



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*

División de Ciencias Básicas e Ingeniería

**Estudio de la oxidación biológica de
compuestos reducidos de azufre por un
consorcio alcalófilo en un biorreactor.**

Tesis que para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias (Ingeniería Química) presenta:

M en I.Q. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ

Director de Tesis:
Dr. SERGIO REVAH

México DF.

Diciembre, 2006

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios

Eternamente a mis padres Antonio y Catalina

A mis hermanos Federico y José Luís

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

A Sergio Revah

A Marc Deshusses y la University of California-Riverside

A los miembros del jurado:

Dr. Ricardo Lobo Oehmichen

Dr. Sergio Revah Moiseev

Dr. Gerardo Saucedo Castañeda

Dr. Simón González Martínez

Dr. Germán Buitrón Méndez

A Divanery Rodríguez

A Sergio Hernández, Antonio Velasco y Alberto Vergara

A los amigos y compañeros que compartimos el laboratorio W 107 y la planta piloto
PPU 4

**ESTUDIO DE LA OXIDACIÓN BIOLÓGICA
DE COMPUESTOS REDUCIDOS DE AZUFRE
POR UN CONSORCIO ALCALÓFILO EN UN
BIORREACTOR.**

Armando González Sánchez

RESUMEN

En esta tesis se reporta la eliminación de H₂S gaseoso mediante su transferencia a una solución acuosa alcalina y su posterior degradación por un Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante (CAS) autóctono. La velocidad de transferencia del H₂S a una solución acuosa aumenta significativamente con el incremento del pH, desplazando el equilibrio químico hacia especies menos protonadas y más solubles como el HS⁻ y S²⁻ (sulfuro). Esta propiedad resulta muy relevante en el tratamiento eficiente de corrientes gaseosas contaminadas con H₂S, desde la eliminación de malos olores, hasta el endulzamiento del gas natural. El tratamiento biológico del sulfuro generado en condiciones alcalinas, puede llevarse a cabo *in situ* por el CAS mediante la oxidación catalizada hacia azufre y/o sulfato.

El proyecto de tesis se ha dividido en tres partes básicas: la caracterización cinética del crecimiento y sulfooxidación del CAS, la descripción físico-químico-biológica del sistema alcalino y la aplicación del CAS en reactores.

En la caracterización cinética del CAS se demuestra que el consorcio posee la capacidad de crecer y oxidar varios sustratos azufrados, con velocidades comparables a otros microorganismos no extremófilos. Se estimaron parámetros característicos de crecimiento como: μ_{max} , K_s , Y_{xs} , m . Se proponen expresiones cinéticas para la oxidación aerobia de varios sustratos azufrados. Adicionalmente, se evaluó el efecto de la acumulación de producto (sulfato) y de la salinidad sobre el desempeño del CAS.

La segunda parte describe la oxidación química del HS⁻ con O₂ disuelto. Bajo condición alcalina las velocidades resultaron ser muy superiores que a condiciones ácidas y neutras. Se propone la producción de subproductos metaestables como pentasulfuro S₅²⁻ y tiosulfato S₂O₃²⁻. Se presentan los Diagramas de Zonas de Predominio (DZP) metaestables y estables para las especies azufradas en solución acuosa de acuerdo al Potencial de Oxido Reducción (ORP) y el pH de la solución. Mediante los DZP se confirma la presencia de S₅²⁻ y S₂O₃²⁻ como intermediarios metaestables provenientes de la oxidación química del HS⁻. Se plantearon las expresiones estequiométricas y cinéticas de las reacciones químicas, que fueron validadas con resultados experimentales. Se evidencia que la formación de los subproductos metaestables puede tener un impacto positivo en el proceso biológico de sulfooxidación alcalina.

La combinación de la caracterización cinética del CAS junto con las expresiones cinéticas de la oxidación química del HS⁻ y producción-consumo de intermediarios, fueron usadas para la modelación del proceso sulfooxidante en solución acuosa alcalina. Lo anterior permitió separar los procesos principales que ocurren simultáneamente en la eliminación biológica de sulfuro.

La tercera parte describe la aplicación del CAS en biorreactores operados a pH alcalino; como un Biofiltro de Lecho Ecurrido (BLE) empleado en la eliminación de H₂S gaseoso y un Biolavador de Células Retenidas (BLR) usado en la eliminación de sulfuro. Se describen las potencialidades de aplicación y las limitantes del proceso.

ABSTRACT

This PhD. thesis, reports the removal of H₂S from waste gas or foul odorous air streams by absorption into an aqueous alkaline solution and the subsequent degradation by an Alkaliphilic Sulfoxidizing Bacteria Consortium (CAS).

The mass transfer rate of H₂S to the liquid increases at higher pHs, favored by the changes in the chemical equilibrium towards more soluble species, such as hydrosulfide (HS⁻) or sulfide (S²⁻). This property can be promising for the efficient treatment of streams containing low concentrations of H₂S. Furthermore, the biological treatment of dissolved sulfide commonly generated from a previous alkaline absorption step can be performed *in situ* by the CAS, taking advantage of its catalytic capacity to oxidize sulfur compounds under alkaline condition.

The PhD. thesis is divided in of three main parts: the kinetic characterization of the growth and sulfoxidizing capacity of the CAS, the physical-chemical-biological interactions under alkaline condition and the deployment of the CAS in reactors.

The kinetic characterization of the CAS demonstrated comparable growth and sulfoxidizing capacities with the non-extremophile microorganisms (μ_{max} , K_s , Y_{xs} , m , q_s). Kinetic expressions for the biological oxidation were proposed. Additionally the effect of higher sulfate and sodium concentrations on the CAS kinetic behavior were evaluated.

The second part, the stoichiometries and kinetic expressions for the oxic chemical sulfide oxidation to pentasulfide (S₅²⁻) and its further oxidation to thiosulfate (S₂O₃²⁻) are proposed and validated with experimental data. The faster oxic chemical sulfide oxidation under alkaline condition could be advantageous for the biological oxidation to sulfate by the reduced presence of the inhibiting sulfide. Both chemical and biological kinetic expressions were included into a mathematical model that shows that the chemical and the biological oxidation processes can be segregated, allowing higher sulfide loading rates.

In the third part the deployment the CAS in reactors is described. The alkaline biotrickling filtration of gaseous H₂S showed to be very effective at very low concentration of H₂S and short gas contact time. This is the first demonstration of a gas-phase bioreactor operated at high pH. The dissolved sulfide treatment under extreme conditions as both high sulfide concentration and alkaline pH demonstrated the feasibility to be applied for *in situ* remediation.

INDICE

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
Lista de Tablas	xii
Lista de Figuras	xiii
Capítulo 1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 PRINCIPALES IMPUREZAS EN GASES COMBUSTIBLES Y MALOS OLORES	2
1.1.1 Gas Natural	2
1.1.2 Biogás	3
1.1.3 Malos Olores	4
1.2 PROCESOS DE REMOCIÓN DE H ₂ S	4
1.2.1 Procesos Físicoquímicos	5
1.2.1.1 Lavado de Gas con Aminas y Proceso Claus	5
1.2.1.2 Procesos de conversión directa	5
1.2.1.3 Procesos de Lecho Seco	5
1.2.1.4 Procesos con Membranas	6
1.2.2 Procesos Biológicos	6
1.2.2.1 El Ciclo biológico del azufre	7
1.2.2.2 Microorganismos Sulfooxidantes	9
1.2.2.3 Tipos de Biorreactores Aplicados en el Tratamiento de Gases	10
1.2.2.3.1 Biofiltro (BF)	14
1.2.2.3.2 Biofiltro de Lecho Escurrido (BLE)	14
1.2.2.3.3 Biolavador (BL)	15
1.2.2.3.4 Biorreactor de membrana (BRM)	15
1.2.2.4 Aplicación de biorreactores para el tratamiento del H ₂ S	17
1.2.2.4.1 Tratamiento de H ₂ S y otras especies azufradas disueltas	17
1.2.2.4.2 Tratamiento de H ₂ S gaseoso	18
1.2.2.5 Organismos Extremófilos Alcalófilos Sulfooxidantes	21
1.3 SOLUBILIDAD DEL H ₂ S EN MEDIO ALCALINO	22
1.4 VELOCIDAD DE ABSORCIÓN DE H ₂ S EN MEDIO ALCALINO	24
1.5 OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO	26
1.5.1 Factores que influyen la Estequiometría y Cinética	27
1.5.2 Potencial de Oxido-Reducción (<i>ORP</i>)	28
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	30
CONTRIBUCIONES	31
HIPÓTESIS	32
OBJETIVO GENERAL	32
OBJETIVOS PARTICULARES	32
Capítulo 2 MATERIALES Y MÉTODOS	33
2.1 MATERIAL BIOLÓGICO	33
2.2 MEDIO MINERAL (de cultivo)	34
2.3 CULTIVO POR LOTE Y CULTIVO CONTINUO	34

2.4	RESPIROMETRÍA	35
2.5	VELOCIDAD DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO Y DE CONSUMO BIOLÓGICO DE LOS INTERMEDIARIOS.	36
2.5.1	Métodos analíticos	38
2.6	BIOFILTRO DE LECHO ESCURRIDO (<i>BLE</i>)	38
2.6.1	Métodos analíticos	40
2.6.2	Evaluación del Factor de Mejora <i>E</i> de la absorción de H ₂ S en un solución alcalina	41
2.6.3	Evaluación de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa	42
2.7	BIOLAVADOR DE RECIRCULACIÓN (<i>BLR</i>)	44
2.7.1	Métodos analíticos	47
Capítulo 3	CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DEL CONSORCIO ALCALÓFILO SULFOOXIDANTE (CAS) BAJO CONDICIONES AMBIENTALES CONTROLADAS.	48
3.1	EFECTO DE LA FUENTE DE AZUFRE EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO Y SULFOOXIDACIÓN	48
3.1.1	Caracterización Cinética del CAS usando como Sustrato Limitante Tiosulfato (S ₂ O ₃ ²⁻)	48
3.1.1.1	Cultivo en lote	48
3.1.1.2	Cultivo Continuo	50
3.1.1.3	Determinación de μ_{max} por el Método de Lavado	52
3.1.2	Caracterización Cinética del CAS usando como sustrato limitante al Sulfuro (HS ⁻).	53
3.1.2.1	Cultivos en lote	53
3.1.2.2	Cultivo Continuo	55
3.1.2.2.1	Predicción de estados estacionarios múltiples para el cultivo continuo del CAS	56
3.1.2.2.2	Efecto del oxígeno disuelto	60
3.1.2.3	Determinación de μ_{max} por el método del lavado	61
3.1.2.4	Cinética de crecimiento en cultivo por lote del CAS en matraces	62
3.1.3	Degradación de otros compuestos de azufre.	64
3.1.4	Efecto de la concentración de sulfato	66
3.2	EFECTO DE LA SALINIDAD	68
3.2.1	Velocidad de Crecimiento	68
3.2.2	Capacidad Sulfooxidante	68
3.3	TOLERANCIA DEL CAS A pH ÁCIDOS	70
Capítulo 4	EFECTO DE LA OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO SOBRE LA OXIDACIÓN BIOLÓGICA EN CONDICIONES ALCALINAS	74
4.1	OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO	74
4.1.1	Estequiometría de la Reacción Química	74
4.1.2	Diagrama de Zonas de Predominio (DZP) del sistema S-H ₂ O	77
4.1.3	Cinética de la Reacción Química	79
4.1.4	Simulación y validación del modelo cinético	80
4.2	OXIDACIÓN BIOLÓGICA	81
4.2.1	Cinética de la oxidación biológica	82
4.3	OXIDACIÓN BIOLÓGICA DE LOS INTERMEDIARIOS DE LA OXIDACIÓN QUÍMICA	84
4.4	MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DEL MODELO CINÉTICO QUÍMICO-BIOLÓGICO	87
Capítulo 5	ELIMINACIÓN DE H₂S BAJO CONDICIONES ALCALINAS EN BIORREACTORES.	95
5.1	BIOFILTRACIÓN ALCALINA DE OLORES DE H ₂ S EN UN BIOFILTRO DE LECHO ESCURRIDO (<i>BLE</i>)	95
5.1.1	Arranque y operación de un Biofiltro de Lecho Ecurrido (<i>BLE</i>)	95
5.1.2	Consumo de NaOH	99

5.1.3	Evaluación experimental de la constante de Henry modificada del H ₂ S bajo condiciones alcalinas (H_{mod})	103
5.1.4	Estimación del factor de mejora E de la absorción de H ₂ S en el <i>BLE</i> alcalino	103
5.1.5	Determinación del paso limitante en la eliminación de H ₂ S gaseoso en el <i>BLE</i>	105
5.1.6	Efecto de la velocidad de recirculación en la remoción de H ₂ S	109
5.1.7	Balance de Azufre	111
5.1.8	Efecto de la longitud axial del lecho empacado en la remoción de H ₂ S	112
5.1.9	Determinación de la Degradación de Sulfuro en el Biofiltro de Lecho Escurrido	113
5.2	ELIMINACIÓN DE SULFURO EN UN REACTOR DE RECIRCULACIÓN BAJO CONDICIONES ALCALINAS.	115
5.2.1	Arranque y operación de un Biolavador Recirculación (<i>BLR</i>) para la eliminación de sulfuro.	115
5.2.2	Balance acumulado de Azufre	118
5.2.3	Biomasa adherida (biopelícula) a soportes	119
5.2.4	Respuesta dinámica del <i>BLR</i> a tres diferentes sustratos azufrados	121
5.2.5	Comparación con otros sistemas experimentales	123
	CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS	127
	BIBLIOGRAFÍA	129
	APENDICE	139
	GLOSARIO.	142

Lista de Tablas

Tabla 1-1. Composición de gases combustibles (adaptado de Pandey and Malhotra 1999)	3
Tabla 1-2. Bacterias Sulfooxidantes aplicadas para la desulfurización de corrientes gaseosas contaminadas con H ₂ S	9
Tabla 1-3. Representación de los cuatro tipos de reactores usados en la purificación de gases y sus parámetros característicos (Van Groenestijn and Hesselink, 1993)	13
Tabla 1-4. Características de los microorganismos alcalófilos sulfoxidantes (Sorokin <i>et al.</i> 2001)	22
Tabla 2-1 Composición medio mineral usado para el crecimiento del consorcio alcalófilo	33
Tabla 2-2 Parámetros físicos a 25°C, usados para el calculo del factor de mejora <i>E</i>	42
Tabla 3-1. Resultados del cultivo en lote con tiosulfato	49
Tabla 3-2. Resultados del cultivo continuo con tiosulfato	51
Tabla 3-3. Estados estacionarios alcanzados usando sulfuro como sustrato limitante.	56
Tabla 3-4. Resultados del cultivo por lote (matraz) con sulfuro	63
Tabla 3-5 Efecto de la concentración de sulfato sobre la velocidad específica de crecimiento y actividad sulfooxidante de tiosulfato.	67
Tabla 3-6. Comparación de las propiedades de varios microorganismos sulfoxidantes adaptados a crecer bajo diferentes pH.	73
Tabla 4-1 Consumo de oxígeno disuelto en la oxidación química del sulfuro en condiciones alcalinas, (pH = 10).	76
Tabla 4-2. Modelo matemático del proceso biológico de sulfooxidación acuosa alcalina	89
Tabla 5-1 Estimaciones de los coeficientes volumétricos individuales k_{Ca} y k_{La} y del coeficiente volumétrico global K_{Ca} , bajo diferentes condiciones de operación del <i>BLE</i>	106
Tabla 5-2. Determinación de la actividad sulfooxidante en el Biofiltro de Lecho Ecurrido.	114
Tabla 5-3. Resultados de adherencia de biomasa en soportes	120
Tabla 5-4 Estimación de las velocidades promedio de degradación en un cultivo por lote en el <i>BLR</i> .	123
Tabla 5-5. Comparación de diferentes sistemas aplicados en la eliminación de sulfuro.	125

Lista de Figuras

Figura 1-1. Ciclo biológico del azufre. BSR: Bacteria Sulfato Reductora, BSO: Bacteria Sulfooxidante.	8
Figura 1-2. Esquema de un <i>BRM</i> para el tratamiento de gases, formado por una membrana microporosa hidrofóbica, una biopelícula y células suspendidas	16
Figura 1-3. Tratamiento de sulfuros disueltos en aguas residuales sintéticas, con recuperación de azufre elemental. (a) Bio-Reactor de Recirculación (<i>BRR</i>); (b) Bio-Reactor Fluidificado de Recirculación (<i>BRFR</i>). (González-Sánchez y Revah 2006)	18
Figura 1-4. Diagrama del sistema Biolavador para el tratamiento de corrientes contaminadas con H_2S (Proceso Thiopaq). (González-Sánchez y Revah 2006)	20
Figura 1-5. (a) Solubilidad del H_2S en función del pH para una presión parcial de 0.1 atm y 25 °C, (b) Fracciones mol en equilibrio en función del pH y temperatura.	24
Figura 2-1 Evaluación de la velocidad de respiración (qO_2X) inducida por la oxidación de sulfuro	36
Figura 2-2 Reactor cerrado de 310 mL	37
Figura 2-3 Biofiltro de Lecho Escurrido Alcalino.	39
Figura 2-4 Biolavador de Recirculación (<i>BLR</i>).	45
Figura 3-1 Cultivo en lote, usando tiosulfato como sustrato limitante. Condiciones: $pH_{inicial}=10.24$, $T=30.0^\circ C$, $0.6 vvm$ y $500rpm$.	49
Figura 3-2 Cálculo de la velocidad específica de crecimiento μ_{max} en lote.	49
Figura 3-3 Cultivo en continuo del CAS usando tiosulfato como sustrato limitante. Condiciones: $pH = 10.0$, $T = 30^\circ C$, $500rpm$, $0.6 vvm$.	50
Figura 3-4. Evaluación de la μ_{max} del consorcio a través de la prueba de lavado, usando tiosulfato como sustrato limitante. Condiciones de lavado: $D = 0.31 h^{-1}$, $pH = 10.0$, $500rpm$ y $0.6 vvm$.	52
Figura 3-5 Oxidación química de sulfuro y la subsiguiente oxidación biológica de subproductos (tiosulfato) hasta sulfato. Cultivo por lote con una $[HS^-]_{in}=25mmol L^{-1}$. Condiciones: $V= 1.1 L$, $pH=10.0 \pm 0.1$ $T= 30^\circ C$, $500 rpm$. $0.6 vvm$, $[O_2] \sim 5.4 mg, L^{-1}$.	54
Figura 3-6. Estados estacionarios múltiples calculados para un cultivo continuo del CAS en un quimiostato, alimentando sulfuro como sustrato limitante.	57
Figura 3-7 Q_{HS} óptimas para la producción de biomasa y su relación la generación de polisulfuros (subproductos no sulfato)	58
Figura 3-8. Estimación de los parámetros de crecimiento y mantenimiento del CAS, usando sulfuro como sustrato limitante. (X indican los estados estacionarios que salieron de la tendencia).	59
Figura 3-9 Efecto del oxígeno disuelto. $D = 0.0481 h^{-1}$, $[HS^-]_{in}=48.31mmol L^{-1}$, 1% mol O_2 diluido en N_2 .	61
Figura 3-10 Prueba de lavado. $[HS^-]_{in} = 5.5 mmol L^{-1}$, $D_{lavado} = 0.45 h^{-1}$, $pH = 10.0$, $500rpm$ y $0.6 vvm$.	62
Figura 3-11 Cinética de crecimiento del CAS en un cultivo por lote, con $[HS^-]_{in} = 25 mmol L^{-1}$.	64
Figura 3-12 Oxidación del Sulfito	65
Figura 3-13 Oxidación del Metabisulfito	65
Figura 3-14 Oxidación del Tetrionato	65
Figura 3-15 Oxidación del Azufre elemental	65

Figura 3-16 Curvas de crecimiento en diferentes sustratos azufrados, con una concentración inicial del ión azufrado de 20 mmol L ⁻¹ .	66
Figura 3-17 Velocidad de la actividad respiratoria de los microorganismos halófilos seleccionados por cultivo continuo en función de la concentración de NaCl. [S ₂ O ₃ ²⁻] _{in} = 0.5 mmol L ⁻¹ y [O ₂] = 5.5 mg L ⁻¹ .	69
Figura 3-18 Actividad de Agua del medio de cultivo en función de la concentración NaCl	70
Figura 3-19 Tolerancia del CAS a pH ácidos	71
Figura 4-1 Perfiles de oxígeno disuelto y <i>ORP</i> generados por la oxidación química y biológica de sulfuro a diferentes concentraciones iniciales de sulfuro [HS ⁻] _{in} (a) 0.05 mmol L ⁻¹ , (b) 0.1 mmol L ⁻¹ , (c) 0.5 mmol L ⁻¹ . Condiciones: Presion atmosférica, temperatura de 30°C y pH = 10.	75
Figura 4-2 Diagrama de Zonas de Predominio a una concentración total de azufre de 50 mmol L ⁻¹ , considerando equilibrios metaestables alcanzándose en orden de: (a) minutos, (b) horas y (c) días. Condiciones: presión total de 1 atm y temperatura de 30°C.	78
Figura 4-3 Simulación y validación del modelo estequiométrica y cinético para la oxidación química del sulfuro en saturación de oxígeno disuelto con aire.	81
Figura 4-4 Velocidades de consumo específico de oxígeno para el CAS, en presencia de □ tiosulfato y ● sulfuro como sustratos limitantes.	82
Figura 4-5 Estimación de <i>K</i> _{O₂} a partir de la derivación de los perfiles de las velocidades de consumo de oxígeno, a [HS ⁻] _{in} = 0.5 mmol L ⁻¹ .	83
Figura 4-6 Perfiles de O ₂ y <i>ORP</i> provocados por la oxidación biológica de una solución de intermediarios azufrados, a [S _T] _{in} = 0.5 mmol L ⁻¹ .	85
Figura 4-7 Velocidad de consumo de oxígeno para varios sustratos azufrados a diferentes [S _T] _{in}	86
Figura 4-8 Patrón propuesto de la oxidación Química-Biológica del sulfuro y sus intermediarios considerado en la simulación del proceso sulfooxidante alcalino.	88
Figura 4-9. Simulación de un cultivo continuo de oxidación aerobia de sulfuro, bajo las condiciones de $D = 0.0475 \text{ h}^{-1}$, [HS ⁻] _{in} = 53 mmol L ⁻¹ , $X = 0.250 \text{ g}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1}$	91
Figura 4-10 Simulación de un reactor continuo aerobio-alcalófilo para el tratamiento de sulfuro empacado con el CAS. $D = 0.0475 \text{ h}^{-1}$ y saturación de oxígeno disuelto con aire. (a) Rendimiento a SO ₄ ²⁻ , (b) Rendimiento S ₅ ²⁻ .	93
Figura 5-1 Operación general del Biofiltro de Lecho Ecurrido (<i>BLE</i>). El día cero corresponde al inicio de la alimentación de H ₂ S.	96
Figura 5-2. Eficiencias de Remoción (<i>ER</i>) en un Biofiltro de Lecho Ecurrido Alcalino como función de <i>TRLV</i> y las concentraciones de H ₂ S a la entrada. Las barras de error representan las desviaciones estandar del promedio de las <i>ER</i> evaluadas al final de cada una de las fases de operación probadas.	97
Figura 5-3 Capacidad de Eliminación ($CE = [\text{concentración de entrada} - \text{concentración de salida}] X [\text{flujo de aire/volumen de lecho}]$) y la Eficiencia de Remoción <i>ER</i> de H ₂ S en función de la carga de H ₂ S alimentada al Biofiltro de Lecho Ecurrido.	98
Figura 5-4. Relación molar de consumo O ₂ /HS ⁻ .	100
Figura 5-5. Velocidad de consumo de NaOH y su relación	101

Figura 5-6. Operación abiótica del Biofiltro de Lecho Escurrido para la absorción de H ₂ S a <i>TRLV</i> de 6 segundos. (a) Operación en la fase gas, (b) Operación en la fase líquida.	102
Figura 5-7 Efecto del pH sobre el factor de mejora <i>E</i> , a una concentración [H ₂ S] _{ent} = 18 ppm _v .	104
Figura 5-8. Efecto de la concentración de entrada de H ₂ S sobre el factor de mejora <i>E</i>	105
Figura 5-9 Comparación de los flujos máxicos por unidad de volumen de lecho máxicos de H ₂ S en condiciones alcalinas, con las capacidades de eliminación <i>CE</i> bajo diferentes [H ₂ S] _{ent} , (a) 2.5 ppm _v , (b) 10 ppm _v y (c) 18 ppm _v .	107
Figura 5-10 Incremento de la velocidad de la absorción de H ₂ S en una solución a pH 10 con reacción química, en relación a la velocidad de absorción sin reacción química (pH < 7).	109
Figura 5-11. Efecto de la velocidad de recirculación sobre la remoción de H ₂ S. [H ₂ S] entrada = 18 ppm _v .	110
Figura 5-12. Balance Acumulado de Azufre considerando al sulfato como única especie soluble.	111
Figura 5-13 Eficiencia de Remoción axial en el <i>BLE</i> para diferentes concentraciones de H ₂ S a la entrada con un <i>TRLV</i> de 4 s.	112
Figura 5-14 Desempeño un reactor de células retenidas para la remoción de sulfuro, bajo condiciones alcalinas.	116
Figura 5-15. Balance acumulado de azufre durante la operación continua del <i>BLR</i>	119
Figura 5-16 Cultivo en Lote en un reactor de células retenidas para la remoción de sulfuro, bajo condiciones alcalinas. Concentración inicial del compuesto azufrado de 31 mmol L ⁻¹ . (a) Respuesta dinámica del <i>ORP</i> debida al consumo de tiosulfato, pentasulfuro y sulfuro. (b) Concentración de productos generados por el consumo de tiosulfato, pentasulfuro y sulfuro.	122

Capítulo 1 INTRODUCCIÓN

El azufre es el 14º elemento más abundante en la corteza terrestre. Se encuentra en todos los organismos, como parte constitutiva de compuestos orgánicos como aminoácidos, enzimas, cofactores, antibióticos. (Brüser *et al.* 2000). Es útil al hombre, en la manufacturación de ácido sulfúrico, la fabricación de pólvora, el vulcanizado del caucho, como fungicida y en la manufactura de fertilizantes. El azufre también se encuentra en el medio ambiente como sulfuros (galena PbS, sulfuro de zinc ZnS o pirita FeS₂), sulfatos (yeso CaSO₄·H₂O, barita BaSO₄, sulfato de magnesio MgSO₄·H₂O) y azufre elemental. Es un componente abundante en combustibles fósiles como el petróleo y gases combustibles, donde se pueden encontrar comúnmente al sulfuro de hidrógeno, sulfuros, mercaptanos, disulfuros, tiofenos y bezotiofenos (Reinhoudt y Moulijn 2000).

Cuando los compuestos de azufre son emitidos al medio ambiente en forma excesiva generan problemas ambientales, desequilibrándose su ciclo natural. Entre los principales contaminantes azufrados generados por la actividad humana (McEldowney *et al.* 1993) se consideran, al sulfato SO₄²⁻ (contaminación de agua superficial), óxidos de azufre SO₂ y SO₃ (lluvia ácida), sulfuro de hidrógeno H₂S (toxicidad, corrosión, mal olor) y compuestos de azufre metilados (mal olor, cambio climático).

Uno de los principales motivos del desequilibrio natural del azufre es el incremento en la demanda de energía (Bernstein 1981), que obliga al aumento en el consumo de combustibles fósiles a falta de otras fuentes energéticas convenientes. El uso combustibles fósiles gaseosos como el gas natural ha tomado un auge importante en nuestro país. El gas natural está constituido según su origen, por metano (85% v/v) con proporciones variables de otros hidrocarburos (etano, propano, butano, pentano y gasolina natural) y de contaminantes diversos (H₂S y CO₂). Otras fuentes relevantes de contaminantes gaseosos azufrados, las constituyen las provenientes del biogás y gases de desecho originados principalmente de plantas de tratamiento de desechos sólidos y líquidos (Tabla 1-1).

Las emisiones de azufre al ambiente provocan también daños al hombre que varían desde molestias causadas por la emisión de malos olores generados por bajas concentraciones (0.02-0.13 ppm_v), hasta la toxicidad y muerte provocadas por altas concentraciones (> 2000 ppm_v).

1.1 PRINCIPALES IMPUREZAS EN GASES COMBUSTIBLES Y MALOS OLORES

1.1.1 Gas Natural

La presencia de compuestos como el H₂S, CO₂, COS, CS₂, RSH (Tabla 1-1), propician diversos problemas durante la producción y transportación de los gases combustibles, si no son tratados antes, y la generación de SO₂ con la combustión. A continuación se describen brevemente algunas propiedades y especificaciones de algunos compuestos azufrados comúnmente contenidos en el gas natural.

Sulfuro de Hidrógeno (H₂S). El H₂S, es análogo estructuralmente 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 del azufre, siendo tóxico, inflamable y poco soluble en agua (aproximadamente 0.1M a 25 °C). Posee un pK_1 alrededor de 7 y un pK_2 de 13.

El contenido de H₂S en el gas natural puede variar desde 3.76 a 8.55 vol%, mientras el contenido de CS₂ puede llegar hasta un 0.28 vol% (ver tabla 1-1).

El H₂S debe ser removido por razones de seguridad y corrosión hasta concentraciones menores de 4 *ppm_v* (Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 1986) que es la especificación para el gas natural en los Estados Unidos de América. De esta forma también se minimiza la emisión de óxidos de azufre (SO₂) al ambiente, cuando el gas es quemado.

Dióxido de Carbono (CO₂). El CO₂ es tolerado en las refinerías y la industria del gas natural hasta concentraciones de 1-2 vol% (Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 1986). Sin embargo algunas veces existen cantidades considerables de CO₂ que deben removerse hasta alcanzar el Índice de Wobbe (IW)¹ deseado. En el caso del gas natural el IW debe ser entre 12837 a 11597 kcal Nm⁻³. En el gas de síntesis (Syngas), el CO₂ tiene que ser removido hasta niveles de 50 *ppm_v*. Para la producción de LNG (Gas Natural Licuado) el contenido de CO₂ tolerado debe estar en el rango de los 50 *ppm_v* a 100 *ppm_v*, para prevenir la congelación del CO₂ durante la licuefacción.

Azufre Total. Los compuestos COS, CS₂, RSH y RSR, forman parte de las especificaciones de azufre total en gases combustibles. El contenido permisible es de

¹ Definido como el valor calorífico dividido por la raíz cuadrada de la gravedad específica. Se controla este índice para asegurar la combustión satisfactoria del gas en el quemador. Si no se cumple esta especificación, la cantidad de aire que se mezcla con el gas será la incorrecta.

100 a 150 mg S m⁻³ (Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 1986). El gas natural contiene también azufre elemental en forma de vapor, este azufre puede llegar a tapar las tuberías y en combinación con agua se convierte en un compuesto corrosivo.

1.1.2 Biogás

Una fuente de energía emergente es la utilización de biogás como combustible. El biogás es un producto del tratamiento de aguas residuales y residuos sólidos municipales por métodos biológicos anaerobios.

El biogás está compuesto principalmente de CH₄, CO₂ y bajas concentraciones de H₂S (Tabla 1-1). El alto valor energético debido a su alta concentración de metano, lo hacen atractivo para la producción de energía, que puede ser utilizada principalmente con propósitos domésticos. El biogás antes de utilizarlo como combustible, debe ser limpiado de impurezas como el H₂S a un bajo costo, reduciendo así el deterioro ambiental y evitar daños al equipo que lo transporta y combustiona. Rands *et al.* (1981) reportan concentraciones de hasta de 1000 ppm_v de H₂S en el biogás producido por reactores anaerobios.

Tabla 1-1. Composición de gases combustibles (adaptado de Pandey and Malhotra 1999)

Gas Combustible	Composición mol (% v/v)							
	otros S*	H ₂ S	H ₂	CO ₂	CH ₄	N ₂	CO	H _n C _n
Gas Natural	≈0.25	3.8–8.6	≈0.3	2–18	36–71	54–58	—	≈3.0
Biogás (destilería)	≈0.003	1.2–2.5	≈0.04	22–28	58–64	1.5–5	—	—
Gas de Refinería	≈0.03	4.5–7.5	≈20	11–15	≈ 1.5	50–59	≈18	≈ 2
Gas de horno de coque	≈0.03	0.3–4.8	≈15.0	24–28	≈ 50	≈0.15	≈10	≈0.02
Gas de síntesis	≈0.017	0.6–2.0	≈21	15–26	5–26	≈27	9-22	≈0.6

* CS₂, Mercaptanos y tiofeno

** H_nC_n Hidrocarburos

1.1.3 Malos Olores

Las plantas de tratamiento de aguas residuales son herramientas tecnológicas muy importantes para contribuir en la preservación del medio ambiente. Sin embargo, uno de los principales problemas asociados con estas plantas es la generación de malos olores, que en algunos casos ha sido determinante para clausurar o evitar su instalación.

Uno de los compuestos que contribuye en gran medida a la generación de malos olores es el H_2S , cuyo umbral de detección comienza a partir de concentraciones entre 0.02-0.13 ppm_v . Los malos olores de H_2S en este caso son originados por la descomposición anaerobia de la materia orgánica, muy frecuentemente encontrado en drenajes y plantas de tratamiento de aguas residuales y de lodos de desecho.

Las concentraciones de H_2S emitidas en plantas de tratamiento pueden variar considerablemente dependiendo del tipo de planta y del tipo de agua residual que éstas tratan. Pomeroy (1982) y Lang y Jager, (1992) reportan concentraciones de H_2S en las emisiones provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales entre 0.6 - 1.0 ppm_v y 0.1 - 0.3 ppm_v respectivamente. Webster *et al.*, (1996) reportan concentraciones de H_2S en una planta de tratamiento de aguas residuales municipales entre 1 - 10 ppm_v .

Los compuestos órgano-sulfurados también están estrechamente asociados con producción de malos olores. El metil mercaptano CH_3SH es emitido también por plantas de tratamiento de aguas residuales, sus concentraciones típicas son alrededor de 26 ppm_v (Allen y Phatak, 1993).

1.2 PROCESOS DE REMOCIÓN DE H_2S

La eliminación de compuestos ácidos gaseosos como el H_2S , se lleva a cabo generalmente mediante el uso de tecnologías que se basan en sistemas de absorción-agotamiento, utilizando un solvente selectivo al compuesto indeseable y un sistema reactivo para su transformación a especies menos tóxicas o inertes. El gas alimentado se denomina “amargo”, el producto “gas dulce”. Los procesos de tratamiento se pueden dividir en fisicoquímicos y biológicos.

1.2.1 Procesos Físicoquímicos

Los procesos de tratamiento físicoquímicos han sido utilizados con amplitud sobre todo en corrientes de gas con altas concentraciones de H₂S superiores a 3500 ppm_v (Van Groenestijn y Hesselink 1993). Estos procesos de tratamiento son poco eficientes cuando son aplicados a corrientes gaseosas de altos flujos con bajas concentraciones de H₂S.

1.2.1.1 Lavado de Gas con Aminas y Proceso Claus

El proceso con aminas es el más usado en la remoción de H₂S del gas natural, consiste en la absorción del H₂S en una solución de alcano-aminas (ecuación 1-1), para después ser liberado (desorbido) al calentar la solución a 90°C y hasta 150 °C, y así regenerar el solvente (West 1984). El H₂S desorbido es quemado o convertido a azufre elemental por el proceso de Claus (Campbell 1978). La desventaja del proceso son los altos costos de operación (energía, materiales), además de la producción de contaminantes secundarios como el SO₂ en la combustión del H₂S. Las ventajas son la experiencia y la recuperación de azufre en el caso del uso del proceso Claus. Estos procesos se usan para la purificación del gas natural o gas de síntesis a altas presiones y altas concentraciones de gas ácido.



1.2.1.2 Procesos de conversión directa

Los procesos de conversión directa (o procesos de oxidación líquida) son muy usados en la remoción de H₂S. Este proceso involucra la oxidación directa del H₂S hasta azufre elemental con la reducción de sales de hierro o zinc. Entre las tecnologías basadas en este proceso de oxidación-reducción se encuentran procesos comerciales como: Stretford, LO-Cat, SulFerox e Hiperion (Pandey y Malhotra 1999). Estos procesos funcionan mejor a concentraciones bajas de H₂S (1-2 vol%), con un máximo de producción de azufre cercano a las 20 T d⁻¹.

1.2.1.3 Procesos de Lecho Seco

Estos procesos usan un lecho fijo de material sólido sobre el cual el H₂S es adsorbido (Pandey y Malhotra 1999). La adsorción puede ser física o química según el

Capítulo 1

tipo de superficie usada. Para superficies de óxidos de fierro y zinc, la adsorción es química e irreversible, caso contrario ocurre para superficies de zeolitas y carbón activado donde estos lechos pueden ser regenerados. Estos procesos son usados en la remoción de pequeñas cantidades de H₂S. La adsorción en hierro u óxido de hierro son los más antiguos y aún se siguen utilizando.

1.2.1.4 Procesos con Membranas

Recientes desarrollos sobre materiales han permitido la aplicación de membranas poliméricas en la separación selectiva del H₂S de corrientes gaseosas (Lagas 2000). La separación en membranas está basado en el principio de la permeabilidad de moléculas de un gas que pueden fluir a través de una membrana a diferentes velocidades. La presión diferencial es la fuerza motriz. Ergas (2001) reportó que las membranas proveen un área superficial específica de hasta 20000 m² m⁻³, la cual actúa como interfase en la transferencia del H₂S. Li *et al.* (2000) reportaron la eliminación de H₂S y SO₂ usando membranas PVDF o de polisulfano en una configuración de módulos de fibras huecas.

1.2.2 Procesos Biológicos

Los procesos de tratamiento biológico de aire contaminado están basados en la capacidad de los microorganismos de transformar ciertos contaminantes orgánicos e inorgánicos a compuestos menos tóxicos e inodoros. Cuando los contaminantes están en la fase gaseosa, los procesos biológicos de degradación son generalmente de oxidación siendo los productos finales el dióxido de carbono, agua, sulfato y nitrato. En el tratamiento de efluentes líquidos y sólidos de desecho, los microorganismos pueden degradar efectivamente los contaminantes, especialmente cuando estos se presentan en bajas concentraciones (< 5000 ppm) en un ambiente con temperatura y pH no extremos bajo condiciones aerobias o anaerobias (Revah y Morgan-Sagastume 2005). Por el uso de condiciones ambientales suaves características de los procesos biológicos, estos tienen un atractivo nicho de aplicación en la eliminación de contaminantes, pues son tecnologías de bajos costos y de menor impacto al medio ambiente.

En el caso de la eliminación biológica de H₂S de corrientes gaseosas se han propuesto varios procesos de desulfuración (González-Sánchez y Revah 2006), aunque

pocos han sido aplicados a gran escala. A continuación se detallan algunas generalidades de los procesos biológicos y algunas experiencias reportadas.

1.2.2.1 El Ciclo biológico del azufre

El fundamento de la aplicación de los procesos biológicos en la eliminación de compuestos azufrados como el H_2S se basa en el ciclo biológico del azufre, en el cual se encuentran vinculados una gran variedad de organismos y microorganismos que son capaces de asimilar y/o transformar el H_2S a compuestos menos tóxicos e inertes.

En la naturaleza el azufre se encuentra en diferentes estados de oxidación, por lo tanto puede formar diferentes compuestos, que se intercambian por medio de procesos químicos o biológicos de oxidación-reducción, constituyendo el ciclo biogeoquímico del azufre (Takakuwa, 1992; Robertson y Kuenen, 1991).

Debido a la variedad de estados de oxidación del azufre, sus transformaciones son complejas. En la figura 1-1 se presentan las transformaciones biológicas que corresponden al ciclo biológico del azufre. En este ciclo, aunque son posibles varios estados de oxidación, tres de ellos tienen una mayor importancia en la naturaleza debido a su estabilidad, como **-2** (tiol, R-SH , sulfuro, HS^-), **0** (azufre elemental, S^0) y **+6** (sulfato, SO_4^{2-}).

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

Etapas reductivas: Se presentan dos formas bioquímicas de reducción, la asimilativa y la desasimilativa. La primera la presentan tanto eucariotes como procariotes y en ésta el sulfato es reducido a H_2S para la biosíntesis de compuestos con azufre necesarios para el crecimiento y funcionamiento 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 último aceptor de electrones. Esta reducción está acoplada con la oxidación de varios ácidos grasos volátiles como lactato y piruvato que generan ATP y poder reductor necesarios para el crecimiento celular.

Etapas oxidativas: Esta etapa comprende las reacciones de oxidación en condiciones anaerobias como las efectuadas por microorganismos fotótrofos (Cork *et al.* 1983) y facultativos (Sublette y Sylvester 1987) y la oxidación aerobia por

microorganismos autótrofos del género *Thiobacillus* (Alcántara *et al.* 1999). La etapa oxidativa generalmente es desasimilativa.

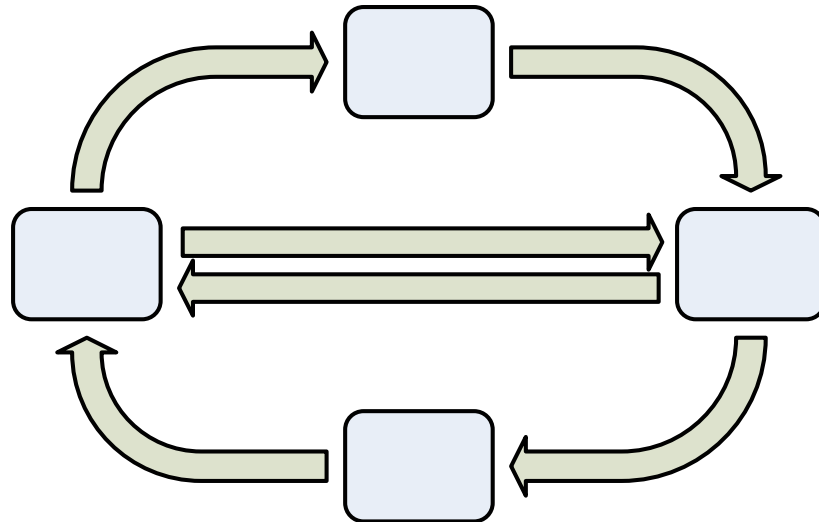


Figura 1-1. Ciclo biológico del azufre. BSR: Bacteria Sulfato Reductora, BSO: Bacteria Sulfooxidante.

Janssen *et al.* (1995) reportaron que la oxidación biológica del H₂S por microorganismos sulfooxidantes presenta dos principales reacciones dependientes de la concentración de O₂ disuelto.



**Reducción
Asimilativa
(organismos)**

La reacción 1-3 es la preferida por los microorganismos, ya que de esta derivan mayor energía para su crecimiento y mantenimiento que la reacción 1-2, sin embargo esta última es la que se intenta favorecer con la finalidad de disminuir el contenido de compuestos azufrados disueltos en los efluentes líquidos, formando azufre elemental cuya propiedad de poca solubilidad lo convierten en el producto deseado.

Otras ventajas del uso procesos biológicos de eliminación de H₂S es que la biomasa generada por estos procesos no es patógena, disponiéndose de ella en forma de lodos, el sulfato que es generado es un compuesto de menor riesgo, que puede ser removido sencillamente por otros procesos biológicos (sulfato-reducción anaerobia)

SO₄²⁻

químicos (precipitación con cal). Entre las desventajas se encuentran que son procesos lentos y limitados a bajas concentraciones del gas contaminante, para el caso del H₂S hasta 3% vol (Kok 1992).

1.2.2.2 Microorganismos Sulfooxidantes

Los procesos de remoción biológica de H₂S en corrientes gaseosas, requieren primero de la transferencia del H₂S a una fase líquida, donde posteriormente microorganismos especializados catalizan su oxidación a productos menos tóxicos o inertes. Las denominadas Bacterias Sulfooxidantes pueden obtener energía para su funcionamiento celular a partir de la oxidación de sulfuros disueltos. Bajo limitación en el suministro de oxígeno disuelto, estos microorganismos pueden producir azufre elemental. La Tabla 1-2 muestra algunas Bacterias Sulfooxidantes que han sido empleadas para la desulfurización de corrientes gaseosas.

Tabla 1-2. Bacterias Sulfooxidantes aplicadas para la desulfurización de corrientes gaseosas contaminadas con H₂S

Organismo	Metabolismo Energético	pH	Referencia
<i>Thiobacillus thioparus</i>	Quimiotrófica	6-8	Schlegel (1995)
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	Quimiotrófica	6-8	Schlegel (1995)
<i>Thiobacillus</i> sp. W5	Quimiotrófica	7-9	Visser <i>et al.</i> (1997a)
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Quimiotrófica	2-5	Schlegel (1995)
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Quimiotrófica	2-6	Schlegel (1995)
<i>Thiobacillus</i> sp. A1	Quimiotrófica	5-7	Alcántara <i>et al.</i> (2004)
<i>Thioalkalivibrio denitrificans</i>	Quimiotrófica	7.5-10.5	Sorokin <i>et al.</i> (2001)
<i>Thioalkalimicrobium cyclicum</i>	Quimiotrófica	7.5-10.5	Sorokin <i>et al.</i> (2002)
<i>Oscillatoria limnetica</i>	Fototrófica	6.8	Cohen <i>et al.</i> (1975)
Chlorobium	Fototrófica	6.8-7.0	Hurse and Keller (2004)

Dependiendo de su metabolismo energético, las bacterias sulfooxidantes pueden clasificarse como fototróficas o quimiotróficas. Las bacterias fototróficas (púrpuras o verdes) usan a la luz como fuente de energía para reducir el CO₂ a carbohidratos, mientras que las bacterias sulfooxidantes quimiotróficas (incoloras) obtienen su energía

Capítulo 1

de la oxidación aerobia de compuestos reducidos de azufre. Las bacterias sulfooxidantes crecen en un amplio rango de pH como se muestra en la Tabla 1-2.

1.2.2.3 Tipos de Biorreactores Aplicados en el Tratamiento de Gases

Se han desarrollado procesos biológicos para la remoción de H_2S como alternativa técnica-económica a los procesos fisicoquímicos. Algunas aplicaciones industriales reportadas (Gonzalez-Sanchez y Revah 2006) en la eliminación de H_2S , se refieren al tratamiento del gas natural, biogás, emisiones de industrias de fabricación de viscosa, entre otras. En los procesos de tratamiento biológico de gases se han utilizado diferentes tipos de biorreactores como son: Biofiltros, Biofiltros de Lecho Ecurrido, Biolavadores y Biorreactores de Membrana (Morgan *et al.* 1999). El modo de operación entre ellos es muy similar. El aire que contiene el contaminante es pasado a través del biorreactor donde los contaminantes gaseosos son transferidos a la fase líquida. Los microorganismos como bacterias u hongos pueden crecer en la fase líquida o sobre un soporte formando biopelículas por la degradación de los contaminantes disueltos, transformándolos en especies menos tóxicas o inertes. Existen diferencias fundamentales entre los cuatro tipos de reactores mencionados (Revah y Morgan-Sagastume 2005) que van desde la forma en que los microorganismos están organizados (inmovilizados o dispersos) hasta el estado de la fase acuosa en el reactor (móvil o estacionaria). Estas diferencias influyen significativamente en las características de la transferencia de masa del sistema.

