



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA**

---

---

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS  
QUE DETERMINAN LA OXIDACIÓN  
BIOLÓGICA DE TIOSULFATO EN  
AZUFRE ELEMENTAL**

**TESIS QUE PRESENTA EL  
ING. JUAN ANTONIO VELASCO TREJO  
PARA LA OBTENECION DEL GRADO DE  
MAESTRO EN INGENIERIA QUIMICA**



**UNIVERSIDAD AUTONOMA  
METROPOLITANA  
IZTAPALAPA**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BASICA E INGENIERIA**

MÉXICO. D. F.

MAYO / 2001.

## **AGRADECIMIENTOS**

La tesis se realizó en el laboratorio de emisiones gaseosas (W-107) de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa bajo el asesoramiento del Dr. Sergio Revah Moiseev. Asimismo, fue supervisada, como parte del comité tutorial, por el Dr. Sergio Alcantara, Dr. Ricardo Lobo y el Dr. Elías Razo.

La realización de la maestría fue económicamente sostenida por la Beca-crédito otorgada por el CONACyT, así como por el apoyo económico otorgado por el IMP.

Todo mi agradecimiento:

A mis padres por darme la vida, por soportar mis malos momentos y sobre todo por darme su invaluable apoyo moral y económico.

A mis hermanos Jorge y Luis por su apoyo.

A mi novia Mari cruz por darme su amor y apoyo en todo momento.

A mis tíos, primos y abuela (teresa) por su apoyo.

Al Dr. Sergio Revah por sus atenciones y apoyo en la realización de este trabajo.

A los integrantes del comité tutorial por sus atenciones y comentarios para mejorar este trabajo.

A mis compañeros y amigos del W-107.

A CONACYT y al IMP por el apoyo económico que me otorgaron.

225975

**Índice****Resumen**

<b>Introducción</b>	5
<b>I. Antecedentes</b>	7
I.1 Los contaminantes del ambiente	9
I.2 Contaminación con compuestos de azufre	10
I.2.1 Oxidos de azufre	11
I.2.2 Acido sulfhídrico	11
I.2.3 Tiosulfato	13
I.2.4 Compuestos orgánicos volátiles de azufre	13
I.3 Química del azufre	14
I.3.1 Los estados de oxidación del azufre	14
I.4 El ciclo de azufre	18
I.4.1 Importancia del ciclo del azufre	19
I.5 Bacterias sulfoxidantes	20
I.5.1 Bacterias "incoloras" del azufre	20
I.5.2 Energía de la oxidación de los compuestos reducidos de azufre	22
I.5.3 Rutas bioquímicas de la oxidación de compuestos reducidos de azufre	23
I.6 Comparación entre procesos biológicos y procesos fisicoquímicos	24
I.7 Métodos biológicos de eliminación de compuestos reducidos de azufre	27
I.7.1 Oxidación anaerobia por bacterias fotosintéticas	27
I.7.2 Oxidación por microorganismos desnitrificantes	28
I.7.3 Oxidación por un proceso químico-biológico	28
I.7.4 Oxidación por bacterias "incoloras del azufre"	29
I.8 Sistemas desarrollados para favorecer la acumulación de azufre elemental	30
I.8.1 Estudios realizados en reactores totalmente agitados (RTA)	30
I.8.2 Estudios realizados en biofiltros (BF)	32
I.8.3 Estudios realizados en biolavadores de lecho escurrido (BLE)	34
I.8.4 Estudios realizados en nuevas configuraciones de reactores	34
I.9 Estudio de acumulación de azufre por saturación de sustrato	36
I.10 Estudio de la oxidación biológica del tiosulfato	37

---

<b>II. Objetivos</b>	40
<b>III. Material y Métodos</b>	41
<b>IV. Resultados y Discusión</b>	50
IV.1 Diseño y caracterización del sistema experimental	50
IV.1.1 Determinación de la distribución del tiempo de residencia	51
IV.1.2 Aplicación del modelo de tanques en serie	55
IV.1.3 Calculo de la fracción del volumen muerto	58
IV.2 Desempeño del sistema empleado en la eliminación biológica de tiosulfato	59
IV.2.1 Arranque del sistema	61
IV.2.2 Efecto de la limitación de oxígeno	63
IV.2.3 Efecto del aumento de carga de tiosulfato y limitación de oxígeno	69
IV.2.4 Obtención de la máxima conversión de tiosulfato en azufre elemental	76
IV.3 Tasa de oxidación de tiosulfato	82
IV.4 Aspectos físicos del proceso	84
IV.4.1 Sólidos suspendidos y sedimentados	85
IV.4.2 Determinación de la velocidad libre de sedimentación	86
<b>V. Conclusiones y recomendaciones</b>	90
<b>VI. Recomendaciones</b>	92
<b>VI Bibliografía</b>	93

## Nomenclatura

A continuación se dan a conocer los símbolos empleados circunstancialmente y definidos en cada caso.

$C_p$	Concentración de productos (P); $S^0$ , $SO_4$ , $SO_3$
$C_R$	Concentración de reactivos (R); $S_2O_3^{-2}$ , $O_2$ .
$C_T$	Concentración de trazador.
$C_x$	Concentración de proteína X.
$C_\theta$	Respuesta adimensional de una señal trazadora de salida.
$D$	Tasa de dilución.
$D_A$	Tasa de dilución de alimentación.
$D_R$	Tasa de recirculación.
$d_{int}$	Diámetro interno del reacto.
$E$	Función de distribución de edad a la salida, adimensional.
$F_A$	Flujo de entrada de alimentación.
$F_r$	Flujo de recirculación.
$F_t$	Fuerza total del fluido sobre una esfera.
$F_{vm}$	Fracción de volumen muerto.
$g_a$	Fuerza de gravedad.
$\Delta G^0$	Entalpia libre de Gibbs
$J$	Área bajo la curva concentración-tiempo.
$K_m$	Constante de saturación.
$N$	Número de reactores agitados del mismo tamaño en serie.
$Q_x$	Tasa de crecimiento.
$t$	Tiempo.
$R$	Tasa de oxidación de tiosulfato.
$R_{max}$	Tasa máxima de oxidación de tiosulfato.
$R_p$	Radio de partícula.
$\bar{t}$	Media de una distribución continua.
$T_{RHideal}$	Tiempo de residencia hidráulico ideal.
$V_a$	Volumen del aireador
$V_{act}$	Volumen activo del sistema
$V_{asc}$	Velocidad de ascenso del líquido en el interior del reactor.
$V_r$	Volumen del reactor.
$V_T$	Volumen total del sistema.
$V_\infty$	Velocidad constante de caída de una esfera.
$W_{s.sd}$	Peso de sólido sedimentado en el reactor
$W_{s.sp}$	Peso de sólido suspendido en el líquido.
$Y_x$	Rendimiento en crecimiento.

### Símbolos griegos

$\theta$	$t/\bar{t}$ ; Tiempo adimensional
$\sigma^2$	Varianza de la curva de trazador
$\rho$	Densidad
$\mu$	Viscosidad

## Resumen

Dentro de los contaminantes de importancia a nivel mundial, los que contienen azufre tienen gran relevancia debido al impacto ambiental adverso que provocan en los ecosistemas. Su emisión al ambiente está asociada a la lluvia ácida, fenómenos de corrosión, mal olor y daños a la salud. El azufre y los compuestos que se forman se intercambian en la naturaleza, por reacciones de oxidación-reducción tanto químicas como biológicas que constituyen el ciclo del azufre. Este consta de dos etapas: una etapa de reducción y una etapa de oxidación. En este trabajo, se estudió la parte oxidativa del ciclo con el fin de establecer las condiciones que favorecen la oxidación biológica de los compuestos reducidos en azufre elemental, mediante un consorcio de microorganismos sulfooxidantes en una nueva configuración de reactores que favorecen la acumulación de azufre elemental y su posterior recuperación.

En este trabajo se describe el diseño, caracterización y el desempeño de una nueva configuración de reactores y sus condiciones de operación que favorecen la oxidación biológica parcial de compuestos reducidos de azufre. El diseño del sistema consistió en:

- a) Separa la aireación del reactor, lo cual permite mantener niveles bajos de oxígeno (1 mg/L) que favorezcan la oxidación del tiosulfato en azufre elemental, dentro del reactor. El grado de limitación de oxígeno en el reactor estará en función principalmente del flujo de recirculación que va del aireador al reactor.
- b) Crear una zona sin turbulencias en el reactor (parte baja), esto permitirá que la mayor cantidad de azufre elemental formado tienda a sedimentar en el fondo del reactor, para su posterior recuperación y cuantificación.

Por otra parte, este tipo de sistema permite ajustar la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ), por medio de las cargas de oxígeno y tiosulfato que entran al reactor.

En este trabajo se determinó que en relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) > 1.0, el sulfato es el principal producto de la oxidación biológica de tiosulfato, mientras que a relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) entre 0.7 y 1.0, se favorece la formación de azufre elemental, obteniéndose la máxima formación de este compuesto (65%) en la relación molar de 0.830. También se determinó que al evaluar las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) < 1.0, existió una mayor formación de los productos más oxidados de la que se esperaba en las relaciones molares experimentales determinadas en el reactor, lo cual se tradujo en una diferencia entre las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) experimentales calculadas por las cargas de oxígeno / tiosulfato en el reactor y las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinadas por el balance de oxígeno presente en el producto de oxidación. Esto hizo suponer que existió una contribución de las condiciones presentes en el aireador (oxígeno disuelto y tiempo de residencia) sobre los productos más oxidados, mientras que en el reactor dadas las condiciones de bajo nivel de oxígeno se llevó a cabo la oxidación parcial del tiosulfato en azufre elemental.

Por otra parte, el sistema experimental permitió el retiro del 70% del total de sólidos presentes en el sistema por medio de la sedimentación, los cuales eran retirados diariamente del fondo del reactor. De acuerdo a los resultados estos aglomerados mantienen una relación de un 90% azufre y 6% biomasa activa. El tamaño de partícula y la velocidad de sedimentación promedio de estos aglomerados se determinó en 150 micras y 750 cm/h, respectivamente.

## INTRODUCCIÓN

El ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) se emite al ambiente por un gran número de industrias como la petroquímica, tenerías, producción de rayón y celofán, como resultado del tratamiento anaerobio de aguas residuales que contienen sulfatos, de la extracción de gas natural (Groenestijn y col., 1998; Revah y col., 1995; Torres y col., 1993; Buisman y col., 1989; Sublette y col., 1987). Sus propiedades corrosivas están relacionadas con el daño a tuberías, válvulas y bombas, paredes de los reactores; su emisión al ambiente además de su toxicidad genera olores desagradable y lluvia ácida. Actualmente el proceso comercial más utilizado para la eliminación de este ácido proveniente de la extracción de gas natural es el proceso Claus o Stretford (Nagl, 1997). Sin embargo, el enfoque para resolver los problemas de contaminación en la última década se ha modificado y los procesos fisicoquímicos en uso, con altos consumos de energía y generación de contaminantes secundarios, empiezan a tener un complemento y alternativa en los procesos biotecnológicos, particularmente en concentraciones bajas de contaminantes, donde los procesos fisicoquímicos son ineficientes. Estos procesos han cobrado cada vez mayor interés y la investigación desarrollada ha sido aplicada a procesos industriales con resultados exitosos. Los procesos biológicos de tratamiento de efluentes con compuestos de azufre tienen una aplicación diversificada. Se han utilizado en el tratamiento de corrientes acuosas contaminadas con sulfuros, sulfatos y tiosulfato. También de corrientes de aire contaminadas con sulfuro, bisulfuro y compuestos orgánicos volátiles de azufre (VOCS). En el caso del tratamiento de gases contaminados (incluido el "biogas" proveniente del tratamiento de aguas contaminadas con sulfato, sulfuro, bisulfuro y VOCS los sistemas que se han utilizado son principalmente biofiltros y biolavadores de lecho escurrido (Groenestijn y Hesselink, 1993).

Por otro lado, en corrientes acuosas contaminadas con compuestos de azufre reducidos se han implementan diversos tipos de reactores completamente agitados (Buisman, 1987, Janssen, 1995) y de lecho fluidizado (Gommers y col. 1988a); así como otros diseños de reactor que permitan mantener bajas concentraciones de oxígeno para la oxidación biológica del  $H_2S$  en azufre elemental por bacterias sulfoxidantes y optimizar la recuperación de azufre elemental (Janssen, 1997).

El trabajo que a continuación se presenta se encuentra dentro del marco de referencia del desarrollo de nuevas configuraciones de reactores que permiten la formación y recuperación de azufre elemental a partir de la oxidación biológica de compuestos reducidos de azufre de corrientes acuosas, este trabajo esta dividido en 7 capítulos.

En el capítulo 1, se da a conocer al lector un panorama amplio acerca de los antecedentes del tema de la oxidación biológica de compuestos reducidos de azufre, iniciando este capítulo con las características físicas y químicas de los diferentes compuestos de azufre catalogados como contaminantes, posteriormente se presentan las características principales y la clasificación de las bacterias sulfoxidante y por último se dan a conocer los métodos biológicos empleados en la eliminación de compuestos reducidos de azufre, así como sistemas desarrollados para favorecer la formación y acumulación de azufre elemental. En el capítulo 2, se dan a conocer el objetivo general y los objetivos particulares que fueron la base para la realización del proyecto de investigación. En el capítulo 3, se describen los métodos, dispositivos y condiciones experimentales bajo los cuales el trabajo experimental fue desarrollado. En el capítulo 4, se dan a conocer los resultados experimentales y las discusiones de estos resultados, los cuales se presentan en cuatro secciones correspondientes al diseño, caracterización, desempeño y aspectos físicos del sistema experimental. En los capítulos 5 y 6, se presentan las conclusiones del trabajo experimental desarrollado y las recomendaciones para trabajos futuros, respectivamente. Por último en el capítulo 7, se presenta la bibliografía referente al proyecto de investigación.



## I. Antecedentes

El interés de la contaminación ambiental es relativamente reciente si consideramos que es a partir de los años 70 cuando cobra importancia como fenómeno social<sup>1</sup>. Se afirma también que es "reciente" pues aunque el término existe desde hace 30 años, las acciones para su prevención y control han sido escasas y limitadas, siendo en los últimos años cuando se le ha dado mayor importancia a las medidas de control de contaminantes, lo cual es palpable en las grandes ciudades, como el D.F., en los días de contingencia ambiental. Las causas del constante deterioro del ambiente es complejo y su estudio, para su entendimiento, se realiza por los teóricos de las ciencias sociales. En una revisión de las teorías antropológicas relacionada al estudio de la interacción del hombre con la naturaleza, Bennet (Bernstein, 1981) delinea tres aspectos básicos de esta relación que es implícita del deterioro ambiental: (a) la tendencia a buscar siempre una mayor cantidad de energía para satisfacer las necesidades humanas; (b) el incremento del tamaño de la sociedad y sus sistemas de comunicación; y (c) la creciente incorporación de la naturaleza dentro de los sistemas humanos de cultura.

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

Entre las fuentes de contaminantes se pueden distinguir: a) los naturales como la proveniente de volcanes, incendios forestales; y b) los no naturales divididos en dos tipos: los móviles como los vehículos automotores y los fijos como el proveniente de industrias, oficinas y hogares entre otros. En la ciudad de México, por ejemplo, se reportó que en el año de 1992 (SGEEyPA, 1992) funcionaban diariamente 3 millones de vehículos automotores, operaban más de 30 mil empresas industriales y 12 mil establecimientos de servicios que, sumado a las actividades domésticas y áreas ecológicamente degradadas, dieron como resultado la emisión de 4 millones 300 mil toneladas de contaminantes emitidos a la atmósfera.

Cabe señalar que en las grandes ciudades, las fuentes no naturales rebasan significativamente a

---

<sup>1</sup>En nuestro país la legislación ambiental inició en 1971 con la promulgación de la Ley Federal para Prevenir y Controlar la Contaminación. A esta ley le han seguido dos más, a saber: La Ley Federal de Protección del Ambiente en 1982 y reformada en 1984; y la Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección del Ambiente en 1988, vigente hasta la fecha. Esta última se encuentra integrada por 194 disposiciones permanentes y seis títulos cuyo contenido es: las disposiciones generales, las áreas naturales protegidas, el aprovechamiento racional de los elementos naturales, la protección del ambiente, la participación social, y las medidas de control de seguridad y sanciones.

las provenientes de fuentes naturales. Al respecto se reporta que en el caso del bióxido de azufre se emiten anualmente en la ciudad de México, en forma global, aproximadamente 205 725 toneladas, de las cuales menos del 0.5% proviene de fuentes naturales (SGEEyPA, 1992).

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

En la actualidad el enfoque para resolver los problemas de contaminación se ha modificado y los procesos fisicoquímicos en uso, con altos consumos de energía y generación de contaminantes secundarios, empiezan a tener un complemento y alternativa en los procesos biotecnológicos, particularmente en concentraciones bajas de contaminantes, donde los procesos fisicoquímicos son ineficientes. Estos procesos han cobrado cada vez mayor interés y la investigación desarrollada ha sido aplicada a procesos industriales con resultados exitosos. Por ejemplo, en el país se desarrolló y patentó un proceso biológico para eliminar ácido sulfhídrico y bisulfuro de carbono provenientes de una industria de fabricación de rayón y celofán con una capacidad para tratar hasta 700 m<sup>3</sup>/min de aire contaminado (Torres y col., 1993).

La investigación de la eliminación biológica de compuestos reducidos de azufre se puede integrar en tres etapas: (a) la investigación básica; (b) el trabajo de ingeniería y el desarrollo de equipo a nivel laboratorio y planta piloto; y (c) la aplicación a gran escala. La dinámica de trabajo del laboratorio, para el tratamiento de emisiones gaseosas de la UAM-I, donde fue realizado el proyecto de investigación, permite una interacción en los tres niveles mencionados. El propósito ha sido: (a) incrementar el conocimiento de la fisiología y metabolismo microbiano, formación de biopelícula y técnicas microbiológicas de los microorganismos sulfoxidantes; (b) el diseño de equipo que permita la oxidación parcial de los compuestos reducidos de azufre de interés; y (c) su aplicación a nivel industrial, e.g. en la industria del petróleo para el tratamiento de "aguas amargas".

Los microorganismos sulfoxidantes empleados en los procesos biológicos de eliminación de compuestos reducidos de azufre son los del género *Thiobacillus*. Estos presentan la característica de oxidar compuestos como el ácido sulfhídrico, bisulfuro de carbono, dimetil sulfuro, azufre, tiosulfato y sulfito entre otros, para obtener energía. El producto final de la

oxidación es el sulfato pero bajo ciertas condiciones de cultivo la oxidación puede ser parcial, permitiendo la acumulación de azufre elemental, lo cual constituye una ventaja tanto económica y de reducción de contaminantes secundarios (sulfato). Este tema de investigación se inscribe en proyectos de investigación de interés mundial y nacional, ubica al grupo de trabajo como punto de referencia en América Latina.

## I.1 Los contaminantes del medio ambiente

La EPA (Environmental Protection Agency) define un contaminante como cualquier sustancia (sólida, líquida o gaseosa) introducida en el ambiente que afecta adversamente un recurso natural (Hill, 1997b). El mismo organismo señala que en Estados Unidos se invierten anualmente (1997) 140 billones de dólares para el control y la eliminación de contaminantes. Pronostican que dicha cantidad se incrementará a 160 billones de dólares por año, 2.8 % del producto interno bruto, para el 2000. Estos datos son interesantes ya que señalan la importancia que en el próximo milenio tendrá la investigación en el área de contaminación, e.g. prevención, regeneración, eliminación y por otro lado, su impacto en términos económicos. En nuestro país, si bien no existen datos al respecto, basta señalar que al área de investigación se destina el 0.3 % del PIB.

Una clasificación de contaminantes, en inorgánicos y orgánicos, se da en Tabla I.1. Si bien se han establecido diferentes formas de clasificación, cualquiera de ellas es adecuada y sirve como marco de referencia para el estudio de la problemática ambiental y normatividad sobre generación de contaminantes. Por otro lado, el hecho de que en cada país se promulgue una legislación ambiental de acuerdo a su criterio hace que las definiciones e intervalos de emisión de contaminantes no sean unívocas. Aunque muchas veces se tomen los criterios internacionales, a falta de investigación en los países menos desarrollados, como punto de referencia para la creación de una legislación lo más apropiada posible.

Tabla I.1 Grupos de contaminantes. (Hill,1997)

<b>Grupos</b>	<b>Orgánicos o inorgánicos</b>
<u>Orgánicos</u> PCBs, hidrocarburos, pesticidas	
<u>Inorgánicos</u> Sales, nitrato, metales	Las sales y el nitrato son inorgánicos, pero los metales pueden existir como contaminantes organometálicos (e.g. metilmercurio, pirita en el carbón)
<u>Acidos</u> Sulfúrico, sulfhídrico, nítrico	Los ejemplos mencionados son ácidos inorgánicos. Los ácidos orgánicos se producen en pequeñas cantidades
<u>Partículas</u> Suelos, cenizas	Tanto los suelos como las cenizas tienen una composición variable de componentes orgánicos e inorgánicos
<u>Radiológicos</u> Radón, radio, uranio	Los ejemplos son elementos inorgánicos
<u>Biológicos</u> Microorganismos patógenos	Los organismos vivos son básicamente orgánicos, pero contienen componentes inorgánicos que se presentan en los procesos de mineralización

## I.2 Contaminación con compuestos de azufre

Entre los compuestos de azufre de mayor importancia que se emiten a la atmósfera se encuentran el SO<sub>2</sub>, el H<sub>2</sub>S, el CS<sub>2</sub> y los compuestos orgánicos volátiles de azufre. La forma como se emiten y otras características de estos compuestos se explican a continuación.

### I.2.1 Oxidos de azufre

El dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) y el trióxido de azufre (SO<sub>3</sub>) junto con sus ácidos correspondientes y sus sales en macropartículas son contaminantes frecuentes en las atmósferas urbanas industriales. Estos compuestos, contribuyen a incrementar los problemas de partículas respirables y de visibilidad por medio de la formación de sulfato y la aglomeración con otros gases y partículas con los que interactúan. Asimismo, actúan como precursores en la formación de la lluvia ácida a través de reacciones químicas en la atmósfera (Mackenzie 1995; Bettelheim y Billinge, 1983; Bailey y col., 1978).

De los óxidos de azufre, el SO<sub>2</sub> es la emisión industrial de mayor importancia del grupo de compuestos contaminantes que contienen azufre y se ha estimado que cerca del 90% de la emisión total de SO<sub>2</sub> hecha por el hombre, proviene de la utilización de combustibles fósiles. Por ejemplo, se ha estimado que las industrias que generan electricidad quemando carbón o derivados del petróleo son responsables de más del 50% del total de la emisión de SO<sub>2</sub>. Esta emisión varía considerablemente de acuerdo con la naturaleza y origen del combustible, ya que su contenido de azufre generalmente varía de 0.1 a más del 5%. Así, una termoeléctrica de carbón para generar 100 MW requiere alrededor de 9000 toneladas por día de combustible y en caso de que este contenga 2% de azufre se generarán 360 toneladas diarias de SO<sub>2</sub> (Janssen, 1996). Este compuesto no es inflamable y es perceptible en concentraciones menores a 0.1 ppm. Por encima de 0.3 ppm se puede detectar por el sabor y a niveles de 1 ppm produce una sensación fuerte de malestar en la nariz. También se emiten cantidades considerables de estos compuestos en los procesos de transformación de plomo y zinc, producción de ácido sulfúrico, así como en algunos procesos de refinación del petróleo. Por otra parte el ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) emitido por algunos procesos de degradación biológica y procesos industriales se oxida en el aire produciendo SO<sub>2</sub> (Perero, 1996; Warner, 1980; Bailey y col., 1978).

