgánico para realizar estas pruebas de filtración, la cual se llevó a cabo con 5 litros de biogás y con los parámetros termodinámicos seleccionados.

6.5.1. Eficiencia de remoción de H_2S con soporte orgánico inoculado con consorcio cultivado en medio YPD

En la Tabla (6.2) se pueden observar los datos obtenidos en las filtraciones con el soporte orgánico inoculado con medio YPD. En las pruebas realizadas a 10°C , las concentraciones iniciales de H_2S y metano del biogás crudo fueron 3906 ppm y 50.96 %

CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

respectivamente. La eficiencia máxima de eliminación de la concentración de H_2S fue del 86,8 % (Fig. 6.9), reduciendo las cantidades de H_2S del biogás de 3906 ppm a 515 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 50.96 a 43.31 %. En la prueba realizada con 94s de EBRT, la concentración de metano se redujo al 45.18 %, sin embargo, la eficiencia de eliminación de H_2S alcanzó el 74.59 %.

En la prueba realizada a 20°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano del biogás crudo fueron 4080 ppm y 53.87 % respectivamente. La mejor eficiencia de eliminación fue de 84 % (Fig. 6.9) reduciendo la concentración de H_2S de 4080 ppm a 626 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 53.87 a 47,6 %. En la prueba realizada con 94s de EBRT, la concentración de metano se redujo a 45.2 %, sin embargo, la eficiencia de eliminación de H_2S alcanzó solamente 72.34 %.

En las pruebas realizadas a 30°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano de biogás crudo fueron 5507 ppm y 55.38 % respectivamente. La mejor eficiencia de eliminación fue de 84 % (Fig. 6.9) reduciendo la concentración de H_2S de 5507 ppm a 879 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 55.38 % a 42.99 %. En la prueba realizada con 94s de EBRT, la concentración de metano se redujo solo al 46,25 %, sin embargo, la eficiencia de eliminación de H_2S alcanzó solamente el 75,14 %.

Tabla 6.2: Concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 , H_2S y porcentaje de eficiencia de filtración con soporte orgánico inoculado con medio YPD a temperaturas de 10, 20 y 30°C en tres diferentes tiempos de residencia

Filtraciones con soporte orgánico inoculado con medio YPD						
	EBRT (s)	CH_4 (%)	O_2 (%)	CO_2 (%)	H_2S (ppm)	Eficiencia (%)
10 °C	0	50.96	1.57	31.82	3906	0
	47	38.87 ±1,71	7.17 ±0,07	24.1 ±0,66	1645 ±140,01	57.88 ±3,58
	94	45.175 ±1,11	5.685 ±2,35	27.195 ±1,93	992.5 ±579,12	74.59 ±14,83
	141	43.315 ±3,70	5.21 ±0,86	26.06 ±3,13	515.5 ±327,39	86.8 ±8,38
20 °C	0	53.87	1.21	32.67	4080.33	0
	47	46.14 ±3,66	4.04 ±1,91	28.14 ±2,47	1305.33 ±548,65	68.27 ±12,43
	94	45.2 ±9,36	3.71 ±1,73	28.79 ±3,87	1135 ±567,65	72.34 ±13,68
	141	47.6 ±2,86	3.8 ±1,71	28.99 ±2,61	626 ±526,12	84.46 ±13,68
30 °C	0	55.38	0.83	34.96	5507	0
	47	44.04 ±3,32	4.02 ±2,08	29.48 ±3,75	1500 ±403,48	72.76 ±7,33
	94	46.25 ±1,26	3.02 ±0,73	31.15 ±1,55	1368.66 ±402,91	75.14 ±7,32
	141	42.99 ±4,31	4.34 ±1,67	29.04 ±2,53	879.66 ±248,42	84.02 ±4,51

Durante el desarrollo de estas pruebas, en las tres temperaturas seleccionadas (10, 20 y 30°C) se obtuvo una eficiencia de remoción superior al 80 % con 141 segundos de tiempo de residencia, y el mejor resultado se obtuvo a una temperatura de 10°C y 141 segundos de tiempo de residencia alcanzando una eficiencia de 86.8 %.

6.5.2. Eficiencia de remoción de H_2S con soporte orgánico inoculado con consorcio cultivado en medio LB

En la Tabla (6.3) se pueden observar los datos obtenidos en las filtraciones con el soporte orgánico inoculado con medio LB. En las pruebas que se realizaron a 10°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano en el biogás crudo fueron 4408 ppm y 54.87 % respectivamente. La eficiencia máxima de eliminación de la concentración de H_2S fue de 90.43 % (Fig. 6.9), reduciendo las cantidades de H_2S del biogás de 4408 ppm a 421.66 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 54.87 a 39.25 %. En la prueba realizada con 94s de EBRT, la concentración de metano se redujo solamente al 43.28 %, sin embargo, la eficiencia de remoción de H_2S alcanzó solo el 77.97 %.

En la prueba realizada a 20°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano en el biogás crudo fueron 3927 ppm y 55.8 % respectivamente. La mejor eficiencia de eliminación fue de 90.33 % (Fig. 6.9) reduciendo la concentración de H_2S de 3927 ppm a 379.66 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 55.8 a 40.35 %. En esta prueba, en ambos casos, se logró la eficiencia de eliminación de H_2S y una menor pérdida de metano con 141s de EBRT.

En las pruebas realizadas a 30°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano en el biogás crudo fueron 3927 ppm y 55.8 % respectivamente. La mejor eficiencia de eliminación fue de 93.11 % (Fig. 6.9) reduciendo la concentración de H_2S de 3927 ppm a 344.66 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 55.8 % a 43.88 %. En la prueba realizada con 47s de EBRT, la concentración de metano se redujo solo a 44.6 %, no existiendo una diferencia significativa en la pérdida de metano entre las pruebas realizadas con 47 y 141s de EBRT, sin embargo, la eficiencia de eliminación de H_2S solo alcanzó 78.91 %.

Durante el desarrollo de estas pruebas, en las tres temperaturas seleccionadas (10, 20 y 30°C) se logró alcanzar una eficiencia de remoción \geq a 90 %; a 10 y 20°C se logró con 141 segundos EBRT y con una operación a 30°C se logró desde los 94 segundos EBRT. El mejor resultado en estas pruebas se obtuvo a una temperatura de 30°C y 141 segundos de tiempo de residencia alcanzando una eficiencia de remoción de H_2S de 93.11 %.

En comparación con las pruebas que se realizaron con soporte inoculado con medio YPD, estas pruebas fueron mejores debido a que alcanzaron una eficiencia de eliminación de H_2S del 90 % a las tres temperaturas evaluadas respecto al 86 % del medio con YPD; con menor pérdida de metano en el mismo tiempo de residencia que se logró la mayor eficiencia de eliminación.

