



“OPERACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y MODELADO
DE UN SISTEMA DE OXIDACIÓN BIOLÓGICA
DE TIOSULFATO A AZUFRE ELEMENTAL”

CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

T E S I S

Que para obtener el grado de:
Maestro en Ingeniería Química

Presenta:
Armando González Sánchez

México DF.

Agosto 2002

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres, Antonio y Catalina por el amor y el apoyo que me han brindado en todo momento.

A mis hermanos Federico y José Luis, por la convivencia y maduración que hemos tenido juntos.

Al Dr. Sergio Revah por la confianza y el conocimiento brindados.

A los miembros del jurado, por la revisión y enriquecimiento de esta tesis.

Dr. Elías Razo Flores

Dr. Oscar Monroy Hermosillo

Dr. Ricardo Lobo Oehmichen

Dr. Sergio Revah Moiseev

A los compañeros y amigos del Lab. W107, PPU4 y T026 por la convivencia en todo momento provechosa.

A las instituciones: UAM-I y CONACYT por el soporte de esta tesis.

INDICE

Índice de Tablas	5
Índice de Figuras.....	5
Resumen.....	7
Nomenclatura	9
1 INTRODUCCIÓN.....	12
1.1 CONTAMINACIÓN CON COMPUESTOS DE AZUFRE	13
1.2 QUÍMICA DEL AZUFRE	14
1.3 EL CICLO BIOLÓGICO DEL AZUFRE: SU RELACIÓN CON LOS PROCESOS DE CONTAMINACIÓN Y REMOCIÓN DE COMPUESTOS AZUFRADOS.	18
1.4 MEDIOS DE TRATAMIENTO DE COMPUESTOS AZUFRADOS.....	19
1.4.1 <i>Procesos físico-químicos</i>	20
1.4.2 <i>Procesos biológicos</i>	21
1.4.2.1 Bacterias sulfoxidantes	21
1.4.2.1.1 Bacterias "incoloras" del azufre	21
1.4.2.2 Sistemas desarrollados para favorecer la formación y acumulación de azufre elemental a partir de la oxidación de compuestos reducidos de azufre.....	23
1.4.2.2.1 Estudios previos de producción y acumulación de azufre elemental a partir de la oxidación de tiosulfato.	29
1.4.2.3 Soportes para la formación de películas biológicas.....	31
1.5 MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DE BIOPROCESOS.	32
1.6 INSTRUMENTACIÓN PARA MONITOREO Y CONTROL EN BIORREACTORES.....	38
1.6.1 <i>Temperatura</i>	39
1.6.2 <i>Velocidades de flujo de líquidos y gases</i>	39
1.6.3 <i>Potencial hidrógeno (pH)</i>	39
1.6.4 <i>Oxígeno Disuelto (DO)</i>	40
1.6.5 <i>Potencial de Oxido-Reducción (ORP)</i>	40
2 JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	44
3 MATERIALES Y METODOS.....	46
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO.....	46
3.2 MEDIO DE CULTIVO.....	46
3.3 REACTOR.	47
3.4 DEFINICIÓN DE LOS PARÁMETROS QUE CARACTERIZAN AL.....	50
SISTEMA SULFOXIDANTE (SS).....	50
3.4.1 <i>Definición de la tasa de dilución y tiempo de residencia</i>	50
3.4.2 <i>Definiciones de Rendimiento, Selectividad, Conversión y Tasa de remoción específica</i>	50
3.5 DETERMINACIONES ANALÍTICAS	51
3.5.1 <i>Potencial Hidrógeno (pH)</i>	52
3.5.2 <i>Potencial Redox (ORP)</i>	52
3.5.2.1 Medición del ORP fuera del SS.....	52
3.5.2.2 Medición del ORP en el SS.....	52
3.5.3 <i>Oxígeno Disuelto (DO)</i>	52
3.5.4 <i>Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$)</i> . 53	

3.5.5	Velocidad de consumo de oxígeno ($q_{O_2} X$).....	55
3.5.6	Análisis de las especies de azufre:.....	56
3.5.6.1	Sulfito (SO_3^{2-}), Sulfato (SO_4^{2-}) y Tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$).	56
3.5.6.2	Azufre elemental (S^0) en suspensión y sedimentado.....	56
3.5.7	Determinación de la relación molar ($O_2/S_2O_3^{2-}$) teórica (R_{mt}).	58
3.5.8	Calculo de la tasa de dilución critica ($D_{critica}$) por el Método del Lavado	59
3.6	MEDICIONES MICROBIANAS	60
3.6.1	Biomasa en suspensión.....	60
3.6.2	Biomasa en soporte.....	60
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
4.1	OPERACIÓN.....	62
4.1.1	General.....	62
4.1.1.1	Etapas experimentales.....	63
4.1.2	Caracterización del sistema.....	65
4.1.2.1	Etapas (a): Operación.....	65
4.1.2.2	Etapas (b) y (d). Pruebas de Lavado: Calculo de la tasa de dilución critica. 65	
4.1.2.3	Etapas (c). Adaptación mediante recirculación de células microbianas.....	70
4.1.2.4	Estudios de transferencia de oxígeno en la unidad aireadora.....	72
4.1.2.4.1	Determinación de $k_1 a$ a diferentes condiciones de operación.....	73
4.1.2.5	Caracterización del SS por medio del potencial de oxido-reducción (ORP). 81	
4.1.2.5.1	Respuesta ORP a cambios operacionales del SS.....	85
4.2	MODELAMIENTO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN BIOLÓGICA DE TIOSULFATO.....	90
4.2.1	Suposiciones.....	90
4.2.2	Modelo.....	92
4.2.3	Expresiones cinéticas y sus parámetros.....	96
4.2.4	Simulación y validación.....	97
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	101
6	BIBLIOGRAFIA	104

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Estados de oxidación de los compuestos de azufre.....	14
Tabla 2. Formas de compuestos azufrados.....	15
Tabla 3. Parámetros usados en el modelo de oxidación biológica de sulfuro.....	36
Tabla 4. Medio de cultivo	47
Tabla 5. Principales componentes del SS.....	49
Tabla 6. Condiciones experimentales utilizadas para el calculo de k_1a	53
Tabla 7. Resultados de adherencia de biomasa en soportes.....	65
Tabla 8. Velocidades de consumo de oxígeno $q_{O_2} X$ a diferentes volúmenes de aireador (V_B)	75
Tabla 9. Efecto que tienen las condiciones operacionales del aireador en el consumo de oxígeno disuelto y rendimientos a azufre elemental.	78
Tabla 10 Expresiones y parámetros cinéticos usados en el modelo de oxidación biológica de tiosulfato.....	97
Tabla 11. Datos alimentados a la simulación iguales a los valores experimentales.....	98

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1 Nucleofilicidad del azufre.	16
Figura 2. Ciclo biológico del azufre	18
Figura 3 Configuración de reactor empleado por Janssen para favorecer la acumulación de S^0 y su posterior recuperación.....	28
Figura 4. Sistema experimental, Velasco (2001).....	30
Figura 5. Biorreactor continuo de gas de ascenso y flujo continuo ($V= 10L$) para la oxidación de sulfuro ($pH=8$ y $T=30^\circ C$) reportado por Janssen (1996).....	34
Figura 6. Comparación entre las concentraciones de sulfato medidas y calculadas por el modelo de Janssen (1996) en estado estacionario; a diferentes velocidades de carga de sulfuro y relaciones molares de consumo oxígeno sobre sulfuro.	37
Figura 7. Sistema experimental empleado para la oxidación biológica de tiosulfato.....	48
Figura 8. Diagrama de flujo del sistema experimental	48
Figura 9. Flujo del caldo de fermentación a través del soporte de biomasa probado.....	50
Figura 10. Estimación de $q_{O_2} X = 189 \text{ mg } O_2/L \text{ h}$	55
Figura 11. Tubo <i>Poliflex</i> usado como soporte de biomasa.	61
Figura 12. Desempeño global del SS a lo largo del periodo de estudio	63
Figura 13. Desempeño del SS durante la primera prueba de lavado, cambio de $D = 0.5 \text{ d}^{-1}$ a $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, $[S_2O_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 9000 \text{ mg/L}$, $[SO_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 6500 \text{ mg/L}$, $R_{mt} = 0.23$	67
Figura 14. Linealización de los datos de biomasa para la prueba de lavado 1.....	68
Figura 15. Desempeño del SS durante la segunda prueba de lavado, cambio de $D = 0.45 \text{ d}^{-1}$ a $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, $[S_2O_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8700 \text{ mg/L}$ y $[SO_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8600 \text{ mg/L}$, $R_{mt} = 0.23$	69
Figura 16. . Linealización de los datos de biomasa para la prueba de lavado 2.....	70

Figura 17. Adaptación mediante recirculación de células, $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$ y $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8900 \text{ mg/L}$, $R_{mt} = 0.23$.	71
Figura 18. Perfiles de concentración O_2 disuelto en el aireador ($[\text{O}_2]_B$) y $Q_{\text{O}_2\text{reactor}}^A$, como función del flujo de aire (vvm) y volumen de aireador (V_B), con $R = 35.1 \text{ L}$.	74
Figura 19. k_1a en función del flujo de aire (vvm) y volumen de aireador (V_B)	75
Figura 20. Comparación de las velocidades de oxígeno alimentadas al reactor ($Q_{\text{O}_2\text{reactor}}^B$) a diferentes volúmenes del aireador (V_B), con la tasa de oxígeno consumido por el aireador ($q_{\text{O}_2}X$), con $R = 35.1 \text{ L}$.	77
Figura 21. Respuesta de k_1a y $[\text{O}_2]_B$ a cambios operacionales como V_B y R .	79
Figura 22. Respuesta ORP al cambio en las concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y DO.	82
Figura.23. Respuesta ORP al cambio en las concentraciones de SO_4^{2-} y DO, con $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 2 \text{ g/L}$	83
Figura 24. pH vs. ORP; a $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 0.5 \text{ g/l}$ y $\text{DO} = 0.1 \text{ mg/L}$	84
Figura 25. Respuesta ORP al cambio en las concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y DO. (pH = 7.0)	85
Figura 26. Validación de la ecuación 4-7 para la predicción del ORP (b), en función de la concentración de tiosulfato, oxígeno y pH (a) presentes en el SS	87
Figura 27. Comparación entre las concentraciones de tiosulfato calculadas por la ecuación 4-8 y las experimentales.	89
Figura 28. Diagrama de flujo del Sistema Sulfoxidante (SS)	92
Figura 29. Respuesta dinámica simulada del sistema sulfoxidante una $R_{mt} = 0.26$.	98
Figura 30. Validación del modelo del sistema sulfoxidante: Producción de sulfato y azufre a diferentes R_{mt} en estado estacionario	99

RESUMEN.

La producción y uso de energía son la mayor fuente de contaminación de los ecosistemas, esto como consecuencia del empleo excesivo e inadecuado de los combustibles fósiles y sus derivados. Entre los contaminantes de importancia y que es necesario disminuir sus emisiones al ambiente, se encuentran los compuestos de azufre, los cuales presentan problemas de toxicidad, corrosión y mal olor.

El presente trabajo se dirige al tratamiento de compuestos reducidos de azufre, presentes en altas concentraciones en efluentes de desecho provenientes de la industria petrolera (aguas ácidas, amargas y desflemadas).

En esta tesis se muestran los resultados de la operación, caracterización y modelado de un Sistema Sulfoxidante (SS) de tiosulfato (contaminante modelo) cuyo producto deseado es el azufre elemental.

El capítulo 1 a manera de introducción se tocan temas como la contaminación por compuestos de azufre y medios de tratamiento: fisicoquímicos y biológicos; instrumentación en bioprocesos para la medición del potencial hidrógeno (pH), potencial de oxido-reducción (ORP) y oxígeno disuelto (DO); manifestando la relevancia que tienen para este trabajo. El modelado en bioprocesos también es abarcado.

El capítulo 2 presenta los materiales y métodos usados, describiendo la conformación del SS, conceptos que ayudan a caracterizarlo, así también las técnicas de medición analíticas y microbianas.

La presentación y discusión de los resultados se muestran en el capítulo 4, estos agregaron nuevos elementos de caracterización y conocimiento de la respuesta y limitaciones del SS a cambios operacionales en condiciones micro-aerobias.

Se encontró que el SS posee una tasa de dilución crítica ($D_{crítica}$) en condiciones de limitación de oxígeno cercana a 0.8 d^{-1} , valor que esta conforme a las condiciones experimentales a las cuales ya había sido operado el SS, así que la utilización de un soporte de microorganismos en el SS permitiría separar la velocidad de oxidación de la $D_{crítica}$.

Se propone un material denominado tubo *Poliflex* el cual puede ser usado como soporte de microorganismos para incrementar la velocidad de remoción biológica de compuestos reducidos de azufre, el cual resultó tener la mayor capacidad de adherir biomasa a su superficie que otros materiales probados, además de poseer la mayor densidad de área.

El consorcio sulfoxidante mostró como característica particular la falta de adaptabilidad a cambios operacionales, es por eso que el SS con rango de operación en la tasa de dilución (D) mayores o cercanas a 1.0 d^{-1} y de limitación de oxígeno, no representa un buen estado de operación, pues los rendimientos y selectividad a azufre así como la conversión de tiosulfato son bajos comparados a los registrados a tasas $D < 1 \text{ d}^{-1}$, además de que bajo este régimen de alimentación el SS es inestable, con riesgo a perder los microorganismos por un lavado, ya que la tasa de dilución crítica para este SS es de 0.8 d^{-1} .

La unidad que alimenta de oxígeno al SS llamada aireador provoca un efecto negativo en la oxidación parcial del tiosulfato a azufre elemental, pues al existir $[\text{O}_2] > 1 \text{ mg/L}$ se favorece la producción de sulfatos y el inmediato decremento en la producción de azufre, se demuestra que el aireador consume más del 50% del oxígeno alimentado al sistema, proponiéndose posibles criterios de diseño y operación para disminuir la oxidación total a sulfato.

Se encontró experimentalmente que las concentraciones de tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), oxígeno disuelto (DO) y pH determinan principalmente el valor del ORP en el caldo de fermentación.

Se propuso una correlación que puede ser útil para conocer de manera indirecta la concentración de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (difícil de medir en línea) a partir de la medición del ORP, pH y DO. Un modelo matemático del SS es propuesto, este predice en forma satisfactoria la concentración de azufre elemental, presentando ligeras desviaciones en la concentración de sulfato con relación a los datos experimentales para una serie de estados estacionarios. El SS objeto de estudio, arrojó información importante, a cuanto criterios de operación y diseño; además de técnicas de medición sencillas que podrían permitir conocer el estado de funcionamiento que guarda el SS, y que junto con el modelo matemático se podría proponer una estrategia de control que favorezca la formación de azufre elemental.

NOMENCLATURA

A_{abs}	Área bajo la curva de absorbancia indicada por el HPLC
D	Tasa de dilución, h^{-1}
D_F^A	Tasa de dilución, referida al volumen del reactor, h^{-1}
D_R^A	Tasa de dilución de recirculación, referida al volumen del reactor, h^{-1}
D_F^B	Tasa de dilución, referida al volumen del aireador, h^{-1}
D_R^B	Tasa de dilución de recirculación, referida al volumen del aireador, h^{-1}
$D_{critica}$	Tasa de dilución crítica, h^{-1}
D_G	Tasa de dilución del aire, h^{-1}
E_H^0	Potencial redox estándar, mV
F	Flujo de alimentación, L/h
F_{aire}	Flujo de aire, L/h
F_{aire}^*	Flujo de aire, L/min
F_e	Constante de Faraday, $(9.64 \cdot 10^5 \text{ coloumb/mol})$
F_G	Flujo de aire, L/hr
K	Constante de saturación o inhibición, mg/L
k_{la}	Coeficiente de transferencia de oxígeno, h^{-1}
m	Coeficiente de partición, adimensional
ne^-	Número de electrones transferidos
n_i	Moles del compuesto oxidado
n_j	Moles del compuesto reducido
$[O_2]_A$	Concentración de oxígeno disuelto en el reactor, mg O_2/L
$[O_2]_B$	Concentración de oxígeno disuelto en el aireador; mg O_2/L
OCAT	Oxígeno Consumido por el Aireador calculado por Transferencia, mg O_2/L
OCRT	Oxígeno Consumido por el Reactor calculado por Transferencia, mg O_2/L
$[O_2]_G^{IN}$	Concentración de oxígeno en el aire
$[O_2]_{NUTR}$	Concentración de oxígeno disuelto en la alimentación, mg O_2/L
ORP_{medido}	Potencial redox medido de una solución, bajo una atmósfera controlada, mV
ORP_{pred}	Potencial redox calculado, mV
ORP_{real}	Potencial redox medido en el reactor, mV
$[ox]$	Actividad del compuesto oxidado, mol/L
$Q_{O_2 reactor}^A$	Carga de oxígeno alimentada, referida al volumen del reactor, mg $O_2/L \text{ h}$
$Q_{O_2 reactor}^B$	Carga de oxígeno alimentada, referidas al volumen del aireador, mg $O_2/L \text{ h}$
Q_{O_2}	Carga de oxígeno consumida, mg $O_2/L \text{ h}$
Q_{S^0}	Carga de azufre, mg $S^0/L \text{ h}$
$Q_{SO_4^{2-}}$	Carga de sulfato, mg $SO_4^{2-}/L \text{ h}$
$Q_{SO_3^{2-}}$	Carga de sulfito, mg $SO_3^{2-}/L \text{ h}$
$Q_{S_2O_3^{2-}}$	Carga de tiosulfato consumida, mg $S_2O_3^{2-}/L \text{ h}$

$q_{O_2} X$	Velocidad de consumo de oxígeno en el aireador, mg O ₂ /L h
q_s	Tasa específica de remoción, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa d
R	Flujo de recirculación, L/h
R_g	Constante de los gases (8.31 J/mol K)
R_{me}	Relación molar O ₂ /S ₂ O ₃ ²⁻ estequiométrica, adimensional
R_{mt}	Relación molar O ₂ /S ₂ O ₃ ²⁻ teórica, adimensional
R_S^*	Velocidad de formación de azufre, mg HS/mg N h
R_S	Velocidad de formación de azufre, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
$R_{SO_4^{2-}}^*$	Velocidad de formación de sulfato, mg HS/mg N h
$R_{\max S^0}$	Velocidad máxima de formación de azufre, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
$R_{\max SO_4^{2-}}$	Velocidad máxima de formación de sulfato, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
$R_{\max S^0}^*$	Velocidad máxima de formación de azufre, mg HS/mg N h
$R_{\max SO_4^{2-}}^*$	Velocidad máxima de formación de sulfato, mg HS/mg N h
$R_{SO_4}^A$	Velocidad de formación de sulfato en el reactor, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
$R_{SO_4}^B$	Velocidad de formación de sulfato en el aireador, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
$R_{S_2O_3}$	Velocidad de formación de tiosulfato; mg HS/mg N h
R_{transf}	Relación molar O ₂ /S ₂ O ₃ ²⁻ calculada a partir del oxígeno total transferido por el aireador, adimensional
$[red]$	Actividad del compuesto reducido, mol/L
$[S_2O_3^{2-}]_{calculado}$	Concentración de tiosulfato calculada por la ecuación 4-8, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /L
T	Temperatura absoluta, K
t_d	Tiempo de duplicación, h
t_r	Tiempo de residencia, h
t_r^B	Tiempo de residencia en el aireador, h
V	Volumen reactor, L
V_A	Volumen del reactor, L
$V_A + V_B$	Volumen total del sistema, L
V_{aire}	Volumen de aire en el aireador, L _{aire}
V_B	Volumen de aireador, L
V_G	Volumen de aire en aireador, L
V_{gas}	Volumen de la fase gas, L
V_{total}	Volumen de reactor y aireador, L
vvm	Volumen de aire por volumen de líquido por minuto, min ⁻¹
X	Concentración de biomasa, mg biomasa/L
$Y_{X/S}$	Coefficiente de rendimiento, mg biomasa/ mg S ₂ O ₃ ²⁻
$Y_{X/SO_4^{2-}}$	Coefficiente de rendimiento, mg biomasa/ mg S ₂ O ₃ ²⁻

Y_{x/s_2O_3}	Coeficiente de rendimiento, mg biomasa/ mg $S_2O_3^{2-}$
$\phi_{O_2 gas}$	Flujo de oxígeno a la fase gas; mg/h
μ_{max}	Velocidad máxima de crecimiento, h^{-1}

Subíndices:

A	Reactor
B	Aireador
G	Fase gaseosa

1 INTRODUCCIÓN

La investigación científica para el control y prevención de la contaminación, de acuerdo a varios reportes (Hill, 1997a; Monticello y Finnerty, 1985), coincide en lo señalado por Bennet (Bernstein, 1981), en que la producción y uso de energía son la mayor fuente de contaminación de los ecosistemas. Esto como consecuencia del empleo, en dispositivos inadecuados, de los combustibles fósiles y sus derivados. De acuerdo a Hill (1997a) en Estados Unidos aproximadamente el 85 % de la energía utilizada proviene de estos combustibles.

Entre las fuentes de contaminantes al aire se pueden distinguir: a) los naturales como la proveniente de volcanes, incendios forestales; y b) los no naturales divididos en dos tipos: los móviles como los vehículos automotores y los fijos como el proveniente de industrias, oficinas y hogares entre otros.

En las grandes ciudades, las fuentes no naturales rebasan significativamente a las provenientes de fuentes naturales. Al respecto se reporta que en el caso del bióxido de azufre se emiten anualmente en la ciudad de México, en forma global, aproximadamente 206 mil toneladas, de las cuales menos del 0.5% proviene de fuentes naturales (SGEEyPA, 1992).

Dentro de los contaminantes de importancia en el ámbito mundial, los compuestos azufrados tienen gran relevancia debido al impacto ambiental adverso que provocan en la naturaleza. Su emisión al ambiente está asociada a la lluvia ácida, fenómenos de corrosión, mal olor y daños a la salud debido a la toxicidad de algunos de estos compuestos (Manion, 1992; McEldowney y col. 1993). Janssen (1996) afirma que la emisión global de azufre a la atmósfera es de alrededor de 200 millones de toneladas por año.

En la actualidad el enfoque para resolver los problemas de contaminación se ha modificado y los procesos fisicoquímicos en uso, con altos consumos de energía y generación de contaminantes secundarios, empiezan a tener un complemento y alternativa en los procesos biotecnológicos, particularmente cuando se tienen concentraciones de contaminantes donde los procesos fisicoquímicos son ineficientes. Estos procesos han cobrado cada vez mayor interés y la investigación desarrollada ha sido aplicada a procesos industriales con resultados exitosos.

Para el caso de las emisiones de azufre reducido, los microorganismos que se usaron en el presente trabajo corresponden principalmente a bacterias del género *Thiobacillus*, que para obtener energía presentan la característica de oxidar compuestos reducidos de azufre, como ácido sulfhídrico, bisulfuro de carbono, dimetil sulfuro, azufre, tiosulfato y sulfito entre otros. El producto final de la oxidación es el sulfato pero bajo ciertas condiciones de cultivo, la oxidación puede ser parcial permitiendo la acumulación de azufre elemental, lo cual constituye una ventaja tanto económica como de reducción de contaminantes secundarios (sulfato).

1.1 Contaminación con compuestos de azufre

El azufre se encuentra presente en la mayoría de los combustibles fósiles en concentraciones variables, dependiendo del origen y naturaleza de los mismos. Estos combustibles al ser quemados, producen compuestos indeseables que contaminan la atmósfera. Estos son los óxidos de azufre: el dióxido de azufre (SO_2) y el trióxido de azufre (SO_3) junto con sus ácidos correspondientes. Sus sales en macro partículas son contaminantes frecuentes en las atmósferas urbanas industriales. Estos compuestos, contribuyen a incrementar los problemas de partículas respirables y de visibilidad por medio de la formación de sulfato y la aglomeración con otros gases y partículas con los que interactúan. Asimismo, actúan como precursores en la formación de la lluvia ácida a través de reacciones químicas en la atmósfera (Mackenzie 1995; Betthelheim y Billinge, 1983; Bailey y col., 1978).

Para prevenir este tipo de contaminación por óxidos de azufre se tienen que controlar y tratar sus emisiones al aire producto de la combustión de estos compuestos. También se tiene que reducir el contenido de azufre en los combustibles fósiles a niveles aceptables.

Otra fuente importante de contaminación por compuestos azufrados es la que se presenta en las aguas residuales (H_2S , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, C_2S y otros compuestos reducidos), los efluentes del tratamiento anaerobio de aguas residuales que contienen sulfatos provenientes de industrias como la petroquímica (aguas ácidas, amargas y desflemadas), la de producción de viscosa y celofán, y de la extracción de gas natural, son contaminantes ambientales importantes debido a su toxicidad, corrosividad, mal olor y alta demanda de oxígeno; a concentraciones elevadas de hasta 700 ppm de H_2S puede causar la muerte.

La necesidad de controlar la liberación de estos compuestos azufrados al ambiente crea la implementación y desarrollo de procesos de remoción de sulfuros de aguas residuales, que como ya se ha dicho serán métodos biotecnológicos que complementan los fisicoquímicos.

1.2 Química del azufre

Los compuestos de azufre presentan en la naturaleza varios estados de oxidación, que van desde el sulfuro, que es la forma más reducida, hasta los sulfatos que son la forma más oxidada.

La disponibilidad de los orbitales *d* para enlaces, le confiere al azufre asumir un número de estados de oxidación en un rango que va de -2 hasta +6, algunas especies comprendidas dentro de este rango se muestran en la tabla1.

El rango de los estados de oxidación en los cuales el azufre puede existir, también le permite formar numerosos oxianiones, como sulfato, tiosulfato y politionatos. Por lo tanto la oxidación del azufre permite la formación de sitios de enlace aniónicos.

La concatenidad y la habilidad de formación de oxianiones de azufre, se combinan para dar la formación de series de ácidos: bisulfito (HSO_3^-); tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$); tritionato (O_3SSO_3^-); tetrationato ($\text{O}_3\text{SSSSO}_3^-$) y politionato ($\text{O}_3\text{S S}_n\text{S O}_3^-$).

Algunas especies de microorganismos, particularmente los *Thiobacillus*, derivan energía para su crecimiento a partir de la oxidación parcial o total de compuestos reducidos de azufre.

Tabla 1. Estados de oxidación de los compuestos de azufre.

Estado de oxidación	-2	0	+2	+4	+6
Compuestos azufrados	H_2S Sulfuro de hidrogeno	S Azufre elemental	(SO)* Monóxido de azufre	SO_2 Dióxido de azufre	SO_3 Trióxido de azufre
En forma de ácido	HS^-		(H_2SO_2) Ácido sulfoxílico	H_2SO_3 Ácido sulfuroso	H_2SO_4 Ácido sulfúrico
Oxianiones de azufre				SO_3^{2-} Sulfito	SO_4^{2-} Sulfato

*Intermediario hipotético.

El tiosulfato tiene dos átomos de azufre y sus propiedades sugieren una posible combinación de azufre con sulfito, o sulfuro con trióxido de azufre, con un estado de oxidación efectiva de 2 por átomo de azufre. El tetratiónato tiene cuatro átomos de azufre y sus propiedades sugieren que los dos de en medio tienen valencia -2 y los átomos de azufre unidos con el oxígeno tienen valencia +6 (trióxido de azufre).

Polisulfano y polisulfuro tienen el número mayor de átomos de azufre en niveles de oxidación de azufre elemental ó azufre-sulfano, el cual es valencia cero, excepto al azufre del sulfuro terminal. La tabla 2 muestra la forma estructural de los compuestos azufrados antes mencionados.

Algunos compuestos de azufre pueden ser rápidamente oxidados con yoduro o con agentes medianamente oxidantes. El sulfuro de hidrógeno puede ser oxidado a azufre elemental, sulfito y sulfato. Un agente oxidante de mayor fuerza es el cloruro, el cual puede oxidar el tiosulfato hasta sulfato.

Tabla 2. Formas de compuestos azufrados

Tiosulfato	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{S}-\text{S}=\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array} \right]^{2-}$
Acido Tiosulfúrico	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{S}-\text{S}=\text{O} \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Tetratiónato	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\ \qquad \qquad \\ \text{O}=\text{S}-\text{S}-\text{S}-\text{S}=\text{O} \\ \qquad \qquad \\ \text{O} \qquad \qquad \text{O} \end{array} \right]^{2-}$
Polisulfano	$\text{H}-\text{S}-\text{S}_n-\text{S}-\text{H}$
Polisulfuro	$[\text{S}-\text{S}_n-\text{S}]^{2-}$

Una de las mayores propiedades que dirigen la química del azufre es la nucleofilicidad del azufre por varios compuestos. El enlace azufre-azufre es roto por un anión nucleofílico

fuerte. El orden de nucleofilicidad esta parcialmente relacionando a las constantes de disociación del ácido, los ácidos débiles son fuertes nucleófilos. (Figura 1).