### I.2.2 Acido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S)

El H<sub>2</sub>S se emite al ambiente por un gran número de industrias como la petroquímica, tanerías, producción de viscosa y celofán, como resultado del tratamiento anaerobio de aguas residuales que contienen sulfato, de la extracción de gas natural y es un intermediario de la oxidación biológica de CS<sub>2</sub> (Groenestijn y col., 1998; Revah y col., 1995; Torres y col., 1993; Buisman y col., 1989; Sublette y col., 1987). Sus propiedades corrosivas están relacionadas con el daño a paredes de concreto de los reactores, sistemas de drenaje, y tuberías de acero; su emisión al

ambiente además de su toxicidad genera olores desagradable y lluvia ácida. Su característico olor a huevo-podrido es perceptible en aire fresco en diluciones de 1 ppm de aire. En la Tabla I.2 se muestran los niveles de toxicidad del ácido sulfhídrico y sus efectos sobre la salud. Es de destacar las bajas concentraciones en que el compuesto es tóxico.

**Tabla I.2** Niveles de toxicidad del H<sub>2</sub>S y su efecto en la salud. (Janssen,1996)

Concentración de H <sub>2</sub> S	Efecto
1 ppm	Mal olor (olor a huevo podrido).
10 ppm	Máxima exposición permitida en áreas de trabajo por 8h.
20 ppm	Se requiere de equipo de protección.
100 ppm	Puede causar dolor de cabeza y náusea, pérdida del sentido del olfato de 2 - 15 min.
200 ppm	Rápida pérdida del sentido del olfato, ardor de ojos y tráquea.
500 ppm	Pérdida de equilibrio y de razonamiento, insuficiencia respiratoria en 200 min.
700 ppm	Inconciencia inmediata, sin un tratamiento adecuado para respiratorio y muerte.

Por ejemplo, en el caso del gas natural, este debe contener niveles aceptables de sustancias tóxicas antes de su distribución y venta. Se ha establecido que este producto destinado al mercado de combustibles debe contener no más de 0.18 Molar de H<sub>2</sub>S bajo condiciones estándar de 101.3 kPa y 0 °C. De acuerdo a Sublette (1987) el problema más común de esta industria es la eliminación y manejo del H<sub>2</sub>S, por los problemas de corrosión debido al contacto con hierro y acero en tanques, tuberías, válvulas y bombas. Para resolver este problema, este autor propone la utilización de un sistema biológico de oxidación con *Thiobacillus denitrificans* (Sublette, 1987).

### I.2.3 Tiosulfato

El tiosulfato ( $S_2O_3^{2-}$ ) es un anión metaestable que tiende a su descomposición química en soluciones acuosas. Las soluciones diluidas del compuesto, 0.01 Molar o menores, se descomponen más rápidamente que las soluciones concentradas, 0.1 Molar o mayores. Junto con otros compuestos de azufre el tiosulfato es altamente "agresivo" por los problemas de corrosión asociados al mismo. El tiosulfato se utiliza en la industria de la fotografía, en la industria del papel y en la industria farmacéutica. Por lo tanto se encuentra como contaminante en las aguas de desecho de estas industrias. La industria del petróleo, de acuerdo a Khana y col. (1996), también emite como contaminante a este compuesto. Es claro que por sí mismo el tiosulfato no es un factor de deterioro ambiental sin embargo, sus productos de la oxidación biológica o química ( $SO_4^{2-}$ ), o bien su reducción biológica en condiciones anaerobias ( $H_2S$ ) tienen fuerte impacto ambiental (Suzuky, 1999; Dhawale, 1993).

### I.2.4 Compuestos orgánicos volátiles de azufre.

Además de las formas inorgánicas de azufre, existe un amplio conjunto de compuestos orgánicos de azufre que son sintetizados por los seres vivos, y que también desempeñan un papel en el ciclo biogeoquímico del azufre. El compuesto orgánico de azufre más abundante en la naturaleza es el dimetil sulfuro ( $H_3C-S-CH_3$ ), el cual se origina principalmente en ambientes marinos como producto de la degradación de propionato de dimetil sulfonato, que es uno de los principales osmoreguladores de las algas marinas. La producción de este compuesto es muy abundante y se producen más de 45 millones de toneladas anuales. El dimetil sulfuro que se difunde en la atmósfera experimenta una oxidación fotoquímica que produce ácido metanosulfónico ( $CH_3SO_3^-$ ),  $SO_2$  y  $SO_4^{2-}$ . Existen muchos otros compuestos de azufre orgánicos entre los que se pueden señalar: el metanotiol ( $CH_3SH$ ), el dimetildisulfuro ( $CH_3-S-S-CH_3$ ) y el bisulfuro de carbono (Madigan y col., 1999).

La descomposición de los aminoácidos que contienen azufre, metionina y cisteína, de la materia orgánica en descomposición produce los compuestos orgánicos de azufre volátiles. Estos compuestos tienen particular relevancia por su mal olor en los procesos anaerobios de tratamiento de desechos de la bio-industria (Smet y Van Lagenhobe, 1998). Entre los compuestos que se han identificado se encuentran el metanotiol (descomposición de cebada), el dimetil sulfuro (descomposición de vegetales), demetilpolisulfuros ( $Me_2S_x$ , putrefacción) y el bisulfuro de carbono ( $CS_2$ , hortalizas con compuestos de azufre, aromáticas).

Por otro lado, el bisulfuro de carbono también es un compuesto azufrado de importancia

industrial. Este compuesto se utiliza en la fabricación de viscosa (precursor de rayón y esponjas) y celofán así como en la producción de fertilizantes. Se ha reportado que en la industria de viscosa y celofán se emiten a la atmósfera concentraciones del compuesto de hasta 4000 ppm (Estrada, 1998).

### I.3 Química del azufre

La química del azufre es sumamente compleja. Su estudio permite entender la diversidad de compuestos y sus propiedades químicas, que se detectan en las reacciones tanto químicas como enzimáticas del ciclo del azufre. Podría afirmarse que su complejidad se presenta debido a los diferentes estados de oxidación del azufre (Tabla I.3), así como por su característica de formar cadenas poliméricas (Tabla I.4).

#### I.3.1 Los estados de oxidación del azufre

Los principales estados de oxidación del azufre son -2, 0, +4 y +6, lo que permite encontrar muchas especies importantes de azufre como los que se muestran en la Tabla I.3, las cuales se describen a continuación:

<b>Tabla I.3</b> Estados de oxidación del azufre		
Estado de oxidación	Ejemplo	Formula
+6	Sulfato	$\text{SO}_4^{2-}$
+4	Sulfito	$\text{SO}_3^{2-}$
+3	Ditionito	$\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$
+2	tiosulfato	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$
0	Azufre	$\text{S}^0$
-2	Sulfuro	$\text{S}^{2-}$

<b>Tabla I.4</b> Compuestos poliméricos del azufre	
Compuesto	Fórmula
Polisulfuros	$\text{S}_n^{2-}$
Polisulfanos orgánicos	R-S-R
Politionatos	$^-\text{O}_3\text{S-Sn-SO}_3^-$



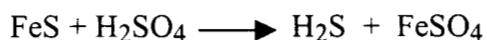
**Azufre elemental.** El azufre es el segundo elemento del grupo VI de la tabla periódica, que contiene en secuencia oxígeno, azufre, selenio, telurio y polonio. Se encuentra naturalmente como una mezcla de cuatro isótopos  $^{32}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$  y  $^{36}\text{S}$ . La abundancia natural es 95.1%, 0.74%, 4.2% y 0.016%, respectivamente

El azufre es un sólido amarillo, que forma cristales ortorrómbicos (azufre rómbico). Es muy poco soluble en agua (5  $\mu\text{g/l}$  de  $\text{S}_8$  a 25 °C) pero muy soluble en bisulfuro de carbono, tetracloruro de carbono y disolventes no polares análogos, disoluciones a partir de las cuales se pueden obtener cristales de azufre perfectamente formados. El azufre ortorrómbico se funde a 112.8 °C, formando un líquido color pajizo. Este líquido cristaliza formando cristales de azufre  $\beta$ . Las moléculas de ambas formas cristalinas, así como las del líquido son moléculas  $\text{S}_8$ , que tienen la configuración de un anillo en zigzag. La formación de esta molécula grande es resultado de la covalencia de los elementos del grupo sexto de la tabla periódica, con la formación de dos enlaces covalentes sencillos, en lugar de un doble enlace. Las moléculas diatómicas  $\text{S}_2$  se forman calentando el vapor de azufre, sin embargo estas moléculas son menos estables que las moléculas grandes que contienen enlaces sencillos. Este comportamiento se debe a que en general, los doble y triples enlaces estables los forman fácilmente los elementos ligeros como el carbono, nitrógeno y oxígeno, pero no los elementos más pesados. El bisulfuro de carbono de estructura electrónica  $\text{S}=\text{C}=\text{S}$  y otros compuestos que contienen un doble enlace carbono-azufre son las principales excepciones de esta regla (Huxtable y Lafranconi, 1987; Pauling, 1964).

La capacidad del azufre para formar cadenas es la mayor diferencia con el oxígeno, para el cual el ozono,  $\text{O}_3$ , es el mayor polímero formado.

**Sulfuro de hidrógeno.** El sulfuro de hidrógeno,  $\text{H}_2\text{S}$ , es análogo al agua, sin embargo es mucho más volátil (punto de fusión de -85.6 °C y punto de ebullición de -60.7 °C debido a su menor tendencia de formar puentes de hidrógeno. El  $\text{H}_2\text{S}$  es la forma más reducida de azufre y es tóxico, inflamable y es también altamente soluble en agua (aproximadamente 0.1M a 25 °C) con un  $\text{pK}_1$  alrededor de 7 y un  $\text{pK}_2$  de 13.

El sulfuro de hidrógeno se prepara tratando el sulfuro de hierro II, con ácido sulfúrico:

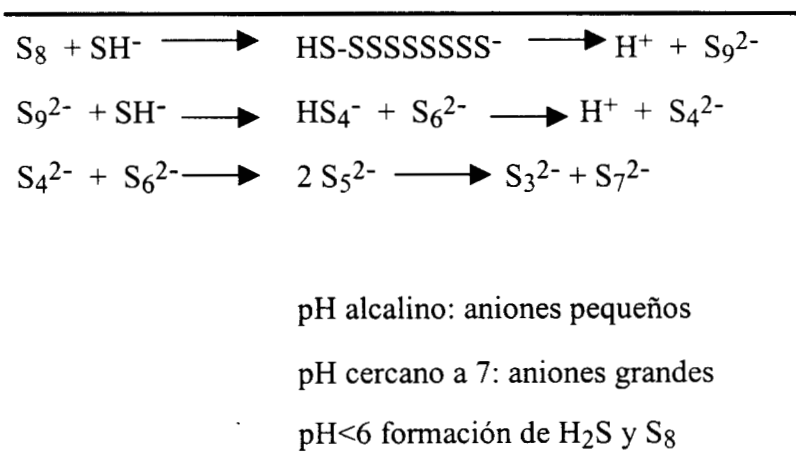


Esta reacción sirve para producir al mismo tiempo el sulfato de hierro II hidratado utilizado en la elaboración de tintas azules (Choppin y col., 1977).

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

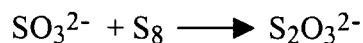
**Polisulfuros.** Una de las propiedades que definen la química del azufre es su estructura ortorrómbica. Los compuestos nucleófilos rompen esta estructura de acuerdo a su carácter de mayor o menor nucleofilicidad. De acuerdo a Davis (1968), ésta característica está parcialmente relacionada a las constantes de disociación y los ácidos débiles son los más fuertes nucleófilos. Así por ejemplo, el cianuro, un nucleófilo menos fuerte que el sulfuro, puede reaccionar con el azufre elemental disuelto en petróleo convirtiendo todos los átomos de azufre a tiocianato. Asimismo, el azufre ( $S_8$ ) se disuelve en una disolución de sulfuro ( $HS^-$ ) formando una mezcla de polisulfuros ( $S_n^{2-}$ ) como se muestra en la Tabla II.5 (Steudel, 1998). Tienen un color amarillo intenso y sus propiedades cambian en función del pH como se indica en la misma Tabla I.5. Se pueden definir los polisulfuros como aniones de azufre de diferente longitud que tienden a oxidarse fácilmente en el ambiente, lo que les confiere su carácter inestable.

**Tabla I.5** Formación y propiedades de los polisulfuros. (Steudel,1998)



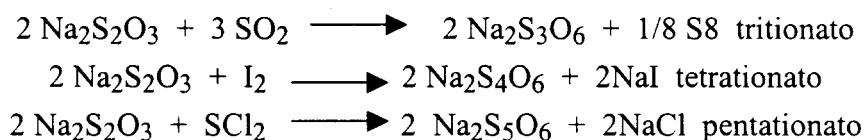
**Bióxido de azufre.** El bióxido de azufre es un gas no flamable, es altamente soluble en agua (alrededor de 1.5 M a 25 °C) y forma ácido sulfuroso,  $H_2SO_3$ , el cual libera protones para dar el ion hidrosulfito o bisulfito,  $HSO_3^-$ , y después el ion sulfito,  $SO_3^{2-}$ , con un  $pK_1$  de 2 y un  $pK_2$  de 7 respectivamente. El estado más oxidado del azufre con una valencia de +6 es el trióxido de azufre formado del dióxido de azufre y oxígeno en presencia de un catalizador. Su forma hidratada es el ácido sulfúrico el cual disocia protones para formar el ion hidrosulfato o bisulfato,  $HSO_4^-$ , con un  $pK$  de 2, al ion sulfato,  $SO_4^{2-}$  (Suzuki, 1999).

**Tiosulfato.** El tiosulfato tiene dos átomos de azufre no equivalentes. Este ion es un ion sulfato,  $\text{SO}_4^{2-}$ , en el que uno de los átomos de oxígeno ha sido desplazado por un azufre. El átomo de azufre central tiene un número de oxidación de +6 y el átomo de azufre unido, el número de oxidación de -2. El ion tiosulfato se obtiene haciendo hervir una solución de sulfito de sodio con azufre:



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

**Politionatos.** El ion tiosulfato se oxida fácilmente con diferentes compuestos para formar diferentes moléculas denominadas politionatos ( $^{-}\text{O}_3\text{S-Sn-SO}_3^{-}$ ) como se muestra a continuación:

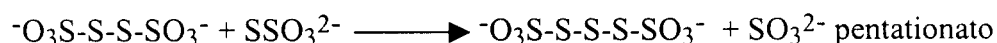


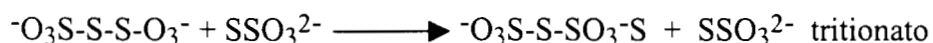
La principal característica de estas moléculas es la presencia de grupos sulfanos ( $^{-}\text{O}_3\text{S-Sn}$ ) de cadenas poliméricas de azufre de valencia cero (Steudel, 1998).

En estas moléculas, por ejemplo el tetracionato pierde un azufre sulfano con cianuro para formar tiocianato, liberando tiosulfato del grupo sulfonato y sulfato del otro azufre de acuerdo a:



El tiosulfato puede ser cianolizado a tiocianato y sulfito solamente en la presencia de iones de  $\text{Cu}^{+2}$  como catalizador. El tiosulfato es un nucleófilo más débil que el sulfito y cerca de un pH de 7 el sulfito corta la cadena de pentacionato a tetracionato, pero abajo de un pH de 7 el tiosulfato incrementa la cadena de tritionato a tetracionato y a pentacionato. Los mecanismos pueden involucrar ácidos polisulfano monosulfónico ( $\text{HSn-SO}_3\text{H}$ ):



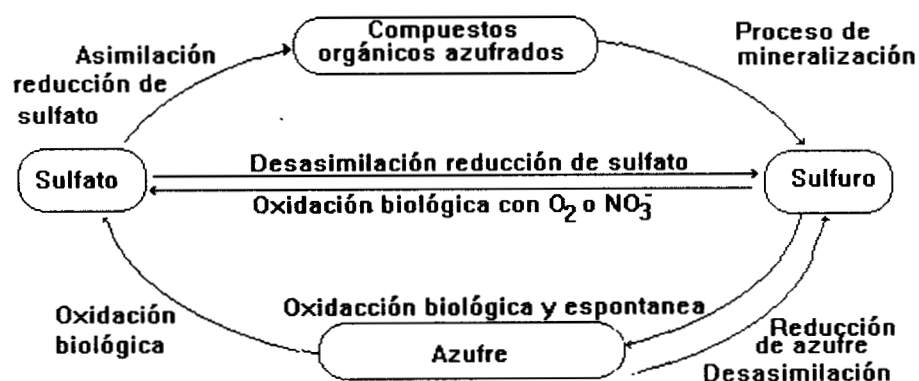


El tetrionato tiene cuatro átomos de azufre y sus propiedades sugieren que los dos átomos de azufre de en medio tienen valencia cero y los dos externos son +4 (sulfito) y +6 (trióxido de azufre) respectivamente (Suzuki, 1999; Steudel, 1998; Pauling, 1964).

#### I.4 El ciclo de azufre.

El azufre se encuentra en la naturaleza en diferentes estados de oxidación, por lo tanto formando diferentes compuestos que se intercambian por procesos químicos o biológicos de oxidación-reducción, constituyendo un ciclo denominado ciclo biogeoquímico del azufre (Takasuwa, 1992; Robertson y Kuenen, 1991). Una utilidad del término está relacionada con la medición de la cantidad de azufre, en todas sus formas tanto de fuentes naturales como antropogénicas, que se encuentra en la naturaleza (Mackenzie, 1995).

Debido a la variedad de estados de oxidación del azufre, sus transformaciones son complejas. En la Figura I.1 se presenta un esquema que muestra las transformaciones biológicas que corresponden al ciclo biológico del azufre. En este ciclo, aunque son posibles varios estados de oxidación, tres de ellos tienen, por su estabilidad, una mayor importancia en la naturaleza: -2 (sulfhidrilo R-SH y sulfuro HS<sup>-</sup>), 0 (azufre elemental, S<sup>0</sup>) y +6 (sulfato).



**Figura I.1.** Ciclo biológico del azufre

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

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

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

**ii. Etapa oxidativa.** La segunda etapa del ciclo la constituyen las reacciones de oxidación de los compuestos reducidos de azufre. De igual manera, esta etapa puede dividirse en dos: las reacciones de oxidación en condiciones anaerobias efectuados por microorganismos fotótrofos (Cork y col. 1983) y facultativos (Sublette, 1987) y la oxidación aerobia por microorganismos del género *Thiobacillus* (Alcántara y col. 1999; Kelly, 1990, 1982; Buisman y col, 1989).

#### I.4.1 Importancia del ciclo de azufre

La importancia del ciclo del azufre se inscribe con relación a los siguientes aspectos:

- 1) Los seres vivos
- 2) La industria (económico)
- 3) La contaminación ambiental.

Los seres vivos necesitan de azufre para su metabolismo celular, ya que existen compuestos de la célula que contienen este elemento. Se ha encontrado que 1% del peso de las bacterias es azufre (Lee y col., 1995) y lo pueden incorporar por una reacción de reducción asimilativa del sulfato.

Por su parte, la industria química tiene una gran demanda de azufre elemental para producir ácido sulfúrico el cual es un importante producto para la síntesis de muchos compuestos orgánicos e inorgánicos. Steudel (1996) señala que durante los últimos cinco años la producción

mundial de ácido sulfúrico fue de entre 133 y 152 millones de toneladas por año.

El azufre elemental excede la producción anual de 34 millones de toneladas. Los dos procesos básicos de obtención de este elemento es el proceso Claus, que convierte H<sub>2</sub>S de refinerías y de plantas endulzadoras de gas en azufre elemental y el proceso Frasch que se utiliza para extraer el azufre de los depósitos naturales (Steudel, 1996).

El conocimiento del ciclo del azufre nos permite conocer los compuestos involucrados en proceso químico y/o biológico de oxidación-reducción del azufre. Y de esta manera poder cerrar los balances de azufre.

## I.5 Bacterias sulfoxidantes

### I.5.1 Bacterias "incoloras" del azufre

El nombre "bacterias incoloras del azufre" ha sido usado desde Winogradsky para designar a los procariotes capaces de utilizar compuestos reducidos de azufre como fuente de energía para su crecimiento (Madigan y col., 1999; Robertson y Kuenen, 1991).

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

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

En la Tabla I.6 se enlistan algunos géneros de estos microorganismos, la fuente de energía que utilizan, así como el intervalo de pH en el cual crecen.

La mayor parte de los conocimientos fisiológicos de estos microorganismos proviene del estudio de un número limitado de géneros. Los thiobacilli, son los más estudiados debido a que pueden cultivarse fácilmente en el laboratorio. Su estudio ha permitido entender de manera más detallada y precisa las rutas bioquímicas de la oxidación de los compuestos reducidos de azufre.

**Tabla I.6** Bacterias quimiolitótrofas oxidantes de azufre, fuente de energía y pH de crecimiento.(Mandigan y col., 1999)

Género y Especie	Donador de electrones litotrófico	pH para crecimiento
<u>Crecimiento deficiente en medios orgánicos</u>		
<i>Thiobacillus thioparus</i>	H <sub>2</sub> S, S <sup>o</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	6-8
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	H <sub>2</sub> S, S <sup>o</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	6-8
<i>Thiobacillus neapolitanus</i>	H <sub>2</sub> S, S <sup>o</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	6-8
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	S <sup>o</sup>	2-5
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	S <sup>o</sup> , H <sub>2</sub> S, Fe <sup>2+</sup> , Sulfuros metálicos	1.5-4
<u>Crecimiento en medios orgánicos</u>		
<i>Thiobacillus novellus</i>	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	6-8
<i>Thiobacillus intermedius</i>	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	3-7
<u>Litótrofos filamentosos</u>		
<i>Beggiatoa</i>	H <sub>2</sub> S, S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	6-8
<i>Thiothrix</i>	H <sub>2</sub> S	6-8
Otros géneros		
<i>Thiomicrospira</i>	H <sub>2</sub> S, S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	6-8
<i>Thiosphera</i>	H <sub>2</sub> S, S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , H <sub>2</sub>	
<i>Thermothix</i>	H <sub>2</sub> S, S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , SO <sub>2</sub> <sup>3-</sup>	6.5-7.5
<i>Thiovolum</i>	H <sub>2</sub> S, S <sup>o</sup>	6-8
<i>Acidianus</i>	S <sup>o</sup>	1-5
<i>Sulfolobus</i>	H <sub>2</sub> S, S <sup>o</sup>	1-4

Los thiobacilli son microorganismos aerobios y anaerobios facultativos, Gram-negativas con forma de bacilos pequeños que miden 0.3 µm de ancho por 1-3 µm de largo, móviles por un flagelo polar sencillo, no son formadoras de esporas y crecen entre los 25-35 °C. La energía necesaria para llevar a cabo sus funciones se deriva de la oxidación de uno o más compuestos reducidos de azufre incluyendo sulfuro, tiosulfato, azufre elemental, sulfito, tiocianato y

politionatos. Algunas especies son capaces de vivir en ambientes altamente ácidos, pueden utilizar el fierro como una fuente de energía y algunas son capaces de llevar a cabo la desnitrificación y utilizar al nitrato como ultimo aceptor de electrones.

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

#### 1. Quimiolitótrofos obligados.

Son bacterias altamente especializadas, que requieren una fuente inorgánica como fuente de energía y obtienen su carbono a partir de fijar CO<sub>2</sub> por el ciclo de Calvin. Utilizan para ello el flujo inverso de electrones para la generación de poder reductor (NADPH).

