

# DISEÑO DE UN BIOFILTRO PARA DISMINUIR LA CONCENTRACIÓN DE H<sub>2</sub>S DE UN REACTOR ANAEROBIO DE FLUJO A PISTÓN (RAP)

---

**JUAN DIEGO NAVARRO SARMIENTO**

Ingeniero Sanitario & Ambiental  
jnavarro@petrosantander.com.co

**YOLANDA GAMARRA HERNÁNDEZ**

Profesor Titular  
Escuela de Ingeniería Ambiental  
Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga  
ygamarra@upbbga.edu.co

**HUMBERTO ESCALANTE HERNÁNDEZ**

Profesor Titular  
Escuela de Ingeniería Química  
Universidad Industrial de Santander  
escala@uis.edu.co

*Fecha Recepción: 12/06/2007*

*Fecha Aceptación: 19/10/2007*

## RESUMEN

Como alternativa para reducir la concentración de H<sub>2</sub>S presente en el efluente del Reactor Anaerobio de Flujo a Pistón (RAP) de la Universidad Pontificia Bolivariana- (UPB) Seccional Bucaramanga, se planteó un proceso biotecnológico utilizando bacterias del género *Thiobacillus*. Inicialmente se aisló una cepa de microorganismos de este género, y se determinó su capacidad de remoción de sulfuros totales en el efluente del RAP. Posteriormente se evaluó la formación de biopelícula, del microorganismo, sobre un soporte tipo guadua y la capacidad de remoción de los sulfuros totales. A escala de laboratorio se consiguió formar una biopelícula, de microorganismos del género *Thiobacillus sp.*, sobre guadua capaz de remover el 99% de los sulfuros totales presentes en fase líquida en un tiempo de dos horas. Finalmente, se definieron los parámetros de diseño de dos biofiltros, con operación en paralelo, para el tratamiento del 10% del caudal afluente al RAP de la Universidad Pontificia Bolivariana- Seccional Bucaramanga.

**PALABRAS CLAVE:** *Thiobacillus sp.*, medio de soporte, agua residual, biopelícula.

## ABSTRACT

A biotechnological process using bacteria of the *Thiobacillus* sort was considered like an alternative in order to reduce the H<sub>2</sub>S concentration of the two fase Anaerobic Reactor (RAP) effluent of the Universidad Pontificia Bolivariana – Bucaramanga (UPB). Initially a stock of microorganisms was isolated and the total sulphide removal capacity of the RAP's effluent was determined. Later the formation of a biofilm on a guadua support and the total sulphide removal capacity were evaluated. On a laboratory scale, the formation of the *Thiobacillus* biofilm on guadua, capable to remove 99% of the total liquid sulphide in a period of two hours was achieved. Finally, the design parameters of two parallel biofilters were defined, in order to treat 10% of the RAP's affluent at the Universidad Pontificia Bolivariana - Bucaramanga.

**KEYWORDS:** *Thiobacillus sp.*, packing material, wastewater, bio-film.

## 1. INTRODUCCIÓN

El tratamiento anaerobio de efluentes contaminados que contienen compuestos azufrados, conlleva a la formación de ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) (Mannan, 2000), producto del metabolismo bacteriano, responsable de un alto impacto oloroso, de repercusiones en la salud y de la corrosión de estructuras en los sistemas de alcantarillado y Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR's). Concentraciones de sulfuros mayores a 1 mg/L, en agua residual, y mayores a 3 ppm, en la atmósfera, son consideradas como indeseables (Romero, 2004). El  $H_2S$  es detectado por el olfato humano a concentraciones muy bajas (0.0005 ppm en el aire), percibiéndose un fuerte olor a huevos podridos; además éste compuesto presenta toxicidad y el valor límite de exposición a 10 ppm es de tan sólo 10 minutos (Humbert *et al.*, 2002).

