



**“Estudio y puesta en marcha de un sistema de eliminación de ácido sulfhídrico en una corriente de aire, mediante un biofiltro de escurrimiento con *Thiobacillus thioparus* inmovilizado en espuma de poliuretano”**

**PROGRAMA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS QUÍMICAS  
BIENIO 2003/2005**

**Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y  
Tecnologías del Medio Ambiente  
Facultad de Ciencias**

**MARTÍN RAMÍREZ MUÑOZ  
PUERTO REAL, MARZO 2006  
Tutor: José Manuel Gómez Montes de Oca**

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivo.....	1
<b>2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS .....</b>	<b>2</b>
2.1. Contaminantes Industriales.....	2
2.2. Tecnologías para el tratamiento de gases.....	2
2.2.1. Tecnologías Físico-químicas .....	2
2.2.2. Tecnologías Biológicas.....	3
2.2.2.1. Biolavadores (Bioscrubbers) .....	3
2.2.2.2. Biofiltros.....	4
2.2.2.3. Biofiltros de escurrimiento (Trickling biofilter).....	4
2.3. Sulfuro de Hidrogeno.....	5
2.3.1. Propiedades .....	5
2.3.2. Fuentes.....	5
2.3.3. Usos .....	6
2.3.4. Efectos sobre la salud .....	6
2.4. Eliminación de H <sub>2</sub> S mediante biofiltración.....	7
2.4.1. Microorganismos .....	7
2.4.2. Soportes utilizados en la eliminación de H <sub>2</sub> S.....	10
2.4.3. Resultados obtenidos en la eliminación de H <sub>2</sub> S.....	10
2.5. Modelos matemáticos .....	14
2.5.1. Modelo de Ottengraf .....	14
2.5.2. Modelo de Deviny y Hodge.....	15
2.5.3. Modelo de Shareefdeen <i>et al.</i> .....	17
2.5.4. Modelo de Deshusses <i>et al.</i> .....	17
2.5.5. Modelos QSARs .....	18
2.5.6. Otros modelos .....	18
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS: .....</b>	<b>20</b>
3.1. Microorganismo y medio de cultivo.....	20
3.2. Procedimiento de propagación y conservación de la cepa .....	20
3.3. Características del soporte.....	21
3.4. Cinética de crecimiento.....	21
3.5. Protocolo de colonización de soporte.....	21
3.6. Sistema experimental de eliminación de ácido sulfhídrico .....	21
3.6.1. Generación de la corriente de entrada.....	22
3.6.2. Biofiltro de escurrimiento .....	22
3.6.3. Recirculación de nutrientes y equipos de control y medición .....	23
3.6.4. Condiciones de operación y diseño experimental .....	23
3.7. Métodos de análisis.....	24
3.7.1. Determinación de la concentración celular .....	24
3.7.2. Determinación de la biomasa inmovilizada .....	24

3.7.3.	Concentración de tiosulfato .....	25
3.7.4.	Concentración de sulfato.....	25
3.7.5.	Análisis de ácido sulfhídrico .....	26
3.7.6.	Preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido.....	26
<b>4.</b>	<b>ANÁLISIS Y RESULTADOS .....</b>	<b>28</b>
4.1.	Cinética de crecimiento.....	28
4.2.	Biomasa inmovilizada .....	28
4.3.	Eliminación de ácido sulfhídrico.....	31
4.3.1.	Efecto de la concentración de entrada.....	31
4.4.	Efecto de la carga de alimentación.....	32
4.5.	Efecto del tiempo de residencia .....	33
4.6.	Efecto de la concentración de sulfato.....	33
4.7.	Modelado cinético de la biofiltración.....	35
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>6.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>42</b>

## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

La contaminación atmosférica es uno de los problemas ambientales más importantes. Las causas que originan esta contaminación son diversas y pueden tener su origen por la acción del hombre (antropogénico) o bien por causas naturales (telúrico). Con frecuencia, la contaminación natural ocurre en cantidades mayores que la producida por las actividades humanas, sin embargo, ésta última es de mayor impacto y representa una amenaza más significativa.

La emisión de contaminantes gaseosos a la atmósfera provoca una serie de impactos ambientales apreciables a diversas escalas tales como la lluvia ácida, contaminación fotoquímica, efecto invernadero etc. Además de estos efectos pueden generarse compuestos nocivos para las vías respiratorias y producir olores que afecten a la calidad de vida de las personas por causar molestias e incluso poner en peligro directamente la salud. Hay que considerar la alta sensibilidad del olfato humano que es capaz de detectar olores a muy bajas concentraciones, del orden de ppm e incluso ppb (Ottengraf, 1986), y considerando que esta percepción del olor no es lineal, nos encontraremos compuestos que a bajas concentraciones son rápidamente detectados por el olfato y, a partir de determinadas concentraciones mayores dejan incluso de ser percibidos como consecuencia de una saturación de las fosas nasales. Este hecho ocurre por ejemplo con el ácido sulfhídrico y otros compuestos sulfurados reducidos conocidos también como TRS (Total Reduce Sulfur).

La generación de olores está considerada como una forma específica de contaminación atmosférica, entendiéndose por tal la presencia en el aire de sustancias y formas de energía que alteran la calidad del mismo, de modo que implique riesgos, daños o molestias graves para las personas y bienes de cualquier naturaleza.

### 1.1. Objetivo

El objetivo del presente trabajo es el estudio y puesta en marcha de un sistema de eliminación de ácido sulfhídrico en una corriente de aire, mediante el uso de un biofiltro de escurrimiento con *Thiobacillus thioparus* inmovilizado en espuma de poliuretano.

La consecución del objetivo antes descrito se llevará a través del conjunto de objetivos específicos que se detallan a continuación:

- Puesta a punto de las técnicas de crecimiento y conservación de la cepa.
- Estudio del proceso de inmovilización de *Thiobacillus thioparus*. Diseño de un protocolo de inmovilización.
- Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso de eliminación de H<sub>2</sub>S por *Th. thioparus* inmovilizado en espuma de poliuretano utilizando un biofiltro de escurrimiento. Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación.

## 2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

### 2.1. Contaminantes Industriales

Los compuestos más comunes responsables del mal olor se dividen en cuatro categorías (Manero, 1997):

- Compuestos con nitrógeno: amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y aminas.
- Compuestos sulfurados: sulfuro de hidrogeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ), metil mercaptano o metanotiol ( $\text{CH}_3\text{SH}$ , MM o MT), dimetil sulfuro ( $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ , DMS), dimetil disulfuro ( $(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$ , DMDS)
- Ácidos volátiles grasos.
- Aldehídos, cetonas y esterés.

Actualmente, son numerosas las actividades industriales potencialmente generadoras de olores: tratamiento de aguas residuales urbanas (EDAR), tratamiento de subproductos de origen animal, procesado de pescado, conservas, fundidores de grasas animales, fabricación de harinas de carne o pescado, industria alimentaria, mataderos, tratamiento de residuos sólidos urbanos (basuras, compostaje, vertederos), industria química y farmacéutica, industria del caucho, industrias del tabaco, refinerías de petróleo, producción de celulosa, etc. Dada la gran cantidad de fuentes emisoras de compuestos que generan olores, en los últimos años se ha realizado un esfuerzo por desarrollar tecnologías específicas para la eliminación de este tipo de compuestos.

### 2.2. Tecnologías para el tratamiento de gases

Las distintas tecnologías usadas para el tratamiento de emisiones gaseosas se pueden clasificar en fisico-químicas y biológicas. Cada actividad industrial tiene una problemática distinta y hace que el sistema de desodorización aplicable sea distinto. Para la elección de éste, hay que tener en cuenta una serie de consideraciones: cuál es el problema del olor, su naturaleza, volumen a tratar, características del aire contaminado y características y gestión de los subproductos generados. Un análisis detallado de estos factores determinará en cada caso el grado de eficacia que se requiere y el sistema de tratamiento más adecuado.

En la Figura 1 se muestran los rangos de concentración y de flujo de aire en los cuales pueden aplicarse las distintas tecnologías existentes (Kosteltz *et al.*, 1996). Así, se puede observar que los métodos biológicos son eficientes para grandes volúmenes de aire con bajas concentraciones de contaminante.

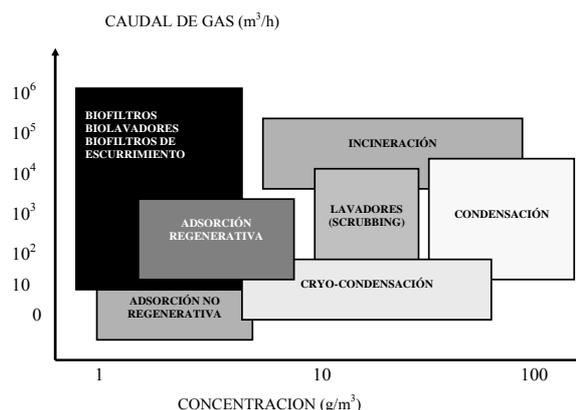


Figura 1. Rango de aplicación de tecnologías para el tratamiento de emisiones gaseosas

#### 2.2.1. Tecnologías Físico-químicas

Tradicionalmente, se han utilizado las tecnologías de base físico-químicas, destacando entre ellas: la adsorción, la absorción, los sistemas de membranas, la incineración, la condensación y los procesos de oxidación química (Devinny *et al.*, 1999).

### 2.2.2. Tecnologías Biológicas

Frente a las técnicas físico-químicas se encuentran los tratamientos biológicos cuya primera aplicación data de 1923 (Bach, 1923), utilizándose esta tecnología para la eliminación de  $H_2S$  en una planta de tratamiento de aguas residuales, pero no es hasta 1980 cuando su aplicación se extiende para la eliminación de otros compuestos presentes en los gases contaminados (Van Groenestijn and Hesselink, 1993).

A todo proceso biológico utilizado para el control o tratamiento de compuestos volátiles orgánicos e inorgánicos presentes en corrientes gaseosas se le conoce con el nombre de biofiltración. En función de la forma de operar, se pueden encontrar tres tipos de tratamientos biológicos: biolavadores (bioscrubber), biofiltros de escurrimiento (biotrickling) y biofiltros, propiamente dichos. La diferencia entre ellos es la presencia o no de un soporte, la fase móvil y el estado de la biomasa activa (Tabla 1).

<i>Reactor</i>	<i>Fase móvil</i>	<i>Soporte</i>	<i>Biomasa activa</i>
Biolavador (BL)	Líquida y gaseosa	Ninguno	Dispersa
Biofiltro de escurrimiento (BTF)	Líquida y gaseosa	Sintético	Inmovilizada
Biofiltro (BF)	Gaseosa	Orgánico/Sintético	Inmovilizada

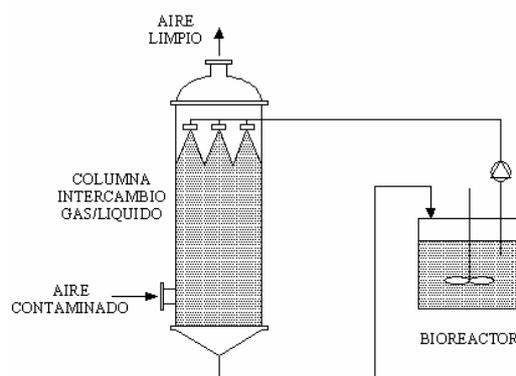
**Tabla 1: Distintos tipos de reactores para la eliminación de gases contaminantes**

Los sistemas biológicos de tratamiento de aire son considerados como tecnologías limpias o verdes y presentan una serie de ventajas comunes, entre las que destacan: su capacidad para degradar los contaminantes a otros productos inocuos o menos contaminantes a una temperatura y presión ambientales; presentan costes de inversión moderados; los costes de operación son relativamente bajos, teniendo en cuenta el elevado volumen de gases que se pueden tratar con bajas concentraciones de los compuestos contaminantes; se obtienen altos rendimientos de degradación en el tratamiento de un elevado número de compuestos contaminantes atmosféricos, pudiéndose tratar de forma efectiva mezclas de compuestos orgánicos e inorgánicos; se trata de procesos aceptados por la opinión pública como "naturales" y tienen un bajo requerimiento energético en el equipamiento. En cuanto a las desventajas, cada configuración tiene las propias, pero las comunes son: necesidad de una etapa de acondicionamiento de la corriente de entrada; ciertos compuestos de etapas previas de depuración o del proceso productivo pueden ser tóxicos y/o letales para los microorganismos y la elevada sensibilidad de éstos a los cambios de temperatura, humedad y pH.

#### 2.2.2.1. Biolavadores (Bioscrubbers)

Se trata de un sistema con dos etapas, en una primera el contaminante se absorbe en agua con una torre de aspersión o una columna de absorción, y en una segunda se trata la corriente líquida en un reactor de lodos activos (Figura 2).

Estos sistemas son adecuados cuando el contaminante es altamente soluble en agua dada la necesidad de la transferencia del contaminante de la fase gas a la líquida



**Figura 2. Biolavador**

(Ottengraf, 1986; Van Groenestijn and Hesselink, 1993; Kennes and Thalasso, 1998). Por tanto, esta tecnología se restringe a compuestos con constantes de Henry menores a 0.01 y a concentraciones menores a  $5 \text{ g/m}^3$  (Kok, 1992). Una ventaja de los biolavadores, con respecto a otros sistemas, es que la fase móvil acuosa permite un buen control de temperatura, pH, adición de nutrientes, etc en el proceso (Van Groenestijn and Hesselink, 1993), así como una fácil eliminación de los productos de reacción y la consecuente eliminación de posibles efectos inhibitorios (Kennes and Thalasso, 1998).

#### 2.2.2.2. Biofiltros

Consiste en un filtro biológico relleno de un soporte orgánico (turba, compost, tierra etc) cuya función es fijar la biomasa y servir como fuente de nutrientes (Devinny *et al.*, 1999) (Figura 3), a veces también se añaden materiales sintéticos para disminuir la pérdida de carga y como soporte de material orgánico (Van Groenestijn and Hesselink, 1993). La corriente gaseosa previa humidificación se alimenta a través del lecho y los contaminantes son absorbidos en la película líquida que se forma siendo degradados por la biomasa. La principal característica de los biofiltros es la ausencia de una fase móvil, por lo que son adecuados para tratar contaminantes de baja solubilidad en agua (Kennes and Thalasso, 1998). Se utiliza en compuestos con constantes de Henry menores de 10 y concentraciones menores de  $1 \text{ g/m}^3$  (Kok, 1992).

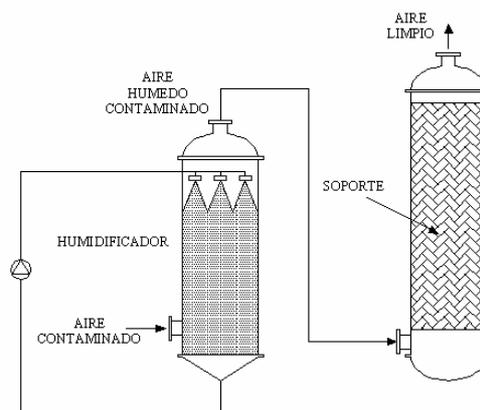


Figura 3. Biofiltro

#### 2.2.2.3. Biofiltros de escurrimiento (Trickling biofilter)

Consiste en un filtro biológico relleno de un soporte sintético en el cual se forma un biopelícula (Figura 4). A través del lecho se alimenta la corriente gaseosa con el contaminante a eliminar y por su parte superior se añade una corriente líquida que es recirculada para aportar los nutrientes esenciales a la biopelícula, mantener las condiciones de humedad, pH, además de eliminar los productos de degradación. (Kennes and Thalasso, 1998). En este caso, la absorción y degradación de los contaminantes ocurre en el mismo equipo frente a lo que ocurre en los biolavadores. Los materiales usados comúnmente como soportes son polímeros, cerámicas, zeolita, carbón activo o mezcla de varios materiales (Cohen, 2001). Se utiliza en compuestos con constantes de Henry menores de 1 y concentraciones menores de  $0.5 \text{ g/m}^3$  (Kok, 1992).

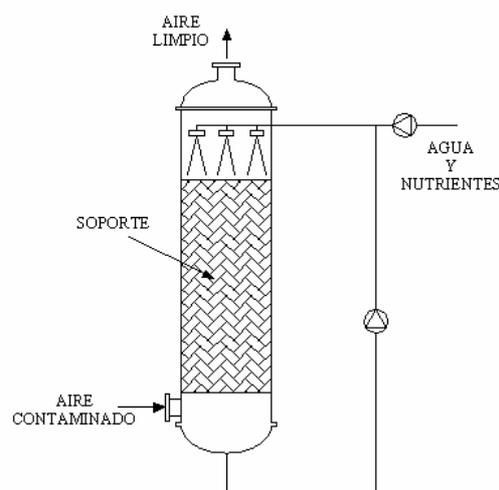


Figura 4. Biofiltro de escurrimiento

## 2.3. Sulfuro de Hidrogeno

### 2.3.1. Propiedades

El sulfuro de hidrogeno ( $H_2S$ ) es un gas incoloro y muy tóxico con olor característico a huevos podridos. Se le conoce entre otros nombres como: ácido hidrosulfúrico, gas de alcantarilla y ácido sulfhídrico.

En el siguiente listado se detallan algunas de las propiedades fisicoquímicas más importantes (Smet *et al.*, 1998; EPA, 2003; ICSC, 2003).

- N° CAS: 7783-06-04
- Fórmula:  $H_2S$
- Peso molecular: 34.08
- Punto de ebullición:  $-60.7^{\circ}C$
- Punto de fusión:  $-85^{\circ}C$
- Presión de vapor a  $20^{\circ}C$ : 18,8 bar
- Coeficiente de Henry a  $25^{\circ}C$  ( $mol \cdot m^{-3}$ )<sub>aire</sub> / ( $mol \cdot m^{-3}$ )<sub>agua</sub>: 0.41
- Solubilidad en agua (g/100ml): 437 ml ( $0^{\circ}C$ ), 186 ml ( $40^{\circ}C$ )
- Densidad: 1.5392 g/L a  $0^{\circ}C$  y 760 mm Hg
- Densidad relativa de vapor (aire=1): 1.19
- Punto de inflamación: gas inflamable
- Temperatura de autoignición:  $260^{\circ}C$
- Límites de explosividad (% en volumen en el aire): 4.3 – 45.5
- Constantes de disociación:  $pK_{a1}=7.04$  (genera anión hidrosulfito  $HS^-$ );  $pK_{a2}=11.96$  (genera el anión disulfuro  $S^{2-}$ )
- Factor de conversión: 1 ppmv=1.39 mg/m<sup>3</sup>.

El umbral de detección varía según los autores entre 0.0085 y 1 ppmv (De Zwart and Kuenen, 1992; Lomans *et al.*, 2002), entre 0.0005 y 0.01 ppmv (Ruth, 1986) o entre 0.01 y 0.3 ppmv (Guidotti, 1994). Como se puede comprobar el límite de detección es excesivamente bajo y varía dado que la sensibilidad a la hora de detectar un olor depende muchos factores, tanto del individuo: sensibilidad, subjetividad, costumbre etc.; y ambiental: humedad, temperatura, etc. (Wark *et al.*, 2004).

Los valores límites de exposición para el  $H_2S$  son de 10 ppmv para el TLV-TWA y de 15 ppmv para el TLV-STEL (ICSC, 2003).

### 2.3.2. Fuentes

El ácido sulfhídrico se encuentra de forma natural en los gases de los volcanes, manantiales de azufre, emanaciones de grietas submarinas, pantanos, petróleo crudo, gas natural y como producto de la degradación biológica de la materia orgánica. Las fuentes industriales engloban a una gran cantidad de industrias: refinерías, plantas de gas natural, plantas petroquímicas, hornos de coque, industria alimentaria, industria del papel, curtidurías, etc; pero destacan las plantas depuradoras de aguas residuales como las más significativas en la generación de olores debido a su gran número y cercanía a las poblaciones.

Toda planta de tratamiento de aguas residuales es susceptible de generar olores, aunque son las que realizan un tratamiento anaerobio las que tiene una mayor posibilidad. En un ambiente anaerobio, las bacterias sulfatoredutoras producen ácido sulfhídrico como consecuencia de su metabolismo de degradación de los sulfatos presentes en el agua residual.