#### 2. Quimiolitótrofos facultativos.

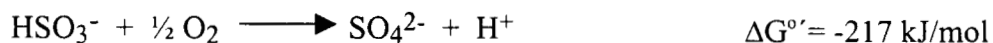
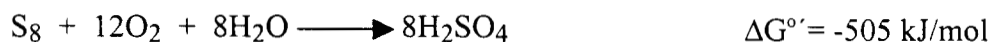
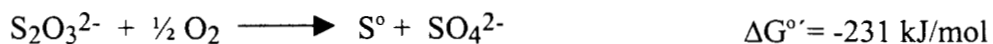
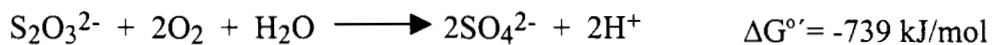
Estos microorganismos crecen adecuadamente con una fuente inorgánica de energía y CO<sub>2</sub>, o bien heterotróficamente con compuestos orgánicos que proveen de carbono mientras los compuestos inorgánicos proveen de electrones para la generación de energía (mixotrofia). Aunque también se ha observado que pueden utilizar simultáneamente dos o más vías metabólicas para la utilización de la energía y del carbono, perdiendo en algunos casos la capacidad quimiolitótrofa (Prosser, 1989).

### I.5.2 Energía de oxidación de compuestos reducidos de azufre

Una considerable variedad de microorganismos conservan energía de las oxidaciones quimiolitótróficas (Tabla I.6). Los mejor estudiados son las especies de thiobacilli, pero existe información sobre el crecimiento de *Thiomicrospira*, *Sulfolobus*, *Beggiota*, algunos fotótrofos oxidantes de tiosulfato incluyendo a *Thiocapsa* y *Chromatium* y algunos heterótrofos oxidantes de hidrógeno incluyendo a *Paracoccus denitrificans*, los cuales pueden crecer autotróficamente en la oscuridad cuando se utilizan como sustrato los compuestos reducidos de azufre. Esto indica una unidad bioquímica respiratoria básica, en la cual se presenta una gran diversidad de sistemas enzimáticos oxidantes de azufre por medio de las cuales estas bacterias son capaces de generar electrones y obtener energía de crecimiento. Las oxidaciones mejor estudiadas son (Kelly, 1990):







Algunos thiobacilli y hyphomicrobia metilótrofos capaces de derivar energía quimiolitótrofa de la oxidación de azufre inorgánico, son también capaces de oxidar el azufre de sulfuros metilados. Asimismo en condiciones anaerobias, algunos thiobacilli y *Thiomicrospira denitrificans* pueden acoplar la oxidación de azufre inorgánico por la completa o parcial reducción de nitrato a nitrógeno molecular (Robertson y Kuenen, 1991):

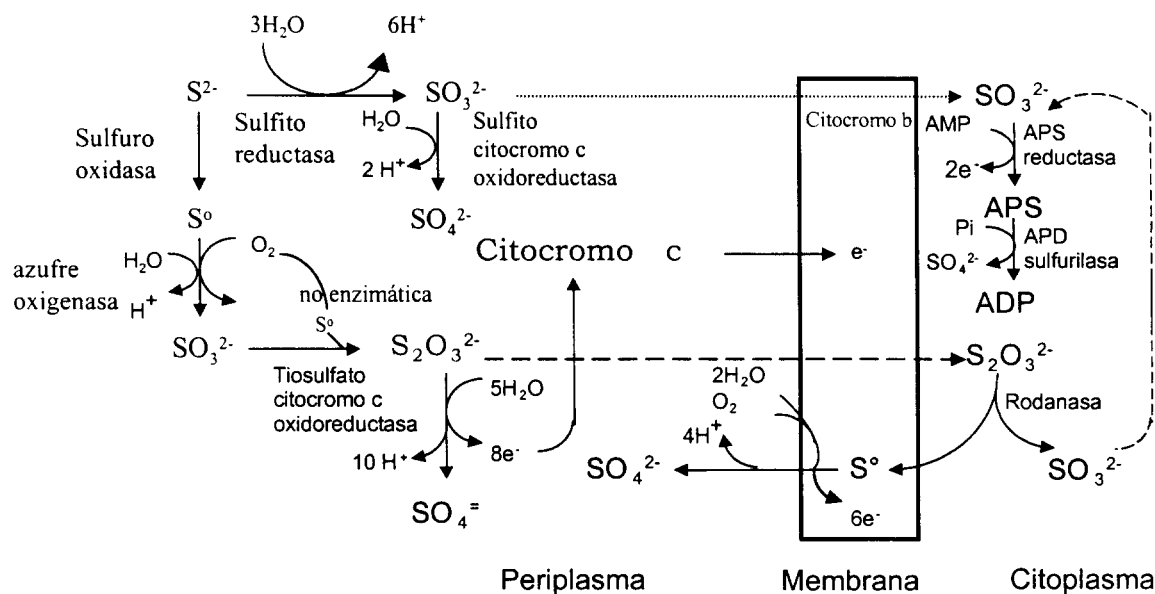


### I.5.3 Rutas Bioquímicas de la Oxidación de Compuestos Reducidos de Azufre

La complejidad y el número de reacciones involucradas en las transformaciones químicas y biológicas de los compuestos de azufre hace complejo el estudio de las reacciones bioquímicas llevadas a cabo por los microorganismos para la oxidación biológica de estos compuestos (Tabla I.9). Kelly y col. (1997) sostienen que posiblemente existen 2 procesos básicos de oxidación de compuestos reducidos de azufre (azufre, sulfuro y tiosulfato). Estos son los siguientes:

- i. Un mecanismo que involucra la formación de politionatos, presente en todos los thiobacilli que son quimiolitotróficos obligados y otros thiobacilli 'verdaderos' como *Thiobacillus acidophilus*.
- ii. Un mecanismo que no involucra la formación de politionatos observado en *Paracoccus* spp. '*Thiobacillus versutus*' y posiblemente *Thiobacillus novellus* y *Thiobacillus tepidarius*. Es probable que la ruta encontrada en *Paracoccus* prevalezca en los heterótrofos facultativos (mixotróficos) tales como *Paracoccus* sp. , el cual es capaz de crecer autotróficamente sobre tiosulfato.

A continuación se presentan las rutas bioquímicas de la oxidación de sulfuro ( $\text{H}_2\text{S}$ ),  $\text{CS}_2$ ,  $\text{S}^0$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  y  $\text{SO}_3^{2-}$  por thiobacilli (Figura I.2), que son uno de los sistemas más estudiados y donde algunas enzimas de la oxidación se han caracterizado parcialmente. (Suzuki, 1999; Kelly, 1997, 1990, 1982; Kuenen y col., 1993; Takakuwa, 1992; Kuenen y Robertson, 1991; Hooper y DiSpirito, 1985).



**Figura I.2.** Arreglo de las enzimas involucradas en la oxidación de compuestos de azufre reducidos. El esquema está compuesto de las reacciones catalizadas por diferentes especies de thiobacilli. (Hooper y DiSpirito, 1985).

### I.6 Comparación entre procesos biológicos y procesos fisicoquímicos.

Para el tratamiento de emisiones de compuestos de azufre al ambiente se utilizan diferentes procesos tanto fisicoquímicos como biológicos. En el caso del  $\text{H}_2\text{S}$  el proceso comercial más utilizado para eliminar este ácido del gas natural y otras corrientes de aire contaminado con el compuesto es el proceso con aminas (Jensen y Webb, 1995; Sublette, 1987). En este proceso, después de contactar el gas con la solución, el solvente de amina es calentado entre 90 y 150 °C para liberar el  $\text{H}_2\text{S}$ . Después el solvente se regenera con el fin de reutilizarlo. El sulfuro de

hidrógeno es después incinerado o convertido en azufre elemental por el proceso Claus o Stretford (Nagl, 1997).

En general los procesos fisicoquímicos requieren de altos flujos de energía. Sin embargo, no es este elemento el único factor que se considera para su aplicación o sustitución por un proceso biológico. Entre los factores que se pueden considerar pueden citarse: el costo, la concentración de contaminante y la factibilidad biológica.

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

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

En el caso del tratamiento de gases contaminados (incluido el "biogas" proveniente del tratamiento de aguas contaminadas con sulfato, sulfuro, bisulfuro y VOCS) los sistemas que se han utilizado son principalmente biofiltros (BF) y biolavadores de lecho escurrido (BLE) (Tabla I.7). Una revisión de estas técnicas, sus límites de operación y su aplicación, fue hecha por Groenestijn y Hesselink (1993). Asimismo, Torres (1999), revisó los conceptos básicos de funcionamiento y operación de estos sistemas, especialmente de los biolavadores de lecho escurrido para el tratamiento de CS<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S en corrientes gaseosas.

Por otro lado, en corrientes acuosas contaminadas con compuestos de azufre reducidos se han implementado diversos tipos de reactores completamente agitados (Buisman, 1987, Janssen, 1995) y de lecho fluidizado (Gommers y col. 1988a); así como otros diseños de reactor para optimizar la recuperación de azufre elemental (Janssen, 1997).

**Tabla I.7** Capacidad de eliminación de las técnicas biológicas de tratamiento de aire contaminado con compuestos de azufre.

Reactor	Material de empaque	Microorganismos	CE (kg/m <sup>3</sup> d)	Referencia
<b>H<sub>2</sub>S</b>				
BF	Turba	<i>Thiobacillus thioparus</i> DW 44	2.25	Cho y col., 1992
BF	composta	<i>Thiobacillus</i> sp?	3.12	Yang y Allen, 1994
BLE	PVC	<i>Thiobacillus</i> sp (consorcio)	7.2	Revah y col., 1994
BLE	polipropileno	<i>Thiobacillus</i> sp	1.70	Berzaczy y col., 1988
BF	Lodo activado	<i>Thiobacillus</i> sp	3.0	Degorce-Dumas y col., 1997
<b>CS<sub>2</sub></b>				
BLE	PVC	<i>Thiobacillus</i> sp (consorcio)	4.32	Revah y col., 1994
BLE	polipropileno polietileno	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	1.70	Berzaczy y col., 1988
<b>Me<sub>2</sub>S</b>				
BLE	polipropileno	<i>Thiobacillus thioparus</i> Tk-m	0.23	Tanji y col., 1989
BF	Turba	<i>Thiobacillus thioparus</i> DW 44	0.10	Cho y col. 1992
BF	composta	<i>Hyphomicrobium</i> MS3	0.68	Smet y col., 1996

CE: capacidad de eliminación; Me<sub>2</sub>S: dimetil sulfuro; BF: Biofiltro; BLE: Biolavador de lecho escurrido

## I.7 Métodos biológicos de eliminación de compuestos reducidos de azufre

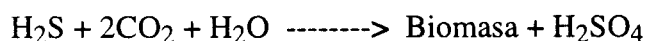
Los métodos biológicos utilizados en la eliminación de los compuestos reducidos de azufre se pueden clasificar de la siguiente forma (Alcántara y col., 1999; Buisman, 1989, Jensen y Webb, 1995, Janssen y col., 1997):

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

### I.7.1 Oxidación anaerobia por bacterias fotosintéticas

Cork y Col. (1986) propusieron el uso del microorganismo anaerobio fotosintético *Chlorobium limicola* var. *thiosulfatum* que oxida al H<sub>2</sub>S a azufre elemental. Al utilizar cultivos en lote y en continuo mostraron que el control de las velocidades de entrada del gas y la cantidad de luz del bioreactor son determinantes para la optimización de la eliminación del compuesto. El gas tratado tuvo la siguiente composición: 3.0% de H<sub>2</sub>S, 9.2% de CO<sub>2</sub>, 86.4% de N<sub>2</sub> y 0.5% de H<sub>2</sub>. Se encontró que 67.1 % del H<sub>2</sub>S fue convertido a azufre elemental mientras 32.9% permaneció como compuestos azufrados solubles en agua.

Kim y Col. (1990) inmovilizaron células de *Chlorobium limicola* var. *tiosulfatum* en un soporte inerte para oxidar H<sub>2</sub>S en azufre elemental. Observaron acumulación de sulfato debido a la siguiente reacción:



Reportaron que la acumulación de azufre o sulfato está en relación de la energía lumínica y la velocidad de alimentación de H<sub>2</sub>S. Sánchez y col. (1996) reportan la operación de un sulfidostato (quimiostato con control de concentración de sulfuro) para la oxidación de H<sub>2</sub>S con la bacteria fotótrofa *Chromatium vinosum*. El control se logró mediante una sonda redox y diferentes niveles de luminosidad.

La mayor desventaja en el uso de bacterias fotosintéticas a gran escala se debe a sus requerimientos de energía radiante y por lo tanto a la necesidad de una gran superficie de contacto con ella en los reactores.

### I.7.2 Oxidación por microorganismos desnitrificantes

*Thiobacillus denitrificans* es un microorganismo autótrofo estricto y de respiración facultativa. Bajo condiciones anaerobias el nitrato se utiliza como un aceptor final de electrones con reducción a nitrógeno molecular, con el tiosulfato, azufre elemental y el ácido sulfhídrico como fuentes de electrones con la oxidación a sulfato (Sublette y Silvester, 1987).

Sublette y Silvester (1987) reportaron el crecimiento anaerobio de *Thiobacillus denitrificans* sobre ácido sulfhídrico en un reactor continuo de tanque agitado. Encontraron que la eliminación del H<sub>2</sub>S del gas alimentado nunca fue menor al 2% y que la concentración de la biomasa así como las condiciones ambientales del proceso respiratorio anóxico son las variables más importantes para la maximización de la desulfuración del gas. Por otro lado observaron que la contaminación con organismos heterótrofos no tuvo un efecto importante sobre el crecimiento de *Thiobacillus denitrificans*, lo que hizo innecesario las operaciones de esterilización del cultivo.

Sublette (1990) aplicó un proceso de planta piloto para el tratamiento de biogas producido en un digester anaerobio. El bioreactor consistió de una columna que recibió una corriente gaseosa compuesta del biogas mas aire. El gas alimentado contenía menos de 9% de oxígeno, ya que la combinación con otros compuestos del biogas, como el metano, puede ser peligrosa debido a la naturaleza explosiva de tales mezclas. La productividad volumétrica fue de 1.1 mmol (H<sub>2</sub>S oxidado)/l h, alcanzándose un eficiencia solo de un 0.15% de eliminación del ácido.

Candenhead y Sublette (1990) describieron un estudio donde evaluaron especies de *Thiobacillus* (*Thiobacillus thioparus*, *Thiobacillus versutus*, *Thiobacillus neopolitanus* y *Thiobacillus thiooxidans*) con el propósito de determinar si alguno de ellos presentaba ventajas sobre *Thiobacillus denitrificans* en la oxidación aerobia del H<sub>2</sub>S. La estequiometría de la oxidación de H<sub>2</sub>S fue determinada en un reactor en lote de 1.5 l suministrado con un gas compuesto de 1% de H<sub>2</sub>S, 5% de CO<sub>2</sub> y el balance de nitrógeno adecuado. Ninguno de los organismos estudiados ofreció clara ventaja sobre *Thiobacillus denitrificans* ya que todos los microorganismos estudiados mostraron bajos rendimientos de crecimiento.

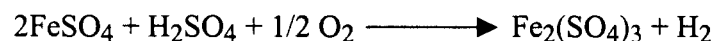
### I.7.3 Oxidación por un proceso químico-biológico

Imazumi (1986) describió un proceso de eliminación de H<sub>2</sub>S utilizando un proceso químico-biológico utilizando una solución férrica y el microorganismo *Thiobacillus ferrooxidans*. El proceso es básicamente dependiente de la reacción del H<sub>2</sub>S inyectado en una solución férrica

donde se produce un precipitado de azufre elemental:



El azufre elemental es separado y recuperado de la solución reducida de sulfato ferroso. Por su parte el sulfato férrico  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  es regenerado a partir de la solución de sulfato ferroso por la oxidación biológica, en un bioreactor aireado, efectuada por *Thiobacillus ferrooxidans*:



La solución oxidada se recicla para repetición del proceso. Se ha reportado una eficiencia del 99% de eliminación del sulfhídrico en su aplicación industrial.

#### I.7.4 Oxidación por bacterias "incoloras" del azufre

La eliminación del  $\text{H}_2\text{S}$  puede ser llevada a cabo mediante un proceso de oxidación aerobia por los microorganismos sulfoxidantes conocidos como bacterias "incoloras" del azufre, los cuales utilizan la oxidación de compuestos reducidos de azufre para obtener energía. A este grupo pertenecen microorganismos de una gran diversidad fisiológica y morfológica. Los géneros que pertenecen a este grupo de organismos son: *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Sulfolobus*, *Thermothrix*, *Thiovulum*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiospira* y *Thioploca*.

Un factor importante a considerar del proceso a desarrollar es si estas bacterias almacenan o no el azufre de la oxidación parcial de los compuestos reducidos de azufre dentro de la célula. Especies del género *Beggiatoa*, *Thiothrix* y *Thiospira* acumulan el azufre producido en la célula, consecuentemente dificultan cualquier proceso ya que por una parte deberá de producirse una gran cantidad de biomasa por eliminada y el azufre no puede fácilmente separarse de la biomasa. Por esta razón las bacterias son seleccionadas con la característica de que el azufre producido sea excretado al medio, un ejemplo son los microorganismos del género *Thiobacillus*. No se necesitan factores ambientales especiales para el crecimiento de este género de microorganismos. Diferentes especies tienen actividad en intervalos de pH que van de 0.5 a 10 con temperaturas entre 20 y 75 °C. La mayoría son autótrofas, pero también pueden crecer heterotróficamente. Se encuentran en diferentes ambientes: suelo, agua, desechos ácidos y aguas sulfurosas. Estos microorganismos pueden obtener energía de diferentes compuestos como el  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{CS}_2$ , tiocianato, azufre elemental, tiosulfato, politionatos y sulfito. El producto final de la oxidación es sulfato pero el azufre y los politionatos se acumulan bajo ciertas condiciones de

crecimiento.

## I.8 Sistemas desarrollados para favorecer la acumulación de azufre elemental a partir de la oxidación de compuestos reducidos de azufre.

A partir de los primeros estudios realizados por Buisman y Col. (1989) diversos investigadores se han dado a la tarea de desarrollar sistemas para favorecer la formación de azufre elemental el cual se prefiere por varias razones observadas en el laboratorio y reportadas en la bibliografía (Janssen, 1997):

- a) El azufre es insoluble en agua por lo tanto se puede separar de la corriente acuosa que lo contiene.
- b) El azufre se puede purificar y reutilizar, lo que le da un valor agregado al proceso.
- c) Se evita la acumulación de sulfatos que en concentraciones mayores a 30 g/l tienen un efecto negativo sobre la oxidación.
- d) Existe un ahorro de neutralizante al formarse este compuesto.

### I.8.1 Estudios realizados en reactores completamente agitados (RTA).

Buisman y Col. (1989) desarrollaron un proceso biotecnológico para la eliminación de  $H_2S$  utilizando microorganismos del género *Thiobacillus*. El proceso está basado en la oxidación del  $H_2S$ . Encontraron que el azufre elemental y el sulfato son los principales productos de la oxidación biológica del  $H_2S$ . Utilizaron dos reactores con agitación y alimentación continua de igual construcción variando exclusivamente el volumen y las cantidades de partículas de soporte inerte (poliuretano) para los microorganismos. La etapa de arranque de este sistema biológico fue muy corta, sólo son necesarios cuatro días para reducir la concentración de sulfuro de 100 a 2 mg/l con un tiempo de residencia de 22 minutos. Evaluaron algunos factores ambientales reportando los siguientes datos: el pH óptimo se encontró de 8.0 a 8.5; la temperatura en el intervalo de 25 a 35 °C. No se observó inhibición por  $H_2S$  a concentraciones superiores de 100 mg/l del ácido. Reportaron también que al incrementar la concentración del oxígeno las velocidades de oxidación del  $H_2S$  se incrementaron proporcionalmente, reportando que a una concentración de 3 mg/l de  $O_2$  y a un pH de 8.5 la capacidad de eliminación del  $H_2S$  fue de 99 mg/l h con una eficiencia del 95%.

Buisman y col. (1990) estudiaron el efecto de diversos factores sobre el cultivo con la finalidad de determinar su importancia en la optimización de la producción de azufre. Los factores evaluados fueron: la concentración de oxígeno, la concentración de  $H_2S$  y la utilización de un



## 225975

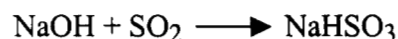
sistema con partículas de soporte de los microorganismos. Los resultados mostraron que en el reactor las concentraciones de H<sub>2</sub>S mayores a 10 mg/ml generan, por la oxidación biológica, menos de 10% de sulfatos cuando la concentración de O<sub>2</sub> permanece por debajo de 6 mg/l. Suponen que, o bien el H<sub>2</sub>S resulta inhibitorio o tóxico para los microorganismos sulfoxidantes o que el H<sub>2</sub>S es preferido por las bacterias como donador de electrones al azufre elemental. Señalan además que la influencia de la concentración del oxígeno es insignificante cuando la concentración de H<sub>2</sub>S excede los 20 mg/ml. Sin embargo, a concentraciones menores de 20 mg/ml, la producción de sulfato se incrementa cuando se incrementa la concentración de oxígeno de 3 a 9 mg/l.

Por último reportan que el reactor con una suspensión de células libres, bajo las mismas condiciones de cultivo que aquella con partículas de soporte de los microorganismos, la producción de sulfatos fue menor. La diferencia entre ambos sistemas la explican debida a las diferencias en el transporte de los reactantes y posiblemente también de los productos de la oxidación. Tanto el oxígeno como el sulfhídrico, que son los dos factores que más afectan la formación de sulfatos encuentran problemas de difusión en el material de soporte utilizado (partículas de poliuretano).

Buisman y col. (1994), reportaron un proceso biológico para la desulfuración de gas de combustión (SO<sub>2</sub>), a nivel planta piloto y con proyecciones a su aplicación industrial en una termoeléctrica con capacidad de producción de 600 MW. El proceso consta de cuatro secciones, en ese orden:

- una sección de absorción del SO<sub>2</sub>
- un reactor biológico anaerobio
- un reactor biológico aerobio
- una sección de recuperación de azufre.

En la sección de absorción el SO<sub>2</sub> es solubilizado en una corriente acuosa básica produciéndose una solución rica en sulfito, de acuerdo a la siguiente reacción:

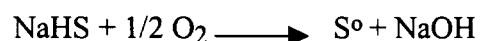


En el primer bioreactor, en condiciones anaerobias, se lleva a cabo un proceso de reducción del SO<sub>3</sub> con la formación de H<sub>2</sub>S de acuerdo a la siguiente reacción (en esta etapa es necesario

adicionar determinados compuestos que sirvan como donadores de electrones, básicamente compuestos orgánicos como etanol, los cuales son transformados en bióxido de carbono y biomasa):



En el segundo bioreactor, en condiciones aerobias, el ácido sulfhídrico es oxidado, bajo condiciones controladas, a azufre elemental utilizando los microorganismos del género *Thiobacillus*. Se lleva a cabo una oxidación parcial del ácido controlando las cantidades de oxígeno suministrado, ya que su oxidación total resultaría en la formación no deseable de sulfato. Esta oxidación se presenta de acuerdo a la siguiente reacción:



En la última etapa el azufre elemental, insoluble, se recupera del efluente del segundo bioreactor mediante un equipo de sedimentación.

Los autores observaron que los parámetros de mayor importancia a ser controlados son: a) el pH del líquido de lavado del gas de combustión (sección de absorción) antes de entrar al primer reactor; b) el oxígeno disuelto en el reactor aerobio para lograr una oxidación parcial del sulfhídrico y recuperar azufre elemental.

