



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación de la comunidad microbiana en un sistema de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ basado en lechos orgánicos

Diana Gisset Vela Aparicio

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Instituto de Biotecnología
Bogotá, Colombia

2022

Evaluación de la comunidad microbiana en un sistema de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ basado en lechos orgánicos

Diana Gisset Vela Aparicio

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctora en Biotecnología

Director:

Ph.D. Pedro F. de Brito Brandão

Codirector:

Ph.D. Iván O. Cabeza

Línea de Investigación:

Biotecnología Ambiental

Grupo de Investigación:

Grupo de Estudios para la Remediación y Mitigación de Impactos Negativos al Ambiente -

GERMINA

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Instituto de Biotecnología

Bogotá, Colombia

2022

塵も積もれば山となる

Chiri mo tsumoreba yama to naru

Incluso el polvo, si se acumula, se convierte

en una montaña

(Proverbio japonés)

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Diana Gisset Vela Aparicio

Fecha 07/10/2022

Agradecimientos

A Colciencias, actual Minciencias, por financiar mis estudios doctorales durante los periodos académicos 2016-I a 2019-II y el proyecto de investigación mediante el apoyo de la Convocatoria de Doctorados Nacionales 727 de 2015.

A la División de Investigación de Bogotá-DIB de la Universidad Nacional de Colombia por financiar el proyecto en la convocatoria nacional para el apoyo a proyectos de investigación y creación artística de la Universidad Nacional de Colombia 2016-2018 (Código 34885).

Al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia por mi formación académica y profesional, así como su apoyo económico para la participación en los diferentes eventos de divulgación.

A la Universidad Santo Tomás, sede Bogotá por financiar el proyecto a través de las convocatorias FODEIN 2018 y 2019 y permitir el uso del Laboratorio de energías para desarrollo de este trabajo.

A la PTAR El Salitre, Fase I, en especial a los ingenieros Catalina López, Fabian Gómez, María del Pilar Zamudio, Lucio Díaz y Abel López por el acceso a las instalaciones y colaboración para la toma de muestras y acceso a la información.

A mis tutores, Pedro F. de Brito Brandão e Iván Cabeza, por su apoyo durante las diferentes etapas de este proceso, por animarme y creer en mí.

Al Ing. Daniel Forero por ser mi mano derecha en la Universidad Santo Tomás durante el montaje y operación del sistema de biofiltración.

A los estudiantes de Ingeniería Ambiental del semillero de investigación de la Universidad Santo Tomás por su apoyo durante el compostaje, montaje y operación del sistema de biofiltración.

VIII Evaluación de la comunidad microbiana en un sistema de biofiltración simultánea de H_2S y NH_3 basado en lechos orgánicos

A Mario Hernández de la Universidad EAN por el préstamo de los equipos detectores de gases y por sus aportes para la divulgación de los resultados obtenidos en este trabajo.

Al profesor Daniel Uribe y a Vanessa Otero del Laboratorio de Microbiología Agrícola del Instituto de Biotecnología por su apoyo y paciencia en la realización del análisis de DGGE.

A los integrantes del grupo de Investigación Bioquímica y Biología Molecular de las Micobacterias (BBMM) por permitirme el uso de sus equipos (Revelador de geles, Mini BeadBeater, SpeedVac).

Al Instituto Nacional de Metrología, en especial a Diego Ahumada y Leonardo Soto por su colaboración y tiempo para el uso de cromatógrafo iónico.

A los integrantes del grupo de investigación GERMINA por sus aportes en la construcción del proyecto y en la discusión de resultados; en especial a Carlos Bautista, por su compañía y paciencia al inicio del proyecto y por su apoyo en los ensayos fisicoquímicos y de biología molecular, a Cristhian Muñoz por su apoyo en las mediciones de gases en la PTAR y Sergio Dávila por su colaboración en los ensayos fisicoquímicos. A Diana Tamayo y Ana María Guzmán por escucharme e intentar resolver conmigo los problemas que surgían.

Al Ing. Mauricio Valencia del Centro Internacional de Física (CIF) por sus aportes en la construcción del proyecto y disposición para solucionar mis dudas en la aplicación a mayor escala de un biofiltro.

A la doctora Victoria Mesa de la Université Paris-Cité por su ayuda durante el análisis bioinformático y por apoyo en la gestión de la pasantía, a pesar de que no se pudo realizar.

A Hugo Novoa por su apoyo en la redacción de los artículos en inglés, por enseñarme como escribir mejor y su interés en entender mi trabajo para lograr una buena comunicación de resultados.

A mi familia y amigos por compañía y ayuda durante este largo proceso, y por sus palabras de apoyo y ánimo cuando más las necesitaba.

Resumen

La biofiltración es una biotecnología de alta eficiencia y bajo costo para la remoción de H_2S y NH_3 emitidos en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Sin embargo, la influencia de condiciones transitorias durante la operación, frecuentes a nivel industrial, sobre la comunidad microbiana presente en el biofiltro no ha sido muy estudiada. Este trabajo evaluó los cambios de la comunidad microbiana de dos biofiltros de compost de pollinaza y bagazo de caña bajo condiciones que simulan las variaciones y rangos de concentraciones de H_2S y NH_3 encontradas en la PTAR El Salitre. Estos biofiltros se sometieron a cambios en la carga de los gases, mediante la disminución del tiempo de residencia (EBRT) y picos de concentración, y posteriormente, se redujo la humedad del lecho. En las condiciones donde disminuyó la eficiencia de remoción (ER), se analizaron los productos de oxidación de los gases y se determinó la composición de la comunidad microbiana, mediante secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma. Finalmente, se inoculó el lecho de uno de los biofiltros con un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre para evaluar su capacidad de recuperación bajo condiciones que simulaban las variaciones estacionales y diarias de concentración en la PTAR. A un EBRT de 25 s, alta concentración de gases y 40% de humedad, el biofiltro alcanzó una capacidad de eliminación de $32,2 \pm 4,7 \text{ g H}_2\text{S}/\text{m}^3\text{h}$ y $1,3 \pm 0,1 \text{ g NH}_3/\text{m}^3\text{h}$ con una ER de 80% de H_2S y 91% de NH_3 . La acumulación de subproductos (sulfato y amonio) provocó una alta proporción de bacterias heterótrofas halófilas en el lecho. Tras la reducción de la humedad a 20%, se redujo la eficiencia de remoción y la diversidad microbiana. Finalmente, ambos biofiltros, inoculado o no, pudieron recuperar la remoción de gases a más de 90%, bajo cambios diarios en la concentración de los gases y a alta concentración de sulfato y amonio. Este estudio demostró que la comunidad microbiana del biofiltro pudo adaptarse a cambios drásticos en la carga de gases, disminución en la humedad y acumulación de sulfato y amonio en el lecho hasta alcanzar una composición estable. Se concluye que el biofiltro desarrollado puede usarse para la eliminación de H_2S y NH_3 en diversas actividades industriales y bajo condiciones de operación variables mencionadas.

Palabras clave: Biofiltración, compost, sulfuro de hidrógeno, amoniaco, condiciones transitorias, comunidad microbiana, PTAR El Salitre.

Abstract

Evaluation of the microbial community in a simultaneous H₂S and NH₃ biofiltration system based on organic beds

Biofiltration is a high efficiency and low-cost biotechnology for the removal of H₂S and NH₃ emitted in wastewater treatment plants (WWTP). However, the influence of transient conditions during operation, frequent at the industrial level, on the microbial community involved in gas removal has not been well studied. This work evaluated the changes in the microbial community of two compost biofilters made of chicken manure and sugarcane bagasse to remove H₂S and NH₃ under conditions that simulate the variations and ranges of concentrations found at the WWTP El Salitre. These biofilters were exposed to changes in gas loading by decreasing the residence time (EBRT) and concentration peaks, and subsequently, the bed moisture was reduced. The oxidation products of the gases were analyzed, and the composition of the microbial community was determined by 16S rRNA metagenome sequencing when the removal efficiency (RE) declined. Finally, the bed of one of the biofilters was inoculated with an enriched culture of nitrifying and sulfur-oxidizing bacteria to evaluate its recovery capacity under conditions that simulated seasonal and daily concentration variations at the WWTP. The biofilter achieved a removal capacity of 32.2 ± 4.7 g H₂S/m³h and 1.3 ± 0.1 g NH₃/m³h with an ER of 80% H₂S and 91% NH₃ at an EBRT of 25 s, high concentration of gases and 40% moisture. The accumulation of by-products (sulfate and ammonium) resulted in a high proportion of heterotrophic halophilic bacteria in the bed. After moisture reduction to 20%, removal efficiency and microbial diversity were reduced. Finally, both biofilters, inoculated or not, could recover gas removal under daily changes in gas concentrations and at high sulfate and ammonium concentrations. This study showed that the microbial community of the biofilter could adapt to drastic changes in gas loading, moisture reduction and accumulation of sulfate and ammonium in the bed until it reached a stable composition. The results suggest that the developed biofilter can be used for H₂S and NH₃ gas removal in several industrial facilities and under the mentioned operating conditions.

Keywords: Biofiltration, compost, hydrogen sulfide, ammonia, transient conditions, microbial community, WWTP El Salitre.

Contenido

	Pág.
Resumen	XI
Lista de figuras.....	XVI
Lista de tablas.....	XIX
Lista de abreviaturas.....	XXI
Artículos y presentación de resultados en eventos científicos.....	XXII
Introducción.....	1
1. Marco teórico.....	5
1.1 Olores ofensivos.....	5
1.2 Tratamiento de olores ofensivos	8
1.3 Biofiltración	9
1.3.1 Parámetros de operación.....	11
1.3.2 Eliminación biológica del sulfuro de hidrógeno.....	14
1.3.3 Eliminación biológica del amoníaco.....	15
1.3.4 Operación de los biofiltros en condiciones transitorias.....	17
1.3.5 Ecología microbiana en la biofiltración	18
1.4 Biofiltración de H ₂ S y NH ₃	21
1.5 Biofiltración en Colombia.....	26
1.5.1 Olores ofensivos en Colombia y normativa asociada	27
1.5.2 Sistemas de biofiltración en Colombia.....	27
1.6 Justificación.....	30
1.7 Objetivos	31
1.7.1 Objetivo general.....	31
1.7.2 Objetivos específicos.....	31
2. Evaluación de las emisiones de H₂S, NH₃ y compuestos orgánicos volátiles (COVs) en la PTAR El Salitre a través del régimen climático de Bogotá.....	33
2.1 Introducción	33
2.1.1 Olores ofensivos en PTAR El Salitre.....	34
2.2 Metodología.....	35
2.2.1 Zona de monitoreo.....	35
2.2.2 Equipos de medición	37

2.2.3	Tiempos de monitoreo.....	37
2.2.4	Identificación de COVs	38
2.3	Resultados y Discusión.....	39
2.3.1	Medición de gases (H ₂ S, NH ₃ y COVs).....	39
2.3.2	Identificación de COVs emitidos en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre .	44
2.3.3	Establecimiento de las concentraciones de trabajo para la biofiltración a escala laboratorio	46
2.4	Conclusiones	47
3.	Biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ mediante lechos de compost	49
3.1	Introducción	50
3.2	Metodología.....	52
3.2.1	Compostaje	52
3.2.2	Instalación del sistema de biofiltración	55
3.2.3	Selección de lechos de biofiltración.....	56
3.2.4	Evaluación de EBRT y carga de gases en la biofiltración.....	58
3.2.5	Análisis fisicoquímicos.....	59
3.2.6	Análisis microbiológicos.....	59
3.2.6.1	Cuantificación de los genes <i>soxB</i> , <i>amoA</i> y <i>nrxA</i> mediante qPCR	60
3.2.7	Evaluación de la humedad del lecho en la biofiltración	61
3.2.8	Análisis estadístico	62
3.3	Resultados y Discusión.....	62
3.3.1	Compostaje	62
3.3.2	Características de las mezclas de compost	63
3.3.3	Selección de lechos de biofiltración.....	64
3.3.4	Evaluación de EBRT y carga de gases en la biofiltración.....	68
3.3.5	Evaluación de la biofiltración al disminuir la humedad del lecho.....	77
3.4	Conclusiones	81
4.	Análisis de la comunidad microbiana durante la biofiltración de H₂S y NH₃.....	83
4.1	Introducción	83
4.2	Metodología.....	85
4.2.1	Secuenciación de amplicones de ARNr 16S	86
4.2.2	Análisis de comunidad microbiana	86
4.3	Resultados.....	88
4.3.1	Composición y diversidad de la comunidad microbiana en la evaluación de la carga de gases durante la biofiltración.....	88
4.3.2	Composición y diversidad de la comunidad microbiana en la evaluación de la humedad del lecho durante la biofiltración	98
4.4	Conclusiones	103
5.	Obtención de un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre	105
5.1	Introducción.....	105
5.2	Metodología.....	107
5.2.1	Selección de fuente de microorganismos.....	107
5.2.2	Evaluación de concentración de Na ₂ S.....	108
5.2.3	Obtención de cultivo enriquecido.....	109

5.2.4	Análisis moleculares.....	110
5.2.4.1	Cuantificación de los genes <i>amoA</i> y <i>nrxA</i> mediante qPCR.....	110
5.2.4.2	Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE).....	111
5.2.5	Análisis estadísticos.....	112
5.3	Resultados y Discusión.....	112
5.3.1	Selección fuente de microorganismos.....	112
5.3.2	Efecto de la concentración de sulfuro en la abundancia de las bacterias.....	113
5.3.3	Identificación bacterias en cultivo enriquecido.....	118
5.4	Conclusiones.....	121
6.	Eliminación simultánea de H₂S y NH₃ mediante un biofiltro de compost inoculado.....	123
6.1	Introducción.....	124
6.2	Metodología.....	125
6.2.1	Inoculación del lecho de biofiltración.....	125
6.2.2	Condiciones de operación.....	126
6.2.3	Análisis fisicoquímicos.....	127
6.2.4	Análisis de la comunidad microbiana.....	127
6.2.5	Análisis estadístico.....	127
6.3	Resultados y Discusión.....	128
6.3.1	Remoción de H ₂ S y NH ₃	128
6.3.2	Composición de la comunidad microbiana.....	135
6.3.3	Relación entre composición de la comunidad microbiana y parámetros fisicoquímicos	143
7.	Conclusiones y recomendaciones.....	149
7.1	Conclusiones.....	149
7.2	Recomendaciones.....	151

Lista de figuras

	Pag
Figura 1.1. Fuentes de olores ofensivos en una planta de tratamiento de aguas residuales.	6
Figura 1.2. Aplicación de diferentes tecnologías de control de polución del aire en función del flujo y de la concentración del contaminante).	8
Figura 1.3. Esquema general de un biofiltro y mecanismo de remoción de gases.	10
Figura 1.4. Ciclo biológico del azufre.....	14
Figura 1.5. Ciclo biológico del nitrógeno.	16
Figura 1.6. Posibles patrones de condiciones transitorias en la carga de entrada de gases:.....	17
Figura 2.1. Evaluación de la concentración de H ₂ S en la PTAR El Salitre en la zona de captación de agua.....	35
Figura 2.2. PTAR El Salitre y zonas de muestreo de gases.....	36
Figura 2.3. Detectores portátiles de gases usados durante el monitoreo de gases.....	37
Figura 2.4. Concentración de a) H ₂ S b) NH ₃ , y c) COVs durante el 22 de marzo de 2018.	39
Figura 2.5. Precipitación pluvial y promedio de emisión en la jornada diurna y nocturna de a) H ₂ S, b) NH ₃ y c) COVs durante el periodo de muestreo en la PTAR El Salitre..	41
Figura 2.6. Concentración de H ₂ S en días de alta y de baja precipitación	43
Figura 2.7. Tendencias de emisión de H ₂ S y NH ₃ encontradas en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre.	47
Figura 3.1. Esquema de sistema de compostaje.	53
Figura 3.2. Esquema del sistema de biofiltración.....	56
Figura 3.3. Concentración de entrada y eficiencia de remoción de (a) H ₂ S y (b) NH ₃ en biofiltros empacados con diferentes compost.....	65
Figura 3.4. Eliminación de H ₂ S y NH ₃ a lo largo de los biofiltros a diferentes concentraciones de entrada con lecho de compost de pollinaza y residuos de poda , lecho de compost de pollinaza y bagazo de caña de azúcar y lecho de compost de pollinaza y cascarilla de arroz	67
Figura 3.5. Carga y eficiencia de eliminación de (a) H ₂ S y (b) NH ₃ a diferentes tiempos de residencia y cambios en las concentraciones de los gases.	69
Figura 3.6. Eliminación de (a) H ₂ S y (b) NH ₃ a lo largo de los biofiltros a diferente EBRT (33s, 25s y 18s) y nivel de concentración (baja: 52 mg H ₂ S/m ³ y 2,1 mg NH ₃ /m ³ ; alta: 260 mg H ₂ S /m ³ y 9,9 mg NH ₃ /m ³).	71

Figura 3.7. Oxidación del H ₂ S y NH ₃ a lo largo del biofiltro a diferente EBRT (33s, 25s y 18s) y nivel de concentración (baja: 52 mg H ₂ S/m ³ y 2,1 mg NH ₃ /m ³ ; alta: 260 mg H ₂ S /m ³ y 9,9 mg NH ₃ /m ³).	73
Figura 3.8. Correlación entre los parámetros de eliminación de gases, concentración de productos de eliminación y bacterias involucradas en la oxidación de H ₂ S y NH ₃ .	76
Figura 3.9. Eficiencia de eliminación de H ₂ S y NH ₃ a diferente humedad del lecho de biofiltración	78
Figura 3.10. Oxidación del H ₂ S y NH ₃ a lo largo del biofiltro a diferente humedad del lecho:	79
Figura 3.11. Correlación entre la humedad del lecho, los parámetros de eliminación de gases, concentración de productos de eliminación y bacterias involucradas en la oxidación de H ₂ S y NH ₃ .	80
Figura 4.1. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de filo (a) y género (b) presentes en el compost antes de la biofiltración y a lo largo del biofiltro a diferente EBRT (33s, 25s y 18s) a alta concentración de gases.	89
Figura 4.2. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en la distancia Bray-Curtis y en la distancia filogenética (UniFrac ponderado) entre la abundancia de ASV en las muestras de lecho a diferente EBRT (Inicio, 33, 25 y 18 s) y alta concentración de gases.	95
Figura 4.3. Análisis de redundancia basada en distancia filogenética (dbRDA) de la comunidad microbiana y variables fisicoquímicas durante biofiltración a diferente EBRT (Inicio, 25s 33s 18s) y concentración alta de gases.	96
Figura 4.4. Correlación entre los parámetros de eliminación de gases, concentración de productos de eliminación, bacterias involucradas en la oxidación de H ₂ S y NH ₃ y los 20 géneros más abundantes identificados en el lecho (abundancia relativa).	97
Figura 4.5. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de filo (a) y género (b) presentes en el compost a lo largo del biofiltro al inicio (40%) y final (20%) de la evaluación de la biofiltración a diferente humedad.	99
Figura 4.6. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en la distancia Bray-Curtis y distancia filogenética (UniFrac ponderado) entre la comunidad microbiana a lo largo del biofiltro al inicio (40%) y final (20%) de la evaluación de la biofiltración a diferente humedad.	102
Figura 4.7. Análisis de redundancia basada en distancia filogenética (dbRDA) entre la comunidad microbiana en las muestras de lecho a diferente humedad (40 y 20%).	103
Figura 5.1. Monitoreo del enriquecimiento en SOB, AOB y NOB mediante conteo en placa y qPCR de los genes <i>soxB</i> (d), <i>amoA</i> (e) y <i>nrxA</i> (f).	1152
Figura 5.2. Dendograma del análisis de conglomerados UPGMA basado en disimilitud Jaccard entre los resultados de DGGE de lodo digerido (Lodo) en diferentes etapas del enriquecimiento	117
Figura 6.1. Concentración de entrada y eficiencia de remoción de H ₂ S y NH ₃ en biofiltros empacados con compost inoculado con el cultivo enriquecido en SOB y AOB (inoc) y sin inocular (no inoc) bajo en condiciones transitorias de concentración de gases.	129
Figura 6.2. Concentración de entrada y eficiencia de remoción H ₂ S y NH ₃ en la sección baja de los biofiltros empacados con compost inoculado con el cultivo enriquecido en SOB y AOB (inoc) y sin inocular (no inoc) bajo en condiciones transitorias de concentración de gases.	130

- Figura 6.3.** Oxidación del H₂S y NH₃ a lo largo de los biofiltros (sección alta, central y baja) inoculado y sin inocular bajo condiciones transitorias de la concentración de gases que simularon emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (lav) y una etapa posterior de estabilización (estab) 132
- Figura 6.4.** Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de filo presentes en el compost a lo largo (sección alta, central y baja) de los biofiltros inoculado (inoc) y sin inocular (no-inoc) bajo condiciones transitorias de la concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (lav) y una etapa posterior de estabilización (estab). 135
- Figura 6.5.** Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de género presentes en el lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (inoc) y sin inocular (No-inoc) bajo cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). 136
- Figura 6.6.** Abundancia de las bacterias oxidantes de azufre (SOB) y bacterias oxidantes de amonio (AOB) a lo largo (sección alta, central y baja) de los biofiltros inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) bajo condiciones transitorias de la concentración de gases que simularon emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). 139
- Figura 6.7.** Índices de diversidad alfa (PD: diversidad filogenética) de la comunidad microbiana presente en el lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) bajo cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). 140
- Figura 6.8.** Análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en a) distancia Bray-Curtis y en b) la distancia filogenética (Unifrac ponderado) entre la abundancia de ASV en las muestras de lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) tras el cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS), lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). 142
- Figura 6.9.** Análisis de redundancia basada en la distancia filogenética (dbRDA) entre la comunidad microbiana en las muestras de lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) tras el cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS), lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). 144
- Figura 6.10.** Correlación entre la concentración del gas, concentración de productos de eliminación, bacterias involucradas en la oxidación de H₂S y los 20 géneros más abundantes identificados en el lecho (abundancia relativa). 145

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1.1. Umbral de olor y rango de concentración reportados para los compuestos más comunes en emisiones gaseosas de PTAR .	7
Tabla 1.2. Estudios previos de biofiltración simultánea de H ₂ S y NH ₃ .	22
Tabla 1.3. Filos y géneros de mayor abundancia presentes en biofiltros para la remoción de olores ofensivos debidos a H ₂ S y NH ₃ .	26
Tabla 1.4. Proyectos de biofiltración realizados en Colombia.	29
Tabla 2.1. Concentración de H ₂ S, NH ₃ y COVs en la corriente de entrada a sistemas de biofiltración en PTAR.	44
Tabla 2.2. Abundancia relativa de COVs presentes en las emisiones en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre.	45
Tabla 3.1. Composición de los medios de cultivos usados para el recuento en placa de SOB, AOB y NOB.	54
Tabla 3.2. Concentraciones de H ₂ S y NH ₃ usadas durante la evaluación de los lechos de biofiltración.	57
Tabla 3.3. Variación del tiempo de residencia en lecho vacío (EBRT), flujo y carga de gases en la evaluación de la biofiltración de H ₂ S y NH ₃ en condiciones transitorias.	589
Tabla 3.4. Condiciones para la amplificación de los genes de <i>soxB</i> , <i>amoA</i> y <i>nrxA</i> por PCR.	60
Tabla 3.5. Caracterización fisicoquímica de los compost usados como lecho de biofiltración.	63
Tabla 3.6. Eficiencia y capacidad de eliminación de H ₂ S y NH ₃ a la mayor concentración de gases evaluada.	68
Tabla 3.7. Comparación del desempeño de biofiltros de compost para la eliminación de H ₂ S y/o NH ₃ .	70
Tabla 4.1. Condición de operación del biofiltro al tomar muestras del lecho para el análisis de la comunidad microbiana	85
Tabla 4.2. Índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon y diversidad filogenética - PD) para cada sección de los biofiltros en la evaluación de EBRT y carga de gases.	93
Tabla 4.3. Índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon y diversidad filogenética - PD) para cada sección de los biofiltros a 40 y 20% de humedad de los lechos. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).	101
Tabla 5.1. Medio de cultivo para el crecimiento de bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre	108
Tabla 5.2. Medio de cultivo modificado para el crecimiento de bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre	108
Tabla 5.3. Condiciones de amplificación de los genes <i>amoA</i> y <i>nrxA</i> para la qPCR.	111
Tabla 5.4. Abundancia de bacterias nitrificantes (AOB y NOB) y oxidantes de azufre (SOB) al inicio y final del enriquecimiento desde biosólido y lodos de la PTAR El Salitre.	113

Tabla 5.5. Resultados de enriquecimiento bacteriano al adicionar diferentes concentraciones de sulfuro al medio..	114
Tabla 5.6. Cuantificación de bacterias nitrificantes (AOB y NOB) y oxidantes de azufre (SOB) durante el mantenimiento del cultivo enriquecido.	118
Tabla 5.7. Abundancia relativa a nivel de género de las secuencias obtenidas del gen ARNr 16S en el lodo digerido usado para el enriquecimiento, en el cultivo microbiano tras 6 meses de enriquecimiento y el cultivo usado como inóculo en el biofiltro.	119
Tabla 5.8. Índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon y diversidad filogenética - PD) del cultivo enriquecido desde lodo digerido, tras 6 meses de cultivo y antes de su uso como inóculo.	120
Tabla 6.1. Concentraciones de H_2S y NH_3 usadas en la evaluación de lechos de biofiltración inoculado y sin inocular.	127
Tabla 6.2. Eficiencia de remoción al final del ensayo con el biofiltro inoculado y sin inocular.	134
Tabla 6.3. Análisis PERMANOVA de la estructura microbiana de las secciones de los biofiltros inoculado y sin inocular (tratamiento) al finalizar las etapas de condiciones transitorias en la concentración de gases.	141

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
ADN	Ácido desoxirribonucleico
amoA	Subunidad A de amonio monooxigenasa
AOB*	Bacterias oxidantes de amonio
ARNr 16S	Subunidad pequeña del ARN ribosomal
BSA*	Albúmina sérica bovina
CTAB*	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
db-RDA	Análisis de redundancia basado en distancia
DGGE*	Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante
dNTPs	Desoxirribonucleótidos (base A, C, T o G)
EBRT*	Tiempo de residencia en lecho vacío
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
NOB*	Bacterias oxidantes de nitrito
PCoA*	Análisis de coordenadas principales
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
PCR*	Reacción en cadena de la polimerasa
qPCR	PCR en tiempo real
SOB*	Bacterias oxidantes de azufre
soxB	Subunidad B del sistema oxidante de azufre
UFC	Unidades formadoras de colonia

* Abreviatura originalmente en inglés

Artículos y presentación de resultados en eventos científicos

Artículos:

Vela-Aparicio D, Forero DF, Hernández MA, Brandão PFB, Cabeza IO (2020) “Simultaneous biofiltration of H₂S and NH₃ using compost mixtures from lignocellulosic waste and chicken manure as packing material” en *Environmental Science and Pollution Research*. 28, 24721–24730. doi: 10.1007/s11356-020-10817-w

Vela-Aparicio D.G., Forero D.F., Fernández A., Hernández M.A., Brandão P.F.B., Cabeza I.O (2021) “Operational parameters analysis for the removal of H₂S and NH₃ under transient conditions by a biofiltration system of compost beds” en *Chemical Engineering Transactions*. Vol 85: 163-168. doi: 10.3303/CET2185028

Vela-Aparicio D.G., Bautista C.J., Forero D.F., Acevedo P., Brandão P.F.B., Cabeza I.O (2022) “Inoculation of compost biofilter for the simultaneous removal of H₂S and NH₃ under transient conditions of gas concentration” en *Chemical Engineering Transactions* Vol. 93: 157-162. doi: 10.3303/CET2293027

Vela D.G., Brandão P.F.B. (2018). “Biofiltración: una alternativa en Colombia para la eliminación de olores ofensivos”. *Revista Química E Industria (QEI)*, 30(1): 14-21. (<http://online.fliphtml5.com/znxn/nkbm/#p=14>)

Daniel F. Forero, Diana G. Vela, Pedro F. B. Brandão, Iván O. Cabeza “La biofiltración como alternativa para la eliminación de olores ofensivos generados en las plantas de tratamiento de agua residual”. *Revista Sol de Aquino*, N° 19-2021. <https://revistas.usantotomas.edu.co/index.php/soldeaquino/article/view/6705>

Vela-Aparicio D.G., Forero D.F., Brandão P.F.B., Cabeza I.O, “Microbiological and operational monitoring for the removal of H₂S and NH₃ by a biofiltration system using compost” En fase de preparación para someter a publicación.

Presentación de resultados en eventos:

Diana G. Vela A., Carlos J. Bautista, Pedro F. B. Brandão. 3° Congreso Colombiano de Bioquímica y Biología Molecular -C2B2 realizado en Bogotá, Colombia del 1 al 3 de noviembre de 2018. Presentación de póster titulado: **“Obtención de un consorcio microbiano para la eliminación simultánea de sulfuro de hidrogeno y amoniaco por biofiltración”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Cristhian C. Muñoz Lasso, Pedro F. B. Brandão, Iván Cabeza Rojas. III Congreso Internacional de Tecnologías Limpias realizado en Bogotá, Colombia del 8 al 9 de noviembre de 2018. Presentación Oral del trabajo titulado: **“Emisiones de H₂S, NH₃ y COVs en la PTAR El Salitre a través del régimen climático de Bogotá”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Daniel F. Forero, Paola Acevedo, Pedro F.B. Brandão, Mario A. Hernández, Iván O. Cabeza. HERAKLION 2019 7th International Conference on Sustainable Solid Waste Management. Realizado en Heraklion, Isla de Creta, Grecia del 26 al 28 junio de 2019. Presentación de póster titulado **“Evaluation of compost from chicken manure and lignocellulosic materials as packing material in a biofiltration system for the removal of H₂S and NH₃”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Cristhian C. Muñoz Lasso, Pedro F. B. Brandão, Iván O. Cabeza, Mario A. Hernández. Air Pollution Conference Brazil/4th CMAS South America realizado en Belo Horizonte, Brasil del 22 al 24 de julio de 2019. Presentación oral del trabajo titulado: **“Evaluation of H₂S, NH₃ and Volatile Organic Compounds Emissions in a Wastewater Treatment Plant in Bogota, Colombia”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Daniel F. Forero, Pedro F. B. Brandão, Iván O. Cabeza, Air Pollution Conference Brazil/4th CMAS South America realizado en Belo Horizonte, Brasil del 22 al 24 de julio de 2019. Presentación oral del trabajo titulado **“Biofiltration system for the removal of H₂S and NH₃ using organic packing material”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Daniel F. Forero, Ángela Fernández, Mario A. Hernández, Pedro F. B. Brandão, Iván O. Cabeza. NOSE2020 International Congress on Environmental Odour Monitoring & Control. Realizado de forma virtual del 18 al 21 de abril de 2021. Presentación oral del trabajo titulado **“Operational parameters analysis for the removal of H₂S and NH₃ under transient conditions by a biofiltration system of compost beds”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Daniel F. Forero, C.A. Fisco, María F. Paternina, Carolyn Roman, Pedro F. B. Brandão, Iván O. Cabeza. THESSALONIKI 2020 8th International Conference on Sustainable Solid Waste Management. Realizado de forma virtual del 23 al 26 de junio de 2021. Presentación de póster titulado **“Microbiological and operational monitoring for the removal of H₂S and NH₃ under transient conditions by a biofiltration system using compost as packing material”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Daniel F. Forero, Iván O. Cabeza, Pedro F. B. Brandão. Second ISME Latin American Congress. Realizado de forma virtual de 27 al 30 de julio de 2021. Presentación de poster titulado: **“Microbial diversity during the biofiltration of H_2S and NH_3 under transient conditions of concentration”**.

Diana G. Vela-Aparicio, Carlos J. Bautista, Daniel F. Forero, Paola Acevedo, Pedro F. B. Brandão, Iván O. Cabeza, IBIC 2022-7th International Conference On Industrial Biotechnology. Realizado en Nápoles, Italia del 5 al 8 de junio de 2022. Presentación de póster titulado **“Inoculation of compost biofilter for the simultaneous removal of H_2S and NH_3 under transient conditions of gas concentration”**.

Diana Vela-Aparicio, Daniel F. Forero, Iván O. Cabeza, Pedro F. B. Brandão. III Simposio Virtual de Estudiantes y Egresados de Posgrado en Biotecnología y áreas afines. Realizado virtualmente del 20 al 22 de septiembre de 2022. Presentación oral del trabajo titulado **“Evaluación de la comunidad microbiana en la biofiltración de H_2S y NH_3 ”**

Introducción

Los olores ofensivos son considerados una forma de contaminación del aire ya que causan molestia a la población y daño en la salud o en el ambiente (MAVDT, 2010). Son causados por la presencia de mezclas de compuestos volátiles con bajo umbral de detección, como el sulfuro de hidrógeno (H_2S), amoníaco (NH_3) y compuestos orgánicos volátiles (COVs). Estos compuestos son generados en diversos procesos industriales, como la fabricación de alimentos y pinturas, en la industria farmacéutica, en refinerías, en la crianza de animales de granja, compostaje y tratamiento de residuos sólidos y de aguas residuales (Revah and Morgan-Sagastume, 2005b). La exposición continua a estos olores afecta el bienestar y desempeño en actividades diarias (Hayes et al., 2014), de forma que son motivo de quejas de la población expuesta a ellos, especialmente por parte de las comunidades cercanas a zonas de manejo de residuos sólidos y líquidos como las plantas de tratamiento de aguas residuales. En Colombia, la Resolución 1541 de 2013 (MADS, 2013) establece límites de olor o calidad del aire para diferentes actividades y compuestos, entre ellos las plantas de tratamientos de aguas residuales (PTAR), donde el sulfuro de hidrógeno (H_2S) es el principal causante de olor ofensivo y su nivel máximo permitido es $30 \mu g/m^3$ durante 1h y $7 \mu g/m^3$ durante 24h. Sin embargo los olores ofensivos emitidos por una PTAR también se deben a la presencia de NH_3 y compuestos azufrados orgánicos (Barbusiński et al., 2021).

Teniendo en cuenta lo anterior, es necesario aplicar métodos de control de estas emisiones en las PTAR para mejorar la calidad del aire al interior y exterior de sus instalaciones. La biofiltración ofrece una alternativa económica de alta eficiencia y baja generación de residuos adicionales para la reducción de los olores ofensivos, en comparación con los métodos fisicoquímicos que tienen un consumo continuo de reactivos o energía para su operación (Estrada et al., 2011). En un biofiltro, los gases contaminantes atraviesan un lecho poroso húmedo en donde se encuentran los microorganismos que eliminan los compuestos presentes en la corriente gaseosa. El lecho del biofiltro es uno de los parámetros de mayor importancia a la hora de establecer un sistema de biofiltración ya que representa un alto porcentaje del costo de inversión inicial y sus propiedades

fisicoquímicas y microbiológicas influyen en la eficiencia de remoción de los gases. Debido a esto, el compost es uno de los materiales más usados como lecho, ya que cumple con la mayoría de los criterios deseables para su uso en biofiltración y es un material de fácil adquisición (Barbusinski et al., 2017). Además, representa una oportunidad de valorización de los residuos agroindustriales.

La eficiencia de un biofiltro también depende de las propiedades del gas contaminado, ya que se ha observado que cuando se presentan mezclas de gases y condiciones transitorias en la concentración de los compuestos (picos de concentración o periodos sin emisión de gases), condición común en emisiones industriales, la actividad biológica puede verse afectada y por consiguiente la eliminación de los gases (Rene et al., 2013). Además, la aplicación de condiciones transitorias de forma continua puede causar que los biofiltros de compost pierdan su capacidad de remoción rápidamente, reduciendo su vida útil considerablemente (Shareefdeen, 2020).

Específicamente en la biofiltración simultánea de H_2S y NH_3 , se ha reportado que la remoción de NH_3 es menor al 90% (Iranpour et al., 2005; Rabbani et al., 2016) y que el biofiltro requiere más tiempo para alcanzar una alta eficiencia de remoción de NH_3 comparado con la de H_2S (Xie et al., 2009). Sin embargo, otros estudios han reportado que la oxidación del H_2S es más sensible que la del NH_3 a condiciones transitorias en la concentración de los gases (Alinezhad et al., 2019; Hou et al., 2016; X. Jiang Tay, 2010; Ying et al., 2020). Además, otras condiciones como alta concentración de H_2S , la disminución del pH, la acumulación de amonio, nitrito y azufre elemental en el lecho, debida a la oxidación de los gases, pueden afectar la sorción de los gases en el lecho y la actividad microbiana (Le Borgne and Baquerizo, 2019). Ya que estas condiciones transitorias afectan a la actividad y robustez de la comunidad microbiana presente en el biofiltro y por consiguiente su desempeño, es necesario caracterizar la comunidad microbiana responsable de la eliminación de los gases, así como establecer los factores que la afectan. Esto permitiría proponer estrategias de optimización de la biofiltración que garanticen una biofiltración eficiente y robusta a lo largo del tiempo de operación en condiciones industriales de mezclas de contaminantes y condiciones transitorias (Cabrol and Malhautier, 2011).

Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo buscó evaluar la relación entre la comunidad microbiana presente en un lecho orgánico con las condiciones de operación y los productos de eliminación en un sistema de biofiltración simultánea de H_2S y NH_3 bajo condiciones transitorias similares a las presentadas en una planta de tratamiento de aguas.

Para este fin, inicialmente se establecieron las condiciones transitorias a las que estaría sometido un biofiltro mediante el monitoreo de emisiones de H_2S , NH_3 y COVs en la PTAR El Salitre de Bogotá, Colombia, en temporada seca y de lluvias. Posteriormente, se evaluó la remoción de H_2S y NH_3 en el rango de concentraciones determinadas previamente mediante un biofiltro de lecho de compost de pollinaza y un residuo lignocelulósico (bagazo de caña, residuos de poda y cascarilla de arroz) a escala laboratorio. Una vez se seleccionó uno de los lechos de compost, se evaluó el desempeño del sistema bajo dos condiciones transitorias, cambio en la carga de entrada de H_2S y NH_3 y posteriormente, disminución en la humedad del lecho. Durante esta evaluación, se cuantificaron los productos de eliminación de H_2S y NH_3 y se hizo un seguimiento de la comunidad microbiana involucrada en el proceso, a través de la secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma, con el fin de determinar cuáles de las variables analizadas podrían afectar la estructura de la comunidad microbiana y la eliminación de los gases. Este ensayo también permitió establecer las condiciones de operación adecuadas para lograr un alto desempeño de los biofiltros de lechos de origen local bajo condiciones similares a la operación industrial. Finalmente, se determinó si la eficiencia de remoción y oxidación de H_2S y NH_3 bajo condiciones transitorias en la concentración de gases podía ser mejorada inoculando el lecho orgánico del biofiltro con un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre. Durante este ensayo, también se hizo un seguimiento de la comunidad microbiana del lecho y de los productos de eliminación de H_2S y NH_3 .

Los análisis realizados durante la biofiltración simultánea de H_2S y NH_3 en un sistema de biofiltración de lecho orgánico bajo diferentes condiciones de operación permitieron identificar variables ambientales, como concentración de los productos de eliminación, y de operación que deben monitorearse durante el proceso, así como identificar los microorganismos que pueden crecer en estas condiciones para proponer estrategias que permitan la eliminación de alta eficiencia de los gases en condiciones industriales.

1. Marco teórico

1.1 Olores ofensivos

El olor es una propiedad organoléptica perceptible por el órgano olfativo cuando se inspiran sustancias químicas volátiles (MADS, 2013). Esta sensación depende del receptor, la dispersión de la sustancia (condiciones meteorológicas y topografía) y las variaciones en la emisión. Un olor se considera ofensivo si causa molestia a la población, daño en la salud o en el ambiente (MAVDT, 2010).

Los olores ofensivos se deben generalmente a la presencia de una mezcla de compuestos volátiles con bajo umbral de detección, es decir son detectables por la nariz en bajas concentraciones en el aire, como el sulfuro de hidrógeno (H_2S), amoníaco (NH_3) y compuestos orgánicos volátiles (COVs), como mercaptanos, sulfuros orgánicos, aminas, ácidos orgánicos, aldehídos y cetonas. Estos compuestos son generados durante procesos industriales, como la fabricación de alimentos, pinturas, papel, industria farmacéutica, refinerías; y también de forma natural en actividades como la crianza de animales de granja, compostaje, tratamiento de aguas residuales, tratamientos de subproductos animales y de residuos sólidos (Revah and Morgan-Sagastume, 2005b).

El olor se puede caracterizar analíticamente, al identificar y cuantificar los compuestos relacionados con el mismo, y sensorialmente, a través de asesores humanos que evalúan la intensidad, carácter, aceptabilidad y umbral de detección, entre otras variables (Lebrero et al., 2011).

Un amplio rango de síntomas ha sido observado en personas expuestas a olores ofensivos e incluyen: fatiga, náuseas, problemas respiratorios, ardor en nariz y ojos, dolor de cabeza, entre otros. Si la población está expuesta a olores ofensivos de manera constante es posible que afecte su bienestar y desempeño en actividades diarias, incluso si el nivel de exposición no lleva a efectos patológicos o fisiológicos negativos (Hayes et al., 2014)

Los principales compuestos que contribuyen al olor son sulfuro de hidrógeno, sulfuro de dimetilo, mercaptanos y amoniaco; aunque también se han detectado alcoholes, ácidos grasos volátiles, aldehídos, cetonas y aminas (Tabla 1.1). Estos compuestos suelen estar en nivel de trazas ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), donde son inocuos a nivel toxicológico, pero pueden generar un riesgo ocupacional en espacios cerrados dentro de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), como en la zona de manejo de lodos, donde podrían alcanzarse concentraciones letales (Iranpour et al., 2005). De estos compuestos, el sulfuro de hidrógeno y el amoniaco son emitidos en mayor concentración en las PTAR, y el sulfuro de hidrógeno se considera de alto impacto al provocar corrosión en equipos y tuberías en la planta (Barbusiński et al., 2021; Talaiekhosani et al., 2016).

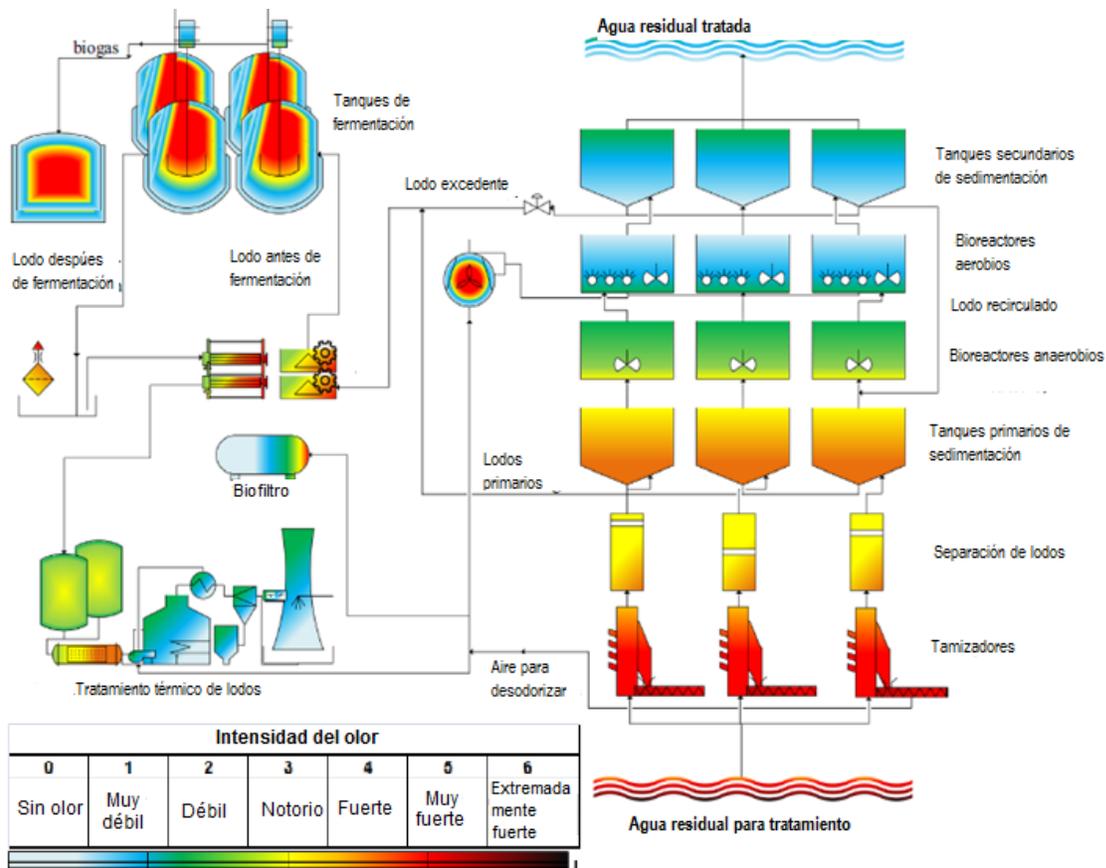


Figura 1.1. Fuentes de olores ofensivos en una planta de tratamiento de aguas residuales (Adaptado de Lewkowska et al., 2016).

Los compuestos sulfurados como mercaptanos y sulfuro de hidrógeno son el producto de la biodegradación en condiciones anaeróbicas de proteínas y vitaminas que contiene azufre en su estructura (Liu et al., 2012), así como por la reducción de sulfatos por bacterias sulfato reductoras en aguas residuales de flujo lento, bajo contenido de oxígeno y de alta temperatura (Hvitved-

Jacobsen, 2001). El amoníaco es producido en el sistema de alcantarillado por la degradación bacteriana de urea y de compuestos orgánicos nitrogenados, además la emisión de amoníaco también aumenta al adicionar floculantes (AlCl_3 , FeCl_3 , CaO , poliacrilamidas, etc.) que suben el pH del agua residual en tratamiento (Liu et al., 2012). Los demás compuestos orgánicos volátiles se producen por la presencia de microorganismos fermentativos en un ambiente de alto contenido de materia orgánica (5-20%), bajo contenido de oxígeno y nitrato, como suelen ser las aguas residuales y los lodos provenientes del proceso de tratamiento (Lebrero et al., 2011).

Tabla 1.1. Umbral de olor y rango de concentración reportados para los compuestos más comunes en emisiones gaseosas de PTAR (Adaptado de Lewkowska et al., 2016; Ren et al., 2019).

Compuesto	Umbral de olor, mg/m^3	Rango concentración, mg/m^3
Sulfuro de hidrógeno (H_2S)	0,004 – 0,03	0,01- 150
Disulfuro de carbono (CS_2)	0,7	0,002-0,44
Sulfuro de dimetilo ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$)	0,0025	0,007-8,8
Disulfuro de dimetilo ($(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$)	0,0001	0,0002-1,61
Metilmercaptano (CH_3SH)	0,001-0,05	0,006-22
Amoníaco	2-35	0,019-6,35
Trietilamina	0,008	0,01-1,7
Acetona	47,4	0,03 -1,6
Butanona	0,8	0,12-4,6
Fenol	0,04	0,047-0,65

Las emisiones de los compuestos volátiles en las PTAR se pueden prevenir al seguir buenas prácticas de operación, como limpiar frecuentemente los equipos de tamizaje, minimizar el tiempo de retención de los lodos en los tanques de sedimentación, y mantener adecuadas condiciones de aireación, agitación y pH. También se pueden adicionar sustancias químicas al agua residual; estas evitan las condiciones anaerobias que llevan a la formación de compuestos volátiles o reaccionan con ellos, de forma que evitan su liberación al ambiente (Rene et al., 2013). Adicionalmente, se puede reducir el impacto de las emisiones por medio de barreras altas, árboles o zonas de amortiguación que ayudan a diluir el olor, o mediante el uso de agentes enmascarantes o neutralizantes (Bouzalakos et al., 2004). Cuando esos métodos no son suficientes o la legislación

indica la eliminación de los compuestos presentes en la emisión, se deben buscar tecnologías para el control de olores y compuestos volátiles.

1.2 Tratamiento de olores ofensivos

Para reducir las emisiones de olores ofensivos y cumplir con las normativas de calidad del aire, se han desarrollado diversos métodos. El uso de uno u otro depende del contaminante a tratar, su concentración, flujo y el modo de emisión de los gases (Figura 1.2). Además, es necesario tener en cuenta la temperatura de emisión, la concentración de oxígeno, la presencia de otros componentes, la solubilidad, el costo de inversión y el mantenimiento del sistema.

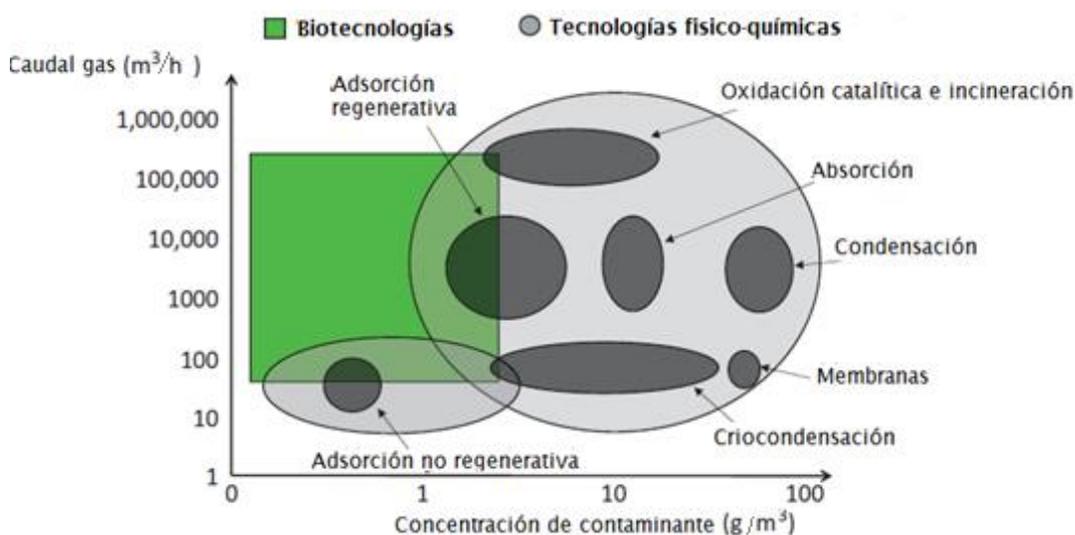


Figura 1.2. Aplicación de diferentes tecnologías de control de polución del aire en función del flujo y de la concentración del contaminante (Adaptado de Muñoz et al., 2015).

Los tratamientos físicos tienen como objetivo cambiar los compuestos de la fase gaseosa a la fase líquida (condensación, absorción) o sólida (adsorción, membranas) para facilitar la purificación del aire. En estos casos, es necesaria la aplicación de un tratamiento posterior para la recuperación de las sustancias o para su eliminación. En los tratamientos químicos, se busca la eliminación parcial o completa de los compuestos contaminantes a través de métodos térmicos (combustión, plasma), que requieren altas temperaturas, o químicos (oxidación, precipitación), que generalmente lleva a un continuo consumo de reactivos ya que no son regenerados en el proceso. En este tipo de tratamiento también se pueden generar compuestos tóxicos o de difícil eliminación (Delhoméie and Heitz, 2005).

En el tratamiento biológico, los gases contaminantes son transferidos por una corriente de aire a la fase acuosa donde están los microorganismos y éstos los usan como fuente de energía o carbono de manera que los transforman a compuestos de menor toxicidad y olor, como CO₂, sulfatos, nitratos y agua, además de generar biomasa. Para que se pueda usar este método, los contaminantes deben ser biodegradables, no-tóxicos para el sistema biológico y su concentración no debe superar los 5 g/m³.

Los tratamientos biológicos tienen la ventaja de que son fáciles de manejar, pueden ser usados a temperatura ambiente (10-40 °C) y presión atmosférica, así que tienen menores costos de operación, ya que no se necesita energía para la degradación, son ecológicamente más limpios y menos susceptibles a los parámetros de diseño que los tratamientos físicos y químicos (Estrada et al., 2011; Revah and Morgan-Sagastume, 2005a). De estas biotecnologías, la biofiltración es la más común en el tratamiento de olores provenientes de actividades como compostaje, tratamiento de aguas residuales, industria alimentaria y granjas pecuarias, ya que es una tecnología de fácil operación y alto desempeño (Lebrero et al., 2011).

1.3 Biofiltración

La biofiltración es muy usada en las PTAR principalmente para la reducción de H₂S, ya que este sistema tiene alta eficiencia de eliminación, a bajas concentraciones y a alto caudal (Iranpour et al., 2005; Lebrero et al., 2011).

En este tipo de reactor, los gases contaminantes pasan a través de un lecho poroso húmedo y son difundidos a la fase acuosa del biofilm (o biopelícula) que contiene los microorganismos para su degradación, los nutrientes y el oxígeno. La Figura 1.3 muestra el esquema general de un sistema de biofiltración.

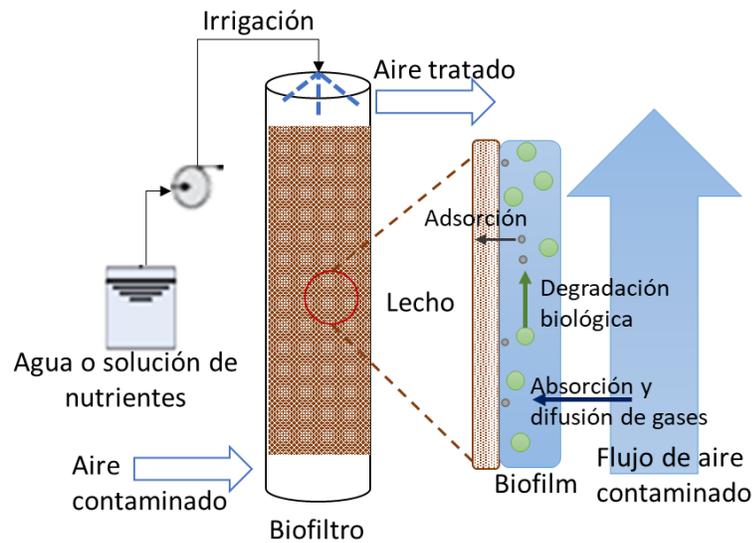


Figura 1.3. Esquema general de un biofiltro y mecanismo de remoción de gases. Los círculos verdes en el biofilm representan a los microorganismos (Adaptado de Le Borgne and Baquerizo, 2019; Rene et al., 2013).

La biofiltración se puede llevar a cabo en 2 configuraciones de biorreactores (Revah and Morgan-Sagastume, 2005a):

- **Biofiltros:** La irrigación es intermitente y se busca que el lecho pueda retener agua y aporte minerales para el crecimiento de la población microbiana.
- **Biofiltros de lecho escurrido:** La irrigación es continua y requiere de la adición de nutrientes, ya que el lecho suele ser de un material inerte, y puede hacerse a través de la recirculación del lixiviado. En esta configuración se debe controlar el crecimiento microbiano para evitar la obstrucción de la columna.

El proceso de biofiltración está determinado por 2 pasos:

- a. **La transferencia y sorción de los gases al biofilm:** En este paso, los compuestos contaminantes pasan a través del lecho poroso y son transferidos de la fase gaseosa al biofilm por medio de mecanismos de difusión, absorción y/o adsorción hacia el lecho. Este paso depende de la naturaleza del compuesto a remover, es decir su solubilidad y constante de Henry, teniendo que, para compuestos hidrofóbicos se requiere mayor tiempo en el sistema que para compuestos solubles en agua (Rene et al., 2013).

- b. *Biodegradación por los microorganismos*: Una vez los compuestos están en el biofilm, son tomados por los microorganismos que los convierten en energía, CO₂, agua, sales inorgánicas y otros subproductos, dependiendo del compuesto. Este es el paso limitante del proceso y depende de la biodegradabilidad de los contaminantes, pues entre más recalcitrante sea el compuesto, mayor tiempo de residencia se requiere para asegurar su oxidación (Delhoménie and Heitz, 2005).

Los factores que afectan el desempeño de un biofiltro son: las características del lecho, pH, temperatura, humedad, nutrientes, concentración de O₂, la pérdida de presión, el tiempo de residencia del gas en el lecho, y los microorganismos presentes en él y su concentración. Estos parámetros deben optimizarse para que el desempeño del biorreactor sea el mejor posible (Revah and Morgan-Sagastume, 2005a).

La efectividad de un biofiltro se evalúa calculando la eficiencia de remoción (%ER) que es el porcentaje de contaminante removido por el biofiltro; la capacidad de eliminación (CE), que es la masa de contaminante degradado en un determinado volumen de lecho en cierto tiempo (g/m³h); y por la máxima capacidad de eliminación, donde la velocidad de degradación es independiente de la carga de contaminante (Datta and Allen, 2005):

$$\text{Eficiencia de eliminación: } \%ER = \frac{(C_{\text{entrada}} - C_{\text{salida}}) * 100}{C_{\text{entrada}}} \quad (\text{Ec. 1.1})$$

$$\text{Capacidad de eliminación: } CE = \frac{(C_{\text{entrada}} - C_{\text{salida}}) * \text{Flujo}_{\text{gas}}}{\text{Volumen}_{\text{biofiltro}}} \quad (\text{Ec. 1.2})$$

1.3.1 Parámetros de operación

Los parámetros para tener en cuenta en el diseño y operación de un biofiltro son:

- *Lechos*: Entre las características deseables en estos para poder ser usados en el proceso de biofiltración se encuentran (Delhoménie and Heitz, 2005; Muñoz et al., 2015):
 1. Alta área superficial específica (300-1000 m²/m³), para lograr una alta velocidad en la transferencia de gases a la fase acuosa y favorecer el crecimiento microbiano.
 2. Alta porosidad (0,4-0,9) que facilita la convección del gas y la distribución homogénea a través del lecho.
 3. Buena capacidad de retención de agua para mantener la humedad del biofiltro entre 40-70%, y así mantener la actividad microbiana.

4. Presencia y disponibilidad intrínseca de nutrientes.
5. Presencia de una comunidad microbiana grande y diversa.

De acuerdo con lo anterior, los materiales orgánicos como compost, turba, tierra y astillas de madera son los más usados al cumplir la mayoría de los criterios; además al ser materiales naturales, el lecho es económico y de fácil obtención (Delhoménie and Heitz, 2005). Una desventaja de estos materiales orgánicos es que pueden perder su estructura y capacidad de retención de agua debido al deterioro gradual por el consumo de nutrientes, de manera que disminuye la eficiencia del sistema y la vida útil de los lechos (Muñoz et al., 2015). Estos efectos se evitan mezclando este tipo de lechos con materiales inertes como espuma de poliuretano, perlita, roca de lava, cerámica, entre otros que aumentan la estabilidad estructural del lecho (Delhoménie and Heitz, 2005).

Los lechos de biofiltración también pueden ser de materiales inertes exclusivamente, ya que permiten la optimización de variables para la formación del biofilm (ej.: porosidad, capacidad adsorptiva), además de no sufrir biodegradación, de manera que su vida útil es de hasta 10 años (Revah and Morgan-Sagastume, 2005a). Sin embargo, estos lechos requieren de la inoculación de la comunidad microbiana y la adición continua de agua y nutrientes para mantener la actividad biológica.

El tamaño de las partículas del lecho también influye en la eficiencia del biofiltro ya que afecta la resistencia al flujo del aire y el área superficial efectiva del biofilm.

- *Humedad*: Este parámetro es muy importante para mantener la actividad microbiana del biofiltro y se ha determinado que, para tener un óptimo desempeño, la humedad debe estar entre 40-80%, dependiendo de las características del lecho (Datta and Allen, 2005). Se mantiene por pre-humidificación de gas e irrigación sobre lecho. El exceso de humedad lleva a un rápido deterioro de los lechos orgánicos, al desarrollo de zonas anaerobias y a una baja transferencia entre la fase gaseosa y el biofilm. La baja humedad reduce actividad microbiana y lleva al desarrollo de canales en lecho, que disminuyen la eficiencia de la eliminación ya que el gas contaminante atraviesa el biofiltro sin que sea degradado (Delhoménie and Heitz, 2005).

- *pH*: Se busca que esté entre 7-8 ya que es el pH óptimo de crecimiento de la mayoría de los microorganismos. Este parámetro es fundamental en biofiltros que tratan H₂S, ya que su biodegradación genera ácido sulfúrico que acidifica el medio, llevando a una reducción en la eficiencia de remoción. La acidificación se puede disminuir usando un material de lecho que tenga alta capacidad buffer, por la adición de compuestos básicos como CaCO₃ en el lecho o por el uso de una solución buffer en el medio nutritivo para ajustar el pH del lecho (Delhoménie & Heitz, 2005).
- *Caudal (Q) y tiempo de residencia (Empty Bed Residence Time - EBRT)*: El tiempo de residencia se define como el volumen del lecho vacío dividido por el caudal (Ecuación 1.3). Estos dos parámetros afectan la eficiencia de la degradación al estar relacionados con el tiempo de permanencia del gas en el biofiltro, que debe ser suficiente para la transferencia de los contaminantes y su degradación. Esta condición se cumple a un caudal bajo o EBRT alto, aunque esto implica un sistema de alto volumen (Delhoménie and Heitz, 2005), situación que es común en biofiltros que tratan mezclas de compuestos volátiles o con gases concentrados (Iranpour *et al.* 2005). El valor del EBRT depende de las características del material de lecho, de la biodegradabilidad de los compuestos, su naturaleza (hidrofobicidad) y su concentración.

$$EBRT = \frac{V_{lecho}}{Q_{gas}} \quad (\text{Ec. 1.3})$$

- *Dimensiones*: El tamaño del biofiltro está determinado principalmente por las características del gas a tratar, que afecta el tiempo de residencia, y por la restricción en la altura del sistema, ya que en general no debe superar 1,20 m para evitar la compactación del lecho, que se refleja como una diferencia de presión entre la entrada y la salida del gas en el biofiltro. Esta restricción hace que el área del sistema suele ser alta.
- *Nutrientes*: Los compuestos presentes en el olor suelen ser fuente de carbono y energía para el crecimiento microbiano y cuando se usan lechos orgánicos, como compost y suelo, estos pueden aportar los demás macro- (fósforo, potasio, nitrógeno) y micronutrientes (minerales y vitaminas). Sin embargo, al irse consumiendo los nutrientes, se acorta la vida útil del lecho y la eficiencia de la biodegradación, de forma que se puede adicionar una solución nutritiva para mantener la actividad microbiana y evitar la rápida degradación del material de lecho. Al usar lechos inertes, es necesario una adición frecuente de nutrientes al biofiltro para

mantener la concentración de minerales y las condiciones adecuadas para el crecimiento de los microorganismos (Delhoménie and Heitz, 2005).

1.3.2 Eliminación biológica del sulfuro de hidrógeno

El sulfuro de hidrógeno (H₂S) y otros compuestos de azufre reducido, como mercaptanos, son oxidados por bacterias oxidantes de azufre (*sulfur-oxidizing bacteria* - SOB), que son principalmente procariontes quimiolitotrofos en condiciones aeróbicas y micro aerobias, y por fotótrofos, conocidas como bacterias verdes y púrpuras de azufre, bajo estrictas condiciones de anaerobiosis (Le Borgne and Baquerizo, 2019). Estas bacterias usan los compuestos de azufre como aceptores o donores de electrones para la obtención de energía (Figura 1.4) (Pokorna and Zabranska, 2015). También se ha reportado que bacterias heterótrofas aerobias, como *Pseudomonas* y *Xanthomonas*, secretan enzimas que degradan compuestos sulfurados y pueden oxidar el sulfuro (Li et al., 2015).

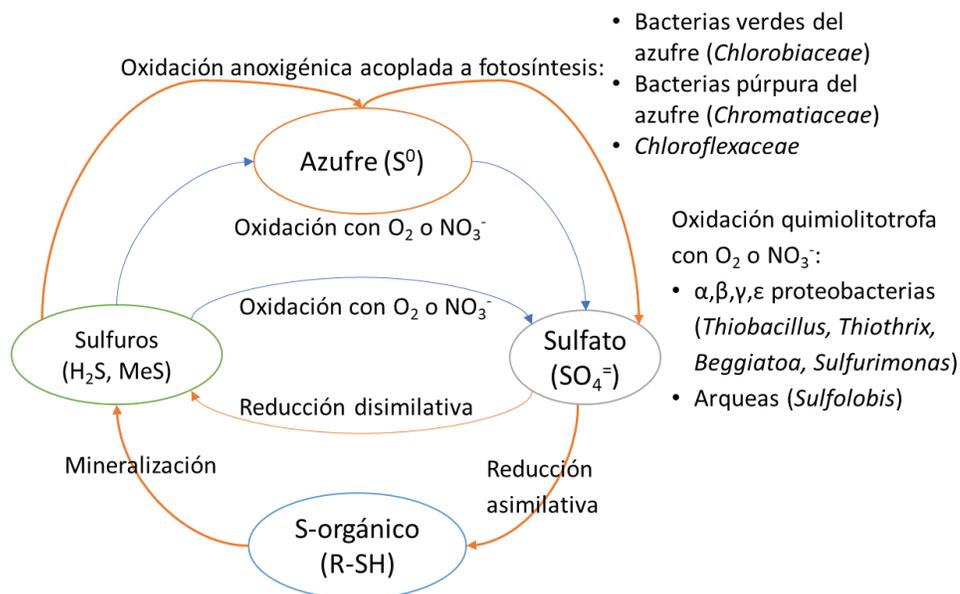
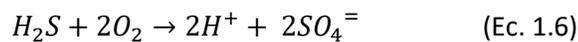
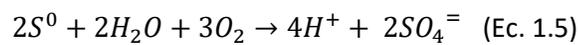


Figura 1.4. Ciclo biológico del azufre (Adaptado de Le Borgne and Baquerizo, 2019; Vikrant et al., 2018).

Las SOB quimiolitotrofas son el grupo más diverso respecto a metabolismo, fisiología y filogenética, así que se pueden encontrar en un rango variado de condiciones ambientales como pH ácido y alcalino, y alta concentración de sales, por esta razón son el tipo de SOB más comúnmente asociado a sistemas de biofiltración (Pokorna and Zabranska, 2015; Vikrant et al., 2018). En este grupo, la oxidación de H₂S sucede en varios pasos (Ecuaciones 1.4 a 1.6) catalizados a través de diferentes

sistemas enzimáticos: el sistema sulfuro quinona oxidorreductasa (SQR), que oxida el H₂S a azufre elemental, el sistema oxidante de azufre (SOX), que oxida el H₂S a azufre elemental y este a sulfato, y el sistema disimilativo sulfito reductasa (DSR), que está relacionado con la formación de glóbulos de azufre (Dahl et al., 2008). El azufre elemental se produce bajo condiciones de estrés como alta carga de contaminante o baja concentración de oxígeno, de forma que la proporción de O₂/H₂S afectará la proporción de los productos de la oxidación. Durante este proceso, la producción de ácido sulfúrico acidifica el medio, de forma que muchas SOB suelen ser acidófilas (Leborgne and Baquerizo, 2019).