La remoción más satisfactoria de gases contaminantes en biorreactores, ocurre para compuestos solubles de bajo peso molecular y estructuras de enlace simples. Los compuestos con estructuras de enlace complejas generalmente requieren más energía para ser degradados y esta energía no siempre está disponible por los microorganismos. En la Tabla 1-3 se muestra una breve descripción de las configuraciones de reactor empleados en la purificación de gas contaminado.

El tratamiento biológico de gases, en general se describe como la absorción física del gas contaminante en una fase acuosa, seguido por el consumo de los compuestos biodegradables. El flujo másico de un contaminante gaseoso por unidad de volumen de lecho hacia una fase acuosa es descrito por la ecuación 1-4 (Prasad y Sirkar, 1992).

$$(J a) = K_L a \left(\frac{C_g}{H} - C_l \right) \quad (1-4)$$

Donde $(J a)$ es el flujo másico de un contaminante gaseoso por unidad de volumen de lecho hacia una fase acuosa ($\text{mol m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), $K_L a$ es el coeficiente volumétrico global de transferencia de masa basado en las concentraciones en la fase líquida (h^{-1}), C_g , C_l son las concentraciones en los senos de la fase gas y líquida respectivamente (mol m^{-3}), H es la constante de Henry ($[\text{mol m}^{-3}]_{\text{gas}}/[\text{mol m}^{-3}]_{\text{líquido}}$).

La diferencia de concentraciones entre las fases gas y líquida provee la fuerza motriz para el transporte del gas contaminante hacia la fase acuosa. La fuerza motriz depende de la H del contaminante gaseoso. Para componentes con una alta H (poco soluble), la fuerza motriz para la transferencia de masa disminuye, pues se reduce el gradiente de concentraciones mostrado en la ecuación 1-4.

La concentración C_l afectará también la fuerza motriz de acuerdo a la ecuación 1-4, donde C_l depende de la velocidad de biodegradación del contaminante, cuya magnitud depende de la población microbiana en el biorreactor. Si C_l tiende a cero, se puede considerar que el proceso de eliminación de H_2S podría estar limitado por transporte, en caso contrario la reacción biológica podría ser el paso limitante (Lobo *et al.* 1999).

La actividad de biodegradación se describe generalmente por cinéticas ligadas al crecimiento de la población microbiana y a su concentración (X) presente en el biorreactor, ya sea en forma suspendida y/o formando una biopelícula. De esta forma la velocidad de la reacción biológica (r_i) se considera proporcional a la concentración de la biomasa X y dependiente de la velocidad específica de crecimiento microbiano (μ) y de los coeficientes de rendimiento biomasa/sustrato ($Y_{X/S}$) y mantenimiento (m). La r_i es expresada en la ecuación 1-5.

$$r_i = \mu \frac{X}{Y_{X/S}} + mX \quad (1-5)$$

Asumiendo que la velocidad de crecimiento microbiano esta de acuerdo con la expresión de Monod, μ queda definida para la oxidación biológica de sulfuro (Janssen 1996) por la ecuación 1-6, para una doble limitación por sustrato (S y O) e inhibición por S .

Capítulo 1

$$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{O_2}{K_o + O_2} \right) \left(\frac{S}{K_s + S + (S^2 / K_{s_i})} \right) \quad (1-6)$$

donde μ_{\max} es la velocidad máxima específica de crecimiento de los microorganismos (h^{-1}); O_2 y S son los sustratos disueltos que son limitantes del crecimiento microbiano ($mmol L^{-1}$), S representa a la $[HS^-]$ y O_2 a la $[O_2]$; K_o , K_s son las constantes de saturación ($mmol L^{-1}$) y K_I la constante de inhibición del sustrato S ($mmol L^{-1}$). Así el término de reacción r_i puede ser integrado a las expresiones de balance de masa de los sustratos, productos y densidad microbiana en un biorreactor. De la ecuación 1-6 se puede inferir que los procesos biológicos de degradación intrínsecamente están limitados por la tasa máxima de crecimiento μ_{\max} . Cuando las condiciones $O_2 \gg K_o$ y $K_s < S < K_I$ no se cumplen, entonces la velocidad específica de crecimiento (μ) disminuye. La causa probable del incumplimiento de las condiciones anteriores, es la falta en el control de la transferencia de oxígeno al medio líquido en relación a las cantidades de S alimentadas, que propicia el agotamiento completo o la acumulación de S .

El transporte del gas contaminante y del oxígeno a la fase líquida representa una de las principales limitantes en los procesos de purificación biológica de aire contaminado bajo ciertas condiciones. El transporte interfacial depende de la solubilidad del gas en el medio líquido, del área específica interfacial, del grado de mezclado y la actividad microbiana. Así en función de estos parámetros se puede seleccionar la configuración de reactor más conveniente según las necesidades y características del gas contaminando a tratar.

Como se observa de la Tabla 1-3, la configuración de reactor más conveniente para compuestos con baja solubilidad (altos valores de H), la representan los biofiltros y los reactores de membrana. En el otro extremo se encuentran los contaminantes gaseosos con alta solubilidad (bajos valores de H) aquí son útiles los biolavadores, estos últimos representan la configuración de biorreactor con más ventajas operacionales, sólo limitados por la baja densidad microbiana que pueden alcanzar este tipo de biorreactores.

Tabla 1-3. Representación de los cuatro tipos de reactores usados en la purificación de gases y sus parámetros característicos (Van Groenestijn and Hesselink, 1993)

BIOFILTRO		BIOFILTRO DE LECHO ESCURRIDO	
Conc., [g m ⁻³]	<1	Conc, [g m ⁻³]	<0.5
H	<10	H	<1
TRLV, [s]	15-60	TRLV, [s]	30-60
CE, [g m ⁻³ h ⁻¹]	10-160	CE, [g m ⁻³ h ⁻¹]	<500
ER [%]	95-99	ER [%]	80 - 98
BIOLAVADOR		BIORREACTOR DE MEMBRANA	
Conc, [g m ⁻³]	<5	Conc, [g m ⁻³]	<1 ⁱ
H	<0.01	H	>1 ⁱ
TRLV, [s]	30-60	TRLV, [s]	2-30 ^{i, ii}
CE, [g m ⁻³ h ⁻¹]	250 ⁱⁱⁱ	CE, [g m ⁻³ h ⁻¹]	200-1500 ⁱⁱ
ER [%]	75-99	ER [%]	68-97 ⁱⁱ

(i) Reij *et al.* (1998); (ii) Ergas *et al.* (1999); (iii) Janssen *et al.* (1997). TRLV: Tiempo de Residencia de Lecho Vacio del gas contaminante. CE: Capacidad de Eliminación. ER: Eficiencia de Remoción.

Capítulo 1

1.2.2.3.1 Biofiltro (BF)

En un biofiltro el aire contaminado es pasado a través de un lecho empacado de material orgánico, por ejemplo, composta, suelo, madera etc. Los compuestos contaminantes presentes en el aire son transferidos a la biopelícula, la cual crece sobre el material de empaque. Los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos, son suministrados por la materia orgánica del soporte.

Un importante parámetro de control en los biofiltros, es el contenido de humedad del lecho empacado, el cual debe estar entre un 40% a 60% (w/w) para los soportes tradicionales, manteniéndose una conveniente actividad de agua que permitan crecer a los microorganismos. Para evitar la deshidratación del lecho empacado, el aire generalmente es humidificado antes de entrar al biofiltro. Los biofiltros son sistemas conceptualmente simples que requieren poca supervisión durante su operación, además que permiten tratar compuestos moderadamente hidrofóbicos ($H < 10$) debido a su alta área interfacial relacionada con las características de los soportes. Las desventajas las representan problemas de operación como el control en las condiciones ambientales (humedad, nutrientes y pH), además del excesivo crecimiento de la biopelícula cuando el gas contaminante es alimentado a altas cargas provocando su taponamiento (Revah *et al.* 1995) y por tanto la disminución considerable de su capacidad de eliminación.

1.2.2.3.2 Biofiltro de Lecho Ecurrido (BLE)

En esta configuración, el empaque del biofiltro es un material inerte. Los contaminantes gaseosos son transferidos a la biopelícula que crece sobre el material de empaque. Los materiales que forman al empaque están hechos de químicos inertes, como plástico y acero inoxidable. Los nutrientes son suministrados por la recirculación de una fase líquida a través del reactor en co-corriente o a contracorriente (Lobo *et al.* 1999).

Algunas de las ventajas de esta configuración es la eliminación de los productos de reacción por lavado propiciando un buen control del proceso biológico y una buena capacidad de adaptación de la biomasa activa.

El principal defecto de esta tecnología es la limitación en la transferencia del gas a la fase acuosa, pero este efecto es menos crítico que en los biolavadores, pues debido a la alta área de transferencia que poseen los biofiltros de lecho escurrido, permiten transportar convenientemente compuestos ligeramente hidrofóbicos ($H < 1$). En algunos casos el desarrollo excesivo de la biopelícula sobre la superficie del soporte, reduce el

volumen vacío disponible, generándose caídas de presión al punto de llegar a tapar el biofiltro y por tanto la pérdida de la eficiencia en la eliminación del contaminante gaseoso.

1.2.2.3.3 *Biolavador (BL)*

El biolavador consiste de dos reactores. La primera parte es una torre de absorción, donde los contaminantes gaseosos son absorbidos en la fase líquida. Este líquido es enviado a un segundo reactor de oxidación, donde la biomasa se encuentra suspendida y/o formando flóculos y degrada los contaminantes. Por último, el efluente del segundo reactor es recirculado a la torre de absorción cerrando el ciclo.

Las ventajas del uso de esta configuración de reactor se relacionan con el fácil control del proceso de degradación mediante el manejo de la composición del medio líquido evitando efectos inhibitorios. Posee una buena capacidad de adaptación de la biomasa microbiana a la composición del gas que previamente fue limpiado en una torre de absorción. No presenta problemas de taponamiento.

Las principales desventajas de esta configuración se relacionan con la limitación al tratamiento de compuestos gaseosos con alta solubilidad en agua (compuestos con $H < 0.01$), además de la baja densidad microbiana presente en este tipo de biorreactor, que limita las tasas de degradación. Una posibilidad de incrementar la densidad celular es agregar un soporte inerte en el biorreactor. Esta posibilidad fue explorada con éxito por Meulepas (2003).

1.2.2.3.4 *Biorreactor de membrana (BRM)*

En un biorreactor de membrana (BRM), el contaminante en la fase gas es transferido selectivamente mediante una membrana a una biopelícula que esta adherida en la otra cara de la misma membrana donde los nutrientes y el oxígeno son suministrados. La membrana actúa como una interfase entre la fase gas y la líquida impidiendo el contacto directo del contaminante con la biomasa (figura 1-2). Las configuraciones básicas reportadas en los BRM son la fibra hueca (hollow fiber) y la placa plana (Van Groenestijn and Hesselink, 1993; Ergas 2001). Los BRM fueron diseñados como una alternativa a los biorreactores convencionales (biofiltros), que tratan corrientes gaseosas contaminadas. La ventaja de usar un BRM sobre un biofiltro, es la presencia de una fase acuosa que permite optimizar la humectación de la biomasa y la remoción de productos de la degradación, lo que promueve un buen control sobre el

proceso. Además las membranas proveen un área superficial por unidad de volumen mucho mayor (hasta $20000 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$) comparada con la que presentan los sistemas convencionales ($350 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$). Los BRM no contienen partes móviles, son fáciles de escalar, los flujos de gas y líquido pueden ser variados independientemente gracias a la separación espacial proporcionada por la membrana. No presentan problemas de inundación, ni espuma, comunes en columnas de burbujeo. Adicionalmente, los BRM poseen excelentes propiedades de transferencia de los contaminantes a la fase líquida y/o biopelícula, lo que convierte a los BRM en interesantes alternativas en la degradación de contaminantes gaseosos.

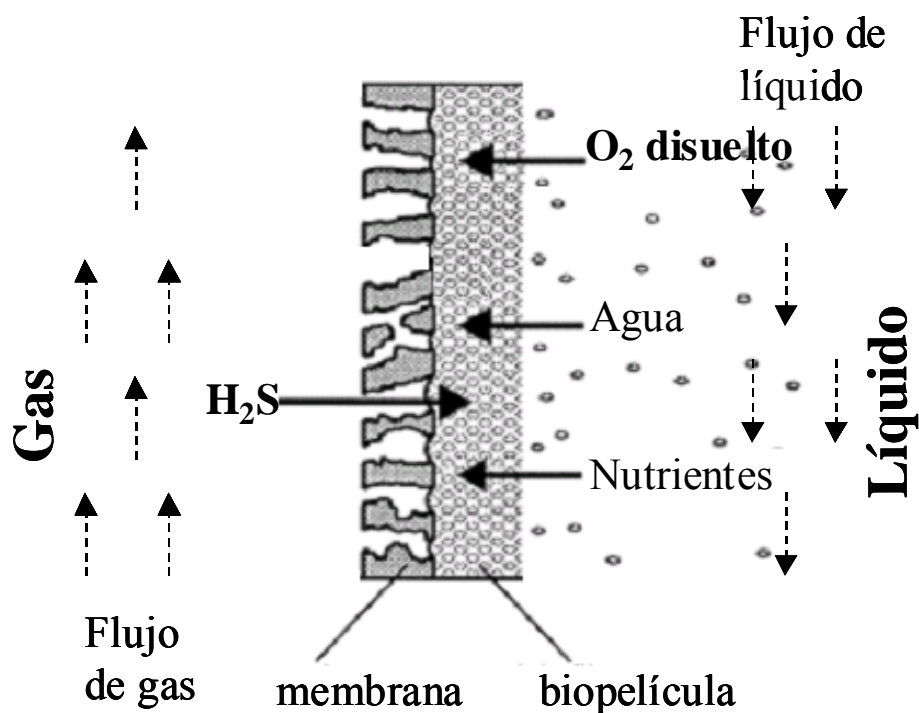


Figura 1-2. Esquema de un *BRM* para el tratamiento de gases, formado por una membrana microporosa hidrofóbica, una biopelícula y células suspendidas

Las desventajas de los BRM son los altos costos de construcción, pues los materiales que las componen están aún bajo investigación y desarrollo. Otra desventaja de los BRM es la falta de estabilidad de su eficiencia de degradación en largos periodos de tiempo, debido al excesivo crecimiento de la biopelícula adherida sobre la membrana que obstaculiza la transferencia de los nutrientes a los microorganismos que la forman.

1.2.2.4 Aplicación de biorreactores para el tratamiento del H₂S

A continuación se describen brevemente algunos reportes de configuraciones de biorreactores utilizados en la remoción de H₂S. Algunas configuraciones logran durante el tratamiento producir y recuperar azufre elemental. Este último puede ser confinado o usado como materia prima en procesos de biolixiviación en minas, manufacturación de H₂SO₄ o como fertilizante en agricultura, dándole un valor agregado al proceso de remoción (Gonzalez-Sanchez y Revah 2006).

Existen configuraciones de biorreactores que involucran la transferencia del H₂S gaseoso a una fase líquida y la subsiguiente oxidación biológica del H₂S disuelto; otros sólo se abocan a la oxidación del H₂S y otras especies azufradas disueltas generadas por un proceso previo de absorción o bien como producto de una reacción química o biológica. La mayoría de las configuraciones emplean en la parte biológica microorganismos sulfoxidantes autótrofos, principalmente del genero *Thiobacillus* (Janssen *et al.* 1997), por resultar los más convenientes en el manejo y operación de los sistemas. A continuación se describe brevemente algunos reportes referentes a la remoción de H₂S.

1.2.2.4.1 Tratamiento de H₂S y otras especies azufradas disueltas

Annachhatre y Suktrakoolvait (2001) reportan un proceso a nivel laboratorio en un reactor de lecho fluidizado para la oxidación biológica de H₂S disuelto a azufre elemental, reportaron conversiones > 90% a velocidades de carga de 1.6 g HS⁻ L⁻¹ d⁻¹.

Velasco *et al.* (2004) reporta la producción S⁰ a partir de la oxidación parcial de tiosulfato (S₂O₃²⁻) a pH = 5.0, en un biolavador (Figura 1-3a), con una conversión cercana al 100% con velocidades de carga máximas de 1.4 g S₂O₃²⁻ L⁻¹ d⁻¹ en condiciones de producción de azufre elemental (limitación de oxígeno). Los microorganismos usados fueron del genero *Thiobacillus*. González-Sánchez *et al.* (2005) reportaron para estos microorganismos una μ de 0.03 h⁻¹ en condiciones limitantes de oxígeno, y una μ_{max} de 0.36 h⁻¹ con la oxidación total hasta sulfato (exceso de oxígeno), alcanzando una carga máxima de oxidación de 24.2 mmol S₂O₃²⁻ L⁻¹ h⁻¹. El consorcio disminuyó su actividad a pH > 8.

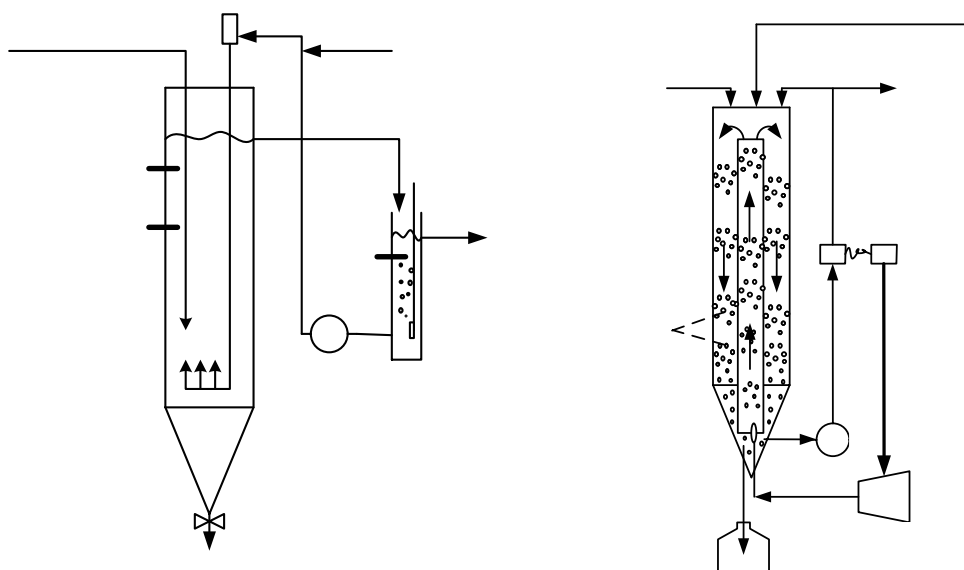


Figura 1-3. Tratamiento de sulfuros disueltos en aguas residuales sintéticas, con recuperación de azufre elemental. (a) Bio-Reactor de Recirculación (BRR); (b) Bio-Reactor Fluidificado de Recirculación (BFR). (González-Sánchez y Revah 2006)

Tiosulfato y Nutrientes

Krishnakumar *et al.* (2005) reportaron un biorreactor de recirculación fluidizado, el cual fue capaz de formar y recuperar azufre elemental a partir de sulfuro (7.8 mmol L^{-1}) con un 100 a 90% de eliminación (Figura 1-3b). El pH se mantuvo controlado en un óptimo de 8, disminuyendo notablemente su eficiencia de sulfooxidación a pH mayores. El biorreactor fue empacado con un material flotante sobre el cual se formó una biopelícula, la cual oxidó el sulfuro a azufre elemental. Este último fue separado de la fase acuosa con un porcentaje de recuperación de 90 al 65%.

Electrodo pH

Sonda O₂

1.2.2.4.2 Tratamiento de H₂S gaseoso

Janssen *et al.* (1997) reportaron un biolavador operado a pH 7.0 para la oxidación biológica del H₂S gaseoso a azufre elemental por bacterias aeróbicas del genero *Thiobacillus*, la velocidad de carga máxima reportada fue de $6 \text{ g HS}^{-} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en un sistema de células libres.

Degorce-Dumas *et al.* (1997) describen la operación de un biofiltro usado para la remoción de H₂S presente en aire contaminado. El biofiltro fue empacado con lodo seco proveniente del tratamiento de aguas contaminadas. Probaron unidades piloto bióticas y

BRR

abióticas, alimentando diferentes cargas de sulfuro, mostrando que el uso de la unidad biótica permite la oxidación total del sulfuro hasta sulfato. Alcanzó una eficiencia de eliminación cercana al 100% entre un rango de 0.2 hasta 3 g L⁻¹d⁻¹ y por encima de este rango un efecto negativo en la eficiencia de remoción.

Koe I. y Yang F. (2000) reportaron un biolavador, empacado con un soporte inerte poblado por microorganismos del genero *Thiobacillus*. En este sistema la absorción y la degradación del H₂S fueron conjuntadas en el mismo reactor. Reportaron cargas de eliminación máximas de 2.3 g H₂S L⁻¹ d⁻¹ y eficiencias de eliminación del 99%, las concentraciones de H₂S tratadas fueron hasta de 5 ppm_v (típicas en el tratamiento de olores). El pH de operación reportado fue de 1.1 a 3.5.

McComas *et al.* (2001) reportaron un cultivo de *Thiomicrospira sp.* CVO creciendo con H₂S a un pH de 7.4 en condiciones anaerobias, donde el nitrato fue usado como donador de electrones. Reportaron una carga máxima de oxidación de sulfuro de 1.9 g HS⁻ L⁻¹d⁻¹. El microorganismo mostró ser tolerante a pH en un intervalo de 5.6 a 10.4 y concentraciones de NaCl de hasta 10%.

Gabriel y Deshusses (2003) reportaron el tratamiento de H₂S en un biofiltro de lecho escurrido operado a escala industrial en condiciones ácidas (pH<2) empacado con espuma de poliuretano de poro abierto y usando microorganismos provenientes de una planta de tratamiento de agua residual. El sistema registró una carga crítica de 100 g m⁻³ h⁻¹ a concentraciones de entrada de H₂S de 30 ppm_v combinado con tiempos de residencia de lecho vacío (*TRLV*) de 1.5 a 2.2 segundos.

La gran mayoría de las configuraciones de reactores reportados para la remoción de H₂S, tienen como característica común que no consideran a los pH alcalinos en la solución absorbente. Más adelante se demostrará que la alcalinidad (pH>9) en una solución acuosa incrementa de forma substancial la cantidad de H₂S gaseoso transferido a una fase líquida.

La figura 1-4 muestra la configuración de un sistema biolavador empleado por el proceso Thiopaq para el tratamiento de H₂S proveniente del gas natural a altas presiones (Janssen *et al.* 2000).

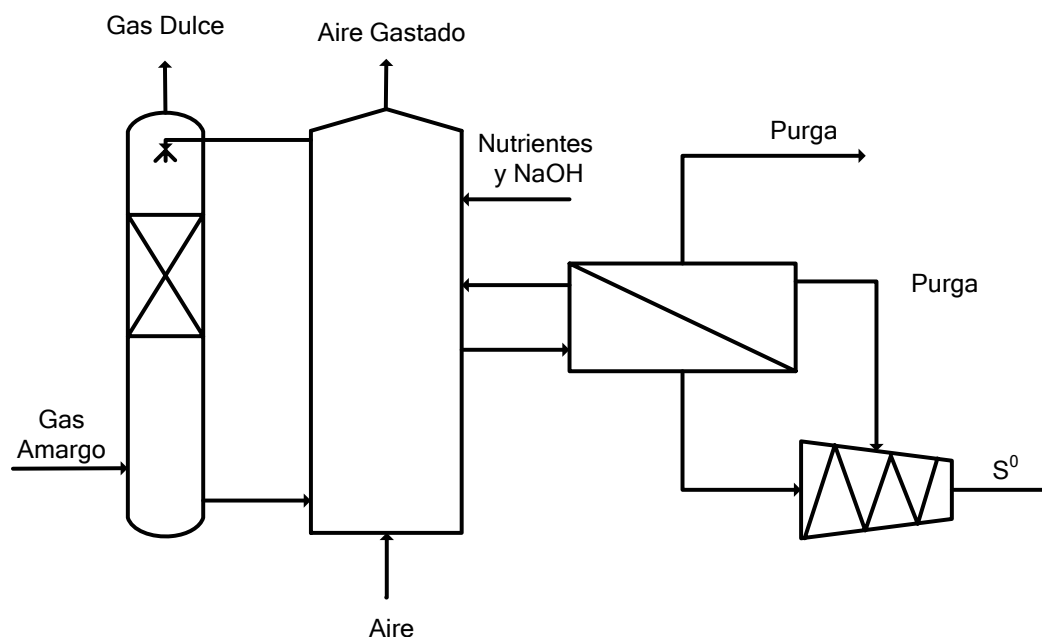


Figura 1-4. Diagrama del sistema Biolavador para el tratamiento de corrientes contaminadas con H₂S (Proceso Thiopaq). (González-Sánchez y Revah 2006)

El proceso Thiopaq lo conforman principalmente una columna de absorción y un biorreactor de oxidación. En la columna de absorción el H₂S es transferido (ecuaciones 1-7 y 1-8) a una solución alcalina acuosa (pH 8.0 a 8.5). Entonces el sulfuro es oxidado por los microorganismos contenidos en el biorreactor, a azufre elemental y sulfato de acuerdo con las ecuaciones 1-9 y 1-10.

Columna



De



Absorción

En una planta de demostración, se trató gas natural con un contenido de H₂S hasta de 8% vol. a altas presiones (entre 5 a 53 bar) sin afectación negativa apreciable a los microorganismos. El contenido de H₂S de la corriente tratado estuvo por debajo de 1 ppm_v, mientras que todo el H₂S transferido a la solución acuosa fue oxidado a azufre elemental. Una desventaja de este sistema es que sales como el bicarbonato de sodio pueden precipitar a altas presiones parciales de CO₂. Para evitar lo anterior se requieren bajas presiones parciales de CO₂, o alternativamente un pH menor en la solución

absorbente, pero se necesitaría de altos flujos de líquido para mantener la capacidad de absorción semejante con el proceso que usa una solución alcalina como absorbente.

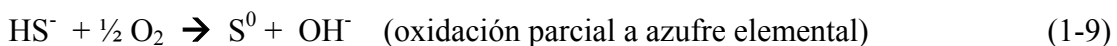
Debido al pKa cercano a 7, para la ecuación 1-8, condiciones alcalinas mejoran la absorción del H₂S, pues el equilibrio químico favorece la formación de especies más solubles como el hidrosulfuro (HS⁻) y el sulfuro (S²⁻). Se han reportado un grupo de microorganismos capaces de crecer a pH > 9, llamados comúnmente Bacterias Alcalófilas Sulfooxidantes. Estos microorganismos han mostrado tener prometedoras capacidades de oxidación de H₂S bajo condiciones de extrema alcalinidad y salinidad (Banciu *et al.* 2004).

1.2.2.5 Organismos Extremófilos Alcalófilos Sulfooxidantes

Los microorganismos alcalófilos son aquellos que poseen pH óptimos de crecimiento entre 10.0 a 11.5. Estos microorganismos son encontrados en ambientes alcalinos como lagos salinos carbonatados y en ambientes asociados a actividades industriales por ejemplo plantas desalinizadoras.

Las bacterias alcalófilas pueden sulfooxidar usando al nitrato u oxígeno disuelto como aceptor de electrones. La mayor parte de las bacterias alcalófilas son gram negativas, formadoras de esporas en forma helicoidal o cilíndrica, con flagelo polar, tienen motilidad, son catalasas positivas. (Horikoshi K., 1991). Estas bacterias alcalófilas requieren del ion Na⁺ para su crecimiento, germinación y esporulación. Existe una fuerte dependencia entre la concentración del ión Na⁺ y la alcalofilia de los microorganismos, donde por lo general existen requerimientos mínimos para mantener la homeostasis del pH dentro de la célula alcalófila (Krulwich *et al.* 2001).

La utilización de condiciones alcalinas extremas, hace necesario encontrar microorganismos apropiados, que sean capaces de crecer y oxidar compuestos reducidos de azufre como HS⁻, S₂O₃²⁻, CNS⁻ y S⁰ (ecuaciones 1-9 y 1-10) en condiciones alcalinas pH > 9.



Sorokin *et al.* (1998, 2000, 2001a, 2001b, 2002a, 2002b) reportaron el aislamiento de bacterias quimiolitautotróficas sulfooxidantes, provenientes de lagos

Capítulo 1

salinos alcalinos. Las bacterias han sido clasificadas en dos grupos: *Thioalkalimicrobium* y *Thioalkalivibrio*. La Tabla 1-4 muestra sus principales características:

Tabla 1-4. Características de los microorganismos alcalófilos sulfoxidantes (Sorokin *et al.* 2001)

Microorganismo	<i>Thioalkalimicrobium</i>	<i>Thioalkalivibrio</i>
Metabolismo energético	Quimiolitoautótrofas	Quimiolitoautótrofas obligadas
pH	7.5 a 10.6; óptimo 9.8	7.50 a 10.65; óptimo 10.0
Sustrato de crecimiento	S ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	S ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , SCN ⁻ , S ⁰
Tolerancia Máxima a Na ⁺ , (mmol L ⁻¹)	0.3 a 1.5	4.3
Actividad máxima, (mmol O ₂ (g _{prot.}) ⁻¹ min ⁻¹)	2.0 a 4.3	0.2 a 1.0
$Y_{X/S}$, (g _{Prot.} (mmol S ₂ O ₃ ²⁻) ⁻¹)	3.49	5.99
$\mu_{m\acute{a}x.}$ quimiostato, (h ⁻¹)	0.33	0.18
Velocidad Máxima de sulfooxidación (mmol S ₂ O ₃ ²⁻ (g _{Prot.} h) ⁻¹)	93.75	29.46

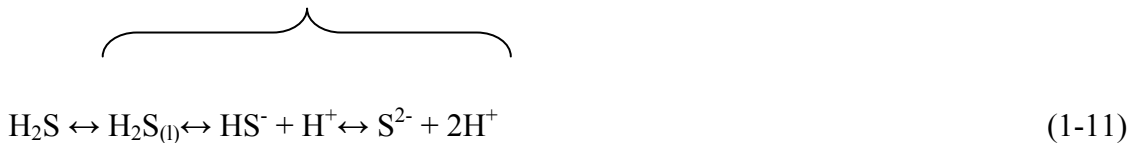
1.3 SOLUBILIDAD DEL H₂S EN MEDIO ALCALINO

Los pH ácidos o cercanos a la neutralidad en los sistemas biológicos de remoción de H₂S, favorecen el crecimiento y la actividad de los microorganismos bacterianos sulfoxidantes (Madigan *et al.*, 1999; Robertson y Kuenen, 1991), pero limitan la transferencia del H₂S, debido a su baja solubilidad en medio acuoso. La constante de Henry (H) para el H₂S es $0.41[\text{mol}/\text{m}^3]_{\text{aire}}/[\text{mol}/\text{m}^3]_{\text{agua}}$, a 25 °C. De acuerdo con la tabla 1-3, no resulta conveniente eliminar H₂S en un biolavador, pues existiran

limitaciones en el transporte interfacial (baja area específica de transporte), y por consecuencia en las capacidades de eliminación. La mejor configuración sugerida de acuerdo con la solubilidad del H₂S la representa el biofiltro de lecho escurrido, donde su alta area específica, puede compensar el bajo gradiente de concentraciones (ver ecuación 1-4).

De la figura 1-5a, se observa que la “solubilidad” del H₂S (concentración total de sulfuro en la fase acuosa correspondiente con una presión parcial de H₂S constante), tiene una fuerte dependencia del pH de la disolución. El efecto de la temperatura bajo el rango simulado no mostró ser significativo en la absorción de H₂S (Figura 1-5b). Para este caso la temperatura tiene poca influencia en la “solubilidad”, por lo que el control del pH en una solución acuosa, puede ser una opción de gran utilidad para mejorar las capacidades de remoción del H₂S en reactores biológicos. A partir de la definición de *H* (ecuación 1-12), se puede establecer una “*H modificada*” (ecuación 1-13), contabilizando todas las especies de azufre existentes en solución (equilibrio químico) y que se encuentran en equilibrio de fase con el H₂S. (Ver ecuación 1-11).

Equilibrio Químico



Equilibrio de fases

$$H = (\text{mol H}_2\text{S}/\text{m}^3)_{\text{aire}} / (\text{mol H}_2\text{S}_{(l)}/\text{m}^3)_{\text{agua}} \quad (1-12)$$

$$H_{\text{mod}} = (\text{mol H}_2\text{S}/\text{m}^3)_{\text{aire}} / (\text{mol (H}_2\text{S}_{(l)} + \text{HS}^- + \text{S}^{2-})/\text{m}^3)_{\text{agua}} \quad (1-13)$$

De esta forma se obtiene un valor para $H_{\text{mod}} = 0.0004 \text{ [mol/m}^3\text{]}_{\text{aire}} / \text{[mol/m}^3\text{]}_{\text{agua}}$, a 25 °C y pH=10, que es 1000 veces más pequeño (es decir el H₂S es 1000 veces más soluble) que H_{mod} para un pH<5.

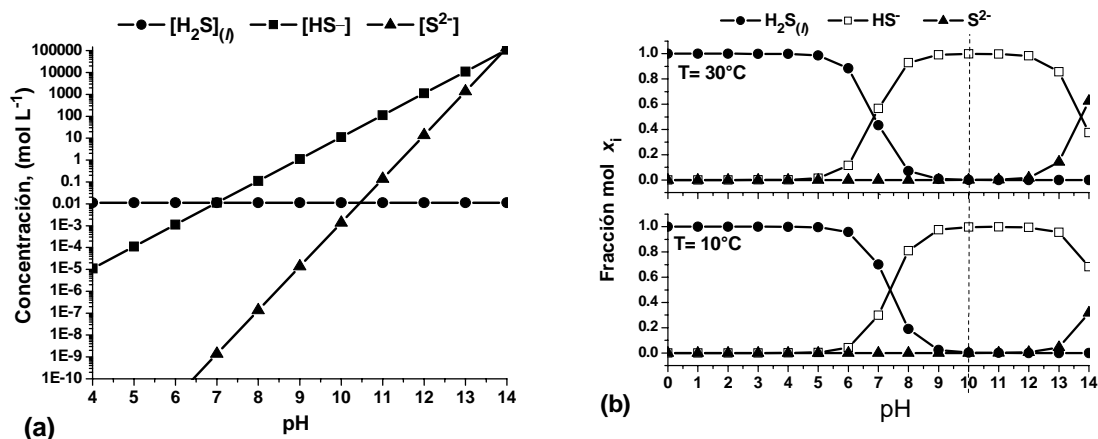


Figura 1-5. (a) Solubilidad del H₂S en función del pH para una presión parcial de 0.1 atm y 25 °C, (b) Fracciones mol en equilibrio en función del pH y temperatura.

Una posible desventaja de incrementar la solubilidad del H₂S y de sus especies solubles a condiciones alcalinas, es su probable inhibición sobre el crecimiento y actividad sulfooxidante de los microorganismos alcalófilos. El sulfuro ha mostrado reducir el crecimiento de microorganismos alcalófilo sulfooxidantes con actividad fototrófica, a concentraciones de 3 mmol L⁻¹ y completamente por arriba de 6 mmol L⁻¹ (Boltynskaya *et al.* 2004).

1.4 VELOCIDAD DE ABSORCIÓN DE H₂S EN MEDIO ALCALINO

Cuando el H₂S gaseoso se absorbe en una solución acuosa alcalina, en el líquido se lleva a cabo la reacción instantánea mostrada en la ecuación 1-8 (Danckwerts 1970). La presencia de la reacción instantánea provoca un aumento sustancial de la velocidad de absorción del H₂S.

El factor de mejora (*E*) define la relación de la velocidad de absorción de gas absorbido en un líquido con reacción química, a la velocidad con que se absorbería en ausencia de la reacción química.

Danckwerts (1970) propuso una forma grafica de evaluar *E*, como una función de $B^0/zA^*\sqrt{(D_B/D_A)}$, con D_A/D_B como parámetro, donde B_0 es la concentración del reactante disuelto (mol L⁻¹), z son los moles del reactante disuelto que reaccionan con

un mol del gas disuelto, A^* es la concentración de gas disuelto (mol L^{-1}) en equilibrio con su concentración en la fase gas, D_A y D_B representan las difusividades del gas y reactante disueltos en agua respectivamente ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$). En nuestro estudio A representa al H_2S y B al OH^- .

El mismo autor propone una simplificación del método, a una expresión analítica (ecuación 1-14), considerando que E resultará bastante mayor a la unidad. Esta suposición es válida para el caso de la absorción del H_2S en una solución acuosa alcalina, donde $D_A < D_B$ y además, se espera que $B_0 \gg A^*$ (ver tabla 2-2).

$$E = \sqrt{\frac{D_A}{D_B} + \frac{B_0}{zA^*} \sqrt{\frac{D_B}{D_A}}} \quad (1-14)$$

La ecuación 1-4 puede reescribirse entonces en función de E (Danckwerts 1970), como se muestra en las ecuaciones 1-15 y 1-16.

$$J_r a = K_L^r a \left(\frac{C_g}{H} - C_l \right) \quad (1-15)$$

$$K_L^r a = \frac{1}{\frac{1}{Ek_L a} + \frac{1}{Hk_G a}} \quad (1-16)$$

donde ($J_r a$) es el flujo molar del gas contaminante por unidad de volumen de lecho, que es incrementado a una fase acuosa, cuando ocurre una reacción química instantánea. $K_L^r a$ es el coeficiente volumétrico global de transferencia de masa con reacción química, $k_G a$ y $k_L a$ son los coeficientes volumétricos locales del lado del gas (h^{-1}) y del líquido (h^{-1}) respectivamente.

Por tanto, el incremento en la velocidad de absorción de H_2S gaseoso en un reactor, puede lograrse mediante el aumento en el pH, eliminando la resistencia a la transferencia en la película líquida, en donde mientras más alto sea el valor de E , la resistencia a la transferencia en la película líquida se hace más insignificante. Lo anterior significa que la máxima tasa de absorción a la cual se podría transferir un contaminante gaseoso (ecuación 1-17) es cuando la resistencia en la película líquida es cero, y entonces sólo la resistencia en la película gaseosa limitará el proceso de absorción con reacción química instantánea.

$$J_r a = k_G a C_g \quad (1-17)$$

1.5 OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO

La oxidación química del sulfuro (HS^-) se ha reportado que se presenta como una cadena de reacciones y por esta razón es muy sensible a las condiciones reaccionantes. (Chen y Morris 1972a; Fischer *et al.* 1997).

La estequiometría de la oxidación química del sulfuro es compleja, debido a los diferentes productos e intermediarios que se generan durante el curso de la reacción (Kotronarou y Hoffmann 1991). Los principales intermediarios y productos que han sido identificados son el azufre elemental (S^0), tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), sulfito (SO_3^{2-}) y el sulfato (SO_4^{2-}). Los intermediarios y productos son formados de acuerdo a las ecuaciones 1-18 a 1-21 (Cline y Richards 1969).



Se han encontrado también polisulfuros, principalmente el S_4^{2-} y S_5^{2-} , los cuales se originan de la reacción entre el azufre elemental y el ión sulfuro han sido también reportados (Chen y Morris 1972b). En solución acuosa, una sucesiva oxidación química del tiosulfato y sulfito ha mostrado originarse a una velocidad mucho menor que la oxidación del sulfuro (Fischer *et al.* 1997; O'Brien y Birkner 1977). Especialmente el tiosulfato es oxidado muy lentamente y puede ser de esta forma considerado como un producto de reacción estable dependiendo de la escala de tiempo considerado (O'Brien y Birkner 1977).

1.5.1 Factores que influyen la Estequiometría y Cinética

Existen varios factores que afectan tanto la estequiometría como la cinética de oxidación química del sulfuro en solución acuosa. Estos factores incluyen la relación **sulfuro-oxígeno disuelto**, la **concentración de los reactantes**, el **pH**, la temperatura, la fuerza iónica y la presencia de catalizadores o inhibidores (Chen y Morris 1972; O'Brien y Birkner 1977). Varios de estos factores con sujetos al cambio en cualquier proceso de remoción de sulfuro.

La estequiometría del proceso de oxidación es influenciada por la relación de los reactantes. En general, la literatura indica que un exceso de oxígeno disuelto favorece productos azufrados con altos estados de oxidación, mientras que en limitación de oxígeno se favorece la producción de especies azufradas con menores estados de oxidación (Cline y Richards 1969, O'Brien y Birkner 1977), Además de la relación de los reactantes, su concentración se ha encontrado que también afecta la distribución de los productos.

La velocidad de la oxidación química del sulfuro se incrementa con la concentración de los reactantes. Esto ha sido confirmado para diferentes soluciones buffer, agua de mar y agua residual. Nielsen *et al.* (2003) reportaron algunos parámetros para la oxidación química del sulfuro con oxígeno disuelto, en agua residual a un pH de 8.0 y 20°C, la constante de reacción fue de 0.25 h⁻¹, con un orden de reacción de 0.82 para el sulfuro y de 0.20 para el oxígeno.

La dependencia en el pH de la cinética de oxidación química del sulfuro en soluciones ácidas y medianamente alcalinas esta ampliamente reportada en la literatura. Dentro del rango de pH típico para agua residual municipal (pH 6 - 8), la velocidad de oxidación del sulfuro ha mostrado incrementar con el aumento en el pH. (Chen y Morris 1972b, Millero *et al.* 1987).

La oxidación de sulfuro produce o consume iones hidrogeno, acidificando o neutralizando el medio acuoso, dependiendo de los productos formados, como muestra las ecuaciones 1-18 a 1-21. Por esta razón, amortiguadores del pH han sido ampliamente usados con el objetivo de mantener constante el pH durante el curso de los experimentos.

La oxidación química del sulfuro a pH alcalino (>10), puede influir positivamente la actividad biológica sulfooxidante en un sistema de tratamiento mixto. Pues se reduciría la inhibición provocada por las altas concentraciones de sulfuro, que

pueden desaparecer a altas velocidades a pH alcalino, generándose intermediarios que pueden afectar la actividad sulfooxidante de los microorganismos alcalófilos.

1.5.2 Potencial de Oxido-Reducción (ORP)

El potencial de oxido-reducción (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 (ecuación 1-22):

$$E_H = E_H^0 + \frac{2.303R_g T}{nF_e} \log \frac{\prod_i [ox]^{n_i}}{\prod_j [red]^{n_j}} \quad (1-22)$$

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

Donde: E_H^0 : potencial estándar, mV

$[ox]$ actividad del compuesto oxidado, mol L⁻¹

$[red]$ actividad del compuesto reducido, mol L⁻¹

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⁻¹ K⁻¹

T temperatura absoluta, K

F_e : constante de Faraday, 9.64*10⁵ coloumb mol⁻¹

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

Janssen *et al.* (1998) reportaron que en la oxidación biológica del sulfuro a azufre y sulfato y la reducción del oxígeno disuelto en agua representan los principales

cambios redox que ocurren en el proceso. La medición del *ORP* de esta forma estará determinada por estas reacciones.

El valor *ORP* en principio depende de los potenciales estándar (E^0_H) de las mitades que forman el par de reacciones redox y de las concentraciones de los reactantes (Ecuación 1-22). El *ORP* puede ser calculado mediante la ecuación de Nernst, sólo si existe un sistema en equilibrio termodinámico. En la práctica el valor del *ORP* es principalmente definido 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. Varios autores revelan que existen compuestos con una alta capacidad de intercambiar sus electrones de valencia con la superficie de platino, como el sulfuro, para el cual existe una relación lineal entre la medida *ORP* y el logaritmo de la concentración del sulfuro en ambientes naturales (Eckert 1993).

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. 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 *et al.* 1978; Dahod, 1982; Janssen 1998).

Janssen *et al.* (1998) reportaron que la formación de azufre elemental a partir de la oxidación biológica de sulfuro puede ser optimizada por el control del *ORP* 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. El valor *ORP* óptimo para la formación de azufre fue de -147 y -137 mV (electrodo de referencia H_2 , temperatura $30^\circ C$, pH 8). Las mediciones del *ORP* pueden generar correlaciones útiles en la formación de productos, particularmente en regiones donde los rangos útiles de oxígeno disuelto son difíciles de medir.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La emisión de H₂S gaseoso al ambiente es un problema de actualidad, cuya solución ha sido abordada con la propuesta de varias tecnologías. La selección de la tecnología para cada aplicación será determinada por su factibilidad económica y la capacidad de lograr eficiencias esperadas.

Los procesos biológicos son tecnologías de bajos costos y no agresivas al ambiente. Su desventaja principal es que son procesos lentos y limitados a bajas concentraciones del gas contaminante (ver ecuación 1-6); esta última restricción genera problemas en la transferencia del contaminante gaseoso al medio líquido que contiene a los microorganismos. Este cuello de botella, para el caso de la biodegradación de H₂S, puede ser sobrepasado incrementando el pH de la solución que lo absorbe.

Hasta ahora los sistemas de tratamiento biológico de H₂S no consideran a los pH alcalinos como una condición de su operación, por tanto se limita el rango de aplicación y probablemente las capacidades de eliminación, debido a la baja solubilidad del H₂S a pH < 7. La dificultad radica en hallar los microorganismos capaces de crecer en condiciones alcalinas y con convenientes tasas de degradación del contaminante. Al respecto, se propone la aplicación de un Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante que fue enriquecido a partir de suelos alcalinos y salinos en México.

El tipo de corrientes gaseosas contaminadas con H₂S que se propone limpiar en un solo paso, agrupando la absorción y reacción biológica en un reactor, son las provenientes del biogás y corrientes con malos olores (bajas concentraciones), donde en condiciones alcalinas, la transferencia del H₂S a la fase acuosa se debe realizar eficientemente tratando de reducir los efectos inhibitorios del sulfuro.

También se propone la aplicación en la eliminación de sulfuros disueltos de corrientes acuosas cáusticas (altas concentraciones), donde el proceso biológico viene precedido y complementa a la absorción de altas concentraciones de H₂S (p.e. gas natural) en soluciones cáusticas, donde las condiciones de extrema alcalinidad y salinidad hacen atractivo la aplicación del Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante.

Si bien existen recientes estudios de microorganismos alcalófilos sulfooxidantes, estos se abocan principalmente al ámbito taxonómico, morfológico y algunos parámetros cinéticos. La caracterización microbiológica y cinética de los microorganismos alcalófilos que se pretenden aplicar en este trabajo complementa los

procesos biológicos de tratamiento del H₂S hasta ahora estudiados en condiciones ácidas y neutrales.

Considerando la alta solubilidad del H₂S en condiciones alcalinas, donde la velocidad de absorción se incrementa por la reacción química instantánea involucrada, la capacidad de eliminación será función de la actividad y densidad de la población microbiana.

La implementación de este consorcio alcalófilo en un biofiltro de lecho escurrido y en un biorreactor de células retenidas, representa un aporte importante en cuanto a la aplicación del proceso.

CONTRIBUCIONES

Se demuestra, que el proceso de absorción de H₂S a una fase acuosa alcalina, fue acelerado al máximo, lo que permite aprovechar completamente la actividad catalítica de los microorganismos alcalófilos sulfooxidantes. El impacto del mejoramiento del transporte del gas fue mayor a concentraciones bajas y altos flujos.