Para reducir la emisión de olores de las plantas de tratamiento de aguas residuales los tanques que contienen los lodos o las aguas residuales se cubren y se ventilan mediante un sistema de extracción para eliminar los compuestos responsables del mal olor. En el año 2000 se realizó un estudio en los Países Bajos para ver que tipo de tratamiento se utilizaba y se detectó que el 78% de las plantas utilizaban sistemas de tratamiento biológico, el 11% biolavadores químicos, el 2% procesos de adsorción con carbón activo y el 9% introducía los gases en el tanque de aireación de la propia planta. En las nuevas instalaciones que se encuentran en construcción y puesta en marcha no es usual encontrar el uso de biolavadores químicos, produciéndose un desplazamiento hacia el uso de biofiltros de escurrimiento con soportes sintéticos (Van Groenestijn and Kraakman, 2005). Este hecho a provocado que se haya desarrollado un gran trabajo de investigación en este campo de aplicación medioambiental.

Así, Chitwood *et al.*, (1999) han trabajado con un biofiltro de escurrimiento en una planta de tratamiento de aguas residuales, siendo la concentración de H<sub>2</sub>S de 5 ppmv y con una concentración de VOC entre 0.1 y 1 ppmv. Por otro lado, Wu *et al.*, (2001) estudiaron un biofiltro de escurrimiento a nivel de planta piloto en una EDAR, teniendo la corriente de aire a tratar una concentración máxima de H<sub>2</sub>S de 20 ppmv y de VOCs de 70 a 120 g l<sup>-1</sup>; y Morton and Caballero (1997) hicieron lo mismo llegando a tratar concentraciones máximas de H<sub>2</sub>S de 380 ppmv. Por su parte, Shinabe *et al.*, (1995) estudiaron la eliminación de H<sub>2</sub>S y MM generado en una EDAR con *Thiobacillus thiooxidans* siendo la concentración máxima de H<sub>2</sub>S de 17 ppmv.

Como se puede observar, todas estas aplicaciones trataron concentraciones relativamente bajas de H<sub>2</sub>S, pero las concentraciones de este compuesto son mucho mayores en el biogás procedente de la digestión anaerobia estando las concentraciones en el rango de 1000 a 6000 ppmv. Los digestores anaerobios de las plantas de tratamiento de agua residuales de la industria del papel puede llegar incluso hasta 30000 ppmv (Schieder *et al.*, 2003).

El desarrollo de esta tecnología microbiana ha sido tan rápido en los últimos años que pueden existir en Europa unas 7500 plantas de tratamiento de gases, de las cuales aproximadamente la mitad se encuentran en plantas de tratamiento de aguas residuales y plantas de compostaje (Van Groenestijn and Kraakman, 2005).

### **2.3.3. Usos**

El H<sub>2</sub>S se utiliza industrialmente en la manufactura de azufre elemental, ácido sulfhídrico, agua pesada, industria metalúrgica, como reactivo analítico y en agricultura como desinfectante (Svendsen, 2001).

### **2.3.4. Efectos sobre la salud**

El H<sub>2</sub>S tiene variados efectos sobre la salud humana, los cuales dependen de la concentración y el tiempo de exposición. A concentraciones mayores de 0.1 ppmv genera irritación de los ojos y en el sistema respiratorio; a concentraciones de 100 ppmv se deja de percibir debido a fatiga olfativa, causando náuseas y

mareos. A concentraciones mayores de 300 ppmv y tiempos del orden de minutos produce inconsciencia y paro respiratorio y a 800 ppmv causa la muerte inmediata (Smet *et al.*, 1998).

Existen tres rutas de asimilación del H<sub>2</sub>S por el cuerpo humano: oxidación, metilación y reacciones con metaloproteínas. El principal camino de asimilación es el de oxidación ya que al pH fisiológico (7.4) aproximadamente el 69% del H<sub>2</sub>S se encuentra ionizado (HS<sup>-</sup>). Como producto principal del metabolismo se obtiene el sulfato aunque también se ha aislado tiosulfato de tejidos expuestos al H<sub>2</sub>S (EPA, 2003). La principal ruta de eliminación del cuerpo es mediante la orina, trabajadores voluntarios expuestos a concentraciones de 8, 18 y 30 ppmv durante 30-45 min dieron positivo en tiosulfato al analizar muestras de orina (Kangas and Savolainen, 1987).

## 2.4. Eliminación de H<sub>2</sub>S mediante biofiltración

### 2.4.1. Microorganismos

El azufre existe en 9 estados de oxidación desde 6 hasta -2, sin embargo solo 3 estados de oxidación son abundantes en la naturaleza: -2 en forma de anión hidrosulfuro (HS<sup>-</sup>), 0 en forma de azufre elemental (S) y 6 en forma de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) estando en los océanos la mayor reserva de azufre en forma de sulfato inorgánico.

El azufre va cambiando de estado de oxidación en la naturaleza debido a transformaciones tanto por procesos químicos, geológicos y biológicos. El ciclo biológico del azufre está representado en la Figura 5 (Lens *et al.*, 2000; Lomans *et al.*, 2002).

La oxidación biológica del sulfuro de hidrógeno a sulfato es una de las reacciones principales del ciclo global del azufre. Los compuestos de azufre inorgánicos reducidos son oxidados exclusivamente por procariontas, siendo el sulfato el producto principal de la oxidación (Friedrich *et al.*, 2001). Las bacterias procariontas azufre-oxidantes son filogenéticamente muy diversas, estando en el dominio Arquea restringida a los miembros del orden *Sulfolobales* (hypertermófilas) (Stetter *et al.*, 1990).

Existen bacterias procariontas azufre-oxidantes tanto en condiciones alcalinas, neutras como ácidas. Las bacterias aerobias azufre-oxidantes pertenecen a géneros como *Acidianus*, *Acidithiobacillus*, *Aquaspirillum*, *Aquifex*, *Bacillus*, *Beggiota*, *Methylobacterium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Starkeya*, *Sulfolobus*, *Thermithiobacillus*, *Thiobacillus* y *Xanthobacter*, siendo muchas de ellas termófilas. Las bacterias anaerobias azufre-oxidantes son comúnmente neutrófilas y mesófilas, de géneros como *Allochromatium*, *Chlorobium*, *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodovulum* y *Thiocapsa* (Friedrich *et al.*, 2001).

Los microorganismos más utilizados para la oxidación de H<sub>2</sub>S en sistema de biofiltración de gases son las bacterias del género *Acidithiobacillus* y *Thiobacillus*. Dentro de estos tipos encontramos bacterias acidófilas como *At. thiooxidans* (Shinabe *et al.*, 1995; Cho *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2001; Sercu *et al.*, 2005b), y neutrófilas como *Th. novellus* (Chung *et al.*, 1998) o *Th. thioparus* (Tanji *et al.*, 1989; Cho *et al.*, 1991b;

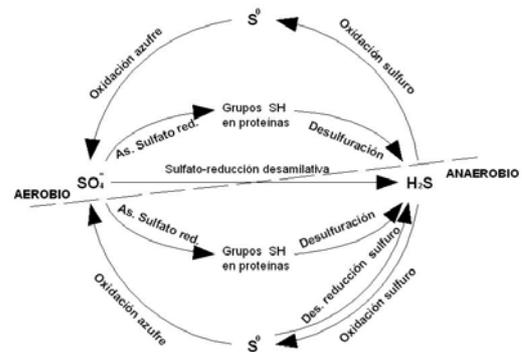


Figura 5: Ciclo biológico del azufre

Cho *et al.*, 1992b; Park *et al.*, 1993; Chung *et al.*, 1996b; Chung *et al.*, 2000; Cox and Deshusses, 2002; Oyarzun *et al.*, 2003).

Bacterias heterótrofas como *Xantomonas sp.* (Cho *et al.*, 1992b), *Pseudomonas putida* CH11 y *Arthrobacter oxidans* CH8 (Chung *et al.*, 1996b; Chung *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 2004a) también han sido utilizadas en biofiltros para la oxidación de H<sub>2</sub>S. Otras bacterias que han demostrado una buena capacidad en la eliminación de TRS son del género *Hyphomicrobium* (Zhang *et al.*, 1991; Cho *et al.*, 1992b; Hirai *et al.*, 2001; Sercu *et al.*, 2005b).

En la Tabla 2 se muestra un resumen ordenado cronológicamente de los tipos de microorganismos y soportes utilizados en biofiltración para la eliminación de ácido sulfhídrico

Referencia	TIPO <sup>1</sup>	Soportes	Inóculo	Compuestos
(Tanji <i>et al.</i> , 1989)	BTF	Anillos de propileno	<i>Th. Thioparus</i> TK-m	H <sub>2</sub> S /MM DMS/NH <sub>3</sub>
(Hirai <i>et al.</i> , 1990)	BF	Turba	Lodo activo	H <sub>2</sub> S /MM/DMS
(Cho <i>et al.</i> , 1991a)	BF	Turba	<i>Th. thioparus</i> DW44	H <sub>2</sub> S /MM DMS/DMDS
(Cho <i>et al.</i> , 1991b)	BF	Turba	Lodo activo	H <sub>2</sub> S /MM
(Zhang <i>et al.</i> , 1991)	BF	Turba	<i>Hyphomicrobium sp.</i> I55	H <sub>2</sub> S /MM/DMS
(Cho <i>et al.</i> , 1992a)	BF	Turba	<i>Th. Thioparus</i> DW44 <i>Thiobacillus sp.</i> HA43 <i>Xantomonas sp.</i> DY44 <i>Hyphomicrobium sp.</i> I55	H <sub>2</sub> S /MM/DMS
(Cho <i>et al.</i> , 1992b)	BF	Turba	<i>Th. thioparus</i> DW44	H <sub>2</sub> S /DMDS DMS/NH <sub>3</sub>
(Park <i>et al.</i> , 1993)	BF	Turba	<i>Th. Thioparus</i> DW44	H <sub>2</sub> S /MM/ DMS DMDS/ NH <sub>3</sub>
(Yang and Allen, 1994)	BF	Compost	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Shinabe <i>et al.</i> , 1995)	BF	Cerámica	<i>Th. Thiooxidans</i> KS1	H <sub>2</sub> S /MM
(Chung <i>et al.</i> , 1996b)	BF	Alginato de calcio	<i>Th thioparus</i> CH11	H <sub>2</sub> S
(Chung <i>et al.</i> , 1996a)	BF	Alginato de calcio	<i>Pseudomonas putida</i> CH11	H <sub>2</sub> S
(Chung <i>et al.</i> , 1997)	BTF	Alginato de calcio	<i>Thiobacillus sp.</i> CH11	H <sub>2</sub> S
(Morton and Caballero, 1997)	BTF	Roca Volcanica Plástico BIOdek 7 Plástico Jaeger Nupac7	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Nishimura and Yoda, 1997)	BL	-	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Chung <i>et al.</i> , 1998)	BF	Alginato de calcio	<i>Th novellus</i> CH3	H <sub>2</sub> S
(Chitwood <i>et al.</i> , 1999)	BTF BF	Roca volcánica Astillas de madera	Lodo activo	H <sub>2</sub> S VOC
(Shojaosadati and Elyasi, 1999)	BF	Compost	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Wani <i>et al.</i> , 1999)	BF	Compost/perlita/fuel	Lodo activo	H <sub>2</sub> S/DMDS DMS
(Cho <i>et al.</i> , 2000)	BF	Roca volcánica	<i>Th. Thiooxidans</i> AZ11	H <sub>2</sub> S
(Chung <i>et al.</i> , 2000)	BTF	Alginato de calcio	<i>Th. thioparus</i> CH11 <i>N. europaea</i> ATCC49718	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Devinny and Chitwood, 2000)	BTF BF	Roca volcánica Astillas de madera	Lodo activo	H <sub>2</sub> S VOC
(Elías <i>et al.</i> , 2000)	BF	Compost	-	H <sub>2</sub> S
(Koe and Yang, 2000)	BTF	Anillos de propileno	<i>Thiobacillus sp.</i>	H <sub>2</sub> S
(Shinabe <i>et al.</i> , 2000)	BTF	Cerámica	Lodo activo	H <sub>2</sub> S /MM
(Chung <i>et al.</i> , 2001)	BTF	Alginato de calcio	<i>Arthrobacter oxydans</i> CH8 <i>Pseudomonas putida</i> CH11	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Hartikainen <i>et al.</i> , 2001)	BF	Turba	<i>Thiobacillus strain</i> TJ330	H <sub>2</sub> S / CS <sub>2</sub>

<sup>1</sup> BTF: Biofiltro de escurrimietno; BL: Biolavador; BF: Biofiltro

Continuación Tabla 2				
Referencia	TIPO <sup>1</sup>	Soportes	Inóculo	Compuestos
(Hirai <i>et al.</i> , 2001)	BF	Cerámica Cristobalita calcinada Obsidia calcinada Suelo calcinado	Lodo activo ( <i>Thiobacillus sp</i> ; <i>Hyphomicrobium sp</i> y hongos)	H <sub>2</sub> S
(Park <i>et al.</i> , 2001)	BTF	Cerámica porosa	Lodo activo	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Ruokojärvi <i>et al.</i> , 2001)	BTF	Cerámica porosa	Lodo activo	H <sub>2</sub> S/MM/DMS
(Wu <i>et al.</i> , 2001)	BTF	Anillos propileno	<i>At. thiooxidans</i>	H <sub>2</sub> S
(Cox and Deshusses, 2002)	BTF	Anillos propileno	<i>Th. thioparus</i> TK-m	H <sub>2</sub> S/Tolueno
(Elias <i>et al.</i> , 2002)	BF	Compost	-	H <sub>2</sub> S
(Gabriel and Deshusses, 2003)	BTF	Espuma de poliuretano	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Kim <i>et al.</i> , 2003)	BF	Arena calcinada	<i>Thiobacillus sp.</i> IW Consortio microbiano MY	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub> Benceno
(Malhautier <i>et al.</i> , 2003)	BF	Lodo granulado	Lodo activo	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Li <i>et al.</i> , 2003)	BF	Compost astillas madera	Lodo activo	H <sub>2</sub> S /MM DMS/DMS
(Oyarzun <i>et al.</i> , 2003)	BF	Turba	<i>Th. Thioparus</i> ATCC 23645	H <sub>2</sub> S
(Chung <i>et al.</i> , 2004b)	BTF	Carbón activo	<i>Pseudomonas putida</i> CH11 <i>Arthrobacter oxydans</i> CH8	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Gabriel <i>et al.</i> , 2004)	BTF	Plastico Tripack Jeger Espuma de poliuretano	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Jones <i>et al.</i> , 2004)	BF	Compost/astillas madera Relleno comercial	-	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Lee Eun <i>et al.</i> , 2005)	BTF	Cerámica	<i>At. thiooxidans</i> ATS	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>
(Jin <i>et al.</i> , 2005a)	BTF	Anillos de propileno	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Jin <i>et al.</i> , 2005b)	BTF	Anillos propileno	Lodo activo	H <sub>2</sub> S
(Jones <i>et al.</i> , 2005)	BF	Astillas madera Medio comercial	-	H <sub>2</sub> S
(Morgan-Sagastume and Noyola, 2005)	BF	Compost	-	H <sub>2</sub> S
(Sercu <i>et al.</i> , 2005a)	BTF	Anillos de propileno	<i>At. thiooxidans</i> ATCC19377 <i>Hyphomicrobium</i> VS	H <sub>2</sub> S /DMS
(Potivichayanon <i>et al.</i> , 2006)	BTF	Anillos propileno	<i>Acinetobacter sp.</i> MU1_03 <i>Alcaligenes faecalis</i> MU2_03 Cultivo mixto	H <sub>2</sub> S

En el tratamiento de un efluente gaseoso, la selección del tipo de microorganismo es un factor muy importante, y aunque una gran cantidad de biofiltros han sido inoculados con lodos activos presentan el inconveniente de su largo período de aclimatación para comenzar a trabajar adecuadamente. (Ottengraf and Van den Oever, 1983). Park *et al.*, (2001) trabajaron con un biofiltro de escurrimiento relleno de una cerámica porosa inoculada con un lodo activo y necesitaron un período de aclimatación de 28 días; asimismo, otro biofiltro de escurrimiento relleno con anillos de propileno e inoculado con un lodo activo requirió un periodo de 22 días de aclimatación (Cox and Deshusses, 2002). Una solución para reducir estos tiempos es la inoculación con especies puras ya que disminuye o anula la fase de aclimatación obteniéndose unas altas capacidades de eliminación (Devanny *et al.*, 1999).

<sup>1</sup> BTF: Biofiltro de escurrimietno; BL: Biolavador; BF: Biofiltro

### 2.4.2. Soportes utilizados en la eliminación de H<sub>2</sub>S

En los biofiltros (BF) el soporte más utilizado es el compost y la turba, aunque algunos autores añaden otros materiales como perlita y/o astillas de madera para intentar evitar los fenómenos de compactación del lecho (Wani *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2004).

La utilización de biolavadores es muy escasa ya que dada la baja solubilidad en agua del H<sub>2</sub>S no es recomendable su utilización; sin embargo, en algunos experimentos se ha llegado a eliminar más del 99% del H<sub>2</sub>S procedente de un digestor anaerobio con una concentración de entrada de 2000 ppmv y un caudal de 40 m<sup>3</sup>·h<sup>-1</sup> (Nishimura and Yoda, 1997), aunque frente a esta elevado porcentaje de eliminación se encuentra una baja capacidad de eliminación (0.185 gS m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>) ya que utiliza un tanque de aireación de 550 m<sup>3</sup>.

En los biofiltros de escurrimiento (BTF) los soportes mas utilizados son los anillos de propileno, cerámicas y rocas volcánicas (Tabla 2), aunque en los últimos años se ha comenzado a utilizar la espuma de poliuretano.

Loy y Flauger (1996) degradaron estireno en un biofiltro relleno de espuma de poliuretano, logrando eliminar el 100% con cargas por debajo de 25 g m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>.

Moe e Irvine (2000) utilizaron espuma de poliuretano en un biofiltro inoculado con un lodo activo para eliminar tolueno, trabajando con tiempos de residencia de 1 a 4 min. y concentraciones entre 50 y 200 ppmv obteniendo eliminaciones mayores del 99%.

Hori *et al.*, (2001) aislaron *Acitenobacter genospecies* de un lodo activo y las inmovilizaron en espuma de poliuretano, llegando a una capacidad de eliminación de tolueno de 6,5 g kg<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> en un BTF.

Kim *et al.*, (2002) utilizaron cubos de espumas mezclados con polvo de carbón activo y zeolita e inoculados con lodo activo para eliminar amoniaco en un biofiltro, obteniendo eficiencias del 90% a concentraciones de 150 ppmv y con tiempos de residencia de 23 s alcanzando una cantidad de biomasa inmovilizada de 1.58·10<sup>9</sup> cell (g soporte)<sup>-1</sup>.

Gabriel *et al.*, (2003, 2004) utilizaron espuma de poliuretano para eliminar ácido sulfhídrico en un BTF trabajando con tiempos de residencia menores de 3 s. Partieron de un inóculo procedente de un lodo activo y llegaron a una capacidad máxima de eliminación de 40.37 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> (65% de eficacia) y de 29.18 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> (94% de eficacia).

La espuma de poliuretano ha mostrado ser un soporte con unas grandes ventajas para este tipo de sistemas ya que tiene una elevada superficie específica (600 m<sup>2</sup>m<sup>-3</sup>) y una alta porosidad (>95%), lo que proporciona una baja perdida de carga, además de su bajo coste y sus buenas propiedades mecánicas (Devinny *et al.*, 1999)..

### 2.4.3. Resultados obtenidos en la eliminación de H<sub>2</sub>S

En las experiencias realizadas, además de estudiar la capacidad de eliminación de H<sub>2</sub>S, muchos autores han estudiado el efecto que tienen otros compuestos que normalmente acompañan a éste en los efluentes industriales sobre la capacidad de eliminación. La mayoría de estos compuestos son MM, DMS, DMDS, CS<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>...ya sea en trazas o en cantidades mucho mayores.