En una fase inicial se trataron 1500 m<sup>3</sup>/h de gas de combustión, reportándose eficiencias de eliminación de SO<sub>2</sub> del 95% y de H<sub>2</sub>S del 99% con recuperación de azufre de un 95%.

### I.8.2 Estudios realizados en biofiltros (BF).

Lizama y Sankey (1993) utilizaron *Thiobacillus thiooxidans* para estudiar la conversión de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) a azufre elemental y sulfato en una columna usando un flujo de gas a contracorriente y medio líquido. La conversión inicial de azufre fue mucho más rápida que la subsecuente oxidación a sulfato. La velocidad de eliminación de H<sub>2</sub>S aumentó con el incremento del área superficial disponible y con el tiempo. El número de bacterias aumentó muy lentamente, teniendo una gran importancia la concentración inicial de bacterias en la columna.

En ambos modos de operación *Thiobacillus thiooxidans* es capaz de remover H<sub>2</sub>S de la corriente gaseosa. La velocidad total de formación de sulfatos fue cuatro veces más lenta que la oxidación parcial de H<sub>2</sub>S con la acumulación de azufre en el sistema.

Sam y col. (1993) estudiaron el papel de las propiedades de la superficie en la adhesión de

*Thiobacillus ferrooxidans* sobre minerales como la pirita. Señalan que existen dos mecanismos responsables de la biodisolución de sulfuros metálicos, el indirecto y el directo. El mecanismo indirecto opera por la acción química del sulfato férrico producido por el metabolismo bacteriano. En este mecanismo no se requiere la adhesión de la bacteria a la superficie del mineral. El mecanismo directo, por otro lado, comprende el ataque enzimático, por lo tanto, se requiere del contacto y la adhesión. Después de que la bacteria entra en contacto con el mineral, las enzimas presentes en la membrana exterior llevan a cabo la disolución del mineral. La adhesión de la bacteria depende no sólo de las propiedades bioquímicas del organismo sino también de las propiedades interfaciales correspondientes a varias interfases existentes en un sistema de biolixiviación. Las propiedades superficiales de las bacterias que afectan la adhesión son la hidrofobicidad de la superficie celular y el potencial electrocinético.

Degorce-Dumas y col. (1997) estudiaron la oxidación biológica de sulfuro de hidrógeno en un biofiltro empacado con sedimento de aguas residuales seco (BSE), caracterizaron la microbiología del biofiltro y estudiaron los efectos de algunos parámetros sobre la colonización y sobre la eficiencia del biofiltro. El efecto de la acidificación (causada por la acumulación de los productos de oxidación) también fue estudiado. Finalmente, la población microbiológica de los biofiltros utilizando turba y lodo activado como soporte fueron comparadas, así como su eficiencia de eliminación. La eficiencia de eliminación de  $H_2S$  del biofiltro puede ser correlacionada con la población inicial y su evolución. Los estudios concernientes a la evolución de thiobacilli en el biofiltro mostraron que los autótrofos no acidófilos son capaces de multiplicarse dependiendo de la velocidad volumétrica de carga. La velocidad de oxidación decrece cuando ocurre la acidificación del empaque, seguido por la multiplicación de autótrofos acidófilos. Amortiguando el pH del empaque cercano a un pH neutro se duplica el periodo de alta eficiencia (95%). Bajo estas condiciones se favorece el crecimiento de thiobacilli no acidófilos, sugiriendo la correlación entre la eficiencia de eliminación y la presencia de bacterias no acidófilas. La baja eficiencia de los biofiltros convencionales empacados (materia orgánica, por ejemplo turba) comparado con BSE, se puede explicar por su baja población inicial. La biomasa requiere de 2–4 semanas para adaptarse a las condiciones de operación. Sin embargo, el BSE contiene más nutrientes disponibles para el crecimiento microbiano, por lo tanto, su adición no es necesaria. La eficiencia de remoción completa fue obtenida en el intervalo de 2-3 kg  $H_2S/m^3d$ , con azufre elemental y sulfato como productos principales. La heterogeneidad del empaque es útil para varias aplicaciones industriales, por ejemplo, para el tratamiento de corrientes gaseosas que contengan compuestos azufrados, mercaptanos ó VOC's.

### I.8.3 Estudios realizados en biolavadores de lecho escurrido (BLE).

Revah y Col. (1995) y Torres y col. (1993) desarrollaron un proceso biotecnológico para la eliminación de  $\text{CS}_2$  y  $\text{H}_2\text{S}$  con la conversión a azufre y sulfato. Utilizaron un biolavador la lecho escurrido el cual contenía una población mixta de microorganismos aislados de fuentes azufradas y plantas de tratamiento de aguas residuales, enriquecida por inoculaciones sucesivas. Esta población mixta de microorganismos contenía bacterias del género *Thiobacillus*. Las concentraciones de los compuestos azufrados llegaron hasta 1000 ppm de cada uno, alcanzado una eficiencia del 98% de eliminación del  $\text{H}_2\text{S}$  y mayor a 80% de  $\text{CS}_2$ . Los estudios en condiciones aerobias permitieron diseñar y construir equipos hasta de  $800 \text{ m}^3/\text{min}$  y que llevan operando varios años.

Recientemente se reportan nuevas configuraciones de equipos que permiten tratar altas concentraciones (hasta 2500 ppmv.) de  $\text{H}_2\text{S}$  en aire. Se propuso (Hugler y col., 1999) que dos biolavadores de lecho escurrido (BLE) en serie permiten mantener altas tasas de reacción facilitando el control de la oxidación. Bajo estas condiciones en donde se solubiliza el  $\text{H}_2\text{S}$  del aire existe una alta conversión hacia sulfato. Otras configuraciones de BLE permiten tratar olores de plantas de tratamiento de aguas. Estas corrientes tienen concentraciones muy diluidas de  $\text{H}_2\text{S}$ , otros sulfuros, COVs y compuestos nitrogenados. Las configuraciones del BLE han sido estudiadas por Lobo y col. (1999) en donde se pone en relieve el efecto de los fenómenos de transferencia gas- líquido y reacción en el lecho del biolavador.

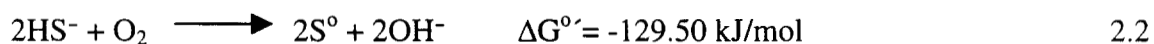
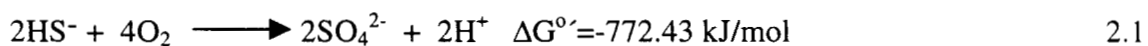
### I.8.4 Estudios realizados en nuevas configuraciones de reactores.

En las anteriores publicaciones señaladas no se reportan sistemas en los cuales se favorece la acumulación de  $\text{S}^0$  y su posterior recuperación.

Sin embargo fue hasta 1997, en los trabajos de Janssen y col , que pertenecen al mismo equipo de investigación de Buisman, cuando se reportó un sistema que favoreció la acumulación de  $\text{S}^0$  de la oxidación del  $\text{H}_2\text{S}$ .

Janssen y col. (1995) encontraron que bajo condiciones limitadas por oxígeno, abajo de 0.1 mg/L, el azufre es el producto final de la oxidación del  $\text{H}_2\text{S}$ , mientras que la formación de sulfato se favoreció por concentraciones limitadas de  $\text{H}_2\text{S}$ . Y reportan que la oxidación biológica del  $\text{H}_2\text{S}$  por microorganismos sulfoxidantes presenta dos biorreacciones en paralelo las

cuales se consideran de primera importancia.



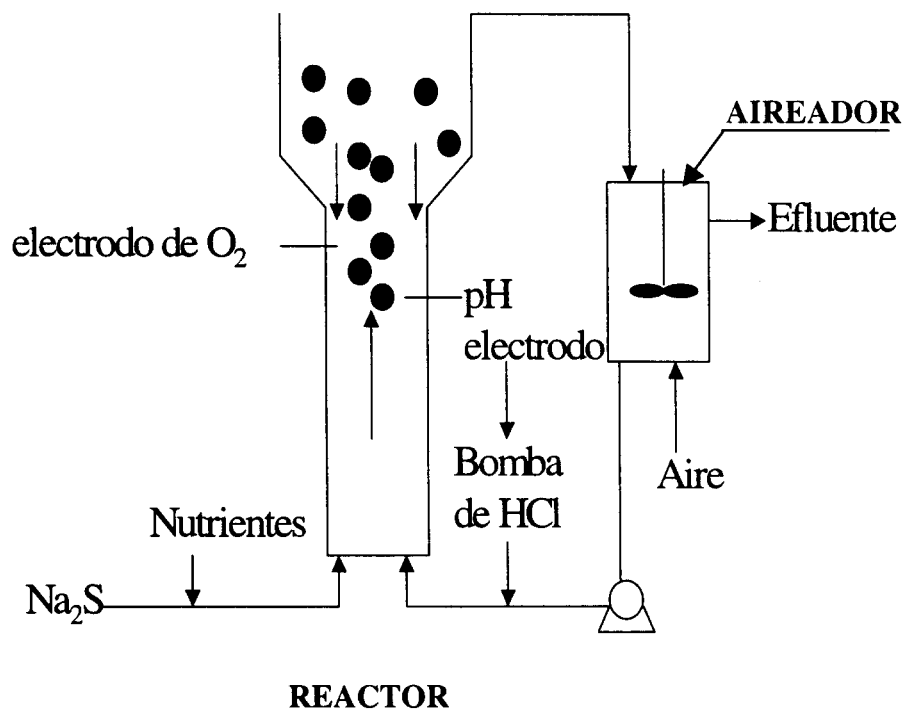
Como se observa, debido a que la oxidación a sulfato genera mayor energía útil a los microorganismos, esta reacción es más conveniente para los mismos. Sin embargo, la formación de  $\text{SO}_4^{2-}$  necesita 4 veces más oxígeno que la formación de  $\text{S}^0$ , en consecuencia la segunda reacción necesita una mayor demanda de energía por aireación lo cual implica una mayor turbulencia en el sistema.

Posteriormente estos autores (Janssen y col., 1997), reportaron un proceso biotecnológico de máxima recuperación de azufre a partir de la oxidación del  $\text{H}_2\text{S}$ . En este trabajo se diseñó un sistema donde el compartimiento de aireación de la fase líquida y la oxidación de sulfuro a azufre están separados espacialmente. Evitando de esta manera la turbulencia debida a la aireación de la fase líquida y favoreciendo de esta manera la formación de aglomerados de biomasa y azufre el cual tiende a incrementar la tasa específica de reacción.

El sistema está conformado por un vaso de aireación totalmente agitado ( $V=8 \text{ L}$ ), donde se lleva a cabo la saturación de oxígeno en la fase líquida, este se encuentra unido por recirculación al reactor ( $V=30 \text{ L}$ ) y es donde se lleva a cabo la oxidación parcial del  $\text{H}_2\text{S}$  (fig. I.3).

Bajo condiciones autotróficas y velocidades de carga de sulfuro excedentes de  $3.4 \text{ g/L d}$ , la mayor parte de los aglomerados de biomasa (2.5%) y azufre elemental (92%) formados en el reactor se inmovilizan en la parte superior del reactor, debido a una disminución de la velocidad de ascenso del líquido (fig. I.3). Ya que la biomasa se retiene en el reactor, se pueden tener velocidades de carga más altas de sulfuro que en los sistemas convencionales de células libres. La velocidad de carga máxima estudiada fue de  $14 \text{ g HS}^-/\text{l d}$ . Sin embargo, bajo esta circunstancia los aglomerados tienden a acumularse en la parte superior del reactor lo cual dificulta que las células se encuentren en suspensión total, además dificulta el retiro de los aglomerados de azufre-biomasa que se forman, por lo cual se consideró que para un sistema de células libres la velocidad de carga máxima es  $6 \text{ g HS}^-/\text{L d}$ . Por otra parte, cuando se adicionaron ácidos grasos volátiles en el sistema, se acumularon dentro del sedimento bacterias de azufre heterotróficas y bacterias sulfato reductoras, y posiblemente también thiobacilli mixótrofos, los cuales utilizan productos de excreción microbiana como fuente de carbono. La presencia de estos microorganismos reductores provocó un deterioro del sistema, debido que la

actividad anaerobia de las bacterias sulfato reductoras redujo el azufre elemental presente en sulfuro lo cual produjo una disminución del rendimiento del sistema, por tal motivo fue necesario retirar de manera continua el azufre elemental formado en el sistema. El principal campo aplicación de este tipo de sistemas es el tratamiento de aguas amargas provenientes de la industria petrolera.



**Figura I.3.** Nueva configuración de reactores empleado por Janssen para favorece la acumulación de  $\text{S}^0$  y su posterior recuperación.

La adición de HCl es de importancia a medida que inicia la formación de azufre elemental, debido a que se tiene una formación de iones  $\text{OH}^-$  de acuerdo con la ecuación 2.2.

### I.9 Estudios de formación de azufre elemental por saturación de sustrato.

Por su parte Visser y col. (1997) observaron que en una cepa pura de *Thiobacillus* sp. W5, aislada de un consorcio de microorganismos sulfoxidantes, la saturación del transporte de electrones se llevó a cabo por la concentración de sustrato ( $\text{H}_2\text{S}$ ) en el medio. Así, hasta concentraciones de 10 mmol/L h y menores, la oxidación fue completa hasta sulfatos, sin embargo después de esta concentración el azufre se empezó a acumular en el medio. La concentración máxima, sin que fuera tóxica para la cepa, fue de 30 mmol/L h que a la máxima

acumulación de azufre, 28 mmol/L h. Los autores suponen que la oxidación se detiene debido a la regulación de la enzima que oxida al azufre, la cual no actúa debido a que a nivel de citocromos la capacidad máxima de transporte de electrones se encuentra saturada. En este caso el requerimiento de electrones para la generación de energía se satisface con la oxidación del  $\text{HS}^-$  a  $\text{S}^0$ . Takeuchi y Suzuki (1997) han demostrado que la adherencia de *Thiobacillus thiooxidans* al azufre elemental esta determinado por la hidrofobicidad de la bacteria y puede ser controlado por la formulación de medio.

### I.10 Estudio de la oxidación biológica de tiosulfato.

Alcántara 2000, estudió las condiciones que favorecen la oxidación biológica del tiosulfato en azufre elemental y sulfato. Este estudio permitió de una manera general incrementar el conocimiento de la fisiología, metabolismo, formación de biopelículas y establecer algunos parámetros para su posible aplicación en el tratamiento de aire y agua contaminadas con sulfuros.

Las condiciones de cultivo que favorecieron la oxidación biológica de los compuestos reducidos de azufre fueron: Un intervalo de pH entre 5.5 y 7, temperatura 30°C. Se determino que para llevar a cabo la oxidación completa a sulfatos es necesario mantener una concentración de oxígeno disuelto superior a 0,2 mg/L. Mediante pruebas de respirometría, se determino que el crecimiento del consorcio se ve afectado negativamente en concentraciones de 40 g/L de sulfatos.

En el estudio del cultivo en continuo en un reactor completamente agitado, determinó una tasa de dilución crítica de alimentación alrededor de  $3.4 \text{ d}^{-1}$ , mientras que en un valor de  $3 \text{ h}^{-1}$  y concentraciones de oxígeno disuelto superiores de 0.2 mg/L, el cultivo oxidó completamente el tiosulfato a sulfato. En tanto, a concentraciones de  $\text{O}_2$  disuelto de 0.2 mg/L se favoreció la acumulación de azufre elemental, el cual se dio en una conversión del 13% con respecto a un azufre del tiosulfato. En concentraciones de  $\text{O}_2$  disuelto menores de 0.2, se observo un efecto negativo sobre el crecimiento.

Otro mecanismo que evaluó para favorecer la formación de azufre elemental, fue el mecanismo de saturación por sustrato, en el cual determino una conversión del tiosulfato en azufre

elemental del 18%, al trabajar el sistema a tasa de dilución de alimentación de  $3 \text{ d}^{-1}$  y con una concentración de tiosulfato de  $13.2 \text{ g/L}$ . La concentración de  $\text{O}_2$  disuelto lo fijo en  $3.8 \text{ mg/L}$ .

En este estudio no se observó una acumulación de azufre elemental en el reactor ya que la característica del sistema (reactor tanque agitado) no se favoreció la formación de aglomerados de biomasa activa – azufre elemental, los cuál incrementan la tasa específica de reacción.

De los antecedentes bibliográficos, se puede resumir que el trabajo que a continuación se presenta esta enfocado en determinar los parámetros que favorecen la oxidación biológica parcial de tiosulfato en azufre elemental mediante un consorcio de microorganismos sulfooxidantes. Para este propósito se empleo un sistema experimental de máxima acumulación de azufre elemental, en el cual se realiza una se separa la aireación del reactor (Fig. II.3), lo cual permite una limitación de oxígeno y minimizar turbulencias en el interior del reactor. Así mismo permite el ajustar relaciones molares de  $\text{O}_2/\text{S}^{-2}$ , por medio de las cargas de oxígeno y sulfuro que entran al reactor (Janssen y col.1995,1997). Una desventaja del diseño del sistema experimental reportado por dichos autores, se debe a que la mayor parte del azufre elemental formado se mantiene en suspensión en la parte alta del interior del reactor, lo cual provoca que el azufre elemental no se pueda cuantificar en su totalidad. Dando como consecuencia que la cuantificación de azufre elemental se realice indirectamente por estequiometría al determinar la concentración del ión sulfato, como lo indican en la literatura. Por tal motivo, en el trabajo que a continuación se presenta se realizó una modificación al diseño del sistema experimental de máxima acumulación de azufre elemental presentado por Janssen y col. (1997), con la finalidad de poder sedimentar la mayor cantidad de azufre elemental en el fondo del reactor, de modo que pueda ser retirado y cuantificado para poder realizar el balance total de azufre tomando en cuenta a su vez los diferentes compuestos de azufre que se encuentran en la fase líquida como son: sulfato, sulfito, tiosulfato.

De acuerdo a la literatura, la formación de azufre elemental, se presenta bajo condiciones de limitación de oxígeno ó saturación de sustrato, lo cual ocurre de acuerdo a la estequiometría de la reacción a la relacion molar  $(\text{O}_2/\text{S}^{-2}) = 0.5$ . Janssen y col.,(1995) determinaron que la formación de azufre elemental se da en relaciones molares  $(\text{O}_2/\text{S}^{-2})$  entre 0.5 y 1.0. De donde determinaron una conversión de sulfuro en azufre elemental del 75% en la relación molar de 0.7. sin embargo no reportan información del rendimiento celular, lo cual es de gran interés para poder desarrollar un modelo matemático que simule la operación del sistema experimental.



Un punto importante a determinar en el trabajo que a continuación se presenta es comparar las velocidades de sedimentación de los aglomerados de azufre-biomasa, con las velocidades de flujo de ascenso en el interior del reactor, ya que esto indicará el máximo valor de flujo de ascenso que se puede tener en el interior del reactor, el cuál permita la sedimentación de las partículas.

En este trabajo se empleó tiosulfato de sodio como compuesto reducido de azufre, el cuál se ha empleado en diversos estudios como un modelo representativo de lo que sucede al trabajar con sulfuro de sodio. La ventaja de trabajar con tiosulfato de sodio es que permite su manipulación sin riesgos asociados a toxicidad tanto para el consorcio y como para los seres humanos. Por otra parte Alcantara 2000, determino que las condiciones de cultivo del consorcio microbiano que favorecieron la oxidación biológica del tiosulfato en azufre elemental y sulfato son alrededor de pH 5.0 y a 30°C de temperatura.

### III. Objetivos

#### · Objetivo general

Diseñar, caracterizar y evaluar el desempeño de un sistema experimental y sus condiciones de operación que permita favorecer la oxidación parcial del tiosulfato en azufre elemental y sulfato, mediante un consorcio de microorganismos sulfoxidantes.

#### · Objetivos particulares

1. Diseñar, montar y arrancar el sistema experimental.
2. Determinar la distribución de tiempo de residencia del sistema experimental
3. Determinar el crecimiento del consorcio y de los productos formados de la oxidación biológica del tiosulfato a diferentes relaciones molares de oxígeno y tiosulfato ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ).
4. Determinar la máxima conversión de tiosulfato en azufre elemental.
5. Determinar los sólidos suspendidos y sólidos sedimentados en los diferentes relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ).
6. Determinar la velocidad de sedimentación de las partículas de azufre.

### III. Materiales Y Métodos

225975

En este capítulo se describen los dispositivos, métodos y condiciones experimentales bajo los cuales el trabajo experimental fue desarrollado

#### III.1 Material Biológico.

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

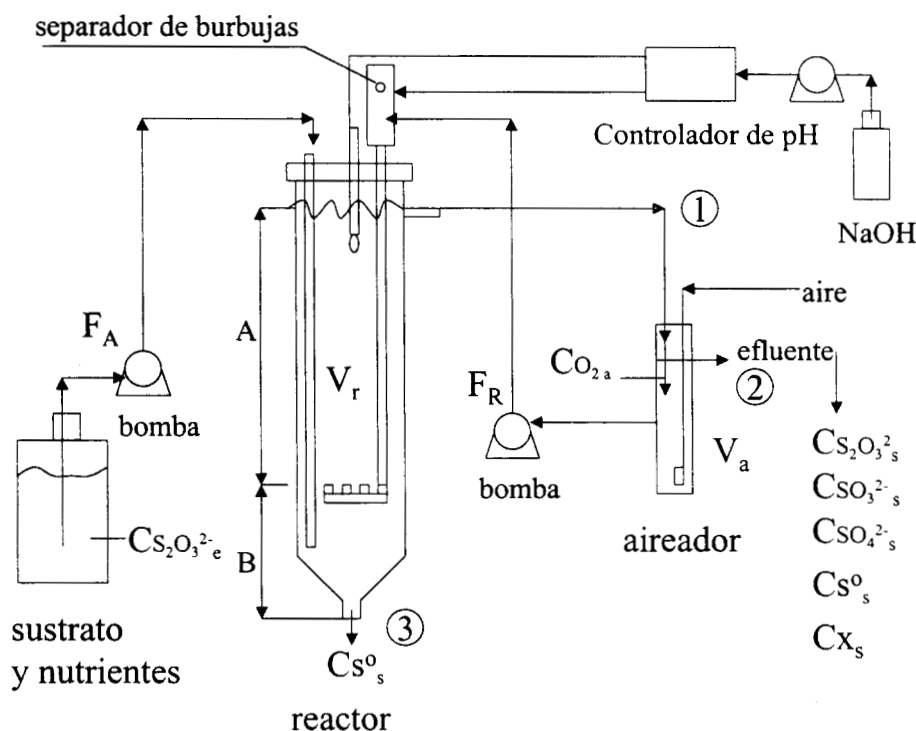
#### III.2 Medio de cultivo.

Los microorganismos se crecieron en un medio descrito por Sublette (1987), utilizando como compuesto reducido de azufre (fuente de energía):  $S_2O_3^{2-}$ . El tiosulfato de sodio se utilizó como modelo de estudio en gran parte del trabajo, dado que permite su manipulación sin riesgos asociados a toxicidad. Es importante señalar que este compuesto se ha utilizado como modelo para estudios de la sulfoxidación (Sublette, 1987; Steffes y col., 1996; Kelly y col., 1997):

Compuesto	Cantidades (g/L)
$Na_2HPO_4$	1.2
$KH_2PO_4$	1.8
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1
$NH_4Cl$	0.5
$CaCl_2$	0.03
$MnSO_4$	0.02
$FeCl_3$	0.02
$NaHCO_3$	2.0
$S_2O_3^{2-}$	7, 12

### III.3 Sistema experimental.

El sistema experimental empleado en este trabajo consiste básicamente en dos vasos interconectados entre sí. Las características del diseño se describen en la sección IV.1, correspondientes a resultados.