Se llevó a cabo la caracterización fisiológica y cinética de un consorcio alcalófilo sulfooxidante (CAS) autóctono (no reportado previamente).

Se propuso y validó un mecanismo de reacciones químicas y biológicas que ocurren en forma paralela bajo condiciones alcalinas y ambientales, donde se demuestra que la oxidación química del sulfuro con oxígeno disuelto puede impactar benéficamente la actividad del CAS.

Se logró aplicar satisfactoriamente el CAS a reactores para la remoción de H₂S gaseoso y de sulfuros disueltos bajo condiciones de extrema alcalinidad y salinidad.

HIPÓTESIS

La capacidad de eliminación de H₂S gaseoso en un biorreactor se incrementará mediante:

- La aceleración de la absorción del H₂S en una fase acuosa alcalina
- El uso de microorganismos sulfooxidantes adaptados a pH alcalino
- La aceleración de la oxidación química del sulfuro con oxígeno disuelto a pH alcalino
- El incremento en la población bacteriana con la retención celular en un biorreactor

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que la remoción biológica de H₂S bajo condiciones alcalinas y aerobias puede efectuarse con velocidades y eficiencias de degradación comparables a otros procesos biológicos convencionales

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el crecimiento y la actividad sulfooxidante del consorcio alcalófilo usando varios sustratos azufrados como fuente de energía y como aceptor de electrones al oxígeno disuelto
2. Describir la estequiometría y cinética de la oxidación química del sulfuro y la formación de subproductos en condición alcalina
3. Evaluar el efecto de la oxidación química del sulfuro sobre el crecimiento y actividad sulfooxidante del consorcio alcalófilo.
4. Aplicar el consorcio alcalófilo en un reactor tipo flujo pistón (biofiltro de lecho escurrido) para el tratamiento de H₂S gaseoso
5. Aplicar el consorcio alcalófilo en un reactor tipo tanque agitado (biolavador con recirculación y retención celular) para el tratamiento de sulfuro.
6. Modelación y simulación del proceso cinético sulfooxidante.

Capítulo 2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Fue utilizado en este estudio un Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante (CAS) halófilo y mesofílico (González-Sánchez y Revah 2007), enriquecido a partir de suelos y sedimentos alcalinos de un lago carbonatado en México (pH entre 9 y 11). El consorcio ha sido caracterizado como quimiolitautótrofo, alcalófilo y halófilo obligado, conformado por aproximadamente 7 bacterias diferentes gram negativas (Escafadal 2005). El CAS es capaz de crecer y oxidar sulfuro, polisulfuro, tiosulfato, azufre elemental y tetrionato como fuente de energía, usar al oxígeno disuelto como aceptor final de electrones y de dióxido de carbono o carbonatos disueltos como fuente del carbono. Sus condiciones óptimas de crecimiento (Espinosa 2004) son: pH entre 8 y 10, concentración de sodio de 1 mol L^{-1} , y una temperatura de 30°C . El CAS ha sido adaptado al consumo de tiosulfato y sulfuro por 2 años.

Tabla 2-1 Composición medio mineral usado para el crecimiento del consorcio alcalófilo

Reactivos	g L⁻¹	^aReactivos	g L⁻¹
Na ₂ CO ₃	20	KNO ₃	101
NaHCO ₃	7	MgCl ₂ •6H ₂ O	200
NaCl	5		
K ₂ HPO ₄	1	^bElementos Traza	mg
Na ₂ S ₂ O ₃	8.9	EDTA	5
	mL sol.	FeSO ₄ *7H ₂ O	2
KNO ₃ ^a	10	ZnSO ₄ *7H ₂ O	100
MgCl ₂ •6H ₂ O ^a	1	MnCl ₂ *4H ₂ O	30
Elementos trazas mL ^b	2	CoCl ₂ *6H ₂ O	200
		NiCl ₂ *6H ₂ O	20
		Na ₂ MoO ₄ * *2H ₂ O	30
		CuCl ₂ *2H ₂ O	10
		H ₃ BO ₃	300
		H ₂ O destilada	1000 mL
		pH final 3.0, adicionar HCl	

2.2 MEDIO MINERAL (de cultivo)

Los microorganismos se crecieron en un medio mineral reportado por Sorokin *et al.* (2001) mostrado en la Tabla 2-1, utilizando como fuente de energía tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) o sulfuro (HS^-).

El mismo medio mineral fue utilizado para las pruebas abióticas. El amortiguador de carbonatos incluido en el medio mineral y usado en los experimentos en lote, permitió mantener el pH alrededor de 10.

2.3 CULTIVO POR LOTE Y CULTIVO CONTINUO

Se utilizó un biorreactor New Brunswick (Bioflo I) de 1.10 L para el cultivo del CAS, donde se determinaron algunos de sus parámetros cinéticos de crecimiento y sulfooxidación. El biorreactor mantuvo constantes la temperatura, el pH, además de la velocidad de agitación y aeración, en valores de 10, 30°C, 500 rpm y 0.6 vvm respectivamente. Las condiciones de agitación y aeración permitieron mantener una concentración de oxígeno disuelto en saturación (5.4 mg L^{-1}) con el oxígeno del aire (21 % vol). El biorreactor se consideró como un tanque de mezcla completa que se operó por lote y en forma continua.

Durante la operación por lote, el biorreactor fue inoculado con el CAS alcanzando una concentración inicial promedio de $15 \text{ mg}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1}$ durante la mayoría de los experimentos. Se alimentó como fuente de energía tiosulfato o sulfuro según fuera el caso, con una concentración inicial de 80 y 50 mmol L^{-1} respectivamente.

En la operación continua, el biorreactor fue alimentado con medio mineral a una tasa volumétrica constante. Para el caso de los cultivos realizados con tiosulfato como sustrato limitante, éste fue disuelto en el medio mineral. En el caso del sulfuro, el influente fue alimentado desde dos contenedores, separando el medio mineral y el sulfuro, esto con la finalidad de asegurar la estabilidad del influente, adicionalmente la solución de sulfuro fue burbujeada continuamente con N_2 para evitar su oxidación con la presencia del oxígeno del aire. Cuando fue necesario controlar el oxígeno disuelto en el biorreactor, se burbujeó en forma continua aire o mezclas O_2/N_2 .

Se mostró periódicamente el biorreactor, tomando una alícuota de 2 mL, posteriormente se le determinó la concentración del sustrato, biomasa y de los productos de la oxidación.

2.4 RESPIROMETRÍA

La respirometría es una técnica que evalúa la velocidad de consumo de oxígeno disuelto por parte de los microorganismos, y es inducida por la energía suministrada de la oxidación de compuestos azufrados. Representa una medida directa de la actividad sulfooxidante de los microorganismos cuando son sometidos a diferentes condiciones ambientales.

Las células del CAS fueron recolectadas a partir de su cultivo continuo en estado estacionario, e inmediatamente fueron centrifugadas, lavadas y resuspendidas en medio mineral fresco, sin fuente de energía. Para las pruebas de respirometría, la suspensión concentrada del CAS fue diluida con medio mineral para lograr una concentración final celular de aproximadamente $600 \text{ mg}_{\text{prot.}} \text{ L}^{-1}$ dentro de un pequeño reactor de cristal de 1.5 mL. El pequeño reactor fue provisto de un electrodo polarográfico de oxígeno (YSI 5331 Oxygen Probe, YSI Co., Ohio, USA) con un tiempo de respuesta de 10 segundos para registrar el 90% del cambio de cero a saturación de oxígeno con aire, el electrodo fue conectado a un oxímetro (YSI 5300 Biological Oxygen Monitor, YSI Co., Ohio, USA), y este a su vez a una computadora personal que recolectó los datos en línea. Las velocidades de respiración fueron determinadas por duplicado a 30°C y agitación constante. El tiosulfato, sulfuro o polisulfuros fueron utilizados como sustratos limitantes, con concentraciones iniciales de 0.01 a 3.00 mmol L^{-1} .

El orden de adición de las sustancias implicadas durante la prueba de la respirometría fue secuencialmente medio mineral, una suspensión concentrada del CAS y una solución concentrada del sustrato azufrado, finalmente se cerró el sistema procediendo al monitoreo en línea del oxígeno disuelto. La estimación de la velocidad de respiración específica (qO_2) para condición fijada, fue realizada mediante la determinación de la mayor pendiente en el consumo de oxígeno disuelto en el reactor (qO_2X), y ésta fue dividida entre el contenido de la biomasa presente.

En las pruebas de respiración inducida por sulfuro, se realizaron pruebas abióticas adicionales para cada condición biótica probada, con la finalidad de corregir la oxidación global, restando la contribución química (figura 2-1). Para representar la dependencia de qO_2 con la concentración del sustrato limitante (tiosulfato, polisulfuro sulfuro o O_2), se ajustaron las qO_2 a un modelo de la saturación del tipo de Michaelis-Menten para los casos del oxígeno disuelto y tiosulfato, evaluando las constantes qO_2

máximas y K_S . El modelo de inhibición de Haldane que incluye un término de inhibición K_I , fue utilizado para el sulfuro.

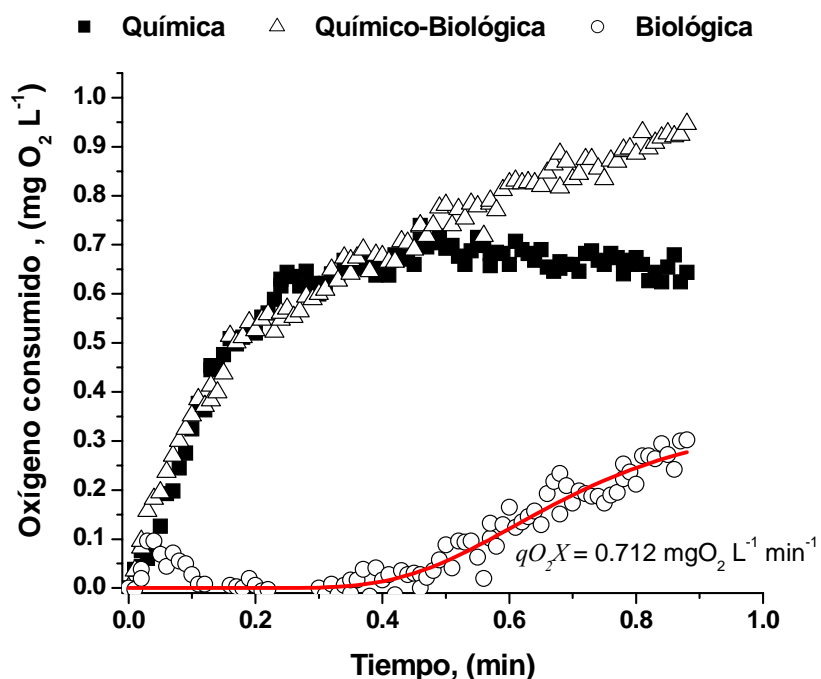


Figura 2-1 Evaluación de la velocidad de respiración (qO_2X) inducida por la oxidación de sulfuro

2.5 VELOCIDAD DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO Y DE CONSUMO BIOLÓGICO DE LOS INTERMEDIARIOS.

Se realizaron pruebas abióticas, que fueron similares a la respirometría, pero sin el empleo de microorganismos, para evaluar la oxidación química espontánea del sulfuro con oxígeno disuelto en condiciones alcalinas. Se monitoreó simultáneamente la concentración de oxígeno disuelto y el potencial redox (ORP) para las concentraciones iniciales de sulfuro de 0.05, 0.10, 0.50 y 3.00 mmol L⁻¹. El procedimiento fue similar a las mediciones de la velocidad de respiración, excepto que se usó un reactor más grande (310 mL) para acomodar ambos electrodos (figura 2-2). El mezclado del reactor fue realizado mediante un agitador magnético con una velocidad constante, y la temperatura

fue controlada en 30°C por la inmersión del reactor en un baño. El *ORP* fue medido con un electrodo de superficie pulida de platino, usando un electrodo de *Ag/AgCl* como referencia (EW-27018-40, Cole Parmer, Vernon Hills, IL, USA). Cada condición probada fue realizada por duplicado.

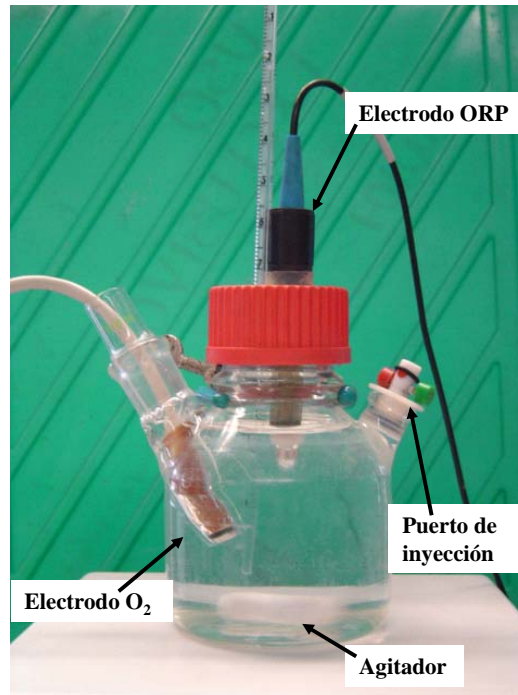


Figura 2-2 Reactor cerrado de 310 mL

Para evaluar la velocidad de respiración específica (qO_2) inducida por los intermedios formados de la oxidación química del sulfuro, se preparó una solución concentrada con 31 mmol L^{-1} de $\text{Na}_2\text{S } 9\text{H}_2\text{O}$ en agua desionizada. La solución concentrada de sulfuro fue continuamente aerada hasta alcanzar un nivel estable de oxígeno disuelto, el cual se registró en menos de 20h. Las mediciones de las velocidades de respiración del CAS se realizaron también en el reactor de cristal cerrado de 310mL. La solución de intermediarios, fue llevada a concentraciones iniciales totales del azufre $[S_T]_{\text{inicial}}$ dentro del reactor de 0.5 a 3.0 mmol L^{-1} por la dilución apropiada con medio mineral.

El biorreactor agitado y aerado de 1.1 L descrito previamente, se utilizó para estudiar la oxidación química del sulfuro en condiciones alcalinas y aerobias. El biorreactor fue operado en lote, la concentración inicial de sulfuro fue de 25 mmol L^{-1} .

Se computaron algunos diagramas de zonas de predominio (PZD) para las diversas especies de azufradas en agua, considerando 2 estados metaestables antes de alcanzar el estado de equilibrio. El cálculo se realizó por el software HSC Chemistry® versión 4.1. (Outokumpu Research Oy, Pori, Finland).

2.5.1 Métodos analíticos

Tiosulfato y el sulfato fueron determinados sin repetición, por electroforesis capilar (Waters Model Code Cia, Milford, MA, USA). Un método colorimétrico fue utilizado para cuantificar el sulfuro (Cord-Ruwisch R 1985). La biomasa se estimó por duplicado mediante la medición de la proteína por el método de Lowry.

2.6 BIOFILTRO DE LECHO ESCURRIDO (BLE)

Se utilizó un biofiltro de lecho escurrido a escala de laboratorio, para los experimentos de eliminación de H₂S gaseoso (Figura 2-3). El reactor tuvo un diámetro interno de 10 cm y una altura del lecho de 60 cm, resultando un volumen de lecho vacío (V_{lecho}) de 0.0048 m³. El material de empaque fue espuma de poliuretano de poro abierto (EDT, Alemania) con un área específica de 600 m² m⁻³, una densidad de 35 kg m⁻³ y una porosidad de 0.97. Los cubos de poliuretano de 4 cm de lado fueron empacados en forma apilada uno sobre otro, dando al empaque la forma de la columna evitando su compresión dentro del biofiltro. Este material de empaque fue seleccionado debido a sus convenientes propiedades físicas para un proceso de biofiltración, como un área específica alta, porosidad alta, resistencia mecánica a la deformación, despreciables caídas de presión y una excelente distribución del líquido y gas, evitando zonas muertas dentro del lecho

El medio mineral reportado por Sorokin *et al.* (2001) fue utilizado como líquido de escurrimiento, y fue distribuido desde la parte más alta de la columna usando un inyector de PVC (1/8 WL 1/4 60, BETE Fog Nozzle, Inc., MA, USA). El líquido de escurrimiento se mantuvo en recirculación a una velocidad de flujo de 0.014 m³ h⁻¹, correspondiendo a una velocidad lineal dentro del lecho de 1.7 m h⁻¹. Éste último dato fue reportado por Gabriel y Deshusses (2003) como apropiado para la operación de un biofiltro de lecho escurrido usando el material de empaque antes descrito.

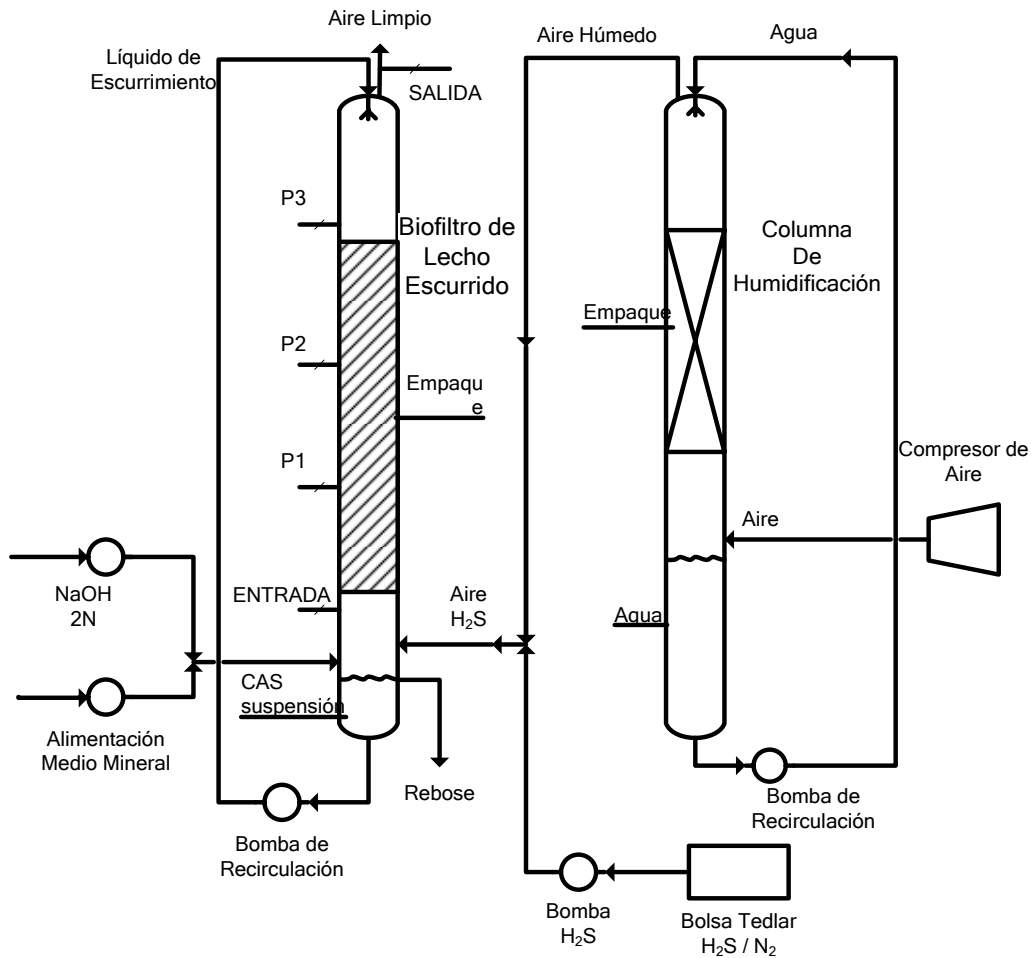


Figura 2-3 Biofiltro de Lecho Escurrido Alcalino.

El aire y el líquido de escurrimiento fluyeron a contracorriente. Se instalaron puertos intermedios cada 20 cm distribuidos a lo largo de la altura del lecho empacado, para el muestreo del líquido y del gas. Debido a los altos flujos de aire que se manejaron, fue necesario la pre-humidificación del aire alimentado al biofiltro, con la finalidad de evitar la pérdida de agua en líquido de escurrimiento.

A menos que se indique lo contrario, la velocidad de entrada del medio mineral fue de 21 mL h^{-1} ($0.004375 \text{ L L}_{\text{reactor}}^{-1} \text{ h}^{-1}$). El pH del sistema se controló en un valor de 10 por la adición automática de NaOH 2N.

Se alimentaron al biofiltro diferentes velocidades de flujo de aire, que van desde 2.9 hasta $17.5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ que corresponden a Tiempos de Residencia de Lecho Vacío *TRLV* (ecuación 2-1) de 6 a 1 segundos respectivamente. La corriente de aire principal se mezcló con una corriente de 50 % vol. de H_2S diluida en N_2 , que se suministró mediante una bomba peristáltica desde una bolsa Tedlar de 20 L. Diferentes velocidades de bombeo se probaron para alcanzar las concentraciones de entrada de H_2S , que variaron

Capítulo 2

desde 1.8 hasta 18 ppm_v . Entonces los flujos máxicos de H_2S por unidad de volumen de lecho que fueron alimentados al *BLE* variaron desde 12 a 85 $g\ m^{-3}\ h^{-1}$.

$$TRLV = \frac{V_{lecho}}{F_{aire}} \quad (2-1)$$

Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente (20 a 22°C). El biofiltro fue inoculado con el CAS a partir de un cultivo por lote en un matraz agitado de 0.5 L. Después de la inoculación, el biofiltro fue alimentado inicialmente con tiosulfato como la única fuente de energía (24.8 $g\ L^{-1}\ Na_2S_2O_3\ 5H_2O$ en medio mineral) con una velocidad de alimentación de 0.02 $L\ h^{-1}$ y una velocidad de flujo de aire de 2.9 $m^3\ h^{-1}$ por dos semanas, para acumular una concentración conveniente de la biomasa. Al término de ese periodo, el biofiltro fue alimentado continuamente con H_2S gaseoso como única fuente de energía, manteniendo la alimentación continua del medio mineral a la misma velocidad de flujo, pero sin tiosulfato. Posteriormente se impusieron incrementos graduales en las cargas de H_2S para determinar la capacidad máxima de la eliminación de H_2S en el biofiltro de lecho escurrido.

2.6.1 Métodos analíticos

Se realizaron determinaciones periódicas de H_2S por triplicado a lo largo de los puertos de muestreo y de las concentraciones de las especies azufradas disueltas en el rebose del biofiltro, por duplicado. También se evaluaron las velocidades de flujo de salida del gas y del líquido durante la operación del biofiltro, para cerrar en forma más aproximada el balance del azufre.

Las concentraciones de H_2S en fase de gas a la entrada y la salida del biofiltro, fueron medidas usando un medidor Jerome 631X (Arizona Instruments, Tempe, Az). El límite de detección fue de 1 a 3 ppb_v . Ocasionalmente un medidor Odalog (App-Tek, distribuido por Detection Instruments, Phoenix, AZ) fue utilizado para el monitoreo continuo de H_2S .

El tiosulfato fue medido por un método de titulación iodométrico, usando formaldehído (Kurtenacker 1924). El sulfato se cuantificó por cromatografía iónica (Dionex® IC, column AS16). El método de azul de metileno fue utilizado para cuantificar sulfuro (Gilboa-Garber 1971). El sulfuro, tiosulfato y sulfato disueltos,

fueron considerados como las únicas especies azufradas predominantes en la fase líquida.

La concentración de biomasa fue determinada por duplicado mediante la cuantificación de proteína por el método del ácido bicinónico (Smith *et al.* 1985). Su conversión a biomasa en peso seco se realizó considerando que el CAS contiene un 25% de proteína en peso seco del total del peso seco de la biomasa. Esta proporción fue determinada experimentalmente.

Se realizaron determinaciones intermitentes de la actividad sulfooxidante de la biomasa suspendida (por duplicado) en el líquido de escurrimiento durante la operación del biofiltro, a través de la estimación de la velocidad de respiración específica (qO_2). Donde una alícuota de 3.0 mL proveniente del líquido de escurrimiento del biofiltro, fue aerado por 30 segundos para posteriormente ser agregado a un pequeño reactor cerrado de 2.5 mL, provisto de agitación magnética y de un electrodo polarográfico de oxígeno disuelto y conectado a un oxímetro, donde se monitoreó el cambio en la concentración de oxígeno disuelto.

El cálculo de la velocidad de la oxidación del sulfuro fue hecho asumiendo la oxidación completa a sulfato.

Al término de la etapa experimental, el biofiltro fue desmontado y la biopelícula fue separada del material de empaque y suspendida en un volumen de medio mineral conocido, de modo que las determinaciones del contenido total de la biomasa y de su actividad pudieron ser obtenidas de la misma forma que siendo biomasa suspendida.

2.6.2 Evaluación del Factor de Mejora E de la absorción de H_2S en un solución alcalina

El factor de mejora E fue evaluado a partir de la ecuación 1-14, válida para la absorción de un gas en una solución acuosa, donde se verifica una reacción química instantánea. Como E es dependiente de la concentración de H_2S , éste fue evaluado para cada concentración de entrada $[H_2S]_{in}$ probada hasta su correspondiente concentración de salida $[H_2S]_{out}$. Se tomó el promedio de E para cada condición. La ecuación 1-14 involucra parámetros puramente físicos de las sustancias disueltas, que se muestran en la tabla 2-2.

2.6.3 Evaluación de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa

Basados en la teoría de las dos películas (Lewis y Whitman 1924), se evaluaron los coeficientes volumétricos locales del lado del gas y del líquido k_{GA} y k_{LA} para calcular el coeficiente volumétrico global K_{GA} a lo largo de la columna empacada.

Tabla 2-2 Parámetros físicos a 25°C, usados para el cálculo del factor de mejora E

D_A	1.48×10^{-5} , $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ (Danckwerts 1970)
D_B	5.17×10^{-5} , $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ (Cents <i>et al.</i> 2005)
H	9.99×10^{-5} , $\text{atm} (\text{mol m}^{-3})^{-1}$
A^*	P_{H_2S} / H , mol L^{-1}
B^0	1×10^{-4} , mol L^{-1}

Todos los coeficientes son válidos únicamente para las características (geometría de la columna, material de empaque) y condiciones de operación (temperatura, presión, velocidades de gas y líquido, concentraciones de entrada de H_2S) a los cuales fue sometido el BLE descrito en la figura 2-3.

El valor de k_{GA} ($\text{mol atm}^{-1} \text{m}^3 \text{h}^{-1}$) fue determinado a partir de la ecuación 2-2 (ver apéndice A) para un lecho empacado. Esta expresión es válida cuando el proceso de absorción de la especie gaseosa es acompañado por su instantánea desaparición llevada a cabo por una reacción química en la interfase de la película líquida. Lo anterior provoca que el proceso de absorción sea mayoritariamente controlado por la transferencia en la fase gaseosa (Danckwerts 1970). Esta suposición es justificada para el caso de la absorción del H_2S en una solución alcalina (ecuación 1-8).

$$k_{GA} = \frac{F_{gas}}{A_{st} P L} \ln \left(\frac{p_{Aent}}{p_{Asal}} \right) \quad (2-2)$$

donde p_{Aent} y p_{Asal} son las presiones parciales (atm) de H_2S a la entrada y a la salida del BLE respectivamente, P es la presión total del sistema (atm), A_{st} es el área de la sección transversal de la columna (m^2), L es la altura de la columna empacada (m) y

F_{gas} es el flujo molar del aire (mol h^{-1}). Para la evaluación de k_{GA} se supone que la eficiencia en la eliminación de H_2S será del 100%, es decir que p_{Asal} tiende a cero, pues no existe limitación por reacción.

El valor de $k_L a$, (h^{-1}) fue evaluado a partir de una correlación (ecuación 2-3) reportada por Kim y Deshusses (2006) para el material de empaque empleado en el BLE, pero usando en su determinación la absorción de O_2 , que es un gas poco soluble en medio acuoso, donde la principal resistencia a la transferencia de masa es la fase líquida. La correlación es válida para velocidades lineales de líquido (U_z) de 1 hasta 12 m h^{-1} y velocidades lineales de gas desde 1000 hasta 8000 m h^{-1} .

$$\log(k_L a)_{\text{O}_2} = 0.54 + 0.86 \log U_z \quad (2-3)$$

Realizando la corrección para obtener el $k_L a$ del H_2S se obtiene la ecuación 2-4.

$$k_L a = (k_L a)_{\text{O}_2} \sqrt{\frac{D_{\text{H}_2\text{S}}}{D_{\text{O}_2}}} \quad (2-4)$$

donde D_{O_2} es la difusividad del oxígeno disuelto en agua, con un valor de 2.25×10^{-5} , $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ a 25°C .

Conociendo los valores de k_{GA} , $k_L a$, H y E se calculó el coeficiente K_{GA} para cada caso, de acuerdo con la ecuación 2-5 (Roustan 2006).

$$K_{GA} = \frac{1}{\frac{1}{k_{GA}} + \frac{H}{E k_L a}} \quad (2-5)$$

Cuando E es muy próximo a la unidad, se verificaría la absorción meramente física y sin reacción química. La consideración anterior nos ayudaría a estimar en términos de los coeficientes de transferencia de masa, la magnitud del incremento del flujo molar ($J_r a$) cuando se absorbe H_2S en una solución acuosa a pH 10, en relación al flujo molar de absorción sin reacción química ($J a$).

El K_{GA} es dependiente de la concentración, pues la constante H es una función de la concentración. Sólo cuando la línea de equilibrio es una línea recta (soluciones diluidas) la H es constante, y por tanto los coeficientes globales también serán independientes de la concentración (Lobo 1997). En nuestro caso la mayor

Capítulo 2

concentración de H_2S en el líquido que podría alcanzarse sería de $1.8 \mu\text{mol L}^{-1}$, por tanto supondremos H independiente de la concentración.

Finalmente, se estimaron los flujos molares por volumen de lecho máximos de H_2S desde la fase gas a la líquida mediante la ecuación 2-6 y 2-7 (derivación en apéndice A), para las diferentes p_{ent} y $TRLV$ probados en el *BLE*. Dependiendo de la condición en la que se evalúe K_{Ga} se podrá estimar el flujo volumétrico de absorción sin reacción química ($J a$) y el flujo volumétrico de absorción con reacción química ($J_r a$).

$$J a_{\max} = \frac{F_G}{P A_{st} L} p_{Aent} \left(1 - \exp \left(\frac{-A_{st} P \langle K_{Ga} |_{E=1} \rangle L}{F_G} \right) \right) \quad (2-6)$$

$$J_r a_{\max} = \frac{F_G}{P A_{st} L} p_{Aent} \left(1 - \exp \left(\frac{-A_{st} P \langle K_{Ga} |_{E>1} \rangle L}{F_G} \right) \right) \quad (2-7)$$

Los flujos molares máximos ($J_r a_{\max}$) de la absorción con reacción química, fueron comparados con la capacidad de eliminación experimental (*CE*) registrada por el *BLE* bajo las mismas condiciones de operación.

2.7 BIOLAVADOR DE RECIRCULACIÓN (*BLR*)

Se empleó un biolavador de recirculación (*BLR*) hecho de vidrio, provisto con un empaque plástico inerte y un sedimentador cónico, como se muestra en la figura 2-4.

El *BLR* con un volumen total de 6 L, fue operado en forma continua aplicando tasas de dilución de 0.02 a 0.10 h^{-1} , con concentraciones de sulfuro en el influente de 50 a 330 mmol L^{-1} . Se evaluó su capacidad y eficiencia de eliminación, mediante la determinación de la concentración de sulfuro, sulfato y biomasa. El pH y la temperatura fueron controlados en 10 y 30°C respectivamente.

La configuración del *BLR* consistió de una columna principal, “Reactor” ($V_r = 3.4 \text{ L}$) donde se consideró que se lleva a cabo la oxidación biológica del sulfuro, y una columna menor llamada “Aerador” ($V_a = 0.67 \text{ L}$) donde se burbujeó aire (0.50 a 0.75 vvm). El aerador tiene como función suministrar controladamente oxígeno disuelto al reactor (Velasco *et al.* 2004) además de promover la oxidación química del sulfuro del

influyente. La fase líquida fue recirculada desde el aerador hasta el reactor junto con el influente en forma continua, de esta forma también la recirculación tuvo influencia en la retención de biomasa en el reactor. La velocidad de recirculación varió desde 65 a 132 L h⁻¹ (12 a 25 L L_{reactor}⁻¹ h⁻¹). El efluente es purgado continuamente desde el aerador.

El reactor fue equipado en su parte superior con un sedimentador cónico ($V_s = 1.9$ L), el cual tuvo un diámetro máximo de 20 cm. El sobrenadante generado en el sedimentador, fue descargado hacia el aerador mediante un rebose.

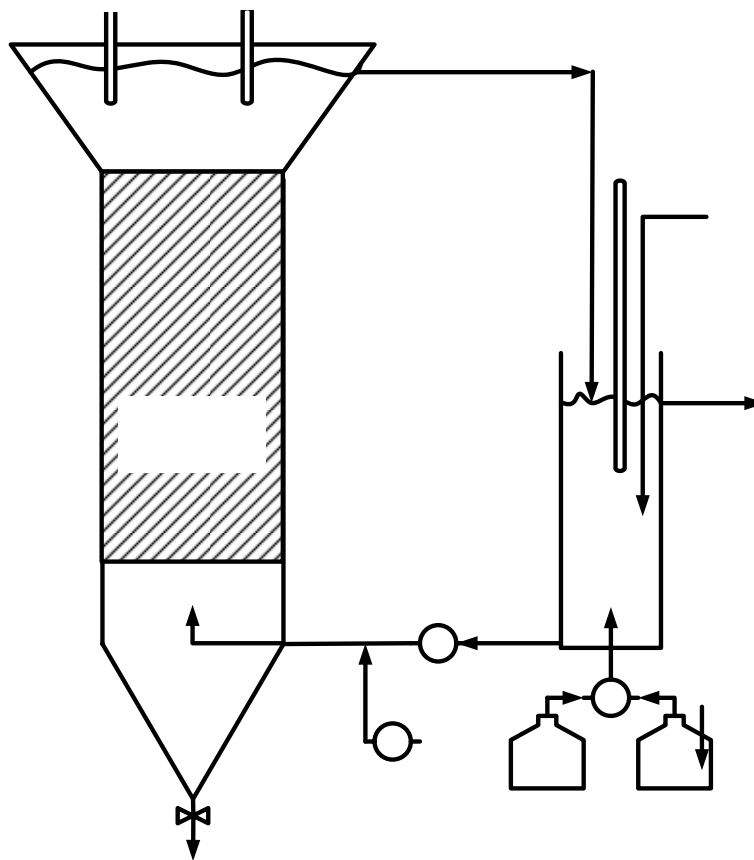


Figura 2-4 Biolavador de Recirculación (BLR).

El reactor también incluyó en la parte media un material de empaque PVC Plasdek 12060 (Munters Corporation, Fort Myers, FL) con canales diagonales y una área total de 0.51 m², donde el líquido fluirá ascendentemente entre los canales, de esta forma entre la capa límite y la superficie del empaque la velocidad del líquido disminuirá hasta cero, lo cual ayudó a sedimentar los pequeños flóculos de biomasa formados. Por último el reactor en su parte inferior contó con una zona cónica estática

Capítulo 2

(volumen incluido en el reactor), donde los flóculos de biomasa y eventualmente el azufre elemental formado, fueron purgados intermitentemente mediante una válvula.

La aeración fue separada del reactor con la intención de promover tanto la retención de biomasa en el reactor además de la separación física entre la oxidación química del sulfuro y la oxidación biológica.

Con la finalidad de prevenir la oxidación del sulfuro en el recipiente de su almacenamiento, el influente fue dividido en dos soluciones, una fue de sulfuro en agua desionizada y continuamente burbujeada con nitrógeno, la segunda fue el medio mineral doblemente concentrado. Ambas soluciones fueron alimentadas al reactor a la misma velocidad de flujo.

A continuación en las ecuaciones 2-8 a 2-11 se definen algunos parámetros de operación útiles que caracterizan el estado de funcionamiento del *BLE*, como la tasa de dilución (D), la velocidad de carga de sulfuro (Q_{HS^-}), la eficiencia de remoción ($\%ER$) y el rendimiento a sulfato ($Y_{SO_4^{2-}}$).

$$D = \frac{F}{V_r + V_s + V_a} \quad (2-8)$$

$$Q_{HS^-} = D[HS^-]_{ent} \quad (2-9)$$

$$\%ER = 100 \left(\frac{[HS^-]_{ent} - [HS^-]_{sal}}{[HS^-]_{ent}} \right) \quad (2-10)$$

$$Y_{SO_4^{2-}} = \frac{[SO_4^{2-}]}{2 \{ [S_2O_3^{2-}]_{ent} - [S_2O_3^{2-}]_{sal} \}} \quad (2-11)$$

También se realizaron algunos experimentos en lote, donde se probaron diferentes sustratos azufrados, como el tiosulfato, sulfuro e intermediarios, que fueron preparados con agua desionizada para obtener una concentración final de azufre de 31 mmol L⁻¹ dentro en *BLR*. La solución de intermediarios fue preparada como se describió en la sección 2.5.

2.7.1 Métodos analíticos

La concentración de oxígeno disuelto y el *ORP* fueron medidos periódicamente en el aerador y reactor. Se tomaron muestras diarias del influente y efluente para determinar las concentraciones de sulfuro, tiosulfato, sulfato y biomasa, como se describió en la sección 2.5.1.

Los sólidos sedimentados fueron removidos cada 3 días para cuantificar la biomasa y azufre elemental por peso seco. A partir de una pequeña muestra de los sólidos sedimentados (lavados previamente con agua para eliminar el azufre soluble), se determinó su contenido de azufre elemental mediante la cuantificación de azufre total, realizado por análisis de su contenido elemental de azufre con el analizador Series II CHNS/O (Perkin Elmer, Boston, USA). La temperatura de combustión fue 925°C y la temperatura de reducción de 640°C. La calibración fue realizada con un estándar de cisteína (C₃H₇NO₂S).

Con la inclusión del soporte de biomasa en el sistema fue necesario realizar dos tipos de determinaciones adicionales de biomasa: en suspensión y en el soporte. Las muestras provenientes del efluente y soporte fueron centrifugadas y secadas a 70°C. El peso seco correspondiente a cada muestra sirvió para estimar el contenido de biomasa. Experimentalmente se determinó el contenido de proteína en la biomasa en base peso seco, resultando una proporción del 25% de proteína. Lo anterior nos permitió comparar con la biomasa suspendida, que fue determinada mediante el contenido de proteína en la biomasa (método de Lowry).

Capítulo 3 CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DEL CONSORCIO ALCALÓFILO SULFOOXIDANTE (CAS) BAJO CONDICIONES AMBIENTALES CONTROLADAS.

En este capítulo se demuestra la factibilidad de usar un Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante (CAS) autóctono en la degradación de H₂S y otros compuestos azufrados, mediante la evaluación y comparación de sus las velocidades de crecimiento y de sulfooxidación con las poseídas por microorganismos no extremófilos aplicados también a la remoción de compuestos azufrados. Además se analiza el efecto de la concentración de oxígeno disuelto, sulfato y salinidad sobre el CAS, evaluando como respuesta su velocidad de crecimiento y su velocidad sulfooxidante.

3.1 EFECTO DE LA FUENTE DE AZUFRE EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO Y SULFOOXIDACIÓN

3.1.1 Caracterización Cinética del CAS usando como Sustrato Limitante Tiosulfato (S₂O₃²⁻)

Como será demostrado en el capítulo 4, el tiosulfato puede ser producido por la oxidación química del sulfuro, convirtiéndose en un sustrato directo para el CAS. El tiosulfato ha mostrado ser un sustrato sustituto e intercambiable del sulfuro en caracterizaciones biológicas de microorganismos que degradan compuestos reducidos de azufre (Stefess *et al.* 1996), debido probablemente a que uno de los átomos de azufre que forman al tiosulfato posee el mismo estado de oxidación que el sulfuro.

3.1.1.1 Cultivo en lote

Un quimiostato operado por lote, fue inoculado con el CAS alcanzando una concentración inicial de 13 mg_{Prot} L⁻¹. Se alimentó como fuente de energía tiosulfato con una concentración inicial de 80 mmol L⁻¹ (Figura 3-1), las condiciones de operación fueron las definidas en la sección 2.3.

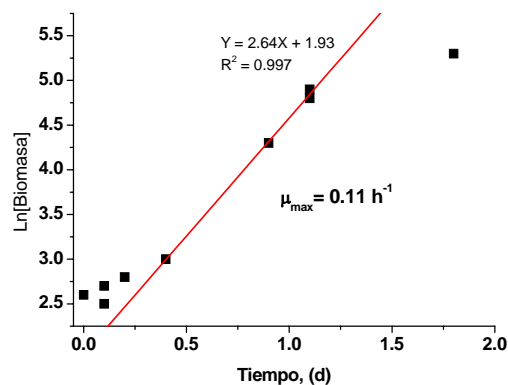
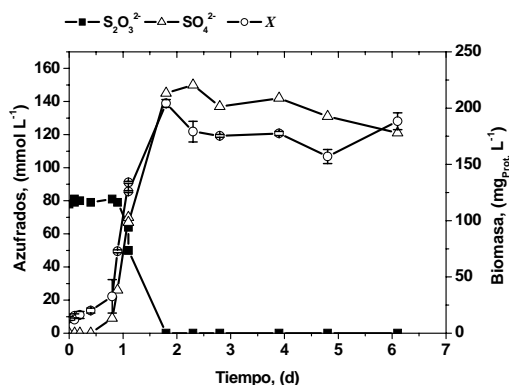


Figura 3-1 Cultivo en lote, usando tiosulfato como sustrato limitante. Condiciones: $\text{pH}_{\text{inicial}} = 10.24$, $T = 30.0^\circ\text{C}$, 0.6 vvm y 500 rpm .
 Figura 3-2 Cálculo de la velocidad específica de crecimiento μ_{max} en lote.

El cultivo en lote permitió evaluar algunas características potenciales de aplicación del CAS oxidando tiosulfato, como su velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) y su velocidad específica máxima de sulfooxidación (q_s), a partir de la fase exponencial de crecimiento (Figura 3-2), también se estimó la tasa volumétrica máxima de sulfooxidación bajo las condiciones de operación. Los resultados se muestran en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1. Resultados del cultivo en lote con tiosulfato

Parámetro	
$Y_{X/S}$	$1.19 \text{ g}_{\text{Prot.}} (\text{mol S-S}_2\text{O}_3^{2-})^{-1}$
μ_{max}	0.11 h^{-1}
q_s	$38.67 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ g}_{\text{Prot.}}^{-1} \text{ h}^{-1}$
Tasa volumétrica oxidación	$5.97 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$

Capítulo 3

3.1.1.2 Cultivo Continuo

Se realizó el cultivo del CAS en un quimiostato, evaluando tasas de dilución de 1.0 y 2.0 d⁻¹ sucesivamente. Este cultivo fue precedido de un cultivo por lote, donde la biomasa final alcanzó un valor de 80 mg_{Prot} L⁻¹. Posteriormente se alimentó en forma continua medio mineral y tiosulfato, este último en concentraciones en el influente de 45 y 95 mmol L⁻¹, bajo condiciones controladas de pH = 10.0, T= 30°C, 0.6 vvm y 500rpm. Los resultados se muestran en la figura 3-3.

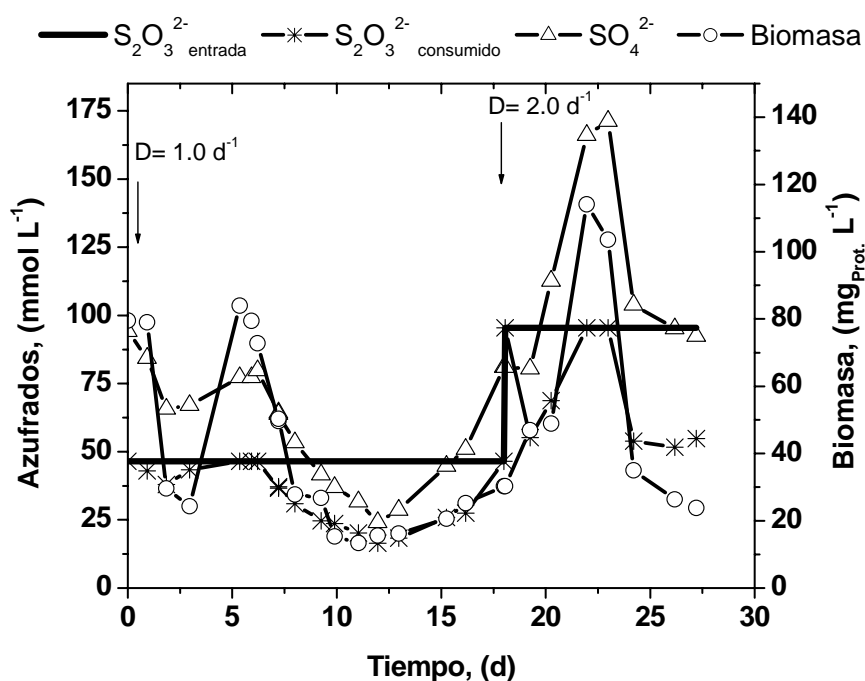


Figura 3-3 Cultivo en continuo del CAS usando tiosulfato como sustrato limitante. Condiciones: pH = 10.0, T = 30 °C, 500rpm, 0.6 vvm.

Se observa que en este caso no fue posible registrar estados estacionarios. Mediante la observación al microscopio de la suspensión del CAS proveniente del quimiostato, se identificó la proliferación de protozoarios autóctonos, y por tanto el crecimiento y la actividad oxidativa no pudieron mantenerse constantes. Los protozoarios son microorganismos eucarióticos unicelulares, de mayor tamaño que las bacterias. Se alimentan de otros microorganismos o partículas orgánicas de menor tamaño.

Durante esta etapa se intentó eliminar la presencia de los protozoarios, mediante la esterilización del medio mineral y la adición al cultivo de metronidazol, sin aparente éxito. Finalmente se filtró el inóculo del CAS a través de una membrana de 0.8 μm de diámetro de poro, la anterior acción entregó un CAS libre de protozoarios, y que al propagar el inóculo limpio éste creció sin contaminación de estos organismos eucarióticos. Es importante mencionar que los cultivos por lote reportados en la sección previa y en las posteriores a reportar, fueron realizados sin la presencia de los protozoarios.

La figura 3-3 indica que la actividad sulfooxidante (consumo de tiosulfato) resultó ser proporcional a la concentración celular presente en el caldo de cultivo. La anterior consideración nos permitió calcular algunas propiedades del cultivo continuo usando tiosulfato como fuente de azufre, los resultados son mostrados en la tabla 3-2.