Algunas SOB almacenan azufre elemental en gránulos intra o extracelulares de forma que el azufre está disponible como donador de electrones cuando el H₂S no está presente en el ambiente. La acumulación de azufre en el biofiltro puede provocar el aumento en la caída de presión del sistema, afectando su rendimiento (Le Borgne and Baquerizo, 2019).

1.3.3 Eliminación biológica del amoníaco

La oxidación de amoníaco mediada por microorganismos se conoce como nitrificación y hace parte del ciclo de nitrógeno (Figura 1.5). En este proceso la oxidación ocurre en varios pasos donde el amoníaco es oxidado a nitrito (Ecuación 1.7) en reacciones catalizadas por las enzimas amonio monooxigenasa (AMO) e hidroxilamina oxidoreductasa (HAO). Este paso es realizado por las bacterias oxidantes de amoníaco (*ammonia-oxidizing bacteria* - AOB), que son generalmente quimiolitautotrofos de las clases beta y gamma proteobacteria, y por Arqueas del filo *Thaumarchaeota* (Arp and Stein, 2003). Las AOB más conocidas son *Nitrosomonas* y *Nitrospira*.

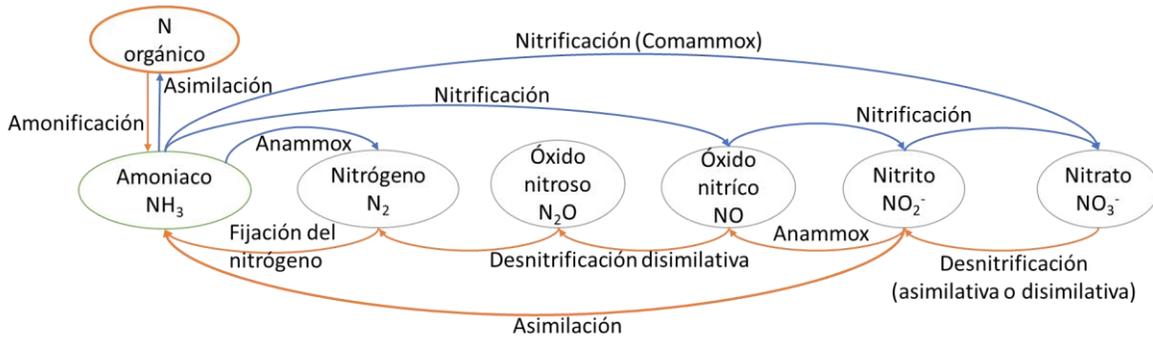
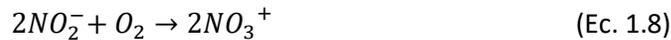


Figura 1.5. Ciclo biológico del nitrógeno (Adaptado de Kuypers et al., 2018)

Posteriormente, el nitrito es oxidado a nitrato (Ecuación 1.8) por las bacterias oxidantes de nitrito (*nitrite oxidising bacteria* - NOB), en una reacción catalizada por la enzima nitrito oxidoreductasa (NRX). Dentro de los NOB se encuentran bacterias aerobias de las clases *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, y filos *Chloroflexi*, *Nitrospinae* y *Nitrospirae*. Ambos tipos de bacterias, AOB y NOB, son sensibles a altas concentraciones de amoniac y de nitrito en la fase líquida, de forma que la nitrificación puede inhibirse (Spieck and Lipski, 2011).



La oxidación de amoniac también puede ser llevada a cabo por AOB autótrofas, que oxidan el amoniac completamente a nitrato (ruta comammox), AOB anaerobias que oxidan el amoniac a nitrógeno molecular usando nitrito como aceptor de electrones (Figura 1.5 - ruta anammox), y por AOB heterótrofas, que usan sustrato orgánico como fuente de energía para oxidar el amoniac, sin embargo, aún no es clara la ruta de eliminación y se ha propuesto que estas bacterias oxidan el amoniac a óxidos de nitrógeno o nitrógeno molecular a través de las rutas de nitrificación completa y desnitrificación (Duan et al., 2021).

En sistemas de biofiltración se ha encontrado diferentes géneros de AOB como *Nitrosospira*, *Nitrovibrio*, *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*; y entre las NOB se ha reportado *Nitrobacter* y *Nitrococcus* (Cabrol et al., 2016; Kristiansen et al., 2011). También se ha reportado AOB heterótrofas como *Alcaligenes*, *Pseudomonas* y *Arthrobacter* sp., que actúan mejor en condiciones ácidas (Chung and Huang, 1998).

En la biofiltración de amoníaco también se ha observado que no todo el amoníaco entrante al sistema es transformado a nitrato, amonio o nitrógeno orgánico, sino que se pierde como gas debido a la reducción del nitrito o nitrato a óxido nitroso (N_2O) o nitrógeno molecular (N_2) en la desnitrificación (Figura 1.5) (Yasuda et al., 2017). Este proceso es llevado a cabo por diversos grupos microbianos como bacterias heterótrofas, bacterias nitrificantes autótrofas y hongos (Maeda et al., 2011). La desnitrificación en los biofiltros sucede cuando la cantidad de oxígeno es limitada, como en lechos de alta humedad (Yang et al., 2014a).

1.3.4 Operación de los biofiltros en condiciones transitorias

En el tratamiento de gases y olores a nivel industrial, es común que se presenten variaciones en el caudal, en la composición o concentración de los contaminantes, debido a la dinámica de operación de una planta, como cierres nocturnos, los fines de semana, y en periodos de mantenimiento. Esta dinámica provoca que los biofiltros se vean expuestos a diversas condiciones transitorias como aumentos drásticos en la carga, o periodos de muy baja concentración de los gases, como los que se muestran en la Figura 1.6. Variaciones pequeñas en la carga de los gases e intermitencias cortas en la operación pueden ser toleradas por la comunidad microbiana (Figura 1.6b), de forma que sólo se presentan una disminución en la remoción de los gases tras un tiempo, y la eficiencia se recupera en pocas horas cuando las condiciones previas al cambio son restablecidas (Kennes et al., 2009; Rene et al., 2013).

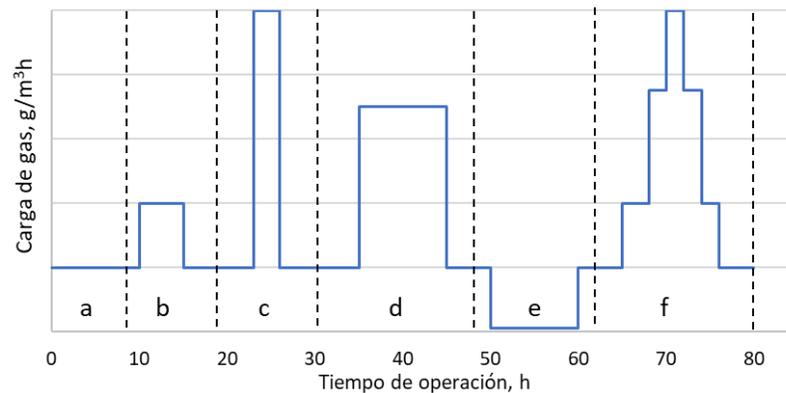


Figura 1.6. Posibles patrones de condiciones transitorias en la carga de entrada de gases: a) Carga estable; b) Aumento súbito y leve; c) Aumento súbito e intenso; d) Aumento súbito, intenso y sostenido; e) Disminución súbita y sostenida; f) Aumento y disminución gradual (Adaptado de Rene et al. 2013).

En el caso de aumentos súbitos en la carga de los gases (Figuras 1.6c y d), se ha observado la disminución en la abundancia de la comunidad debido a efectos de toxicidad y a la modificación en la estratificación, si la condición se mantiene por más tiempo (Rene et al. 2013). Esto se debe a que el gas no es adsorbido ni removido en las secciones más cercanas a la entrada del gas, de forma que pasa a las secciones posteriores, donde la comunidad microbiana podría no estar adaptada a una mayor carga de gases y la capacidad de remoción es menor. Esta situación lleva a la disminución en la remoción de los gases contaminantes mientras la comunidad microbiana se adapta a estas condiciones (Ralebitso-Senior et al., 2012; Wright et al., 2005).

Los cambios diarios en la concentración de gases, donde se presentan máximos y mínimos de concentración, también se pueden presentar en las emisiones de operaciones industriales (Zamir et al., 2011). Estos patrones discontinuos en la carga de gases pueden afectar el desempeño de los biofiltros. Si los periodos de baja concentración o de apagado del sistema se mantienen por un tiempo largo, se debe aplicar un flujo de aire y humedecer periódicamente el lecho para mantener la actividad microbiana y prevenir el desarrollo de zonas anaerobias en los biofiltros (Rene et al., 2013; Shareefdeen, 2020).

Varios estudios han mostrado que los biofiltros pueden recuperar su actividad en la remoción de gases tras someterse a estas condiciones transitorias, sin embargo, el tiempo de recuperación depende de las características del gas, si hay una mezcla de ellos y de su carga de entrada, así como de la velocidad de consumo por parte de los microorganismos. De manera que es necesario evaluar el efecto de estas condiciones sobre la vida útil del lecho y sobre la comunidad microbiana, ya que su estructura se puede alterar bajo estas condiciones transitorias y afectar el tiempo de recuperación del biofiltro (Rene *et al.* 2013).

1.3.5 Ecología microbiana en la biofiltración

La comunidad microbiana en un biofiltro para el tratamiento de olores ofensivos puede estar compuesta por bacterias, hongos miceliares, levaduras y protozoos, pero su evolución y la población predominante están determinados por el contaminante y por las condiciones ambientales, como la naturaleza del lecho, pH y nutrientes. En sistemas de biofiltración que contienen una comunidad microbiana diversa, como lodos activados o compost, los microorganismos deben adaptarse a las condiciones del efluente gaseoso, de forma que las

poblaciones más resistentes a estas condiciones son seleccionadas y forman un biofilm (Delhoméie y Heitz 2005). Esta etapa inicial de la biofiltración se conoce como aclimatación y corresponde al tiempo necesario para el desarrollo óptimo de una comunidad degradadora especializada, donde se alcanza y mantiene una actividad alta y estable, es decir que es una etapa muy dinámica respecto a la estructura de la comunidad microbiana ya que se reduce la diversidad (Cabrol and Malhautier, 2011).

El tiempo de aclimatación depende de las características del contaminante, el caudal del gas, del tipo de lecho y su humedad, y de la actividad específica de los microorganismos. En el caso del tratamiento de compuestos recalcitrantes, donde la aclimatación puede tardar hasta un año (Singh and Ward, 2005), este tiempo se puede disminuir mediante la inoculación del biofiltro con una cepa pura o consorcio microbiano aclimatado al contaminante a tratar (Vergara-Fernández et al., 2011). Este inóculo previamente adaptado se puede obtener desde biofiltros en operación, o por enriquecimiento en un medio que contenga los compuestos de interés y aislamiento desde una comunidad microbiana de alta diversidad, como lodos activados (Ralebitso-Senior et al., 2012). Es más común el uso de inóculos de consorcios microbianos, lodos activados, cultivos mixtos o provenientes de lechos bioactivos en vez de un cultivo puro, ya que la población que tiene consigo ya está desarrollada y puede competir con posibles predadores, como protozoos, virus y bacterias parasitarias (Kennes et al., 2009).

Se debe tener en cuenta que la comunidad en el biofiltro puede diferir significativamente de la inoculada una vez se haya aclimatado al nuevo sistema (Cabrol and Malhautier, 2011; Steele et al., 2005). Esto se debe a la adaptación de la comunidad microbiana a las nuevas condiciones ya que cambia el tipo de crecimiento (planctónico vs biofilm), velocidad de crecimiento microbiano y de biodegradación, que dependen de los parámetros de operación y de la disponibilidad del sustrato (Cabrol and Malhautier, 2011; Ralebitso-Senior et al., 2012).

Una vez que los microorganismos han formado un biofilm, en el biofiltro se genera un gradiente en las condiciones fisicoquímicas como humedad, concentración de los compuestos contaminantes, así como de los subproductos de su degradación, que lleva a la generación de microambientes en el lecho, y por consiguiente a una estratificación en la estructura de la comunidad a lo largo del biofiltro (Cabrol and Malhautier, 2011). Esta situación es más notoria en el tratamiento de mezclas de compuestos donde no todos los componentes de la mezcla son degradados en el mismo nivel, debido a las diferencias en la transferencia de masa al biofilm y la biodegradabilidad de los

compuestos. Los de mayor biodegradabilidad son consumidos primero, en la sección cercana a la entrada del efluente, y los más recalcitrantes son degradados en las secciones más alejadas (Qi et al., 2005; Rene et al., 2012), sugiriendo además que diferentes poblaciones microbianas están involucradas en la degradación de diferentes compuestos (Cabrol and Malhautier, 2011).

Durante el tiempo de operación de un biofiltro a nivel industrial, es común que se presenten variaciones en el caudal, en la composición o concentración de los contaminantes, o en las condiciones del biofiltro, como acumulación de subproductos, que pueden llevar a cambios en la estructura y función de la comunidad microbiana y por consiguiente en el desempeño de los biofiltros. De forma que es importante establecer el efecto de estas condiciones sobre la comunidad microbiana para entender el proceso y proponer estrategias de mejoramiento de la biofiltración (Le Borgne and Baquerizo, 2019; Ralebitso-Senior et al., 2012; Rene et al., 2013). Teniendo en cuenta esto, varios estudios han evaluado los cambios en la comunidad microbiana en diferentes condiciones de operación durante la biofiltración. Cabrol et al. (2016) demostraron que la aplicación de repetidas perturbaciones de intensidad creciente, en un sistema de biofiltración de una mezcla de gases (amoníaco y VOCs), indujeron la selección progresiva de poblaciones nitrificantes resistentes a altas concentraciones de amoníaco, llevando a la generación de una comunidad con resiliencia funcional frente a perturbaciones futuras, incluso de alta intensidad. Yeung et al. (2021) encontraron un resultado similar respecto a la generación de una comunidad microbiana más robusta a cambios súbitos en la carga de los gases tras el tratamiento con ozono, usado para la disminución de biomasa durante la biofiltración de tolueno, ya que tuvo mayor diversidad, mayor abundancia de especies tolerantes al estrés y amplió su capacidad metabólica para el consumo de diferentes fuentes de carbono comparado con el biofiltro sin tratamiento.

Otros estudios se han enfocado en la etapa de aclimatación para determinar su efecto en la biofiltración. Tu et al. (2016) determinaron que la eficiencia de eliminación de H₂S en un biofiltro de lecho escurrido era mayor en un sistema aclimatado a pH ácido respecto a uno aclimatado a pH neutro, y además presentaron diferencias en la estructura de la comunidad microbiana, lo que llevó a sugerir que la aclimatación a pH ácido generaría una comunidad microbiana con alta eficiencia de eliminación de H₂S y que la inoculación con especies de *Acidithiobacillus* podría reducir el tiempo de aclimatación. Jiang et al.(2009a) obtuvieron una alta eficiencia de remoción de H₂S y NH₃, y

mayor resistencia al aumento en la concentración de los gases cuando se usó como inóculo un cultivo nitrificante aclimatado primero a NH_3 y posteriormente a H_2S , que al usar un biofiltro inoculado con la mezcla de cultivos nitrificante y cultivo enriquecido en SOB y aclimatado simultáneamente a ambos gases. Estos resultados estuvieron asociados a una mayor producción de nitrito, nitrato y sulfato en la fase de cambio en la carga de los gases, y aunque la comunidad microbiana de los dos tipos de biofiltros tuvo una similitud de 82%, se presentaron diferencias en la abundancia relativa de especies, que podrían explicar parcialmente las diferencias en la eficiencia de los sistemas.

Estos estudios muestran que el conocimiento del comportamiento de la comunidad microbiana bajo diferentes condiciones de operación permitiría establecer estrategias de aclimatación y operación que generen una comunidad microbiana capaz de adaptarse a las condiciones cambiantes de un sistema a nivel industrial y mantener su actividad biológica para mantener una biofiltración de alta eficiencia y robusta a lo largo del tiempo de operación (Cabrol and Malhautier, 2011).

1.4 Biofiltración de H_2S y NH_3

La biofiltración es muy usada principalmente para la reducción de H_2S en las PTAR, ya que este sistema tiene bajos costos de inversión y operación respecto a otras tecnologías, y alta eficiencia de eliminación de contaminante de interés, a bajas concentraciones y a alto caudal (Iranpour et al. 2005, Lebrero et al. 2011); si bien, también es deseable la remoción de los demás compuestos que contribuyen a los olores ofensivos, como el amoníaco. Al respecto, en las PTAR se ha reportado que la eficiencia de remoción de NH_3 es menor al 90% (Iranpour et al., 2005; Rabbani et al., 2016) y que la aclimatación a este gas toma más tiempo que la de H_2S (Xie et al., 2009).

En el caso específico de la eliminación de NH_3 en presencia de H_2S , diferentes autores (Chung et al., 2000; Kim et al., 2002; Malhautier et al., 2003) han reportado la disminución en la eficiencia de eliminación del amoníaco en presencia de altas concentración de H_2S , situación común en las emisiones de las PTAR, debido a la disminución en la actividad de las bacterias nitrificantes al bajar el pH del sistema por la producción de H_2SO_4 , y por la acumulación de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Sin embargo, otros autores (Tabla 1.2, Alinezhad et al., 2019; Hou et al., 2016; Jiang and Tay, 2010; Ying et al., 2020) han reportado la situación contraria, donde la eliminación de amoníaco no es afectada por altas concentraciones o por condiciones transitorias en la carga de entrada de los gases.

Tabla 1.2. Estudios previos de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃.

Características gas	Sistema	Resultados	Referencia
H ₂ S: 20-100 ppm NH ₃ : 20-100 ppm EBRT: 4-20 s	Biofiltro de lecho escurrido horizontal de 3 secciones de 0,002m ³ , lecho de carbón agotado. Control automático de pH	Alta eficiencia (ER>90%) desde inicio de operación ER H ₂ S: 95% y ER NH ₃ : 98% a EBRT > 8 s EC _{max} 119 g H ₂ S /m ³ h y 131 g NH ₃ /m ³ h Oxidación completa de H ₂ S y NH ₃	Jiang et al., 2009
Condiciones transitorias de H ₂ S y NH ₃ : periodos de aumento en carga (Carga _{máx.} H ₂ S y NH ₃ : 137 g/m ³ h), seguidos de periodos de carga nula EBRT: 4-20 s	Inóculo: Mezcla de consorcios de SOB y consorcio microbiano nitrificante obtenidos de enriquecimiento de lodos activados.	ER H ₂ S > 90% y ER NH ₃ > 95% en la mayoría de los periodos. Disminución de la ER a cargas altas y justo después de periodos de carga nula, pero el sistema se recuperó en 3 días. La remoción de H ₂ S fue más sensible que la de NH ₃ a periodos de alta carga y de carga 0.	Jiang and Tay 2010
- Arranque: 39 ppmv de H ₂ S, 135 ppmv NH ₃ y 10 ppmv etilmercaptano (EM) - Operación a 103 ppmv H ₂ S, 90 ppmv de NH ₃ y 14 ppmv EM EBRT: 32 s	Biofiltro de lecho escurrido (h: 0,5 m, V: 2,9L) Lecho de astillas de madera de álamo. Control de pH automático a pH 7. Inóculo: Mezcla de medio mineral y biomasa oxidante de amonio, enriquecida desde lodo aerobio.	ER H ₂ S: 99,5; ER EM: 94,2%; ER NH ₃ : 99,8% La acumulación de NH ₄ ⁺ y NO ₂ ⁻ lleva a la inhibición parcial de la nitrificación.	Hernández et al. 2012
- Arranque: 20 ppm de H ₂ S y a 20 ppm NH ₃ - Variación en la carga: H ₂ S 100–150 g/m ³ h y NH ₃ : 80–140 g/m ³ h EBRT: 10, 8 y 6,7 s equivalente a caudal de 4, 5 y 6 L/min	Biofiltro de lecho escurrido (V: 0,67 L) Lecho de escoria de carbón. Inóculo: Cultivos de SOB y AOB obtenidos de enriquecimiento de lodos activados en mezcla con medio con tiosulfato Na ₂ S ₂ O ₃ y (NH ₄) ₂ SO ₄ .	ER H ₂ S: 98.5%; disminuye a 51,2% cuando la carga del NH ₃ sube a 140 g/m ³ h (t _{R gas} : 6 s) El aumento de carga de H ₂ S y NH ₃ lleva a aumento en la concentración de NO ₂ ⁻ y de S en el lecho (35-65%).	Tsang et al. 2015
H ₂ S: 31,85 ppm (0,04 g/m ³) NH ₃ : 1,94 ppm (1,35 mg/m ³) Caudal :25 L/min	Biofiltro de lecho escurrido (V: 24,93 L, 3 secciones de h: 0,47 m).	Escala piloto: ER H ₂ S: 91,96%, lixiviado producido: 0,2 mL/L reactor día. ER NH ₃ 100%, eliminado como (NH ₄) ₂ SO ₄ .	Rabbani et al. 2016

Características gas	Sistema	Resultados	Referencia
EBRT: 1 y 0,5 min	Lecho: esferas de polietileno resistente a ácido. Inóculo: Tomado de biofiltro a escala laboratorio para remoción de H ₂ S. Recolección de H ₂ SO ₄ en lixiviado para neutralización de NH ₃ .		
H ₂ S: 50 -100 mg/m ³ y NH ₃ : 0 - 50 mg/m ³ . EBRT: 56,5; 45,2; 33,9; 22,6, y 11,3 s Abrupto aumento en concentraciones en día 27, H ₂ S: 200–250 mg/m ³ y NH ₃ : 100–150 mg/m ³	Biofiltro (h: 1,2 m, diámetro: 0,2 m, V: 31,4 L) Lecho: mezcla 70:15:15 de compost/paja/astillas de madera.	Para compost maduro: ER NH ₃ 100%, que se mantuvo tras aumento en concentración. ER H ₂ S >90%, disminución hasta 80% tras aumento de concentración, pero sistema se recuperó tras 5 días. EBRT no afecta significativamente la eficiencia de remoción Disminución en concentración de NO ₂ ⁻ y NO ₃ ⁻ tras 30 días de operación.	Hou et al., (2016)
Emisiones de una PTAR: H ₂ S: 5-25 ppm y NH ₃ : 1-3,5 ppm EBRT: 60,30, 20 y 15 s	Biofiltro de lecho escurrido (V: 12,03 L) Lecho: Trozos de PVC con compost Inóculo de lodo activado con AOB (4-6%)	ER H ₂ S: 99-92% (a EBRT más bajo) ER NH ₃ : 100% ER disminuyó al bajar EBRT Requirió 10 días de aclimatación.	Alinezhad et al., (2019)
Etapa I: H ₂ S: Etapa II: H ₂ S (0,45-1,8 ppm) con NH ₃ (11,4 y 31,3 ppm) EBRT: 20,4 y 10,2 s equivalente a caudal de 20 L/ min y 40 L/ min	Biofiltro de lecho escurrido (V: 6,8 L) Lecho: Anillos Raschig y ceramsite. Inóculo desde lodo activado enriquecido en bacterias nitrificantes y SOB.	ER para ambos gases fue de 98-100% en ambas etapas. EBRT afecta remoción de H ₂ S ER NH ₃ no fue afectada por presencia de H ₂ S y NH ₃ El aumento en la concentración de NH ₃ aumenta la remoción de H ₂ S. Remoción de NH ₃ por oxidación a nitrato y disolución en agua. La composición de la comunidad microbiana cambia al introducir NH ₃ .	Ying et al., 2020

24 Evaluación de la comunidad microbiana en un sistema de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ basado en lechos orgánicos

Características gas	Sistema	Resultados	Referencia
<p>Emisiones de un relleno sanitario: H₂S: 16,4–220,3 mg/m³, NH₃: 2,0–56,4 mg/m³. Presencia de COVs EBRT:1,5 min, caudal: 60 m³/h</p>	<p>Biofiltro de lecho escurrido (h: 2m, V: 1,5 m³) Lecho: Cubos de espuma de poliuretano Inóculo desde un biorreactor para tratamiento de olores en un relleno, enriquecido en bacterias degradadoras de H₂S y NH₃.</p>	<p>ER H₂S: 82,6 a 91,1 %. ER NH₃: 81,1 a 92.0 %. ER es más alta a baja concentración de los gases. La aclimatación a H₂S tomó 4 semanas, mientras que para NH₃ fue de 2 semanas. Temperatura y humedad relativa del ambiente afectó oxidación de NH₃ a nitrato. La abundancia de grupos microbianos en los biofiltros es diferente al inóculo.</p>	<p>Zheng et al., 2021</p>

También se observa en estos estudios que, si bien en condiciones transitorias de incremento en las concentraciones de contaminantes se logra la remoción de alta eficiencia de H_2S y NH_3 , su oxidación es parcial y, por consiguiente, hay acumulación de subproductos como amonio y nitrito que inhiben el proceso de nitrificación, y de azufre elemental, que puede provocar problemas de obstrucción y disminuir la vida útil del biofiltro (Le Borgne and Baquerizo, 2019). Además, en algunos casos, la oxidación del H_2S es más sensible a estas condiciones y en otros es el proceso de nitrificación, de forma que es necesario relacionar los factores que afectan el proceso con la comunidad microbiana que lo lleva a cabo. Al respecto, Jiang y Tay (2010) indican que la alta diversidad de la comunidad microbiana del biofiltro favoreció la estabilidad de la operación a largo plazo y bajo cambios en la carga de los gases, ya que la comunidad microbiana fue estable tras el aumento en la carga de los gases; y que a pesar de que la abundancia de ciertas especies cambió tras periodos de carga nula, que provocó una disminución en la remoción de ambos gases, la comunidad fue capaz de adaptarse y recuperar su actividad. Tsang et al., (2015) sugieren algo similar, que el alto desempeño a cargas altas de los gases es debido a que se desarrolló una comunidad microbiana estable de alta diversidad, aunque encontraron una disminución de NOB, debida posiblemente a la inhibición por la presencia de amonio y que llevó al aumento en la concentración de nitrito en el lixiviado del biofiltro.

Sólo en uno de los estudios mencionados se identificaron los microorganismos presentes en los biofiltros, de forma que es difícil establecer cuáles microorganismos están llevando a cabo la eliminación de los gases para poder usarlos como inóculo o aplicar tratamientos que induzcan su crecimiento y así mejorar el desempeño del sistema. Recientemente, el uso de técnicas moleculares basadas en la amplificación del gen de la subunidad pequeña del ARN ribosomal (ARNr 16S), como la secuenciación masiva de amplicones de ARNr 16S, ha permitido caracterizar con mayor detalle la comunidad microbiana presente en los biofiltros. En la Tabla 1.3 se muestra un resumen de los filos y géneros más abundantes encontrados en biofiltros usados para la eliminación de H_2S y NH_3 a escala laboratorio o en emisiones industriales.

Tabla 1.3. Filos y géneros de mayor abundancia presentes en biofiltros para la remoción de olores ofensivos debidos a H₂S y NH₃.

Sistema	Filo	Género	Referencia
Biofiltro de turba para el tratamiento de emisiones de una PTAR.	Proteobacteria: 45-51% Acidobacteria: 23- 34% Actinobacteria: 11-16%	No cultivados en alta abundancia: 40% <i>Acidothermus</i> : 17-22% <i>Telmatobacter</i> : 8-9% <i>Methylovirgula</i> : 5-10% <i>Bryobacter</i> : 5-7%	Allievi et al., (2018)
Biofiltro de lecho escurrido de carbón activado, salvado de trigo y aserrín, inoculado con lodo activado para control de olores ofensivos en emisiones industriales (principalmente H ₂ S y NH ₃).	Tras una semana de operación: Proteobacteria: 78,99% <i>Euryarchaeota</i> : 2,77% <i>Firmicutes</i> : 0,55% <i>Nitrospirae</i> y <i>Parvarchaeota</i> aumentaron su abundancia	<i>Acidithiobacillus</i> : 70,1% <i>Ferroplasma</i> : 2,58% <i>Thiomonas</i> : 0,43%	Li et al., 2019
Biofiltro de vermicompost para la eliminación de H ₂ S.	Proteobacteria: de 85,0%, 46,1%, 62,0%, a 44,0%	<i>Rhodanobacter</i> : 28,7% <i>Halothiobacillus</i> : 5,0% <i>Thiobacillus</i> : 3,5% <i>Mizugakiibacter</i> : 2,7%	Tian et al., (2020)
Biofiltro de lecho escurrido inoculado con lodo activado enriquecido en bacterias nitrificantes y SOB. Eliminación de H ₂ S y NH ₃ .	Proteobacteria: 50-80% Bacteroidetes: 10-20% Actinobacteria: 5- 10 Acidobacteria: 2-8%	<i>Rhodanobacter</i> : 15-20% <i>Thiobacillus</i> : 5-20%	Ying et al (2020)
Biofiltro de lecho escurrido inóculo con cultivo enriquecido en bacterias degradadoras de H ₂ S y NH ₃ para el tratamiento de gases de un relleno sanitario.	Tras 2 años de operación: <i>Firmicutes</i> : 50-80% Proteobacteria: 17 a 42 % Actinobacteria: 0,5-7%	Tras 2 años de operación <i>Bacillus</i> : 31,9% <i>Pseudomonas</i> : 5-16% <i>Paenibacillus</i> : 4,41 % <i>Brevibacillus</i> : 4,63 %	Zheng et al., 2021

Proteobacteria fue el filo más abundante en la mayoría de los estudios, resultado que es esperado ya que la mayor parte de las SOB y bacterias nitrificantes pertenecen a este filo, sin embargo, hay una mayor variabilidad respecto a los demás filos presentes en los biofiltros (Tabla 1.3) que puede deberse al tipo de lecho o inóculo usado. También se observa que entre los géneros más abundantes se encuentra SOB, pero no AOB ni NOB autótrofas, que son las bacterias más comúnmente asociadas a la oxidación del amoniaco. Este resultado junto con el hecho que en varios sistemas de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃, la oxidación del amoniaco es parcial o no

sucede (Tabla 1.2), indican que las bacterias nitrificantes son la población más sensible en el proceso, a pesar de que la remoción de NH_3 no se ve afectada ya que puede ser removido por sorción o neutralización. Sin embargo, a largo plazo la acumulación de amonio puede afectar la sorción de los gases en el lecho y la actividad microbiana. De forma que es deseable promover la oxidación del amoniaco durante la biofiltración.

1.5 Biofiltración en Colombia

1.5.1 Olores ofensivos en Colombia y normativa asociada

Los olores ofensivos siempre han sido un aspecto de interés de la población y por consiguiente requiere de su seguimiento y de una normativa para garantizar el bienestar de las personas. En Colombia, desde 1979 se han establecido normas generales para preservar, restaurar y mejorar las condiciones sanitarias que inciden sobre la salud humana (MinSalud and OPS, 2012), pero sólo hasta 2006 se establecieron límites de concentración para 15 sustancias identificadas como causantes de olores ofensivos (MAVDT, 2006). Estudios realizados posteriormente para evaluar esta problemática, y la revisión de la legislación internacional (MinSalud and OPS, 2012) permitieron desarrollar la normativa actual, la resolución 1541 de 2013, sobre sistema de medición de olor a nivel sensorial, a través de olfatometría dinámica, y a nivel analítico, por cuantificación de los compuestos relacionados con el olor. También se definieron los límites de olor o calidad del aire para diferentes actividades y compuestos (MADS, 2013), e incluye la evaluación de quejas de la comunidad por olores ofensivos por la autoridad ambiental competente, que establecerá la necesidad o no de implementar un plan de reducción de olores por la industria generadora de los olores ofensivos.

1.5.2 Sistemas de biofiltración en Colombia

Ya que la legislación relacionada con olores ofensivos es reciente, pocas industrias tienen un sistema de control de olores instalado. En el caso de las industrias relacionadas con la cría y explotación de animales, que es la de mayor número de quejas (IDEAM, 2012), es común el uso de barreras arbóreas e instalación de rompevientos para evitar la dispersión del olor a comunidades vecinas que, si bien disminuyen la afectación, no eliminan el problema. También se ha usado un catalizador orgánico que permite la degradación de los contaminantes, cuando son emitidos por

fuentes fijas, aunque esta opción sólo permite el control del olor en zonas pequeñas y requiere de una inversión continua (Baena and Hernández, 2012).

Respecto al uso de métodos biotecnológicos en Colombia, en la Tabla 1.4 se muestran los trabajos reportados a escala laboratorio y proyectos en campo, relacionados principalmente con la remoción de H₂S por medio de biofiltración. Recientemente en la Universidad Santo Tomás, el grupo de investigación de Tecnologías Ambientales (INAM-USTA) ha realizado ensayos de biofiltración de ácido acético, un gas producido en la industria avícola, usando como lecho compost de pollinaza en mezcla 1:1 con cascarilla de arroz (tamaño de partícula (5-10 mm) y con residuo de poda (tamaño partícula <25mm) (EBRT: 60s). La evaluación de los medios filtrantes se realizó a través de la exposición a diferentes concentraciones del contaminante, iniciando en un valor de 200 ppm y llegando hasta 400 ppm con un incremento de 100 ppm. Cada ensayo tuvo una duración de 1 o 2 semanas, obteniendo eficiencias de remoción para 200 y 300 ppm por encima de 99,9% y para 400 ppm se observó una caída en el nivel de remoción llegando a una eficiencia del 77,1%. Se encontró que el lecho con residuos de poda era más eficiente en cuanto a su remoción respecto al de cascarilla de arroz para la eliminación de ácido acético (Forero et al., 2017).

Estas experiencias en el país demuestran que, aunque se ha tenido la intención de adaptar la biofiltración a sistemas industriales, existen dificultades a la hora del diseño y mantenimiento de los sistemas. Además, demuestra la importancia de entender los requerimientos de los sistemas biotecnológicos para lograr un alto rendimiento y mayor vida útil.

Tabla 1.4. Proyectos de biofiltración realizados en Colombia.

Entidad (Referencia)	Gas tratado	Características biofiltro	Resultados
Universidad del Valle – Biofiltros a nivel laboratorio	H ₂ S producido químicamente por la reacción entre sulfuro de sodio y ácido sulfúrico.	Biofiltro cilíndrico (h: 0,86 m y diámetro 0,195 m) Lecho: suelo, carbonilla y ceniza volcánica (Rueda Saa, 2001)	ER H ₂ S > 90% a cargas superficiales de 30-70 m ³ m ² /h y concentración de entrada hasta 2100 ppm.
		Biofiltros cilíndricos empacados a 1m de altura (V: 0,2m ³) Lecho: bagazo de caña, mezcla de bagazo de caña y piedra pómez (4:1) Inóculo: Mezcla de lodos activados de diferente origen aclimatados en medio con tiosulfato. (Mora et al., 2005)	ER H ₂ S: 99% desde el primer día durante 100 días de operación. ER disminuyó drásticamente tras interrupción en el suministro de oxígeno y el sistema no pudo recuperar la actividad de remoción. Se observó crecimiento de SOB acidófilas y neutrófilas.
PTAR Rio Frío, Bucaramanga (Portilla and Sáez, 2007)	H ₂ S producido por uno de los biorreactores UASB de la planta. [H ₂ S] promedio 1142 ppm	Biofiltro a escala industrial con lecho de compost de 12 meses, Caudal: 30 m ³ /h Humedad: 45%.	t aclimatación: 8 días ER H ₂ S: 99% Eficiencia disminuyó cuando la concentración de H ₂ S subió a 1500 mg/L
Central Hidroeléctrica El Paraíso- Tanque de aquietamiento (Quintero and Hernández del Toro, 2017; Sutachan Cuevas and Moreno Ocampo, 2012)	H ₂ S > 727 ppm, con picos de 1000 ppm NH ₃ > 999ppm COVs: > 200 ppm	Una unidad de biofiltración abierta, en campo Lecho: suelo orgánico y gallinaza	Tras 6 meses de operación, el sistema disminuyó su eficiencia de eliminación de H ₂ S.
		4 biofiltros abiertos en campo. Lecho: compost de palo de clavel y palo de rosa (30/70)- V: 106 m ³ EBRT: 30 s. Carga H ₂ S: 18,7 g/m ³ h	Aclimatación: 3 meses ER H ₂ S promedio > 93% durante 8 meses pH operación 1,5 -2 Humedad lecho >50%
		Cambio de lecho a turba y a sistema cerrado. Implementación de sistemas automáticos de riego para humedecer el biofiltro	ER H ₂ S promedio: 97% por 2 años.
Estación de bombeo Norte de Aguas Residuales en Santa Marta (Alvarez Mancilla et al., 2011)	H ₂ S max. en el ambiente: 3,5 ppm	Biofiltro en campo para remoción de H ₂ S Material de lecho: bagazo de caña de azúcar.	Aclimatación: 14 días ER H ₂ S: 80-100% durante 1 mes (tiempo del ensayo)

1.6 Justificación

El control de gases que generan olores ofensivos se ha convertido en una necesidad en la medida en que los centros urbanos crecen y se acercan a zonas de manejo de residuos sólidos y líquidos como las plantas de tratamiento de aguas residuales. La biofiltración es una alternativa de alta eficiencia, económica y ecológicamente más limpia que los procesos fisicoquímicos para la eliminación de gases. Sin embargo, aún se presentan retos en su implementación a escala industrial como la conservación de la alta eficiencia a largo plazo bajo condiciones de operación que suelen ser variables, como cambios en la concentración de los gases y cambios en las propiedades del lecho de un biofiltro. Ya que estas condiciones transitorias afectan a la actividad y robustez de comunidad microbiana presente en el biofiltro y por consiguiente su desempeño, la caracterización de la comunidad microbiana y de su actividad en un sistema de biofiltración es fundamental para entender la relación entre la comunidad microbiana y la eficiencia del sistema y así mismo proponer estrategias de optimización de la biofiltración que permitan mejorar la biofiltración en condiciones industriales de mezclas de contaminantes y condiciones transitorias. En la biofiltración de H₂S y NH₃, gases emitidos en mayor proporción en las PTAR, aún son pocos los estudios de la comunidad microbiana involucrada en el proceso y la mayoría de ellos se han realizado en biofiltros de lecho escurrido (Tablas 1.2 y 1.3), que tienen una comunidad microbiana previamente adaptada, a pesar de que los biofiltros de lechos orgánicos son el tipo de configuración más empleada a nivel industrial por su facilidad de uso y bajo costo (Barbusiński et al., 2021). En los biofiltros, la acumulación de subproductos, como amonio, pueden afectar la sorción de los gases en el lecho y la actividad microbiana, especialmente la de las bacterias nitrificantes, de forma que la vida útil de los biofiltros se puede ver reducida considerablemente. Así que es deseable promover la oxidación del amoniaco durante la biofiltración y también el desarrollo de una comunidad microbiana robusta frente a las condiciones transitorias presentes en la operación a nivel industrial. Una forma de lograr este efecto podría ser a través de la inoculación del lecho con un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre y someter el biofiltro a condiciones transitorias.

Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo buscó establecer si el desempeño de un sistema de biofiltración de H₂S y NH₃, bajo condiciones transitorias de concentración que simulan la operación

industrial, puede ser mejorado inoculando el lecho orgánico del biofiltro con un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo general

Evaluar los cambios en la remoción simultánea de H_2S y NH_3 y en la comunidad microbiana bajo condiciones transitorias que simulan la operación industrial, en un sistema de biofiltración de lecho orgánico.

1.7.2 Objetivos específicos

1. Determinar la fluctuación en las emisiones de H_2S , NH_3 y COVs durante la operación de una PTAR en temporada seca y de lluvias.
2. Establecer un sistema de biofiltración usando un lecho orgánico como material de empaque para la eliminación simultánea de H_2S y NH_3 a escala laboratorio.
3. Obtener un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y bacterias oxidantes de azufre para su uso en la biofiltración de H_2S y NH_3 .
4. Evaluar la eliminación simultánea de H_2S y NH_3 y la comunidad microbiana en un sistema de biofiltración sin inóculo y con un inóculo de un cultivo microbiano especializado, bajo condiciones transitorias de concentración

2. Evaluación de las emisiones de H₂S, NH₃ y compuestos orgánicos volátiles (COVs) en la PTAR El Salitre a través del régimen climático de Bogotá.

En el presente capítulo se muestran los resultados de la evaluación de emisiones de gases en la PTAR del Salitre (Bogotá, Colombia) durante la temporada seca y la temporada de lluvias con el fin de determinar el tipo de fluctuaciones en la concentración de H₂S, NH₃ y COVs a las que se enfrentaría un sistema de control de emisiones en una PTAR. Para cumplir este objetivo se realizaron mediciones de las concentraciones de H₂S, NH₃ y COVs, usando un detector portátil de gases, en una zona cubierta del área de pretratamiento de la PTAR El Salitre en Bogotá, Colombia durante los meses de febrero y marzo, que corresponden a la temporada seca, y en los meses de abril y mayo, que corresponden a la temporada de lluvias. Adicionalmente se identificaron los COVs presentes en las emisiones mediante cromatografía de gases acoplada a un detector de masas.

Los resultados de este objetivo se presentaron en el III Congreso Internacional en Tecnologías Limpias, realizado del 8 al 9 de noviembre de 2018 en Bogotá, Colombia y en el CMAS 2019 Air Pollution Conference Brazil/4th CMAS South America, realizado del 22 al 24 de julio de 2019 en Belo Horizonte, Brasil.

2.1 Introducción

Los olores ofensivos son una problemática social ya que afecta la salud y calidad de vida de las personas cercanas a sitios de emisiones de estos olores (Hayes et al., 2014). En Bogotá, Colombia, entre el 2013 y 2021 se atendieron aproximadamente 1000 quejas relacionadas con olores ofensivos, que se generaron principalmente en las actividades de tratamiento de aguas residuales, rellenos sanitarios o disposición de residuos y la fabricación de productos alimenticios (Secretaría Distrital de Salud. Observatorio de Salud de Bogotá-SaluData, 2021). En el primer semestre de 2016, el 47% de las personas que presentaron quejas, manifestaron que el olor era muy ofensivo y

el 94% consideró que estos olores pueden afectar su salud, especialmente por la presencia de síntomas relacionados con irritación de mucosas y afectación de vías aéreas superiores (Secretaría del Medio Ambiente. Observatorio de Salud Ambiental, 2016).

Dada esta situación, se han establecido normas generales para preservar, restaurar y mejorar las condiciones sanitarias que inciden sobre la salud humana (Minsalud and OPS, 2012). La normativa más reciente, la resolución 1541 de 2013, define los límites de olor o calidad del aire para diferentes actividades y compuestos (MADS,2013). En el caso de las PTAR, se considera al sulfuro de hidrógeno (H₂S) como el principal causante de olor ofensivo y su nivel máximo permitido es 30 µg/m³ durante 1h y 7 µg/m³ durante 24h. Sin embargo los olores ofensivos emitidos por una PTAR también se deben a la presencia de NH₃ y compuestos azufrados orgánicos (Barbusiński et al., 2021).

2.1.1 Olores ofensivos en PTAR El Salitre

La PTAR El Salitre (Bogotá, Colombia) es una planta de tratamiento primario de aguas químicamente asistido, y de lodos por digestión anaerobia mesofílica, que capta las aguas residuales generadas en la cuenca del Río Salitre, la cuenca del humedal Torca y la cuenca del humedal la Conejera, correspondiente a una población equivalente a dos millones de ciudadanos. Posee un caudal promedio de tratamiento de 4 m³/seg, con una eficiencia de remoción del 40% de la DBO y un 60% de los sólidos suspendidos totales. Dado el volumen de aguas residuales que maneja y su ubicación cercana a zonas residenciales, el sistema de manejo de olores consiste principalmente en el monitoreo constante de la eficiencia de la digestión de lodos, el uso de barreras arbóreas y el monitoreo cualitativo trimestral del olor (EAAB, 2021). De acuerdo con los informes de gestión de la planta, estas acciones evitan la afectación por olores generados por la planta en los barrios aledaños, pero estos sí son perceptibles al interior de esta. Un estudio realizado en 2010 (Air Clean System, 2010), identificó la zona de captación de agua y de pretratamiento como la de mayor concentración de H₂S, sobrepasando el umbral establecido por normativa correspondiente en todas las mediciones realizadas. Además, el estudio determinó que la mayor emisión de H₂S se produce en tiempo seco con elevada radiación solar y bajas velocidades de viento, y debido a que no se mantienen a lo largo del año, se consideran como condiciones críticas de generación de olores ofensivos.

En la Figura 2.1 se puede observar que en una misma semana se presenta un aumento drástico en la concentración de H_2S y que existen variaciones estacionales, donde en los meses generalmente secos como febrero, junio y julio, la emisión de H_2S es más alta. Así mismo se ve que, en la mayoría de los meses, se sobrepasa el límite de exposición ocupacional a H_2S establecido por el Instituto Nacional de Salud (10 ppm), de forma que esto puede afectar la salud y bienestar de los empleados de la planta, así como la operación de la misma por efecto de corrosión sobre estructuras y equipos electrónicos cercanos a las zonas de alta emisión de olores, de manera que representan un costo de mantenimiento continuo. Estos resultados muestran la necesidad de implementar medidas de control de gases y para esto se debe caracterizar detalladamente las emisiones de la planta, en especial las posibles variaciones diarias y estacionales en las concentraciones de los gases, ya que los sistemas de biofiltración pueden ser sensibles a estas condiciones (Rene et al., 2013). Por esta razón, en este estudio se determinó la fluctuación en las emisiones de H_2S , NH_3 y COVs durante la operación de la PTAR en temporada seca y de lluvias.

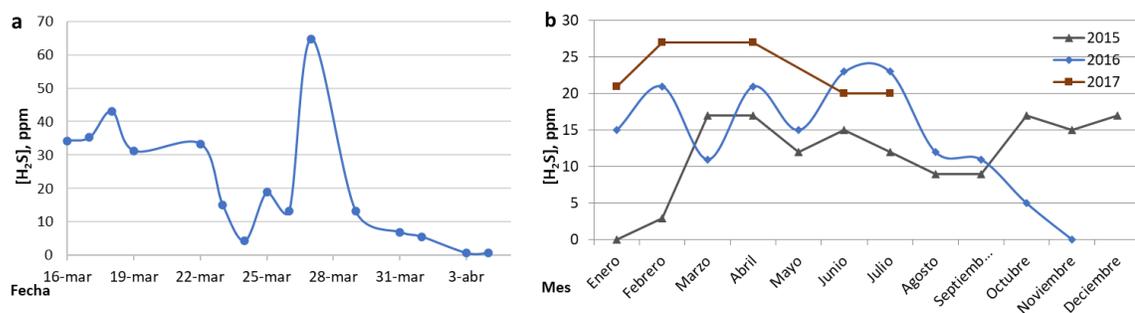


Figura 2.1. Evaluación de la concentración de H_2S en la PTAR El Salitre en la zona de captación de agua. a) Seguimiento diario desde marzo 16 a abril 04 de 2010. b) Historial mensual de concentración de H_2S en el punto de captación de agua (Informes de actividades-PTAR Salitre, EAAB, 2015-2017)

2.2 Metodología

2.2.1 Zona de monitoreo

La medición de gases se realizó en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre, donde previamente el personal de la planta identificó este lugar como una zona de alta emisión de olores (Figura 2.2a). La sonda se ubicó específicamente en una zona cerrada donde el agua residual es dirigida hacia las rejillas de cribado de residuos sólidos, de manera que las medidas tomadas

corresponderían con las concentraciones reales de la corriente gaseosa a tratar a través de un sistema de biofiltración (Figura 2.2b).

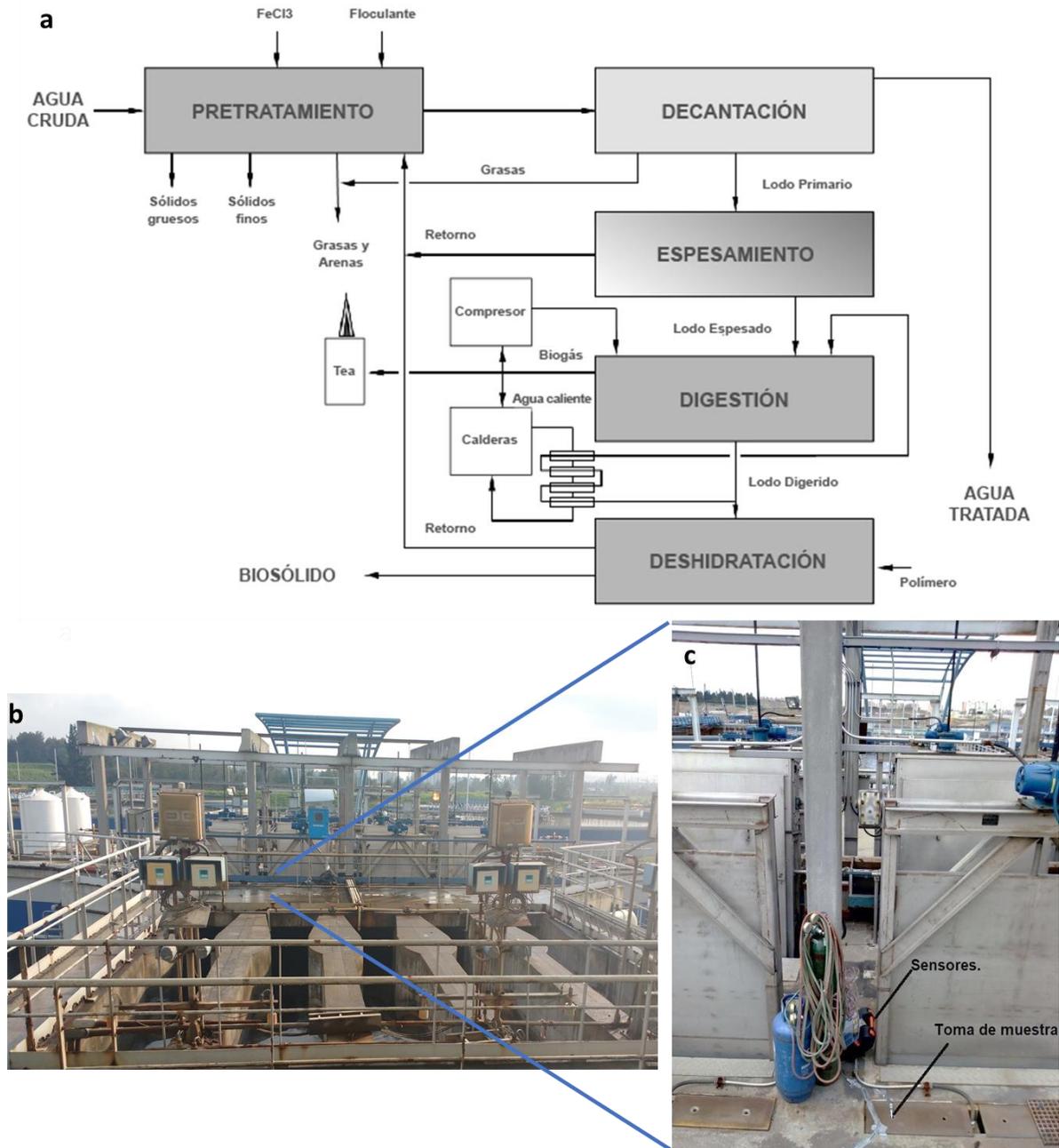


Figura 2.2. PTAR El Salitre y zonas de muestreo de gases. a) Diagrama de proceso de tratamiento de aguas residuales (EAAB, 2021); b) Entrada de agua a rejillas de cribado de sólidos; c) Ubicación de equipos detectores y sonda de muestreo.

2.2.2 Equipos de medición

Se usó el detector de gases portátil MultiRAE (PGM-6228 RAE Systems) para las mediciones de concentración de gases en la PTAR. Este equipo cuenta con 4 sensores específicos:

- Sulfuro de hidrógeno (H_2S): celda electroquímica con rango de detección 0,1-100 ppm
- Amoniaco (NH_3): Sensor electroquímico con rango de detección 1-100 ppm
- Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs): detector de fotoionización con rango de detección 0,1-5000 ppm
- Oxígeno(O_2): sensor de tipo celda galvánica con rango de detección 0-40%

Antes de empezar las mediciones, este equipo fue calibrado con H_2S 25 ppm en nitrógeno y en mezcla con CO (50 ppm), metano (12%) y oxígeno (12%) (Mezcla de gas de calibración RKI 81-0154RK-04) y NH_3 50 ppm en aire (20% oxígeno en nitrógeno-Calgaz #A0432282), e isobutileno 100 ppm en aire para calibración del sensor de COVs (RAE SYSTEMS-600-0002-000).

Cuando la concentración de H_2S superó el límite de detección del equipo MultiRAE, se realizó una nueva medición de gases usando el equipo de detección Biogas 5000 (Landtec), que cuenta con un sensor específico para H_2S hasta 5000 ppm.



Figura 2.3. Detectores portátiles de gases usados durante el monitoreo de gases. a) MultiRAE (PGM-6228 RAE Systems); b) Biogas 5000 (Landtec)

2.2.3 Tiempos de monitoreo

El monitoreo de gases se realizó desde el 20 de marzo al 28 de mayo de 2018, durante 5 días a la semana. La frecuencia de toma de datos fue de dos minutos. Cada dos días se retiraba el detector de la zona de muestreo para evitar la saturación del equipo y realizar su calibración con aire libre de contaminantes, posteriormente se continuaba con el monitoreo. En las mediciones realizadas

en la semana del 20 al 28 de marzo, se detectaron concentraciones de H₂S mayores a 100 ppm, por lo tanto, se realizó un monitoreo adicional del 15 de febrero al 18 de marzo de 2019 incluyendo el uso del equipo Biogas 5000. Los periodos de medición cubren la temporada seca y de lluvias del primer semestre del año del régimen bimodal de lluvias característico de la ciudad de Bogotá (IDEAM, 2011). Los datos de precipitación pluvial y demanda biológica de oxígeno (DBO) de los meses de medición fueron suministrados por la PTAR El Salitre.

Los datos obtenidos con el equipo MultiRAE se descargaron a un computador portátil a través del programa ProRAE Studio II (RAE Systems). Los datos obtenidos con el equipo Biogas 5000 se descargaron usando el programa Landtec Systems Gas Analyzer Manager (LSGAM- LANTEC).

El sensor de amoníaco presenta interferencia por la presencia de H₂S cuando su concentración es mayor a 10 ppm, de forma que se realizó una corrección en la lectura de amoníaco usando la ecuación 2.1 antes de analizar los datos.

$$[NH_3]_{real} = [NH_3]_{leída} - 0,165 * [H_2S] \quad (\text{Ec. 2.1}),$$

donde la pendiente es el factor de corrección por la presencia de H₂S y el intercepto de la curva corresponde a la lectura real de amoníaco.

El análisis estadístico de los datos obtenidos (análisis descriptivo y análisis de correlación) se realizó en Excel (Microsoft) y RStudio (RStudio PBC).

2.2.4 Identificación de COVs

En el mes de noviembre de 2018, que corresponde a la temporada lluviosa, y en marzo de 2019, que corresponde a la temporada seca, se realizó la recolección de muestra de aire en la zona de estudio en horas de la mañana y de la noche para la identificación de COVs, para un total de 4 muestras. El muestreo se realizó en la zona de pretratamiento, donde el gas emitido fue bombeado mediante un muestreador de aire Xitech (modelo 1060) hacia una bolsa Tedlar de 1 L (CEL Scientific). Las bolsas fueron recubiertas por aluminio, almacenadas a 4 °C y llevadas en las siguientes 24 h de la recolección al Laboratorio Integrado de Ingeniería Civil y Ambiental de la Universidad de los Andes, donde se realizó el análisis de cromatografía de gases acoplado a masas,

siguiendo el método ASTM 6520-06/EPA 8260B (EPA, 1996) para la determinación de compuestos orgánicos volátiles.

2.3 Resultados y Discusión

2.3.1 Medición de gases (H_2S , NH_3 y COVs)

En la primera semana del monitoreo se observó que el H_2S es el gas de mayor concentración en las emisiones de la zona de pretratamiento, resultado que coincide con lo encontrado en otras PTAR en esta misma sección de la planta (Jiang et al. 2017). También se observó que las mayores emisiones de gases se presentan en horas de la noche, y que cerca de medianoche se presenta el periodo de mayor concentración de gases, donde la concentración de H_2S superó los 100 ppm (Figura 2.4a). Para el amoníaco y los COVs se observó la misma tendencia, es decir, de mayor concentración del gas durante la noche (Figura 2.4b y 2.4c, respectivamente).

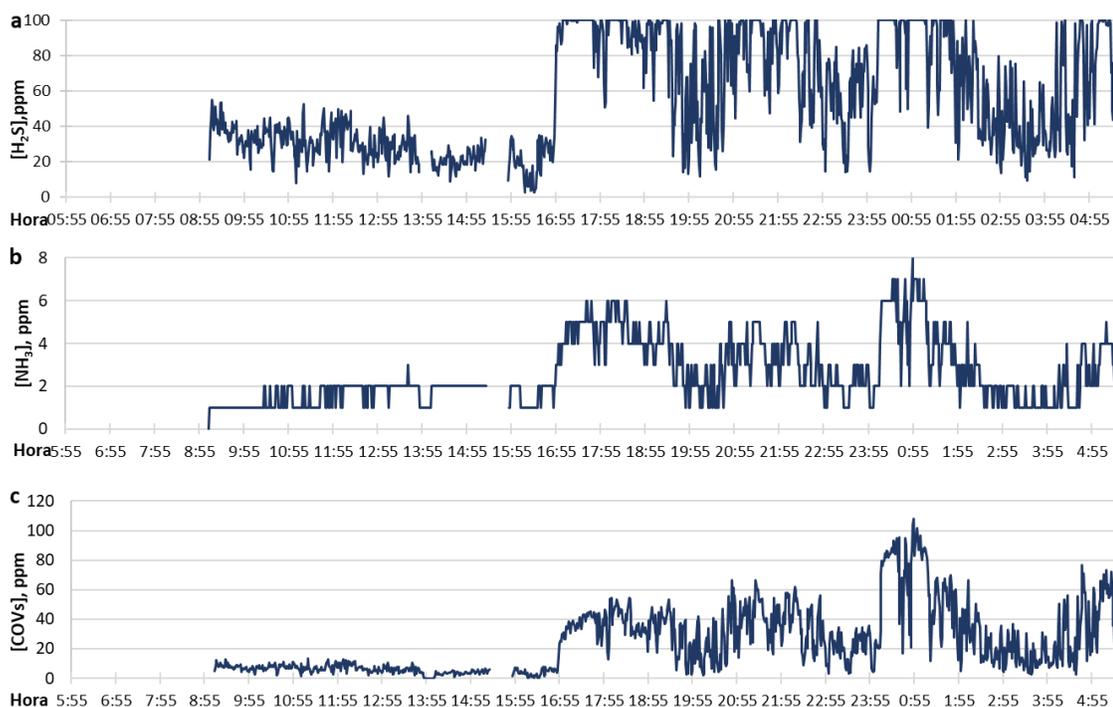


Figura 2.4. Concentración de a) H_2S b) NH_3 , y c) COVs durante el 22 de marzo de 2018.

Esta variabilidad diaria en las emisiones no ha sido muy estudiada en las PTAR. Escalas et al.(2003) encontraron que algunos COVs tenían mayor concentración en el periodo de 12-22h, donde la cantidad de carbono orgánico disuelto era mayor. Algunos estudios en alcantarillados y

estaciones de bombeo indican una tendencia similar donde la concentración de H₂S y COVs llega a un máximo cerca de las 18 h y luego cae durante la noche, con un mínimo a las 4 h (Sivret et al., 2017), o es menor en horas de la mañana (Pandey et al., 2016). Si bien la división de horas es diferente a la realizada en este estudio, es claro que en las horas de la mañana la concentración de gases es menor que en horas de la tarde y noche. Esta tendencia diaria es posible que se deba al comportamiento hidráulico del alcantarillado y la planta, así como a la actividad biológica del agua residual (Jiang et al., 2017). En este estudio la variabilidad diaria en las emisiones también puede deberse a que en la noche la velocidad del viento y la temperatura disminuyen, de forma que se minimiza la volatilización de los gases y su difusión hacia los alrededores, mientras que en la mañana y en la tarde la temperatura aumenta al igual que la velocidad del viento, permitiendo que los gases se difundan y se diluyan en el aire (Air Clean System, 2010).

De acuerdo con los resultados de la variabilidad diaria en la concentración de gases, los datos diarios se dividieron entre “día”, desde 6 am a 6 pm, y “noche”, desde 6 pm a 6 am, para establecer los promedios de la concentración de gases en cada momento del día, y estos datos fueron usados para comparar la emisión de gases durante los meses de muestreo (Figura 2.5). Se evidenció que, al aumentar la precipitación pluvial diaria, se disminuye la concentración de los gases haciendo que no haya diferencias entre día y noche, como se observa durante los meses de abril y mayo. En el caso del amoníaco (Figura 2.5b), el promedio de la concentración durante la temporada de lluvias estuvo entre 0 y 1 ppm, y la máxima concentración de amoníaco registrada fue 2 ppm durante la noche de los días de baja precipitación. Este comportamiento se debe a que las aguas residuales provienen de un canal abierto y la planta también es abierta, de forma que las precipitaciones diluyen la materia orgánica en el agua residual y por consiguiente disminuye la producción de H₂S, NH₃ y COVs, como se confirmó mediante el análisis de correlación entre la concentración de los gases, precipitación diaria y demanda biológica de oxígeno (DBO) (Anexo A, Tabla 2).

Este comportamiento estacional era esperado ya que se ha reportado previamente que los meses de verano o secos están asociados a una mayor concentración de olores debido a que la volatilización de los gases es favorecida por la alta temperatura, y que en los meses de invierno se presentan los mínimos niveles de emisión, debido a bajas temperaturas y al efecto de la precipitación sobre el agua residual (Jiang et al., 2017; Sivret et al., 2017).

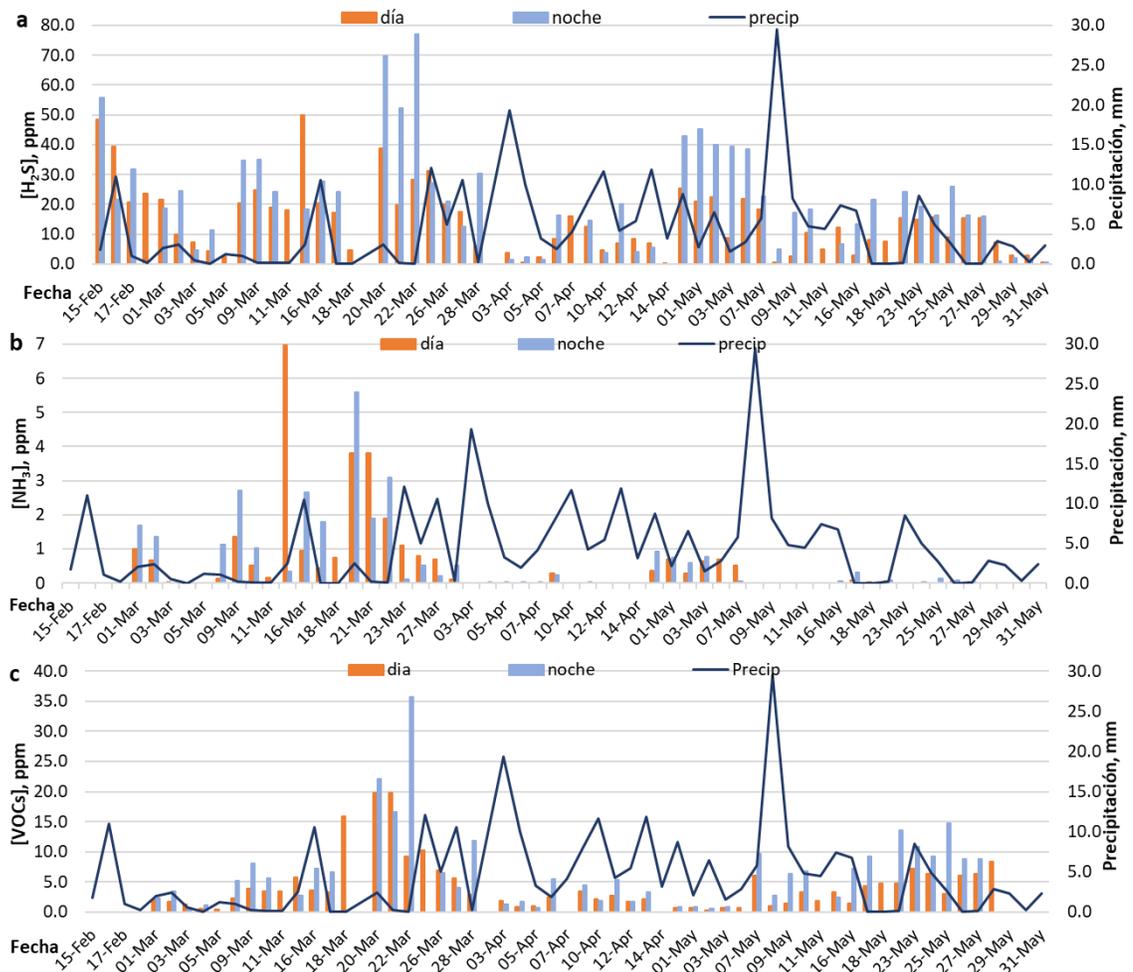


Figura 2.5. Precipitación pluvial y promedio de emisión en la jornada diurna y nocturna de a) H₂S, b) NH₃ y c) COVs durante el periodo de muestreo en la PTAR El Salitre. Los datos del 15 febrero a 18 marzo corresponden al 2019; los datos del 20 al 28 de marzo corresponden al 2018. En los días 15 a 18 de febrero de 2019 no se realizaron mediciones de NH₃ ni COVs.

