

Uso de bacterias purpura no sulfurosas en la remoción sulfuro de hidrógeno para la limpieza del biogás producido por digestión anaerobia

Sergio Cisneros-de la Cueva ^{1,*}, Cecilia Lizeth Álvarez Guzmán ², Francisco Javier Zavala Diaz de la Serna ¹, Rosario Peralta Perez ¹

¹ Laboratorio de biodigestión anaerobia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Chihuahua, México

² Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, Querétaro, México

* Autor de correspondencia: sdelacueva@uach.mx; Tel.: +526142847644

Desarrollo Sustentable (Bioprocesos)

Recibido: 14 de junio de 2025

Aceptado: 7 de agosto de 2025

Publicado: 26 de enero de 2026

DOI: <https://doi.org/10.56845/terys.v5i1.542>

Resumen: El sulfuro de hidrógeno generado durante la producción de biogás es un gas altamente corrosivo que puede dañar los equipos y, en casos graves, representar riesgos para la salud humana, por lo que su eliminación es esencial para el uso seguro del biogás. En este estudio, se utilizaron biorreactores a escala de laboratorio para evaluar la capacidad de eliminación de sulfuro de hidrógeno de las bacterias púrpuras no sulfurosas (PNSB). En cada reactor se suministraron 594.26 mg/L de sulfuro de hidrógeno durante 648 horas, logrando una reducción de hasta el 67.81 ± 0.84 % en condiciones de pH de 7.2 ± 0.02 y un potencial redox de 320.25 ± 3.74 mV. Los hallazgos de este estudio sugieren que las PNSB, debido a su alta eficiencia de eliminación de sulfuro de hidrógeno, pueden emplearse en procesos de biodesulfuración como una alternativa eficaz para la limpieza de biogás.

Palabras clave: biodesulfuración, bacteria purpura no azufrada, sulfato, sulfuro de hidrógeno

Use of non-sulfur purple bacteria in the removal of hydrogen sulfide for the cleaning of biogas produced by anaerobic digestion

Abstract: Hydrogen sulfide generated during biogas production is a highly corrosive gas that can damage equipment and, in severe cases, pose health risks to humans, making its removal essential for safe biogas use. In this study, laboratory-scale bioreactors were used to evaluate the hydrogen sulfide removal capacity of purple non-sulfur bacteria (PNSB). Each reactor was supplied with 594.26 mg/L of hydrogen sulfide over 648 hours, achieving up to a 67.81 ± 0.84 % reduction under conditions of pH of 7.2 ± 0.02 and a redox potential of 320.25 ± 3.74 mV. The findings of this study suggest that PNSB due to their high hydrogen sulfide removal efficiency can be employed in biodesulfurization processes as an effective alternative for biogas cleaning.

Keywords: biodesulfurization, non-sulfur purple bacteria, sulfate, hydrogen sulfide

Introducción

El sulfuro de hidrógeno es un gas tóxico corrosivo que se produce a partir de la degradación anaerobia de compuestos orgánicos durante la producción doméstica e industrial del biogás (Dada *et al.*, 2025). En los biodigestores las bacterias sulfato reductoras son las principales responsables de la producción de sulfuro de hidrógeno (Sarti y Zaiat 2011). El sulfuro de hidrógeno se caracteriza por ocasionar corrosión en acero y hormigón, afectando seriamente equipo e infraestructura de las instalaciones. Una exposición prolongada en concentraciones cercanas a 5 ppm de sulfuro de hidrógeno puede llegar a causar daño ocular, y afectar las vías respiratorias (Sarti y Zaiat 2011). El sulfuro de hidrógeno se puede eliminar haciendo uso tanto de procesos fisicoquímicos como biológicos (Pudi *et al.*, 2022). Algunos de los métodos fisicoquímicos convencionales son la adsorción y precipitación con sustancias alcalinas. Ambos procesos se caracterizan por ser rápidos y efectivos, sin embargo, su consumo de energía es elevado y generan residuos contaminantes (Krayzelova, 2014).