Tabla 3-2. Resultados del cultivo continuo con tiosulfato

Parámetro	
$Y_{X/S}$	$1.1 \text{ g}_{\text{Prot}} (\text{mol S-S}_2\text{O}_3^{2-})^{-1}$
q_S	$72.85 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ g}_{\text{Prot.}}^{-1} \text{ h}^{-1}$
Tasa volumétrica oxidación	$6.92 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$

En un cultivo continuo suspendido de bacterias sulfoxidantes acidófilas (pH de 5), bajo condiciones de operación similares, González-Sánchez y Revah (2003) reportaron una tasa volumétrica máxima de oxidación de $24.2 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, tasa superior que la estimada para el CAS (tabla 3-2). La condición de extrema alcalinidad probablemente limita el transporte de los nutrientes disueltos hacia las células que conforman el CAS (Sydow *et al.* 2002), provocando la reducción de las velocidades de crecimiento y sulfooxidación con respecto a las reportadas para microorganismos no extremófilos.

Capítulo 3

3.1.1.3 Determinación de μ_{max} por el Método de Lavado

Se evaluó la μ_{max} del CAS por el método de lavado, usando tiosulfato como sustrato limitante. En esta prueba se trató de verificar el valor obtenido en el cultivo por lote. El método del lavado nos permite estimar la μ_{max} en condiciones fisiológicas estables.

A partir de un cultivo continuo en estado estacionario operado con una $D = 0.10 \text{ h}^{-1}$, se aumentó súbitamente la tasa de dilución hasta una $D = 0.31 \text{ h}^{-1}$ encontrándose el perfil mostrado en la figura 3-4. Además se muestra el ajuste que nos permitió calcular la μ_{max} .

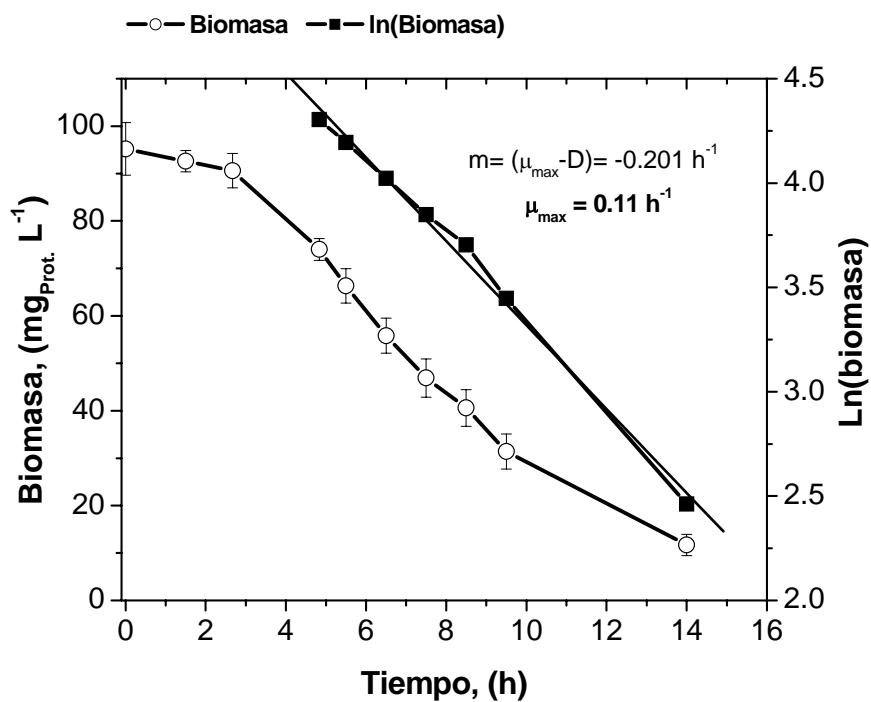


Figura 3-4. Evaluación de la μ_{max} del consorcio a través de la prueba de lavado, usando tiosulfato como sustrato limitante. Condiciones de lavado: $D = 0.31 \text{ h}^{-1}$, $\text{pH} = 10.0$, 500 rpm y 0.6 vvm .

La μ_{max} estimada por el método de lavado usando como sustrato limitante al tiosulfato fue de 0.11 h^{-1} . Una $\mu_{max} = 0.36 \text{ h}^{-1}$ fue estimada para un consorcio bacteriano acidófilo (González-Sánchez y Revah 2003) creciendo en similares condiciones pero a

pH de 5.0. La μ_{max} del CAS resultó ser lenta comparada con otros microorganismos no extremófilos pero con similar metabolismo.

La evaluación de las velocidades de sulfooxidación y de crecimiento específicas del CAS (oxidando tiosulfato como sustrato limitante) indicó la posibilidad de aplicación del CAS en procesos biológicos de remoción de tiosulfato, aunque también establece el reto de equiparar y mejorar las capacidades volumétricas de sulfooxidación reportadas a condiciones no extremas, mediante el acertado diseño de reactores capaces de incrementar la densidad celular y por tanto la actividad sulfooxidante volumétrica.

3.1.2 Caracterización Cinética del CAS usando como sustrato limitante al Sulfuro (HS^-).

Esta tesis esta enfocada hacia el tratamiento de corrientes gaseosas contaminadas con H_2S . Después de la transferencia del H_2S a una fase acuosa alcalina, el sulfuro (HS^-) resulta ser el principal compuesto azufrado a degradar (ver figura 1-5). El objetivo del proceso de remoción es transformar biológicamente el sulfuro a compuestos menos tóxicos o inertes como el sulfato o el azufre elemental. Por tanto la caracterización cinética del CAS, usando como sustrato limitante al sulfuro se hace indispensable.

3.1.2.1 Cultivos en lote

El cultivo se realizó en un quimiostato, con una concentración inicial de sulfuro $[\text{HS}^-]_{in}$ y biomasa de 25mmol L^{-1} y $17\text{ mg}_{Prot}\text{ L}^{-1}$ respectivamente, bajo condiciones controladas de $\text{pH}=10.0 \pm 0.1$, $T=30\text{ }^\circ\text{C}$, 0.6 vvm y 500 rpm .

En la figura 3-5 se muestra la evolución del cultivo por lote. Hasta la hora 6, el sulfuro inicialmente alimentado fue convertido al 100%, debido a su probable oxidación química en otras especies azufradas como los polisulfuros (no cuantificados experimentalmente) y tiosulfato (Chen y Morris 1972). Hasta las primeras 24 horas, no se detectó crecimiento microbiano ni la presencia de sulfato.

La producción de sulfato comenzó después de hora 60, en forma casi simultánea con el crecimiento del CAS, probablemente debido a la transformación del sulfuro por oxidación química, lo cual redujo la inhibición microbiana. Pro tanto, cuando el proceso biológico-alcalino de remoción de sulfuro presenta baja o nula oxidación biológica (0 - 48 h), la oxidación química del sulfuro es predominante, generándose intermediarios como los polisulfuros y tiosulfato. Pero cuando la oxidación biológica es la

predominante (48 – 150 h), los intermediarios de la oxidación química del sulfuro y el sulfuro mismo (concentraciones no inhibitorias), pueden ser transformados hasta sulfato bajo condiciones de exceso de oxígeno disuelto. La producción de sulfato se lleva a cabo cuando la relación O_2/S^{2-} es cercana a 2 (Ecuación 1-3).

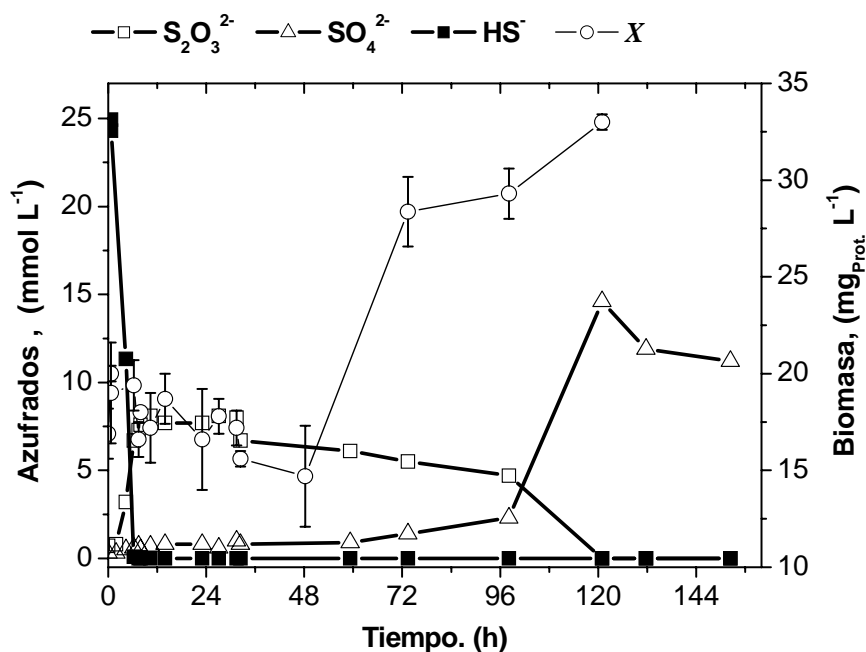


Figura 3-5 Oxidación química de sulfuro y la subsiguiente oxidación biológica de subproductos (tiosulfato) hasta sulfato. Cultivo por lote con una $[HS^-]_{in}=25\text{mmol L}^{-1}$. Condiciones: $V= 1.1\text{ L}$, $pH=10.0 \pm 0.1$ $T= 30^\circ\text{C}$, 500 rpm . 0.6 vvm , $[O_2] \sim 5.4\text{ mg, L}^{-1}$.

Los resultados de este experimento representan la primera evidencia de que la sulfooxidación aerobia del sulfuro bajo condiciones alcalinas, puede verse favorecida por la reacción química espontánea del sulfuro con el oxígeno disuelto, provocando una disminución de la inhibición del proceso biológico por altas concentraciones de sulfuro.

El rendimiento biomasa-tiosulfato (Y_{XS}) fue estimado después de la hora 48, periodo donde sólo fue detectado el consumo de tiosulfato y el crecimiento del CAS, resultando un $Y_{XS} = 1\text{ g}_{Prot.} (\text{mol S-S}_2\text{O}_3^{2-})^{-1}$, consistente con otros cultivos realizados previamente usando tiosulfato como sustrato limitante.

3.1.2.2 Cultivo Continuo

Se realizaron varios cultivos continuos en un quimiostato, bajo diferentes tasas de dilución (D) y concentraciones de sulfuro en la alimentación, hasta registrar estados estacionarios. Las condiciones que se mantuvieron constantes fueron: $T= 30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=10.0$, 0.6 vvm y 500rpm ($k_{\text{La}}= 255 \text{ h}^{-1}$). El criterio para considerar estado estacionario en el cultivo continuo, fue después de 3 tiempos de residencia. Este criterio se basa en el tiempo requerido para alcanzar el 95% de la composición del nuevo estado estacionario (Acevedo y Gentina 2000).

Durante estos y posteriores experimentos alimentados con sulfuro, se logró evitar la oxidación abiótica espontánea del sulfuro en el influente mediante el burbujeo continuo de nitrógeno en los recipientes de almacenamiento. El control en la oxidación del sulfuro alimentado, promovió que el cultivo continuo fuera más estable en relación con estudios preliminares similares (no se muestran), donde la oxidación abiótica espontánea del sulfuro en el contenedor no fue evitada, y por tanto se observó un cultivo continuo poco estable. Lo anterior nos indica que las propiedades cinéticas de crecimiento y sulfooxidación son dependientes de la fuente de energía azufrada disponible para el CAS.

La tabla 3-3 muestra los principales resultados generados a partir de los estados estacionarios alimentado sulfuro. A excepción de la condición de lavado, el sulfuro alimentado al quimiostato fue convertido al 100%.

La tasa volumétrica máxima de oxidación de sulfuro obtenida de los cultivos continuos fue de $2.6 \text{ HS}^{-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Janssen *et al.* (1997) reportó la oxidación biológica de sulfuro bajo pH neutro en un biorreactor con células retenidas, operado a una tasa de dilución de 1.0 d^{-1} y una concentración de biomasa promedio de $130 \text{ mg}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1}$, alcanzando una tasa máxima de eliminación de $7.81 \text{ mmol HS}^{-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. La diferencia en las capacidades de eliminación entre los dos sistemas, probablemente esta relacionada con la baja densidad microbiana y/o actividad sulfooxidante del CAS con respecto a los microorganismos no extremófilos. La inmovilización del CAS es una estrategia que puede superar las bajas actividades sulfoxidantes del CAS, incrementando las tasas volumétricas de eliminación de compuestos sulfurados.

De la tabla 3-3, se observa que el rendimiento a sulfato, disminuye conforme se incrementaron las cargas de sulfuro, hasta llegar a cero en la condición de lavado, donde el crecimiento y la capacidad oxidativa del CAS fueron inhibidas por las altas

Capítulo 3

concentraciones de sulfuro. En el capítulo 4, se demuestra que la falta de actividad biológica favorece la oxidación química del sulfuro (evidenciada en la figura 3-5), produciendo intermediarios como los polisulfuros y tiosulfato a velocidades significativas. Lo anterior explica la disminución en los rendimientos a sulfato conforme las cargas de sulfuro se incrementaban. La retención o fijación de biomasa dentro de un biorreactor entonces resulta deseable para la factibilidad de la aplicación del CAS en un proceso de remoción de sulfuros.

Tabla 3-3. Estados estacionarios alcanzados usando sulfuro como sustrato limitante.

μ, h^{-1}	$[\text{HS}^-]_{\text{en}}$ (mmol L ⁻¹)	Q_{HS} (mmol L ⁻¹ h ⁻¹)	$X,$ (mg _{Prot.} L ⁻¹)	$Y_{\text{SO}_4^{2-}/\text{HS}^-}$	S_x^{2-} (mmol L ⁻¹)
0.0258	54.07	1.39	268.00	0.83	17.8
0.0327	20.0	0.62	95.17	1.00	0
0.0475	54.05	2.56	256.00	0.69	16.34
0.0475	54.05	2.56	227.00	0.56	23.42
0.0484	50.0	2.42	272.84	0.53	24.15
0.07402*	48.72	3.61	0	0.00	ND

*Lavado celular ($D > \mu_{\text{max}}$), Estado Estacionario trivial.

S_x^{2-} : Polisulfuros estimados por balance

3.1.2.2.1 Predicción de estados estacionarios múltiples para el cultivo continuo del CAS

En un cultivo continuo de células suspendidas en estado estacionario, la concentración del sustrato limitante a la salida del cultivo, es independiente de la concentración inicial alimentada. Además, se sabe que en un cultivo continuo con sólo un sustrato limitante, se generará uno y sólo un estado estacionario. Para el caso de cuando el sustrato limitante involucrado es inhibitorio al crecimiento y/o actividad, se producirán al menos dos estados estacionarios para una sola condición de operación, donde no todos ellos son estables (Mihail y Straja 1988). La condición de estado estacionario para un cultivo continuo ($\mu=D$) del CAS que es alimentando con sulfuro como sustrato limitante se indica en la ecuación 3-1.

$$D = \mu \left(\frac{S}{K_S + S + S^2/K_I} \right) \quad (3-1)$$

Donde S representa la concentración de sulfuro en mmol L^{-1} . Se consideraron las características cinéticas generales del CAS como la μ_{max} , las constantes de saturación ($K_S = 0.074 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HS}^-$) e inhibición ($K_I = 1.19 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HS}^-$) correspondientes a la oxidación de sulfuro. En el capítulo 4 se muestran y discuten los valores de las constantes de saturación e inhibición por sulfuro.

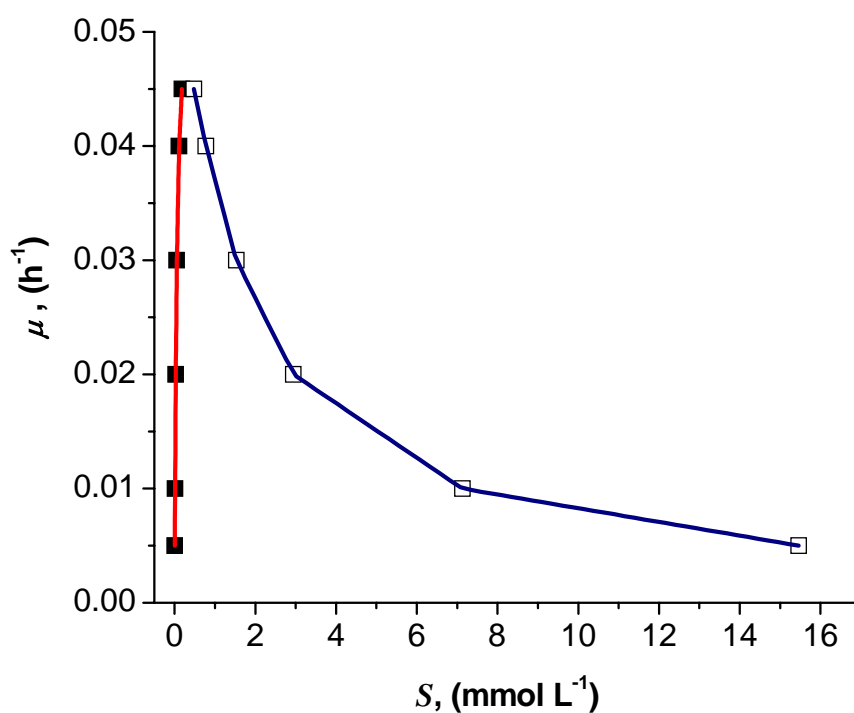


Figura 3-6. Estados estacionarios múltiples calculados para un cultivo continuo del CAS en un quimiostato, alimentando sulfuro como sustrato limitante.

Mediante la solución de la ecuación 3-1 para diferentes tasas de dilución, se obtienen dos soluciones para S . La figura 3-6 muestra los estados estacionarios múltiples calculados para el cultivo continuo del CAS. Por evidencias experimentales ($[\text{HS}^-] > 2 \text{ mmol L}^{-1}$ provocan la inhibición del crecimiento del CAS) los estados

estacionarios indicados con cuadros vacíos, no son estables, y nos conducirán al estado estacionario trivial o de lavado celular.

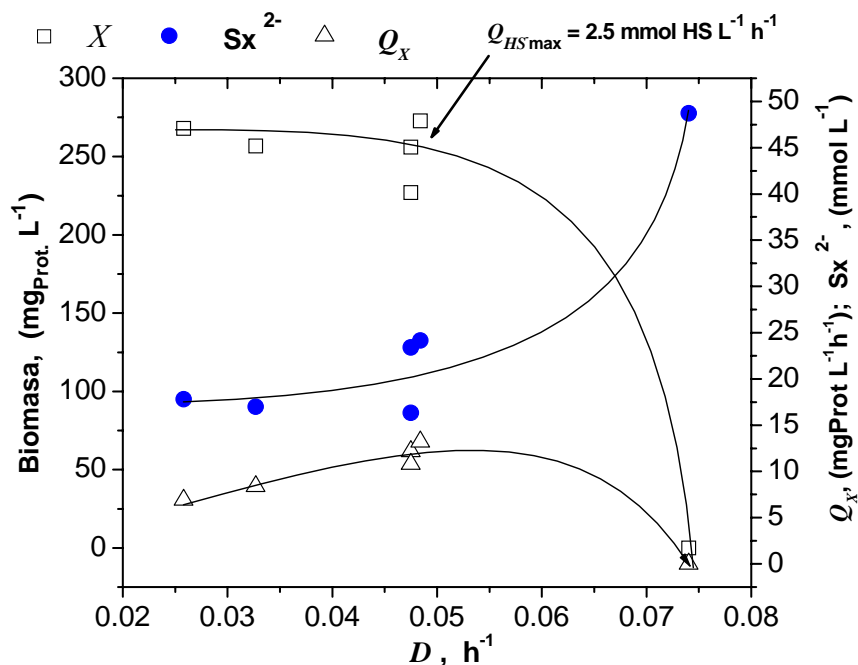


Figura 3-7 Q_{HS} óptimas para la producción de biomasa y su relación la generación de polisulfuros (subproductos no sulfato)

Por tanto un cultivo continuo de células suspendidas del CAS para remoción de sulfuro como único sustrato limitante, estará restringido sólo a D menores de $0.05h^{-1}$, estimación que coincide con la tasa de dilución máxima conseguida en los experimentos de cultivo continuo con sulfuro reportados previamente. Es importante recalcar que lo anterior es válido considerando al sulfuro como el único sustrato limitante, lo que en la práctica puede que no suceda, debido a la limitación de otros nutrientes, en especial del oxígeno disuelto, que es el aceptor final de electrones y que potencializa el grado y velocidad de oxidación del compuesto azufrado.

La figura 3-7 nos muestra la relación típica entre la μ (o D en estado estacionario) con los intermediarios estimados y la concentración de biomasa. Cuando el consorcio fue alimentado con sulfuro como único sustrato limitante, a una $D_{crítica}$

cercana a 0.05h^{-1} y una concentración de sulfuro en el influente de 50 mmol L^{-1} , se consiguió una Q_{HS} máxima de $2.5\text{ mmol HS}^{-}\text{ L}^{-1}\text{h}^{-1}$.

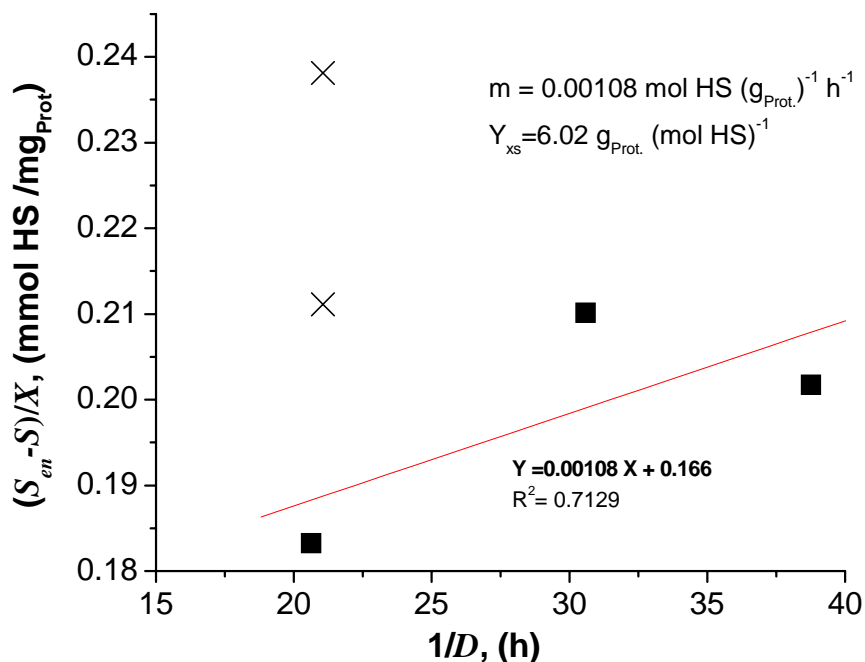


Figura 3-8. Estimación de los parámetros de crecimiento y mantenimiento del CAS, usando sulfuro como sustrato limitante. (X indican los estados estacionarios que salieron de la tendencia).

Si la carga de sulfuro se sigue incrementando vía su concentración en el influente, pero las tasas de alimentación de oxígeno disuelto no aumentan proporcionalmente, podemos esperar una crecida en la concentración de intermediarios y un decremento en μ , pues se registrarían concentraciones inhibitorias de sulfuro y probablemente de intermediarios, provocando finalmente el lavado celular del reactor.

De los estados estacionarios obtenidos experimentalmente, se estimaron algunos parámetros cinéticos de crecimiento y sulfooxidación de sulfuro, como los coeficientes de mantenimiento (m) y rendimiento (Y_{XS}), a partir de la forma lineal del balance de sulfuro mostrado en la ecuación 3-2.

$$D([HS]_{en} - [HS]) = \mu \frac{X}{Y_{X/S}} + mX \quad (3-2)$$

Donde X es la concentración de proteína contenida en la biomasa CAS, $\text{mg}_{\text{Prot}} \text{L}^{-1}$. A partir de la regresión lineal mostrada en la figura 3-8, se estimó un $m = 0.00108 \text{ mol HS (g}_{\text{Prot}})^{-1} \text{ h}^{-1}$ y un $Y_{X/S} = 6.02 \text{ g}_{\text{Prot}} (\text{mol HS})^{-1}$. Considerando el estado estacionario donde se obtiene la mayor carga de sulfuro eliminada por vía biológica, se evaluó la relación $\mu/Y_{X/S}$ que es la parte del sustrato que se destina a crecimiento según la ecuación 3-2, resultando un valor de $0.0089 \text{ mol HS (g}_{\text{Prot}})^{-1} \text{ h}^{-1}$, lo que significa que el 10% del sulfuro alimentado es usado para mantenimiento. Lo anterior confirma el metabolismo quimiotrofo del CAS, donde el sulfuro es usado mayoritariamente como fuente de energía para crecimiento.

3.1.2.2.2 Efecto del oxígeno disuelto

Con la finalidad de investigar la capacidad sulfooxidante del CAS en limitación de oxígeno disuelto, se realizó un experimento donde se burbujeó una mezcla de O_2 al 1% vol. diluido en N_2 (concentración en equilibrio con el líquido fue $0.26 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), manteniendo las condiciones óptimas de operación logradas en las pruebas con la aeración de aire (O_2 al 21% vol.). Los resultados se muestran en la figura 3-9.

Como se observa la baja concentración de oxígeno disuelto es un factor limitante en el proceso de sulfooxidación de sulfuro, limitando las velocidades de crecimiento y degradación.

El cultivo continuo fue sometido a una $D = 0.048 \text{ h}^{-1}$, que fue una D que registró el 100% de degradación de sulfuro cuando el cultivo continuo fue burbujeando con aire, en este experimento se convierte en una D de lavado debido a las condiciones limitantes de oxígeno disuelto. Asumiendo que el CAS crece de acuerdo a la cinética doble de Monod y con inhibición por sustrato ((1-6), la concentración de oxígeno disuelto se vuelve limitante de la velocidad de crecimiento μ cuando su valor se aproxima a K_{O_2} . Además considerando la simultánea acumulación de sulfuro $\text{HS}^- > K_{\text{HSi}}$, se limita aun más μ .

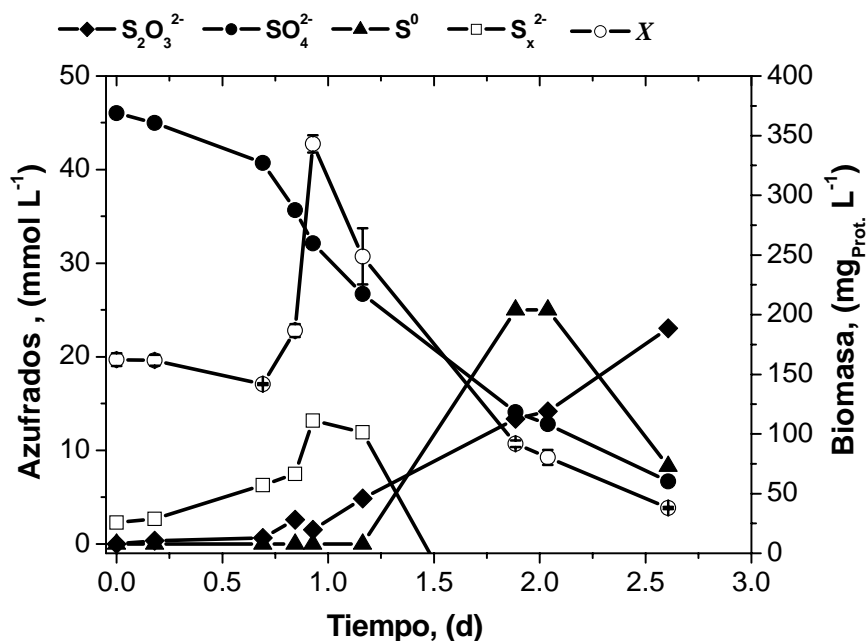


Figura 3-9 Efecto del oxígeno disuelto. $D = 0.0481 \text{ h}^{-1}$, $[HS^-]_{in} = 48.31 \text{ mmol L}^{-1}$, 1% mol O_2 diluido en N_2 .

Un hecho importante derivado de este experimento, fue la demostración que el CAS es capaz de producir azufre elemental (S^0) durante un lapso de tiempo en el cultivo continuo. Lo anterior se explica al hecho que la relación molar (O_2/HS^-) a la que fue sometida al CAS, se aproximó a 0.5, que es una condición necesaria para la formación de azufre elemental (ecuación 1-9).

En la degradación del sulfuro en este experimento, hubo un rendimiento a S^0 aproximadamente del 50%. Conforme transcurría el experimento y el lavado celular proseguía se observa la producción de tiosulfato a una tasa máxima $0.71 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, que probablemente resultó de la oxidación química del sulfuro.

3.1.2.3 Determinación de μ_{max} por el método del lavado

En un cultivo continuo del CAS, donde la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo cercana a la saturación, fue sometido a una $D = 0.045 \text{ h}^{-1}$ y $[HS^-]_{in} = 55 \text{ mmol L}^{-1}$ en estado estacionario, se cambió súbitamente a una $D_{lavado} = 0.45 \text{ h}^{-1}$ y $[HS^-]_{in} = 5.5$

mmol L^{-1} , esta última se disminuyó 10 veces de la anterior para no provocar inhibición por acumulación de sulfuro, y así aproximar a observar una verdadera μ_{max} .

La figura 3-10 muestra el perfil del lavado y el ajuste que permitió calcular una μ_{max} de 0.11 h^{-1} con alimentación continua de sulfuro y bajo condiciones sin inhibición, pues no se detectó durante la prueba de lavado concentraciones de sulfuro a la salida.

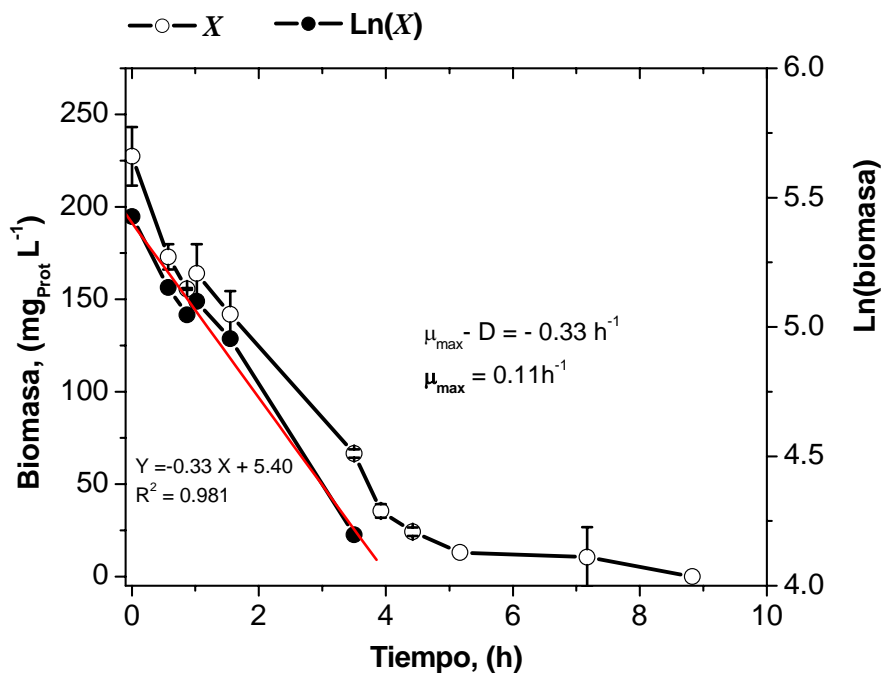


Figura 3-10 Prueba de lavado. $[\text{HS}^-]_{in} = 5.5 \text{ mmol L}^{-1}$, $D_{lavado} = 0.45 \text{ h}^{-1}$, $\text{pH} = 10.0$, 500 rpm y 0.6 vvm .

3.1.2.4 Cinética de crecimiento en cultivo por lote del CAS en matraces

Con la finalidad de complementar la información referente a los parámetros cinéticos de crecimiento y sulfooxidación del CAS, se realizó un cultivo por lote con tres repeticiones, en matraces de 0.2 L dentro de una cámara de agitación a 250 rpm y $T = 30^\circ\text{C}$. Las condiciones fueron: $[\text{HS}^-]_{in} = 25 \text{ mmol L}^{-1}$ y biomasa inicial promedio = $16 \text{ mg}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1}$, $[\text{O}_2] \gg K_{\text{O}_2}$ y $\text{pH} \approx 10$.

Los resultados presentados en la figura 3-11 son el promedio de las repeticiones realizadas. La medición de sulfuro en esta ocasión no fue realizada. De los análisis, al

tiempo cero se observa que el sulfuro usado en esta prueba no estaba puro (presencia de hasta 5 mmol L⁻¹ de tiosulfato y color verde al momento de la inoculación), esto tal vez explique la reducción del tiempo en la fase lag con respecto al experimento mostrado en la figura 3-5, pues los microorganismos ya no fueron sometidos por mucho tiempo a la inhibición que les provoca el sulfuro en altas concentraciones. Durante la fase lag, hubo formación de tiosulfato (tasa máxima: 0.74 mmol S₂O₃²⁻ L⁻¹ h⁻¹) por vía química a partir de la oxidación del sulfuro y polisulfuros (Stuedel *et al.* 1986). Los polisulfuros (S_x²⁻) fueron estimados a partir de un balance de azufre sobre todas las especies cuantificadas.

A partir de este experimento se pudieron calcular los parámetros mostrados en la tabla 3-4.

Tabla 3-4. Resultados del cultivo por lote (matraz) con sulfuro

Parámetro	
$Y_{X/S}$	4.25 g _{Prot.} (mol S) ⁻¹
μ_{max}	0.062 h ⁻¹
q_S	12.79 mmol HS ⁻ (g _{Prot.} h) ⁻¹
Tasa volumétrica oxidación	1.71 mmol HS ⁻ (L h) ⁻¹

El rendimiento disminuyó ligeramente con respecto al evaluado en cultivo continuo, debido quizás a que el azufre consumido no fue totalmente suministrado como sulfuro. La μ_{max} disminuyó su valor del estimado por el método de lavado, probablemente debido a la alta concentración de sulfuro inicial a la que fue sometido el inóculo del CAS, lo cual inhibió su velocidad de crecimiento.

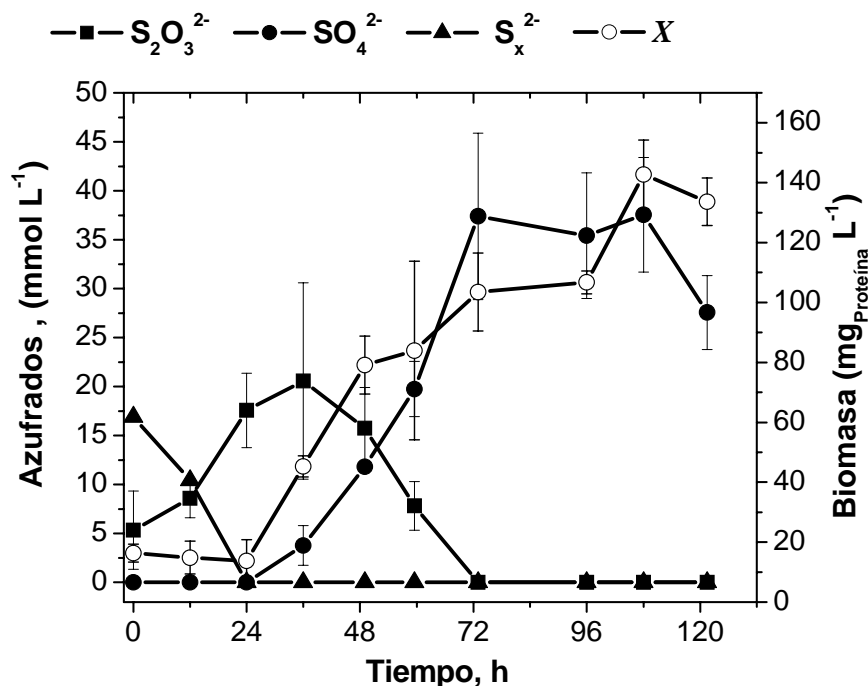


Figura 3-11 Cinética de crecimiento del CAS en un cultivo por lote, con $[HS]_{in} = 25 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.1.3 Degradación de otros compuestos de azufre.

Se realizaron pruebas en matraz, realizando cultivos en lote por duplicado para cada condición, probando diferentes sustratos azufrados, las condiciones fueron, $pH = 10.0 \pm 0.1$, $T = 30^\circ C$, $V = 0.2L$, 250 rpm o $[O_2] \gg K_{sO_2}$. Paralelamente se corrieron controles que evalúan la oxidación química de los sustratos azufrados.

Las figuras 3-12 y 3-15 muestran que el sulfito y metabisulfito no presentaron oxidación biológica, debido a su espontánea e instantánea oxidación química hasta sulfato. La figura 3-14 muestra que el tetratiónato (posible producto de la oxidación química) presentó un rendimiento de los 2 azufres reducidos de $Y_{X/S} = 3.81 \text{ g}_{Prot} (\text{mol } S_4O_6^{2-})^{-1}$ y una $\mu_{max} = 0.044 \text{ h}^{-1}$ (figura 3-14). Para el caso del azufre elemental (figura 3-15) presentó una lenta oxidación, probablemente debido a la escasa solubilidad del azufre en solución acuosa, pero que al final si es degradado a sulfato aunque velocidades muy por debajo de otros compuestos azufrados.

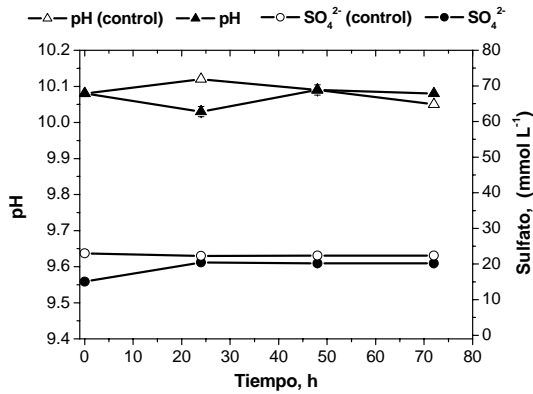


Figura 3-12 Oxidación del Sulfito

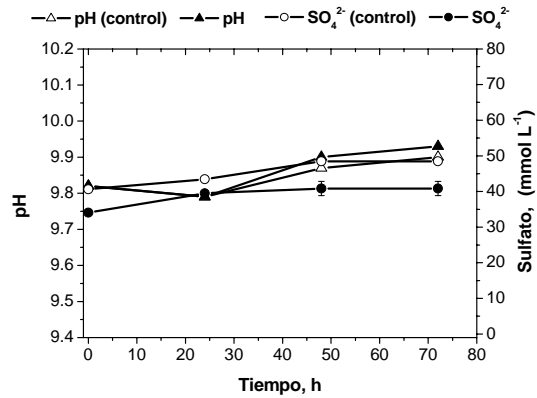


Figura 3-13 Oxidación del Metabisulfito

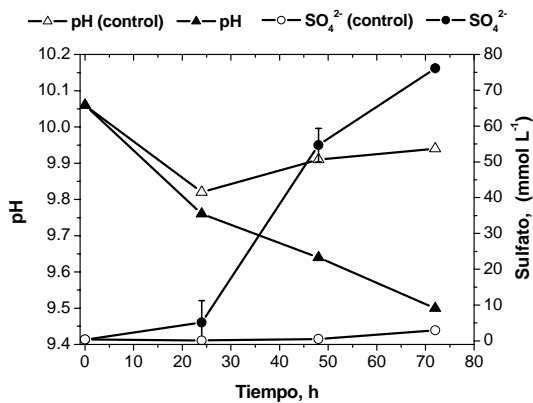


Figura 3-14 Oxidación del Tetratiónato

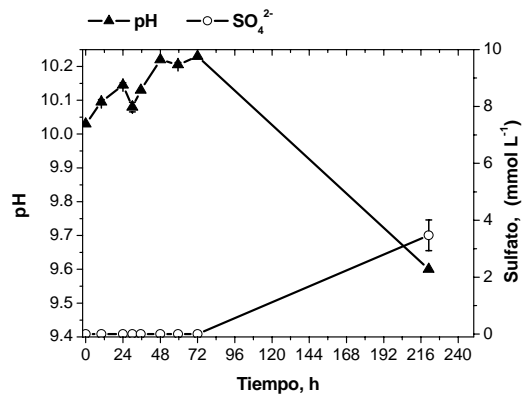


Figura 3-15 Oxidación del Azufre elemental

Lo anterior demuestra que el CAS es capaz de consumir subproductos de la oxidación del sulfuro como el azufre elemental, tiosulfato y tetratiónato, aunque las propiedades cinéticas de crecimiento (figura 3-16) y consumo resultan ser diferentes. El tetratiónato mostró ser el sustrato que induce la mayor velocidad específica de crecimiento, el bisulfito y sulfito no fueron consumidos por los microorganismos y el azufre elemental fue parcialmente consumido indicado por la producción de sulfato, pero debido a la interferencia que éste provoca con el método de cuantificación de proteína, no fue posible determinar su correspondiente velocidad de crecimiento que induce sobre el CAS.

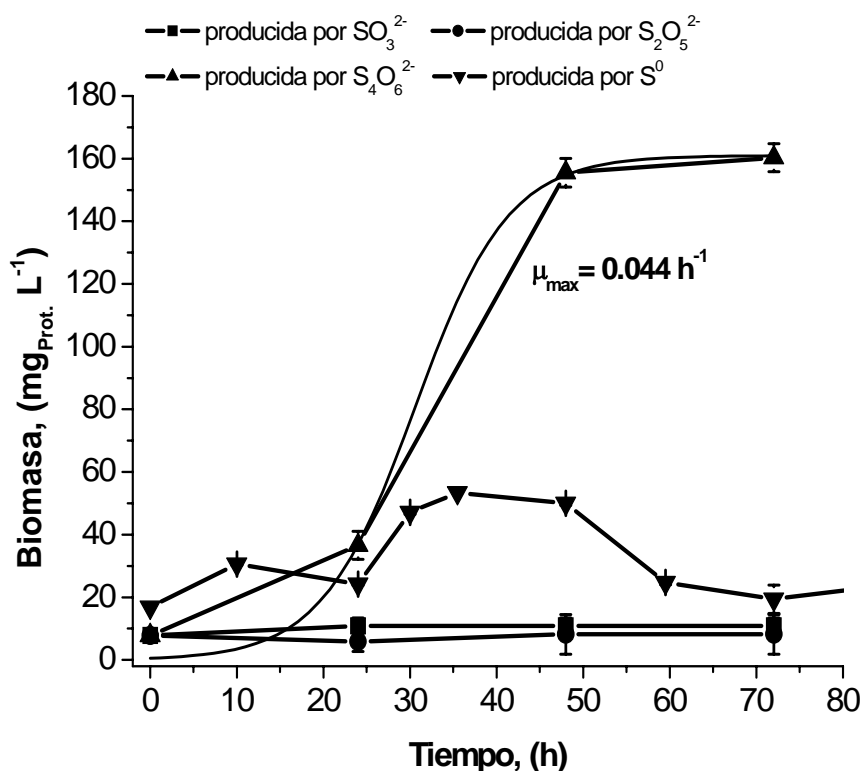


Figura 3-16 Curvas de crecimiento en diferentes sustratos azufrados, con una concentración inicial del ión azufrado de 20 mmol L⁻¹.

3.1.4 Efecto de la concentración de sulfato

Desde un cultivo continuo del CAS en estado estacionario alimentado con tiosulfato (80mmol L⁻¹) con una tasa de dilución de 1.0 d⁻¹, se inocularon una serie de matraces, para ser operados como reactores por lotes con una concentración inicial de 40 mmol L⁻¹ de tiosulfato y una concentración de biomasa inicial promedio de 20 mg_{Prot} L⁻¹. Cada matraz fue sometido a una concentración inicial de sulfato, que varió desde 0 a 1500 mmol SO₄²⁻ L⁻¹. Entonces, se evaluó el efecto de la concentración inicial de sulfato en la velocidad específica de crecimiento y la capacidad sulfooxidante del CAS. Los experimentos se realizaron por duplicado. Los resultados se muestran en la tabla 3-5.

Claramente se observa que el efecto de las concentraciones crecientes de sulfato sobre el crecimiento y actividad sulfooxidante del CAS es perjudicial. La explicación

que se puede dar, esta relacionada probablemente al efecto de inhibición por producto sobre el metabolismo catabólico y anabólico del CAS provocada por de un fuerte estrés iónico, aunque también la reducción en la actividad de agua provocada por el aumento en la concentración de sales pudo limitar el transporte de nutrientes al CAS.

Estos resultados deben de contemplarse en el adecuado diseño de un sistema de tratamiento de sulfuro que involucre la acumulación de sulfato.

Tabla 3-5 Efecto de la concentración de sulfato sobre la velocidad específica de crecimiento y actividad sulfooxidante de tiosulfato.

$[\text{SO}_4^{2-}]_{\text{inicial}}$ (mmol L ⁻¹)	μ , (h ⁻¹)	q_s , (mmol S ₂ O ₃ ²⁻ g _{Prot} ⁻¹ h ⁻¹)	$Y_{\text{SO}_4^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}$
0	0.0836	4.60	0.92
100	0.0342	1.56	0.51
300	0.0483	1.96	ND
500	0.0211	1.47	ND
700	0.0167	2.16	ND
900	0.0179	1.32	ND
1200	0.0269		
1500	0.0195		

La tolerancia al sulfato en microorganismos sulfooxidantes acidófilos ha sido reportada ligeramente menor, por ejemplo Alcántara (2000) reportó que a concentraciones de sulfato alrededor de 260 mmol L⁻¹ la actividad sulfooxidante de un consorcio *thiobacillus* (acidófilo) disminuyó en aproximadamente 50%. Ongcharit *et al.* (1991) reportó que el sulfato en concentraciones de 210 a 260 mmol L⁻¹ inhibe la oxidación de sulfuro en *Thiobacillus denitrificans*, explicando que el fenómeno se presentó como consecuencia de un fuerte estrés iónico. En un biofiltro para la eliminación de H₂S Yang y Allen (1994) reportan un efecto negativo sobre los microorganismos del genero *thiobacillus* a concentraciones mayores a 260 mmol L⁻¹ de sulfato.

3.2 EFECTO DE LA SALINIDAD

3.2.1 Velocidad de Crecimiento

Se realizó un cultivo continuo del CAS en quimiostato, donde se trato de seleccionar aquellos microorganismos integrantes del consorcio, capaces de crecer y oxidar compuestos azufrados en condiciones halófilas (hasta $2.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$). Se observó que la μ de crecimiento disminuyó notablemente conforme la concentración de NaCl se incremento por arriba de 1.5 M. Lo anterior se afirma después de correr una serie de estados estacionarios, donde la D inicial fue de 0.05h^{-1} , y hubo necesidad de disminuirla la D hasta 0.025h^{-1} para evitar el lavado celular del quimiostato.

3.2.2 Capacidad Sulfooxidante

La capacidad sulfooxidante del consorcio bacteriano fue evaluada mediante la velocidad respiratoria a cambios en el contenido salino en su cultivo continuo. La figura 3-17 muestra la evolución de la velocidad respiratoria en función de la concentración de NaCl que precedió a su respectivo cultivo continuo, ésta respuesta se indica con unas barras. Además se muestra con una línea continua la actividad respiratoria de cada uno de los cultivos seleccionados previamente, pero su respuesta es debida a la concentración salina de origen del CAS.