Durante la temporada seca la concentración de H₂S estuvo entre 8,7 y 30,9 ppm (9,1-32,3 mg/m³) durante el día y entre 14,7 y 66,3 ppm (15,3- 69,2 mg/m³) durante la noche, mientras que en la temporada de lluvias estuvo entre 4,9 y 19,6 ppm (5,1-20,5 mg/m³) durante el día y entre 6,8 y 38,1 ppm (7,1-39,8 mg/m³) durante la noche (Anexo A, Tabla 1). Estos valores son superiores a los reportados para la zona de pretratamiento en diferentes PTAR, que suelen estar en un rango de 0,008-0,300 mg/m³ (Jiang et al., 2017). Sólo en una PTAR se han reportado valores similares a los encontrados, donde la concentración de H₂S estuvo entre 0,001-25 ppm (Lasaridi et al., 2010). Sin embargo, se debe tener en cuenta que las concentraciones medidas en este estudio corresponden a una zona cerrada, mientras que las mediciones en los estudios mencionados suelen ser en zonas abiertas donde hay inmisión de los gases.

La concentración de COVs durante la temporada seca estuvo entre 1,2 y 16,3 ppm durante el día y entre 1,8 y 24,8 ppm durante la noche, mientras que en la temporada de lluvias estuvo entre 1,5 y 5,6 ppm durante el día y entre 2,2 y 10,7 ppm durante la noche (Anexo A, Tabla 1). Se debe tener en cuenta que los COVs corresponden a una mezcla compleja de compuestos de forma que su análisis debería estar acompañada de la identificación de los compuestos orgánicos presentes en mayor abundancia y si es necesario, de su posterior cuantificación para seleccionar el tratamiento adecuado para la eliminación de los COVs, ya que, aunque estos compuestos no se suelen encontrar en alta concentración, si pueden afectar el desempeño de los sistemas de tratamiento de olores (Sivret *et al.* 2016).

Respecto al amoníaco, la concentración promedio en la temporada seca durante el día estuvo entre 1 y 1,5 ppm, y en la noche entre 1-3 ppm, mientras que en la temporada de lluvias no superó 0,8 ppm, donde en su mayoría fue menor al límite de detección del equipo (>1 ppm). Ravina *et al.*,(2019) encontraron resultados similares donde la concentración de NH₃ fue menor 0,1 ppm, excepto en la zona de cribado de planta, donde fue de 2 ppm. La baja emisión de amoníaco de las aguas residuales comparada con el H₂S y COVs puede deberse a que la volatilización del amoníaco sucede a pH mayor a 8, condición que no es común en aguas residuales, cuyo pH está entre 6, 5 y 8 (Kogan and Torres, 1997), específicamente en la PTAR El Salitre, el pH del agua residual se encuentra entre pH 7,4 y 7,8 (EAAB, 2021). Además, la constante de Henry del amoníaco es mayor a la del H₂S y a la de varios de los COVs identificados en varias PTAR (Jiang *et al.*, 2017) y puede ser consumido por las bacterias en el agua residual (Sapek, 2013), de forma que no se volatiliza en alta cantidad. Sin embargo, el amoníaco en forma de amonio se va acumulado en los lodos producidos durante el tratamiento del agua residual, así que la mayor emisión de amoníaco en las PTAR se suele presentar en decantadores, pozos de lodos activados y de tratamiento de biosólidos, donde se ha reportado que la concentración está entre 36-800 µg/m³ (Jiang *et al.*, 2017).

Durante la temporada de lluvias, la diferencia de concentración de gases entre día y noche no fue tan grande como lo fue en la temporada seca (Anexo A, Figura 1). Sin embargo, en los días de baja precipitación (3-6 mm), se presentaron picos en la concentración de 3 a 5 horas de duración, como muestra la Figura 2.6 para el caso del H₂S, que deben ser considerados dentro de las variaciones diarias en la concentración de las emisiones.

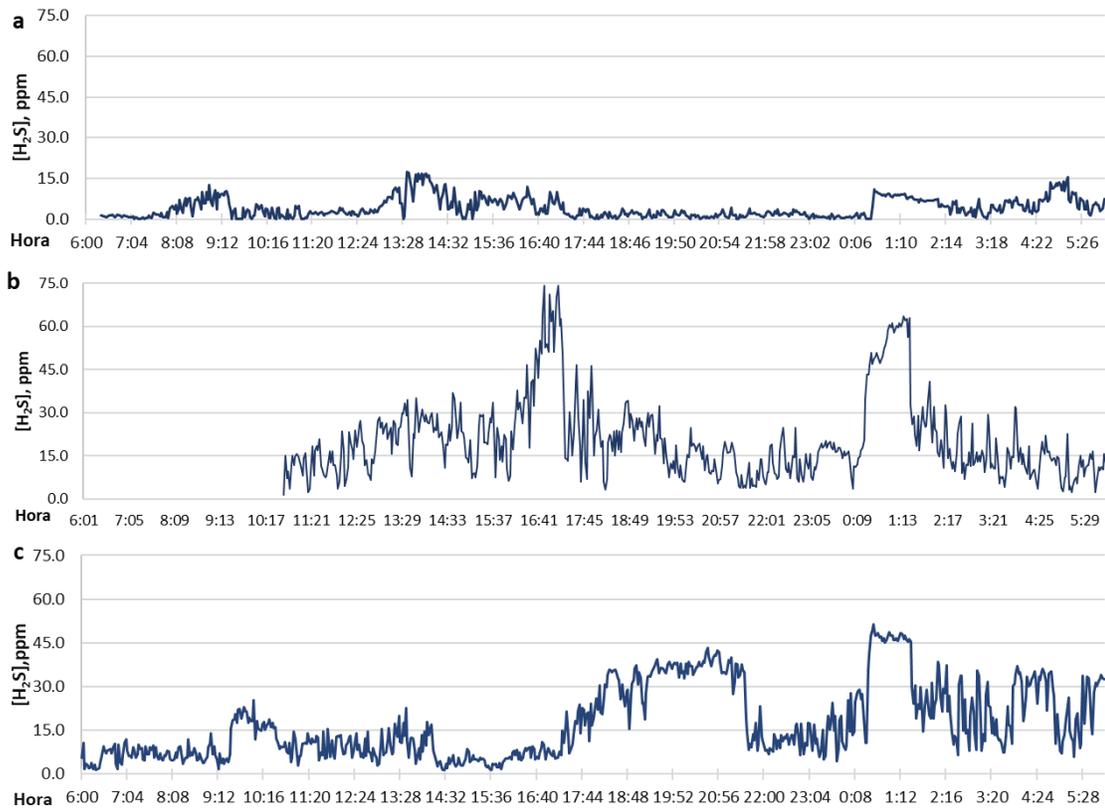


Figura 2.6. Concentración de H₂S en días de alta precipitación a) 10 de abril (11,7 mm), y de baja precipitación (b) 26 de marzo (5,0 mm), y c) 25 de mayo (7,4 mm).

Las concentraciones de H₂S, NH₃ y COVs encontradas en este estudio son similares a las reportadas como la concentración en la corriente de entrada para el tratamiento de gases mediante biofiltración en diversas PTAR (Tabla 2.1), de forma que se puede afirmar que es posible aplicar la biofiltración para la eliminación de olores ofensivos generados en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre.

Tabla 2.1. Concentración de H₂S, NH₃ y COVs en la corriente de entrada a sistemas de biofiltración en PTAR. NR: No reportado.

Lugar de emisión	H ₂ S	NH ₃	COVs	Referencia
Estación de bombeo en PTAR Yazd, Irán.	17,8-23,4 ppm Picos de 30-40 ppm	1,9-2,7 Picos de 2,5-3 ppm	NR	Alinezhad et al., 2019
Estanque de lodo espesado y zona de deshidratación de lodos en PTAR municipal en Beijing, China.	1,6 – 38,6 mg/m ³	0,1-7 mg/m ³	NR	Liu et al., 2017
PTAR Subiaco en Perth, Australia	31,86 ppm (0,04 g/m ³)	1,94 ppm (1,35 mg/m ³)	NR	Rabbani et al., 2016
Zona de tornillos, rejillas de cribado y deshidratación de biosólido en una PTAR en Menasha, Estados Unidos.	1,1 ± 1,2 ppm	5,0 ± 6,5 ppm	26,1 ± 38,7 ppm	Kleinheinz and Langolf, 2016
Línea principal de entrada de agua residual de una PTAR en Barcelona, España.	16-24 ppm en promedio. Picos de 58 ppm	NR	1,6-2,5 ppm en promedio. Picos de 6-8 ppm	Guimerà et al., 2015

2.3.2 Identificación de COVs emitidos en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre

En la temporada de lluvias (noviembre de 2018) se identificaron 77 compuestos en el día y 69 en la noche, mientras que en la temporada seca (marzo 2019) se identificaron 65 en el día y 54 en la noche. En la Tabla 2.2 se muestran los compuestos que presentaron una abundancia relativa mayor a 0,1% que fueron identificados en todas las muestras. En ambas temporadas se observa un mayor número de compuestos durante la jornada diurna que en la nocturna y esta diferencia también se observa en la abundancia de algunos compuestos como el tolueno y el D-limoneno. Este resultado podría deberse a que durante el día hay mayor actividad industrial, de forma que habría un mayor número de contaminantes en el agua residual y en mayor concentración (Nikolaou et al., 2002). Este fenómeno se ve reflejado en la concentración total de COVs, que fue mayor en los muestreos durante el día.

Tabla 2.2. Abundancia relativa de COVs presentes en las emisiones de la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre.

Compuesto	19 noviembre de 2018		04-05 marzo de 2019	
	% Día	% Noche	% Día	% Noche
[COVs], ppm	12,1	3,6	2,5	0,4
Tolueno	12,354	5,195	6,620	5,318
m-xileno o p-xileno	4,997	7,148	4,731	4,938
Nonano	4,229	4,264	4,118	3,270
D-limoneno	4,852	3,046	3,263	2,247
Tetracloroetileno (CCl ₄)	1,521	3,834	2,319	6,383
1,2,3-trimetilbenceno,				
1,2,4-trimetilbenceno o	2,114	2,275	2,236	1,920
1,2,5-trimetilbenceno				
2,6-dimetiloctano o				
3,6-dimetiloctano	1,767	1,809	2,178	2,023
Propilciclohexano	1,796	1,953	1,847	1,858
1-etil-2-metilbenceno o				
1-etil-3-metilbenceno	1,418	1,881	1,824	1,906
o-xileno	1,738	2,347	1,530	1,585
2-metiloctano o				
4-metiloctano	1,767	2,544	1,411	1,388
Dióxido de azufre (SO ₂)	0,811	1,211	1,390	2,327
Butilciclohexano	1,234	1,107	1,382	0,958
2-metilnonano	1,353	1,442	1,136	0,836
3-metiloctano	1,244	1,397	1,101	1,139
Etilbenceno	1,072	1,650	1,005	1,001
1-metil-2-(1-metiletil) benceno o				
1-metil-4-(1-metiletil) benceno (p-cimeno)	1,248	0,863	0,990	0,657
Octano, 2,4-dimetilheptano o				
2,4-dimetilhexano	0,979	1,075	0,896	0,924
α pineno	0,889	0,724	0,860	0,808
Cloroformo (CHCl ₃)	0,795	0,412	0,790	0,824
decahidronaftaleno	0,747	0,663	0,767	0,543
1,1-trimetilciclohexano	0,594	0,964	0,610	0,896
1,2,4-trimetilciclohexano	0,598	0,740	0,578	0,691
Metilmercaptano (CH ₃ SH)	0,222	0,093	0,320	0,199
Sulfuro de dimetilo ((CH ₃) ₂ S)	0,284	0,102	0,308	0,293
Sulfuro de carbono (CS ₂)	0,143	0,107	0,287	0,266
No identificados	21,579	19,885	32,354	38,564

Entre el 29 y 34% de los compuestos identificados en la corriente gaseosa corresponden a alcanos y alquenos, 17 a 26% son compuestos aromáticos y 2 a 7% son compuestos halógenos. La presencia de tolueno y xilenos en las emisiones de la PTAR está asociado a descargas de agua residual industrial proveniente de solventes orgánicos aplicados en el lavado de vehículos e industria desengrasante (Escalas et al., 2003; Ravina et al., 2019; Zarra et al., 2008). En estos estudios también se ha reportado que el tolueno es el hidrocarburo más abundante, con una concentración entre 6,33 y 388 µg/m³ en la zona de pretratamiento. La presencia de tetracloroetileno (percloroetileno) también ha sido reportado en las emisiones de agua residuales, ya que es común su uso para el lavado en seco. La emisión de terpenos como D-limoneno y α-pineno está asociada a los compuestos usados como aromatizantes en productos de aseo como detergentes (Escalas et al., 2003). Aunque estos compuestos se encuentran en una concentración mucho menor que la de H₂S y NH₃, la mezcla de COVs puede afectar la percepción del olor (Sivret et al., 2016); además, varios de ellos, como los hidrocarburos halogenados, el tolueno y xileno, son clasificados como contaminantes tóxicos del aire (EPA,2020), de forma que se requiere un análisis más detallado de su emisión para verificar el riesgo de una exposición prolongada a estos gases en la PTAR. Adicionalmente, su presencia en la corriente gaseosa a tratar mediante biofiltración puede afectar la eficiencia del proceso debido a la baja solubilidad que tienen en agua y a su toxicidad (Khan and Kr. Ghoshal, 2000).

2.3.3 Establecimiento de las concentraciones de trabajo para la biofiltración a escala laboratorio

De acuerdo con los resultados encontrados en el monitoreo de emisiones H₂S, NH₃ y COVs en la PTAR El Salitre, se evidenciaron 3 tipos de tendencias de emisiones de gases con dinámicas características:

- Temporada de lluvias, que corresponden a los meses de abril y mayo, donde las concentraciones son bajas y de baja fluctuación, y donde hay periodos de concentración 0 debido a la alta dilución del agua residual;
- Transición entre temporadas, que corresponde al mes de marzo y final de mayo, donde se presentan picos diarios de concentración alta o moderada con una duración de 2 a 3 h;

- Temporada seca, que corresponde al mes de febrero e inicio de marzo, donde a lo largo del día se presenta un periodo de alta concentración de gases durante 5 a 10 h, y un segundo periodo de concentración baja o moderada durante 14-18h.

Estas tendencias se representan en la Figura 2.7 y fueron implementadas en la concentración de entrada de los gases para la evaluación de la biofiltración simultánea de H_2S y NH_3 , a escala laboratorio (Capítulo 3)

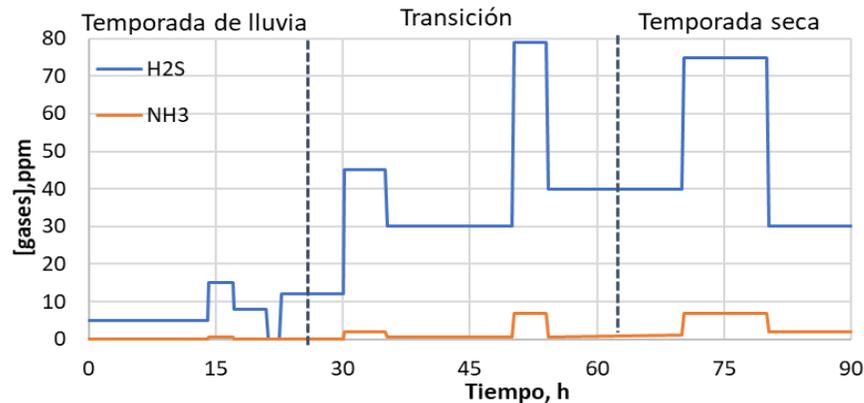


Figura 2.7. Tendencias de emisión de H_2S y NH_3 encontradas en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre.

2.4 Conclusiones

La evaluación de las emisiones de H_2S , NH_3 y compuestos orgánicos volátiles (COVs) en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre muestra que el H_2S es el gas de mayor concentración en la corriente de aire, seguido de los COVs, mientras que el amoníaco se presenta en menor concentración. Sin embargo, como los COVs son una mezcla de al menos 54 compuestos, la concentración de cada COV es baja comparada con la de NH_3 . Por esta razón, se seleccionaron H_2S y NH_3 como gases representativos de las emisiones para evaluar su eliminación a través de biofiltración a escala laboratorio simulando las tendencias de emisión halladas durante la evaluación en la PTAR. Estas tendencias son causadas principalmente por el factor climático donde hay alta variabilidad en la emisión de los gases durante la temporada seca, con picos de alta concentración y diferenciación entre la jornada diurna y nocturna mientras que, en la temporada de lluvias, la concentración de gases es baja y no hay una variabilidad significativa en las emisiones a lo largo del día. La alta variabilidad en la concentración de gases, en especial durante la temporada seca, debe ser considerada al momento de formular estrategias de control de los gases

y olores ofensivos para establecer los parámetros de sistemas que permitan la remoción eficiente de gases bajo estas condiciones. Adicionalmente, este estudio permitiría a la planta establecer planes de prevención y mantenimiento de estructuras afectadas por la alta emisión de H₂S.

3. Biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ mediante lechos de compost

En el presente capítulo se muestra el establecimiento y operación bajo diferentes condiciones de un sistema de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ usando lechos de compost. Para este fin, tres tipos de compost se obtuvieron mediante el compostaje de pollinaza y tres diferentes residuos lignocelulósicos. Posteriormente, se evaluó su uso en la biofiltración de H₂S y NH₃ para seleccionar el lecho con mayor eficiencia de remoción y capacidad de eliminación. Con el lecho seleccionado, el desempeño del sistema se determinó bajo condiciones transitorias de la carga de gases, que se varió cambiando el tiempo de residencia del gas en el lecho (EBRT) a dos niveles de concentración. También se evaluó el desempeño del sistema al disminuir la humedad del lecho. Para ambos ensayos, de cambios en la carga de gases y en la humedad del lecho, además de la eficiencia de remoción, se determinó el efecto de estas condiciones sobre la oxidación de los gases, por medio de la cuantificación de amonio, sulfato, nitrato y nitrito en el lecho de biofiltro, y sobre la abundancia de los grupos bacterianos involucrados en la oxidación de los gases.

Parte de los resultados de este objetivo fueron publicados en los artículos:

- “Simultaneous biofiltration of H₂S and NH₃ using compost mixtures from lignocellulosic waste and chicken manure as packing material” *Environmental Science and Pollution Research*. 28(19):24721-24730. 28, 24721–24730. doi: 10.1007/s11356-020-10817-w
- “Operational parameters analysis for the removal of H₂S and NH₃ under transient conditions by a biofiltration system of compost beds” *Chemical Engineering Transactions*. Vol 85: 163-168. doi: 10.3303/CET2185028

3.1 Introducción

La biofiltración es muy usada en las PTAR para la reducción principalmente de H₂S, ya que este sistema tiene bajos costos de inversión y operación respecto a otras tecnologías, y alta eficiencia de eliminación del contaminante de interés a bajas concentraciones y a alto caudal (Estrada et al., 2011; Ren et al., 2019). Uno de los aspectos que influye en el desempeño de los biofiltros, así como en el costo de inversión, es el material del lecho. Dentro de los materiales comúnmente usados, el compost cumple con la mayoría de los criterios deseables para un lecho de biofiltración y es un material de fácil obtención (Barbusiński et al., 2017). Sin embargo, el compost tiende a perder su estructura y compactarse debido a su degradación, de forma que el flujo de aire a través del lecho se ve afectado y lleva a la disminución del desempeño del biofiltro (Mudliar et al., 2010). Una manera de evitar este problema y alargar la vida útil del biofiltro es mezclar el compost con otros residuos naturales, como astillas o corteza de madera, que evitan la compactación al funcionar como material estructurante (Barbusiński et al., 2021; Nicolai and Janni, 2001). No obstante, son pocos los estudios donde se evalúa la mezcla de compost con otro tipo de residuos lignocelulósicos que provienen de residuos agroindustriales, como el bagazo de caña y la cascarilla de arroz. El uso de este tipo de materiales representa una oportunidad en valorización de los residuos disponibles en los alrededores de las industrias generadoras de olores ofensivos. Un ejemplo de ello es la evaluación de mezclas de compost con cascarilla de arroz (Forero et al., 2018) y desechos de poda (I. O. Cabeza et al., 2013) para la biofiltración de ácido acético y α -pineno, respectivamente, reportándose para ambos casos eficiencias de eliminación mayores a 90%.

Adicionalmente, es necesario determinar el desempeño de los biofiltros en condiciones más cercanas a la operación industrial. Por ejemplo, cambios en la carga de entrada de los gases por cambios en la concentración o en el flujo, y cambios en el lecho debido a la acumulación de productos de oxidación y disminución en la humedad, que puede ser una situación común en industrias donde el agua es un recurso escaso o de difícil manejo. Estas condiciones pueden causar la disminución de la eficiencia de remoción de los gases y, si se presentan de forma recurrente, pueden afectar la vida útil del biofiltro a largo plazo (Ralebitso-Senior et al., 2012; Rene et al., 2013).

En el caso de la biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ en lechos de compost, existen pocos estudios que evalúen el efecto de las condiciones transitorias en la entrada de gases o en el lecho sobre la eficiencia de remoción y oxidación de los gases, a pesar de ser el tipo de lecho más comúnmente

usado (Barbusiński et al., 2021). Apenas se encontró un reporte del efecto de cambio de carga de los gases sobre la biofiltración, encontrando que la eficiencia de remoción de H_2S se redujo levemente al aumentar la concentración de los gases, mientras que la de NH_3 se mantuvo constante (Hou et al., 2016). Respecto a la humedad de los biofiltros, el secado del lecho sucede por la evaporación del agua del lecho causada por el paso continuo de la corriente de aire y la actividad metabólica. En diferentes sistemas de biofiltración se ha reportado que un secado excesivo del lecho causa la disminución en la remoción de los gases (Ren et al., 2019). De forma que es necesario la irrigación constante del lecho. Sin embargo, no se han encontrado estudios a baja humedad que permitan establecer la resistencia de un biofiltro a estas condiciones. Una mayor comprensión del efecto de las condiciones transitorias sobre la remoción de los gases ayudaría al diseño, escalado y establecimiento de procesos de operación en tratamientos de emisiones industriales.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este estudio se evaluó a nivel laboratorio la biofiltración simultánea de H_2S y NH_3 , usando como lecho 3 tipos de compost obtenidos desde el compostaje de pollinaza y tres diferentes residuos lignocelulósicos. Posteriormente, se seleccionó uno de los lechos para la evaluación del desempeño del sistema bajo condiciones transitorias de dos parámetros operacionales:

- Variación en la carga de entrada de los gases mediante la variación del tiempo de residencia del gas (EBRT) y el cambio en la concentración.
- Variación en la humedad del lecho.

Durante ambas evaluaciones, se estimó el efecto de estas condiciones sobre la oxidación de los gases, por medio de la cuantificación de amonio, sulfato, nitrato y nitrito en el lecho de biofiltro. También se verificó la abundancia de los grupos bacterianos involucrados en la oxidación de los gases (bacterias oxidantes de azufre-SOB y bacterias nitrificantes). Este trabajo permitirá establecer las condiciones de operación adecuadas para lograr un alto desempeño de los biofiltros de lechos de origen local bajo condiciones similares a la operación industrial y relacionar aspectos operativos con el crecimiento de las bacterias involucradas en la oxidación de H_2S y NH_3 .

3.2 Metodología

A continuación, se muestra el flujo de trabajo que se siguió para la evaluación de la biofiltración de H₂S y NH₃ usando lecho de compost



3.2.1 Compostaje

El compost usado como lecho de biofiltración se preparó mediante el compostaje de pollinaza (obtenido de una cama de dos años de la granja avícola Agroincas S.A.S, ubicada en Nemocón, Cundinamarca) y residuos lignocelulósicos (bagazo de caña de un cultivo de caña de azúcar en Puerto López, Meta; cascarilla de arroz referencia comercial Anasac Jardín, y residuos de poda de árboles de un parque distrital) que sirvieron de material estructurante durante el proceso. En el Anexo B, tabla 1 se indican algunas características de estos residuos. La pollinaza y cada residuo lignocelulósico se mezclaron en igual proporción antes de iniciar el compostaje, de forma que se obtuvieron aproximadamente 60 L de 3 mezclas: pollinaza-bagazo de caña (CB), pollinaza-cascarilla de arroz (CA), y pollinaza-residuos de poda (CP). El compostaje se realizó en 3 barriles de 210 L envueltos en material aislante de fibra de vidrio de poliestireno, para mantener la temperatura, y aplicando una corriente de aire, con un compresor (150 psi, Compresores y Motores Bogotá Ltda), de aproximadamente 1 m/s desde la parte baja para acelerar las condiciones de maduración de las mezclas (Figura 1 y Anexo B, Figura 1). El proceso tuvo una duración de tres meses, tiempo durante el cual se monitoreó diariamente la temperatura, humedad y el flujo de aire. Semanalmente se ajustó la humedad a 50% y mensualmente el sustrato fue mezclado manualmente usando una espátula.

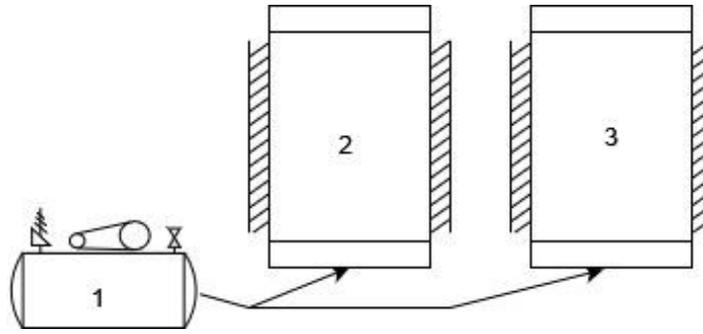


Figura 3.1. Esquema de sistema de compostaje. 1. Compresor de aire, 2 y 3) Barriles recubiertos de aislante térmico de fibra de vidrio.

Durante el compostaje se tomaron muestras de sustrato para determinar el contenido de sólidos volátiles y sólidos totales, siguiendo la metodología indicada por la guía estándar 13040 (CEN, 2007). También se determinó la pérdida de nitrógeno Kjeldahl mediante la ecuación 3.1 (Haug, 1993).

$$N_{perdido} = 100 - 100 \frac{X_i * N_f}{X_f * N_i} \quad (\text{Ec. 3.1}),$$

donde, X_i y X_f : contenido de ceniza inicial y final; y N_i y N_f : Nitrógeno Kjeldahl inicial y final.

Parte de la muestra fue mezclada con agua en proporción 1:100 para determinar pH, demanda química de oxígeno (DQO) y el contenido de nitrato en la fracción acuosa (Standard Methods, 2017). La DQO se determinó mediante colorimetría usando un kit comercial (Hanna Instruments HI 93752 - 0 -150 mg/L). La concentración de nitrato se midió por cromatografía aniónica en un equipo Waters IC (columna Pack A HC- 4,6 x 150 mm, 10 μ m). La degradación de la materia orgánica se calculó mediante el coeficiente de biodegradabilidad (Km), mostrado en la ecuación 3.2 (Cabeza et al., 2013).

$$Km = \frac{(\%MO_1 - \%MO_2) * 100}{\%MO_1 * (100 - \%MO_2)} \quad (\text{Ec. 3.2}),$$

donde, $\%MO_1$: contenido inicial de materia orgánica; y $\%MO_2$: contenido final de materia orgánica.

Una vez terminado el proceso, las mezclas de compost de pollinaza y el material lignocelulósico a usar como lecho se secaron a temperatura ambiente y se tamizaron para obtener tamaños de partícula mayores a 2 mm, con el fin de evitar una alta compactación del lecho en el biofiltro. El compost resultante se caracterizó mediante la determinación de las siguientes propiedades, sugeridas por Dorado et al. (2010) para la evaluación de materiales para uso en biofiltración:

- La densidad aparente, pH, distribución de tamaño de partícula (mediante granulometría por tamizado), demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno total (mediante el método Kjendahl, NTK) y el contenido de materia orgánica, se determinaron siguiendo la metodología indicada por la guía estándar 13040 (CEN, 2007) y la NTC 5167 (ICONTEC, 2011) para el análisis de abonos y mejoradores de suelo.
- La capacidad retención de agua, que se refiere a la cantidad de agua que puede absorber un material, se determinó como la diferencia de peso entre el material húmedo y el material seco (Chen and Hoff, 2012).
- La capacidad buffer, que indica la cantidad de ácido necesaria para que el pH del compost disminuya en una unidad, se determinó mediante la construcción de una curva de adición de diferentes volúmenes de ácido sulfúrico al lecho (Costello and Sullivan, 2014).

Adicionalmente, se determinó el contenido de amonio mediante el método espectrofotométrico de Berthelot, donde el amonio reacciona con salicilato e hipoclorito para producir una solución coloreada, cuya absorbancia se mide a 667 nm (Mulvaney, 1996). Se realizó una curva de calibración desde 0,65 a 3,00 µg de amonio usando como estándar una solución de cloruro de amonio 5 µg/mL.

También se evaluó la abundancia de bacterias oxidantes de azufre (SOB), bacterias oxidantes de amonio (AOB) y bacterias oxidantes de nitrito (NOB) en el compost mediante recuento en placa en medios específicos, cuya composición se muestra en la Tabla 3.1 (Kim et al., 2002; Kim and Ivanov, 2000).

Tabla 3.1. Composición de los medios de cultivos usados para el recuento en placa de SOB, AOB y NOB.

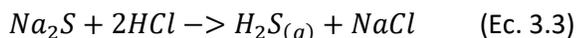
Componente	Medio SOB	Medio AOB	Medio NOB
Na ₂ S ₂ O ₃	10 g/L	NA	NA
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g/L	0,5 g/L	NA
NaNO ₂	NA	NA	0,24 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g/L	0,04 g/L	0,2 g/L
KH ₂ PO ₄	1,8 g/L	0,2 g/L	0,5 g/L
K ₂ HPO ₄	1,48 g/L	NA	0,5 g/L
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,03 g/L	0,04 g/L	0,01 g/L
NaCl	NA	NA	0,2 g/L
NaHCO ₃	NA	NA	1,26 g/L

Componente	Medio SOB	Medio AOB	Medio NOB
MnSO ₄	0,02 g/L	NA	NA
FeSO ₄	0,02 g/L	NA	NA
Agar	15 g/L	20 g/L	20 g/L
Solución de oligoelementos*	NA	0,1 mL/L	0,2 mL/L

*Composición de la solución de oligoelementos: CuSO₄.5H₂O 1,57 g/L, (NH₄)₈Mo₇O₂₄.4H₂O 1,1 g/L, CoCl₂.6H₂O 1,6 g/L, EDTA: 5 g/L, MnCl₂ 5 g/L, FeCl₃ 5 g/L. NA, no aplica.

3.2.2 Instalación del sistema de biofiltración

El sistema de biofiltración se instaló en el laboratorio de Energías Alternativas de la Universidad Santo Tomás, Bogotá. Consta de un sistema de producción de H₂S y NH₃ (Figura 3.1) donde se usó un compresor de aire (Compresores y Motores Bogotá Ltda) y 2 bombas de vacío (Rocker 300) para la generación del caudal y volatilización de los gases. La producción continua de H₂S se da por la reacción entre una solución de Na₂S (0,020 – 0,035 M) y de HCl (1M) (ecuación 3.3), donde el Na₂S es adicionado por medio de una bomba peristáltica (Masterflex modelo 7519-15, flujo de 0,025 mL/min) a un recipiente con la solución de HCl en exceso (Rueda Saa, 2001). El amoniaco es producido mediante el paso controlado de una corriente de aire a través de una solución de NH₄OH 1%. La corriente de aire generada se lleva hacia una cámara humidificadora para la saturación con agua y, posteriormente, se dirige hacia la cámara donde se mezcla con el H₂S y NH₃ volatilizados. La mezcla de gases es distribuida a los biofiltros. En la entrada de cada biofiltro, el flujo se comprobó usando rotámetros (Flowtron, rango: 0-12 L/ min, precisión ± 4%) y se ajustó manipulando las válvulas del compresor de aire y las válvulas instaladas en la entrada de los biofiltros.



Los biofiltros fueron construidos en tubos PVC y constan de 3 secciones empacadas con el compost con un punto de muestreo de gases entre secciones. Cada sección tiene 0,27 m de altura, diámetro de 0,11 m y un volumen de 0,002 m³, teniendo entonces un volumen total de 0,007 m³ (6,57 L). En el Anexo C, Figura 1 se muestra el montaje del sistema de biofiltración

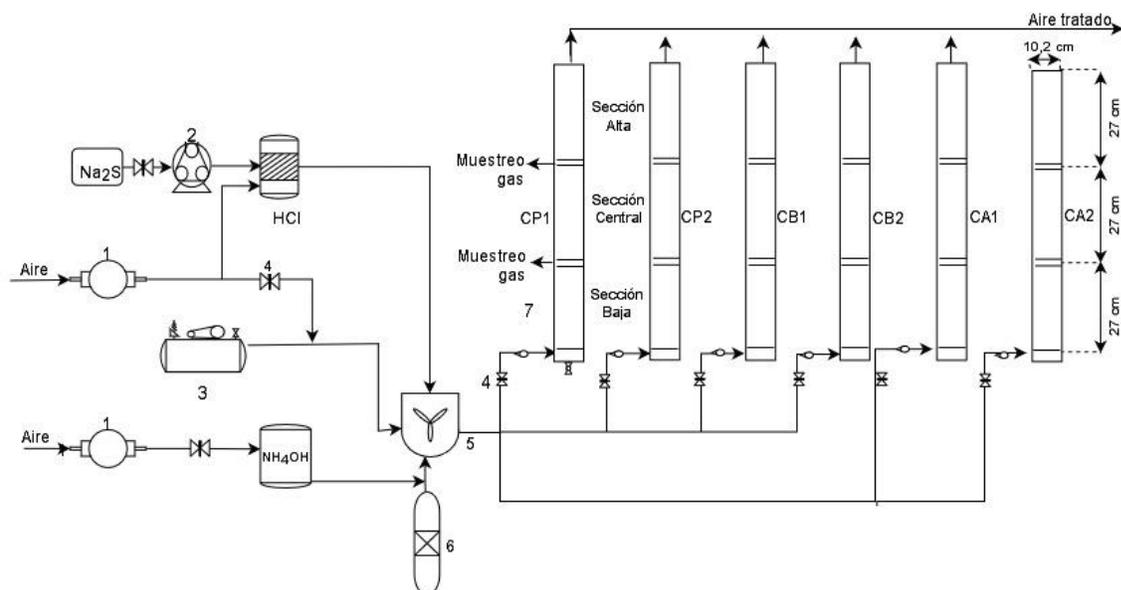


Figura 3.2. Esquema del sistema de biofiltración. 1. Bomba de vacío; 2. Bomba peristáltica; 3. Compresor de aire; 4. Válvula; 5. Recipiente de mezcla de gases; 6. Humidificador; 7. Rotámetro. CP: compost de pollinaza-residuos de poda; CB: compost de pollinaza-bagazo de caña; CA: compost de pollinaza-cascarilla de arroz (la numeración 1 y 2 a la derecha del código de cada tipo de compost corresponden a la réplica de cada biofiltro).

3.2.3 Selección de lechos de biofiltración

Los lechos de biofiltración obtenidos por compostaje fueron empacados en tubos de PVC, y se instalaron dos biofiltros por mezcla. Teniendo en cuenta que la humedad de los lechos para biofiltración debe estar entre 40 y 80% (Datta and Allen, 2005), y de acuerdo con la capacidad de retención de agua y humedad inicial de cada mezcla de compost, la humedad se ajustó a 40% (base seca) para todos los lechos. Para esto la humedad inicial de los lechos se determinó en un balanza termogravimétrica (PCE Instruments, modelo MB-1230C) a 105 °C, luego se añadió a cada sección de los biofiltros la cantidad de agua necesaria para alcanzar la humedad deseada y se registró el peso de cada sección. Durante la operación del sistema de biofiltración, la humedad en los biofiltros se monitoreó cada 3 días determinando la diferencia de peso entre cada sección y su peso inicial. Cuando se observó una disminución del 5% del peso, se añadió la cantidad de agua necesaria para alcanzar el peso inicial (Cabeza et al. 2013). El agua fue adicionada por la parte superior de cada sección y el lecho fue mezclado con una espátula durante la humidificación.

El flujo de la mezcla de gases usada fue de 6,5 L/min para obtener un tiempo de residencia de lecho vacío (EBRT) de 60 s. Las concentraciones de H₂S y NH₃ en la mezcla de gases usada para la evaluación de los biofiltros se presenta en la Tabla 3.2 y corresponden a las concentraciones mínimas (día 1-11), promedio (día 12-28 promedio en temporada de lluviosa; día 29-33 promedio en temporada seca) y máximas (día 49 a 60) encontradas en la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre (Capítulo 2, sección 2.3.2). Estas mediciones fueron registradas en ppm, sin embargo, fueron transformadas a mg/m³ mediante la ecuación 3.4 para posteriores cálculos relacionados con el desempeño del biofiltro.

$$C_{gas}\left(\frac{mg}{m^3}\right) = \frac{C_{gas}(ppm)*PM*P_{atm}}{T_{atm}*62,4} \quad (\text{Ec. 3.4}),$$

donde, C_{gas} : concentración del gas; PM: peso molecular del gas; P_{atm} : presión atmosférica (560 mm Hg); T_{atm} : temperatura ambiente (293,2 K); y 62,4: constante de los gases.

La concentración de H₂S fue ajustada cambiando la concentración de Na₂S y HCl, y la de NH₃ se ajustó cambiando el flujo de aire entrante a la cámara de la solución de NH₄OH.

La concentración de H₂S y NH₃ se midió con el detector de gases MultiRae (PGM-6228 RAE Systems) en los puntos de muestreo, y en la entrada y salida de los biofiltros, tres veces al día. Cuando la concentración de H₂S fue mayor a 100 ppm, se usó el detector Biogas 5000 (Lantec). Estas concentraciones también fueron transformadas a mg/m³ para posteriores cálculos.

Tabla 3.2. Concentraciones de H₂S y NH₃ usadas durante la evaluación de los lechos de biofiltración. La columna “Día” indica el periodo en que se mantuvieron las concentraciones de H₂S y NH₃ mencionadas.

Día	H ₂ S (mg/m ³)	NH ₃ (mg/m ³)
1-11	7,5 ± 0,5	0
12-28	33,4 ± 2,9	0,5
29-43	77,0 ± 2,6	4,2 ± 0,1
44-48	43,2 ± 14,7	1,8 ± 0,7
49-55	124 ± 2	7,8
56-60	260 ± 2	9,9

La eficiencia de remoción (%ER) de H₂S y NH₃ se calculó diariamente como:

$$\%ER = \frac{(C_{entrada} - C_{salida}) * 100}{C_{entrada}} \quad (\text{Ec. 3.5}),$$

donde, $C_{entrada}$: concentración de entrada del gas (mg/m³); y C_{salida} : concentración de salida del gas (mg/m³).

La capacidad de eliminación (CE) se calculó a la concentración más alta de cada gas mediante la ecuación:

$$CE \left(\frac{g}{m^3 h} \right) = \frac{(C_{entrada} - C_{salida}) * Q_{gas}}{\text{Volumen}_{lecho} * 1000} \quad (\text{Ec. 3.6}),$$

donde, Q_{gas} : caudal del aire contaminado (m³/h); $C_{entrada}$: concentración de entrada del gas (mg/m³); C_{salida} : concentración de salida del gas (mg/m³); y Volumen_{lecho} : Volumen ocupado por el lecho (m³).

3.2.4 Evaluación de EBRT y carga de gases en la biofiltración

Para este ensayo se seleccionó el lecho con la mayor capacidad de eliminación para ambos gases. Se evaluaron cuatro EBRT a dos niveles de concentración para determinar el tiempo óptimo que permite una alta capacidad de eliminación de los contaminantes en condiciones que simulan un sistema real. En cada EBRT evaluado (Tabla 3.3), se aplicó primero una mezcla de gases a concentración baja (52 mg H₂S/m³ y 2,1 mg NH₃/m³) y luego se aumentó a las concentraciones máximas encontrados en la PTAR (260 mg H₂S/m³ y 9,9 mg NH₃/m³), de forma que la carga de gases fue aumentando al disminuir el EBRT. En cada tiempo y concentración se calculó la carga de entrada de cada gas usando la siguiente ecuación 3.7:

$$\text{Carga de gas: } TC = \frac{C_{entrada} * \text{Flujo}_{gas}}{\text{Volumen}_{gas}} \quad (\text{Ec. 3.7})$$

Durante este ensayo, la humedad de lecho se mantuvo a 40%, se monitoreó cada 2 días pesando cada sección, y se adicionó agua cuando fue necesario, mezclando el lecho. Para evaluar el efecto de los cambios de carga sobre la oxidación de los gases y sobre la comunidad microbiana, se tomaron 2 g de muestra del lecho en cada sección, a aprox. 5 cm de profundidad, antes de iniciar la evaluación del EBRT (día 0) y a los días 19, 24, 32, 48 y 50, que corresponden a los tiempos de cambio en la concentración de gases. La toma de muestra se realizó antes de ajustar la humedad.

Tabla 3.3. Variación del tiempo de residencia en lecho vacío (EBRT), flujo y carga de gases en la evaluación de la biofiltración de H₂S y NH₃ en condiciones transitorias.

Día	EBRT (s)	Flujo (m ³ /h)	Carga H ₂ S (g/m ³ h)	Carga NH ₃ (g/m ³ h)
1-5	60	0,39	3	0,1
6-9			16	0,6
10-12	45	0,53	4,2	0,2
13-16			20,5	0,8
16-19	33	0,72	5,7	0,2
19-24			28,5	1,1
24-27	25	0,95	7,5	0,3
28-32/ 39-41			37,3-44,3	1,4
42-48	18	1,31	10,3	0,4
49-50			52,2	2,0

3.2.5 Análisis fisicoquímicos

Las muestras de lecho de compost tomadas en cada etapa de la evaluación del proceso fueron diluidas en agua desionizada en relación 1:10 y agitadas durante 1 h en un agitador rotativo vertical. Se centrifugó la solución a 5000 rpm y el sobrenadante fue filtrado a través de una membrana de 0,22 µm (Gabriel et al., 2007; Kim et al., 2000).

Se midió el pH del sobrenadante y posteriormente las muestras fueron diluidas en relación 1:20 en agua ultrapura (Milli-Q) para la cuantificación de aniones y amonio. Las muestras diluidas y el extracto obtenido se almacenaron a 4°C hasta su uso (APHA, 2017).

La cuantificación de aniones (sulfato, nitrito y nitrato) fue realizada mediante HPLC aniónico en un equipo Dionex ICS 900®, columna AS22, en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional, sede Bogotá. La cuantificación de amonio fue realizada mediante HPLC capilar catiónico en un equipo Dionex ICS-5000 Capillary HPIC®, columna IonPac AS22, en el Instituto Nacional de Metrología (INM).

3.2.6 Análisis microbiológicos

La extracción de ADN del lecho de compost se realizó mediante el kit FastDNA Spin kit for soil (MPBiomedicals). Se pesó entre 200 a 250 mg de lecho húmedo y se siguió la metodología indicada por el fabricante, con la excepción del uso de un *Mini BeadBeater-16*TM (Biospec) en vez del *bead beating* FastPrep® en el paso de lisis celular. Esta lisis se realizó mediante 2 pulsos de 45 segundos

dejando los tubos a 4 °C durante 30 segundos entre cada pulso. El ADN extraído fue purificado usando el kit de purificación *DNeasy Power Clean Pro Cleanup* (Qiagen) y posteriormente fue cuantificado mediante espectrofotometría en el equipo NanoDrop 2000 (Thermo Scientific Inc.). Se diluyó una alícuota de ADN en TE 1X (Buffer Tris-HCl 10mM y EDTA- Na₂ 1mM, pH 8,0) para obtener una solución aproximadamente de 30 ng/μL de ADN para su uso en los ensayos de qPCR y secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma.

3.2.6.1 Cuantificación de los genes *soxB*, *amoA* y *nrxA* mediante qPCR

Se verificó la presencia de los genes de interés mediante electroforesis del producto de amplificación de la PCR de una muestra inicial de compost antes de su cuantificación. La reacción de PCR se realizó usando los primers indicado en la Tabla 3.4 y en la siguiente mezcla de reacción: 1 μL de ADN total, 2 μL de Buffer NH₄ 10X (Bioline), 0,6 μL de MgCl₂ 50mM (Bioline), 0,2 μL de la mezcla de dNTP 25 μM (Bioline), 1 μL de BSA 100 ng/mL, 1 μL de ADN polimerasa *Biolase™* 5U (Bioline) y el volumen necesario de agua Milli-Q para completar un volumen de 20 μL. Para la amplificación se utilizó un termociclador C1000 (BioRad) bajo las siguientes condiciones: un ciclo inicial a 95 °C por 5 min, luego 45 ciclos a 95 °C por 30s, seguido de 30s a la temperatura de hibridación y finalmente 72 °C por 30s. Como control positivo se usaron plásmidos que contienen la región del gen a amplificar, cuyas secuencias fueron obtenidas de la base de datos de NCBI. Los productos de amplificación fueron evaluados mediante electroforesis en gel de agarosa a 1,2% con tinción *SYBR® Safe* (ThermoFisher Scientific) en buffer TBE (Tris/Borato/EDTA) 1X a 100 V durante una hora. El marcador de peso molecular utilizado fue el *100-bp plus DNA ladder* (BIORON). El peso molecular esperado para cada gen se indica en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4. Condiciones para la amplificación de los genes de *soxB*, *amoA* y *nrxA* por PCR.

Gen	<i>soxB</i>	<i>amoA</i>	<i>nrxA</i>
Primer F, 5'→3'	TCGGYCAGGCYTTYCCSTA	GGGGTTTCTACTGGTGGT	CAGACCGACGTGTGCGAAAG
Primer R, 5'→3'	MAVGTGCCGTTGAARTTGC	CCCCCKGSAAAGCCTTCTTC	TCCACAAGGAACGGAAGGTC
Concentración primers	0,7 μM	0,2 μM	0,5 μM
Temperatura hibridación	60°C	55 °C	57 °C
Tamaño producto	505 pb	491 pb	325 pb

Gen	<i>soxB</i>	<i>amoA</i>	<i>nrxA</i>
Control positivo	<i>soxB</i> de <i>Thiobacillus thioeparus</i> cepa DSM 505T (N° acceso AJ294326)	<i>amoA</i> de <i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19178 (N° acceso JN099309.1)	<i>nrxA</i> de <i>Nitrobacter hamburgensis</i> X14 (N° acceso AF344872)
Referencia	Tourna et al., 2014	Kitamura et al., 2016; Rotthauwe and Witzel, 1997	Attard et al., 2010

Sólo se evidenció la presencia del gen *soxB*, de forma que se realizó su cuantificación absoluta por medio de qPCR. La concentración de primers y la temperatura de hibridación fue optimizada mediante un diseño ortogonal Taguchi 3x3 (Thanakiatkrai and Welch, 2012) usando como plantilla el control positivo con 10^5 copias *soxB*/ μL y el *Master Mix Luna*® (New England Biolabs). La mezcla de reacción optimizada para la amplificación de *soxB* tiene una concentración de primer forward 0,65 μM y reverso: 0,73 μM , BSA 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1-2 μL de ADN y el volumen necesario de agua Milli-Q para completar un volumen de 12 μL . La curva estándar de calibración se obtuvo a partir de diluciones seriadas del plásmido usado como control positivo (10^4 - 10^8 copias) y para el análisis de las muestras se usó entre 20-30 ng de ADN. Para la reacción de amplificación se utilizó un termociclador CFX96™ Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD) bajo las siguientes condiciones: 95 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C por 30s, 61,5 °C durante 45s y 72 °C por 45s. Al finalizar la reacción de amplificación, se realizó una curva de fusión para verificar la amplificación de un único producto.

Como no se obtuvo amplificación de los genes *amoA* y *nrxA*, la abundancia de AOB y NOB se verificó mediante recuento en placa usando los medios indicados en la Tabla 3.1. Los cultivos fueron incubados durante 3 semanas a 30 °C y en oscuridad.

3.2.7 Evaluación de la humedad del lecho en la biofiltración

Para este ensayo, se seleccionó el EBRT con el que se alcanzó la mayor capacidad de eliminación. La humedad evaluada en los lechos fue 40%, 30%, 25% y 20% (base seca). En este caso se mantuvo constante la concentración de los gases: 70 ppm H_2S y 7 ppm NH_3 . Estas concentraciones corresponden al promedio de emisiones en la zona de pretratamiento de la PTAR-El Salitre durante la temporada seca. En este ensayo también se tomaron muestras del lecho al inicio y al finalizar la prueba a 30% y 20% de humedad para evaluar el efecto de estos cambios en la oxidación de los gases y en la abundancia de las SOB, AOB y NOB del lecho. Para ello se siguió la metodología mostrada en la evaluación del tiempo de residencia, con excepción de la cuantificación de amonio,

que fue realizada a través de espectrofotometría del producto de la reacción de Berthelot, indicada en la sección 3.2.1.

3.2.8 Análisis estadístico

La comparación entre la eficiencia de remoción y la capacidad de eliminación de los tipos de lecho evaluados, así como de los tiempos de residencia (EBRT) evaluados y humedad se realizaron mediante pruebas de comparación múltiple (ANOVA y test de Tukey para datos paramétricos, test de Kruskal-Wallis y de Wilcoxon para datos no paramétricos) en el programa RStudio. Estos mismos análisis se realizaron para verificar las diferencias entre las muestras de lechos respecto a los productos de eliminación (pH, concentración de sulfato, amonio y nitrato) y la abundancia de los grupos microbianos de interés (SOB, AOB y NOB). Adicionalmente, la relación entre los parámetros de eliminación de gases (carga de gas y %ER), los productos de eliminación (pH, concentración de sulfato, amonio y nitrato) y la abundancia de SOB, AOB y NOB se evaluó mediante un análisis de correlación en RStudio (paquete *corrplot*) usando el método Spearman.

3.3 Resultados y Discusión

3.3.1 Compostaje

La fase termofílica del compostaje tuvo una duración de un mes (Anexo B, Figura 2). Durante este periodo la alta pérdida de nitrógeno se debió a la producción de amoníaco (Anexo B, Tabla 1). La volatilización de este compuesto se ha reportado previamente en el compostaje de pollinaza ((Bernal et al., 2009)Bernal et al., 2009). Tras este periodo, la temperatura disminuyó a 25°C, las emisiones de COVs disminuyeron y el índice de biodegradabilidad (*K_m*) aumentó a 0,9, indicando que el proceso alcanzó la etapa de maduración. En la semana 8, la mezcla de sustratos alcanzó su maduración ya que la DQO se redujo drásticamente (Bueno et al., 2008) y el índice de biodegradabilidad se mantuvo estable. El aumento en la concentración de nitrato al final del compostaje explica la disminución en la pérdida de nitrógeno, ya que el nitrógeno de las mezclas permanece en el sistema como nitrato. El incremento en la concentración de nitrato además sugiere la presencia de bacterias nitrificantes, que son necesarias para la eliminación biológica del

amoníaco, de forma que se puede concluir que los compost obtenidos son adecuados para la biofiltración de amoníaco.

3.3.2 Características de las mezclas de compost

Los resultados de las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de las mezclas de compost obtenidas se muestran en Tabla 3.5. Todas las mezclas de compost tuvieron un valor de pH mayor a 9,0, que se debe al contenido de amoníaco inicial en la pollinaza. Sin embargo, la concentración final se encuentra en el rango de valores reportada como normal para compost maduro (Franke-Whittle et al., 2014).

Tabla 3.5. Caracterización fisicoquímica de los compost usados como lecho de biofiltración.

Propiedad	Compost		
	Residuo de poda + pollinaza (CP)	Bagazo de caña + pollinaza (CB)	Cascarilla de arroz + pollinaza (CA)
Densidad aparente, g/L	850,45 ± 2,66	753,30 ± 1,53	796,66 ± 0,58
pH (1:25)	9,57 ± 0,11	10,03 ± 0,08	9,45 ± 0,18
% Distribución de tamaño de partícula,			
> 4.75 mm	77,32	46,60	24,40
4.75- 2.36 mm	2,08	16,56	19,02
2.36 - 1 mm	10,30	9,74	21,64
1 - 0.6 mm	0,78	8,15	11,51
0.65 - 0.25 mm	0,73	6,83	9,15
< 0.25 mm	0,81	3,51	8,20
Capacidad de retención de agua, gH ₂ O/g material	1,02	1,20	1,68
Capacidad buffer, mol H ⁺ /kg material	0,24	0,37	2,80
% Nitrógeno total (Kjendahl)	3,6 ± 0,6	3,2 ± 0,2	3,3 ± 0,3
% Materia orgánica	52,75 ± 0,49	38,17 ± 1,03	44,77 ± 0,63
C/N	13,15	19,62	16,67
Amonio, mg/kg material	451,0 ± 109,9	218,5 ± 51,4	551,2 ± 92,7
Sulfato, g/kg material	12,67	1,20	5,40
Bacterias oxidantes de amonio (AOB), CFU/g	1,37x10 ⁹ ± 5,50 x10 ⁸	2,90 x10 ¹⁰ ± 1,2110 ¹⁰	1,781 ¹⁰ ± 8,18 x10 ⁹

Bacterias oxidantes de nitrito (NOB), CFU/g	1,92x10 ⁹ ± 1,18 x10 ⁹	7,75 x10 ⁹ ± 1,94 x10 ⁸	3,081 ¹⁰ ± 4,21 x10 ⁹
Bacterias oxidantes de azufre (SOB), CFU/g	9,00 x10 ⁶ ± 6,20 x10 ⁵	5,62 x10 ⁸ ± 2,74 x10 ⁷	5,46 x10 ⁷ ± 7,01 x10 ⁶

El compost CA tuvo la mayor capacidad buffer debido a que tiene la mayor concentración de amonio, de forma que la acidificación del lecho provocada por la oxidación de H₂S sería más lenta en este material. Los tres tipos de compost tuvieron una alta capacidad de retención de agua, así que pueden mantener la suficiente humedad del lecho para lograr una óptima actividad microbiana y por consiguiente, una alta eficiencia de remoción (Dorado et al., 2010). El 50% de las partículas de los compost tuvieron un tamaño mayor a 2mm. Este tamaño de partícula del compost es adecuado para su uso en biofiltración, no genera problemas de compactación ni resistencia al flujo de aire (Dorado et al., 2010). Los compost presentaron alta abundancia de AOB y NOB, de forma que los hace convenientes para la remoción de amoníaco. Por otra parte, el compost CB tuvo la mayor abundancia de SOB, sugiriendo que este compost podría requerir menos tiempo de aclimatación para la remoción de H₂S. Considerando que los compost CA y CB tienen mayor capacidad de retención de agua, mayor capacidad buffer y mayor abundancia de los grupos bacterianos de interés que el compost CP, se espera que sean adecuados para la biofiltración de H₂S y NH₃.

3.3.3 Selección de lechos de biofiltración

Los tres biofiltros tuvieron una eficiencia de remoción de H₂S de 100% desde el inicio e incluso cuando la concentración aumentó hasta 120 ppm (Figura 3.3a). Esta alta remoción inicial es debida posiblemente a la presencia de SOB en el compost, las cuales consumieron el gas. Al aumentar la concentración a 250 ppm, la eficiencia disminuyó levemente en todos los lechos, sin embargo, en el biofiltro CP disminuyó a 85%, mientras que en los lechos CB y CA fue mayor a 90%. Esta diferencia de remoción entre los lechos puede deberse a que cerca del 80% de las partículas del compost CP tiene un tamaño mayor a 4,75mm, de forma que el área disponible para se forme el biofilm, se absorban y se oxiden los gases es menor que en los otros dos biofiltros (Barbusinski et al., 2017; Delhoménie and Heitz, 2005). Este resultado ha sido reportado previamente en el tratamiento de gases emitidos durante el compostaje mediante biofiltros de compost de residuos de poda y residuos sólidos municipales (López et al., 2011).

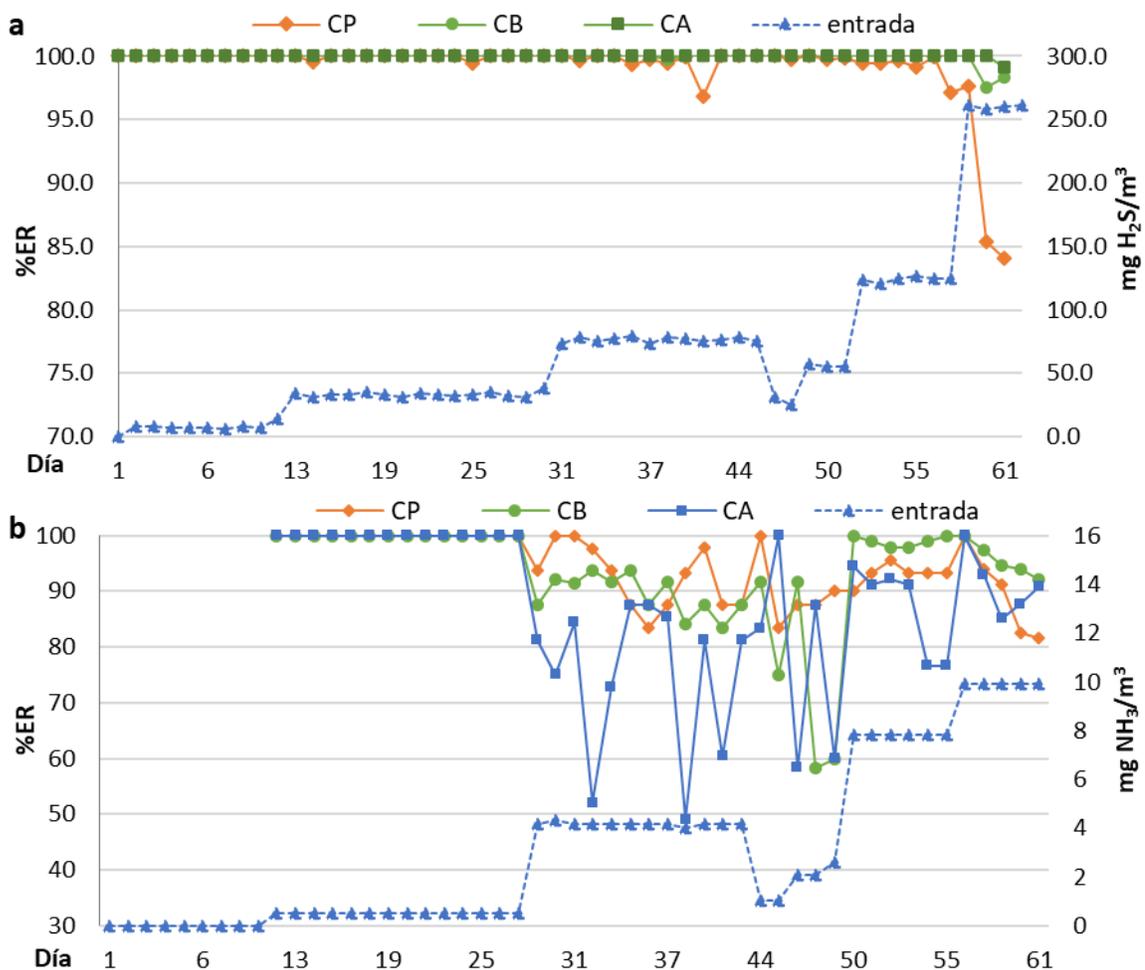


Figura 3.3. Concentración de entrada y eficiencia de remoción de (a) H₂S y (b) NH₃ en biofiltros empacados con diferentes compost. Concentración de entrada y eficiencia de remoción de (a) H₂S y (b) NH₃ en biofiltros empacados con diferentes compost.

La eliminación de NH₃ también fue de 100% durante las primeras semanas, donde la concentración de entrada estuvo entre 1 y 2 ppm. Sin embargo, al aumentar la concentración de los gases, a 70 ppm de H₂S y 8 ppm de NH₃, la eficiencia de remoción disminuyó y tuvo una alta variabilidad, siendo el biofiltro CA el más afectado por el aumento de concentración. Pero tras una disminución en la concentración de entrada, los biofiltros recuperaron su eficiencia y alcanzaron una remoción de 80% para NH₃ a la concentración más alta de gases (Figura 3.3b). Un resultado contrario fue reportado previamente para la remoción simultánea de H₂S y NH₃ con un lecho de compost (obtenido de residuos sólidos municipales) mezclado con paja y astillas de madera en proporción 70:15:15 (Hou et al., 2016). En ese estudio la remoción de NH₃ fue constante mientras que la de H₂S fue más afectada por los cambios en la carga de entrada de los gases. Las diferencias de

resultados entre los estudios pueden deberse a que los sustratos usados para obtener el compost, así como la proporción de material lignocelulósico son distintos. Esto puede generar que las propiedades fisicoquímicas de lecho y la comunidad microbiana desarrollada sean diferentes y por consiguiente su respuesta frente a los cambios de concentración.

En este sentido, el uso de diferentes residuos lignocelulósicos explicaría las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y en la eliminación del NH₃ entre los tres tipos de compost. Por ejemplo, una menor capacidad de retención de agua y mayor tamaño de partícula afecta la adsorción y absorción de los gases en el biofilm y explicaría la alta variabilidad en la remoción de gases al aumentar la concentración de amoníaco en el día 25 (Figura 3.3b) (Delhoménie and Heitz, 2005). Además, la concentración inicial de amonio podría influir en la capacidad de adsorción de NH₃ del lecho, ya que un alto contenido de amonio en el compost reduciría la cantidad de NH₃ que puede transferirse al biofilm, como fue el caso del compost CA. Finalmente, la recuperación en la remoción de NH₃ en el día 50 podría ser el resultado de la neutralización del NH₃ como amonio por los iones hidronio producidos en la oxidación del H₂S.

Al analizar la remoción de los gases en cada sección, se evidenció que los biofiltros empacados con los compost CA y CB removieron casi el 80% de H₂S en las secciones más bajas (baja y central), incluso cuando se incrementó la concentración a 250 ppm (Figura 3.4b y e). En el caso del biofiltro CP, su eficiencia disminuyó a lo largo del biofiltro cuando la concentración aumentó a 55 ppm. En el caso del NH₃ (Figura 3.4), solo el biofiltro CB tuvo una alta eficiencia de remoción en las secciones bajas para la mayoría de las concentraciones evaluadas. De acuerdo con estos resultados, el biofiltro CB, con un EBRT de 60s, puede lograr una eliminación de H₂S y NH₃ a mayores concentraciones o mayor carga de entrada de gases que la evaluada en esta etapa.

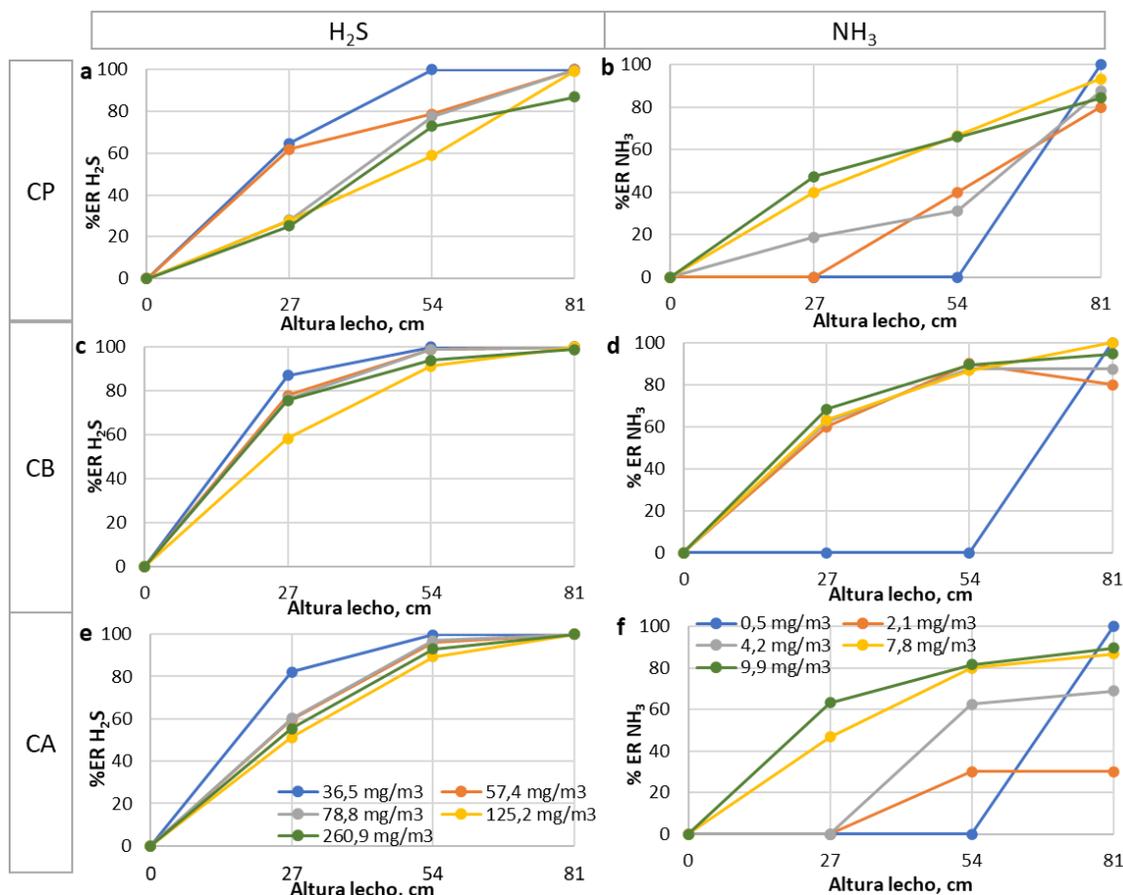


Figura 3.4. Eliminación de H₂S y NH₃ a lo largo de los biofiltros a diferentes concentraciones de entrada. a y b: lecho de compost de pollinaza y residuos de poda (CP); c y d: lecho de compost de pollinaza y bagazo de caña de azúcar (CB); e y f: lecho de compost de pollinaza y cascarilla de arroz (CA).

Finalmente, la máxima capacidad de eliminación de H₂S y NH₃ se obtuvo con los biofiltros empacados con bagazo de caña (CB) (Tabla 3.5). Estos valores pueden ser mayores considerando que más del 80% de los gases fueron removidos en las secciones baja y central de estos biofiltros. Así que, el lecho CB podría tratar una carga de gases superior, haciéndolo adecuado para su uso a nivel industrial, donde se busca el tratamiento de la mayor cantidad posible de gases mediante sistemas de bajo volumen (Li et al., 2015).