6.5.3. Eficiencia de remoción de H_2S con soporte orgánico inoculado con consorcio cultivado en YPD y LB 1:1

En la Tabla (6.4) se pueden observar los datos obtenidos en las filtraciones con el soporte orgánico inoculado con medio YPD-LB (1:1). En las pruebas realizadas a 10°C, las

CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6.3: Concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 , H_2S y porcentaje de eficiencia de filtración con soporte orgánico inoculado con medio LB a temperaturas de 10, 20 y 30°C en tres diferentes tiempos de residencia

Filtraciones con soporte orgánico inoculado con medio LB						
	EBRT (s)	CH_4 (%)	O_2 (%)	CO_2 (%)	H_2S (ppm)	Eficiencia (%)
10 °C	0	54.87	1.36	32.64	4408	0
	47	41.4 ±7,30	4.85 ±2,68	26.52 ±3,79	1078 ±274,09	75.54 ±6,22
	94	43.28 ±2,71	3.23 ±2,65	27.83 ±2,84	971 ±79,50	77.97 ±1,80
	141	39.25 ±0,97	6 ±0,84	24.91 ±1,04	421.66 ±126,89	90.43 ±2,88
20 °C	0	55.8	0.7	33.55	3927	0
	47	37.94 ±4,69	3.28 ±2,82	27.65 ±4,02	928.33 ±432,39	76.36 ±11,01
	94	39.43 ±1,71	2.5 ±1,29	28.52 ±2,19	679 ±271,11	82.7 ±6,90
	141	40.35 ±0,54	2.09 ±0,32	29.28 ±0,52	379.66 ±146,49	90.33 ±3,73
30 °C	0	55.8	0.7	33.55	3927	0
	47	44.6 ±1,04	2.48 ±0,58	30.52 ±0,32	1056.33 ±245,61	78.91 ±4,90
	94	42.76 ±3,54	13.2 ±15,24	19.26 ±14,88	482.66 ±542,39	90.36 ±10,83
	141	43.88 ±1,18	2.67 ±0,60	29.41 ±1,22	344.66 ±107,75	93.11 ±2,15

concentraciones iniciales de H_2S y metano en el biogás crudo fueron 4408 ppm y 54.87 % respectivamente. La máxima eficiencia de eliminación de la concentración de H_2S fue de 82.72 % (Fig. 6.9), reduciendo las cantidades de H_2S en el biogás de 4408 ppm a 761.33 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 54.87 a 47.72 %. En la prueba realizada con 47s de EBRT, la concentración de metano se redujo solo a 48.48 %, no existiendo una diferencia significativa en la pérdida de metano entre las pruebas realizadas con 47 y 141s de EBRT, sin embargo, la eficiencia de eliminación de H_2S alcanzó solamente 67.92 %.

En la prueba realizada a 20°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano de biogás crudo fueron 3927 ppm y 55.8 % respectivamente. La mejor eficiencia de eliminación fue de 70.18 % (Fig. 6.9) reduciendo la concentración de H_2S de 3927 ppm a 1170.66 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 55.8 a 37.21 %. En la prueba realizada con 94s de EBRT, la concentración de metano se redujo únicamente a 37.55 %, no existiendo una diferencia significativa en la pérdida de metano entre las pruebas realizadas con 94 y 141s de EBRT, sin embargo, la eficiencia de eliminación de H_2S solo alcanzó 64.7 %.

En las pruebas realizadas a 30°C, las concentraciones iniciales de H_2S y metano del biogás crudo fueron 5009 ppm y 55.7 % respectivamente. La mejor eficiencia de eliminación fue de 99.71 % (Fig. 6.9) reduciendo la concentración de H_2S de 5009 ppm a 14.33 ppm (Fig. 6.10) en un tiempo de residencia de 141s y el metano se redujo de 55.7 % a 42.69 %. En la prueba realizada con 94s de EBRT, la concentración de metano se redujo solo a 48.76 %, no existiendo diferencias significativas en la pérdida de metano entre las pruebas realizadas con 94 y 141s de EBRT, alcanzando una eficiencia de eliminación de 96.43 %. En esta prueba, se logró una eficiencia de eliminación superior al 92 % desde los 47s de tiempo de residencia sin diferencia significativa entre las tres temperaturas en la pérdida de metano.

A diferencia de las pruebas anteriores, durante el desarrollo de estas pruebas hubo una mayor variación en la eficiencia de remoción respecto de la temperatura empleada. En las tres temperaturas (10, 20 y 30°C) se alcanzó la máxima eficiencia de remoción con 141 segundos de tiempo de residencia con valores de 82.72, 70.178 y 99.71 % de eficiencia, respectivamente.

Tabla 6.4: Concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 , H_2S y porcentaje de eficiencia de filtración con soporte orgánico inoculado con medio LB y YPD relación 1:1, a temperaturas de 10, 20 y 30°C en tres diferentes tiempos de residencia

Filtraciones con soporte orgánico inoculado con medio LB+YPD relación 1:1						
	EBRT (s)	CH_4 (%)	O_2 (%)	CO_2 (%)	H_2S (ppm)	Eficiencia (%)
10 °C	0	54.87	1.36	32.64	4408	0
	47	48.48 ±3,82	2.2 ±0,28	30.6 ±0,55	1414 ±237,37	67.92 ±5,38
	94	48.04 ±4,32	2.3 ±0,46	30.45 ±0,82	1139.33 ±180,51	74.15 ±4,10
	141	47.72 ±5,68	2.58 ±0,16	29.28 ±0,62	761.33 ±154,60	82.72 ±3,51
20 °C	0	55.8	0.7	33.55	3927	0
	47	37.33 ±1,21	11.39 ±16,14	20.25 ±16	1836 ±212,35	53.24 ±5,41
	94	37.55 ±1,81	1.98 ±0,23	27.94 ±2,70	1386 ±538,92	64.7 ±13,72
	141	37.21 ±2,22	2.09 ±0,50	29.44 ±0,66	1170.66 ±175,39	70.18 ±4,47
30 °C	0	55.7	0.46	35.46	5008	0
	47	46.65 ±4,59	3.53 ±1,92	29.76 ±2,95	383.33 ±178,99	92.34 ±3,57
	94	48.76 ±2,58	2.92 ±0,53	30.86 ±1,27	178.66 ±120,19	96.43 ±2,40
	141	42.69 ±9,56	5.36 ±4,07	27.16 ±6,36	14.33 ±24,83	99.71 ±0,50

En este trabajo, las concentraciones de H_2S que se manejaron fueron alrededor de 5000 ppm, a diferencia de otras pruebas en las que también se logran eficiencias de eliminación que van desde el 84 % a más del 99 % pero con concentraciones H_2S más bajas, las cuales oscilan entre las 80, 100, 500 y 1200 ppm (Khanongnuch et al., 2019a; Zhang et al., 2019; Khanongnuch et al., 2019b; Tóth et al., 2017; Cheng et al., 2018; Barelli et al., 2017; Sahota et al., 2018; Watsuntorn et al., 2017). Aunque en las pruebas mencionadas anteriormente, una reducción de H_2S fue menor o igual a 500 ppm (Fig. 6.9), la desviación estándar en cada una fue de 8.38, 2.15 y 0.50 respectivamente, lo que sugiere que el tratamiento con medio LB más YPD a 30°C y con 141s de tiempo de residencia fue la estrategia más efectiva para la eliminación de H_2S sin mencionar que fue la que logró una eficiencia superior al 90 % en los tres tiempos de residencia.

6.6. Prueba piloto de la eficiencia de remoción de H_2S por el consorcio biológico

Con base a los resultados que se obtuvieron en las pruebas anteriores, se evaluó la capacidad de remoción del biofiltro con un volumen mayor de biogás, por lo que se realizó una prueba a nivel piloto para observar el comportamiento del biofiltro y su capacidad de remoción.