Se puede observar que la actividad respiratoria presenta un máximo alrededor de 1M de NaCl. En concentraciones mayores la actividad respiratoria disminuye notablemente, lo que puede indicar que el CAS esta conformado principalmente por bacterias halotolerantes, sin embargo debido al crecimiento y actividad respiratoria del CAS a $2.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$ se puede contemplar que también bacterias halófilas extremas pudieran también están presentes en el CAS. También de la figura 3-17 podemos observar que las actividades respiratorias de los microorganismos halófilos seleccionados por el cultivo continuo, fueron superiores en la mayoría de los casos a las presentadas por los mismos microorganismos seleccionados pero usando la concentración inicial de NaCl (0.085M), lo que indica la adaptación o efectiva selección de los microorganismos halófilos provenientes de CAS. Para el caso de los microorganismos seleccionados desde el cultivo continuo a $2.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, la actividad respiratoria fue muy pequeña comparada con el resto de las concentraciones de NaCl probadas, incluso fue menor que la registrada para el control de NaCl. La

probable explicación es que la mayoría de los microorganismos seleccionados a 2.5M, no poseen gran habilidad para crecer y respirar, entonces cuando el contenido salino disminuye, los microorganismos inhibidos por la alta salinidad aceleran su respiración.

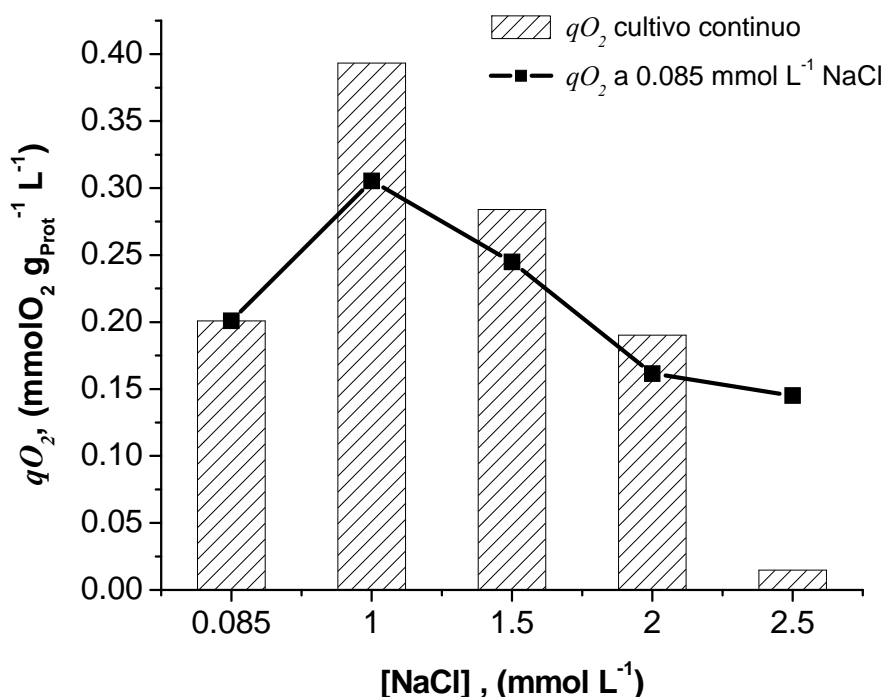


Figura 3-17 Velocidad de la actividad respiratoria de los microorganismos halófilos seleccionados por cultivo continuo en función de la concentración de NaCl. $[S_2O_3^{2-}]_{in} = 0.5 \text{ mmol L}^{-1}$ y $[O_2] = 5.5 \text{ mg L}^{-1}$.

Durante los experimentos de cultivo continuo en diferentes contenidos salinos, se evaluó paralelamente la actividad de agua del medio de cultivo al estado estacionario. La actividad de agua resultó directamente proporcional al contenido salino del medio de cultivo (figura 3-18), debido a la reducción en la concentración de moléculas de agua en la solución. A la concentración de $2.5 \text{ mol NaCl L}^{-1}$, la actividad de agua disminuyó hasta 0.916. Las bacterias consideradas no extremófilas, no son capaces de crecer a una actividad de agua menor de 0.98.

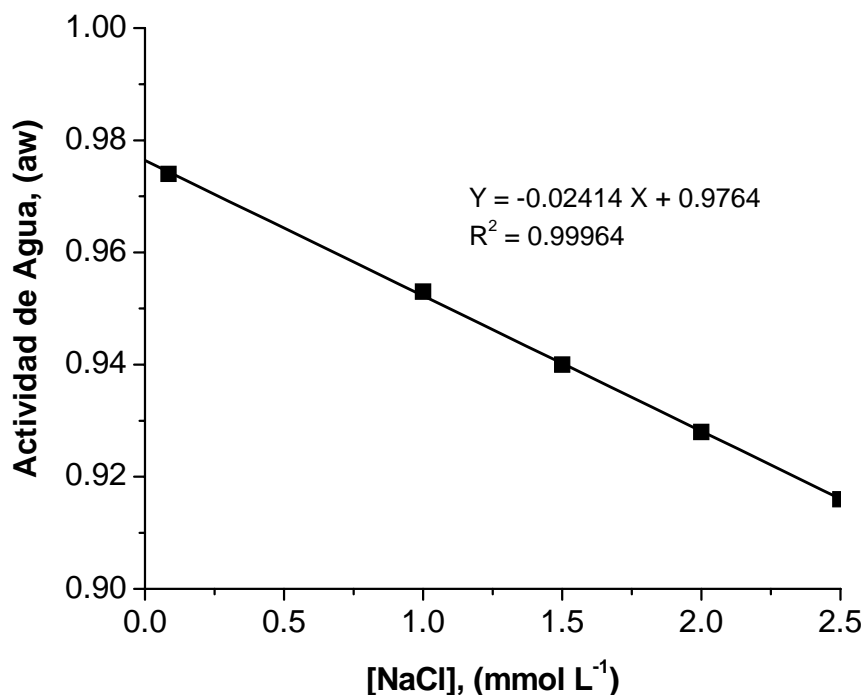


Figura 3-18 Actividad de Agua del medio de cultivo en función de la concentración NaCl

Por tanto, además del incremento en la presión osmótica provocada por el contenido salino en el medio de cultivo, la disminución en la actividad de agua o la disponibilidad de moléculas de agua puede representar también una limitante en el crecimiento y actividad del CAS.

Durante esta etapa, se logró que un cultivo continuo promoviera la selección de aquellos microorganismos capaces de resistir las condiciones ambientales extremas de salinidad.

3.3 TOLERANCIA DEL CAS A pH ÁCIDOS

Se determinó la actividad y supervivencia del CAS a pH ácidos. A partir de un cultivo (por duplicado) por lote en matraces a 30°C y 350rpm, con una cantidad inicial de inóculo de 30 mg_{Prot} L⁻¹, donde se monitoreó el consumo de tiosulfato y el cambio de pH. Con la finalidad de observar cambios significativos en el pH, el amortiguador de

carbonatos incluido en el medio mineral reportado por Sorokin *et al.* (2001) fue reducido 8 veces en concentración, resultando una concentración de Na^+ de 0.24 mol L^{-1} .

La figura 3-19 muestra el desarrollo del experimento. Después de cinco días de haber iniciado el cultivo, se registró un pH de 5.5. Con la finalidad de conocer si el consorcio aun estaba activo a ese pH, a ese tiempo se agregó más tiosulfato al cultivo para dar una concentración final de 20 mmol L^{-1} , el pH no se modificó hasta después de dos días resultando un valor alrededor de 8. La alcalinización el medio pudo deberse a la hidrólisis del tiosulfato ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NaHS}_2\text{O}_3 + \text{NaOH}$), además de la probable lisis celular provocada por la exposición del CAS a pH ácidos por algunos días.

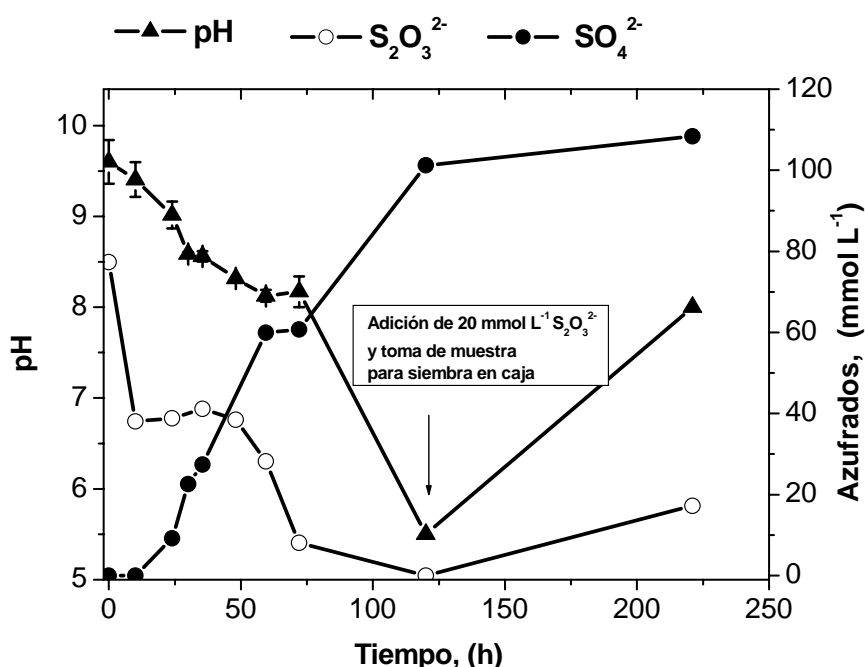


Figura 3-19 Tolerancia del CAS a pH ácidos

Cuando el cultivo registró un pH de 5.5, se sembró una alícuota de $500 \mu\text{L}$ del cultivo ya acidificado en una caja Petri con el medio mineral original y a un pH 10, donde se evaluó su supervivencia. Después del octavo día de haber sembrado no se observó ningún tipo de crecimiento, por lo que se puede decir que el CAS no es capaz de sobrevivir cuando es expuesto por algunos días a pH ácidos.

Capítulo 3

La capacidad del CAS de bajar el pH a 5.5, nos indica la diversidad de microorganismos presentes en el consorcio. Por un lado se puede decir, que durante el cultivo continuo el consorcio se ha especializado en crecer y degradar sulfuro a valores de pH de 10.0, sin embargo en el CAS se mantienen microorganismos neutrófilos y alcalotolerantes, que fueron responsables de bajar el pH hasta 5.5. Es probable que sólo una bacteria llegue a hasta un pH de 5.5 muriendo las otras.

A continuación en la tabla 3-6 se presenta un resumen de las propiedades del CAS evaluadas en este capítulo, donde se comparan con las propiedades de otros microorganismos sulfoxidantes alcalófilos y acidófilos reportados. Se puede observar que el CAS presenta una tendencia hacia bajas velocidades de crecimiento y de sulfoxidación comparadas con los microorganismos *thiobacillus* acidófilos, aunque con capacidades comparables con otros microorganismos alcalófilos reportados.

Durante este capítulo se ha mostrado que el CAS es capaz de crecer y oxidar varios sustratos azufrados en condiciones óptimas y mantener convenientes actividades sulfoxidantes en condiciones extremas de acumulación de sulfato y salinidad.

Las potencialidades de aplicación del CAS en la remoción de compuestos azufrados reducidos, son prometedoras en cuanto a su aplicabilidad específica en condiciones extremas, aunque sus características cinéticas de crecimiento y sulfoxidación son un inferiores comparadas con otro tipo de microorganismos no extremófilos que han sido aplicados con éxito en el tratamiento de compuestos reducidos de azufre.

La reacción química del sulfuro con el oxígeno disuelto, es parte intrínseca del proceso de oxidación biológica alcalina, y resultó ser significativa cuando la actividad biológica es baja o nula. La reacción química podría ser usada como un recurso que ayude a la desaparición de la inhibición del proceso biológico, que es provocada por altas concentraciones de sulfuro.

Tabla 3-6. Comparación de las propiedades de varios microorganismos sulfooxidantes adaptados a crecer bajo diferentes pH.

Microorganismo	<i>Thiobacillus</i> acidófilo ^(a)	<i>Thioalkalivibrio</i> ^(b)	CAS ^(c)
Metabolismo energético	Quimiolitotrofo	Quimiolitotrofo obligadas	Quimiolitotrofo
pH	5.5 a 7.0	7.5 a 10.6	9 a 10
Sustrato de crecimiento	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	S ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , SCN ⁻ , S ⁰ , S _x ²⁻	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻ , S _x ²⁻
$Y_{X/S}$, mg_{Prot.} (mmol S²⁻)⁻¹	2.5 (S ₂ O ₃ ²⁻)	6.5 (S ₂ O ₃ ²⁻)	1.2 (S ₂ O ₃ ²⁻) 6.0 (HS ⁻)
Tolerancia a Na ⁺ , M	--	4.3	2.0
Tolerancia a SO ₄ ²⁻ , M	260	--	300
$\mu_{\text{máx.}}$, h⁻¹	0.36 (S ₂ O ₃ ²⁻)	0.20 (S ₂ O ₃ ²⁻)	0.11 (S ₂ O ₃ ²⁻) 0.062 (HS ⁻)
q_s , máxima, mmol S²⁻ g_{Prot.}⁻¹ h⁻¹	253 (S ₂ O ₃ ²⁻)	29.5 (HS ⁻)	72.8 (S ₂ O ₃ ²⁻) 10.0 (HS ⁻)
Velocidad. máxima volumétrica de oxidación, mmol S²⁻ L⁻¹ h⁻¹	24.2 (S ₂ O ₃ ²⁻)	--	6.9 (S ₂ O ₃ ²⁻) 2.5 (HS ⁻)

a) González (2002); (b) Sorokin *et al.* (2005); (c) Presente estudio

Los compuestos entre paréntesis fueron usados como sustratos limitantes de crecimiento.

Capítulo 4 EFECTO DE LA OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO SOBRE LA OXIDACIÓN BIOLÓGICA EN CONDICIONES ALCALINAS

En este capítulo, se examinó el efecto de la oxidación química del sulfuro (HS^-) en condiciones óxicas y alcalinas, sobre la oxidación biológica. Una serie de experimentos de consumo de oxígeno disuelto, abióticos y bióticos fueron realizados. Se proponen y validan experimentalmente expresiones estequiométricas y cinéticas para la oxidación química de sulfuro a pentasulfuro (S_5^{2-}) y tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$). Se encontró que la oxidación química del sulfuro produce intermediarios (S_5^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) a considerables velocidades, reduciendo la inhibición sobre la actividad respiratoria sulfooxidante.

4.1 OXIDACIÓN QUÍMICA DEL SULFURO

La primera parte de este capítulo, presenta la caracterización estequiométrica y cinética de la oxidación química del sulfuro con el oxígeno disuelto en una solución acuosa a pH 10.

4.1.1 Estequiometría de la Reacción Química

En un reactor bien mezclado y cerrado (figura 2-2), donde la temperatura fue controlada en 30 °C, se midió el consumo de oxígeno disuelto y el cambio del potencial de oxidación-reducción (*ORP*), debido a la reacción química del sulfuro con el oxígeno disuelto.

La figura 4-1 muestra la evolución de los perfiles de oxígeno disuelto y del *ORP* para las diferentes concentraciones de sulfuro iniciales (0.05, 0.10, 0.50 mmol L⁻¹), las flechas indican el tiempo de la adición de sulfuro (HS), aire y de una suspensión concentrada del CAS al reactor cerrado de 310 mL.

Como se observa en las figuras 4-1 a y 4-1 b, a las concentraciones iniciales de sulfuro $[\text{HS}^-]_{\text{in}}$ de 0.05 y 0.1 mmol L⁻¹, el oxígeno disuelto inicial no fue consumido totalmente, y entonces se estableció un equilibrio químico entre el oxígeno disuelto, sulfuro y los intermediarios producidos. La medición del *ORP* es sensible a la presencia

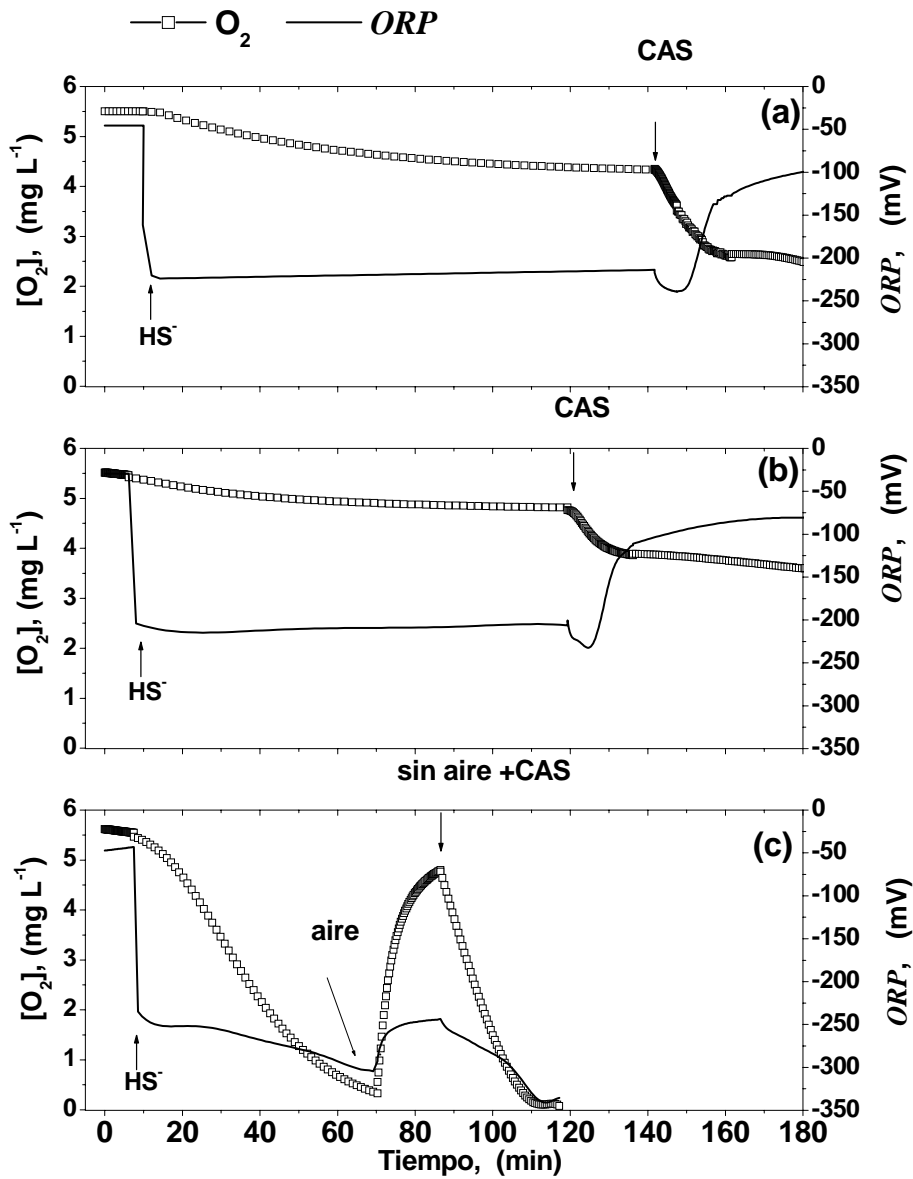


Figura 4-1 Perfiles de oxígeno disuelto y *ORP* generados por la oxidación química y biológica de sulfuro a diferentes concentraciones iniciales de sulfuro $[HS^-]_{in}$ (a) 0.05 mmol L^{-1} , (b) 0.1 mmol L^{-1} , (c) 0.5 mmol L^{-1} . Condiciones: Presion atmosférica, temperatura de 30°C y $\text{pH} = 10$.

de compuestos reducidos de azufre (Janssen *et al.* 1998), entonces cuando esta variable se mantiene constante, indica que un equilibrio químico se ha alcanzado. Algunos reportes (Chen y Morris 1972) sugieren que el pentasulfuro es la especie azufrada

inicial y predominante que se produce por la oxidación química del sulfuro con oxígeno disuelto en soluciones alcalinas.

Como será discutido más adelante, el equilibrio químico fue interrumpido por la adición del CAS, el cual consumió el oxígeno disuelto restante en la solución para las $[\text{HS}^-]_{\text{in}}$ de 0.05 y 0.1 mmol L^{-1} . Lo anterior indica que el CAS usó a los intermediarios formados de la oxidación química del sulfuro, como donadores de electrones.

Para establecer la estequiometría experimental de la oxidación del sulfuro con oxígeno disuelto, se evaluó el consumo total de éste último en una solución alcalina bajo diferentes $[\text{HS}^-]_{\text{in}}$. Observando las figuras 4-1 a y b, el equilibrio fue alcanzado después del minuto 125, donde se evaluó la relación molar de consumo $[\text{O}_2]/[\text{HS}^-]$, resultando un valor promedio de 0.387 (tabla 4-1).

Tabla 4-1 Consumo de oxígeno disuelto en la oxidación química del sulfuro en condiciones alcalinas, (pH = 10).

$[\text{HS}^-]_{\text{inicial}}$ (mmol L^{-1})	Oxígeno disuelto Total	Relación molar de consumo $[\text{O}_2]/[\text{HS}^-]$
	Consumido (mmol L^{-1})	
0.05	0.0189±0.001	0.378
0.10	0.0396±0.001	0.396

Estos resultados sugieren que bajo las condiciones y el rango de tiempo considerados la estequiometría de la reacción entre el sulfuro y el oxígeno disuelto corresponde principalmente a la formación de pentasulfuro como se muestra en la ecuación 4-1.



Cuando la solución metaestable de polisulfuros es aerada por periodos de tiempo más largos, es secundariamente oxidada a tiosulfato (Stuedel 2000).

Para el caso de concentraciones mayores de sulfuro, como 0.50 mmol L^{-1} mostrada en la figura 4-1 c, se observa que el oxígeno disuelto fue agotado completamente, quedando aun sulfuro sin oxidar en la solución, según lo indica el valor del ORP. Para proseguir con la oxidación se requirió de la adición de más oxígeno,

continuando con la producción de intermediarios, sin detectar la presencia de la especie azufrada más oxidada, el sulfato.

La oxidación química completa del sulfuro a sulfato a $\text{pH} > 9$ y $T=30^\circ\text{C}$, es predicha bajo condiciones de equilibrio (figura 4-2 c), aunque este equilibrio no fue esperado que se alcanzara en la escala de tiempo que duraron los experimentos, como fue confirmado por los resultados, donde el sulfato no fue detectado durante dos días en controles abióticos con continua aeración. La formación de sulfato a partir de la oxidación química del sulfuro requiere de una energía de activación grande, la cual puede ser reducida por las reacciones enzimáticas en los microorganismos.

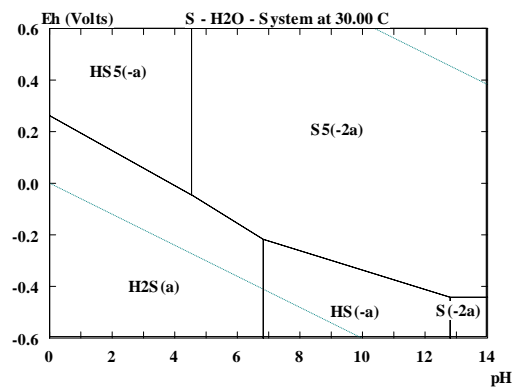
4.1.2 Diagrama de Zonas de Predominio (DZP) del sistema S-H₂O

Para confirmar el comportamiento estequiométrico y cinético de la oxidación química del sulfuro, se consideró la formación metaestable de algunos compuestos azufrados, y entonces se calcularon sus correspondientes Diagramas de Zonas de Predominio (DZP) a las condiciones ambientales y concentraciones de interés, excluyendo las especies de azufre con estado de oxidación +6, que harían dismutar las áreas de predominio de las especies azufradas metaestables como el pentasulfuro, tiosulfato y sulfito.

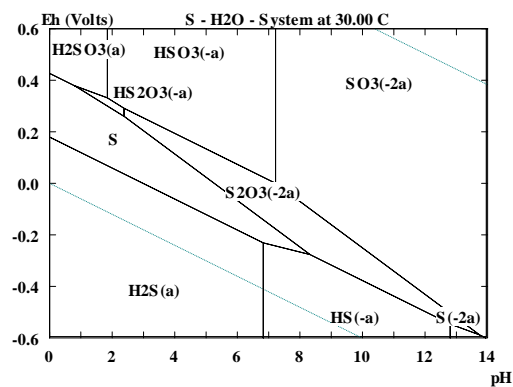
La figura 4-2a muestra un DZP para las especies azufradas con estado de oxidación entre -2.0 a -0.4 (equilibrio metaestable), correspondiendo al sulfuro y pentasulfuro respectivamente. Alrededor de un pH 10, las únicas especies azufradas predominantes en una solución acuosa son efectivamente el hidrosulfuro (HS) y el pentasulfuro, que esta de acuerdo con la ecuación 4-1.

Considerando una escala de tiempo mayor al del anterior estado metaestable, y continuado con la aeración de la solución de pentasulfuro, la figura 4-2 b muestra la subsiguiente oxidación del pentasulfuro a tiosulfato y sulfito bajo un pH alcalino. Cline y Richards (1969) reportaron que el tiosulfato y sulfito son productos comunes de la oxidación oxica química del sulfuro. Entonces corroborando lo anterior, se supuso otro equilibrio metaestable de compuestos azufrados en solución acuosa, con los estados de oxidación entre -2 a +4, correspondiendo al sulfuro y sulfito respectivamente, las especies azufradas formadas y predominantes, son representadas en el DZP mostrado en la figura 4-2 b.

(a)



(b)



(c)

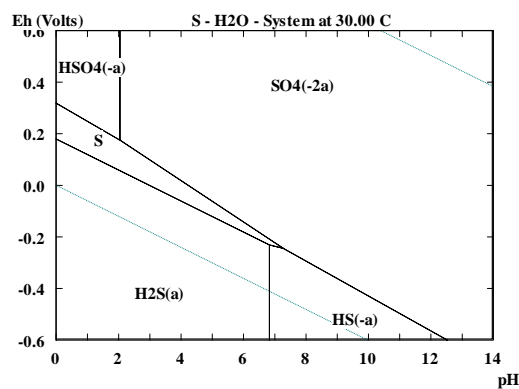
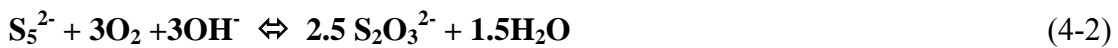


Figura 4-2 Diagrama de Zonas de Predominio a una concentración total de azufre de 50 mmol L⁻¹, considerando equilibrios metaestables alcanzándose en orden de: (a) minutos, (b) horas y (c) días. Condiciones: presión total de 1 atm y temperatura de 30°C.

Alrededor de un pH 10, las especies azufradas predominantes y que se encuentran en estado metaestable son el hidrosulfuro, tiosulfato y sulfito, que fueron los mismos productos observados por O'Brien and Birkner (1977) a las 24 horas de reacción en un pH entre 8.1 y 10.7. Además ellos reportaron que la oxidación del sulfito fue acelerada después de un día de su formación, mientras que la oxidación del tiosulfato ocurre después del tercer día de continua aeración de su solución, donde finalmente después de varios días ambos compuestos son oxidados a sulfato, donde el equilibrio es alcanzado. La figura 4-2 c muestra las especies predominantes azufradas en equilibrio a pH 10, ellas son el hidrosulfuro y sulfato.

Las ecuaciones 4-2 y 4-3 muestran las estequiometrias propuestas para la oxidación de tiosulfato y sulfito.



4.1.3 Cinética de la Reacción Química

Como ha sido reportado (Nielsen *et al.* 2003, Millero *et al.* 1987), la expresión cinética general propuesta para la oxidación química del sulfuro con oxígeno disuelto se muestra en la ecuación 4-4.

$$r_{HS^-} = d[HS^-]/dt = -k[HS^-]^x [O_2]^y [H^+]^z \quad (4-4)$$

donde x , y y z son los ordenes de reacción y k es la constante de reacción. La ecuación 4-4 puede ser simplificada en la ecuación 4-5, cuando se consideran pH y una concentración de oxígeno disuelto constante.

$$r_{HS^-} = -k_{obs}[HS^-]^x \quad (4-5)$$

La expresión cinética de la oxidación del sulfuro a pentasulfuro fue estimada a partir de las velocidades de consumo de oxígeno máximas producidas por la reacción abiótica de diferentes concentraciones iniciales de sulfuro (Chen y Morris 1972). Como las velocidades máximas de consumo de oxígeno fueron estimadas bajo condiciones controladas y constantes de pH, temperatura, fuerza iónica y concentración de oxígeno disuelto, entonces la constante cinética observada (K_{obs}) incluye el efecto de esos

Capítulo 4

parámetros (ecuación 4-5). La expresión resultante del consumo de sulfuro se muestra en la ecuación 4-6.

$$-r_{\text{HS}^-} = 1.294[\text{HS}^-] \quad [=] \text{ mmol HS}^- \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (4-6)$$

Reactor abierto

La producción de tiosulfato a partir de pentasulfuro fue evaluado bajo una concentración constante de saturación de oxígeno con aire, provocada por la continua aeración del sistema, la siguiente expresión cinética fue obtenida (ecuación 4-7).

$$r_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}} = 0.230 [\text{S}_5^{2-}] \quad [=] \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (4-7)$$

Se consideró que el sulfito fue producido simultáneamente con el tiosulfato a partir de la oxidación óxica química del pentasulfuro, como puede verse en la figura 4-2 b.

A partir de un balance de azufre, la producción de sulfito puede ser expresado según la ecuación 4-8.

$$r_{\text{SO}_3^{2-}} = 0.220 [\text{S}_5^{2-}] \quad [=] \text{ mmol SO}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (4-8)$$

4.1.4 Simulación y validación del modelo cinético

Las expresiones estequiométricas y cinéticas propuestas para la oxidación química fueron validadas con datos experimentales proveniente de un tanque agitado operado por lote y continua aeración, a una concentración inicial de sulfuro de 25 mmol L⁻¹ y saturación de oxígeno con aire. Los resultados calculados y experimentales son mostrados en la figura 4-3.

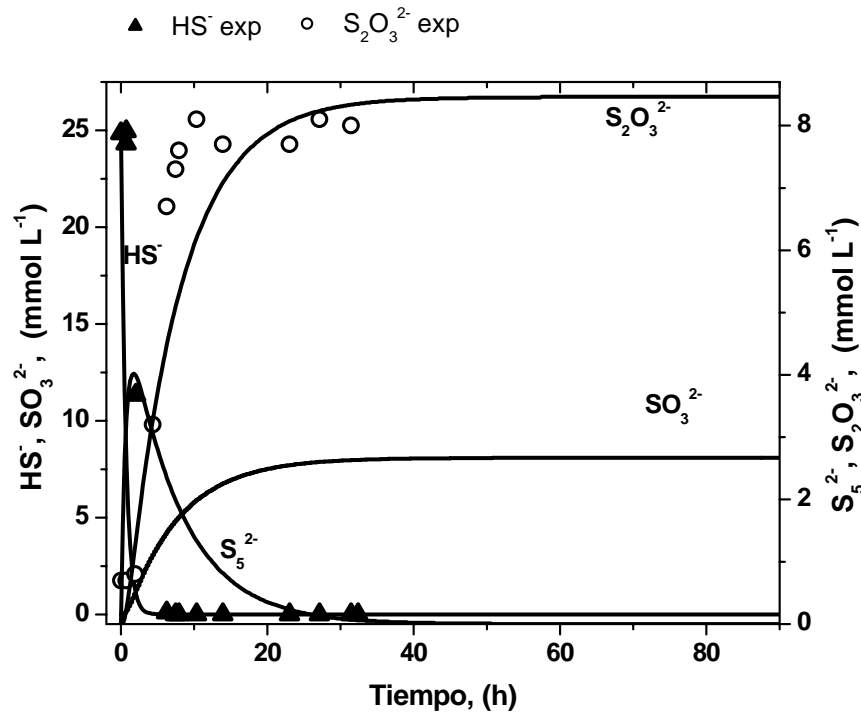


Figura 4-3 Simulación y validación del modelo estequiométrica y cinético para la oxidación química del sulfuro en saturación de oxígeno disuelto con aire.

El modelo predice tiempos característicos denominados tiempos de vida media para el sulfuro y pentasulfuro de 0.53 y 5.57 h respectivamente. Estos tiempos de vida media para éstos compuestos azufrados confirman las escalas de tiempo consideradas para alcanzar los estados metaestables propuestos en la figura 4-2.

4.2 OXIDACIÓN BIOLÓGICA

El azufre elemental es el producto deseado de la oxidación biológica de corrientes contaminadas con compuestos reducidos de azufre. La condición necesaria para la formación de azufre elemental es que la relación molar O_2/S^{2-} sea menor de 0.5. La presente tesis no tiene como prioridad estudiar la producción de azufre elemental, por considerarse como otro tema en perspectiva y muy atractivo en lo que se refiere a la aplicación y optimización del proceso de sulfooxidación alcalina.

La formación de sulfato a partir de la oxidación biológica de compuestos reducidos de azufre, es el proceso favorecido en este trabajo de tesis por razones de estrategia de estudio, donde la oxidación total de los compuestos azufrados reducidos hasta sulfato proporciona la mayor energía para el crecimiento del CAS.

4.2.1 Cinética de la oxidación biológica

La segunda parte de este capítulo, se describe el comportamiento cinético del CAS, que fue evaluado con sulfuro, tiosulfato e intermediarios formados a partir de la oxidación química del sulfuro. La figura 4-4 muestra los parámetros biocinéticos estimados mediante la técnica de la respirometría del CAS, usando como fuentes de energía al sulfuro y tiosulfato. En los resultados presentados, el efecto de la oxidación química fue restado de la velocidad de reacción global. A pH 10, la solución de tiosulfato fue químicamente estable por al menos 2 días.

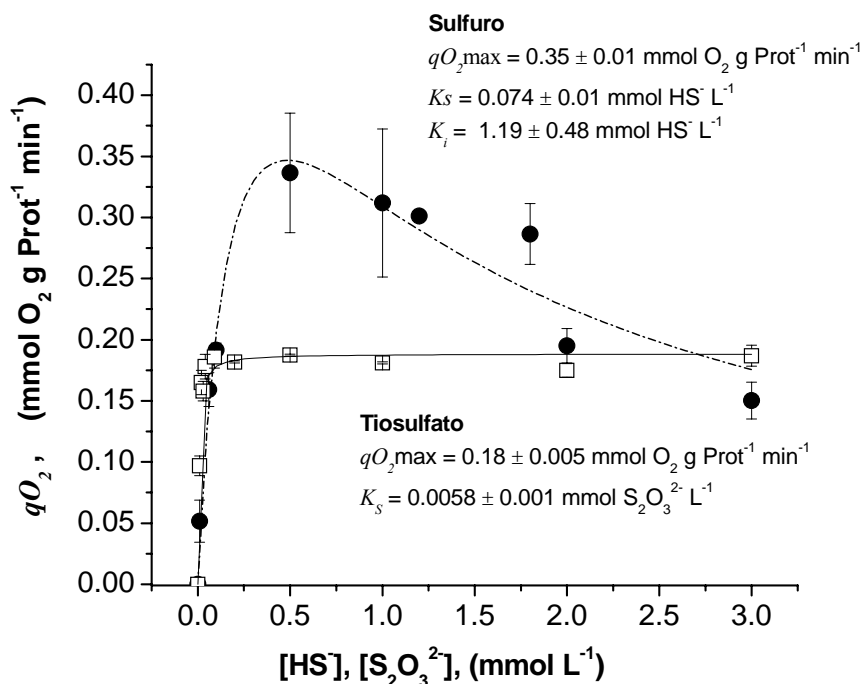


Figura 4-4 Velocidades de consumo específico de oxígeno para el CAS, en presencia de □ tiosulfato y ● sulfuro como sustratos limitantes.

Cuando la actividad respiratoria del CAS fue evaluada con tiosulfato, esta no mostró inhibición con las concentraciones probadas. Las velocidades de respiración inducidas por el tiosulfato, fueron ajustadas con el modelo de Michaelis-Menten, el cual estimó una velocidad de respiración específica máxima $qO_2 \text{ max}$ de $0.19 \text{ mmol O}_2 \text{ g Prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$ y una constante de afinidad K_S de $0.006 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ L}^{-1}$.

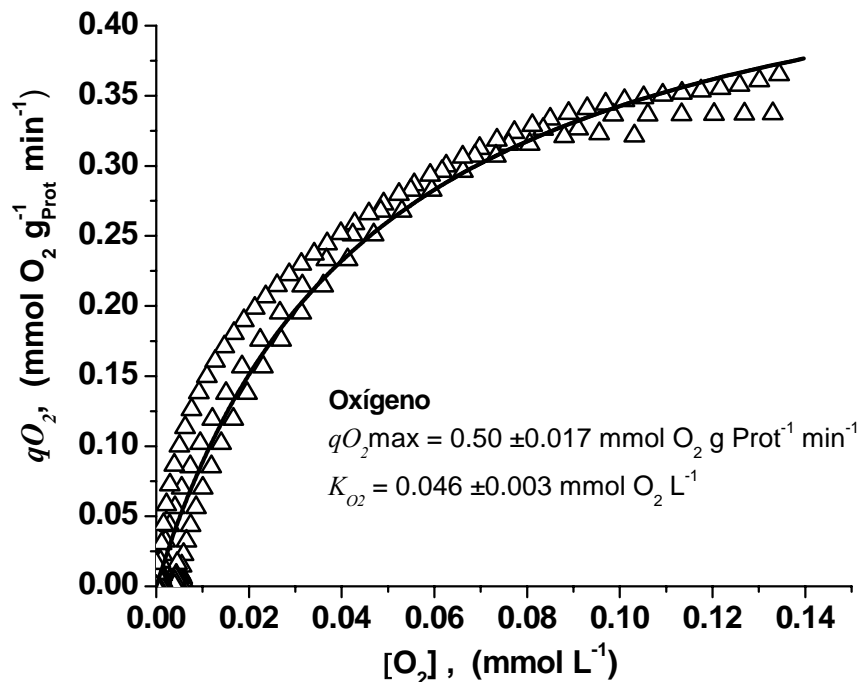


Figura 4-5 Estimación de K_{O_2} a partir de la derivación de los perfiles de las velocidades de consumo de oxígeno, a $[\text{HS}^-]_{\text{in}} = 0.5 \text{ mmol L}^{-1}$.

Las velocidades de respiración inducidas por el sulfuro, fueron ajustadas con el modelo de Haldane con inhibición por sustrato. Se estimó una $qO_2 \text{ max}$ de $0.35 \text{ mmol O}_2 \text{ g Prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Bajo similares condiciones, Banciu *et al.* (2004) reportó una $qO_2 \text{ max}$ entre 2.5 a $5.0 \text{ mmol O}_2 \text{ g Prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$ para el genero *Thioalkalimicrobium*, y 0.3 a $0.8 \text{ mmol O}_2 \text{ g Prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$ para el genero *Thioalkalivibrio*. Este último género fue identificado como uno de los integrantes del CAS (Espinosa 2004). La K_S y K_I fueron $0.074 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HS}^-$ y $K_I = 1.19 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HS}^-$, respectivamente. Van Gernerden (1984) reportó un

efecto inhibitorio sobre una bacteria con actividad fototrófica sulfooxidante, en un rango de $K_f=2$ a $4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HS}^-$.

La figura 4-5, muestra que la actividad respiratoria fue dependiente de la concentración de oxígeno disuelto. Esta prueba fue realizada a una concentración de sulfuro de 0.5 mmol L^{-1} , donde la actividad respiratoria fue óptima (figura 4-4). Bajo esta condición no limitante de sulfuro, se evaluó la K_{O_2} ajustando la q_{O_2} al modelo de Michaelis-Menten, resultando un valor de $0.046 \text{ mmol O}_2 \text{ L}^{-1}$ (representando el 30 % saturación con aire).

4.3 OXIDACIÓN BIOLÓGICA DE LOS INTERMEDIARIOS DE LA OXIDACIÓN QUÍMICA

Las figuras 4-1a y 4-1b muestran el equilibrio fisicoquímico alcanzado a bajas concentraciones de sulfuro iniciales (0.05 y 0.10 mmol L^{-1}) que reaccionaron químicamente con el oxígeno disuelto. La adición del CAS a la solución en equilibrio resultó en la oxidación biológica de los intermediarios, como fue mostrado por el incremento en el valor del *ORP*. A la concentración de 0.5 mmol L^{-1} de sulfuro (figura 4-1c) y 1.0 mmol L^{-1} (no mostrado), el sulfuro no fue totalmente consumido debido a la limitación de oxígeno disuelto. La adición de más oxígeno por aeración y la subsiguiente adición del CAS promovió nuevamente la oxidación del sulfuro remanente y de sus intermediarios.

La actividad biológica del CAS con los intermediarios generados a partir de la oxidación química del sulfuro fue evaluada, igualmente por la técnica de la respirometría. Las velocidades de respiración del CAS inducidas por el consumo de los intermediarios, fueron estimadas por el monitoreo continuo en línea del oxígeno disuelto y el *ORP* para diferentes concentraciones iniciales, representadas como la concentración inicial de azufre total $[S_T]_{in}$. Los intermediarios preparados se consideraron como una mezcla de pentasulfuro, tiosulfato y sulfuro (figura 4-2b).

La figura 4-6 muestra el comportamiento típico de este experimento con una prueba realizada a $[S_T]_{in}=0.5 \text{ mmol L}^{-1}$, donde la oxidación química de los intermediarios fue despreciable y la oxidación catalizada por el CAS fue demostrada.

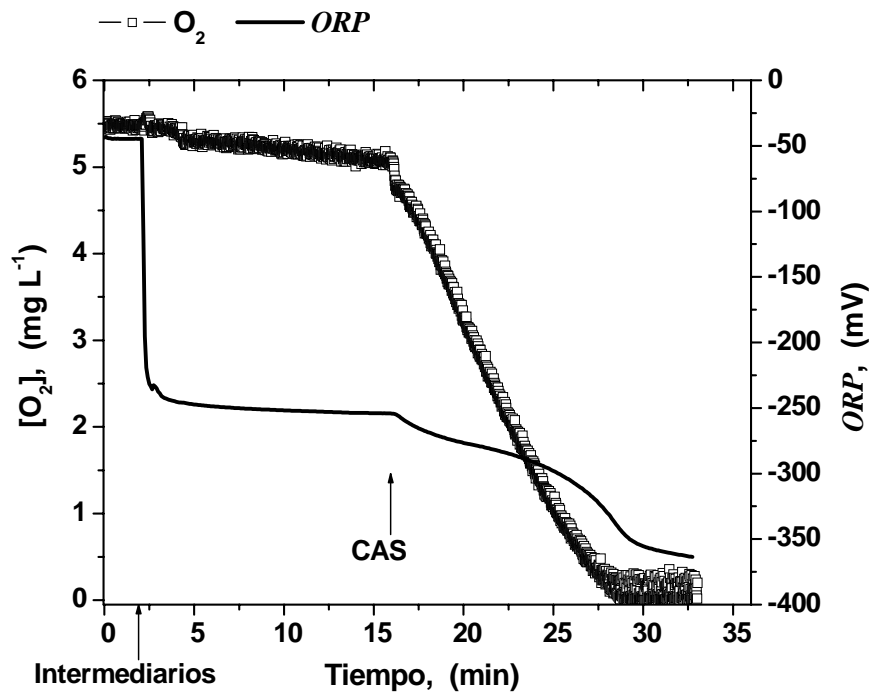


Figura 4-6 Perfiles de O_2 y ORP provocados por la oxidación biológica de una solución de intermediarios azufrados, a $[S_T]_{in}=0.5 \text{ mmol L}^{-1}$.

En todas las $[S_T]_{in}$ probadas, los intermediarios no fueron oxidados completamente en el tiempo de reacción considerado en el experimento, debido a la limitación de oxígeno disuelto, como es mostrado por los valores de oxígeno disuelto y ORP medidos.

Después de la evaluación de la velocidad de consumo de oxígeno para el caso de $[S_T]_{in}=3.0 \text{ mmol L}^{-1}$, el reactor de 310 mL fue reaereado continuamente, permitiendo al CAS oxidar los intermediarios azufrados remanentes hasta sulfato (estos perfiles no se muestran). Bajo estas condiciones el valor del ORP incremento desde -420 mV a -5 mV, mientras que el control abiótico se mantuvo en un valor promedio de -300mV después de 2 días de aeración continua. El CAS mostró una velocidad máxima de crecimiento μ_{max} de 0.062 h^{-1} , correspondiendo a un tiempo de duplicación de 11.2 h, tanto para un cultivo por lotes y continuo, usando a los intermediarios como sustrato limitante.

Una qO_2 de $0.8 \text{ mmol O}_2 \text{ g}_{\text{Prot}}^{-1} \text{ min}^{-1}$ fue estimada para el CAS oxidando intermediarios, que resultó mayor a aquellas obtenidas para el sulfuro o tiosulfato a las mismas concentraciones de azufre, como se muestra en la figura 4-7. No se observó inhibición dentro del rango de concentraciones de intermediarios probados. Banciu *et al.* (2004) reportó un valor de $qO_{2\text{max}}$ de $0.71 \text{ mmol O}_2 \text{ g}_{\text{Prot}}^{-1} \text{ min}^{-1}$ para una solución de 0.05 mmol L^{-1} de S_8^{2-} , en un aislado alcalófilo.

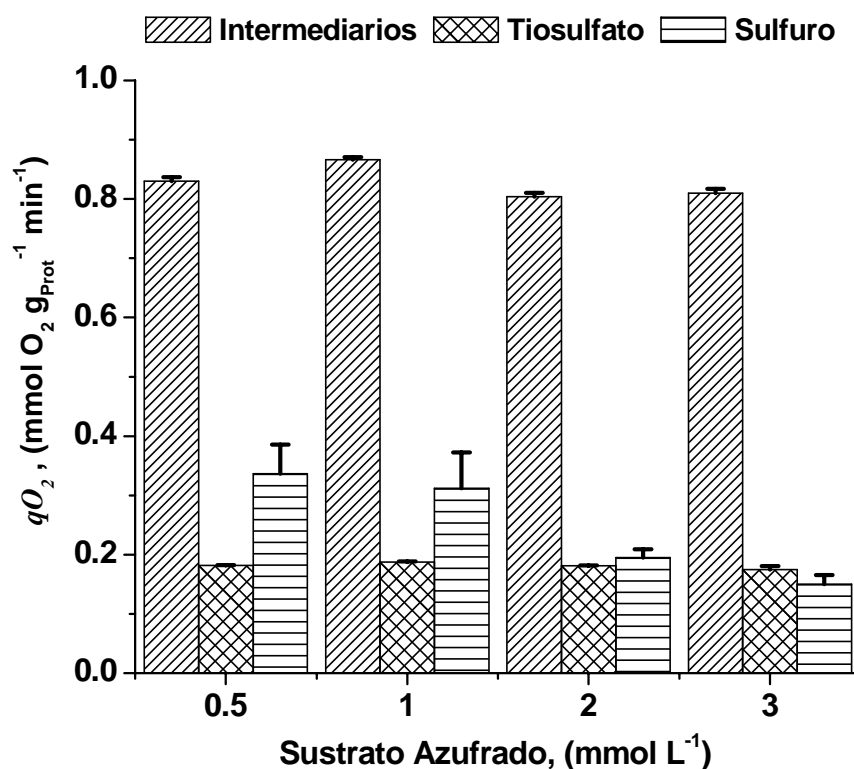


Figura 4-7 Velocidad de consumo de oxígeno para varios sustratos azufrados a diferentes $[S_T]_{\text{in}}$

Las bajas concentraciones relativas de sulfuro ($\approx 1 \text{ mmol L}^{-1}$) limitan la respiración del CAS (figura 4-4) y probablemente su crecimiento, mientras que el tiosulfato e intermediarios no mostraron inhibir al CAS en las mismas concentraciones de azufre probadas. Experimentos paralelos de crecimiento del CAS en lote fueron realizados confirmando esta observación (no se muestran).