Tabla 3.6. Eficiencia y capacidad de eliminación de H₂S y NH₃ a la mayor concentración de gases evaluada. Letras diferentes en superíndice en una columna indican que los promedios son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

	H ₂ S		NH ₃	
	% ER	CE _{max} (g/m ³ h)	% ER	CE _{max} (g/m ³ h)
CP	91,7 ± 8,3 ^a	14,2 ± 1,2 ^a	88 ± 7 ^a	0,5 ± 0,04 ^a
CB	99,0 ± 2,0 ^b	15,3 ± 0,3 ^b	95 ± 4 ^b	0,6 ± 0,02 ^b
CA	99,8 ± 0,5 ^c	15,4 ± 0,3 ^b	89 ± 5 ^a	0,5 ± 0,03 ^b

De acuerdo con la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y el desempeño durante la biofiltración, se seleccionó el biofiltro CB para continuar con la evaluación de la biofiltración simultánea de H₂S y NH₃, ya que tuvo una alta eficiencia de remoción de los gases a concentraciones similares a las que se presentan en una PTAR, obtuvo la menor variabilidad al aumentar la concentración de entrada y tiene el potencial de remover una mayor carga de gases. Adicionalmente pudo mantener o recuperar una alta eficiencia de remoción tras los cambios de concentración aplicados, indicando su capacidad de adaptación a condiciones transitorias.

3.3.4 Evaluación de EBRT y carga de gases en la biofiltración

Los biofiltros empacados con compost de pollinaza y bagazo de caña tuvieron una eficiencia de remoción de 100% de H₂S cuando el EBRT fue de 60 s y 45 s y al nivel alto de concentración. Al disminuir el EBRT a 33 s y aumentar la carga de gases (día 20), la eficiencia de remoción de H₂S disminuyó ligeramente a 90% (Figura 3.5a). La remoción de NH₃ fue variable en estos tiempos de residencia, pero se mantuvo entre 80 – 100% (Figura 3.5b). Sin embargo, al reducir el tiempo a 25 s y aumentar la carga a 40 g H₂S/m³h su eliminación disminuyó drásticamente, aunque después de restablecer la operación del sistema tras la parada en la entrada de gases, la eficiencia aumentó a 80% a la misma carga de gases. Cuando el EBRT se redujo a 18 s y se aplicó la mayor concentración de gases al nivel, la eficiencia de remoción de H₂S y NH₃ disminuyó a 60%. La disminución de la eficiencia al disminuir el tiempo de residencia o al aumentar la carga se ha reportado en otros biofiltros para la eliminación de H₂S (Omri et al., 2013; Tian et al., 2020) y puede deberse a que la limitada solubilidad del H₂S afecta la transferencia de masa del gas al biofilm y, por consiguiente, al proceso biológico ya que el tiempo de difusión del gas al biofilm es mayor que el EBRT y no todo el H₂S es transferido y degradado (Chung et al., 2007; Ying et al., 2020).

La remoción de amoniaco presentó un comportamiento similar, donde la ER cayó hasta 50% al disminuir el tiempo de residencia a 18 s. Además, se observó que los cambios en la concentración provocaron variaciones en la eficiencia de remoción, aunque se estabilizó en pocos días. Hou et al. (2016) reportaron un resultado similar para la remoción de H_2S con un biofiltro empacado con compost maduro cuando se redujo el EBRT. En ese caso, la remoción de NH_3 fue estable a pesar de los cambios en la carga de los gases, contrario a lo obtenido en el presente trabajo. Como se mencionó previamente (sección 3.3.3), esta diferencia puede ser causada por el sustrato usado para obtener el compost y la cantidad de material lignocelulósico presente en él.

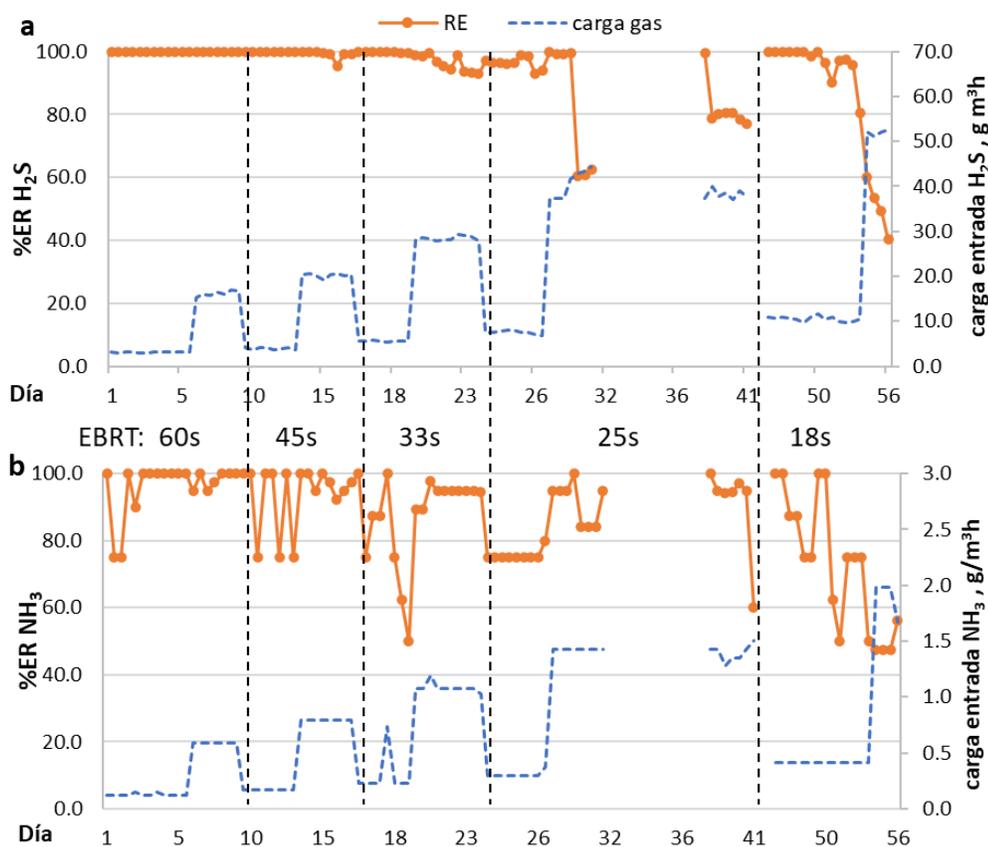


Figura 3.5. Carga y eficiencia de eliminación de (a) H_2S y (b) NH_3 a diferentes tiempos de residencia y cambios en las concentraciones de los gases. Durante la evaluación del tiempo 25 s (día 32) se presentó un problema con el compresor de aire, de forma que se detuvo el sistema y se volvió a evaluar esta condición en el día 38.

La capacidad máxima de eliminación se alcanzó a 25 s para ambos gases (Anexo C, Tabla 1). Este tiempo de residencia está de acuerdo con lo reportado por Chung et al. (2007), que sugirieron que el EBRT debería ser mayor a 22 s para alcanzar una eficiencia de eliminación de H_2S y NH_3 superior

al 95%, y es similar a los reportados para otros biofiltros de compost sobre la biofiltración de NH₃ (Yang et al., 2014a, 2014b) y la eliminación simultánea de H₂S y NH₃ (Hou et al., 2016).

Es importante resaltar que la capacidad de eliminación de H₂S del biofiltro usado es mayor a lo reportado para otros biofiltros de compost de similares características (Tabla 3.7), mostrando el potencial del compost de pollinaza y bagazo de caña para la remoción de H₂S de alta eficiencia en condiciones a nivel industrial en plantas de compostaje o de tratamiento de aguas residuales que son de menor variabilidad a las aplicadas en este ensayo, especialmente en zonas donde este tipo de residuos son abundantes.

Tabla 3.7. Comparación del desempeño de biofiltros de compost para la eliminación de H₂S y/o NH₃. Sólo se incluyeron estudios donde se reportó la capacidad de eliminación máxima (CE_{max}).

Lecho	EBRT	Condiciones de gases	CE _{max} y %ER	Referencia
Compost de residuos de jardinería V: 8,25 m ³	58,4 s	Emisiones de compostaje (compuestos reducidos de azufre- RSC: CH ₃ SH, (CH ₃) ₂ S y H ₂ S) Carga entrada: 10-900 mg/m ³ h Q: 509 m ³ /h	0,935 g RSC /m ³ h ER 100%	Hort et al., 2013
Mezcla (4:1) de arena y compost maduro de residuos de cocina (1:4) Volumen: 8,5 L	10 min	Emisiones de compostaje Carga de entrada: 0–429 mg H ₂ S/ m ³ h, Q: 6 m ³ /h	0,108 mg H ₂ S/ m ³ h con ER 50,9%	Yuan et al., 2019
Compost de corteza de madera blanda y residuos de jardín inoculado con cultivo enriquecido en SOB Volumen: 0,005 m ³ (4,52 L)	119 s	[H ₂ S]: 0,58 ± 0,04 g/m ³ Q: 0,14 m ³ /h Carga entrada: 17,7 ± 1,1 g/m ³ h	17,7 ± 1,1 g H ₂ S/m ³ h con ER 100%	Das et al., 2019
Vermicompost Volumen: 7,37 L	106 s	[H ₂ S]: 100- 500 mg/m ³ Q: 0,35 m ³ /h	20,2 g/ m ³ h y ER 91 %	Tian et al., 2020
Compost de estiércol y astillas de madera Volumen: 0,003 m ³ (2,72 L)	20 s	16 ppm _v de NH ₃	0,013 g NH ₃ /m ³ h con ER 100%	Maia et al., 2012
Mezcla (1:1) de compost y astillas de madera, 0,080 m ³ (79,52 L)	16 s	35 ppm NH ₃	5,2 g NH ₃ /m ³ h con ER 95%	Yang et al., 2014

Lecho	EBRT	Condiciones de gases	CE _{max} y %ER	Referencia
Trozos de PVC con compost inoculado con lodo activado Volumen: 12,03 L	15 s	Emisiones de una PTAR: H ₂ S: 5-25 ppm NH ₃ : 1-3,5 ppm Q: 36 L/min	H ₂ S: 5,6 g/m ³ H con ER 92% NH ₃ : 3 g/m ³ h con ER 99,5%	Alinezhad et al., 2019
Compost de pollinaza-bagazo de caña Volumen: 0,007 m ³ (6,57 L)	25s	Carga entrada: 37,3-44,3 g H ₂ S/m ³ h 1,4 g NH ₃ /m ³ h Q: 0,95 m ³ /h	H ₂ S: 32,2±4,7 g/ m ³ h con ER 78 % NH ₃ : 1,3±0,1g /m ³ h con ER 92 %	Este estudio

El perfil espacial de la eficiencia de remoción de H₂S muestra un resultado similar al encontrado en la etapa anterior de selección de lecho donde la sección inferior removi60-70%, mientras en el caso de NH₃ solo 40% fue removido en esta sección (Figura 3.6). Sin embargo, al disminuir el EBRT, disminuye la eficiencia de remoción de cada sección teniendo que, a 18 s, la sección inferior solo elimin60% de H₂S. Das et al (2019) reportaron que más del 50 y 90% del H₂S fue removido en la parte baja de un biofiltro de compost, sin embargo, al aumentar la carga hasta 33 g H₂S/m³h, la remoción de H₂S sólo fue de 20% en la sección baja.

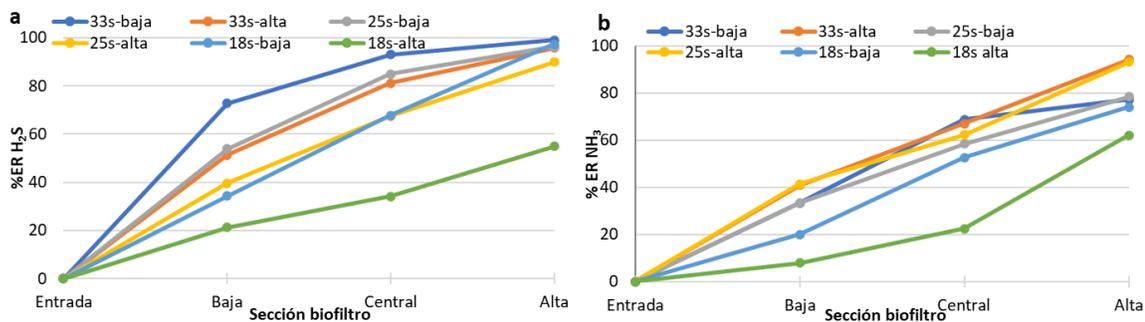


Figura 3.6. Eliminación de (a) H₂S y (b) NH₃ a lo largo de los biofiltros a diferente EBRT (33s, 25s y 18s) y nivel de concentración (baja: 52 mg H₂S/m³ y 2,1 mg NH₃/m³; alta: 260 mg H₂S /m³ y 9,9 mg NH₃/m³).

Para el NH₃, además, el aumento en la carga de los gases provocó una reducción en la eficiencia de remoción en la sección central, y la remoción del 40% de NH₃ ocurrió en la sección superior. Maia et al. (2012) reportaron un resultado similar con biofiltros de compost de estiércol y astillas de madera a escala laboratorio para la eliminación de 16 ppm de amoníaco, donde la remoción de este compuesto ocurrió principalmente en la sección central de biofiltros de compost. En ese estudio, los autores atribuyen la baja remoción de la sección baja a que predomina el mecanismo de adsorción del NH₃ sobre el lecho, que es más lento que el proceso de difusión y absorción en el

biofilm debido a que esta sección se seca rápidamente, disminuyendo el área del biofilm. En sistemas de biofiltración simultánea de H₂S y NH₃ también se ha atribuido la baja remoción de NH₃ de la sección baja a la inhibición de la oxidación biológica del NH₃ debido a la carga alta de H₂S, entonces como la concentración de H₂S es menor en las secciones central y superior, las bacterias pueden lograr la nitrificación en esas secciones (Jiang and Tay, 2010).

Estos resultados muestran que la carga de los gases afecta significativamente la eficiencia de remoción de biofiltro y que la selección del tiempo de residencia debe hacerse teniendo en cuenta los picos de concentración que se puedan presentar en las emisiones, de forma que en lo posible el sistema pueda operar a su máxima capacidad a baja concentración de gases, aplicando tiempo de residencia bajos. Este modo de operación permitiría que el biofiltro estuviera adaptado a cargas altas de concentración cuando se presenten.

Al monitorear los productos de la oxidación biológica de los gases a EBRT de 60, 45 y 33 s (días 1 a 19), no se presentaron cambios significativos en el pH y la concentración de sulfato en el lecho (Figura 3.7a, b), a pesar de que la eficiencia de eliminación de H₂S fue superior al 95% (Figura 3.7a), indicando que el H₂S no fue oxidado hasta sulfato. Hou et al. (2016) encontraron resultados similares en la etapa inicial de la operación de un biofiltro de compost, atribuyendo este resultado a la adsorción de H₂S sobre el lecho. Este proceso de adsorción se ve favorecido a valores altos de pH (González-Sánchez et al., 2008), como es el caso del compost usado en este estudio. En una prueba posterior, utilizando el mismo sistema de biofiltración a un EBRT de 25 s, el extracto de compost tenía 6-7 g H₂S/kg, confirmando la presencia de sulfuro en el lecho. Estas condiciones de pH alto y una alta concentración de sulfuros durante las semanas iniciales de la biofiltración también favorecen la producción de polisulfuros y tiosulfato debido a la oxidación química del sulfuro (Pokorna and Zabranska, 2015). También es posible que la oxidación del H₂S fuera parcial, de forma que se produciría azufre elemental en vez del sulfato. Tsang et al. (2015) informaron de resultados similares en un biofiltro de lecho escurrido, donde el azufre elemental fue el principal producto de oxidación, probablemente debido a la presencia de amoníaco. La formación de azufre elemental también ocurre si la concentración de oxígeno es baja en el biofilm, hecho que puede suceder cuando la concentración de los gases contaminantes es alta (Le Borgne and Baquerizo, 2019).

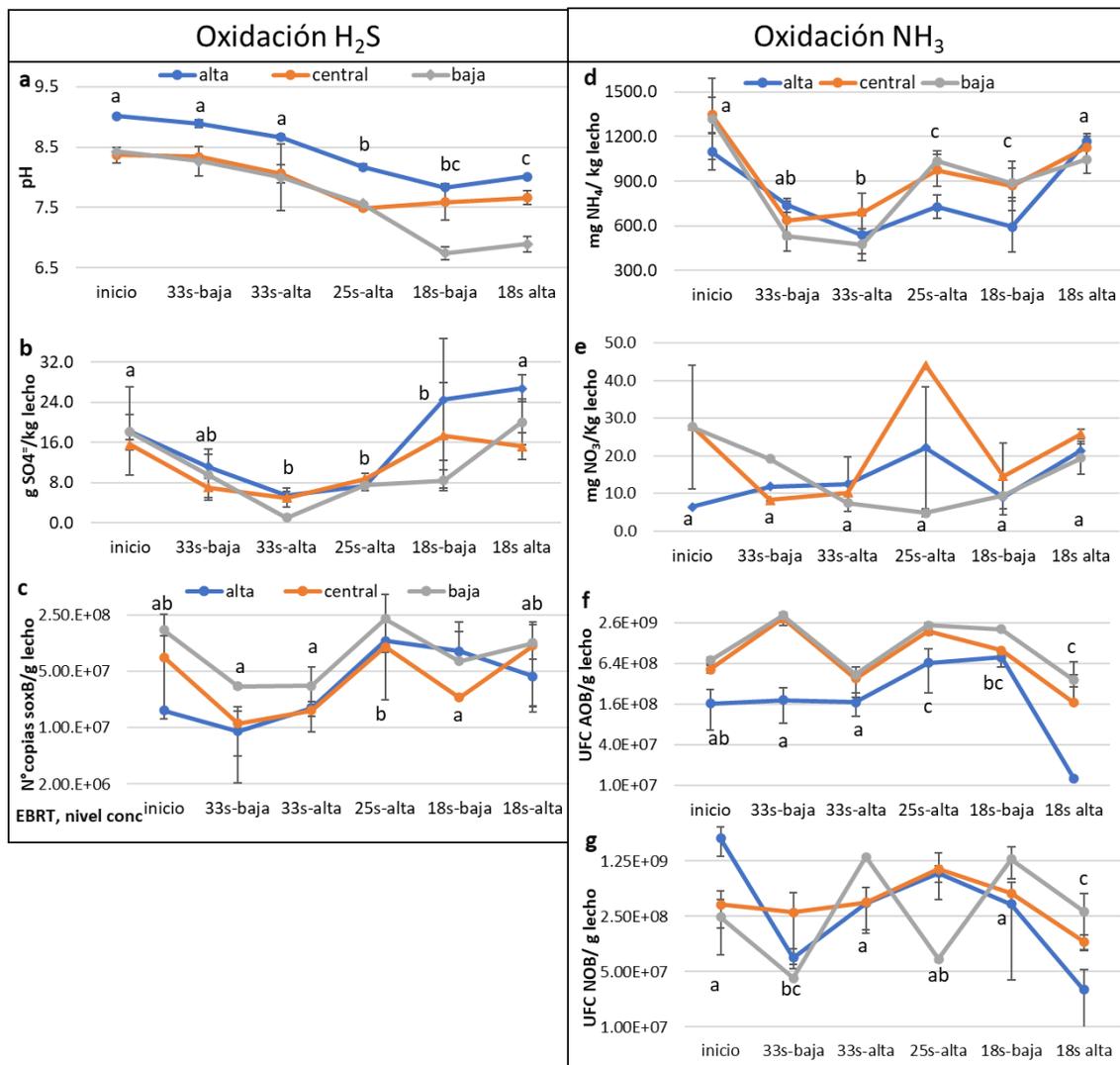


Figura 3.7. Oxidación del H₂S y NH₃ a lo largo del biofiltro a diferente EBRT (33s, 25s y 18s) y nivel de concentración (baja: 52 mg H₂S/m³ y 2,1 mg NH₃/m³; alta: 260 mg H₂S/m³ y 9,9 mg NH₃/m³); (a) variación en el pH; (b) producción de sulfato; (c) abundancia de las bacterias oxidantes de azufre (SOB), (d) acumulación de amonio, (e) producción de nitrato, (f) abundancia de las bacterias oxidantes de amonio (AOB), y (g) abundancia de las bacterias oxidantes de nitrito (NOB). La concentración de nitrito fue inferior a 10 mg/kg de lecho en todas las muestras. Letras diferentes dentro de cada gráfica indican promedios significativamente diferentes (p < 0,05).

La eliminación de NH₃ a un EBRT de 60, 45 y 33 s, mostró resultados similares ya que la concentración de productos de oxidación del NH₃ (nitrato y nitrito) no aumentó (Figura 3.7f) a pesar de la alta eficiencia de eliminación de NH₃ y la reducción de la concentración de amonio (Figura 3.6d). Esta reducción podría deberse al consumo de amonio por parte de las AOB, sin embargo, el nitrito producido fue probablemente reducido a óxido nitroso o nitrógeno. Esta situación se ha reportado previamente en biofiltros con mezcla de compost con astillas de madera para la

eliminación de NH₃ (Yang et al., 2014b, 2014a) y de gases emitidos por un establo de cerdos (NH₃, H₂S y N₂O) (Liu et al., 2017). Un análisis de cromatografía de gases realizado posteriormente al gas de salida del mismo sistema de biofiltración con EBRT de 25 s, detectó N₂O en el gas de salida (0,45 ppm). Esta concentración es un poco más alta a lo encontrado en la composición del aire (0,3 ppm, Prinn et al., 2018), sin embargo, confirma la producción de N₂O, que no es deseable debido a que es un gas de efecto invernadero. Una forma de reducir su producción es evitando que la humedad del lecho esté por encima de 55% (Liu et al., 2017, Yang et al. 2014a), como se hizo en el presente trabajo.

Después del periodo de parada, cuando el EBRT fue de 25 y 18 s, la concentración de sulfato aumentó y el pH disminuyó confirmando que los biofiltros oxidaron el sulfuro a sulfato. Omri et al (2013) reportaron un resultado similar donde la disminución de pH fue significativa en las secciones baja y media de un biofiltro de turba, donde se llevó a cabo la eliminación de H₂S. El aumento de la concentración de sulfato tras el periodo de parada podría deberse a la oxidación biológica del azufre acumulado en el lecho a sulfato (Qiu and Deshusses, 2017), de forma que sugieren que este tiempo permitió a la comunidad microbiana recuperarse del estrés causado por la alta carga de entrada de H₂S previamente, lo que también podría estar relacionado con el aumento de la abundancia de los grupos microbianos monitoreados (Figura 3.6c, f y g) después de la parada. Este tipo de recuperación en la actividad microbiana tras perturbaciones transitorias se ha reportado durante la biofiltración de NH₃ y COVs (Cabrol et al., 2016) y en la biofiltración de H₂S en un lecho escurrido con un consorcio microbiano (Das et al., 2019). Es decir que durante la operación de largo plazo de un biofiltro que está sometido a cargas variables, puede ser conveniente incluir periodos de baja carga de contaminantes, para permitir la recuperación de la actividad microbiana del lecho. Estos periodos se pueden lograr mediante la reducción del flujo de gases, que lleva al aumento del tiempo de residencia.

A pesar del descenso de la eficiencia de eliminación de H₂S cuando se aplicó la mayor carga de gases a 18 s (Figura 3.4a), la concentración de sulfato y la abundancia de SOB (Figura 3.6b y c) alcanzaron los valores más altos. Estos resultados demuestran que la actividad biológica se mantuvo a bajo EBRT y alta concentración, y que la reducción en la eficiencia de remoción pudo deberse principalmente a que un menor tiempo de residencia reduce la transferencia del gas al lecho y al biofilm, como se indicó previamente. Adicionalmente es posible que la acumulación

continua de los productos de oxidación también podría disminuir el área superficial disponible para la adsorción de gases (Kim et al., 2002), reduciendo la eliminación de H_2S y NH_3 . Esta situación puede llevar al final de la vida útil de un biofiltro, pero dado el alto contenido de amonio, azufre y sulfato el lecho de biofiltro puede ser aprovechado como fertilizante tras ajustar sus propiedades químicas mediante dilución con otro tipo de compost (Chien et al., 2011).

No se presentaron cambios significativos en la concentración de nitrato durante el ensayo y se observó una alta acumulación de amonio en algunas etapas. Este resultado sugiere que el NH_3 fue removido de la corriente de aire mediante sorción como amonio en el lecho de compost. Esta acumulación de amonio en el lecho causa inhibición de la nitrificación mediada por bacterias nitrificantes quimiolitotrofas, y explica la baja concentración de nitrato durante el ensayo, así como la no amplificación de los genes relacionados con la oxidación de amonio y nitrito, ya que las AOB y NOB quimiolitotrofas que los contienen no pudieron crecer en el lecho de biofiltración. Sin embargo, sí se observó cambio en las unidades formadoras de colonia de AOB y NOB, que posiblemente corresponden a bacterias heterótrofas, cuyo crecimiento es más rápido y tienen mayor tolerancia al amonio (Yang et al., 2011). Varias de estas bacterias también pueden llevar a cabo una desnitrificación aerobia, de forma que los productos de oxidación del NH_3 podría convertirse en óxido nitroso o en nitrógeno, y no se observaría acumulación de nitrito o nitrato a pesar del consumo de amonio (Duan et al., 2021), como sucedió en las semanas iniciales de la biofiltración.

Adicionalmente, la desnitrificación en condiciones anaerobias puede suceder en diferentes sistemas donde hay formación de biofilm, como en la biofiltración y el compostaje, ya que la cantidad de oxígeno disuelto disminuye al aumentar la profundidad del biofilm, de forma que la zona aerobia se limita a una capa superficial de 0,5 a 1,0 mm y la zona anaerobia puede representar entre el 10% y 70% del tamaño de partícula (Wang et al., 2015), teniendo que, a menor humedad y menor tamaño de partícula, se formaría una zona aerobia de mayor dimensión. En los biofiltros usados en este estudio, la humedad del lecho fue suficientemente baja para permitir la actividad microbiana, sin embargo, cerca del 60% de las partículas tienen un tamaño mayor a 2 mm (Tabla 3.5), de forma que aún habría formación de zonas anaerobias en el compost, que permiten la reducción del nitrito y nitrato del lecho, como sucedió en el lecho. Además del manejo de la humedad, la formación de zonas anaerobias se puede evitar usando lechos con un tamaño de partícula menor, y con mayor homogeneidad en su distribución.

Un análisis de correlación entre los parámetros de eliminación de gases (carga de entrada y eficiencia de remoción), concentración de los productos de remoción y la abundancia de las bacterias involucradas en la oxidación de H₂S y NH₃ (Figura 3.8), confirmó algunas de las relaciones sugeridas anteriormente. El aumento en la carga de los gases está relacionado con una disminución en la eficiencia de remoción de H₂S, de forma que se puede sugerir que la remoción de H₂S es más sensible a cambios en la carga que la remoción de NH₃. Esto se observó en la rápida recuperación de la remoción de NH₃ tras el aumento abrupto en la concentración de los gases, mientras que la eliminación de H₂S no se recuperó sin una intervención externa, como una parada de la operación. Jiang and Tay (2010) reportaron un resultado similar donde la remoción de H₂S fue más sensible que la remoción de NH₃ en condiciones de alta carga de gases y tras periodos de carga cero.

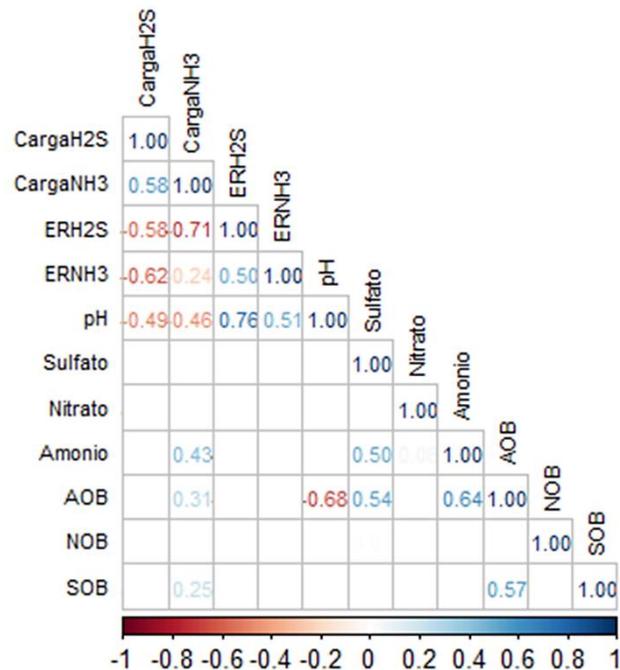


Figura 3.8. Correlación (test de Spearman) entre los parámetros de eliminación de gases (carga del gas y ER), concentración de productos de eliminación (pH, sulfato, amonio, nitrato) y bacterias involucradas en la oxidación de H₂S y NH₃ (log N^o copias *soxB* para SOB, log UFC de AOB y de NOB). Solo se muestran los coeficientes de correlación para valores de p < 0,05.

El pH presenta una correlación moderada con la remoción de los gases y la abundancia de AOB, mostrando su relevancia durante la biofiltración de H₂S y NH₃ debido a que es un indicador de la oxidación de estos gases y, así mismo, afecta negativamente el crecimiento de las bacterias, en especial de las AOB. Sin embargo, estas bacterias tuvieron una correlación positiva con la

concentración de amonio en el lecho indicando que pueden crecer al aumentar la concentración de este compuesto, como se indicó previamente respecto a AOB heterótrofas (Yang et al 2014).

No se observó una relación directa entre la concentración de sulfato, amonio o nitrato en el lecho con la remoción de los gases. Si bien la acumulación de estos compuestos puede reducir el área superficial, y por consiguiente la adsorción de los gases sobre el lecho y su remoción, se debe tener en cuenta que al aumentar la tiempo de operación, la concentración de estos compuestos también lo hará. En el ensayo realizado es difícil establecer el efecto de la acumulación de los compuestos sobre la remoción ya que la reducción del tiempo de residencia del gas afecta significativamente la remoción, al reducir el tiempo de contacto necesario para la difusión y adsorción al gas al lecho (Muñoz et al., 2015). Sin embargo, Hernández et al. (2012) encontraron que la remoción y oxidación de H_2S no se vio afectada por la alta concentración de sulfato y amonio en la solución de nutrientes (2 g/L) en un biofiltro de astillas de madera de álamo a concentración constante de H_2S y NH_3 . Es decir que la acumulación de productos puede no ser un factor determinante de la remoción de gases.

Tampoco se evidenció una relación directa entre la remoción de los gases y la abundancia de las bacterias monitoreadas, sugiriendo que la abundancia de las bacterias no es un buen indicador del desempeño del sistema. Sin embargo, las variables medidas (productos de eliminación y abundancia de bacterias) deben evaluarse en conjunto con otras, como el pH, debido a su influencia sobre la actividad biológica, como se observó en las primeras etapas de la evaluación, donde el pH alto posiblemente inhibió la oxidación del H_2S y el NH_3 , para tener una mayor comprensión del efecto de estas variables sobre remoción biológica de los gases. Una aproximación a esta relación entre comunidad microbiana y variables de la operación del biofiltro se mostrará en el capítulo 4.

3.3.5 Evaluación de la biofiltración al disminuir la humedad del lecho

Para este ensayo, se seleccionó el EBRT con el que se alcanzó la mayor capacidad de eliminación, es decir 25 s. De acuerdo con la Figura 3.9, al reducir la humedad a 30%, la remoción de los gases va disminuyendo gradualmente hasta 80% para ambos gases. La disminución del pH y el aumento en la producción de sulfato (Figura 3.10 a, b) demuestra que efectivamente a esta humedad aún se llevó a cabo la oxidación biológica del H_2S . En el caso del amoniaco, el aumento en la concentración

de amonio en las secciones baja y central, y la disminución en la concentración de nitrato indican que la remoción de amoniaco sucedió principalmente través de sorción y posiblemente desnitrificación (Figura 3.10 d,e). La desnitrificación a baja humedad se ha reportado previamente en suelos con 30% de contenido de agua, donde se produjo principalmente el gas NO (Szukics et al., 2010).

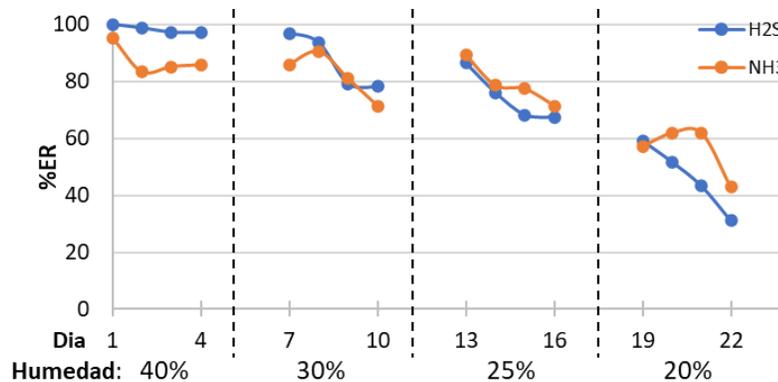


Figura 3.9. Eficiencia de eliminación de H_2S y NH_3 a diferente humedad del lecho de biofiltración

Yuan et al. (2019) obtuvieron resultados similares en un biofiltro de compost en mezcla con arena a humedad de 32%, que tuvo una eficiencia de remoción de 80% de remoción para H_2S , y se evidenció la producción de óxidos de nitrógeno (NO_x^-) y la acumulación de amonio en la parte baja del biofiltro. En ese estudio se señala que la adsorción de los gases sobre el lecho representa el 60% de la remoción de los gases, sin embargo, tras 4 días de operación, la adsorción disminuye posiblemente por la saturación del lecho. Este fenómeno explica los resultados obtenidos en este estudio, donde se presentó una reducción gradual en la remoción de los gases tras 2 días de operación.

Al reducir la humedad a 20%, la eficiencia de remoción de H_2S cayó hasta 40% y la del amoniaco a 57% (Anexo C, Tabla 2). Adicionalmente, no hubo cambios significativos en la concentración de sulfato, nitrato y el pH aumentó levemente. Estos resultados indican que la actividad biológica se detuvo y se vio reflejado en la disminución en la abundancia de SOB (Figura 3.10c). Por el contrario, la abundancia de las AOB no cambió, posiblemente debido a que algunas bacterias heterótrofas pueden formar endoesporas que las hacen resistentes a condiciones de baja humedad (Parkes and Sass, 2009). Szukics et al. (2010) reportó una situación similar en suelos donde la abundancia de AOB no estaba relacionada con la humedad del lecho.

La remoción de gases mediante absorción también es baja a esta humedad debido posiblemente a que el área del biofilm se reduce y que los sitios activos en las partículas de compost están saturados por el sulfato y amonio acumulados previamente.

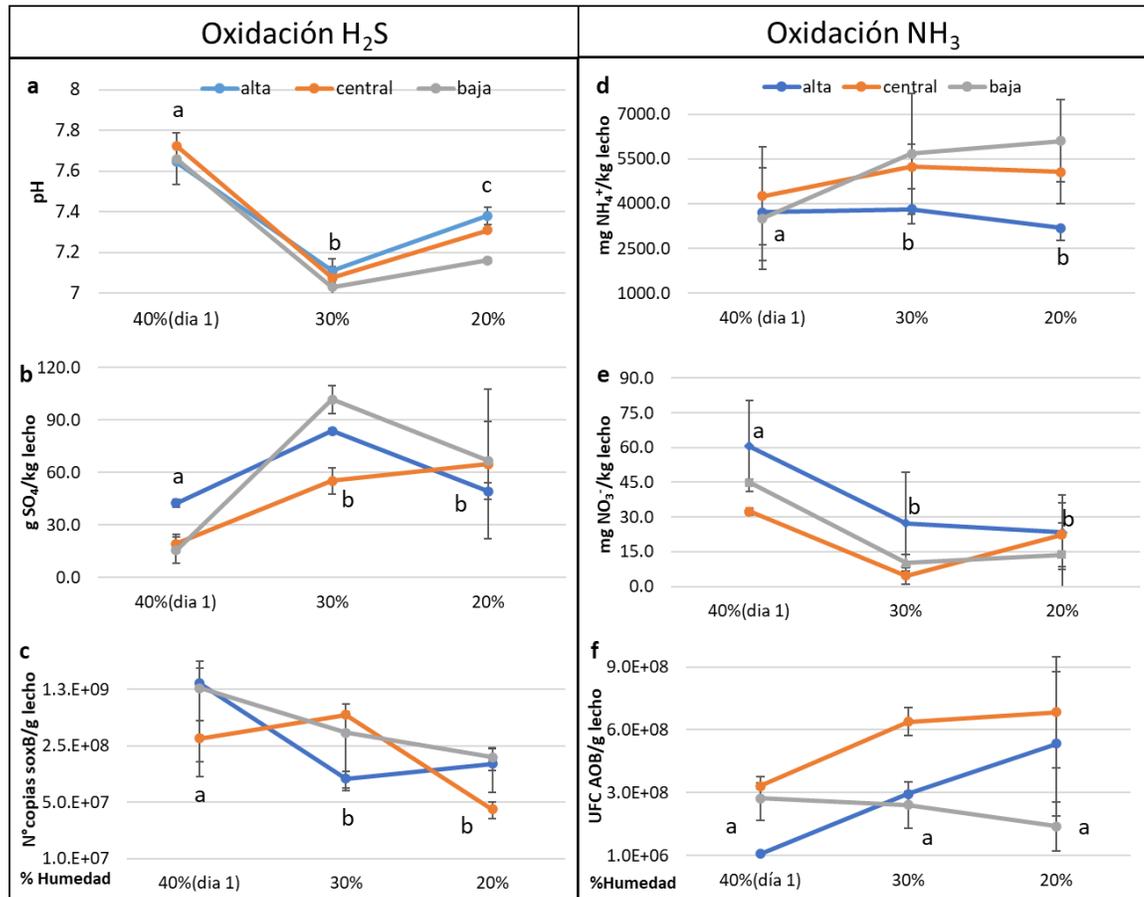


Figura 3.10. Oxidación del H₂S y NH₃ a lo largo del biofiltro a diferente humedad del lecho: (a) variación en el pH; (b) producción de sulfato; (c) abundancia de las bacterias oxidantes de azufre (SOB) en función del N° copias del gen *soxB*, (d) acumulación de amonio, (e) producción de nitrato, (f) abundancia de las bacterias oxidantes de amonio (AOB). La concentración de nitrito fue inferior a 10 mg/kg de lecho en todas las muestras. Letras diferentes dentro de cada gráfica indican promedios significativamente diferentes (p < 0,05).

Estos resultados indican que los biofiltros empacados con el compost CB seleccionado pueden operar a baja humedad (30%) con una eficiencia de remoción de aproximadamente 70%, y manteniendo los procesos de oxidación de los gases. Este resultado es relevante para la aplicación industrial del lecho de compost con bagazo de caña, ya que el bajo control de humedad suele causar el 75% de los problemas en un sistema de biofiltración (Dorado et al., 2010), de forma que el uso de este lecho sería adecuado en instalaciones donde el control de humedad es difícil o donde

el agua es un recurso limitado. Sin embargo, no es conveniente mantener esta condición por largo plazo ya que disminuye la adsorción de los gases sobre las partículas del compost y la estructura del lecho es afectada debido a la formación de grietas, de forma que se reduce la eliminación de los gases (Rene et al., 2013). Este cambio de estructura en el compost favorece la formación de pasos preferenciales de forma que el flujo de aire no es uniforme y se pueden originar zonas muertas y de baja difusión de oxígeno (Maia et al., 2012), favoreciendo de nuevo la desnitrificación.

Finalmente, el análisis de correlación entre los parámetros de operación de los biofiltros (concentración de los gases, humedad del lecho y eficiencia de remoción), concentración de los productos de remoción y la abundancia de las bacterias involucradas en la oxidación de H₂S y NH₃ (Figura 3.10), mostró adicionalmente que la eficiencia de remoción de H₂S tiene alta correlación con la humedad del lecho y la abundancia de las bacterias, indicando la predominancia de la actividad biológica en la remoción de este gas. Por el contrario, la remoción de NH₃ solo está relacionada con la concentración de los gases, confirmando que el proceso de remoción sucede principalmente mediante la sorción de gas en el lecho, ya que, a mayor concentración de los gases, menor disponibilidad de sitios libres en el lecho para su sorción.

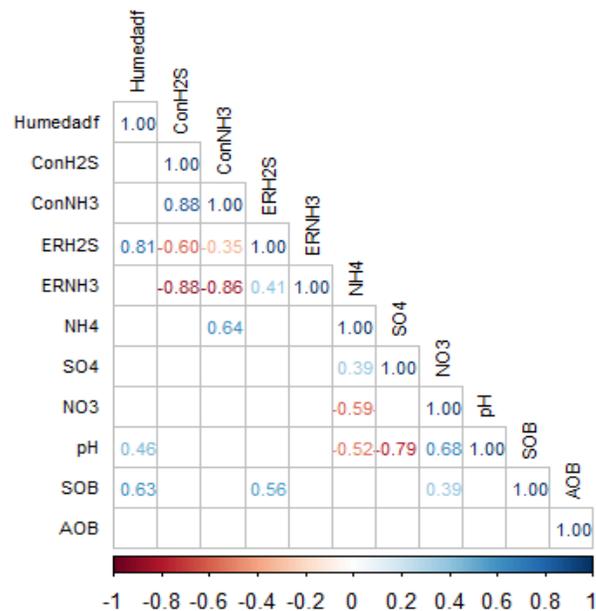


Figura 3.11. Correlación (test de Spearman) entre la humedad del lecho, los parámetros de eliminación de gases (concentración del gas y ER), concentración de productos de eliminación (pH, sulfato, amonio, nitrato) y bacterias involucradas en la oxidación de H₂S y NH₃ (log N°copias *soxB*/g lecho para SOB y log UFC/g lecho de AOB). Solo se muestran los coeficientes de correlación para valores de $p < 0,05$.

3.4 Conclusiones

El uso de residuos agrícolas como residuos lignocelulósicos y estiércol hacen de la biofiltración una alternativa económica y altamente eficiente para controlar los olores ofensivos emitidos por diferentes industrias. Este estudio mostró que el compost de bagazo de caña y de pollinaza (CB) consiguió la remoción de 97% de H_2S y 90% de NH_3 a EBRT de 60 s para la eliminación simultánea de H_2S y NH_3 a concentraciones similares a las emitidas en una PTAR.

Como el lecho CB mostró un mayor potencial de eliminación a una mayor carga de gases, se evaluaron EBRT menores y concentraciones variables para determinar el comportamiento del biofiltro a condiciones transitorias comunes en las emisiones industriales de gases. Se determinó que a un EBRT de 25 s se alcanzó la mayor capacidad de eliminación de los gases ($32,2 \pm 4,7$ g H_2S/m^3h y $1,3 \pm 0,1$ g NH_3/m^3h), con 80% de remoción de H_2S y 91% de NH_3 a EBRT a la mayor concentración de emisiones medida en la PTAR El Salitre.

Se encontró que los biofiltros recuperaron la eficiencia de remoción después de un aumento abrupto en la carga de gas y la parada en la operación. Esta última condición además promovió la oxidación de H_2S a sulfato, mostrando que, en periodos de baja concentración de gases, los biofiltros pudieron mantener la actividad metabólica.

Los cambios en las condiciones de entrada de los gases causaron un mayor efecto sobre la remoción de H_2S que sobre la remoción de NH_3 . Además, la correlación encontrada del pH del lecho con la remoción de los gases y los otros factores evaluados indica su relevancia durante la biofiltración de H_2S y NH_3 .

La disminución en la humedad también es un factor crítico en la remoción de los gases, en este caso, se determinó que los biofiltros mantuvieron parte de su capacidad de remoción y oxidación de los gases a 30% de humedad de lecho, aunque no es recomendable mantener la operación a esta condición.

También se determinó que la eliminación de amoniaco sucedió principalmente por neutralización en el lecho como amonio, aunque la desnitrificación también puede ser, en menor medida, un mecanismo de remoción de este gas. Adicionalmente, el amonio acumulado en el lecho permite la

neutralización de H₂SO₄ producido en la oxidación del sulfuro y evita la disminución drástica del pH del lecho.

Estos resultados indican que los biofiltros de compost de bagazo de caña y de pollinaza a EBRT de 25 s y 40% de humedad del lecho son adecuados para el tratamiento de emisiones industriales en una PTAR y pueden mantener la remoción de gases bajo condiciones variables de concentración de gases, acumulación de productos y baja humedad por un corto tiempo.

4. Análisis de la comunidad microbiana durante la biofiltración de H₂S y NH₃

En este capítulo se presentan los resultados de la caracterización de la comunidad microbiana durante la evaluación de las condiciones operativas de los biofiltros, con el fin de identificar posibles relaciones entre los cambios en la carga de gases, la humedad del lecho y concentración de metabolitos de oxidación, con cambios en el tipo de microorganismos presentes en el biofiltro. Para esto, se analizó el metagenoma de las muestras correspondientes a los momentos de cambio en las condiciones de operación mediante secuenciación masiva de amplicones del gen ARNr 16S para determinar la composición de la comunidad microbiana. Posteriormente, los cambios en la diversidad microbiana durante la operación de los biofiltros se evidenciaron mediante el cálculo de la disimilitud en la composición microbiana entre muestras a diferentes EBRT y humedad. Finalmente, los parámetros de operación como concentración o carga de gases y humedad del lecho, y las variables fisicoquímicas medidas en el lecho, como pH, concentración de sulfato, amonio y nitrato, se asociaron a los cambios en la comunidad microbiana mediante un análisis multivariable.

Parte de los resultados obtenidos durante el desarrollo de este objetivo se presentaron en el *Second ISME Latin American Congress*, Bogotá, Colombia, del 27 al 30 de julio de 2021 (virtual).

4.1 Introducción

La composición y evolución de la comunidad microbiana en un biofiltro están determinados por el contaminante y por las condiciones fisicoquímicas en el lecho, como pH y nutrientes, de forma que los cambios en estas condiciones durante la operación del sistema pueden llevar a cambios en la estructura y función de la comunidad microbiana y por consiguiente en el desempeño de los biofiltros (Cabrol and Malhautier, 2011). Los cambios en la comunidad microbiana se pueden

evidenciar mediante el uso de técnicas moleculares basadas en la amplificación de regiones hipervariables del gen de la subunidad pequeña del ARN ribosomal (ARNr 16S), ya que la tasa de cambios evolutivos de este gen permite la diferenciación entre especies (Acinas et al., 2004). Conociendo la cantidad de especies presentes, su abundancia e identidad, se puede describir la estructura de una comunidad microbiana a través de diversos índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon, diversidad filogenética), que dan indicio de la distribución de especies presentes en la comunidad (Marrugan, 2004). Sin embargo, estos índices no son suficientes cuando se desea comparar las comunidades de diferentes muestras. Para este fin, se estiman las diferencias en la composición de la comunidad microbiana entre dos muestras a través de índices de disimilitud o distancia, como Bray-Curtis, que se refiere a la diferencia en la abundancia absoluta de especies (Legendre and Anderson, 1999), o UniFrac, que tiene en cuenta la distancia filogenética entre las especies presentes en las muestras (Lozupone and Knight, 2005). Esta comparación se conoce como beta diversidad (Marrugan, 2004). Finalmente, las diferencias entre comunidades se pueden asociar a variables ambientales mediante análisis multivariable (Ramette, 2007).

En el caso de la biofiltración, en los últimos 15 años se han implementado este tipo de estudios de la comunidad microbiana para buscar una mayor comprensión de la relación entre las condiciones de operación con la comunidad microbiana involucrada en el proceso. Específicamente en la biofiltración de H₂S y NH₃, se ha sugerido que la estabilidad de la operación bajo cambios en la carga de los gases está asociada a la formación de comunidad microbiana estable y que puede recuperar su actividad, a pesar de la disminución en la abundancia de ciertas especies o grupos microbianos (Jiang y Tay, 2010; Tsang et al., 2015). Es decir que el estudio de la comunidad microbiana de los biofiltros ayudarían a una adecuada selección de lecho a nivel microbiológico, y al establecimiento de parámetros de operación que permitan obtener una comunidad microbiana capaz de adaptarse a las condiciones cambiantes de un sistema a nivel industrial manteniendo su actividad biológica para lograr una biofiltración de alta eficiencia y robusta a lo largo del tiempo de operación (Cabrol and Malhautier, 2011).

Sin embargo, los análisis de comunidad microbiana en la biofiltración de H₂S y NH₃, se han realizado en biofiltros de lecho escurrido (Capítulo 1, Tablas 1.2 y 1.3), que tienen una comunidad microbiana previamente adaptada, a pesar de que los biofiltros de lechos orgánicos son el tipo de configuración más empleada a nivel industrial por su facilidad de uso y bajo costo (Barbusinski *et al.* 2021).

Además, la alta diversidad microbiana de los lechos orgánicos, como el compost, permite que puedan adaptarse fácilmente a cambios en las condiciones de operación (Cabrol et al., 2012). Por otra parte, en estos casos no se han tenido en cuenta otros parámetros como la humedad o concentración de productos metabólicos, condiciones que se han sugerido que pueden afectar la actividad microbiana.

Por consiguiente, en este trabajo se evaluó el efecto de la carga de gases, disminución de la humedad y productos de la oxidación de H_2S y NH_3 (pH, concentración de sulfato, amonio y nitrato) sobre la comunidad microbiana durante la evaluación de la biofiltración de H_2S y NH_3 .

4.2 Metodología

El análisis de la comunidad microbiana presente en los lechos de biofiltración se realizó mediante la secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma extraído (Capítulo 3, sección 3.2.6). En la tabla 4.1 se indican las muestras analizadas correspondientes a algunas etapas de la evaluación del EBRT y de la evaluación de la humedad del lecho. Adicionalmente se analizó una muestra de ADN extraída del compost antes de su uso en biofiltración.

Tabla 4.1. Condición de operación del biofiltro al tomar muestras del lecho para el análisis de la comunidad microbiana

Evaluación	Condición	N° muestras
Cambios en carga de los gases	Inicio	3 muestras, una por sección
	EBRT 33s, alta concentración (33s, alta)	4 muestras, una por sección (2 para la sección central)
	EBRT 25s, alta concentración (25s, alta)	3 muestras, una por sección
	EBRT 18 s, alta concentración (18s, alta)	6 muestras, dos por sección
Humedad del lecho	Inicio: 40%	6 muestras, dos por sección
	Final: 20%	6 muestras, dos por sección

4.2.1 Secuenciación de amplicones de ARNr 16S

Una alícuota de 5 ng/μL de ADN de las muestras seleccionadas fue enviada a Macrogen Inc. (Corea del Sur) para la secuenciación de amplicones de ARNr 16S. Para este análisis, se amplificó un fragmento de aproximadamente 460 pb en la región variable V3-V4 usando los siguientes primers: S-D-Bact-0341-b-S-17 (*forward*) 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' y S-D-Bact-0785-a-A-21 (*reverse*): GACTACHVGGGTATCTAATCC (Klindworth et al., 2013). Estos primers incluían adicionalmente unas secuencias adaptadoras para permitir la construcción de la librería y la secuenciación en la plataforma Illumina. La secuencia final de los primers es: Primer *forward*: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3' y primer *reverse*: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'. La librería de ADN se construyó usando el kit Herculase II Fusion DNA Polymerase Nextera XT Index Kit V2 y se secuenció en la plataforma Illumina- MiSeq™ (Illumina, 2013). Las secuencias crudas se encuentran depositadas en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) bajo el Bioproject PRJNA938793.

4.2.2 Análisis de comunidad microbiana

Los datos crudos obtenidos de la secuenciación fueron procesados y filtrados usando QIIME2 (v 2020.6) (Bolyen et al., 2019), y la asignación taxonómica fue realizada usando como referencia la base de datos SILVA para el gen ARNr 16S (v 138) (Quast et al., 2013) a similitud de 99%. En los casos donde no hubo una asignación de género, se extrajo la secuencia correspondiente y se comparó con la base de datos GenBank usando la herramienta BLAST del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Los archivos obtenidos por QIIME2 fueron procesados en el programa Rstudio, paquete *phyloseq* (McMurdie and Holmes, 2013) para determinar la alfa y beta diversidad.

Para cada muestra se determinó la estimación de la riqueza de especies (Chao1), y los índices de diversidad (Shannon) y de diversidad filogenética (PD) usando el paquete *picante* (Kembel et al., 2010). Para determinar si había diferencias entre los índices de diversidad durante la evaluación de cambios en la carga de los gases y en la evaluación de la humedad del lecho, se realizaron pruebas de comparación múltiple (ANOVA y test de Tukey para datos paramétricos, test de Kruskal-Wallis y de Wilcoxon para datos no paramétricos).

Para el análisis de beta diversidad, se calculó la abundancia relativa para cada ASV (variante de secuencia de amplicon) en cada muestra y luego se calculó la raíz cuadrada (transformación Hellinger) para disminuir el peso de las especies muy dominantes (Legendre and Gallagher, 2001).

Estos datos se usaron para calcular la matriz de disimilitud entre pares de muestras usando la distancia Bray-Curtis en el paquete *vegan* (Oksanen et al., 2020). Esta distancia se refiere a la diferencia total en la abundancia de especies entre dos muestras, dividido por la abundancia total en cada muestra (Clarke 1993), como se muestra a continuación:

$$D_{bc} = \frac{\sum_{j=1}^p |x_{Aj} + x_{Bj}|}{\sum_{j=1}^p (x_{Aj} + x_{Bj})} \quad (\text{Ec. 4.1}),$$

donde x_{Aj} es la abundancia transformada de una especie o ASV j en la muestra A y x_{Bj} es la abundancia transformada de la especie j en la muestra B.

Esta matriz de disimilitud se redujo a espacio de dos dimensiones mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA) para evidenciar diferencias en la composición de la comunidad microbiana ya que la disimilitud entre las muestras es representada por puntos en el espacio y los puntos más cercanos entre sí tienen mayor similitud que los objetos que se encuentran más separados (Ramette, 2007). Las diferencias observadas en el PCoA se comprobaron a través de un análisis de varianza multivariado basado en permutaciones y matrices de similitud (PERMANOVA), según Anderson(2001), usando la función *adonis* y se compararon pares de muestras usando la función *pairwiseadonis* (Martinez, 2020). Este análisis también se realizó usando la distancia filogenética (UniFrac ponderado) para generar la matriz de disimilitud entre pares de muestras.

Finalmente, la relación entre la disimilitud en la comunidad microbiana con las variables ambientales establecidas (carga de gases, humedad) y determinadas (pH, concentración de sulfato, amonio, nitrato y nitrito) se identificó mediante un análisis de redundancia basado en distancia (dbRDA), usando la función *capscale* del paquete *vegan*, donde la ordenación obtenida del análisis PCoA se explica a través de múltiples regresiones lineales de las variables ambientales (Legendre and Anderson, 1999; Ramette, 2007).

Para realizar el análisis dbRDA, los datos de las variables ambientales se normalizaron usando la ecuación 4.2.

$$Z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{s} \quad (\text{Ec. 4.2}),$$

donde, Z_i es el valor z de variable en una muestra i , x_i es el valor de variable en una muestra, es el valor promedio y S la desviación estándar de la variable en el conjunto de datos.

Como el análisis dbRDA es sensible a la presencia de correlaciones entre variables ambientales, inicialmente se incluyeron en el análisis todas las variables, se calcularon los factores de inflación de varianza (VIF) y se removieron algunas de las variables que presentaron correlación en el análisis realizado en el capítulo 3, hasta que los valores VIF fueron menores a 10. La significancia de las variables para explicar la diferencia entre las comunidades microbianas se evaluó mediante un análisis ANOVA permutacional.

4.3 Resultados

4.3.1 Composición y diversidad de la comunidad microbiana en la evaluación de la carga de gases durante la biofiltración

En el análisis de la comunidad microbiana se detectaron 2210 ASVs (variante de secuencia de amplicon). Los filos Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes y Bacteroidota (antes Bacteroidetes) predominaron en las tres secciones de los biofiltros durante toda la evaluación, siendo Proteobacteria (22-34%) y Actinobacteria (20-16%) las de mayor abundancia (Figura 4.1a). Estos resultados son similares a lo encontrado en biofiltros de lecho escurrido (lecho inertes inoculados con cultivos enriquecido en bacterias nitrificantes y SOB) para la eliminación de H₂S y NH₃, donde Proteobacteria y Actinobacteria se encuentran entre los filos más abundantes (Ying et al., 2020; Zheng et al., 2021), (Capítulo 1, Tabla 1.1). Adicionalmente, Actinobacteria se encuentra en alta abundancia en la fase de maduración de compostaje de residuos lignocelulósicos con estiércol de oveja o vaca (de Gannes et al., 2013).

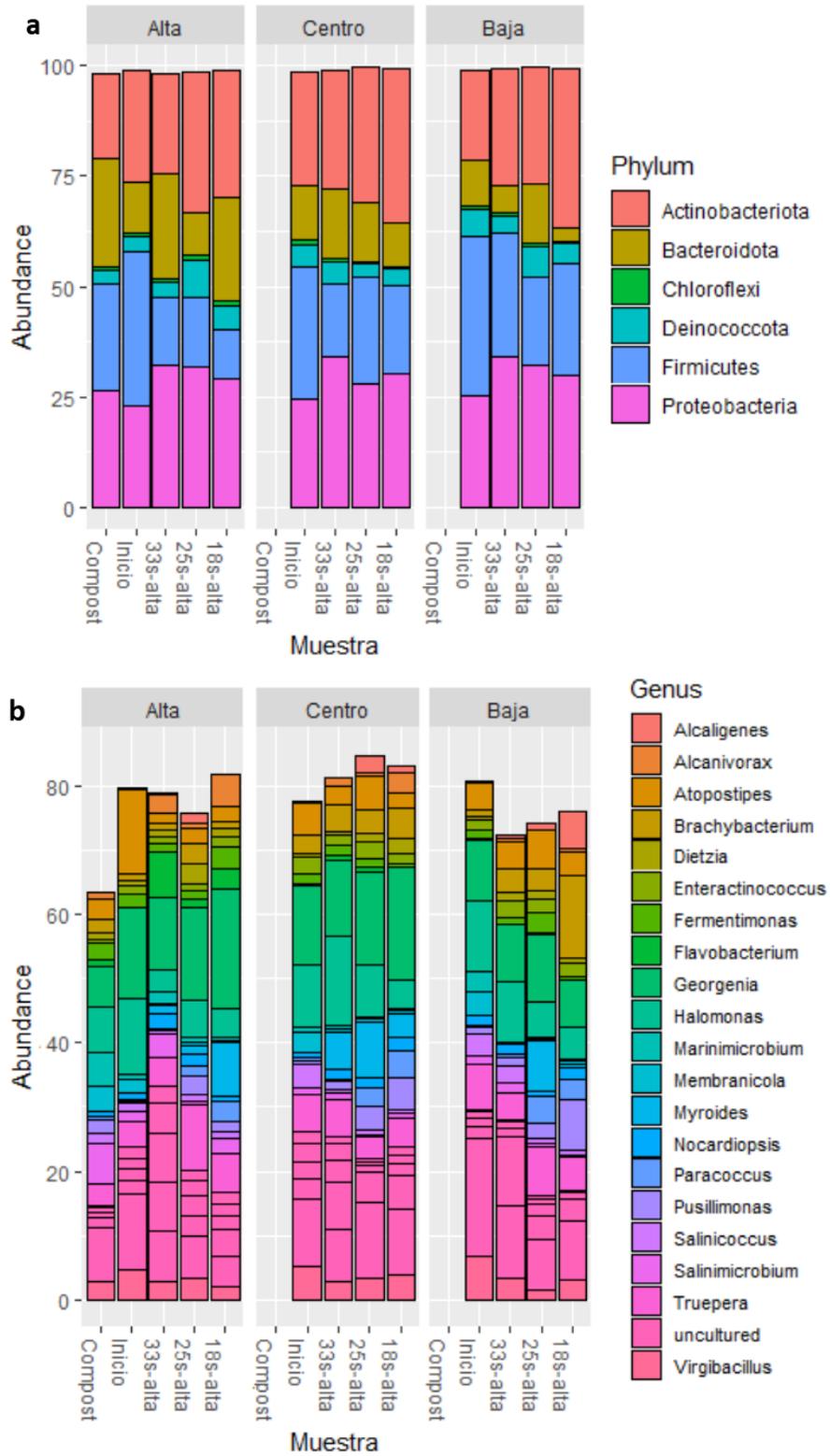


Figura 4.1. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de filo (a) y género (b) presentes en el compost antes de la biofiltración y a lo largo del biofiltro a diferente EBRT (33s, 25s y 18s) a alta concentración de gases.

Respecto al filo Firmicutes, su abundancia disminuyó a aproximadamente 10% en la sección alta después de empezar la biofiltración, pero se mantuvo estable en las otras secciones. Por otra parte, Bacteroidota disminuyó su abundancia a 6% en la sección baja. La abundancia de estos filos es variable en los sistemas de biofiltración, es decir, no siempre se encuentran en una abundancia mayor a 1%. Específicamente en el caso de Bacteroidota, Li et al.(2019) reportaron que su abundancia disminuyó de 10 a <0,1% en un biofiltro de lecho escurrido de carbón activado, salvado de trigo y aserrín para el tratamiento de emisiones industriales (principalmente H₂S y NH₃). Por el contrario, Ying et al. (2020) encontraron que su abundancia aumentó aproximadamente 15% en un biofiltro de lecho de cerámica a escala laboratorio para la eliminación de H₂S y NH₃. Estos resultados indican que la composición de la comunidad microbiana depende del tipo de lecho, así como de las condiciones de operación. Sin embargo, se muestra que la comunidad microbiana en todos los casos confluye hacia una alta abundancia de Proteobacteria ya que la mayor parte de las SOB y bacterias nitrificantes pertenecen a este filo (Arp and Stein, 2003; Tourna et al., 2014). Adicionalmente, indica que este filo y Actinobacteria pueden adaptarse a las condiciones transitorias en la carga de los gases.

A nivel de género (Figura 4.1b), se encontró que *Georgenia* (4-12%), una actinobacteria, y un género no cultivable de la familia Bacillaceae (3-14%, 100% de similitud *Virgibacillus sp. strain MSJ-26*), del filo Firmicutes, fueron las bacterias de mayor abundancia durante todo el ensayo. Dentro de las Proteobacterias, los géneros más abundantes fueron *Halomonas* (0,1-6%), *Pusillimonas* (0,3-4%), que aumentaron su abundancia durante la biofiltración, *Paracoccus denitrificans* (0,02-3,5%), un género no cultivable de la familia *Xanthomonadaceae* (0,6-6%, 98% de similitud con *Luteimonas* y *Xanthomonas sp. MS23 16S*), y un género no identificado del orden Kiloniellales (1-5%). Dentro de estos géneros, *Georgenia* y *Halomonas* han sido reportados previamente en compost de pollinaza (Ye et al., 2016), como el usado en los lechos de los biofiltros, y han sido comúnmente aislados de ambientes salinos (Kim et al., 2013; Tang et al., 2010), condición que también se presenta en los biofiltros debido al aumento en la concentración de amonio y sulfato. Otras bacterias halotolerantes presentes en el lecho de biofiltración son *Brachybacterium* (0,1-1%), *Virgibacillus* (0,7-2%) y *Alcanivorax* (0,2-2% en secciones central y alta).

Sólo se identificó un género SOB quimiolitotrofo, *Guyparkeria*, que se encontró en una abundancia de 0,01-0,6%, con mayor abundancia en la sección superior de los biofiltros. Este es un halófilo

obligado y tolerante a pH alto. Además, usa amonio como fuente de nitrógeno (Boden, 2017). No se detectaron AOB ni NOB quimiolitotrofas, resultados que concuerdan con los resultados de PCR para los genes *amoA* y *nrxA* (Capítulo 3, sección 3.2.6.1). Sin embargo, varios de los géneros de bacterias heterótrofas identificados en el lecho, como *Alcaligenes* y *Paracoccus*, son conocidas por oxidar el amonio usando compuestos orgánicos como fuente de energía (Duan et al., 2021). Omri et al. (2013) reportaron un resultado similar en un biofiltro industrial empacado con turba para la eliminación de H₂S y NH₃, donde las bacterias heterótrofas fueron predominantes en el sistema. Además, la presencia de *Alcaligenes* se ha reportado previamente en biofiltros usados para la eliminación de amoniaco (Chung and Huang, 1998).

Por otro parte, varios de los géneros identificados como más abundantes pueden reducir el nitrito o nitrato. Se ha reportado que las bacterias del orden Kiloniellales tiene potencial de desnitrificación (Imhoff and Wiese, 2014), y algunas especies de *Pusillimonas* pueden llevar a cabo la nitrificación y desnitrificación (Li et al., 2022; Zainudin et al., 2020), así como *Halomonas*, donde la desnitrificación se ha descrito en varias especies en condiciones aerobias y anaerobias (Wang and Shao, 2021). Zhu et al., (2004) reportaron que *Halomonas* podría haber llevado a cabo la degradación de butanol acoplado su oxidación al metabolismo de desnitrificación cuando la transferencia de oxígeno al biofilm era limitada y el nitrato estaba disponible en la solución nutritiva, en un biofiltro de lecho escurrido para la eliminación de butanol. Además, algunas especies de *Halomonas* también pueden oxidar sulfuro (Sorokin and Kuenen, 2005; Wang and Shao, 2021).

Paracoccus denitrificans es usada como modelo de estudio de la desnitrificación al reducir nitrato a nitrógeno molecular bajo condiciones anaerobias. Sin embargo, también puede crecer en condiciones aerobias a través de un sistema de respiración de cadena de electrones. Además, en presencia de compuestos orgánicos, puede llevar a cabo la oxidación de amonio a nitrito en una ruta de nitrificación heterótrofa (Baker et al., 1998). En *P. denitrificans* también se ha reportado la presencia de un sistema enzimático Sox completo y funcional, relacionado principalmente con alfaproteobacterias quimiolitotróficas facultativas (Friedrich et al., 2005). Ho et al. (2008) sugirieron que la presencia de *P. denitrificans* en un biofiltro para la eliminación de amoniaco y trietilamina podría desempeñar un papel importante en la nitrificación heterotrófica y desnitrificación anaerobia.