**Figura IV.1.-** Esquema representativo del sistema. (1), (2) y (3) son los puntos de muestreo. A, B son diferentes zonas que se dan en el interior del reactor.

Las dimensiones del reactor y del aireador son de diámetro interno de 14 cm, 6.5 cm, de longitud de 65 cm, 50 cm y sus capacidades volumétricas son de 10 L, 1.6 L, respectivamente. La recirculación del líquido a través del sistema se realizó con una bomba de velocidad variable con control de velocidad de flujo manual en un rango de 10 a 180 L/h de la marca Micropump. La velocidad de flujo de la solución de nutrientes y sustrato se controló con una bomba peristáltica de ajuste de flujo manual con un rango de 1 a 10 L/día de la marca Masterflex L/S. El pH fue controlado alrededor de 5 por la adición de hidróxido de sodio 0.5 normal (N) mediante un controlador analógico de pH de la marca Cole-parmer. El sistema fue controlado a

una temperatura de 30° C mediante un baño de recirculación de la marca SEV.

La concentración de oxígeno en la fase líquida del aireador se determinó con un oxímetro modelo 50 de la marca YSI, en un rango de 4 a 6 mg/L, el cual depende del flujo de aire. En la salida del reactor la concentración se mantuvo por debajo de 0.1 mg/L, durante los experimentos en flujo continuo.

A continuación se dan el método utilizado para determinar la concentración de oxígeno en la fase líquida del aireador y como se determino la carga de oxígeno y tiosulfato en el reactor.

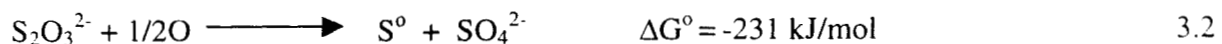
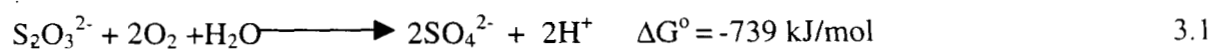
### III.4 Medición de la concentración de oxígeno en la fase líquida.

La concentración de oxígeno en la fase líquida del aireador se determinó con la finalidad de poder emplear este valor en la determinación de la carga de oxígeno que entra al reactor. Para determinar la concentración de oxígeno en la fase líquida se empleo un oxímetro YSI modelo 50B. El procedimiento de medición se describe a continuación:

1. En botellas de 0.5 L, se aireo agua durante el tiempo necesario para saturarlo de oxígeno, aproximadamente 30 minutos.
2. Se calibra el oxímetro a 5.8 mg/L como indica el manual.
3. En una botella de 0.1 L, se colocaron 10 mL de NaOH 2 N y se aforo con solución líquida proveniente del aireador. La adición del NaOH es necesaria para inhibir el consumo de oxígeno por los microorganismos durante la medición.
4. Se determina la concentración del oxígeno en la fase líquida dada en mg/L.

### III.5 Determinación de la relación molar entre el oxígeno y tiosulfato ( $O_2 / S_2O_3^{2-}$ ).

La idea principal es ajustar la relación molar oxígeno y tiosulfato a la teórica dada por las ecuaciones 3.1 y 3.2, donde una relación molar estequiométrica  $O_2 / S_2O_3^{2-} = 2$  estará favoreciendo a la formación de sulfato de acuerdo a la ecuación 3.1, mientras que una relación molar estequiométrica de  $O_2 / S_2O_3^{2-} = 0.5$  estará favoreciendo la formación de azufre elemental de acuerdo a la ecuación 3.2.



Las relaciones molares  $O_2 / S_2O_3^{2-}$  que se evaluarón experimentalmente se determinaron mediante el ajuste de las cargas de  $O_2$  y  $S_2O_3^{2-}$  en el reactor. El ajuste de las cargas para los dos compuestos se puede realizar mediante la variación de los siguientes parámetros:

1. La concentración del  $S_2O_3^{2-}$  en el medio de cultivo ( $C_{S_2O_3^{2-}e}$ )
2. La concentración del  $O_2$  en la fase líquida del aireador ( $C_{O_2e}$ )
3. La tasa de dilución de la alimentación ( $D_A$ ).
4. La tasa de recirculación( $D_R$ ).

$$\text{Donde: } D_R = \frac{F_R}{V_r} \quad \text{y} \quad D_A = \frac{F_A}{V_r}$$

El volumen del reactor( $V_r$ ) es un valor constante de 10L.

$$\text{Por lo tanto:} \quad \text{Carga } S_2O_3^{2-} = \left( \frac{F_R}{V_r} \right) (C_{S_2O_3^{2-}e} - C_{S_2O_3^{2-}s}) \quad 3.3$$

$$\text{Carga } O_2 = \left( \frac{F_A}{V_r} \right) (C_{O_2e} - C_{O_2s}) \quad 3.4$$

$C_{S_2O_3^{2-}s}$  = Concentración de tiosulfato a la salida del reactor

$C_{O_2s}$  = Concentración de oxígeno a la salida del reactor

Con lo cual tendremos las relaciones molares en cargas ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) mmol/L h / mmol/L h experimentales.

En los experimentos mencionados en la sección IV.2.2-2.4, se fijaron dos parámetros: la concentración del  $S_2O_3^{2-}$  en el medio de cultivo y la concentración del  $O_2$  en la fase líquida del aireador, por lo cual se tenía como variables los flujos de la alimentación y de recirculación, los cuales se pueden ajustar por sus respectivas bombas (ver Fig. III.1)

A continuación se describen los métodos utilizados para realizar la determinación de cantidad de sólidos que se mantienen en suspensión y la cantidad de sólidos que tienden a sedimentar en el sistema experimental.

### III.6 Determinación de los sólidos en suspensión.

Los sólidos suspendidos, se determinaron filtrando una alícuota de 30 mL del líquido del reactor sobre un filtro de nitrocelulosa de tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  previamente pesado, la muestra se deja secar por 16 hrs a una temperatura de 40°C y posteriormente se pesa la muestra, la diferencia del peso en el filtro será el peso de los sólidos en suspensión ( $W_{s.sp}$ )

### III.7 Determinación de los sólidos sedimentados.

Los sólidos sedimentados se determinaron mediante el siguiente procedimiento:

1. En un vaso de precipitado previamente pesado se toma una alícuota de 100 mL de la parte inferior del reactor.
2. Se deja sedimentar la muestra por 1 hora y posteriormente se decanta el sobrenadante.
3. Se deja secar la muestra por 24 hrs a una temperatura de 70 °C y posteriormente se pesa la muestra.
4. La diferencia del peso en el vaso será la cantidad de sólidos sedimentados ( $W_{s.sd}$ ).

### III.8 Determinación de la velocidad libre de sedimentación.

En esta determinación se empleó con la finalidad de determinar la velocidad libre de sedimentación de los diferentes tamaños de partícula de los aglomerados de azufre-biomasa que se forman en el sistema experimental. De esta manera se podrá relacionar la velocidad de sedimentación con el tamaño de partículas y determinar la velocidad constante promedio de sedimentación en el interior del reactor.

En esta determinación se estudia la primera etapa de una curva de sedimentación, donde los sólidos van descendiendo a través de una suspensión diluida por la acción de la gravedad a una velocidad constante y esta solamente depende de los diferentes tamaños de las partículas. Para realizar esto se empleó un sedimentador cilíndrico circular recto de un volumen de 1 litro en el cual se determinó la velocidad de sedimentación de pequeñas cantidades de muestra de tamaño de partículas predeterminadas las cuales tienen que descender una distancia de 20 cm en un determinado tiempo.

### III.9 Determinación de la distribución de los tiempos de residencia del sistema.

La distribución de los tiempos de residencia (DTR) se utiliza para determinar el patrón de mezclado en un reactor continuo e indicar los tiempos de residencia de un compuesto a través de un recipiente, m con base en las curvas de DTR se puede determinar si el flujo es de tipo pistón o de mezcla completa y si en el recipiente se encuentran zonas muertas o con mezclado deficiente. La DTR se puede calcular como una función de la respuesta a un impulso recibido, que experimentalmente es la introducción de una cantidad conocida de un trazador al sistema. Se considera como el área bajo la curva de la gráfica de la concentración del compuesto contra el tiempo (Levenspiel, 1972).

El procedimiento de la determinación se describe a continuación:

1. Se prepara una solución de azul de metileno (trazador) a una concentración de 10 g/L y se realizan diluciones para determinar una curva patrón que nos relacione la absorbancia a 640 nm y la concentración del colorante.
2. Se inyecta 5 mL del trazador con una concentración de 10 g/L al reactor a través del vaso de separación de las burbujas de aire de la fase líquida colocado en la parte superior del reactor y la toma de muestra de la señal de salida se realiza en el aireador.
3. Se hace un muestreo de la concentración del trazador a la salida ( $C_T$ ) a partir del momento de la inyección, colocando 5 mL de la muestra en celdas para espectrofotometría y se lee la densidad óptica a 640 nm por intervalos de tiempo de una hora hasta que la curva formada sea una asíntota con respecto al eje x. La concentración de colorante de estas muestras se determina por medio de la curva patrón del colorante.

La información obtenida con el trazador se emplea directamente para determinar experimentalmente la distribución de tiempos de residencia, la cual se calcula como una función de la respuesta al estímulo recibido.

El área bajo la curva concentración-tiempo estará dada por:



$$J = \int_0^{\infty} C_T dt \quad 3.5$$

Esta curva puede ser integrada como una curva de distribución normal recordando que el área bajo una curva normal es siempre la unidad por lo cual tendremos.

$$\int_0^{\infty} \frac{C_T}{J} dt = 1 \quad 3.6$$

El área es la distribución de tiempo de residencia normalizada.

A continuación se describen los métodos analíticos empleados en la cuantificación de azufre elemental, sulfato, sulfito y tiosulfato y politionatos. La finalidad de estas determinaciones es poder cuantificar la cantidad de azufre en cada componente y poder cerrar el balance de azufre.

### III.10 Cuantificación de azufre elemental.

La cantidad total de azufre elemental será la sumatoria del azufre elemental que se encuentra en el líquido en suspensión y el azufre elemental contenido en el sólido sedimentado. Por tal motivo, la cuantificación del azufre elemental total requiere dos determinaciones diferentes.

#### a). Determinación de azufre elemental ( $S^0$ ) en suspensión.

Se determinó la cantidad de  $S^0$  en suspensión por espectrofotometría (Bartlett y Skoog, 1954). Este método se basa en la reacción de cianuro de sodio con azufre elemental para formar tiocianato de sodio. En una solución de acetona, el azufre elemental reacciona rápida y cuantitativamente con cianuro para dar el complejo tiocianato. El tiocianato puede ser determinado colorimétricamente por la adición de acetona con cloruro férrico. El método es sensible para concentraciones de 2 ppm de azufre elemental. Los peróxidos, sulfuros, bisulfuros y mercaptanos no interfieren cuando están presentes en grandes cantidades. El método alcanza una precisión del 98-99%.

#### b). Determinación de azufre elemental en el sólido sedimentado.

La determinación de la cantidad de  $S^0$  en el sólido sedimentado se determino mediante el

siguiente procedimiento.

1. Se determina el peso seco de los sólidos sedimentados ( $W_{s.sd}$ ), como se indica en la sección III.8.
2. Se prepara una solución con una concentración de 50 mg/L del sólido sedimentado y de azufre elemental grado reactivo en éter de petróleo por separado con la finalidad de comparar el %S<sup>o</sup> que contiene la muestra sedimentada por el método de espectrofotometría indicado anteriormente.
3. La cantidad de azufre elemental contenido en el sólido sedimentado estará dado por:  
(  $W_{s.sd}$  ) \* ( %S<sup>o</sup> ).

### III.11 Cuantificación de $S_2O_3^{2-}$ , $SO_3^{2-}$ , $SO_4^{2-}$ y $S_4O_6^{2-}$

La detección y cuantificación de  $S_2O_3^{2-}$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $SO_4^{2-}$  y  $S_4O_6^{2-}$  se ha podido realizar también en forma rápida y precisa por cromatografía de líquidos (HPLC). Este método se realizó con un detector PDA (Photo Diode Array 996, Waters) con una longitud de onda de 308 nm. Se usó ftalato de potasio (0.04 M pH 4) como fase móvil a un flujo de 0.8 mL/min., con una columna (IonoSpher-A) de intercambio iónico de 250 mm de longitud y 4.5 mm de diámetro interno, empacada con sílica. La temperatura a la cual se realizó la detección fue de 30 °C y 1500 psi de presión

A partir de una solución 10 mM de sulfito, sulfato, tiosulfato y tetrionato de sodio (por separado), en agua desionizada, se hicieron diluciones para tener diferentes concentraciones de los compuestos y determinar la linealidad de la respuesta, encontrándose que el área bajo la curva fue directamente proporcional a la concentración.

Preparación de la muestra para el análisis en el HPLC. Se hace una dilución de la muestra (1:10) y se filtra 1 ml de la misma con una membrana de nylon de 13 mm de diámetro y 0.45  $\mu$ m de tamaño de poro. Se aplican 20  $\mu$ l de la muestra y se hace la inyección.

### III.12 Cuantificación de biomasa

La biomasa se determino indirectamente por su contenido de proteína, la cual fue cuantificado por el método de Lowry (1951) utilizando una curva patrón con albúmina de 0 a 500 mg/L.

### III.13 Estudios de respirometría.

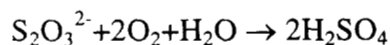
El estudio de respirometría, entre otras cosas sirve para determinar la velocidad de oxidación de un determinado compuesto. La técnica se basa en la medición del consumo de oxígeno como una medida indirecta de la oxidación de los compuestos reducidos de azufre por los microorganismos aerobios estudiados.

El inóculo utilizado para los estudios en respirometría se obtuvo del reactor experimental. Los compuestos reducidos de azufre se adicionaron en una concentración de 1 mM y las tasas de oxidación del tiosulfato fueron calculadas en concentraciones crecientes de los compuestos: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mM.

El oxígeno se midió utilizando un oxímetro YSI modelo 50 B. El procedimiento se describe a continuación:

1. En botellas de 0.5L se aireó el medio de cultivo durante el tiempo necesario para saturarlo de oxígeno, aproximadamente 30 minutos.
2. Se inoculó la botella con 10 % v/v de células centrifugadas y lavadas con solución salina al 0.85 %
3. Se adicionaron los sustratos a evaluar. Asimismo se evaluó la oxidación química de los sustratos, para esto en el medio sin células se determinó el consumo de oxígeno respecto al tiempo.
4. Se dejaron las botellas en agitación a temperatura de 30° C y pH 7
5. Se midió el consumo de oxígeno en el tiempo
6. Se calculó la tasa de consumo de oxígeno (mg O<sub>2</sub> /min) por medio de la pendiente del consumo respecto al tiempo.
7. Finalmente, las velocidades de oxidación de los sustratos (mg compuestos azufrados/g proteína min), se deben de calcular considerando la biomasa y la corrección para la respiración endógena. Esta última se calculó midiendo el consumo de oxígeno sin sustrato, es decir; medio con células sin fuente de energía se le midió el consumo del oxígeno respecto al tiempo.
8. Para los cálculos de las tasas relativas de oxidación a partir del oxígeno consumido se consideraron los siguientes factores de la relación sustrato/oxígeno de acuerdo a la estequiometría de la oxidación:

Tiosulfato



3.7

## IV. Resultados

### IV.1 Diseño y caracterización del sistema experimental.

El sistema experimental se diseñó con la finalidad de obtener una máxima acumulación de azufre elemental. Para lograr esto, se realizó una separación espacial de la aireación del reactor con lo cual se evitan las turbulencias ocasionadas por la aireación y además se limita la concentración de oxígeno en interior del reactor, con lo cual se estimula la formación y la aglomeración de azufre elemental (Janssen y col.1997). La concentración de oxígeno en el reactor se dará solamente por la recirculación del líquido del aireador al reactor.

Sin embargo las turbulencias que se ocasionen en el reactor estarán ahora en función de la velocidad de recirculación. Así mismo, para disminuir este tipo de turbulencias, la cual afectará la libre sedimentación de las partículas de azufre, se implantó un dispositivo en la parte media baja del reactor, el cual da una separación de dos zonas (A,B) en el interior del reactor, como se muestra en la figura III.1.

A).- Zona con turbulencia.

B).- Zona sin turbulencia.

La diferencia principal entre el diseño del sistema experimental presentado en este trabajo, al presentado por Janssen y col.,1997 (figura I.3), radica en que éste nuevo diseño, permite mantener en la parte baja del reactor una zona de libre sedimentación (sin turbulencias). Donde se asume que las partículas de biomasa-azufre al entrar a esta zona tenderán a sedimentar libremente, de esta manera se promueve que la mayor cantidad de partículas tiendan a sedimentar en el fondo del reactor para su posterior retiro y cuantificación. Una mala remoción de las partículas de biomasa-azufre cuando se trabaja este tipo de sistema en condiciones heterotróficas (Janssen y col., 1997), ocasiona una disminución de la eficiencia del sistema, debido principalmente a que las bacterias sulfatoredutoras se incorporan en los aglomerados de azufre elemental y biomasa e inician la reducción biológica del azufre elemental en sulfuro, lo cual conlleva a un aumento de los niveles de sulfuro en el sistema ocasionando una inhibición de las

bacterias sulfooxidantes. Por esta razón, una efectiva remoción de azufre es esencial para una aplicación exitosa del proceso en condiciones prácticas.

**225975**

Al implantar del dispositivo en la parte media baja del reactor, se obtuvo un mejor control de pH en 5, ya que la difusión del NaOH agregado al sistema para neutralizar el ácido producido por la oxidación biológica del tiosulfato se da en mayor grado, debido a la característica del patrón de flujo dado en la zona superior del reactor (A), el cual se determina a continuación.

#### IV1.1 Determinación de la distribución de tiempo de residencia.

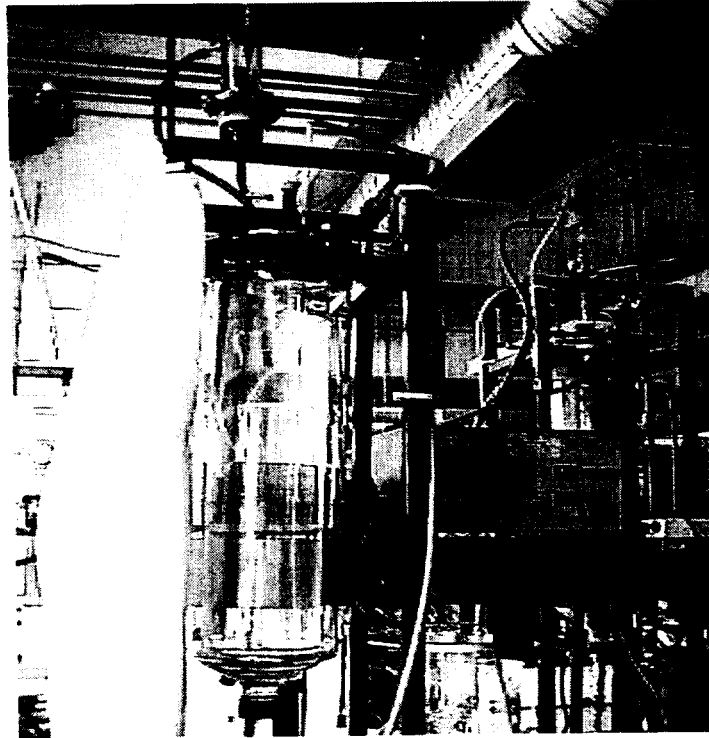
En esta sección, se reportan los resultados de la caracterización del patrón de flujo del sistema experimental, lo cual proporcionará información sobre el diseño del sistema experimental. Esta información se determinó por el método estímulo-respuesta (Levenspiel, 1972). El método experimental empleado se describe en la sección III.9. El experimento se llevó a cabo en el sistema experimental representado en la figura III.1, el cual fue llenado de agua de llave. El volumen total del sistema es de 11.6 L y los volúmenes de las zonas con turbulencia y sin turbulencia en el interior del reactor son de 7.3 L y 4.3 L respectivamente. La tasa de dilución de alimentación y recirculación se mantuvieron en  $0.431 \text{ d}^{-1}$  y  $3 \text{ h}^{-1}$  respectivamente.

Como se puede observar en la figura IV.1c, la división de las dos zonas del reactor están claramente definidas. En la parte superior del reactor se tiene una zona de volumen activo (con turbulencia) y en la parte baja se tiene una zona de volumen semiestancado (sin turbulencia), el cual se puede clasificar como una zona de libre sedimentación. El aireador se puede considerar como un reactor completamente agitado el cual tiene la función de realizar una transferencia de oxígeno de la fase gas a la fase líquida.

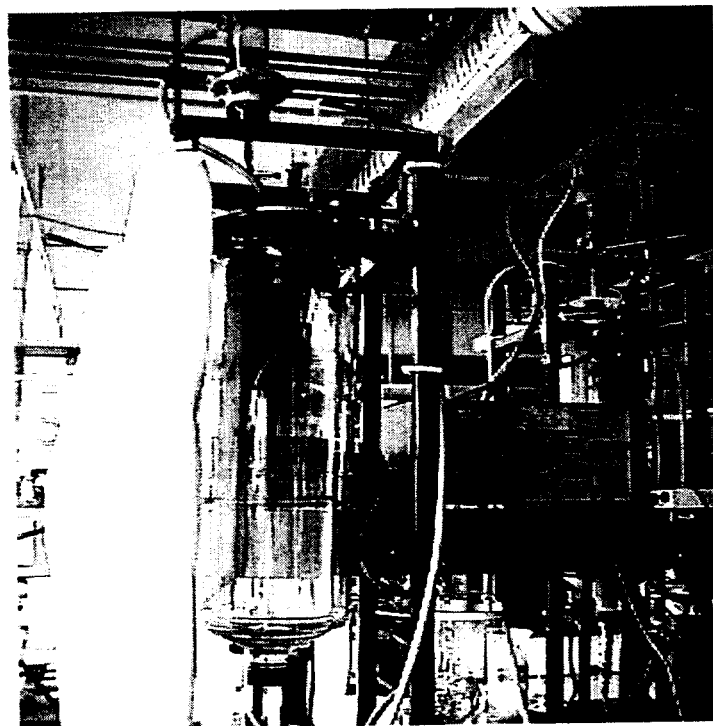
El número de Reynolds correspondiente a la velocidad de ascensión en el interior del reactor ( $V_{asc}$ ) de 240 cm/h, dado para la tasa de recirculación de  $3 \text{ h}^{-1}$  y un diámetro interno ( $d_{int}$ ) de 14 cm, es:

$$R_e = \frac{V_{asc} d_{int} \rho_{liq}}{\mu_{liq}} = 100$$

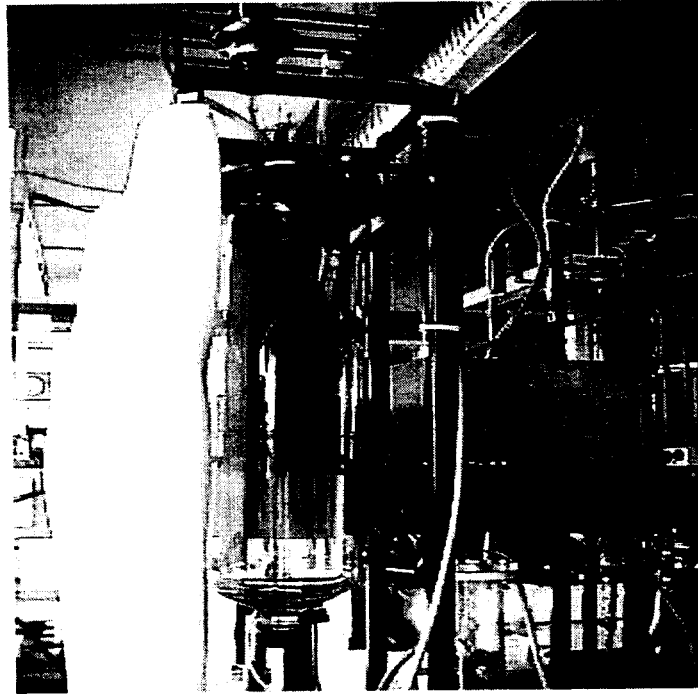
Los valores de la densidad y viscosidad del líquido son  $1016 \text{ Kg/m}^3$  y  $0.960 \text{ cp}$ , respectivamente. En la figura IV.1 se presenta la evolución del patrón de flujo en el sistema durante las primeras doce horas.