Los métodos que incluyen tecnologías biológicas como la biodesulfuración se basan principalmente en el uso de microorganismos capaces de crecer en compuestos inorgánicos de azufre reducido como el sulfuro de hidrógeno los cuales pueden superar los inconvenientes de consumo de energía y generación de desechos ambientales (Pudi *et al.*, 2022). En el mecanismo de biodesulfuración, los microorganismos utilizan sulfuro de hidrógeno como un donante de electrones que es llevado a través de una serie de reacciones de oxidación para la producción de sulfato o azufre acorde

al metabolismo llevado por la bacteria. Las PNSB son microorganismos que poseen enzimas oxidativas que les otorga la capacidad metabólica de crecer foto-autotróficamente, utilizando diferentes compuestos reducidos de azufre, como el sulfuro de hidrógeno para la fijación de dióxido de carbono haciendo que este grupo de microorganismos sean buenos candidatos en los procesos de biodesulfuración (Tec-Campos *et al.*, 2023; Phuc *et al.*, 2024).

Ha sido reportado que algunos géneros de PNSB tienen la capacidad de oxidar sulfuro de hidrógeno, sin embargo, poco se ha investigado con respecto al metabolismo oxidativo del azufre y su potencial en la remoción de sulfuro de hidrógeno presente en el biogás. El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de una PNSB en la remoción de sulfuro de hidrógeno para ser utilizada como alternativa en los procesos de limpieza del biogás.

Materiales y Métodos

Aislamiento y crecimiento de PNSB

Las PNSB fue aislada de una laguna de aguas residuales en Gómez Palacio Durango, México. Para el aislamiento de la PNSB, muestras de agua de la laguna fueron tomadas en recipientes estériles para ser almacenados a 4°C para su posterior uso en el laboratorio. Para la reactivación y crecimiento de PNSB, se tomaron 0.1 mL de la muestra de agua y se depositaron en cajas Petri con medio de agar nutritivo. Las cajas fueron depositadas en una jarra de anaerobiosis transparente colocada en una incubadora por 168 h que mantenía condiciones a 35°C y una emisión de 1500 lux con lámparas de tungsteno. Para la selección, la PNSB fue inoculada en botellas de plástico que contenían 250 mL de medio líquido mineral modificado descrito por van Gemerden y Beeftink (1978) con la siguiente composición en g/L: 0.31 de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0.25 de NH_4Cl , 2 de NaHCO_3 , 0.2 de CaCl_2 , 0.6 de K_2HPO_4 , 0.5 de KH_2PO_4 , 0.2 de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 10 mL de una solución de elementos traza de Pfennig y Lippert, (1966) ajustado el pH a 7.0. Los frascos se colocaron en una incubadora con agitación a 150 rpm a 35°C. Después del periodo de incubación se tomó una muestra de los frascos para caracterizar la morfología microscópica de la PNSB utilizando un microscopio óptico de la marca Olympus.



Figura 1. Sitio de muestreo de la laguna de aguas residuales en Gómez Palacio Durango, México para el aislamiento y crecimiento de PNSB

Montaje experimental

Para las pruebas de biodesulfuración en modo semicontinuo, se utilizaron botellas de plástico de 3L con un volumen de trabajo de 1.5 L. Cada botella contenía medio mineral modificado descrito por van Gemerden y Beeftink (1978) que de su composición antes mencionada únicamente se no adiciono $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Las botellas fueron inoculadas al 20% v/v con PNSB, únicamente el control no fue inoculado. Cada 24 horas partir de las 0 h hasta 648 h se estuvo adicionando biogás con un flujo de 2 mL/min por una hora, así mismo tiempo al final de cada suministro se determinó la concentración de sulfuro de hidrógeno que quedaba en el medio mineral (Tabla 1). Durante todo el periodo experimental las botellas se dejaron en una incubadora a 35°C con agitación a 150 rpm y una intensidad de luz de 1500 lux (Figura 2). Todos los experimentos fueron realizados por duplicado

Métodos analíticos

La determinación de concentración de sulfuro de hidrógeno fue de acuerdo al ensayo de azul de metileno (4500-S2-D, APHA *et al.*, 1995).