Con respecto a los géneros que están relacionados con las rutas de degradación de H₂S, *Virgibacillus* puede reducir sulfato en una ruta asimilativa (KEGG ID: Bsau00910/bfa00910; Kanehisa et al., 2016), de forma que la presencia de esta bacteria podría explicar la disminución en la concentración de sulfato en las semanas iniciales de la biofiltración, cuando el EBRT fue de 60 y 45 s. *Virgibacillus* ha sido reportada en otros sistemas de biofiltración como en un biofiltro de compost de estiércol y aserrín (Prenafeta-Boldú et al., 2014) para la eliminación de CS₂ y en la eliminación de SO₂ en un biofiltro termofílico de lecho de espuma de poliuretano (Zhang et al., 2017). Su presencia en estos sistemas puede estar asociada a que algunas especies de *Virgibacillus* pueden crecer en medios que contiene azufre, y pueden usar el tiosulfato como aceptor de electrones (Besaury et al., 2013), de forma que, aunque no oxida el azufre, puede consumir los productos de su oxidación generados por SOB.

En términos generales, las características de las bacterias identificadas en el lecho del biofiltro indican que tanto la oxidación de azufre como la de amoníaco fue realizada por microorganismos heterótrofos. Adicionalmente, la presencia de bacterias desnitrificantes indica que la reducción de nitrito y nitrato propuesta anteriormente (Capítulo 3) es posible. Zheng et al. (2021) reportaron un resultado similar en la biofiltración de H₂S y NH₃ emitidos por un vertedero de residuos domésticos, y propusieron que la oxidación de H₂S podría ser llevada a cabo por *Pseudomonas* y *Alicyclobacillus* sp., y en el caso de NH₃, su oxidación sería realizada por *Pseudomonas*, y el nitrito/nitrato producido podrían ser reducidos a nitrógeno por *Rhodanobacter* sp. y *Sphingomonas*. Es decir que en los biofiltros es común la presencia de bacterias desnitrificantes, así que las condiciones de operación deben ajustarse para evitar condiciones anaerobias que lleven a la bacterias a usar nitrato y/o nitrito como aceptores de electrones cuando la concentración de oxígeno en el biofilm es baja. Algunos controles ya se mencionaron anteriormente (Capítulo 3, sección 3.3.4), como evitar una humedad mayor a 50%.

El análisis de alfa diversidad indica que no se presentaron diferencias significativas en los índices evaluados al comparar entre las muestras tomadas en los diferentes días (Tabla 4.2) frente a los cambios de carga realizados. Sin embargo, sí se evidenciaron diferencias en el índice de Shannon y en la diversidad filogenética al comparar entre las secciones alta y baja. El índice de Shannon está relacionado con el número de taxones y su proporción en una muestra, y el índice de diversidad filogenética (PD) está relacionado con el número de especies relacionadas filogenéticamente,

teniendo entonces que, a menor PD, las especies presentes en la muestra tiene una relación filogenética más cercana y posiblemente un metabolismo similar (Cai et al., 2021). En la sección baja, estos índices son menores debido a que la alta carga/concentración de entrada de gases provoca una reducción de las especies que no soportan las condiciones y aumenta la abundancia de aquellas con un metabolismo capaz de degradar los gases, es decir, hay una especialización en la función de la comunidad microbiana. Tian et al. (2020) reportaron un resultado similar donde, en un lecho de vermicompost, se observaron índices de Shannon y Chao1 más bajos después de ser usado para el tratamiento de H₂S y variaron significativamente en los diferentes segmentos del biofiltro.

Tabla 4.2. índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon y diversidad filogenética - PD) para cada sección de los biofiltros en la evaluación de EBRT y carga de gases. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Chao1 EBRT	Sección			Promedio
	alta	centro	baja	
Inicio	547,65	628,89	552,88	576,47 ^a
33	631,56	555,55	563,08	583,40 ^a
25	564,75	497,67	518,14	526,85 ^a
18	596,02	628,21	485,16	569,80 ^a
Promedio	587,20 ^a	587,71 ^{ab}	527,92 ^b	
Shannon EBRT	sección			Promedio
	alta	centro	baja	
Inicio	4,67	4,93	4,61	4,74 ^a
33	4,83	4,72	4,66	4,74 ^a
25	4,93	4,54	4,63	4,70 ^a
18	4,72	4,65	4,53	4,63 ^a
Promedio	4,78 ^a	4,70 ^a	4,60 ^b	
PD EBRT	sección			Promedio
	alta	centro	baja	
Inicio	15,85	17,72	15,99	16,52 ^a
33	17,69	15,61	15,41	16,03 ^a
25	16,29	14,46	15,57	15,44 ^a
18	16,60	15,98	13,96	15,51 ^a
Promedio	16,61 ^a	15,95 ^{ab}	15,05 ^b	

El análisis de diversidad beta (Figura 4.2) muestra que la composición de la comunidad microbiana inicial es similar en las tres secciones. Sin embargo, al empezar el proceso de biofiltración esta comunidad se va diferenciando a lo largo del biofiltro, de forma que se observa que las muestras de la comunidad de la sección baja se agrupan en zonas diferentes de la gráfica de las muestras de

la comunidad de las secciones central y alta. Este resultado fue confirmado por el análisis PERMANOVA, que indicó diferencias significativas entre la comunidad microbiana de las muestras debidas a la sección del biofiltro (Anexo D, Tabla 1), y está de acuerdo con los resultados de alfa diversidad y con el perfil de eliminación de gases, donde la sección baja elimina principalmente H₂S, mientras que el NH₃ es eliminado en las secciones central y alta (Capítulo 3, Figura 3.6). De forma que la carga de entrada de gases a cada sección influye en la estructura de la comunidad microbiana, ya que en la sección más alta es menor la carga de gases. Por el contrario, el aumento de carga de gases en cada sección al disminuir el EBRT no parece alterar significativamente la estructura de la comunidad microbiana ya que no se evidenciaron diferencias significativas debidas al EBRT al comparar la comunidad microbiana a 33s, 25s y 18s (Anexo D, Tabla 2).

Además, se puede evidenciar que al final del ensayo (EBRT: 18s), la comunidad microbiana difiere significativamente de la comunidad inicial (Anexo D, Tabla 2) al tener en cuenta la distancia filogenética y la abundancia de los ASVs, especialmente en la sección baja ya que, como se observa en el análisis de la composición del lecho, los géneros *Alcaligenes*, *Halomonas* y *Paracoccus* aumentaron su abundancia (Figura 4.1b). Estos resultados sugieren que la comunidad microbiana posiblemente se logró aclimatar a los cambios drásticos en la concentración y se estableció en las primeras semanas del ensayo cuando el EBRT fue de 60 y 45s, indicando la estabilidad de la comunidad a estas condiciones transitorias tras la aplicación de varios ciclos de cambio en la carga de gases. Cabrol et al. (2016) reportaron un resultado similar en un sistema de biofiltración de una mezcla de gases (amoníaco y COVs) donde la aplicación de repetidas perturbaciones de intensidad creciente indujo la selección de poblaciones nitrificantes.

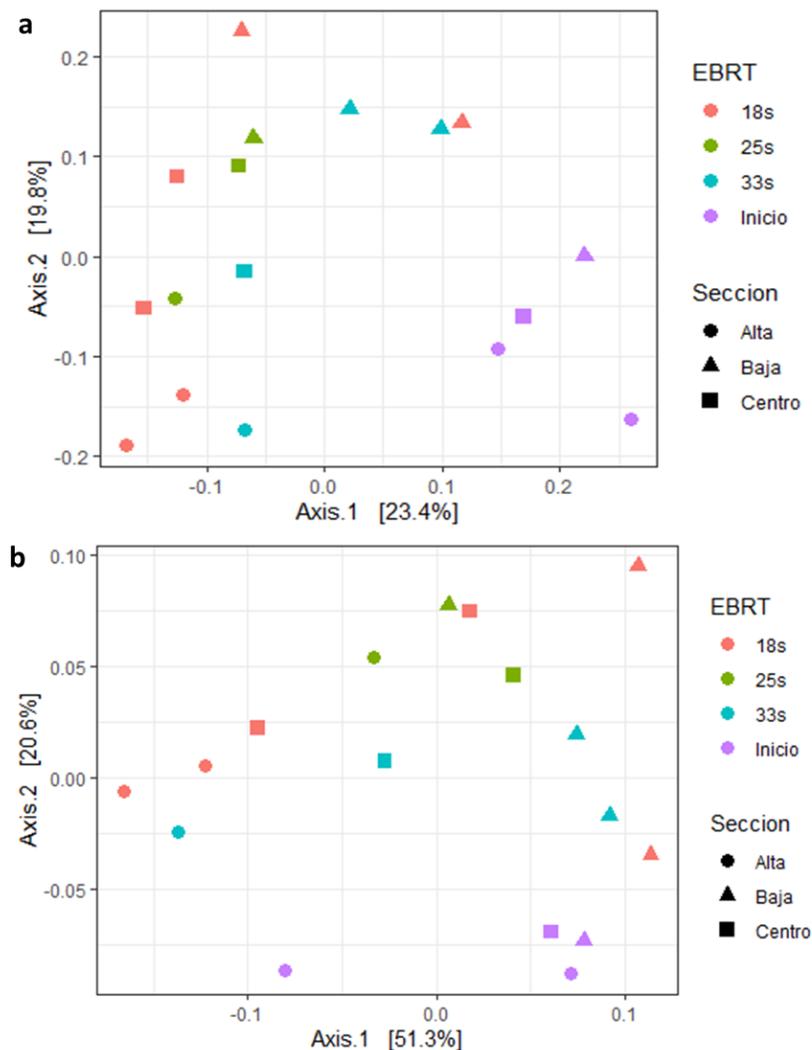


Figura 4.2. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en la a) distancia Bray-Curtis y en b) la distancia filogenética (UniFrac ponderado) entre la abundancia de ASV en las muestras de lecho a diferente EBRT (Inicio, 33, 25 y 18 s) y alta concentración de gases. El valor entre paréntesis en cada eje indica el porcentaje de varianza entre las muestras que explica cada componente.

Finalmente, el análisis de dbRDA (Figura 4.3) muestra que los vectores de carga de gases son los de mayor magnitud, de forma que son las variables que aportan más información a la disimilitud entre la comunidad microbiana de las muestras. Además, el vector de sulfato también tiene un valor alto en el eje 2. Estos resultados fueron confirmados mediante el análisis de varianza por término del modelo usado para el dbRDA, donde la carga de gases y la concentración de sulfato son las variables que tienen significancia en el modelo (Anexo E, Tabla 4). Estos resultados reafirman lo propuesto previamente, donde la carga de gases influye en la diferenciación entre las secciones del biofiltro y así mismo en la comunidad microbiana en ellas. Reyes et al. (2020) encontraron un resultado

similar en la biofiltración de ácido butírico, donde mayores cargas de compuesto contaminante redujeron la diversidad de las comunidades microbianas presentes en el lecho biológico. Jiang y Tay (2010) reportaron también esta diferenciación en la comunidad microbiana de varias secciones tras 80 días de operación de un biofiltro horizontal de lecho escurrido para la eliminación de H_2S y NH_3 bajo condiciones variables en la carga de los gases.

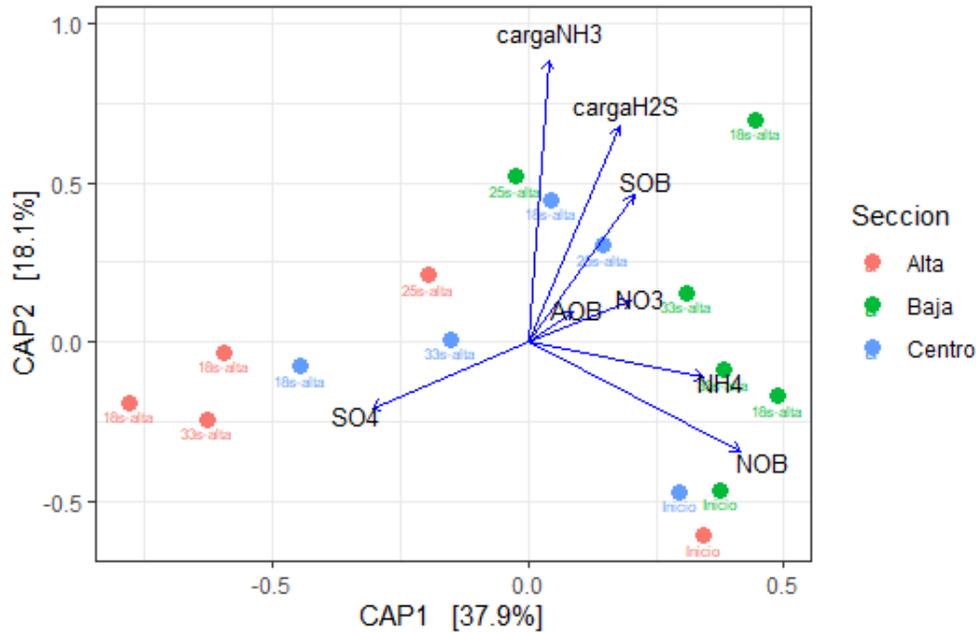


Figura 4.3. Análisis de redundancia basada en distancia Unifrac ponderado (dbRDA) de la comunidad microbiana y variables fisicoquímicas durante biofiltración a diferente EBRT (Inicio, 25s 33s 18s) y concentración alta de gases. La magnitud del vector indica el peso de la variable en explicar la ordenación de las muestras. La cabeza/flecha del vector indica la dirección de incremento de la variable.

El análisis dbRDA también permitió observar la relación de la concentración de sulfato con la diferenciación entre la comunidad microbiana durante la biofiltración. Teniendo en cuenta este resultado, así como el tipo de bacterias identificadas en la comunidad microbiana, se puede decir que el aumento en la concentración de sulfato promovió el crecimiento y selección de bacterias halotolerantes, adaptándose así a la acumulación de sales (especialmente sulfato) en el lecho. Esta adaptación de la comunidad microbiana explica la alta eficiencia de remoción de H_2S a pesar de la acumulación de sulfato, ya que varios autores han reportado una situación contraria en biofiltros

de compost donde la eficiencia de remoción de H₂S se reduce debido a la inhibición de las SOB por la acumulación de sulfato en el lecho (Das et al., 2019; Morgan-Sagastume and Noyola, 2006).

Aunque el pH no se incluyó en este análisis debido a su correlación con la carga de gases (Capítulo 3, Figura 3.11), el análisis de correlación de las variables fisicoquímicas con los géneros más abundantes en el lecho (Figura 4.4) mostró que varios de los géneros más abundantes tienen alta correlación con esta variable. Este resultado implica que el pH afecta la estructura de la comunidad microbiana, en especial cuando la disminución del pH del lecho sea mayor debido a la oxidación del H₂S, ya que llevará a disminución en la diversidad y la selección de bacterias acidófilas, como se ha reportado en sistemas de biofiltración para H₂S (Montebello et al., 2013; Tu et al., 2016). En este trabajo no se llegó a esta situación, posiblemente por la neutralización del H₂SO₄ producido con el NH₃ adsorbido, pero a mayores cargas de H₂S o mayor tiempo de operación de sistema, la disminución del pH podría tener una mayor relevancia en la composición de la comunidad microbiana.

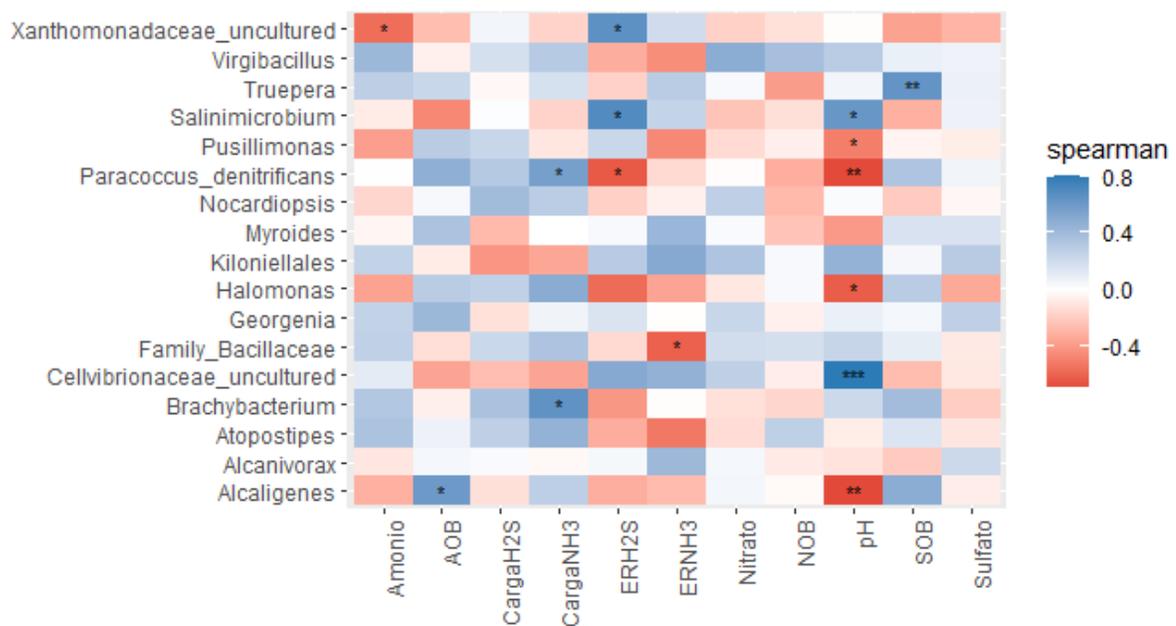


Figura 4.4. Correlación (test de Spearman) entre los parámetros de eliminación de gases (concentración del gas y ER), concentración de productos de eliminación (pH, sulfato, amonio, nitrato), bacterias involucradas en la oxidación de H₂S y NH₃ (log N° copias soxB para SOB y log UFC de AOB) y los 20 géneros más abundantes identificados en el lecho (abundancia relativa). El asterisco (*) indica que el coeficiente de correlación tiene p<0,05.

Adicionalmente, se puede observar que la abundancia de AOB tiene una correlación positiva con la abundancia de *Alcaligenes*, resultado que confirma que las bacterias AOB enumeradas durante el ensayo corresponden en su mayoría a esta bacteria heterótrofa nitrificante. En el caso de la abundancia de SOB, esta variable tiene una correlación positiva con la abundancia de *Truepera*, sin embargo, no se han encontrado reportes que muestren una relación de este género con la oxidación de sulfuro, de forma que tendría que revisarse con mayor detalle la composición de la comunidad microbiana del lecho para identificar los géneros que contienen el gen *soxB*.

4.3.2 Composición y diversidad de la comunidad microbiana en la evaluación de la humedad del lecho durante la biofiltración

En el análisis de la comunidad microbiana se detectaron 1336 ASVs. Al disminuir la humedad del lecho, la abundancia del filo Firmicutes se duplicó en todas las secciones, llegando a aproximadamente 50% en la sección baja, mientras que Proteobacteria y Bacteroidota disminuyeron a 10% y 5%, respectivamente (Figura 4.5a). Esta composición a nivel de filo es similar al reportado por Zheng et al. (2021), tras 15 meses de operación de un biofiltro de lecho escurrido para eliminación de H₂S y NH₃, donde Firmicutes fue el filo más abundante (50-80%), seguido de Proteobacteria y Actinobacteria. Es decir que los cambios en la comunidad microbiana tras la disminución drástica en la humedad serían equivalentes a los cambios que sufre esta comunidad tras años de operación.

Los cambios en la composición microbiana debido a disminución en la humedad han sido más estudiados en suelo, donde se ha reportado un comportamiento similar respecto a los cambios en la abundancia de los filios Proteobacteria y Firmicutes bajo diferentes niveles de estrés hídrico. En suelos arenosos y arcillosos, las Actinobacterias fueron el grupo de alta abundancia bajo cualquier condición de humedad mientras que las Proteobacterias disminuyeron su abundancia relativa al aumentar el periodo de sequía y fueron sustituidas por Firmicutes (Siebielec et al., 2020). Adicionalmente se ha reportado la alta abundancia de Firmicutes en lugares de alta salinidad, situación que confirma su resistencia a ambientes severos (Van Horn et al., 2014), debido posiblemente a que muchos Firmicutes pueden formar endosporas, lo que los hacen resistentes a estas condiciones (Parker and Sass, 2009).

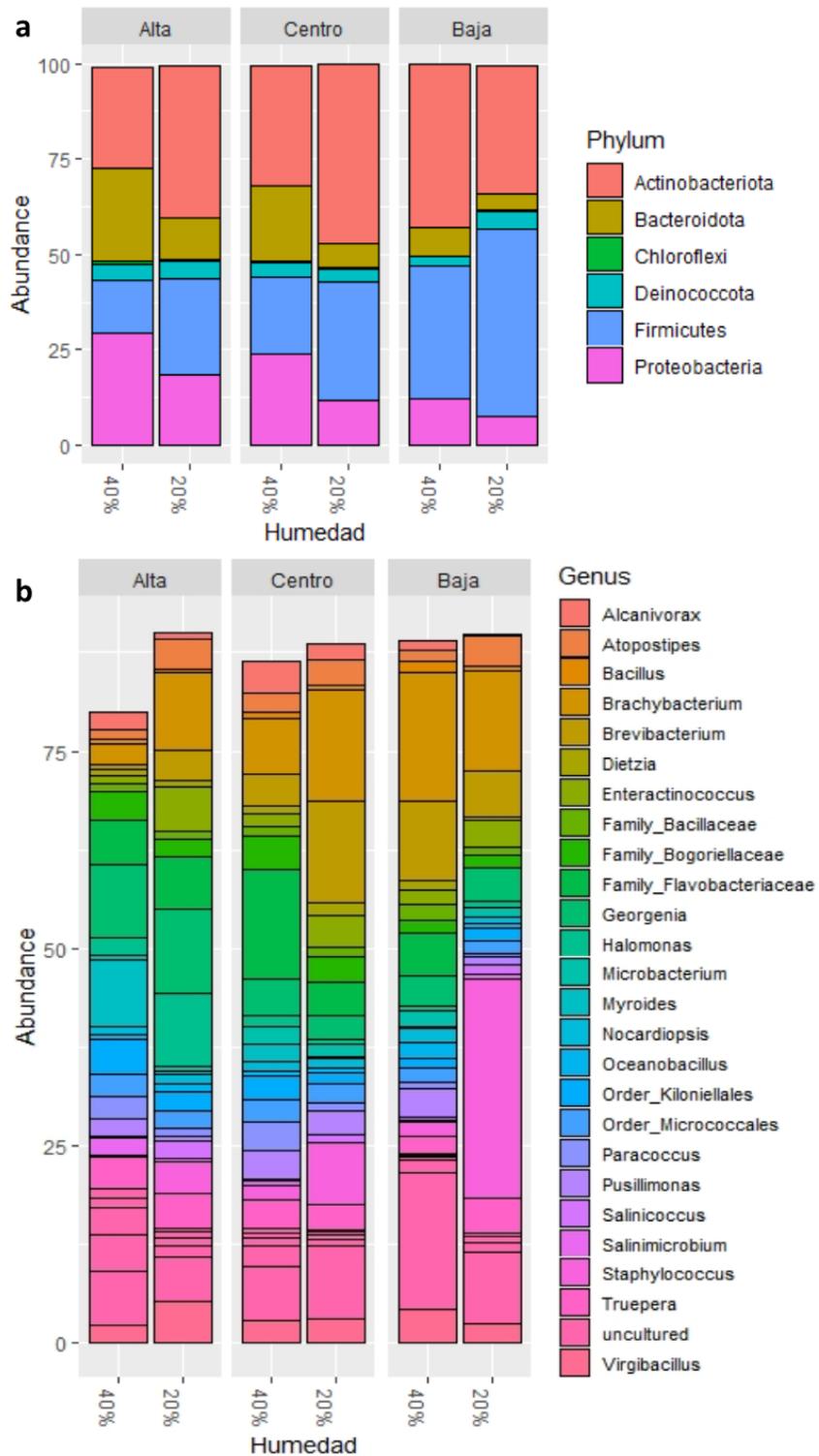


Figura 4.5. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de filo (a) y género (b) presentes en el compost a lo largo del biofiltro al inicio (40%) y final (20%) de la evaluación de la biofiltración a diferente humedad.

El cambio en la abundancia de los filos se vio reflejado en el cambio de los géneros más abundantes, principalmente en las secciones alta y central (Figura 4.5b), ya que al final del ensayo de humedad se observó una mayor abundancia de los géneros *Brevibacterium* (12% en sección central, 4% en sección alta), y en las actinobacterias *Brachybacterium* (4-9%) y *Enteractinococcus* (2-4%), cuya abundancia al inicio del ensayo fue aproximadamente 1%. El género no cultivable de la familia Bacillaceae (*Virgibacillus sp.* MSJ-26) mantuvo su abundancia entre 5-15%, así como *Atopostipes* (1-3%) y *Georgenia* (1-% en sección baja y central; 6-9% en sección alta). Por el contrario, *Halomonas* disminuyó su abundancia en las secciones baja y central (0,4-0,8%), aunque aumentó en la sección alta a 2%. *Paracoccus denitrificans* disminuyó su abundancia a aproximadamente 0,5 % en todas las secciones.

La sección baja fue la que sufrió mayor cambio ya que *Staphylococcus*, un Firmicutes, se volvió el género dominante (20%). Se ha reportado que esta bacteria junto con *Bacillus*, *Brevibacterium* y *Microbacterium*, géneros que igualmente aumentaron su abundancia al final del ensayo, son heterótrofos nitrificantes (Duan et al., 2021). En el caso de *Brevibacterium*, este género puede usar sulfato de amonio como fuente de nitrógeno y de azufre (Forquin and Weimer, 2014). Esta característica explicaría su alta abundancia en los lechos de biofiltración, ya que tienen una alta concentración de sulfato de amonio. Sin embargo, la especie de *Staphylococcus* identificada en lecho, *S. equorum*, puede llevar a cabo la reducción asimilativa de sulfato para la producción de compuestos orgánicos azufrados como cisteína y metionina, así como la reducción disimilativa de nitrato hacia N₂O o N₂. *Brachybacterium* también puede reducir el nitrato o nitrito a amonio en una ruta asimilativa, y la especie *B. saurashtrense*, con la que la secuencia obtenida por QIIME tiene 100% de similitud al comparar con secuencias de la bases de datos de NCBI, puede llevar a cabo la desnitrificación a óxido nítrico y la oxidación de nitrito a nitrato. La presencia de estas bacterias con capacidad desnitrificante podría explicar la reducción en la concentración de nitrato durante el ensayo (Capítulo 3, Figura 3.10e), y su alta abundancia en los lechos puede deberse a que son halotolerantes (Bernal et al., 2017; Oliveira et al., 2015), de forma que pueden sobrevivir en ambientes de alta conductividad como las muestras de lecho, que tienen alta concentración de sulfato y amonio.

Este cambio en la composición se evidenció en la disminución en los índices de diversidad alfa, especialmente en el índice de diversidad filogenética (Tabla 4.3), debido a la pérdida de especies dentro de los filos. En suelos se reporta una situación similar, donde la aridez afecta la distribución

microbiana y reduce la abundancia y diversidad en ecosistemas bajo restricción de agua (Maestre et al., 2015) y a alta concentración de sales (Lee et al., 2018).

Tabla 4.3. Índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon y diversidad filogenética - PD) para cada sección de los biofiltros a 40 y 20% de humedad de los lechos. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Chao1 Humedad	Sección			
	alta	central	baja	promedio
40%	513,94	499,03	419,13	477,36 ^a
20%	406,11	353,09	372,24	376,00 ^b
promedio	460,03 ^a	426,06 ^a	395,68 ^a	
Shannon humedad	Sección			
	alta	central	baja	promedio
40%	4,77	4,65	4,39	4,61 ^a
20%	4,63	4,20	3,93	4,26 ^b
promedio	4,70 ^a	4,42 ^b	4,16 ^c	
PD humedad	Sección			
	alta	central	baja	promedio
40%	14,30	12,84	11,35	12,83 ^a
20%	11,09	12,84	9,97	10,36 ^b
promedio	12,69 ^a	11,42 ^{ab}	10,66 ^b	

El análisis de PCoA (Figura 4.6) y el análisis de PERMANOVA (Anexo D, Tabla 3) confirmaron que se presentaron diferencias significativas en la comunidad microbiana entre las muestras de diferente humedad del lecho y también debidas a la sección del biofiltro. Estas últimas eran esperadas en las muestras de inicio del ensayo debido a la diferenciación en la comunidad generada en el ensayo anterior de la evaluación de EBRT. Sin embargo, a 20% de humedad, no hubo diferencias significativas entre la comunidad de la sección baja y la central (Anexo D, Tabla 4). Este resultado puede ser causado por la entrada de una mayor concentración de gases a la sección central, ya que la sección baja sólo removi6 entre el 20% y 30% de los gases (Anexo C, Figura 2), de forma que hubo una selecci6n de microorganismos que pudieran soportar la nueva condici6n de la concentraci6n de gases haciendo que la comunidad microbiana tuviera una composici6n similar a la secci6n baja, como se observa en el cambio de los g6neros predominantes al final del ensayo (Figura 4.5b).

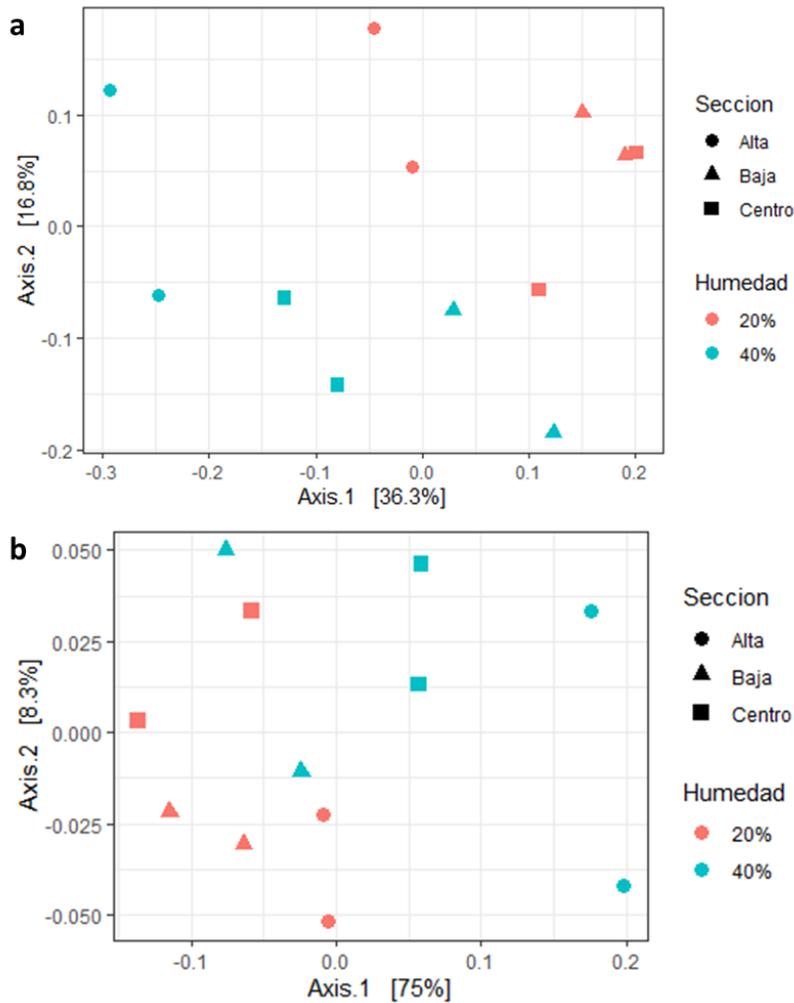


Figura 4.6. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en la a) distancia Bray-Curtis y b) distancia filogenética (UniFrac ponderado) entre la comunidad microbiana a lo largo del biofiltro al inicio (40%) y final (20%) de la evaluación de la biofiltración a diferente humedad. El valor entre paréntesis en cada eje indica el porcentaje de varianza entre las muestras que explica cada componente.

El análisis de dbRDA (Figura 4.7) confirmó la hipótesis sobre la transición de la comunidad de la sección central, ya que las muestras de la sección central a 20% de humedad se agrupan con las muestras de la sección baja, y el respectivo análisis ANOVA permutacional indica que la concentración de H₂S es significativa y es la variable de mayor valor en los componentes del modelo que relaciona las variables fisicoquímicas con la disimilitud entre la comunidad microbiana de las muestras (Anexo F, Tabla 4). Jiang et al. (2010) encontraron un resultado similar cuando aumenta la carga de gases a lo largo del biofiltro, ya que tras 190 días de operación y varios periodos de aumento en la carga de gases (H₂S y NH₃) en un biofiltro de lecho escurrido, la comunidad

microbiana de las secciones de los biofiltros tuvo una similitud de 79-100%, indicando que la comunidad microbiana se fue adaptando a los cambios en la carga de entrada de los gases. Sin embargo, la adaptación de la comunidad microbiana a los cambios de la humedad y alta concentración de iones no se reflejó en la actividad microbiana, ya que a 20% de humedad, la eficiencia de remoción se redujo drásticamente (40,3% de H_2S y 57,1% de NH_3). Este resultado era esperado, ya que la comunidad microbiana se ve sometida a un estrés osmótico, donde la baja cantidad de agua y la alta concentración de iones en el biofilm provocan cambios en el ambiente interno de las células que llevan a un mal plegamiento de las proteínas, afectando los procesos metabólicos (Sévin et al., 2016).

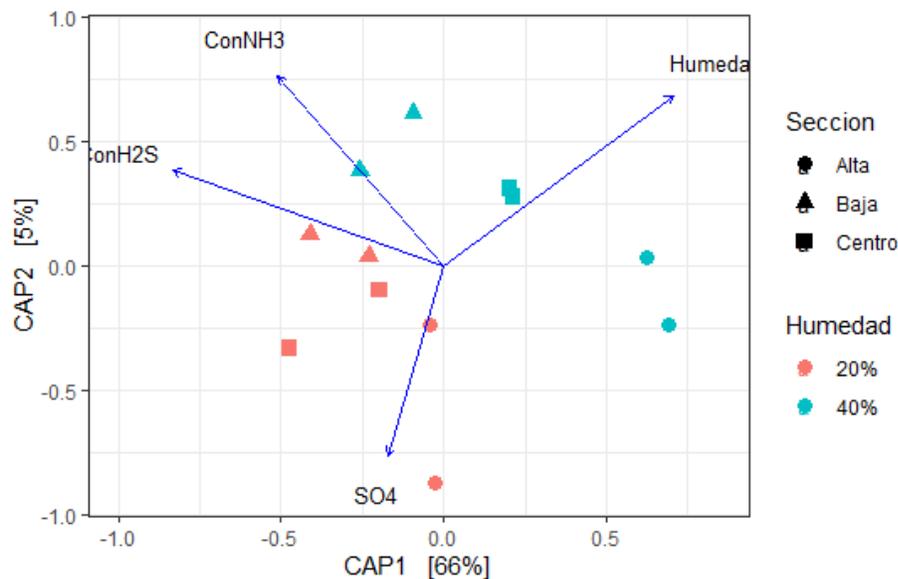


Figura 4.7. Análisis de redundancia basada en distancia filogenética (dbRDA) entre la comunidad microbiana en las muestras de lecho a diferente humedad (40 y 20%).

4.4 Conclusiones

La diferencia en la carga de gases de entrada a lo largo del biofiltro causó que la abundancia de bacterias fuera diferente entre secciones del biofiltro, en especial en la sección baja. La estructura de la comunidad de cada sección se mantuvo a pesar de los cambios drásticos en la concentración de los gases indicando que las bacterias se adaptaron a estas condiciones.

La reducción de la humedad y la exposición a una mayor concentración de gases de las secciones más altas del biofiltro afectó drásticamente la composición de la comunidad, llevando al cambio de

filo predominante hacia uno que está asociado a la resistencia a condiciones extremas, como Firmicutes, de forma que la comunidad sería más resistente a condiciones de baja humedad. Además, estas condiciones provocaron que al final del ensayo la comunidad microbiana tuviera una composición similar a lo largo del biofiltro.

Es decir que la estructura de la comunidad microbiana estuvo determinada principalmente por la carga de gases y la humedad del lecho. Sin embargo, los análisis realizados muestran que la concentración de sulfato también influye en la composición de la comunidad microbiana. Estas condiciones llevaron a la predominancia de bacterias halotolerantes durante todo el ensayo, situación que no se ha reportado en otros sistemas de biofiltración. De estas bacterias, varias tienen capacidad desnitrificante. Como la comunidad microbiana proviene de la pollinaza usada como sustrato para el compostaje, el conocer la composición microbiana de un material orgánico, al igual que las características fisicoquímicas, permitiría evaluar su viabilidad para la eliminación de H₂S y NH₃ mediante biofiltración, así como establecer las condiciones de operación para minimizar la reducción de nitrito y nitrato.

La ausencia de bacterias quimiolitotrofas oxidantes de azufre en el compost usado como lecho en la biofiltración de H₂S y NH₃, demuestra que las bacterias heterótrofas juegan un papel importante en la eliminación de H₂S y se requiere un mayor estudio de su papel en el proceso, ya que pudieron tolerar altas cargas de los gases y alta concentración de sulfato, condiciones que pueden ser comunes en sistemas de biofiltración a escala industrial.

Los resultados de este trabajo muestran que la comunidad microbiana del compost usado como lecho de biofiltración puede adaptarse a las diferentes condiciones transitorias presentadas, como aumento de la concentración de gases, acumulación de sales y disminución en la humedad.

5. Obtención de un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre

En el presente capítulo se muestra el enriquecimiento de un lodo digerido para la obtención de un cultivo microbiano enriquecido en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre con el fin de usarlo como inóculo sobre el lecho de compost para mejorar la remoción y oxidación de H_2S y NH_3 mediante biofiltración. El enriquecimiento se llevó a cabo en un medio de cultivo mineral con amonio como única fuente de energía, y adicionando sulfuro de sodio de forma discontinua para promover el crecimiento de bacterias oxidantes de amonio, nitrato que pudieran crecer en presencia de sulfuro. Se evaluaron dos fuentes diferentes de microorganismos, biosólido y lodo digerido, obtenidos de la PTAR El Salitre y diferentes concentraciones de sulfuro de sodio para determinar la concentración que permitiera el crecimiento de las bacterias nitrificantes y bacterias oxidantes de azufre. Finalmente, una vez se estabilizó la composición del cultivo, se identificaron las bacterias presentes en él mediante secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma.

Parte de los resultados obtenidos durante el desarrollo de este objetivo se presentaron en el C2B2-Tercer Congreso Colombiano de Bioquímica y Biología Molecular, Bogotá, Colombia 1-3 de noviembre de 2018.

5.1 Introducción

Los biofiltros de compost en general contienen una alta diversidad microbiana para llevar a cabo la eliminación de diferentes gases (Barbusinski et al., 2017). Sin embargo, como se evidenció en los ensayos realizados anteriormente (Capítulo 3 y 4), la diversidad disminuyó drásticamente al reducir la humedad del lecho, situación que podría afectar la remoción de los gases al reiniciar la operación de los biofiltros. Además, en el compost usado no se encontraron las bacterias nitrificantes quimiolitotrofas esperadas para la oxidación del amoníaco, de forma que este compuesto fue eliminado de la corriente gaseosa mediante acumulación en el lecho como amonio y posiblemente

reducido a N₂O y/o N₂. La baja abundancia o ausencia de las bacterias nitrificantes puede deberse a que la presencia de sulfuro afecta negativamente la nitrificación al reducir el consumo de amonio, la oxidación de nitrito producción de nitrato o la velocidad específica de las reacciones involucradas (Bejarano Ortiz et al., 2013; Delgado Vela et al., 2018). Esto lleva a que las bacterias no obtengan suficiente energía para crecer, de forma que su crecimiento es lento y estén en baja abundancia (Beristain-Cardoso et al., 2010).

Sin embargo, Beristain et al. (2010) encontraron que a pesar de que la cinética de nitrificación de un lodo nitrificante fue afectada por la presencia de sulfuro (13 mg S/L), el consumo de amonio fue de 100% y el rendimiento de producción de nitrato fue de 1. Adicionalmente, se presentó la oxidación del sulfuro. Jiang y Tay (2010) también obtuvieron un biofilm nitrificante aclimatado a H₂S que tuvo alta remoción de H₂S y NH₃ en un biofiltro de lecho escurrido. Estos reportes indican que se puede obtener una comunidad microbiana que puede llevar a cabo la oxidación simultánea de sulfuro y amonio.

Para su uso como inóculo de un biofiltro, esta comunidad microbiana usualmente proviene de lodos activados sin aclimatar o cultivos aclimatados por separado para cada tipo de bacteria (Capítulo 1, tabla 1.2). Esto hace que la etapa de aclimatación del biofiltro a las condiciones del gas de entrada sea más larga o que la eficiencia de remoción disminuya cuando hay condiciones transitorias en la concentración, como observó Jiang *et al.* (Jiang et al., 2009a) al comparar la biofiltración de H₂S y NH₃ con un cultivo nitrificante aclimatado primero a NH₃ y posteriormente a H₂S, con la mezcla de cultivos nitrificante y cultivo enriquecido en y bacterias oxidantes de azufre (SOB) y aclimatado simultáneamente a ambos gases. Entonces es deseable llevar a cabo una adecuada adaptación del cultivo microbiano antes de su uso en biofiltración de H₂S y NH₃ para que mantenga su actividad metabólica bajo las diversas condiciones de operación de un biofiltro.

Una forma de obtener esta comunidad es mediante la aclimatación de lodos o sólidos de alta diversidad microbiana que provengan de procesos donde están presentes el amonio y sulfuro, como es el caso de los lodos del tratamiento de aguas residuales donde el contenido de sulfuro suele estar entre 9 y 11 mg S/ g lodo (Du y Parker, 2012). Como la nitrificación es el paso más afectado en esta eliminación simultánea, este trabajo busca enriquecer el lodo o biosólido en bacterias nitrificantes que puedan crecer en presencia de sulfuro y que adicionalmente lo puedan oxidar. Para esto se evaluó el crecimiento de bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre desde dos

fuentes de microorganismos provenientes de diferentes pasos en el tratamiento de lodos de aguas residuales de la PTAR-El Salitre. Posteriormente, se evaluaron diferentes concentraciones de sulfuro donde aún hubiera crecimiento de las bacterias de interés. Finalmente, con la fuente de microorganismos y la concentración de sulfuro seleccionadas, se llevó a cabo el enriquecimiento en un medio nitrificante con adición discontinua de Na_2S para establecer un cultivo enriquecido en bacterias nitrificantes y bacterias oxidantes de azufre para la oxidación simultánea de sulfuro y amonio.

5.2 Metodología

5.2.1 Selección de fuente de microorganismos

Se recolectó una muestra de lodo digerido y de biosólido producidos durante el tratamiento de aguas residuales en la PTAR El Salitre. El lodo digerido proviene del proceso de digestión anaerobia de los lodos espesados y el biosólido es el producto de la deshidratación del lodo digerido.

Se cuantificaron las SOB, AOB y NOB en las muestras mediante recuento en placa en los medios específicos indicados en la Tabla 3.2 (Capítulo 3). Ambas muestras se diluyeron en proporción 1:10 en 50 mL de medio de cultivo establecido para el crecimiento de bacterias nitrificantes (Tabla 5.1) y se adicionaron perlas de vidrio para resuspender el precipitado. Los cultivos fueron incubados a 30°C y 150 rpm en la oscuridad durante 3 semanas. Diariamente se dejaron los cultivos a la atmósfera estéril durante 30 min todos los días para asegurar oxigenación y evitar acumulación de CO_2 (Elías et al., 2010). Posteriormente, se adicionó una alícuota de una solución de Na_2S estéril para obtener una concentración de 13 mg S/L en el cultivo con el fin de promover el crecimiento de SOB sin afectar el crecimiento de las bacterias nitrificantes (Beristain-Cardoso et al. 2010). Semanalmente se verificó el pH de cultivo y se transfirió 10% de cultivo a medio nuevo durante un mes. Al finalizar este tiempo se cuantificaron de nuevo las bacterias de interés.

Tabla 5.1. Medio de cultivo para el crecimiento de bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre (Beristain-Cardoso et al 2010). pH final:6,85

Componente	Concentración
NH ₄ Cl	0,5 g/L
KH ₂ PO ₄	4,5 g/L
K ₂ HPO ₄	3,0 g/L
NaHCO ₃	3,5 g/L
NaCl	0,2 g/L
Na ₂ S ₂ O ₃	56 mg/L
Solución stock elementos traza ¹	1,3 mL/L

¹Solución stock de elementos traza: 5 g/L Na₂EDTA, 1,57 g/L CaCl₂.2H₂O, 5,0 g/L MgCl₂.5H₂O, 1,57 mg/L CuSO₄.5H₂O, 5 mg/L MnCl₂, 1,1 mg/L (NH₄)₈Mo₇O₂₄, 5 g/L Fe₂(SO₄)₃, 1,6 g/L CoCl₂.6H₂O.

5.2.2 Evaluación de concentración de Na₂S

Usando la fuente de microorganismos seleccionada en el paso anterior, se iniciaron tres cultivos para evaluar tres concentraciones de Na₂S (25, 37,5 y 75 mg Na₂S/L equivalentes a 10,3, 15,4 y 30,8 mg S/L) en la adición diaria al cultivo para seleccionar la máxima concentración que permita el crecimiento de la mayor cantidad de bacterias nitrificantes y SOB. En este ensayo se modificó el medio de cultivo (Tabla 5.2) para permitir el crecimiento de NOB. Se realizaron cambios semanales de medio, transfiriendo el 10% del cultivo a medio nuevo durante tres semanas. El crecimiento de las bacterias de interés se verificó semanalmente mediante recuento en placa. Al finalizar el ensayo, se verificó la presencia de los genes relacionados con oxidación de sulfuro (*soxB*), amonio(*amoA*) y nitrito (*nrxA*) en el cultivo enriquecido mediante PCR, siguiendo la metodología indicada en el capítulo 3, sección 3.2.6.1.

Tabla 5.2. Medio de cultivo modificado para el crecimiento de bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre (Adaptado de Beristain-Cardoso et al., 2010; Bollmann et al., 2011). pH final:7

Componente	Concentración
NH ₄ Cl	0,25 g/L
KH ₂ PO ₄	1,125 g/L
K ₂ HPO ₄	0,75 g/L
NaHCO ₃	2 g/L
NaCl	0,2 g/L
Na ₂ S ₂ O ₃	56 mg/L
Solución stock CaCl ₂ y MgCl ₂	10 mL/L

(1g/L CaCl ₂ y 4 g/L MgCl ₂)	
Solución stock elementos traza ¹	10 mL/L

¹Solución stock de elementos traza: 1 g/L Na₂EDTA, 14,6 mg/L CuSO₄·5H₂O, 10 mg/L MnCl₂, 50 mg/L (NH₄)₂MoO₄, 37 mg/L Fe₂(SO₄)₃, 200 mg/L CoCl₂·6H₂O, 4 mg/L H₃BO₃, 34 mg/L ZnSO₄·7H₂O

Finalmente se realizó el enriquecimiento de tres cultivos líquidos donde la concentración de Na₂S se fue aumentando desde 5 mg S/L en el primer pase hasta 40 mg S/L en el sexto pase, al hacer el cambio de medio del cultivo. En este caso, la adición de la solución de sulfuro se realizó cada dos días junto con la adición de HCl equivalente para evitar el incremento del pH del cultivo. Antes de la adición del sulfuro y HCl, se verificó cualitativamente el consumo de amonio, producción de nitrito y de sulfato a través de la reacción de Nessler, reacción de Griess (Bollmann and Laanbroek, 2001) y precipitación con BaCl₂ 5%, respectivamente. La primera transferencia de medio se realizó cuando no se observó presencia de amonio en el medio de cultivo (Nessler negativo). Adicionalmente se tomaron muestras del cultivo mensualmente antes de realizar el medio de cultivo para evaluar la abundancia de las bacterias de interés en el cultivo mediante recuento en placa con medios específicos y por qPCR de los genes específicos (*amoA*, *nrxA* y *soxB*) usando 20 ng de ADN por reacción. Los cambios en la comunidad microbiana del cultivo durante este enriquecimiento se observaron mediante electroforesis en gel de gradiente desnaturizando (DGGE-Denaturing gradient gel electrophoresis). Al final del ensayo se mezclaron los cultivos con el mismo perfil de bandas de DGGE.

5.2.3 Obtención de cultivo enriquecido

El cultivo anterior fue mantenido en crecimiento continuo en Erlenmeyers de 2 L con adición cada dos días de Na₂S para alcanzar una concentración de 15 mg S/L en el cultivo. Cada 10-15 días se hicieron transferencias de la tercera parte del cultivo a medio nuevo, revisando el consumo de amonio, y producción de nitrito y sulfato mediante las pruebas cualitativas mencionadas previamente. El tiempo de incubación antes del cambio de medio se amplió para permitir la acumulación de productos de oxidación, de forma que las bacterias se pudieran adaptar a esta condición que se presenta en los biofiltros. El volumen del cultivo se incrementó gradualmente durante dos meses hasta llegar a 1 L, luego a 2,5 L y finalmente el volumen se aumentó hasta 5 L, repartidos en Erlenmeyers de 5 L y 2 L tras 12 meses para obtener la cantidad de bacterias necesarias para la inoculación en el lecho de biofiltración. La presencia de los grupos bacterianos de interés se comprobó mediante conteo en placa con medios específicos para el crecimiento AOB,

NOB y SOB, y mediante qPCR de los genes específicos (*amoA*, *nrxA* y *soxB*) tras 6, 9 y 12 meses del cultivo.

5.2.4 Análisis moleculares

Como se indicó previamente, el enriquecimiento del cultivo se monitoreó mediante métodos moleculares (qPCR de los genes *soxB*, *amoA* y *nrxA*, análisis DGGE) que requirieron la extracción de ADN del cultivo. Para este fin, una alícuota del cultivo fue centrifugada a 13000 rpm por 5 min. El sedimento se usó para la extracción del ADN mediante lisis mecánica con perlas de vidrio en una solución de NaCl 2,8 M y posteriormente con CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio). La lisis mecánica se realizó mediante 2 pulsos de 30 segundos en *Mini beadbeater-16TM* (Biospec) dejando los tubos a 4 °C durante 30 segundos entre cada pulso. El ADN extraído se purificó con la mezcla fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (pH:7,7-8.3) y precipitación con etanol 96% frío y acetato de sodio 3 M (Bollmann and Laanbroek 2001). El ADN fue resuspendido en buffer TE 1X y conservado a -20 °C y -80 °C. La extracción de ADN de la muestra de sedimento inicial se realizó usando el kit *FastDNA Spin kit for soil* (MPBiomedicals) siguiendo la metodología indicada por el fabricante, con la excepción del uso del *Mini beadbeater-16TM* (Biospec) en vez del *Bead beating FastPrep[®]* en el paso de lisis celular. Esta lisis se realizó mediante 2 pulsos de 30 segundos dejando los tubos a 4 °C durante 30 segundos entre cada pulso. Las muestras de ADN fueron cuantificadas mediante espectrofotometría en el equipo NanoDrop 2000 (Thermo Scientific Inc.). Se diluyó una alícuota de ADN en TE 1X para obtener una solución aproximadamente de 30 ng/μL de ADN para su posterior uso.

Adicionalmente, las bacterias presentes en el cultivo enriquecido se identificaron mediante la secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma en las muestras de ADN extraídas siguiendo la metodología indicada en el capítulo 4, sección 4.2.1 y 4.2.2.

5.2.4.1 Cuantificación de los genes *amoA* y *nrxA* mediante qPCR

Se verificó la presencia de los genes de interés en una muestra de cultivo enriquecido mediante electroforesis del producto de amplificación de la PCR (Anexo G, Figura1) siguiendo la metodología indicada en el capítulo 3, sección 3.2.6.1. La concentración de primers y la temperatura de

hibridación para la qPCR de los genes *amoA* y *nrxA* fue optimizada mediante un diseño ortogonal Taguchi 3x3 (Thanakiatkrai and Welch, 2012) usando el máster mix GoTaq® (Promega) y como plantilla el control positivo con 10^5 copias *nrxA* / μL y 10^6 copias *amoA* / μL . En la Tabla 5.3 se indican las condiciones optimizadas para la amplificación de los genes evaluados. La mezcla de reacción tiene adicionalmente BSA (200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), 20-30 ng ADN y el volumen necesario de agua Milli-Q para completar un volumen de 12 μL . La curva estándar de calibración se obtuvo a partir de diluciones seriadas del plásmido usado como control positivo, desde 10^6 a 10^{10} copias de *nrxA* y desde 10^6 a 10^{10} copias de *amoA*.

Tabla 5.3. Condiciones de amplificación de los genes *amoA* y *nrxA* para la qPCR

Gen	<i>amoA</i>	<i>nrxA</i>
Concentración primers	Forward: 0,25 μM Reverso: 0,3 μM	Forward: 0,57 μM Reverso: 0,51 μM
Temperatura hibridación (T_a)	54,5 °C	57,2 °C

Para la reacción de amplificación se utilizó un termociclador CFX96™ Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD), bajo las siguientes condiciones: 95 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C por 30s, T_a durante 30s y 72 °C por 45s. Al finalizar la reacción de amplificación, se realizó una curva de fusión para verificar la amplificación de un único producto y se comprobó el tamaño del producto mediante electroforesis en gel de agarosa a 1,2%, con tinción SYBR® Safe (ThermoFisher Scientific) en buffer TBE 1X a 100 V durante una hora.

5.2.4.2 Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE)

Este procedimiento fue llevado a cabo en el laboratorio de Microbiología Agrícola del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia.

Se amplificó el gen ARNr 16S de las muestras seleccionadas de ADN usando los primers 338F, que contiene una secuencia de 30 nucleótidos CG en el extremo 5', y 518r (Ovreås et al., 1997). El producto de amplificación fue cuantificado mediante espectrofotometría en el equipo NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific Inc), y diluido con agua ultrapura para obtener entre 20-50 μL que equivalgan por lo menos a 400ng de ADN (aproximadamente 20 ng/ μL).

Se preparó un gel de gradiente desnaturalizante de 40 a 60% desde una solución de acrilamida-bisacrilamida 40% y solución de urea-formamida y se cargaron las muestras de ADN mezcladas con

el buffer de carga. Se usó como marcador de migración *GeneRuler Low Range DNA Ladder* (25-700pb, Thermofisher Scientific). La electroforesis se llevó a cabo durante 18 h en buffer TAE 1X a 60°C, 70 V en el equipo Bio-Rad D Gene System (Bio-Rad). El revelado del gel se realizó con SYBR™ Gold (Thermofisher scientific) en un Gel Doc EZ Gel Documentation System (Bio-Rad). El análisis de las bandas se realizó en el programa GelAnalyzer 19.1

5.2.5 Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de varianza ANOVA y test de t-Student en el programa RStudio para comparar la abundancia de las bacterias de interés en la fuente de microorganismos usadas y en la prueba de concentración de sulfuro adicionada al cultivo. Los resultados de las bandas de DGGE se transformaron en una matriz de presencia/ausencia de bandas y se realizó un análisis de disimilitud entre las muestras del cultivo a diferente tiempo de enriquecimiento mediante análisis de conglomerados UPGMA basado en la distancia Jaccard en el programa RStudio (paquete *vegan* y *ggdendro*).

5.3 Resultados y Discusión

5.3.1 Selección fuente de microorganismos

De acuerdo con la tabla 5.4, al comparar el inóculo usado, no se presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el conteo de bacterias de interés al final del ensayo. Sin embargo, al comparar estos resultados con la abundancia inicial, se observó el enriquecimiento de SOB y AOB usando lodo como fuente de microorganismos. Este resultado se puede deber a que las condiciones aerobias en las que se produce el biosólido permiten el crecimiento de las bacterias de interés, caso contrario al lodo digerido, que proviene de un sistema de digestión anaerobia, donde su crecimiento es inhibido. De forma que inicialmente se observa una mayor abundancia de las bacterias en el biosólido. Sin embargo, al realizar el cultivo en presencia de sulfuro, disminuye la abundancia en el biosólido debido a la inhibición de la nitrificación, mientras que, en el cultivo desde lodo digerido, hay un leve aumento en las AOB, debido posiblemente a que las condiciones aerobias permiten el crecimiento de las bacterias de interés, incluso con la presencia de sulfuro, indicando que se seleccionaron las bacterias que se adaptaron a las condiciones de cultivo. Si bien

desde ambas fuentes se alcanzó una abundancia similar de las bacterias nitrificantes, el uso del lodo digerido permite establecer desde el inicio las condiciones para enriquecimiento de las bacterias deseadas cuya función sea acorde con su uso final, en este caso, para biofiltración de H_2S y NH_3 .

Tabla 5.4. Abundancia de bacterias nitrificantes (AOB y NOB) y oxidantes de azufre (SOB) al inicio y final del enriquecimiento desde biosólido y lodos de la PTAR El Salitre. El asterisco (*) indica que hay diferencia con la muestra inicial

	Lodo digerido (LD)		Biosólido (B)	
	UFC inicial	UFC final	UFC inicial	UFC final
UFC SOB	$(2,70 \pm 1,13) \times 10^6$	$(2,04 \pm 1,01) \times 10^{8*}$	$(7,83 \pm 1,37) \times 10^7$	$(2,23 \pm 0,7) \times 10^{8*}$
UFC AOB	$(1,19 \pm 0,18) \times 10^6$	$(2,30 \pm 1,05) \times 10^{7*}$	$(7,83 \pm 3,12) \times 10^8$	$(1,31 \pm 1,23) \times 10^{7*}$
UFC NOB	$(1,90 \pm 0,14) \times 10^7$	$(7,33 \pm 2,81) \times 10^6$	$(2,61 \pm 0,71) \times 10^8$	$(1,51 \pm 1,16) \times 10^{7*}$

En el caso de las NOB, también disminuyó su abundancia en el cultivo desde el biosólido mientras que no hubo un cambio significativo en el cultivo desde el lodo digerido mientras. Erguder et al., (2008) encontraron resultados similares indicando que las NOB son más sensibles a la presencia de sulfuro que las AOB. Adicionalmente, este tipo de bacterias tiene una velocidad de crecimiento más lenta (Spieck and Bock, 2015) y también es inhibido cuando hay una alta concentración de amoníaco libre en el medio (Park and Bae, 2009).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionó el lodo digerido como fuente de microorganismos para obtener el cultivo microbiano a usar en los biofiltros. Adicionalmente, se modificó el medio de cultivo, reduciendo la concentración de amonio y para evitar la inhibición del crecimiento de NOB.

5.3.2 Efecto de la concentración de sulfuro en la abundancia de las bacterias

De acuerdo con la tabla 5.5, se obtuvo una mayor abundancia de SOB y NOB cuando la concentración de sulfuro fue de 15, 4 mg/L, que es similar a la aplicada en el ensayo de selección de la fuente de microorganismos y a la que se había reportado que no afectaba crecimiento de las bacterias nitrificantes (Beristain-Cardoso et al. 2010). En esta evaluación, la abundancia de las NOB

si aumentó y la de las AOB no fue afectada por la concentración de sulfuro, indicando que el cambio en el medio de cultivo favoreció el enriquecimiento de todos los grupos bacterianos de interés.

Tabla 5.5. Resultados de enriquecimiento bacteriano al adicionar diferentes concentraciones de sulfuro al medio. Letras diferentes en superíndice en una columna indican que los promedios son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Para AOB no se presentaron diferencias significativas.

	[S], mg/mL	UFC SOB/ mL	UFC AOB/mL	UFC NOB/mL
inicial	-----	(1,48±1,08) x10 ⁸ a	(1,69 ±0,78) x10 ⁸	(4,56 ±4,86) x10 ⁸ a
25,0	10,3	(3,47±0,92) x10 ⁸ a	(2,24±1,32) x10 ⁸	(1,33±0,28) x10 ⁸ a
37,5	15,4	(1,95±0,99) x10 ⁹ b	(4,66±3,10) x10 ⁸	(1,42±0,61) x10 ⁹ b
75,0	30,8	(8,44E±0,51) x10 ⁸ ab	(4,11±1,49) x10 ⁸	(4,06±3,03) x10 ⁸ a

Posteriormente, al realizar el enriquecimiento con aumento gradual en la concentración de sulfuro, se observó que en las primeras semanas de incubación se logró un enriquecimiento de las bacterias nitrificantes (AOB y NOB) (Figura 5.1), que era esperado debido a que el medio de cultivo esta formulado para promover su crecimiento y no hay presencia de sulfuro. Al adicionar sulfuro al medio de nuevo se observó que la presencia de sulfuro no disminuyó la abundancia de las AOB y NOB. Este resultado puede deberse a que, como se mencionó anteriormente, las bacterias nitrificantes presentes en el cultivo ya están aclimatados a la presencia de sulfuro al provenir de un lodo digerido que suele tener altas concentraciones de sulfuro. Adicionalmente, se observó que, tras el segundo pase, el cultivo consumía más rápido el amonio del medio (2-3 días). Este resultado confirma que el cultivo enriquecido puede llevar a cabo el proceso de oxidación de amonio en presencia de sulfuro.

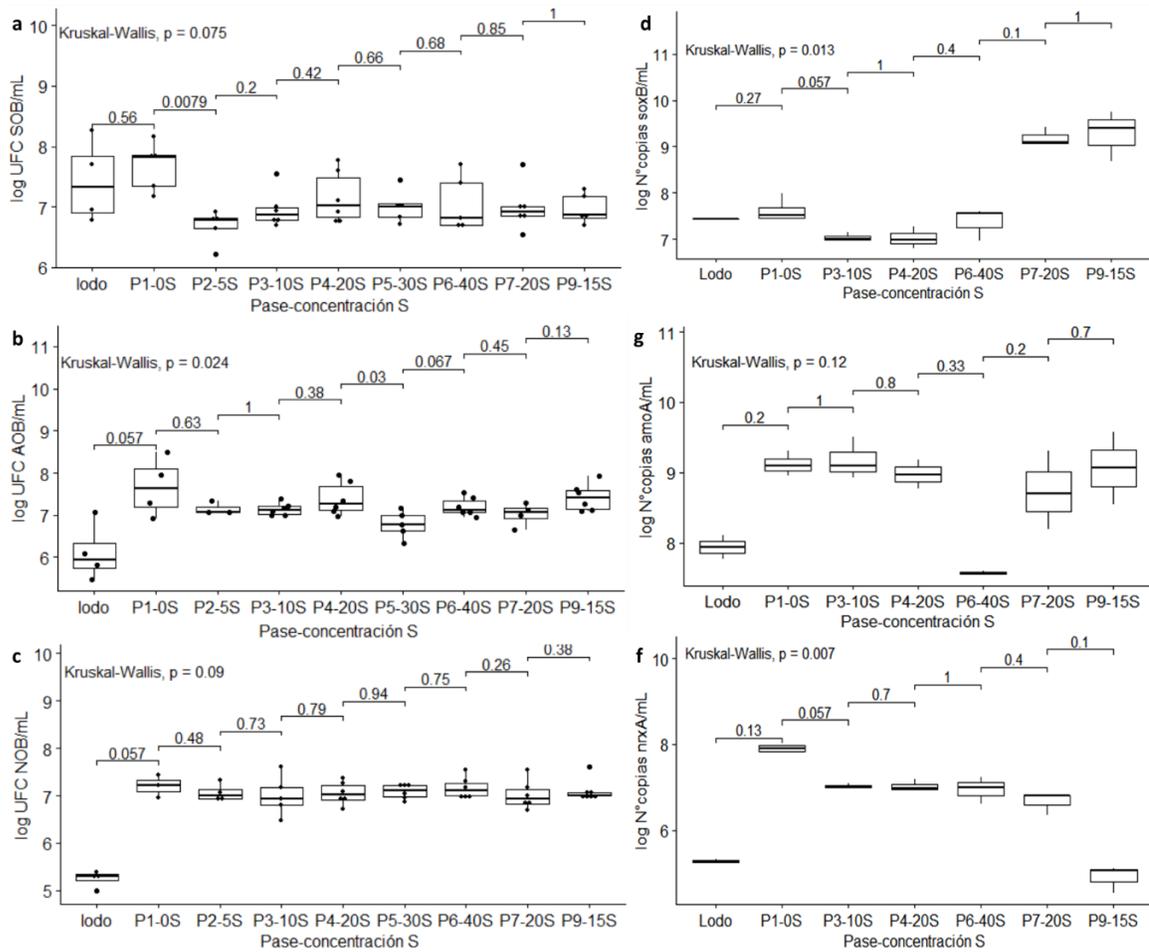


Figura 5.1. Monitoreo del enriquecimiento en (a) SOB, (b) AOB y (c) NOB mediante conteo en placa y qPCR de los genes *soxB* (d), *amoA* (e) y *nxrA* (f). La muestra corresponde al N° de pase realizado (P) y la concentración de Na_2S /mL en el cultivo. Los valores encima de los corchetes corresponden al valor p de comparación entre muestras, teniendo diferencia significativa cuando $p < 0,05$.

Sin embargo, la abundancia de las SOB, tanto en los conteos en placa como en número de copias de gen *soxB*, disminuyó al iniciar la adición de sulfuro (Figura 5.1, a y d). Esto puede deberse a que posiblemente parte de las SOB cuantificadas al inicio del ensayo corresponden a bacterias heterótrofas que pueden crecer en el medio de cultivo sólido y tienen el gen *soxB*, ya que este gen se encuentra en diferentes grupos filogenéticos de SOB (Friedrich et al., 2005). Sin embargo, al hacer los cambios de medio, se fue reduciendo la fuente de carbono, de forma que las bacterias heterótrofas no pudieron continuar su crecimiento al no poder obtener energía del medio de cultivo mineral, y sólo se mantuvieron SOB quimiolitotrofas. Es decir que en el caso de SOB, el medio de cultivo nitrificante y la adición de sulfuro posiblemente permitió la selección de SOB quimiolitotrofas.

También se puede observar que, al finalizar la evaluación, el número de copias del gen *nrxA* es menor a la abundancia de NOB determinada mediante conteo en placa. Este resultado indica que en el cultivo pueden existir otros géneros de NOB que pueden crecer en presencia de sulfuro en el medio, ya que el gen usado para la qPCR es específico para el género *Nitrobacter*. Adicionalmente, es posible que las bacterias que crecieron en el medio de cultivo sólido sean heterótrofas que pueden en crecer en un medio limitado en nutrientes orgánicos, como sucedió en los cultivos realizados del lecho de compost de los biofiltros (Capítulo 3, sección 3.3.4).