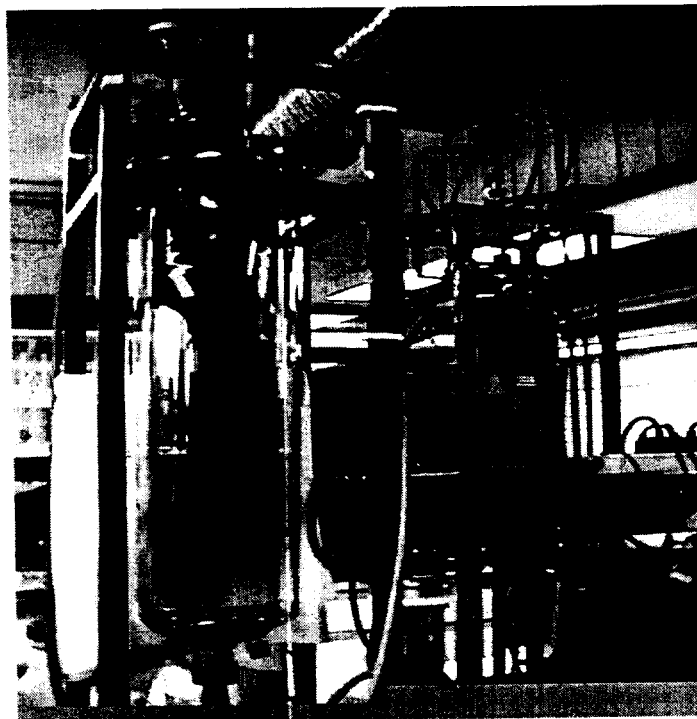
**Figura IV.1a.** En  $t = 0$ . Inyección del trazador en el recipiente de separación de burbujas por el cual entra el flujo de recirculación al reactor.



**Figura IV.1b.** En  $t = 3$  min. Se observa como el colorante inicia a mezclarse solamente en la zona de turbulencia del reactor.



**Figura IV.1c.** En  $t= 6$  horas. Se observa que el colorante solamente se encuentra mezclado en la parte de la zona de turbulencia del reactor y en el vaso de aireación.



**Figura IV.1d.** En  $t = 12$  horas. El colorante se encuentra en todo el volumen del reactor. sin embargo, la presencia de colorante en la zona sin turbulencia al parecer se debe a la convección forzada procedente de la zona con turbulencia.

En la tabla IV.1, se representa la respuesta continua a una función delta de entrada al sistema. El área bajo la curva concentración-tiempo ( $J$ ), definido en la Ec. 3.5, da aproximadamente la cantidad total de trazador introducido inicialmente. Para determinar la distribución de tiempos de residencia el área bajo la curva debe de ser la unidad, por lo cual la concentración del trazador a la salida ( $C_T$ ) debe dividirse por  $J$ , dando como resultado la distribución de edades del trazador a la salida ( $E$ ). La figura IV.2 es la representación grafica de la curva de distribución construida con los datos de la tabla IV.1

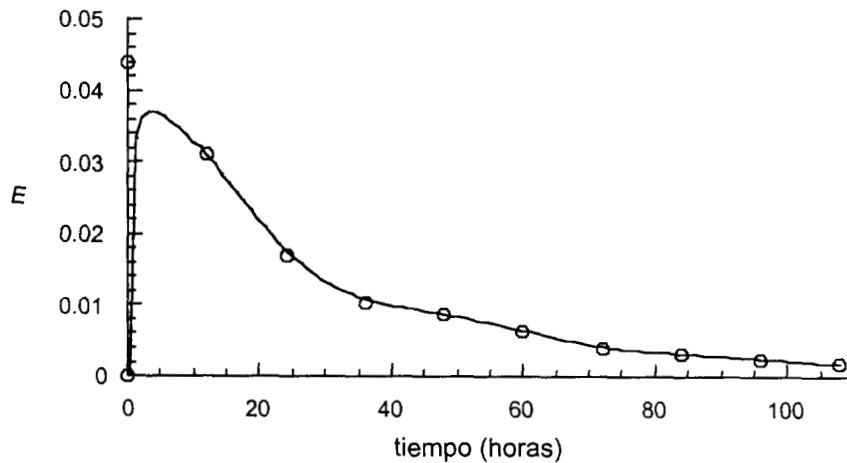
**Tabla IV.1** Resultados obtenidos del método estimulo-respuesta, donde  $E$  es la distribución de edades del trazador a la salida.  $J = 0.137$  g h/L.

Tiempo (h)	Concentración de trazador a la salida (g/L)	$E = C_T/J$ (1/h)
0	0.0	0.0
12	0.00424	0.0310
24	0.00236	0.0170
36	0.00142	0.0105
48	0.00110	0.0085
60	0.00080	0.0061
72	0.00058	0.0038
84	0.00044	0.0027
96	0.00035	0.0016
108	0.00026	0.0010

$$\int_0^{\infty} \frac{C_T}{J} dt = 0.98$$

De acuerdo a la ecuación 3.6, el área bajo la curva de una distribución normal, es siempre la unidad. En este caso el valor del área de la distribución normal, de acuerdo con los resultados presentados en la tabla IV.1 fue de 0.98.





**Figura IV.2** Curva de distribución del tiempo de residencia ( $E$ ).

#### IV.1.2. Aplicación del modelo de tanques en serie.

La figura IV.2, muestra la curva de distribución de tiempo de residencia la cual es asimétrica y presenta una terminación en forma de cola. Por lo cual se puede asumir que el comportamiento del sistema experimental, se asemeja a un reactor de tanque de mezcla completa. Sin embargo para determinar las desviaciones del flujo no ideal en el sistema con respecto al flujo ideal de mezcla completa, se empleará el modelo de tanques en serie, el cual supone que el sistema experimental se puede representarse por varios tanques de mezcla completa ideal del mismo tamaño en serie. Donde el único parámetro es el número de tanque( $N$ ).

El modelo de tanques en serie para  $N$  números de tanques esta dado de manera adimensional (Levenspiel, 1972) como:

$$E_{\theta} = \frac{N(N\theta)^{N-1}}{(N-1)!} e^{-(N\theta)} \quad 4.1$$

La media y la varianza vienen dadas por:  $t_{\theta} = 1$  y  $\sigma_{\theta}^2 = \frac{1}{N}$  4.2 y 4.3

La media y la varianza de una distribución continua normalizada y medida en un número finito de puntos equidistantes, viene dada por

$$t = \int_0^{\infty} t E dt \quad y \quad \sigma^2 = \int_0^{\infty} t^2 E dt - t^2 \quad 4.4 \text{ y } 4.5$$

Los resultados obtenidos de la media, varianza obtenido de los valores de la tabla IV.1 son :

$$\bar{t} = 34h \quad \sigma^2 = 700h^2$$

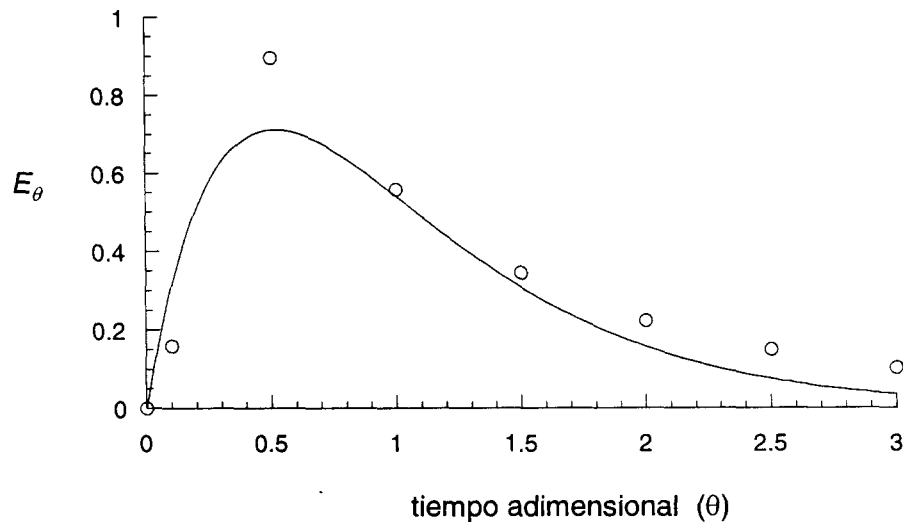
El número de tanques estará dado por :

$$N = \frac{1}{\sigma_\theta^2} \quad 4.6$$

Donde:  $\sigma_\theta^2 = \frac{\sigma^2}{\bar{t}^2} \quad 4.7$

Sustituyendo el valor de  $\bar{t}$  y  $\sigma^2$  en la ecuación 4.7, tendremos:  $\sigma_\theta^2 = 0.605$  y si este valor se sustituye en la ecuación 4.6, se tendrá el número de reactores ( $N$ ). Donde  $N = 1.7 \approx 2$ .

Empleando el modelo de tanques en serie, representado por la ecuación 4.1. Donde  $N = 2$ .



**Figura IV.3** Representación de la curva de distribución del tiempo de residencia por el modelo de tanques en serie para  $N = 2$ .

En la figura IV.3, se observa que la curva descrita por el modelo de dispersión indica que el patrón de flujo en el sistema tiene la tendencia hacia un flujo de mezcla completa ideal, el cual está determinado por  $N=1$ . Por su parte Levenspiel, 1972, señala que los sistemas con

recirculación se comportan como un gran tanque con agitación cuando la velocidad de recirculación es relativamente rápida comparada con el flujo global a través del sistema. Esto explica el comportamiento del flujo en mezcla completa del sistema evaluado.

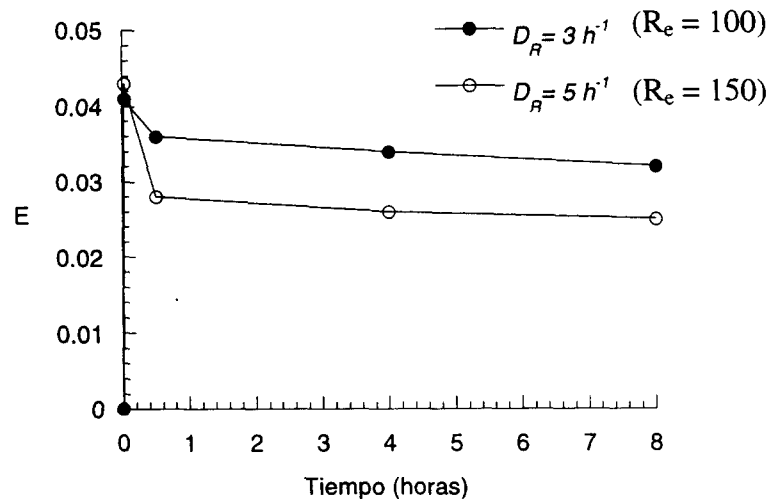
Sin embargo este flujo de mezcla completa determinado en el sistema, se puede clasificar en dos tipos:

a) Tanque de mezcla completa con una zona muerta (sin turbulencias) en la parte inferior del reactor, tal y como se muestra en la figura IV.1c, este comportamiento se da a tasas de recirculación menores alrededor de  $4 \text{ h}^{-1}$ .

b) Tanque de mezcla completa sin zona muerta (totalmente con turbulencia), el comportamiento sería algo parecido a la figura IV.1d, dicho comportamiento se da a tasas de recirculación mayores alrededor de  $4 \text{ h}^{-1}$ .

Al valor  $D_R$  de  $4 \text{ h}^{-1}$ , le corresponde un valor del número de Reynolds = 130.

En la figura IV.4, se muestran las curvas DTR para dos tasas de dilución de recirculación ( $D_R$ ) diferentes evaluadas en un tiempo de 8 horas.



**Figura IV.4.** Comparación entre dos curvas DTR, evaluadas para dos diferentes tasas de dilución de recirculación ( $D_R$ ).

En la figura IV.4, se observa que existe un comportamiento similar para los dos  $D_R$  evaluadas. Sin embargo, existe una diferencia en la distribución de edades a la salida (E). Ya que el colorante inyectado en  $D_R = 3 \text{ h}^{-1}$ , se mezcla en 6 litros del reactor y en el caso de  $D_R = 5 \text{ h}^{-1}$ , el colorante inyectado se mezcla en los 10 litros del reactor, lo cual da una diferencia de concentraciones del colorante a la salida, teniendo una concentración menor en  $D_R = 5 \text{ h}^{-1}$ .

Esto permite asumir, que sí se quiere mantener un sistema en el cuál se favorezca la formación y la sedimentación de los aglomerados de azufre elemental-biomasa, será necesario trabajar el sistema con tasas de recirculación menores de  $4 \text{ h}^{-1}$ , de lo contrario la turbulencia en el reactor será tal, que desfavorecerá la formación de aglomerados y dificultará la libre sedimentación de las partículas en la zona baja del reactor (Ver sección IV.3.2).

#### IV.1.3. Cálculo de la fracción de volumen muerto.

La determinación de la fracción de volumen muerto de un reactor en el sistema, ayuda a determinar la zona estancada o no reaccionante (Levenspiel,1972). Generalmente, siempre se trata de eliminar estas zonas ya que causan una disminución de la eficiencia global del equipo durante el proceso. Sin embargo, en este proceso en especial se trata de tener una zona de volumen semiestancado (muerta), con la finalidad de evitar turbulencias y de esta manera fomentar en un mayor grado la formación y la sedimentación de las partículas de azufre elemental que se forman de la oxidación parcial del tiosulfato.

La fracción de volumen muerto ( $F_{VM}$ ) se puede determinar como el volumen total del sistema menos el volumen activo entre el volumen total, es decir;

$$F_{VM} = \frac{V_T - V_a}{V_T} = 1 - \frac{t}{T_{RH \text{ ideal}}} \quad \text{Donde:} \quad T_{RH \text{ ideal}} = \frac{V_T}{v}$$

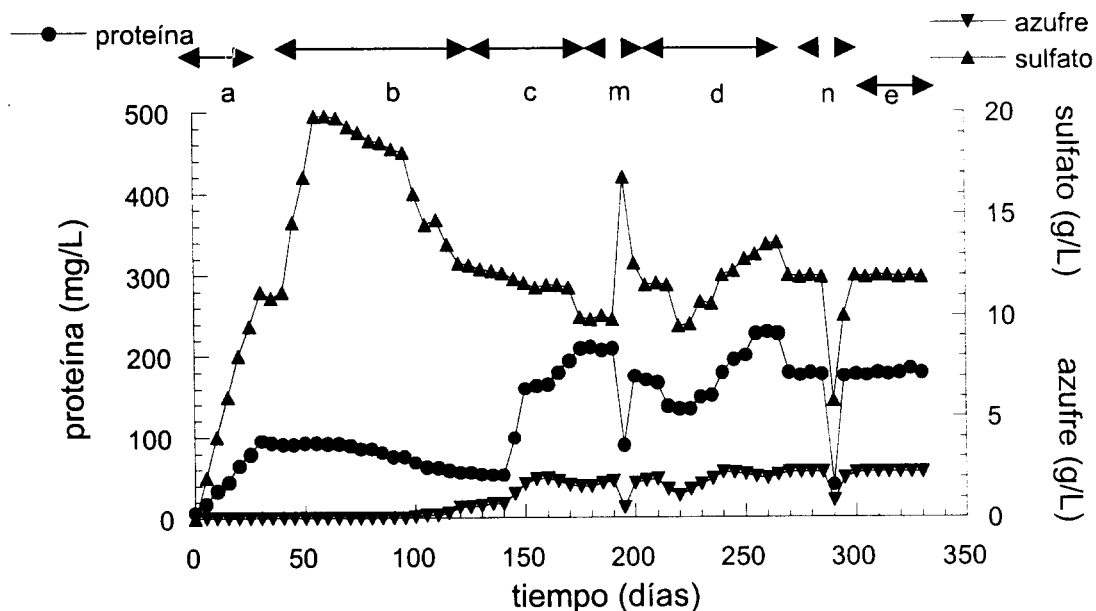
El valor de la fracción de volumen muerto para un  $V_T = 11.6$ ,  $v = 5 \text{ L/día}$  y  $t = 34 \text{ h}$  es:  $F_{VM} = 0.389$ , lo cual indica que el volumen muerto del sistema es de 4.5 L. Este valor obtenido es muy cercano al valor real de volumen muerto del sistema el cual es de 4.3 L que corresponde al volumen de la zona sin turbulencia de la figura III.1

## IV.2 Desempeño global del sistema empleado en la eliminación biológica de tiosulfato

Una de las finalidades de realizar estudios a nivel laboratorio sobre procesos de eliminación biológica de contaminantes es el escalamiento para su posterior aplicación industrial. Es necesario para ello establecer el tipo de reactor que presente las mejores características de eliminación del contaminante. En el caso de los compuestos reducidos de azufre se han utilizado los reactores totalmente agitados, que utilizan un consorcio sulfoxidante (Buisman y col., 1989) o cepas puras de *Thiobacillus* (Sublette, 1987; Visser y col., 1997), para la eliminación de sulfuro de corrientes acuosas. Este sistema se utiliza también para el tratamiento de corrientes acuosas contaminadas con tiosulfato y tiocianatos de la industria fotográfica (Robertson y Kuenen, 1991). Por su parte, Janssen y col. (1997) reportaron que al separar la agitación y la aireación del reactor donde se efectúa la oxidación de sulfuro por un consorcio sulfoxidante, se estimuló la formación de aglomerados de azufre elemental-biomasa activa. En los sistemas convencionales (reactores totalmente agitados) la alta turbulencia que se tiene en este tipo de reactores no permite la formación y la acumulación de azufre elemental-biomasa, ya que estos aglomerados son disgregados continuamente. Por otra parte, Gommers y col. (1988a, 1988b) sugieren la utilización de reactores de lecho fluidificado para un proceso simultáneo de desnitrificación y sulfuroxidación. Se identificó a *Thiomicrospira* sp. como uno de los microorganismos del consorcio. En el caso del tratamiento de gases contaminados con sulfuros ( $H_2S$  y  $CS_2$ ) se han utilizado biolavadores de lecho escurrido (Revah y col., 1995; Torres y col., 1993) así como biofiltros (Yang y Allen, 1994; Degorce- Dumas y col., 1997). En ambos procesos se utilizaron consorcios sulfoxidantes. En el caso del tratamiento de corrientes acuosas contaminadas con un compuesto reducido de azufre, Alcántara (2000) reportó un estudio de la oxidación biológica del tiosulfato empleando un reactor completamente agitado y un consorcio sulfoxidante.

Revah y col., 1999 iniciaron una nueva etapa de estudio de la oxidación biológica de tiosulfato en la cual se empleó un sistema de máxima acumulación de azufre elemental. El objetivo fue diseñar, caracterizar y evaluar el desempeño del consorcio sulfoxidante en este nuevo sistema experimental, en el cual se pretende favorecer la oxidación parcial de tiosulfato en azufre

elemental y sulfato. En la figura IV.5 se presenta el comportamiento del consorcio sulfooxidante en el sistema experimental, descrito en el capítulo IV.1. En la figura IV.5 el tiempo que se grafica es de 340 días y corresponde a la representación del desempeño del consorcio a lo largo del estudio. El estudio del desempeño del sistema se inició el 10 de septiembre de 1999.



**Figura IV.5.** Cultivo continuo del consorcio sulfooxidante a lo largo del estudio, el pH fue controlado en 5 y 30°C de temperatura.

La figura IV.6 se divide en diferentes etapas de estudio, las cuales se pueden resumir en la tabla IV.2.

**Tabla IV.2.** Resumen de las diferentes etapas de estudio del consorcio sulfooxidante evaluado en el nuevo sistema experimental.

Etapa	Días	Tipo de estudio	Tipo de sistema
a	0-35	Arranque del sistema	Lote
b	35-140	Efecto de limitación de oxígeno	Continuo
c	140-190	Efecto del aumento de carga de tiosulfato y limitación de oxígeno	Continuo
d	200-270	Obtención de la máxima conversión de tiosulfato a azufre elemental	Continuo
e	300-340	Estabilización del sistema con conversiones del 65% de tiosulfato a S <sup>0</sup>	Continuo

Los puntos m, n representan las fallas del sistema durante la etapa de estudio, las cuales resumen en la tabla IV.3

**Tabla IV.3.** fallas del sistema experimental durante la etapa de estudio.

**225975**

Punto	Causas del fallo	Restablecimiento
m	El sistema se mantuvo en pH de 2, durante dos días debido a una falla del controlador de pH.	El sistema se restableció al subir el pH a 5, mediante la adición de medio de cultivo. El sistema se restableció en 3 días. No fue necesario reinocular el sistema.
n	El sistema se quedo sin oxígeno durante 2 días, debido a una falla de la bomba de aire.	El sistema se restableció al airear directamente el bioreactor. El sistema se restableció en 2 días. No fue necesario reinocular el sistema.

#### IV.2.1 Etapa a; Arranque del sistema

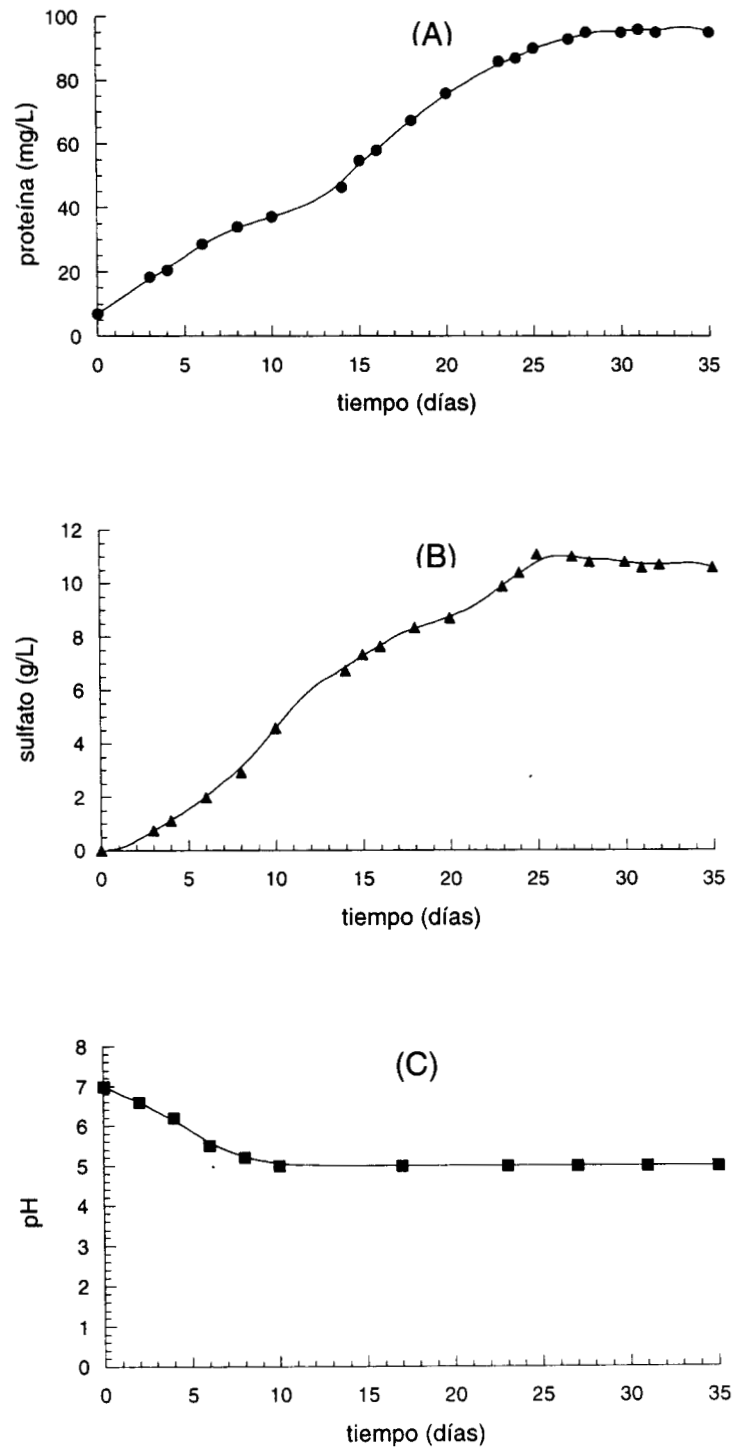
Se inicio con un cultivo en lote en un reactor de 10 litros completamente aireado, en el cual se inoculo un consorcio sulfoxidante proveniente de un cultivo en continuo adaptado a tiosulfato por un periodo de cuatro años.