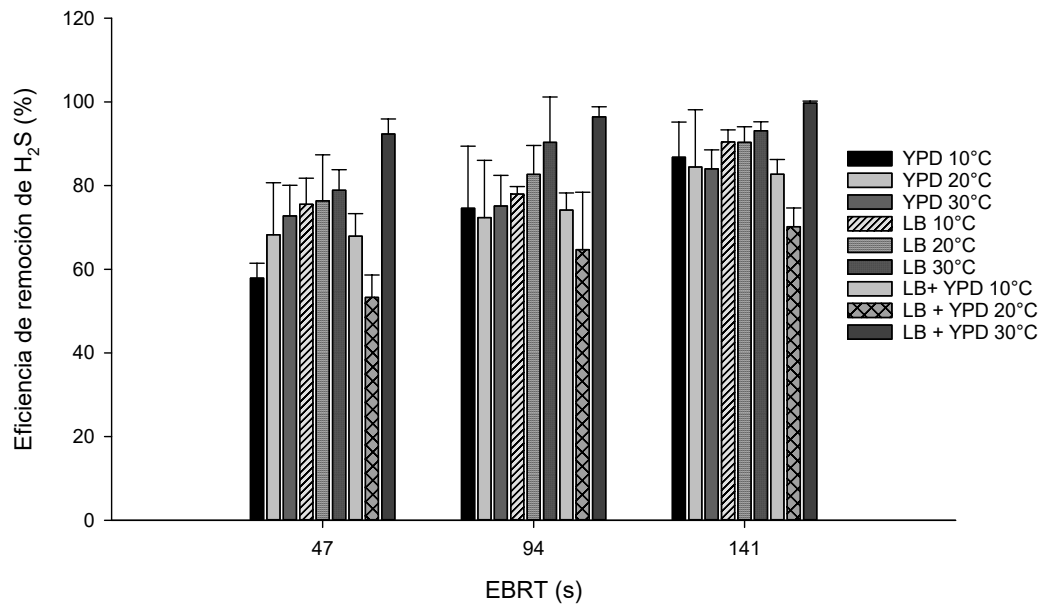


Figura 6.9: Eficiencia de eliminación del soporte orgánico con los diferentes inóculos y temperaturas de 10, 20 y 30°C con diferentes tiempos de residencia

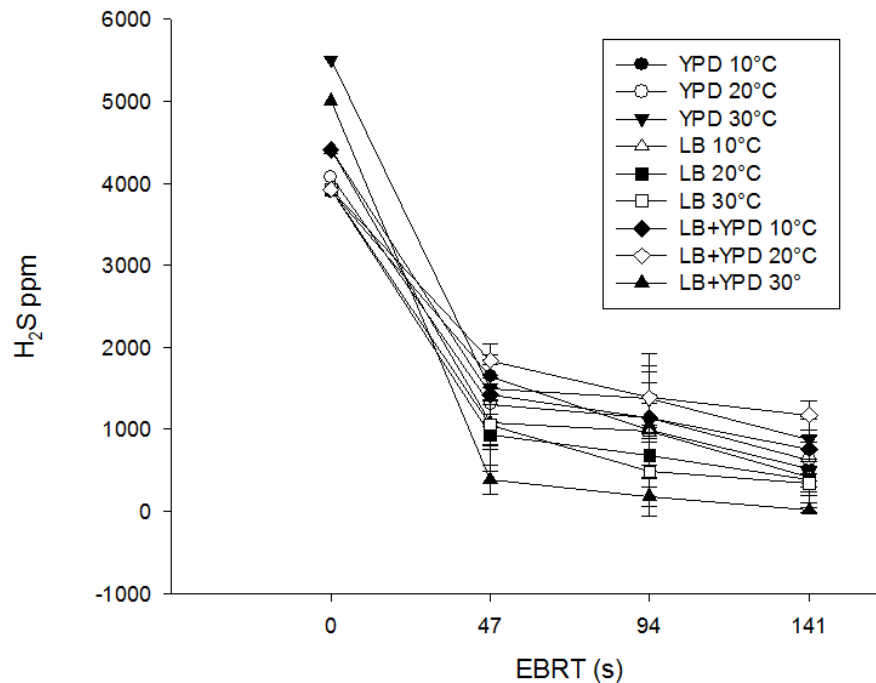


Figura 6.10: Concentraciones de H_2S durante el proceso de filtración con los soportes orgánicos inoculados con los medios LB, YPD and LB+ YPD (L+Y) en temperaturas de 10, 20 y 30°C con diferentes tiempos de residencia

En la prueba que se realizó a nivel piloto se filtraron 108 L de biogás crudo, el proceso se realizó en un periodo de 4 h. La concentración inicial de H_2S en la corriente de biogás fue de 4075 ppm y durante el proceso de biofiltración se alcanzó una máxima eficiencia de remoción de 79 % por lo que con ello se logró reducir la concentración de ácido sulfhídrico a 854 ppm como se puede observar en la Fig. (6.11). Durante la primera hora es cuando el filtro alcanzó su mayor aumento de eficiencia de eliminación logrando reducir la concentración de H_2S a 1619 ppm y a partir de la tercera hora se observa que se va estabilizando la eficiencia cercana al 80 % por lo que el filtro logró eliminar una cantidad de 3200 ppm de H_2S de la corriente de biogás en un periodo de 4 horas.

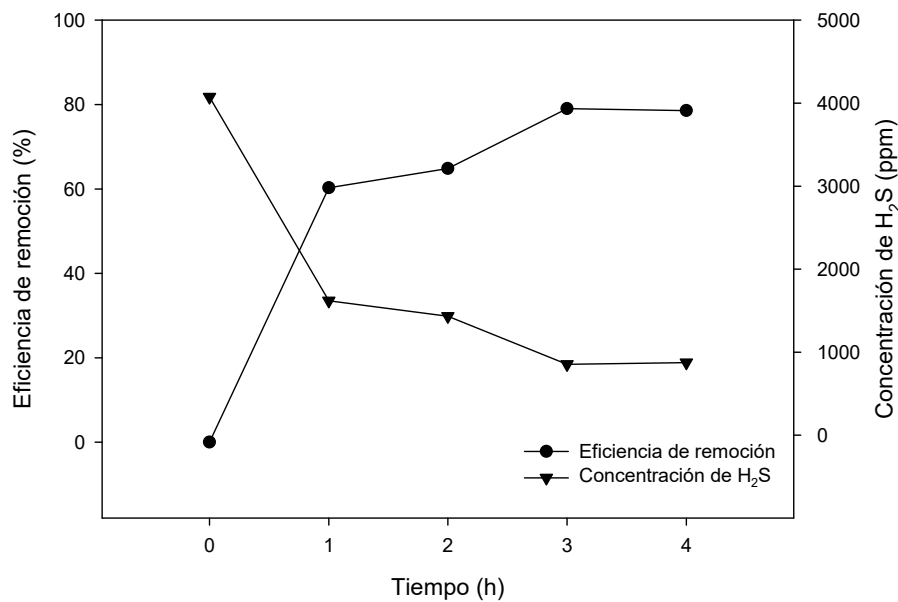


Figura 6.11: Eficiencia del proceso de eliminación de H_2S en la prueba piloto realizada

Debido a que el objetivo del biofiltro es la eliminación del H_2S conservando el metano (CH_4), se evaluó la concentración de metano durante el proceso de filtración a nivel piloto. Como se puede observar en la figura (6.12) la concentración de metano se mantiene estable alrededor del 50 % mientras el proceso de eliminación de ácido sulfhídrico se llevó a cabo.