El pH se determinó utilizando un pH metro de la marca HANNA Instrument con un electrodo HI 1131B. El potencial oxidoreductor (ORP) se determinó utilizando pH metro marca HANNA con un electrodo de platino y semicelda de referencia Ag/AgCl.

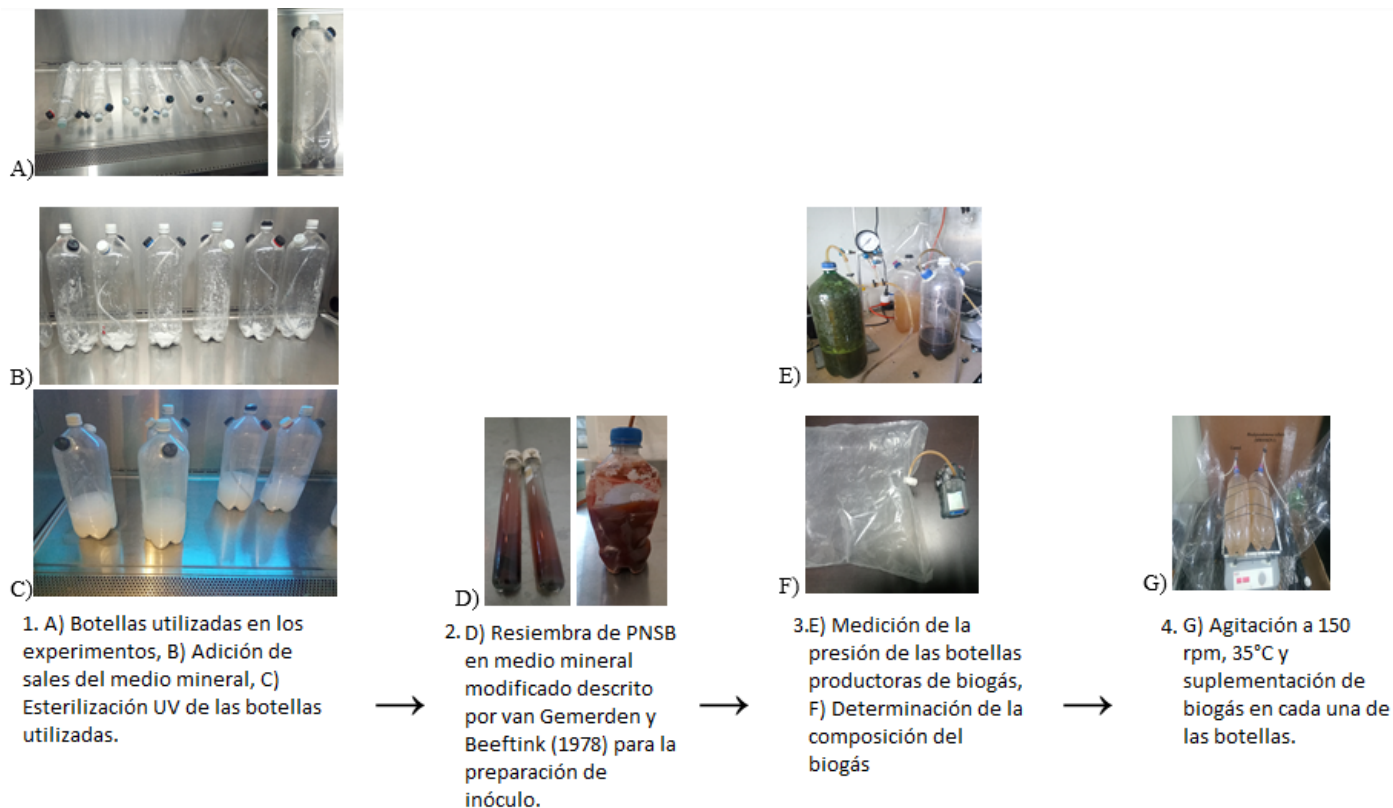


Figura 2. Etapas del montaje experimental para evaluar el potencial de biodesulfuración de PNSB