El  $H_2S$  se produce por el desdoblamiento de las proteínas presentes en la materia orgánica, principalmente de aminoácidos sulfurados, cisteína y metionina (Rheinheimer, 1987) y por la reducción anaerobia de los sulfatos mediante la acción microbiana, como se representa en las siguientes reacciones:



En ausencia de oxígeno disuelto y nitratos, los sulfatos sirven como aceptores finales de electrones para la oxidación bioquímica producida por bacterias anaerobias (Sawyer and Mc Carty, 1978). Tradicionalmente la remoción de  $H_2S$ , se lleva a cabo mediante el proceso de lavado químico del aire, utilizando torres lavadoras de gases (Baldasano *et al.*, 2001). La [H1] capacidad de crecimiento quimiolitotrófico a partir de compuestos de azufre es una propiedad de un grupo diverso de microorganismos, entre ellos se destacan los géneros: *Thiobacillus*, *Thiosphaera*, *Thiomicrospira*, *Thermothrix*, *Beggiatoa* y *Sulfolobus* (Madigan *et al.*, 1998). Las especies del género *Thiobacillus* han sido ampliamente utilizadas para el tratamiento de efluentes con alto contenido de  $H_2S$ , dando lugar a la formación de azufre elemental y sulfatos (Chung *et al.*, 1998), siendo éstos microorganismos los más importantes para oxidar compuestos azufrados en las aguas que los contienen. Recientemente se han desarrollado biorreactores enfocados al control de  $H_2S$ , utilizando el concepto de bacterias sulfuro-oxidantes, manejando lodo activado y ácido butírico como fuente de carbono, lográndose conversiones

a sulfato de hasta un 97,8% (Navia y Vidal, 2002). En Taiwán, un grupo de investigación interdisciplinario, obtuvo excelentes resultados en cuanto a remoción de  $H_2S$ , utilizando cultivos puros de *Thiobacillus novellus*, una bacteria facultativa quimioautótrofa, en un reactor a flujo continuo bajo condiciones limitadas de nutrientes (Chung *et al.*, 1998). Mora *et al.* (2005), desarrollaron un inóculo a partir de lodos activados provenientes de una industria de alimentos, una productora de bebidas gaseosas y una destilería, para la degradación de ácido sulfhídrico en un sistema piloto de biofiltración con dos unidades, empleando bagazo de caña y una mezcla de bagazo de caña con piedra pómez. Los biofiltros presentaron eficiencias de remoción mayores al 99% desde su arranque.

En el diseño de unidades para el tratamiento biológico de aguas residuales, es usual que la biota esté soportada en algún tipo de material orgánico o sintético, de forma que permita su operación en continuo, sin llegar a ocasionar un lavado del reactor (Castaño y Paredes, 2002). Para el soporte de los microorganismos en los biorreactores se han utilizado diferentes materiales, entre los que se destacan los de origen orgánico. La guadua como medio de soporte para microorganismos, en filtros anaerobios para el tratamiento de aguas residuales domésticas, ha presentado eficiencias hasta de un 70% en remoción de carga de DBO (Castaño y Paredes, 2002).

Actualmente, la comunidad de la Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) Seccional Bucaramanga, se ve afectada por la producción de olores ofensivos, producto de la degradación anaerobia de la materia orgánica contenida en agua residual dentro de los Reactores Anaerobios de Flujo a Pistón (RAP). La planta para el tratamiento de las aguas residuales de la UPB, incluye: a) un sistema de pre-tratamiento con una criba que retiene los sólidos gruesos, b) una trampa de grasas y un desarenador para sedimentar partículas de arena y partículas con gravedad específica similar a la de la arena, c) sistema de tratamiento secundario con dos RAP, cuyas eficiencias de remoción de Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) operan entre 65% y 75%, d) un sistema biológico terciario, utilizando *Spirodela sp.*, que tiene por objeto remover Nitrógeno y Fósforo,  $DBO_5$  y Demanda Química de Oxígeno. El actual sistema de tratamiento de agua residual dentro de la PTAR de la UPB Bucaramanga reporta porcentajes de remoción de:  $DBO_5$  95,6%, Sólidos Suspendidos Totales (SST) 96,3% y grasas y aceites 96%. Las concentraciones de sulfuros totales a lo largo del día en el efluente del RAP, presentan una variación que va desde 0,10 ppm hasta 2,99 ppm, constituyendo