6.7. Prueba de saturación del soporte orgánico

Adicional a la prueba a nivel piloto realizada, se realizó una prueba para verificar el punto de saturación del soporte orgánico. Como se puede observar en la figura (6.13) durante la primera hora mantuvo una eficiencia de eliminación superior al 90 %, posteriormente en la siguiente hora y media se mantuvo en un rango de eficiencia de 70-80 %; entre las 4 y 5 horas de trabajo se mantuvo alrededor de un 50 % de eficiencia de remoción. A las 6 horas se puede observar una baja en la eficiencia llegando hasta un 10 % de eficiencia, sin embargo, en el siguiente punto de muestreo vuelve a subir hasta un 50 %.

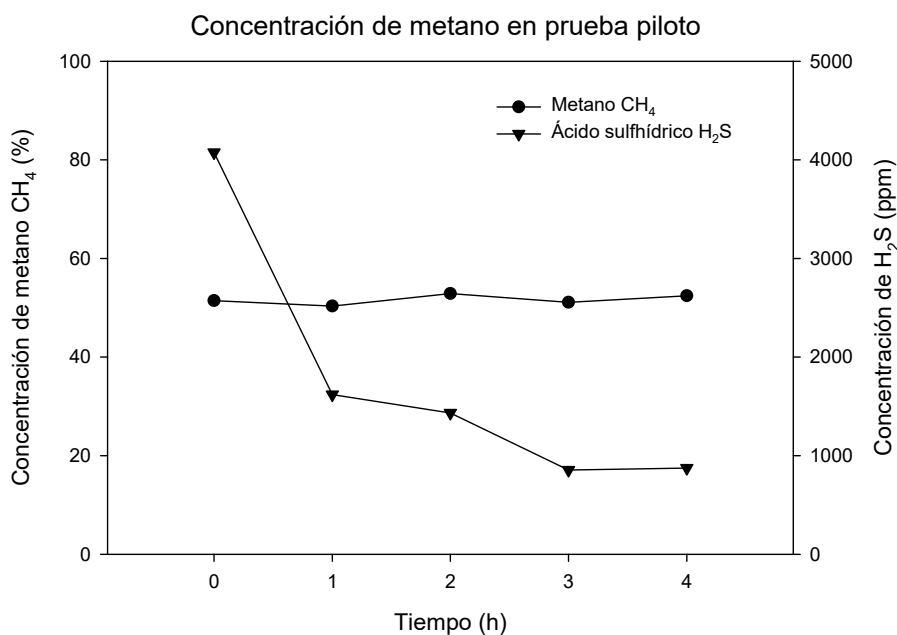


Figura 6.12: Concentración de metano (CH_4) durante el proceso de eliminación de H_2S en la prueba piloto realizada

Debido al comportamiento observado en la figura (6.13) se puede inferir que biofiltro tiene una capacidad de remoción de H_2S superior al 80 % durante la primera hora de trabajo, posteriormente su eficiencia fluctúa entre el 50 y 70 % de su eficiencia de eliminación para finalmente llegar a una tendencia a estabilizarse en el 50 % de su capacidad de eliminación pasadas las 7 horas de trabajo continuo.

En relación a lo que fue la conservación del metano en el proceso de saturación del soporte orgánico, se puede observar en la figura (6.14) que la concentración de metano se mantuvo estable, a excepción del quinto punto de muestreo, en el cual se puede observar que baja la concentración, sin embargo, al ser el único dato con ese comportamiento se puede considerar como un error de lectura, ya que el resto de los datos durante las 7 1/2 horas que duró la prueba, la concentración de metano se mantuvo alrededor del 50 % siendo que el biogás crudo tenía una concentración inicial de 55.61 %.

6.8. Comparación de la eficiencia de remoción con diversos medios filtrantes

Como se puede observar en la Figura (6.15), los materiales utilizados como medio filtrante para la eliminación de H_2S , redujeron la concentración del ácido sulfhídrico durante los primeros cinco minutos, sin embargo, se puede observar que a los 10 minutos la eficiencia de eliminación se redujo en algunos casos hasta casi el 20 % (Figura 6.16) y a los 15 minutos se redujo esa eficiencia incluso alrededor del 10 %. Cabe mencionar que incluso desde los primeros cinco minutos de prueba, ningún material superó el 80 % de eficiencia de remoción; el aserrín que llegó alrededor del 70 %, reduciendo considerablemente los niveles

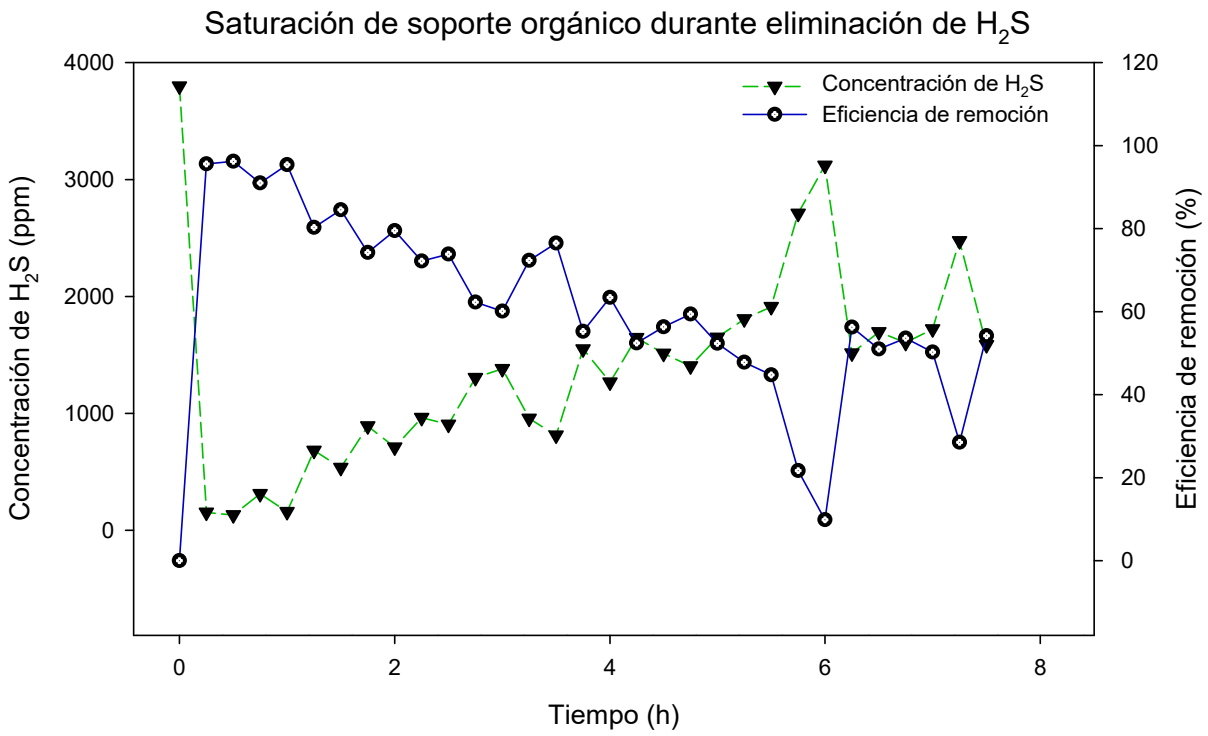


Figura 6.13: Eficiencia del proceso de eliminación de H_2S en la prueba de saturación del soporte orgánico