Bajo condiciones ácidas, el tiosulfato se convierte en un nucleófilo más fuerte que el bisulfito (HSO_3^-) y la reacción es reversible.

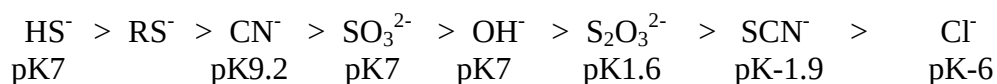
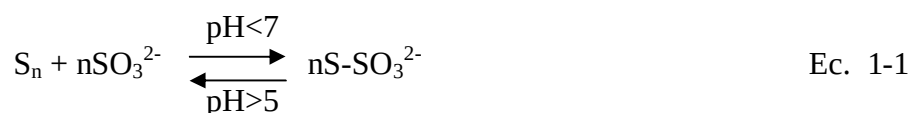


Figura 1 Nucleofilicidad del azufre.

El compuesto de azufre objeto de nuestro estudio es el tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), el cual tiene dos átomos de azufre no equivalentes. Este ion, es un ion sulfato, SO_4^{2-} , en el que uno de los átomos de oxígeno ha sido desplazado por un azufre. El átomo de azufre central tiene un número de oxidación de +6 y el átomo de azufre unido, el número de oxidación de -2.

El ácido tiosulfúrico $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ es inestable y cuando se trata el ion tiosulfato con un ácido, se forman azufre y dióxido de azufre. Este ácido es un ejemplo de una clase general de ácidos, llamados tioácidos o sulfoácidos, en los que uno o más átomos de oxígeno de un oxácido están reemplazados por átomos de azufre (Suzuki, 1999; Dhawale, 1993).

La ecuación 1-1 muestra una reacción nucleofílica por sulfito para dar tiosulfato. (Suzuki 1999).



El ion sulfito (SO_3^{2-}) sin embargo puede ser protonado para formar HSO_3^- con un pK de 7 , de manera que bajo condiciones ácidas el tiosulfato llega a ser un nucleófilo más fuerte que el bisulfito y entonces la reacción es revertida.

Una posible reacción de oxidación que se puede presentar con el tiosulfato y de especial interés en el presente trabajo es la que se da en medio ácido entre pH de 3 hasta 7. Bajo este nivel de acidez las especies que coexisten son, según el diagrama de potencial-pH para el

sistema S- H₂O ; HSO₃⁻ , S₂O₃²⁻ , S⁰ , H₂S. La presencia de un oxidante como el oxígeno en solución y similares condiciones de acidez, favorece la presencia de todas las especies antes mencionadas. La oxidación química de S₂O₃²⁻ a HSO₃⁻ bajo las condiciones antes mencionadas, se muestra en la Ec. 1-2.



Azufre elemental. El azufre es el segundo elemento del grupo VI de la tabla periódica, es un sólido amarillo, que forma cristales ortorrómbicos (azufre rómbico). Es muy poco soluble en agua (5 µg/l de S₈ a 25 °C) pero muy soluble en bisulfuro de carbono, tetracloruro de carbono y disolventes no polares análogos, a partir de estas soluciones se pueden obtener cristales de azufre perfectamente formados. El azufre ortorrómbico se funde a 112.8 °C, formando un líquido color pajizo. Este líquido cristaliza formando cristales de azufre β. Las moléculas de ambas formas cristalinas, así como las del líquido son moléculas S₈, que tienen la configuración de un anillo en zigzag. La formación de esta molécula grande es resultado de la covalencia de los elementos del grupo sexto de la tabla periódica, con la formación de dos enlaces covalentes sencillos, en lugar de un doble enlace. Las moléculas diatómicas S₂ se forman calentando el vapor de azufre, sin embargo estas moléculas son menos estables que las moléculas grandes que contienen enlaces sencillos. Este comportamiento se debe a que en general, los doble y triples enlaces estables los forman fácilmente los elementos ligeros como el carbono, nitrógeno y oxígeno, pero no los elementos más pesados. El bisulfuro de carbono de estructura electrónica S=C=S y otros compuestos que contienen un doble enlace carbono-azufre son las principales excepciones de esta regla (Pauling, 1964).

La capacidad del azufre para formar cadenas es la mayor diferencia con el oxígeno, para el cual el ozono, O₃, es el mayor polímero formado.

Sulfuro de hidrógeno. El sulfuro de hidrógeno, H₂S, es análogo al agua, sin embargo es mucho más volátil (punto de fusión de -85.6 °C y punto de ebullición de -60.7 °C) debido a su menor tendencia de formar puentes de hidrógeno. El H₂S es la forma más reducida de azufre y es tóxico, inflamable y es también altamente soluble en agua (aproximadamente

0.1M a 25 °C) con un pK_1 alrededor de 7 y un pK_2 de 13.

Las sales de éste ácido son los sulfuros, muchos de los cuales se encuentran en la naturaleza y constituyen minerales importantes como la galena, PbS ; blenda de cinc, ZnS y cinabrio, HgS .

1.3 El ciclo biológico del azufre: Su relación con los procesos de contaminación y remoción de compuestos azufrados.

El azufre se encuentra en la naturaleza en diferentes estados de oxidación, por lo tanto forman diferentes compuestos que se intercambian por procesos químicos o biológicos de oxidación-reducción, constituyendo un ciclo denominado ciclo biogeoquímico del azufre (Takakuwa, 1992; Robertson y Kuenen, 1991), que resulta de utilidad en la cuantificación del azufre, en todas sus formas tanto de fuentes naturales como antropogénicas, que se encuentra en la naturaleza (Mackenzie, 1995).

Debido a la variedad de estados de oxidación del azufre, sus transformaciones son complejas. En la Figura 2 se presenta un esquema que muestra las transformaciones biológicas que corresponden al ciclo biológico del azufre. En este ciclo, aunque son posibles varios estados de oxidación, tres de ellos tienen, por su estabilidad, una mayor importancia en la naturaleza: -2 (sulfhidrido $R-SH$ y sulfuro HS^-), 0 (azufre elemental, S^0) y $+6$ (sulfato).



Figura 2. Ciclo biológico del azufre

Asimismo, en el ciclo se pueden distinguir dos etapas de acuerdo al tipo de reacciones de oxido-reducción que intervienen en el mismo:

- i. una etapa reductiva
- ii. una etapa oxidativa

i. Etapa reductiva. En los procesos biológicos se encuentran dos formas bioquímicas de reducción de los compuestos de azufre inorgánicos: la reducción asimilativa y la reducción desasimilativa. La primera la presentan tanto eucariotes como procariotes y en ésta, el sulfato es reducido a sulfuro (H_2S) para la biosíntesis de compuestos que contienen azufre necesarios para el crecimiento celular. La reducción desasimilativa la presentan principalmente los procariotes y en ella el sulfato es reducido a sulfuro por microorganismos sulfato reductores en condiciones anóxicas, donde el sulfato es utilizado como aceptor último de electrones. Esta reducción está acoplada con la oxidación de varios ácidos grasos volátiles, lactato y piruvato que generan ATP y poder reductor necesarios para el crecimiento celular.

ii. Etapa oxidativa. La segunda etapa del ciclo y que es objeto de estudio en el presente trabajo la constituyen las reacciones de oxidación de los compuestos reducidos de azufre. De igual manera, esta etapa puede dividirse en dos: las reacciones de oxidación en condiciones anaerobias efectuados por microorganismos fotótrofos (Cork y col. 1986) y facultativos (Sublette, 1987) y la oxidación aerobia por microorganismos del género *Thiobacillus* (Alcántara y col. 1999; Kelly, 1990, 1982; Buisman y col, 1989).

El fundamento y aplicación de los procesos biológicos de eliminación de compuestos azufrados se basa en el conocimiento del ciclo biológico del azufre, pues en la naturaleza existen seres vivos microscópicos capaces de asimilar y/o transformar dichos contaminantes a compuestos menos tóxicos.

1.4 Medios de tratamiento de compuestos azufrados

Para el tratamiento de emisiones líquidas y gaseosas de compuestos de azufre se utilizan diferentes procesos tanto fisicoquímicos como biológicos. En general los procesos fisicoquímicos requieren de altos flujos de energía, sin embargo, no es este elemento el

único factor que se considera para su aplicación o sustitución por un proceso biológico. Entre los factores que se pueden considerar pueden citarse: el costo, la concentración de contaminante y la factibilidad biológica.

Si se cuenta con los organismos vivos que puedan oxidar los compuestos de azufre de interés, entonces queda a consideración el costo de su aplicación. En este sentido, se ha observado que en bajas concentraciones de contaminantes los procesos biológicos presentan ventaja económica y de eficiencia de eliminación (Groenestijn y Hesselink, 1993). Un ejemplo lo reporta Buisman (1998) quien compara los costos del tratamiento de SOx con tres técnicas, 2 fisicoquímicas y una tecnología biológica denominada Thiopaq, la cual utiliza microorganismos del género *Thiobacillus* en el proceso. El "biotratamiento" presenta ventajas económicas en concentraciones menores de 3500 ppm sobre los tratamientos fisicoquímicos.

1.4.1 Procesos físico-químicos

En el caso del H₂S el proceso comercial con aminas es el más utilizado para eliminar este ácido del gas natural y otras corrientes de aire contaminado con el compuesto (Jensen y Webb, 1995; Sublette, 1987). En este proceso, después de contactar el gas con la solución, el solvente de amina es calentado entre 90 y 150 °C para liberar el H₂S. Después el solvente se regenera con el fin de reutilizarlo. El sulfuro de hidrógeno es después incinerado o convertido en azufre elemental por los procesos Claus o Stretford (Nagl, 1997).

Se pueden remover de los gases de combustión antes de emitirlos a la atmósfera, a través de un proceso de limpieza conocido como desulfuración de gases. Los procesos de desulfuración de gases pueden ser regenerativos y no regenerativos. Los dos usan un sorbente del azufre en los gases de combustión. En procesos regenerativos, los SOx líquidos, el ácido sulfúrico o el azufre elemental son removidos del sorbente en un paso subsecuente de regeneración, que permite que el sorbente sea reutilizado

En este tipo de procesos, los SOx reaccionan con el sorbente para formar un compuesto permanente.

Un proceso no regenerativo muy común es el denominado “proceso no regenerativo húmedo”. En este proceso, el sorbente, basado generalmente en óxido de calcio o piedra caliza, se mezcla con agua antes de que entre en contacto con los gases de combustión. El residuo, una mezcla de sulfito y sulfato de calcio, se seca y se oxida completamente para formar yeso, un producto comercial de gran uso.

1.4.2 *Procesos biológicos*

Los procesos biológicos de tratamiento de efluentes con compuestos de azufre tienen una aplicación diversificada. Se han utilizado en el tratamiento de corrientes acuosas contaminadas con sulfuros, sulfato y tiosulfato. También de corrientes de aire contaminadas con sulfuro, bisulfuro y compuestos orgánicos volátiles de azufre (VOCS).

En el caso del tratamiento de gases contaminados (incluido el biogás proveniente del tratamiento anaerobio de aguas contaminadas con sulfato, sulfuro, bisulfuro y VOCS) los sistemas que se han utilizado son principalmente biofiltros (BF) y biolavadores de lecho escurrido (BLE).

Una revisión de estas técnicas, sus límites de operación y aplicación, fue hecha por Groenestijn y Hesselink (1993). Asimismo, Torres (1998), revisó los conceptos básicos de funcionamiento y operación de estos sistemas, especialmente de los biolavadores de lecho escurrido para el tratamiento de CS₂ y H₂S en corrientes gaseosas.

Por otro lado, en corrientes acuosas contaminadas con compuestos de azufre reducidos se han implementan diversos tipos de reactores completamente agitados (Buisman y col. 1989, Janssen y col. 1995) y de lecho fluidizado (Gommers y col. 1988 , Annachhatre y Suktrakoolvair 2001); así como otros diseños de reactor para optimizar la recuperación de azufre elemental (Janssen y col. 1997).

1.4.2.1 *Bacterias sulfoxidantes*

1.4.2.1.1 *Bacterias "incoloras" del azufre*

El nombre de bacterias incoloras del azufre ha sido usado para designar a los procariotes capaces de utilizar compuestos reducidos de azufre como fuente de energía para su crecimiento sin necesidad de foto pigmentos (Madigan y col., 1999; Robertson y Kuenen,

1991).

Los compuestos más comunes que se utilizan son el sulfuro de hidrógeno, el azufre elemental y el tiosulfato. En condiciones adecuadas de crecimiento el producto final de la oxidación es el sulfato, sin embargo en el caso del sulfuro y del tiosulfato, bajo ciertas condiciones de cultivo, es posible observar azufre elemental como producto de la oxidación parcial de estos compuestos. En cultivos con suficiente crecimiento celular se observa un color rosa o café debido a su alto contenido de citocromos.

Existe una gran diversidad de bacterias sulfoxidantes con muy diferentes propiedades morfológicas, fisiológicas y ecológicas y de igual manera diversos requerimientos ambientales para su crecimiento.

Al grupo de bacterias incoloras de azufre pertenece un grupo de microorganismos con características fisiológicas y morfológicas muy variadas. Los géneros que pertenecen a este grupo de bacterias son : *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Sulfolobus*, *Thermothrix*, *Thiovulum*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiospira* y *Thioploca* (Madigan y col., 1999)

El genero *Thiobacillus* es relevante entre los demás por su capacidad de oxidar compuestos azufrados, produciendo azufre elemental de manera extracelular. Son microorganismos aerobios y anaerobios facultativos, Gram-negativas con forma de bacilos pequeños que miden 0.3 µm de ancho por 1-3 µm de largo, móviles por un flagelo polar sencillo, no son formadoras de esporas y crecen entre los 25 a 35 ° C. La energía necesaria para llevar a cabo sus funciones se deriva de la oxidación de uno o más compuestos reducidos de azufre incluyendo sulfuro, tiosulfato, azufre elemental, sulfito, tiocianato y politionatos. Algunas especies son capaces de vivir en ambientes altamente ácidos, pueden utilizar el fierro como una fuente de energía y algunas son capaces de llevar a cabo la desnitrificación y utilizar al nitrato como ultimo aceptor de electrones.

Los estudios de crecimiento en medios sintéticos han permitido identificar diversas fuentes de carbono que son utilizadas por estos microorganismos. Esto permitió establecer dos clases de microorganismos de acuerdo a su capacidad de crecimiento en fuentes de carbono. Estas son:

1. Quimiolitótrofos obligados.

Son bacterias altamente especializadas, que requieren compuestos inorgánicos como fuente de energía y obtienen su carbono a partir de fijar CO₂ por el ciclo de Calvin. Utilizan para ello el flujo inverso de electrones para la generación de poder reductor (NADPH).

2. Quimiolitótrofos facultativos.

Estos microorganismos crecen adecuadamente con una fuente inorgánica de energía y CO₂, o bien heterotróficamente con compuestos orgánicos que proveen de carbono mientras los compuestos inorgánicos proveen de electrones para la generación de energía (mixótrofia). Aunque también se ha observado que pueden utilizar simultáneamente dos o más vías metabólicas para la utilización de la energía y del carbono, perdiendo en algunos casos la capacidad quimiolitótrofa (Prosser, 1989).

1.4.2.2 *Sistemas desarrollados para favorecer la formación y acumulación de azufre elemental a partir de la oxidación de compuestos reducidos de azufre.*

Los métodos biológicos utilizados en la eliminación de los compuestos reducidos de azufre se pueden clasificar de la siguiente forma (Alcántara, 2000; Buisman y col., 1989, Jensen y Webb, 1995, Janssen y col., 1997):

- oxidación anaerobia por bacterias fotosintéticas.
- oxidación anaerobia por microorganismos desnitrificantes
- oxidación por un proceso químico-biológico
- oxidación aerobia por bacterias incoloras del azufre

A partir de los primeros estudios realizados por Buisman y col. (1989) diversos investigadores se han dado a la tarea de desarrollar sistemas para favorecer la formación de azufre elemental sobre el sulfato, el cual se prefiere por varias razones, observadas en el laboratorio y reportadas en la bibliografía (Janssen, 1996): a) el azufre es insoluble en agua por lo tanto se puede separar de la corriente acuosa que lo contiene; b) el azufre se puede purificar y reutilizar, lo que le da un valor agregado al proceso; c) evita la acumulación de sulfatos que en concentraciones mayores a 30 g/l tienen un efecto negativo sobre la oxidación.

Annachhatre y Suktrakoolvait (2001) reportaron un proceso a nivel laboratorio en un reactor de lecho fluidizado para la oxidación biológica de sulfuro a azufre elemental y demuestran la formación de sedimentos de azufre. La oxidación de sulfuro depende fuertemente de la concentración de Oxígeno Disuelto (DO), velocidades de carga de sulfuro y la tasa de dilución. En un reactor con $DO > 0.1$ mg/L, el sulfato fue el principal producto de la oxidación. Al incrementar la velocidad de carga de sulfuro, la velocidad de producción de sulfato disminuyó y la velocidad de producción de azufre mostró un marcado incremento. La baja formación de sulfato se podría explicar como que el sulfuro es inhibitorio para la bacteria productora de sulfato o bien que la conversión de sulfuro a azufre fue más favorable que la producción de sulfato. Conversiones de sulfuro $> 90\%$ fueron obtenidas a velocidades de carga de sulfuro de $0.13-1.6$ kgS/m³-d. En $DO < 0.1$ mg/L, el S⁰ fue el principal producto de la oxidación del sulfuro. A velocidades de alimentación de 16-26 m/h y cargas de sulfuro de $0.9-1.6$ kgS/m³-d fue necesario para la generación de biogránulos que contienen de 65 a 76 % de azufre elemental. Una producción de azufre elemental de 76% fue obtenido a velocidades de alimentación de 17 m/h con velocidades de carga de sulfuro < 1.6 kgS/m³ d. Un examen morfológico de los biogránulos mostró una depositación de azufre elemental en el lodo granular y en el exterior células microbianas.

Chung y col. (2001) reportan un sistema que remueve mezclas de gases de H₂S y NH₃ generados por la industria agrícola y por tratamientos anaerobios de lagos con aguas de desecho, utilizaron un reactor de lecho fluidizado que simultáneamente degrada H₂S y NH₃, el material biológico utilizado fue una mezcla de microflora heterotrófica (mezcla de *Pseudomonas putida* para el H₂S y *Arthrobacter oxydans* para el NH₃). El biorreactor fue continuamente alimentado con H₂S y NH₃ separados o juntos a varias relaciones. La eficiencia de remoción, velocidad de remoción y los productos metabólicos del biorreactor fueron estudiados, los resultados mostraron una eficiencia $> 95\%$ cuando las concentraciones de entrada de H₂S fueron < 30 ppm a 36 L/h La remoción máxima aparente y la constante de saturación fueron 7.0×10^{-8} g S/célula d y 76.2 ppm respectivamente. El azufre elemental fue el principal producto de la oxidación previniendo la acidificación del biofiltro, manteniendo de esta forma una estabilidad operacional.

McComas y col. (2001), demuestran que un cultivo enriquecido, predominantemente de *Thiomicrospira* sp. CVO (Son quimiolitotrofos obligados con sulfuro y azufre elemental como sus únicos donadores de electrones, no usan tiosulfato como fuente de energía, son microorganismos microaerófilos (1% O₂), crece por la desnitrificación de nitrato o nitrito, producen azufre elemental o sulfato dependiendo de la concentración inicial de sulfuro), puede ser cultivado con H₂S_(g) como una fuente de energía bajo condiciones limitantes de sulfuro en un cultivo suspendido, con nitrato como aceptor de electrones. El sulfuro de hidrógeno (10000 ppm) fue completamente removido de la corriente de alimentación y oxidado a sulfato en menos de 3 seg de contacto gas- líquido. La máxima carga de biomasa para oxidar sulfuro fue de 5.8 mmol H₂S/h-g proteína, comparable a lo reportado para el género *Thiobacillus denitrificans* bajo similares condiciones. Sin embargo el cultivo enriquecido mostró ser más tolerante a pH extremos y elevadas temperatura que el *T. denitrificans*. Además de la tolerancia de los CVO a soluciones de hasta 10% de NaCl sugieren que este cultivo basado en CVO es potencialmente un mejor sistema biocatalizador para la oxidación de sulfuro que los cultivos basados en *Thiobacilli*.

Schreiber y col. (1998) reportan un reactor de flujo continuo aeróbico para la degradación de tiosulfato, el reactor contiene tanto poblaciones bacterianas autótrofas y heterótrofas. La oxidación completa de tiosulfato en el influente hasta concentraciones de 600 mg/L como S tomó lugar con la producción equivalente de sulfato. La remoción de la demanda química de oxígeno (DQO) y amonio además de la nitrificación no fue adversamente afectada por la presencia de tiosulfato. Los rendimientos microbianos fueron obtenidos basados en los datos experimentales y los rendimientos teóricos calculados basados sobre la bioenergética. Los experimentos cinéticos en lote fueron realizados usando el medio de cultivo junto con los microorganismos desde reactores de flujo continuo limitados de tiosulfato y no limitados de tiosulfato. La habilidad del reactor limitado de tiosulfato para oxidar tiosulfato disminuyó con el incremento en el tiempo de operación. La oxidación del tiosulfato siguió la cinética de Monod. Los siguientes parámetros biocinéticos para la oxidación biológica de tiosulfato fue determinada como: la velocidad máxima específica de utilización de sustrato (k) 19.8 mg tiosulfato-S/mg ssv d , y la velocidad media (K_s) 14 mg tiosulfato-S/L

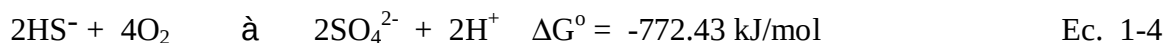
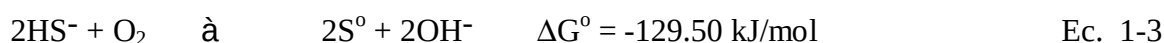
Revah y col. (1995) y Torres y col. (1993) desarrollaron un proceso biotecnológico para la eliminación de CS_2 y H_2S con la conversión a azufre y sulfato. Utilizaron un biolavador de lecho escurrido (BLE) el cual contenía una población mixta de microorganismos aislados de fuentes azufradas y plantas de tratamiento de aguas residuales, enriquecida por inoculaciones sucesivas. Esta población mixta de microorganismos contenía bacterias del género *Thiobacillus*. Las concentraciones de los compuestos azufrados en el aire llegaron hasta 1000 ppm de cada uno, alcanzado una eficiencia del 98% de eliminación del H_2S y mayor a 80% de CS_2 . Los estudios en condiciones aerobias permitieron diseñar y construir equipos hasta de $800 \text{ m}^3/\text{min}$ y que llevan operando varios años.

Recientemente se reportan nuevas configuraciones de equipos que permiten tratar altas concentraciones (hasta 2500 ppm) de H_2S en aire. Hugler y col., (1999) propusieron dos biolavadores de lecho escurrido (BLE) en serie permiten mantener altas tasas de reacción facilitando el control de la oxidación. Bajo estas condiciones en donde se solubiliza el H_2S del aire existe una alta conversión hacia sulfato. Otras configuraciones de BLE permiten tratar olores de plantas de tratamiento de aguas. Estas corrientes tienen concentraciones muy diluidas de H_2S , otros sulfuros, COV y compuestos nitrogenados.

Lobo y col. (1999) realizan un análisis y modelan un BLE que remueve disulfuro de carbono (C_2S) ; en este sistema se pone de manifiesto el efecto de los fenómenos de transferencia gas- líquido y reacción en el proceso de remoción. Proponen que en un biorreactor de lecho empacado (BLE) ocurre una bioreacción de primer orden y plantean que la identificación del régimen de operación requiere del conocimiento de la concentración del sustrato en la fase líquida. Si está es cercana a cero el paso controlante es la transferencia de masa en la interfase gas- líquido; y cuando la concentración del sustrato es cercana a la concentración de equilibrio con la fase gaseosa, el paso controlante será la transferencia de masa al interior de la biopelícula. Los parámetros de transferencia de masa y cinéticos son obtenidos del análisis de los datos de la velocidad de remoción de C_2S (sustrato), los cuales indican que el biorreactor opera en un régimen controlado principalmente por la transferencia de masa.

En las anteriores publicaciones no se reportan sistemas en los cuales se favorece la acumulación de S^0 y su posterior recuperación.

Janssen y col. (1995) encontraron que bajo condiciones limitadas de O_2 , (<0.1 mg/l) el azufre es el producto final de la oxidación del H_2S , mientras que la formación de sulfato se favoreció por concentraciones limitadas de H_2S . Reportan que la oxidación biológica del H_2S por microorganismos sulfoxidantes presenta dos principales biorreacciones dependientes de la concentración la DO, las cuales se consideran de primera importancia.



Como se observa, la reacción 1-4 es la preferida por los microorganismos, ya que de esta derivan mucho mayor energía para su crecimiento y manutención que la reacción 1-3, sin embargo esta última es la que se intenta favorecer con la finalidad de disminuir el contenido de compuestos de azufre disueltos en los efluentes líquidos, formando azufre elemental cuya propiedad de poca solubilidad lo convierten en el producto deseado.

Posteriormente Janssen y col. 1997 reportaron un proceso biotecnológico de máxima recuperación de azufre a partir de la oxidación del H_2S . En este trabajo se diseñó un sistema donde el compartimiento de aireación de la fase líquida y la oxidación de sulfuro a azufre están separados espacialmente. De esta manera se evita la turbulencia debida a la aireación de la fase líquida y se favorece la formación de aglomerados de biomasa y azufre el cual tiende a inmovilizarse dentro del biorreactor.

El sistema lo conforman un vaso de aireación totalmente agitado ($V=8$ L), donde se lleva a cabo la saturación de oxígeno en la fase líquida, este se encuentra unido por recirculación al biorreactor ($V=30$ L) y es donde se lleva a cabo la oxidación parcial del H_2S (figura 3).

Bajo condiciones autotróficas y velocidades de carga de sulfuro mayores a 3.4 g/L d casi todo el aglomerado de biomasa (2.5%) y azufre elemental (92%) presente en el biorreactor se inmoviliza. Debido a que la biomasa se retiene en el reactor, se pueden tener velocidades

de carga de sulfuro más altas que en los sistemas convencionales de células libres. La velocidad de carga máxima estudiada fue de 14 g HS⁻/L d, sin embargo bajo esta circunstancia los aglomerados tienden a acumularse en la parte superior del biorreactor por lo cual muy pocas células se encuentran en suspensión total, por lo cual se consideró que para un sistema de células libres, la velocidad de carga máxima es 6 g HS⁻/l d. Cuando con el influente se adicionaron ácidos grasos volátiles, se acumularon dentro del sedimento bacterias de azufre heterotróficas (BSH) y bacterias sulfato reductoras (BSR), y posiblemente también *thiobacilli* mixótrofos, los cuales utilizan productos de excreción microbiana como fuente de carbono. La presencia de estos microorganismos reductores provocó un deterioro del sistema. Debido a la actividad anaerobia de las BSR, el azufre formado fue parcialmente reducido a sulfuro, lo cual incrementó el nivel de sulfuro en el efluente por lo cual, la velocidad de formación del sedimento de azufre disminuyó. Por esta razón, el principal campo de aplicación de este diseño es en el tratamiento de aguas residuales con sulfuros que no contengan materia orgánica, por ejemplo, aguas de minas y emisiones con ácido sulfhídrico.