Si la corriente además de  $\text{H}_2\text{S}$  contiene  $\text{NH}_3$  se puede lograr la eliminación de este compuesto mediante la biooxidación a nitrito y/o nitrato por bacterias oxidantes de amonio presentes en los lodos activos (Park *et al.*, 2001; Malhautier *et al.*, 2003), o inoculadas de cultivos aislados como *Arthrobacter oxydans* (Chung *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 2004b) o de cepas de colección como *Nitrosomonas europaea* ATCC 49718 (Chung *et al.*, 2000). Otra forma de eliminar este compuesto es mediante reacción química con el sulfato procedente de la biooxidación de los TRS formándose sulfato amónico (Tanji *et al.*, 1989; Cho *et al.*, 1992b; Park *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 2003; Lee Eun *et al.*, 2005).

Otros compuestos que normalmente se encuentran junto con el  $\text{H}_2\text{S}$  son los compuestos órgano-sulfurados (MM, DMS y DMDS, principalmente). Los compuestos órgano-sulfurados se degradan en primer lugar hasta  $\text{H}_2\text{S}$ , y luego son oxidados a sulfato (Smet *et al.*, 1998), siendo este último paso la etapa productora de energía en la biodegradación (Figura 6).

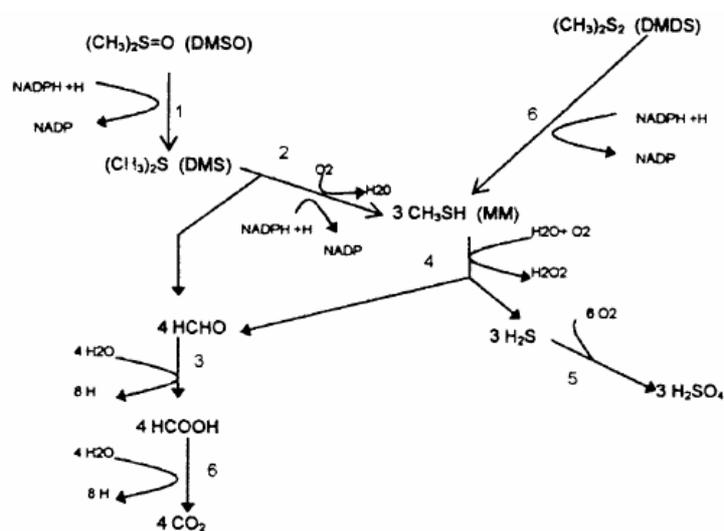
En la bibliografía aparecen numerosas citas en la que se enuncia el hecho de que la velocidad de degradación del  $\text{H}_2\text{S}$  es siempre mayor que la del resto de los TRS. Así, por ejemplo, para el caso de *Thiobacillus thioparus* DW44 el orden de degradación es:  $\text{H}_2\text{S} > \text{MM} \geq \text{DMDS} > \text{DMS}$  (Cho *et al.*, 1991a), igualmente para *Hyphomicrobium sp* I55 se da una mayor velocidad de degradación del  $\text{H}_2\text{S}$  que del resto de los TRS (Zhang *et al.*, 1991).

Para evitar estos inconvenientes algunos autores han propuesto realizar una biofiltración en dos etapas eliminando en el primer biofiltro el  $\text{H}_2\text{S}$  y en un segundo el resto de TRS (Chitwood *et al.*, 1999; Devigny and Chitwood, 2000; Pinjing *et al.*, 2001; Ruokojärvi *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2003; Sercu *et al.*, 2005a). Los resultados obtenidos demuestran que es una buena técnica para lograr eliminar compuestos órgano-sulfurados y VOCs cuando se hayan en presencia de  $\text{H}_2\text{S}$ .

El sulfato y el azufre son los productos principales de la biooxidación del ácido sulfhídrico. El azufre elemental genera un gran problema ya que al acumularse en el biofiltro aumenta la pérdida de carga, también puede llegar a obturar conducciones, generar problemas

en el sistema de bombeo etc, por tanto es preferible la oxidación total hasta sulfato; aunque éste también genera problemas en el biofiltro ya que es un producto inhibitorio que puede hacer disminuir mucho la eficacia del proceso debido a efectos de fuerza iónica (Yang and Allen, 1994).

Eliminar el azufre del soporte es muy complicado, pero se ha demostrado que cuando se disminuye la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  el microorganismo puede oxidar el azufre a sulfato disminuyendo así su concentración



**Fig 6. Pasos metabólicos para la degradación de DMDS, DMS, MM y  $\text{H}_2\text{S}$  en especies de *Thiobacillus* y *Hyphomicrobium*. (Kelly and Smith, 1990)**

en el soporte. Según Buisman *et al.*, (1990) en el proceso de oxidación del H<sub>2</sub>S, en una primera etapa, el H<sub>2</sub>S pierde dos electrones y se forma azufre sobre la membrana de la bacteria; en una segunda etapa este azufre es oxidado a sulfito y después a sulfato, según las reacciones que se detallan a continuación:



Por tanto, el azufre es un producto intermedio en la oxidación del H<sub>2</sub>S a sulfato. En la bibliografía, podemos encontrar varios ejemplos que demuestran que el azufre es un compuesto intermedio en la oxidación del H<sub>2</sub>S y cuando se da una baja concentración de H<sub>2</sub>S el microorganismo empieza a oxidar el azufre a sulfato (Cho *et al.*, 1991a; Zhang *et al.*, 1991; Duan *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2005b).

En cuanto al sulfato, la mayoría de los autores para disminuir su concentración en los BTF realizan una reposición del medio de recirculación ya sea de forma continua o en discontinuo, reemplazando una cierta proporción del medio una vez alcanzada una concentración de sulfato. La reposición del medio también es necesaria para asegurar el aporte de micronutrientes esenciales en el metabolismo de la biomasa.

Así, Tanji *et al.*, (1989) cuando la concentración de sulfato del medio de recirculación superó los 5 g l<sup>-1</sup>, realizaron la reposición de ¾ partes del medio por medio fresco para evitar fenómenos de inhibición. Koe and Yang (2000) mantuvieron una concentración de sulfato entre 2 y 5 g l<sup>-1</sup> para evitar la inhibición; y Jin *et al.*, (2005a) encontraron que una concentración mayor de 1.9 g l<sup>-1</sup> producía efectos inhibitorios a pH bajos.

En los BF se produce una acumulación del sulfato en el soporte, por lo que se hace necesario un lavado del soporte.

Yang and Allen (1994) encuentran que una concentración de sulfato mayor de 25 mgS g<sup>-1</sup> de compost inhibe la eliminación de H<sub>2</sub>S.

Jones *et al.*, (2005) realizaron un estudio de la inhibición del sulfato en un BF añadiendo sulfato al soporte en concentraciones de 40, 65 y 100 mgS g<sup>-1</sup> de soporte. Añadiendo 100 mgS g<sup>-1</sup> de sulfato no encontraron una disminución de la eficacia de eliminación a pH en el rango 6,8-8,5, solo se daba el efecto inhibitorio del sulfato a pH bajos. La eficacia disminuyó del 82.3% a pH 8 al 26% a pH 2. Estos autores postularon que la transferencia de masa del sulfato de la fase líquida a la biopelícula no parece inhibir la eliminación de H<sub>2</sub>S debiéndose la disminución de la eficacia a altas cargas de H<sub>2</sub>S o a la precipitación de azufre, igualmente sugirieron que se podría soportar mayores concentraciones de sulfato con un biopelícula más gruesa y robusta desarrollada sobre un soporte con un tamaño de partícula mayor que evitase la acumulación de especies sulfuradas.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en la eliminación de H<sub>2</sub>S utilizando biofiltros de escurrimiento.

Referencia	Relleno	Inóculo	Compuestos	H <sub>2</sub> S			
				EBRT (s)	ppmv	RE (%)	EC (g m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )
(Tanji <i>et al.</i> , 1989)	Anillos de propileno	<i>Th. Thioparus</i> TK-m	H <sub>2</sub> S /MM//DMS/NH <sub>3</sub>	2.62 7.85	38.2	95	22
(Morton and Caballero, 1997)	Roca Volcanica Plástico BIODek 7 Plástico Jaeger Nupac7	Lodo activo	H <sub>2</sub> S	15-30	69 44 53	99 92 94	21.65 9.62 11.84
(Chung <i>et al.</i> , 1997)	Alginato de cálcio	<i>Thiobacillus sp.</i> CH11	H <sub>2</sub> S	56-70	60	99.5	4.0
(Chitwood <i>et al.</i> , 1999)	Roca volcánica (BTF) Astillas de madera (BF)	Lodo activo	H <sub>2</sub> S/VOC	36	0.43 11	96.6 99	0.06 1.46
(Chung <i>et al.</i> , 2000)	Alginato de cálcio	<i>Th. thioparus</i> CH11 <i>N. europaea</i> ATCC49718	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>	35-72	60	98	3.9
(Devinny and Chitwood, 2000)	Roca volcánica (BTF) Astillas de madera (BF)	Lodo activo	H <sub>2</sub> S/VOC	32.6 22.2 12.1	1.63 2.97 12.12	93.8 98.4 91	0.22 0.43 1.46
(Koe and Yang, 2000)	Anillos de propileno	<i>Thiobacillus sp.</i>	H <sub>2</sub> S	29.5 5	5 92	99 99	4.59 84.71
(Shinabe <i>et al.</i> , 2000)	Cerámica	Lodo activo	H <sub>2</sub> S /MM	16	332	98.5	152.0
(Chung <i>et al.</i> , 2001)	Alginato de cálcio	<i>Arthrobacter oxidans</i> CH8 <i>Pseudomonas putida</i> CH11	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>	72	60	97	3.9
(Park <i>et al.</i> , 2001)	Cerámica porosa	Lodo activo	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>	7.2	-	-	6.5
(Ruokojärvi <i>et al.</i> , 2001)	Cerámica porosa	Lodo activo	H <sub>2</sub> S/MM/DMS	61-132	-	99.8	42.0
(Wu <i>et al.</i> , 2001)	Anillos propileno	<i>At. thiooxidans</i>	H <sub>2</sub> S	5-30	150 20	68 90	94.6 16.7
(Cox and Deshusses, 2002)	Anillos propileno	<i>Th. thioparus</i> TK-m	H <sub>2</sub> S/Tolueno	36	170	91.3	20.0
(Gabriel and Deshusses, 2003)	Espuma de poliuretano	Lodo activo	H <sub>2</sub> S	1.6-2.3	30.8 34.1	97 80	89.4 98.8
(Chung <i>et al.</i> , 2004b)	Carbón activo	<i>Pseudomonas putida</i> CH11 <i>Arthrobacter oxidans</i> CH8	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>	30-181	60	99.5	6.8
(Gabriel <i>et al.</i> , 2004)	Plastico Tripack Jeger Espuma de poliuretano	Lodo activo	H <sub>2</sub> S	2.29 1.15	5.78 15.3	17 65	2.03 40.37
(Lee Eun <i>et al.</i> , 2005)	Cerámica	<i>At. thiooxidans</i> ATS	H <sub>2</sub> S / NH <sub>3</sub>	36	900	100	810
(Jin <i>et al.</i> , 2005a)	Anillos de propileno	Lodo activo	H <sub>2</sub> S	30.93 37.11	55 170	99 88.6	8.16 22.59
(Jin <i>et al.</i> , 2005b)	Anillos propileno	Lodo activo	H <sub>2</sub> S	24.24	158	97	29.29
(Sercu <i>et al.</i> , 2005a)	Anillos de propileno	<i>At. thiooxidans</i> ATCC19377 <i>Hyphomicrobium</i> VS	H <sub>2</sub> S /DMS	120	2000	97	78.12
(Potivichayanon <i>et al.</i> , 2006)	Anillos propileno	<i>Acinetobacter sp.</i> MU1_03 <i>Alcaligenes faecalis</i> MU2_03 Cultivo mixto	H <sub>2</sub> S	12.72 25.45 50.89	20 20 20	70 70 91	5.09 2.54 1.65

TABLA 3: Datos de eliminación de H<sub>2</sub>S mediante biofiltros de escurrimiento

El rango de tiempo de residencia del gas (EBRT) es muy variable, y siempre interesa trabajar con el menor tiempo de residencia posible, para tener un biofiltro lo mas pequeño posible disminuyendo los costes. El menor EBRT de trabajo es el obtenido por Gabriel *et al.*, (2003, 2004) que trabajó en un rango de 1.15 a 2.3 segundos igual al tiempo de residencia de los scrubbers químicos.

El rango de concentraciones también es variable aunque normalmente son menores de 200 ppmv. Hay autores que trabajan con efluentes de plantas de tratamiento de aguas, compostaje, etc (Morton and Caballero, 1997; Chitwood *et al.*, 1999; Devinny and Chitwood, 2000; Koe and Yang, 2000; Park *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2001; Gabriel and Deshusses, 2003; Gabriel *et al.*, 2004) y otros investigadores lo generan artificialmente por reacción química entre HCl y Na<sub>2</sub>S diluyendo el H<sub>2</sub>S generando con aire, o trabajan con botellas de gases licuados.

La capacidad máxima de eliminación alcanzada en un BTF es de 810 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> por Lee Eun *et al.*, (2005) que trabajó con un biofiltro inoculado con *Thiobacillus thiooxidans* inmovilizado sobre un soporte cerámico, aunque en la mayoría de los trabajos las capacidades máximas de eliminación son mucho menores.

## 2.5. Modelos matemáticos

Hasta hace poco tiempo los procesos biológicos han sido estudiados con un modelo de caja negra, dada la complejidad de los procesos involucrados en estos sistemas.

El modelado matemático del proceso de biofiltración empezó en la década de los años ochenta y, desde entonces, han sido muchos los modelos matemáticos postulados por diferentes autores (Ottengraf and Van den Oever, 1983; Devinny *et al.*, 1991; Hodge *et al.*, 1991; Shareefdeen *et al.*, 1993; Deshusses *et al.*, 1995a; Deshusses *et al.*, 1995b)

### 2.5.1. Modelo de Ottengraf

El modelo fue publicado en el año 1983, (Ottengraf and Van den Oever, 1983), pero se desarrolla unos años más tarde (Ottengraf, 1986). Se basa en la teoría de la doble película descrita por Lewis and Whitman (1924), y parte de un modelo de crecimiento microbiano tipo Monod. A partir de una serie de simplificaciones se reduce a un conjunto de expresiones cinéticas de primer y segundo orden con soluciones analíticas. Las suposiciones del modelo fueron:

En la biopelícula el transporte de nutrientes es por difusión y puede ser descrita por un coeficiente de difusión efectiva,  $D_{\text{eff}}$ .

- El espesor de la biopelícula  $\delta$  es pequeño comparado con el diámetro de las partículas.
- La microcinética de consumo de sustrato en la biopelícula es descrita por la ecuación de Monod según la ecuación:

$$r_i = \frac{\mu_{\text{max}}}{y_i} \frac{C_{li}}{K_{si} + C_{li}} X$$

Donde:  $r_i$  es la velocidad de consumo del componente  $i$  por la biomasa;  $\mu_{\text{max}}$  es la velocidad específica máxima de crecimiento;  $y_i$  el coeficiente de rendimiento;  $C_{li}$  es la concentración del componente  $i$  en la fase líquida;  $K_{si}$  la constante de Monod del componente  $i$  y  $X$  la concentración de biomasa activa.

- El flujo de la fase gas a través del biofiltro sigue el modelo ideal de flujo en pistón.
- La resistencia de la película gaseosa es despreciable.

Para altas concentraciones del sustrato la velocidad de degradación tiende a ser independiente de su concentración ( $C_{li} \gg K_{si}$ ) dando lugar a cinéticas de orden cero, pudiéndose diferenciar dos casos según sea la etapa limitante la reacción química o la difusión del componente. Para bajas concentraciones del sustrato o baja solubilidad de éste en agua la velocidad de reacción es proporcional a su concentración teniendo una cinética de primer orden (Figura 7).

El resultado de aplicar el modelo en función de la cinética de primer orden, de orden cero con limitación por reacción y de orden cero con limitación por difusión da respectivamente las siguientes ecuaciones:

$$\frac{C_G}{C_{Gi}} = \exp\left(-\frac{h \cdot K_1}{m \cdot v_a}\right); \quad \frac{C_G}{C_{Gi}} = 1 - \exp\left(-\frac{h \cdot K_0}{C_{Gi} \cdot v_a}\right); \quad \frac{C_G}{C_{Gi}} = \left[1 - \frac{h}{v_a} \sqrt{\frac{K_0 \cdot D_{eff} \cdot a}{2 \cdot m \cdot C_{Gi} \cdot \delta}}\right]^2$$

Donde:  $C_G$  la concentración del gas;  $C_{Gi}$  la concentración a la entrada;  $h$  la altura del biofiltro;  $K_0$  la constante cinética de orden cero,  $K_1$  la constante cinética de primer orden;  $m$  el coeficiente de partición gas-líquido,  $v_a$  la velocidad superficial del gas;  $D_{eff}$  el coeficiente de difusión efectiva y  $\delta$  el espesor de la biopelícula.

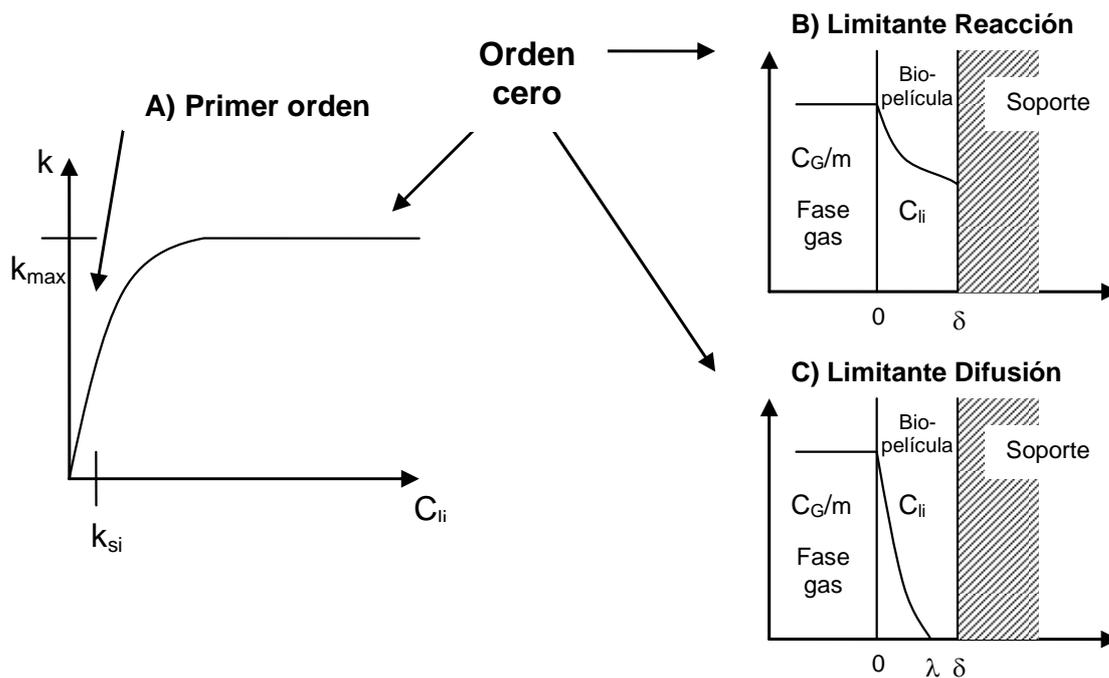


Figura 7. Casos cinéticos considerados en el modelo de Ottengraff.

### 2.5.2. Modelo de Devinny y Hodge.

Devinny y Hodge desarrollaron un modelo haciendo suposiciones simples con el objeto de acentuar los efectos derivados de realizar cambios en la concentración de entrada (Devinny *et al.*, 1991; Hodge and Devinny, 1995; Hodge and Devinny, 1997).

El modelo describe el proceso biológico y los fenómenos básicos de transporte: el aire pasa a través del biofiltro y el contaminante se ve afectado por advección, dispersión, adsorción, absorción y degradación biológica. El modelo trata el medio poroso como un sistema con dos fases: la fase gas y la fase líquido/sólido. Se considera el líquido y los sólidos como una sola fase para despreciar fenómenos como la difusión en estas dos fases y los procesos de adsorción en la interfase sólido/líquido. El modelo también describe la evolución del CO<sub>2</sub> generado por la biomasa prediciendo los perfiles de concentración. Las simplificaciones son las siguientes:

- No hay fenómenos de turbulencia.
- La composición del relleno del biofiltro es homogénea (porosidad, contenido en agua, espesor biopelícula ...).
- Distribución y densidad de biomasa homogénea.
- Adsorción irreversible.
- Advección y difusión en la biopelícula son despreciables.
- Cinética de primer orden para la velocidad de consumo del sustrato por los microorganismos.
- La producción de CO<sub>2</sub> sigue la siguiente estequiometría:  $C_2H_5OH + 3 O_2 \Rightarrow 3 CO_2 + H_2O$ .