Resultados y Discusión

Caracterización microbiológica de PNSB

En este estudio se logró cultivar PNSB de una laguna de aguas residuales (Figura 1) que presentaba un color rojo intenso con un fuerte olor a huevo podrido. Se ha reportado que PNSB pertenecientes al grupo de microorganismos fotosintéticos anoxigénicos se encuentran preferentemente en ambientes microaeróbicos-anaeróbicos expuestos a la luz solar y deficientes en oxígeno (Dhar *et al.*, 2023). La PNSB aislada caracterizada mostro colonias de coloración rojo intenso después de 168 horas de cultivo resultó ser una bacteria móvil en el que las células presentaban forma de bastón (Figura 3A,3B). En general las PNSB son células móviles que se caracterizan por presentar un color marrón rojizo tener forma de bastón de 0.8 a 1.2 mm de ancho y 2.0 a 6.0 mm de largo (Venkata *et al.*, 2012).

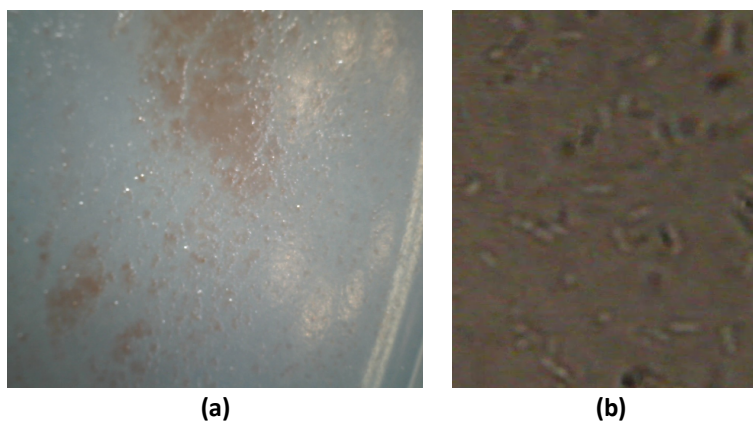


Figura 3. a) Morfología colonial de PNSB en una placa Petri con agar nutritivo y b) Frotis en fresco visualizado utilizando el objetivo microscópico de inmersión 100X del microscopio óptico

Consumo de sulfuro de hidrógeno por PNSB

El comportamiento cinético de consumo de sulfuro de hidrógeno se muestran los gráficos de la figura 4A. De acuerdo al comportamiento cinético, durante las primeras 48 horas se obtuvieron valores de remoción de 8.37 ± 0.21 mg/L, mientras que partir de las 72 horas hasta 504 horas se muestra claramente una fase exponencial de remoción, obteniéndose valores de remoción de sulfuro de hidrógeno de 381.72 ± 3.94 mg/L. Sin embargo, a partir de las 528 horas se observa un declive en la curva, presentándose un comportamiento asintótico para obtener valores finales de remoción de 403 ± 5.01 mg/L correspondiente al 67.79 ± 0.74 %. En los experimentos abióticos el sulfuro de hidrógeno se incrementó en vez de disminuir, ya que se muestra que hubo una acumulación (Tabla 1). Esto nos indica que la remoción de sulfuro de hidrógeno obtenida en los experimentos se debió únicamente al efecto de la asimilación metabólica de PNSB y no a factores abióticos.

Tabla 1. Valores de concentración de sulfuro de hidrógeno obtenidos a partir de experimentos abióticos y con PNSB durante las 648 h