Asumiendo que el CAS cataliza la oxidación total de los compuestos azufrados probados, se logró estimar la velocidad específica máxima de producción de sulfato, a partir de la oxidación de sulfuro e intermediarios dentro de los rangos de las concentraciones probadas, resultando un valor de 31.2 y 6.91 mmol SO₄²⁻ g_{Prot}⁻¹ h⁻¹ respectivamente. La capacidad sulfooxidante máxima del CAS usando sulfuro en un cultivo continuo resultó de 10.1 mmol SO₄²⁻ g_{Prot}⁻¹ h⁻¹.

Cuando el CAS oxidó intermediarios, la velocidad máxima específica de producción de sulfato fue 3 veces más grande que cuando sólo oxidó sulfuro. Lo anterior nos sugiere que las tasas de producción biológica de sulfato mejorarían, si el CAS oxidará directamente a los intermediarios formados previamente por la oxidación química del sulfuro.

La formación de los intermediarios incrementó la actividad biológica a la vez que disminuyó la toxicidad por sulfuro. Esta propiedad bajo condiciones alcalinas puede ser ventajosa, pues el tiempo de vida media del sulfuro y del crecimiento del CAS fueron 0.53 y 11.2 h respectivamente. Estos resultados sugieren que la oxidación química y biológica son procesos que pueden ser separados, pudiendo permitir altas cargas de tratamiento de sulfuro.

4.4 MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DEL MODELO CINÉTICO QUÍMICO-BIOLÓGICO

Mediante un modelo no estructurado del sistema sulfooxidante acuoso alcalino, se pretende predecir su funcionamiento y evaluar el efecto de la oxidación química del sulfuro HS⁻ en la oxidación biológica.

El modelo consiste de una serie de balances de masa en la fase líquida, sin dependencia espacial para cada especie azufrada considerada. Se propone un esquema de reacciones mostrado en la figura 4-8, donde se asociaron a cada balance reacciones químicas (Q) o biológicas (B). Las expresiones estequiométricas y cinéticas de las reacciones biológicas (tabla 4-2) se derivaron a partir de las propiedades generales de cultivo, como la limitación por sustrato y su inhibición K_s , K_i respectivamente, y de sus actividades máximas de sulfooxidación (tasas de respiración) que se determinaron experimentalmente y son mostradas en el capítulo 3. La tabla 4-2 resume las expresiones estequiométricas y cinéticas de la oxidación química del sulfuro y la formación-consumo de sus intermediarios que fueron consideradas en el modelo.

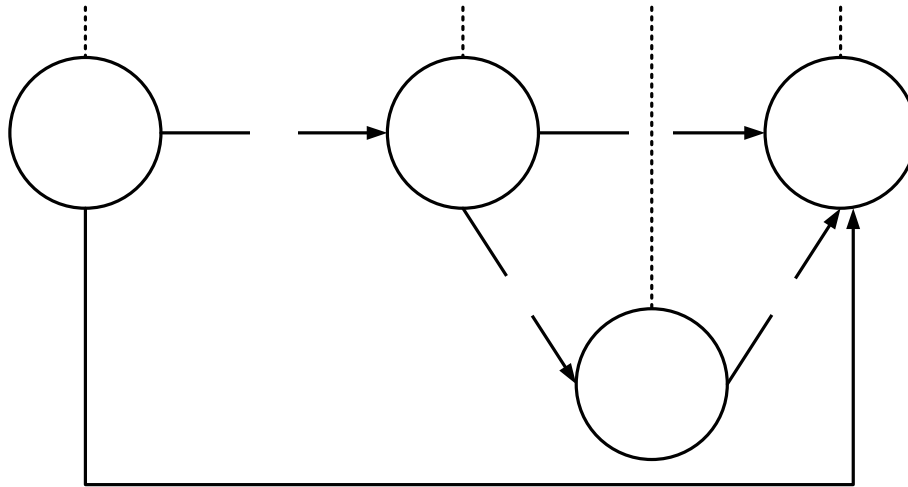


Figura 4-8 Patrón propuesto de la oxidación del sulfuro y sus intermediarios considerado en la simulación del proceso sulfooxidante alcalino.

Estados de oxidación promedio

El modelo matemático se simplificó realizando las siguientes suposiciones, que fueron basadas en las evidencias experimentales de esta tesis.

Suposiciones:

- Hidrodinámica de tanque agitado.
- Todas las reacciones se llevan a cabo en la fase líquida.
- No existe limitación por oxígeno (saturación de la fase líquida con oxígeno del aire).
- El sulfuro y sus intermediarios derivados de la oxidación química (pentasulfuro y tiosulfato) son oxidados hasta SULFATO únicamente por el consorcio alcalófilo.
- Se consideró una concentración de biomasa (X) constante e independiente del rendimiento celular (por ejemplo la inmovilización celular).
- Se considera X disuelta en la fase líquida y perfectamente mezclada.
- La producción biológica de S^0 no fue considerada, pues no es favorable en condiciones de exceso de oxígeno disuelto (ecuación 1-9).
- La producción y consumo de SO_3^{2-} no fue considerada, debido a la falta de datos experimentales.

HS⁻

Efecto de la oxidación química del sulfuro sobre la oxidación biológica

La simulación se programó en el software Stella Versión 5 (HPS, Hanover NH), considerando balances de masa para cada especie azufrada, y fueron integrados numéricamente por el método Runge Kutta 4, con un delta de 0.01.

Tabla 4-2. Modelo matemático del proceso biológico de sulfooxidación acuosa alcalina

Balances de Masa	
$\frac{d[\text{HS}^-]}{dt} = D([\text{HS}^-]_{\text{in}} - [\text{HS}^-]) - r_A - \frac{q_{\text{Ab}}}{2}$ $[\text{HS}^-](0) = 0$	$\frac{d[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]}{dt} = r_B - \frac{q_{\text{Cb}}}{2} - D[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]$ $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}](0) = 0$
$\frac{d[\text{S}_5^{2-}]}{dt} = \frac{r_A}{5} - \frac{q_{\text{Cb}}}{8} - r_B - D[\text{S}_5^{2-}]$ $[\text{S}_5^{2-}](0) = 0$	$\frac{d[\text{SO}_4^{2-}]}{dt} = \frac{q_{\text{Ab}}}{2} + \frac{5q_{\text{Bb}}}{8} + \frac{q_{\text{Cb}}}{2} - D[\text{SO}_4^{2-}]$ $[\text{SO}_4^{2-}](0) = 0$
Expresiones Estequiométricas Químicas	
<p>A: $5\text{HS}^- + 2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{S}_5^{2-} + 3\text{OH}^- + \text{H}_2\text{O}$</p> <p>B: $\text{S}_5^{2-} + 3\text{O}_2 + 3\text{OH}^- \leftrightarrow 2.5 \text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 1.5\text{H}_2\text{O}$</p>	
Expresiones Estequiométricas Biológicas	
<p>Ab: $\text{HS}^- + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$</p> <p>Bb: $\text{S}_5^{2-} + 8\text{O}_2 + 8\text{OH}^- \rightarrow 5\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O}$</p> <p>Cb: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$</p>	
Expresiones Cinéticas Químicas	
$r_A = -K_1[\text{HS}^-], (\text{mmol HS}^- \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1})$	$r_B = -K_2[\text{S}_5^{2-}], (\text{mmol S}_5^{2-} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1})$
$K_1 = 1.294 \text{ h}^{-1}$	$K_2 = 0.092 \text{ h}^{-1}$

Expresiones Cinéticas Biológicas

$$q_{Ab} = \text{Biomasa} * \left(\frac{q_{\max_3} [\text{HS}]}{K_{S3} + [\text{HS}] + \frac{[\text{HS}]^2}{K_i}} \right), \text{ (mmol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$$q_{Bb} = \text{Biomasa} * \left(\frac{q_{\max_1} [\text{S}_{S5}]}{K_{S1} + [\text{S}_{S5}]} \right), \text{ (mmol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$$q_{Cb} = \text{Biomasa} * \left(\frac{q_{\max_2} [\text{S}_{S2O3}]}{K_{S2} + [\text{S}_{S2O3}]} \right), \text{ (mmol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$$S_{S2O3} = [\text{S}_2\text{O}_3]/2$$

$$S_{S5} = [\text{S}_5]/5$$

$$q_{\max_1} = 53.4 \text{ (mmol O}_2 \text{ g}_{\text{Prot}}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$$K_{S1} = 0.098 \text{ (mmol S}_{S5} \text{ L}^{-1})$$

$$q_{\max_2} = 11.4 \text{ (mmol O}_2 \text{ g}_{\text{Prot}}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$$K_{S2} = 0.006 \text{ (mmol S}_{S2O3} \text{ L}^{-1})$$

$$q_{\max_3} = 21.0 \text{ (mmol O}_2 \text{ g}_{\text{Prot}}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$$K_{S3} = 0.074 \text{ (mmol HS}^- \text{ L}^{-1})$$

$$K_i = 1.19 \text{ (mmol HS}^- \text{ L}^{-1})$$

Variables de Operación

$$F, \text{ (L h}^{-1})$$

$$\text{Biomasa, (g}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1})$$

$$Vr, \text{ (L)}$$

$$\text{HS}_{in}, \text{ (mmol L}^{-1})$$

$$D = F/Vr, \text{ (h}^{-1})$$

$$RE = ((\text{HS}_{in} - \text{HS})/\text{HS}_{in}) * 100$$

De esta forma se generó un modelo acoplado de las reacciones químicas y biológicas, tal y como ocurren en el tratamiento aerobio de sulfuro (capítulo 2). Las expresiones cinéticas de las reacciones biológicas fueron obtenidas a partir de las expresiones de la velocidad de respiración inducidas por el consumo de sulfuro, tiosulfato e intermediarios (pentasulfuro) respectivamente. En la estequiometría de la reacción biológica, se consideró la oxidación total del sustrato azufrado hasta sulfato, en el capítulo 5, se demuestra la validez de esta suposición.

La figura 4-9 muestra un cultivo continuo simulado desde el arranque, a una $D = 0.0475 \text{ h}^{-1}$ y una $[\text{HS}^-]_{\text{in}}$ de 53 mmol L^{-1} , con una concentración constante de biomasa de $0.250 \text{ g}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1}$.

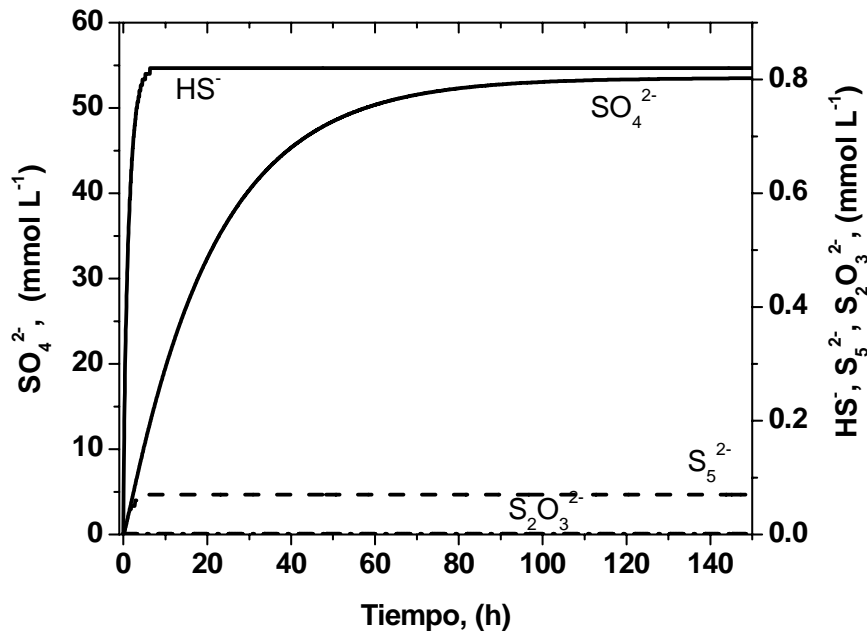


Figura 4-9. Simulación de un cultivo continuo de oxidación aerobia de sulfuro, bajo las condiciones de $D = 0.0475 \text{ h}^{-1}$, $[\text{HS}^-]_{\text{in}} = 53 \text{ mmol L}^{-1}$, $X = 0.250 \text{ g}_{\text{Prot}} \text{ L}^{-1}$

Bajo las mismas condiciones de simulación se reportó en la tabla 3-3 un estado estacionario experimental, que registró una concentración de sulfato al estado estacionario de 37.9 mmol L^{-1} , que significó un 70 % de rendimiento a sulfato, que contrasta con el calculado por la simulación, donde se predice un 99%. Este hecho puede deberse a la consideración de la nula producción neta de sulfito. La producción

Capítulo 4

de sulfito como se mostró previamente es inducida cuando la biomasa presente no es capaz de oxidar todo el sulfuro e intermediarios hasta sulfato y por tanto la acumulación de sulfito por reacción química es observada. Cuando el sistema es operado en condiciones limitantes de sulfuro y oxígeno disuelto, además con actividad biológica limitada (por ejemplo, un cultivo continuo suspendido operado a D cercanas a la crítica el contenido de biomasa decrece) el modelo puede sobreestimar la producción de sulfato. Para mejorar la respuesta del modelo se necesitará considerar el crecimiento y muerte de los microorganismos, así como el lavado celular de la biomasa susupedida. Adicionalmente se requerirá la determinación de los parámetros cinéticos químicos y biológicos de la producción y consumo de sulfito.

La simulación del sistema biológico sulfooxidante alcalino bajo las mismas condiciones, pero considerando a las reacciones químicas como nulas, generó un perfil en estado estacionario, donde las concentraciones de sulfuro a la entrada y a la salida fueron iguales. Indicando que considerar al CAS como elemento único del proceso biológico de remoción de sulfuro no es correcto, y necesariamente la parte química oxidativa tiene que contemplarse como parte indispensable del proceso, como lo demuestran los resultados experimentales.

A pesar de la leve discrepancia en la predicción de uno de los estados estacionarios experimentales, se consideró este modelo cinético químico-biológico, para la predicción de las limitantes de un sistema aerobio de tratamiento de sulfuros, en un biorreactor de células retenidas con una población fija, operado en estado estacionario a una tasa de dilución menor que la μ_{max} . Una condición necesaria para la validez del modelo es, que el sistema siempre opere a una concentración de oxígeno disuelto cercana a la saturación con aire (no limitación de oxígeno).

Se está ignorando la producción de azufre elemental, que se podría producir a bajas relaciones de consumo O_2/S^{2-} . Aunque, sí el sistema es capaz de suministrar O_2 a tasas similares a las cuales son alimentadas las de sulfuro, la oxidación puede llevarse hasta sulfato.

Las figuras 4-10 a y b presenta las especies azufradas en estado estacionario obtenidas a partir de la simulación del modelo cinético químico-biológico. Estos resultados presentados fueron obtenidos considerando una concentración de biomasa fija e independiente del rendimiento a biomasa (por ejemplo por inmovilización de celular), a una tasa de dilución de 0.0475 h^{-1} o un 73% de la μ_{max} (D_{max}), con una

concentración de oxígeno disuelto en saturación con aire. El sulfato fue considerado ser el producto final de la oxidación biológica.

Como fue esperado, a bajas concentraciones de biomasa ($< 0.75 \text{ g}_{\text{prot}} \text{ L}^{-1}$) y altas concentraciones de sulfuro a la entrada ($> 300 \text{ mmol L}^{-1}$) no permiten la completa oxidación del pentasulfuro a sulfato. Una conversión de sulfuro de 96% se estimó cuando el sistema fue alimentado con 500 mmol L^{-1} de sulfuro, lo cual indica que pueden existir problemas de inhibición asociados con el sulfuro, de acuerdo a la figura 4-4, cuando una concentración de biomasa es baja en el reactor.

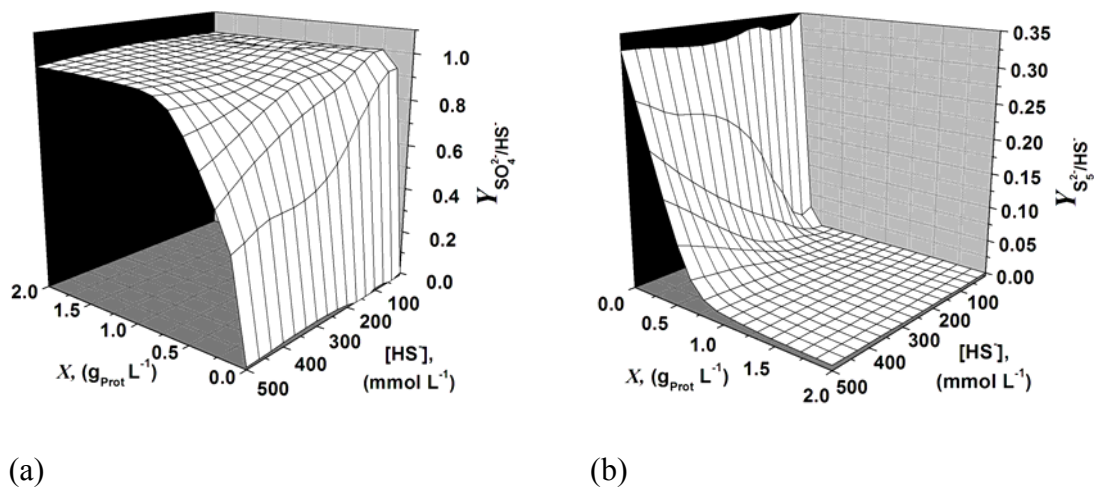


Figura 4-10 Simulación de un reactor continuo aerobio-alcalófilo para el tratamiento de sulfuro empacado con el CAS. $D = 0.0475 \text{ h}^{-1}$ y saturación de oxígeno disuelto con aire. (a) Rendimiento a SO_4^{2-} , (b) Rendimiento S_5^{2-} .

Suponiendo que el reactor químico-biológico es dividido en dos reactores, cada uno con la mitad del volumen del reactor original, manteniendo constante el flujo de líquido y la cantidad de biomasa consideradas en el reactor original. El primer reactor es alimentado con sulfuro y oxígeno, el segundo reactor con la presencia del CAS, es alimentado con el efluente del primero reactor y oxígeno. A partir de la simulación del modelo cinético para los sistemas de un reactor y dos reactores, a diferentes concentraciones iniciales de sulfuro y cantidad de biomasa, se encuentra que en las mayores concentraciones de sulfuro alimentando y cantidad de biomasa, por ejemplo 500 mmol L^{-1} de sulfuro y $2 \text{ g}_{\text{prot}} \text{ L}^{-1}$ respectivamente, que la eficiencia de remoción del sulfuro para el sistema de dos reactores del 99.98% es mejorada notablemente comparado con el 96.48 % predicho para el sistema de un reactor, se demuestra

Capítulo 4

mediante la simulación del modelo cinético, que la separación del proceso químico y biológico puede mejorar notablemente la eficiencia de remoción de sulfuro.

Durante el desarrollo de este capítulo, se puede concluir, que la reacción química óxica del sulfuro se puede considerar rápida bajo condiciones alcalinas, esta condición puede representar una ventaja con miras a mejorar las eficiencias de oxidación del sulfuro a sulfato, pues la conversión de sulfuro hacia intermediarios azufrados, reduce el efecto inhibitorio del sulfuro sobre la actividad biológica sulfoxidante. Los resultados de la simulación nos sugieren que los procesos de oxidación química y biológica pueden ser separados, permitiendo el tratamiento de mayores cargas de sulfuro.

Capítulo 5 ELIMINACIÓN DE H₂S BAJO CONDICIONES ALCALINAS EN BIORREACTORES.

En este capítulo se describe la caracterización y operación de dos sistemas experimentales a nivel laboratorio que fueron usados en el tratamiento de corrientes gaseosas contaminadas con H₂S. El primer sistema es un Biofiltro de Lecho Ecurrido (BLE) empleado para la eliminación de malos olores provocados por bajas concentraciones de H₂S (2.5 a 18 ppm_v) con tiempos de residencia de lecho vacío tan bajos de hasta 1 segundo. El segundo sistema reportado es un Biolavador de Recirculación (BLR) con células retenidas, usado para la eliminación de sulfuro de corrientes acuosas alcalinas, donde el papel de la reacción óxica del H₂S es analizada.

5.1 BIOFILTRACIÓN ALCALINA DE OLORES DE H₂S EN UN BIOFILTRO DE LECHO ESCURRIDO (BLE)

5.1.1 Arranque y operación de un Biofiltro de Lecho Ecurrido (BLE)

Los experimentos que a continuación se reportan fueron realizados durante 5 meses de operación continua del sistema BLE (figura 2-3). La figura 5-1 muestra las diferentes etapas de operación del BLE. El Tiempo de Residencia de Lecho Vacío *TRLV* (ecuación 2-1) fue variado desde 1 a 6 segundos, y combinado con concentraciones de H₂S a la entrada desde 2.5 a 18 ppm_v (0.0036 a 0.0259 g m⁻³), obteniendo un amplio espectro de cargas de H₂S.

Arranque (0 – 10 días). El sistema fue arrancado con la inoculación del BLE con una suspensión concentrada del CAS en fase exponencial de crecimiento. Inmediatamente después se procedió a la alimentación continua de una solución acuosa de medio mineral y tiosulfato (80 mmol L⁻¹), hasta que la concentración de biomasa fue suficiente para catalizar la oxidación completa del tiosulfato alimentado.

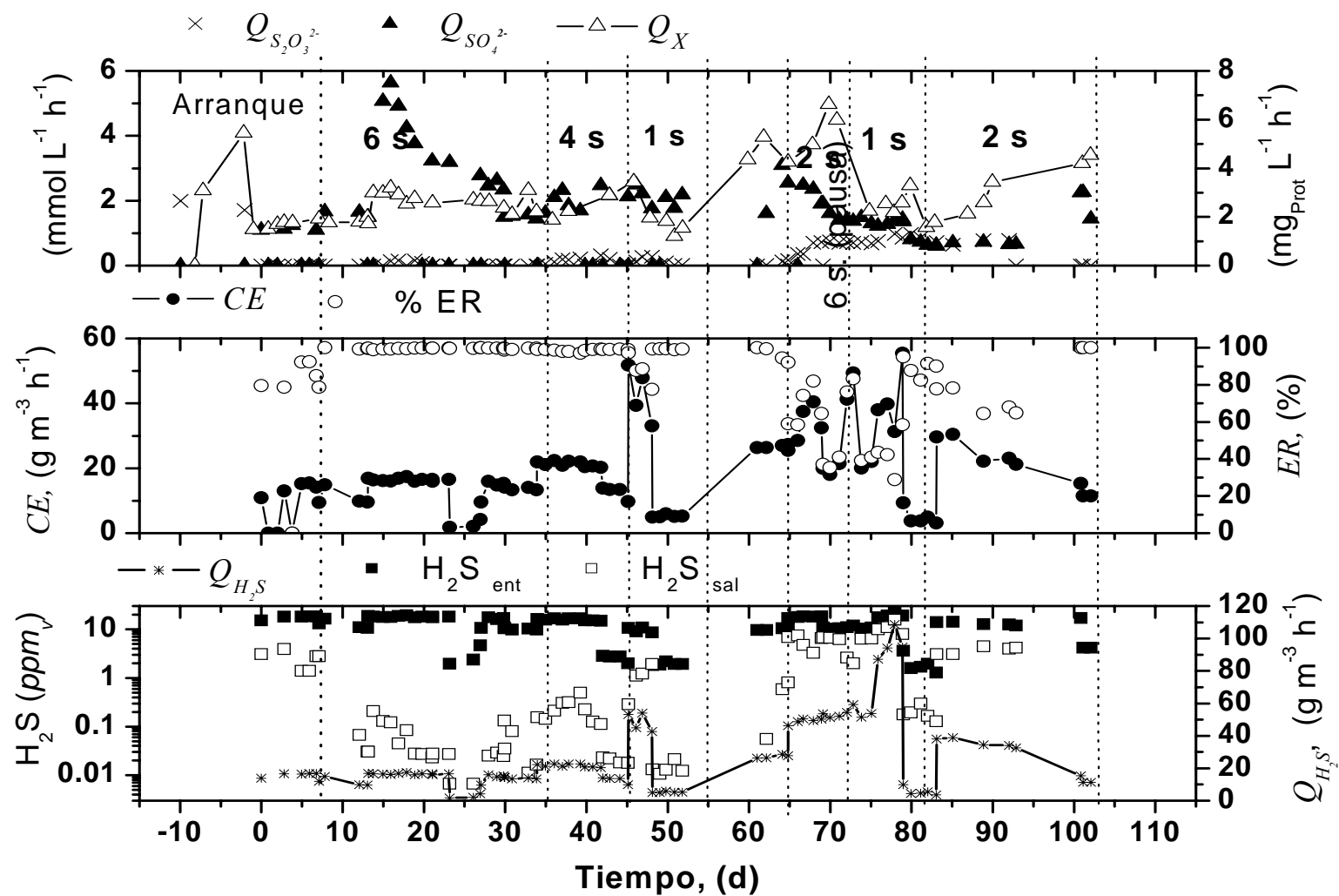


Figura 5-1 Operación general del Biofiltro de Lecho Ecurrido (BLE). El día cero corresponde al inicio de la alimentación de H_2S .

Operación continua, *TRLV* 6 y 4 s (10- 40 días). En la siguiente etapa se interrumpió la alimentación de tiosulfato al *BLE*, prosiguiendo con el inicio de la alimentación continua de H₂S con una concentración de entrada de 18 *ppm_v*, el *BLE* fue capaz de remover alrededor del 80% del H₂S alimentado con un *TRLV* de 6 segundos. Después del día 22 el *BLE* fue operado a concentraciones de H₂S a la entrada de 18, 10 y 2.5 *ppm_v*, con *TRLV* de 6 y 4 segundos. La eficiencia de remoción fue mayor al 95%, con la oxidación completa del H₂S hasta sulfato. Se logró registrar concentraciones a la salida de H₂S menores 0.1 *ppm_v*.

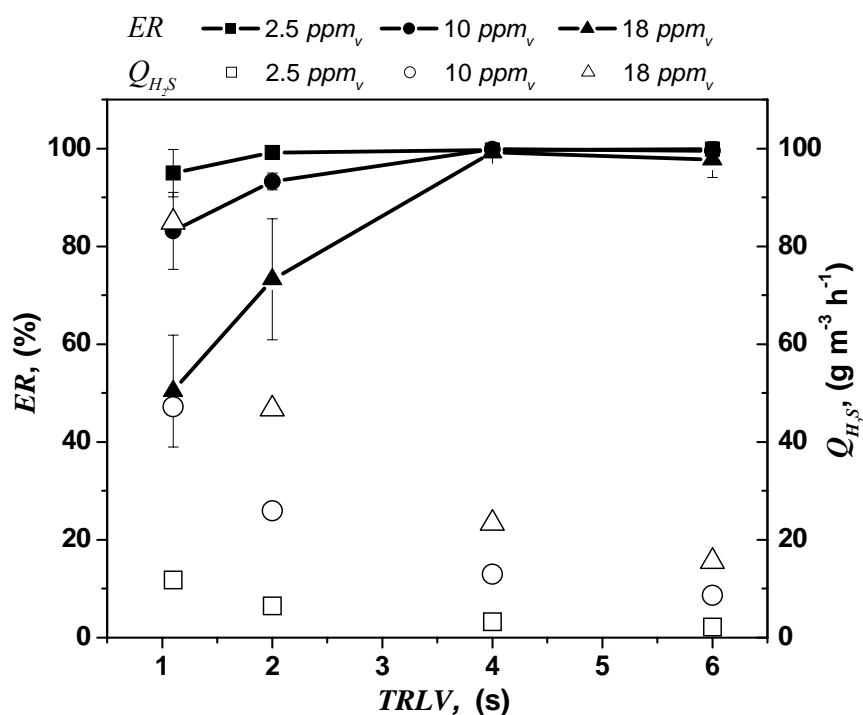


Figura 5-2. Eficiencias de Remoción (*ER*) en un Biofiltro de Lecho Escurrido Alcalino como función de *TRLV* y las concentraciones de H₂S a la entrada. Las barras de error representan las desviaciones estandar del promedio de las *ER* evaluadas al final de cada una de las fases de operación probadas.

Para el caso de las concentraciones de H₂S a la entrada de 10 *ppm_v* y 18 *ppm_v*, las *ER* cayeron significativamente cuando se disminuyó el *TRLV*, pues las cargas de H₂S aumentaron. Como será explicado más adelante, la limitación por reacción biológica es la causa probable de la reducción de las *ER*.

La figura 5-3 muestra que el *BLE* tuvo una carga de H_2S crítica cercana a $30 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una máxima capacidad de eliminación de $40 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

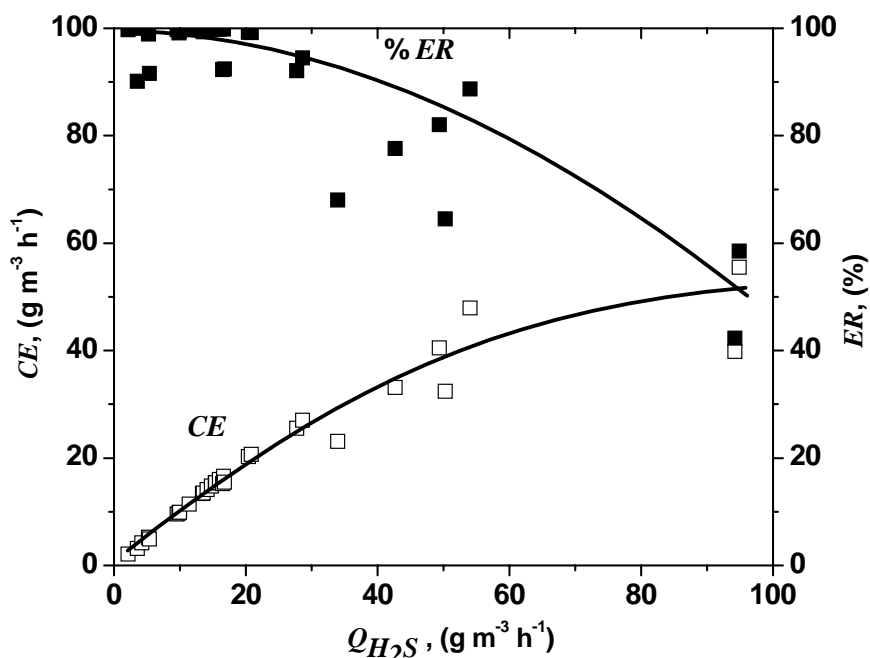


Figura 5-3 Capacidad de Eliminación ($CE = [\text{concentración de entrada} - \text{concentración de salida}] \times [\text{flujo de aire/volumen de lecho}]$) y la Eficiencia de Remoción ER de H_2S en función de la carga de H_2S alimentada al Biofiltro de Lecho Escurrido.

Ramírez *et al.* (2005) reportaron la eliminación de H_2S en un *BLE* (escala laboratorio) inoculado con una cepa pura de *Thiobacillus thioparus* y Bailón Allegue (2005) con un consorcio del género *Thiobacillus*, ambos operados bajo condiciones neutras, reportando cargas máximas alrededor de $25 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ con $ER > 95\%$, con *TRLV* mínimos entre 0.5 a 1.5 minutos. Gabriel y Deshusses (2003) reportaron la eliminación de H_2S bajo condiciones ácidas ($\text{pH} < 2.2$) en un *BLE* (escala industrial), alcanzando una carga crítica de $100 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ combinando *TRLV* de 1.5 a 2.2 segundos con una concentración de entrada de 30 ppm_v (probable limitación por la transferencia de H_2S en la fase líquida, estimando $76 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ como tasa máxima de absorción). Las diferencias entre los resultados pueden deberse a varias razones, como el tamaño de la escala

(laboratorio o industrial) usado la actividad sulfooxidante intrínseca entre los diferentes microorganismos empleados (acidófilos, neutrófilos y alcalófilos) y la cantidad de biomasa.

Por otra parte, el sistema *BLE* separa los dos principales procesos involucrados en la remoción de H₂S. El primero es la absorción del H₂S en una solución acuosa alcalina, que reacciona con los radicales OH⁻ para formar varias especies de sulfuro (H₂S, HS⁻ y S²⁻); la segunda fase es la biodegradación aerobia que convierte el sulfuro y sus intermediarios a sulfato. En la ausencia de actividad sulfooxidante por parte de los microorganismos, la segunda etapa transformaría el sulfuro en condiciones óxicas a pentasulfuro y tiosulfato a velocidades de reacción de consideración (González-Sánchez y Revah 2007).

5.1.2 Consumo de NaOH

Como fue mostrado en la figura 5-1, en la mayoría de las etapas de operación del *BLE* el sulfato fue el principal compuesto azufrado producido por la oxidación biológica (ecuación 1-10). El azufre elemental bajo condiciones ambientales, es producido mayoritariamente por vía biológica, pero no fue detectado durante la operación del *BLE*, debido a que la relación molar α de consumo O₂/HS⁻ (ecuación 5-1) fue superior a 0.5 en todo momento. Los resultados de esta evaluación se muestran en la figura 5-4.

$$\alpha = \frac{[H_2S]_{g \text{ consumo}} H_{O_2} D_{H_2S}}{[O_2]_{g \text{ consumo}} H_{H_2S \text{ mod}} D_{O_2}} \quad (5-1)$$

Cuando las cargas de H₂S fueron superiores a la carga crítica, la reacción óxica fue favorecida, produciendo intermediarios azufrados, aunque la producción de sulfato se mantuvo predominante.

Debido a la mayoritaria producción de sulfato durante la operación del *BLE*, se puede esperar un descenso en el pH del líquido recirculante, pues a partir de un mol de H₂S que es absorbido en el líquido, un protón es producido por el proceso de absorción (ecuación 1-8) y otro protón más desde su oxidación biológica hasta sulfato (ecuación 1-10).

El pH del líquido recirculante se mantuvo constante en un valor de 10, mediante la adición controlada de NaOH. La velocidad molar de consumo de NaOH durante la operación continua del *BLE* fue mayor a la esperada por los procesos de absorción y

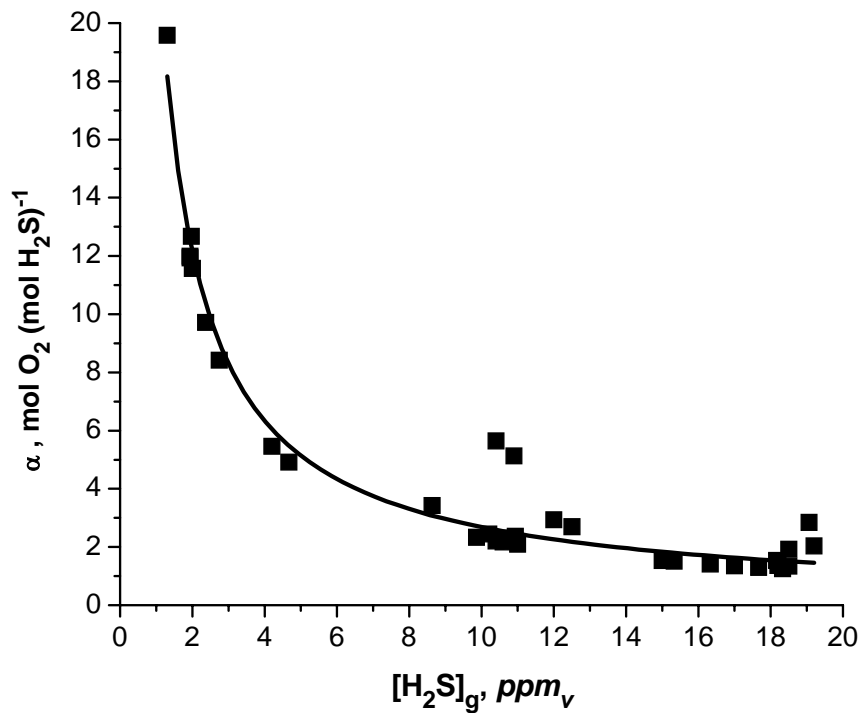


Figura 5-4. Relación molar de consumo O₂/HS⁻.

oxidación biológica del H₂S (figura 5-5), debido a la significativa absorción de CO₂ proveniente del aire. La absorción del CO₂ es muy favorecida a pH alcalino, provocando la acidificación el medio donde se absorbe (Zeng 1995). Pensando en la aplicación del proceso en casos donde se usan corrientes líquidas cáusticas sin fuente de carbono inorgánico disuelto, la absorción del CO₂ proveniente del aire en el líquido alcalino puede ser conveniente para suministrar carbono a los microorganismos, sin la necesidad de adicionar sales carbonatadas al medio líquido.

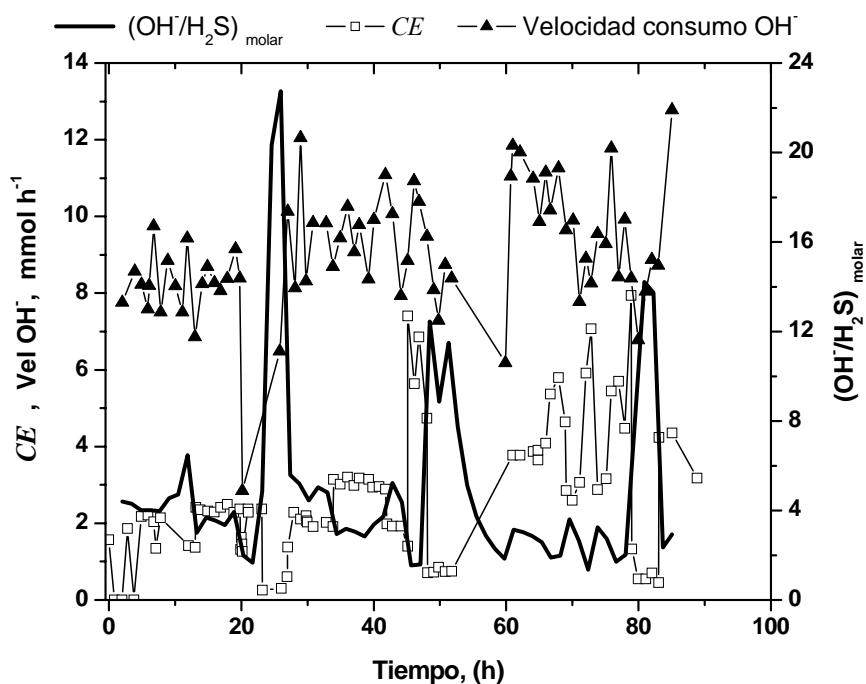


Figura 5-5. Velocidad de consumo de NaOH y su relación

Con la finalidad de estimar la contribución de la absorción de CO₂ en la acidificación del líquido recirculante, el *BLE* fue operado sólo como un absorbedor de H₂S anóxico (aunque con biomasa en el *BLE*), donde la oxidación química y biológica fueron suprimidas por la dilución de H₂S en N₂ en lugar de aire. Un *TRLV* de 6 segundos y una concentración de entrada de H₂S de 18 ppm_v fueron aplicadas en la operación. La figura 5-6 muestra la operación de la etapa de absorción anóxica, donde las eficiencias de remoción disminuyen hasta un 50%, con la acumulación prevista de sulfuro.

Se estimó una velocidad promedio de consumo de OH⁻ de 2.8 mmol OH⁻ h⁻¹ durante la neutralización de los protones generados por la absorción del H₂S anóxica, con una velocidad promedio de 3.7 mmol H₂S h⁻¹, así se estimó una relación molar de consumo OH⁻/H₂S de 0.76. A partir de la ecuación 1-8 se puede esperar que 1 mol de OH⁻ neutralice 1 mol de H₂S absorbido. Si se supone que el *BLE* es operado en condiciones aerobias, el H₂S absorbido puede ser oxidado totalmente hasta sulfato, entonces la velocidad de consumo de OH⁻ se debe duplicarse, es decir 5.6 mmol OH⁻ h⁻¹.

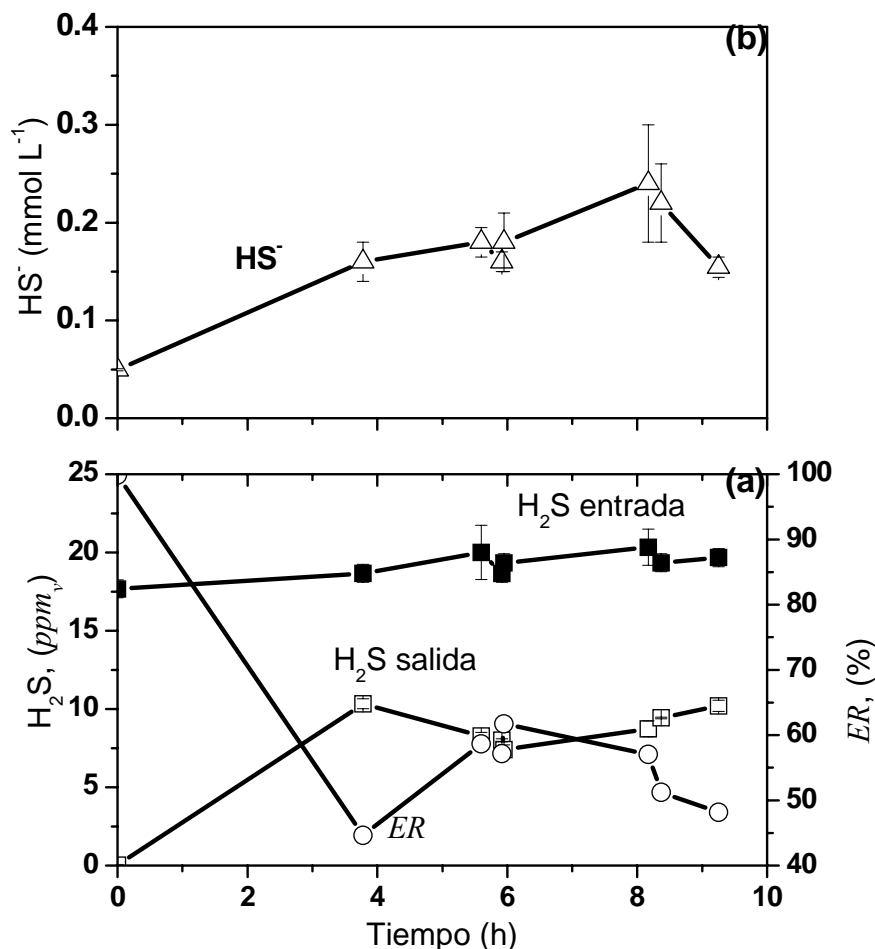


Figura 5-6. Operación abiótica del Biofiltro de Lecho Escurreado para la absorción de H_2S a $TRLV$ de 6 segundos. (a) Operación en la fase gas, (b) Operación en la fase líquida.

El experimento anóxico, fue precedido por la operación continua del *BLE* por 15 días bajo las mismas condiciones de operación pero con aire como medio de dilución. Se puede considerar en esta etapa, que los procesos de absorción de H_2S y CO_2 además de la producción biológica de sulfato ocurren simultáneamente. Se alcanzó una *ER* cercana a 99% y una velocidad promedio de consumo de OH^- de $8.5 mmol h^{-1}$.

La diferencia entre las velocidades de consumo de OH^- entre la prueba aerobia y la anóxica de eliminación de H_2S , estimó que alrededor del 30% del $NaOH$ adicionado fue usado para neutralizar los protones generados sólo por la absorción del CO_2 . Esta

evaluación es válida para las condiciones de operación aplicadas, pudiendo variar dependiendo de los flujos de gas y líquido aplicados. Aunque la concentración de CO₂ en el aire (350 ppm_v) es mayor que la concentración de H₂S entrante, el CO₂ no se absorbe mayoritariamente debido a que su velocidad de reacción con los iones OH⁻ es menor que la correspondiente velocidad de reacción del H₂S disuelto en condiciones alcalinas (Danckwerts 1970), la cual es considerada como instantánea.

5.1.3 Evaluación experimental de la constante de Henry modificada del H₂S bajo condiciones alcalinas (H_{mod})

A partir de la figura 5-6, se consideró que después de la hora 6, el *BLE* funcionando en forma anóxica alcanzó un pseudo-estado estacionario con respecto a las concentraciones de H₂S a la salida del *BLE* y la concentración de sulfuro en el líquido. Por lo anterior se evaluó la constante de Henry modificada en forma experimental, considerando la partición del azufre en ambas fases gas y líquido (ecuación 1-13), resultando un valor de 0.0021. Este valor fue 5 veces menor al estimado teóricamente, donde se considera equilibrio termodinámico, además de que la absorción del H₂S se realiza en agua sin sales.

5.1.4 Estimación del factor de mejora E de la absorción de H₂S en el *BLE* alcalino

La figura 5-7 muestra el efecto del pH sobre el factor de mejora E . Se puede observar que pH > 8 incrementan exponencialmente el factor de mejora. Lo anterior está relacionado con la mayor disponibilidad de iones OH⁻ que reaccionan en forma instantánea con el H₂S disuelto (ecuación 1-8). Lo anterior justifica el empleo de condiciones alcalinas para la absorción del H₂S, aunque se podría usar una solución con pH superiores 10, pero la condición alcalina estará acotada por la actividad catalítica del CAS en el biorreactor, la cual disminuye notablemente su a pH > 10.