La ecuación diferencial que describe el proceso, considerando que se alcanza el estado estacionario es:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - V \frac{\partial C}{\partial x} - \left( \frac{1-\theta}{\theta} \right) \left( \frac{\partial C_{ads}}{\partial t} + b_1 C_{ads} \right)$$

Siendo C la concentración en la fase gas a lo largo de la altura "x" del biofiltro; D el coeficiente de dispersión en la fase gas; V la velocidad axial intersticial de la gas;  $\theta$  la porosidad del material; C<sub>ads</sub> la concentración en la fase líquido/sólido y t el tiempo.

Para resolver esta ecuación se han de utilizar métodos numéricos, pero si se asume que la dispersión longitudinal es despreciable y el sistema alcanza el estado estacionario entonces se llega a la siguiente ecuación:

$$V \frac{\partial C}{\partial t} + b_1 \cdot k_m \cdot C = 0, \text{ con la siguiente solución analítica: } C = C_0 \cdot \exp\left(\frac{-b_1 \cdot k_m \cdot x}{V}\right)$$

Donde C es la concentración a lo largo de la altura "x" del biofiltro; C<sub>0</sub> es la concentración a la entrada, b<sub>1</sub> es la constante de primer orden de la degradación biológica, V la velocidad axial intersticial del aire y K<sub>m</sub> es el cociente de partición entre la masa de contaminante en la fase sólido/líquido y en la fase gas.

Así pues la concentración en el biofiltro disminuye exponencialmente con una velocidad constante proporcional a la velocidad de degradación y al coeficiente de partición y es inversamente proporcional a la velocidad de flujo de aire. El biofiltro trabaja mejor si la biodegradación es rápida y si el contaminante pasa bien a la fase líquido/sólido. Muchos estudios indican que la biodegradabilidad y la solubilidad son dos de los factores más importantes para tener éxito en la eliminación de un compuesto mediante el uso de un biofiltro.

### 2.5.3. Modelo de Shareefdeen *et al.*

Shareefdeen publicó y validó otro modelo matemático (Shareefdeen *et al.*, 1993) estudiando la degradación de metanol en un biofiltro mediante un consorcio de bacterias inmovilizadas en una mezcla de turba con partículas de perlita. Este modelo es similar al propuesto por Ottengraff pero con diferencias en las expresiones microcinéticas. Se pasó de considerar un solo compuesto en las ecuaciones cinéticas (sustrato) a tener en cuenta también el oxígeno como reactivo necesario en la degradación aerobia. Las suposiciones del modelo son:

- El metanol y el oxígeno son los únicos sustratos que afectan a la velocidad de reacción, considerándose difusión y reacción de ambos compuestos en la biopelícula. La velocidad específica de crecimiento es descrita por un modelo interactivo teniendo una dependencia en la concentración de metanol de tipo Andrews (o Haldane, generalización de Monod) y una dependencia de oxígeno de tipo Monod.
- La biopelícula se forma en la superficie exterior de las partículas y el espesor  $\delta$  es pequeño comparado con el tamaño de la partícula (se puede aplicar geometría plana). Al menos uno de los sustratos es agotado antes de alcanzar la interfase soporte biopelícula (ocurre a un espesor  $\delta$  de la biopelícula). No hay ninguna capa límite en la interfase aire/biopelícula, y las concentraciones de cada componente en la interfase se obtienen por los coeficientes de distribución como proponen (Ottengraff and Van den Oever, 1983). En la fase gas no hay variación de la concentración en dirección radial a la columna (flujo en pistón).
- La espuma de poliuretano utilizada como soporte de material de relleno (turba/perlita) no contribuye al proceso de biofiltración.
- La densidad de la biopelícula es constante a lo largo de la columna.
- Después de la etapa inicial del proceso, la acumulación de biomasa es insignificante u ocurre muy lentamente, por lo que se puede asumir estado estacionario o, más específicamente, pseudo estacionario.

Bajo estas consideraciones se realizan los correspondientes balances de materia, llegando a una solución que requiere la integración por métodos numéricos para su resolución, evitando la elección entre primer orden u orden cero.

Este modelo permite calcular la profundidad a la cual penetran ambos compuestos y ver cual se agota primero, definiendo así el espesor activo de la biopelícula en función de la profundidad de penetración del reactivo limitante.

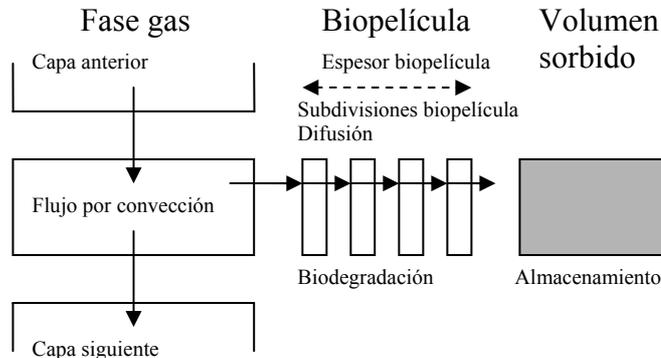
### 2.5.4. Modelo de Deshusses *et al.*

Deshusses (Deshusses *et al.*, 1995a; Deshusses *et al.*, 1995b) considera el biofiltro formado por un número finito de subdivisiones o capas. Cada subdivisión se divide en tres secciones (Figura 8): la fase gas, la biopelícula que rodea el material y el agua retenida dentro del soporte (volumen sorbido). La biopelícula es dividida en 4 subdivisiones y cada subdivisión se considera con mezcla ideal.

Asume una gran cantidad de simplificaciones similares a las de Ottengraff, siendo las más significativas:

- La concentración es homogénea en cada subdivisión ya que se supone en cada una de ellas mezcla ideal.

- El volumen sorbido es asumido igual al agua contenida en el material de soporte menos el volumen de la biopelícula, y ninguna reacción biológica tiene lugar en este volumen.
- No hay limitación por oxígeno.
- En la biopelícula se asume que no se da crecimiento de la biomasa, por lo que se mantienen constantes los parámetros cinéticos. Se utiliza una cinética tipo Monod con competición entre sustratos.



**Figura 8. Esquema de la estructura del modelo**

Para validar el modelo realizó un estudio de la degradación simultánea de Metil-etil-cetona (MEK) y Metil isobutil cetona (MIBK) en un biofiltro con compost/poliestireno. Para cada subdivisión realizó un balance de materia que resuelve por diferencias finitas, necesitando para llegar a simular de 5 a 10 horas de operación entre 3000 y 5000 iteraciones.

### 2.5.5. Modelos QSARs

Las siglas QSARs proviene de la abreviatura de “Quantitative structure activity relationships“ que vendría a ser “Modelo cuantitativo estructura-actividad”. Estos modelos buscan describir la actividad de determinados compuestos químicos basándose en su estructura química. Los modelos QSAR son muy diferentes a los modelos conceptuales y en muchos casos más limitados, porque los datos usados son sólo los descritos por los compuestos utilizados y no pueden describir todos los aspectos de la biofiltración. Lo que si pueden describir es la capacidad de eliminación de un compuesto para unas condiciones dadas. Un ejemplo de aplicación de este modelo fue realizado por Aizpuru *et al.*, (2002) para la eliminación de VOCs en un biofiltro, obteniendo un coeficiente de ajuste de 0.96.

### 2.5.6. Otros modelos

Otros muchos modelos han sido aplicados a los biofiltros. Algunos autores incluyen nuevas consideraciones, siendo las más significativas:

Cherry and Thompson (1997) incluye en el modelo los requerimientos energéticos de la bacteria para mantenimiento. El modelo intenta explicar los fenómenos de ausencia de crecimiento que se producen a veces en los biofiltros al cabo de tiempos largos de operación. Al cesar el crecimiento se produce una disminución de la eliminación puesto que el consumo de energía de mantenimiento es mucho menor en comparación con el de crecimiento.

Alonso *et al.*, (1999) distingue entre biomasa activa y no activa. Describe un modelo matemático aplicado a la degradación de VOCs (dietil eter) en un biofiltro de escurrimiento considerando tres fases: gas, líquido/biopelícula y biomasa no uniforme.

Baquerizo *et al.*, (2005) desarrolla y valida un modelo matemático en la eliminación de amoniaco. El modelo incluye los efectos inhibitorios del amoniaco libre y del ácido nitroso libre.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS:

#### 3.1. Microorganismo y medio de cultivo

La cepa utilizada fue *Thiobacillus thioparus* (ATCC 23645). Morfológicamente es una bacteria en forma de barra fina acortada con un tamaño entre 0.5 y 1.0-3.0  $\mu\text{m}$ . Posee un flagelo polar que le da motilidad y a veces se disponen en pares y/o cadenas cortas.

Las colonias en medio agar-tiosulfato son pequeñas (menos de 0.5 mm de diámetro) de forma circular, con elevación convexa y amarillas debido a la precipitación de azufre siendo opacas en el centro al cabo de una larga incubación (Figura 9).

Es una bacteria estrictamente aerobia y autótrofa. Obtiene la energía de la oxidación de tiosulfato a sulfato aunque también oxida o reduce parcialmente otros compuestos de azufre incluyendo el ácido sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ), metil mercaptano ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ; MM), dimetil sulfuro ( $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ ; DMS), dimetil disulfuro ( $(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$ ; DMDS), disulfuro de carbono ( $\text{CS}_2$ ) y azufre elemental. Su hábitat es el fango, suelo, canales de agua y otras fuentes de agua dulce encontrándose extensamente distribuida.

El óptimo de temperatura es de  $28^\circ\text{C}$  y el óptimo de pH es entre 6.6-7.2 aunque ocurre crecimiento entre pH 4.5-7.8.

La composición del medio de crecimiento empleado para el crecimiento de la cepa fue el recomendado por la ATCC (Medio ATCC 290: S6 medium for *Thiobacillus*). La composición en gramos por litro es: 1.2 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1.4 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.1 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.03 g de  $\text{CaCl}_2$ , 0.02 g de  $\text{FeCl}_3$ , 0.02 g de  $\text{MnSO}_4$  y 10.0 g de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

Se disolvieron todos los compuestos menos el  $\text{FeCl}_3$  que se esterilizo por filtración añadiéndose al medio esterilizado en autoclave ( $121^\circ\text{C}$ , 20 min). El pH final del medio se ajustó a 7.0 mediante la adición de NaOH conservándose en oscuridad a  $4^\circ\text{C}$ .

#### 3.2. Procedimiento de propagación y conservación de la cepa

La cepa se conservó en tubos inclinados con medio sólido (composición del medio sólido igual al medio ATCC 290 con un 1,5% w/v de agar-agar). A los 4-5 días de incubación una vez se observen las colonias se pasa a conservar los tubos a  $4^\circ\text{C}$ . Cada seis meses se realiza el traspaso de las cepas a otros tubos inclinados.

Para la conservación de la cepa en medio líquido es necesario realizar un traspaso líquido-líquido semanalmente. Se utilizaron erlenmeyers de 500 ml con 200 ml de medio ATCC 290 inoculado al 5% y mantenido en agitador incubador (*Gerhardt* Thermoshake THO5/THL5) a  $30^\circ\text{C}$  y 150 rpm.



Figura 9. Colonias de *Thiobacillus thioparus*

Para escalar la cepa desde los tubos inclinados, se inoculó con asa de siembra 20 ml de medio ATCC 290 incubando a 30°C durante 48 horas; al cabo de este tiempo se utilizó como inóculo de 180 ml de medio fresco, incubando el cultivo en incubador agitador a 150 rpm y 30°C.

Se puede apreciar crecimiento a simple vista por la formación de azufre elemental que vuelve el cultivo color amarillo pálido. Al dejarlo en reposo se aprecia el azufre sólido en el fondo.

### 3.3. Características del soporte

El material utilizado como soporte para la bacteria fue espuma de poliuretano. La espuma de poliuretano empleada tiene una densidad 20 kg/m<sup>3</sup> y una porosidad del 96%. Se utilizaron cubos de 1 cm<sup>3</sup> obtenidos a partir de una plancha de espuma de 1 cm de espesor (Figura 10). La superficie específica de la espuma de poliuretano es de 600 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> (Devinny *et al.*, 1999).



**Fig 10. Cubos de espuma de poliuretano**

### 3.4. Cinética de crecimiento

Se realizó la inoculación de 95 ml de medio ATCC 290 con 5 ml procedentes de un cultivo de 20 ml sembrado a partir de un tubo inclinado e incubado 48h a 30°C. Se incubó en agitador incubador a 30°C y 150 rpm. Los parámetros medidos para el estudio de la cinética de crecimiento fueron: biomasa total, concentración de sustrato (tiosulfato), concentración de producto (sulfato) y pH. Para obtener el azufre elemental se realizó un balance de materia al sistema.

Igualmente se realizaron otros estudios cinéticos utilizando un reactor discontinuo con un volumen de trabajo de un litro. Se inocularon 950 ml de medio ATCC290 con 50 ml de inóculo. Las condiciones de operación fueron: 30°C, 300 rpm y 0.8 vvm de aireación.

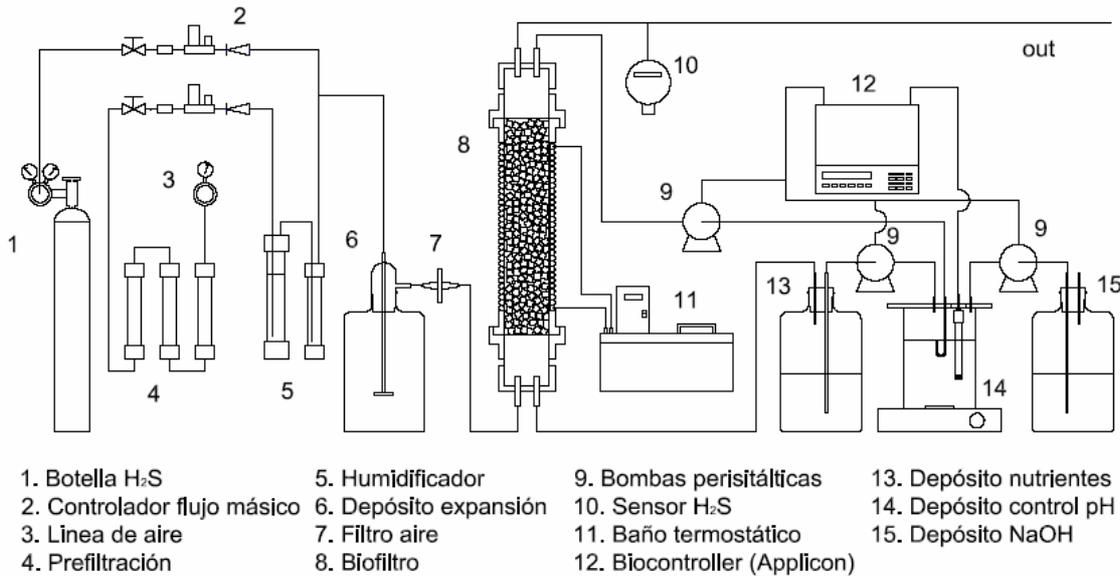
### 3.5. Protocolo de colonización de soporte

Para colonizar la espuma de poliuretano se realizó la inmersión del soporte en un cultivo con *Thiobacillus thioparus* ATCC 23645. Se emplearon 3 erlenmeyers de un litro conteniendo cada uno: 500 ml de medio ATCC 290, 100 ml de inóculo y 3,5 g de unidades de soporte de 1 cm<sup>3</sup>. El cultivo fue incubado a 150 rpm y 30°C en agitador incubador. El parámetro seguido durante la inmovilización fue la concentración de sustrato, una vez que la concentración disminuyó hasta un valor próximo a 1 g l<sup>-1</sup>, se reemplazó el medio de cultivo por medio fresco (600 ml) realizando previamente el recuento de las bacterias inmovilizadas en el soporte. En el segundo y sucesivos ciclos, se utilizó como inóculo la propia biomasa inmovilizada en el soporte. Se realizaron varios ciclos consecutivos hasta que la cantidad de biomasa inmovilizada en el soporte fue constante.

### 3.6. Sistema experimental de eliminación de ácido sulfhídrico

El sistema experimental se puede dividir en tres partes (Figura 11):

- Generación de la corriente de entrada
- Biofiltro de escurrimiento
- Recirculación de nutrientes y equipos de control y medición



**Figura 11. Sistema de eliminación de ácido sulfhídrico**

### 3.6.1. Generación de la corriente de entrada

Para generar la corriente de entrada se dispone una botella de 50 litros a 150 bar de composición: 0,5% H<sub>2</sub>S, 21% O<sub>2</sub> y resto N<sub>2</sub>, (suministrador Air-Liquide). Esta corriente concentrada (5000 ppmv) se diluye con aire para obtener la concentración y el caudal deseado.

El aire procede de un compresor industrial (línea de gases centralizados de la UCA). Para acondicionar el aire de entrada al sistema se realizó una prefiltración con los siguientes filtros ( $\Phi=32$  mm, altura relleno=30 mm):

- Sílica gel: Eliminar posibles restos de humedad.
- Carbón activo: Eliminar posibles restos de aceite.
- Lana de vidrio: Eliminar partículas en suspensión de filtros anteriores.

Los caudales de cada corriente son controlados por controladores de flujo másico (*Bronkhorst F-201C*):

- Rango de caudal controlador flujo de Aire: 0 a 5 lN/min
- Rango de caudal controlador Aire sintético/H<sub>2</sub>S: 0 a 30 lN/h

Previamente a la mezcla de ambas corrientes se realiza la humidificación de la corriente de aire en un humidificador ( $\Phi=63$  mm, altura de agua= 40 mm). Se utilizó un difusor de aire para aumentar la transferencia y se dispuso una trampa de agua a la salida del humidificador. Una vez mezcladas ambas corrientes, la corriente resultante pasa a un depósito de expansión de 2,5 l. Por último, se utilizó un filtro de 0.45  $\mu$ m para esterilizar la corriente de entrada al biofiltro (Millipore Filter SLG05010).

### 3.6.2. Biofiltro de escurrimiento

Para construir el biofiltro se utilizó una columna de PVC transparente de 63 mm de diámetro y 320 mm de altura útil. El volumen de trabajo fue de 800 ml (altura=257 mm), con una cantidad de soporte de 10.5 g.

### 3.6.3. Recirculación de nutrientes y equipos de control y medición

Como medio de recirculación se empleó el mismo medio ATCC 290 pero eliminando la fuente de energía (tiosulfato). Al eliminar la fuente de energía la bacteria pasa a utilizar como fuente de sustrato el ácido sulfhídrico.

El caudal de recirculación fue de 190 ml/h, que se corresponde a una velocidad superficial del líquido de 0.06 m/h. El pH se ajustó antes de la entrada al biofiltro a 7.0 con una disolución de NaOH 0.4M (se utilizó un BioController ADI 1030 de Applikon). Dadas las características del medio se utilizó un electrodo con diafragma esmerilado (CRISON 5221) recomendado para muestras difíciles y con presencia de sulfuros.

La temperatura de trabajo se mantuvo constante a 30°C mediante el uso de un baño termostático. Para medir la concentración de ácido sulfhídrico se utilizó un sensor específico de la marca Crowcon (Modelo GASFLAG, TXGARD-IS).

### 3.6.4. Condiciones de operación y diseño experimental

Las variables estudiadas fueron:

- Tiempo de residencia (EBRT: “Empty Bed Resident Time”): 10, 30, 70 y 100 segundos.
- Concentración de entrada: desde 10 hasta 758 ppmv.
- Concentración de sulfato: desde 4 hasta 9 g/L.