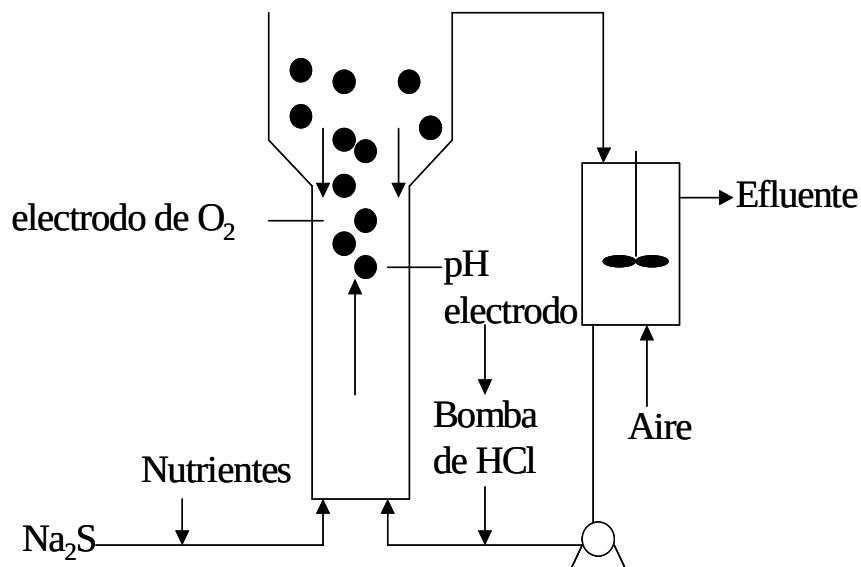


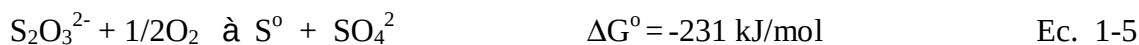
Figura 3 Configuración de reactor empleado por Janssen para favorecer la acumulación de S⁰ y su posterior recuperación

1.4.2.2.1 *Estudios previos de producción y acumulación de azufre elemental a partir de la oxidación de tiosulfato.*

Alcántara (2000) estableció las condiciones de cultivo que favorecen la oxidación biológica de compuestos reducidos de azufre utilizando un consorcio sulfoxidante. Las condiciones halladas fueron: pH entre 5.5 y 7, temperatura de 30°C, y para la oxidación completa a sulfatos a partir de tiosulfato es necesaria una concentración de oxígeno disuelto superior o igual a 0.2mg/L para el consorcio. Encontró que en concentraciones de sulfato de hasta 40 g/L el consorcio puede adaptarse y mantener su actividad sulfoxidante. Encontró que la fuente de amonio presenta un efecto positivo sobre el crecimiento del consorcio y oxidación del tiosulfato. La presencia de extracto de levadura de 0.5 g/L no presentó ningún efecto sobre la oxidación del tiosulfato, a pesar del incremento en la población bacteriana, se asumió que el incremento se debió al crecimiento de organismos heterótrofos no oxidantes del tiosulfato. Estimó una tasa de dilución crítica para el consorcio cercana a 3.4 d⁻¹ en concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 0.4 g/L, donde el consorcio oxida completamente el tiosulfato a sulfato.

Calculó el rendimiento del consorcio de 0.022 g_{biomasa}/g_{tiosulfato} para una tasa de dilución de 0.4 d⁻¹. Evaluó el efecto que tienen algunos inhibidores de cadena respiratoria en el consorcio y, finalmente, dadas las características de crecimiento propone que la ruta de oxidación más representativa para el consorcio es el sistema multienzimático de oxidación de tiosulfato (TOMES, por sus siglas en inglés).

La tasa de dilución crítica de 3.4 d⁻¹ estimada para este consorcio fue calculada en condiciones de exceso de oxígeno disuelto; es posible que esta tasa sea diferente para el caso de limitación de oxígeno (condición para la formación de azufre elemental). La limitación de oxígeno al consorcio microbiano, trae como consecuencia una menor velocidad de crecimiento, que la que poseería si el oxígeno disuelto estuviera presente en exceso (DO>1mg/l). Lo anterior se puede explicar a partir de que este tipo de microorganismos obtiene menor energía para su crecimiento de la oxidación parcial de tiosulfato ($O_2/S_2O_3^{2-} < 1.0$) (ver ecuación 1-5); mientras tanto cuando llevan a cabo la oxidación total del tiosulfato ($O_2/S_2O_3^{2-} > 1.0$) (ver ecuación 1-6), estos obtienen una mayor energía.



Posteriormente Velasco (2001), que trabajó con el mismo consorcio que Alcántara (2000), reportó un sistema continuo y con recirculación, que permitió maximizar la producción y recuperación de azufre elemental por medio de un módulo de aireación, que esta separado del reactor. La separación de la aireación permite mantener condiciones de limitación de oxígeno y minimizar las turbulencias en el reactor (Janssen y col.,1997). Sin embargo para minimizar aun más las turbulencias (que favorece la sedimentación del azufre), se implementó un dispositivo en la parte media baja del reactor que permite la separación de dos zonas en el reactor (una sin turbulencias en la parte baja y otra con turbulencias en la parte alta)(figura 4). Esta configuración del sistema experimental permitió ajustar la relación molar por cargas de tiosulfato y oxígeno ($Q_{\text{O}_2}/Q_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}$, ver ecuaciones 3-16 y 3-17), y aproximarla a la relación estequiométrica ($\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) de 0.5, que favorece la formación del S^0 . Además, debido a su escasa turbulencia se reportó la recuperación de S^0 por sedimentación.

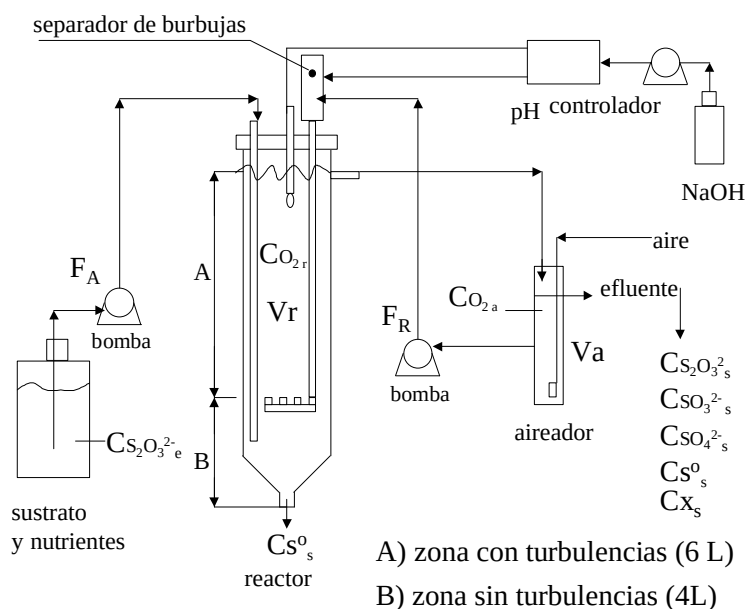


Figura 4. Sistema experimental, Velasco (2001).

1.4.2.3 Soportes para la formación de películas biológicas.

Las biopelículas microbianas son micro-colonias de bacterias adheridas a una superficie por medio de polisacáridos adhesivos excretados por las propias células (Madigan y col. 1998). La formación de biopelículas implica la acumulación de microorganismos (bacterias, hongos y microalgas) en una interfase, que puede ser sólido-líquido o líquido- líquido. El transporte de microorganismos a una interfase puede ocurrir pasivamente por difusión, sedimentación por gravedad o convección fluida. Las bacterias móviles pueden buscar activamente las superficies a través de un proceso quimiotáctico.

Los estudios sobre la colonización microbiana han demostrado que, sobre las superficies, la mayor parte de los microorganismos crecen envueltos en biopelículas.

Las bacterias han evolucionado elaborando mecanismos de adhesión y virtualmente todos los materiales naturales y sintéticos son susceptibles a la adhesión y colonización bacteriana. Incluso los materiales que presentan bajas energías libres de superficie, tales como el teflón y los plásticos hidrofóbicos son susceptibles de colonización bajo un amplio campo de condiciones fisicoquímicas.

Los medios de soporte que sirven para la formación de biopelículas, se pueden clasificar de acuerdo con las características de la superficie en la cual se adhiere la película biológica.

- Medio granular sin forma: Arena, rocas volcánicas, piezas de plástico y piezas de madera.
- Medio de soporte con forma definida: anillos Rashing, tubos de plástico, anillos Pall.
- Medios porosos: tubos de plástico poroso
- Palcas: de plástico y madera.

Las características generales que deben tener en general los medios de soportes son:

- Alto grado de adherencia de la biopelícula
- Alta superficie específica
- Baja resistencia al flujo de agua
- Estabilidad química y física, así como alta resistibilidad al cambio de calidad
- Suficiente durabilidad
- Alta capacidad para atrapar los sólidos suspendidos
- Espacios homogéneos que permitan un flujo uniforme en el filtro

Nagadomi y col. (2000), reportan que empleado cerámica porosa (bloques de aproximadamente 40 g (base seca) 4- 5 mm, Nagao Ceramic Co.,Ltd, Okayama, Japón. , fracción hueca de 0.8, gravedad específica aparente 2.3 y gravedad específica 2.4) se inmovilizaron bacterias fotosintéticas (*Rhodobacter sphaeroides* S, *Rhodobacter sphaeroides* NR-3, *Rhodopseudomonas palustris*) para tratar simultáneamente y en condiciones aerobias: compuestos susceptibles a oxidarse (cuantificados por la DQO), fosfato, nitrato y sulfuro de hidrógeno. En el tratamiento en lote se observó después de 48 h, una eliminación simultánea efectiva de DQO (89%), fosfato (77%), nitrato (99%) y H₂S (99.8%). En el tratamiento semi-continuo con velocidades de dilución de 0.17 a 0.75 d⁻¹, la eliminación de los cuatro componentes se observó aproximadamente después de un mes.

1.5 Modelación y simulación de bioprocesos.

El objetivo del modelamiento matemático y simulación de bioprocesos reales, es la creación de representaciones de fenómenos que los caracterizan en forma única, independientemente de su naturaleza o funcionalidad. En ingeniería, la identificación de sistemas esta dirigida preferentemente a la simulación de procesos con finalidades últimas que apuntan a la automatización y al control de procesos, conformando el núcleo de muchas funciones de supervisión.

Los modelos y la simulación requieren de una descripción matemática del proceso analizado.

La descripción matemática del proceso constituye el modelo en si, y se genera por la observación del comportamiento del proceso en distintas condiciones.

En la construcción de un modelo se consideran los siguientes aspectos de análisis:

- Identificación del sistema
- Análisis de las características intrínsecas del sistema:
Temperatura, pH, fuerza iónica, concentración de químicos, que modifican la actividad y estabilidad del proceso.
- Determinación de variables de estado

son la referencia del comportamiento que el modelo deberá emular. Las variables de estado caracterizan el sistema en cualquier tiempo de proceso.

- Determinación de parámetros.

En muchos casos los parámetros involucrados en los modelos de sistemas biológicos dependen fuertemente de las condiciones ambientales, como la temperatura y pH.

Las expresiones matemáticas que relacionan las variables de estado y los parámetros del sistema constituyen las ecuaciones de estado, que describen la evolución del sistema en el tiempo. Las ecuaciones de estado están basadas en balances básicos de conservación de masa y energía, estos entregan una relación entre tasas de consumo y generación de materiales en el sistema, estas relaciones están expresadas matemáticamente a través de ecuaciones algebraicas, diferenciales ya sea ordinarias en sistemas homogéneos o en derivadas parciales en sistemas heterogéneos.

La simulación del proceso real depende entonces de la reproducción de las curvas de evolución de las ecuaciones de balance de masa y energía, junto con el conjunto de ecuaciones algebraicas que describen las cinéticas de transporte y transformación de materiales. Para la solución de estas existen métodos de aproximación numérica, dado que en la mayoría de los casos no es posible obtener una solución analítica.

La solución del modelo matemático así formulado constituye una herramienta poderosa en la simulación del proceso en distintas condiciones de operación, optimización del proceso, diseño y escalamiento de este con fines productivos.

Un aspecto importante de la simulación de procesos es la validación de los resultados obtenidos con el comportamiento de las variables de estado en los experimentos. Las diferencias entre estos permiten evaluar la necesidad de correcciones al modelo o al planteamiento de los mecanismos básicos que lo describen.

Janssen (1996), reporta un modelo matemático de oxidación biológica de sulfuro en un reactor continuo como el que se ve en la figura 5. Este modelo tiene como principales suposiciones: el azufre y sulfato sólo son producidos por un mismo tipo de microorganismos, tanto la fase líquida como la gaseosa están idealmente mezcladas y que

el volumen de reactor y el flujo de líquido son constantes; la energía liberada de la oxidación del sulfuro sólo es usada para el crecimiento de los microorganismos, la oxidación de azufre elemental a sulfato no es considerada. De esta forma Janssen propuso una serie de balances de masa para el sulfuro, el azufre elemental, el tiosulfato, el sulfato, la biomasa y el oxígeno, consideró un biorreactor de mezcla completa en dos fases (gas y líquido).

A continuación se muestran los balances más importantes que involucran las variables operacionales como la carga de sulfuro y oxígeno (ecs. 1-7 a 1-9) además de la biomasa (ec. 1-13), que tienen influencia directa en la producción de sulfato y azufre en el biorreactor.

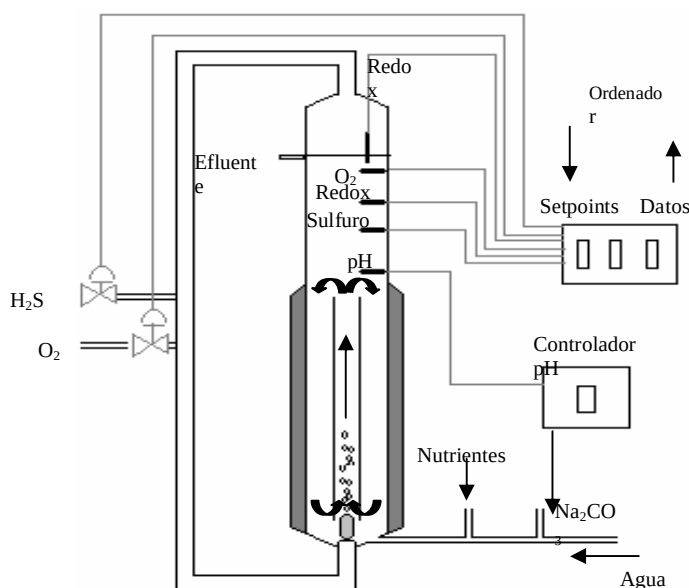


Figura 5. Biorreactor continuo de gas de ascenso y flujo continuo ($V= 10L$) para la oxidación de sulfuro ($pH=8$ y $T=30^{\circ}C$) reportado por Janssen (1996).

BALANCE DE SULFURO

$$\frac{d[HS]}{dt} = D\{[HS]_{in} - [HS]\} - X(R_S^* + R_{SO_4}^*) - 0.29[HS][O_{2liq}] \quad \text{Ec. 1-7}$$

OXÍGENO (DOS FASES)

BALANCE DE OXÍGENO (FASE GAS)

$$\frac{d[O_{2gas}]}{dt} = \frac{\phi_{O_{2gas}}}{V_{gas}} - k_l a \left(\frac{[O_{2gas}]}{m} - [O_{2liq}] \right) \quad \text{Ec. 1-8}$$

BALANCE OXÍGENO (FASE LIQUIDA)

$$\frac{d[O_{2liq}]}{dt} = D([O_{2liq,in}] - [O_{2liq}]) + k_l a \left(\frac{[O_{2gas}]}{m} - [O_{2liq}] \right) - X(0.45R_S^* + 1.82R_{SO_4^{2-}}^*) - 2R_{S_2O_3} \quad \text{Ec. 1-9}$$

El consumo de oxígeno Janssen lo calculó de acuerdo a la estequiometría de la oxidación de sulfuro:



Estequiométricamente, 0.5 o 2.0 moles de oxígeno son necesarios para la formación de un mol de azufre o sulfato respectivamente. Sin embargo de acuerdo a Stefess (1993) las cantidades molares requeridas de oxígeno son 0.45 y 1.82 debido a que el 9% de los electrones disponibles son requeridos para la fijación de CO₂.

BALANCE DE BIOMASA

$$\frac{dX}{dt} = X \left(R_{SO_4^{2-}}^* Y_{X/SO_4^{2-}}^* + R_S^* Y_{X/S}^* \right) - D[X] \quad \text{Ec. 1-13}$$

La reacción hacia sulfato (Ec. 1-11) es favorecida por los microorganismos, debido a que a partir de ésta, obtienen mayor energía que la proporcionada por la reacción hacia azufre (Ec. 1-10).

Janssen propuso que la producción de azufre elemental es descrita por la ecuación doble de Monod; mientras que la producción de sulfato es descrita por la ecuación de Haldane, que

considera la característica intrínseca de estos microorganismos a ser inhibidos en la producción de sulfato por sulfuro (Ver tabla 3).

Debido que en el biorreactor existieron concentraciones de oxígeno y sulfuro muy bajas, no le fue posible estimar experimentalmente las constantes de saturación e inhibición, así que los valores en estos parámetros los estimados mediante un análisis de sensibilidad de su modelo (tabla 3).

Tabla 3. Parámetros usados en el modelo de oxidación biológica de sulfuro.

AZUFRE	SULFATO
$R_S^* = R_{\max S}^* \left[\frac{[HS]}{K_1 + [HS]} \right] * \left[\frac{[O_{2liq}]}{K_2 + [O_{2liq}]} \right]$	$R_{SO_4^{2-}}^* = R_{\max SO_4^{2-}}^* \left[\frac{[HS]}{K_3 + [HS] + \frac{[HS]^2}{K_4}} \right] * \left[\frac{[O_{2liq}]}{K_5 + [O_{2liq}]} \right]$
$R_{\max S}^* = 436 \frac{mgHS}{mgN * hr} * [a]$	$R_{\max SO_4}^* = 149 \frac{mgHS}{mgN * hr} * [a]$
$K_1 = 1.0 \text{ mg HS/L}$	$K_3 = 0.03 \text{ mg HS/L}$
$K_2 = 0.05 \text{ mg O}_2/\text{L}$	$K_4 = 5.0 \text{ mg HS/L}$
	$K_5 = 0.05 \text{ mg O}_2/\text{L (ajuste)}$
$Y_{X/S} = 0.0015 \text{ mg N/mg HS} * [a]$	$Y_{X/SO_4} = 0.021 \text{ mg N/mg HS} * [a]$

El modelo fue alimentado con las siguientes condiciones de operación:

$$D = 0.2 \text{ h}^{-1}$$

$$V_{gas} = 1 \text{ L}$$

$$m = 32$$

$$k_a = 180 \text{ h}^{-1} * [b]$$

$$N = \text{biomasa}$$

[a] Buisman *et.al.*(1991). *Biotechnol. Bioeng.* **38**: 813-820

[b] Van't Riet and Tramper. *Basic Desing.* 1991, Marcel Dekker, New York.

Donde:

$D = \frac{F}{V}$	Tasa de dilución; h^{-1}
F	Flujo de alimentación, L/h
V	Volumen reactor, L
V_{gas}	Volumen de la fase gas, L
k_{la}	Coeficiente de transferencia de oxígeno; h^{-1}
$\phi_{O_2 gas}$	Flujo de oxígeno a la fase gas; mg/h
m :	Coeficiente de partición
$R_{SO_4^{2-}}^*$	Velocidad de formación de sulfato ; mg HS/mg N h
R_S^*	Velocidad de formación de azufre; mg HS/mg N h
$R_{S_2O_3}$	Velocidad de formación de tiosulfato; mg HS/mg N h^{-1}
$R_{max S^0}^*$	Velocidad máxima de formación de azufre, mg HS/mg N h
$R_{max SO_4^{2-}}^*$	Velocidad máxima de formación de sulfato, mg HS/mg N h

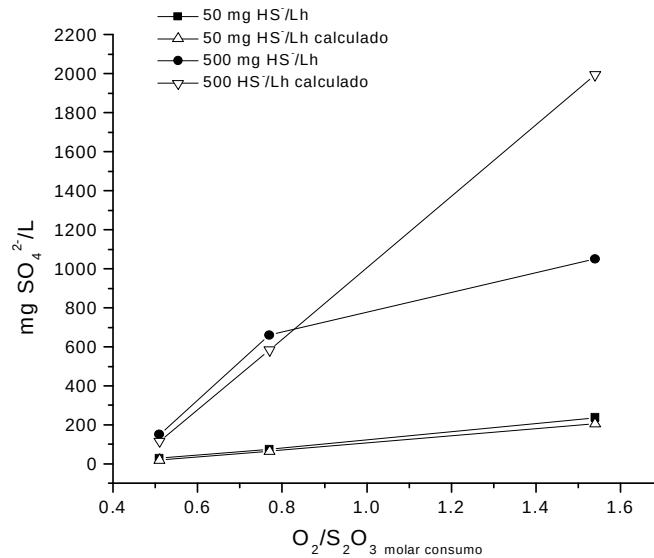


Figura 6. Comparación entre las concentraciones de sulfato medidas y calculadas por el modelo de Janssen (1996) en estado estacionario; a diferentes velocidades de carga de sulfuro y relaciones molares de consumo oxígeno sobre sulfuro.

Los valores calculados con el modelo para la concentración de sulfato tienen una buena aproximación con datos experimentales (Figura 6) hasta valores de carga de sulfuro de 500mg/L h, donde la concentración calculada es mucho mayor que la medida. Esto puede ser atribuido al alto valor usado en la velocidad específica de sulfato alimentada al modelo. El modelo reportado por Janssen tiene su mayor merito en cuanto a englobar e investigar los parámetros cinéticos que describen la naturaleza oxidativa de los microorganismos que utilizó, y que necesariamente deben ser diferentes cuando se utilice otro tipo de microorganismo y sustrato.

De aquí surge la inquietud de describir cinéticamente la naturaleza oxidativa del consorcio microbiano utilizado en el desarrollo del trabajo que será reportado en esta tesis.

1.6 Instrumentación para monitoreo y control en biorreactores.

Los sistemas de monitoreo en fermentaciones son una útil herramienta que nos ayuda a entender mejor los procesos microbiológicos y por tanto implementar estrategias correctas de control sobre los mismos.

Los sistemas de instrumentación y monitoreo se pueden agrupar en tres categorías:

- Fuera de línea (Off-line)
- Sobre línea (On-line)
- En línea (In-line)

Los sistemas FUERA DE LINEA (Off-line) involucran la separación discreta de muestras del medio a monitorear en intervalos de tiempo, para su subsiguiente tratamiento y análisis. Esta técnicas incluyen análisis químicos y uso de sistemas de instrumentación de laboratorio automatizado, sin embargo estas técnicas tienen la desventaja de que la medida estará desplazada del tiempo de proceso

Sistemas SOBRE LINEA (On-line) incluyen técnicas que utilizan el muestreo continuo a través de una corriente del proceso, con el subsecuente análisis del tiempo de respuesta efectivo que debe de estar dentro del rango permitido para tomar decisiones.

Ejemplos de estos tipos de sistemas se incluyen, los muestreos de corrientes de gas para un análisis sobre la línea mediante un espectrofotómetro de masas o cromatógrafo de gases, por un continuo diálisis del caldo de cultivo para el análisis por un HPLC

Finalmente los sistema EN LINEA (In-line) son aquellos para los cuales las sondas y sensores están directamente en contacto con el caldo de cultivo, dando una respuesta en tiempo real. Los sensores que se encuentran incluidos en esta categoría son los de temperatura, pH, oxígeno disuelto, potencial redox y presión, entre otros.

El objetivo fundamental de los sensores es traducir una señal física o química en una señal eléctrica, como ejemplos podemos mencionar los termopares, los cuales convierten una diferencia de temperatura en un potencial eléctrico; un electrodo de pH convierte la actividad del ión hidrógeno en un potencial eléctrico.

Los sistemas de medición en línea representan, para este trabajo, la herramienta principal que nos ayudará a un mejor entendimiento y caracterización del sistema experimental en estudio.

Entre las principales sistemas de instrumentación y medición en línea útiles para este trabajo se encuentran:

1.6.1 Temperatura

El calor puede ser transferido libremente a través de la pared celular, e influenciar directamente el metabolismo celular, es por eso que la temperatura representa una variable importante a monitorear y controlar.

Los sensores más usados son los termo-transmisores, termopares y bulbos rellenos.

1.6.2 Velocidades de flujo de líquidos y gases.

Medir y controlar estas variables es de suma importancia, ya que a partir de éstas se realizan balances de materiales alrededor del fermentador. Los rotámetros son los aparatos más comúnmente usados para la medición de flujo junto con el equipo de bombeo calibrado para ese objetivo.

1.6.3 Potencial hidrógeno (pH).

Esta es una de las más importantes variables que se debe de conocer y controlar, pues afecta directamente las condiciones de solubilidad, transporte de nutrientes y crecimiento celular en un biorreactor.

Los sensores que se usan son los electrodos de membrana combinada, los cuales deben poseer la característica de ser repetidamente esterilizables y recalibrados, para ser recolocados en la operación de los procesos; algunas veces deben resistir altas presiones.

1.6.4 Oxígeno Disuelto (DO)

Los sensores de oxígeno disuelto han estado disponibles desde hace tiempo y son uno de los sensores claves en el proceso de una fermentación.

Estos sensores normalmente presentan características de ser esterilizables o no según la exigencia del proceso.

Los electrodos de oxígeno disuelto miden la presión parcial del oxígeno y no la concentración del oxígeno disuelto, es por eso que las lecturas de DO deben ser corregidas a cambios en la presión del reactor. Los electrodos o sondas de DO han sido usadas para determinar el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_1a) y la velocidad de consumo de oxígeno ($q_{O_2} X$). Estas variables pueden ser relaciones por la ecuación 1-14:

$$\frac{dO_2}{dt} = k_1a(O_2^* - O_2) - q_{O_2} X \quad \text{Ec. 1-14}$$

Donde O_2^* = concentración de oxígeno disuelto en equilibrio con la presión parcial del oxígeno en el gas (mg/l); O_2 = concentración de oxígeno disuelto en el líquido (mg/l); k_1a = coeficiente de transferencia de oxígeno volumétrico (h^{-1}); q_{O_2} = velocidad específica de consumo de oxígeno (mg/l h); X = concentración de masa celular.

1.6.5 Potencial de Oxido-Reducción (ORP).

El potencial redox (ORP) es un parámetro global que mide la tendencia de una solución a aceptar o donar electrones.

El ORP se mide a través de un electrodo de platino con una referencia a un electrodo de hidrógeno conectado a un potenciómetro. Se cuantifica en unidades de voltaje que representa la cantidad de energía liberada por unidad de tiempo cuando un cierto número de electrones viajan desde una fase a otra.

La relación termodinámica del ORP representado por E_H de acuerdo a la composición de la solución es generalmente conocida como la ecuación de Nernst:

$$E_H = E_H^0 + \frac{2.303RT}{nF_e} \log \frac{\prod_i [ox]^{n_i}}{\prod_j [red]^{n_j}} \quad \text{Ec. 1-15}$$

para una mitad del par redox: $n_i ox + ne^- \longrightarrow n_j red_j$.

Donde: E_H^0 : potencial estándar (Volt)

$[ox]$ actividad del compuesto oxidado, mol/L

$[red]$ actividad del compuesto reducido, mol/L

ne^- número de electrones transferidos

n_i : moles del compuesto oxidado

n_j : moles del compuesto reducido

R_g : constante de los gases (8.31 J/mol K)

T temperatura absoluta, K

F_e : constante de Faraday, ($9.64 \cdot 10^5$ coloumb/mol)

Entre las desventajas de la aplicación del ORP en mezclas de compuestos, es que el valor resultante será producto de la contribución de todos los componentes.

Janssen y col. (1998) reportaron que en la oxidación biológica del sulfuro a azufre y sulfato y la reducción del oxígeno en agua representan los principales cambios redox que ocurren en este proceso. La medición del ORP de esta forma estará determinado por estas reacciones.

El valor ORP en principio depende de los potenciales estándar (E_H^0) de las mitades que forman el par redox y de las concentraciones de los reactantes (Ec. 1-15). El ORP puede ser calculado mediante la ecuación de Nernst si existe equilibrio termodinámico; sin embargo en la práctica la medición del ORP es principalmente determinado por el compuesto con la más alta densidad de intercambio de corriente, es decir la habilidad que tiene éste para intercambiar electrones con la superficie del electrodo de platino, en este sentido varios autores revelan que existen compuestos que tienen alta capacidad de intercambiar sus electrones de valencia con la superficie de platino, tal es el caso de sulfuro de hidrogeno , para el cual existe una relación lineal entre la medida ORP y el logaritmo de la concentración del sulfuro de hidrógeno en ambientes naturales (Berner 1963, Eckert 1993 y Frevert 1984).

La interpretación de los datos ORP es difícil. Lengyel y Nyiri (1965) reportaron que bajo condiciones aeróbicas el ORP es esencialmente una medición de la concentración del oxígeno disuelto.

La utilidad de los datos es cuestionable, porque la sonda de medición ORP esta directamente en contacto con el seno del ambiente extracelular el cual probablemente es totalmente diferente del ambiente intracelular. Para procesos anaeróbicos, la sonda es útil en el monitoreo de ambientes altamente reducidos. Sin embargo esta situación esta sujeta sólo al monitoreo de ambientes extracelulares.

Otra desventaja del ORP es su fuerte dependencia del pH, se han reportado decrementos en el ORP de 33mV con el incremento en una unidad en el pH.

Pero a pesar de estas dificultades, algunas correlaciones para los datos ORP han sido reportadas para procesos de fermentación específicos (Akashi y col. 1978; Dahod, 1982; Janssen 1998).

Dahod (1982) ha comparado las lecturas de DO con el ORP para la fermentación de la penicilina. Partiendo de que el oxígeno es el aceptor final de electrones en procesos aeróbicos, la sonda DO mide el potencial de oxidación de la reacción terminal, mientras que la sonda ORP puede medir el potencial de oxidación de todos los productos excretados en el caldo de fermentación. De acuerdo a Dahod (1982) la concentración de los metabolitos intermediarios sobre un patrón oxidativo, es controlado por la disponibilidad de oxígeno en la reacción terminal.