No se evidenció algún cambio en la abundancia de las bacterias de interés tras el aumento en la concentración de sulfuro a 20 mg/mL, es decir que se logró la selección de las bacterias en los primeras semanas del enriquecimiento del cultivo y con una baja concentración de sulfuro (5 mg S/L). El análisis de la comunidad microbiana mediante DGGE confirma esta selección ya que la disminución del número de bandas en las muestras correspondiente a los posteriores pases del cultivo (P6, P7 y P9) (Anexo G, Figura 2) indica la disminución de géneros bacterianos y, por consiguiente, el enriquecimiento del cultivo en las bacterias que pudieron crecer en el medio mineral usado.

Adicionalmente, el análisis de agrupamiento muestra que la comunidad del cultivo del pase 6 difiere entre 60-70% de la comunidad de los pases 7 y 9 (Figura 5.2), indicando un cambio en la composición de la comunidad después del sexto pase, a pesar de que la abundancia de SOB, AOB y NOB se mantuvo constante después del tercer pase. Sin embargo, como se observa en el gel de DGGE, las bandas más intensas se mantuvieron, indicando que las bacterias en mayor abundancia en el cultivo se mantuvieron desde las primeras semanas de enriquecimiento y posiblemente son estas bacterias las que predominan en el cultivo en medio sólido.

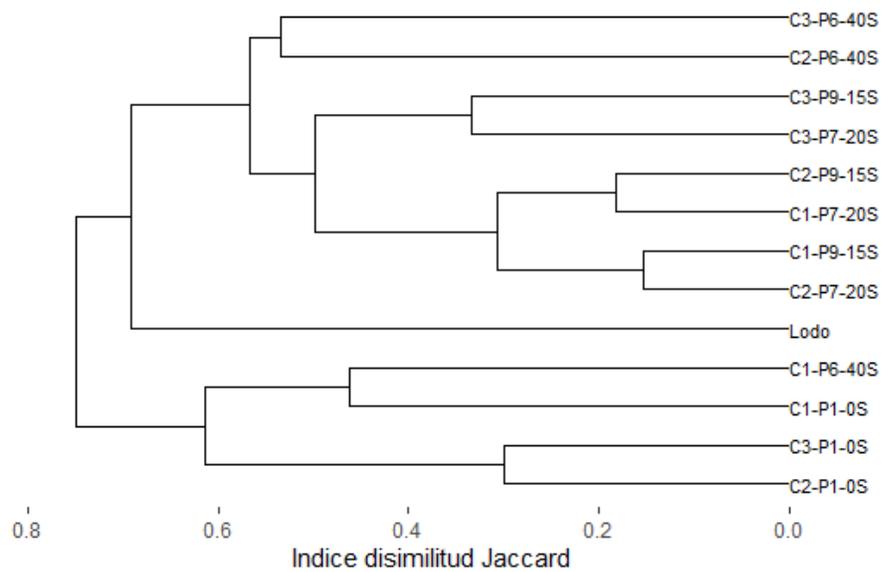


Figura 5.2. Dendrograma del análisis de conglomerados UPGMA basado en disimilitud Jaccard entre los resultados de DGGE de lodo digerido (Lodo) en diferentes etapas del enriquecimiento (Pase 1-0S: Primer pase sin adición de sulfuro; P6-40S: sexto paso con adición de 40 mg S/mL; P7-70S: séptimo pase con adición de 20; P9-15S: noveno pase con adición de 15 mg S/mL)

Finalmente, la reducción de la disimilitud entre la composición de la comunidad microbiana de los pases séptimo y noveno (30%) indica la estabilización del cultivo. Además, como se observó que los cultivos C1 y C2 tuvieron una alta similitud (disimilitud de 20%) y el tiempo de consumo de amonio fue el mismo (2 días), se mezclaron y se continuó su cultivo en un mayor volumen de medio líquido para obtener el inóculo a aplicar en el lecho de compost. El monitoreo de este cultivo (Tabla 5.6) mostró que la abundancia de las bacterias de interés se mantuvo entre 10^6 y 10^7 UFC/mL durante el tiempo del cultivo, sin embargo, en el caso de las NOB, su abundancia fue disminuyendo con el tiempo. Este resultado indica que posiblemente el aumento del volumen de cultivo afectó el crecimiento de las bacterias nitrificantes debido a la disminución en la concentración de oxígeno disuelto, ya que, al aumentar el volumen del cultivo, se redujo el área para el intercambio de oxígeno. Las bacterias nitrificantes son muy sensibles a este parámetro (Geets et al., 2006), en especial las NOB, de forma que para mantener un volumen alto del cultivo es recomendable hacer un seguimiento del oxígeno disuelto y usar un sistema de aireación mediante burbujeo para garantizar la oxigenación homogénea del cultivo y el crecimiento de las bacterias nitrificantes.

Tabla 5.6. Cuantificación de bacterias nitrificantes (AOB y NOB) y oxidantes de azufre (SOB) durante el mantenimiento del cultivo enriquecido.

	Tiempo cultivo- Volumen	4 meses-0,5L	6 meses-1L	9 meses-2,5L	12 meses-4,5L
SOB	UFC SOB/mL	(3,3 ± 2,4) ×10 ⁶ ^a	(1,5 ± 1,0) ×10 ⁷ ^b	(2,3 ± 0,8) ×10 ⁶ ^a	(3,1 ± 1,0) ×10 ⁷ ^b
	N° copias soxB/mL	(7,9 ± 0,2) ×10 ⁸ ^a	(3,4 ± 1,4) ×10 ⁸ ^a	(1,6 ± 0,7) ×10 ¹⁰ ^b	(2,0 ± 1,5) ×10 ¹⁰ ^b
AOB	UFC AOB /mL	(4,5 ± 2,2) ×10 ⁶ ^a	(2,0 ± 1,7) ×10 ⁷ ^b	(6,1 ± 1,8) ×10 ⁶ ^{ab}	(5,0 ± 1,2) ×10 ⁶ ^a
	N° copias gen amoA/mL	(1,0 ± 0,6) ×10 ⁸ ^a	(3,7 ± 0,8) ×10 ⁷ ^a	(9,6 ± 4,8) ×10 ⁸ ^b	(4,0 ± 1,2) ×10 ⁷ ^a
NOB	UFC NOB/mL	(4,1 ± 1,7) ×10 ⁶ ^a	(1,4 ± 0,4) ×10 ⁷ ^{ab}	(1,7 ± 0,8) ×10 ⁶ ^b	(1,8 ± 0,8) ×10 ⁶ ^b
	N° copias gen nrxA/mL	(8,9 ± 5,4) ×10 ⁴	>10 ⁴	>10 ⁴	>10 ⁴

5.3.3 Identificación bacterias en cultivo enriquecido

Los resultados de la secuenciación del gen ARNr 16S del metagenoma confirmaron la presencia de las bacterias oxidantes de amonio (AOB) y oxidantes de sulfuro (SOB), específicamente bacterias del género *Nitrosomas* y *Thiobacillus* (Tabla 5.7). Además, se evidencia que estos géneros son los predominantes en el cultivo enriquecido, reafirmando que efectivamente se logró el enriquecimiento en las bacterias de interés. Sin embargo, no se identificaron bacterias del género *Nitrobacter* o algún otro de los géneros de NOB quimiolitotrofos a pesar de observar crecimiento en placa con el medio específico para NOB. Este resultado indica que algunas de las bacterias identificadas en el cultivo pueden crecer en un medio limitado en fuente de carbono y en presencia de nitrito y de sulfuro. Algunos de los géneros identificadas en el cultivo enriquecido pueden metabolizar el nitrito, como *Sphingopyxis*, que cuenta con genes involucrados en la oxidación de nitrito (Kanehisa Laboratories, 2019; Parthasarathy et al., 2017), de forma que podrían tomar parte en la ruta de nitrificación y crecer en el medio de cultivo NOB. Sin embargo, este género junto con otras bacterias heterótrofas identificadas en el cultivo, como *Pseudoxanthomonas*, *Luteimonas* y *Arenimonas*, también tienen genes relacionados con la reducción de nitrito (Finkmann et al., 2000; Huang et al., 2021).

Tabla 5.7. Abundancia relativa a nivel de género de las secuencias obtenidas del gen ARNr 16S en el lodo digerido usado para el enriquecimiento, en el cultivo microbiano tras 6 meses de enriquecimiento y el cultivo usado como inóculo en el biofiltro. Se reportan los OTUS con lecturas mayores a 0,1%

Clase	Género	Lodo digerido	% Abundancia relativa en cultivo (6 meses)	% Abundancia relativa en inóculo
Gammaproteobacteria	<i>Thiobacillus</i>	<0,01	44,24	39,40
	<i>Nitrosomonas</i>	<0,01	4,70	22,86
	<i>Arenimonas</i>	<0,01	19,83	9,87
	<i>Luteimonas</i>	<0,01	4,79	4,56
	<i>Pseudoxanthomonas</i>	0,35	1,47	3,79
Verrucomicrobiae	<i>Lacunisphaera</i>	<0,01	11,66	2,67
Alfaproteobacteria	<i>Sphingopyxis</i>	0,02	2,31	2,39
	<i>Bosea</i>	0,44	0,48	1,21
	<i>Mesorhizobium</i>	0,01	0,11	1,17
	<i>Hyphomicrobium</i>	0,04	0,63	0,99
Bacteroidia	<i>Chryseobacterium</i>	0,00	0,00	1,38
	<i>Bergeyella</i>	0,00	0,00	1,22
Verrucomicrobiae	<i>LD29</i>	0,00	0,66	1,07

La presencia de bacterias heterótrofas en el cultivo es causada por la producción de compuestos orgánicos por parte de las bacterias quimiolitotrofas, de forma que los microorganismos heterótrofos pueden crecer en el cultivo enriquecido consumiendo estos productos (Daims et al., 2016). En cultivos de enriquecimiento de AOB desde sedimentos del estanque en condiciones autotróficas con amoníaco y nitrito como única fuente de energía (Baskaran et al., 2020) se ha reportado la presencia de bacterias heterótrofas. En ese estudio, se identificaron bacterias del género *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* y arqueas oxidantes de amonio, aunque las bacterias heterótrofas fueron predominantes en el cultivo; aun así, el cultivo enriquecido en AOB oxidó eficientemente el amonio, indicando que las bacterias heterótrofas contribuyen al proceso de nitrificación. Un ejemplo de esta situación es la inducción de la proliferación de AOB y aumento la tasa de nitrificación en reactores de nitrificación en presencia de *Arenimonas*, bajo crecimiento inducido con acetato (Luo and Meng, 2020). Sin embargo, este estudio indica que el papel de las bacterias heterótrofas en la nitrificación depende de la especie. Adicionalmente, se debe tener en cuenta que algunas especies de los géneros heterótrofos identificados contienen genes relacionados con la desnitrificación, así que durante el enriquecimiento se debe procurar mantener las condiciones necesarias para lograr la selección de bacterias que efectivamente puedan oxidar

amonio o que promuevan el crecimiento de las bacterias quimiolitotrofas que lleven a cabo la nitrificación. Finalmente, de los géneros heterótrofos identificados en el cultivo enriquecido, se ha reportado que algunas especies de los géneros *Pseudoxanthomonas* contiene genes relacionadas con la oxidación de azufre (Krishnani et al., 2010), y *Bosea* puede oxidar tiosulfato (Das et al., 1996; Ouattara et al., 2003). De forma que estas bacterias podrían participar en la oxidación del sulfuro adicionado al medio de cultivo.

Los resultado de la secuenciación también muestran la disminución en la diversidad microbiana, en especial el índice de Chao y de diversidad filogenética (Tabla 5.8). Este resultado es esperado debido a que estos índices representan la cantidad de especies en la comunidad, de forma que su disminución indica la pérdida de ASVs, debido en este caso a que el cambio en las condiciones de cultivo restringe el crecimiento de microorganismos heterótrofas y anaerobios, como los de las familias Aeromonadaceae, Anaerolineaceae, Caulobacteracea y Pseudomonadaceae, cuya abundancia disminuyó drásticamente (Anexo G, Figura 3). Adicionalmente, las condiciones del cultivo llevaron a una alta abundancia de pocos ASVs, específicamente de *Thiobacillus* y *Nitrosomonas*, y se ve reflejado en un índice de Shannon menor.

Tabla 5.8. Índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon y diversidad filogenética - PD) del cultivo enriquecido desde lodo digerido, tras 6 meses de cultivo y antes de su uso como inóculo.

	Chao1	Shannon	PD
Lodo digerido	251	3.49	10.43
6 meses	50	2.22	2.39
Inoculante	70	2.56	3.37

Estos resultados muestran que, a pesar de no incluir el sulfuro de sodio en la composición principal del medio de cultivo, y que se adicionó en cada cierto tiempo a una baja concentración, su presencia temporal permitió alcanzar una alta abundancia relativa de *Thiobacillus* y una abundancia de SOB similar a la abundancia de las AOB y NOB. Estos resultados también indican que la estrategia planteada para las condiciones iniciales del enriquecimiento, donde no se adicionó sulfuro o su concentración fue baja, fue efectiva para lograr el enriquecimiento de AOB, específicamente *Nitrosomonas*, pero no así para lograr el crecimiento en NOB quimiolitotrofos. Estudios previos en sistemas de tratamiento de aguas residuales (lodos activados, sistema de nitrificación parcial) han indicado la sensibilidad de las NOB al sulfuro, donde su actividad

nitrificante se ve disminuida significativamente en presencia de este compuesto (Delgado Vela et al., 2018; Kouba et al., 2017).

Teniendo esto en cuenta, otras estrategias que se podrían emplear para lograr el enriquecimiento en NOB es el permitir un mayor tiempo de cultivo sin la presencia de sulfuro, el empleo de una biomasa que contenga una alta abundancia NOB de diversas especies, como lodos activados, de forma que durante etapa de enriquecimiento se mantengan aquellas tolerantes al sulfuro. Recientemente se ha reportado que el género *Nitrotoga* puede tolerar al menos 120 mg S/L (Spieck et al., 2021), de forma que se podría realizar un enriquecimiento teniendo en cuenta sus requerimientos nutricionales para permitir su crecimiento. Adicionalmente, como las NOB quimiolitotrofas son de lento crecimiento, se hace importante realizar una identificación molecular de las bacterias presentes en las etapas iniciales del enriquecimiento para confirmar su presencia y decidir estrategias adecuadas para promover su crecimiento.

5.4 Conclusiones

El cultivo enriquecido en bacterias oxidantes de azufre y bacterias oxidantes de amonio obtenido desde lodo digerido en este trabajo pudo oxidar simultánea el amonio y el sulfuro presentes en el medio de cultivo y la abundancia de estas bacterias se mantuvo entre 10^6 y 10^7 UFC/mL de cultivo.

La oxidación de sulfuro está relacionada con la presencia del gen *soxB* del género *Thiobacillus* en el cultivo, que se encontró en una abundancia relativa de 44%, y la oxidación de amonio está relacionada con la presencia del gen *amoA* del género *Nitrosomonas*, cuya abundancia relativa en el cultivo fue de 22%. También se identificaron varias bacterias heterótrofas, como *Pseudoxanthomonas* y *Arenimonas* que podrían oxidar sulfuro y/o amonio, o que podrían promover el crecimiento o actividad oxidante de las bacterias quimilitotrofas. La presencia de estas bacterias y la oxidación simultánea de sulfuro y amonio en el cultivo asegura que el cultivo puede eliminar simultánea H_2S y NH_3 al usarse como inóculo de un lecho de biofiltración.

El cultivo microbiano enriquecido alcanzó una alta abundancia de las bacterias de interés y su composición se estabilizó rápidamente (un mes), de forma que podría tener un menor tiempo aclimatación en un biofiltro comparado con los cultivos usados generalmente ya que la comunidad microbiana fue sido seleccionada durante el proceso de enriquecimiento en condiciones similares a las de operación.

Es necesario plantear otras estrategias de cultivo para lograr el enriquecimiento de bacterias oxidantes de nitrito en presencia de sulfuro ya que la acumulación de nitrito en el lecho de biofiltración puede llevar a la producción de óxido nitroso, que debe evitarse al ser un gas de efecto invernadero.

6. Eliminación simultánea de H₂S y NH₃ mediante un biofiltro de compost inoculado

En el presente capítulo se evaluó el efecto de la inoculación del lecho de biofiltración con el cultivo microbiano enriquecido (obtenido previamente) sobre la eliminación de H₂S y NH₃ en condiciones transitorias de concentración de gases con el fin de recuperar la diversidad microbiana del lecho sometido previamente a diferentes condiciones de estrés (disminución en la humedad y cargas variables de gases). Uno de los biofiltros empacados con el compost de pollinaza y bagazo de caña (CB) usados en el ensayo anterior de biofiltración de condiciones transitorias de humedad (Capítulo 3) fue inoculado con el cultivo microbiano enriquecido en SOB y AOB; y el otro biofiltro se usó como control de operación sin inóculo. Estos biofiltros fueron sometidos a diferentes modos de condiciones transitorias en la concentraciones de H₂S y NH₃ que simulaban las emisiones de una PTAR durante temporada de lluvias y temporada seca. Durante el proceso se determinó la eficiencia de remoción de los gases, el cambio de pH del lecho, la producción de sulfato, nitrito y nitrato, y la acumulación de amonio. También se caracterizó la comunidad microbiana del lecho mediante secuenciación masiva de amplicones del gen ARNr 16S y la cuantificación de los grupos bacterianos involucrados en la oxidación de los gases, para evidenciar el efecto de las condiciones transitorias sobre los cambios en la comunidad.

Parte de los resultados de este objetivo fueron publicados en el artículo “Inoculation of compost biofilter for the simultaneous removal of H₂S and NH₃ under transient conditions of gas concentration” *Chemical Engineering Transactions* Vol. 93, 2022. doi: 10.3303/CET2293027

6.1 Introducción

La acumulación de subproductos, el consumo de nutrientes y los cambios en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas en el lecho hacen que los biofiltros de compost puedan perder su capacidad de remoción rápidamente, reduciendo su vida útil considerablemente (Le Borgne and Baquerizo, 2019; Shareefdeen, 2020).

En estos casos, donde la remoción de los gases es afectada a largo plazo, lo normal es cambiar el lecho, sin embargo, a nivel industrial esta operación es laboriosa ya que implica el reemplazo de un volumen alto de compost (500-2000m³), y afecta el costo anual de mantenimiento de los sistemas de biofiltración (Prado et al., 2009). Los lechos de compost tienen una vida útil en promedio de 2 años, pero la frecuencia del cambio de lecho depende del tipo de gases a tratar, así como las condiciones de operación del biofiltro, de forma que biofiltros con poco mantenimiento y que traten altas concentraciones de gases, pueden requerir cambios más frecuentes (Hwang et al., 2007).

Una opción para alargar la vida útil de los biofiltros, así como promover la oxidación de los gases, es la inoculación del lecho con las bacterias que pueden eliminar los gases de interés. Aunque es una práctica poco común en biofiltros orgánicos, los cuales ya tienen una comunidad microbiana asociada al lecho (Aizpuru et al., 2001), la inoculación ha demostrado ser útil en la remoción de compuesto orgánicos azufrados volátiles (Smet and Van Langenhove, 1998). En otros sistemas biológicos, como compostaje, la inoculación es más común ya que permite acelerar el proceso (Pagans et al., 2006), aumentar la biodegradación de compuestos alifáticos, proteínas y polisacáridos, y el grado de humificación (Xi et al., 2012).

Específicamente en los biofiltros usados en este trabajo, la inoculación del lecho con un cultivo enriquecido con bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre permite incorporar al lecho bacterias quimiolitotrofas nitrificantes, que podrían oxidar el NH₃ en lugar de que se acumule como amonio o que sea reducido a N₂O, así como SOB quimiolitotrofas, que podrían llevar a cabo la oxidación completa del H₂S y cuya abundancia fue muy baja en el lecho de biofiltración. Este proceso podría permitir adicionalmente recuperar la diversidad y actividad microbiana del lecho tras la disminución de humedad aplicada en los ensayos anteriores. Teniendo lo anterior, en este trabajo se evaluó el desempeño de un biofiltro de compost inoculado con el cultivo microbiano enriquecido obtenido previamente (Capítulo 5)

para la eliminación de H_2S y NH_3 bajo condiciones que simularon la dinámica de emisión de gases en una PTAR.

6.2 Metodología

Para este ensayo se inoculó uno de los biofiltros empacados con el compost de pollinaza y bagazo de caña (CB) usados en el ensayo anterior de biofiltración de condiciones transitorias de humedad (Capítulo 3).

Se evaluó la eficiencia de remoción de H_2S y NH_3 durante todo el ensayo. Adicionalmente, tras la aplicación de cada una de las condiciones de concentración de los gases evaluados se evaluaron los productos de oxidación de H_2S y NH_3 y la comunidad microbiana en los lechos.

6.2.1 Inoculación del lecho de biofiltración

Cinco litros de cultivo enriquecido fueron centrifugados (ThermoScientific Sorvall 5T 16R) a 8.000 rpm por 10 min a temperatura ambiente (aprox, 20 °C) y la biomasa precipitada se lavó con agua destilada hasta que no se detectara nitrito al realizar la prueba cualitativa de Griess ni la precipitación de sulfato, siguiendo el método descrito en el Capítulo 5, Sección 5.2.2. La biomasa resultante fue resuspendida en 500 mL de solución salina (0,9% NaCl) estéril para usar como inóculo de forma que la concentración de las bacterias de interés fuera de 10^8 UFC /mL de SOB, 10^7 UFC /mL de AOB y 10^7 UFC /mL de NOB. Este volumen fue calculado a partir de la cantidad de SOB, AOB y NOB determinada en el cultivo tras 12 meses (Capítulo 5, Tabla 5.6).

Cada uno de los lechos asociados a las secciones de los biofiltros usados previamente (Capítulo 3) se mezclaron en un solo recipiente para obtener un nuevo compost homogeneizado por cada sección, para su uso en este ensayo. La humedad del compost mezclado se determinó mediante los métodos de diferencia de peso y termobalanza (Capítulo 3, Sección 3.2.2). Esta mezcla de compost se separó en dos mitades, la primera mitad del compost mezclado fue extendida en un recipiente plano, de forma que se expusiera la mayor área posible.

A partir de la humedad del lecho determinada, se calculó la cantidad de inóculo necesario para llegar a un 40% de humedad (aproximadamente 75 mL). Posteriormente, el inóculo se adicionó en alícuotas de

5 mL mientras se mezclaba el compost siguiendo el método indicado por Zhang et al. (2016) (Anexo H, Figura 1).

La mezcla inoculada se empacó en su respectiva sección y una vez en este contenedor se verificó nuevamente la humedad mediante termobalanza y diferencia de peso.

La mitad restante del compost se mezcló con solución salina en un recipiente plano para ajustar su humedad al 40% y se empacó sin inoculación en su respectiva sección. Las secciones se ensamblaron de nuevo para obtener un sistema compuesto de dos biofiltros, uno inoculado y otro sin inocular.

6.2.2 Condiciones de operación

Las condiciones de operación del sistema de biofiltración evaluado fueron: tiempo de residencia del gas de 25 s y humedad del lecho de 40%, ya que fueron las condiciones que permitieron alcanzar la mayor capacidad de eliminación del biofiltro (Capítulo 3). Durante la operación del sistema de biofiltración, la humedad de los lechos en cada sección se monitoreó cada dos días y se ajustó gravimétricamente añadiendo la cantidad de agua necesaria para alcanzar la humedad deseada (Capítulo 3, Sección 3.2.2).

La mezcla de gases usada para la evaluación de los biofiltros se presenta en la Tabla 1 y corresponde a las condiciones de concentración encontradas en la zona de pretratamiento de la PTAR-El Salitre durante la temporada seca y de lluvias en Bogotá, Colombia (Capítulo 2, sección 2.3.1). La concentración de los gases se incrementó semanalmente durante la temporada de lluvia. En la etapa de transición y en la temporada seca, la concentración de los gases se varió diariamente para simular los picos de emisión reportados durante la noche en la planta (Capítulo 2, Sección 2.3.3).

La concentración de H₂S y NH₃ se midió con el detector de gases MultiRae (PGM-6228 RAE Systems) a la salida de cada sección, y en la entrada y salida de los biofiltros, tres veces al día durante la etapa correspondiente a la temporada de lluvia. En las demás etapas, la concentración de gases se midió dos veces en cada periodo de concentración. La eficiencia de remoción de los biofiltros y de cada sección se calculó mediante la ecuación 3.5 (Capítulo 3) para cada lectura y se obtuvo el promedio por periodo diario de concentración.

Tabla 6.1. Concentraciones de H₂S y NH₃ usadas en la evaluación de lechos de biofiltración inoculado y sin inocular. Entre paréntesis se indica el tiempo de operación diaria a cada concentración.

Etapa	Semana	H ₂ S (mg/m ³)	NH ₃ (mg/m ³)
Temporada de lluvias	1-3	5,2-20,9	0,5
Transición entre etapas	4	31,5 (2h) 12,5 (22h)	1,6
	5	52,2 (3h) 20,9 (21h)	1,6
Temporada seca	6	20,9 (14h) 36,5 (10 h)	1,0 - 1,6
	7	31,3 (14h) 47,0(10 h)	1,0 (14h) 2,1 (10 h)
		31,3 (14h)	1,6 (14h)
	8	73,1 (10 h)	2,6 (10 h)

6.2.3 Análisis fisicoquímicos

Se tomaron muestras del lecho de cada sección del biofiltro inoculado y del biofiltro sin inocular al iniciar la evaluación y antes de cambiar de etapa de operación para evaluar el efecto de la inoculación en la oxidación de los gases y en la abundancia de las SOB y AOB del lecho. Para ello se siguió la metodología indicada en el Capítulo 3, sección 3.2.5. La cuantificación de amonio fue realizada a través de espectrofotometría del producto de la reacción de Berthelot (Capítulo 3, Sección 3.2.1).

6.2.4 Análisis de la comunidad microbiana

Para este análisis se hicieron tres extracciones de ADN por separado de la misma muestra que luego se mezclaron para el análisis de metagenoma. Se realizó la cuantificación de SOB mediante qPCR del gen *soxB*, mientras que la de AOB fue determinada mediante recuento en placa, de acuerdo con las metodologías indicadas en el Capítulo 3, Sección 3.2.6. También se realizó la secuenciación de amplicones del gen ARNr 16S y el análisis de la comunidad microbiana mediante la metodología indicada en el Capítulo 4, Sección 4.2.

6.2.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA para datos paramétricos y test de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos) para comparar la eficiencia de remoción entre el biofiltro inoculado y sin inocular. Como

se observó en los ensayos anteriores (Capítulo 3), la sección del biofiltro es un factor diferenciador entre las muestras, así que el análisis de varianza y de comparación múltiple (test de Tukey para datos paramétricos, test de Wilcoxon para datos no paramétricos) se realizó para cada sección por separado con el objeto de verificar las diferencias entre las muestras de lechos respecto a los productos de eliminación (pH, concentración de sulfato, amonio y nitrato) y la abundancia de los grupos microbianos de interés (SOB y AOB). Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación en RStudio (paquete *corrplot*) usando el método Spearman para evaluar la relación entre la concentración de entrada de los gases y de los productos de eliminación (pH, concentración de sulfato, amonio y nitrato) con la abundancia relativa de los géneros más abundantes identificados en los lechos de biofiltración.

6.3 Resultados y Discusión

6.3.1 Remoción de H₂S y NH₃

Durante la condición correspondiente a la temporada de lluvias, se observó que en ambos tipos de biofiltros la eficiencia de remoción para H₂S y NH₃ fue de 100% (Figura 6.1). Sin embargo, al verificar la concentración de los gases en la salida de la sección baja de los biofiltros (Figura 6.2), se observó que la eficiencia de remoción de NH₃ en esta sección cayó desde el día 14 y que la remoción del H₂S disminuyó repentinamente. Esta disminución en la remoción del sistema, a pesar de mantener una concentración de gases baja y constante, indicó la ocurrencia de un problema en la sorción de los gases o en la actividad biológica, como se ha mencionado previamente (Capítulo 3, Sección 3.3.4, Datta y Allen, 2005). Adicionalmente, no hubo un aumento significativo de concentración de nitrato y sulfato en ninguno de los biofiltros (Figura 6.3), aunque sí disminuyó el pH, indicando que posiblemente el H₂S se oxidó parcialmente hasta azufre elemental. El aumento en la concentración de amonio en las secciones baja y alta (Figura 6.3 h y j) en esta etapa de la temporada de lluvias indican que la acumulación de amonio sigue siendo el principal mecanismo de remoción de NH₃ del lecho y que la inoculación con las bacterias nitrificantes no fue suficiente para lograr la oxidación del NH₃ a nitrato. Para poder continuar con el ensayo sin que se presentaran fallas posteriores debidas a la acumulación de sulfato y amonio, se decidió lavar cada sección de los biofiltros con 5 L de agua. De acuerdo con Morgan-Sagastume y Noyola (2006), el lavado de los lechos puede reducir el efecto inhibitorio en la remoción de gases debida a la acumulación de sulfato.

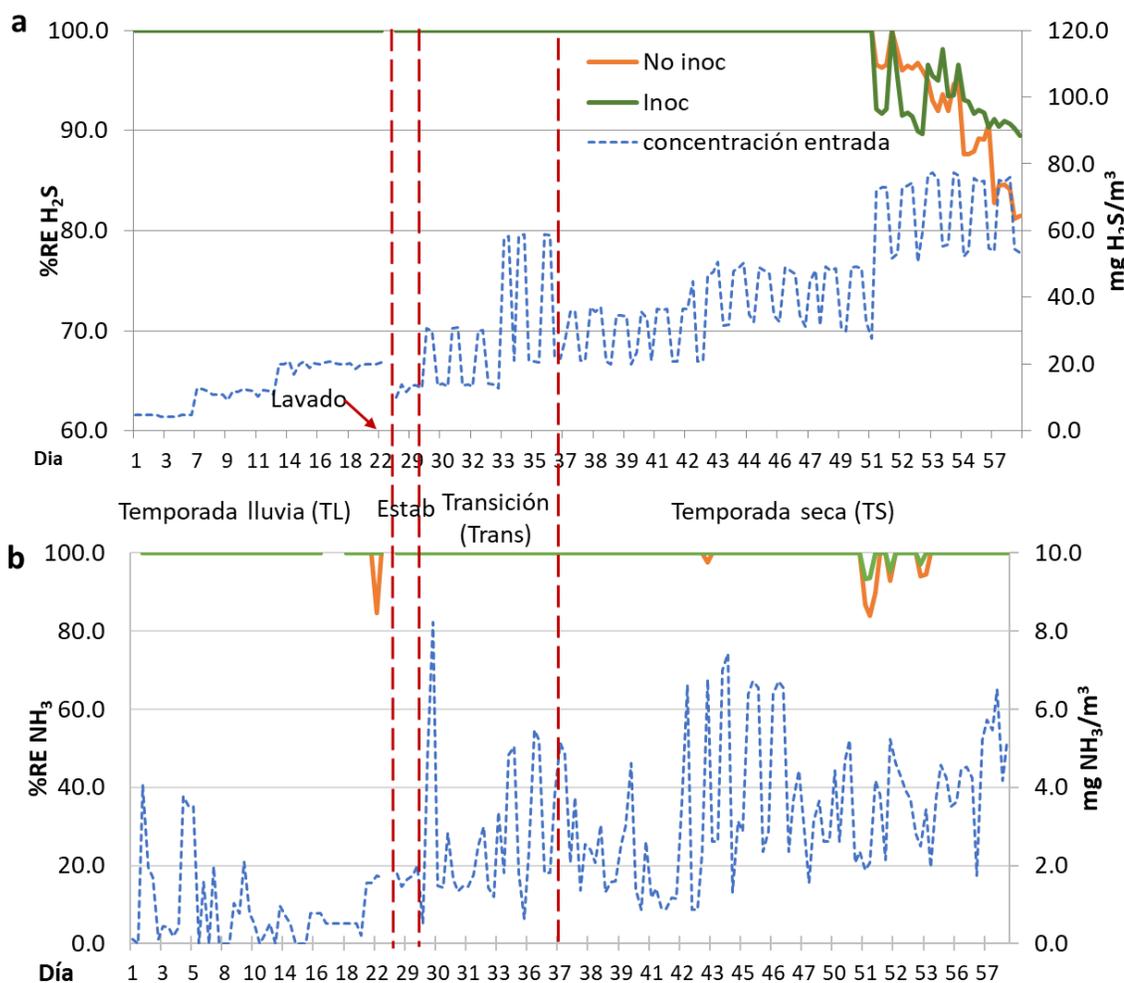


Figura 6.1. Concentración de entrada y eficiencia de remoción de (a) H_2S y (b) NH_3 en biofiltros empacados con compost inoculado con el cultivo enriquecido en SOB y AOB (inoc) y sin inocular (no inoc) bajo en condiciones transitorias de concentración de gases. Las líneas rojas punteadas indican el cambio del tipo de condición transitoria aplicada. El lavado del lecho se realizó el día 21 del ensayo y se dejó secar del día 21 al día 28.

Los lechos lavados se secaron dejando pasar una corriente de aire limpio hasta que la humedad fue cercana a 40% y posteriormente se ajustó de nuevo humedad a 40%. Para reiniciar la operación de los biofiltros, se aplicó una concentración de gases baja y constante durante 3 días (estabilización, día 28 a 30) donde se evidenció un aumento en el %ER para ambos gases en la sección baja (Figura 6.2), indicando la recuperación en los biofiltros. Aunque el lavado del lecho no redujo significativamente la concentración de sulfato en el lecho (Figura 6.3 a, b y c), si pareció promover la oxidación de amonio a nitrato en todas las secciones, como se evidencia en el aumento de la concentración de nitrato después del lavado y en el periodo de estabilización (Figura 6.3 k, l y m). Este resultado puede deberse a que el

lavado redujo la concentración de amonio, que inhibe la nitrificación. Además, el lavado posiblemente redujo los pasos preferenciales, de forma que la distribución de los gases en el lecho lavado fue más homogénea (Morgan-Sagastume and Noyola, 2006) y evita la formación de zonas anaerobias y, por consiguiente, la reducción del nitrito o nitrato producido en la oxidación del amoniaco. Así mismo, la homogeneización del lecho posiblemente distribuyó la biomasa y aumentó la disponibilidad de nutrientes en el lecho, de forma que la actividad microbiana pudo suceder a lo largo del biofiltro. Resultados similares han sido reportados tras el aumento de la humedad en suelos secos, donde se observó el aumento en la mineralización del nitrógeno (Hammerl et al., 2019)

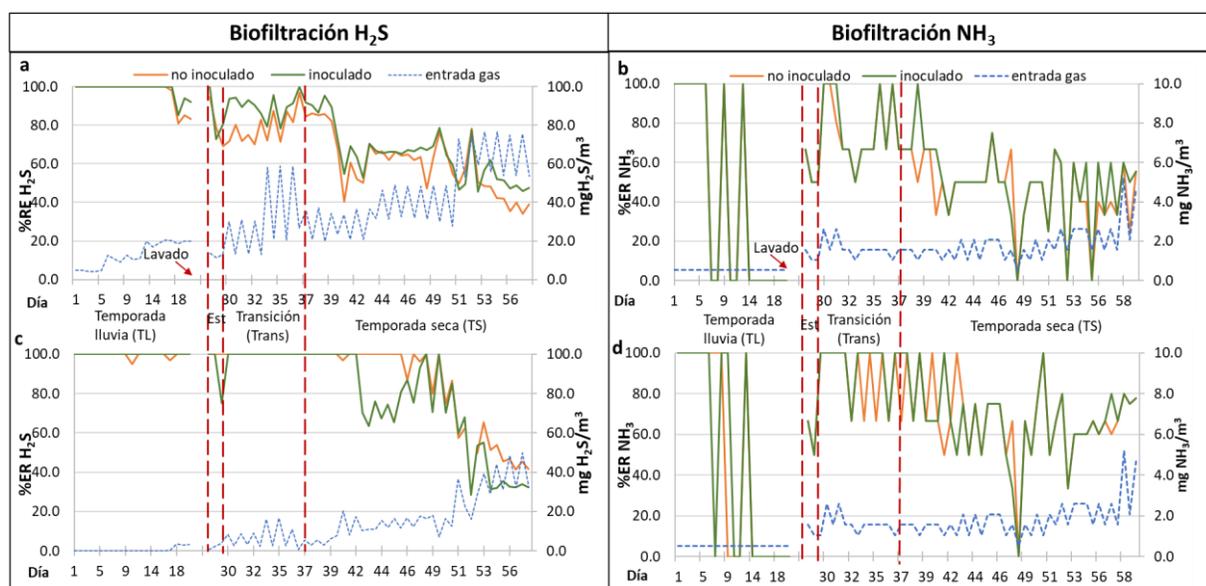


Figura 6.2. Concentración de entrada y eficiencia de remoción (a) H_2S y (b) NH_3 en la sección baja de los biofiltros empacados con compost inoculado con el cultivo enriquecido en SOB y AOB (inoc) y sin inocular (no inoc) bajo en condiciones transitorias de concentración de gases. Las líneas rojas punteadas indican el cambio del tipo de condición transitoria aplicada. El lavado del lecho se realizó el día 21 del ensayo y se dejó secar del día 21 al día 27. La etapa de estabilización (Est) de la operación del biofiltro tras el lavado se realizó desde el día 28 a 30.

En la etapa de estabilización también se observó un aumento en la concentración de sulfato en las secciones baja y central, indicando que el lavado también permitió la recuperación de la actividad de las SOB, de forma que pudieron llevar a cabo la oxidación a sulfato tanto del azufre elemental como de otros compuestos de azufre acumulados anteriormente en el lecho. Sin embargo, a escala industrial, un lavado del lecho requeriría un enorme volumen de agua, de manera que sería más conveniente hacer lavados frecuentes para evitar una alta acumulación de subproductos. El agua lixiviada del lecho podría usarse en riego de cultivos debido a su alto contenido en amonio y sulfato (Chien et al., 2011).

Durante la etapa de transición, al aplicar variaciones en la concentración de entrada de gases, la eficiencia de remoción en ambos biofiltros fue de 100% para H_2S y NH_3 (Figura 6.1). Sin embargo, en la sección baja la eficiencia de remoción disminuyó cada vez que se aumentaba la concentración de gases y se volvió variable (Figura 6.2 a). Sin embargo, esta variabilidad puede deberse a la baja sensibilidad del sensor de NH_3 , que podría causar que las mediciones de baja concentración del gas tengan un mayor error. Adicionalmente, no hubo un cambio significativo de la concentración de sulfato ni en la disminución de pH, excepto en la sección central de ambos biofiltros, donde la remoción de H_2S fue de 100% (Figura 6.2 c), disminuyó el pH y la concentración de sulfato (Figura 6.3 b y d). Esta disminución en la concentración del sulfato sugiere que este compuesto fue asimilado por alguna bacteria heterótrofa presente en el lecho, como *Virgibacillus* y *Nocardiopsis*, para sintetizar compuestos orgánicos azufrados, como se indicó previamente (Capítulo 4, Sección 4.3.1).

Estos resultados sugieren que posiblemente el H_2S fue oxidado parcialmente a azufre elemental y/o adsorbido en el lecho. Esta última hipótesis fue confirmada por la cuantificación de H_2S mediante titulación del extracto acuoso obtenido de la sección baja de los biofiltros, encontrando una concentración entre 3,3 -7,8 g H_2S /kg lecho. Se esperaría que el H_2S absorbido en el lecho sea consumido por las bacterias en periodos de baja concentración de gases o en paradas en la operación, como sucedió con el amonio acumulado en el ensayo de cambio de carga de gases realizado previamente (Capítulo 3, Sección 3.3.4).

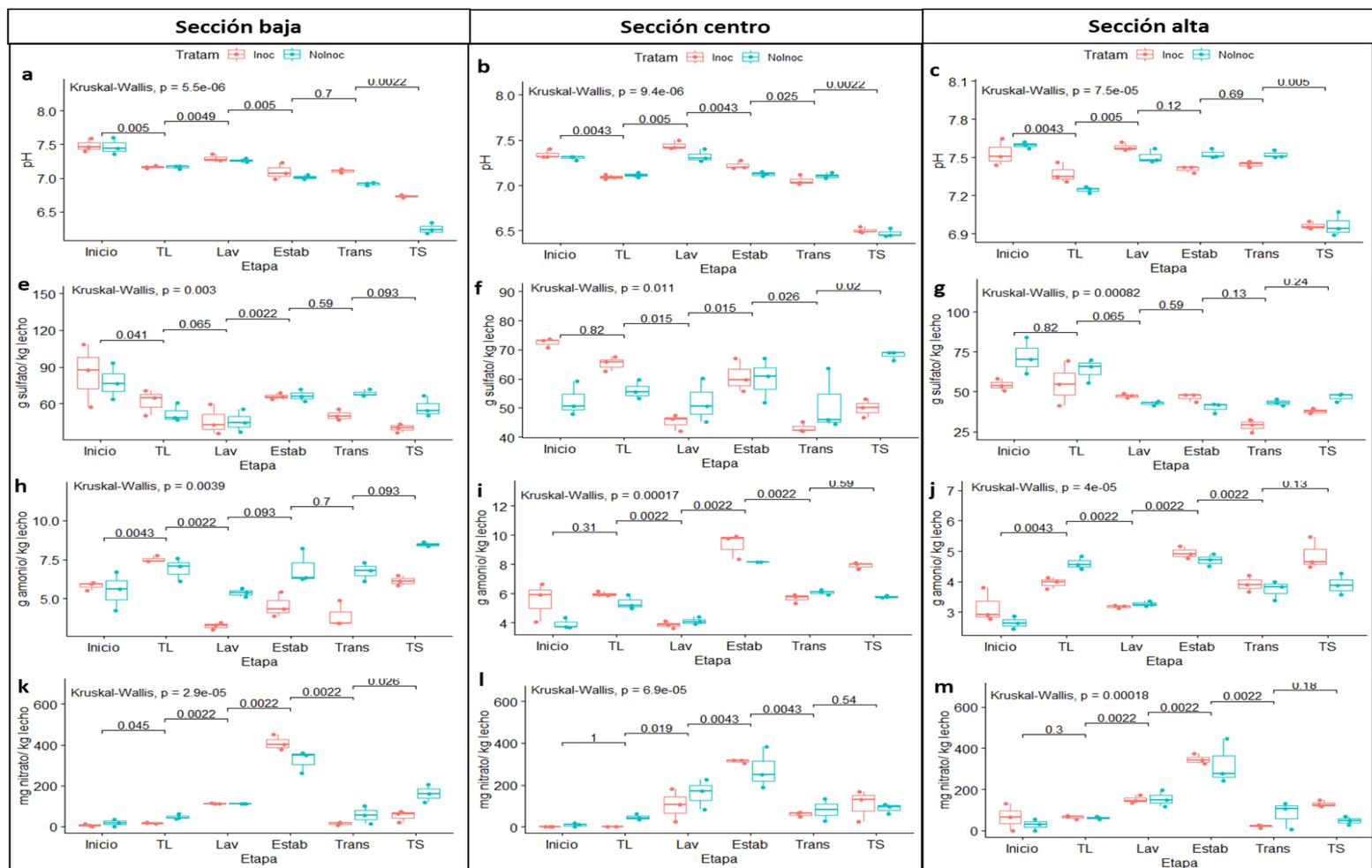


Figura 6.3. Oxidación del H_2S y NH_3 a lo largo de los biofiltros (sección alta, central y baja) inoculado y sin inocular bajo condiciones transitorias de la concentración de gases que simularon emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (lav) y una etapa posterior de estabilización (estab). a, b y c corresponde a la variación en el pH; e, f y g corresponden a la producción de sulfato; h, i y j corresponden a la variación en la concentración de amonio; y k,l,m corresponden a la producción de nitrato. La concentración de nitrito fue inferior a 10 mg/kg de lecho en todas las muestras. Los valores encima de los corchetes corresponden al valor p de comparación entre las muestras, teniendo diferencia significativa cuando $p < 0,05$.

En el caso de los productos de la eliminación de NH₃ durante la etapa de transición, la concentración de nitrato disminuyó a lo largo del biofiltro, a pesar de que hubo una disminución en la concentración de amonio en las secciones alta y central (Figura 6.3 i y j), indicando que el nitrato y nitrito producidos en la oxidación del amonio se están reduciendo a N₂O o N₂, como se mencionó en los ensayos anteriores de biofiltración (Capítulo 3). La presencia de los genes relacionados con la desnitrificación, *nirK* (nitrito reductasa) y *nosZ* (óxido nitroso reductasa), en el metagenoma de la comunidad microbiana (Anexo I, Figura 1) confirma que la desnitrificación es posible en el biofiltro usado.

Los resultados de la cuantificación de los productos de oxidación de H₂S y NH₃ indican que, posiblemente, su oxidación biológica fue inhibida por los cambios diarios en la concentración de los gases, y por la alta concentración de sulfato y amonio, que fue mucho mayor (54,7 g SO₄/kg lecho y 4,1 gNH₄/ kg lecho, promedio para todo el biofiltro) que en ensayos anteriores en condiciones similares (25.8 g SO₄/kg lecho y 2,1 gNH₄/ kg lecho, promedio para todo el biofiltro). Teniendo esto en cuenta, se puede decir que se obtuvo una eficiencia de remoción cercana al 100%, a pesar de la inhibición de la actividad biológica, debido a que el mecanismo de absorción y adsorción de los gases en el lecho tuvo mayor relevancia para su remoción en esta evaluación.

Finalmente, en las primeras semanas de la temporada seca la eficiencia de remoción se mantuvo alta, aunque al aumentar la concentración de H₂S en el día 51, la eficiencia de remoción de H₂S en los dos biofiltros disminuyó gradualmente, pero al final del ensayo el biofiltro inoculado mostró una estabilización en la remoción (Figura 6.1a). En el caso del NH₃, la eficiencia de remoción de ambos biofiltros disminuyó algunos días al realizar los cambios de concentración, pero luego aumentó hasta 100% al final del ensayo (Figura 6.1b). Al comparar la eficiencia de remoción entre el biofiltro inoculado y sin inocular en los últimos 3 días del ensayo (Tabla 6.2), sólo se encontraron diferencias significativas para la remoción de H₂S.

En esta etapa final sólo se observó el aumento en la concentración de sulfato en la sección central, a pesar de que el pH disminuyó en todas las secciones. Respecto a la eliminación del NH₃, se observó un aumento de la concentración de amonio en la sección baja de ambos biofiltros (Figura 6.3h), y en la sección central y alta del biofiltro inoculado (Figura 6.3i y j). También se evidenció un

aumento de nitrato en la sección baja del biofiltro no inoculado, donde la concentración de nitrato subió en promedio a 102,8 mg/kg (Figura 6.3k). Teniendo en cuenta estos resultados donde se evidencia una reducción en la remoción de H₂S en la últimas semanas del ensayo, se puede afirmar que la sección baja eliminó cerca del 50% de ambos gases (Figura 6.2a y b), se acumuló amonio y se recuperó la oxidación del NH₃ a nitrato, pero la concentración de sulfato se mantuvo constante (Figura 6.3k), se puede decir que la oxidación del H₂S fue más afectada por el aumento en la concentración de gases en la semana final que la remoción de NH₃. Este resultado contrasta con lo reportado por Hou et al. (2016), ya que la concentración de sulfato aumentó significativamente mientras que la concentración de nitrito y nitrato disminuyó en un biofiltro de compost tras 60 días de operación. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el tiempo total de operación de los biofiltros usados en este ensayo, es de aproximadamente 200 días, de forma que se podría decir que, a largo plazo, la eliminación de NH₃ mediante mecanismos fisicoquímicos (sorción y neutralización) permite una baja variabilidad en la eficiencia de remoción de este gas bajo condiciones transitorias en la concentración de los gases.

Sólo se observaron diferencias significativas entre el biofiltro inoculado y sin inocular para la remoción de H₂S al final de la temporada seca (Tabla 6.2). Además, en el análisis de los productos de oxidación de los gases al finalizar el ensayo no se encontraron diferencias consistentes entre el biofiltro inoculado y sin inocular, ya que en algunos casos el biofiltro sin inocular tuvo un aumento en la concentración de los productos de sulfato (sección central) y nitrato (sección baja) mientras que el inoculado no (Figuras 6.3 f y k), pero la sección alta de biofiltro inoculado si tuvo un aumento en la concentración de sulfato y nitrato (Figuras 6.3 g y m). Es decir que la inoculación de los biofiltros no promovió la oxidación de los gases de forma similar a lo largo del biofiltro. El análisis de la estructura de la comunidad microbiana a lo largo de los biofiltros puede dar indicios de las causas de estas diferencias en la remoción en el biofiltro inoculado.

Tabla 6.2. Eficiencia de remoción al final del ensayo con el biofiltro inoculado y sin inocular. Letras diferentes en superíndice en una columna indican que los promedios son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Biofiltro	H ₂ S	NH ₃
Sin inocular	87,5±4,4 ^a	100±0 ^a
Inoculado	91,8±1,8 ^b	100±0 ^a

6.3.2 Composición de la comunidad microbiana

En el análisis de la comunidad microbiana se detectaron 2753 ASVs (variante de secuencia de amplicon) y los filos Firmicutes y Actinobacteria mantuvieron su predominancia en ambos biofiltros durante todo el ensayo (Figura 6.4). Se observó que la abundancia del filo Proteobacteria disminuyó a 1-4 % en las secciones baja y central al final de la etapa de temporada lluviosa y se mantuvo en esa proporción hasta el final del ensayo. El filo Bacteroidota también disminuyó su abundancia principalmente en la sección central, donde disminuyó hasta 1-2% después del lavado del lecho.

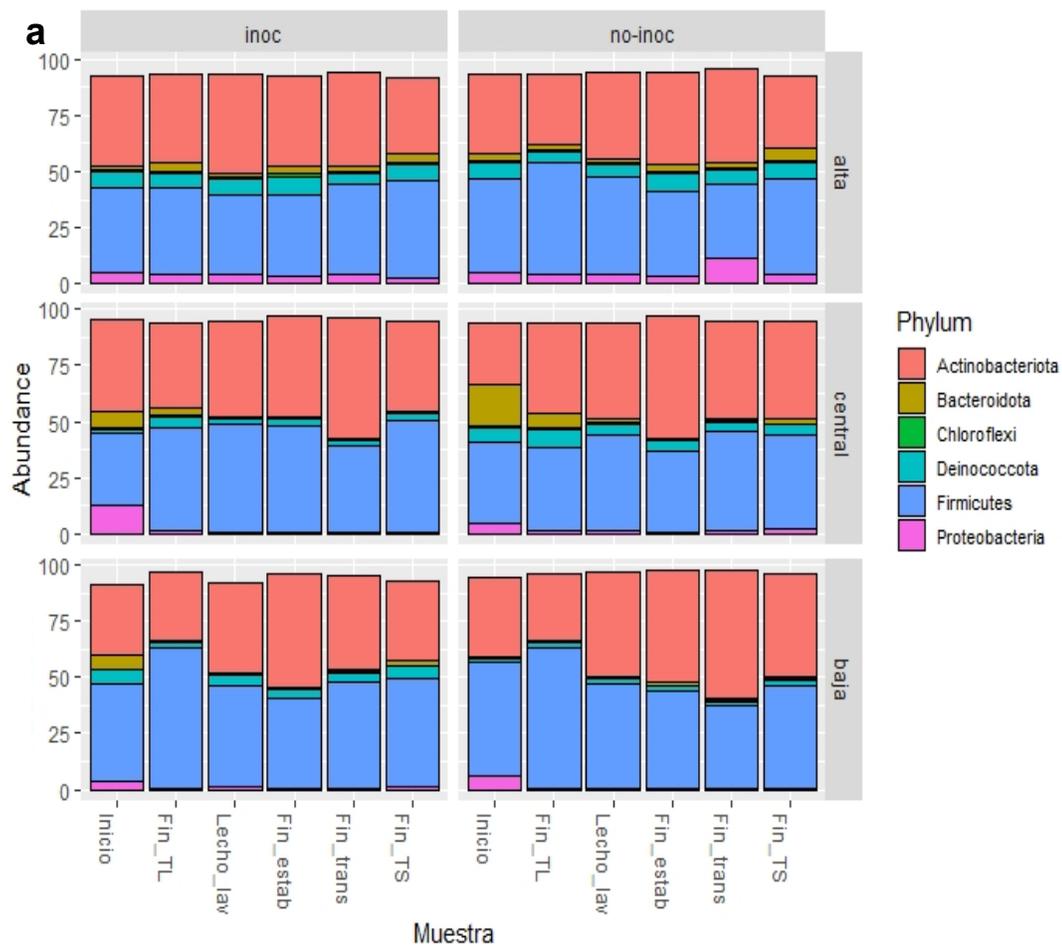


Figura 6.4. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de filo presentes en el compost a lo largo (sección alta, central y baja) de los biofiltros inoculado (inoc) y sin inocular (no-inoc) bajo condiciones transitorias de la concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (lav) y una etapa posterior de estabilización (estab).

A nivel de género, se observó que se conservaron la mayoría de los géneros más abundantes encontrados en el ensayo anterior y hubo un aumento en la abundancia de *Brevibacterium* en la sección baja (Figura 6.5). Su alta abundancia explicaría el consumo de sulfato que se presentó en las secciones baja y central en algunas etapas del proceso de biofiltración, ya que puede usar sulfato de amonio como fuente de nitrógeno y de azufre, indicado previamente (Capítulo 4, Sección 4.3.2). Además, como se mencionó anteriormente (Capítulo 4, Sección 4.3.1), el consumo de sulfato también puede estar asociado a su asimilación por parte de géneros como *Virgibacillus* y *Nocardiopsis*, los cuales también se identificaron en el lecho durante este ensayo. El anexo I muestra la variación en la abundancia de los géneros identificados durante este trabajo, así como sus características metabólicas relacionada con el metabolismo del azufre y del nitrógeno.

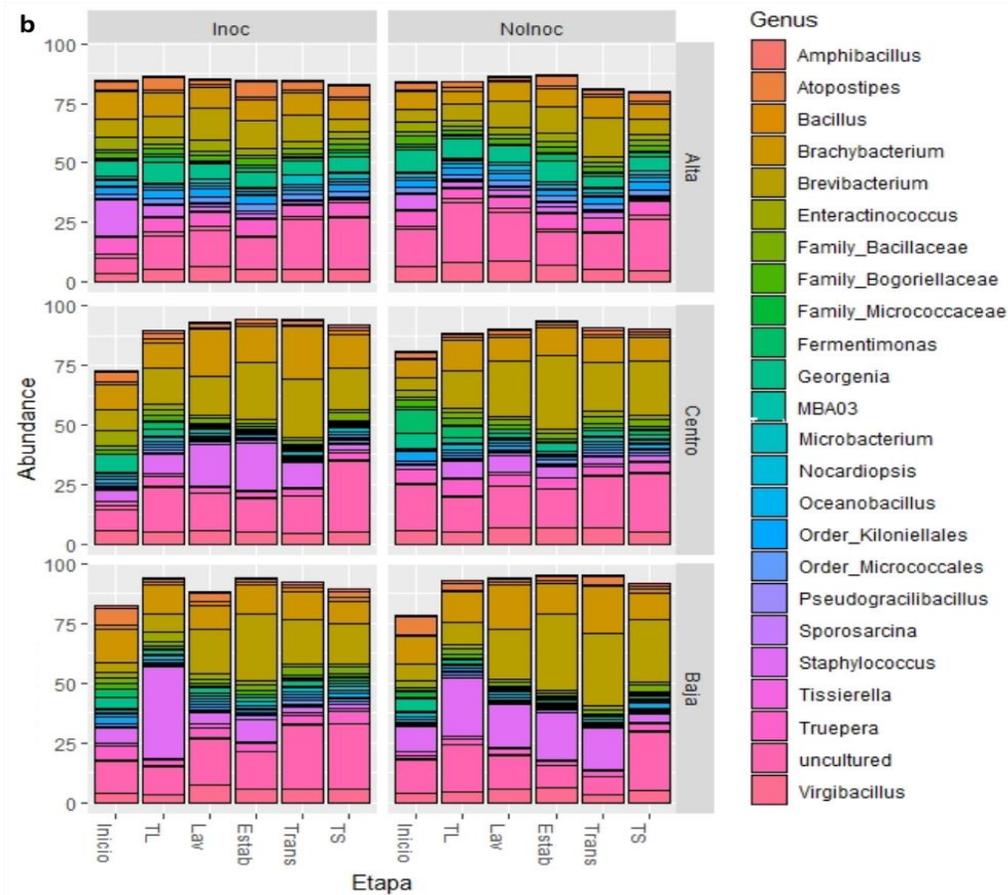


Figura 6.5. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de género presentes en el lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (inoc) y sin inocular (No-inoc) bajo cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab).

Los géneros que aumentaron su abundancia en esta evaluación y no habían sido reportado dentro de grupo de los más abundantes en los ensayos anteriores son *Amphibacillus*(0.3-1%), *Limnochordia MBA03* (0,2-0,7%) y *Tissierella*(0.3-1%) *Pseudogracilibacillus* (0.25-1%), *Sporosarcina* (0.2-1.6%) (Figura 6.6). Estas bacterias también son halotolerantes (Lawson, 2019; Omoregie et al., 2019; Perman et al., 2022; Zhilina et al., 2001), sin embargo, varias de ellas como son *MBA03* y *Tissierella* son anaerobias estrictas. Este resultado indica que se mantuvieron zonas anaerobias en el lecho de biofiltración que permitieron el aumento de abundancia de estas bacterias.

Sólo se identificaron las SOB y AOB pertenecientes al inóculo (*Thiobacillus* y *Nitrosomonas*, respectivamente) en las muestras del lecho inoculado al inicio de la evaluación, con una abundancia entre 0,2 a 0,4%, y al final de la etapa de temporada lluviosa, en la sección central, con una abundancia de 0,02%. Estos resultados indican que las bacterias de interés para el proceso de eliminación de H_2S y NH_3 no pudieron establecerse y crecer en el lecho de biofiltración, a pesar de que en la temporada de lluvias se aplicó una baja concentración de gases para permitir su adaptación y crecimiento en el biofilm (Jiang et al., 2009b). Posiblemente, esto se debe a que estos géneros no están adaptados a las altas concentraciones de sales presentes en el lecho de biofiltración, a pesar de que, durante el cultivo en medio líquido, se permitió la acumulación de los productos de oxidación H_2S y NH_3 (Capítulo 5, Sección 5.2.3). Sin embargo, otros ASVs identificados en el inóculo (*Achromobacter*, *Sphingopyxis*, Chthoniobacteraceae LD29, Rhizobiaceae) se detectaron a baja abundancia (0,002-0,008%) en las muestras tomadas tras el lavado del lecho.

La cuantificación de SOB (Figura 6.6a), indica que se mantuvo la presencia de este grupo de bacterias a pesar de la disminución en la abundancia de géneros, como *Halomonas* y *P. denitrificans*, que se había planteado previamente que podrían llevar a cabo la oxidación de azufre (Capítulo 4). Es decir que, a pesar de su baja abundancia (0,02-0,5%), estos géneros posiblemente aún son los responsables de la oxidación del H_2S , ya que no se encuentran reportes sobre la capacidad de oxidación de H_2S de los géneros más abundantes. Sin embargo, esta hipótesis tendría que confirmarse mediante la secuenciación del gen *soxB* amplificado desde el metagenoma de la comunidad microbiana. También es posible que la oxidación de H_2S haya sido realizada mediante otros mecanismos de oxidación mediados por las enzimas sulfuro quinona oxidoreductasa y persulfuro dioxigenasa, cuya presencia se ha reportado en bacterias heterótrofas, como *Truepera* y *Alcanivorax* (Xia et al., 2017), que fueron detectadas en los biofiltros de compost usados en este

estudio. La identificación de las SOB halotolerantes del compost de este estudio permitiría plantear su uso como inóculo para otros sistemas de biofiltración de H₂S donde se acumulen sales.

Al inicio del ensayo, sólo se observaron diferencias en la abundancia de SOB entre el biofiltro inoculado y sin inocular en la sección baja (Figura 6.6c). Esta diferencia se puede deber a la alta carga de gases que ha recibido esta sección del biofiltro durante los ensayos previos, la cual limitó el crecimiento de SOB, de manera que su abundancia fue menor que en las demás secciones. Entonces la inoculación efectivamente aumentó la abundancia de estas bacterias. Sin embargo, al finalizar la etapa de temporada lluviosa (TL), la abundancia de SOB en la sección baja disminuyó a un nivel similar al del biofiltro sin inocular, lo que coincide con la disminución en la abundancia de *Thiobacillus*. Este resultado confirma que las SOB inoculadas no pudieron adaptarse a las condiciones del sistema de biofiltración. Durante el resto de la evaluación en condiciones transitorias, no se observaron diferencias significativas en la abundancia de SOB entre el biofiltro inoculado y sin inocular, ni entre etapas, excepto al finalizar la evaluación, donde la abundancia de SOB fue mayor en el biofiltro inoculado en las secciones baja y central. (Figura 6.6 b y c). Este resultado es similar al encontrado en la eficiencia de remoción, donde el biofiltro inoculado mostró mayor eficiencia que el biofiltro sin inocular (Figura 6.1a; Tabla 6.1), pero contrasta con lo encontrado en la identificación de las bacterias en los lechos, ya que ninguna de las bacterias del inóculo se detectó en una abundancia mayor a 0,1% en el biofiltro inoculado al final de la biofiltración (Figura 6.5b). Es decir que las SOB que se cuantificaron en lecho mediante qPCR no corresponden a las SOB inoculadas, específicamente a *Thiobacillus*, sino que corresponden a bacterias heterótrofas del lecho, como se indicó en el Capítulo 4, sección 4.3.1.

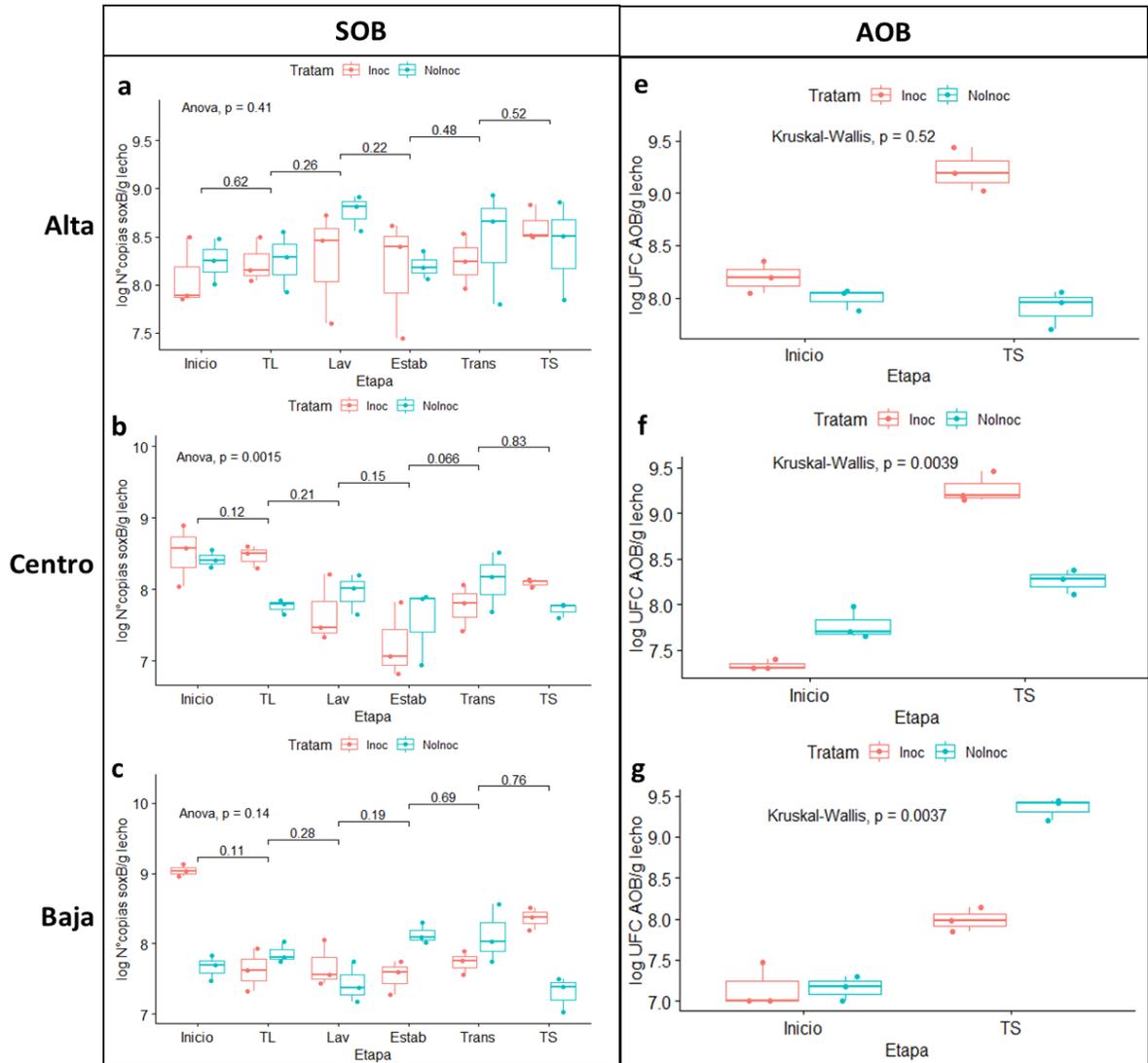


Figura 6.6. Abundancia de las bacterias oxidantes de azufre (SOB) (a, b, c) y bacterias oxidantes de amonio (AOB) (e, f, g) a lo largo (sección alta, central y baja) de los biofiltros inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) bajo condiciones transitorias de la concentración de gases que simularon emisiones de temporada seca (TS) e lluviosa (TL), transición entre temporadas en una PTAR (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). Los valores encima los corchetes corresponden al valor p de comparación entre las etapas, teniendo diferencia significativa cuando $p < 0,05$.

En el caso de las AOB, se observó un aumento en la abundancia de estas bacterias al final de la evaluación, con una mayor abundancia en las secciones alta y central del biofiltro inoculado, mientras que en la sección baja la abundancia fue mayor en el biofiltro sin inocular (Figura 6.6 e, f, g). Estos resultados sugieren que la acumulación de amonio posiblemente promovió el crecimiento de bacterias del lecho que pueden asimilarlo u oxidarlo, como *Brevibacterium*. Sin embargo, de forma similar a la cuantificación de SOB, la diferencia de abundancia de AOB entre el biofiltro

inoculado y sin inocular no está asociado con la presencia de AOB del inóculo, ya que no se identificaron en el metagenoma de la comunidad. Estos resultados indicarían que posiblemente otras características del lecho que no fueron evaluadas durante este ensayo y que pudieron variar después del lavado de los lechos, como porosidad y la compactación del lecho que influye en la distribución de oxígeno a lo largo del biofiltro, permitieron la diferenciación de los biofiltros e influyeron en el crecimiento de las bacterias y en la remoción del H₂S.