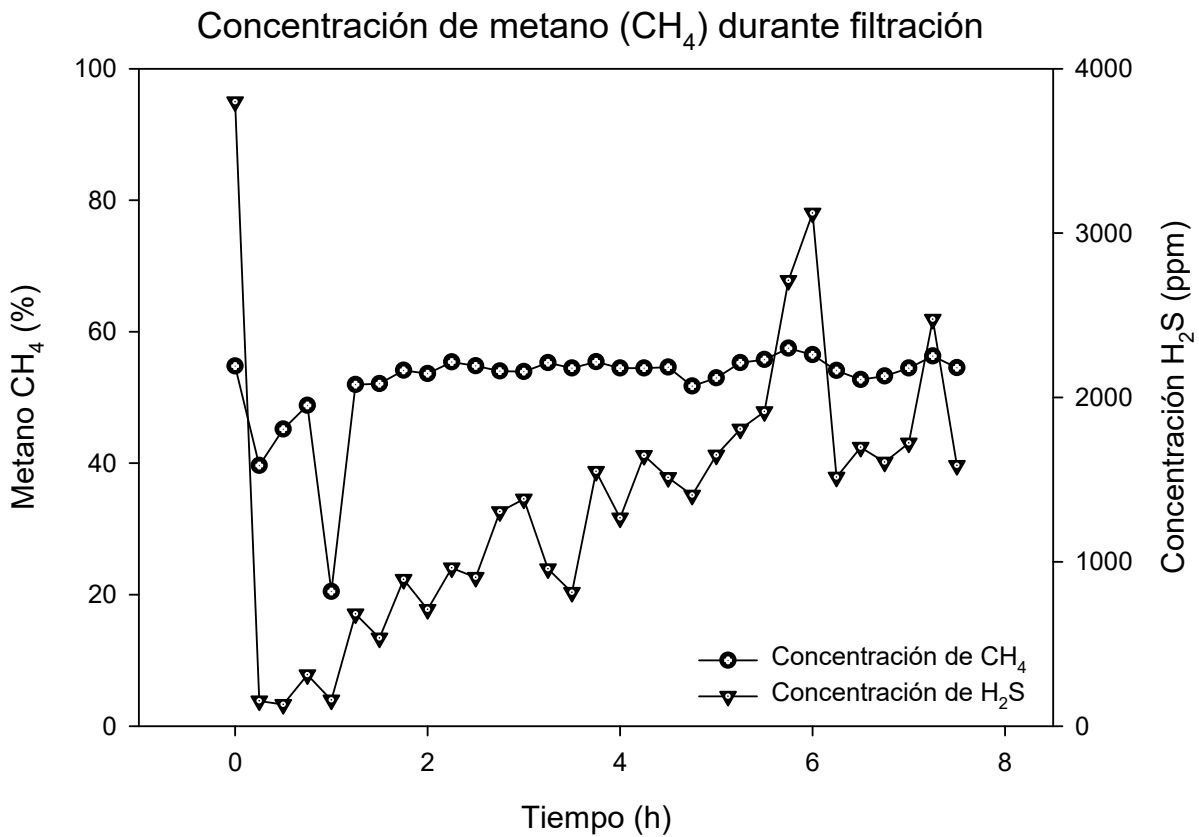


Figura 6.14: Concentración de metano (CH_4) en la prueba de saturación del soporte orgánico

de H_2S en los primeros cinco minutos, fue el material cuya eficiencia cayó drásticamente hasta un 20 y 10 %.

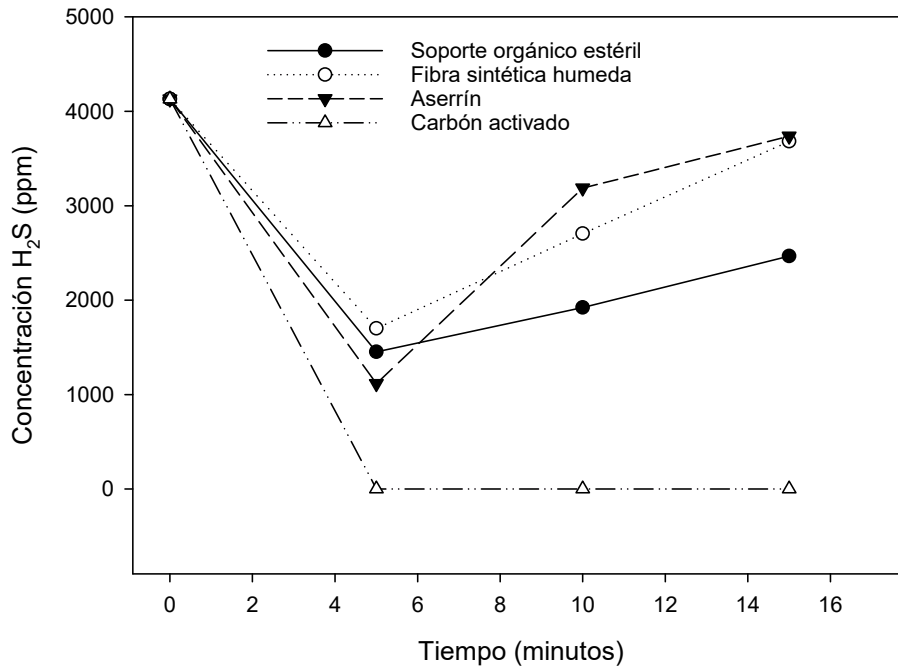


Figura 6.15: Concentración de H_2S en los diferentes materiales utilizados como medio filtrante

6.9. Análisis de Azufre

Las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (Fig. 6.17 y 6.18) muestran la diferencia en el soporte orgánico antes y después del proceso de biofiltración. En la figura (6.17) se puede observar el soporte orgánico antes de que pase por el proceso de biofiltración, mientras que en la figura (6.18) se observa el soporte orgánico utilizado después del proceso de biofiltración. En las figuras (6.18b y 6.18c) se pueden observar estructuras globulares (marcadas mediante flechas), que no se observan en la figura (6.17), que de acuerdo a (Juhnke and Weichert, 2005), donde realizan una reducción mecánica de partículas de azufre mediante un molino de vibración con baja densidad de potencia, bolas de molienda de acero y dióxido de carbono sólido; dichas estructuras corresponden a partículas de azufre elemental, lo que se debe a que el H_2S puede reducirse a forma de azufre elemental mediante la filtración con métodos biológicos (Arespacochaga et al., 2014); los resultados anteriores corresponden al análisis realizado por difracción de rayos X (Tabla 6.5), que muestra un aumento de 0.345 % en el porcentaje de azufre entre el soporte orgánico crudo y el utilizado.