Tiempo (Horas)	Abiótico	PNSB	
	Concentración de sulfuro de hidrógeno (mg/L) añadido al medio en el medio	Remoción de sulfuro de hidrógeno (%)	Consumo acumulado de sulfuro de hidrógeno (mg/L)
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
24	15.60±0.52	15.98±0.61	2.49±0.09
48	34.42±1.51	18.44±0.91	8.38±0.21
72	61.60±1.92	27.12±4.74	22.81±2.68
96	91.63±2.17	31.21±7.03	44.38±3.00
120	117.97±2.49	34.45±3.14	69.78±0.35
144	139.87±3.44	54.30±4.47	107.85±2.98
168	165.18±3.54	82.79±3.60	155.36±1.55
192	185.38±3.88	91.78±3.02	182.89±1.03
216	198.06±4.02	93.30±2.50	197.03±0.45
240	218.50±4.12	91.11±1.39	216.58±0.34
264	243.63±4.35	80.55±0.55	238.37±0.22
288	265.04±4.47	67.53±0.08	256.38±0.09
312	294.39±4.79	66.86±0.36	281.79±0.11
336	322.62±5.75	55.29±0.87	304.36±0.40
360	349.62±4.99	44.75±0.89	324.61±0.63
384	373.33±4.37	33.91±0.84	341.13±0.82
408	385.15±4.08	18.61±0.69	349.32±0.97
432	393.74±3.57	12.56±0.34	354.90±0.70
456	408.76±3.22	13.32±4.08	362.06±2.80
480	428.74±2.28	10.88±1.91	369.29±3.77
504	450.55±2.33	11.80±0.88	378.86±4.04
528	477.06±2.36	11.60±0.73	390.24±4.29
552	502.01±2.46	5.24±0.64	396.08±4.78
576	522.03±2.31	2.38±0.39	399.07±5.16
600	546.82±2.50	0.62±0.16	400.00±4.88
624	570.14±3.27	0.33±0.20	400.57±4.52
648	591.36±4.10	0.17±0.07	400.90±4.39

Los experimentos mostraron que PNSB tiene una alta tolerancia al sulfuro de hidrógeno (Figura 4A), sin embargo, atribuimos que la sobre carga continua de sulfuro de hidrógeno contribuyo a la inhibición de la asimilación de sulfuro de hidrógeno por PNSB. Se ha reportado que el sulfuro de hidrógeno provoca daño celular inhibiendo las actividades

enzimáticas antioxidantes de la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión reductasa, así como también induce a una peroxidación lipídica y daño en el ADN (Fu *et al.*, 2018). En otros estudios también se ha reportado que una sobrecarga en el reactor con sulfuro de hidrógeno puede llevar a una sobre reducción del grupo de quinonas lo lleva a una disminución en el transporte de electrones a través del fotosistema y por tanto una disminución en la producción de ATP causando efectos negativos en el crecimiento de las bacterias (Schütz *et al.*, 1999).