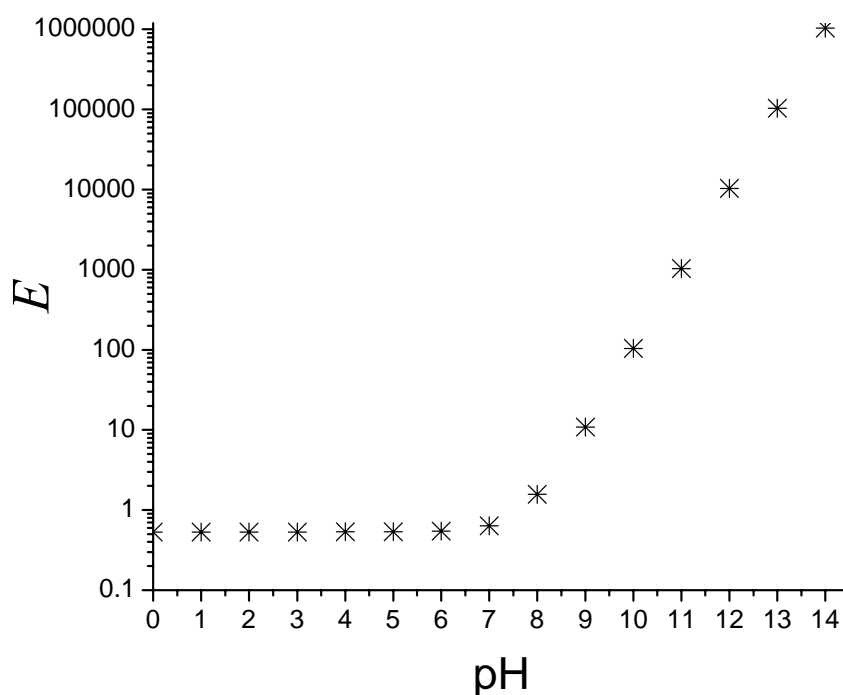


Figura 5-7 Efecto del pH sobre el factor de mejora E , a una concentración $[\text{H}_2\text{S}]_{\text{ent}} = 18 \text{ ppm}_v$

Por otro lado se evaluó el efecto de la concentración de entrada de H_2S sobre el factor de mejora E . Los resultados se muestran en la figura 5-8, donde para el caso de las concentraciones de entrada de H_2S de 2.5, 10 y 18 ppm_v , se lograron factores de mejora de 747, 187 y 104 respectivamente. Estos factores de mejora significan que bajo las mismas concentraciones de entrada de H_2S , la cantidad de gas absorbido en un tiempo dado en una solución acuosa con pH 10, sería E veces mayor que la cantidad que se absorbería en ese mismo tiempo pero en una solución acuosa sin reacción química, por ejemplo una solución a $\text{pH} < 7$. Cabe mencionar que E no tiene el mismo valor a lo largo de la columna empacada, pues existirán gradientes axiales de concentración de H_2S .

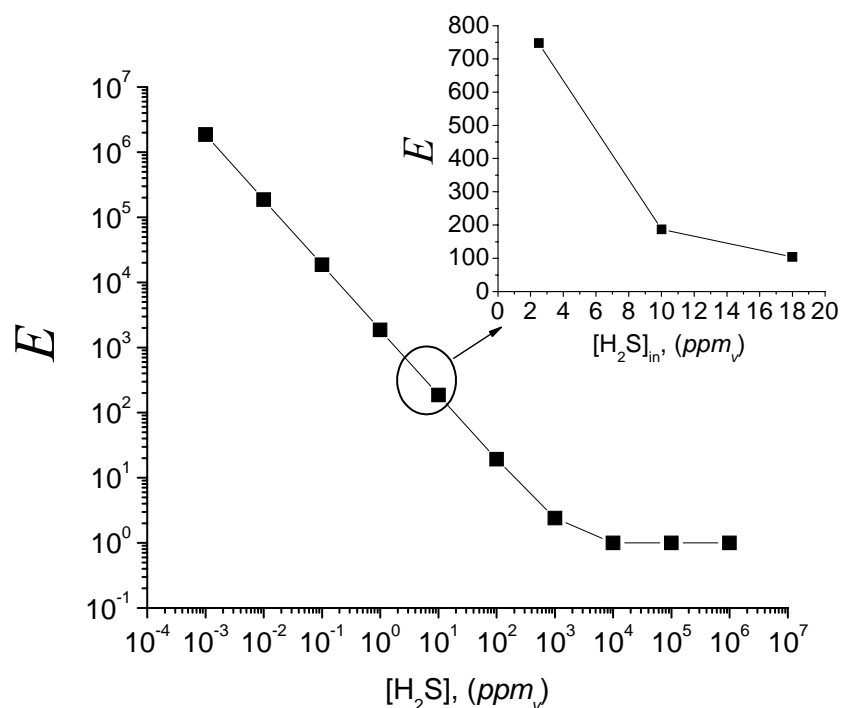


Figura 5-8. Efecto de la concentración de entrada de H₂S sobre el factor de mejora E

5.1.5 Determinación del paso limitante en la eliminación de H₂S gaseoso en el BLE

La tabla 5-1 muestra las estimaciones de los coeficientes volumétricos individuales k_{GA} y k_{LA} y del coeficiente volumétrico global K_{GA} como función del tiempo de residencia $TRLV$, la concentración de entrada de H₂S y del factor de mejora (E), éste último calculado para la absorción de H₂S en una solución acuosa a pH 10.

Los coeficientes volumétricos individuales de transferencia de masa k_{GA} y k_{LA} son parámetros físicos y no dependen de la naturaleza química del sistema. Se debe observar que el BLE fue operado a una velocidad de recirculación de líquido constante, que representa una velocidad lineal a lo largo del lecho de 1.7 m h⁻¹. Una variación de k_{LA} puede esperarse bajo las condiciones que operó el BLE, debido a que la reducción en los $TRLV$ implicó aumentar los flujos de gas, lo que provocaría un incremento en el mezclado de la fase líquida, además que podría afectar el área superficial de transporte

Capítulo 5

a. Kim y Deshusses (2006) quienes determinaron experimentalmente el k_La para el empaque empleado y los rangos de operación reportados en esta tesis, consideran que el mezclado provocado por el incremento en el flujo de gas no impacta en forma significativa el k_La , así que se consideró un valor constante durante toda la experimentación. Para el caso de k_Ga , éste siguió la tendencia proporcional esperada con el flujo de gas.

Tabla 5-1 Estimaciones de los coeficientes volumétricos individuales k_Ga y k_La y del coeficiente volumétrico global K_Ga , bajo diferentes condiciones de operación del BLE

$TRLV, s$	$[H_2S]_{ent},$ (ppm _v)	E	$k_La,$ (h ⁻¹)	$k_Ga \times 10^5,$ (mol h ⁻¹ m ⁻³ atm ⁻¹)	$K_Ga \times 10^5,$ (mol h ⁻¹ m ⁻³ atm ⁻¹)
1.1	2.5	80378	4.5	11.95	10.45
2	2.5	80378	4.5	6.57	6.09
4	2.5	80378	4.5	3.29	3.16
6	2.5	80378	4.5	2.19	2.13
1.1	10	28311	4.5	13.07	9.03
2	10	28311	4.5	7.19	5.77
4	10	28311	4.5	3.60	3.20
6	10	28311	4.5	2.40	2.22
1.1	18	13059	4.5	13.55	6.76
2	18	13059	4.5	7.45	4.80
4	18	13059	4.5	3.73	2.92
6	18	13059	4.5	2.48	2.10

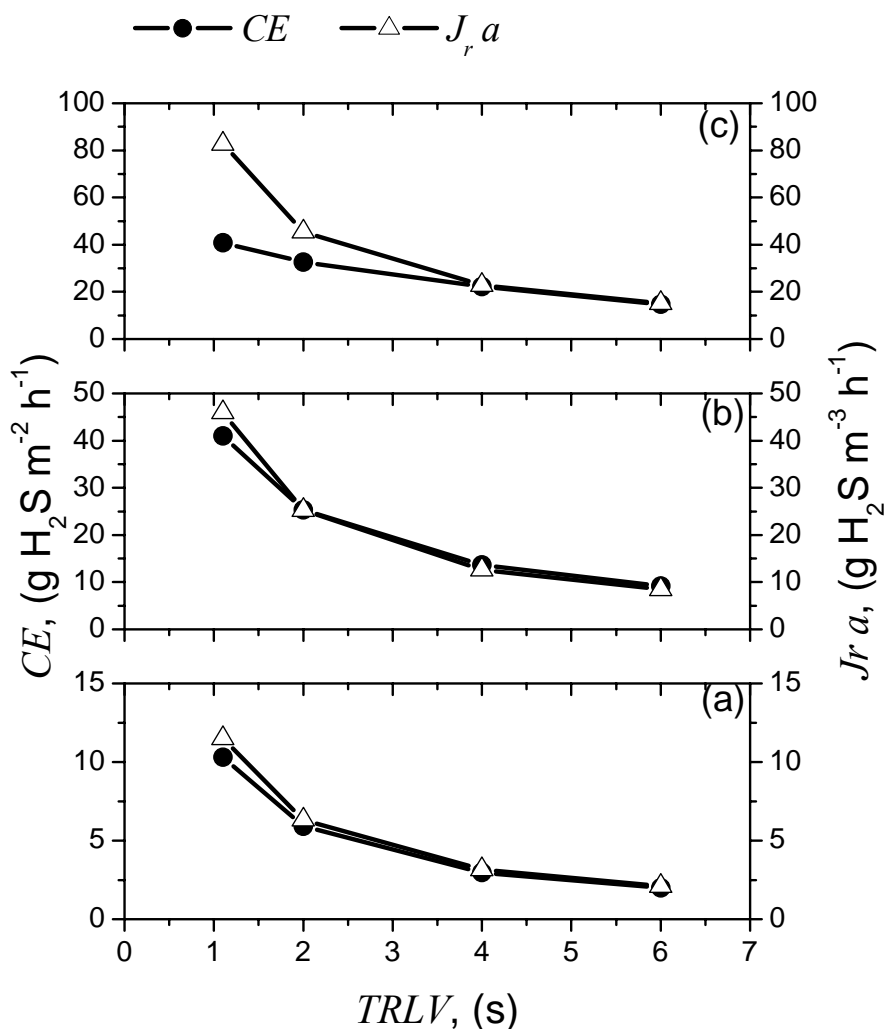


Figura 5-9 Comparación de los flujos máxicos por unidad de volumen de lecho máxicos de H₂S en condiciones alcalinas, con las capacidades de eliminación CE bajo diferentes $[H_2S]_{ent}$, (a) 2.5 ppm_v, (b) 10 ppm_v y (c) 18 ppm_v.

La figura 5-9 muestra los flujos máxicos por unidad de volumen de lecho máxicos de la absorción de H₂S en el BLE alcalino, y estos son comparados con las capacidades de eliminación CE alcanzadas por el BLE bajo las mismas condiciones de operación. Para los casos donde las líneas de CE y ($Jr a$) se superponen, indica que el BLE funcionó a su máxima capacidad, limitado únicamente por la transferencia máxima de masa. Para los casos donde las líneas se separan, se puede decir que bajo esas condiciones de operación existió limitación por reacción biológica, manifestándose con

Capítulo 5

mayor magnitud en el caso de la mayor concentración de H_2S de entrada y a $TRLV$ menores a 2 segundos.

La figura 5-10 muestra la relación de los flujos másicos por unidad de volumen de lecho en la absorción de H_2S en la condición con reacción ($Jr a$) con respecto a la condición hipotética sin reacción química ($J a$) la cual puede presentarse durante la absorción de H_2S en una solución ácida ($pH < 7$).

Se observa que $Jr a/J a$ aumenta notablemente cuando los $TRLV$ se acortan, esto se debe a la disminución de la resistencia a la transferencia de masa en la película gaseosa, como consecuencia del incremento en los flujos de aire. Este efecto no tiene impacto en $J a$, pues la resistencia principal a la transferencia de masa es la película del líquido. Esta relación también se incrementa aunque con menor magnitud inversamente con la concentración de entrada de H_2S , lo cual está de acuerdo con la tendencia que predijo el factor de mejora E , pero no con la magnitud; pues E no contempla la geometría de la columna y empaque además de los patrones de flujo del gas y del líquido en el BLE , cuyos efectos son considerados en los coeficientes individuales k_{La} y k_{Ga} .

De esta forma, se demuestra que la velocidad de absorción del H_2S gaseoso a una fase líquida alcalina se incrementa notablemente con respecto a la velocidad de absorción en condiciones sin reacción química. Esto puede tener un impacto sobre las dimensiones de la columna de absorción, cuando el proceso se realiza en un líquido alcalino o ácido ($pH < 7$).

En el caso del BLE alcalino, el reto es mejorar la actividad sulfooxidante del CAS para poder obtener mayores CE en el sistema de biofiltración, pues como se ha demostrado, la columna y el material de empaque con un líquido alcalino en recirculación, transfiere a la máxima capacidad posible el H_2S , pues la resistencia del lado del líquido fue eliminada.

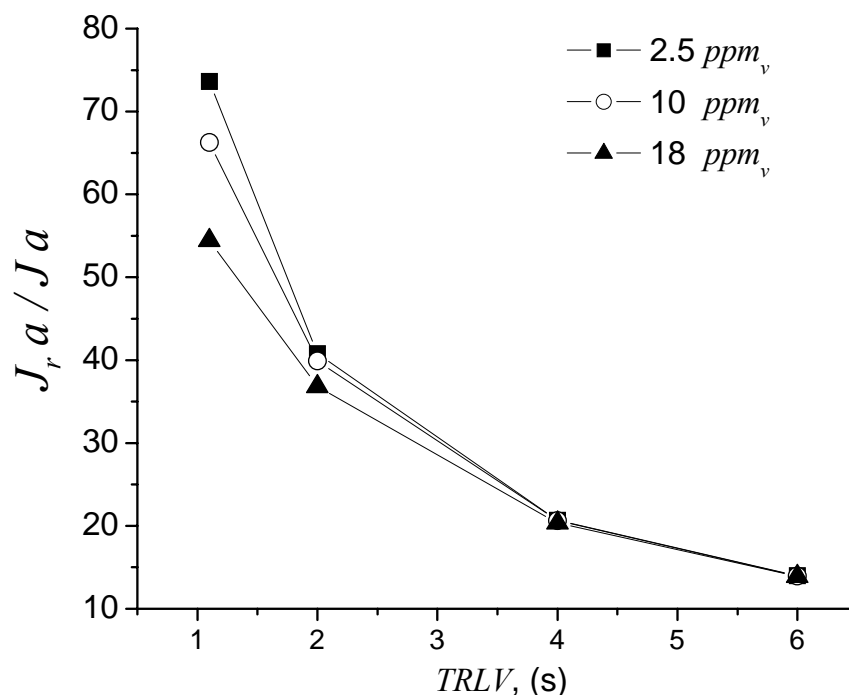


Figura 5-10 Incremento de la velocidad de la absorción de H₂S en una solución a pH 10 con reacción química, en relación a la velocidad de absorción sin reacción química (pH < 7).

Globalmente durante la operación del *BLE*, se ha demostrado que la biofiltración alcalina de altos flujos de gas contaminados con bajas concentraciones de H₂S, puede ser llevada a cabo con altas eficiencias de remoción, sobrepasando una de las principales limitantes de la biofiltración que es la resistencia a la transferencia de masa en la película líquida, de esta forma sólo la actividad catalítica del CAS determinó el límite en la biodegradación del H₂S en el *BLE*, comenzando a cargas superiores a 40 g m⁻³ h⁻¹.

5.1.6 Efecto de la velocidad de recirculación en la remoción de H₂S

Los resultados mostrados en la figura 5-11, fueron evaluados después de una hora de provocar un cambio en la velocidad de recirculación del líquido recirculante, que ha sido representado como una velocidad lineal axial (*Uz*), la cual tiene influencia directa en el transporte convectivo gas-líquido.

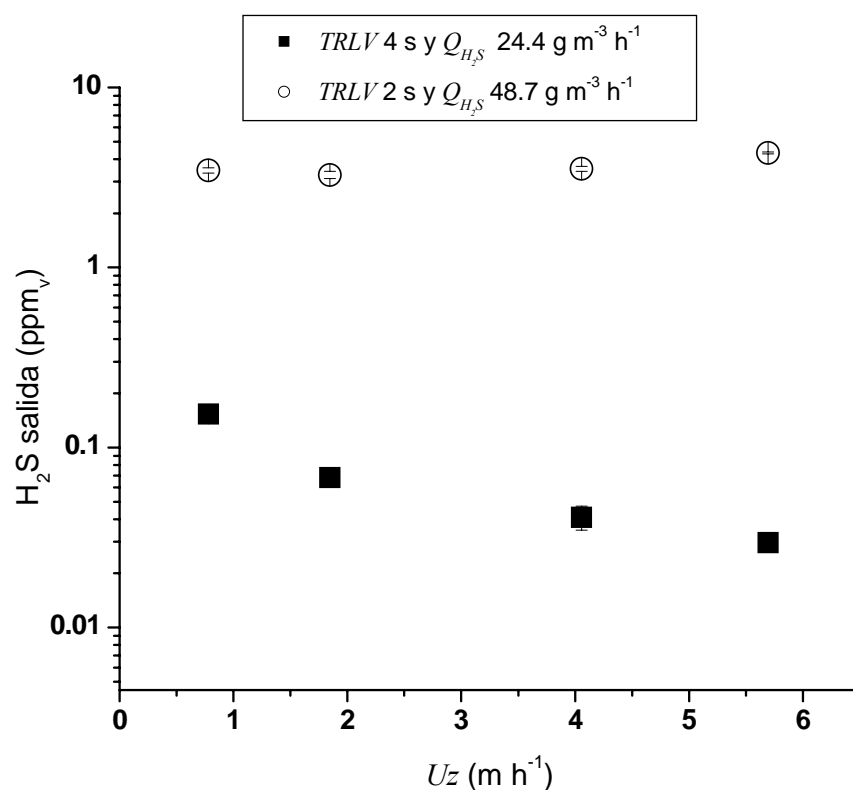


Figura 5-11. Efecto de la velocidad de recirculación sobre la remoción de H_2S . $[\text{H}_2\text{S}]$ entrada = 18 ppm_v

El *BLE* fue sometido a cargas de 48.7 y $24.4 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ provenientes de *TRLV* de 2 y 4 segundos respectivamente, con una concentración de entrada en ambos casos de H_2S en 18 ppm_v . La primera carga, como se demostró en la sección 5.1.1, se encuentra en la zona limitada por la reacción biológica, por tanto la velocidad de recirculación no tuvo efecto apreciable en la remoción del H_2S . En la segunda carga ocurrió lo contrario; el incremento en la velocidad de recirculación mejoró el transporte convectivo gas-líquido implicado en K_Ga , provocando un aumento en la tasa de reacción biológica y consecuentemente una mejoría en la capacidad de eliminación de H_2S .

5.1.7 Balance de Azufre

No fue posible cerrar el balance de azufre entre las fases líquida y gaseosa a partir de las de velocidades de desaparición de H₂S de la fase gas y los compuestos azufrados disueltos que pudieron ser cuantificados en el líquido recirculante. Las mayores desviaciones se presentaron cuando el *BLE* fue operado a velocidades de carga cercanas o mayores a la carga crítica, donde la reacción biológica fue incapaz de convertir las especies de sulfuro disueltas en especies cuantificables de azufre tales como el tiosulfato y el sulfato. Por tanto se realizó un balance acumulado de azufre, resultando más aproximado, donde se consideró sólo la producción de sulfato.

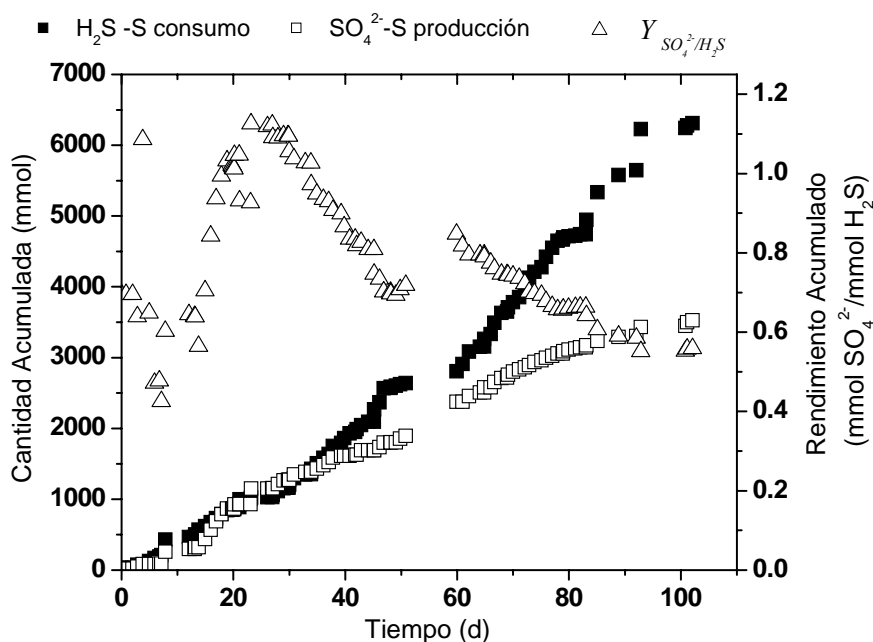


Figura 5-12. Balance Acumulado de Azufre considerando al sulfato como única especie soluble.

En la figura 5-12 se puede observar que inicialmente el H₂S que desaparece en el *BLE* fue convertido a sulfato, con un rendimiento molar acumulado máximo (SO₄²⁻/H₂S) muy cercano al teórico que es de 1.0. Después de día 40 el *BLE* fue alimentado a velocidades de carga superiores a la carga crítica, donde el rendimiento acumulado (SO₄²⁻/H₂S) disminuyó indicando la oxidación parcial del sulfuro y la acumulación de

intermediarios, promovidos probablemente por la oxidación óxica del sulfuro (González-Sánchez y Revah 2007).

5.1.8 Efecto de la longitud axial del lecho empacado en la remoción de H₂S

La operación del *BLE* fue llevada a cabo a contracorriente, por tanto se puede esperar que existan perfiles axiales de concentración, tanto en la fase gaseosa y líquida. Para la fase líquida no se encontró dependencia axial en las concentraciones de sulfuro, debido a que la velocidad de recirculación empleada mantuvo la fase líquida en comportamiento tipo tanque agitado. La fase gaseosa al ser una corriente de un sólo paso a través del lecho empacado, si presentó perfiles axiales a lo largo del lecho, los cuales son representados como variaciones en la *ER* en la figura 5-13.

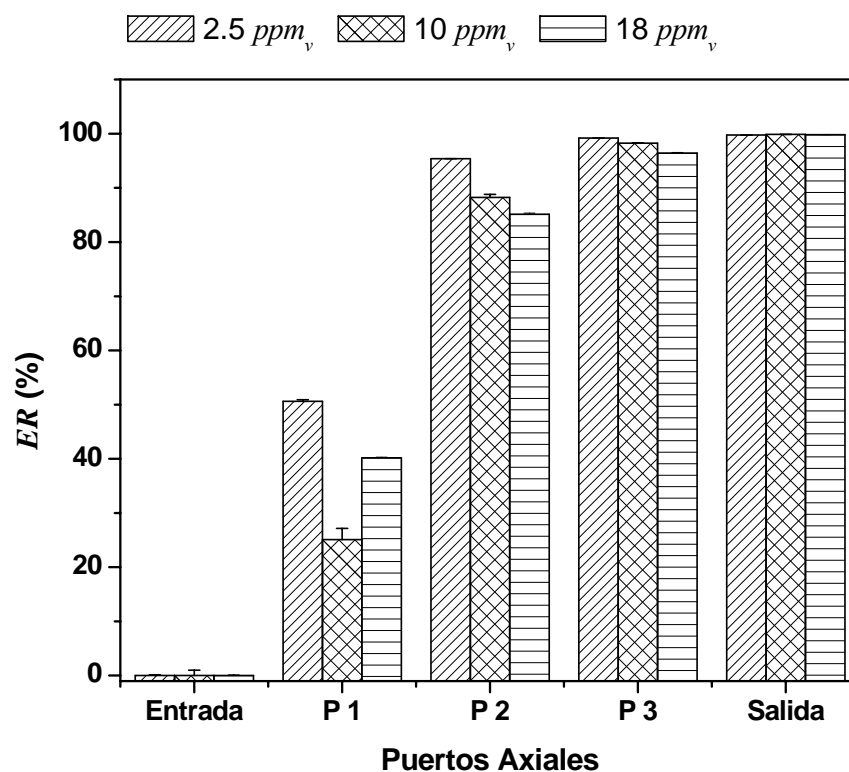


Figura 5-13 Eficiencia de Remoción axial en el *BLE* para diferentes concentraciones de H₂S a la entrada con un *TRLV* de 4 s.

Como puede observarse de la figura 5-13, el lecho empacado fue subutilizado bajo las condiciones de alimentación indicadas ($Q_{H_2S} < 23 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), donde casi la mitad del lecho no presentó actividad sulfooxidante. Si se considera que la *CE* máxima

fue de 40 g m⁻³ h⁻¹ y se compara con la mayor carga lograda en la figura 5-13, nos indica que la *CE* es una función directa del volumen del lecho, donde las dimensiones de diseño dependerán de las Q_{H_2S} a tratar.

Por otro lado, debido a la existencia de los perfiles axiales en la concentración de H₂S, se pueden esperar perfiles axiales de la densidad microbiana en forma de biopelícula a lo largo del lecho. Este efecto debe considerarse en el diseño y operación del *BLE*, donde durante su arranque y/o operación a bajas Q_{H_2S} , se debe promover la formación de biopelícula a lo largo de todo el lecho, con la finalidad de utilizar toda su capacidad catalítica, y convertir así al *BLE* en un sistema robusto. En este trabajo se propuso crecer la biopelícula sobre el lecho, alimentando tiosulfato en el líquido recirculante, donde en la sección 3.1.1. se demostró su compatibilidad con el CAS. Cuando el CAS consume mayoritariamente tiosulfato, y éste último se reemplaza por sulfuro, se ha observado que el consorcio no pierde la capacidad catalítica de oxidarlo.

5.1.9 Determinación de la Degradación de Sulfuro en el Biofiltro de Lecho Ecurrido

La degradación del sulfuro en un *BLE*, puede ser llevada a cabo por la biomasa suspendida y en la biopelícula formada sobre el lecho empacado. Se realizó la cuantificación de la biomasa en cada forma de agregación y de su respectiva actividad sulfooxidante. Por tanto se pudo determinar la actividad biológica global máxima dentro del *BLE* y establecer si el proceso de eliminación de H₂S en condición alcalina, fue limitado por transferencia de masa o por la reacción biológica. La cuantificación de la degradación del sulfuro en cada forma de agregación de la biomasa, fue determinada indirectamente por la técnica de la respirometría, donde consideramos sólo la reacción de oxidación total del sulfuro a sulfato (ecuación 1-10).

Durante la operación continua el *BLE*, se realizaron determinaciones periódicas de la velocidad específica de respiración del CAS suspendido en el líquido recirculante. Cuando el *BLE* fue apagado y desmontado, se realizó el desprendimiento no destructivo de la biopelícula formada por el CAS sobre el material de empaque, donde inmediatamente después se determinó la biomasa total en forma de biopelícula y su velocidad de respiración específica. La tabla 5-2 presenta los resultados obtenidos.

La velocidad de respiración específica en la biomasa suspendida fue mayor que la evaluada para la biomasa en forma de biopelícula, aunque la velocidad de consumo

de oxígeno fue mucho mayor en la biopelícula, debido a la gran diferencia entre la cantidad de biomasa presente en el *BLE* como biopelícula y en forma suspendida. A partir de la ecuación 1-10, se determinó la capacidad de eliminación de H₂S en el *BLE*, y se identificó que aproximadamente el 95% del H₂S absorbido fue degradado en la biopelícula y el restante por la biomasa suspendida.

Se observa que la densidad de biomasa en forma de biopelícula, resultó similar con la estimada de Gabriel y Deshusses (2003) pero la actividad sulfooxidante o velocidad de respiración resultó 4 veces menor que la estimada por los anteriores autores.

Tabla 5-2. Determinación de la actividad sulfooxidante en el Biofiltro de Lecho Ecurrido.

Forma de agregación de la Biomasa	Biopelícula	Suspendida
Cantidad de Biomasa (g _{Prot})	7.734	0.183
Densidad de biomasa (g _{Prot} m ⁻³ _{reactor})	1590 (1280)*	37.6
qO_2 (mmol O ₂ g _{prot} ⁻¹ min ⁻¹)	0.022 (0.081)*	0.054
Velocidad de consumo de oxígeno disuelto (mmol min ⁻¹)	0.167	0.010
<i>CE</i> extrapolado, (mmol O ₂ m ⁻³ min ⁻¹)	34.341	2.042
<i>CE</i> extrapolado, (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	35.028	2.083
Degradación de Sulfuro (%)	94.4	5.6
<i>CE</i> _{max.} Total, (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	37.111	

* Datos estimados a partir de Gabriel y Deshusses (2003)

La capacidad de eliminación máxima de H₂S en el *BLE* estimada a partir de la velocidad de respiración, resultó en 37 g m⁻³ h⁻¹. La figura 5-3 indica una capacidad de eliminación máxima de alrededor de 40 g m⁻³ h⁻¹ de H₂S, la cual es similar con la

evaluada indirectamente por respiración, lo que demuestra la validéz de la estequiometría biológica propuesta, es decir la oxidación total del sulfuro a sulfato (ecuación 1-10). La *CE* máxima evaluada, nos confirma que el *BLE* fue limitado por la reacción biológica (baja actividad sulfooxidante). Gabriel y Deshusses (2003) reportaron una carga máxima de eliminación de H₂S de 100 g m⁻³ h⁻¹, donde las diferencias entre las actividades sulfooxidantes de los microorganismos empleados en los sistemas alcalino y ácido, pudieron provocar las diferencias en las capacidades de eliminación entre los dos sistemas.

Si el aumento en la actividad sulfooxidante específica del CAS no es satisfactoria, entonces la única opción restante para poder mejorar las capacidades de eliminación de H₂S, es el incremento en la densidad celular adherida al material de empaque.

5.2 ELIMINACIÓN DE SULFURO EN UN REACTOR DE RECIRCULACIÓN BAJO CONDICIONES ALCALINAS.

5.2.1 Arranque y operación de un Biolavador Recirculación (*BLR*) para la eliminación de sulfuro.

Un Biolavador de Recirculación (*BLR*) inoculado con el CAS (figura 2-4), se mantuvo en operación por un periodo de 45 días bajo condiciones óptimas de crecimiento. El *BLR* fue sometido a diferentes cargas de sulfuro, bajo condiciones controladas de aeración y velocidad de recirculación de líquido (Meulepas 2003). El incremento en las cargas de sulfuro se realizó con la finalidad de evaluar la respuesta y las limitaciones del *BLR*.

Se realizaron determinaciones periódicas de las especies azufradas disueltas y del potencial de óxido-reducción *ORP* en la solución del reactor. La figura 5-14 muestra el desempeño global del *BLR* durante el periodo de estudio, señalando las diferentes etapas experimentales.

Etapas (a) -2– 0 días. El *BLR* fue inoculado con el CAS (10% vol) proveniente de un cultivo continuo alimentado con sulfuro, y al igual que el *BLE* descrito anteriormente se promovió la aceleración del crecimiento del CAS, adicionando como fuente de energía tiosulfato, con una concentración final dentro del *BLR* de 80 mmol L⁻¹. El sistema fue operado como un cultivo por lote, hasta después del segundo día,

cuando el *BLR* registró la completa oxidación del tiosulfato a sulfato (*ORP* de +70 mV) y una concentración de biomasa de alrededor de 230 mg_{Prot} L⁻¹.

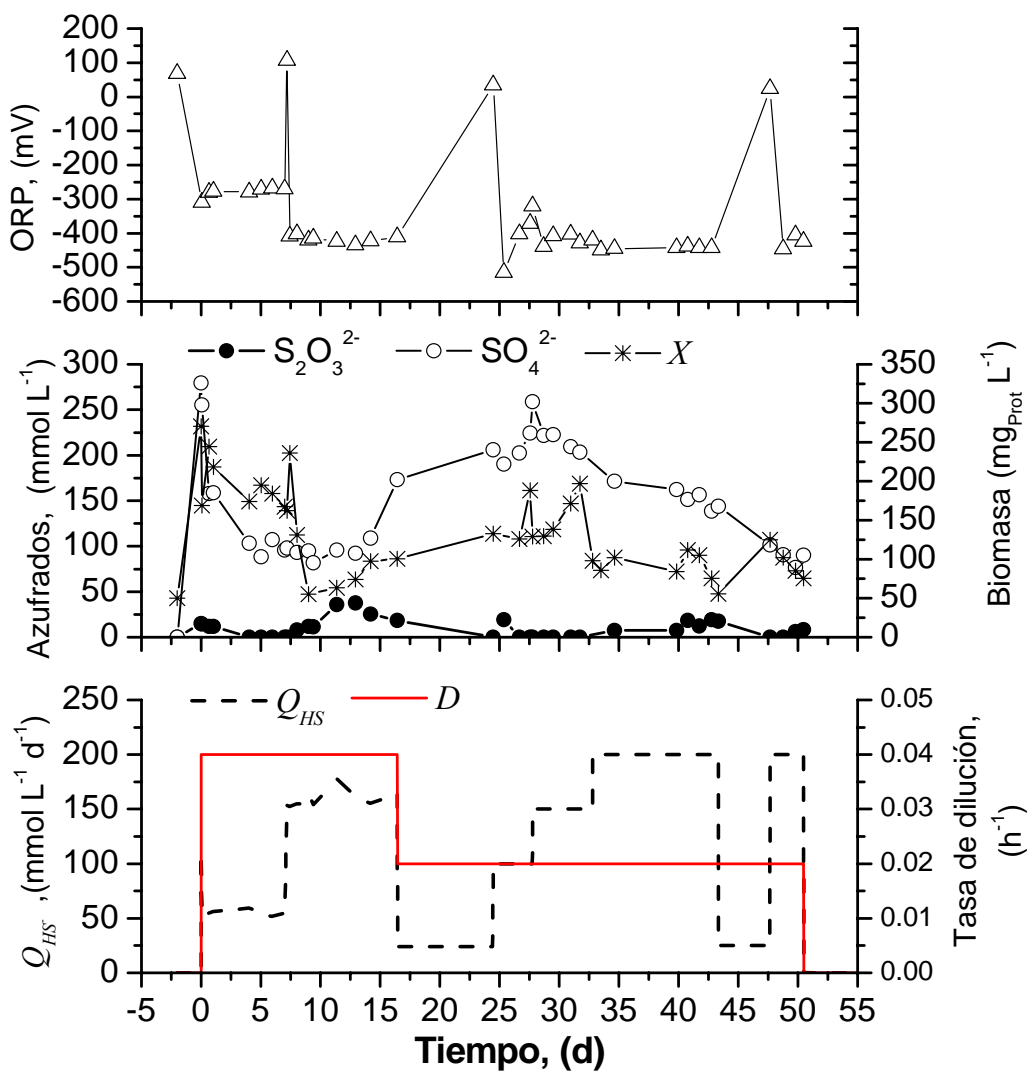


Figura 5-14 Desempeño un reactor de células retenidas para la remoción de sulfuro, bajo condiciones alcalinas.

Etapa (b) 0- 27 días. Se inició la alimentación continua solamente de sulfuro como fuente de energía y medio mineral (como se muestra en la figura 2-4) a una tasa de dilución de $D = 0.041 \text{ h}^{-1}$ y una concentración variable de sulfuro de 50 y 100 mmol L⁻¹. En esta fase se observa que la concentración de biomasa suspendida disminuyó como resultado del incremento en las cargas de sulfuro, donde se alcanzaron

concentraciones de sulfuro de hasta de 7 mmol L⁻¹ (*ORP* = -420 mV) dentro del *BLR*, que inhibieron la velocidad de crecimiento del CAS. La actividad sulfooxidante también se vió afectada, evaluando un rendimiento a sulfato en este punto de un 55%, lo cual provocó la acumulación de polisulfuros y tiosulfato por vía química. Por inspección visual, no se observó la coloración blanca de la suspensión en el *BLR*, típica cuando existe producción de azufre elemental.

La modificación en la concentración de biomasa junto con el cambio en los rendimientos a sulfato en el *BLR*, nos confirmó la directa relación que existe entre la velocidad de crecimiento y la capacidad sulfooxidante.

Con respecto a la operación del *BLR*, a medida que la velocidad de carga de sulfuro fue incrementada, fue necesario aumentar alimentación de oxígeno disuelto al *BLR*, vía incremento en la velocidad de recirculación. Ésta última acción provocó que la retención de la biomasa dentro del reactor no fuera la esperada, debido a las altas velocidades lineales provocadas por la recirculación, de hasta 8.8 m h⁻¹, Velasco *et al.* (2004) reportaron una velocidad de sedimentación de flóculos de biomasa sulfooxidante de 2.2 m h⁻¹ para un tamaño de partícula entre 5 a 100 µm, por tanto difícilmente la biomasa podrá ser retenida en el reactor cuando la recirculación exceda esta velocidad de sedimentación.

La formación de biopelícula sobre la superficie del empaque no fue apreciable a simple vista, más adelante se dan algunas estimaciones.

Etapas (c) 27- 45 días. Se cambió la estrategia de alimentación, disminuyendo la tasa de dilución a $D = 0.021 \text{ h}^{-1}$ e incrementando las concentraciones de sulfuro de entrada a 50, 200, 300 y 400 mmol L⁻¹. Hasta el día 30 la concentración de biomasa suspendida se incrementó nuevamente y los rendimientos a sulfato alcanzaron un 100% sin la producción de tiosulfato. Durante el día 25 y hasta el día 28, el *BLR* fue alimentado con una concentración de sulfuro en el influente de 300 mmol L⁻¹ resultado una carga de sulfuro de 100 mmol L⁻¹ d⁻¹, durante este periodo se registró una eficiencia de remoción de más del 99%, donde la transformación biológica del sulfuro alimentado produjo azufre elemental con un rendimiento de 10% y sulfato. Lo anterior nos indica el papel fundamental que desempeña la biomasa en la transformación del sulfuro a productos más oxidados como el azufre elemental y el sulfato. Durante esta etapa se alcanzó la mayor concentración de biomasa suspendida en forma sostenida, que fue de 130 mg_{Prot} L⁻¹.

Después del día 35, el sistema fue sometido a una carga de sulfuro de hasta 200 $\text{mmol L}^{-1} \text{d}^{-1}$, donde nuevamente se observaron los síntomas de limitación biológica sulfooxidante ($ORP < -400\text{mV}$ y producción de tiosulfato) debida al efecto inhibitorio provocado por la acumulación de sulfuro. Se registraron en este último periodo rendimientos a sulfato de 20 a 40%, pero con acumulación de sulfuro y producción de tiosulfato. La eficiencia de remoción de sulfuro en el peor de los casos fue de 95%, sin embargo la acumulación fue suficiente para inhibir el proceso biológico. Por tanto una fase de recuperación de la densidad fue necesaria, bajando la carga de sulfuro hasta 25 $\text{mmol L}^{-1} \text{d}^{-1}$.

Durante esta etapa tampoco se logró promover la retención celular, incluso como se verá más adelante, la biopelícula formada sobre el material de empaque de PVC fue muy pobre. Janssen *et al.* (1997) ha reportado la mayor velocidad volumétrica de oxidación de sulfuro en un valor de 188 $\text{mmol L}^{-1} \text{d}^{-1}$ en un reactor con células retenidas funcionando bajo condiciones de pH ácido. Obtuvo una eficiencia de eliminación de un 90% y un rendimiento a azufre elemental del 80%. Las diferencias entre las capacidades de eliminación de sulfuro, que han sido reportadas para sistemas biológicos que funcionan a pH ácido-neutro y pH alcalino, probablemente se deba a que el CAS posee menores actividades sulfooxidantes que los microorganismos ácido-neutrófilos. Ésta desventaja se relaciona con la dificultad de los organismos alcalófilos a transportar sus nutrientes desde el medio acuoso hasta el interior de la célula (Krulwich *et al.* 2001).

5.2.2 Balance acumulado de Azufre

La figura 5-15 muestra un balance acumulado de las especies de azufre cuantificadas durante toda la operación del *BLR*, como fueron el sulfuro de entrada, el tiosulfato y sulfato producidos. Las desviaciones de los puntos por debajo de la línea del balance ideal, indican las especies azufradas que no pudieron ser cuantificadas, como fue el caso del pentasulfuro, sulfito, azufre elemental entre otros. El rendimiento acumulado a sulfato confirma la tendencia anterior.

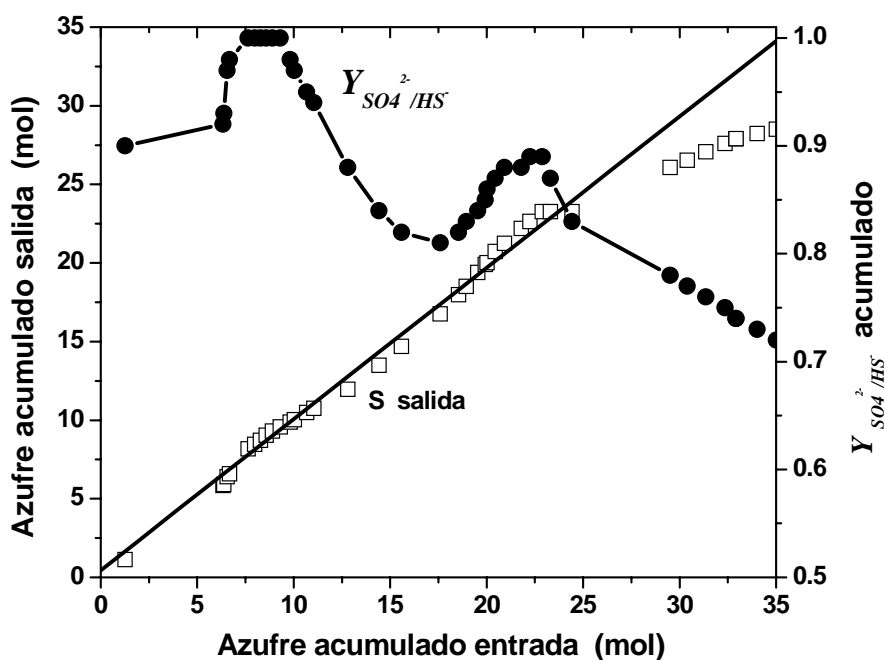


Figura 5-15. Balance acumulado de azufre durante la operación continua del *BLR*

5.2.3 Biomasa adherida (biopelícula) a soportes

Al final de todos los experimentos, se desmontó el sistema experimental y se evaluó la capacidad de formación de biopelículas por parte del CAS sobre las superficies expuestas del *BLR* al líquido recirculante. Los resultados mostrados en la tabla 5-3, reportan la cantidad de biomasa adherida por unidad de área de soporte. La biomasa total adherida (biopelícula) sobre las superficies del *BLR* apenas representó un incremento de la biomasa total dentro del *BLR* en un 50%, referido a la máxima concentración de biomasa alcanzada en los cultivos suspendidos fue de 250 mg_{Prot} L⁻¹.

Los análisis de la cantidad de biomasa adherida (biopelícula) a diferentes superficies que conformaron el *BLR*, nos ratifica que el sistema experimental fue incapaz de retener la biomasa formada, ya sea por sedimentación o por la formación de biopelículas. Las causas probables, se exponen a continuación.

Por un lado las bajas velocidades de recirculación implican bajas cargas de oxígeno disuelto alimentado al reactor principal, y por el otro lado altas velocidades de

recirculación no promueven la retención celular por sedimentación dentro del reactor principal. Además se observa una clara incompatibilidad para formar biopelículas entre el empaque de PVC sumergido y el CAS, lo cual no ocurrió para el caso de la superficie de vidrio que conformó al *BLR*.

La explicación de la incapacidad de la biomasa de adherirse sobre los soportes probados, podría estar relacionada con las propiedades hidrofílicas-hidrofóbicas de las superficies de los soportes y de la biopelícula, bajo la condiciones de pH alcalino (Hamadi *et al.* 2005). Esta posibilidad fue explorada, probando diferentes soportes con diferentes grados de hidrofobicidad, y determinando también la hidrofobicidad de la biopelícula. Las determinaciones cualitativas de la hidrofobicidad, se realizaron a través de la medición del ángulo de contacto de una gota de medio mineral sobre la superficie del empaque o biopelícula (Hamadi *et al.* 2005). La fibra de Nylon y el vidrio fueron los materiales de empaque con un ángulo de contacto muy similar a la biopelícula, alrededor de 55°, es decir los más hidrofílicos; mientras que el material de PVC resultó con el ángulo de contacto más grande 80°, es decir el empaque más hidrofóbico. Según Hamadi *et al.* (2005) la similitud entre las propiedades superficiales hidrofílicas-hidrofóbicas entre el empaque y la biopelícula, puede mejorar su formación.

Tabla 5-3. Resultados de adherencia de biomasa en soportes

Superficie	Biomasa adherida (mg _{biomasa} cm ⁻³ _{empaque})	Densidad aparente (g cm ⁻³ _{empaque})	Área específica (m ² m ⁻³ _{empaque})
Vidrio (aerador)	5.11		0.002
Vidrio (reactor)	1.14		0.001
Fibra de Nylon	12.18	0.103	700
Empaque PVC	0.07	1.450	2.23

De la tabla 5-3 se puede inferir que la propiedad hidrofílica del vidrio en ambos recipientes y de la fibra de nylon favoreció la adherencia de la biomasa. Para el caso del

PVC cuya propiedad hidrofóbica es bien conocida, no favoreció la formación de biopelícula sobre su superficie. También se puede notar que las diferencias en la condiciones de oxígeno disuelto y de turbulencia presentes en el aerador y el reactor no fueron las mismas, lo que promovió la formación de diferentes cantidades de biopelícula. Se propone a la fibra de Nylon como un material de soporte para futuras experiencias con este tipo de reactor, pues posee un área específica muy superior a los empaques probados, lo cual incrementaría la cantidad de biomasa que podría ser expuesta al sulfuro.

5.2.4 Respuesta dinámica del *BLR* a tres diferentes sustratos azufrados

Se evaluó la respuesta dinámica del *BLR* adicionando tres diferentes sustratos azufrados en diferentes tiempos y precedidos de la estabilización del CAS por un cultivo continuo.

La figura 5-16 muestra la respuesta dinámica de los cultivos en lote, cuando fueron sometidos a una concentración de azufre total dentro del *BLR* de 31 mmol L⁻¹. El orden de adición fue: tiosulfato, pentasulfuro y sulfuro. La concentración de biomasa suspendida se mantuvo sin cambios significativos, durante esta serie de pruebas, alrededor de un valor de 250 mg_{Prot.} L⁻¹.

Se puede observar el comportamiento de limitación por reacción biológica para los casos del pentasulfuro y sulfuro, debido a la inhibición de la actividad sulfooxidante que provoca el sulfuro y probablemente el pentasulfuro a concentraciones mayores a 3 mmol L⁻¹ (figura 4-4). El caso de la adición de tiosulfato, mostró ser el sustrato que más rápido se degradó, observando que la producción de sulfato y el incremento en los valores del *ORP* aumentaron más rápido.