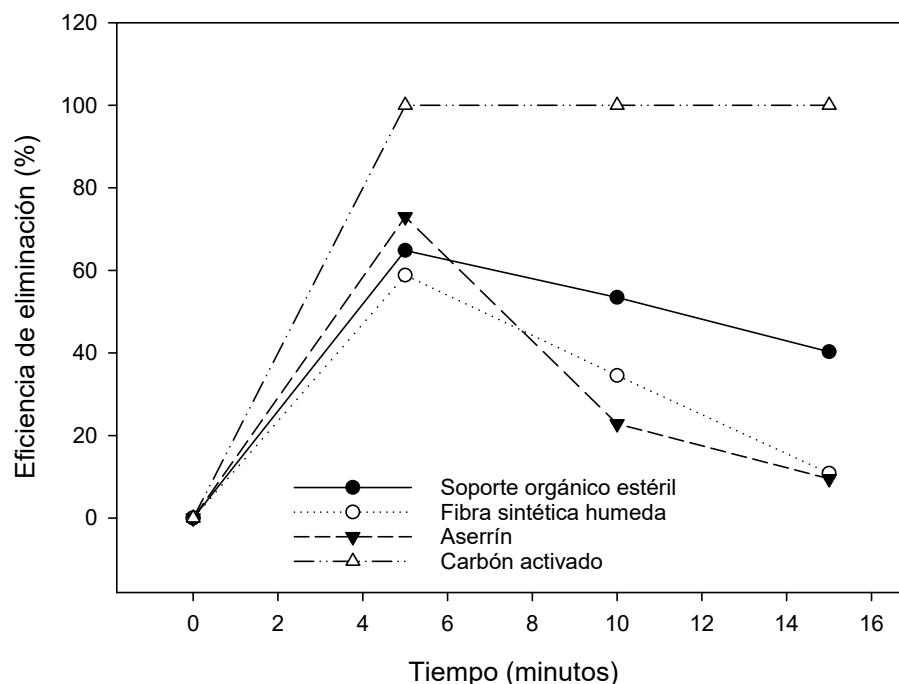

 Figura 6.16: Eficiencia de eliminación de H_2S de los diferentes materiales utilizados como medio filtrante

Tabla 6.5: Análisis del porcentaje en masa de elementos presentes en el soporte orgánico, anterior y posterior a uso como filtro de biogas, mediante difracción de Rayos X

Muestra	Porcentaje en masa de los elementos analizados en el soporte orgánico					
	Mg	S	K	Mn	Fe	Cu
Soporte orgánico en bruto	1.026 $\pm 0,033$	0.385 $\pm 0,004$	2.51 $\pm 0,04$	3.1 $\pm 0,04$	92.9 $\pm 0,1$	0.135 $\pm 0,004$
Soporte orgánico utilizado	1.57 $\pm 0,01$	0.73 $\pm 0,003$	3.68 $\pm 0,1$	2.7 $\pm 0,02$	91 $\pm 0,1$	0.29 $\pm 0,011$

En base a los resultados que se obtuvieron de las pruebas realizadas con los diferentes inóculos y tomando en cuenta las imágenes obtenidas mediante SEM del soporte orgánico, se puede inferir que la eliminación de H_2S está siendo llevada a cabo mediante métodos biológicos. Esto debido a que de acuerdo a (Amirfakhri et al., 2006; Llaneza et al., 2010), los microorganismos sulfo-oxidantes, pueden transformar compuestos reducidos de azufre en azufre elemental (S^0), ya sean fotoautótrofos o quimioautótrofos. La reacción fotoquímica general realizada por GSB para oxidar el S^{2-} a S^0 es la mostrada en la ecuación (6.1); así como la reacción general presentada en sistemas aerobios de remoción de azufre es la mostrada en la ecuación (6.2) (Syed et al., 2006).



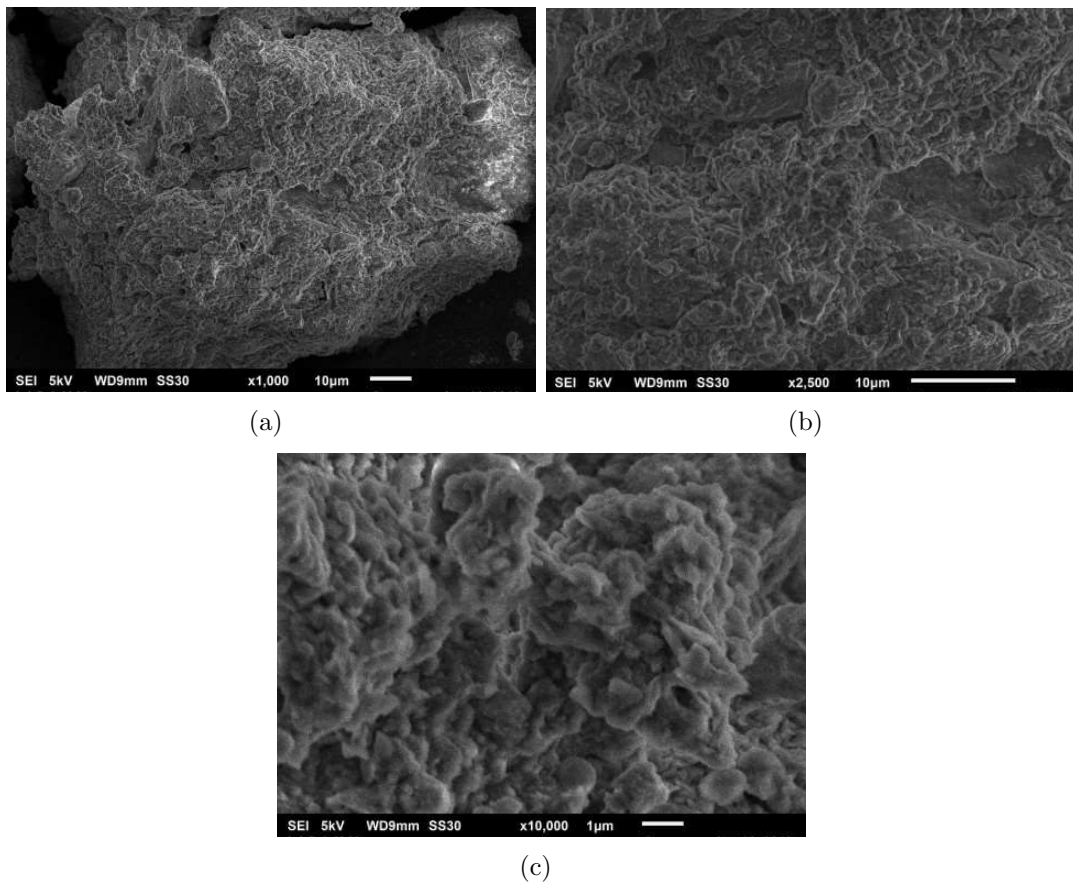


Figura 6.17: Microscopia Electrónica de Barrido del soporte orgánico antes de su inoculación y uso como filtro de biogás. a)(SEI, 5kV, WD9mm, x1000); b)(SEI, 5kV, WD9mm, x2500); c)(SEI, 5kV, WD9mm, x10000)