En el análisis de alfa diversidad se observó que los índices de diversidad de la sección alta son mayores que los de las secciones baja y central (Figura 6.7), debido a que la concentración de gases de entrada es menor, como se había indicado anteriormente (Capítulo 4, sección 4.3.1). No se presentaron diferencias significativas en los índices evaluados al comparar las muestras tomadas al final de cada etapa de condición transitoria (Anexo J, Tabla 1). Este resultado puede deberse a que la comunidad microbiana ya había sido seleccionada previamente a condiciones transitorias en la concentración de gases durante el ensayo de evaluación de EBRT (Capítulo 4, sección 4.3.1).

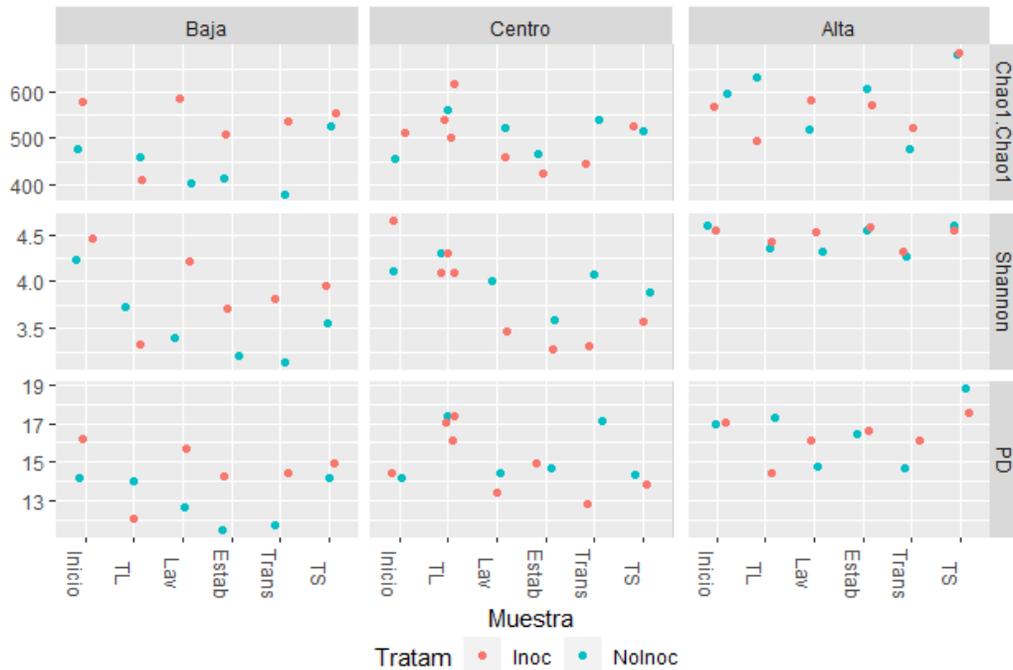


Figura 6.7. Índices de diversidad alfa (PD: diversidad filogenética) de la comunidad microbiana presente en el lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) bajo cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS) y lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab).

El análisis de PERMANOVA de la diversidad beta, calculada de acuerdo con la distancia de Bray-Curtis y Unifrac, muestra que hay diferencias en la composición de la comunidad microbiana de acuerdo con la sección de los biofiltros (Figura 6.8) y la etapa de variación en la concentración de gases (Tabla 6.3). La diferenciación entre secciones ya se había establecido previamente al finalizar el ensayo de evaluación de la humedad del lecho (Capítulo 4, sección 4.3.2). Sin embargo, en este ensayo se encontró que las comunidades de las tres secciones son diferentes (Anexo J, Tabla 2), contrario a lo encontrado en los anteriores ensayos donde la comunidad de dos secciones fue similar (Anexo D, Tabla 4).

Tabla 6.3. Análisis PERMANOVA de la estructura microbiana de las secciones de los biofiltros inoculado y sin inocular (tratamiento) al finalizar las etapas de condiciones transitorias en la concentración de gases. El asterisco indica diferencias significativas en la comunidad microbiana ($p < 0,05$).

Factor	Bray-Curtis		Unifrac	
	R ²	P	R ²	P
Sección	0,2249	0,001*	0,4289	0,001*
Etapas	0,2135	0,001*	0,2063	0,002*
Tratamiento	0,0173	0,469	0,0059	0,706

Teniendo en cuenta estos resultados, la sección se estableció como factor de bloqueo para verificar el efecto de la inoculación y de los cambios en la concentración de los gases en la comunidad microbiana. No se encontraron diferencias al comparar la abundancia (Bray-Curtis) y la relación filogenética (Unifrac) de la comunidad microbiana del biofiltro inoculado con el biofiltro sin inocular (Anexo J, Tabla 2), resultado que era esperado teniendo en cuenta que sólo entre 2-5 ASVs provenientes del cultivo inoculado pudieron establecerse en el lecho del biofiltro, y que además se encontraron a muy baja abundancia. Sin embargo, sí se encontraron diferencias entre las etapas de condiciones transitorias. Específicamente, se encontró que la comunidad microbiana inicial presente en el lecho fue diferente de la comunidad durante el resto del ensayo (Figura 6.8; Anexo J, Tabla 3), debido posiblemente a que el reinicio de la operación llevó a un cambio en la abundancia de las bacterias que no crecen bien en presencia de los gases, que correspondería a una nueva etapa de aclimatación. También se observaron diferencias en la comunidad microbiana tras el lavado del lecho usando la distancia Bray-Curtis. Como se discutió anteriormente, el lavado pudo haber permitido la redistribución de nutrientes, y retirada de subproductos, de forma que llevó a

cambios en la estructura de la comunidad microbiana como el aumento en la abundancia de bacterias cuyo crecimiento fue inhibido en la etapa anterior.

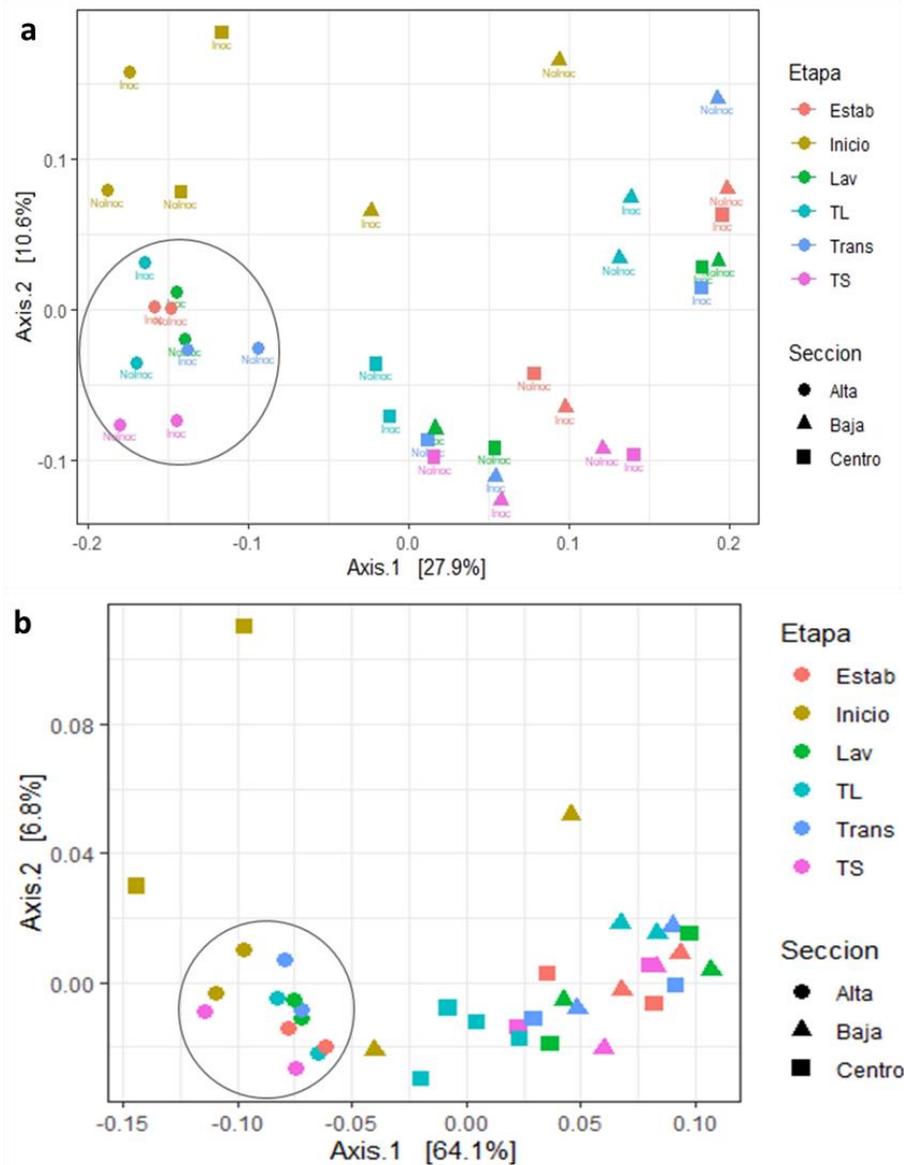


Figura 6.8. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en a) distancia Bray-Curtis y en b) la distancia filogenética (Unifrac ponderado) entre la abundancia de ASV en las muestras de lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) tras el cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS), lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). El valor entre paréntesis en cada eje indica el porcentaje de varianza entre las muestras que explica cada componente.

Tras el lavado, la comunidad microbiana solo presentó cambios al finalizar la etapa que simula la temporada seca, indicando que el cambio en la concentración de entrada de gases y su modo de variación, y posiblemente la acumulación de subproductos afectó la estructura de la comunidad, así como la remoción de los gases, como se evidenció en la disminución en la remoción de H_2S . Sin embargo, no se observaron diferencias significativas al comparar la diversidad de las muestras tomadas al finalizar las demás etapas durante la biofiltración al usar la distancia Unifrac (Anexo J, Tabla 3). Esto puede deberse a que los ASVs predominantes se mantuvieron durante todo el proceso, con leves variaciones en su abundancia, como se observa en la Figura 6.6, de forma que no se detectaron cambios significativos en la diversidad filogenética.

La diferenciación encontrada en la comunidad microbiana entre la sección alta con las secciones baja y central también se vio en el análisis de los productos de oxidación (sección 6.3.1) y puede indicar una relación entre la forma de remoción de los gases con la comunidad microbiana, como ya se había mostrado en el Capítulo 4. Esta relación se evaluó mediante el análisis dbRDA.

6.3.3 Relación entre composición de la comunidad microbiana y parámetros fisicoquímicos

Para este análisis no se tuvo en cuenta la muestra después del lavado ya que se buscó evaluar el efecto de la concentración de entrada de los gases. Los análisis de dbRDA (Figura 6.9) y de varianza por término del modelo usado para el dbRDA (Anexo K, Tabla 3), muestra que la concentración de amonio y la concentración de gases son las variables que aportan más información a la disimilitud entre la comunidad microbiana de las muestras.

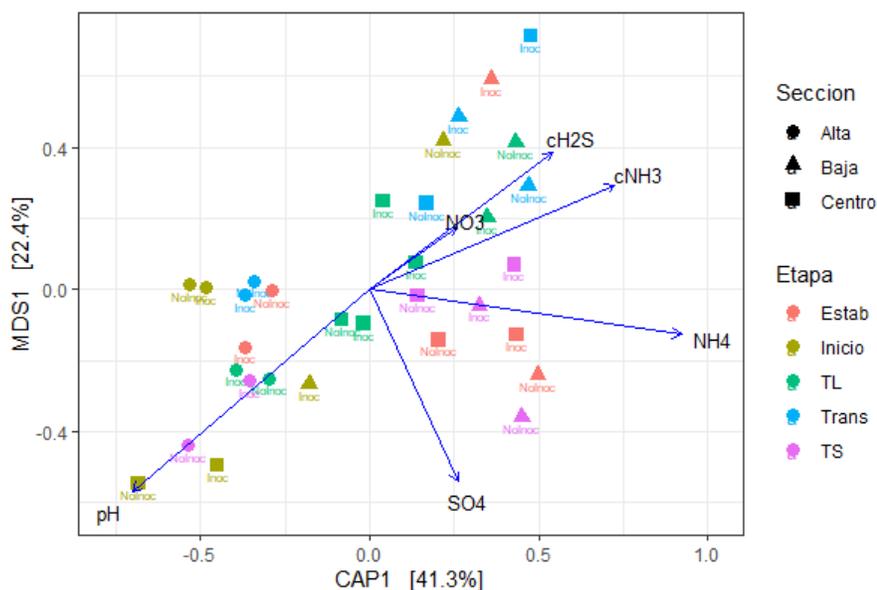


Figura 6.9. Análisis de redundancia basada en la distancia filogenética (dbRDA) entre la comunidad microbiana en las muestras de lecho de la sección alta, central y baja de un biofiltro inoculado (Inoc) y sin inocular (Noinoc) tras el cambio de concentración de gases simulando emisiones de temporada seca (TS), lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans), y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). La magnitud del vector indica el peso de la variable en explicar la ordenación de las muestras. La cabeza del vector indica la dirección de incremento de la variable.

Estos resultados indican que la estructura de la comunidad microbiana va cambiando en función de las nuevas condiciones, teniendo que, para este ensayo, la sorción de NH₃ como amonio tiene un efecto mayor, posiblemente debido a que la concentración de amonio es dos veces más alta que en los ensayos previos. Este resultado se confirma con el análisis de correlación entre la concentración de amonio y los géneros más abundantes (Figura 6.10) ya que esta variable está relacionada positivamente con 3 géneros (*Brevibacterium*, *Brachybacterium* y *Staphylococcus*), y negativamente con 6 (*Georgenia*, *Truepera*, *Enteranicoccus*, *Fermentimonas*, *Nocardiopsis* y las bacterias del orden Kiloniellales). Por otra parte, el pH tiene correlación con nuevos géneros abundantes, ya que al disminuir el pH por la oxidación del H₂S, aumentó la abundancia de *Tissierella*, *Pseudogracibacillus* y *Amphibacillus*. Así que, posiblemente la disminución de pH de los lechos a un nivel neutro (6,5-7,5, Figura 6.3) permitió el crecimiento de estas bacterias.

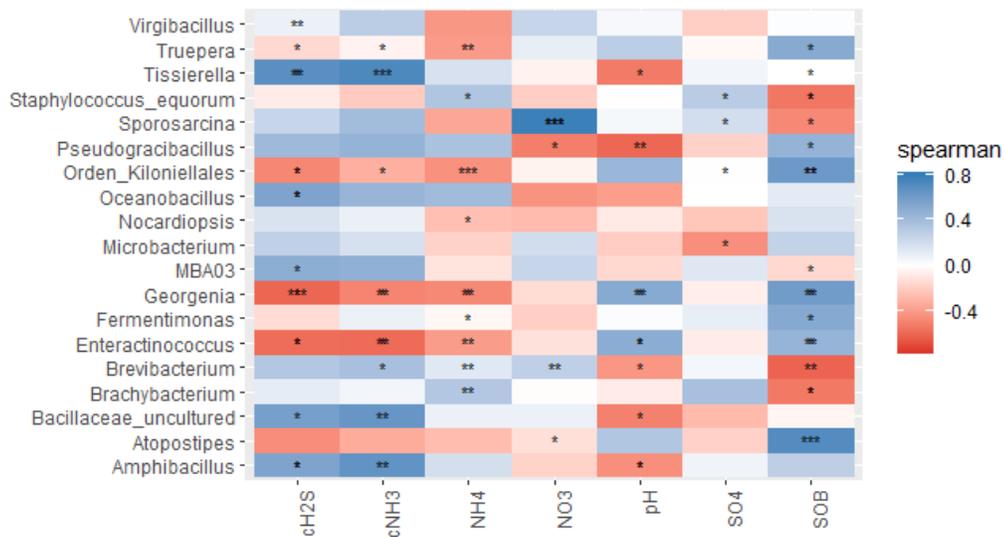


Figura 6.10. Correlación (test de Spearman) entre la concentración del gas (cH₂S y cNH₃), concentración de productos de eliminación (pH, sulfato, amonio, nitrato), bacterias involucradas en la oxidación de H₂S (log N°copias soxB para SOB) y los 20 géneros más abundantes identificados en el lecho (abundancia relativa). El asterisco (*) indica que el coeficiente de correlación tiene p<0,05.

El análisis de correlación también muestra que la abundancia de *Sporosarcina* tiene una alta correlación con la concentración de nitrato. Algunas especies de este género son halotolerantes y pueden reducir el nitrato a nitrito (Trujillo et al., 2015), de forma que es posible que el aumento en la abundancia esté asociada a la mayor disponibilidad de nitrato en el lecho.

Los resultados encontrados en este último estudio muestran que la comunidad microbiana establecida en los biofiltros, tras el periodo de baja humedad al que se sometió previamente (Capítulo 3), logró remover de forma eficiente los gases una vez se restablecieron las condiciones óptimas de operación (humedad 40% y EBRT de 25s). Sin embargo, fue necesario el lavado de lecho para tener una alta eficiencia en condiciones transitorias. Este resultado muestra que la comunidad seleccionada previamente al reducir la humedad pudo resistir de nuevo las condiciones variables en la concentración de los gases aplicadas durante la simulación de las emisiones de una PTAR. Adicionalmente, los resultados sugieren que en el lecho de biofiltración se mantuvo una redundancia funcional en la comunidad microbiana a pesar de la selección previa de microorganismos debida a la exposición continua a H₂S y NH₃ durante la etapa de selección de lecho, de evaluación de EBRT y humedad (Capítulo 3), de forma que se mantiene la actividad de oxidación de los gases, principalmente de H₂S, a pesar de los cambios en la comunidad microbiana.

Resultados similares han sido reportados previamente en sistemas de biofiltración para H₂S donde la remoción de los biofiltros se mantiene por largo tiempo, incluso bajo condiciones variables, a pesar de los cambios en la estructura y composición de la comunidad microbiana (Le Borgne and Baquerizo, 2019). Cabrol et al. (2016) reportaron que la aplicación de repetidas perturbaciones de intensidad creciente en la concentración de los gases indujo la selección progresiva de población de bacterias nitrificantes resistentes a altas concentraciones de amoníaco en un biofiltro para la remoción de NH₃ y COVs.

Sin embargo, en el sistema de biofiltración evaluado, no se evidenció esta resistencia a los cambios al final de la evaluación ya que hubo una disminución en la remoción de H₂S al aumentar la concentración de los gases en la última semana del ensayo, a un nivel evaluado previamente (Capítulo 3, Sección 3.3.5). La diferencia entre ambos momentos fue la composición de la comunidad microbiana, donde en la evaluación de EBRT la abundancia de las Proteobacteria era aproximadamente de 25% (Capítulo 4, Figura 4.1) mientras que, en el último ensayo realizado, las Proteobacteria estuvieron por debajo de 5% (Figura 6.4). Este cambio de la comunidad microbiana fue causado por la disminución de la humedad de lecho, de forma que este resultado sugiere que cambios repentinos, extremos y de larga duración, disminuyeron la población bacteriana, como Proteobacterias, que podría resistir de nuevo las condiciones transitorias en la concentración de los gases y que se reflejó como una disminución en la remoción de H₂S y la no oxidación a sulfato del H₂S.

Si bien esta comunidad microbiana pudo adaptarse a diferentes condiciones de operación respecto a la concentración de gases, lo sucedido en la última semana del ensayo, donde se redujo la remoción de H₂S y no hubo un aumento significativo en la concentración de amonio en ninguna sección, indica que el lecho de biofiltración y el biofilm podrían estar saturados con las sales adsorbidas y productos en la oxidación biológica, de forma que se reduce la adsorción de gases y por consiguiente la remoción de los mismos de la corriente de gas. La remoción de H₂S se ve más afectada que la de NH₃ debido a la constante de Henry del H₂S (0,1mol / kg bar), que indica la solubilidad del gas en agua, es cientos de veces menor que la del NH₃ (61mol / kg bar) (NIST, 2022).

Estos resultados indican que los parámetros fisicoquímicos del lecho tendrían un mayor peso en la remoción de los gases que la comunidad microbiana en el desempeño de los sistemas de biofiltración ya que la comunidad microbiana puede adaptarse a las diferentes condiciones, pero

la sorción de los gases limita la actividad microbiana, así como la posible inhibición de la oxidación de los gases por la alta concentración de sales. Esta hipótesis explicaría también la diferencia entre los productos de oxidación entre el biofiltro inoculado y sin inocular que se observaron al final del ensayo, ya que al tener una comunidad microbiana similar se esperaría que tuvieran un comportamiento similar, pero diferencias a nivel fisicoquímico entre los dos lechos que se van generando durante la operación, como cambios en grado de compactación o en el tamaño de partículas a lo largo del biofiltro por la formación de agregados de sales precipitadas (Anexo I, Figura 3) , pudieron alterar el flujo de aire de forma diferentes a cada biofiltro y por consiguiente, la sorción de los gases al lecho.

Los resultados obtenidos mostraron que la inoculación no fue exitosa debido posiblemente a que las bacterias del inóculo no pudieron competir con las bacterias del lecho, ya que estas últimas en su mayoría corresponden a géneros halotolerantes que pudieron crecer a alta concentración de sulfato y amonio, mientras que los géneros en mayor abundancia en el inóculo no son halotolerantes (Capítulo 5). Esta situación es común en otros sistemas biológicos, como pilas de compostaje, donde el éxito de la inoculación depende del tipo de inoculante y su concentración, el método usado para su aplicación, así como el momento y frecuencia de aplicación (Zainudin et al., 2022). En el caso de la inoculación de lechos de compost en un sistema de biofiltración, estos parámetros también deberían evaluarse, además de buscar las condiciones óptimas para la obtención del inóculo de forma que le permitan establecerse en el lecho. Específicamente, para la inoculación del lecho usado en este estudio, el inóculo podría provenir del enriquecimiento de la pollinaza usada para obtener compost usado como lecho, de forma que se aseguraría que las bacterias del inóculo también se encontrarán en el compost y podrían adaptarse mejor a las condiciones del lecho. Adicionalmente, sería necesario ajustar las condiciones de cultivo del inóculo para que se asemejen más a las características químicas del lecho de biofiltración, como una mayor concentración de sulfato y amonio en el medio de cultivo.

6.4 Conclusiones

La evaluación de un biofiltro de lecho orgánico con un cultivo enriquecido en SOB y AOB en la remoción de H_2S y NH_3 bajo condiciones que simulaban la dinámica de emisión de gases en una PTAR mostró que tanto el biofiltro inoculado como el biofiltro sin inocular pudieron mantener una alta remoción de gases tras la operación en condiciones extremas aplicadas previamente, como

alta carga de gases y la disminución drástica de la humedad, y bajo en nuevas condiciones transitorias. Esta capacidad de recuperación se logró a través de un manejo desde el punto de vista operacional, como el lavado del lecho. Este lavado permitió además la oxidación de amonio a nitrato durante un corto tiempo; pero la remoción de NH₃ continuó siendo a través de su sorción como amonio en el lecho durante la evaluación.

Justamente, la acumulación de amonio fue la variable con una mayor influencia en la diferenciación entre la comunidad microbiana de los biofiltros, junto con la concentración de gases que mantuvo su influencia, principalmente en la diferenciación a lo largo del biofiltro.

Solo se presentaron cambios en la comunidad microbiana al iniciar la operación de los biofiltros. Este resultado muestra que los biofiltros llegan a una estabilidad en la estructura de la comunidad microbiana tras la aplicación de varios ciclos de condiciones transitorias que, en el sistema evaluado, contiene una alta proporción de bacterias halotolerantes. Teniendo en cuenta lo anterior, el monitoreo de la actividad microbiana y de las propiedades del lecho en biofiltros con largo tiempo de operación, más que el de la composición de la comunidad microbiana, que ya es estable, daría más información acerca del estado de un biofiltro y permitiría plantear estrategias para continuar con un alto desempeño en la remoción de gases.

7. Conclusiones y recomendaciones

7.1 Conclusiones

Los gases tóxicos o generadores de olores ofensivos producto de procesos industriales son considerados contaminación del aire y requieren de la aplicación de tecnologías para su eliminación. La biofiltración ofrece una alternativa económica de alta eficiencia y baja generación de residuos. En este contexto, es fundamental caracterizar la comunidad microbiana presente en los biofiltros, así como establecer los factores que la afectan, dado que se presentan mezclas de gases y condiciones transitorias en su concentración que afectan la actividad biológica y por consiguiente el desempeño del sistema.

Durante el tratamiento de aguas residuales en la PTAR El Salitre, el H₂S y el NH₃ son los compuestos de mayor emisión en la corriente de aire en la zona de pretratamiento. La concentración de los gases presenta 2 tipos de variaciones que dependen principalmente del régimen climático y de la jornada del día: en la temporada seca se presentan picos de alta concentración, principalmente en horas de la noche, mientras que, en la temporada lluviosa, la concentración de gases es menor y no tiene una variabilidad significativa a lo largo del día. Lo anterior debe ser tenido en cuenta para establecer los parámetros de sistemas de tratamientos de gases que permitan la remoción eficiente de gases bajo condiciones de alta variabilidad.

Los biofiltros empacados con compost de pollinaza y bagazo de caña a EBRT de 25s y humedad de 40% (b.s.) lograron remoción entre 80 y 100% de H₂S y de NH₃ bajo las diversas condiciones transitorias en la concentración de entrada de los gases y alcanzaron una capacidad de eliminación de 32,2±4,7 g H₂S/m³h y 1,3±0,1 g NH₃/m³h. Además, el sistema pudo mantener por corto tiempo (4 días) una remoción de gases mayor al 70%, a una humedad del lecho del 30%. Estos resultados

indican que los biofiltros de compost de pollinaza y bagazo de caña pueden mantener la remoción de gases bajo condiciones variables de concentración de gases, acumulación de productos y baja humedad, y por lo tanto pueden ser implementados a escala industrial.

Para garantizar un alto desempeño del sistema a largo plazo, el mecanismo de eliminación de los gases y la comunidad microbiana del lecho deben ser estudiados. La eliminación de H₂S fue principalmente mediante oxidación a sulfato y la eliminación de NH₃ fue principalmente por adsorción y absorción en el lecho como amonio. Esta acumulación de sulfato y amonio en el lecho estuvo relacionada con la composición de la comunidad microbiana en el lecho de biofiltración ya que se identificaron en alta proporción bacterias heterótrofas de naturaleza halófila o halotolerante. Lo anterior indica que el proceso de eliminación biológica de H₂S y NH₃ fue realizado por este tipo de bacterias, condición que no se ha reportado en otros sistemas de biofiltración.

Una posible estrategia para alargar la vida útil de un biofiltro, aumentar la remoción y oxidación de los gases es la inoculación del lecho con bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre. El cultivo enriquecido en estas bacterias (44% en *Thiobacillus* y 22% en *Nitrosomas*), que se obtuvo a partir de un lodo digerido de la PTAR El Salitre en un medio líquido donde se acumularon los productos de oxidación, asegura que el cultivo pueda eliminar simultáneamente H₂S y NH₃ al ser usado como inóculo en un lecho de biofiltración.

Tanto el biofiltro inoculado como el biofiltro sin inocular pudieron mantener la remoción de gases incluso en nuevas condiciones transitorias que simularon las variaciones estacionales y diarias de la concentración de H₂S y NH₃ de la corriente gaseosa de una PTAR tras realizar el lavado del lecho. Además, la comunidad microbiana del compost pudo adaptarse a condiciones transitorias prolongadas en la carga, como las aplicadas en la temporada seca, hasta alcanzar una composición estable donde aún predominaron bacterias heterótrofas halotolerantes.

Este trabajo demuestra que es posible obtener un sistema de biofiltración de lecho de compost adecuado para usar a nivel industrial para la eliminación simultánea de H₂S y NH₃ debido a la adaptación de la comunidad microbiana a las diversas condiciones variables de concentración de gases, acumulación de productos y cambios en la humedad del lecho, y a la aplicación de estrategias a nivel operacional (lavado y breves períodos de inanición).

7.2 Recomendaciones

Incluir en el monitoreo de la biofiltración la medición de otros compuestos que pueden ser producidos durante la remoción de H_2S y NH_3 , como azufre elemental, sulfuro adsorbido, óxido nítrico, nitrógeno y azufre total, para establecer con certeza las rutas de eliminación de los gases y así plantear estrategias de operación que permitan alargar la vida útil de un biofiltro ya instalado.

Identificar las SOB heterótrofas presentes en el lecho de compost mediante la secuenciación del gen *soxB* amplificado desde el metagenoma de la comunidad microbiana, así como otros genes relacionados con la oxidación de sulfuro, ya que estas bacterias pudieron tolerar altas cargas de los gases y alta concentración de sulfato y serían de interés para su uso en sistemas de biofiltración a escala industrial.

Teniendo en cuenta que la comunidad microbiana se adapta a los diversos cambios en las condiciones de operación y confluye hacia una estructura similar a lo largo del sistema, se propone evaluar el uso de biofiltros modulares en serie con bypass, de forma que cuando uno de ellos empiece a fallar, el flujo de aire sea dirigido hacia el biofiltro que haya tenido menor exposición a los gases y, así, la eliminación de gases puede continuar y se da un tiempo de recuperación al módulo afectado. Esta operación permitiría alargar la vida útil de los biofiltros.

Evaluar otros métodos de inoculación de los biofiltros de lecho orgánico con cultivos enriquecidos, así como otras condiciones de cultivo que permitan su permanencia y que faciliten su aplicación en el lecho.

Evaluar el uso del cultivo enriquecido obtenido en este estudio en biofiltros de lecho inerte para comprobar su viabilidad para la eliminación de H_2S y NH_3 .

A. Anexo A: Análisis descriptivo de las emisiones de H₂S, NH₃ y COV en la PTAR El Salitre

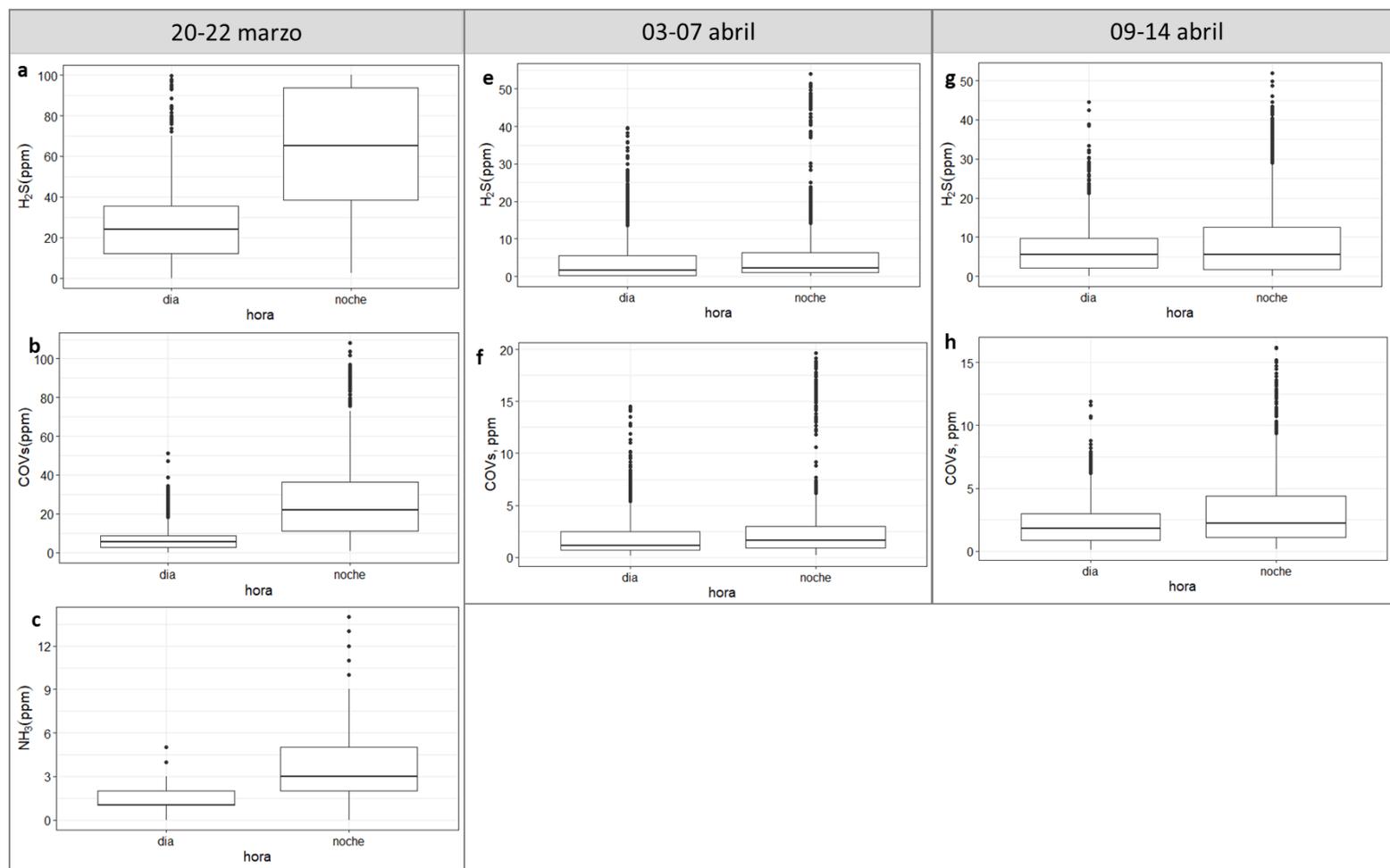
Tabla 1. Promedio semanal, valores máximos de la concentración de H₂S, NH₃ y COVs en las emisiones de la zona de pretratamiento de la PTAR El Salitre ND: no determinado. Alta concentración: >50 ppm de H₂S y > 4ppm NH₃. Concentración moderada: 20-50 ppm H₂S y 2-4 ppm NH₃.

	Semana	Precip, mm	H ₂ S, ppm				NH ₃ , ppm				COVs, ppm				Picos de concentración
			Día	Noche	Max, día	Máx, noche	Día	Noche	Max, día	Máx, noche	Día	Noche	Max, día	Máx, noche	
Temporada seca	15-18 feb	1,0	30,9	43,8	126	326	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Alta concentración por 4-5 h
	01-05 mar	1,2	8,7	14,7	50,0	83,5	<1	1	4	11	1,2	1,8	4,3	7,8	
	9-11 mar	0,4	21,3	31,3	49,3	110	1	2	3	8	3,3	6,3	7,0	21,5	
	15-18 mar	3,3	21,0	23,4	99,3	68,1	1	2	19	14	7,1	5,5	28,8	24,7	Alta concentración por 3h
	20-22 mar	0,9	28,9	66,3	99,8	144	1	3	7	14	16,3	24,8	46,3	108,1	Alta concentración por 8-10 h
Temporada de lluvias	23-28 mar	7,0	18,7	22,8	52,3	100,0	<1	0,5	2	2	6,4	14,5	47,0	51,5	Alta concentración por 2-3 h
	3-7 abril	7,7	4,9	6,8	39,6	54,1	<1	<1	<1	1	1,5	2,2	5,0	19,7	Concentración moderada por 2-3 h
	9-14 abr	7,4	6,6	9,6	44,6	52,0	0,0	<1	1	1	2,4	3,3	11,9	16,2	Concentración moderada por 4-5 h
	30 abr -7 may	4,6	19,6	38,1	66,0	126	0,6	1	1	2	1,5	2,5	1,0	27,3	Alta concentración por 3h
	8-16 may	10,2	5,6	13,8	22,1	29	<1	<1	1	1	2,0	5,1	7,9	25,5	Concentración moderada por 4-5 h
	17-28 may	3,5	12,7	20,0	43,0	70,0	<0,5	<1	1	1	5,6	10,7	27,3	57,9	Concentración moderada por 4-5 h

Tabla 2. Matriz de correlación entre la concentración de H₂S, COVs y NH₃ con la precipitación diaria y la demanda biológica de oxígeno (DBO) del agua residual durante el día y la noche.

	H ₂ S día	H ₂ S noche	COVs día	COVs noche	NH ₃ día	NH ₃ noche	Precipitación
DBO día	0,56	0,58	0,49	0,35	0,78	0,28	-0,32
DBO noche	0,33	0,45	0,21	0,04	0,73	0,28	-0,24
Precipitación	-0,34	-0,49	-0,40	-0,40	-0,40	-0,14	1

Figura 1. Boxplot de la concentración de gases entre periodos diurnos (día) y nocturno (noche) en la temporada seca (20 a 22 de marzo de 2018, gráficas a, b y c) y en la temporada de lluvias (03 a 07 de abril de 2018; gráficas e y f; y 09 al 14 de abril de 2018, gráficas g y h).



B. Anexo B: Compostaje para obtención de lechos de biofiltración

Figura 1. Montaje de compostaje a. Barriles de compostaje b. Sistema de aireación

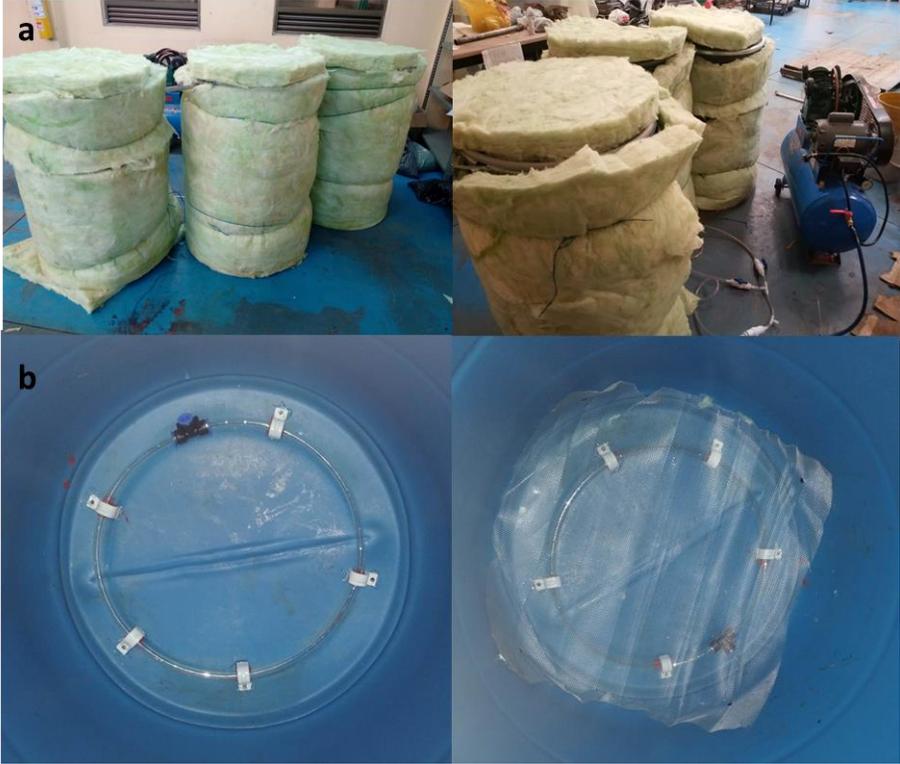


Figura 2. Perfil térmico del compostaje de pollinaza + residuos de poda (CP); pollinaza + bagazo de caña (CB) y pollinaza + residuos de poda (CA).

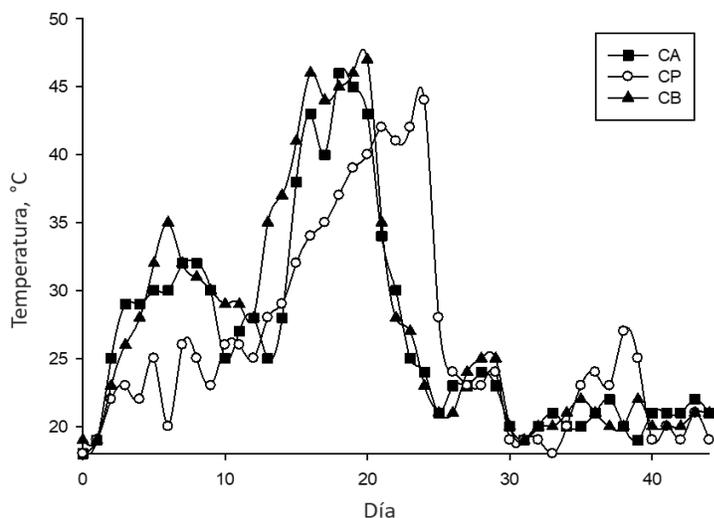


Figura 3. Mezclas de sustratos en fase de maduración a. pollinaza y bagazo de caña; b. pollinaza y cascarilla de arroz; c. pollinaza y residuos de poda



Tabla 1. Caracterización de los sustratos antes de compostar. ST: Sólidos totales, SV: Sólidos volátiles.

Sustrato	Humedad %	ST %	SV%	MO%
Poda	12,3	87,7	80,3	91,5
Bagazo	9,1	90,9	86,3	94,9
Cascarilla de arroz	8,1	91,9	75,4	83,8
Pollinaza	15,4	84,6	61,1	72,3

Tabla 2. Evolución del pH, índice de biodegradabilidad (*Km*), demanda química de oxígeno (DQO) y del nitrógeno (nitrato y pérdida de nitrógeno) durante el compostaje. CP, pollinaza y residuos de poda; CB, pollinaza y bagazo de caña. CA, pollinaza + residuos de poda.

	Inicial			Semana 5			Semana 8		
	CP	CB	CA	CP	CB	CA	CP	CB	CA
pH	7,79	7,68	7,89	9,34	9,12	9,15	8,87	8,92	8,80
<i>Km</i>	0,01	0,04	0,14	0,89	0,89	0,94	0,90	0,91	0,89
DQO, mg/L	15062	14000	12062	14062	13187	11812	850	300	1800
Nitrato, mg/kg	0	0	0	1,2	0	2,0	1,5	1,3	6,6
% Pérdida N	0	0	0	70,1	65,7	72,8	38,9	56,7	30,9

C. Anexo C: Biofiltración de H₂S y NH₃ en diferentes condiciones

Figura 1. Sistema de biofiltración de H₂S y NH₃ a). Sistema para la generación gases A: Bombas de vacío; B: Bomba peristáltica; C: Cámara de humidificación; D: Cámara para volatilización de NH₃; E: Cámara para producción y volatilización de H₂S; F: Cámara de mezcla de gases; b). Biofiltros a escala laboratorio



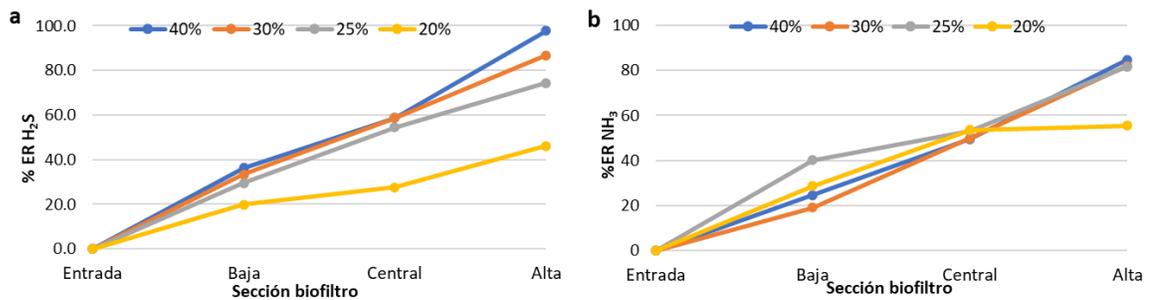
Tabla 1. Eficiencia y capacidad de eliminación a diferentes EBRT y nivel alto de concentración de H₂S y NH₃. Letras diferentes en superíndice en una columna indican que los promedios son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

EBRT (s)	Flujo (m ³ /h)	H ₂ S			NH ₃		
		Carga (g H ₂ S/m ³ h)	% ER	CE (g/m ³ h)	Carga (g NH ₃ /m ³ h)	% ER	CE (g/m ³ h)
60	0,39	16	100,0±0,0 ^a	16,2±0,5 ^a	0,6	98,1±2,6 ^a	0,6±0,0 ^a
45	0,53	20,5	98,6±1,7 ^a	20,1±0,5 ^b	0,8	96,3±3,6 ^{ab}	0,7±0,0 ^b
33	0,72	28,5	95,3±2,3 ^b	27,9 ±0,9 ^c	1,1	93,9±2,9 ^{bc}	1,0±0,1 ^c
25	0,95	37,3-44,3	78,3±4,2 ^c	32,2±4,7 ^d	1,4	91,8±4,9 ^c	1,3±0,1 ^d
18	1,31	52,2	57,9±2,4 ^d	31,3 ±0,1 ^d	2,0	49,6±5,3 ^d	0,9±0,1 ^e

Tabla 2. Eficiencia de remoción a diferente humedad del lecho. Letras diferentes en superíndice en una columna indican que los promedios son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

	40%	30%	25%	20%
H₂S	97,6±1,2 ^a	78,8±17,2 ^b	68,1±21,3 ^b	40,3±7,0 ^c
NH₃	85,4±7,7 ^a	77,1±7,4 ^b	75,9±7,7 ^b	57,1±1,1 ^c

Figura 2. Eliminación de (a) H₂S y (b) NH₃ a lo largo de los biofiltros a diferente humedad (40, 30, 25 y 20%)



D. Anexo D: Comparación de la comunidad microbiana durante la evaluación de la biofiltración de H₂S y NH₃ bajo diferentes condiciones de carga y humedad

Tabla 1. Análisis PERMANOVA de la estructura microbiana de las secciones de los biofiltros en los diferentes tiempos de residencia (EBRT). El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

- Hipótesis nula: No hay diferencias en la comunidad microbiana debidas a la sección del biofiltro ni al EBRT
- Hipótesis alterna: Hay diferencias en la comunidad microbiana debidas a la sección del biofiltro o al EBRT

Factor	Bray-Curtis			UniFrac ponderado		
	F	R ²	P	F	R ²	P
EBRT	2,4956	0,3066	0,001*	2,7996	0,3199	0,002*
Sección	2,9644	0,2428	0,001*	3,4267	0,2611	0,001*

Tabla 2. Comparaciones múltiples de la comunidad microbiana a diferentes EBRT. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

	EBRT				Sección			
	Bray-Curtis		UniFrac ponderado		Bray-Curtis		UniFrac ponderado	
	F	P	F	P	F	P	F	P
18s_vs_25s	1,3013	0,202	0,8077	0,442	2,3323	0,001*	2,9973	0,051*
18s_vs_33s	1,6823	0,113	1,8169	0,178	3,5486	0,001*	1,8169	0,178
18s_vs_Inicio	3,7582	0,001*	3,0611	0,042*	1,8299	0,017*	2,8900	0,035*
25s_vs_Inicio	3,0245	0,025*	1,9097	0,125	0,9305	0,571	2,4306	0,059
33s_vs_Inicio	2,7617	0,002*	2,2208	0,160	1,4995	0,069	2,1308	0,093
25s_vs_33s	1,7038	0,046*	3,2125	0,056	2,0448	0,001*	0,5836	0,830

Tabla 3. Análisis PERMANOVA de la estructura microbiana de las secciones de los biofiltros a diferente humedad del lecho. El asterisco indica diferencias significativas (p<0,05).

- Hipótesis nula: No hay diferencias en la comunidad microbiana debidas a la sección del biofiltro ni a la humedad
- Hipótesis alterna: Hay diferencias en la comunidad microbiana debidas a la sección del biofiltro o a la humedad

Factor	Bray-Curtis			UniFrac		
	F	R ²	P	F	R ²	P
Humedad	6,2934	0,29189	0,002*	9,8840	0,3366	0,001*
Sección	3,6338	0,33707	0,004*	5,7395	0,3909	0,007*

Tabla 4. Comparaciones múltiples de la comunidad microbiana entre secciones a diferente humedad. El asterisco indica diferencias significativas (p<0,05).

	Sección		Humedad	
	Bray-Curtis	UniFrac	Bray-Curtis	UniFrac
Alta_vs_Centro	0,045*	0,011*	0,006*	0,003*
Alta_vs_Baja	0,002*	0,004*	0,037*	0,026*
Centro_vs_Baja	0,088	0,194	0,003*	0,043*

E.Anexo E: Análisis de redundancia basado en distancia (dbRDA) de la comunidad microbiana durante la evaluación de carga de gases

Variables ambientales consideradas: pH, concentración amonio (NH_4), concentración de sulfato (SO_4), concentración de nitrato (NO_3), carga de entrada de H_2S (cH_2S), carga de entrada de H_2S (cNH_3), abundancia de SOB, AOB y NOB.

Tabla 1. Evaluación de los factores de inflación de varianza (VIF) en el modelo con todas las variables.

pH	NH_4	SO_4	NO_3	cNH_3	cH_2S	SOB	AOB	NOB
6,14498	3,99634	2,22865	3,22707	8,11484	12,94284	2,71481	8,30396	2,71972

Tabla 2. Evaluación de los factores de inflación de varianza (VIF) en el el modelo reducido

NH_4	SO_4	NO_3	cNH_3	cH_2S	SOB	AOB	NOB
3,19919	2,01598	1,87231	8,00070	7,70340	1,96261	2,62212	2,07443

Tabla 3. Análisis permutacional de la varianza del modelo reducido. N° permutaciones: 999. El asterisco indica la significancia del modelo ($p < 0,05$) para explicar las diferencias en la comunidad microbiana.

	Grados libertad	Suma cuadrados	F	Pr(>F)
Modelo	8	0,1598	1,8571	0,049*
Residuales	7	0,0753		

Tabla 4. Análisis permutacional de la varianza de cada término del modelo reducido. N° permutaciones: 999. El asterisco indica la significancia de cada variable ($p < 0,05$) para explicar las diferencias en la comunidad microbiana.

	Grados libertad	Suma cuadrados	F	Pr(>F)
NH4	1	0,01586	1,4751	0,206
SO4	1	0,03687	3,4279	0,021*
cNH3	1	0,03596	3,3434	0,033*
cH2S	1	0,03669	3,4116	0,025*
NO3	1	0,00473	0,4400	0,800
SOB	1	0,01329	1,2359	0,274
AOB	1	0,00743	0,6907	0,590
NOB	1	0,00895	0,8320	0,474
Residual	7	0,07528		

F.Anexo F: Análisis de redundancia basado en distancia (dbRDA) de la comunidad microbiana durante la evaluación de humedad

VARIABLES AMBIENTALES CONSIDERADAS: humedad, pH, concentración amonio (NH₄), concentración de sulfato (SO₄), concentración de nitrato (NO₃), concentración de entrada de H₂S (cH₂S), concentración de entrada de H₂S (cNH₃), abundancia de SOB y AOB.

Tabla 1. Evaluación de los factores de inflación de varianza (VIF) en el modelo con todas las variables.

Humedad	pH	NH ₄	SO ₄	NO ₃	cNH ₃	cH ₂ S	SOB	AOB
5,9957	4,3330	4,9219	2,0618	3,3803	13,1877	21,0247	4,9530	5,5516

Tabla 2. Evaluación de los factores de inflación de varianza (VIF) en el modelo reducido.

Humedad	cH ₂ S	cNH ₃	SO ₄
4,2893	7,6191	6,5477	2,4392

Tabla 3. Análisis permutacional de la varianza del modelo reducido. N° permutaciones: 999. El asterisco indica la significancia del modelo (p<0,05) para explicar las diferencias en la comunidad microbiana.

	Grados libertad	Suma cuadrados	F	Pr(>F)
Modelo	4	01241	5,4996	0,002*
Residuales	7	0,0395		

Tabla 4. Análisis permutacional de la varianza de cada término del modelo reducido. N° permutaciones: 999. El asterisco indica la significancia de cada variable ($p < 0,05$) para explicar las diferencias en la comunidad microbiana.

	Grados libertad	Suma cuadrados	F	Pr(>F)
Humedad	1	0,0576	10,2136	0,002*
cH2S	1	0,0478	8,4703	0,009*
cNH3	1	0,0062	1,1066	0,315
SO4	1	0,0125	2,2080	0,139
Residual	7	0,0395		

G. Anexo G: Análisis de la comunidad microbiana del cultivo enriquecido

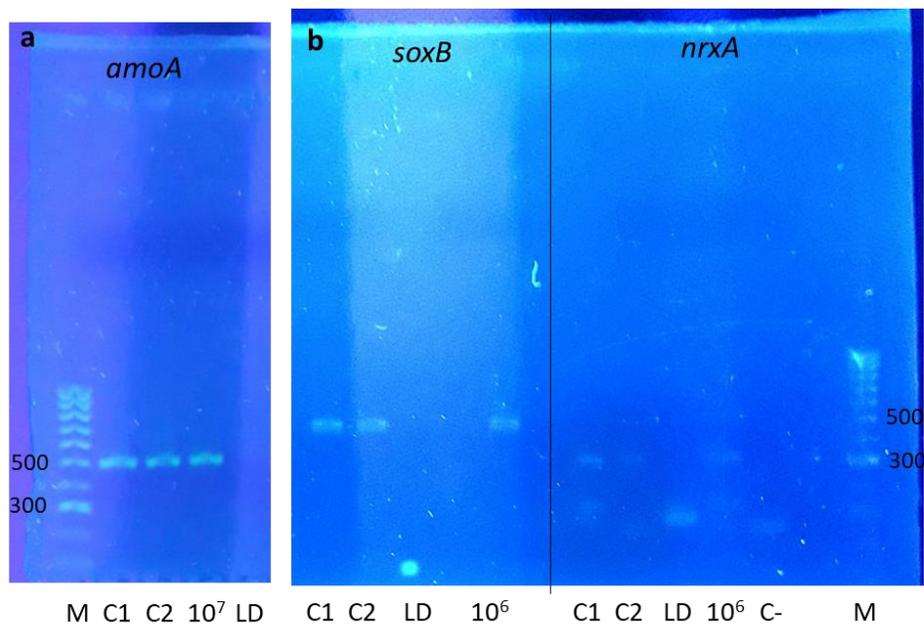


Figura 1. Gel de electroforesis de la amplificación de los genes a) *amoA* y b) *soxB* y *nrxA* y b) en las muestras de lodo digerido (LD) y cultivo enriquecido: C1, C2; 10⁶ y 10⁷ copias del respectivo gen (control positivo de reacción), Control negativo (C-).

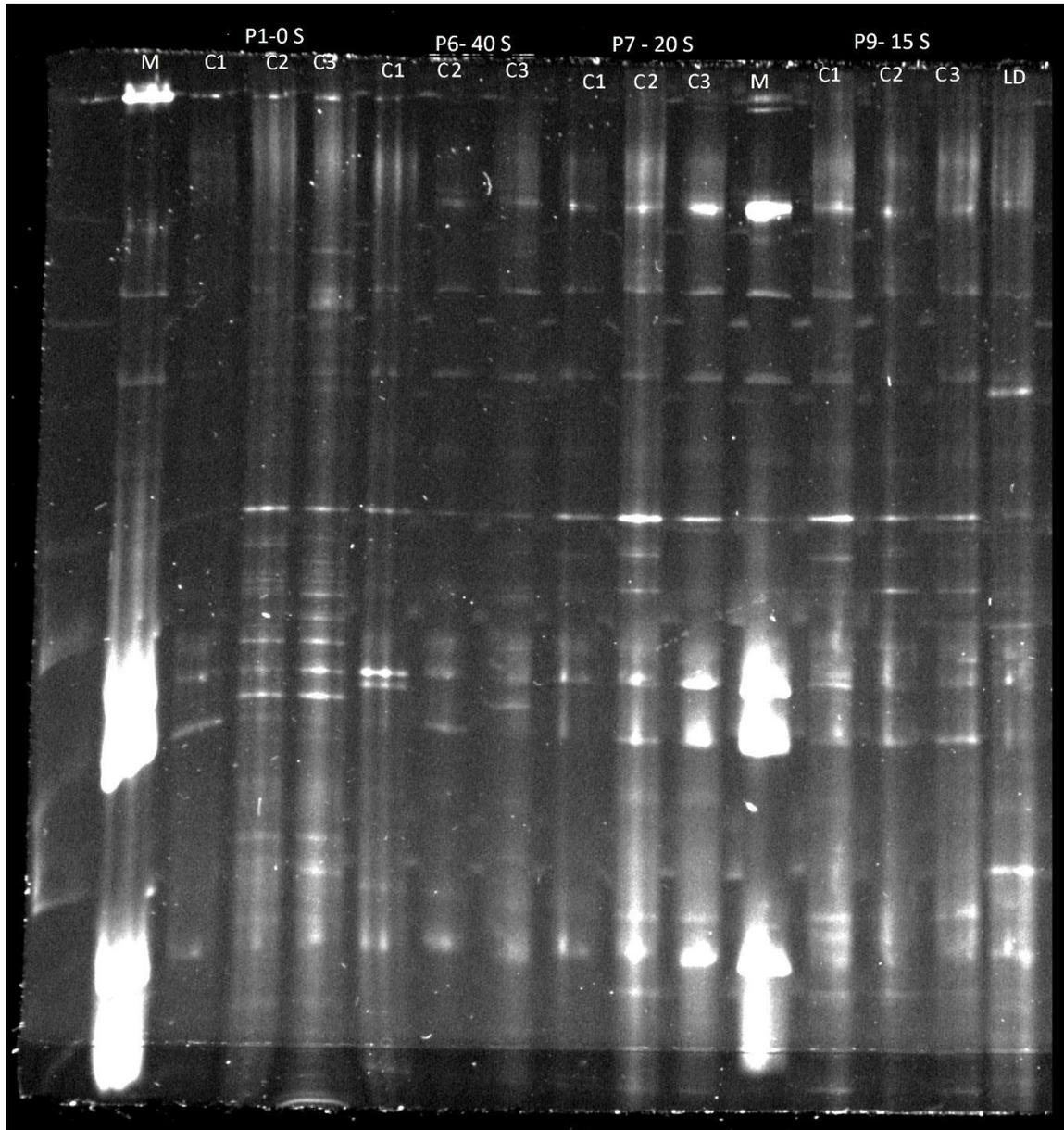


Figura 2. Gel de DGGE del gen ARNr 16S del enriquecimiento en bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre. en diferentes etapas del enriquecimiento (Pase 1-0S: Primer pase sin adición de sulfuro; P6-40S: sexto pase con adición de 40 mgS/mL; P7-70S: séptimo pase con adición de 20; P9-15S: noveno pase con adición de 15 mgS/mL) LD: muestra de lodo digerido; M: marcador molecular.

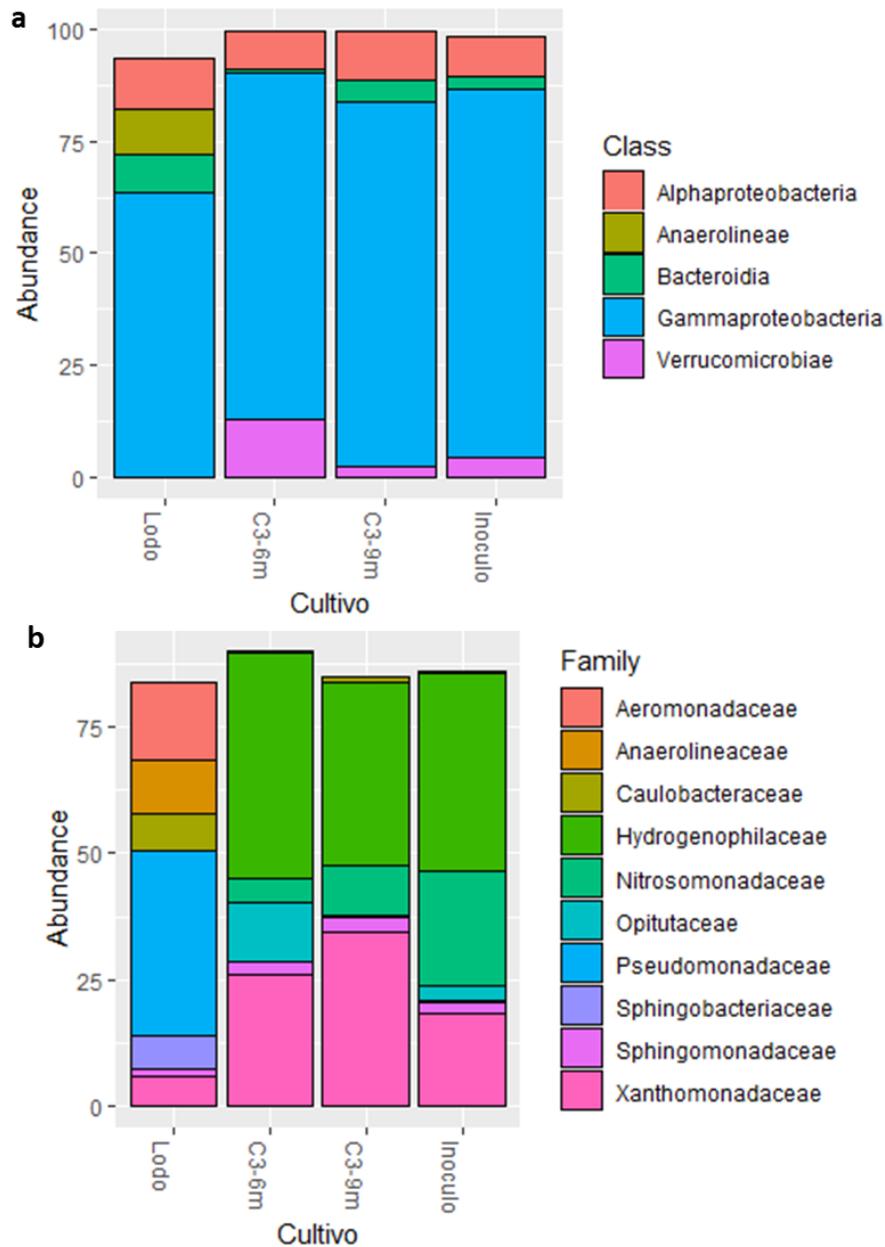


Figura 3. Abundancia relativa (%) de los ASVs a nivel de a) clase y b) familia presentes en el lodo digerido y en el cultivo enriquecido(C3) en diferentes etapas de cultivo (6m:6 meses, 9 m: 9 meses, Inoculo)

H. Anexo H: Montaje de los biofiltros inoculado y sin inocular



Figura 1. Inoculación del lecho de biofiltración

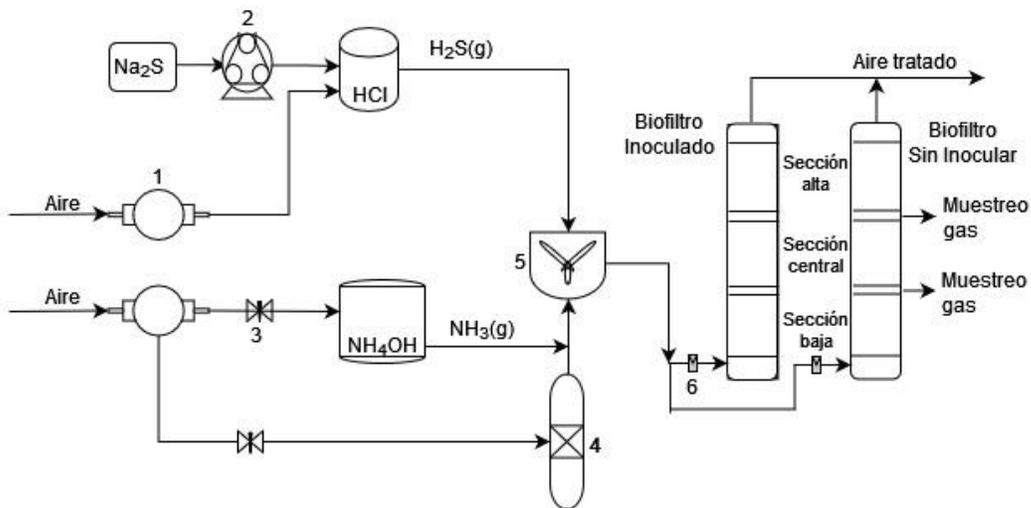


Figura 2. Esquema del sistema de biofiltración para el ensayo de inoculación. 1. Bomba de vacío; 2. Compresor de aire; 3. Válvula; 4. Humidificador; 5. Recipiente de mezcla de gases; 6. Rotámetro.



Figura 3. Lecho de compost al finalizar el ensayo. Se indica la presencia de precipitados blancos formados por la precipitación de sales (flecha blanca).

I. Anexo I: Bacterias identificadas en el biofiltro durante la biofiltración de H₂S y NH₃ bajo las condiciones de estudio

Tabla 1. Abundancia relativa promedio en el biofiltro de los ASV más abundantes durante la biofiltración de H₂S y NH₃ y las rutas relacionadas con el metabolismo del azufre y nitrógeno.