un peligro para los operadores de la PTAR de la UPB y una molestia para la comunidad estudiantil. Por las anteriores razones se plantea reducir la concentración de H<sub>2</sub>S generado en la PTAR de la UPB Seccional Bucaramanga, mediante un biofiltro que opere con una cepa de microorganismos del género *Thiobacillus sp.*, soportado sobre guadua. El diseño de este tipo de biofiltro implica determinar las condiciones de crecimiento bacteriano, definir el tiempo de retención hidráulico, y precisar las necesidades de remoción del sistema con base en la concentración promedio de H<sub>2</sub>S registrada en el efluente del RAP. De igual manera conviene evaluar la remoción de H<sub>2</sub>S a escala de laboratorio, para poder definir parámetros hidráulicos de diseño, con el objeto de llevar a cabo el dimensionamiento de las unidades de tratamiento. Finalmente es necesario precisar el porcentaje volumétrico de microorganismos en el medio filtrante. En este estudio se diseñó un sistema piloto, a flujo continuo para la biooxidación de H<sub>2</sub>S producido en el RAP de la UPB, mediante una cepa de microorganismos del género *Thiobacillus sp.*, obtenida a partir del efluente de la mina Reina de Oro (Vetas, Santander). El inóculo se adaptó favoreciéndose la formación de biopelícula sobre guadua como soporte. La eliminación del H<sub>2</sub>S en el efluente del RAP, se evaluó a partir de la remoción de sulfuros totales. Los resultados se reportan como concentración de sulfuros totales, incluyendo las formas disueltas como H<sub>2</sub>S y HS<sup>-</sup> al igual que los sulfuros metálicos presentes en la materia suspendida.

## 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### Etapa I. Aislamiento de una cepa de microorganismos del género *Thiobacillus sp.*

Para el aislamiento de los microorganismos se tomaron muestras de agua residual y lodos de distinta procedencia, composición biológica y físico-química, para garantizar una gama de microhabitats y aumentar la probabilidad de obtener un cultivo puro. Las muestras de agua residual fueron colectadas en recipientes plásticos. El lodo se recogió con jeringas, las cuales fueron selladas para preservar la muestra en condiciones anóxicas (Mindesarrollo, 2000). Los tipos de muestras y su procedencia se describen a continuación:

-M1: Efluente del Reactor Anaerobio de Flujo a Pistón de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga.

-M2: Lodo del RAP de la UPB.

-M3: Lodo de un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente y Manto de Lodos (UASB) de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Río Frío de Bucaramanga.

-M4: Efluente de la Mina Reina de Oro en el Municipio de Vetas, Santander.

Con cada una de las muestras M1, M2, M3 y M4 se hicieron siembras en medios de cultivo selectivo para el crecimiento de microorganismos del género *Thiobacillus sp.* Los medios de cultivo se prepararon con reactivos grado analítico marca MERCK, y su composición se presenta en la **Tabla 1**, donde se observa que la principal fuente de energía es el tiosulfato de sodio pentahidratado.

La identificación de las cepas de microorganismos del género *Thiobacillus sp.* se realizó de acuerdo a la metodología descrita en el manual de Bergey de Bacteriología Sistemática (Garrity *et al.*, 2000). Se utilizó el kit BBL CRISTAL para la identificación de anaerobios y enterobacterias, y las reacciones típicas en baterías de series bioquímicas comparativas para poder diferenciar los microorganismos, prueba de nitritos y nitratos, prueba de azúcares, prueba de citratos y prueba de motilidad.

*Tabla 1. Composición del medio de cultivo selectivo para microorganismos del género Thiobacillus sp.*

<b>Solución A</b>	<b>Cantidad</b>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.0 g
KNO <sub>3</sub>	2.0 g
NH <sub>4</sub> Cl	1.0 g
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	0.8 g
Elementos traza solución SL-4	2.0 mL
Agua Destilada	940.0 mL
Ajustar el pH a 7.0 con NaOH	
<b>Solución B</b>	
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	5.0 g
Agua Destilada	40.0 mL
<b>Solución C</b>	
NaHCO <sub>3</sub>	1.0 g
Agua Destilada	20.0 mL
<b>Solución D</b>	
FeSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	2.0 mg
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.1 N)	1.0 mL

- *Prueba de Nitritos y Nitratos*: en ausencia de oxígeno disuelto, el nitrato actúa como aceptor final de electrones en la oxidación de compuestos azufrados. Para el caso del presente estudio, la oxidación de los sulfuros totales se lleva a cabo en aguas residuales domésticas, donde el contenido de oxígeno disuelto es cercano a cero. Por lo anterior, el ión nitrato actúa como aceptor final de electrones en la reacción química. La prueba es positiva cuando al inocular el microorganismo en un caldo de nitrato, este cambia de color debido a la producción de nitritos (Carreño y Cuadro, 2005).