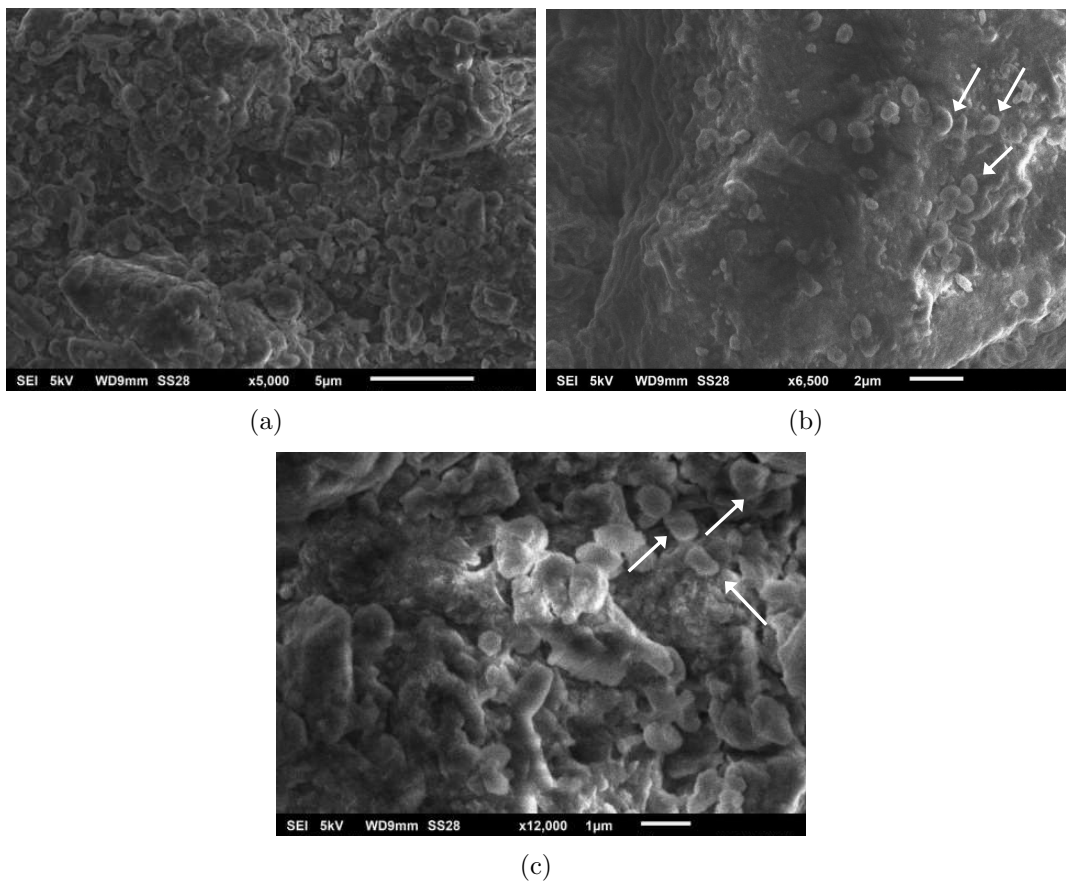
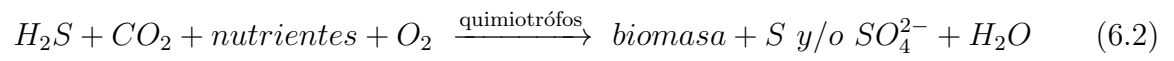


Figura 6.18: Microscopia Electrónica de Barrido del soporte orgánico posterior a su inoculación y uso como filtro del biogás. a)(SEI, 5kV, WD9mm, x5000); b)(SEI, 5kV, WD9mm, x6500); c)(SEI, 5kV, WD9mm, x12000)

CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Capítulo 7

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede observar que se hace factible la remoción del ácido sulfhídrico de una corriente de biogás mediante método biológicos, esto debido a que su eficiencia de remoción supera el 99 % con el mejor tratamiento que se empleó, el cual consistió en la inoculación del soporte orgánico con los medios elaborados en relación 1:1 y a una temperatura de 30°C. Lo cual conlleva a una reducción casi total del H_2S sin los inconvenientes que pudieran ocasionar los métodos fisico-químicos.

Bibliografía

- Abatzoglou, N. and Boivin, S. (2009). A review of biogas purification processes. *Biofuels, bioproducts and biorefining*, 3(1):42–72.
- Abbasi, T., Tauseef, S. M., and Abbasi, S. A. (2012). *Biogas Energy*. Springer-Verlag New York, New York, first edition.
- Amirfakhri, J., Vossoughi, M., and Soltanieh, M. (2006). Assessment of desulfurization of natural gas by chemoautotrophic bacteria in an anaerobic baffled reactor (ABR). *Chemical Engineering and Processing*, 45:232–237.
- Arellano-García, L., Revah, S., Ramírez, M., Gómez, J., and Cantero, D. (2009). Dimethyl sulphide degradation using immobilized *Thiobacillus thioparus* in a biotrickling filter. *Environmental Technology*, 30(12):1237–1279.
- Arespacochaga, N. d., Valderrama, C., Mesa, C., Bouchy, L., and Cortina, J. (2014). Biogas biological desulphurization under extremely acidic conditions for energetic valorisation in solid oxide fuel cells. *Chemical Engineering Journal*, 255:677–686.
- Barelli, L., Bidini, G., Arespacochaga, N. d., Pérez, L., and Sisani, E. (2017). Biogas use in high temperature fuel cells: Enhancement of KOH-KI activated carbon performance toward H_2S removal. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30:1–13.
- Chen, Y., Wang, X., He, S., Zhu, S., and Shen, S. (2016). The performance of a two-layer biotrickling filter filled with new mixed packing materials for the removal of H_2S from air. *Journal of Environmental Management*, 165(Supplement C):11–16.
- Cheng, Y., Yuan, T., and Deng, Y. (2018). Use of sulfur-oxidizing bacteria enriched from sewage sludge to biologically remove H_2S from biogas at an industrial-scale biogas plant. *Bioresource Technology Reports*, 3:43–50.
- Cosoli, P., Ferrone, M., Priol, S., and Fermeglia, M. (2008). Hydrogen sulphide removal from biogas by zeolite adsorption: Part I. GCMC molecular simulations. *Chemical Engineering Journal*, 145(1):86–92.
- Delhoménie, M.-C. and Heitz, M. (2005). Biofiltration of Air: A Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25:53–72.
- Dubois, L. and Thomas, D. (2010). Comparison of various alkaline solutions for H_2S/CO_2 selective absorption applied to biogas purification. *Chemical Engineering and Technology*, 33(10):1601–1610.