Variables fijas:

- Volumen empacado: 800 ml.
- Tamaño espuma: 1 cm<sup>3</sup>.
- Cantidad de soporte: 10,5 g.
- Temperatura: 30°C.
- Caudal de recirculación de nutrientes: 190 ml/h.
- pH de entrada al biofiltro: 7.0.
- Biomasa inicial:  $1.6 \times 10^{11}$  cel g<sup>-1</sup> de soporte.

La duración total del experimento de eliminación de H<sub>2</sub>S fue de 152 días. Se inició la experimentación con el tiempo de residencia mayor y la concentración mas baja. Para cada concentración de entrada se realizaron medidas de la concentración de H<sub>2</sub>S a la salida del biofiltro. Una vez alcanzado el estado estacionario se aumento la concentración de entrada hasta alcanzar la mayor capacidad de eliminación. A continuación se disminuyo el tiempo de residencia para empezar con el mismo protocolo de operación ir aumentando la concentración realizando medidas de concentración a la salida del biofiltro. Para los cuatro tiempos de residencia se mantuvo una concentración de sulfato en el medio de recirculación menor de 3-4 g·l<sup>-1</sup>. Una vez acabado este estudio se estudio el efecto de inhibición de la concentración de sustrato trabando con un tiempo de residencia de 30 segundos y con tres concentraciones de entrada de 35, 200 y 600 ppmv.

### 3.7. Métodos de análisis

#### 3.7.1. Determinación de la concentración celular

La medida de la cantidad de biomasa total en los medios de cultivo se realizó mediante recuento en cámara de Neubauer (Figura 12). La cámara de Neubauer posee dos zonas de recuento. En la Figura 13 podemos ver un detalle de la zona o cuadrícula de recuento.

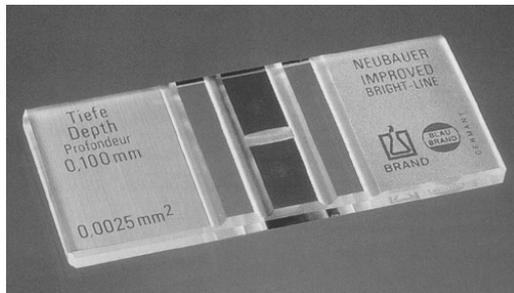


Figura 12. Cámara Neubauer

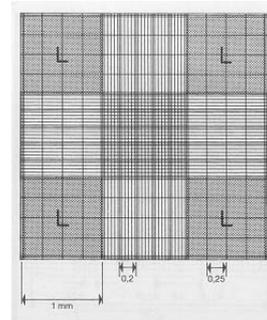


Figura 13. Zona de recuento

Cada cuadro pequeño tiene un área de  $0.0025 \text{ mm}^2$  y al ser la profundidad de  $0.100 \text{ mm}$  obtenemos que el cálculo de la concentración celular en millones de células por mililitro viene dado por:

$$\frac{\text{número total de bacterias contadas} \times \text{factor de dilución} \times 4 \cdot 10^6}{\text{número de cuadros pequeños contados}}$$

Para esta cámara el recuento de una diagonal (4 cuadros) equivale directamente al número de bacterias en millones de células por mililitro.

El número de células óptimo debe estar en el rango de 5 a 12 en cada cuadrado pequeño. Al menos debe haber 600 células en el volumen determinado por la cámara para que el recuento sea significativo. Además se recomienda múltiples llenados de la cámara para promediar la reproducibilidad del llenado.

En casos de muestras en que las bacterias presenten una alta movilidad se utiliza para hacer la dilución el diluyente de Norris-Powell. Este diluyente se prepara adicionado 5ml de formaldehído a un litro de agua, se ajusta el pH de la disolución con hidrogeno fosfato disódico entre 7.2 y 7.4 y se añade una pequeña cantidad de dodecilsulfato sódico.

Se empleó un microscopio óptico *Olympus* BH-2 que dispone de 5 objetivos de aumentos x4, x10, x20, x40 y x100. El aumento óptimo para el recuento es x40. La imagen es captada por una cámara analógica y dirigida a un monitor de 14" para su recuento.

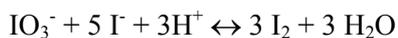
#### 3.7.2. Determinación de la biomasa inmovilizada

Para obtener la cantidad de biomasa inmovilizada, se realiza el recuento de bacterias en una unidad de soporte y se divide la cantidad total de biomasa entre el peso del soporte (Gomez et al., 2000; De Ory et al., 2004). Para el recuento de la cantidad de bacterias se toma una unidad de soporte o parte de ella y se elimina el líquido retenido secando la muestra suavemente con papel absorbente. A continuación se sumerge en 25 ml de medio estéril y se somete a ultrasonido durante 15 min para provocar la desorción de las bacterias realizando un recuento de la cantidad total de bacterias mediante la cámara de Neubauer. Para pesar el trozo

de soporte se realiza un secado a 80°C en estufa durante 24h. Esta técnica ha sido validada estudiando la resistencia de las células al ultrasonido y la eficacia de desorción de las células del soporte.

### 3.7.3. Concentración de tiosulfato

Para la determinación de tiosulfato se realiza una yodometría (Rodier, 1998) . La técnica ha sido simplificada dada la composición del medio. Se basa en la reacción que se produce entre el yodo y el tiosulfato:



El yodato en medio ácido y en presencia de yoduro produce yodo que reacciona estequiométricamente con el tiosulfato.

Las disoluciones necesarias son:

- Ácido sulfúrico diluido al 10%.
- Solución de yodo 0.0001M: Añadir 20 ml de la disolución de yodato y 20 ml de la disolución de yoduro potásico y enrasar a un litro. Disoluciones:
  - Yodato (Calidad patrón primario): Pesar exactamente 0.2675 g (secado a 110°C) y disolver en 250 ml agua destilada.
  - Yoduro potásico: Pesar 2.1 g aproximadamente y disolver en 250 ml de agua destilada.
- Engrudo de almidón: Se disuelven 2 g de almidón soluble calidad laboratorio en 100 ml de agua caliente. Se le añaden 0.2 g de ácido salicílico, como conservador

El procedimiento de análisis consiste en tomar 0.3 o 0.5 ml de muestra filtrada con filtro de 0.45 µm en un erlenmeyer. Se le añade 1 ml de ácido sulfúrico al 10% y 5 gotas de almidón valorando con la solución de yodo de concentración conocida. La concentración de tiosulfato será:

$$C (\text{g/l S}_2\text{O}_3^{2-}) = M \cdot 6 \cdot 112 \cdot I / V$$

Siendo: M molaridad de la disolución de yodato (0.0001); I el volumen gastado en la valoración en ml y V el volumen de muestra valorado (0.3 o 0.5 ml)

### 3.7.4. Concentración de sulfato

El método empleado para la determinación de sulfato fue una modificación del método turbidimétrico clásico (Clescerl *et al.*, 1989). Este método se basa en la reacción que se produce entre el cloruro de bario, en medio ácido, y el sulfato, formándose un precipitado blanco de sulfato de bario. Para conseguir que el precipitado de sulfato de bario se mantenga en suspensión se utiliza una disolución acondicionadora que contiene glicerina y alcohol de forma que se modifica la viscosidad de la muestra permitiendo así una turbidez estable. La medida de esta turbidez a 420 nm se relaciona con la concentración de sulfato.

Para llevar a cabo este método de análisis se necesitan una serie de patrones que se detallan a continuación:

- Solución madre de 1000 ppm de  $\text{SO}_4^{2-}$ : Disolver 1.479 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro secado a 110°C durante 2h, en agua destilada hasta 1 litro. 1 ml de esta solución equivale a 1 mg de  $\text{SO}_4^{2-}$ .

▪ Solución patrón de  $\text{SO}_4^{=}$  (100 ppm): Disolver 100 ml de la solución madre en 1 litro de agua destilada. 1 ml de esta solución equivale a 0.1 mg de  $\text{SO}_4^{=}$

Los reactivos necesarios son los siguientes

▪ Solución ácida acondicionadora: Añadir 10 ml de glicerina a una disolución que contenga 6 ml de HCl concentrado, 60 ml de agua destilada, 20 ml de alcohol etílico y 15 g de cloruro de sodio.

La recta de calibrado se lleva a cabo añadiendo 0.4 ml de solución ácida acondicionadora más la punta de una espátula de  $\text{BaCl}_2$  a 10 ml de cada patrón y el blanco. Se agita en vortex durante 1 minuto y se deja reposar otro minuto midiendo la absorbancia a 420 nm dentro de los 2 minutos siguientes.

Para medir la cantidad de sulfato a la muestra es necesario tomar 1 ml de medio de cultivo y filtrar con filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ . A continuación, se realiza la dilución necesaria hasta 5 ml con agua destilada y se trata de forma análoga a los patrones.

### 3.7.5. Análisis de ácido sulfhídrico

Para el análisis del ácido sulfhídrico se empleó un sensor específico de la marca Crowcon (Model GASFLAG, TXGARD-IS). Este sensor da una relación lineal entre la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  y el voltaje de respuesta del sensor (medido con voltímetro). En ausencia de  $\text{H}_2\text{S}$ , el voltaje es de 40 mV y para concentraciones mayores se puede regular el sensor fijando para cualquier concentración un valor máximo de 430 mV. El coeficiente de correlación múltiple ( $r^2$ ) para todas las calibraciones fue mayor de 0,99. Para las calibración más sensible la variación de  $\pm 1\text{mV}$  equivale a  $\pm 0.19$  ppmv de  $\text{H}_2\text{S}$ .

### 3.7.6. Preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido

Para obtener imágenes de microscopía electrónica de barrido de los microorganismos se utilizó un microscopio electrónico FIE Quanta 200 (Philips).

La preparación de la muestra difiere según se encuentre las bacterias en suspensión o adheridas a un soporte. Así para las bacterias en suspensión, se centrifuga la muestra a 7500g durante 10 min a 4°C, se elimina el sobrenadante y se deposita el pellet sobre un cubreobjetos (20 mm.) tratado con polilisina durante 10 min. La polilisina se deposita previamente y se retira el exceso antes de poner la muestra con papel adsorbente. Los cubreobjetos se depositan en un recipiente verticalmente para la fijación con glutaraldehído.

En el caso de las bacterias adheridas en espuma de poliuretano, se toma una pequeña porción de soporte y se elimina la biomasa ocluida con papel adsorbente, a continuación se procede a la fijación con glutaraldehído.

El proceso de fijación con glutaraldehído es idéntico para ambos casos, se sumerge la muestra con una disolución de glutaraldehído al 2.5% en tampón cacodilato de sodio (0.1M, pH 7.2) y se deja actuar durante 1 hora. En la bibliografía hay técnicas similares que en lugar de una 1h de fijación utilizan 12 horas a 4°C (Varesche *et al.*, 1997), se utilizaron ambas condiciones de fijación y el resultado fue el mismo, por lo que se decidió adoptar el de menor tiempo.

Al cabo de una hora se elimina el glutaraldehído y se añade tampón cacodilato (0.1M, pH 7.2) realizando 2 lavados de 10 minutos cada uno. La muestra se puede conservar en tampón cacodilato y a 4°C hasta su posterior secado hasta punto crítico.

Para realizar el secado hasta punto crítico se procede a deshidratar la muestra mediante la inmersión en soluciones de concentración creciente de acetona (50%, 70%, 90% y 100%), la duración de cada lavado es de 30 minutos. A continuación se realiza el secado hasta punto crítico con CO<sub>2</sub> para desplazar la acetona y por último, el metalizado con oro a vacío (condiciones: 15mA, 120 s, distancia 35 mm).

Las muestras una vez tratadas se conservan en campana de secado hasta su posterior observación al microscopio.

## 4. ANÁLISIS Y RESULTADOS

### 4.1. Cinética de crecimiento

En la Figura 14(a), están representados los datos de pH, concentración de sustrato, producto y biomasa frente al tiempo del cultivo crecido en el incubador orbital. Al cabo de 70 horas, se produce el consumo total del sustrato con la consiguiente disminución brusca de la cantidad de biomasa a partir de las 42 h. Inicialmente, la oxidación del tiosulfato (estado oxidación II) es total hasta sulfato (estado de oxidación VI), pero una vez que la concentración de sulfato es mayor de  $4 \text{ g l}^{-1}$ , se empieza a generar mayor cantidad de azufre elemental (estado oxidación 0). El pH final de un cultivo con el sustrato agotado se sitúa entre 3 y 4. El experimento se realizó por duplicado con idénticos resultados.

La velocidad específica de crecimiento se puede obtener a través de la representación del logaritmo neperiano del cociente de la concentración de biomasa en cada instante y la concentración de biomasa inicial frente al tiempo. De esta forma, se obtuvo una velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.0971 \text{ h}^{-1}$  con un  $r^2$  de 0.9935.

Al mismo tiempo, se realizó un estudio cinético en un reactor discontinuo de 1 litro de volumen de trabajo, siendo la tendencia de las variables estudiadas idénticas al caso del cultivo crecido en el agitador incubador. Los datos obtenidos están representados en la Figura 14(b) y, en este caso se obtuvo una velocidad específica de crecimiento de  $0.0825 \text{ h}^{-1}$  con un  $r^2$  de 0.9915.

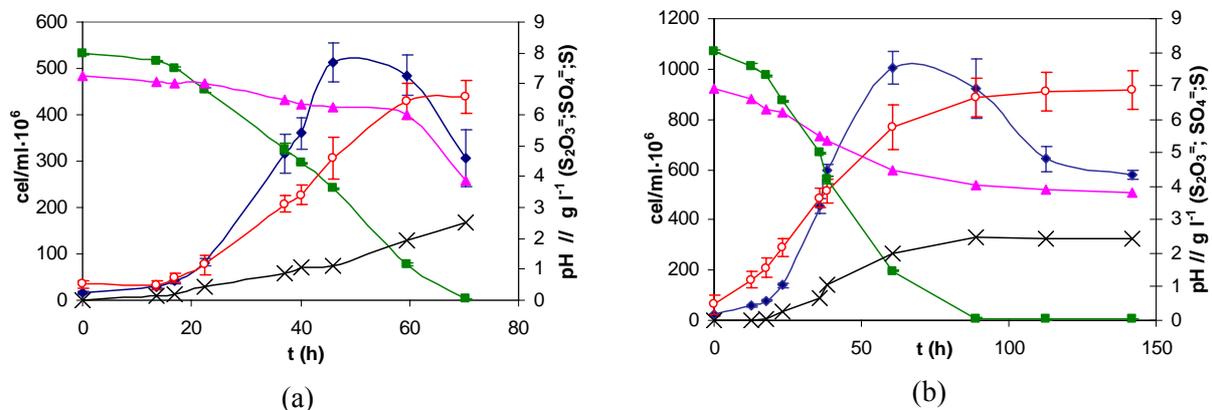


Figura 14. Representación de (■)  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , (○)  $\text{SO}_4^{2-}$ , (×) S, (△) pH, (◇) Biomasa vs. Tiempo

(a) Cultivo Incubador orbital; (b) Cultivo discontinuo

### 4.2. Biomasa inmovilizada

Para el estudio de la inmovilización de biomasa se procedió de acuerdo al procedimiento descrito en el apartado de Material y Métodos de esta memoria por triplicado. Se necesitaron 4 ciclos de inmovilización con una duración total de 335 horas. La duración de cada ciclo fue de 64.5; 93.6; 96.5 y 77.0 horas, respectivamente, encontrándose en la Figura 15 la evolución del sustrato para cada cultivo.

Los tres cultivos evolucionaron de igual forma, lo que nos permite comprobar la reproducibilidad de la técnica utilizada. La velocidad de consumo de sustrato fue constante e independiente de la cantidad de biomasa inmovilizada en el soporte alcanzando valores de  $0.0760$ ,  $0.0864$  y  $0.0864 \text{ (g S}_2\text{O}_3^{2-}) \text{ h}^{-1}$  para los cultivos A, B y C, respectivamente. Este fenómeno solo tiene su explicación en un problema de

transferencia de oxígeno, que provoca que no se de un mayor consumo a pesar de tener una mayor cantidad de biomasa inmovilizada.

En la Figura 16 esta representada la biomasa total al final cada ciclo, siendo el máximo alcanzado de  $1.6 \cdot 10^{11}$  células por gramo de soporte, con un total de 10.5 gramos de soporte inmovilizado. Los datos de biomasa se refieren a biomasa total y, en ningún momento, se realizó diferenciación entre biomasa viable y no viable, ya que interesa tener el máximo de bacterias inmovilizadas para conseguir una biopelícula lo más robusta posible.

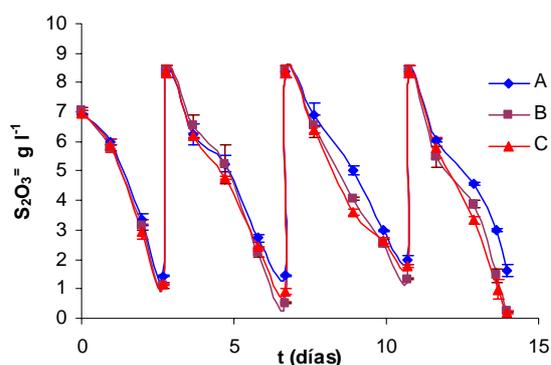


Figura 15. Evolución del sustrato frente al tiempo

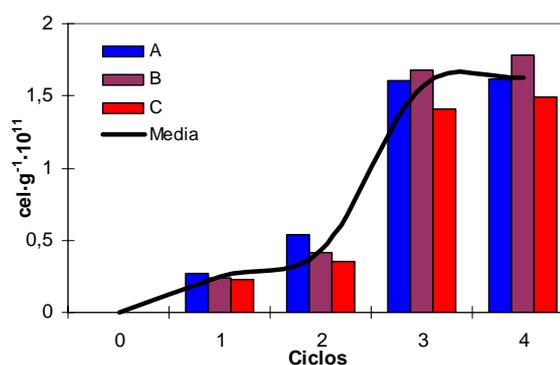


Figura 16. Evolución de la biomasa total inmovilizada

La Figura 17 muestra las imágenes de microscopía electrónica de barrido obtenidas en distintos aumentos, y se pueden observar las bacterias inmovilizadas distribuidas uniformemente sobre la superficie del soporte.

Recientemente se ha realizado un estudio de inmovilización de esta bacteria sobre un soporte polimérico con partículas magnéticas (MPB) para la degradación de sulfuro obteniendo una cantidad inmovilizada de  $9.3 \cdot 10^9$  células por gramo de soporte (Qiu *et al.*, 2006). Por tanto, se puede observar que la cantidad de biomasa inmovilizada en la espuma es 17 veces mayor que en las partículas MPB.

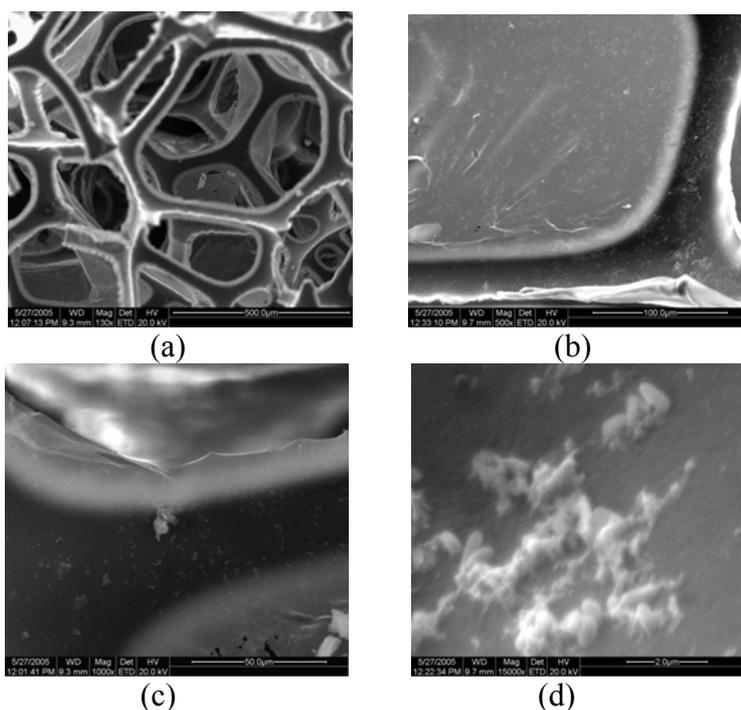


Fig 17. Imágenes de microscopía electrónica de barrido. Magnificación: (a) x130; (b) x500; (c) x1000; (d) x15000

No existen antecedentes del uso de la espuma de poliuretano para la inmovilización de *Thiobacillus thioparus*, como tal, sino como parte de un consorcio microbiano presente en los lodos activos. A pesar de

ello, este tipo de bacterias si se han inmovilizado en otro tipo de soportes para su uso en experiencias de biofiltración de TRS.