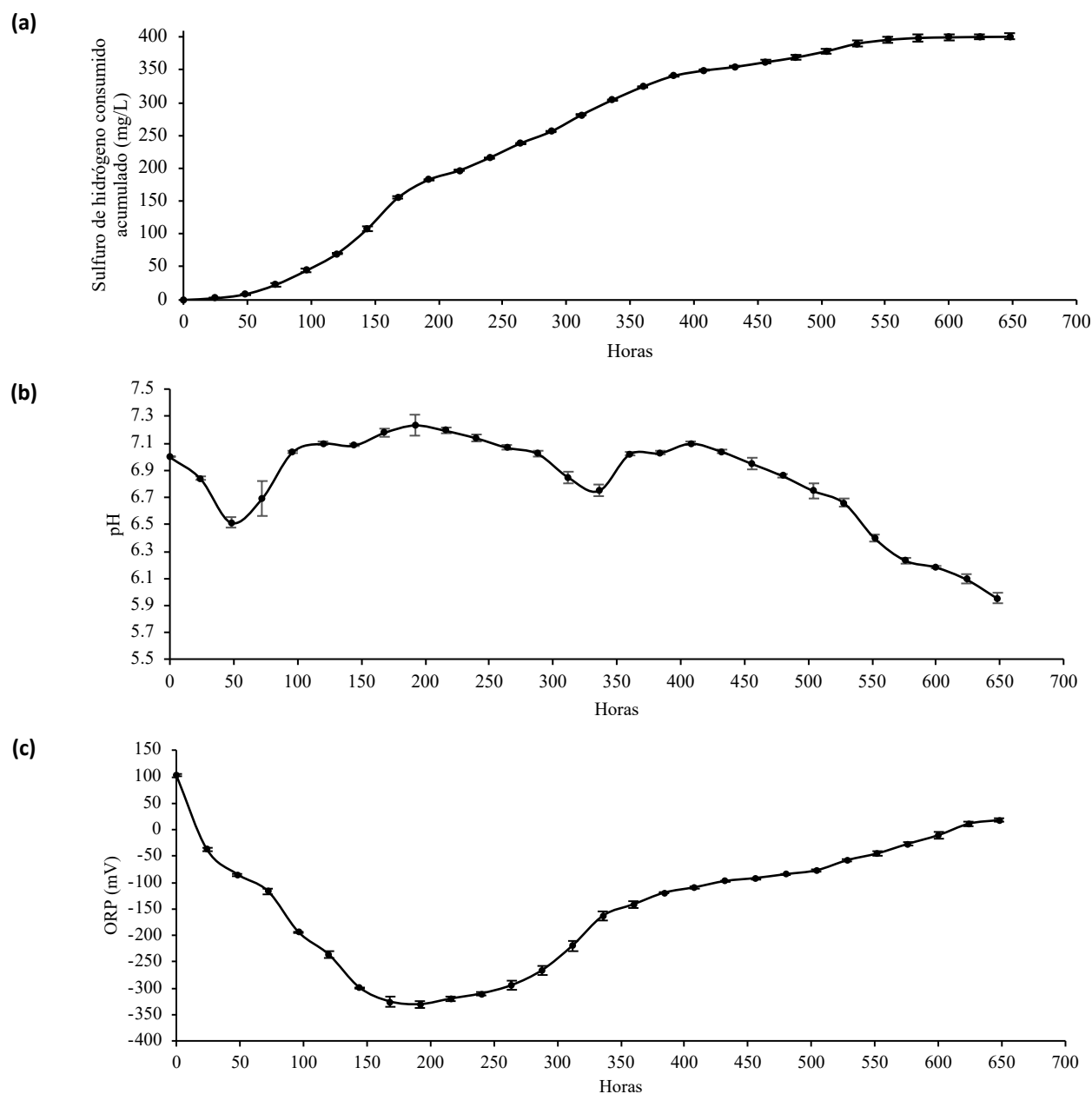


Figura 4. a) Comportamiento cinético de los datos experimentales para la remoción de sulfuro de hidrógeno, b) Comportamiento cinético de pH y c) Comportamiento cinético del potencial óxido reducción (ORP). La desviación estándar es correspondiente de $n=2$

Efecto del pH sobre la remoción de sulfuro de hidrógeno

El pH es un parámetro de medición de gran importancia en el proceso de biodesulfuración ya que se puede evaluar el estado fisiológico de los microorganismos durante la asimilación metabólica del sulfuro de hidrógeno. Los valores de pH (Figura 4B) obtenidos oscilaron entre 6-7 teniendo que durante las primeras 72 horas en condiciones de pH de 6.60 la eficiencia de remoción de sulfuro de hidrógeno fue de aproximadamente del $26.4 \pm 4.61\%$ (Tabla 1). Sin embargo, a

partir de las 96 horas hasta las 432 horas, el pH se mantuvo en la neutralidad (valor de pH de 7.0) alcanzando la mayor eficiencia de remoción de sulfuro de hidrógeno. A partir de las 480 horas hasta 648 horas, los valores de pH disminuyeron en un rango entre 6.8 a 5.9, bajo esta condición la remoción de sulfuro de hidrógeno disminuyó significativamente hasta el cese de la remoción (Figura 4A). Los datos de pH nos mostraron que a valores en un rango de aproximadamente de 7.0 se favorece notablemente la remoción de sulfuro de hidrógeno, mientras que a valores de pH por debajo de 6 se ve afectada la remoción de sulfuro de hidrógeno lo cual se puede atribuir a la falta de oxidación del sulfuro de hidrógeno. Janssen *et al.* (1997) reportaron que el rango de pH entre 7.5 a 8.0 es el adecuado para que se lleve a cabo la oxidación de sulfuro a sulfato. Otros estudios realizados por Xu, *et al.* (2016), reportaron que el pH juega un papel muy importante en la conversión del sulfuro teniendo que el rendimiento máximo de desulfuración ocurre en condiciones cercanas a la neutralidad (pH de 7.5 a 8.0).