Habrán más especies reducidas en el ambiente extracelular y un bajo valor ORP, si el oxígeno disuelto es escaso. En fermentaciones con pastillas, el oxígeno disuelto en el seno del líquido puede ser más alto que el oxígeno disuelto presente en el centro de la pastilla, el cual generalmente es muy bajo. Una sonda DO que muestra una alta lectura puede indicar suficiente transferencia de oxígeno cuando en realidad no es el caso. Una sonda redox podría potencialmente ser útil en interpretar correctamente esta situación.

El ORP ha sido correlacionado con la formación de productos y cambios metabólicos.

Akashi (1978) observo que la producción óptima de l-leucina por *B. Lactofermentum* ocurre cuando el ORP se encuentra entre -200mV y 220mV.

Janssen y col. (1998) reportan que la formación de azufre elemental a partir de la oxidación biológica de sulfuro puede ser optimizada por el control del estado redox de la solución. El azufre al ser insoluble puede ser removido por sedimentación gravitatoria y ser reutilizado como materia prima, por ejemplo en el proceso de biolixiviación. Se mostró que con el

suministro a la corriente gaseosa recirculada de cantidades de oxígeno cercanas a las estequiométrica, la formación de sulfato es minimizada. El potencial redox es principalmente determinado por la concentración de sulfuro, debido a que este compuesto tiene una alta densidad de intercambio de corriente con la superficie del electrodo de platino. Por mantener un determinado punto de control redox, el reactor en realidad se convierte en un “Sulfide-stat”. Demuestran, que en un reactor de oxidación de sulfuro, la medición del potencial redox usando un electrodo redox pulido, se determina mejor cinética que termodinámicamente. El valor redox óptimo para la formación de azufre fue de -147 y -137 mV (electrodo de referencia H_2 , temperatura $30^\circ C$, pH 8). Los resultados fueron usados para el control de varias instalaciones de gran escala, como las que desulfurizan biogás y gas natural a alta presión.

En resumen, aun cuando el ORP intracelular y extracelular puedan variar independientemente, y la sonda ORP sólo es sensible a ambientes extracelulares, las mediciones ORP pueden proveer de correlaciones útiles en la formación de productos, particularmente en regiones donde los rangos útiles de oxígeno disuelto son difíciles de medir con sondas DO.

2 JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

En la problemática ambiental los compuestos de azufre representan por su toxicidad, corrosión y mal olor un serio contaminante del ambiente, por lo cual es necesario disminuir sus emisiones. El trabajo reportado en esta tesis se dirige al tratamiento biológico de compuestos reducidos de azufre, presentes en efluentes de desecho de la industria petrolera (aguas ácidas, amargas y desflemadas) y que normalmente son vertidas a ríos y mares.

Los trabajos de Alcántara (2000) y Velasco (2001) representan notables avances en lo que se refiere a estudios de caracterización microbiológica del consorcio sulfoxidante y operacionales del reactor, todo esto con la finalidad de caracterizar y evaluar la producción de azufre elemental a partir de la oxidación parcial de tiosulfato.

La posible implementación a nivel industrial del sistema mostrado en la figura 4 en el tratamiento de efluentes líquidos contaminados con compuestos reducidos de azufre provenientes de la industria petrolera, hace necesario conocer y caracterizar mejor el Sistema Sulfoxidante (SS) de tiosulfato.

La escasa información del comportamiento del consorcio sulfoxidante en condiciones limitantes de oxígeno, hace necesario conocer su respuesta y limitaciones a cambios operacionales en tales condiciones,

La poca sensibilidad de un electrodo de DO a valores menores a 1 mg O₂ /L no representa una buena variable para conocer el estado de operación que guarda el SS. Por tanto se hace necesario investigar una nueva variable con un mayor rango de sensibilidad en condiciones micro-aerobias (que favorecen la producción de azufre elemental), que nos permita controlar la producción de azufre elemental

La conjunción del conocimiento acumulado por el grupo de trabajo puede realizarse mediante la modelación matemática del SS, involucrando las características naturales del consorcio en expresiones cinéticas, junto con parámetros de transferencia de oxígeno.

En vista de lo anterior, los objetivos del presente trabajo de investigación son:

Objetivo General.

- Contribuir al desarrollo del proceso de sulfoxidación de tiosulfato por medio del estudio de variables de control relevantes y su descripción matemática.

Objetivos Particulares.

- Mantener un consorcio estable de bacterias sulfoxidantes en condiciones continuas.
- Caracterizar el estado que guarda el reactor continuo de oxidación parcial de tiosulfato a azufre elemental mediante el monitoreo en línea del potencial redox y oxígeno disuelto
- Determinación de la tasa de transferencia de oxígeno a la fase líquida (k_La).
- Evaluar la tasa de dilución crítica del sistema sulfoxidante bajo condiciones de limitación de oxígeno.
- Desarrollar y validar un modelo matemático del sistema sulfoxidante.

3 MATERIALES Y METODOS

En este capítulo se presentan el conjunto de medios experimentales y teóricos que ayudaron al desarrollo del presente trabajo. Se describe la conformación física del sistema experimental empleado en la oxidación de tiosulfato. Además se describe paso a paso el desarrollo de las determinaciones analíticas (pH, ORP, DO, concentraciones de especies de azufre y biomasa) cuyos resultados fueron de gran utilidad para conocer el estado de funcionamiento del SS. También se presentan definiciones de parámetros operacionales útiles en la caracterización del SS, como son la tasa de dilución crítica ($D_{critica}$), tiempo de residencia (t_r), k_{la} , rendimiento y selectividad a azufre, entre otros.

3.1 Material biológico.

Como inóculo se utilizó un consorcio de microorganismos sulfoxidantes del género *Thiobacilli* adaptados a tiosulfato por un periodo de 4 años, en un fermentador agitado BioFlo New Brunswick III. Se tomaron 10 mL de inóculo y se hizo crecer en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de medio a pH de 7, 30 °C y 180 rpm de agitación. A continuación, cuando el pH medido se encontraba en 5, los cultivos provenientes de 5 matraces se centrifugaron y se resuspendieron en solución salina estéril. Se llevó a una densidad óptica de 1 para posterior inoculación en el reactor.

3.2 Medio de cultivo

Los microorganismos se crecieron en un medio descrito por Sublette (1987), utilizando como fuente de energía el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) que es un compuesto reducido de azufre.

El tiosulfato de sodio se utilizó como modelo de estudio en gran parte del trabajo, dado que permite su manipulación sin riesgos asociados a toxicidad. Es importante señalar que este compuesto se ha utilizado como modelo para estudios de sulfoxidación (Sublette, 1987; Steffes y col., 1996; Kelly y col., 1997)

Tabla 4. Medio de cultivo

Compuesto	Concentración (g/L)
Na ₂ HPO ₄	1.2
KH ₂ PO ₄	1.8
MgCl ₂ . 6H ₂ O	0.4
NH ₄ Cl	0.5
CaCl ₂	0.03
MnCl ₂	0.02
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.02
NaHCO ₃ .	2.0
S ₂ O ₃ ²⁻	9.0

El pH del medio de cultivo para tasas de dilución (D) menores de 1.0 d^{-1} se mantuvo en 7.0, que es el pH resultante del buffer de fosfatos empleados en la preparación del medio de cultivo mostrado en la tabla 4, a D superiores a 1.0 d^{-1} el pH del medio se mantuvo en 5.0 por la adición al medio de cultivo de H₃PO₄.

Lo anterior con la finalidad de mantener el control del pH en el SS en 5.0 sin tener que adicionar excesivas cantidades de HCl al SS, para mantener el control del pH.

3.3 Reactor.

Se empleó un sistema piloto continuo con recirculación, conformado por dos recipientes de vidrio en forma cilíndrica interconectados entre si, y un sedimentador, como se muestra en la figura 7 y 8, a los primeros recipientes se les denominará: “Reactor ” y “aireador ”, teniendo las dimensiones siguientes: diámetro: 14 cm y 6.5 cm; longitud: 65cm y 50 cm ; volumen : 10L y 1.6L(variable) respectivamente.

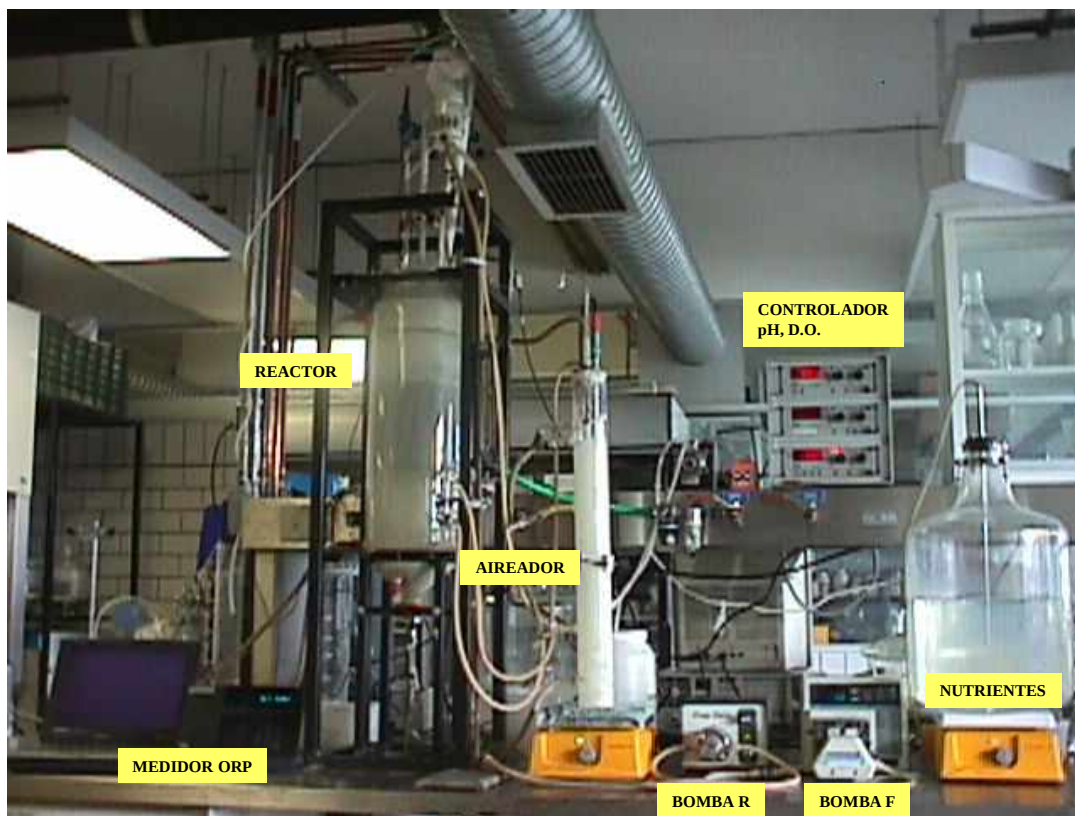


Figura 7. Sistema experimental empleado para la oxidación biológica de tiosulfato.

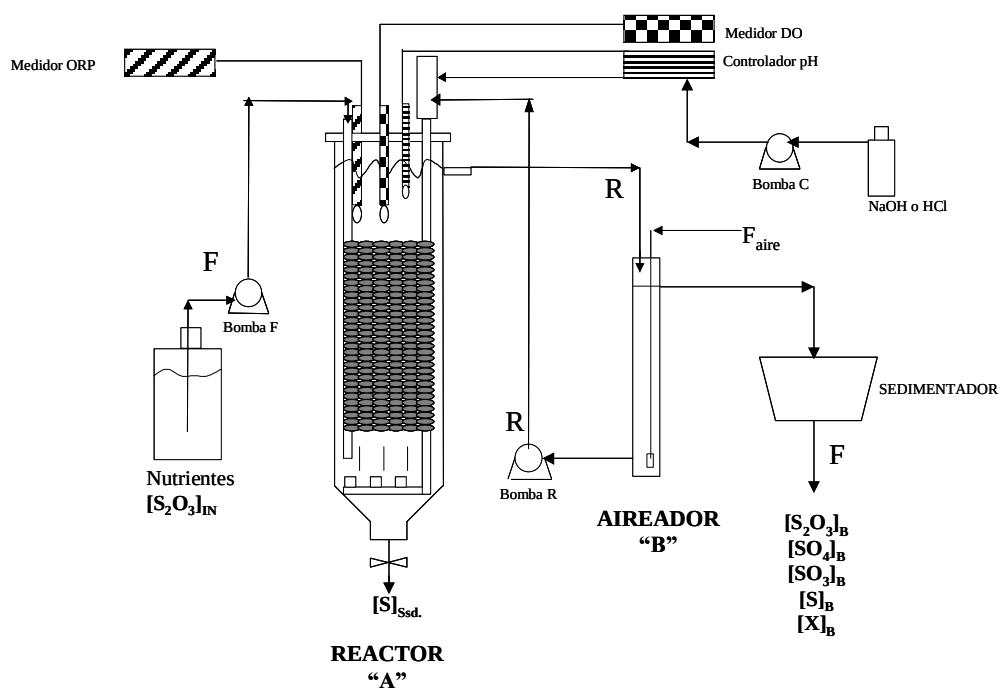


Figura 8. Diagrama de flujo del sistema experimental

Las corrientes de alimentación (*F*) y recirculación (*R*) fueron alimentadas desde el fondo del reactor mediante su respectiva bomba de velocidad variable (ver tabla 5). El suministro de oxígeno fue hecho mediante el burbujeo de aire, cuyo flujo al aireador fue controlado a través de un rotámetro. La tabla 5 resume las características de los principales componentes que conforman el Sistema Sulfoxidante (SS).

Tabla 5. Principales componentes del SS

Componente	Capacidad	Marca	Modelo
Reactor	10 L	SEV	
Aireador	1.6, 1.2, 0.8 L	Ninguna	
Sedimentador	8 L	SEV	
Bomba <i>F</i>	0.1 – 0.21 L/h	Cole Parmer	No. 7523-30
Bomba <i>R</i>	20 – 165 L/h	Cole Parmer	No. 75225-00
Bomba <i>C</i>	12 rpm	Cole Parmer	No. 7543-30
Rotámetro	0 – 5 LPM	Cole Parmer	
Electrodo pH		Applikon	Applisens sensor PM GEL L= 385mm
Electrodo O ₂		Applikon	Applisens sensor Disolved oxygen L= 590mm 20L
Electrodo ORP		Applikon	Applisens sensor Combination ORP
Controlador de pH y O ₂ disuelto.		B&C Electronics	pH controller 565.2 OD controller 565.2

En el interior del reactor se instaló un soporte de biomasa, formado por una serie de tubos corrugados de polietileno, colocados en forma vertical , que estuvieron sumergidos durante los primeros 48 días de operación del SS. La figura 9 muestra un corte del soporte usado, en el interior y exterior de los tubos existe un flujo continuo (*R*) del caldo de fermentación, en la misma dirección que la orientación de los tubos.

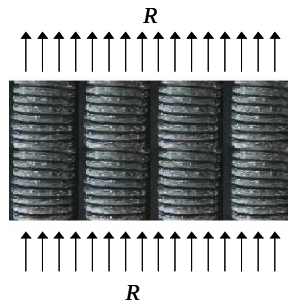


Figura 9. Flujo del caldo de fermentación a través del soporte de biomasa probado.

3.4 Definición de los parámetros que caracterizan al Sistema Sulfoxidante (SS)

3.4.1 Definición de la tasa de dilución y tiempo de residencia.

En base a las variables de operación del sistema se definen los siguientes parámetros que caracterizan los estados de operación a los cuales fue sometido el SS.

$$\text{Tasa de dilución} = D = \frac{F}{V_{total}} \quad \text{Ec. 3-1}$$

$$\text{Tiempo de residencia} = t_r = \frac{1}{D} \quad \text{Ec. 3-2}$$

Donde:

D ; d^{-1}

t_r ; d

F : Flujo de alimentación; L/h

V_{total} : Volumen reactor y aireador; L

3.4.2 Definiciones de Rendimiento, Selectividad, Conversión y Tasa de remoción específica.

A continuación se definen los siguientes parámetros (Felder y Rousseau 1991) que nos permitirán evaluar el desempeño del SS.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Moles formadas de producto deseado: } S^0}{\text{Moles de } S^0 \text{ que se formarían si no hubiera reacciones adyacentes y si el sustrato limitante (} S_2O_3^{2-} \text{) reaccionara completamente.}} \quad \text{Ec. 3-3}$$

$$\text{Selectividad} = \frac{\text{Moles formadas de producto deseado: } S^0}{\text{Moles formadas de producto no deseado: } SO_4^{2-}} \quad \text{Ec. 3-4}$$

$$\text{Tasa de remoción específica} = q_s = \frac{1}{X} * \left(\frac{d[S_2O_3^{2-}]}{dt} \right) \quad \text{Ec. 3-5}$$

$$\text{Conversión} = \frac{\text{Moles iniciales de tiosulfato} - \text{Moles a la salida de tiosulfato}}{\text{Moles iniciales de tiosulfato}} \quad \text{Ec. 3-6}$$

3.5 Determinaciones analíticas

Estas fueron realizadas con la finalidad de conocer el estado de operación del SS, para esto se monitoreo en continuamente el pH, ORP, DO, e intermitentemente las concentraciones de especies de azufre y biomasa, para posteriormente con los resultados proponer parámetros de caracterización, como lo son la velocidad de consumo de oxígeno ($q_{O_2} X$), el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_l a$), la relación molar teórica $O_2/S_2O_3^{2-}$ (R_{mt}) y la tasa de dilución crítica ($D_{critica}$).

Mediciones analíticas

3.5.1 Potencial Hidrógeno (pH)

El pH fue medido directamente desde el reactor, a través de un electrodo *Applisens sensor PM GEL L = 385mm* y mantenido en un pH de 5.0 por medio de un controlador *pH controller 565.2 B&C Electronics*, que adicionó NaOH o HCl según el caso de operación.

3.5.2 Potencial Redox (ORP)

El ORP fue medido a través de un electrodo de platino (Ag/AgCl) conectado a un medidor-adquisidor de datos *720A plus pH/ISE* de la marca *ORION*.

El electrodo fue calibrado a una temperatura de 30°C con dos soluciones saturadas de quinidrona a un pH de 7 (+79 mV) y 4 (+258 mV).

3.5.2.1 Medición del ORP fuera del SS

Este fue realizado en un matraz de 3 bocas con un volumen de 300mL donde en cada boca fue insertado un electrodo ORP, una manguera de burbujeo y una salida de escape, sellando todo perfectamente; en el matraz se prepararon soluciones de concentración conocida por separado de sulfito, sulfato, tiosulfato a través de la disolución de sus respectivas sales, controlando la temperatura en 30° C y pH en 5.0 en todos los casos, a través de una baño y adición de NaOH o HCl según sea el caso respectivamente, y el oxígeno disuelto en 0.00, 0.30 y 5.45 mg O₂/L mediante el burbujeo de helio, mezcla de aire al 1% O₂ y aire respectivamente. La técnica de medición consistió en mantener constante un valor de oxígeno disuelto e ir adicionando cantidades conocidas de la sal del compuesto en cuestión, alcanzando de esta forma concentraciones conocidas, cuyo cambio modifica el valor del ORP. El valor representativo del cambio ORP fue aquel que se alcanzó al cabo de 3 min.

3.5.2.2 Medición del ORP en el SS

Esta medición se realizó insertando directamente el electrodo ORP en el reactor, siguiendo su evolución.

3.5.3 Oxígeno Disuelto (DO)

La concentración de oxígeno en la fase líquida fue determinado en el reactor y aireador mediante un electrodo polarográfico de oxígeno disuelto (*Applisens sensor dissolved oxygen L = 590mm 20L*) en un rango calibrado de 0.0 hasta 5.45 mg O₂/l, que es la concentración

de saturación correspondiente a las condiciones del medio de cultivo en la ciudad de México, el electrodo fue conectado a un controlador *OD controller 565.2 B&C Electronics* del cual fue leído directamente el valor de oxígeno disuelto.

3.5.4 Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_l a$).

La determinación de $k_l a$ fue hecha con un flujo de alimentación F de 0.21 L/h, manteniendo 3 volúmenes diferentes en el aireador, y en cada volumen se fijaron diferentes flujos de aire, manteniendo el flujo de recirculación en 35.1 L/h. Las condiciones experimentales vienen resumidas en la tabla 6.

Tabla 6. Condiciones experimentales utilizadas para el cálculo de $k_l a$.

Volumen aireador, V_B , L	Recirculación , R, L/h	F_{aire} , L/h
1.67	35.1	6, 12, 24, 60, 120, 180, 240
1.25	35.1	6, 12, 24, 60, 96, 120, 180, 240
0.84	35.1	6, 12, 24, 60, 132, 180, 240

En cada una de estas condiciones se midió la concentración de oxígeno disuelto en el aireador y reactor, además de la velocidad de consumo de oxígeno en el aireador $q_{O_2} X$ (ver sección 3.5.5), con la finalidad de elaborar un balance de oxígeno alrededor de la unidad aireadora.

A partir del balance de oxígeno en dos fases (Ec. 3-7 y 3-8), alrededor de la unidad aireadora, y considerando mezclado ideal en ambas fases se tiene:

$$\text{Fase gaseosa: } \frac{d[O]_G}{dt} = D_G ([O_2]_G^{IN} - [O_2]_G) - k_l a \left(\frac{[O_2]_G}{m} - [O_2]_B \right) \quad \text{Ec. 3-7}$$

Fase líquida:
$$\frac{d[O]_B}{dt} = D_R^B ([O_2]_A - [O_2]_B) + k_l a \left(\frac{[O_2]_G}{m} - [O_2]_B \right) - q_{O_2} X \quad \text{Ec. 3-8}$$

Donde:

- $k_l a$ Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno; h^{-1}
 $m=55$ Coeficiente de partición (a la presión atmosférica y salinidad según tablas de corrección)
 $[O_2]_A$ Concentración de oxígeno disuelto en el reactor, o de entrada al aireador; $mg\ O_2/L$
 $[O_2]_B$ Concentración de oxígeno disuelto en el aireador; $mg\ O_2/L$
 $[O_2]_G^{IN}=300\ mg\ O_2/L_{aire}$ Concentración de oxígeno en el aire
 $q_{O_2} X$ Velocidad de consumo de oxígeno disuelto, $204 \pm 6\ mg\ O_2/Lh$ (ver sección 3.5.5)
 $D_G = \frac{F_{aire}}{V_{aire}}$, Tasa de dilución del aire, h^{-1} Ec. 3-9
 F_{aire} Flujo de aire, L_{aire}/h
 V_{aire} Volumen de aire en el aireador, L
 $D_R^B = \frac{R}{V_B}$, Tasa de dilución de recirculación; h^{-1} . Ec. 3-10
 R Flujo de recirculación; $35.17\ L/h$
 V_B Volumen de aireador; L

El balance se simplifica suponiendo que la concentración en la fase gas y líquida del oxígeno alcanzan rápidamente el estado estacionario, pues los flujos de recirculación R y de aire alimentado F_{aire} son constantes durante el tiempo de operación, además de que la actividad oxidativa del consorcio ($q_{O_2} X$) no cambia significativamente durante el experimento (ver tabla 8). A continuación se presenta el balance de oxígeno en dos fases (Ec. 3-11 y 3-12) simplificado, que nos permite estimar el $k_l a$ para sistemas en régimen continuo y estado estacionario.

Fase gaseosa:
$$[O_2]_G = \frac{D_G [O_2]_G^{IN} + k_l a [O_2]_B}{\frac{k_l a}{m} + D_G} \quad \text{Ec. 3-11}$$

Fase líquida:

$$k_l a = \frac{D_R^B \{ [O_2]_B - [O_2]_A \} + q_{O_2} X}{\left([O_2]_G / m - [O_2]_B \right)} \quad \text{Ec. 3-12}$$

Como se observa, $k_l a$ es función directa de D_G y de la tasa de dilución de recirculación (D_R^B), y estas variables a su vez determinarán las concentraciones de oxígeno disuelto a la entrada y salida del aireador.

3.5.5 Velocidad de consumo de oxígeno ($q_{O_2} X$)

Esta variable fue necesario determinarla, para integrarla al balance de oxígeno en el aireador. $q_{O_2} X$ se determinó para cada volumen de aireador y por duplicado.

Se tomó una alícuota de 250mL proveniente del aireador, donde se halla la mayor concentración de oxígeno disuelto en el sistema, para proceder a someter la alícuota a agitación e introduciendo un electrodo de DO, para seguir el cambio de O_2 disuelto en el tiempo. Con los datos obtenidos se calcula $q_{O_2} X$, esta corresponderá a la mayor pendiente obtenida de graficar tiempo vs. concentración de O_2 disuelto (Figura 10).

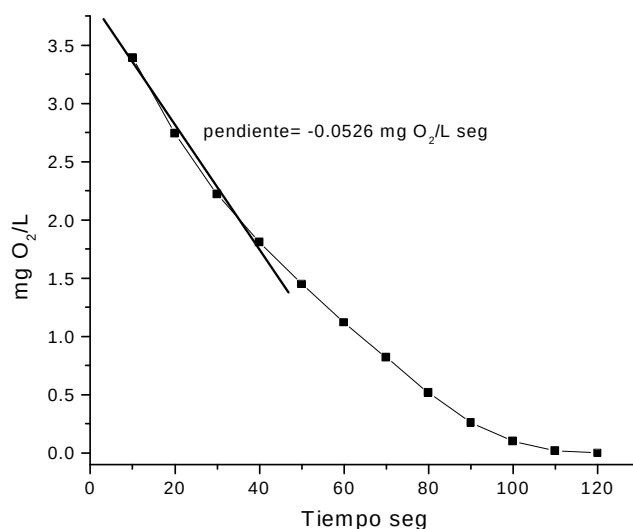


Figura 10. Estimación de $q_{O_2} X = 189\ mg\ O_2/L\ h$

3.5.6 *Análisis de las especies de azufre:*

3.5.6.1 *Sulfito (SO_3^{2-}), Sulfato (SO_4^{2-}) y Tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$).*

La detección y cuantificación de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_3^{2-} , SO_4^{2-} se realizó en forma rápida y precisa mediante cromatografía de líquidos (HPLC). En este método se usó un detector PDA (Photo Diode Array 996, Waters) leyendo a una longitud de onda de 308 nm. Se usó ftalato de potasio (0.04 M pH 4) como fase móvil a un flujo de 0.8 mL/min., en una columna (IonoSpher-A) de intercambio iónico de 250 mm de longitud y 4.5 mm de diámetro interno, empacada con sílica. La temperatura a la cual se realizó la detección fue de 30 °C y 1500 psi de presión.

Se preparó una solución 10 mM de sulfito, sulfato y tiosulfato a partir de sus respectivas sales de sodio en agua desionizada, se hicieron diluciones para tener diferentes concentraciones de los compuestos y determinar la linealidad de la respuesta, encontrándose que el área bajo la curva de absorbancia fue directamente proporcional a la concentración (ver apéndice).

Preparación de la muestra para el análisis en el HPLC.

Se hace una dilución de la muestra (1:10) y se filtra 1 mL de la misma en una membrana de nylon de 13 mm de diámetro y 0.45 μm de tamaño de poro. Posteriormente se aplican 20 μL de la muestra en el contenedor del cromatógrafo y se procede a la inyección.

3.5.6.2 *Azufre elemental (S^0) en suspensión y sedimentado.*

Debido a la naturaleza física del S^0 este se presenta en el sistema formando una suspensión saturada con la fase líquida, parte de este permanece en suspensión, mientras que otra parte sedimenta en la parte inferior del reactor, por lo que fue necesario realizar las determinaciones de S^0 precipitado y en suspensión.

S^0 en suspensión

Se determinó por espectrofotometría la cantidad de S^0 en suspensión (Bartlett y Skoog, 1954), Este método se basa en la reacción de cianuro de sodio con azufre elemental para

formar tiocianato de sodio. En una solución de acetona, el azufre elemental reacciona rápida y cuantitativamente con cianuro para dar el complejo tiocianato. El tiocianato puede ser determinado colorimétricamente por la adición de acetona con cloruro férrico. El método es sensible para concentraciones de 2 ppm de azufre elemental. Los peróxidos, sulfuros, bisulfuros y mercaptanos no interfieren cuando están presentes en grandes cantidades. El método alcanza una precisión del 98-99%.

Todas las determinaciones espectrofotométricas fueron hechas a través de un espectrofotómetro (Spectronic 20D Milton Roy Company).

S^0 precipitado.

Para la determinación del S^0 precipitado fue necesario, primero cuantificar los sólidos totales precipitados; estos se determinaron como sigue:

1. En un vaso de precipitado previamente pesado se recolectaron los sólidos sedimentados de la parte inferior del reactor.
2. Se dejó sedimentar la muestra por 1 hora y posteriormente se decantó el sobrenadante.
3. Se dejó secar la muestra por 24 h a una temperatura de $70^{\circ}C$ y posteriormente se pesó.
4. La diferencia del peso en el vaso será la cantidad de sólidos sedimentados.