Así, Tanji *et al.*, (1989) trabajaron con un BTF inmovilizando *Thiobacillus thioparus* TK-m en anillos de propileno y llegaron a concentraciones de  $11.7 \text{ g células (peso seco) l}^{-1}$  en la parte inferior del biofiltro. Cho *et al.*, (1992b) trabajaron con un biofiltro utilizando turba como soporte e inocularon *Th. Thioparus* DW44. Al cabo de 120 días de operación obtuvieron una cantidad de  $9.50 \cdot 10^7 \text{ CFU (g turba seca)}^{-1}$  en la parte inferior. De igual forma, Park *et al.*, (1993) trabajando con un biofiltro alcanzaron una concentración máxima final de  $2.3 \cdot 10^8 \text{ CFU (g turba seca)}^{-1}$  de *Thiobacillus thioparus* TK-m. Finalmente, Oyarzún *et al.*, (2003) inocularon un biofiltro relleno con turba con *Thiobacillus thioparus* alcanzado valores de  $2.7 \cdot 10^8 \text{ células (g turba seca)}^{-1}$ .

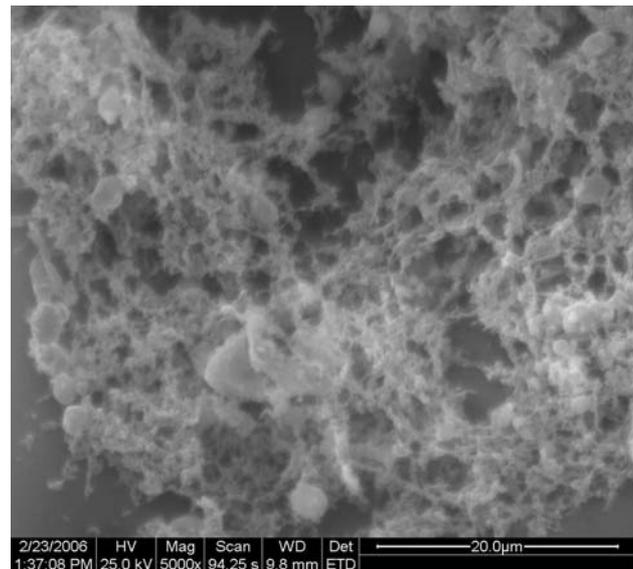
Sobre espuma de poliuretano se han inmovilizado bacterias similares como *Acidithiobacillus ferrooxidans* llegando a concentraciones entre  $8 \cdot 10^{10}$  y  $1.2 \cdot 10^{12}$  células por gramo de soporte (Mesa *et al.*, 2002), lo que indica que los valores alcanzados en este estudio están dentro del orden de magnitud para bacterias con cierto grado de similitud.

Durante los 152 días de operación se produjo un aumento de la biomasa inmovilizada.

Inicialmente aumentó hasta  $2.26 \cdot 10^{11} \text{ cel g}^{-1}$  manteniéndose constante para los tiempos de residencia del gas de 100, 70 y 30 segundos. Al aumentar el caudal de alimentación a  $281 \text{ l h}^{-1}$  se produjo un aumento de la biomasa inmovilizada hasta  $4.04 \cdot 10^{11} \text{ cel g}^{-1}$ . En la Figura 18 podemos ver el aumento de biomasa inmovilizada en el soporte producido al cabo de 142 días de operación. Aparecen junto con las bacterias de *Th. Thioparus* (forma de barras) otras especies bacterianas con forma de coco que no han sido identificadas.

El aumento del doble en la cantidad de biomasa inmovilizada puede deberse al incremento del flujo de gas, de tal forma, que al aumentar éste se produce una mejor distribución del medio de recirculación en el biofiltro con el consiguiente aumento de la biomasa inmovilizada y de la capacidad de degradación.

En este sentido, Jin *et al.*, (2005a) estudiaron el efecto del caudal de recirculación en un BTF relleno de anillos propileno en un rango de 0.627 a 2.746 m/h, encontrando estos autores un mayor porcentaje de eliminación para el caudal más pequeño. A caudales muy altos se aumenta el espesor de la capa líquida y se produce una disminución de la transferencia del componente de interés a la biopelícula, con la consiguiente disminución de la eliminación.



**Figura 18. Imágen SEM. 142 días de operación.  $4.04 \cdot 10^{11} \text{ cel g}^{-1}$ . Magnificación: x5000**

En estudios anteriores utilizando un BTF con espuma de poliuretano como relleno, las velocidades del medio de recirculación utilizadas han sido de 1.7 m/h (Gabriel and Deshusses, 2003) y 8 m/h (Gabriel *et al.*, 2004). Por tanto, puede observarse que en el trabajo que se presenta en esta memoria se ha trabajado con un caudal muy por debajo de este valor recomendado (190 ml/h que corresponde a una velocidad lineal de 0,06 m/h), siendo el objetivo de estudios posteriores en esta línea optimizar el caudal de recirculación para el biofiltro utilizado.

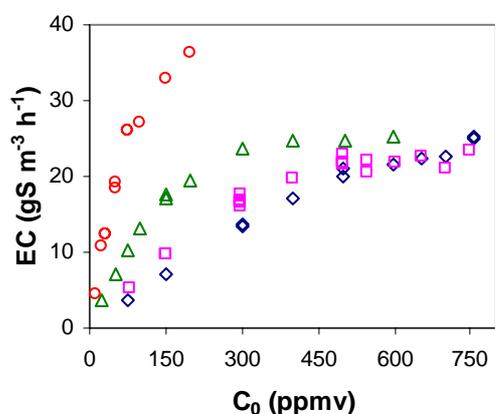
### 4.3. Eliminación de ácido sulfhídrico

#### 4.3.1. Efecto de la concentración de entrada

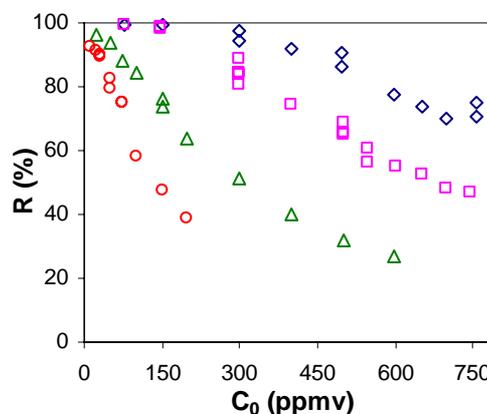
En la figura 19 se encuentra representada la variación de la capacidad de eliminación para diferentes concentraciones de entrada en un rango entre 10 y 758 ppmv a cuatro tiempos de residencia de 100, 70, 30 y 10 s, correspondientes a unos caudales de 28.8; 41.4; 96 y 281 l h<sup>-1</sup>.

Como se puede observar, se pueden distinguir dos partes bien diferenciadas para cada tiempo de residencia: inicialmente para concentraciones bajas el aumento de EC es lineal frente a la concentración de entrada ( $C_0$ ) y a partir de cierto valor se mantiene constante, debido a una limitación de velocidad por la etapa biológica.

Las capacidades de eliminación máximas medidas fueron de 25.1, 23.3 y 25.2 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> para los tiempos de residencia de 30, 70 y 100 segundos, respectivamente. Para el tiempo de residencia de 10 segundos no se llegó a alcanzar el valor de saturación siendo el valor experimental máximo medido de 36.2 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>.



**Figura 19.** Capacidad de eliminación frente a la concentración de entrada. EBRT: (○) 10 s, (△) 30 s, (□) 70 s, (◇) 100 s



**Figura 20.** Porcentaje de eliminación frente a la concentración de entrada. EBRT: (○) 10 s, (△) 30 s, (□) 70 s, (◇) 100 s

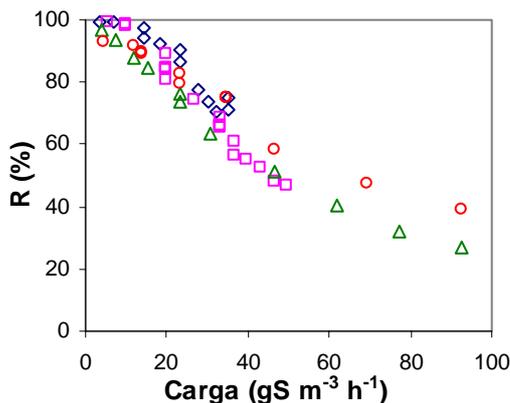
Para el menor tiempo de residencia se produce un aumento brusco de la capacidad de eliminación debido al aumento de la cantidad de biomasa inmovilizada.

La figura 20 representa los porcentajes de eliminación frente la concentración de entrada para cada tiempo de residencia. Al aumentar el tiempo de residencia se aumenta el porcentaje de eliminación considerablemente para una concentración fija de entrada. Si alimentamos a 150 ppmv los porcentajes de eliminación son de 99.5, 98.6, 74.8 y 47.3 para 100, 70, 30 y 10 s, respectivamente, por lo que comprobamos que al aumentar el caudal diez veces se produce una disminución del 99,5 al 47,3 %.

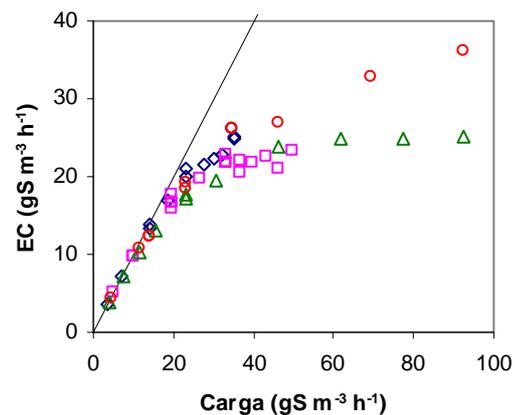
Esta disminución es lógica ya que, para una concentración fija, si se disminuye el tiempo de residencia se aumenta la carga de alimentación al aumentar el caudal. En este caso, para 150 ppmv, los valores de la carga de alimentación han sido de: 7.0, 9.9, 23.2 y 69.5  $\text{gS m}^{-3} \text{h}^{-1}$ .

#### 4.4. Efecto de la carga de alimentación

Si representamos el porcentaje de eliminación frente a la carga de alimentación la diferencia no es tan significativa (Figura 21), dada una carga de alimentación al sistema el porcentaje de eliminación es prácticamente el mismo independientemente del caudal de gas, produciéndose una pequeña disminución conforme aumentamos el caudal de gas. Esto sugiere que la reducción del porcentaje de eliminación al aumentar el flujo de gas no es debido a un insuficiente tiempo de reacción entre el sustrato y la biomasa, sino que se debe aun un problema de difusión de la gas a la fase líquida tal y como reportan Yang and Allen (1994). Estudios anteriores indican que bacterias del genero *Thiobacillus* son capaz de metabolizar  $\text{H}_2\text{S}$  en solo 1-2 s (Sublette and Sylvester, 1987), por tanto la biomasa presente en el biofiltro tiene una capacidad de degradación independientemente del flujo de gas que se alimente, la disminución que se produce se debe por tanto a un problema de difusión del sustrato de la fase gas a la fase líquida dada la baja solubilidad del ácido sulfhídrico.



**Figura 21. Porcentaje de eliminación frente a la carga de alimentación. EBRT: (○) 10 s, (△) 30 s, (□) 70 s, (◇) 100 s**



**Figura 22. Capacidad de eliminación frente a la carga de alimentación. EBRT: (○) 10 s, (△) 30 s, (□) 70 s, (◇) 100 s. Recta: 100% eliminación**

Si representamos la capacidad de eliminación frente a la carga (Figura 22), se comprueba lo mismo que en el caso anterior, se elimina aproximadamente la misma cantidad para una carga independiente del caudal de alimentación. La capacidad de eliminación para el tiempo de residencia de 10 segundos es mayor por el aumento de biomasa en el sistema.

La Tabla 4 muestra los valores de carga de alimentación en los que se alcanza una eliminación mayor del 98%.

<i>EBRT</i>			
100		70	
<i>Carga (gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>)</i>	<i>R (%)</i>	<i>Carga (gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>)</i>	<i>R (%)</i>
3.62	99.50	5.23	99.50
7.12	99.47	9.81	98.06
14.11	98.02		

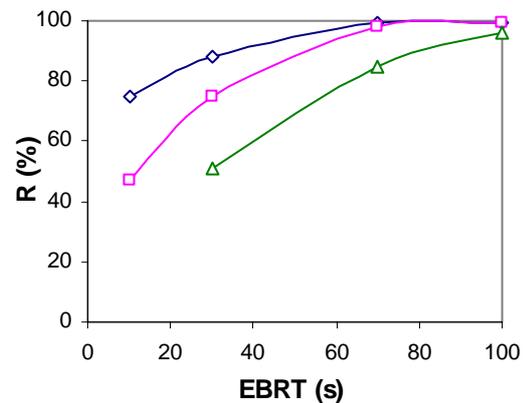
**Tabla 4. Valores de carga de alimentación en los que se alcanza una eliminación mayor del 98%.**

Por tanto se puede conseguir una eliminación mayor del 98% para valores de carga de hasta 14.11 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> para un EBRT de 100 segundos, y para 9.81 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> para 70 segundos. Para los demás tiempos de residencia los porcentajes de eliminación fueron menores del 98% para la menor carga de entrada.

#### 4.5. Efecto del tiempo de residencia

Al disminuir el tiempo de residencia, para una concentración fija de entrada, se observa una disminución del porcentaje de eliminación, tal y como se muestra en la Figura 23. En esta figura están representadas los porcentajes de eliminación para 3 concentraciones de entrada de 77, 150 y 300 ppmv.

Esta disminución se debe a los problemas comentados anteriormente de transferencia de materia desde la fase gas a la fase líquida.



**Figura 23. Porcentaje de eliminación frente al EBRT. Co (ppmv): (Δ) 300, (□) 150, (◇) 77**

#### 4.6. Efecto de la concentración de sulfato

En el metabolismo del H<sub>2</sub>S, la bacteria *Thiobacillus thioparus* puede producir dos productos de reacción: si la oxidación es total se genera sulfato y si ésta se produce de forma parcial se produce azufre. Tal y como se ha comentado en los antecedentes, el sulfato es un compuesto tóxico para *Th. thioparus* por lo que hay que controlar los niveles en el medio de recirculación. Durante toda la experimentación, en función de los datos que se recogen en la bibliografía (Tanji *et al.*, 1989; Koe and Yang, 2000), se decidió trabajar con una concentración de sulfato menor de 3-4 g l<sup>-1</sup>, ya que en el estudio cinético realizado se observó que a partir de una concentración de sulfato de 4 g l<sup>-1</sup> se comienza a generar una mayor cantidad de azufre.

El hecho de utilizar como soporte la espuma de poliuretano representa también una ventaja con respecto al efecto inhibitorio del sulfato, ya que al tener una alta porosidad se permite el lavado de sulfato generado evitando así su acumulación. Shinabe *et al.*, (2000) realizaron un estudio con varios soportes cerámicos encontrando que los soportes macroporosos (1 mm), a pesar de tener una menor superficie específica, daban mayores capacidades de eliminación que otros microporosos de mayor superficie, y la explicación se encuentra en que éstos últimos dificultaban el lavado del sulfato generado.

Para estudiar el efecto inhibitorio del sulfato se realizó un experimento trabajando con un tiempo de residencia del gas de 30 segundos a tres cargas diferentes de 5.5; 30.8 y 92.7 gS m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup> (35, 200 y 600 ppmv respectivamente).

En la Figura 24 se representan los valores del porcentaje de eliminación, capacidad de eliminación y concentración de sulfato frente al tiempo. Si estudiamos la evolución de cada parámetro se observa que la concentración de sulfato empieza a aumentar hasta llegar a un valor constante, momento en el que se estabilizan los valores del porcentaje de eliminación y de la capacidad de eliminación (estado estacionario). Si la concentración de sulfato se mantiene constante y continúa produciéndose eliminación, este hecho significa que la oxidación del H<sub>2</sub>S no es total hasta sulfato y, por tanto se está generando azufre elemental. A partir de los valores de la capacidad de eliminación podemos obtener la tasa de generación de azufre ya que el 100% de H<sub>2</sub>S eliminado va a azufre elemental.

Para el primer valor de carga de alimentación estamos en la zona de cinética de primer orden y para los otros dos valores estamos en la zona de cinética de orden cero (valor constante de la capacidad de eliminación). En la Tabla 5 se encuentran los valores de las distintas variables en el estado estacionario. Para las dos últimas cargas de alimentación, al ser constante la capacidad de eliminación, también lo es la velocidad de generación de azufre siendo de unos 18 mgS h<sup>-1</sup>, y si se considera un mes de experimentación se generaría un cantidad de 1.24 gS (g soporte)<sup>-1</sup> lo que provocaría un aumento considerable de la pérdida de carga que podría llegar a colmatar el biofiltro.

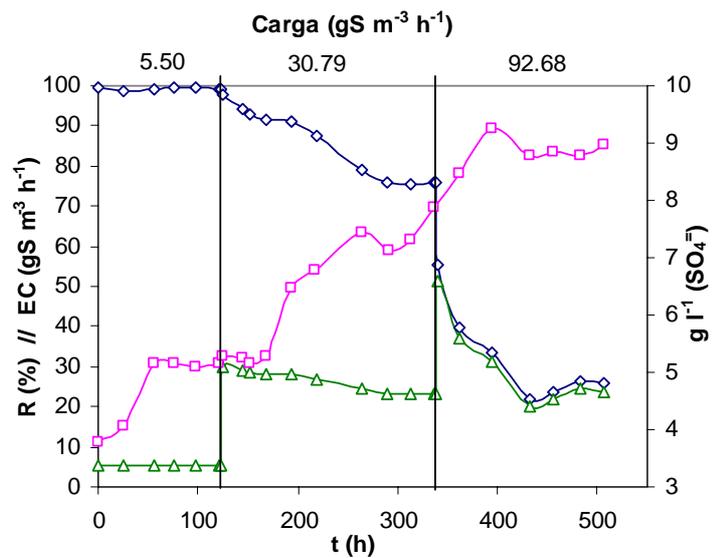


Figura 24. Porcentaje de eliminación (◇); Capacidad de eliminación (Δ) y Concentración sulfato (□) frente al tiempo.

Carga (gS m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (g l <sup>-1</sup> )	R (%)	EC (gS m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )	r <sub>s</sub> (mgS h <sup>-1</sup> )
5.50	5.14	99.3	5.46	4.37
30.79	7.44	75.64	23.29	18.63
92.68	8.92	24.33	22.55	18.04

Tabla 5. Resultados obtenidos en el experimento de inhibición de sulfato.

Por tanto, la medida de la concentración de sulfato en el medio de recirculación se puede considerar como una buena opción para el control del azufre elemental. De esta forma, una vez alcanzada una concentración constante de sulfato se proponen algunas de las siguientes actuaciones:

- Dejar que se genere azufre elemental y una vez se obtenga un aumento elevado de la pérdida de carga, proceder a dejar de alimentar H<sub>2</sub>S para que el microorganismo consuma el azufre oxidándolo a sulfato. Para ello, se necesitarían dos biofiltros.
- Reponer cierta proporción del medio de recirculación para disminuir su concentración.
- Disminuir la concentración de sulfato precipitándolo con CaO, de acuerdo al procedimiento propuesto por Jin *et al.*, (2005b).

#### 4.7. Modelado cinético de la biofiltración

En el proceso de degradación del H<sub>2</sub>S ocurren una serie de procesos en serie, como son la transferencia de materia del compuesto de la fase gas a la fase líquida, de la fase líquida a la biopelícula y degradación biológica del compuesto por la biomasa.