Efecto del potencial oxido redox sobre la remoción de sulfuro de hidrógeno

El ORP es un parámetro fisicoquímico importante ya que es una medida indirecta del intercambio de electrones que ocurre durante proceso y describe el estado fisiológico de las bacterias del medio (Johnston *et al.*, 2024). En la figura 4C se muestra que el ORP inicial fue de +103 mV, y conforme fue transcurriendo el tiempo los valores de ORP fueron disminuyendo hasta obtener los valores de ORP de -330.8 mV a las 192 horas. Sin embargo, a partir de las 216 horas los valores de ORP se incrementaron hasta obtener valores de +17.9 mV a las 648 horas. El comportamiento de ORP antes mencionado puede estar correlacionado con los valores de sulfuro de hidrógeno consumido, ya que se muestra en la figura 4A, que los valores en los que obtuvo la mayor eficiencia de remoción de sulfuro de hidrógeno fue a partir de los valores más bajos de ORP. Mientras que los valores más altos de ORP fueron obtenidos para los valores más bajos de remoción de sulfuro de hidrógeno. Durante el crecimiento autótrofo en bacterias fotosintéticas, el sulfuro de hidrógeno provee de electrones para la reducción de NAD^+ necesarios para la fijación de CO_2 . En la mayoría de las bacterias el transporte de electrones desde el sulfuro hasta NAD^+ , se realiza en la membrana a través de diferentes complejos enzimáticos. En este mecanismo la sulfuro quinona oxidoreductasa quien recibe el sulfuro de hidrógeno, es menos negativo que el par NAD^+/NADH , requiriendo de mayor energía para transportar los electrones, por tanto, los valores negativos de ORP son un indicativo que el sulfuro de hidrógeno este siendo asimilado por las bacterias fototróficas (Griesbeck *et al.*, 2000). Por lo anterior atribuimos el favorecimiento de la asimilación de sulfuro de hidrógeno a valores de ORP de -325 mV y la inhibición de la remoción a valores de ORP de +17.3 mV.

Conclusiones

En este estudio se demostró la adaptabilidad metabólica de PNSB para lograr una reducción de sulfuro de hidrógeno de 67.81 ± 0.84 % durante 648 horas. Tanto el pH como el potencial oxido redox tuvieron un rol importante durante la asimilación metabólica del sulfuro de hidrógeno, teniendo que a valores de pH cercanos a 7.0 con valores de ORP de -330.8 mV se favoreció la biodesulfuración, obteniéndose los valores más altos de remoción de sulfuro de hidrógeno. Mientras que a valores de pH inferiores de 6.0 con valores de ORP de +17.9 mV se muestra inhibición de la remoción de sulfuro de hidrógeno. En general, la alta tolerancia de PNSB respalda su uso en los procesos de desulfuración en plantas de tratamiento de purificación de biogás producido por digestión anaerobia.

Agradecimientos y financiamiento: Los autores desean expresar su sincero agradecimiento a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por proporcionar el ambiente apropiado para el trabajo y el equipo necesario para realizar los experimentos.

Bibliografía

- American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Pollution Control Federation. (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (19th ed.). Washington, DC, Estados Unidos: American Public Health Association.
- Dada, O. I., Yu, L., Neibergs, S., & Chen, S. (2025). Biodesulfurization: Effective and sustainable technologies for biogas hydrogen sulfide removal. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 209, 115144. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2024.115144>
- Dhar, K., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2023). Anoxygenic phototrophic purple non-sulfur bacteria: Tool for bioremediation of hazardous environmental pollutants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03729-7>
- Fu, L. H., Wei, Z. Z., Hu, K. D., Hu, L. Y., Li, Y. H., Chen, X. Y., Han, Z., Yao, G. F., & Zhang, H. (2018). Hydrogen sulfide inhibits the growth of *Escherichia coli* through oxidative damage. *Journal of Microbiology*, 56(4), 238–245. <https://doi.org/10.1007/s12275-018-7537-1>