- *Prueba de azúcares*: con el objeto de identificar la fuente de obtención de carbono para el metabolismo bacteriano, e identificar si la cepa aislada emplea carbón [H<sub>2</sub>]orgánico, se llevaron a cabo pruebas con diferentes azúcares (Carreño y Cuadro, 2005).

- *Prueba de citrato*: de igual manera que los azúcares, el citrato puede ser utilizado como única fuente de carbono (Carreño y Cuadro, 2005).

- *Prueba de Motilidad*: como característica morfológica, las bacterias del género *Thiobacillus sp.*, poseen flagelación polar, razón por la cual el resultado de esta prueba es clave para la identificación de la cepa en estudio (Carreño y Cuadro, 2005).

### **Etapas II. Crecimiento del consorcio microbiano de *Thiobacillus sp.*, en solución sintética de sulfuro.**

Con el objeto de comprobar el empleo del ión sulfuro como fuente de energía por parte del consorcio microbiano, se determinó su curva de crecimiento.

En el experimento se utilizó como sustrato solución de sulfuro a concentración de 100 ppm, con el propósito de garantizar suficiente contenido másico de sulfuro por unidad de volumen. Se empleó una solución patrón de sulfuro de sodio no hidratada, la cual se acidificó hasta un pH de 7, con ácido sulfúrico y posteriormente se verificó su concentración en un titulador automático METTLER TOLEDO DL 50 Graphix, con un electrodo de medición de potencial (DM 141-SC). El experimento se realizó en un matraz de 1000 mL, con desprendimiento lateral para facilitar la toma de muestras, manteniendo agitación constante y cubierto con papel de aluminio para evitar la oxidación de los compuestos azufrados por radiación de luz natural o artificial. Los experimentos se realizaron en operación batch a temperatura ambiente, y durante 24 horas. Se adicionó el inóculo de los microorganismos al sustrato, en una relación de

volumen 30/70. El muestreo se realizó acorde con las fases de crecimiento del microorganismo. El crecimiento bacteriano se evaluó mediante conteo directo de las colonias, realizando siembras profundas en agar selectivo para microorganismos del género *Thiobacillus*.

### **Etapas III. Remoción de sulfuros totales en el efluente del RAP de la UPB a partir de un consorcio de microorganismos del género *Thiobacillus sp.***

Una vez comprobada en la etapa anterior que el consorcio de microorganismos aislados tenía la capacidad de emplear H<sub>2</sub>S para su crecimiento, se procedió a validar el desempeño de los microorganismos en el efluente del RAP de la UPB.

Los experimentos se realizaron a condiciones de operación y características del biorreactor similares a las empleadas en la etapa anterior. Se tomó una muestra de 700 mL de efluente del RAP y se adicionaron 300 mL del inóculo del consorcio microbiano de *Thiobacillus sp.* que presentó el mejor desempeño a nivel de remoción de H<sub>2</sub>S. Paralelamente se desarrolló un experimento como blanco de control utilizando sólo efluente del RAP. El nivel de desempeño del bioproceso se validó utilizando como variable respuesta el porcentaje de remoción de sulfuros, el cual se calculó así:

$$E = \frac{C_o - C_f}{C_o} * 100 \quad (1)$$

donde:

E = eficiencia porcentual de remoción de sulfuros.

C<sub>o</sub> = concentración de sulfuros totales en el afluente (ppm).

C<sub>f</sub> = concentración de sulfuros totales en el efluente (ppm).

El tiempo de residencia, correspondió a 3 horas, de acuerdo a los resultados obtenidos en la curva de crecimiento (crecimiento exponencial). La determinación de los sulfuros totales se realizó en un titulador automático METTLER TOLEDO DL 50 Graphix, con un electrodo de medición de potencial DM 141-SC para la determinación de sulfuros en medio acuoso. Para eliminar interferencias y preservar los sulfuros se siguió el procedimiento 4-162 de los Métodos Normalizados (Clescerl *et al.*, 1998).