Aplicando la ecuación global del balance de materia a un elemento diferencial de volumen del biofiltro dV (Figura 25):

$$(A) = (E) - (S) \pm (R) \quad (1)$$

siendo:

(A) la velocidad de acumulación en el elemento dV del biofiltro

(E) la velocidad de entrada de H<sub>2</sub>S en el elemento dV del biofiltro

(S) la velocidad de salida de H<sub>2</sub>S en el elemento dV del biofiltro

(R) la velocidad de desaparición de H<sub>2</sub>S por la degradación biológica en el elemento dV del biofiltro.

Si consideramos estado estacionario, entonces el término de acumulación es nulo (A=0) tendremos:

$$(E) = (S) \pm (R) \quad (2)$$

Considerando el modelo ideal de flujo en pistón para la fase gas, el balance de la ecuación (2) aplicado el elemento dV se reduce a:

$$F = F + dF + (-r_b) \cdot dV \quad (3)$$

$$0 = dF + (-r_b) \cdot dV \quad (4)$$

donde:

F: es el flujo molar (mol/h)

$(-r_b) \cdot dV$ : es la velocidad de degradación biológica (mol/h)

y dado que:

$$dF = Q \cdot dC$$

$$dV = A \cdot dH$$

sustituyendo en la ecuación 4:

$$0 = Q \cdot dC + (-r_b) \cdot A \cdot dH \quad (5)$$

$$0 = \frac{Q}{A} \frac{dC}{dH} + (-r_b) \quad (6)$$

Si asumimos que la población microbiana no cambia, y que el oxígeno requerido para la degradación del H<sub>2</sub>S no se encuentra en defecto, entonces podemos expresar la velocidad de consumo de sustrato mediante una ecuación del tipo de Monod, definiendo la velocidad de reacción como:

$$(-r_b) = -\frac{\bar{V}_{\max} \cdot C}{\bar{K}_m + C} \quad (7)$$

Donde  $\bar{V}_{\max}$  es la velocidad máxima de eliminación biológica (mol m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>) y  $\bar{K}_m$  la constante de saturación (mol m<sup>-3</sup>).

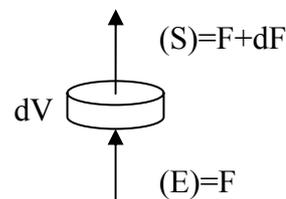


Figura. 25 Elemento diferencial de volumen para el balance de materia

Sustituyendo el término de la velocidad de reacción en la ecuación 6:

$$\frac{Q}{A} \frac{dC}{dH} = \frac{\bar{V}_{\max} \cdot C}{\bar{K}_m + C} \quad (8)$$

y separando variables:

$$\frac{\bar{K}_m + C}{C} dC = \bar{V}_{\max} \frac{Q}{A} dH \quad (9)$$

Si integramos con las siguientes condiciones de contorno:

$$C = C_0 \text{ para } H = 0$$

$$C = C_S \text{ para } H = H$$

Obtenemos:

$$\bar{K}_m \int_{C_0}^{C_S} \frac{1}{C} dC + \int_{C_0}^{C_S} dC = \bar{V}_{\max} \frac{Q}{A} \int_0^H dH \quad (10)$$

Integrando:

$$\bar{K}_m \cdot \ln \frac{C_S}{C_0} + (C_S - C_0) = \frac{A \cdot H}{Q} \bar{V}_{\max} = \frac{V}{Q} \bar{V}_{\max} \quad (11)$$

Reordenando variables:

$$\bar{V}_{\max} \cdot C_{\ln} \cdot \frac{V}{Q} = (\bar{K}_m + C_{\ln}) \cdot (C_S - C_0) \quad (12)$$

$$\frac{\bar{V}_{\max} \cdot C_{\ln}}{(\bar{K}_m + C_{\ln})} = (C_S - C_0) \frac{Q}{V} \quad (13)$$

Siendo  $C_{\ln}$  la concentración media logarítmica:

$$C_{\ln} = \frac{(C_0 - C_S)}{\ln \frac{C_0}{C_S}} \quad (14)$$

El valor de la capacidad de eliminación viene definido como:

$$\bar{EC} = (C_0 - C_S) \frac{Q}{V} \quad (15)$$

Donde:  $\bar{EC}$  es la capacidad de eliminación ( $\text{mol} \cdot \text{S} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ );  $Q$  es el caudal de gas ( $\text{m}^3 \text{ h}^{-1}$ );  $C_0$  la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  a la entrada ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ );  $C_S$  la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  a la salida ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ );  $V$  es el volumen del biofiltro ( $\text{m}^3$ ).

Reordenando términos y sustituyendo el valor de la capacidad de eliminación (ecuación 15) en la ecuación 13, obtenemos:

$$\bar{EC} = \frac{\bar{V}_{\max} C_{\ln}}{\bar{K}_m + C_{\ln}} \quad (16)$$

En biofiltración los valores de concentración se suelen expresar en ppmv o  $\text{ml}\cdot\text{m}^{-3}$ , ya que se trabaja con concentraciones muy pequeñas y la capacidad de eliminación en unidades de  $(\text{g}\cdot\text{S}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1})$ . Haciendo el cambio de unidades:

$$\overline{EC}\cdot M = \frac{\overline{V}_{\max}\cdot M\cdot C_{\ln}\cdot\beta}{(\overline{K}_m + C_{\ln})\cdot\beta} \quad (17)$$

Siendo M el peso molecular del contaminante ( $32 \text{ g mol}^{-1}$ ) y  $\beta$  es un factor de conversión ( $\text{ml mol}^{-1}$ ) dado por la ecuación (19):

$$\beta = R\cdot(273 + T)\cdot 10^3 \quad (18)$$

Donde R es la constante de los gases ( $0.082 \text{ atm l mol}^{-1} \text{ k}^{-1}$ ) y T la temperatura de operación ( $^{\circ}\text{C}$ ).

De esta forma, la ecuación (17) se reduce a:

$$EC = \frac{V_{\max}\cdot C_{\ln}}{K_m + C_{\ln}} \quad (19)$$

Donde EC es la capacidad de eliminación ( $\text{gS}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ );  $V_{\max}$  es la velocidad máxima de eliminación biológica ( $\text{ppmv m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ),  $K_m$  la constante de saturación ( $\text{ppmv o ml}\cdot\text{m}^{-3}$ ) y  $C_{\ln}$  la concentración media logarítmica ( $\text{ppmv o ml}\cdot\text{m}^{-3}$ ).

La ecuación (19) ha sido utilizada previamente por distintos autores en biofiltros (Hirai *et al.*, 1990; Cho *et al.*, 1991a; Cho *et al.*, 1991b; Zhang *et al.*, 1991; Chung *et al.*, 1997; Wani *et al.*, 1999; Chung *et al.*, 2000; Chung *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002; Streese *et al.*, 2005).

Linealizando la ecuación (19):

$$\frac{1}{EC} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{C_{\ln}} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (20)$$

y multiplicando por  $C_{\ln}$ :

$$\frac{C_{\ln}}{EC} = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{C_{\ln}}{V_{\max}} \quad (21)$$

Los parámetros cinéticos  $V_{\max}$  y  $K_m$  fueron calculados a partir de la ecuación (21), representando los valores de  $C_{\ln}/EC$  frente  $C_{\ln}$ , así el valor de la pendiente corresponde  $1/V_{\max}$  y de la ordenada en el origen conocido  $V_{\max}$  obtenemos  $K_m$ . Dichos valores están representados en la Tabla 6.

EBRT (s)	$K_m$ (ppmv)	$V_{\max}$ ( $\text{gS}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ )	$r^2$
100	101.3	29.7	0.9875
70	60.3	25.2	0.9902
30	48.9	27.9	0.9987
10	29.3	42.2	0.9943

**Tabla 6. Parámetros cinéticos del modelo**

Las figuras 25 y 26 muestran los datos experimentales frente a los calculados por el modelo propuesto.

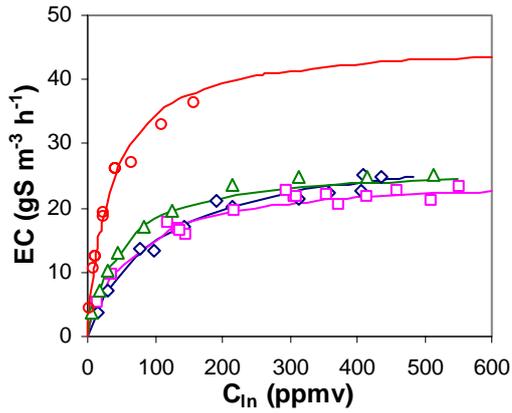


Figura 25. Capacidad de eliminación frente a la concentración media logarítmica. EBRT: (○) 10 s, (△) 30 s, (□) 70 s, (◇) 100 s

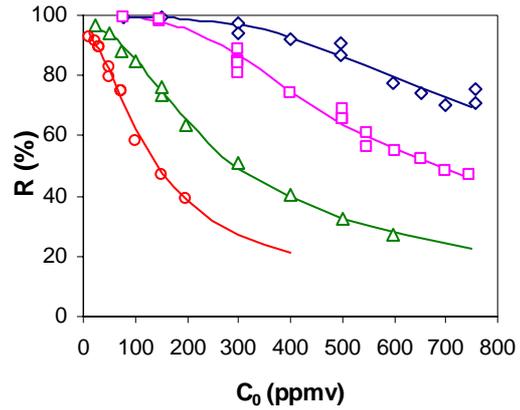


Figura 26. Porcentaje de eliminación frente a la concentración de entrada. EBRT: (○) 10 s, (△) 30 s, (□) 70 s, (◇) 100 s

Conocido los valores de  $V_{max}$  y  $K_m$  podemos obtener el valor de la concentración de salida para cualquier concentración de entrada. El procedimiento de cálculo es un proceso iterativo, ya que en la ecuación el valor de la concentración es la media logarítmica y se necesita el valor de la concentración de salida. El procedimiento iterativo sería el descrito en la Figura 27:

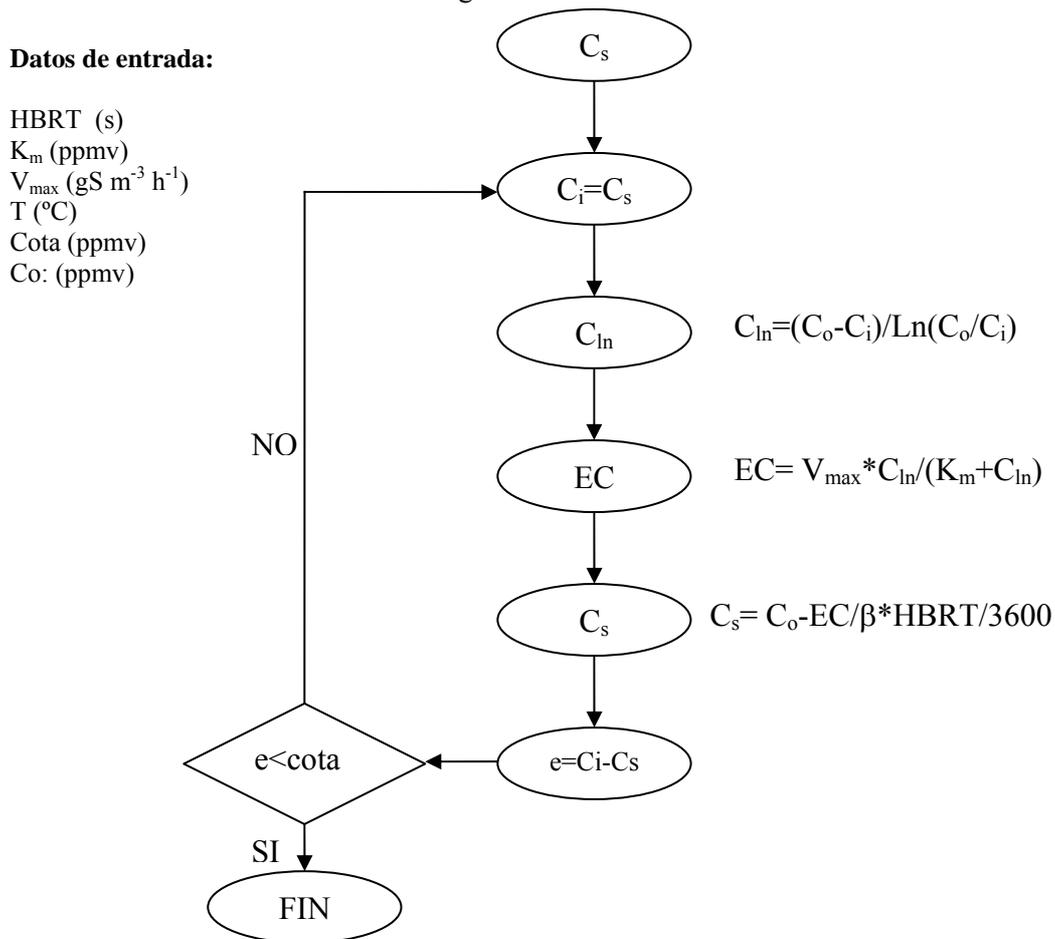


Figura 27. Procedimiento iterativo de cálculo

Este procedimiento plantea problemas para concentraciones bajas de salida ya que se puede obtener el logaritmo neperiano de un número negativo, tras algún ciclo de iteración. Para resolver este problema se ha propuesto el siguiente programa de cálculo en Matlab:

```

-----
HBRT= input('¿Tiempo de residencia (segundos)?');
Km= input('¿Constante de saturacion (ppmv)?');
Vmax= input('¿velocidad maxima de eliminacion (gS m-3h-1)?');
T= input('¿Temperatura (°C)?');
cota= input('¿error minimo?');
n= input('¿numero maximo de iteraciones?');
Co= input('¿Concentracion de entrada (ppmv)?');
b = (32*10^-3)/(22.4*(273+T)/273);
i = 1; % contador de iteraciones
f = 0.0001;

C0 = f;
x0= C0;
Cln= (Co-C0)/log(Co/C0);
EC= Vmax*Cln/(Km+Cln);
C0= Co-EC/b*HBRT/3600;
y = C0;
e0=x0-y;

C1 = Co-f;
x1= C1;
Cln= (Co-C1)/log(Co/C1);
EC= Vmax*Cln/(Km+Cln);
C1= Co-EC/b*HBRT/3600;
y = C1;
e1=x1-y;
ei=e1;
xi=x1;

while (ei>cota) & (i<n)
    pte=(ei-e0)/(xi-x0);
    origen=(e0+ei)/2-pte*(x0+xi)/2;
    Ci=-origen/pte;
    xi=Ci;
    Cln= (Co-Ci)/log(Co/Ci);
    EC= Vmax*Cln/(Km+Cln);
    R=(Co-Ci)/Co*100;
    Ci= Co-EC/b*HBRT/3600;
    y = Ci;
    ei=xi-y;
    i=i+1;
end
iteraciones=i
error=ei
Cln
EC
R
Cs=Ci
clear 'C0' 'C1' 'e0' 'e1' 'origen' 'pte' 'x0' 'x1' 'xi' 'y' 'b' 'i' 'ei' 'Ci' 'f' 'b'
-----

```

El programa se basa en suponer dos concentraciones extremas de salida, un muy alta igual a la concentración de entrada menos el factor  $f$  y otra muy baja igual a  $f$ . La iteración para estas dos concentraciones se realiza según el procedimiento de la Figura 28, obteniendo para la concentración alta un error positivo y para la concentración baja un negativo. La siguiente concentración ( $C2$ ) será el punto de corte de la pendiente que va desde el punto  $(C0,e0)$  al  $(C1,e1)$ , calculando de nuevo el error ( $e2$ ) que será positivo. La siguiente concentración será el punto de corte de la pendiente entre los puntos  $(C0,e0)$  y  $(C1,e1)$  y así sucesivamente hasta obtener un error menor que la cota o un número de iteraciones menor que  $n$  (Figura 27).

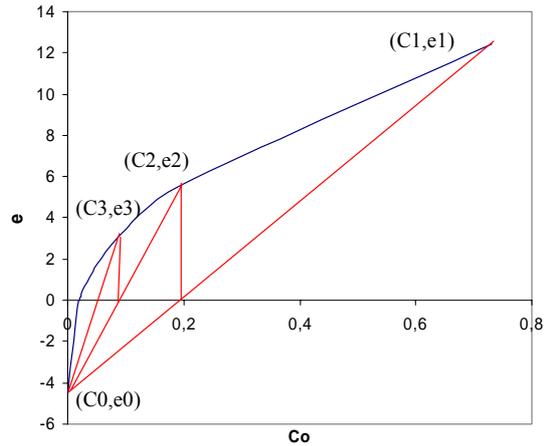


Figura 28. Método Iterativo

Una vez obtenido el valor de salida para una concentración de entrada es fácil obtener las curvas del modelo repitiendo el procedimiento iterativo de cálculo en un rango de concentraciones y generar gráficas del tipo como las de la Figura 29.