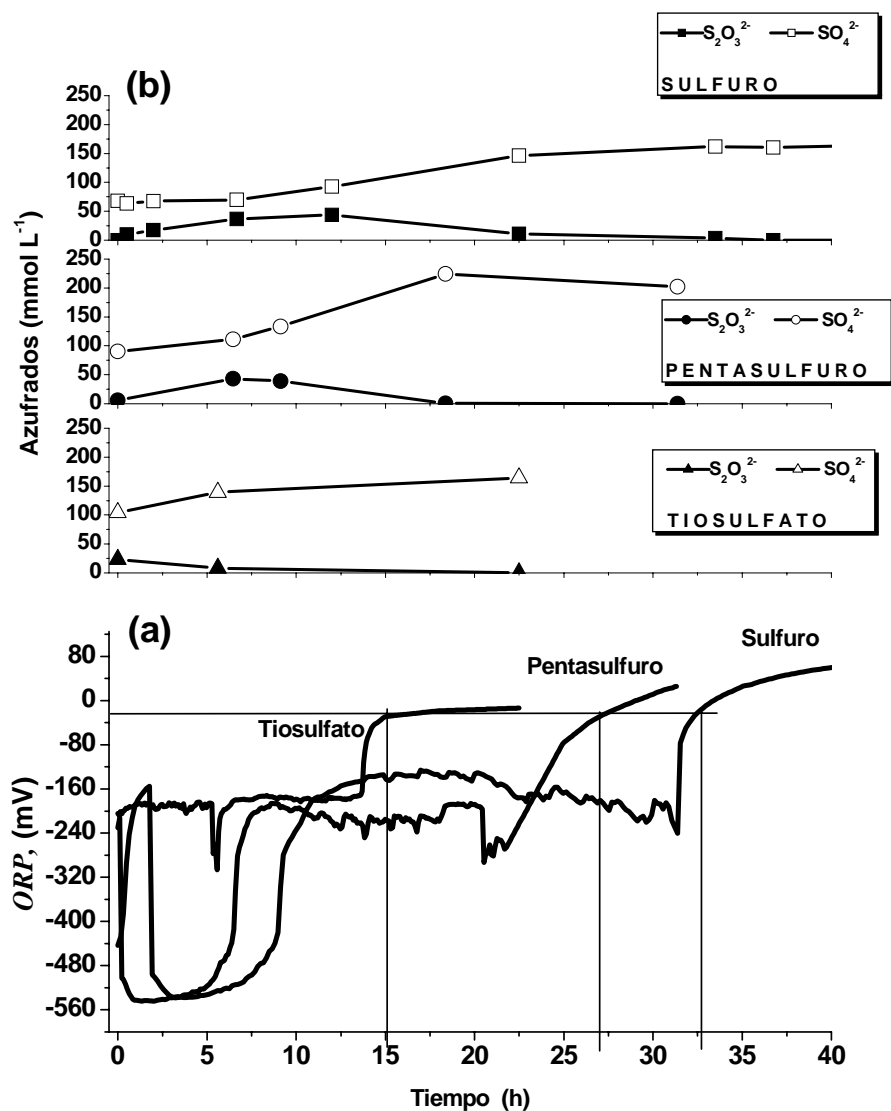


Figura 5-16 Cultivo en Lote en un reactor de células retenidas para la remoción de sulfuro, bajo condiciones alcalinas. Concentración inicial del compuesto azufrado de 31 mmol L⁻¹. (a) Respuesta dinámica del *ORP* debida al consumo de tiosulfato, pentasulfuro y sulfuro. (b) Concentración de productos generados por el consumo de tiosulfato, pentasulfuro y sulfuro.

La tabla 5-4 muestra las velocidades promedio estimadas de degradación de moles de azufre para los diferentes sustratos azufrados probados. Los criterios de tiempo considerados se muestran con los cruces formados por las líneas dibujadas sobre el gráfico 5-17.

De esta prueba se puede decir que la oxidación biológica de intermediarios azufrados provenientes de la oxidación química del sulfuro puede ser conveniente, con la finalidad de incrementar las cargas y eficiencias de degradación de sulfuro, como se mostró en el capítulo 4 mediante la modelación y simulación del proceso sulfooxidante alcalino.

Tabla 5-4 Estimación de las velocidades promedio de degradación en un cultivo por lote en el *BLR*.

Sustrato	Tiempo de consumo (h)	Azufre consumido (mmol L ⁻¹)	Velocidad Volumétrica de consumo (mmol S L ⁻¹ h ⁻¹)
Tiosulfato	17.9	31	1.73
Pentasulfuro	27.4	31	1.13
Sulfuro	32.6	31	0.95

Desafortunadamente el pentasulfuro a concentraciones tan altas como 31 mmol L⁻¹ en azufre, presentó inhibición sobre la actividad sulfooxidante, reduciendo la velocidad de degradación con respecto a la velocidad de degradación de tiosulfato en un 35 %, aunque la velocidad de degradación de sulfuro fue reducida hasta un 50 %.

Se plantea como trabajo futuro, encontrar los límites en las concentraciones de pentasulfuro que nos maximicen las velocidades de degradación.

La forma en que evolucionaron los perfiles de *ORP* para los sustratos azufrados probados, sugieren que la oxidación biológica del sulfuro y pentasulfuro, podrían partir predominantemente de la formación del precursor tiosulfato.

5.2.5 Comparación con otros sistemas experimentales

La tabla 5-5 muestra diferentes sistemas que tratan sulfuro. Se observa que el proceso aquí reportado se encuentra entre los rangos de cargas de H₂S reportados para otros procesos no extremos. Los sistemas biológicos no extremos han sido estudiados ampliamente, demostrando ser opciones convenientes bajo ciertas condiciones. La formación de azufre elemental es una cualidad deseada de un proceso de eliminación de

Capítulo 5

sulfuro, llevado a cabo con éxito por algunos procesos, que son presentados en la tabla 5-5. La producción de azufre elemental no fue un objetivo de esta tesis.

Actualmente el uso de condiciones alcalinas en procesos biológicos no ha sido reportado. El trabajo logrado en esta tesis demuestra que el proceso puede ser aplicado con éxito, aunque las tasas de oxidación específicas son bajas comparadas con procesos donde se involucran microorganismos no extremófilos.

Por lo tanto aun resta trabajo para conseguir una conveniente aplicación del proceso alcalófilo de eliminación de sulfuros, por un lado la optimización de las actividades sulfooxidantes de los microorganismos alcalófilos, y por otro lado trabajo de ingeniería relacionado con el diseño de reactores que promuevan el incremento en la densidad celular, además de la formación y recuperación de azufre elemental del proceso alcalino.

El uso de condiciones extremas en pH para los sistemas reportados en esta tesis, representan opciones de aplicación muy específicas, en esta tesis se proponen algunas de relevancia actual, pudiendo existir otras en el futuro.

Tabla 5-5. Comparación de diferentes sistemas aplicados en la eliminación de sulfuro.

Escala	Tipo de corriente	Agregación de biomasa	pH	[HS ⁻] _{ent} , (mM)	Q _{HS⁻} , (g m ⁻³ h ⁻¹)	ER (%)	Recuperación de S ⁰ (%)	Referencia
Sistemas Fototróficos								
Lab.	Agua Residual	Biopelícula	7	0.03	46	95	--	Kobayashi <i>et al.</i> (1983)
Lab.	Agua Residual	Suspendida	7	0.07	18		70	Khanna <i>et al.</i> (1996)
Lab.	Agua residual	Suspendida	7	0.6-0.9	4.4	100	100	Henshaw <i>et al.</i> (1998)
Sistemas Quimiótrofos								
Piloto	Líquido cáustico de un lavador de H ₂ S	Biopelícula	7-8	--	250	99	100	Buisman <i>et al.</i> (1993)
Lab.	Efluente anaerobio	Flóculos	7	7.27	583	90	80	Janssen <i>et al.</i> (1997)
Lab.	Agua Residual	Flóculos	<3.5	--	96	99	--	Koe I. y Yang F. (2000)
Lab.	Gas amargo	Suspendida	7.4	1.1	79	99	--	McComas <i>et al.</i> (2001)
Lab.	Sosas Gastadas	Lecho Fluidizado	7.5	38.8	137	100	--	Sipma <i>et al.</i> (2004)
Lab.	Agua Residual Sintética	Suspendida	7	60.6	83	100	75	Alcántara <i>et al.</i> (2004)
Lab.	Agua Residual Sintética	Lecho Fluidizado	8	7.3	312 - 1250	100-90	90-65	Krishnakumar <i>et al.</i> (2005)
Lab.	Gas con mal olor	Biopelícula	10	3-18ppm _v	40	90-99	--	Presente estudio
Lab.	Agua Residual Sintética	Suspendida	10	300	140	> 99	--	Presente estudio

Capítulo 5

Durante este capítulo se ha mostrado, que el tratamiento de H_2S en bajas concentraciones en un *BLE*, inoculado con el CAS, se realizó eficientemente, alcanzando una carga crítica de $40 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3}_{\text{reactor}} \text{ h}^{-1}$ con una eficiencia de remoción cercana al 90%. Con la operación del *BLE* se comprobó que el uso de condiciones alcalinas en el proceso de absorción de H_2S incrementa notablemente la velocidad de absorción debido a la eliminación de la resistencia en la fase líquida a la transferencia de H_2S a la fase acuosa, de esta forma sólo la actividad catalítica del CAS determinó el límite en la biodegradación del H_2S en el *BLE*.

La eliminación biológica de sulfuro en condiciones extremas en pH, salinidad y acumulación de sulfato, hacen muy promisorio la aplicación del CAS en el tratamiento de corrientes acuosas cáusticas. La carga de sulfuro de $100 \text{ mmol L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($140 \text{ g HS}^{-} \text{ m}^{-3}_{\text{reactor}} \text{ h}^{-1}$) tratada en el *BLR* fue la mejor en lo que se refiere a la transformación biológica del sulfuro alimentado hacia productos deseados, como el azufre elemental con un rendimiento del 10% y la producción de sulfato. Las capacidades de eliminación están en dentro del rango de sistemas reportados operando con organismos no extremófilos. La separación de la oxidación del sulfuro en dos etapas: química y biológica es conveniente y factible. Por tanto el adecuado diseño de un sistema de tratamiento de corrientes contaminadas con sulfuro debe considerar primeramente el incremento en la densidad de biomasa dentro del biorreactor y la reacción óxica del sulfuro, con el objetivo de incrementar las capacidades de eliminación de sulfuro.

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

Las potencialidades de aplicación del Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante en la remoción de compuestos azufrados reducidos como el H_2S bajo condiciones extremas (pH alcalino, salinidad y acumulación de producción sulfato) son prometedoras. A pesar de que sus actividades cinéticas de crecimiento y sulfooxidación son ligeramente menores a las de otro tipo de microorganismos no extremófilos que han sido aplicados con éxito en el tratamiento de compuestos reducidos de azufre, estas se compensan con las ventajas complementarias asociadas a la mayor capacidad de absorción y la aceleración de reacciones abióticas.

En efecto, la reacción química del sulfuro con el oxígeno disuelto, que es una parte intrínseca del proceso de oxidación biológica alcalina, y que bajo esta condición de pH alcalino, la velocidad de reacción resultó ser significativa cuando la actividad biológica fue baja o nula. La reacción química con la formación de pentasulfuro y tiosulfato, podría ser usada como un recurso que ayude a la desaparición de la inhibición del proceso biológico provocada por altas concentraciones de sulfuro. La reacción química óxica del sulfuro se considera rápida bajo condiciones alcalinas, esta condición puede representar una ventaja con miras a mejorar las eficiencias de oxidación del sulfuro a sulfato. Los resultados de la simulación del modelo cinético propuesto nos sugieren que los procesos de oxidación química y biológica pueden ser separados, permitiendo el tratamiento de mayores cargas de sulfuro con mejores eficiencias de remoción.

Bajo el mismo orden de ideas, la aplicación del Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante en un Biolavador de Recirculación. La operación y diseño del Biolavador de Recirculación se trató de separar los procesos de oxidación química y biológica. La separación de la oxidación del sulfuro en dos etapas: química y biológica resultó factible, aunque durante la operación del Biolavador de Recirculación faltó incrementar notablemente la densidad de biomasa dentro del biorreactor, lo que hubiera representado el incremento de las tasas de oxidación de sulfuro. Se lograron tratar concentraciones de sulfuro de hasta 300 mmol L^{-1} con una carga de sulfuro de $140 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ con más del 99% de eficiencia de remoción, además fue la mejor carga en lo que se refiere a la transformación biológica del sulfuro alimentado a productos deseados, como el azufre elemental con un rendimiento del 10% y la producción de sulfato. Las capacidades

Conclusiones Generales y Perspectivas

sulfooxidantes del Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante en reactor son comparables con las reportadas para organismos no extremófilos.

Por otro lado, se realizó el tratamiento de H₂S gaseoso en bajas concentraciones (malos olores) en un Biofiltro de Lecho Ecurrido inoculado con el Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante. La operación del Biofiltro de Lecho Ecurrido fue capaz de tratar concentraciones de hasta 10 *ppm_v* con tiempos de residencia de lecho vacío menores a 2 segundos, registrando una carga crítica de 40 g H₂S m⁻³ h⁻¹ con una eficiencia de remoción cercana al 90%. Se demostró que la velocidad de absorción del H₂S gaseoso a una fase líquida alcalina se incrementa notablemente con respecto a la velocidad de absorción en condiciones ácidas, especialmente a tiempos de residencia menores a 2 segundos. El reto es mejorar la actividad sulfooxidante del Consorcio Alcalófilo Sulfooxidante, teniendo como límite la segunda restricción del sistema, es decir el flux por transferencia en la fase gas. El incremento en la densidad celular adherida al material de empaque es un medio que podría incrementar las capacidades de eliminación volumétricas de H₂S.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acevedo F. y Gentina J. (2000) Cinética de fermentaciones. En: VI Curso Latinoamericano de Biotecnología. Escuela de Ingeniería Bioquímica – Universidad Católica de Valparaíso. Octubre 2000, Valparaíso, Chile.
2. Akashi, K., Ikeda, S., Shibai, H., Kobayashi, K., y Hirose, Y. (1978). Determination of redox potential levels critical for cell respiration end suitable for l-leucine production. *Biotechnol. Bioeng.*, 20, 27-41.
3. 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.
4. Alcantara S, Estrada I, Vasquez M y Revah S. (1999) Carbon disulfide oxidation by a microbial consortium from a trickling filter. *Biotechnol Lett* 21: 815–819.
5. Alcántara, S, Velasco, A, Muñoz, A, Cid, J, Revah, S, y Razo-Flores, E. (2004). Hydrogen Sulfide Oxidation by a Microbial Consortium in a Recirculation Reactor System: Sulfur Formation under Oxygen Limitation and Removal of Phenols. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 918-923.
6. Allen, E.R. y Phatak, S. (1993) Control of organosulfur compound emissions using biofiltration. Methyl mercaptan. *Proceedings of the 86th Air and Waste Management Association Annual Meeting and Exhibition*, Denver, Colorado, June 13-18
7. Annachhatre, A y Suktrakoolvait P. (2001). Biological sulfide oxidation in a fluidized bed reactor. Environmental Engineering Program, Asian Institute of Technology, Pathumthani, Thailand. *Environ. Technol.*, 22(6), 661-672.
8. Bailón Allegue, L. (2005) Development of a biotrickling filter for the removal of H₂S from biogas. In: *Proceedings of the international congress biotechniques for air pollution control*. A Coruña, Spain, October 5-7.
9. Banciu, H., Sorokin, D., Kleerebezem, R., Muyzer, G., Galinski, E., Kuenen, G. (2004). Growth kinetics of haloalkaliphilic, sulfur-oxidizing bacterium *Thioalkalivibrio versutus* strain ALJ 15 in continuous culture. *Extremophiles*. 8:185–192.
10. Bernstein B (1981) Ecology and economics: complex systems in changing environments. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12, 309-330.

Bibliografia

11. Boltyanskaya, Y.V., Antipov, A.N., Kolganova, T.V., Lysenko, A.M., Kostrikina N.A., Zhilina, T.N. (2004) *Halomonas campisalis*, an obligatorily alkaliphilic, nitrous oxide-reducing denitrifier with a molybdenum cofactor-lacking nitrate reductase. *Microbiology*. 73(3), 271–278
12. Brune, D. C. (1989). Sulfur oxidation by phototrophic bacteria, *Biochim. Biophys. Acta.*, 975, 189-221.
13. Brüser, T., Lens, P. y Trüper, H. (2000). The biological sulfur cycle. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution, Principles and Engineering. Lens P. N. L and Hulshoff Pol L. (Editors). International Water Association, London., 47-85.
14. Buisman, C.J.N., Boer, J.D., Boonstra, J., Paaschens, C.W. M., Sopjes, A., (1993). A new biotechnological method for H₂S removal from biogas. TAAPI proceedings, p.773.
15. Campbell, J.M. (1978) *Gas conditioning and processing*, Vol. 2 (Campbell Petroleum Series, Norman, OK.
16. Cents A.H.G., Brillman D.W.F., Versteeg G.F. (2005) CO₂ absorption in carbonate/bicarbonate solutions: The Danckwerts-criterion revisited. *Chemical Engineering Science* 60, 5830 – 5835
17. Chen, K.Y. y Morris J.C. (1972) Kinetics of oxidation of aqueous sulfide by oxygen. *Environ. Sci. Technol.*, 6, 529-537
18. Cho, K.S., Hirai, M. y Shoda, M. (1991) Removal of Dimethyl Disulfide by the peat seeded with night soil sludge. *J. Ferment. Bioeng.*, Vol. 71, 289-291
19. Cline, J.D., Richards, F.A. (1969) Oxygenation of hydrogen sulfide in seawater at constant salinity, temperature and pH. *Environ. Sci. Technol.*, 3, 838-843
20. Cord-Ruwisch R. (1985) A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *J. Microbiol. Methods*, 4(1), 33-36
21. Cork, D.J., Garunas, R. y Sajjad, A. (1983) *Chlorobium limicola forma thiosulfatophilum* biocatalyst in the production of sulfur and organic carbon from a gas stream containing H₂S and CO₂. *Appl. Env. Microbiol.* 45, 913-918.
22. Dahod, S.K. (1982). Redox potential as a better substitute for dissolved oxygen in fermentation process control, *Biotechnol. Bioeng.*, 24, 2123- 2125.
23. Danckwerts P.V. (1970) *Gas-Liquid Reactions*, Mc Graw-Hill, 1970.

24. Degorce-Dumas, J., Kowai, S., y Le Clorec, P. (1997). Microbiological oxidation of hydrogen sulphide in a biofilter. *Can. J. Microbiol.* 43: 264-271.
25. Ebrahimi S., Kleerebezem R., van Loosdrecht M. C. M. y Heijnen J. J. (2003) Kinetics of the reactive absorption of hydrogen sulfide into aqueous ferric sulfate solutions. *Chemical Engineering Science* 58, 417 – 427
26. Ebrahimi S., Kleerebezem R., van Loosdrecht M. C. M. y Holliger C. (2005) Biological process for H₂S removal; acidophilic or alkalophilic?. In: Proceedings of the international congress biotechniques for air pollution control. A Coruña, Spain, October 5-7.
27. Ergas, S.J. (2001) In *Bioreactors for waste gas treatment*; Kennes, C., Veiga, M. C., Eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands; 163-177.
28. Ergas, S.J., L. Shumway, M.W., Fitch, J., Neemann, J. (1999) "Membrane Process for Biological Treatment of Contaminated Gas Streams," *Biotechnol. Bioeng*, 63, (4), 431-441.
29. Escadafal, C. (2005) Characterization and adaptation of haloalkaliphilic sulfur-oxidizing Consortia to different salinity conditions. *Internship report, National Institute of Applied Sciences (France) and Universidad Autónoma Metropolitana (México)*.
30. Espinosa, J. (2004) Oxidación biológica de compuestos reducidos de azufre en condiciones alcalinas: enriquecimiento y caracterización de consorcios, Tesis de Maestría Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
31. Fischer, H.; Schulz-Ekloff, G. y Wöhrle, D. (1997) *Chem. Eng. Technol.*, 20, 462.
32. Gabriel, D. y Deshusses, M. (2003). Retrofitting existing chemical scrubbers to biotrickling filters for H₂S emission control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 100, No 11: 6308-6312
33. Gilboa-Garber, N. (1971) Direct spectrophotometric determination of inorganic sulfide in biological materials and in other complex mixtures. *Anal Biochem.* 43(1), 129-33.
34. González, A., Revah, S. (2003) Cinética de crecimiento en doble sustrato de un consorcio sulfoxidante de tiosulfato. Memorias Congreso de biotecnología y bioingeniería 2003, Puerto Vallarta, México.

Bibliografía

35. González-Sánchez A. and Revah S. (2006) Product recovery from H₂S containing flue gases. In: Waste gas treatment for resource recovery. Lens P.N.L., Kennes C., LeCloirec P. and Deshusses M. (Editors). International Water Association, London. 399-408.
36. Gonzalez-Sanchez, A. y Revah S. (2007) The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 292–298.
37. Gonzalez-Sanchez, A., Alcantara, S., Razo-Flores, E. y Revah, S. (2005). Oxygen transfer and consumption in a thiosulfate oxidizing bioreactor with sulfur production. *Lett. Appl. Microbiol.* 41, 141–146
38. Hamadi, F., Latrache, H., Mabrouki, M., Elghmari, A., Outzourhit, A., Ellouali, M. y Chtaini, A. (2005) Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass, *Journal of Adhesion Science and Technology*, 19(1), 73–85.
39. Henshaw, P.F., Bewtra, J.K., Biswas, N., (1998). Hydrogen sulphide conversion to elemental sulphur in a suspended growth continuous stirred tank reactor using *chlorobium Limicola*. *Water Res.* 32 (6), 1769–1778.
40. Horikoshi, K. (1991). *Microorganisms in Alkaline Environments*. Kodansha. Tokio. pp 1-4, 5-24, 187-246
41. Hurse, T.J. y Keller, J. (2004). Reconsidering the Use of Photosynthetic Bacteria for Removal of Sulfide from Wastewater. *Biotechnol Bioeng.*, 85, 48-55.
42. 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.
43. Janssen, A.J.H., Arena, B. y Kijlstra, W.S. (2000). New developments of THIOPAQ technology for the removal of H₂S from gaseous steams. *Proceedings Sulphur 2000, San Francisco*.
44. Janssen, A.J.H., Ma, S.C., Lens, P., Lettinga, G. (1997) Performance of a sulphide oxidizing expanded bed reactor supplied with dissolved oxygen. *Biotechnol. Bioeng.* 53 (1), 32–40.
45. Janssen, A.J.H., Meijer, S., Bontsema, J., Lettinga, G. (1998) Application of the Redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 60(2), 147-155

46. Janssen, AJH; Lettinga, G; Keizer, A (1999) Removal of hydrogen sulphide from waste and waste gases by biological conversion to elemental sulphur. *Colloidal and interfacial aspects of biologically produced sulphur particles. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*. 151, 389-397.
47. Janssen, AJH; Meijer, S; Bontsema, J y Lettinga, G (1998). Application of the Redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor. *Biotechnol. Bioeng*, vol.60, no.2, pp. 147-155.
48. Kim S., y Deshusses M.A. (2006) Determination of mass transfer coefficients for packing materials used in biofilters and biotrickling filters. USC-TRG Conference on Biofiltration for Air Pollution Control. October 18–20, Long Beach, California, USA.
49. Khanna, P., Rajkumar, B., Jyothikumar, N., (1996) Microbial recovery of sulphur from thiosulphate bearing wastewater with phototrophic and sulphate reducing bacteria. *Current Microbiol.* 32 (1), 33–37.
50. Kobayashi, H.A., Stenstrom, M., Mah, R.A., (1983) Use of photosynthetic bacteria for H₂S removal from anaerobic waste treatment effluent. *Water Res.* 17 (8), 579–587.
51. Koe, LCC; Yang, F. (2000). Bioscrubber for hydrogen sulphide removal. *Water Science & Technology*. Vol. 41, no. 6, pp. 141-145.
52. Kok (1992). *Biotechniques for air pollution abatement and odour control policies*, 51, p 77-82Kotronarou, A.; Hoffmann, M. R. (1991) *Environ. Sci. Technol.*, 25, 1153.
54. Krishnakumar B, Majumdar S, Manilal VB, Haridas A. (2005) Treatment of sulphide containing wastewater with sulphur recovery in a novel reverse fluidized loop reactor (RFLR). *Water Research.*, 39, 639–647.
55. Krulwich, T.A., M. Ito, y A.A. Guffanti. (2001). The Na⁺ dependence of alkaliphily in Bacillus. *Biochim. Biophys. Acta.* 1505: 158-168.
56. Kurtenacker A. (1924) The aldehyde-bisulfite reaction in mass analysis, *Z. Anal. Chem.*, 64, 56.
57. Lagas J. (2000) Survey of H₂S and SO₂ removal processes. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution, Principles and Engineering. Lens P. N. L and Hulshoff Pol L. (Editors). International Water Association, London, 237-264.

Bibliografía

58. Lewis W.K. y Whitman W.G. (1924). *Ind. Eng. Chem.* 16, 1215.]
59. Li, K., Kong, J. y Tan X. (2000) Design of hollow fibre membrane modules for soluble gas removal. *Chemical Engineering Science*, 55, 5579-5588.
60. Lobo, R., Revah, S. y Viveros, T. (1999) An analysis of a trickle bed bioreactor: Carbon disulfide removal. *Biotechnol Bioeng.*, 63(1), 98- 109.
61. Lobo. R., (1997) Principios de Transferencia de Masa, Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 522 - 527.
62. Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J (1999). Diversidad metabólica de los microorganismos. En: *Biología de microorganismos*. Prentice Hall Iberia. 473-531.
63. McComas, C., Sublette, K., Jenneman, G. y Bala, G. (2001). Characterization of a novel biocatalyst system for sulfide oxidation. *Biotechnol. Prog.* 17, 439-446.
64. McEldowney S, Hardman D, Waite S (1993) Pollution: Ecology and Biotreatment. *Logman Sci. and Tech.*, Singapore. 193-230.
65. McIntush, K., Seeger, D., Rueter, C. y DeBerry, K. (2001) Comparison of technologies for removing sulfur from high pressure sour natural gas with sulfur throughputs between 0.1 and 30 long Tons/Day. *Proceedings of 80th Annual GPA Convention*.
66. Meulepas, R., (2003). Sulfur Formation by a Thiosulfate-Oxidizing Consortium in a Packed Bioreactor-Settler System. *Internship report Wageningen University and Universidad Autónoma Metropolitana*.
67. Mihail, R. y Straja, S. (1988) An analysis of the steady states of a chemostat with applications to its design. *Biotechnol. Bioeng.* 31(1), 87-90.
68. Millero, F.J., Hubinger, S., Fernandez, M. y Garnett, S. Oxidation of H₂S in seawater as a function of temperature, pH, and ionic strength. (1987) *Environ. Sci. Technol.*, 21, 439-443
69. Morgan-Sagastume, J., Revah S., Noyola, A. (1999) Malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales: su control a través de procesos biotecnológicos. *Ingeniería y Ciencias Ambientales, Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. (FEMISCA)*, Año 10, No. 41, marzo-abril.
70. Nielsen, A., Vollertsen, J., Hvitved, F. y Jacobsen, T. (2003) Determination of kinetics y stoichiometry of chemical sulfide oxidation in wastewater of sewer networks. *Environ. Sci. Technol.*, 37, 3853-3858

71. O'Brien DJ, Birkner FB. (1977) Kinetics of oxygenation of reduced sulfur species in aqueous solution. *Environ. Sci. Technol.*, 11, 1114-1120.
72. Ongcharit, C., Sublette, K. y Shah, Y. (1991) Oxidation of hydrogen sulfide by flocculated *Thiobacillus denitrificans* in a continuous culture. *Biotechnol. Bioeng.* 37, 497-504.
73. Pandey, R. A. y Malhotra, S. (1999) Desulfurization of gaseous fuels with recovery of elemental sulfur: an overview. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 29, 229–268.
74. Pfennig, N. y Lippert, K.D. (1966) Über das Vitamin B12-Bedürfnis phototropher Schwefelbakterien. *Arch Microbiol.* 55, 245–256
75. Pomeroy R. (1982) Biological treatment of odorous air. *Journal WPCF*, 54(12), pp. 1541-1545
76. Prasad, R. y Sirkar, K.K. (1992). Membrane based solvent extraction. In: W.S.W. Ho, Sirkar. K. K (Eds.), *Membrane Handbook*. Van Nostrand Reinhold, New York, 727-763
77. Ramirez, M., Gomez, J. y Cantero D. (2005) Removal of hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus Thioparus* in a biofilter packed with polyurethane foam. In: Proceedings of the international congress biotechniques for air pollution control. A Coruña, Spain, October 5-7.
78. Rands, M.B., Cooper, D.E., Woo, C.P., Fletcher, G.C. y Rolfe, F.K. (1981) "Compost filters for H₂S removal from anaerobic digestion and rendering exhausts" *Journal WPCF*, Vol. 53, No. 2, 185-189
79. Reij, M.W., Keurentjes, JTF., Hartmans, S., (1998). Membrane bioreactor for waste gas treatment. *J. Biotech*, 59, 155-167.
80. Reinhoudt, H. y Moulijn J. (2000) Catalytic removal of sulfur from diesel oil by hydrotreating. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution, Principles and Engineering. Lens P. N. L and Hulshoff Pol L. (Editors). International Water Association, London., 87-104.
81. Revah, S, Morgan-Sagastume, J. (2005) Methods for odor and VOC control. In: Biotechnology for Odor and Air Pollution Control. Shareefdeen, Z. Singh, A. editors, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 29-64
82. Revah, S., Acosta, M., Hugler, W., Trinidad, R., Avila, C., Estrada, I. y Hinojosa, A. (1995). Air biodesulfuration from viscose plants: Carbon disulfide

Bibliografía

- elimination, conference on biofiltration (an Air Pollution Control Technology), Los Angeles, California, Oct.5-6.
83. 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, 385-413.
84. Roustan M. (2006) Wet scrubbing for the removal of NH₃ from waste gases. Lens P.N.L., Kennes C., LeCloirec P. and Deshusses M. (Editors). International Water Association, London. 305-319.
85. Schlegel, H.G. (1995). *General Microbiology*. 7th ed. Cambridge University Press, Cambridge
86. Sipma, J., Svitelskaya, A., van der Mark B., Hulshoff P., Lettinga G. y Buisman, C. y Janssen A. (2004) Potentials of biological oxidation processes for the treatment of spent sulfidic caustics containing thiols. *Water Research*. 38 4331–4340.
87. Smith, P., Krohn, R., Hermanson, G., Mallia, A., Gartner, F., Provenzano, M., Fujimoto, E., Goeke, N., Olson, B. y Klenk, D. (1985) Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem*. 150, 76-85.
88. Sorokin, D. y Kuenen, J. (2005) Haloalkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria in soda lakes. *FEMS Microbiology Reviews*. 29(4), 685-702
89. Sorokin, D. Y., Gorlenko, V. M., Tourova, T. P., Lysenko, A. M., Mityushina, L. L. y Kuenen, J. G. (2002b) *Thioalkalivibrio thiocyanoxidans* sp. nov. and *Thioalkalivibrio paradoxus* sp. nov., novel alkaliphilic, obligately autotrophic, sulfur-oxidizing bacteria from soda lakes capable of growth on thiocyanate. *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol*. 52, 657-66.
90. Sorokin, D. Y., Robertson, L. A., & Kuenen, J. G. (2000). Isolation and characterization of obligately chemolithoautotrophic alkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria. *Ant van Leeuwenhoek* 77, 251-260.
91. Sorokin, D. Yu., Lysenko, A. M., Mityushina, L. L., Tourova, T. P., Jones, B. E., Rainey, F. A., Robertson, L. A., y Kuenen, J. G. (2001a). *Thioalkalimicrobium sibiricum* gen. nov., sp. nov., and *Thioalkalimicrobium aerophilum*, sp. nov., and *Thioalkalivibrio versutus* gen. nov., sp. nov., *Thioalkalivibrio nitratis*, sp. nov., and *Thioalkalivibrio denitrificans*, sp. nov., – novel alkaliphilic obligately chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacteria from soda lakes. *Int J Syst Evolut Microbiol* 51, 565-580.

92. Sorokin, D.Y., Govardus, A.H., Lesley, A., Robertson, A. y Kuenen, G.J. (1998) Purification and characterization of sulfide dehydrogenase from alkaliphilic chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacteria. *FEBS Letters*. 427, 11-14.
93. Sorokin, D.Y., Gorlenko, V.M., Tourova, T.P., Kolganova, T.V., Tsapin, A.I., Nealson, K.H. y Kuenen, J.G. (2002a) *Thioalkalimicrobium cyclum* sp. nov. and *Thioalkalivibrio jannaschii* sp. nov., new species of alkaliphilic, obligately chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacteria from a hypersaline alkaline Mono Lake (California). *Int J Syst Evolut Microbiol* 52, 913-920.
94. Sorokin, D.Yu., Kuenen, J.G. y Jetten, M. (2001b) Denitrification at extremely alkaline conditions in obligately autotrophic alkaliphilic sulfur-oxidizing bacterium *Thioalkalivibrio denitrificans*. *Arch Microbiol* 175, 94-101.
95. Stefess, G., Torremans, R., Schrijver, R., Robertson, L. and Kuenen, J. (1996) Quantitative measurement of sulphur formation by steady-state and transient-state continuous cultures of autotrophic *Thiobacillus* species. *Appl Microbiol Biotechnol* 45, 169–175.
96. Steudel R. (2000) The chemical sulfur cycle. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution, Principles and Engineering. Lens P. N. L and Hulshoff Pol L. (Editors). International Water Association, London., 1-31
97. Sublette K, Sylvester N. (1987) Oxidation of hydrogen sulfide by mixed cultures of *Thiobacillus denitrificans* and heterotrophs. *Biotechnol. Bioeng.* 29, 759-761.
98. Sydow, U., Wohland, P., Wolke, I. y Cypionka H. (2002) Bioenergetics of the alkaliphilic sulfatereducing bacterium *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans*. *Microbiology*, 148, 853–860.
99. 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. 1-44.
100. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. (1986). 4th Edition, Vol. A17, pp. 74-101, Weinheim (Federal Republic of Germany): VCH.
101. Van Gemerden, H. (1984) The sulfide affinity of phototrophic bacteria in relation to the location of elemental sulfur. *Arch Microbiol.*, 139: 289–294
102. Van Groenestijn, JW; Hesselink, PGM. (1993) Biotechniques for air pollution control Biodegradation. Vol. 4, no. 4, pp. 283-301.

Bibliografía

103. Velasco, A., Alcantara, S., Razo-Flores, E. y Revah, S. (2004). Partial thiosulfate oxidation by steady-state continuous culture in a bioreactor-settler system. *Chem Technol Biotechnol* 79, 132–139.
104. Visser, J. M., Stefess, G. C., Robertson, L. A. y Kuenen, J. G. (1997). Thiobacillus sp. W5, the dominant autotroph oxidizing sulfide to sulfur in a reactor for aerobic treatment of sulfidic wastes, *Antonie van Leeuwenhoek.*, 72, 127-134.
105. Webster, T.S., Devanny, J.S., Torres, E.M. y Barraí, S.S. (1996) “Biofiltration of odors, toxics and volatile organic compounds from publicly owned treatment works” *Environmental progress*, Vol. 15, No. 3, 141-147.
106. West, J. R. Sulfur Recovery, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 22 Martin Grayson (Editor), Wiley, New York, 1984.
107. Wu L., Loo YY., Koe L. (2001) A pilot study of a biotrickling filter for the treatment of odorous sewage air. *Water Sci. Technol* 44: 295-299
108. Yang, Y. y Allen, E. (1994) Biofiltration control of hydrogen sulfide 1. Design and operational parameters. *J. Air and Waste Manage. Assoc.* 44: 863-868.
109. Zeng, A. (1995) Effect of CO₂ absorption on the measurement of CO₂ evolution rate in aerobic and anaerobic continuous cultures. *Appl Microbiol Biotechnol.* 42, 688-691

APENDICE

Derivación del coeficiente volumétrico individual del lado del gas ($k_G a$)

Se realizó un balance diferencial en la fase gas, alrededor de un elemento diferencial de área de la columna empacada.

$$\frac{1}{\pi r^2} [F_{gas} y_A|_z - F_{gas} y_A|_{z+\Delta z}] - k_G a (p_{Ab} - p_{Ai}^*) \Delta z = 0$$

Se divide toda la expresión entre Δz

$$\frac{1}{\pi r^2} \frac{[F_{gas} y_A|_z - F_{gas} y_A|_{z+\Delta z}]}{\Delta z} - k_G a (p_{Ab} - p_{Ai}^*) = 0$$

Se aplica el concepto de la derivada, tomado el límite cuando $\Delta z \rightarrow 0$

$$\frac{1}{\pi r^2} \lim_{\Delta z \rightarrow 0} \frac{[F_{gas} y_A|_z - F_{gas} y_A|_{z+\Delta z}]}{\Delta z} = P k_G a (y_{Ab} - y_{Ai}^*)$$

Resultando

$$-\frac{1}{\pi r^2} \frac{d[F_{gas} y_A]}{dz} = P k_G a (y_{Ab} - y_{Ai}^*)$$

$$-\frac{F_{gas}}{\pi r^2} \frac{dy_A}{dz} = P k_G a (y_{Ab} - y_{Ai}^*)$$

Reacomodando la anterior expresión, resulta

$$-\frac{F_{gas}}{\pi r^2 P} \frac{dy_A}{(y_{Ab} - y_{Ai}^*)} = k_G a dz$$

Multiplicando toda la expresión por $1/L$

$$-\frac{F_{gas}}{\pi r^2 P L} \frac{dy_A}{(y_{Ab} - y_{Ai}^*)} = \frac{1}{L} k_G a dz$$

Integrando a lo largo de la columna

$$\frac{F_{gas}}{\pi r^2 P L} \int_{y_{A,sal}}^{y_{A,ent}} \frac{dy_A}{(y_{Ab} - y_{Ai}^*)} = \frac{1}{L} \int_0^L k_G a dz$$

Apéndice

De acuerdo con la definición del promedio, se obtiene la expresión para el coeficiente individual volumétrico y promedio del lado del gas, a lo largo de la columna empacada

$$\overline{k_G a} = \frac{F_{gas}}{\pi r^2 P L} \int_{y_{A, sal}}^{y_{A, ent}} \frac{dy_A}{(y_{Ab} - y_{Ai}^*)}$$

Se supone que la reacción química y biológica es muy rápida comparada con el proceso de transferencia, de tal forma que todo A es transformado instantáneamente en la fase líquida, es decir que $y_{Ai}^* \rightarrow 0$

$$\overline{k_G a} = \frac{F_{gas}}{\pi r^2 P L} \int_{y_{A, sal}}^{y_{A, ent}} \frac{dy_A}{y_{Ab}}$$

Realizando la integración

$$\overline{k_G a} = \frac{F_{gas}}{\pi r^2 P L} \ln \left(\frac{y_{A, ent}}{y_{A, sal}} \right)$$

Por convención denotaremos $\overline{k_G a}$ como $k_G a$ sin perder de vista, que este último se trata de un coeficiente promedio a lo largo de la columna empacada (L). El área de la sección transversal de la columna (A_{st}) = πr^2 . Se sustituyen las fracciones parciales de entrada y salida por sus respectivas presiones parciales. De esta forma se obtiene la expresión final mostrada en la ecuación 2-2.

$$k_G a = \frac{F_{gas}}{A_{st} P L} \ln \left(\frac{p_{A, ent}}{p_{A, sal}} \right)$$

Derivación de la ecuación del flujo másico por unidad de volumen de lecho máximo a través de toda la columna (J_r, a)

A partir de un balance diferencial de A en la fase gas

$$-\frac{F_{gas}}{A_{st}} \frac{dy_A}{dz} = P K_G a (y_{Ab} - y_A^*)$$

Se considera que no hay limitación por reacción

$$-\frac{F_{gas}}{A_{st}} \frac{dy_A}{dz} = P K_G a y_{Ab}$$

Integrando analíticamente la expresión anterior se obtiene

$$K_G a = \frac{F_{gas}}{A_{st} P z} \ln \left(\frac{y_{Aent}}{y_A} \right)$$

Despejando y_A se obtiene una expresión en función de la longitud de la columna (z)

$$y_A = y_{Aent} \exp \left[\frac{-A_{st} P K_G a z}{F_{gas}} \right]$$

Definiendo el flujo volumétrico máximo para cada elemento diferencial z

$$\frac{1}{L} J_r a dz = \frac{F_{gas}}{A_{st} L} dy_A = \frac{P K_G a y_{Ab}}{L} dz$$

Integrando la anterior expresión a lo largo de toda la columna se tiene

$$\overline{J_r a} = \frac{P K_G a}{L} \int_0^L y_{Ab} dz$$

Obteniendo

$$\overline{J_r a} = \frac{F_{gas}}{A_{st} L} y_{Aent} \left[1 - \exp \left(\frac{-A_{st} P K_G a L}{F_{gas}} \right) \right]$$

Por convención denotaremos $\overline{J_r a}$ como $J_r a$, sin olvidar que se trata de un parámetro promedio a lo largo de toda la columna empacada.

GLOSARIO.

α	relación molar de consumo O_2/HS^-
A^*	concentración de gas disuelto en equilibrio ($mol\ L^{-1}$)
A_{st}	área de la sección transversal de la columna (m^2)
aw	actividad de agua
B_0	concentración de OH^- ($mol\ L^{-1}$)
BF	Biofiltro
BL	Biolavador
BLE	Biofiltro de Lecho Escurrido
BLR	Biolavador de Recirculación
BRM	Biorreactor de Membrana
CAS	Consortio Alcalófilo Sulfooxidante
CE	Capacidad de Eliminación ($g\ m^{-3}\ h^{-1}$)
C_g	concentración en el seno de la fase gas ($mol\ m^{-3}$)
C_l	concentración en el seno de la fase líquida ($mol\ m^{-3}$)
D	tasa de dilución (h^{-1})
D_A	difusividad del H_2S en agua ($cm^2\ s^{-1}$)
D_B	difusividad del OH^- en agua ($cm^2\ s^{-1}$)
D_{O_2}	difusividad del oxígeno disuelto en agua ($cm^2\ s^{-1}$)
$D_{crítica}$	tasa de dilución crítica (h^{-1})
D_{lavado}	tasa de dilución de lavado (h^{-1})
DZP	Diagramas de Zonas de Predominio
E	factor de mejora
E_H^0	potencial estándar (mV)

ER	eficiencia de eliminación (%)
F_e	constante de Faraday, ($9.64 \cdot 10^5$ coloumb mol ⁻¹)
F_{gas}	flujo molar del aire (mol h ⁻¹)
H	constante de Henry ($[\text{mol m}^{-3}]_{\text{gas}}/[\text{mol m}^{-3}]_{\text{líquido}}$)
H_{mod}	constante de Henry modificada ($\text{mol/m}^3_{\text{aire}}/[\text{mol/m}^3]_{\text{agua}}$)
HS^-	sulfuro
Ja	flujo másico por unidad de volumen de lecho, sin reacción química ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
$J_r a$	flujo másico por unidad de volumen de lecho, con reacción química ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
k	constante de reacción química (h^{-1})
k_{Ga}	coeficiente individual de transferencia en la película gaseosa ($\text{mol atm}^{-1} \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
K_{Ga}	coeficiente volumétrico global de transferencia, referido a las concentraciones en a fase gas ($\text{mol atm}^{-1} \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
K_I	constante de inhibición (mmol L^{-1})
K_{La}	coeficiente volumétrico global de transferencia de H ₂ S referido a las concentraciones en a fase líquida (h^{-1})
K_{La}^r	coeficiente volumétrico global de transferencia de masa con reacción química, referido a las concentraciones en la fase líquida (h^{-1})
k_{La}	coeficiente individual de transferencia de H ₂ S en la película líquida (h^{-1})
K_{O_2}	constante de saturación ($\text{mmol O}_2 \text{L}^{-1}$)
K_{obs}	constante cinética observada (h^{-1})
K_S	constante de saturación sustrato (mmol S L^{-1}).
L	altura de la columna empacada (m)
μ	velocidad específica de crecimiento microbiano (h^{-1})
μ_{max}	velocidad máxima específica del crecimiento microbiano (h^{-1})
m	coeficiente de mantenimiento ($\text{mol HS (g}_{\text{Prot}})^{-1} \text{h}^{-1}$)
$n\bar{e}$	número de electrones transferidos
n_i	moles del compuesto oxidado

Glosario

n_j	moles del compuesto reducido
ORP	potencial de oxido-reducción (mV)
$[ox]$	actividad del compuesto oxidado, (mol L^{-1})
P	presión total del sistema (atm)
p_{Ab}	presión parcial de H_2S en el seno del gas (atm)
p_{Ai}^*	presión parcial de H_2S en la interfase (atm)
p_{Aent}	presión parcial de H_2S a la entrada del BLE (atm)
p_{Asal}	presión parcial de H_2S a la salida del BLE (atm)
Q_{HS^-}	carga de sulfuro ($\text{mmol L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
$Q_{\text{H}_2\text{S}}$	carga másica de H_2S por unidad de volumen de lecho ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$)
q_{O_2}	velocidad de respiración específica ($\text{mmol O}_2 \text{g}_{\text{prot}}^{-1} \text{min}^{-1}$)
q_{O_2X}	velocidad de respiración volumétrica de oxígeno disuelto ($\text{mmol L}^{-1} \text{min}^{-1}$)
q_S	velocidad específica de sulfooxidación ($\text{mmol S}_2\text{O}_3^{2-} (\text{g}_{\text{Prot. h}})^{-1}$)
Q_X	carga de biomasa ($\text{mg}_{\text{Prot}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
R_g	constante de los gases ($8.31 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)
r_{HS^-}	velocidad de desaparición de sulfuro por reacción química ($\text{mmol L}^{-1}\text{h}^{-1}$)
$r_{\text{SO}_3^{2-}}$	velocidad de producción de sulfito ($\text{mmol SO}_3^{2-} \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
$r_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}$	velocidad de producción de tiosulfato ($\text{mmol S}_2\text{O}_3^{2-} \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
r_i	velocidad de la reacción biológica ($\text{mmol L}^{-1}\text{h}^{-1}$)
rpm	revoluciones por minuto
$[red]$	actividad del compuesto reducido (mol L^{-1})
$[\text{S}_T]_{in}$	concentración inicial de azufre total (mmol L^{-1})
S	concentración del sustrato azufrado disuelto (mmol L^{-1})
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	tiosulfato
S_5^{2-}	pentasulfuro

SO_3^{2-}	sulfito
SO_4^{2-}	sulfato
S_x^{2-}	polisulfuro
T	temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
$TRLV$	tiempo de residencia de lecho vacío del gas (s)
U_z	velocidad lineal del líquido (m h^{-1})
V_a	volumen aerador (m^3)
V_{lecho}	volumen de lecho vacío (m^3)
V_r	volumen de reactor (m^3)
V_s	volumen sedimentador cónico (m^3)
vvm	volumen de aire por volumen de líquido por minuto
X	concentración de proteína contenida en la biomasa CAS ($\text{mg}_{\text{Prot}} \text{L}^{-1}$)
y_{Ab}	fracción parcial de H_2S en el seno del gas (atm)
y_{Ai}^*	fracción parcial de H_2S en la interfase (atm)
y, z	ordenes de reacción
$Y_{\text{SO}_4^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}$	rendimiento a sulfato a partir de tiosulfato
$Y_{\text{SO}_4^{2-}/\text{HS}^-}$	rendimiento a sulfato a partir de sulfuro
$Y_{X/S}$	coeficiente de rendimiento biomasa/sustrato
z	moles del OH^- que reaccionan con un mol de H_2S disuelto



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*

División de Ciencias Básicas e Ingeniería

**Estudio de la oxidación biológica de
compuestos reducidos de azufre por un
consorcio alcalófilo en un biorreactor.**

Tesis que para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias (Ingeniería Química) presenta:

M en I.Q. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ

[Handwritten signature]
Vo Bo
Sergio Rivas

México DF.

Diciembre, 2006