**Etapa IV. Formación de biopelícula del consorcio microbiano de *Thiobacillus sp.* sobre guadua como medio de soporte**

Se realizaron experimentos en un matraz de 1000 mL, adicionando 230 mL de inóculo bioaumentado, 540 mL de agua del RAP y 162 gramos de guadua cortada en secciones rectangulares de 3 x 1.5 x 1 cm; garantizando un área de contacto de 218 cm<sup>2</sup>/sección y una porosidad aproximada de 0,7. El sistema operó en batch durante 20 días. Para evaluar la formación de la biopelícula, se hicieron recuentos bacterianos a secciones de guadua que se extrajeron del biorreactor cada 3 días. La variable respuesta en este experimento, correspondió al incremento porcentual de biopelícula, la cual se calculó a partir de la siguiente relación:

$$\% \text{ IB} = \frac{(\text{UFC/mL} \cdot \text{cm})_f - (\text{UFC/mL} \cdot \text{cm})_o}{(\text{UFC/mL} \cdot \text{cm}^2)_o} \quad (2)$$

donde:

% IB: incremento porcentual de la formación de biopelícula.

(UFC/mL\*cm<sup>2</sup>)<sub>f</sub>: Unidades formadoras de colonias por mililitro y por centímetro cuadrado al final del periodo.

(UFC/mL\*cm<sup>2</sup>)<sub>o</sub>: Unidades formadoras de colonias por mililitro y por centímetro cuadrado al comienzo del periodo.

Las muestras de guadua extraídas fueron seleccionadas de la sección ubicada a un tercio de la altura total del matraz, debido a la condición de aerobio facultativo de la cepa aislada. La biopelícula obtenida, se diluyó en agua destilada esterilizada, en una proporción 1/100.000 y se sembró 1 mL de esta dilución en medio selectivo. El conteo de las Unidades Formadoras de colonias (UFC/mL\*cm<sup>2</sup>), se realizó mediante el método de siembra profunda e incubación a temperatura de 37 °C durante 24 horas.

Una vez que se identificó que la biopelícula formada sobre la guadua correspondió a un crecimiento de consorcio bacteriano del género de *Thiobacillus sp.*, se alimentó el reactor con efluente del RAP de la UPB. Los experimentos se llevaron a cabo durante 9 horas, alternando tiempos de residencia entre 1 y 2 horas, permitiendo establecer la variación de concentración de salida con respecto al tiempo de residencia.

**Etapa V. Diseño de biofiltro en operación continua utilizando microbiota del género *Thiobacillus sp.* soportada sobre guadua.**

Una vez determinado el tiempo de residencia óptimo y el caudal de operación del sistema, se calculó el volumen útil de las unidades de tratamiento a partir de la carga hidráulica superficial y la relación largo – ancho – alto evaluada experimentalmente. Finalmente se procedió a establecer el porcentaje volumétrico del inóculo de solución de microorganismos del género *Thiobacillus sp.* necesario para el medio de soporte.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Etapa I. Aislamiento de una cepa de microorganismos del género *Thiobacillus sp.***

Los análisis macroscópicos y microscópicos de los cultivos realizados con muestras de lodo del reactor UASB de Río Frío, así como los llevados a cabo con lodo y agua residual del RAP de la UPB, no mostraron la morfología típica de *Thiobacillus sp.*, de la misma manera que no cumplieron con pruebas claves para la identificación de bacterias del género *Thiobacillus*, tales como la prueba de citrato que permite identificar las fuentes de obtención de carbono dentro del metabolismo bacteriano.

El análisis macroscópico y microscópico de las colonias aisladas del efluente de la mina Reina de Oro mostró colonias con apariencia poco opalescentes y se observó la presencia de bacilos cortos Gram Negativos, dando la pauta para realizar las pruebas bioquímicas básicas de identificación. El mejor crecimiento ocurrió a temperatura ambiente, a un pH de 7 en el medio selectivo para *Thiobacillus sp.* y en condiciones de microaerofilia.