La determinación de la cantidad de S^0 en el sólido sedimentado se determinó mediante el siguiente procedimiento.

1. Se prepara una suspensión con una concentración de 50 mg/L del sólido seco sedimentado y otra suspensión de la misma concentración con azufre elemental grado reactivo en éter de petróleo. Por el método de espectrofotometría indicado anteriormente se determina el $\%S^0$ que contiene la muestra sedimentada, asumiendo que la absorbancia leída para la suspensión de azufre elemental grado reactivo corresponde al 100% en contenido de S^0 .
3. La cantidad de azufre elemental contenido en el sólido sedimentado estará dado por:

$$(\text{peso sólidos sedimentados}) * (\%S^0). \quad \text{Ec. 3-13}$$

El $\%S^0$ contenido en el sólido sedimentado, permaneció alrededor del 85%.

3.5.7 Determinación de la relación molar ($O_2/S_2O_3^{2-}$) teórica (R_{mt}).

La relación molar estequiométrica (R_{me}) esta acotada y definida por las ecuaciones 3.14 y 3.15, donde una $R_{me} = 2$ favorecerá la formación de sulfato (Ec. 3.14), mientras que una $R_{me} = 0.5$ favorece la formación de azufre elemental (Ec. 3.15).



Las relaciones molares teóricas $O_2/S_2O_3^{2-}$ (R_{mt}) se evaluaron mediante el cálculo de las cargas de O_2 (Q_{O_2}) y $S_2O_3^{2-}$ ($Q_{S_2O_3^{2-}}$) que se consumen en el SS.

Estas cargas vienen definidas como sigue:

$$Q_{O_2} = \frac{R * ([O_2]_B - [O_2]_A)}{V_{total}} \quad \text{Ec. 3-16}$$

$$Q_{S_2O_3^{2-}} = \frac{F * ([S_2O_3^{2-}]_{in} - [S_2O_3^{2-}]_B)}{V_{total}} \quad \text{Ec. 3-17}$$

donde:

Q_{O_2}	Carga de oxígeno consumido, mg O_2 /L h
$Q_{S_2O_3^{2-}}$	Carga de tiosulfato consumido, mg $S_2O_3^{2-}$ /L h
F	Flujo de alimentación, L/h
R	Flujo de recirculación, L/h
$[O_2]_A$	Concentración de oxígeno disuelto en el reactor; mol O_2 /L
$[O_2]_B$	Concentración de oxígeno disuelto en el aireador; mol O_2 /L
$[S_2O_3^{2-}]_{in}$	Concentración de tiosulfato en la alimentación; mol $S_2O_3^{2-}$ /L
$[S_2O_3^{2-}]_B$	Concentración de tiosulfato a la salida del sistema; mol $S_2O_3^{2-}$ /L
V_{total}	Volumen de reactor y aireador, L

Por tanto podemos definir la relación molar oxígeno / tiosulfato teórica (R_{mt}) como sigue:

$$R_{mt} = \left(\frac{O_2}{S_2O_3^{2-}} \right)_{teorics} = \left(\frac{Q_{O_2}}{Q_{S_2O_3^{2-}}} \right) \quad \text{Ec. 3-18}$$

El control en la R_{mt} es una forma operacional práctica de aproximarse a la R_{me} que favorece la producción de azufre elemental.

3.5.8 Cálculo de la tasa de dilución crítica ($D_{critica}$) por el Método del Lavado

El método del lavado consiste en aumentar sobre $D_{critica}$ el valor de D de operación en el cultivo en estado estacionario de forma que se produzca el lavado. En esta situación rige la ecuación diferencial 3-19. Dado que $D > D_{critica}$ las células se lavarán del sistema, pues la velocidad de crecimiento (μ_{max}) será menor que la tasa D de operación.

$$\frac{dX}{dt} = -DX + \mu_{max}X \quad \text{Ec. 3-19}$$

Donde X es la concentración de biomasa expresada en mg biomasa/L.

La prueba de lavado para este trabajo consistió en alcanzar en el SS un estado estacionario a una $D = 0.5 \text{ d}^{-1}$ (el pH se controló en 5.0 mediante la adición de NaOH 0.5N), para proceder posteriormente a aumentar súbitamente la alimentación para obtener una $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$ que es mayor que μ_{max} , en ambas tasas de dilución se mantuvo una R_{me} cercana a 0.5, que favorece la formación de S^0 .

Se realizaron dos pruebas de lavado, en $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, en la primera prueba el pH se controló con HCl 1N y la segunda con NaOH 0.5N tasa a la cual se obtienen los perfiles de concentraciones de compuestos azufrados y biomasa útiles en el cálculo de $D_{critica}$.

Integrando el balance de biomasa (Ec. 3-19) se obtiene:

$$\ln X = (\mu_{max} - D) * t + C \quad \text{Ec. 3-20}$$

Se linealizaron los perfiles de biomasa obtenidos en los experimentos, de forma de obtener una línea recta en el plano $\ln X$ vs t , cuya pendiente es $(\mu_{max} - D)$, procediendo de esta forma

al calculo de μ_{max} . La $D_{critica}$ estará dada por la velocidad máxima de crecimiento por parte del consorcio, esto es $\mu_{max} = D_{critica}$.

Un parámetro útil que se puede calcular a partir de μ_{max} y que nos ayuda a darle una interpretación física a la velocidad de crecimiento es el tiempo de duplicación (t_d), que se define como el tiempo que media entre dos duplicaciones sucesivas, y que se puede calcular a partir de la ecuación 3-21 :

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad \text{Ec. 3-21}$$

Es importante mencionar, que la $\mu_{m\acute{a}x}$. estimada a partir de las condiciones limitantes de oxígeno descritas en este experimento, en realidad será una μ que corresponde al nivel de oxígeno disuelto mantenido durante la prueba experimental, pues como se define en la Ec. 4-21 y Ec. 4-22, la μ depende tanto de la concentración del tiosulfato y oxígeno. La concentración de tiosulfato se considera en exceso durante la prueba de lavado.

3.6 Mediciones microbianas

Con la inclusión del soporte de biomasa en el sistema fue necesario realizar dos tipos de determinaciones de biomasa, en suspensión y en el soporte.

3.6.1 Biomasa en suspensión.

Esta fue determinada indirectamente por la cuantificación de proteína presente en el medio de reacción, mediante el método descrito por Lowry (1951) utilizando una curva patrón con albúmina de 0 a 500 mg/L.

Para la estimación de la biomasa presente , se ponderó la concentración de proteína por un factor de 2 considerando que la biomasa contiene 50% de proteína (Peppler 1967).

3.6.2 Biomasa en soporte.

Se probaron 3 tipos de soporte: manguera de $\frac{3}{4}$ pulgada de superficie exterior rugosa, tubos corrugados de polietileno *poliflex* de $\frac{1}{2}$ pulgada de diámetro y rejillas de plástico, retirando del medio de reacción una muestra de cada uno de estos, se sumergió cada muestra en 500mL de agua destilada, para ser sometido posteriormente el conjunto soporte- agua a un sonicador *Bransonic mod. B200R-1* por una hora, al cabo de este tiempo se obtiene una suspensión de biomasa y azufre productos del desprendimiento de las paredes del soporte sumergido.

Se procedió después a la determinación de proteína en suspensión, tomando una alícuota homogénea de la suspensión sonicada. La alícuota fue llevada a una dilución 1:6, lo anterior con la finalidad de eliminar la interferencia del azufre, haciendo de esta forma una solución diluida.

El valor reportado se refiere a la cantidad de biomasa por unidad de área de soporte. Para el caso de la manguera y las rejillas usados como soportes, se calculó el área superficial total de estas, suponiendo que toda el área sirvió de soporte de los microorganismos; pues la baja turbulencia existente en el reactor no provoca desprendimiento apreciable de la biopelícula formada ($N_{Re} = 80$, Velasco (2001)).

Para los tubos *Poliflex* se aplicó el análisis hecho por Orantes (2000), el cual considera diferentes formas de adherencia, es decir la proporción del área disponible que es usada por los microorganismos para formar biopelículas según las condiciones hidrodinámicas prevalecientes en este tipo de tubos; para nuestro caso de estudio y de acuerdo a las observaciones hechas, se consideró que la biopelícula sigue totalmente el contorno del medio de soporte como se muestra en la Figura 11.

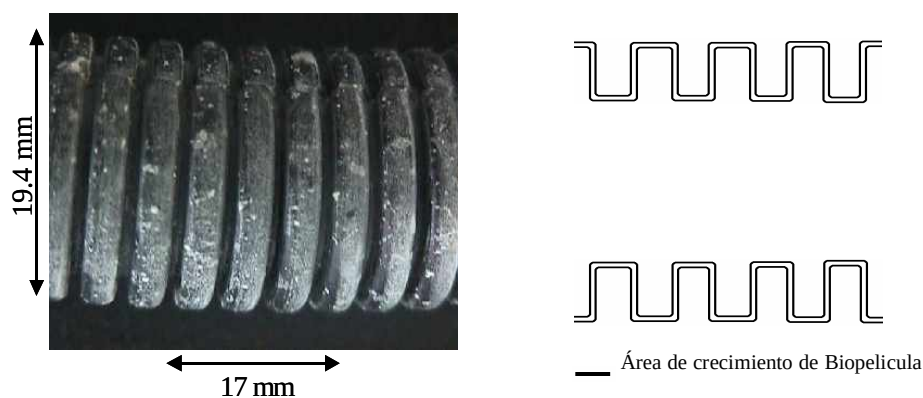


Figura 11. Tubo *Poliflex* usado como soporte de biomasa.

Orantes (2000) reportó para este soporte y diámetro nominal de $\frac{1}{2}$ in, un área de crecimiento de la biopelícula de $3.46E-0.3 \text{ m}^2$ por 0.016 m de longitud de tubo. Así de esta forma se calculó el área total de crecimiento ponderando por la longitud total de soporte utilizado en el reactor.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La finalidad de este capítulo es presentar los datos experimentales obtenidos de la operación de un sistema continuo y con recirculación (SS), que oxida biológicamente tiosulfato a azufre elemental. Estos resultados sirven para conocer las características del consorcio sulfoxidante y las limitaciones operacionales del SS en condiciones micro-aerobias. Asimismo se evalúa y explica la contribución de la unidad aireadora en la oxidación del tiosulfato, y su afectación en la producción de azufre elemental. Se proponen criterios de diseño y operación que permitan minimizar el consumo de oxígeno en la unidad aireadora. Se formula una correlación para el ORP del caldo de fermentación, que puede ser útil para conocer el estado de funcionamiento del SS, ésta correlación además nos permite conocer aproximadamente la concentración de tiosulfato en el caldo de fermentación. Por último se propone un modelo matemático del SS, el cual es validado, comparando los resultados predichos con los datos experimentales reportados para este SS.

4.1 Operación.

4.1.1 General.

Se mantuvo en operación el Sistema Sulfoxidante (SS) como el descrito en la sección 3.3 por espacio de 220 días, sometiénolo a diferentes perturbaciones operacionales, que serán descritas con detalle más adelante. Estas perturbaciones fueron realizadas con la finalidad de evaluar la respuesta y las limitaciones del SS a estos cambios, con especial interés en condiciones de limitación de oxígeno ($[O_2] < 0.1 \text{ mg/l}$). En el proceso industrial esta condición sería la ruta para la obtención de S^0 a partir de compuestos reducidos de azufre. Se evaluó en condiciones limitantes de oxígeno la tasa de dilución crítica ($D_{critica}$) del SS, operando el sistema a tasas de dilución de lavado, o sea superiores a la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) pero en limitación de oxígeno del consorcio sulfoxidante.

Al mismo tiempo se evaluó y monitoreó permanentemente la respuesta del Potencial de Oxido-Reducción (ORP) a las mismas perturbaciones; se calculó el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno k_1a en la unidad aireadora, esto con el objetivo de caracterizar y cuantificar su contribución a la oxidación del tiosulfato en el SS

La figura 12 muestra el desempeño global del SS durante el periodo de estudio, señalando las diferentes etapas experimentales.

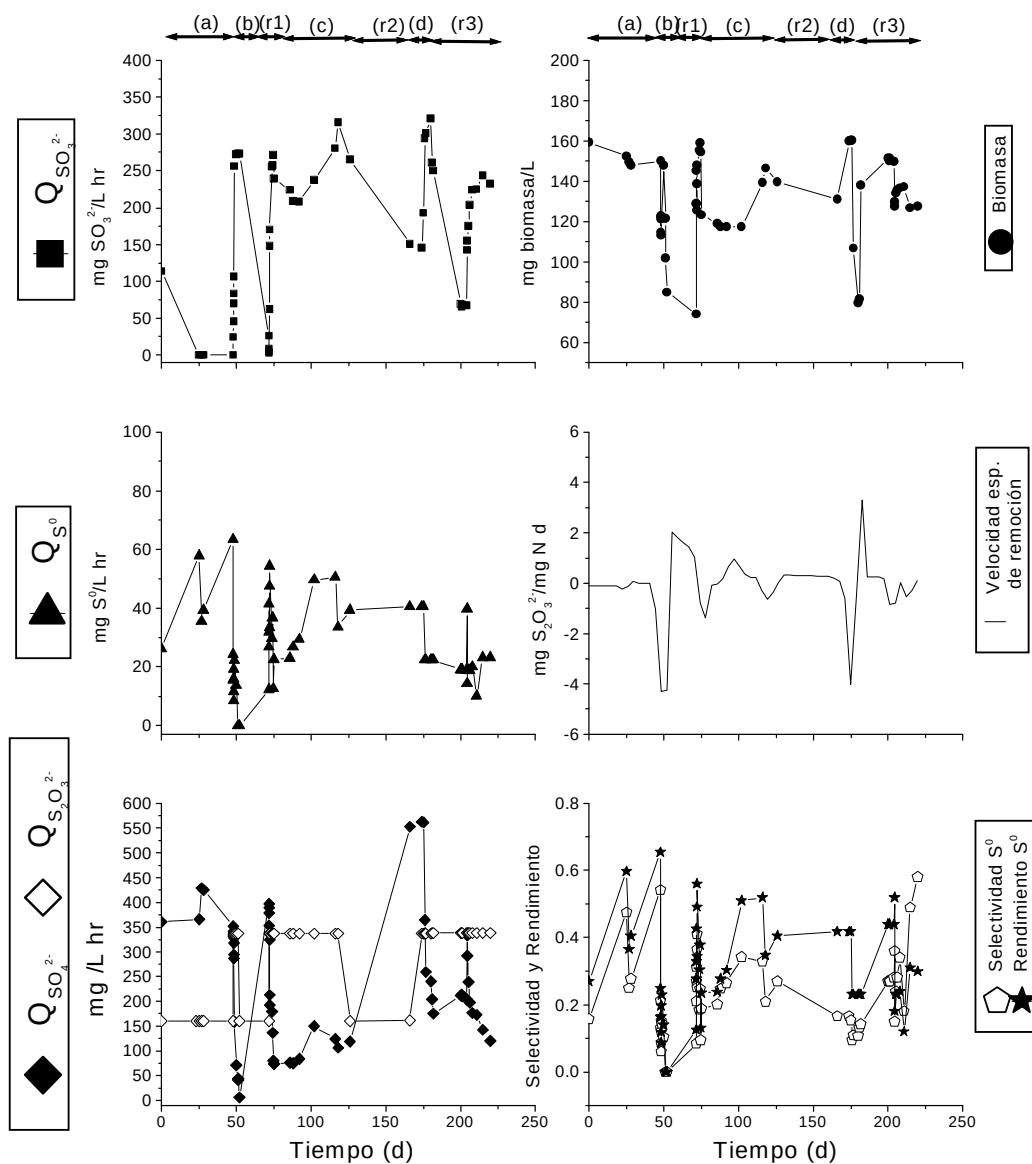


Figura 12. Desempeño global del SS a lo largo del periodo de estudio

4.1.1.1 Etapas experimentales

Etapa (a) 0– 48 días: El SS fue operado a una tasa de dilución $D = 0.5d^{-1}$, registrándose rendimientos teóricos hacia azufre elemental de 65%.

En esta etapa se evaluó el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{la}) en la unidad aireadora, que será descrito en la sección 4.1.2.4. También se insertó un soporte como el descrito en la sección 3.6.2. con el fin de aumentar la población microbiana en el SS, para lograr incrementar las velocidades de remoción de tiosulfato; este ultimo resultado no fue cuantificado pues no se contaron con los datos suficientes, debido a la presencia de fallas operacionales como fueron interrupciones en la alimentación y falla en el sistema de control del pH, y sólo se reporta la cantidad de biomasa adherida a las paredes de los diferentes tipos de soporte probados.

Etapa (b) 48- 52 días: Con el objetivo de investigar la tasa de dilución critica, el SS se cambió la tasa de dilución de $D = 0.5 \text{ d}^{-1}$ una $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, y de esta forma producir el lavado (Pirt y Callow, 1960), aumentando el valor de D sobre $D_{critica}$ en un cultivo en estado estacionario.

Etapa (r1) 52- 75 días: Restauración de la población microbiana, mediante la reinoculación del sistema (se agregó aproximadamente 1 L del azufre sedimentado obtenido de otras etapas experimentales) y la aireación directa por 18 d en el reactor manteniendo la operación a $D = 0.5 \text{ d}^{-1}$, durante esta etapa no se siguió el desempeño día a día, de modo que al cabo de 18 días la concentración de proteína mostró niveles alrededor de 100 mg/L y entonces se procedió a la nueva adaptación del consorcio a condiciones de limitación de oxígeno por 3 días, para dejarlo listo para la siguiente etapa experimental.

Etapa (c) 75 – 120 días: Restablecido el sistema, se procedió en esta etapa a la operación nuevamente a una $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, esta vez recirculando la biomasa periódicamente por los primeros 6 días, la intención fue lograr que los microorganismos pudieran adaptarse a las nuevas condiciones de operación.

Etapa (r2) 120 – 165 días: Restauración de la población bacteriana en el SS, de igual forma como se describió en (r1)

Etapa (d) 165 – 175 días: Segunda prueba de lavado, aumentando el valor de D sobre $D_{critica}$ del cultivo en estado estacionario.

Etapa (r3) 175-220 días: Restauración de la población microbiana en el SS.

4.1.2 Caracterización del sistema.

4.1.2.1 Etapa (a): Operación.

Esta etapa corresponde al periodo de conocimiento y familiarización con el SS, instalándose además 3 diferentes tipos de soportes, evaluando la capacidad de estos para permitir la formación de biopelículas por parte del consorcio sulfoxidante. Los resultados reportados se refieren a la cantidad de biomasa por unidad de área de soporte.

Los resultados del análisis se muestran en la tabla 7:

Tabla 7. Resultados de adherencia de biomasa en soportes

Tipo de soporte	mg biomasa/ cm ²	Densidad de área cm ² /cm ³
Tubo <i>Poliflex</i>	0.2312	4.33
Manguera	0.0619	4.19
Rejilla PVC	0.0125	3.06

El tubo *Poliflex* posee la mayor capacidad de adherir biomasa a su superficie además de tener la mayor densidad de área, por lo cual se convierte en la mejor opción operacional de los soportes probados, para ser utilizado en la remoción biológica de compuestos reducidos de azufre.

4.1.2.2 Etapas (b) y (d). Pruebas de Lavado: Calculo de la tasa de dilución crítica.

Durante estas etapas se investigó la tasa de dilución crítica ($D_{critica}$) para el SS, a condiciones limitadas de oxígeno ($[O_2] < 0.1$ mg/l) necesarias para la formación de azufre elemental. Para la realización de ésta y las demás etapas experimentales se ajustó la R_{mt} cercana a 0.23 (Ec. 3.18) por medio de la manipulación de Q_{O_2} y $Q_{S_2O_3^{2-}}$. Este último valor de la R_{mt} , corresponde a la relación óptima para la formación de S^0 ($R_{me} = 0.5$) debido a las contribuciones de oxígeno no controladas del aireador (Ver sección 4.1.2.4).

Etapa (b). Prueba de Lavado 1:

En primera instancia se muestran los resultados de la etapa (b) en la Figura 13. Esta es la primera ocasión en que el SS es sometido a $D = 1.0$ d⁻¹; los resultados muestran un lavado

del SS con el aumento de $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, la concentración de sulfato y azufre en el medio decrece.

La determinación de proteína estimada por el método de Lowry tuvo interferencias, que se derivaron indirectamente del aumento en D, se piensa que podría deberse a la acumulación de compuestos aun no identificados, y que al no ser transformados por el consorcio microbiano a D cercanas a 1 d^{-1} , la presencia excesiva de estos compuestos alteró completamente el valor de la absorbancia medida.

Los resultados de la determinación indicaron que la concentración de proteína se incrementaba a tasas de dilución de lavado, contradiciendo la naturaleza del experimento, y que fue comprobado al centrifugar cada muestra, la pastilla de biomasa formada era cada vez menor, hasta hacerse insignificante con el transcurrir de la prueba de lavado, no reflejándose la caída en la velocidad de producción de sulfato, acumulación de tiosulfato.

Por lo anterior la biomasa se estimó a partir del rendimiento de mg. de biomasa formada a partir de un gramo de tiosulfato consumido (Y_{x/S_2O_3}) obtenido en etapas experimentales

donde la D de operación fue 0.5 d^{-1} y donde la interferencia en la determinación de proteína (acumulación de compuestos indeseables) se observó que era mínima, resultando un valor de 18 mg biomasa/g $S_2O_3^{2-}$ que se encuentra próximo al reportado para este mismo consorcio por Alcántara (2000) que fue de 22 mg biomasa/ g $S_2O_3^{2-}$.

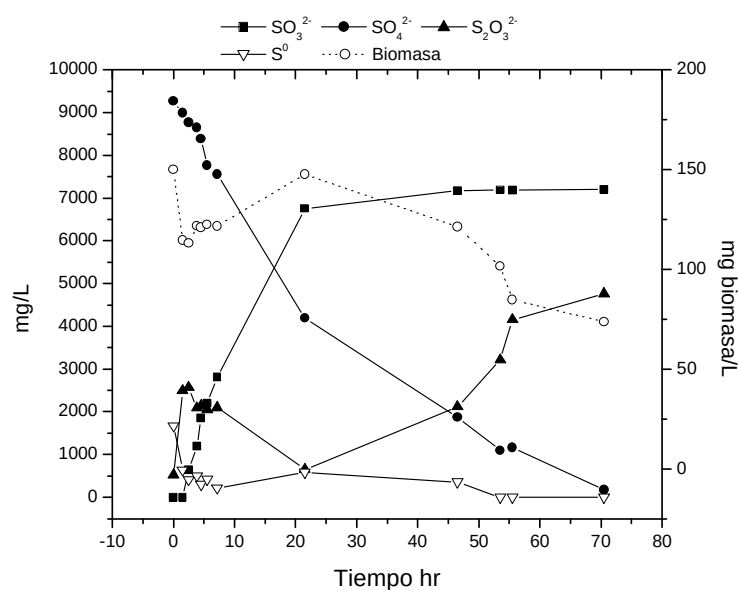


Figura 13. Desempeño del SS durante la primera prueba de lavado, cambio de $D = 0.5 \text{ d}^{-1}$ a $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 9000 \text{ mg/L}$, $[\text{SO}_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 6500 \text{ mg/L}$, $R_{mt} = 0.23$.

La acumulación de sulfito durante la prueba de lavado, es posible se deba a:

- La oxidación química del tiosulfato a sulfito en el contenedor de la alimentación, por la adición al medio mineral de FeCl_3 (ver tabla 4), el cual es un fuerte agente oxidante,
- Para este consorcio (Kawasaki y col. 2002) el sulfito tiene una velocidad biológica de consumo menor comparada con la del tiosulfato,
- El tiempo de residencia en el SS cambia de 2 a 1 día, reduciéndose el tiempo de contacto entre el sulfito y los microorganismos de modo que el sulfito casi no se consume en el reactor y es por eso que se acumula en el SS llegándose a igualar la concentración existente en éste con la concentración de sulfito presente en la alimentación (Figura 13).

Según se muestra en la Figura 13, el tiosulfato se acumula según lo esperado, hasta el tiempo de 7 h, donde se produce una interrupción en la alimentación que se prolonga hasta el tiempo de 22h. La interrupción en la alimentación propicia que la concentración de tiosulfato disminuya, sin embargo al reestablecer la alimentación, el lavado prosiguió.

La tasa de dilución crítica se evaluó según se describió en la sección 3.5.8., obteniendo la linealización mostrada en la Figura 14.

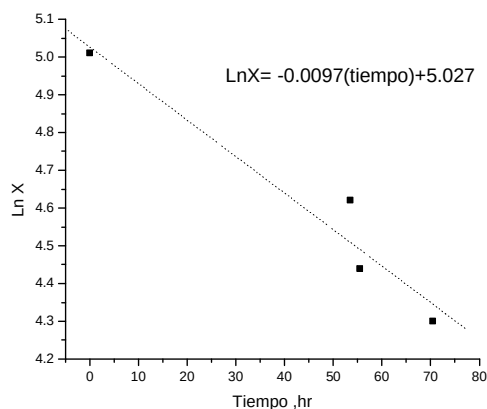


Figura 14. Linealización de los datos de biomasa para la prueba de lavado 1.

De la Figura 14 se observa que la pendiente de la recta es $(\mu_{\max} - D)$. De esa forma se obtiene una $\mu_{\max} = 0.775 \text{ d}^{-1}$, cuya interpretación física se puede trasladar al concepto de tiempo de duplicación (t_d), que es de 0.894 días.

Debido a la escasez de puntos en el cálculo de $\mu_{\max}$, se propuso confirmar los datos antes presentados mediante la repetición del experimento, cuyos resultados vienen descritos a continuación.

Etapas (d). Prueba de Lavado 2:

Se procedió a la repetición del experimento después de las etapas de adaptación (c) y restauración (r2), sólo que ahora el pH del medio de alimentación se ajustó en 5.0 (en la primera prueba de lavado existía un pH 7.0 con el objetivo de reducir la excesiva adición de HCl en el control del pH) y $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8700 \text{ mg/L}$ a una $R_{mt} = 0.23$.

Los resultados muestran que el sistema se estabilizó en $D = 0.45 \text{ d}^{-1}$, entonces se procedió a aumentar súbitamente la alimentación para obtener una $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, tasa a la cual se obtuvieron los siguientes perfiles de concentraciones de especies de azufre y biomasa calculada (Figura 15).

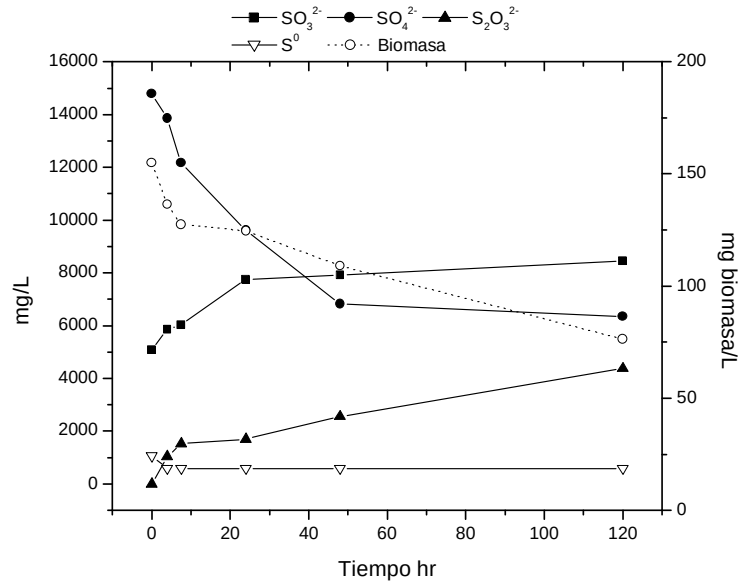


Figura 15. Desempeño del SS durante la segunda prueba de lavado, cambio de $D = 0.45 \text{ d}^{-1}$ a $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8700 \text{ mg/L}$ y $[\text{SO}_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8600 \text{ mg/L}$, $R_{mt} = 0.23$.

Los resultados muestran un lavado del SS con el aumento de $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$, si se observa la concentración de sulfato y azufre en el medio, la determinación de proteína al igual que en el experimento anterior de lavado tiene interferencias, así que para el calculo de $\mu_{\text{máx.}}$ se consideró la biomasa calculada a partir del rendimiento $Y_{X/\text{S}_2\text{O}_3}$.

Se procedió entonces al calculo de $\mu_{\text{máx.}}$, linealizando los datos de concentración de biomasa y el tiempo, mostrados en la figura 16, cuya pendiente es $(\mu_{\text{máx.}} - D)$. De esa forma se obtiene una $\mu_{\text{máx.}} = 0.893 \text{ d}^{-1}$, y un tiempo de duplicación (t_d) de 0.777 días, lo cual confirma los resultados de la primera prueba de lavado.