El objetivo fue evaluar el comportamiento del consorcio en el sistema en lote, para esto se determino la concentración de proteína, la formación del sulfato y pH.

La condiciones iniciales fueron: Concentración inicial de tiosulfato de 7 g/L, pH 7, 30 °C y 10% de inoculo. Los resultados se presentan en la figura IV.6.

En la figura IV.6, se observa que el máximo crecimiento del consorcio se alcanza a los 30 días de operación, presentándose un valor de proteína de 95 mg/L, el cual concuerda con una máximo formación de sulfato de 11.3 g/L. En referencia al pH se observa una disminución hasta un valor de 5 obtenido en el día 11 de operación y durante el resto del experimento se controlo a este valor.

Estos valores concuerdan con los resultados obtenidos por Alcántara (2000), en los cuales reportó que los valores máximos de crecimiento y de formación de sulfato alcanzados por este mismo consorcio en matraz fueron de 126 mg proteína/L y de 13 g/L, respectivamente. Las condiciones iniciales para su experimento fueron: 10 g/L de tiosulfato, 10% de inoculo, pH 7 y 30 °C .



**Figura IV.6** Etapa a; (A) Crecimiento; (B) formación de sulfatos; y (C) pH del consorcio a 35 días de operación del sistema.



Con respecto al pH señala que la disminución es característica del crecimiento del consorcio y esta relacionada con la formación de sulfato en el sistema.

En la figura IV.6, donde se presenta los primeros 35 días de operación, se observa que el consorcio después de la fase exponencial de crecimiento alcanza un estado estacionario después del día 28 de cultivo. En este tiempo oxida todo el tiosulfato presente y se alcanza el máximo de conversión a sulfato (12 g/L). Por lo que al día 35, se realizó un cambio en la configuración del sistema experimental (figura III.1), iniciándose la operación en continuo. La concentración de tiosulfato en el medio de cultivo fue de 12 g/L y se utilizó una tasa de dilución de alimentación de  $0.215 \text{ d}^{-1}$ . Posteriormente, se ajustó la tasa de recirculación.

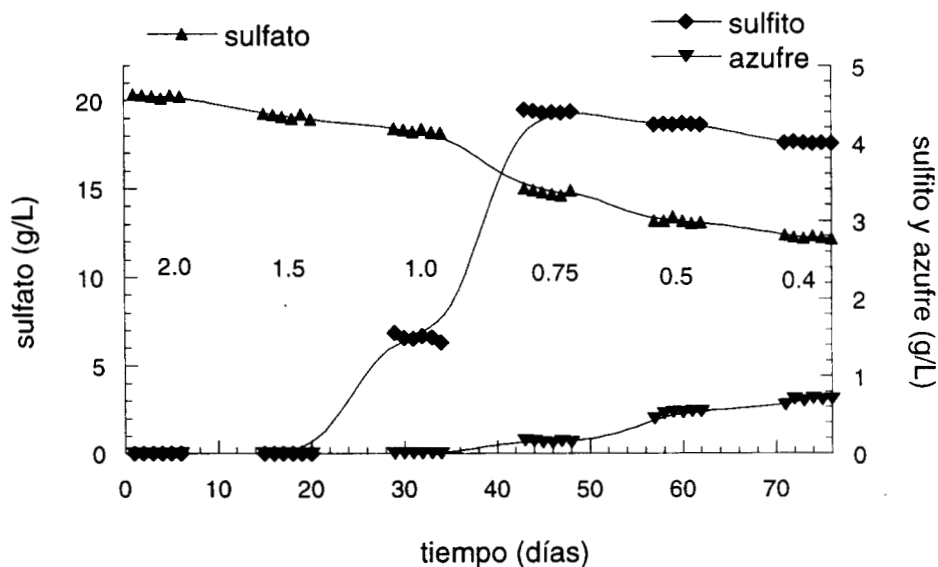
#### IV.2.2 Etapa b; Efecto de la limitación de oxígeno.

Con el fin de evaluar la oxidación total y parcial del tiosulfato y su efecto sobre el crecimiento, se evaluaron diferentes relaciones molares ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ), como se indica en la sección III.5. Las cuales se determinaron por cargas de oxígeno y tiosulfato en el reactor. La concentración del tiosulfato en el medio de cultivo de alimentación fue de 12 g/L. Se evaluaron 6 diferentes relaciones molares ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) las cuales fueron: 2.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5 y 0.4. Para obtener estas relaciones molares se mantuvo la tasa de dilución de alimentación de tiosulfato constante a un valor de  $0.215 \text{ d}^{-1}$ ,  $Q_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}$  de  $0.960 \text{ mmol/L h}$  y se varió la velocidad de carga del oxígeno que entra en el reactor para esto se ajustó la tasa de recirculación a valores de 12.10, 9.20, 6.20, 4.70, 3.0 y  $2.43 \text{ h}^{-1}$ ,  $Q_{\text{O}_2}$  de 1.95, 1.42, 0.952, 0.723, 0.470, y  $0.380 \text{ mmol/L h}$ , respectivamente. La concentración de oxígeno en el líquido del aireador se mantuvo constante en un valor de 5.1 mg/L y en la salida del reactor la concentración del oxígeno fue menor de 0.1 mg/L solamente en las relaciones molares menores de uno. El volumen del líquido en el vaso aireador se mantuvo en 1.5 L. Los resultados se presentan en la figura IV.7.

En la figura IV.7, se gráfica la formación de sulfato, sulfito y azufre elemental (g/L) obtenidos en estado pseudoestacionario de las diferentes relaciones molares ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) contra el tiempo. En la tabla IV.4 se presenta el balance de azufre de los tres compuestos que se forman de la oxidación parcial del tiosulfato.

En la figura IV.7 y la tabla IV.4, se observa que a relaciones molares  $(O_2/S_2O_3^{2-}) > 1.0$  el sulfato es el principal producto de la oxidación del tiosulfato, mientras que en relaciones molares  $(O_2/S_2O_3^{2-})$  entre 0.4 y 1.0, se favorece más la formación de sulfito que la formación de azufre elemental. El % de conversión de tiosulfato a  $S^0$  en la relación molar de 0.5 y 0.4 fueron del 15.6% y 20.4%, respectivamente. Sin embargo, estas conversiones son bajas con respecto a la conversión estequiométrica, a la cual le corresponde un valor de 3.43 g/L en azufre elemental para la relación molar  $(O_2/S_2O_3^{2-}) = 0.5$

En los estudios realizados por Janssen y col. (1995), en un reactor fed-batch, reportaron que bajo condiciones de limitación de oxígeno por debajo de 0.1 mg/L y relaciones molares  $(O_2/S^{2-})$  entre 0.6 y 1.0, el azufre elemental es el mayor producto terminal de la oxidación biológica del sulfuro, el cual se dio hasta en una conversión del 75%, mientras que en relaciones molares  $(O_2/S^{2-}) > 1.0$ , el sulfato fue formado hasta en un 98%. es decir. De los resultados obtenidos con los comparados en la literatura, se puede afirmar que en relaciones molares de  $(O_2/S^{2-})$  y  $(O_2/S_2O_3^{2-}) > 1.0$ , el producto terminal de la oxidación biológica será el sulfato. Por otra parte es notorio que la formación de  $S^0$  no se dio como se esperaba en las relaciones molares  $(O_2/S_2O_3^{2-})$  entre 0.4 y 1.0, de acuerdo a lo reportado en la literatura.



**Figura IV.7.** Etapa (b); Cultivo continuo a diferentes relaciones molares experimentales  $(O_2/S_2O_3^{2-})$ . El pH fue controlado en 5.0 y 30 °C de temperatura. Los números en la parte media de la gráfica representan las relaciones molares  $(O_2/S_2O_3^{2-})$ .

**Tabla IV.4.** Balance de la oxidación de tiosulfato del consorcio en estados estacionario ( $D_A = 0.215 \text{ d}^{-1}$ ).

Relación ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ )	2	1.5	1.0	0.75	0.5	0.4
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (e), mol/L	0.107	0.107	0.107	0.107	0.107	0.107
$\text{SO}_4^{2-}$ (s), mol/L	0.211	0.198	0.188	0.154	0.136	0.128
$\text{SO}_3^{2-}$ (s), mol/L	0.0	0.0	0.019	0.055	0.052	0.050
$\text{S}^0$ (s), mol/L	0.0	0.0	0.0	0.005	0.017	0.022
% S(e) a $\text{S}^0$	0.0	0.0	0.0	4.6	15.6	20.4
Balance de S (mol/L)	0.003	0.015	0.006	0.004	0.008	0.014

En la tabla IV.5, se presenta la comparación entre las relaciones molares ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) experimentales calculadas por cargas de  $\text{O}_2$  sobre cargas de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  en el reactor y las relaciones ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) determinadas por el balance de  $\text{O}_2$  presente en el producto de la oxidación. Los resultados indican que existe una diferencia entre estas relaciones. En la primera diferencia entre la relación molar obtenida por el balance de  $\text{O}_2$  y la experimental, se observa que la diferencia es negativa (-0.06), lo cual indica que un 2% del tiosulfato de entrada no fue convertido a sulfato, esto es confirmado en el resultado de la tabla IV.4. Sin embargo a valores menores de la relación molar experimental de 2, las diferencias son positivas, al parecer esto se debe, a que se produjo una mayor formación de los productos mas oxidados de la que se esperaba en las relaciones molares experimentales determinadas en el reactor. Es posible considerar que la diferencia, dada por una mayor formación de los productos mas oxidados se dio fuera del reactor. Dado que las condiciones en el interior del reactor en las relaciones molares experimental ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) < 1.0, son micro-aerobias, lo cuál dificultaría una oxidación mayor del tiosulfato, de la especificada por la relación molar experimental. Esto vendría a suponer que en las tres ultimas relaciones molares la alta concentración de oxígeno (5 mg/L) y el tiempo de residencia ( alrededor de 2 minutos) del

líquido en el aireador contribuyó a la formación de los productos mas oxidados. Lo cual supondría que las diferencias casi constantes alrededor de 0.5, dadas en las últimas 4 relaciones molares son la contribución de las condiciones presentes en el aireador.

**Tabla IV.5.** Comparación entre las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinadas experimentalmente con las relaciones molares determinadas por el balance de oxígeno presente en el producto de oxidación.

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Exp.	2	1.5	1.0	0.75	0.5	0.4
$O_2$ , real mmol/L h	1.86	1.63	1.46	1.32	1.0	0.86
Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Balance	1.94	1.71	1.52	1.38	1.04	0.90
Diferencia entre ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Balance-Exp.	-0.06	0.21	0.52	0.63	0.54	0.50

Con respecto al crecimiento del consorcio, se observa en la figura IV.8, que a medida que se va disminuyendo la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) vía limitación de la carga de oxígeno en el reactor, existe también una disminución de la formación de proteína (crecimiento). Esto indica que el crecimiento celular esta en función de la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ).

El consorcio presento valores de crecimiento de 95 mg proteína /L en la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) = 2.0, mientras que en la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) = 0.4, el valor de crecimiento se dió en 52.7 mg proteína /L. Estos resultados confirman lo mencionado anteriormente.

El efecto de la disminución del crecimiento del consorcio a medida que se disminuye la relación molar se puede explicar por que este tipo de microorganismos obtienen una menor energía para su crecimiento de la oxidación parcial de tiosulfato ( $O_2/S_2O_3^{2-} < 1.0$ ), mientras tanto cuando llevan

En la tabla IV.6 se presenta la comparación del crecimiento ( $Q_x$ , g proteína /L d), rendimiento celular ( $Y_{\frac{x}{o_2}}$ , g proteína/g oxígeno) y eficiencia de oxidación ( $Y q_{\frac{so_4^{2-}}{x}}$ , g sulfato/g proteína.d).

En la tabla IV.6, se observa que la eficiencia oxidativa del consorcio se mantiene casi constante en las diferentes relaciones molares, con valores de 50 g sulfato/g proteína.d, es decir, el consorcio mantiene su eficiencia oxidativa a pesar de la disminución de las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) vía disminución de carga de oxígeno en el reactor.

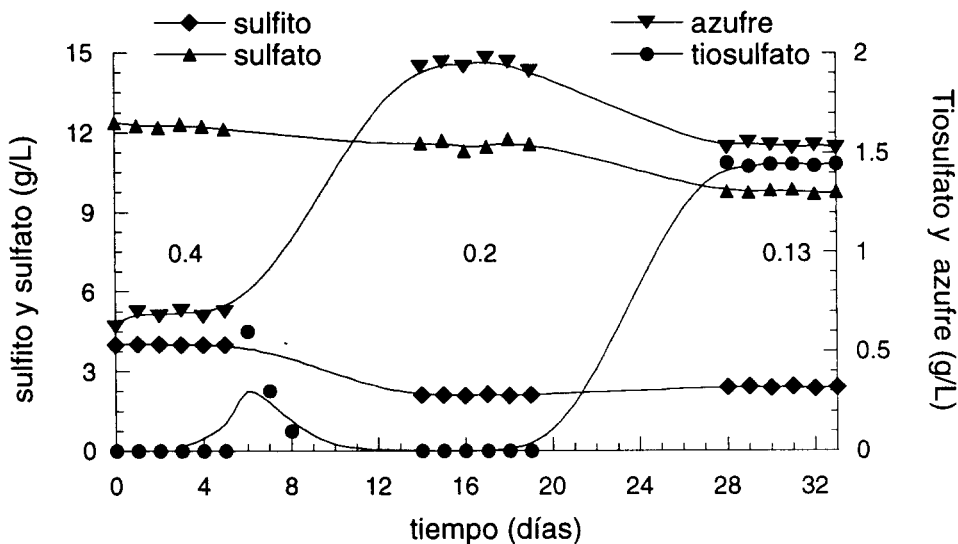
Alcántara, (2000) reportó valores de eficiencia oxidativa de este mismo consorcio evaluados en un reactor continuo completamente agitado y aireado de 52 g sulfato/g proteína.d, para una  $D_A$  de  $0.4 d^{-1}$  y concentración de tiosulfato de 9 g/L. Comparando este resultado con los obtenidos en la tabla IV.6, al parecer el consorcio mantiene su valor de eficiencia oxidativa a pesar de la diferencia del sistema en el cual se evaluó el consorcio.

**Tabla IV.6.** Rendimiento celular y eficiencia oxidativa del consorcio sulfoxidante ( $D_A=0.215 d^{-1}$ )

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ )	2	1.5	1.0	0.75	0.5	0.4
$O_2$ Balance, g/L	6.65	5.82	5.21	4.48	3.58	3.08
$SO_4^{2-}$ (s), g/L	20.25	19.09	18.11	14.80	13.06	12.28
$Q_{SO_4^{2-}}$ (s), g/L d	4.35	4.10	3.89	3.18	2.81	2.64
X, g/L	0.095	0.085	0.076	0.063	0.058	0.052
$Q_x$ , g proteína /L d	0.020	0.018	0.016	0.013	0.012	0.011
$Y_{\frac{x}{o_2}}$ (g proteína/g oxígeno)	0.014	0.015	0.015	0.014	0.016	0.017
$Y q_{\frac{so_4^{2-}}{x}}$ (g sulfato/g proteína.d)	45.7	47.8	50.8	51.0	47.2	50.0

### IV.2.3 Etapa c; Efecto del aumento de la carga de tiosulfato y limitación de oxígeno

La finalidad de esta etapa experimental fue evaluar la oxidación parcial del tiosulfato a relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) menores de 0.4, por efecto del aumento de carga de tiosulfato, así como determinar su efecto sobre el crecimiento del consorcio y de los diferentes compuestos de azufre que se forman. Las relaciones molares evaluadas en esta etapa experimental fueron de 0.4, 0.2 y 0.13. Para obtener estas relaciones molares se mantuvo la tasa de recirculación constante a un valor de  $2.43 \text{ h}^{-1}$ , obteniendo una  $Q_{O_2}$  de  $0.380 \text{ mmol/L h}$ . Se aumentó la tasa de dilución de alimentación a valores de 0.215, 0.431 y  $0.646 \text{ d}^{-1}$ , obteniendo  $Q_{S_2O_3^{2-}}$  de 0.960, 1.92 y  $2.88 \text{ mmol/L h}$ , respectivamente. La concentración de oxígeno en el líquido del aireador se mantuvo en un valor de  $5.1 \text{ mg/L}$  y en la salida del biorreactor la concentración del oxígeno fue menor de  $0.1 \text{ mg/L}$ . El volumen del líquido en el vaso aireador se mantuvo en  $1.5 \text{ L}$ . Los resultados se presentan en la figura IV.9.



**Figura IV.9.** Etapa (c); Cultivo continuo a diferentes relaciones molares experimentales ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ). El pH fue controlado en 5.0 y  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura. Los números en la parte media de la gráfica representan las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ). Los valores de tiosulfato que se presentan fueron determinados en el efluente.

En la tabla IV.7 se presentan el balance de azufre de los tres compuestos que forman de la oxidación parcial del tiosulfato de los estados psuedoestacionarios de la figura IV.9.

En la figura IV.9 y de la tabla IV.7, se observa un aumento significativo de la conversión de tiosulfato a  $S^0$  de la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) de 0.4 a las relaciones molares de 0.2 y 0.13, las cuales aumentaron de un valor de conversión de 20.4% a valores de 56% y 51%, respectivamente. Sin embargo, en la relación molar de 0.13, la conversión disminuyó debido a que el consorcio no fue capaz de oxidar todo el tiosulfato de entrada. Por lo cuál, se puede decir que a un valor de  $D_A$  aproximado a  $0.65\text{ d}^{-1}$ , la tasa de dilución de alimentación esta cercana a la crítica para estos valores de estudio.

**Tabla IV.7.** Balance de la oxidación de tiosulfato del consorcio en estados estacionario

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ )	0.4	0.2	0.13
$D_A, \text{d}^{-1}$	0.215	0.430	0.646
$S_2O_3^{2-}(e), \text{mol/L}$	0.107	0.107	0.107
$SO_4^{2-}(s), \text{mol/L}$	0.128	0.120	0.102
$SO_3^{2-}(s), \text{mol/L}$	0.050	0.026	0.030
$S_2O_3^{2-}(s), \text{mol/L}$	0.0	0.0	0.013
$S^0(s), \text{mol/L}$	0.022	0.060	0.047
% S (e) a $S^0$	20.4	56	51
Balance de S (mol/L)	0.014	0.008	0.020

Una cuestión importante que se observó durante la evaluación de esta etapa experimental, fue que al pasar de la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) de 0.4 a 0.2, vía aumento de la carga de tiosulfato,

se observó un cambio en la coloración del líquido en sistema, en tan sólo un par de horas. Este cambio de coloración se debió a la presencia de azufre elemental, cabe mencionar que se detectó tiosulfato en el efluente en los días posteriores, sin embargo, al alcanzar el estado estacionario este compuesto no fue detectado. Lo expuesto anteriormente parece indicar que la favorable formación de azufre elemental que se produjo al pasar de la relación molar de 0.4 a 0.2, se debió, a la contribución de dos mecanismos que conllevan a la oxidación parcial de los compuestos reducidos de azufre. Uno de éstos mecanismos es el de limitación de oxígeno, el cuál atribuye la formación de azufre elemental a una falta de oxígeno en el medio. Se puede asumir que este mecanismo se dio en el interior del reactor, donde se tiene un bajo nivel de oxígeno disuelto. El otro mecanismo es el de saturación por sustrato en la pared celular del microorganismo. Este mecanismo se presenta cuando en condiciones adecuadas de aireación los microorganismos encuentran en el medio de cultivo una concentración de un compuesto azufrado tal que el transporte de electrones en el sistema respiratorio del microorganismo se satura, dando como consecuencia la formación de azufre elemental. Se puede asumir, que este mecanismo se presentó en el aireador, como consecuencia de la presencia de tiosulfato y de las condiciones presentes en este recipiente (concentración de oxígeno disuelto de 5 mg/L y tiempo de residencia, alrededor de 2 minutos).

Alcántara (2000), reportó que al evaluar la saturación por sustrato en un reactor continuo completamente agitado, determinó una conversión de tiosulfato a azufre elemental del 18%, al evaluar una carga de tiosulfato de 40 g/L d. La concentración de oxígeno en el líquido la fijó en 3.8 mg/L. Sin embargo, atribuye que la baja conversión de tiosulfato en azufre elemental obtenida, se debió a que el sistema experimental empleado ( reactor tanque agitado) no permitió la formación de aglomerados de azufre elemental-biomasa activa, dadas las condiciones de turbulencia en el sistema, lo cual desfavoreció el aumento de la tasa específica de reacción.

Por otra parte, en los estudios realizados por Janssen y col. (1995) en un reactor fed-batch, reportó que bajo condiciones de limitación de oxígeno por debajo de 0.1 mg/L y con relaciones molares ( $O_2/S^{2-}$ ) entre 0.6 y 1.0, el azufre elemental se produjo hasta en una conversión del 75%. Sin embargo, no observó acumulación de azufre elemental en el reactor. En 1997, éstos mismos



autores llevaron este tipo de estudios a un reactor con aireación separada, el cual se estimuló la formación y acumulación de aglomerados de azufre-biomasa activa, dándose como resultado una favorable conversión de sulfuro en azufre elemental.

Steffes y col. (1996), reportaron que los cultivos en continuo de *Thioacillus* neapolitanus y *Thiobacillus* o, en estado estacionario acumularon azufre elemental a cargas de 18 mmol sulfuro/L h y de 18 mmol tiosulfato/L h. La concentración de oxígeno se mantuvo en 4 mg/L. El 20% y 42% de oxidación de sulfuro a azufre elemental fue observado para *Thiobacillus* neapolitanus y *Thiobacillus* o, respectivamente. Por otra parte Visser y col. (1997) reportaron que una cepa de *Thiobacillus* sp W5 fue capaz de oxidar parcialmente todo el sulfuro a azufre elemental bajo condiciones de saturación por sustrato en cargas de 3.6  $\mu\text{mol/mg}$  proteína. Por lo cual señala que la saturación por sustrato es un mecanismo importante a considerar en la oxidación parcial de compuestos reducidos de azufre.