Los resultados de las pruebas bioquímicas mostrados en la **Tabla 2**, cumplen con lo establecido según el Manual de Bergey (Garrity *et al.*, 2000) de Bacteriología Sistemática para la identificación de bacterias del género *Thiobacillus sp.*

**Tabla 2.** Resultados de la pruebas bioquímicas para la identificación de *Thiobacillus sp.*

Pruebas	Resultado
<b>Azúcares</b>	
Lactosa	(-)
Maltosa	(-)
Ribosa	(-)
Glucosa	(-)
Sorbitol	(-)
Sacarosa	(-)
Manitol	(-)
Fructosa	(-)
Xilosa	(-)
Arabinosa	(-)
Manosa	(-)
Melibiosa	(-)
Ramosa	(-)
Galactosa	(-)
<b>Nitratos</b>	(+)
<b>Motilidad</b>	(+)
<b>Citrato</b>	(-)
<b>Aminoácidos</b>	
L-Histidina	(-)
L-Serina	(-)
L-Isoleucina	(-)
L-Alanina	(-)
L-Metionina	(-)

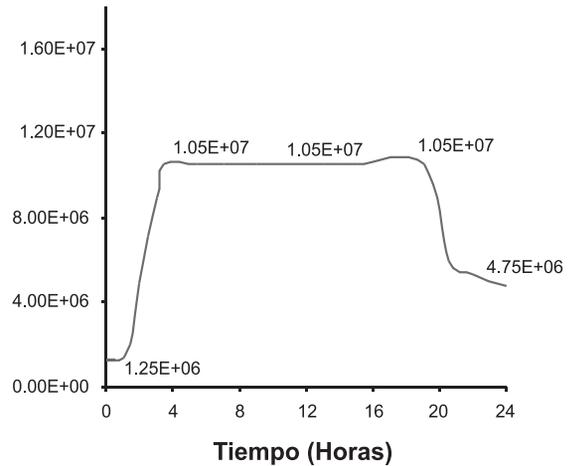
Los anteriores resultados permiten afirmar que se obtuvo una cepa de *Thiobacillus sp.*, la cual se bioaumentó para llevar a cabo las fases siguientes del desarrollo experimental.

### Etapa II. Crecimiento del consorcio microbiano de *Thiobacillus sp.*, en solución sintética de sulfuro.

En la **Figura 1**, se esquematiza el crecimiento del consorcio microbiano aislado de la muestra M4 en medio sintético a una concentración de 100 ppm de sulfuro.

Como se observa en la **Figura 1**, los periodos de adaptación, crecimiento exponencial y fase estacionaria fueron: 1.5, 4 y 15 horas respectivamente. A partir de las 21 horas de haber iniciado el experimento, se observa la fase de muerte exponencial.

UFC/mL



**Figura 1.** Crecimiento del consorcio bacteriano de *Thiobacillus sp.* en solución de sulfuro

### Etapa III. Remoción de sulfuros totales en el efluente del RAP de la UPB a partir de un consorcio de microorganismos del género *Thiobacillus sp.*

Los resultados obtenidos en la prueba de remoción de sulfuros totales del efluente del RAP de la UPB, se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Remoción de sulfuros totales en el efluente del RAP en un biorreactor que opera en flujo discontinuo

Experimento	Concentración inicial de sulfuros totales (ppm)	Concentración final de sulfuros totales (ppm)	Remoción %
<b>Con inóculo de <i>T. denitrificans</i></b>	5.06	0.54	89.37
	3.14	1.00	68.15
	3.63	1.10	69.67
<b>Control Sin inóculo de <i>T. denitrificans</i></b>	2.37	0.95	59.67
	5.06	7.25	
	3.14	5.94	
	3.63	7.03	
	2.37	6.65	

La tendencia de los datos obtenidos para el experimento de control, muestra un aumento en la concentración de sulfuros totales, hasta de un 181%, indicando que el biorreactor está trabajando como una unidad complementaria del RAP.

Los datos obtenidos para el experimento con inóculo de *Thiobacillus sp.*, muestran porcentajes de remoción de sulfuros totales del agua del RAP, por encima del 60%, con un valor promedio de 71,72%, para un tiempo de residencia de tres horas, demostrando la capacidad de remoción de sulfuros totales de *Thiobacillus sp.*

**Etapa IV. Formación de biopelícula del consorcio microbiano de *Thiobacillus sp.* sobre guadua como medio de soporte**

Para evaluar el incremento en la formación de biopelícula con respecto al tiempo, se analizaron cuatro fragmentos de guadua. Los resultados obtenidos del crecimiento de *Thiobacillus sp.* sobre guadua como medio de soporte, entre el 30 de Agosto y el 09 de Septiembre de 2005, muestran un incremento de UFC/mL\*cm<sup>2</sup> a través del tiempo, como se observa en la **Tabla 4**.