- Fan, X. L., Li, Z. F., Wang, T. T., Jin, X., and Yin, F. B. (2011). Experimental Study of Biological H_2S Removal in Biogas. *Advanced Materials Research*, 383-390:3992–3997.
- Fernández, M., Ramírez, M., Gómez, J. M., and Cantero, D. (2014). Biogas biodesulfurization in an anoxic biotrickling filter packed with open-pore polyurethane foam. *Journal of Hazardous Materials*, 264:529–536.
- Ford, S. (2012). *Advances in Biogas*. Pira International Ltd, UK.
- Harasimowicz, M., Orluk, P., Zakrzewska-Trznadel, G., and Chmielewski, A. G. (2007). Application of polyimide membranes for biogas purification and enrichment. *Journal of Hazardous Materials*, 144(3):698–703.
- Ho, K.-L., Lin, W.-C., Chung, Y.-C., Chen, Y.-P., and Tseng, C.-P. (2013). Elimination of high concentration hydrogen sulfide and biogas purification by chemical-biological process. *Chemosphere*, pages 1–6.
- Jin, Y., Veiga, M. C., and Kennes, C. (2005a). Autotrophic deodorization of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80:998–1005.
- Jin, Y., Veiga, M. C., and Kennes, C. (2005b). Effects of pH, CO_2 , and flow pattern on the autotrophic degradation of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. *Biotechnology and Bioengineering*, pages 462–471.
- Juhnke, M. and Weichert, R. (2005). Nanoparticles of soft materials by high-energy milling at low temperatures. *ResearchGate*, pages 1–11.
- Khan, A. L., Odena, A. C., Liu, C., Vankelecom, I. F. J., and Basu, S. (2010). Membrane-based technologies for biogas separations. *Chemical Society Reviews*, 39(2):750–768.
- Khanongnuch, R., Di Capua, F., Lakaniemi, A.-M., Rene, E., and N.L. Lens, P. (2019a). Transient-state operation of an anoxic biotrickling filter for H_2S removal. *Journal of Hazardous Materials*, 377:42–51.
- Khanongnuch, R., Di Capua, F., Lakaniemi, A.-M., Rene, E. R., and Lens, P. N. L. (2019b). H_2S removal and microbial community composition in an anoxic biotrickling filter under autotrophic and mixotrophic conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 367:397–406.
- Kim, J. H., Rene, E. R., and Park, H. S. (2008). Biological oxidation of hydrogen sulfide under steady and transient state conditions in an immobilized cell biofilter. *Bioresource Technology*, 99:583–588.
- Kleerebezem, R. and Mendez, R. (2002). Autotrophic denitrification for combined hydrogen sulfide removal from biogas and post-denitrification. *Water Science and Technology*, 45(10):349–357.
- Korres, N., O’Kiely, P., Benzie, J. A., and West, J. S. (2013). *Bioenergy Production by Anaerobic Digestion: Using Agricultural Biomass and Organic Wastes*. Routledge, London.

BIBLIOGRAFÍA

- Kumar, S. (2012). *Biogas*. Sciyo, Rijeka.
- Lastella, G., Testa, C., Cornacchia, G., Notornicola, M., Voltasio, F., and Sharma, V. K. (2002). Anaerobic digestion of semi-solid organic waste: biogas production and its purification. *Energy Conversion and Management*, 43(1):63–76.
- Llaneza, H., Morís, M. A., Azpíroz, L. G., and González, E. (2010). *Estudio de viabilidad de sistemas de purificación y aprovechamiento de biogas*. PSE PROBIOGAS, España.
- Lorenzo Acosta, Y. and Obaya Abreu, M. C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 34(1):35–48.
- Naegele, H.-J., Lindner, J., Merkle, W., Lemmer, A., Jungbluth, T., and Bogenrieder, C. (2013). Effects of temperature, pH and O_2 on the removal of hydrogen sulfide from biogas by external biological desulfurization in a full scale fixed-bed trickling bioreactor (FBTB). *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 6(1):69–81.
- Ortiz, F. G., Aguilera, P., and Ollero, P. (2014). Modeling and simulation of the adsorption of biogas hydrogen sulfide on treated sewage-sludge. *Chemical Engineering Journal*, 253:305–315.
- Pirolli, M., Silva, M. L. B. d., Mezzari, M. P., Michelon, W., Prandini, J. M., and Soares, H. M. (2016). Methane production from a field-scale biofilter designed for desulfurization of biogas stream. *Journal of Environmental Management*, 177:161–168.
- Sahota, S., Vijay, V. K., and Chandra, R. (2018). Characterization of leaf waste based biochar for cost effective hydrogen sulphide removal from biogas. *Bioresource Technology*, pages 2–30.
- Soreanu, G., Béland, M., Falletta, P., Edmonson, K., and Seto, P. (2008). Laboratory pilot scale study for H_2S removal from biogas in an anoxic biotrickling filter. *Water Science and Technology*, 57(2):201–207.
- Stanek, J., Gift, J., Woodall, G., and Foureman, G. (2011). *Hydrogen Sulfide: Integrative Analysis of Acute Toxicity Data for Estimating Human Health Risk* A2 - Nriagu, J.O*, pages 124–139. Elsevier, Burlington.
- Syed, M., Soreanu, G., Falletta, P., and Béland, M. (2006). Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - A review. *Canadian Biosystems Engineering*, 48.
- Truong, L. V.-A. and Abatzoglou, N. (2005). A H_2S reactive adsorption process for the purification of biogas prior to its use as a bioenergy vector. *Biomass and Bioenergy*, 29(2):142–152.
- Tóth, G., Nemestóthy, N., Bélafi-Bakó, K., and Lövitusz, E. (2017). Microbial hydrogen sulfide elimination in a continuous biotrickling reactor by immobilized *Thiobacillus thioparus*. *Environment Protection Engineering*, 43(1):19–30.

- Varnero, M. T., Carú, M., Galleguillos, K., and Achondo, P. (2012). Tecnologías disponibles para la purificación de biogás usado en la generación eléctrica. *Información Tecnológica*, 23(2):31–40.
- Viera, L. O., Muñoz, S. R., Santana, E. F., and Pérez, L. B. (2015). Principales métodos para la desulfuración del biogás. *Ingeniería Hidráulica y ambiental*, 36(1):45–56.
- Vikromvarasiri, N., Champreda, V., Boonyawanich, S., and Pisutpaisal, N. (2017a). Hydrogen sulfide removal from biogas by biotrickling filter inoculated with *Halothiobacillus neapolitanus*. *International Journal of Hydrogen Energy*, pages 1–9.
- Vikromvarasiri, N., Juntranapaporn, J., and Pisutpaisal, N. (2017b). Performance of *Paracoccus pantotrophus* for H_2S removal in biotrickling filter. *International Journal of Hydrogen Energy*.
- Vikromvarasiri, N. and Pisutpaisal, N. (2016). Hydrogen sulfide removal in biotrickling filter system by *Halothiobacillus neapolitanus*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41:15682–15687.
- Watsuntorn, W., Ruangchainikom, C., Rene, E. R., Lens, P. N. L., and Chulalaksanakul, W. (2017). Hydrogen sulfide oxidation under anoxic conditions by a nitrate-reducing, sulfide-oxidizing bacterium isolated from the Mae Um Long Luang hot spring, Thailand. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 124(Supplement C):196–205.
- Wellinger, A., Murphy, J., and Baxter, D. (2013). *The biogas handbook: Science, production and applications*. Woodhead Publishing Series in Energy. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Yuan, W. and J. Badosz, T. (2007). Removal of hydrogen sulfide from biogas on sludge-derived adsorbents. *Fuel*, 86:2736–2746.
- Zhang, Y., Oshita, K., Kusakabe, T., Takaoka, M., Kawasaki, Y., Minami, D., and Tanaka, T. (2019). Simultaneous removal of siloxanes and H_2S from biogas using an aerobic biotrickling filter. *Journal of Hazardous Materials*.