ASV	% Abundancia relativa en etapas				Características			Referencia
	Inicial	Fin test carga gases	Fin test humedad	Fin Test cambio conc	Metabolismo del azufre	Metabolismo del nitrógeno	Halotolerante o halófila?	
<i>Bacillus uncultured (virgibacillus sp.)</i>	10,46	5,65	6,45	21,46	Red Asim SO ₄	Red Dism NO ₃	si	Sánchez-Porro et al., 2014, NCBI tax id: 2841522
<i>Brevibacterium</i>	0,40	0,87	7,94	15,65	Red Asim SO ₄	Asim NH ₄	si	Forquin and Weimer, 2014
<i>Brachybacterium</i>	4,27	4,23	12,45	9,98	Oxid tiosulfato	Red Dism NO ₃ , Red Asim NO ₃ , Nitrif	si	KEGG ID: Bsau00910/bfa00910
<i>Virgibacillus</i>	4,80	2,52	3,13	5,13	Red Asim SO ₄	Red Dism NO ₃	si	Sánchez-Porro et al., 2014
<i>Truepera</i>	4,79	4,52	3,92	4,36	Red Asim SO ₄ y Oxid S	Asim NH ₄ , Red Dism NO ₃	No info	Xia et al., 2017
<i>Georgenia</i>	10,24	13,77	6,27	2,74	No info	Red Dism NO ₃ , Desnitrif, Nitrif	si	Ye et al., 2016, KEGG ID: gez00910
<i>Atopostipes</i>	6,44	2,95	3,32	2,46	No info	No info	No info	NA

ASV	% Abundancia relativa en etapas				Características			Referencia
	Inicial	Fin test carga gases	Fin test humedad	Fin Test cambio conc	Metabolismo del azufre	Metabolismo del nitrógeno	Halotolerante o halófila?	
<i>Enteractinococcus</i>	1,56	1,55	4,30	1,89	No info	Amonif, Asim NH ₄ , Nitrif	si	Chen et al., 2015
<i>Staphylococcus equorum</i>	0,53	1,91	16,01	1,57	Red Asim SO ₄	Red Dism NO ₃	si	KEGG ID: seqo0091, Jeong et al., 2017
Kiloniellales	4,94	4,02	1,90	1,55	No info	Desnitrif	si	Imhoff and Wiese, 2014
<i>Nocardiopsis</i>	1,00	1,07	1,00	1,08	Red Asim SO ₄	Red Dism NO ₃ , Nitrif	si	Bennur et al., 2015
<i>Paracoccus denitrificans</i>	0,00	2,05	0,51	0,19	Oxid S	Asim NH ₄ , Red Dism NO ₃	si	Friedrich et al., 2005; Nokhal and Schlegel, 1983
<i>Halomonas</i>	0,54	1,89	2,39	0,08	Oxid S	Desnitrif	si	Wang and Shao, 2021
<i>Pusillimonas</i>	1,95	3,87	1,03	0,17	Red Asim SO ₄	Nitrif, Desnitrif	No info	Zainudin et al., 2020, KEGG ID: put00920

* Red Asim SO₄: Reducción asimilativa de sulfato * Oxid S: Oxidación de sulfuro *Red Dism NO₃: Reducción disimilativa de nitrato *Desnitrif: desnitrificación *Nitrif: Nitrificación * Asim NH₄*Amonif: Amonificación *No info: Sin información *KEGG: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (Kanehisa Laboratories, 2019) * NCBI Tax: NCBI Taxonomy (Schoch et al., 2020).

Tabla 2. Condiciones para la amplificación por PCR de los genes de *nirK* (nitrito reductasa) y *nosZ* (óxido nitroso reductasa)

Gen	<i>nirK</i>	<i>nosZ</i>
Primer F, 5'→3'	GGMATGGTKCSTGGCA	nosZ-F: CGYTGTTTCMTGACAGCCAG T
Primer R, 5'→3'	GCCTCGATCAGRTRTGG	nosZ1622R: CGSACCTTSTTGCCSTYGCG
Concentración primers	0,5 µM	0,5 µM
Temperatura hibridación	58,5 °C	59 °C
Tamaño producto	515 pb	454 pb
Referencias	Braker et al., 1998	Kloos et al., 2001

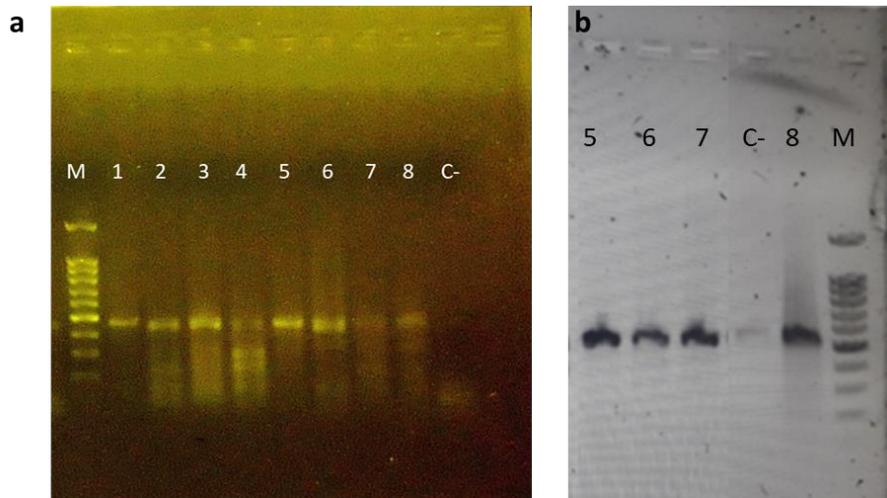


Figura 1. Gel de electroforesis de la amplificación de los genes a) *nirK* y b) *nosZ* en las muestras de 1) compost; 2) Inicio test carga de gases; 3) Fin test carga de gases (EBRT 18s- carga alta); 4) Humedad 20%; 5) Biofiltro sin inocular-inicio; 6) Biofiltro sin inocular-inicio; 7) Biofiltro sin inocular-temporada seca; 8) Biofiltro sin inocular- temporada seca; C-: control negativo

J. Anexo J Comparación de la comunidad microbiana durante la biofiltración de H₂S y NH₃ en condiciones transitorias de concentración de gases

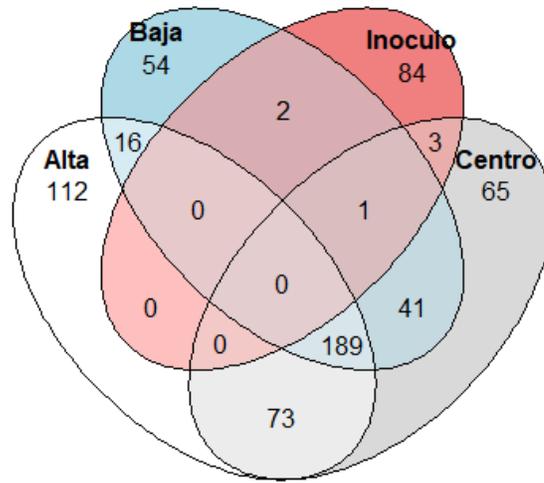


Figura 1. Diagrama de Venn de ASV compartidos por las secciones de los lechos del biofiltro inoculado (alta, centro y baja) y el inóculo, tras la etapa de temporada lluviosa. Se evaluaron ASV con una abundancia mínima de 0,0001%.

Tabla 1. Promedio de los índices de diversidad alfa Chao, Shannon y diversidad filogenética (PD) en cada sección durante la evaluación de la biofiltración de H₂S y NH₃ en condiciones transitorias de concentración de gases que simularon la temporada seca (TS), lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans) en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). El asterisco (*) indica que el valor es significativamente diferente de los demás (p<0,05).

Chao1	Sección			
Etapa	alta	centro	baja	promedio
Inicio	583,53	484,94	527,73	532,07±57,95
TL	563,44	588,55	434,61	528,87±88,72
Lav	551,04	490,89	494,51	512,15±70,45
Estab	589,60	446,77	461,17	499,18±78,10
Trans	500,65	492,06	457,19	483,30±62,60
TS	681,65	520,81	540,23	580,90±79,18
promedio	578,32±6,81*	504,00±54,86	485,91±72,00	
Shannon				
Etapa	alta	centro	baja	Promedio
Inicio	4,57	4,38	4,34	4,43±0,21
TL	4,39	4,31	3,54	4,08±0,44
Lav	4,43	3,74	3,81	3,99±0,47
Estab	4,57	3,43	3,46	3,82±0,61
Trans	4,29	3,69	3,48	3,82±0,50
TS	4,57	3,73	3,75	4,02±0,46
promedio	4,47±0,12*	3,88±0,44	3,73±0,43	
PD				
Etapa	alta	centro	baja	Promedio
Inicio	17,03	14,33	15,19	15,51±1,39
TL	15,86	17,22	13,02	15,37±2,22
Lav	15,43	13,91	14,15	14,50±1,32
Estab	16,56	14,81	12,87	14,75±1,88
Trans	15,43	14,98	13,10	14,50±2,00
TS	18,20	14,08	14,57	15,62±2,07
promedio	16,42±1,30*	14,89±1,49	13,82±1,54	

Tabla 2. Comparaciones múltiples de la comunidad microbiana entre secciones al finalizar las etapas de condiciones transitorias en la concentración de gases. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

	Bray-Curtis		Unifrac ponderado	
	Sección	Etapas	Sección	Etapas
Alta vs Centro	0,001*	0,001*	0,001*	0,010*
Alta vs Baja	0,001*	0,012*	0,001*	0,054
Centro vs Baja	0,034*	0,001*	0,003*	0,001*

Tabla 3. Valor p de la comparación múltiple por pares de la estructura microbiana del biofiltro inoculado y sin inocular (tratamiento) al finalizar las etapas de condiciones transitorias en la concentración de gases que simularon la temporada seca (TS), lluviosa (TL), transición entre temporadas (Trans) en una PTAR, y tras aplicar el lavado del lecho (Lav) y una etapa posterior de estabilización (Estab). La variable sección se usó como factor de bloqueo. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

	Bray-Curtis		Unifrac ponderado	
	Etapas	Tratamiento	Etapas	Tratamiento
Inicio vs TL	0,001*	0,366	0,003*	0,911
TL vs Lav	0,001*	0,647	0,082	0,753
Lav vs Estab	0,184	0,878	0,174	0,736
Estab vs Trans	0,428	0,790	0,523	0,822
Trans vs TS	0,042*	0,454	0,062	0,273

K. Anexo K: Análisis de redundancia basado en distancia (dbRDA) de la comunidad microbiana durante la biofiltración en condiciones transitorias de concentración de gases

VARIABLES AMBIENTALES CONSIDERADAS: pH, concentración amonio (NH_4), concentración de sulfato (SO_4), concentración de nitrato (NO_3), concentración de entrada de H_2S (cH_2S), concentración de entrada de H_2S (cNH_3).

Tabla 1. Evaluación de los factores de inflación de varianza (VIF) en el modelo con todas las variables.

pH	NH_4	SO_4	NO_3	cNH_3	cH_2S
5,19305	1,81339	1,23489	1,40987	5,26755	7,76547

Tabla 2. Análisis permutacional de la varianza del modelo reducido. N° permutaciones: 999. El asterisco indica la significancia del modelo ($p < 0,05$) para explicar las diferencias en la comunidad microbiana.

	Grados libertad	Suma cuadrados	F	Pr(>F)	R2
Modelo	6	0,1367	3,8807	0,001*	0,485
Residuales	25	0,1471			

Tabla 3. Análisis permutacional de la varianza de cada término del modelo reducido N° permutaciones: 999. El asterisco indica la significancia de cada variable ($p < 0,05$) para explicar las diferencias en la comunidad microbiana.

	Grados libertad	Suma cuadrados	F	Pr(>F)
cH₂S	1	0,03846	6,5365	0,003*
cNH₃	1	0,03143	5,3428	0,005*
pH	1	0,00577	0,9811	0,323
SO₄	1	0,00525	0,8931	0,401
NH₄	1	0,05210	8,8564	0,002 *
NO₃	1	0,00397	0,6744	0,545
Residual	25	0,1471		

Bibliografía

- Acinas, S.G., Marcelino, L.A., Klepac-Ceraj, V., Polz, M.F., 2004. Divergence and redundancy of 16S rRNA sequences in genomes with multiple rrn operons. *J. Bacteriol.* 186, 2629–2635.
<https://doi.org/10.1128/JB.186.9.2629-2635.2004>
- Air Clean System, 2010. ACS IOL 108 Informe de Resultados y Análisis del Monitoreo de Olores en la PTAR El Salitre”. Colombia.
- Aizpuru, A., Malhautier, L., Roux, J.C., Fanlo, J.L., 2001. Biofiltration of a mixture of volatile organic emissions. *J. Air Waste Manag. Assoc.* <https://doi.org/10.1080/10473289.2001.10464388>
- Alinezhad, E., Haghighi, M., Rahmani, F., Keshizadeh, H., Abdi, M., Naddafi, K., 2019. Technical and economic investigation of chemical scrubber and biofiltration in removal of H₂S and NH₃ from wastewater treatment plant. *J. Environ. Manage.* 241, 32–43.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.003>
- Allievi, M.J., Silveira, D.D., Cantão, M.E., Filho, P.B., 2018. Bacterial community diversity in a full scale biofilter treating wastewater odor. *Water Sci. Technol.* 77, 2014–2022.
<https://doi.org/10.2166/wst.2018.114>
- Alvarez Mancilla, A., Benítez Jiménez, J., Camargo Caicedo, Y., 2011. Biofiltración para la remoción de Sulfuro de Hidrógeno en la Estación de Bombeo Norte de Aguas Residuales. *INGE CUC* 7, 113–126.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* 26, 32–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>
- APHA, 2017. 2540 SOLIDS (2017). *Stand. Methods Exam. Water Wastewater.*
<https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.030>
- Arp, D.J., Stein, L.Y., 2003. Metabolism of Inorganic N Compounds by Ammonia-Oxidizing Bacteria. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 38, 471–495.
<https://doi.org/10.1080/10409230390267446>
- Attard, E., Poly, F., Commeaux, C., Laurent, F., Terada, A., Smets, B.F., Recous, S., Roux, X. Le,

2010. Shifts between Nitrospira- and Nitrobacter-like nitrite oxidizers underlie the response of soil potential nitrite oxidation to changes in tillage practices. *Environ. Microbiol.* 12, 315–326. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02070.x>
- Baena, S.J., Hernández, L., 2012. Análisis de la regulación colombiana en materia de olores ofensivos.
- Baker, S.C., Ferguson, S.J., Ludwig, B., Page, M.D., Richter, O.-M.H., van Spanning, R.J.M., 1998. Molecular genetics of the genus *Paracoccus*: metabolically versatile bacteria with bioenergetic flexibility. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 1046–1078. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.4.1046-1078.1998>
- Barbusinski, K., Kalemba, K., Kasperczyk, D., Urbaniec, K., Kozik, V., 2017. Biological methods for odor treatment – A review. *J. Clean. Prod.* <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.093>
- Barbusiński, K., Parzentna-Gabor, A., Kasperczyk, D., 2021. Removal of Odors (Mainly H₂S and NH₃) Using Biological Treatment Methods. *Clean Technol.* 3, 138–155. <https://doi.org/10.3390/cleantechnol3010009>
- Baskaran, V., Patil, P.K., Antony, M.L., Avunje, S., Nagaraju, V.T., Ghate, S.D., Nathamuni, S., Dineshkumar, N., Alavandi, S. V., Vijayan, K.K., 2020. Microbial community profiling of ammonia and nitrite oxidizing bacterial enrichments from brackishwater ecosystems for mitigating nitrogen species. *Sci. Rep.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62183-9>
- Bejarano Ortiz, D.I., Thalasso, F., Cuervo López, F. de M., Texier, A.C., 2013. Inhibitory effect of sulfide on the nitrifying respiratory process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 88, 1344–1349. <https://doi.org/10.1002/jctb.3982>
- Bennur, T., Kumar, A.R., Zinjarde, S., Javdekar, V., 2015. *Nocardiosis* species: Incidence, ecological roles and adaptations. *Microbiol. Res.* 174, 33–47. <https://doi.org/10.1016/j.MICRES.2015.03.010>
- Beristain-Cardoso, R., Gómez, J., Méndez-Pampín, R., 2010. The behavior of nitrifying sludge in presence of sulfur compounds using a floating biofilm reactor. *Bioresour. Technol.* 101, 8593–8598. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.084>
- Bernal, M.P., Albuquerque, J.A., Moral, R., 2009. Bioresource Technology Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment . A review. *Bioresour. Technol.* 100, 5444–5453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>
- Bernal, M.P., Sommer, S.G., Chadwick, D., Qing, C., Guoxue, L., Michel, F.C., 2017. Current

- Approaches and Future Trends in Compost Quality Criteria for Agronomic, Environmental, and Human Health Benefits. *Adv. Agron.* 144, 143–233.
<https://doi.org/10.1016/BS.AGRON.2017.03.002>
- Besaury, L., Marty, F., Buquet, S., Mesnage, V., Muyzer, G., Quillet, L., 2013. Culture-Dependent and Independent Studies of Microbial Diversity in Highly Copper-Contaminated Chilean Marine Sediments. *Microb. Ecol.* 65, 311–324. <https://doi.org/10.1007/S00248-012-0120-0/TABLES/4>
- Boden, R., 2017. Reclassification of *Halothiobacillus hydrothermalis* and *Halothiobacillus halophilus* to *Guyparkeria* gen. Nov. in the Thioalkalibacteraceae fam. nov., with emended descriptions of the genus *Halothiobacillus* and family Halothiobacillaceae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67, 3919–3928. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002222>
- Bollmann, A., French, E., Laanbroek, H.J., 2011. Chapter three - Isolation, Cultivation, and Characterization of Ammonia-Oxidizing Bacteria and Archaea Adapted to Low Ammonium Concentrations, in: Klotz, M.G. (Ed.), *Research on Nitrification and Related Processes, Part A, Methods in Enzymology*. Academic Press, pp. 55–88.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381294-0.00003-1>
- Bollmann, A., Laanbroek, H.J., 2001. Continuous culture enrichments of ammonia-oxidizing bacteria at low ammonium concentrations. *FEMS Microbiol. Ecol.* 37, 211–221.
[https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(01\)00163-5](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(01)00163-5)
- Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., Alm, E.J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J.E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C.J., Brown, C.T., Callahan, B.J., Caraballo-Rodríguez, A.M., Chase, J., Cope, E.K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P.C., Douglas, G.M., Durall, D.M., Duvallet, C., Edwardson, C.F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J.M., Gibbons, S.M., Gibson, D.L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G.A., Janssen, S., Jarmusch, A.K., Jiang, L., Kaehler, B.D., Kang, K. Bin, Keefe, C.R., Keim, P., Kelley, S.T., Knights, D., Koester, I., Kosciulek, T., Kreps, J., Langille, M.G.I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y.-X., Loftfield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B.D., McDonald, D., McIver, L.J., Melnik, A. V, Metcalf, J.L., Morgan, S.C., Morton, J.T., Naimey, A.T., Navas-Molina, J.A., Nothias, L.F., Orchanian, S.B., Pearson, T., Peoples, S.L., Petras, D., Preuss, M.L., Pruesse, E., Rasmussen, L.B., Rivers, A., Robeson, M.S., Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A.,

- Sinha, R., Song, S.J., Spear, J.R., Swafford, A.D., Thompson, L.R., Torres, P.J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P.J., Ul-Hasan, S., van der Hoof, J.J.J., Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K.C., Williamson, C.H.D., Willis, A.D., Xu, Z.Z., Zaneveld, J.R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R., Caporaso, J.G., 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* 37, 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Bouzalakos, S., Jefferson, B., Longhurst, P.J., Stuetz, R.M., 2004. Developing methods to evaluate odour control products. *Water Sci. Technol.* 50, 225–232.
- Braker, G., Fesefeldt, A., Witzel, K.P., 1998. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3769–3775. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.10.3769-3775.1998>
- Bueno, P., Tapias, R., López, F., Díaz, M.J., 2008. Optimizing composting parameters for nitrogen conservation in composting. *Bioresour. Technol.* 99, 5069–5077. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.087>
- Cabeza, I. O., López, R., Giraldez, I., Stuetz, R.M., Díaz, M.J., 2013. Biofiltration of α -pinene vapours using municipal solid waste (MSW) - Pruning residues (P) composts as packing materials. *Chem. Eng. J.* 233, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.08.032>
- Cabeza, I O, López, R., Ruiz-Montoya, M., Díaz, M.J., 2013. Maximising municipal solid waste - Legume trimming residue mixture degradation in composting by control parameters optimization. *J. Environ. Manage.* 128, 266–273. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.05.030>
- Cabrol, L., Malhautier, L., 2011. Integrating microbial ecology in bioprocess understanding: The case of gas biofiltration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 90, 837–849. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3191-9>
- Cabrol, L., Malhautier, L., Poly, F., Lepeuple, A.S., Fanlo, J.L., 2012. Bacterial dynamics in steady-state biofilters: Beyond functional stability. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79, 260–271. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01213.x>
- Cabrol, L., Poly, F., Malhautier, L., Pommier, T., Lerondelle, C., Verstraete, W., Lepeuple, A.S., Fanlo, J.L., Roux, X. Le, 2016. Management of Microbial Communities through Transient

- Disturbances Enhances the Functional Resilience of Nitrifying Gas-Biofilters to Future Disturbances. *Environ. Sci. Technol.* 50, 338–348. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02740>
- Cai, W., Zhao, M., Kong, J., Riggio, S., Finnigan, T., Stuckey, D., Guo, M., 2021. Linkage of community composition and function over short response time in anaerobic digestion systems with food fermentation wastewater. *iScience* 24, 102958. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102958>
- CEN, 2007. CEN - EN 13040 Soil improvers and growing media - Sample preparation for chemical and physical tests, determination of dry matter content, moisture content and laboratory compacted bulk density.
- Chen, L., Hoff, S.J., 2012. A two-stage wood chip-based biofilter system to mitigate odors from a deep-pit swine building. *Appl. Eng. Agric.* 28, 893–901.
- Chen, X., Li, G.D., Li, Q.Y., Hu, C.J., Qiu, S.M., Jiang, Y., Jiang, C.L., Han, L., Huang, X.S., 2015. *Enteractinococcus lamae* sp. nov. and *Enteractinococcus viverrae* sp. nov., isolated from animal faeces. *Antonie van Leeuwenhoek* 2015 1086 108, 1477–1483. <https://doi.org/10.1007/S10482-015-0603-3>
- Chien, S.H., Gearhart, M.M., Villagarcía, S., 2011. Comparison of ammonium sulfate with other nitrogen and sulfur fertilizers in increasing crop production and minimizing environmental impact: A review. *Soil Sci.* 176, 327–335. <https://doi.org/10.1097/SS.0B013E31821F0816>
- Chung, Y.-C., Huang, C., 1998. Biotreatment of ammonia in air by an immobilized *Nitrosomonas europaea* biofilter. *Environ. Prog.* 17, 70–76. <https://doi.org/10.1002/ep.670170211>
- Chung, Y.C., Ho, K.L., Tseng, C.P., 2007. Two-stage biofilter for effective NH₃ Removal from Waste Gases Containing High Concentrations of H₂S. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 57, 337–347. <https://doi.org/10.1080/10473289.2007.10465332>
- Chung, Y.C., Huang, C., Tseng, C.P., Rushing Pan, J., 2000. Biotreatment of H₂S- and NH₃-containing waste gases by co-immobilized cells biofilter. *Chemosphere* 41, 329–336. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00490-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00490-7)
- Costello, R.C., Sullivan, D.M., 2014. Determining the pH buffering capacity of compost via titration with dilute sulfuric acid. *Waste and Biomass Valorization* 5, 505–513. <https://doi.org/10.1007/s12649-013-9279-y>
- Dahl, C., Friedrich, C., Kletzin, A., 2008. Sulfur Oxidation in Prokaryotes. *eLS*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.A0021155>

- Daims, H., Lücker, S., Wagner, M., 2016. Review A New Perspective on Microbes Formerly Known as Nitrite-Oxidizing Bacteria. *Trends Microbiol.* 24, 699–712.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.004>
- Das, J., Rene, E.R., Dupont, C., Dufourny, A., Blin, J., van Hullebusch, E.D., 2019. Performance of a compost and biochar packed biofilter for gas-phase hydrogen sulfide removal. *Bioresour. Technol.* 273, 581–591. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.052>
- Das, S.K., Mishra, A.K., Tindall, B.J., Rainey, F.A., Stackebrandt, E., 1996. Oxidation of thiosulfate by a new bacterium, *Bosea thiooxidans* (strain BI-42) gen. nov., sp. nov.: Analysis of phylogeny based on chemotaxonomy and 16S ribosomal DNA sequencing. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 981–987. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-4-981>
- Datta, I., Allen, D.G., 2005. Biofilter technology, in: Shareefdeen, Z., Singh, A. (Eds.), *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 125–145.
https://doi.org/10.1007/3-540-27007-8_6
- de Gannes, V., Eudoxie, G., Hickey, W.J., 2013. Prokaryotic successions and diversity in composts as revealed by 454-pyrosequencing. *Bioresour. Technol.* 133, 573–580.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.138>
- Delgado Vela, J., Dick, G.J., Love, N.G., 2018. Sulfide inhibition of nitrite oxidation in activated sludge depends on microbial community composition. *Water Res.* 138, 241–249.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.047>
- Delhoméie, M.-C., Heitz, M., 2005. Biofiltration of air: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 25, 53–72.
<https://doi.org/10.1080/07388550590935814>
- Dorado, A.D., Lafuente, F.J., Gabriel, D., Gamisans, X., 2010. A comparative study based on physical characteristics of suitable packing materials in biofiltration. *Environ. Technol.* 31, 193–204. <https://doi.org/10.1080/09593330903426687>
- Du, W., Parker, W., 2012. Characterization of Sulfur in Raw and Anaerobically Digested Municipal Wastewater Treatment Sludges. *Water Environ. Res.* 85, 124–132.
<https://doi.org/10.2175/106143012x13407275694671>
- Duan, S., Zhang, Y., Zheng, S., 2021. Heterotrophic nitrifying bacteria in wastewater biological nitrogen removal systems: A review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 0, 1–37.
<https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1877976>
- EAAB, n.d. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales-PTAR Salitre [WWW Document]. URL

- http://www.acueducto.com.co/wpsv61/wps/portal/!ut/p/c5/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3gLw2DfYHMPiwN_cyMXA09HV1cLM2MTJ5MgE6B8pFm8s7ujh4m5j4GBv1GYgYGRn2IwoEFosLGBpzEB3eEg-_DrB8kb4ACOBvp-Hvm5qfoFuREGWSaOigAls6kp/dl3/d3/LOIDU0IKSWdra0EhIS9TIJBQUlpQ2dBek15cUEh (accessed 12.10.16).
- Elías, A., Barona, A., Gallastegi, G., Rojo, N., Gurtubay, L., Ibarra-Berastegi, G., 2010. Preliminary acclimation strategies for successful startup in conventional biofilters. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 60, 959–967. <https://doi.org/10.3155/1047-3289.60.8.959>
- EPA, U.S.E.P.A., 1996. Method 8260B: Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods | US EPA ARCHIVE DOCUMENT | Enhanced Reader [WWW Document].
- Erguder, T.H., Boon, N., Vlaeminck, S.E., Verstraete, W., 2008. Partial nitrification achieved by pulse sulfide doses in a sequential batch reactor. *Environ. Sci. Technol.* 42, 8715–8720. <https://doi.org/10.1021/es801391u>
- Escalas, A., Guadayol, J.M., Cortina, M., Rivera, J., Caixach, J., 2003. Time and space patterns of volatile organic compounds in a sewage treatment plant. *Water Res.* 37, 3913–3920. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00336-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00336-1)
- Estrada, J.M., Kraakman, N.J.R.B., Muñoz, R., Lebrero, R., 2011. A comparative analysis of odour treatment technologies in wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.* 45, 1100–1106. <https://doi.org/10.1021/es103478j>
- Finkmann, W., Altendorf, K., Stackebrandt, E., Lipski, A., 2000. Characterization of N₂O-producing Xanthomonas-like isolates from biofilters as *Stenotrophomonas nitritireducens* sp. nov., *Luteimonas mephitis* gen. nov., sp. nov. and *Pseudoxanthomonas broegbernensis* gen. nov., sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50, 273–282. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-1-273>
- Forero, D. F., Peña, C.E., Hernández, M.A., Cabeza, I.O., 2017. Biofiltración De Ácido Acético Usando Como Lecho Filtrante Compost A Partir De Pollinaza- Residuos De Poda- Cascarilla De Arroz. Universidad Santo Tomás.
- Forero, D.F., Acevedo, P., Cabeza, I.O., Peña, C., Hernandez, M., 2018. Biofiltration of acetic acid vapours using filtering bed compost from poultry manure - pruning residues - rice husks. *Chem. Eng. Trans.* 64, 511–516. <https://doi.org/10.3303/CET1864086>

- Forquin, M.P., Weimer, B.C., 2014. *Brevibacterium*. *Encycl. Food Microbiol.* Second Ed. 324–330.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00047-1>
- Franke-Whittle, I.H., Confalonieri, A., Insam, H., Schlegelmilch, M., Körner, I., 2014. Changes in the microbial communities during co-composting of digestates. *Waste Manag.* 34, 632–641.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.12.009>
- Friedrich, C.G., Bardischewsky, F., Rother, D., Quentmeier, A., Fischer, J., 2005. Prokaryotic sulfur oxidation. *Curr. Opin. Microbiol.* 8, 253–259.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.04.005>
- Gabriel, D., Maestre, J.P., Martín, L., Gamisans, X., Lafuente, J., 2007. Characterisation and performance of coconut fibre as packing material in the removal of ammonia in gas-phase biofilters. *Biosyst. Eng.* 97, 481–490. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.03.038>
- Geets, J., Boon, N., Verstraete, W., 2006. Strategies of aerobic ammonia-oxidizing bacteria for coping with nutrient and oxygen fluctuations. *FEMS Microbiol. Ecol.* 58, 1–13.
<https://doi.org/10.1111/J.1574-6941.2006.00170.X>
- González-Sánchez, A., Revah, S., Deshusses, M.A., 2008. Alkaline Biofiltration of H₂S Odors. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7398–7404. <https://doi.org/10.1021/es800437f>
- Guimerà, X., Dorado, A.D., Santos, A., Gamisans, X., Gabriel, D., 2015. Conversion of chemical scrubbers to biotrickling filters for VOCs and H₂S treatment at low contact times. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, 67–76. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5796-2>
- Hammerl, V., Kastl, E.-M., Schloter, M., Kublik, S., Schmidt, H., Welzl, G., Jentsch, A., Beierkuhnlein, C., Gschwendtner, S., 2019. Influence of rewetting on microbial communities involved in nitrification and denitrification in a grassland soil after a prolonged drought period. *Sci. Rep.* 9, 2280. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38147-5>
- Haug, R.T., 1993. *The Practical Handbook of Compost Engineering The Practical Handbook of Compost Engineering*. CRC Press.
- Hayes, J.E., Stevenson, R.J., Stuetz, R.M., 2014. The impact of malodour on communities: A review of assessment techniques. *Sci. Total Environ.* 500–501, 395–407.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2014.09.003>
- Ho, K.L., Chung, Y.C., Tseng, C.P., 2008. Continuous deodorization and bacterial community analysis of a biofilter treating nitrogen-containing gases from swine waste storage pits. *Bioresour. Technol.* 99, 2757–2765. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.041>

- Hort, C., Gracy, S., Platel, V., Moynault, L., 2013. A comparative study of two composts as filter media for the removal of gaseous reduced sulfur compounds (RSCs) by biofiltration: Application at industrial scale. *Waste Manag.* 33, 18–25.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.09.009>
- Hou, J., Li, M., Xia, T., Hao, Y., Ding, J., 2016. Simultaneous removal of ammonia and hydrogen sulfide gases using biofilter media from the biodehydration stage and curing stage of composting. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 20628–20636. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7238-4>
- Huang, S., Yu, D., Chen, G., Wang, Y., Tang, P., Liu, C., Tian, Y., Zhang, M., 2021. Realization of nitrite accumulation in a sulfide-driven autotrophic denitrification process: Simultaneous nitrate and sulfur removal. *Chemosphere* 278, 130413.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130413>
- Hvitved-Jacobsen, T., 2001. *Sewer Processes, Sewer Processes*. CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781420012668>
- Hwang, J.W., Jang, S.J., Lee, E.Y., Choi, C.Y., Park, S., 2007. Evaluation of composts as biofilter packing material for treatment of gaseous p-xylene. *Biochem. Eng. J.* 35, 142–149.
<https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2007.01.008>
- ICONTEC, Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificaciones, 2011. NTC 5167-Productos para la industria agrícola.Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo.
- IDEAM, 2012. Estado de la Calidad del Aire en Colombia 2007-2010.
- Illumina, 2013. 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation. Part #15044223 [WWW Document]. Illumina.com. URL
https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf (accessed 8.7.22).
- Imhoff, J.F., Wiese, J., 2014. The Order Kiloniellales, in: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (Eds.), *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 301–306.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_301
- Iranpour, R., Cox, H.H.J., Deshusses, M.A., Schroeder, E.D., 2005. Literature review of air pollution control biofilters and biotrickling filters for odor and volatile organic compound removal.

- Environ. Prog. 24, 254–267. <https://doi.org/10.1002/ep.10077>
- Jeong, D.W., Heo, S., Ryu, S., Blom, J., Lee, J.H., 2017. Genomic insights into the virulence and salt tolerance of *Staphylococcus equorum*. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/S41598-017-05918-5>
- Jiang, G., Melder, D., Keller, J., Yuan, Z., 2017. Odor emissions from domestic wastewater: A review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 47, 1581–1611. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1386952>
- Jiang, X., Luo, Y., Yan, R., Tay, J.H., 2009a. Impact of substrates acclimation strategy on simultaneous biodegradation of hydrogen sulfide and ammonia. *Bioresour. Technol.* 100, 5707–5713. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.055>
- Jiang, X., Tay, J.H., 2010. Microbial community structures in a horizontal biotrickling filter degrading H₂S and NH₃. *Bioresour. Technol.* 101, 1635–1641. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.074>
- Jiang, X., Yan, R., Hwa, J., 2009b. Simultaneous autotrophic biodegradation of H₂S and NH₃ in a biotrickling filter. *Chemosphere* 75, 1350–1355. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.028>
- Kanehisa Laboratories, 2019. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [WWW Document]. URL <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html> (accessed 10.10.19).
- Kanehisa, M., Sato, Y., Kawashima, M., Furumichi, M., Tanabe, M., 2016. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Res.* 44, D457–D462. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1070>
- Kembel, S.W., Cowan, P.D., Helmus, M.R., Cornwell, W.K., Morlon, H., Ackerly, D.D., Blomberg, S.P., Webb, C.O., 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics* 26, 1463–1464. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq166>
- Kennes, C., Rene, E.R., Veiga, M.C., 2009. Bioprocesses for air pollution control. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84, 1419–1436. <https://doi.org/10.1002/jctb.2216>
- Khan, F.I., Kr. Ghoshal, A., 2000. Removal of Volatile Organic Compounds from polluted air. *J. Loss Prev. Process Ind.* 13, 527–545. [https://doi.org/10.1016/S0950-4230\(00\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S0950-4230(00)00007-3)
- Kim, H.S., Kim, Y.J., Chung, J.S., Xie, Q., 2002. Long-term operation of a biofilter for simultaneous removal of H₂S and NH₃. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 52, 1389–1398. <https://doi.org/10.1080/10473289.2002.10470871>

- Kim, I.S., Ivanov, V.N., 2000. Detection of nitrifying bacteria in activated sludge by fluorescent in situ hybridization and fluorescence spectrometry. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16, 425–430. <https://doi.org/10.1023/A:1008949821236>
- Kim, K.K., Lee, J.-S., Stevens, D.A., 2013. Microbiology and epidemiology of *Halomonas* species. *Future Microbiol.* 8, 1559–1573. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.108>
- Kim, N.J., Hirai, M., Shoda, M., 2000. Comparison of organic and inorganic packing materials in the removal of ammonia gas in biofilters. *J. Hazard. Mater.* 72, 77–90. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(99\)00160-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(99)00160-0)
- Kitamura, R., Ishii, K., Maeda, I., Kozaki, T., Iwabuchi, K., Saito, T., 2016. Evaluation of bacterial communities by bacteriome analysis targeting 16S rRNA genes and quantitative analysis of ammonia monooxygenase gene in different types of compost. *J. Biosci. Bioeng.* 121, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.05.005>
- Kleinheinz, G.T., Langolf, B.M., 2016. A long-term study of a lava rock-based biofilter for hydrogen sulfide, ammonia and volatile organic compounds (VOCs) treatment at a wastewater treatment facility. *Nat. Environ. Pollut. Technol.* 15, 1279–1284.
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Kloos, K., Mergel, A., Rösch, C., Bothe, H., 2001. Denitrification within the genus *Azospirillum* and other associative bacteria. *Funct. Plant Biol.* 28, 991–998. <https://doi.org/10.1071/PP01071>
- Kogan, V., Torres, E.M., 1997. Ammonia Emissions from Publicly Owned Treatment Works (POTWs), in: Air & Waste Management Association's 90th-Annual Meeting and Exhibition. Toronto.
- Kouba, V., Proksova, E., Wiesinger, H., Vejmelkova, D., Bartacek, J., 2017. Good servant, bad master: sulfide influence on partial nitrification of sewage. *Water Sci. Technol.* 76, 3258–3268. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.490>
- Krishnani, K.K., Kathiravan, V., Natarajan, M., Kailasam, M., Pillai, S.M., 2010. Diversity of Sulfur-Oxidizing Bacteria in Greenwater System of Coastal Aquaculture. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 162, 1225–1237. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8886-3>
- Kristiansen, A., Lindholst, S., Feilberg, A., Nielsen, P.H., Neufeld, J.D., Nielsen, J.L., 2011. Butyric

- acid- and dimethyl disulfide-assimilating microorganisms in a biofilter treating air emissions from a livestock facility. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 8595–8604.
<https://doi.org/10.1128/AEM.06175-11>
- Kuypers, M.M.M., Marchant, H.K., Kartal, B., 2018. MICROBIAL BIOGEOCHEMISTRY The microbial nitrogen-cycling network. *Nat. Publ. Gr.* 16, 263–276.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- Lasaridi, K., Katsabanis, G., Kyriacou, A., Maggos, T., Manios, T., Fountoulakis, M., Kalogerakis, N., Karageorgos, P., Stentiford, E.I., 2010. Assessing odour nuisance from wastewater treatment and composting facilities in Greece. *Waste Manag. Res.* 28, 977–984.
<https://doi.org/10.1177/0734242X10372660>
- Lawson, P.A., 2019. Tissierella, in: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–12.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00721.pub2>
- Le Borgne, S., Baquerizo, G., 2019. Microbial ecology of biofiltration units used for the desulfurization of biogas. *ChemEngineering* 3, 1–26.
<https://doi.org/10.3390/chemengineering3030072>
- Lebrero, R., Bouchy, L., Stuetz, R., Muñoz, R., 2011. Odor Assessment and Management in Wastewater Treatment Plants: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 41, 915–950.
<https://doi.org/10.1080/10643380903300000>
- Lee, C.J.D., McMullan, P.E., O'Kane, C.J., Stevenson, A., Santos, I.C., Roy, C., Ghosh, W., Mancinelli, R.L., Mormile, M.R., McMullan, G., Banciu, H.L., Fares, M.A., Benison, K.C., Oren, A., Dyll-Smith, M.L., Hallsworth, J.E., 2018. NaCl-saturated brines are thermodynamically moderate, rather than extreme, microbial habitats. *FEMS Microbiol. Rev.* 42, 672–693.
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuy026>
- Legendre, P., Anderson, M.J., 1999. Distance-Based Redundancy Analysis: Testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecol. Monogr.* 69, 1–24.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1890/0012-9615\(1999\)069\[0001:DBRATM\]2.0.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1890/0012-9615(1999)069[0001:DBRATM]2.0.CO;2)
- Legendre, P., Gallagher, E.D., 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129, 271–280. <https://doi.org/10.1007/s004420100716>
- Lewkowska, P., Cieslik, B., Dymerski, T., Konieczka, P., Namiesnik, J., 2016. Characteristics of odors emitted from municipal wastewater treatment plant and methods for their identification

- and deodorization techniques. *Environ. Res.* 151, 573–586.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.08.030>
- Li, L., Zhang, J., Lin, J., Liu, J., 2015. Biological technologies for the removal of sulfur containing compounds from waste streams: bioreactors and microbial characteristics. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 31, 1501–1515. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1915-1>
- Li, W., Ni, J., Cai, S., Liu, Y., Shen, C., Yang, H., Chen, Y., Tao, J., Yu, Y., Liu, Q., 2019. Variations in microbial community structure and functional gene expression in bio-treatment processes with odorous pollutants. *Sci. Reports* 2019 9, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54281-0>
- Li, Y., Ma, J., Yong, X., Luo, L., Wong, J.W.C., Zhang, Y., Wu, H., Zhou, J., 2022. Effect of biochar combined with a biotrickling filter on deodorization, nitrogen retention, and microbial community succession during chicken manure composting. *Bioresour. Technol.* 343, 126137. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.126137>
- Liu, H., Luo, G.-Q., Hu, H.-Y., Zhang, Q., Yang, J.-K., Yao, H., 2012. Emission characteristics of nitrogen- and sulfur-containing odorous compounds during different sewage sludge chemical conditioning processes. *J. Hazard. Mater.* 235–236, 298–306.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.060>
- Liu, J., Yang, K., Li, L., Zhang, J., 2017. A full-scale integrated-bioreactor with two zones treating odours from sludge thickening tank and dewatering house: performance and microbial characteristics. *Front. Environ. Sci. Eng.* 11, 6. <https://doi.org/10.1007/s11783-017-0932-8>
- Liu, T., Dong, H., Zhu, Z., Shang, B., Yin, F., Zhang, W., Zhou, T., 2017. Effects of biofilter media depth and moisture content on removal of gases from a swine barn. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 67, 1288–1297. <https://doi.org/10.1080/10962247.2017.1321591>
- López, R., Cabeza, I.O., Giráldez, I., Díaz, M.J., 2011. Biofiltration of composting gases using different municipal solid waste-pruning residue composts: Monitoring by using an electronic nose. *Bioresour. Technol.* 102, 7984–7993. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.085>
- Lozupone, C., Knight, R., 2005. UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 8228. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>
- Luo, X., Meng, F., 2020. Roles of Organic Matter-Induced Heterotrophic Bacteria in Nitritation Reactors: Ammonium Removal and Bacterial Interactions. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 8, 3976–

3985. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c00241>
- MADS, 2013. Resolución 1541 de 2013 (12 de noviembre). Colombia.
- Maeda, K., Hanajima, D., Toyoda, S., Yoshida, N., Morioka, R., Osada, T., 2011. Microbiology of nitrogen cycle in animal manure compost. *Microb. Biotechnol.* 4, 700–709.
<https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00236.x>
- Maestre, F.T., Delgado-Baquerizo, M., Jeffries, T.C., Eldridge, D.J., Ochoa, V., Gozalo, B., Quero, J.L., García-Gómez, M., Gallardo, A., Ulrich, W., Bowker, M.A., Arredondo, T., Barraza-Zepeda, C., Bran, D., Florentino, A., Gaitán, J., Gutiérrez, J.R., Huber-Sannwald, E., Jankju, M., Mau, R.L., Miriti, M., Naseri, K., Ospina, A., Stavi, I., Wang, D., Woods, N.N., Yuan, X., Zaady, E., Singh, B.K., 2015. Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 15684–15689.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1516684112>
- Maia, G.D.N., Day V, G.B., Gates, R.S., Taraba, J.L., 2012. Ammonia biofiltration and nitrous oxide generation during the start-up of gas-phase compost biofilters. *Atmos. Environ.* 46, 659–664. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.10.019>
- 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.
[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00395-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00395-8)
- Marrugan, A., 2004. *Measuring Biological Diversity*. Wiley-Blackwell.
- Martinez, A.P., 2020. pairwiseAdonis: Pairwise multilevel comparison using adonis.
- MAVDT- Ministerio del Medio Ambiente, V. y, 2010. Resolución número 610 (24 de marzo de 2010). Colombia. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00395-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00395-8)
- MAVDT. Ministerio de Ambiente, V. y D.T., 2006. Resolución 601 de 04 de abril de 2006.
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* 8, e61217.
- MinSalud, M. de S. y P.S., OPS, O.P. de la S., 2012. Convenio Cooperación Técnica N° 485/10. Lineamiento para la vigilancia sanitaria y ambiental del impacto de los olores ofensivos en la salud y calidad de vida de las comunidades expuestas en áreas urbanas. Colombia.
- Montebello, A.M., Bezerra, T., Rovira, R., Rago, L., Lafuente, J., Gamisans, X., Campoy, S., Baeza, M., Gabriel, D., 2013. Operational aspects, pH transition and microbial shifts of a H₂S desulfurizing biotrickling filter with random packing material. *Chemosphere* 93, 2675–2682.

- <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2013.08.052>
- Mora, Z.A., Chávez, C.H., Fonseca, G., Cabra, J. a, Salgado, C., 2005. Desarrollo de un inóculo microbiano empleando lodos activados para la remoción de ácido sulfhídrico (H₂S). Rev. Colomb. Biotecnol. VII, 26–34.
- Morgan-Sagastume, J.M., Noyola, A., 2006. Hydrogen sulfide removal by compost biofiltration: Effect of mixing the filter media on operational factors. Bioresour. Technol. 97, 1546–1553. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2005.06.003>
- Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen—Inorganic Forms, in: Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods, SSSA Book Series SV - 5.3. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 1123–1184. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c38>
- Muñoz, R., Malhautier, L., Fanlo, J.-L., Quijano, G., 2015. Biological technologies for the treatment of atmospheric pollutants. Int. J. Environ. Anal. Chem. 95, 950–967. <https://doi.org/10.1080/03067319.2015.1055471>
- Nicolai, R.E., Janni, K.A., 2001. Biofilter media mixture ratio of wood chips and compost treating swine odors. Water Sci. Technol. 44, 261–267. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0554>
- Nikolaou, A.D., Golfinopoulos, S.K., Kostopoulou, M.N., Kolokythas, G.A., Lekkas, T.D., 2002. Determination of volatile organic compounds in surface waters and treated wastewater in Greece. Water Res. 36, 2883–2890. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00497-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00497-3)
- NIST National Institute of Standards and Technology, 2022. NIST Standard Reference Database Number 69 [WWW Document]. NIST Chem. Webb. <https://doi.org/10.18434/T4D303>
- Nokhal, T.H., Schlegel, H.G., 1983. Taxonomic study of Paracoccus denitrificans. Int. J. Syst. Bacteriol. 33, 26–37. <https://doi.org/10.1099/00207713-33-1-26/CITE/REFWORKS>
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O’Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2020. vegan.
- Oliveira, L.C.G., Ramos, P.L., Marem, A., Kondo, M.Y., Rocha, R.C.S., Bertolini, T., Silveira, M.A.V., Cruz, J.B. da, Vasconcellos, S.P. de, Juliano, L., Okamoto, D.N., 2015. Halotolerant bacteria in the São Paulo Zoo composting process and their hydrolases and bioproducts. Brazilian J. Microbiol. 46, 347–354. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246220130316>
- Omorieg, A.I., Ong, D.E.L., Nissom, P.M., 2019. Assessing ureolytic bacteria with calcifying abilities isolated from limestone caves for biocalcification. Lett. Appl. Microbiol. 68, 173–

181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/lam.13103>
- Omri, I., Aouidi, F., Bouallagui, H., Godon, J., Hamdi, M., 2013. Performance study of biofilter developed to treat H₂S from wastewater odor. *Saudi J. Biol. Sci.* 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.01.005>
- Ouattara, A.S., Assih, E.A., Thierry, S., Cayol, J.L., Labat, M., Monroy, O., Macarie, H., 2003. *Bosea minatitlanensis* sp. nov., a strictly aerobic bacterium isolated from an anaerobic digester. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 1247–1251. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.02540-0/CITE/REFWORKS>
- Ovreås, L., Forney, L., Daae, F.L., Torsvik, V., 1997. Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3367–3373. <https://doi.org/10.1128/aem.63.9.3367-3373.1997>
- Pagans, E., Barrena, R., Font, X., Sánchez, A., 2006. Ammonia emissions from the composting of different organic wastes. Dependency on process temperature. *Chemosphere* 62, 1534–1542. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.044>
- Pandey, S.K., Kim, K.H., Kwon, E.E., Kim, Y.H., 2016. Hazardous and odorous pollutants released from sewer manholes and stormwater catch basins in urban areas. *Environ. Res.* 146, 235–244. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2015.12.033>
- Park, S., Bae, W., 2009. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. *Process Biochem.* 44, 631–640. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.02.002>
- Parkes, R.J., Sass, H., 2009. Deep Sub-Surface. *En cycl. Microbiol.* 64–79. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00275-3>
- Parthasarathy, S., Azam, S., Lakshman Sagar, A., Narasimha Rao, V., Gudla, R., Parapatla, H., Yakkala, H., Ghanta Vemuri, S., Siddavattam, D., 2017. Genome-Guided Insights Reveal Organophosphate-Degrading *Brevundimonas diminuta* as *Sphingopyxis wildii* and Define Its Versatile Metabolic Capabilities and Environmental Adaptations. *Genome Biol. Evol.* 9, 77–81. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw275>
- Perman, E., Schnürer, A., Björn, A., Moestedt, J., 2022. Serial anaerobic digestion improves protein degradation and biogas production from mixed food waste. *Biomass and Bioenergy* 161, 106478. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2022.106478>

- Pokorna, D., Zabranska, J., 2015. Sulfur-oxidizing Bacteria in Environmental Technology. *Biotechnol. Adv.* 33, 1246–1259. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.007>
- Portilla, E., Sáez, R.T., 2007. Hydrogen sulphide removal by a biofiltration system in the wastewater treatment plant of the city of Bucaramanga in Colombia. *J. Biotechnol.* 131, S158–S159. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.07.880>
- Prado, Ó.J., Gabriel, D., Lafuente, J., 2009. Economical assessment of the design, construction and operation of open-bed biofilters for waste gas treatment. *J. Environ. Manage.* 90, 2515–2523. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2009.01.022>
- Prenafeta-Boldú, F.X., Rojo, N., Gallastegui, G., Guivernau, M., Viñas, M., Elías, A., 2014. Role of *Thiobacillus thioparus* in the biodegradation of carbon disulfide in a biofilter packed with a recycled organic pelletized material. *Biodegradation* 25, 557–568. <https://doi.org/10.1007/s10532-014-9681-6>
- Prinn, R.G., Weiss, R.F., Arduini, J., Arnold, T., Langley Dewitt, H., Fraser, P.J., Ganesan, A.L., Gasore, J., Harth, C.M., Hermansen, O., Kim, J., Krummel, P.B., Li, S., Loh, Z.M., Lunder, C.R., Maione, M., Manning, A.J., Miller, B.R., Mitrevski, B., Mühle, J., O’Doherty, S., Park, S., Reimann, S., Rigby, M., Saito, T., Salameh, P.K., Schmidt, R., Simmonds, P.G., Paul Steele, L., Vollmer, M.K., Wang, R.H., Yao, B., Yokouchi, Y., Young, D., Zhou, L., 2018. History of chemically and radiatively important atmospheric gases from the Advanced Global Atmospheric Gases Experiment (AGAGE). *Earth Syst. Sci. Data* 10, 985–1018. <https://doi.org/10.5194/ESSD-10-985-2018>
- Qi, B., Moe, W., Kinney, K., 2005. Treatment of Paint Spray Booth Off-Gases in a Fungal Biofilter. *J. Environ. Eng.* 131, 180–189. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2005\)131:2\(180\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2005)131:2(180))
- Qiu, X., Deshusses, M.A., 2017. Performance of a monolith biotrickling filter treating high concentrations of H₂S from mimic biogas and elemental sulfur plugging control using pigging. *Chemosphere* 186, 790–797. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.032>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Quintero, R., Hernández del Toro, C., 2017. Sistema Para El Control De Olores En La Central Hidroeléctrica El Paraiso.
- Rabbani, K.A., Charles, W., Kayaalp, A., Cord-ruwisch, R., Ho, G., 2016. Pilot-scale biofilter for the

- simultaneous removal of hydrogen sulphide and ammonia at a wastewater treatment plant. *Biochem. Eng. J.* 107, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.11.018>
- Ralebitso-Senior, T.K., Senior, E., Di Felice, R., Jarvis, K., 2012. Waste gas biofiltration: Advances and limitations of current approaches in microbiology. *Environ. Sci. Technol.* 46, 8542–8573. <https://doi.org/10.1021/es203906c>
- Ramette, A., 2007. Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62, 142–160. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00375.x>
- Ravina, M., Panepinto, D., Mejia Estrada, J., De Giorgio, L., Salizzoni, P., Chiara Zanetti, M., Meucci, L., 2019. Characterization of odorous emissions from a civil wastewater treatment plant in Italy. *WIT Trans. Ecol. Environ.* 236, 159–170. <https://doi.org/10.2495/AIR190161>
- Ren, B., Zhao, Y., Lyczko, N., Nzihou, A., 2019. Current Status and Outlook of Odor Removal Technologies in Wastewater Treatment Plant. *Waste and Biomass Valorization* 10, 1443–1458. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0384-9>
- Rene, E.R., Kennes, C., Veiga, M.C., 2013. Biofilters, in: Kennes, C., Veiga, M.C. (Eds.), *Air Pollution Prevention and Control: Bioreactors and Bioenergy*. John Wiley & Sons, Ltd., pp. 60–72.
- Rene, E.R., Mohammad, B.T., Veiga, M.C., Kennes, C., 2012. Biodegradation of BTEX in a fungal biofilter: Influence of operational parameters, effect of shock-loads and substrate stratification. *Bioresour. Technol.* 116, 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.006>
- Revah, S., Morgan-Sagastume, J., 2005a. Methods of Odor and VOC Control, in: Shareefdeen, Z., Singh, A. (Eds.), *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control SE - 3*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 29–63. https://doi.org/10.1007/3-540-27007-8_3
- Revah, S., Morgan-Sagastume, J.M., 2005b. Methods of odor and VOC control, in: *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*. pp. 29–63. https://doi.org/10.1007/3-540-27007-8_3
- Reyes, J., Toledo, M., Michán, C., Siles, J.A., Alhama, J., Martín, M.A., 2020. Biofiltration of butyric acid: Monitoring odor abatement and microbial communities. *Environ. Res.* 190. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110057>
- Rotthauwe, J., Witzel, K., 1997. 1997 The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker Molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations.pdf 63, 4704–4712.
- Rueda Saa, G.H., 2001. Capacidad de eliminación de H₂S en un biofiltro empacado con mezcla de

- suelo carbonilla y ceniza volcánica. Universidad del Valle.
- Sánchez-Porro, C., De La Haba, R.R., Ventosa, A., 2014. The genus *virgibacillus*. The Prokaryotes: Firmicutes and Tenericutes 9783642301209, 455–465. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30120-9_353/COVER
- Sapek, A., 2013. Ammonia Emissions from Non-Agricultural Sources. Polish J. Environ. Stud. 22, 63–70.
- Schoch, C.L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C.L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J.P., Sun, L., Turner, S., Karsch-Mizrachi, I., 2020. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database 2020. <https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062>
- Secretaría del Medio Ambiente. Observatorio de Salud Ambiental, 2016. Quejas atendidas por exposición a olores ofensivos [WWW Document]. URL <http://biblioteca.saludcapital.gov.co/ambiental/index.shtml?s=l&id=327&v=l>
- Secretaría Distrital de Salud. Observatorio de Salud de Bogotá-SaluData, 2021. Quejas atendidas en Bogotá D.C. | SALUDATA [WWW Document]. URL <https://saludata.saludcapital.gov.co/osb/index.php/datos-de-salud/salud-ambiental/quejas/> (accessed 10.5.22).
- Sévin, D.C., Stählin, J.N., Pollak, G.R., Kuehne, A., Sauer, U., 2016. Global Metabolic Responses to Salt Stress in Fifteen Species. PLoS One 11, e0148888. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0148888>
- Shareefdeen, Z., 2020. Industrial biofilter case studies, From Biofiltration to Promising Options in Gaseous Fluxes Biotreatment. INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819064-7.00009-1>
- Siebielec, S., Siebielec, G., Klimkiewicz-Pawlas, A., Gałązka, A., Grządziel, J., Stuczyński, T., 2020. Impact of Water Stress on Microbial Community and Activity in Sandy and Loamy Soils. Agron. . <https://doi.org/10.3390/agronomy10091429>
- Singh, A., Ward, O., 2005. Microbiology of bioreactors for waste gas treatment. Biotechnol. Odor Air Pollut. Control 101–121. https://doi.org/10.1007/3-540-27007-8_5/COVER
- Sivret, E.C., Le-Minh, N., Wang, B., Wang, X., Stuetz, R.M., 2017. Dynamics of Volatile Sulfur Compounds and Volatile Organic Compounds in Sewer Headspace Air. J. Environ. Eng. 143, 04016080. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001154](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001154)
- Sivret, E.C., Wang, B., Parcsi, G., Stuetz, R.M., 2016. Prioritisation of odorants emitted from

- sewers using odour activity values. *Water Res.* 88, 308–321.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.10.020>
- Smet, E., Van Langenhove, H., 1998. Abatement of volatile organic sulfur compounds in odorous emissions from the bio-industry. *Biodegradation* 9, 273–284.
<https://doi.org/10.1023/a:1008281609966>
- Sorokin, D.Y., Kuenen, J.G., 2005. Haloalkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria in soda lakes. *FEMS Microbiol. Rev.* 29. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.10.005>
- Speick, E., Bock, E., 2015. The Lithoautotrophic Nitrite-Oxidizing Bacteria, in: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–10.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118960608.bm00014>
- Speick, E., Lipski, A., 2011. Chapter five - Cultivation, Growth Physiology, and Chemotaxonomy of Nitrite-Oxidizing Bacteria, in: Klotz, M.G. (Ed.), *Research on Nitrification and Related Processes, Part A, Methods in Enzymology*. Academic Press, pp. 109–130.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381294-0.00005-5>
- Speick, E., Wegen, S., Keuter, S., 2021. Relevance of Candidatus Nitrotoga for nitrite oxidation in technical nitrogen removal systems. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 105, 7123–7139.
<https://doi.org/10.1007/s00253-021-11487-5>
- Steele, J.A., Ozis, F., Fuhrman, J.A., Devinny, J.S., 2005. Structure of microbial communities in ethanol biofilters. *Chem. Eng. J.* 113, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2005.04.011>
- Sutachan Cuevas, C.A., Moreno Ocampo, J.H., 2012. Optimización sistema de control de olores en la central hidroeléctrica El Paraíso. Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería. Especialización en Gestión Energética y Ambiental.
- Szukics, U., Abell, G.C.J., Hödl, V., Mitter, B., Sessitsch, A., Hackl, E., Zechmeister-Boltenstern, S., 2010. Nitrifiers and denitrifiers respond rapidly to changed moisture and increasing temperature in a pristine forest soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 72, 395–406.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00853.x>
- Talaiekhosani, A., Bagheri, M., Goli, A., Talaei Khoozani, M.R., 2016. An overview of principles of odor production, emission, and control methods in wastewater collection and treatment systems. *J. Environ. Manage.* 170, 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.01.021>
- Tang, S.-K., Wang, Y., Lee, J.-C., Lou, K., Park, D.-J., Kim, C.-J., Li, W.-J., 2010. *Georgenia halophila* sp. nov., a halophilic actinobacterium isolated from a salt lake. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*

- 60, 1317–1421. <https://doi.org/10.1099/ijcs.0.014993-0>
- Thanakiatkrai, P., Welch, L., 2012. Using the Taguchi method for rapid quantitative PCR optimization with SYBR Green I 161–165. <https://doi.org/10.1007/s00414-011-0558-5>
- Tian, W., Chen, X., Zhou, P., Fu, X., Zhao, H., 2020. Removal of H₂S by vermicompost biofilter and analysis on bacterial community. *Open Chem.* 18, 720–731. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0131>
- Tourna, M., Maclean, P., Condron, L., O’Callaghan, M., Wakelin, S.A., 2014. Links between sulphur oxidation and sulphur-oxidising bacteria abundance and diversity in soil microcosms based on soxB functional gene analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 538–549. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12323>
- Trujillo, M.E., Dedysh, S., P., D., Hedlund, B., Kämpfer, P., Rainey, F.A., Whitman, W.B. (Eds.), 2015. Sporosarcina, in: *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00563>
- Tsang, Y.F., Wang, L., Chua, H., 2015. Simultaneous hydrogen sulphide and ammonia removal in a biotrickling filter: Crossed inhibitory effects among selected pollutants and microbial community change. *Chem. Eng. J.* 281, 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.06.107>
- Tu, X., Li, J., Feng, R., Sun, G., Guo, J., 2016. Comparison of removal behavior of two biotrickling filters under transient condition and effect of pH on the bacterial communities. *PLoS One* 11, 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155593>
- Van Horn, D.J., Okie, J.G., Buelow, H.N., Gooseff, M.N., Barrett, J.E., Takacs-Vesbach, C.D., 2014. Soil Microbial Responses to Increased Moisture and Organic Resources along a Salinity Gradient in a Polar Desert. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 3034–3043. <https://doi.org/10.1128/AEM.03414-13>
- Vergara-Fernández, A., Hernández, S., Revah, S., 2011. Elimination of hydrophobic volatile organic compounds in fungal biofilters: Reducing start-up time using different carbon sources. *Biotechnol. Bioeng.* 108, 758–765. <https://doi.org/10.1002/bit.23003>
- Vikrant, K., Kumar, S., Tsang, D.C.W., Soo, S., Kumar, P., Shekhar, B., Sharan, R., Kim, K., 2018. Biofiltration of hydrogen sulphide: Trends and challenges 187. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.188>
- Wang, K., Li, W., Li, X., Ren, N., 2015. Spatial nitrifications of microbial processes during composting of swine, cow and chicken manure. *Sci. Rep.* 5, 1–8.

<https://doi.org/10.1038/srep14932>

- Wang, L., Shao, Z., 2021. Aerobic Denitrification and Heterotrophic Sulfur Oxidation in the Genus *Halomonas* Revealed by Six Novel Species Characterizations and Genome-Based Analysis. *Front. Microbiol.* 12, 390. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.652766>
- Wright, W.F., Schroeder, E.D., Chang, D.P., 2005. Transient Response of Flow-Direction-Switching Vapor-Phase Biofilters. *J. Environ. Eng.* 131, 999–1009. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2005\)131:7\(999\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2005)131:7(999))
- Xi, B.D., He, X.S., Wei, Z.M., Jiang, Y.H., Li, M.X., Li, D., Li, Y., Dang, Q.L., 2012. Effect of inoculation methods on the composting efficiency of municipal solid wastes. *Chemosphere* 88, 744–750. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2012.04.032>
- Xia, Y., Lü, C., Hou, N., Xin, Y., Liu, J., Liu, H., Xun, L., 2017. Sulfide production and oxidation by heterotrophic bacteria under aerobic conditions. *ISME J.* 11, 2754–2766. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.125>
- Xie, B., Liang, S.B., Tang, Y., Mi, W.X., Xu, Y., 2009. Petrochemical wastewater odor treatment by biofiltration. *Bioresour. Technol.* 100, 2204–2209. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.035>
- Yang, L., Kent, A.D., Wang, X., Funk, T.L., Gates, R.S., Zhang, Y., 2014a. Moisture effects on gas-phase biofilter ammonia removal efficiency, nitrous oxide generation, and microbial communities. *J. Hazard. Mater.* 271, 292–301. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.01.058>
- Yang, L., Wang, X., Funk, T.L., 2014b. Strong influence of medium pH condition on gas-phase biofilter ammonia removal, nitrous oxide generation and microbial communities. *Bioresour. Technol.* 152, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.116>
- Yang, X.P., Wang, S.M., Zhang, D.W., Zhou, L.X., 2011. Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying–denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1. *Bioresour. Technol.* 102, 854–862. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2010.09.007>
- Yasuda, T., Waki, M., Fukumoto, Y., Hanajima, D., Kuroda, K., Suzuki, K., Matsumoto, T., Uenishi, H., 2017. Community structure of denitrifying and total bacteria during nitrogen accumulation in an ammonia-loaded biofilter. *J. Appl. Microbiol.* 123, 1498–1511. <https://doi.org/10.1111/jam.13603>
- Ye, J., Zhang, R., Nielsen, S., Joseph, S.D., Huang, D., Thomas, T., 2016. A Combination of Biochar–

- Mineral Complexes and Compost Improves Soil Bacterial Processes, Soil Quality, and Plant Properties. *Front. Microbiol.* 7, 372. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00372>
- Yeung, M., Saingam, P., Xu, Y., Xi, J., 2021. Low-dosage ozonation in gas-phase biofilter promotes community diversity and robustness. *Microbiome* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00944-4>
- Ying, S., Kong, X., Cai, Z., Man, Z., Xin, Y., Liu, D., 2020. Interactions and microbial variations in a biotrickling filter treating low concentrations of hydrogen sulfide and ammonia. *Chemosphere* 255. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126931>
- Yuan, J., Du, L., Li, S., Yang, F., Zhang, Z., Li, G., Wang, G., 2019. Use of mature compost as filter media and the effect of packing depth on hydrogen sulfide removal from composting exhaust gases by biofiltration. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 3762–3770. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3795-z>
- Zainudin, M.H., Mustapha, N.A., Maeda, T., Ramli, N., Sakai, K., Hassan, M., 2020. Biochar enhanced the nitrifying and denitrifying bacterial communities during the composting of poultry manure and rice straw. *Waste Manag.* 106, 240–249. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2020.03.029>
- Zainudin, M.H.M., Zulkarnain, A., Azmi, A.S., Muniandy, S., Sakai, K., Shirai, Y., Hassan, M.A., 2022. Enhancement of Agro-Industrial Waste Composting Process via the Microbial Inoculation: A Brief Review. *Agronomy* 12. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010198>
- Zamir, S.M., Halladj, R., Nasernejad, B., 2011. Removal of toluene vapors using a fungal biofilter under intermittent loading. *Process Saf. Environ. Prot.* 89, 8–14. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2010.10.001>
- Zarra, T., Naddeo, V., Belgiorno, V., Reiser, M., Kranert, M., 2008. Odour monitoring of small wastewater treatment plant located in sensitive environment. *Water Sci. Technol.* 58, 89–94. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.330>
- Zhang, J., Li, L., Liu, J., 2017. Effects of irrigation and water content of packing materials on a thermophilic biofilter for SO₂ removal: Performance, oxygen distribution and microbial population. *Biochem. Eng. J.* 118, 105–112. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2016.11.015>
- Zheng, T., Li, L., Chai, F., Wang, Y., 2021. Factors impacting the performance and microbial populations of three biofilters for co-treatment of H₂S and NH₃ in a domestic waste landfill site. *Process Saf. Environ. Prot.* 149, 410–421. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.11.009>

Zhilina, T.N., Garnova, E.S., Tourova, T.P., Kostrikina, N.A., Zavarzin, G.A., 2001. *Amphibacillus fermentum* sp. nov. and *Amphibacillus tropicus* sp. nov., New Alkaliphilic, Facultatively Anaerobic, Saccharolytic Bacilli from Lake Magadi. *Microbiology* 70, 711–722.

<https://doi.org/10.1023/A:1013196017556>

Zhu, X., Suidan, M.T., Pruden, A., Yang, C., Alonso, C., Kim, B.J., Kim, B.R., 2004. Effect of substrate Henry's constant on biofilter performance. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 54, 409–418.

<https://doi.org/10.1080/10473289.2004.10470918>