*Tabla 4. Incremento porcentual en la formación de Biopelícula*

Fecha	UFC/ mL*cm <sup>2</sup>	Fecha	UFC/ mL*cm <sup>2</sup>	% IB
30/08/05	10,000	03/09/05	13,889	38.89
03/09/05	13,889	06/09/05	61,111	339.99

Los porcentajes promedio de remoción de sulfuros totales en el efluente del RAP, obtenidos con la biopelícula de *Thiobacillus sp.* sobre la guadua, con un tiempo de residencia de una y dos horas, se muestran en la **Tabla 5**.

*Tabla 5. Remoción de Sulfuros totales del efluente del RAP mediante biopelícula de *Thiobacillus sp.* soportada en guadua.*

Tiempo (h)	Co (ppm)	Cf (ppm)	% Remoción
1	3.73	0.28	92.38
	1.67	1.49	10.72
	1.22	0.02	98.36
2	2.71	0.34	87.29
	2.71	0.02	99.26
	1.07	0.08	92.53

**Co:** Concentración inicial de sulfuros totales (ppm)

**Cf:** Concentración final de sulfuros totales (ppm)

La mayor eficiencia de remoción fue obtenida con un tiempo de residencia de 2 horas (99,26%) para una concentración inicial de sulfuros totales de 2.71 ppm. La menor eficiencia de remoción fue de 10.72 % y corresponde a la medición realizada a las 12 m, horario en que se lleva a cabo el lavado de las instalaciones en la Universidad. La disminución en la eficiencia de remoción de sulfuros, es probablemente debido a la saturación del efluente con tensoactivos procedentes de los detergentes.

**Etapa V. Diseño de biofiltro en operación continua utilizando microbiota del género *Thiobacillus sp.* soportada sobre guadua.**

Tomando como tiempo de retención hidráulico 2 horas y un caudal de 2,25 m<sup>3</sup>/d para cada unidad, se determinó el volumen necesario del medio de soporte, empleando la siguiente formula:

$$V = Q.t \quad (3)$$

Donde:

V: Volumen útil de medio de soporte (m<sup>3</sup>).

Q: Caudal (m<sup>3</sup>/s)

t: Tiempo (s).

$$V = 0,18 \text{ m}^3$$

A partir de la relación hallada entre el volumen de intersticios con el volumen total del matraz, que corresponde al 70%, se calcula el volumen total de guadua necesaria dentro del biofiltro, el cual corresponde a 0,26 m<sup>3</sup>.

A nivel experimental, se determinó el valor de carga hidráulica superficial, que para el experimento correspondió a 5,6 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>. d. Teniendo como referencia el valor de carga hidráulica calculada a nivel de laboratorio, y partiendo del caudal de diseño de los biofiltros a escala piloto, se determinaron las dimensiones constructivas de los mismos, las cuales se resumen a continuación en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Características de diseño de los biofiltros a escala piloto

Característica	Valor
Volumen del biofiltro	0.26 m <sup>3</sup>
Dimensiones:	
Largo	0.5 m
Ancho	0.8 m
Altura	0.66 m
Caudal	2,25 m <sup>3</sup> /d
Tiempo de Retención Hidráulico	2 horas
Carga Hidráulica Superficial	5,6 m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> *día

Previo a la puesta en marcha del biofiltro a flujo continuo, se debe llevar a cabo la inoculación del medio de soporte con *Thiobacillus sp.*, para lo cual se tendrá en cuenta la relación volumétrica entre el volumen de solución de *Thiobacillus sp.*, y el volumen útil del medio de soporte de 30/70 respectivamente. El tiempo de inoculación del medio de soporte, será como mínimo de 20 días. El volumen de solución de *Thiobacillus sp.*, requerido para llevar a cabo la inoculación de los biofiltros corresponde a 80 litros.

#### 4. CONCLUSIONES

Se consiguió aislar una cepa de *Thiobacillus sp.* procedente del efluente de un campo de extracción minera ubicado en Vetas, Santander y adaptarlo al agua residual del RAP de la UPB.

El incremento en la población bacteriana de *Thiobacillus sp.* en presencia de solución de sulfuro a 100 ppm, es un claro indicio del empleo de H<sub>2</sub>S para el metabolismo, demostrando la viabilidad de la bacteria en estudio para la remoción de sulfuros en medio acuoso.