- Griesbeck, C., Schütz, M., Schödl, T., Bathe, S., Nausch, L., Mederer, N., Vielreicher, M., & Hauska, G. (2002). Mechanism of sulfide-quinone reductase investigated using site-directed mutagenesis and sulfur analysis. *Biochemistry*, 41(39), 11552–11565. <https://doi.org/10.1021/bi026032b>
- Janssen, A., Ma, S. C., Lens, P., & Lettinga, G. (1997). Performance of a sulfide-oxidizing expanded-bed reactor supplied with dissolved oxygen. *Biotechnology and Bioengineering*, 53, 32–40.
- Johnston, K. A. K. Y., van Lankveld, M., de Rink, R., Mol, A. R., Keesman, K. J., & Buisman, C. J. N. (2024). Influence of oxidation–reduction potential and pH on polysulfide concentrations and chain lengths in the biological desulfurization process under haloalkaline conditions. *Water Research*, 259, 121795. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121795>
- Krayzelova, L., Bartacek, J., Kolesarova, N., & Jenicek, P. (2014). Microaeration for hydrogen sulfide removal in UASB reactor. *Bioresource Technology*, 172, 297–302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.056>
- Pfennig, N., & Lippert, K. D. (1966). Über das Vitamin B₁₂-Bedürfnis phototropher Schwefelbakterien. *Archiv für Mikrobiologie*, 55, 245–256.
- Phuc, D. T., Yen, P. B., Hai, P. T., Dam, L., & Lien, B. (2024). Evaluating the sulfur oxidation capability of a *Rhodopseudomonas palustris* strain by gene and enzyme analyses for potential applications in environmental bioremediation. *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, 40, 107–114.
- Pudi, A., Rezaei, M., Signorini, V., Andersson, M. P., Baschetti, M. G., & Mansouri, S. S. (2022). Hydrogen sulfide capture and removal technologies: A comprehensive review of recent developments and emerging trends. *Separation and Purification Technology*, 298, 121448. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121448>
- Sarti, A., & Zaiat, M. (2011). Anaerobic treatment of sulfate-rich wastewater in an anaerobic sequential batch reactor (AnSBR) using butanol as the carbon source. *Journal of Environmental Management*, 92, 1537–1541. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.01.009>
- Schütz, M., Maldener, I., Griesbeck, C., & Hauska, G. (1999). Sulfide-quinone reductase from *Rhodobacter capsulatus*: Requirement for growth, periplasmic localization, and extension of gene sequence analysis. *Journal of Bacteriology*, 181(20), 6516–6523. <https://doi.org/10.1128/jb.181.20.6516-6523.1999>
- Tec-Campos, D., Posadas, C., Tibocha-Bonilla, J. D., Thiruppathy, D., Glonek, N., Zuñiga, C., Zepeda, A., & Zengler, K. (2023). The genome-scale metabolic model for the purple non-sulfur bacterium *Rhodopseudomonas palustris* Bis A53 accurately predicts phenotypes under chemoheterotrophic, chemoautotrophic, photoheterotrophic, and photoautotrophic growth conditions. *PLOS Computational Biology*, 19, 1–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1011371>
- van Gernerden, H., & Beeftink, H. H. (1978). Specific rates of substrate oxidation and product formation in autotrophically growing *Chromatium vinosum* cultures. *Archives of Microbiology*, 119(2), 135–143. <https://doi.org/10.1007/BF00964264>
- Venkata Ramana, V., Kalyana Chakravarthy, S., Shalem Raj, P., Vinay Kumar, B., Shobha, E., Ramaprasad, E. V. V., Sasikala, C., & Ramana, C. V. (2012). Descriptions of *Rhodopseudomonas paropalustris* sp. nov., *Rhodopseudomonas harwoodiae* sp. nov. and *Rhodopseudomonas pseudopalustris* sp. nov., and emended description of *Rhodopseudomonas palustris*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 1790–1798. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.026815-0>
- Xu, J., Fan, Y., & Li, Z. (2016). Effect of pH on elemental sulfur conversion and microbial communities by autotrophic simultaneous desulfurization and denitrification. *Environmental Technology*, 37(23), 3014–3023. <https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1173117>