Se recuerda que $\mu_{\text{máx.}}$ estimada a partir de las condiciones limitantes de oxígeno para este experimento, en realidad corresponde a la μ a una concentración de oxígeno cercana a la constante de saturación para el oxígeno (K_s) y sin limitación de tiosulfato. Una $\mu_{\text{máx.}}$ real será aquella en la cual no exista ninguna limitación de los sustratos involucrados en el crecimiento.

De esta forma se puede decir que la tasa de dilución crítica en condiciones de limitación de oxígeno esta próxima a 0.8 días, valor que está de acuerdo a las condiciones experimentales a las cuales ya había sido operado el SS.

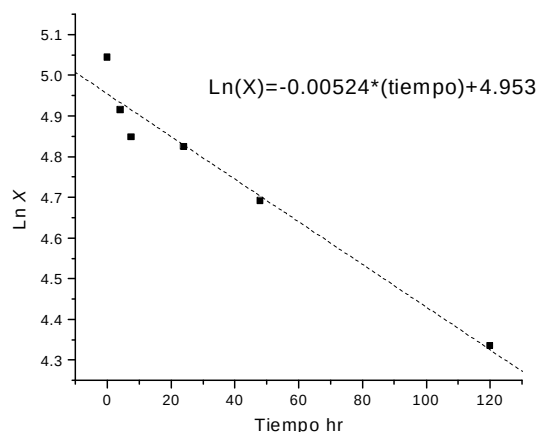


Figura 16. . Linealización de los datos de biomasa para la prueba de lavado 2.

4.1.2.3 Etapa (c). Adaptación mediante recirculación de células microbianas.

Con la finalidad de lograr la adaptación del consorcio a $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$ en condiciones de limitación de oxígeno, se recircularon las células del efluente; la recirculación se realizó a través de la centrifugación de parte del efluente (10000 rpm) con el fin obtener las células concentradas, y de esta forma recircular intermitentemente, no habiendo desplazamientos importantes de volumen del medio de reacción.

Se observa en la Figura 17 un periodo inicial donde se recircularon las células concentradas provenientes del efluente. Esta recirculación se realizó intermitentemente en volúmenes de 300 mL a los tiempos 50, 75, 99, 127 y 149 h y como se observa, la adición de células no incrementó el consumo de tiosulfato por lo que se procedió a interrumpir la recirculación de células y se dejó al sistema adaptarse a las nuevas condiciones de operación.

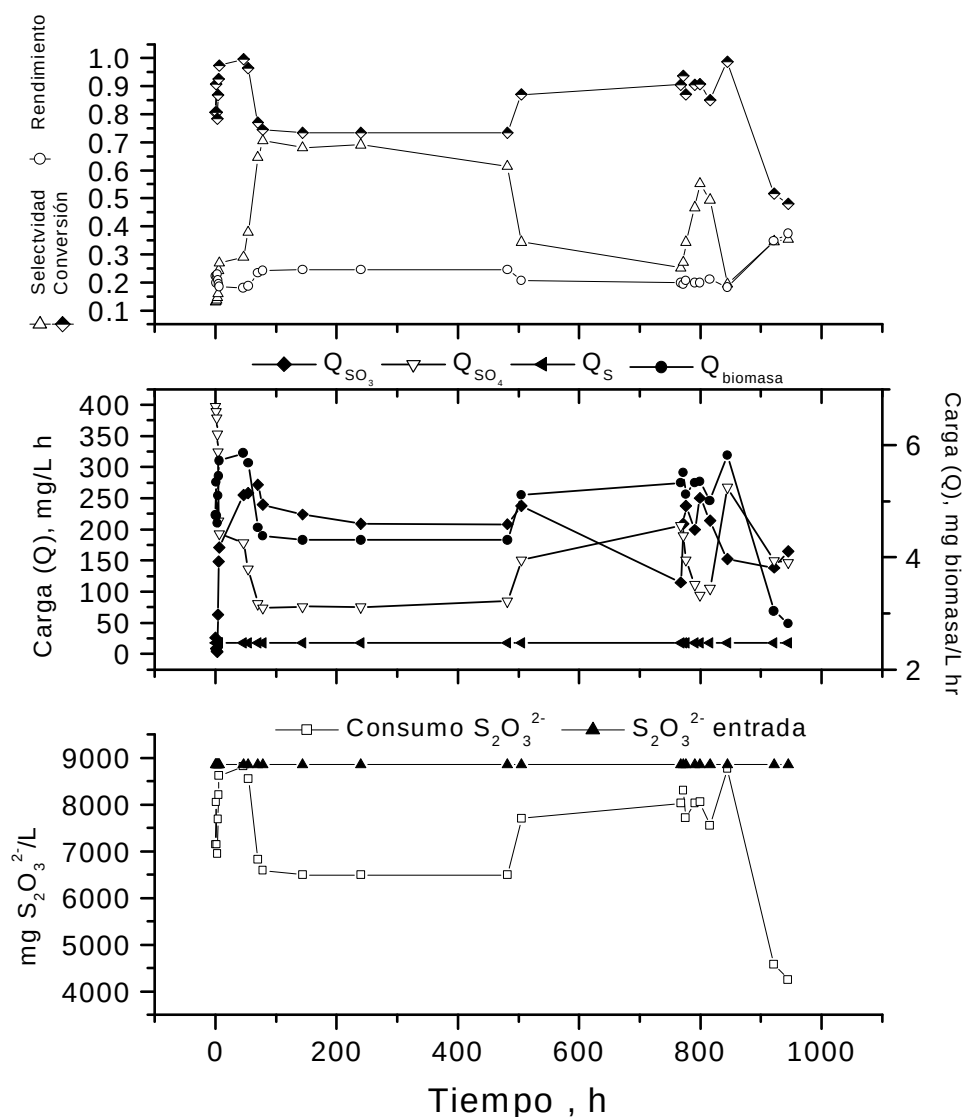


Figura 17. Adaptación mediante recirculación de células, $D = 1.0 \text{ d}^{-1}$ y $[S_2O_3^{2-}]_{\text{inicial}} = 8900 \text{ mg/L}$, $R_{mt} = 0.23$.

La adaptación se fue dando y se registró un estado estacionario a partir de las 100 h y hasta las 500 h de operación. El rendimiento máximo obtenido hacia S^0 hasta ese tiempo fue del orden de 25%, que son bajos comparados con el 65% obtenido a una $D = 0.5 \text{ d}^{-1}$; además se observa la acumulación de sulfito proveniente de la alimentación que no es consumido, la presencia de sulfito no era tan significativo a tasas de diluciones menores a 1.0 d^{-1} pues el

tiempo de residencia en el SS era suficiente para que los microorganismos lo consumieran parcialmente.

Después de las 500h de operación el sistema registró un incremento en la velocidad de remoción de tiosulfato, debido a interrupciones en la alimentación, aumentándose de esta forma la relación molar O_2/S_2O_3 ; y que al reestablecer las condiciones de alimentación el sistema se vuelve inestable, lo que demuestra que $D > 1\text{ d}^{-1}$ y limitación de oxígeno el consorcio tiene muchos problemas para la adaptación además que el SS posee bajos rendimientos y selectividad a azufre. La conversión de tiosulfato $D > 1\text{ d}^{-1}$ se reduce hasta valores de 0.4 al tiempo de 950 h ($D < 1\text{ d}^{-1}$ la conversión llega a 1.0). Esto se debió a que gran parte de los microorganismos ya habían sido lavados.

Por tanto se puede decir que el consorcio sulfoxidante tiene como característica particular la falta de adaptabilidad a cambios operacionales. De esta forma el SS con rango de operación de $D \geq 1\text{ d}^{-1}$ y de limitación de oxígeno, no representa un buen estado de operación, pues como se observa de la Figura 17 los rendimientos y selectividad a azufre y conversión de tiosulfato son bajos comparados con los registrados a tasas $D < 1\text{ d}^{-1}$, además de que bajo este régimen de alimentación el SS es inestable, con riesgo a perder los microorganismos por un lavado, ya que la tasa de dilución crítica para este SS es de 0.8 d^{-1} .

4.1.2.4 Estudios de transferencia de oxígeno en la unidad aireadora.

Como se muestra en las figuras 7 y 8, el SS posee dos unidades conectadas entre si, en una denominada “aireador” se alimenta oxígeno mediante el burbujeo de aire, provocando la casi saturación del líquido contenido en esta unidad (produciéndose principalmente SO_4^{2-}), alimentando el líquido rico en oxígeno disuelto al “reactor” manteniendo la relación molar de consumo $[O_2]/[S_2O_3]$ baja, para favorecer la producción de azufre elemental.

Con la finalidad de cuantificar las contribuciones del aireador a la oxidación del tiosulfato en el SS y la implementación de alguna estrategia de control en el suministro del oxígeno que minimice dichas contribuciones, se llevó a cabo la determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_l a$) a diferentes condiciones de operación. Este parámetro además arroja información útil, que podrá ser usada para un posterior escalamiento del sistema.

4.1.2.4.1 Determinación de k_1a a diferentes condiciones de operación.

Como se indicó en la sección 3.5.4, se midieron las concentraciones de oxígeno disuelto a la entrada $[O_2]_A$ y salida $[O_2]_B$ del aireador que resultaron:

- del cambio en la tasa de dilución de recirculación (D_R^B), la cual fue variada mediante el cambio en el volumen del aireador,
- y de diferentes flujos de aire (F_{aire}) para cada volumen de aireador probado. Se mantiene constante $R = 35.1$ L /h (que es el valor que ajusta R_{mt} en 0.23 a una $Q_{S_2O_3^{2-}} = 0.002$ mol/L h),

La Figura 18 muestra las concentraciones de oxígeno disuelto en el aireador ($[O_2]_B$), junto con las cargas de oxígeno alimentadas al reactor ($Q_{O_2reactor}^A$, referidas al volumen del reactor) obtenidas por la manipulación de D_R^B y el F_{aire} , con R y V_A constantes.

Donde

$$Q_{O_2reactor}^A = D_R^A * ([O_2]_B - [O_2]_A) \quad \text{Ec. 4-1}$$

$$D_R^A = \frac{R}{V_A} \quad \text{Ec. 4-2}$$

El F_{aire} es expresado como el volumen de aire por volumen de líquido por minuto (vvm) definido como sigue:

$$vvm = \frac{F_{aire}^*}{V_B} \quad \text{Ec. 4-3}$$

donde F_{aire}^* viene expresado en L /min y V_B es el volumen del aireador.

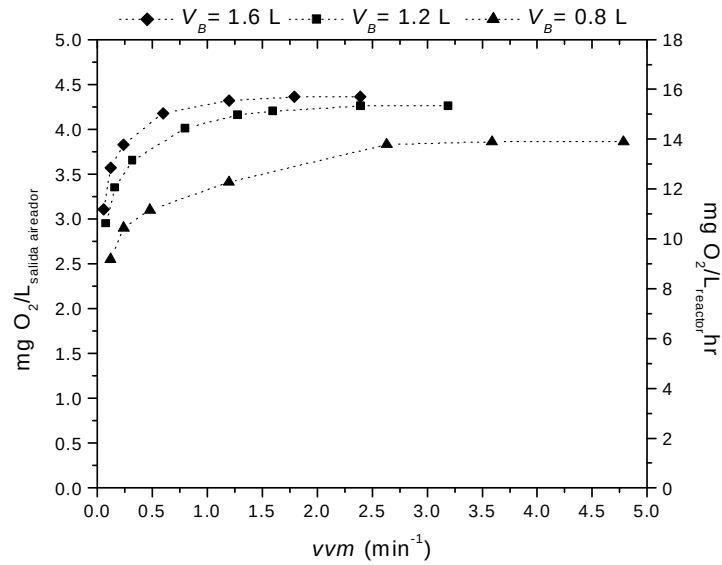


Figura 18. Perfiles de concentración O_2 disuelto en el aireador ($[O_2]_B$) y $Q_{O_2 \text{ reactor}}^A$, como función del flujo de aire (vvm) y volumen de aireador (V_B), con $R = 35.1$ L.

Como se observa, los perfiles de concentraciones son curvas típicas de saturación, encontrándose que de 1 a 1.5 vvm es un flujo suficiente para lograr las máximas concentraciones de oxígeno disuelto en el aireador a volúmenes de 1.6 y 1.2 L y de 2.5 a 3 vvm en el volumen de 0.84 L; y por tanto junto con $R = 35.1$ L/h alcanzar las máximas $Q_{O_2 \text{ reactor}}^A$ alimentadas al reactor en cada volumen de aireador.

El comportamiento parabólico de los perfiles $[O_2]_B$ mostrados en la Figura 18 se debe a que en las zonas donde la pendiente es mayor a cero la relación: volumen de aire por volumen de líquido y el transporte convectivo (mejor mezclado) se va incrementando gradualmente conforme aumenta F_{aire} , por tanto el área de contacto entre la interfase gas-líquido también aumenta hasta hacerse máxima en las zonas donde la pendiente es cero.

Las concentraciones máximas alcanzadas para cada volumen de aireador probado que se encuentran en la zona de pendiente cero, deben su diferencia entre ellas debido a la misma relación, puesto que al modificar el volumen de líquido también se ve modificada el área de contacto gas-líquido, de forma que menores volúmenes de líquido corresponden a menores tiempos de contacto y áreas de transferencia.

Al mismo tiempo del monitoreo de las concentraciones de oxígeno disuelto en el reactor y aireador, se evaluó $q_{O_2} X$ en el aireador, según se describió en la sección 3.5.5, obteniendo los siguientes valores mostrados en la tabla 8:

Tabla 8. Velocidades de consumo de oxígeno $q_{O_2} X$ a diferentes volúmenes de aireador (V_B)

V_B , L	$q_{O_2} X$, mg O_2 /Lh
1.67	204
1.25	198
0.84	211

Sustituyendo las concentraciones de oxígeno disuelto en el aireador $[O_2]_B$ y los valores de $q_{O_2} X$ en las ecuaciones 3-11 y 3-12 para cada condición de operación, junto con el resto de parámetros involucrados y considerando de acuerdo a las mediciones hechas $[O_2]_A \sim 0.05$ mg/L constante; se resuelve simultáneamente el sistema de ecuaciones resultante para $[O_2]_G$ y $k_l a$, resultando los siguientes perfiles de $k_l a$ mostrados en la Figura 19.

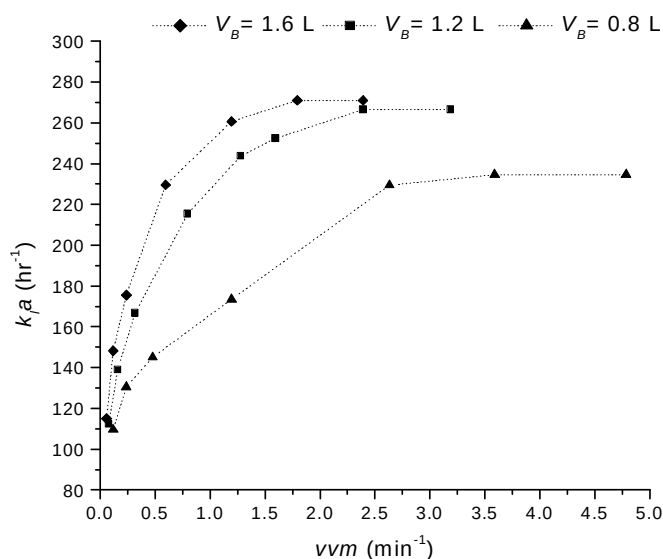


Figura 19. $k_l a$ en función del flujo de aire (vvm) y volumen de aireador (V_B)

Debido a que la R esta acotada a un intervalo pequeño, y a que su valor dependerá del ajuste $R_{me} \approx 0.5$, que como ya se mencionó favorece la formación de S^0 , el F_{aire} y V_B se convierten en los principales parámetros operacionales útiles en la manipulación de las tasas de transferencia de oxígeno.

El F_{aire} y V_B deben su efecto en el $k_l a$ debido a que estos modifican al área y tiempo de contacto entre la interfase gas-líquido, por tanto se logran diferentes valores de $[O_2]_B$ y D_R^B , traduciéndose en cambios en el $k_l a$ según la definición hecha en las ecuaciones 3-11 y 3-12. Los valores de $k_l a$ máximos registrados bajo las condiciones experimentales antes mencionadas, están de acuerdo con los valores del $k_l a$ calculados por una correlación reportada por Van't Riet (1983), para columnas de burbujeo con coalescencia, como es el caso nuestro estudio, resultando valores de 386, 224 y 213 hr^{-1} para los volúmenes de 1.6, 1.2 y 0.8 L respectivamente.

Ahora comparando las velocidades de alimentación de oxígeno al reactor (referidas al volumen del aireador) ($Q_{O_2 reactor}^B = D_R^B \{ [O_2]_B - [O_2]_A \}$) y la velocidad de consumo en el aireador ($q_{O_2} X$) para los anteriores experimentos, se puede demostrar la considerable contribución de la unidad aireadora a la oxidación del tiosulfato. Los resultados hallados se muestran en la Figura 20.

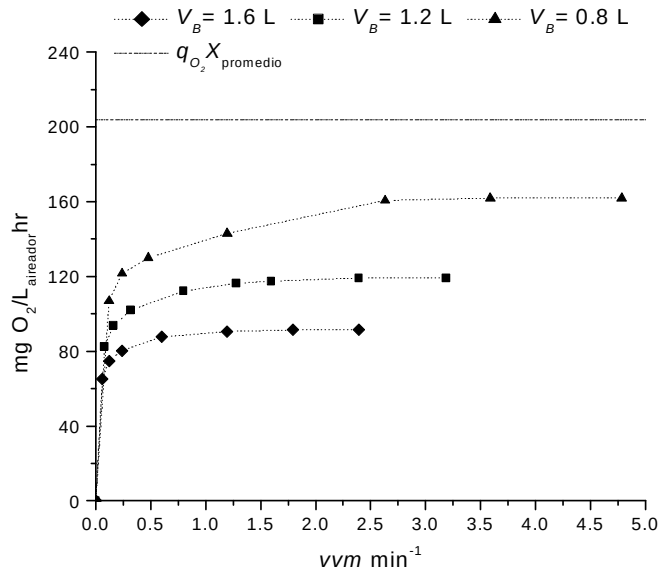


Figura 20. Comparación de las velocidades de oxígeno alimentadas al reactor ($Q_{O_2, reactor}^B$) a diferentes volúmenes del aireador (V_B), con la tasa de oxígeno consumido por el aireador ($q_{O_2} X$), con $R = 35.1$ L.

Así teniendo un consumo de oxígeno en el aireador de $204 \text{ mg. /L h} \pm 6$, los resultados de la Figura 20 nos indican que el aireador consume más de la mitad del oxígeno alimentado al sistema, notando también que menores V_B favorecen la reducción de la proporción de oxígeno consumido en el aireador del total que es alimentado al SS

Al disminuir V_B (con R constante), $Q_{O_2, reactor}^B$ se incrementa proporcionalmente a D_R^B hasta cierto limite donde el V_B ya no es capaz de realizar ninguna transferencia debido a la insuficiente área y tiempo de contacto, haciendo que $[O_2]_B \approx [O_2]_A$. Este fenómeno se discutirá más adelante.

Con la finalidad de validar la metodología propuesta en el cálculo del $k_l a$, se presenta un análisis basado en los datos reportados por Velasco (2001), para una serie de estados estacionarios alcanzados en el SS. Las condiciones operacionales fueron aquellas que ajustaron a las R_{mt} probadas en cada estado estacionario.

La tabla 9 presenta los datos extraídos de Velasco (2001) y las estimaciones de k_La correspondientes a cada caso, así también se muestran las contribuciones del aireador en el consumo de oxígeno disuelto. La relación molar $O_2/S_2O_3^{2-}$ calculada a partir del oxígeno total transferido por el aireador (R_{transf}), es un parámetro útil que permite visualizar la contribución en el consumo de oxígeno disuelto, al comparar R_{transf} con la R_{mt} .

Tabla 9. Efecto que tienen las condiciones operacionales del aireador en el consumo de oxígeno disuelto y rendimientos a azufre elemental.

$* R_{mt}$	2.00	0.75	0.4	0.26	0.24	0.22	0.16
R_{transf}	2.00	1.44	1.14	0.41	0.40	0.49	0.56
$R_{transf} - R_{mt}$	0.00	0.69	0.74	0.15	0.16	0.27	0.40
$* Q_{S_2O_3^{2-}}$ mol/L h	$9.5 \cdot 10^{-4}$	$9.5 \cdot 10^{-4}$	$9.5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$
$* V_B$, L	1.67	1.67	1.67	0.83	0.83	1.25	1.25
t_r^B , min.	0.83	2.14	4.13	1.13	1.25	2.5	3.16
OCRT, mg/h	423.50	221.84	115.43	153.56	147.60	134.70	98.78
OCAT, mg/h	291.10	291.10	291.10	144.42	144.42	217.50	217.50
k_La (h^{-1})	418.76	300.60	238.23	154.75	165.96	213.45	191.68
% OCAT	40.74	56.75	71.61	48.47	49.46	61.75	68.77
Rendimiento, % S^0	0	4.6	22	42.7	63.7	68.6	59.9

*Datos tomados de Velasco 2001;

t_r^B : tiempo de residencia en el aireador; Oxígeno Consumido por el Reactor calculado por Transferencia ($OCRT = V_B * Q_{O_2, reactor}^B$) donde se supusieron las $[O_2]_B$ mostradas en la fig. 17 para cada condición de operación; Oxígeno Consumido por el Aireador calculado por Transferencia (OCAT), para el cálculo de OCAT en todas las relaciones molares, se consideró que $q_{O_2}X = 174 \text{ mg } O_2/\text{L h}$, (actividad del consorcio reportado durante un periodo de operación), suponiendo que no vario sensiblemente durante los experimentos.

De la tabla 9 se puede ver como las diferencias entre las relaciones molares teóricas (R_{mt}) (estimada por las ecuación 3-18) y las relaciones molares calculadas por los estudios de transferencia (R_{transf}), se incrementan a medida que R_{mt} disminuye para cada V_B probado. Esto se debe a que el consumo de oxígeno en el reactor se reduce por la misma necesidad de disminuir R_{mt} . Pero el consumo de oxígeno en el aireador se incrementa ya que el control de Q_{O_2} para el ajuste de la R_{mt} se realizó a bajas velocidades de recirculación R, lo

que se traduce en t_r^B mayores. El porcentaje de oxígeno consumido en el aireador, calculado por transferencia (%OCAT) se incrementa funcionalmente con al aumento en el t_r^B , llegando a valores de hasta el 70 %. Esto implica que el consumo de oxígeno en el aireador se lleva a cabo a concentraciones de $DO > 1$ mg/L, condición que favorece que la mayor parte del tiosulfato alimentado sea oxidado totalmente a sulfato, limitando los rendimientos a azufre.

El efecto de la velocidad de recirculación (R) en la determinación de k_1a se puede demostrar a partir de la ecuación 3-12; el término $D_R^B \{ [O_2]_B - [O_2]_A \}$ se incrementa al aumentar R (con V_B constante) creciendo de esta forma el valor de k_1a hasta cierto limite, donde $[O_2]_B$ empieza a disminuir significativamente con el aumento de D_R^B (t_r^B menores).

Hasta ahora se ha visto que la reducción en el tiempo de residencia en el aireador (t_r^B) es un recurso operacional valido en pos de disminuir la contribución del aireador en el consumo de oxígeno. Pero la reducción en t_r^B tiene limites según se ve en la Figura 21, donde

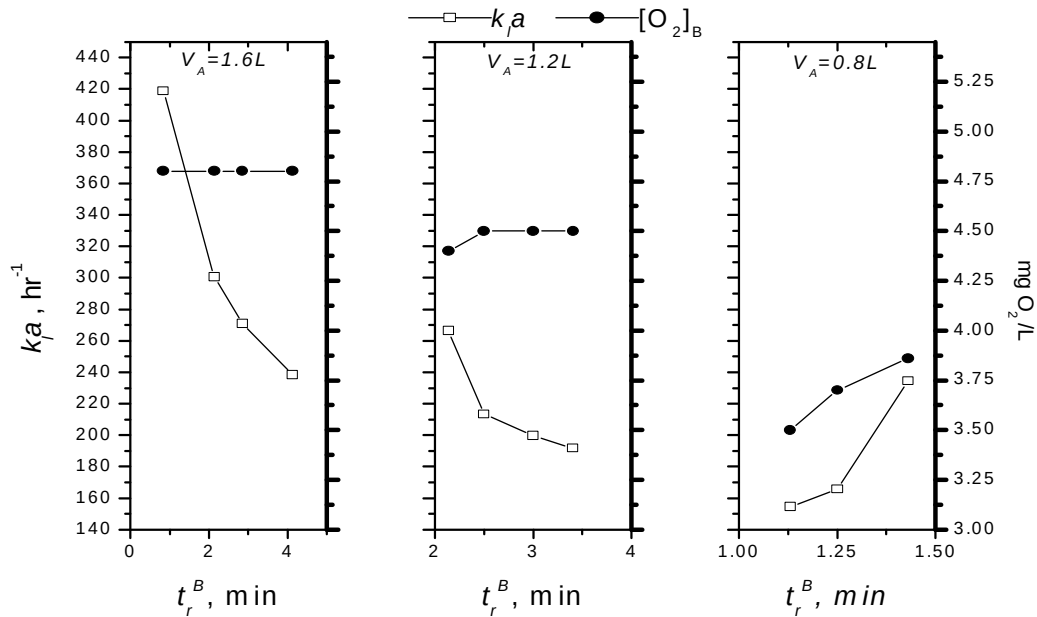


Figura 21. Respuesta de k_1a y $[O_2]_B$ a cambios operacionales como V_B y R .

se muestra la variación de k_1a en función del V_B y t_r^B a condiciones de operación normales (con producción de S^0) del SS, observando que en el volumen mayor (1.6L) la $[O_2]_B$ es constante y no depende de t_r^B para este rango de operación, pues el área y tiempo de contacto son suficientes para mantener $[O_2]_B$ constante, y sólo k_1a será función de R .

En los dos volúmenes restantes (1.2 y 0.8 L), el volumen de líquido es reducido y por tanto también el área de contacto gas-líquido la cual empieza a ser insuficiente para lograr la misma transferencia que en el volumen de 1.6 L, y de esta forma t_r^B ya afecta la $[O_2]_B$ acentuándose el efecto a medida que V_B disminuye.

En el volumen de 1.25 L todavía es posible incrementar k_1a aumentando R , que se traduce en menores t_r^B . Esto no sucede en el volumen más pequeño donde $[O_2]_B$ disminuye al reducir t_r^B y que al momento de evaluar k_1a esta sigue un comportamiento inverso al resto de los volúmenes probados, es decir disminuye al incrementar R .

El anterior efecto también debe presentarse en el resto de los volúmenes probados, sólo que a valores de R mayores, que salen del rango de operación del SS

Todo lo anterior sugiere la proposición de criterios de operación y diseño con el fin de reducir el efecto del aireador sobre la oxidación del tiosulfato.

- Aumentar R por encima de los valores probados, manteniendo uno de los dos mayores volúmenes de aireador, donde $[O_2]_B$ disminuya para dar la Q_{O_2} requerida por la relación teórica, a F_{aire} suficiente; de esta forma k_1a se mantiene en un valor adecuado y el consumo de oxígeno en el aireador disminuye puesto que t_r^B disminuye.
- V_B menores no variando significativamente R , pero además aumentar la relación L/D del aireador para incrementar el área y tiempo de contacto gas-líquido, de esta forma afectar lo menos posible la $[O_2]_B$, esto beneficiará la mantención de un valor adecuado de k_1a y un menor consumo en el aireador.

- El efecto de la aireación puede ser contemplado para modificar el t_r^B , pues a mayores valores de vvm , se provocará que haya menos líquido en el aireador, reduciéndose el t_r^B , debido al desplazamiento del líquido por parte de las burbujas de aire. Esto es válido de acuerdo al diseño del aireador mostrado en la figura 8, donde el volumen total líquido-gas siempre es constante, debido a que un rebosadero lo controla.

El volumen de aireador que más conviene según las anteriores recomendaciones es $V_B = 1.2L$, pues en el rango de operación presenta: sensibilidad en $[O_2]_B$ al cambio en t_r^B cortos, flujos de oxígeno al reactor aceptables, además con este volumen según estudios anteriores se logra el mayor rendimiento a S^0 con un valor de $k_La = 213 \text{ h}^{-1}$.

De esa forma $V_B = 1.25L$ representa alrededor de 10% del volumen total del SS, que puede ser usado como criterio de escalamiento.

Las recomendaciones anteriores para el diseño de un aireador que reduzca las contribuciones negativas, están encaminadas a la reducción en tiempo de residencia (Ec. 3-2), mediante la disminución V_B o bien el aumento de R .