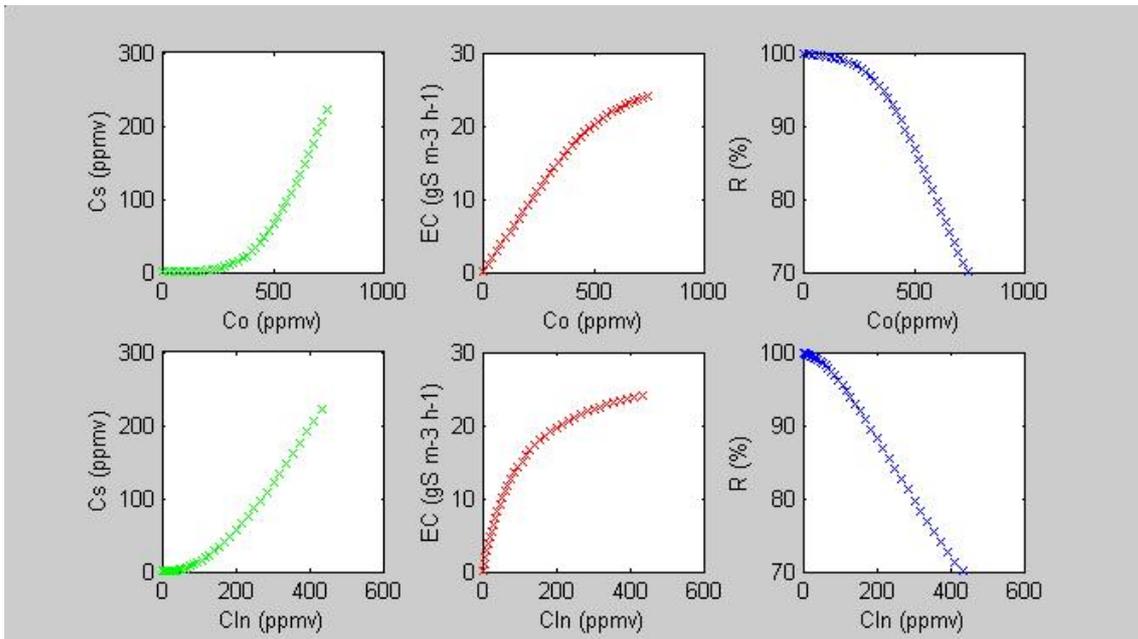


Figura 29. Ejemplo de cálculo en Matlab

## 5. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir:

- La cepa *Thiobacillus thioparus* ATCC 23645 se pueden conservar en medio agar-tiosulfato al 1.5% w/v a 4°C realizando trasposos cada 6 meses.
- La oxidación de tiosulfato en cultivo sumergido es total a sulfato en las etapas iniciales y a partir de concentraciones por encima 4 g l<sup>-1</sup> se generan cantidades apreciables de azufre elemental.
- El protocolo de inmovilización empleado en este estudio permite inmovilizar *Thiobacillus thioparus* en espuma de poliuretano en tres ciclos de inmovilización (11 días) alcanzando una concentración de 1.6·10<sup>11</sup> células g<sup>-1</sup>.
- Dada una carga de alimentación la capacidad de degradación del biofiltro es prácticamente constante independientemente del caudal de gas, dándose una pequeña disminución al aumentar éste, debido a un problema de difusión del H<sub>2</sub>S entre la fase gas y la líquida.
- Los porcentajes de eliminación obtenidos para una concentración de entrada de 150 ppmv son del 99.5, 98.6, 74.8 y 47.3 para EBTR de 100, 70, 30 y 10 segundos respectivamente.
- Se pueden conseguir porcentajes de eliminación por encima del 98% para valores de carga de hasta 14.11 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> para un EBRT de 100 segundos, y para 9.81 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> para 70 segundos.
- La biopelícula formada inicialmente se puede ver afecta por distintas variables de operación (aumento del caudal de gas por ejemplo) y puede contaminarse a lo largo de tiempo con otras especies bacterias por lo que se hace necesaria el uso de técnicas moleculares para su identificación.
- El seguimiento de la concentración de sulfato permite controlar la ruta metabólica de oxidación del H<sub>2</sub>S y se estable como una variable de operación para evitar cantidades excesivas de azufre elemental en el biofiltro.
- A partir de una ecuación cinética tipo Monod se puede relacionar la capacidad de eliminación (EC) con la concentración media logarítmica de H<sub>2</sub>S obteniendo un ajuste de los datos experimentales mayor de 0.98. Los valores obtenidos de la máxima capacidad de degradación biológica son de 42.2 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup>, para un EBRT de 10 segundos y entre 25.2-29.7 gS m<sup>-3</sup>h<sup>-1</sup> para el resto de tiempos de residencias.
- A partir de los resultados obtenidos se demuestra que es posible la eliminación de H<sub>2</sub>S en una corriente de aire utilizando un biofiltro de escurrimiento con *Thiobacillus thioparus* inmovilizado en espuma de poliuretano y el modelo cinético presenta una buena correlación entre los datos experimentas y teóricos para las distintas variables estudiadas.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Aizpuru A, Malhautier L, Fanlo JL (2002) Quantitative Structure-Activity Relationship Modeling of Biofiltration Removal. *Journal of Environmental Engineering* (Reston, VA, United States) 128:953-959
- Alonso C, Zhu X, Suidan MT, Kim BR, Kim BJ (1999) Mathematical model for the biodegradation of VOCs in trickle bed biofilters. *Water Science and Technology* 39:139-146
- Bach (1923) Sulfur in sewage. *Gesundheits-Ingenieur* 46:370-377
- Baquerizo G et al. (2005) A detailed model of a biofilter for ammonia removal: Model parameters analysis and model validation. *Chemical Engineering Journal* (Amsterdam, Netherlands) 113:205-214
- Buisman CJN, Geraats BG, Ijspeert P, Lettinga G (1990) Optimization of sulfur production in a biotechnological sulfide-removing reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 35:50-56
- Cherry RS, Thompson DN (1997) Shift from growth to nutrient-limited maintenance kinetics during biofilter acclimation. *Biotechnology and Bioengineering* 56:330-339
- Chitwood DE, Devanny JS, Reynolds FE, Jr. (1999) Evaluation of a two-stage biofilter for treatment of POTW waste air. *Environmental Progress* 18:212-221
- Cho K-S, Hirai M, Shoda M (1991a) Degradation characteristics of hydrogen sulfide, methanethiol, dimethyl sulfide and dimethyl disulfide by *Thiobacillus thioparus* DW44 isolated from peat biofilter. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 71:384-389
- Cho K-S, Hirai M, Shoda M (1992a) Enhanced removability of odorous sulfur-containing gases by mixed cultures of purified bacteria from peat biofilters. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 73:219-224
- Cho K-S, Hirai M, Shoda M (1992b) Enhanced removal efficiency of malodorous gases in a pilot-scale peat biofilter inoculated with *Thiobacillus thioparus* DW44. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 73:46-50
- Cho K-S, Ryu HW, Lee NY (2000) Biological deodorization of hydrogen sulfide using porous lava as a carrier of *Thiobacillus thiooxidans*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 90:25-31
- Cho K-S, Zhang L, Hirai M, Shoda M (1991b) Removal characteristics of hydrogen sulphide and methanediol by *Thiobacillus* sp. isolated from peat in biological deodorization. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 71:44-49
- Chung Y-C, Huang C, Pan JR, Tseng C-P (1998) Comparison of autotrophic and mixotrophic biofilters for H<sub>2</sub>S removal. *Journal of Environmental Engineering* (Reston, Virginia) 124:362-367
- Chung Y-C, Huang C, Rushing Pan J, Tseng C-P (2000) Biotreatment of H<sub>2</sub>S- and NH<sub>3</sub>-containing waste gases by co-immobilized cells biofilter. *Chemosphere* 41:329-336
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P (2001) Biological elimination of H<sub>2</sub>S and NH<sub>3</sub> from waste gases by biofilter packed with immobilized heterotrophic bacteria. *Chemosphere* 43:1043-1050
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P (1996a) Biodegradation of Hydrogen Sulfide by a Laboratory-Scale Immobilized *Pseudomonas putida* CH11 Biofilter. *Biotechnology Progress* 12:773-778
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P (1996b) Operation optimization of *Thiobacillus thioparus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal. *Journal of Biotechnology* 52:31-38
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P (1997) Removal of hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus* sp. strain CH11 in a biofilter. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 69:58-62
- Chung Y-C, Lin Y-Y, Tseng C-P (2004a) Control of H<sub>2</sub>S waste gas emissions with a biological activated carbon filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79:570-577
- Chung Y-C, Lin Y-Y, Tseng C-P (2004b) Operational characteristics of effective removal of H<sub>2</sub>S and NH<sub>3</sub> waste gases by activated carbon biofilter. *Journal of the Air & Waste Management Association* 54:450-458
- Clescerl LS, Greenberg AE, Eaton AD (1989) Standards Methods for Examination of water and wastewater. APHA/AWWA/WPCF, 17 ed
- Cohen Y (2001) Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology* 77:257-274
- Cox HHJ, Deshusses MA (2002) Co-treatment of H<sub>2</sub>S and toluene in a biotrickling filter. *Chemical Engineering Journal* 87:101-110

- De Ory I, Romero LE, Cantero D (2004) Optimization of immobilization conditions for vinegar production. Siran, wood chips and polyurethane foam as carriers for *Acetobacter aceti*. *Process Biochemistry* 39:547-555
- De Zwart JMM, Kuenen JG (1992) C1-cycle of sulfur compounds. *Biodegradation* 3:37-59
- Deshusses MA, Hamer G, Dunn IJ (1995a) Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 1. Dynamic model development. *Environmental Science and Technology* 29:1048-1058
- Deshusses MA, Hamer G, Dunn IJ (1995b) Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 2. Experimental evaluation of a dynamic model. *Environmental Science and Technology* 29:1059-1068
- Deviny JS, Chitwood DE (2000) Two-stage biofiltration of sulfides and VOCs from wastewater treatment plants. *Water Science and Technology* 42:411-418
- Deviny JS, Deshusses MA, Webster TS (1999) *Biofiltration for Air Pollution Control*. Lewis Publishers
- Deviny JS, Medina VF, Hodge DS (1991) Bench testing of fuel vapor treatment by biofiltration. In: National Research and Development Conference on the Control of Hazardous Materials, Hazardous Materials Control Research Institute, Anaheim, California
- Duan H, Koe LCC, Yan R (2005) Treatment of H<sub>2</sub>S using a horizontal biotrickling filter based on biological activated carbon: Reactor setup and performance evaluation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 67:143-149
- Elias A, Barona A, Arreguy A, Rios J, Aranguiz I, Penas J (2002) Evaluation of a packing material for the biodegradation of H<sub>2</sub>S and product analysis. *Process Biochemistry* (Oxford, United Kingdom) 37:813-820
- Elías A et al. (2000) Application of biofiltration to the degradation of hydrogen sulfide in gas effluents. *Biodegradation* 11:423-427
- EPA (2003) Toxicological review of Hydrogen sulfide.
- Friedrich CG, Rother D, Bardischewsky F, Ouentmeier A, Fischer J (2001) Oxidation of Reduced Inorganic Sulfur Compounds by Bacteria: Emergence of a Common Mechanism? *Applied and Environmental Microbiology* 67:2873-2882
- Gabriel D, Cox HHJ, Deshusses MA (2004) Conversion of full-scale wet scrubbers to biotrickling filters for H<sub>2</sub>S control at publicly owned treatment works. *Journal of Environmental Engineering* 130:1110-1117
- Gabriel D, Deshusses MA (2003) Retrofitting existing chemical scrubbers to biotrickling filters for H<sub>2</sub>S emission control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:6308-6312
- Gomez JM, Cantero D, Webb C (2000) Immobilisation of *Thiobacillus ferrooxidans* cells on nickel alloy fiber for ferrous sulfate oxidation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54:335-340
- Guidotti TL (1994) Occupational exposure to hydrogen sulfide in the sour gas industry: some unresolved issues. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 66:153-160
- Hartikainen T, Ruuskanen J, Martikainen PJ (2001) Carbon disulfide and hydrogen sulfide removal with a peat biofilter. *Journal of the Air & Waste Management Association* 51:387-392
- Hirai M, Kamamoto M, Yani M, Shoda M (2001) Comparison of the biological H<sub>2</sub>S removal characteristics among four inorganic packing materials. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91:396-402
- Hirai M, Ohtake M, Shoda M (1990) Removal kinetics of hydrogen sulfide, methanethiol and dimethyl sulfide by peat biofilters. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 70:334-339
- Hodge DS, Deviny JS (1995) Modeling removal of air contaminants by biofiltration. *Journal of Environmental Engineering* (New York) 121:21-32
- Hodge DS, Deviny JS (1997) Determination of transfer rate constants and partition coefficients for air phase biofilters. *Journal of Environmental Engineering* (New York) 123:577-585
- Hodge DS, Medina VF, Islander RL, Deviny JS (1991) Treatment of hydrocarbon fuel vapors in biofilters. *Environmental Technology* 12:655-662
- Hori K, Yamashita S, Ishii S, Kitagawa M, Tanji Y, Unno H (2001) Isolation, characterization and application to off-gas treatment of toluene-degrading bacteria. *Journal of Chemical Engineering of Japan* 34:1120-1126
- ICSC (2003) International Chemical Safety Card 0165.
- Jin Y, Veiga MC, Kennes C (2005a) Autotrophic deodorization of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80:998-1004

- Jin Y, Veiga MC, Kennes C (2005b) Effects of pH, CO<sub>2</sub>, and flow pattern on the autotrophic degradation of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. *Biotechnology and Bioengineering* 92:462-471
- Jones K, Martinez A, Rizwan M, Boswell J (2005) Sulfur toxicity and media capacity for H<sub>2</sub>S removal in biofilters packed with a natural or a commercial granular medium. *Journal of the Air & Waste Management Association* 55:415-420
- Jones KD, Martinez A, Maroo K, Deshpande S, Boswell J (2004) Kinetic Evaluation of H<sub>2</sub>S and NH<sub>3</sub> Biofiltration for Two Media Used for Wastewater Lift Station Emissions. *Journal of the Air and Waste Management Association* 54:24-35
- Kangas J, Savolainen H (1987) Urinary thiosulphate as an indicator of exposure to hydrogen sulphide vapour. *Clinica Chimica Acta* 164:7-10
- Kelly DP, Smith NA (1990) Organic sulfur compounds in the environment. Biogeochemistry, microbiology, and ecological aspects. *Advances in Microbial Ecology* 11:345-385
- Kennes C, Thalasso F (1998) Waste gas biotreatment technology. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 72:303-319
- Kim C-W, Park J-S, Cho S-K, Oh K-J, Kim Y-S, Kim D (2003) Removal of hydrogen sulfide, ammonia, and benzene by fluidized bed reactor and biofilter. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 13:301-304
- Kim H, Xie Q, Kim YJ, Chung JS (2002) Biofiltration of ammonia gas with sponge cubes coated with mixtures of activated carbon and zeolite. *Environmental Technology* 23:839-847
- Koe LCC, Yang F (2000) A bioscrubber for hydrogen sulphide removal. *Water Science and Technology* 41:141-145
- Kok HJG (1992) Bioscrubbing of air contaminated with high concentrations of hydrocarbons. *Studies in Environmental Science* 51:77-82
- Kosteltz AM, Finkelstein A, Sears G (1996) What are the "real opportunities" in biological gas cleaning for North America. *Proceedings, Annual Meeting - Air & Waste Management Association* 89th
- Lee Eun Y, Cho K-S, Ryu Hee W (2005) Simultaneous removal of H<sub>2</sub>S and NH<sub>3</sub> in biofilter inoculated with *Acidithiobacillus thiooxidans* TAS. *Journal of bioscience and bioengineering* 99:611-615
- Lens P, Pol LH, Editors (2000) *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*
- Lewis WK, Whitman WG (1924) Principles of gas absorption. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry (Washington, D. C.)* 16:1215-1220
- Li H, Mihelcic JR, Crittenden JC, Anderson KA (2003) Field Measurements and Modeling of Two-Stage Biofilter that Treats Odorous Sulfur Air Emissions. *Journal of Environmental Engineering (Reston, VA, United States)* 129:684-692
- Lomans BP, Pol A, Op den Camp HJ (2002) Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds in anoxic environments. *Water Science and Technology* 45:55-60
- Loy J, Flauger M (1996) Biological elimination of styrene contaminated waste gas with the Zander biotrickling technology. In: *Proceedings of the Air & Waste Management Association's Annual Meeting & Exhibition*
- Malhautier L, Gracian C, Roux J-C, Fanlo J-L, Le Cloirec P (2003) Biological treatment process of air loaded with an ammonia and hydrogen sulfide mixture. *Chemosphere* 50:145-153
- Manero M-H (1997) Industrial Air Pollution: Removal of dilute Gaseous Vapors. In: R.K Jain YA, C. Cabussud, M. Roustan, S.P. Shelton (ed) *Environmental Technologies and Trends. International and Policy Perspectives*. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K, pp 93-97
- Mesa MM, Macias M, Cantero D (2002) Mathematical Model of the Oxidation of Ferrous Iron by a Biofilm of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology Progress* 18:679-685
- Moe WM, Irvine RL (2000) Polyurethane foam medium for biofiltration. II: Operation and performance. *Journal of Environmental Engineering* 126:826-832
- Morgan-Sagastume JM, Noyola A (2005) Hydrogen sulfide removal by compost biofiltration: Effect of mixing the filter media on operational factors. *Bioresource Technology In Press, Corrected Proof*
- Morton RL, Caballero RC (1997) Removing hydrogen sulfide from wastewater treatment facilities' air process streams with a biotrickling filter. In: *Proceedings of the Air & Waste Management Association's Annual Meeting & Exhibition*
- Nishimura S, Yoda M (1997) Removal of hydrogen sulfide from an anaerobic biogas using a big-scrubber. *Water Science and Technology* 36:349-356

- Ottengraf SPP (1986) Exhaust gas purification. In: Biotechnology, pp 425-452
- Ottengraf SPP, Van den Oever AHC (1983) Kinetics of organic compound removal from waste gases with a biological filter. *Biotechnology and Bioengineering* 25:3089-3102
- Oyarzun P, Arancibia F, Canales C, Aroca GE (2003) Biofiltration of high concentration of hydrogen sulphide using *Thiobacillus thiooparus*. *Process Biochemistry* (Oxford, United Kingdom) 39:165-170
- Park S-J, Cho K-S, Hirai M, Shoda M (1993) Removability of malodorous gases from a night soil treatment plant by a pilot-scale peat biofilter inoculated with *Thiobacillus thiooparus* DW44. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 76:55-59
- Park SJ, Nam SI, Choi ES (2001) Removal of odor emitted from composting facilities using a porous ceramic biofilter. *Water Science and Technology* 44:301-308
- Pinjing H, Liming S, Zhiwen Y, Guojian L (2001) Removal of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by a packed tower with immobilized micro-organism beads. *Water Science and Technology* 44:327-333
- Potivichayanon S, Pokethitiyook P, Kruatrachue M (2006) Hydrogen sulfide removal by a novel fixed-film bioscrubber system. *Process Biochemistry* (Oxford, United Kingdom) 41:708-715
- Qiu G-l, Li Y-l, Zhao K (2006) *Thiobacillus thiooparus* immobilized by magnetic porous beads: Preparation and characteristic. *Enzyme and Microbial Technology* In Press, Corrected Proof
- Rodier J (1998) Análisis de las aguas. Ediciones Omega, S.A. Barcelona
- Ruokojärvi A, Ruuskanen J, Martikainen PJ, Olkkonen M (2001) Oxidation of gas mixtures containing dimethyl sulfide, hydrogen sulfide, and methanethiol using a two-stage biotrickling filter. *Journal of the Air and Waste Management Association* 51:11-16
- Ruth JH (1986) Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review. *American Industrial Hygiene Association Journal* (1958-1999) 47:A-142-A-151
- Schieder D, Quicker P, Schneider R, Winter H, Prechtel S, Faulstich M (2003) Microbiological removal of hydrogen sulfide from biogas by means of a separate biofilter system: experience with technical operation. *Water Science and Technology* 48:209-212
- Sercu B, Van Langenhove H, Boon N, Verstraete W, Nuñez D, Aroca G (2005a) Inoculation and start-up of a biotrickling filter removing dimethyl sulfide. *Chemical Engineering Journal* 113:127-134
- Sercu B, Van Langenhove H, Nuñez D, Aroca G, Verstraete W (2005b) Operational and microbiological aspects of a bioaugmented two-stage biotrickling filter removing hydrogen sulfide and dimethyl sulfide. *Biotechnology and Bioengineering* 90:259-269
- Shareefdeen Z, Baltzis BC, Oh Y-S, Bartha R (1993) Biofiltration of methanol vapor. *Biotechnology and Bioengineering* 41:512-524
- Shinabe K, Oketani S, Ochi T, Kanchanatawee S, Matsumura M (2000) Characteristics of hydrogen sulfide removal in a carrier-packed biological deodorization system. *Biochemical Engineering Journal* 5:209-217
- Shinabe K, Oketani S, Ochi T, Matsumura M (1995) Characteristics of hydrogen sulfide removal by *Thiobacillus thiooxidans* KS1 isolated from a carrier-packed biological deodorization system. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 80:592-598
- Shojaosadati SA, Elyasi S (1999) Removal of hydrogen sulfide by the compost biofilter with sludge of leather industry. *Resources, Conservation and Recycling* 27:139-144
- Smet E, Van Langenhove H, Lens P (1998) Treatment of waste gases contaminated with odorous sulfur compounds. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 28:89-117
- Stetter KO, Fiala G, Huber G, Huber R, Seegerer A (1990) Hyperthermophilic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* 75:117-124
- Streese J, Schlegelmilch M, Heining K, Stegmann R (2005) A macrokinetic model for dimensioning of biofilters for VOC and odour treatment. *Waste Management* (Amsterdam, Netherlands) 25:965-974
- Sublette KL, Sylvester ND (1987) Oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*: Desulfurization of natural gas. *Biotechnology and Bioengineering* 29:249-257
- Svendsen K (2001) The Nordic Expert Group for Criteria Documentation of Health Risks from Chemicals and The Dutch Expert Committee on Occupational Standards. 127. Hydrogen Sulphide
- Tanji Y, Kanagawa T, Mikami E (1989) Removal of dimethyl sulfide, methyl mercaptan, and hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus thiooparus* TK-m. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 67:280-285
- Van Groenestijn JW, Hesselink PGM (1993) Biotechniques for air pollution control. *Biodegradation* 4:283-301

- Van Groenestijn JW, Kraakman NJR (2005) Recent developments in biological waste gas purification in Europe. *Chemical Engineering Journal* 113:85-91
- Varesche MB, Zaiat M, Vieira LGT, Vazoller RF, Foresti E (1997) Microbial colonization of polyurethane foam matrixes in horizontal-flow anaerobic immobilized-sludge reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48:534-538
- Wani AH, Lau AK, Branion RMR (1999) Biofiltration control of pulping odors - hydrogen sulfide: performance, macrokinetics and coexistence effects of organo-sulfur species. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 74:9-16
- Wark K, Warner CF, Davis WT (2004) *Contaminación del Aire. Origen y control*. Prentice Hall
- Wu L, Loo Y-Y, Koe LCC (2001) A pilot study of a biotrickling filter for the treatment of odorous sewage air. *Water Science and Technology* 44:295-299
- Yang Y, Allen ER (1994) Biofiltration control of hydrogen sulfide. 1. Design and operational parameters. *Air & Waste* 44:863-868
- Zhang L, Hirai M, Shoda M (1991) Removal characteristics of dimethyl sulfide, methanethiol and hydrogen sulfide by *Hyphomicrobium* sp. I55 isolated from peat biofilter. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 72:392-396