La cepa de *Thiobacillus sp.* mostró desarrollo de biopelícula estable sobre guadua, mejorando el proceso de remoción de sulfuros totales del agua residual del RAP de la UPB, debido al aumento del área superficial de contacto.

Es posible metabolizar un 99% de sulfuros totales del agua residual del RAP de la UPB, utilizando la cepa de *Thiobacillus sp.* soportada en guadua, con tiempo de residencia de dos horas en condiciones de laboratorio.

Se diseñaron dos biofiltros para la remoción de H<sub>2</sub>S con un tiempo de retención hidráulico de dos horas, de acuerdo con el tiempo en el cual se presentan los mayores porcentajes de remoción a nivel experimental utilizando *Thiobacillus sp.* sobre guadua como medio de soporte.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al grupo de Investigación GINSA y a la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pontificia Bolivariana- Seccional Bucaramanga, y al grupo de Investigaciones GIMBA y a Mariela Carreño, M.Sc. de la Universidad Industrial de Santander por su apoyo para el desarrollo de la investigación.

#### 6. REFERENCIAS

- [1] J. Baldasano, S. Gassó, S. Velamazán, J. Amat, D. Orfila y J. Lapouza, "Control de olores debido a la formación de H<sub>2</sub>S en las EDARS," Tecnología del agua, vol. 21, No. 217, Octubre 2001, pp. 22-28.
- [2] M. Carreño y A. Cuadro, Manual de laboratorio de Microbiología, Primera Edición. Santander: Editorial y publicaciones Universidad Industrial de Santander, 2005, p. 49-56.
- [3] J. Castaño y D. Paredes, "Limitaciones y posibilidades del tratamiento de aguas residuales mediante la utilización de guadua," V congreso internacional del medio ambiente y desarrollo sostenible, 2002.
- [4] Y. Chung, C. Huang, J. Pan and C. Tseng, "Comparison of autotrophic and mixotrophic biofilters for H<sub>2</sub>S removal," Journal of Environmental Engineering, vol. 4, No. 124, 1998, pp. 362-367.
- [5] L. Clescerl, A. Greenberg and A. Eaton, Standard Methods: For the examination of water and waste water. USA: American Water Works Association, 1998, p. 4-162 - 4-168.
- [6] G. Garrity, D. Brenner, N. Krieq, J. Staley, D. Boone, P. De Vos, M. Goodfellow and K. Schleifer, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. USA: Michigan State University, 2000, p. 1852-1858.
- [7] J. Humbert, M. Marín, A. Torra, E. Dalmau y J. Duffourg, "Nitrate cálcico para la eliminación de olores

en la depuradora de Lloret de Mar,” Tecnología del agua, vol. 22, No. 225, Junio 2002, pp. 44-49.

[8] M. Madigan, J. Parker y J. Martinko, Brock: Biología De Los Microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 168, 491-494, 500, 526, 540, 638, 661-664.

[9] Ministerio de Desarrollo Económico, Reglamento técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico RAS-2000. Santa Fé de Bogotá: MinDesarrollo, 2000, p. E.2.3.

[10] S. Mannan, Environmental Chemistry. USA: Lewis Publishers, 2000, p. 197.

[11] A. Mora, C. Chavez, G. Fonseca, J. Cabra y Y. Carmona, “Desarrollo de un inóculo microbiano empleando lodos activados para la remoción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) mediante biofiltración,” Revista Colombiana de Biotecnología, vol. VII, No. 2, 2005, pp. 26-34.

[12] R. Navia y G. Vidal, “Tratamiento del biogas generado por la digestión anaerobia de efluentes: sustratos orgánicos con elevado contenido en sulfato,” Tecnología del agua, vol. 22, No. 220, Enero 2002, pp. 64-70.

[13] J. Romero, Tratamiento de Aguas Residuales: Teoría y principios de diseño. Santa Fé de Bogotá: Escuela Colombiana de Ingeniería, 2004, p. 28,29.

[14] G. Rheinheimer, Microbiología de las Aguas. España: Acribia, 1987, p 200-201, 229.

[15] C. Sawyer and P. Mc Carty, Chemistry for Environmental Engineering. USA: Mc Graw –Hill, 1987, p. 476-481.