Para finalizar esta sección, se puede concluir que el aireador provoca un efecto negativo en la oxidación parcial del tiosulfato a azufre elemental, pues al ser la $DO > 1 \text{ mg/L}$ se favorece la producción de sulfatos y el inmediato decremento en la producción de azufre; aunque el tiempo de residencia en esta unidad es corto comparado con el tiempo de residencia en el reactor, se comprueba que es tiempo suficiente para disminuir los rendimientos a azufre, de esta forma se producen dificultades para controlar una relación molar baja de consumo $[O_2]/[S_2O_3]$, que favorece la producción de azufre elemental.

4.1.2.5 Caracterización del SS por medio del potencial de oxido-reducción (ORP).

A partir de la definición del potencial redox dada en la sección 1.6.5 existe la posibilidad de identificar a los compuestos que determinan principalmente el valor del ORP durante un proceso de fermentación.

La máxima habilidad de intercambiar electrones de una superficie de platino y el registro continuo del ORP podría dar una medida indirecta de la concentración de las especies

involucradas en el medio de reacción y de esta forma esperar probabilidades de controlarlas.

Por lo anterior, el objetivo de esta sección es conocer la respuesta del ORP al cambio en las concentraciones de los compuestos que están en constante evolución en el SS como son: sulfito (SO_3^{2-}), sulfato (SO_4^{2-}), tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) y oxígeno disuelto (D.O) bajo las condiciones de temperatura y pH que prevalecen en la operación del SS. Posteriormente se correlacionará la respuesta ORP con las distintas sustancias y concentraciones con mayor influencia en el ORP. Se probaron concentraciones dentro de los intervalos experimentales y se extrapolaron hacia las que pudieran presentarse. Las pruebas fueron realizadas en una atmósfera controlada (sección 3.5.2.1).

En la Figura 22 se muestra el cambio del ORP al cambio en las concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y O_2 disuelto..

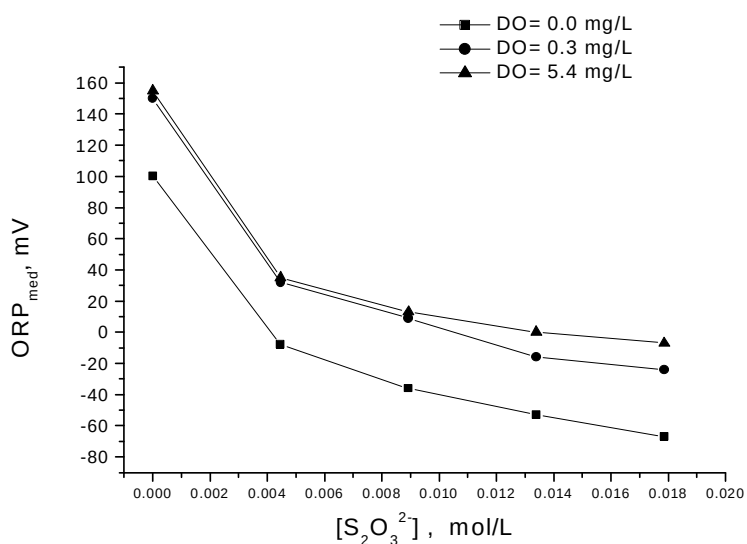


Figura 22. Respuesta ORP al cambio en las concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y DO.

A partir de la Figura 22 se puede ver que el ORP es muy sensible al cambio en las concentraciones tanto del $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y O_2 si observamos que en promedio que el ORP cambia -110 mV en el intervalo de 0 a 0.017 mol/L de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (0 a 2 g/L) volviéndose después asintótica la respuesta, y para el oxígeno en el intervalo de 0 a 0.00016 mol/L de O_2 (0 a 5.4 mg/L) que es el único rango que puede existir bajo las condiciones de presión

atmosférica, el cambio fue de +60 mV, lo cual nos evidencia que es posible asociar el cambio del ORP al $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y D.O.

A continuación en la Figura 23 se presentan los resultados obtenidos al someter una solución de concentraciones de SO_4^{2-} conocidas a diferentes concentraciones de O_2 disuelto, y a una concentración de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ constante de 2 g/L.

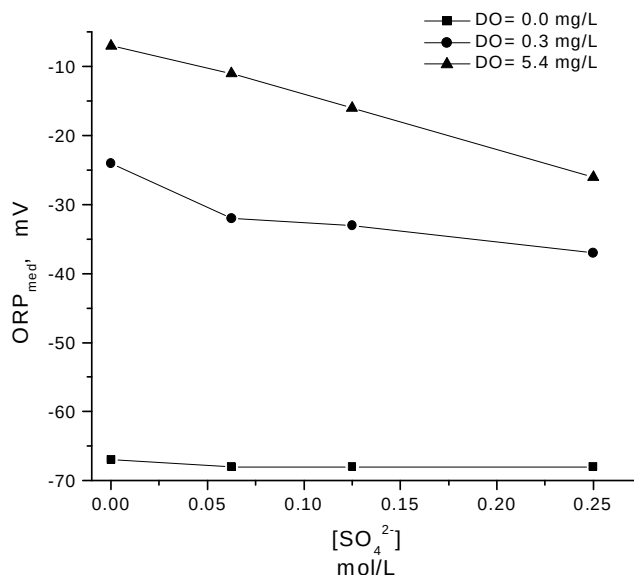


Figura.23. Respuesta ORP al cambio en las concentraciones de SO_4^{2-} y DO, con $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 2 \text{ g/L}$.

La respuesta ORP al cambio en las concentraciones de sulfato no es tan significativa comparada con la respuesta con el $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, pues apenas el cambio fue de -10mV en el intervalo probado de 0 a 0.25 mol/L de SO_4^{2-} (0 a 24 g /L), observándose al igual que en el caso anterior una marcada dependencia con el D.O. del orden de 65mV de cambio en el rango probado. De esta forma se puede decir que el sulfato no es un compuesto que intervenga de manera importante en la determinación del ORP, y la confirmación de que el DO modifica significativamente el valor del ORP.

Para el caso del sulfito (SO_3^{2-}), con estado de oxidación en el azufre de +4, de acuerdo a las pruebas hechas, también no posee importante influencia en el ORP, por lo que también

puede ser despreciado al igual que el sulfato como especies que pudieran influenciar el valor ORP de la solución.

Otro parámetro que se sabe que afecta de manera substancial al ORP es el pH. Como puede verse en la Figura 24, la respuesta depende linealmente del pH, así pues el ORP decrece con el aumento en una unidad de pH, 37.5 mV en un rango 2.5 a 6.5.

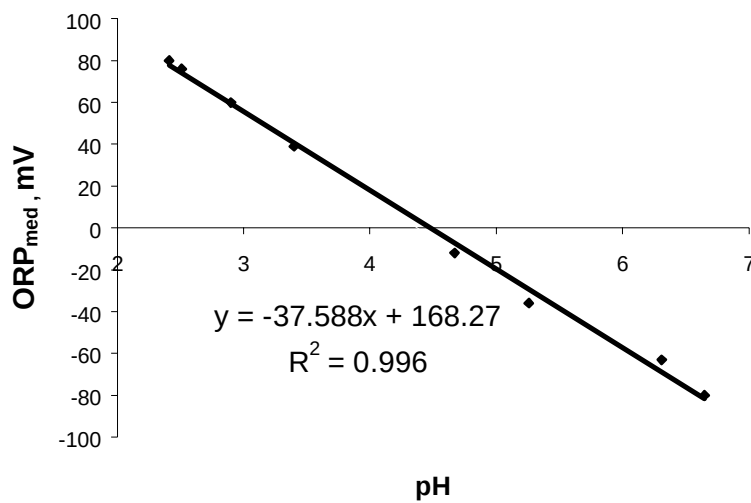


Figura 24. pH vs. ORP; a $[S_2O_3^{2-}] = 0.5 \text{ g/l}$ y $DO = 0.1 \text{ mg/L}$

De esta forma sólo el tiosulfato, el oxígeno y el pH ($[H^+]$) contribuyen significativamente al cambio en el ORP. Los dos primeros son sustratos y por lo tanto tendrán concentraciones variables que modificaran el valor del ORP del caldo de fermentación. Se puede entonces asumir que el ORP podrá darnos una idea general del estado de funcionamiento que guarda el SS, ya que altos valores de ORP negativos (-120 a -100 mV) nos indican que hay acumulación de $S_2O_3^{2-}$ y bajas concentraciones de O_2 , es decir que el proceso de oxidación biológica no se esta llevando a cabo convenientemente existiendo bajos valores de conversión del tiosulfato y rendimientos a S^0 ; Por otro lado un ORP muy positivo (>100 mV) indica la presencia de O_2 en exceso y el agotamiento del $S_2O_3^{2-}$, que significa una alta producción de SO_4^{2-} y la casi nula producción de azufre elemental.

Como un caso aparte a este trabajo de investigación, se reporta la funcionalidad que tiene el ORP con respecto al cambio en las concentraciones de sulfuro (S^{2-}) y oxígeno disuelto. Lo

anterior con la finalidad de generalizar el método antes descrito para el tiosulfato a otros compuestos reducidos de azufre, además que en el proceso industrial de sulfoxidación de aguas amargas, el sulfuro esta presente en mayor proporción que el tiosulfato.

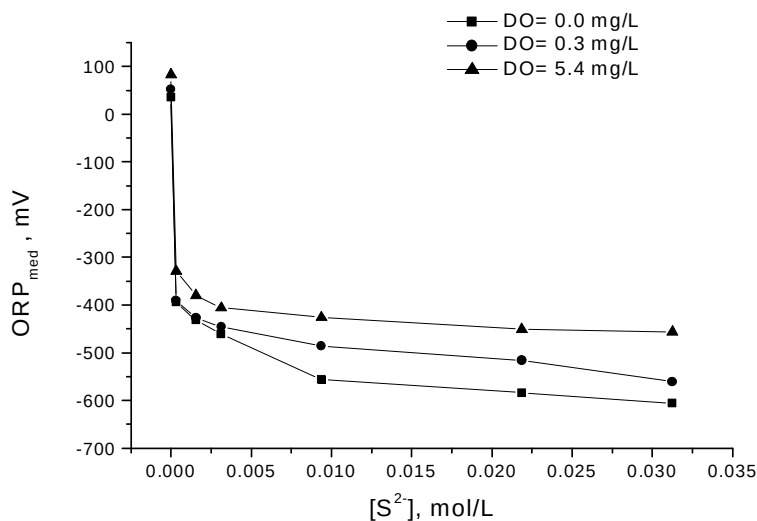


Figura 25. Respuesta ORP al cambio en las concentraciones de $S_2O_3^{2-}$ y DO. (pH = 7.0)

En la Figura 25 se muestra la respuesta del ORP al cambio en las concentraciones de sulfuro S^{2-} y DO. Para este caso, se observa una mayor dependencia del ORP con respecto al sulfuro, observándose que en promedio cambió -500 mV en el intervalo de 0 a 0.031 mol/L de S^{2-} (0 a 1 g/L). En concentraciones mayores la respuesta es asintótica. El oxígeno en el intervalo de 0 a 0.00016 mol/L de O_2 (0 a 5.4 mg/L) el cambio fue de +100 mV lo que nos puede permitir asociar el cambio del ORP a las concentraciones de sulfuro y oxígeno siguiendo la metodología que a continuación se presenta para el par tiosulfato-oxígeno.

4.1.2.5.1 Respuesta ORP a cambios operacionales del SS

A partir del análisis de las pendientes estimadas de las figuras 22, 23 y 24, se establece que las mayores son las correspondientes a las concentraciones de $S_2O_3^{2-}$, O_2 y H^+ y que por tanto, son las especies que determinan principalmente el ORP de la solución.

Se procede a correlacionar el ORP medido (ORP_{med}) en función de las concentraciones de tiosulfato y oxígeno disuelto, para esto se usaron los datos que se presentaron en la Figura 22.

Esta correlación se hizo considerando una relación funcional del potencial de una interfase rápida y reversible con las concentraciones de las especies en solución.

$$ORP_{medido} = c + d * \ln([S_2O_3^{2-}]^a * [DO]^b) \quad \text{Ec. 4-4}$$

Separando en suma de logaritmos la ecuación 4-4, se obtiene:

$$ORP_{medido} = a' * \ln[S_2O_3^{2-}] + b' * \ln[DO] + c \quad \text{Ec. 4-5}$$

Donde $a' = a*d$ y $b' = b*d$

Con los datos presentados en la figura 22, se hallaron los parámetros de ajuste de la ecuación 4-5 aplicando una regresión multilineal,

$$a' = -38.775$$

$$b' = 1.099$$

$$c = -177.94$$

$$\text{con una } R^2 = 0.981$$

Donde

ORP_{medido} : potencial de la solución medido en una atmósfera controlada (Fig.21), mV

$[S_2O_3^{2-}]$: concentración de tiosulfato (Fig. 22), mol/L

$[DO]$: concentración de oxígeno (Fig. 22), mol/L

La forma de la expresión propuesta es similar a la forma que presenta la ecuación de Nernst (Ec. 1-15) para el cálculo del ORP en función de las concentraciones de las especies oxidantes y reducidas, dándole una funcionalidad logarítmica a las concentraciones de tiosulfafo y oxígeno.

A la expresión resultante de la regresión se le adiciona el efecto del pH en el ORP que quiere ser calculado, puesto que los valores utilizados en la regresión (Ec.4-5) se obtuvieron a pH 5.0 ; se considera que la contribución del pH al ORP es aditiva. Así para complementar la correlación se suma la contribución del pH a la ecuación 4-5 con base en la pendiente calculada en la Figura 24.

Sustituyendo el ORP_{medido} por la variable de predicción ORP_{pred} que ahora está en función de las concentraciones molares de tiosulfato, oxígeno disuelto y del valor del pH, resulta la expresión siguiente:

$$ORP_{pred} = -38.77 * \ln[S_2O_3^{2-}] + 1.01 * \ln[O_2] + 37.5 * (5 - pH) - 177.94 \quad \text{Ec. 4-6}$$

Arreglando a la ecuación 4-6 para darle la forma de la ecuación de Nernst se obtiene:

$$ORP_{pred} = 38.775 * \ln \left(\frac{[O_2]^{0.0283} [H^+]^{0.4199}}{[S_2O_3^{2-}]} \right) + 9.556 \quad \text{Ec. 4-7}$$

La ecuación 4-7 se valida a partir del monitoreo en línea que se realizó durante el periodo comprendido entre las 768 y las 945 horas del experimento descrito en la sección 4.1.2.3, sustituyendo los valores medidos de $S_2O_3^{2-}$, DO y pH en cada tiempo (Figura 26).

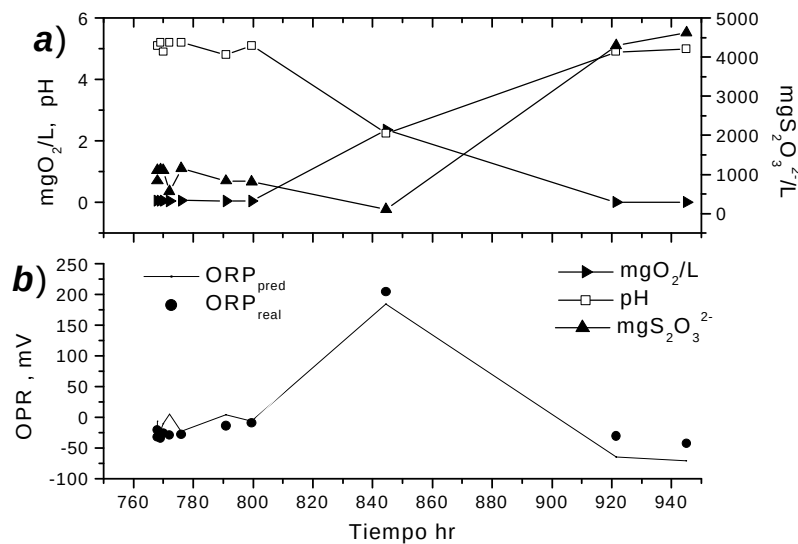


Figura 26. Validación de la ecuación 4-7 para la predicción del ORP (b), en función de la concentración de tiosulfato, oxígeno y pH (a) presentes en el SS

La Figura 26 presenta las mediciones hechas intermitentemente en lo que se refiere a $S_2O_3^{2-}$, DO y pH por lo que sólo se presentan los datos de ORP que corresponden a esas situaciones.

Es importante mencionar que al tiempo de 835 h el SS sufre una falla, donde la alimentación se interrumpe y el valor de pH baja sin control hasta un valor de 2.1, el DO se aumenta pues los microorganismos ya han consumido todo el tiosulfato, en esta situación se ve como el ORP, en efecto, depende fuertemente de las variables antes consideradas en la correlación.

Como puede observarse la regresión sigue la tendencia del ORP real, sólo que tiene diferencias en algunos puntos que probablemente se deban a especies que no fueron contempladas.

La correlación mostrada en la ecuación 4-7 es útil para estimar de manera indirecta la concentración de $S_2O_3^{2-}$ en el caldo de fermentación, y así mediante la definición de R_{mt} (Ec. 3-18) poder ajustar esta relación a valores convenientes.

Despejando $S_2O_3^{2-}$ de la ecuación 4-7 y sustituyendo el ORP_{pred} por el ORP_{real} (en este caso serán aquellos valores medidos desde el caldo de fermentación) se obtiene:

$$[S_2O_3^{2-}]_{calculado} = \exp\left(\frac{9.556 - ORP_{real}}{38.775}\right) * [O_2]^{0.0283} * [H^+]^{0.4199} \quad \text{Ec.4-8}$$

Con los datos de la Figura 26 se valida la ecuación 4-8, comparando los valores de concentración de tiosulfato calculados y experimentales (Figura 27).

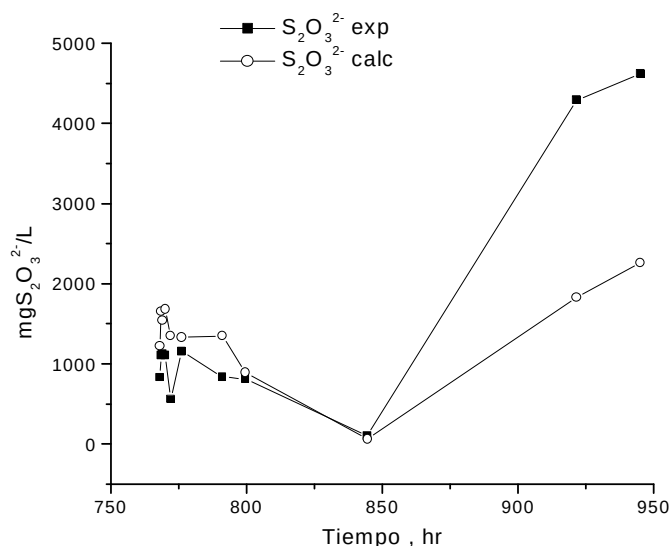


Figura 27. Comparación entre las concentraciones de tiosulfato calculadas por la ecuación 4-8 y las experimentales.

Como se puede observar en la Figura 27, la respuesta de la correlación tiene una buena respuesta cualitativa y no así cuantitativa a valores altos en concentración de tiosulfato.

La aplicación práctica de la ecuación 4-8 esta limitada a valores $<1500 \text{ mg } S_2O_3^{2-}/L$, que es un rango de utilidad en la operación del SS, ya que por evidencias experimentales a concentraciones $> 1000 \text{ mg } S_2O_3^{2-}/L$ significan que el proceso se esta llevando con poco éxito, presentando bajas conversiones y rendimientos a azufre elemental.

El calculo de la concentración de $S_2O_3^{2-}$ a través del monitoreo en línea del ORP, O_2 y pH, puede representar una útil herramienta en la toma de decisiones para mejorar el proceso en línea y que puede ser involucrado en un sistema de control automático de acuerdo a la validación del método presentado en esta sección.

Esta metodología puede resultar de utilidad para otros casos, donde la presencia de diferentes compuestos reducidos como el H_2S junto con el DO y pH pueden ser correlacionados de la misma forma como la presentada para el caso del tiosulfato.

Janssen y col (1998) reportó para la formación de azufre elemental a partir de la oxidación biológica de sulfuro, un valor redox óptimo de -147 y -137 mV, cuyo valor esta determinado principalmente por la concentración de sulfuro.

La limitante de esta metodología es la presencia de otros compuestos reducidos u oxidados que posean también la misma habilidad de intercambiar electrones con la superficie de platino y que harán más compleja la correlación, además que operacionalmente ya no sería conveniente, pues se tendría que conocer en línea la concentración de esas especies en un tiempo dado.

4.2 Modelamiento del proceso de oxidación biológica de tiosulfato.

En esta sección se presenta un modelo matemático que describe el proceso de la oxidación biológica de tiosulfato a azufre elemental y sulfato, involucrando las condiciones operacionales y naturales del sistema.

En bioquímica existen dos formas generales de modelar los sistemas biológicos:

- Modelos estructurados: funcionamiento interno de la célula acoplado con condiciones externas.
- Modelos no estructurados: comportamiento promedio de poblaciones de células, mediante cuantificación de propiedades de cultivo.

El modelo que se desarrolló pertenece al grupo de los modelos no estructurados, pues sólo se contemplaron las propiedades generales del cultivo.

4.2.1 Suposiciones.

A continuación se presentan las suposiciones que nos permitirán simplificar el modelo con base en observaciones experimentales.

- S^0 y SO_4^{2-} son producidos por un mismo tipo de microorganismo. El SS mantiene en suspensión y continuo crecimiento a un consorcio microbiano del género *thiobacillus* el cual transforma el tiosulfato a azufre y sulfato (Alcántara 2000)
- La formación de SO_3^{2-} es despreciable. De acuerdo a los experimentos realizados para este consorcio, la producción de sulfito por oxidación biológica es insignificante.

- Mezclado ideal de las fases líquida y gaseosa en zona B. Mezclado ideal en la fase líquida en zona A. (CSTF). El SS ha sido caracterizado en base a la determinación de la distribución de tiempo de residencia (Velasco 2001) como un tanque de mezcla completa.
- Todo el azufre producido permanecerá en suspensión. Si bien esta suposición no es del todo cierta, pues las partículas de azufre debido a su insolubilidad y mayor densidad que el medio líquido, tenderá a sedimentar. y el resto se mantendrá en suspensión, el modelo considera la cuantificación del azufre total (sedimentado y suspensión).
- Energía derivada de la oxidación sólo es usada para crecimiento de los microorganismos. El consorcio, al pertenecer al genero *thiobacillus*, que son bacterias quimiolitotrofas obligadas, sólo utiliza la energía de oxidación para crecer, la energía de manutención es depreciada.
- El azufre formado es inerte, por lo que no continua su oxidación. La velocidad máxima de oxidación del azufre elemental reportada por Alcántara (2000), para este consorcio fue de $0.06 \text{ mg S}^0/\text{g}_{\text{proteína}}\text{min}$. Considerando una relación molar para la oxidación de azufre a sulfato de 4 se tiene una velocidad de respiración de $0.24\text{mgO}_2/\text{gr}_{\text{proteína}}\text{min}$, mientras que para la oxidación de tiosulfato a sulfato la velocidad de respiración es de $68\text{mgO}_2/\text{gr}_{\text{proteína}}\text{min}$ más de 200 veces mayor.

4.2.2 Modelo.

El modelo matemático está basado en una serie de balances de masa para las especies: $[S_2O_3^{2-}]$, $[SO_4^{2-}]$, $[X]$ alrededor de las unidades A y B de esta forma se acoplan las ecuaciones y se resuelven simultáneamente, y para el $[S^0]$ alrededor de todo el sistema; como se muestra en el diagrama de flujo del SS (Figura 28).

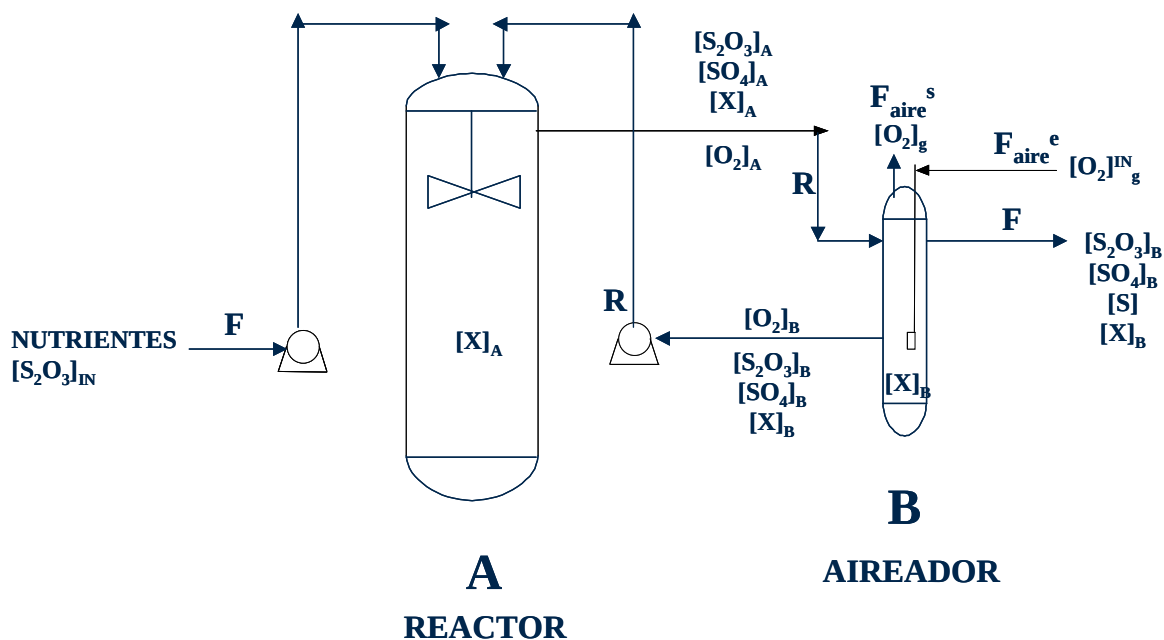


Figura 28. Diagrama de flujo del Sistema Sulfoxidante (SS)

Los balances que se generan de considerar las variables de estado y las concentraciones de especies son:

BALANCE DE TIOSULFATO

El tiosulfato que es el sustrato principal, se considera que entra y sale del sistema en forma continua, variando su concentración inicial (9000 mg/L) debido a la acción oxidativa de los microorganismos.

Se considera además que la producción azufre sólo se presenta en la unidad A.

$$\frac{d[S_2O_3]_A}{dt} = D_R^A \{ [S_2O_3]_B - [S_2O_3]_A \} + D_F^A [S_2O_3]_{IN} - X_A (R_S + R_{SO_4}^A)$$

Ec.4-9

$$t = 0 \quad [S_2O_3] = [S_2O_3]_{IN}$$

$$\frac{d[S_2O_3]_B}{dt} = D_R^B \{ [S_2O_3]_A - [S_2O_3]_B \} + D_F^B [S_2O_3]_B - X_B R_{SO_4}^B$$

Ec. 4-10

$$t = 0 \quad [S_2O_3]_C = 0$$

BALANCE DE SULFATO

El sulfato, producto azufrado más oxidado e indeseable para este proceso, es producido en ambas unidades, sólo que la mayor proporción del sulfato total se genera en la unidad B.

$$\frac{d[SO_4]_A}{dt} = D_R^A \{ [SO_4]_B - [SO_4]_A \} + X_A (1.71R_{SO_4}^A + 0.85R_S)$$

Ec. 4-11

$$t = 0 \quad [SO_4]_A = 0$$

$$\frac{d[SO_4]_B}{dt} = D_R^B \{ [SO_4]_A - [SO_4]_B \} - D_F^B [SO_4]_B + 1.71X_B R_{SO_4}^B$$

Ec. 4-12

$$t = 0 \quad [SO_4]_B = 0$$

BALANCE DE AZUFRE

En este balance el azufre elemental que es el producto deseado, se considera que sólo es producido en la unidad A y que no se continua oxidando en la unidad B, así se propone un balance de azufre alrededor de sistema global.

$$\frac{d[S]}{dt} = 0.28X_A R_S - D[S]$$

Ec. 4-13

$$t = 0 \quad [S] = 0$$

OXÍGENO (DOS FASES)

BALANCE DE OXÍGENO (FASE GAS)

Se considera estado estacionario para el oxígeno en fase gas, pudiendo expresar en forma explícita la concentración de oxígeno en fase gas.

$$[O_2]_G = \frac{D_G[O_2]_G^{IN} + k_l a [O_2]_B}{\frac{k_l a}{m} + D_G} \quad \text{Ec. 4-14}$$

BALANCE OXÍGENO (FASE LIQUIDA)

El oxígeno alimentado en fase gas es transferido a la fase líquida a una tasa $k_l a$ en la unidad B, siendo consumido parte de este oxígeno disuelto por los microorganismos para la producción de sulfato como se mencionó anteriormente. El resto del oxígeno alimentado es consumido en la unidad A. La concentración de saturación de oxígeno que se usó fue de 5.45 mg/L.

$$\frac{d[O_2]_B}{dt} = D_R^B \{ [O_2]_A - [O_2]_B \} - D_F^B [O_2]_B + k_l a \left(\frac{[O_2]_G}{m} - [O_2]_B \right) - 0.571 X_B R_{SO_4}^B$$

$t = 0 \quad [O_2]_B = 5.45 \text{ mg} / \text{L}$

Ec. 4-15

$$\frac{d[O_2]_A}{dt} = D_R^A ([O_2]_B - [O_2]_A) + D_F^A [O_2]_{NUTR} - X_A (0.142 R_S + 0.571 R_{SO_4}^A)$$

$t = 0 \quad [O_2]_A = 0 \text{ mg} / \text{L}$

Ec. 4-16

Los términos de velocidad de formación R_S , $R_{SO_4}^A$, $R_{SO_4}^B$, que vienen expresados como mg $S_2O_3^{2-}$ /mg biomasa h, se transforman a las unidades requeridas por el balance que las involucre, de acuerdo a la estequiometría que presentan las especies de azufre en el consorcio (ecs.4-17 y 4-18).

En el balance de sulfato en el reactor A, la velocidad de formación es una contribución del sulfato formado desde la oxidación total y parcial del tiosulfato, según sean la relación ($O_2/S_2O_3^{2-}$), es decir:



El balance de oxígeno en la fase líquida en el reactor B, se considera que sólo se forma sulfato debido a las condiciones de exceso de oxígeno.

BALANCE DE BIOMASA

El SS se encuentra inoculado inicialmente con 250 mg de biomasa/L, y según las condiciones de operación esta podrá incrementarse o disminuir.

$$\frac{dX_A}{dt} = D_R^A(X_B - X_A) + X_A(R_{SO_4}^A Y_{X/SO_4} + R_S Y_{X/S}) \quad \text{Ec. 4-19}$$

$$t = 0 \quad X_A = 250 \text{ mg biomasa} / L$$

$$\frac{dX_B}{dt} = D_R^B(X_A - X_B) - D_F^B X_B + X_B R_{SO_4}^B Y_{X/SO_4} \quad \text{Ec. 4-20}$$

$$t = 0 \quad X_B = 250 \text{ mg biomasa} / L$$

$$Y_{X/S} = 0.0015 \text{ mg biomasa} / \text{mg } S_2O_3 \quad (\text{Buisman et.al. (1991)})$$

$$Y_{X/SO_4} = 0.0175 \text{ mg biomasa} / \text{mg } S_2O_3 \quad (\text{Dato experimental})$$

Donde :

V_G	Volumen de aire en aireador, L
F_G	Flujo de aire ,L
$D_G = \frac{F_G}{V_G}$	Tasa de dilución del aire, h ⁻¹
$[O_2]_G^{IN} = 300mg / L$	Concentración de oxígeno en el aire
$[O_2]_{NUTR} = 5mg / L$	Concentración de oxígeno en la alimentación
F	Flujo de alimentación , L/h
R	Flujo de recirculación , L/h
V_A	Volumen reactor, L
V_B	Volumen reactor, L
$V_A + V_B$	Volumen total del sistema , L
$R_{SO_4}^A$	velocidad de formación de sulfato en el reactor, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
$R_{SO_4}^B$	velocidad de formación de sulfato en el aireador, mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h
R_S	velocidad de formación de azufre; mg S ₂ O ₃ ²⁻ /mg biomasa h

$$D_F^A = \frac{F}{V_A} \quad D_F^B = \frac{F}{V_B} \quad D_R^A = \frac{R}{V_A} \quad D_R^B = \frac{R}{V_B} \quad D = \frac{F}{V_A + V_B}$$

Subíndices:

A	Reactor
B	Aireador
G	Fase gaseosa

4.2.3 Expresiones cinéticas y sus parámetros

La tabla 10 muestra los parámetros cinéticos utilizados en el modelamiento, siendo la parte más importante del modelo, pues estas expresiones representan las propiedades naturales de estos microorganismos. Las velocidades máximas de producción de sulfato y azufre fueron estimadas a partir de datos experimentales para este consorcio Alcántara (2000).

Tomando en cuenta que la producción de azufre se logra en condiciones limitantes de oxígeno o bien saturación por sustrato, la oxidación de tiosulfato a azufre puede ser descrita por la ecuación de Haldane la cual contiene un término de inhibición por oxígeno y la oxidación de tiosulfato a sulfato igualmente por otra ecuación de Haldane, en ésta el término de inhibición es debido al tiosulfato, que para este consorcio empieza a ser inhibitorio a partir de los 20gr/L.

Tabla 10 Expresiones y parámetros cinéticos usados en el modelo de oxidación biológica de tiosulfato.

AZUFRE	SULFATO
$R_S = R_{\max S} \left[\frac{[S_2O_3]_A}{K_1 + [S_2O_3]_A} \right] * \left[\frac{[O_2]_A}{K_2 + [O_2]_A + \frac{[O_2]_A^2}{K_3}} \right]$ Ec. 4-21	$R_{SO4}^A = R_{\max SO4} \left[\frac{[S_2O_3]_A}{K_4 + [S_2O_3]_A + \frac{[S_2O_3]_A^2}{K_5}} \right] * \left[\frac{[O_2]_A}{K_6 + [O_2]_A} \right]$ Ec. 4-22 $R_{SO4}^B = R_{\max SO4} \left[\frac{[S_2O_3]_A}{K_4 + [S_2O_3]_A} \right]$ Ec. 4-23
$R_{\max S} = 0.8 \frac{mgS_2O_3}{mgbiomasa * hr} \text{ (ajuste)}$	$R_{\max SO_4^{2-}} = 7.14 \frac{mgS_2O_3}{mgbiomasa * hr} \text{ (Velasco 2002)}$
$K_1 = 0.03 \text{ mg } S_2O_3^{2-}/L \text{ (ajuste)}$	$K_4 = 1.0 \text{ mg } S_2O_3^{2-}/L \text{ (ajuste)}$
$K_2 = 0.001 \text{ mg } O_2/L \text{ (ajuste)}$	$K_5 = 5.0 \text{ mg } S_2O_3^{2-}/L \text{ (Janssen 1998)}$
$K_3 = 0.025 \text{ mg } O_2/L \text{ (ajuste)}$	$K_6 = 0.2 \text{ mg } O_2/L \text{ (ajuste)}$

4.2.4 Simulación y validación.

La programación y simulación del modelo sulfoxidante se hizo en el software Stella 5.0 Research y el método de integración usado fue el Runge-Kutta 4.

A continuación se presenta la simulación del sistema sulfoxidante para varias relaciones molares O_2/S_2O_3 (R_{mt}) probadas experimentalmente con la finalidad de validar la respuesta del modelo propuesto. Se presenta una corrida dinámica desde que se arranca hasta que se alcanza el estado estacionario (Figura 29), de varias que se realizaron para cada R_{mt} simulada. Posteriormente se presentan los resultados obtenidos por la simulación para varias R_{mt} cuando se alcanzó el estado estacionario y se comparan con los resultados experimentales (Figura 30).

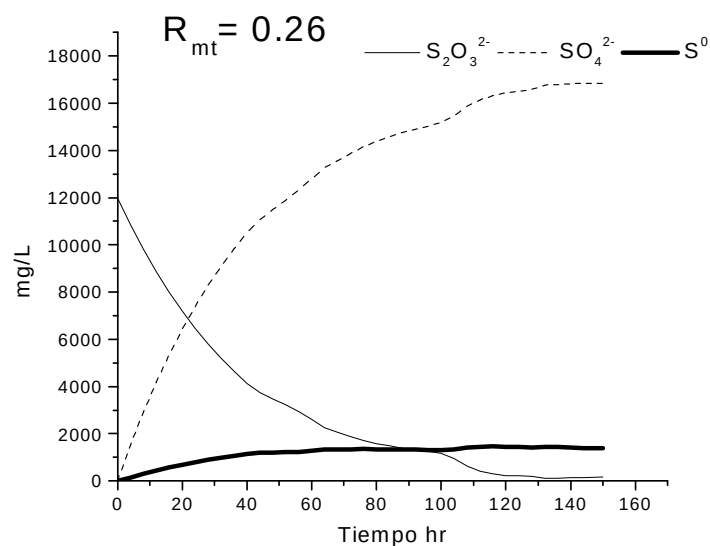


Figura 29. Respuesta dinámica simulada del sistema sulfoxidante una $R_{mt} = 0.26$.

Las condiciones de operación (tabla 11) que se alimentaron al modelo fueron las mismas que se usaron durante los experimentos.

Tabla 11. Datos alimentados a la simulación iguales a los valores experimentales

R_{mt}	2	0.75	0.26	0.22	0.16
F , L/h	0.104	0.104	0.211	0.211	0.211
R , L/h	121	47	44	30	22
$[S_2O_3^{2-}]$ entrada, mg/L	12000	12000	12000	12000	12000
k_1a , h^{-1}	418	300	155	214	192
D , d^{-1}	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4

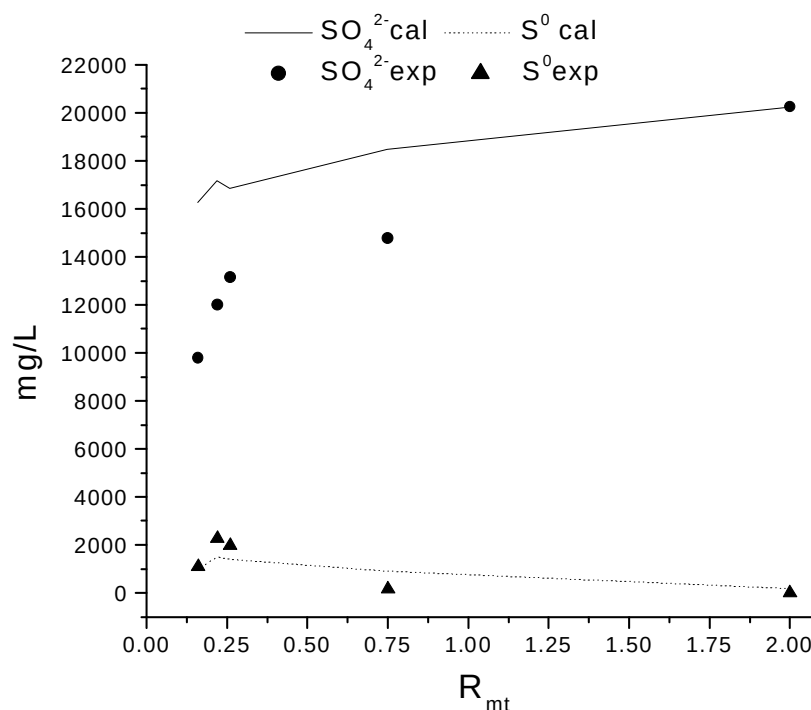


Figura 30. Validación del modelo del sistema sulfoxidante: Producción de sulfato y azufre a diferentes R_{mt} en estado estacionario

El modelo predice de forma satisfactoria la naturaleza de este proceso, pues a R_{mt} menores (limitación de oxígeno) la presencia de azufre se incrementa, mientras que la del sulfato decrece. En lo que se refiere a la representación cuantitativa, el modelo ajusta a la concentración de azufre elemental, presentando desviaciones en la concentración de sulfato en relación a los datos experimentales conforme R_{mt} disminuye.

Puesto que el modelo no contempla la energía de mantenimiento y el decaimiento celular, a medida que la R_{mt} disminuye, la falta de estos parámetros en el modelo se hacen mas importantes, y las predicciones se alejan de los datos experimentales, pues al existir limitación por oxígeno la formación de azufre elemental es favorecida, pero a costa de la disminución del crecimiento celular.

El modelo al predecir mayor crecimiento celular, predice proporcionalmente una mayor concentración de sulfato que la estimada experimentalmente a R_{mt} bajas, lo anterior se debe

a que el rendimiento celular debido a la formación de sulfato es muy grande comparado con el rendimiento celular debido a la formación de azufre elemental, y de esta forma se acentúa mas el efecto en la concentración de sulfatos predicha por el modelo.

Además probablemente la forma de la cinética propuesta para la producción de sulfato, no es de todo correcta, pues según el análisis de sensibilidad aplicado a las constantes de saturación e inhibición, sus valores presentados en este trabajo resultaron ser los mejores ajustes, lo que sugiere probar nuevas formas de la expresión cinética de producción de sulfato.

Otra explicación puede ser que la $R_{\max SO_4^{2-}}$ contemplada en el modelo fue mayor a la que realmente presentó el consorcio durante los experimentos. Por lo que es conveniente actualizar los parámetros cinéticos para que el modelo pueda ser mas útil.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La oxidación biológica del tiosulfato a azufre elemental se favorece manteniendo condiciones micro aerobias (R_{mt} bajas o $DO < 0.1$ mg /L) en el SS. El consorcio sulfoxidante trabajando bajo estas condiciones posee una $\mu_{m\acute{a}x}$ cercana a 0.8 d^{-1} ($\mu_{m\acute{a}x} = D_{critica}$) que es baja comparada con la $D_{critica}$ reportada para este mismo consorcio bajo condiciones de exceso de DO (3.4 d^{-1}), lo que demuestra que la velocidad de crecimiento es una función del DO. De esta forma la velocidad de oxidación parcial se ve limitada por la $D_{critica}$, para evitar esto e incrementar las tasas de remoción de tiosulfato es conveniente usar soportes antes para fijar a la biomasa, proponiendo al tubo *Poliflex*, el cual posee la mayor capacidad de adherir biomasa a su superficie ($0.2312\text{ mg biomasa/ cm}^3$) y la mayor densidad de área que otros materiales probados ($4.33\text{ cm}^2/\text{cm}^3$).

El consorcio sulfoxidante mostró como característica principal la falta de adaptabilidad a cambios operacionales, sobre todo a tasas de dilución (D) mayores o cercanas a 1.0 d^{-1} , que junto con condiciones micro aerobias, se observaron bajos rendimientos y selectividad a azufre elemental así como conversiones de tiosulfato menores si se comparan con las registradas para este mismo consorcio a $D < 1.0\text{ d}^{-1}$; mostrándose de esta forma el SS inestable y con riesgo de perder los microorganismos por lavado.

En el marco de vislumbramiento de un sistema de control que permita la producción de azufre a partir de tiosulfato, nos permitió conocer que la alimentación de oxígeno al SS es el principal factor limitante del éxito del proceso de sulfoxidación. Así se detectó que el aireador, unidad que alimenta de oxígeno al SS favorece la producción de sulfatos y el inmediato decremento en la producción de azufre, pues mantiene $DO > 1\text{ mg/L}$, llegando el aireador a consumir más del 50% del oxígeno alimentado al sistema, de esta forma se proponen posibles criterios de diseño y operación encaminados a la reducción del tiempo de residencia del líquido en el aireador

En el mismo marco, la caracterización del SS por el monitoreo del potencial de oxidoreducción (ORP), mostró que puede ser una útil herramienta en el conocimiento del estado de funcionamiento que tiene el SS, debido a que se encontró una correlación entre las concentraciones de tiosulfato, oxígeno disuelto y pH con el ORP medido en el caldo de fermentación. Esta correlación nos permite conocer en forma aproximada la concentración de

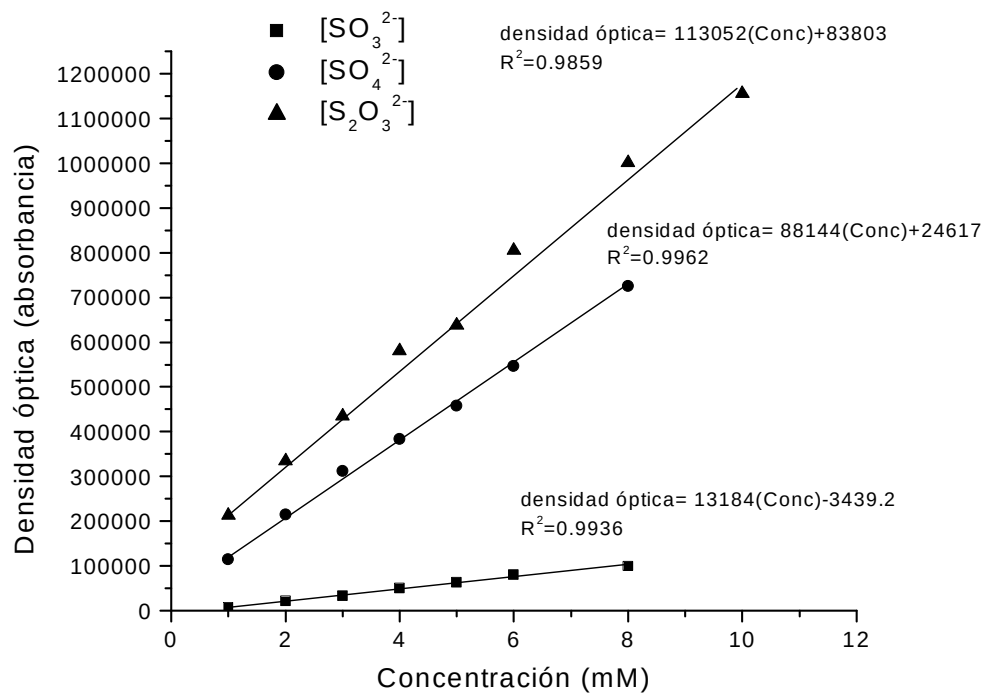
tiosulfato en el caldo y así poder ajustar el flujo de oxígeno al SS que convenga a la producción de azufre elemental.

El modelo matemático que se propuso predice en forma satisfactoria las concentraciones de azufre elemental y sulfato, para una serie de estados estacionarios logrados a condiciones cambiantes de operación.

Con miras a incrementar la productividad del azufre elemental, para trabajos futuros se requiere evaluar el efecto del tipo de soporte de biomasa en la tasa de remoción de tiosulfato y en la producción de azufre. Trabajar en posibles estrategias de control del SS basándose en la cantidad de oxígeno alimentado al sistema, manipulado por la velocidad de recirculación, para esta tarea el modelo matemático puede representar una útil ayuda en la simulación. El uso de un sedimentador debe ser considerado en el diseño en escala piloto del SS para incrementar la recuperación del azufre elemental formado.

APENDICE

CURVAS PATRÓN PARA DETERMINACIÓN DE ESPECIES DE AZUFRE.



6 BIBLIOGRAFIA

- Akashi,K.,S. Ikeda,H. Shibai, K. Kobayashi y Y. Hirose (1978). Determination of redox potential levels critical for cell respiration end suitable for l-leucine production. *Biotechnol. Bioeng.*, 20, 27-41.
- Alcántara S, (2000). Estudios de la oxidación biológica de los compuestos reducidos de azufre utilizando un consorcio de microorganismos sulfoxidantes. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa México.
- Alcántara S, Estrada I, Vásquez M y Revah S (1999). Carbon disulfide oxidation by a microbial consortium from a trickling filter. *Biotechnol. Lett.* **21**, 815-819.
- Annachhatre A y P. Suktrakoolvait, S, (2001). Biological sulfide oxidation in a fluidized bed reactor. Environmental Engineering Program, Asian Institute of Technology, Pathumthani, Thailand. *Environ. Technol.*, 22(6), 661-672,
- Bailey R, Clark H, Feris J, Strong L y Krause, S (1978). The environmental chemistry of some important elements. En Chemistry of the environment. Academic Press, NY. pp. 361-406
- Bartlett J y Skoog D (1954). Colorimetric Determination of Elemental Sulfur in *Hydrocarbons*. *Anal. Chem.* 26(6), 1008.
- Berner R.A., (1963). Electrode studies on hydrogen sulfide in marine sediments. *Geochem. Cosmochim. Acta* **27** : 563-575.
- Bernstein B (1981). Ecology and economics: complex systems in changing environments. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12, 309-330.
- Bettelheim J y Billinge H (1983). Eliminación de óxidos de azufre de los gases de chimenea de las centrales de energía y las calderas industriales. En Contaminación del aire por la industria. Parker, A. comp. Td. José Costa L. Ed. Reverté, España. pp. 295-321.
- Buisman C (1998). Industrial applications of new sulphur biotechnology. The Biological Sulphur Cycle: Environmental Science and Technology. Wageningen, The Netherlands, April 19-24.
- Buisman C, Post R, Ijspeert P, Geraats G y Lettinga G (1989). Biotechnological process for

- sulfide removal with sulphur reclamation. *Acta Biotechnol.* 9(3), 255-267.
- Cork DJ, Jerger DE y Maka A (1986). Biocatalytic production of sulfur from process waste streams. *Biotechnol. Bioeng. Symp. Ser.* 16, 149-162.
- Chung, Ying-Chien; Huang, Chihpin; Liu, Chia Ho y Bai, Hsunling. (2001). Biotreatment of hydrogen sulfide and ammonia-containing waste gases by fluidized bed bioreactor. Institute of environmental engineering, National Chiao Tung University, Hsinchu, Taiwan. *J. Air Waste Manage. Assoc.*, 51(2), 163-172.
- Dahod, S.K. (1982). Redox potential as a better substitute for dissolved oxygen in fermentation process control, *Biotechnol. Bioeng.*, 24, 2123- 2125.
- Dhawale S (1993). Thiosulfate. An interesting sulfur oxoanion that is useful in both medicine and industries but is implicated in corrosion. *J. Chem. Education.* 70(1), 12-14.
- Eckert W., (1993). Microbially-related redox changes in a subtropical lake. 2. Simulation of metalimnetic conditions in a chemostat. *Biogeochemistry* **21** :21-38.
- Felder R M y Rousseau R W, (1991). Principios elementales de los procesos químicos, p 120- 121, Addison-Wesley; Wilmington Del.
- Frevert T, (1984). Can the redox conditions in natural water systems be predicted by a single parameter ? *Schweiz.Z. Hydrol.* **46** : 269-290.
- Gommers P, Bijlerveld W, Zuijderwijk F y Kuenen J (1988). Simultaneous sulfide and acetate oxidation in a denitrifying fluidized bed reactor-I. *Wat. Res.* 22(9), 1075-1083.
- Groenestijn J y Hesselink, P (1993). Biotechniques for air pollution control. *Biodegradation*, 4, 283-301.
- Hill M (1997a). Energy production and use. En: Understanding environmental pollution. Cambridge University Press, SA. pp. 260-280.
- Hugler W, Acosta C y Revah S (1999). Biological removal of carbon disulfide from waste air streams. *Environm. Progress*. Accepted
- Janssen, AJH; Meijer, S; Bontsema, J y Lettinga, G (1998). Application of the Redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, vol.60, no.2, pp. 147-155.
- Janssen A, Ma S, Lens P y Lettinga G (1997). Performance of a sulfide-oxidizing

- expanded-bed reactor supplied with dissolved oxygen. *Biotechnol. Bioeng* 53:32-40.
- Janssen A (1996). Formation and colloidal behavior of elemental sulphur produced from the biological oxidation of hydrogensulphide. PhD thesis, Wageningen, The Netherlands.
- Janssen A, Sleyster R, van der Kaa C, Jochemsen A, Bontsema J y Lettinga G (1995). Biological sulphide oxidation in a fed-batch reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 47, 327-333.
- Jensen A y Webb C (1995). Treatment of H₂S-containing gases: A review of microbiological alternatives. *Enzyme Microbiol. Technol.* 17, 2-10.
- Kawasaki L, Rios M, Alcántara S y Revah S. (2002). , Isolation and characterization of a sulfoxidizing bacterium from a microbial consortium adapted to sulfides. Sin publicar.
- Kelly D, Shergill J, Lu W y Wood A (1997). Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek.* 71, 195-107.
- Kelly D (1990). Energetics of Chemolithotrophs. En: *The Bacteria*, vol. XII, Ed. T.A. Krulwich, Academic Press, Inc. USA. pp. 479-501.
- Kelly D, (1982). Biochemistry of the chemolithotrophic oxidation of inorganic sulfur. *Phil.Trans R. Soc. Lond.* 238, 499-528.
- Lengyel, Z.L y Nyiri (1965). An automatic aeration control system for biosynthetic processes. *Biotechnol. Bioeng.*, 7, 91-100.
- Lobo R, Revah S y Viveros G (1999). An analysis of a trickle bed bioreactor: Carbon disulfide removal. *Biotechnol. Bioeng.* 63,1, 98- 109.
- Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L y Randal R J (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Mackenzie F (1995). Biogeochemistry. En: *Encyclopedia of environmental biology*. Vol. I. Academic Press, USA. pp. 249-276.
- Madigan M, Martinko J y Parker J (1999). Diversidad metabólica de los microorganismos. En: *Biología de microorganismos*. Prentice Hall Iberia. pp. 473-531.
- Madigan M, Martinko J y Parker J (1998). *Biología de microorganismos*. Prentice Hall Iberia. pp. 536,573-574.
- Manion A M (1992) Acidification and Eutrophication. In: *Environmental Issues in the 1990's*. Eds.Mannion A M and Bowley S R. Jhon Wiley, Chichester. pp. 177-197.

- McComas C, Sublette K, Jenneman G y Bala G (2001). Characterization of a novel biocatalyst system for sulfide oxidation. *Biotechnol. Prog.* 17, 439-446.
- McEldowney S, Hardman D y Waite S (1993). Pollution: Ecology and biotreatment. Logman Sci. and Teach., Singapore. pp. 193-230.
- Monticello D, y Finnerty R (1985). Microbial desulfurization of fossil fuels. *Ann. Rev. Microbiol.* 39, 371-389.
- Nagadomi H, Kimura T, Watanabe M y Sasaki Ken (2000). Simultaneous removal of chemical oxygen demand (COD), phosphate, nitrate and H₂S in the synthetic sewage using porous ceramic immobilized photosynthetic bacteria, *Biotechnology Letters*, Printed in the Netherlands.
- Nagl G (1997). Controlling H₂S emissions. *Chemical Engineering*. 3, 125-127.
- Orantes J (2000). Reactor de lecho móvil para tratar aguas residuales usando un nuevo material de soporte, Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Nacional de México.
- Pauling L (1964). In: *College Chemistry: An introductory text book of general chemistry*. S. Fco.Freeman. pp.254
- Peppler H.J. (1967). *Microbial Technology*, p. 421, Reinhold Pub. Corp., New York.
- Pirt S.J. and Callow D.S. (1960). Studies of growth of *Penicillium chrysogenum* in continuous flow culture with reference to penicillin production, *J. Appl. Bact.* 23 (1), 87.
- Prosser J (1989). Autotrophic nitrification in bacteria. En: *Advances in microbial physiology*. Vol. 30, 125-177.
- Revah S, Acosta M, Hugler W, Trinidad R, Avila C, Estrada I y Hinojosa A, (1995). Air biodesulfuration from viscose plants: Carbon disulfide elimination, conference on biofiltration (an Air Pollution Control Technology), Los Angeles, California, Oct.5-6.
- Robertson L y Kuenen J (1991). The colorless sulfur bacteria, En: Balows A, Trüper H, Dworkin M, Harder H, Schleifer K (eds) *The prokaryotes*, vol. 1, Springer, Berlín Heidelberg New York, pp. 385-413.
- Schreiber, Donald C, Pavlostathis y Spyros G. (1998). Biological oxidation of thiosulfate in mixed heterotrophic/autotrophic cultures. *Water Res.*, 32(5), 1363-1372,
- Steffes G, Torremans A, Schrijver R, Robertson L y Kuenen J (1996). Quantitative measurement of sulphur formation by steady-state and transient-state continuous

- cultures of autotrophic *Thiobacillus* species. *App. Microbio. Biotechnol.* 45, 169-175.
- Stefess G.C, (1993). Oxidation of sulfide to elemental sulfur by aerobic *Thiobacilli* . Ph.D. thesis, Technical University Delft, The Netherlands.
- Sublette K (1987). Oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*: desulfurization of natural gas. *Biotechnol. Bioeng.* 29, 249-257.
- Sublette K y Sylvester N (1987). Oxidation of hydrogen sulfide by mixed cultures of *Thiobacillus denitrificans* and heterotrophs. *Biotechnol. Bioeng.* 29, 759-761.
- Sublette K, (1987). Aerobic oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*, *Biotech. Bioeng.* 29, 690-695.
- Suzuki I (1999). Oxidation of inorganic sulfur compounds: Chemical and enzymatic reactions. *Can. J. Microbiol.* 45, 97-105.
- Takakuwa S (1992). Biochemical aspects of microbial oxidations of inorganic sulfur compounds. En: Organic sulfur chemistry: biochemical aspects. Eds. Oae S, Okuyama T CRC Press, USA. pp. 1-44.
- Torres P, (1998). Estudio del efecto de algunos factores de operación en la oxidación biológica de CS₂ en un biolavador de lecho escurrido (BLE), Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
- Torres C M, Revah S, Hinojosa M A, Paez M F y Morales V (1993). Biological process for the elimination of sulphur compounds present in gas mixture. U.S. Patent 5,236,677.
- Van't Riet (1983). "Mass Transfer in Fermentation Equipment," *Trends in Biotechnology*, 1(4): 113
- Velasco J, (2001). Evaluación de los parámetros que determinan la oxidación biológica del tiosulfato en azufre elemental, Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.