Se puede resumir de los anteriores trabajos realizados, que la formación y acumulación de azufre elemental se da por la relación de 5 factores importantes:

- Baja concentración de oxígeno.
- Aumento de carga de sustrato ó aumento de la concentración de sustrato.
- Relación molar  $\text{O}_2$ / compuesto reducido ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{S}^{2-}$ )
- Tipo de sistema.
- Tipo de cultivo.

En la tabla IV.8, se presenta la comparación entre las relaciones molares ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) experimentales calculadas por cargas de  $\text{O}_2$  sobre cargas de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  en el reactor y las relaciones ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) determinadas por el balance de  $\text{O}_2$  presente en el producto de la oxidación. Los resultados de la tabla, señalan, que existe una diferencia positiva entre las relaciones molares obtenidas por balance y las relaciones molares experimentales. Como ya se mencionó anteriormente, esto indica que se produjo una mayor formación de los productos mas oxidados de la que se esperaba para las relaciones molares experimentales determinadas en el reactor. Es importante señalar que las diferencias que se dan entre las relaciones molares obtenidas por balance y las experimentales mantienen una diferencia casi constante en un valor aproximado de 0.5, lo cual

hace suponer, como en el caso de la sección IV.2.2, que esta diferencia se debe a la formación de los productos más oxidados en el aireador, dado por las condiciones de oxígeno disuelto (5 mg/L) y el tiempo de residencia (alrededor de 2 min.) del líquido en este recipiente.

**Tabla IV.8.** Comparación entre las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinadas experimentalmente con las relaciones molares determinadas por el balance de oxígeno presente en el producto de oxidación.

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Exp.	0.4	0.2	0.13
$O_2$ , Balance mmol/L h	0.860	1.45	1.66
Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Balance	0.89	0.75	0.580
Diferencia entre ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Balance-Exp.	0.50	0.55	0.45

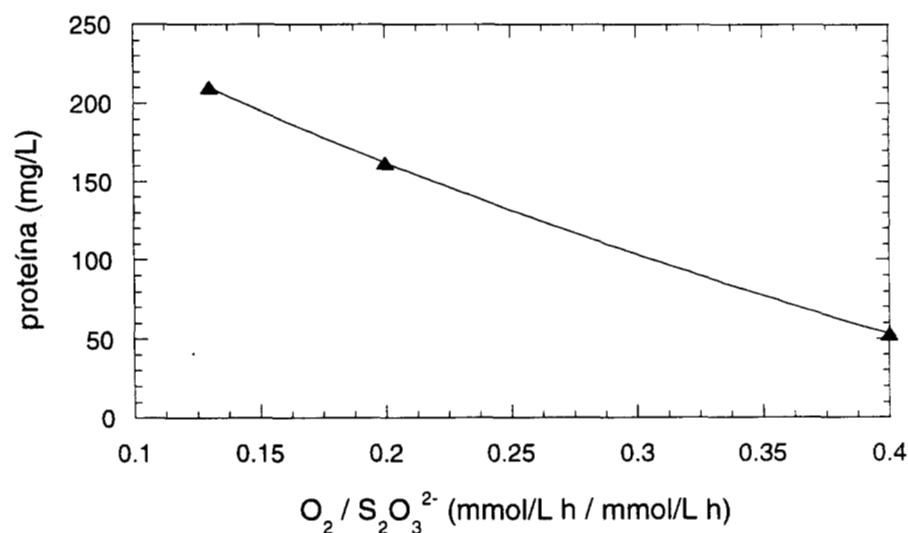
Por otra parte, si se comparan las relaciones molares calculadas por el balance de oxígeno de la tabla IV.4, con los dos últimos valores de la tabla IV.8, se observa que estos dos valores se acercan al valor de la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) = 0.5, que de acuerdo a la estequiometría de la reacción (ecuación 4.8. Pag. 67).

En la figura IV.10, se observa que al pasar de la relación molar de 0.4 a las relaciones de 0.2 y 0.13, por vía aumento de la carga de tiosulfato, existió un aumento de la concentración de proteína, es decir, que de un valor de proteína de 52.5 mg/L, determinado en la relación de 0.4, éste incrementó a valores de 162 mg/L y 210 mg/L para las relaciones molares de 0.2 y 0.13, respectivamente. Sin embargo de acuerdo a la teoría, este aumento en la concentración de proteína no debió darse, debido a que estos tipos de microorganismos obtienen menor energía para su crecimiento al formar azufre elemental, que al llevar a cabo la oxidación total del tiosulfato en sulfato, de acuerdo a las ecuaciones 4.8 y 4.9, pag. 67. Al parecer, el aumento de la concentración de proteína en el sistema puede estar relacionado con la favorable formación de

225975

azufre elemental existió durante las relaciones molares de 0.2 y 0.13, ya que la biomasa se adhiere al azufre elemental presente en el medio, lo cuál dio como resultado la formación de aglomerados de azufre elemental-biomasa activa. Por otra parte, se puede deducir que la presencia de biomasa activa en los aglomerados incrementa la tasa específica de reacción.

Con respecto al crecimiento, Visser y col. (1997) reportaron que la cepa de *Thiobacillus* sp W5 fue capaz de acumular  $S^0$  de la oxidación de sulfuro de hidrógeno, independientemente del crecimiento celular, es decir, que no existió una limitación de energía en el medio, la cual limitara el crecimiento. Sin embargo, estos autores no señalan que el aumento de la concentración de proteína, se deba a la adhesión de biomasa a las partículas de azufre elemental formado.



**Figura IV.10** Efecto de la saturación por sustrato y limitación de oxígeno dado en relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) sobre el crecimiento del consorcio. Los valores graficados son los valores promedios que se obtuvieron durante los estados pseudoestacionarios.

Alcántara (2000), Reportó un crecimiento del consorcio al evaluar la saturación por sustrato, determinando un valor máximo de crecimiento de 75 mg proteína/L. Para una carga de tiosulfato y concentración de oxígeno disuelto de 40 g/L d y 3.8 mg/L, respectivamente. Sin embargo, el escaso crecimiento obtenido lo atribuyó al efecto negativo que tiene el sulfato sobre el crecimiento del consorcio.

En la tabla IV.9 se presenta la comparación del crecimiento ( $Q_x$ , g proteína /L d), rendimiento en crecimiento ( $Y_{\frac{x}{o_2}}$ , g proteína/g oxígeno) y eficiencia de oxidación ( $Y q_{\frac{so_4^{2-}}{x}}$ , g sulfato/g proteína d).

En la tabla IV.9, se observa que la eficiencia oxidativa del consorcio disminuye de 50 g sulfato/g proteína.d a valores de 30.8 y 30.15 g sulfato/g proteína.d, al pasar de la relación de 0.4 a las relaciones molares de 0.20 y 0.13, respectivamente. Lo cual indica que el consorcio pierde eficiencia oxidativa como resultado de una favorable oxidación parcial de tiosulfato en azufre elemental y sulfato en las relaciones molares de 0.2 y 0.13

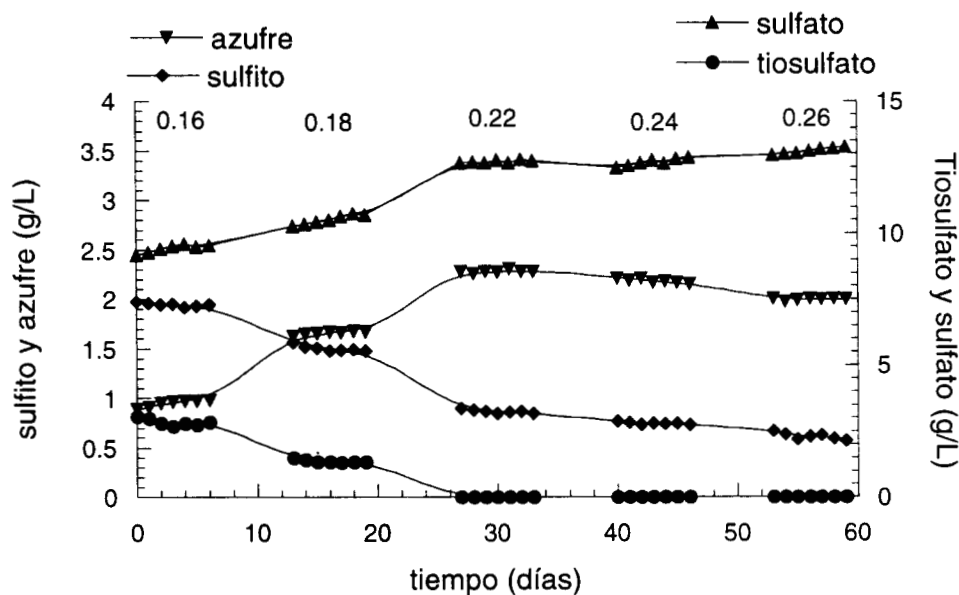
**Tabla IV.9.** Rendimiento del crecimiento y eficiencia oxidativa del consorcio sulfoxidante.

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ )	4	0.2	0.13
$D_A, d^{-1}$	0.215	0.430	0.646
$O_2$ real, g/L	3.08	2.59	2.0
$SO_4^{2-}(s)$ , g/L	12.28	11.60	9.80
$QSO_4^{2-}(s)$ , g/L d	2.64	4.99	6.33
X, g/L	0.052	0.162	0.210
$Q_x$ , g proteína/L d	0.011	0.058	0.135
$Y_{\frac{x}{o_2}}$ , (g proteína/g oxígeno)	0.017	0.062	0.100
$Y q_{\frac{so_4^{2-}}{x}}$ , (g sulfato/g proteína.d).	50.0	30.8	30.15

#### IV.2.4. Etapa d; Obtención de la máxima conversión de tiosulfato en azufre elemental.

La finalidad de esta etapa experimental es evaluar relaciones molares alrededor de 0.2, así como determinar si la formación de azufre elemental se ve afectada.

Se evaluaron 5 relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) las cuales fueron de 0.16, 0.18, 0.22, 0.24 y 0.26. Para obtener las diferentes relaciones molares se mantuvo constante la tasa de dilución de alimentación de tiosulfato a un valor de  $D_R$  de  $0.430\text{ d}^{-1}$ ,  $Q_{S_2O_3^{2-}}$  de  $1.92\text{ mmol/L h}$ . En este experimento se disminuyó el volumen del líquido en el vaso aereador (1L para las primeras tres relaciones y a  $0.720\text{ L}$  para las dos últimas relaciones), con la finalidad de disminuir la concentración de oxígeno en el líquido de recirculación a valores de  $4.5\text{ mg/L}$  y  $3.7\text{ mg/L}$ , respectivamente. Se ajustó la tasa de recirculación a valores de:  $2.2, 2.5, 3.0, 4.0$  y  $4.4\text{ h}^{-1}$ . De esta manera, se obtuvieron  $Q_{O_2}$  de  $0.307, 0.345, 0.422, 0.460, 0.5\text{ mmol/L h}$ , respectivamente para las



relaciones molares. Los resultados se presentan en la figura IV.11.

**Figura IV.11.** Etapa (d); Cultivo continuo a diferentes relaciones molares experimentales ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ). El pH fue controlado en 5.0 y  $30\text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura. Los números en la parte alta de la gráfica representan las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ). Los valores de tiosulfato que se presentan fueron determinados en el efluente.

En la tabla IV.10 se presentan el balance de azufre de los tres compuestos que forman de la oxidación parcial del tiosulfato de los estados pseudoestacionarios de la figura IV.11.

**Tabla IV.10.** Balance de la oxidación de tiosulfato del consorcio en estados estacionario en diferentes relaciones molares ( $D_A = 0.430 \text{ d}^{-1}$ ).

Relación ( $\text{O}_2/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ )	0.16	0.18	0.22	0.24	0.26
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{e})$ , mol/L	0.107	0.107	0.107	0.107	0.107
$\text{SO}_4^{2-}(\text{s})$ , mol/L	0.102	0.110	0.125	0.132	0.137
$\text{SO}_3^{2-}(\text{s})$ , mol/L	0.023	0.019	0.011	0.009	0.008
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{s})$ , mol/L	0.024	0.010	0.0	0.0	0.0
$\text{S}^0(\text{s})$ , mol/L	0.034	0.054	0.071	0.066	0.062
% S(e) a $\text{S}^0$	42	55	66	62	58
Balance de S (mol/L)	0.029	0.19	0.006	0.007	0.007

En la tabla IV.7 y IV.9, se observa que existe un aumento en la conversión de tiosulfato a azufre elemental de 56% a 66%, al pasar de la relación molar de 0.20 a 0.22, respectivamente.

En la figura IV.11 y tabla IV.10, se observa que a relaciones menores de 0.22, el consorcio no es capaz de oxidar todo el tiosulfato de entrada. Esto se debe a que la carga de oxígeno en el reactor no es él suficiente para llevar a cabo la oxidación biológica parcial y total de tiosulfato. Por lo cual, la formación de azufre elemental en este rango de relaciones molares se ve afectado. Por otra parte, en las relación molares mayores de 0.22, se observa que el consorcio es capaz de oxidar todo el tiosulfato de entrada. Esto nos indica que la carga de oxígeno en el reactor es él suficiente para llevar a cabo la oxidación parcial y total de tiosulfato. Dando se como resultado

un incremento en la formación de azufre elemental, el cual a su vez esta afectada por la formación de sulfato.

En la tabla IV.11, se observa que en este caso al igual que las secciones anteriores existen diferencia entre las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) experimentales calculadas por cargas de  $O_2$  sobre cargas de  $S_2O_3^{2-}$  en el reactor y las relaciones ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinadas por el balance de  $O_2$  presente en el producto de la oxidación. Los resultados de la tabla IV.11, señalan que existe una diferencia positiva entre las relaciones molares obtenidas por balance y las relaciones molares experimentales. Como ya se mencionó anteriormente, esto indica que se produjo una mayor formación de los productos mas oxidados de la que se esperaba en las relaciones molares experimentales determinadas en el reactor. De acuerdo, a lo señalado anteriormente, ésta mayor formación de los productos más oxidados se debe a las condiciones dadas en el aireador. Las diferencias entre las relaciones molares obtenidas por balance y las experimentales de las tres primeras relaciones molares evaluadas, se mantuvieron en un valor aproximado de 0.5, como fue en los casos anteriores (secciones IV.2.2 y IV.2.3). Esto a pesar de que en estas relaciones molares evaluadas se cambiaron las condiciones del aireador. Para las primeras tres relaciones evaluadas la concentración de oxígeno disuelto y el tiempo de residencia del líquido se mantuvo en 4.5 mg/L y alrededor de 1.5 minutos, respectivamente. Esto sugiere indicar que a pesar de la disminución de la concentración de oxígeno disuelto y del tiempo de residencia del líquido en el aireador, la formación de los productos mas oxidados se mantiene.

Por otra parte, en las dos ultimas relaciones evaluadas la diferencia entre las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) experimentales calculadas por cargas de  $O_2$  sobre cargas de  $S_2O_3^{2-}$  en el reactor y las relaciones ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinadas por el balance de  $O_2$  presente en el producto de la oxidación, es mayor del valor de 0.5, al parecer éste valor debió de mantenerse o disminuir, debido a que al evaluar estas dos ultimas relaciones molares se disminuyó la concentración de oxígeno disuelto y el tiempo de residencia del líquido a valores de 3.7 mg/L y alrededor de 0.8 minutos, respectivamente. Sin embargo durante el desarrollo de estas dos últimas relaciones molares, se observó que al aumentar la tasa de la recirculación a valores mayores de  $4.0 h^{-1}$ , existió un arrastre de pequeñas burbujas procedentes de aireador, hacia el interior del reactor. Lo cual al parecer incrementó la concentración de oxígeno en el reactor favoreciendo la formación de los

productos mas oxidados en este recipiente, dando como consecuencia una diferencia entre las relaciones molares obtenidas por balance y las experimentales mayor de 0.5.

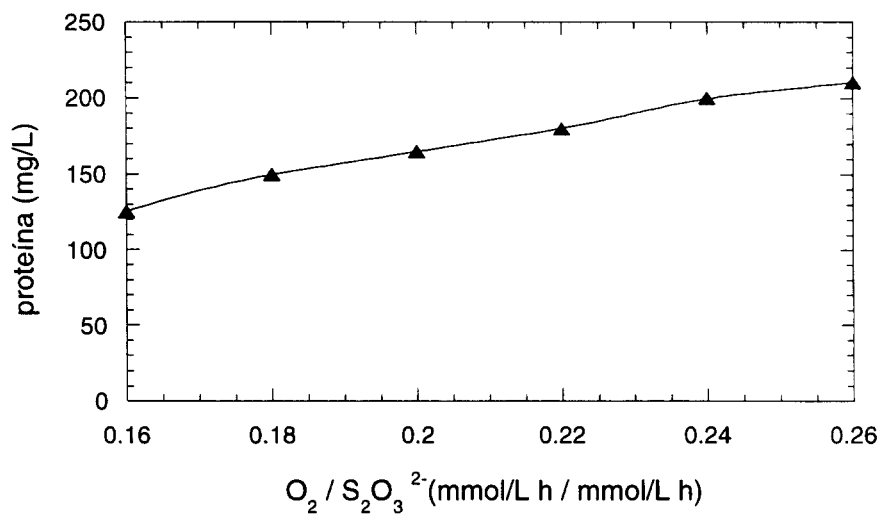
**Tabla IV.11.** Comparación entre las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinadas experimentalmente con las relaciones molares determinadas por el balance de oxígeno presente en el producto de oxidación.

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Exp.	0.16	0.18	0.22	0.24	0.26
$O_2$ , Balance Mmol/L h	1.23	1.34	1.63	1.86	2.0
Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) Balance	0.64	0.70	0.83	0.97	1.05
Diferencia entre ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) balance-Exp.	0.48	0.52	0.60	0.70	0.80

En la tabla IV.11, se puede observar, que la máxima conversión de tiosulfato en azufre elemental, se obtiene en la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) determinada por el balance en un valor de 0.83, éste valor se encuentra dentro del rango de valores determinados por Janssen y col., (1995), en los que se produjo la formación de azufre elemental ( $0.6 < O_2/S^{2-} < 1.0$ ). La máxima conversión de sulfuro en azufre elemental reportada por éstos autores fue del 75%, la cual se presentó en la relación molar ( $O_2/S^{2-}$ ) = 0.7.

Con respecto, a la concentración de proteína en el sistema, ésta se mantuvo en valores por arriba de 100 mg/L, durante las evaluaciones de las diferentes relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ). Los resultados se como se muestra en la figura IV.12.





**Figura IV.12** Efecto de la saturación por sustrato y limitación de oxígeno dado en relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) sobre el crecimiento del consorcio. Los valores graficados son los valores promedios que se obtuvieron durante los estados pseudoestacionarios.

En la figura IV.12, se observa que a relaciones molares menores de 0.22, la concentración de proteína se vio disminuida, debido probablemente a que el consorcio no fue capaz de oxidar todo el tiosulfato de entrada por falta de oxígeno en el sistema (tabla IV.10), por lo cual el consorcio no obtiene la energía necesaria para su crecimiento. Sin embargo esta disminución de la concentración de proteína no es tan relevante como en el caso de la limitación por oxígeno, dado en la sección IV.2.2. Por otra parte a relaciones molares mayores de 0.22, se observa un aumento en la concentración de proteína, dado probablemente por que el consorcio fue capaz de oxidar todo el tiosulfato de entrada, de esta manera el consorcio obtiene la energía necesaria para su crecimiento. De lo anterior, se puede deducir que la disminución ó el aumento de la concentración de proteína, esta en función de la relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ).

En la tabla IV.12 se presenta la comparación del crecimiento ( $Q_x$ , g proteína/L d), rendimiento celular ( $Y_{\frac{x}{o_2}}$ , g proteína/g oxígeno) y eficiencia de oxidación ( $Y q_{\frac{so_4^{2-}}{x}}$ , g sulfato/g proteína.d).

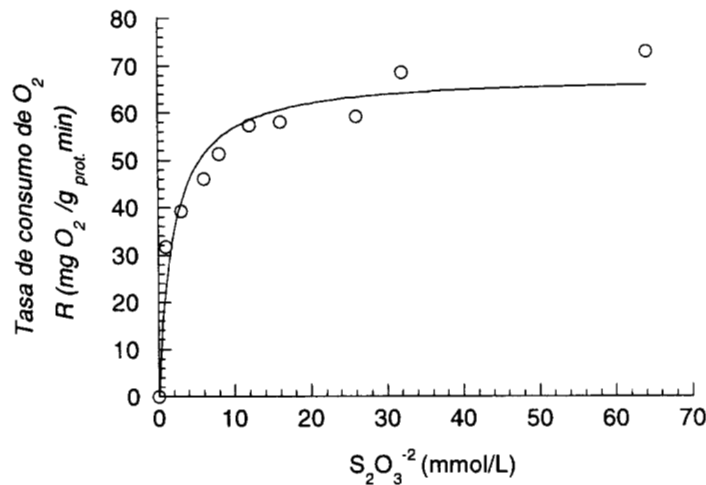
**Tabla IV.12.** Rendimiento del crecimiento y eficiencia oxidativa del consorcio sulfoxidante ( $D_A=0.430$ ).

Relación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ )	0.16	0.18	0.22	0.24	0.26
$O_2$ Balance, g/L	2.20	2.40	2.91	3.32	3.61
$SO_4^{2-}(s)$ , g/L	9.85	10.56	12.06	12.70	13.15
$QSO_4^{2-}(s)$ , g/L d	4.08	4.55	5.19	5.47	5.66
X, g/L	0.125	0.150	0.180	0.200	0.230
$Q_x$ , g proteína/L d	0.054	0.064	0.077	0.086	0.090
$Y_{\frac{x}{o_2}}$ , (g proteína/g oxígeno)	0.056	0.062	0.062	0.060	0.063
$Y q_{\frac{so_4^{2-}}{x}}$ , (g sulfato/g proteína.d).	32	30	28	29	25

En la tabla IV.12, se observa que la eficiencia oxidativa del consorcio se mantiene casi constante en las diferentes relaciones molares evaluadas a valores de 30 g sulfato/g proteína.d. En este caso el consorcio tiene las condiciones adecuadas para realizar la oxidación parcial de tiosulfato en azufre elemental y sulfato.

### IV.3 Tasa de oxidación de tiosulfato.

Con la finalidad de determinar la tasa de oxidación de tiosulfato, se utilizaron concentraciones crecientes de este compuesto y se cuantificó la actividad sulfoxidante por medio de respirometría a 30 °C y pH inicial de 7. Los resultados obtenidos se presentan en la figura IV.13.



**Figura IV.13.** Tasa de oxidación en concentraciones crecientes de tiosulfato, determinada por respirometría para el consorcio sulfoxidante.

En la figura IV.13, se presentan la aplicación del modelo de Monod para determinar la tasa máxima de oxidación ( $R_{max}$ ), así como la afinidad del sustrato ( $K_m$ ). El modelo de Monod está expresado como:

$$R = R_{max} \frac{C_{S_2O_3^{2-}}}{C_{S_2O_3^{2-}} + K_m}$$

Donde:  $R$  = Tasa de oxidación de tiosulfato  
 $R_{max}$  = Tasa máxima de oxidación de tiosulfato  
 $C_{S_2O_3^{2-}}$  = Concentración de tiosulfato  
 $K_m$  = Constante de saturación

La tasa máxima de oxidación ( $R_{max}$ ) y la constante de saturación ( $K_m$ ), determinado por el modelo de Monod fueron de 68 mg O<sub>2</sub>/ g proteína.min y 1.9 mM, respectivamente.

Alcantara, (2000), evaluó las tasas de oxidación de CS<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S, por éste mismo consorcio sulfooxidante, de lo cuál determinó las tasas máximas de oxidación ( $R_{max}$ ) en valores de 3.4 mg O<sub>2</sub>/ g proteína.min y 13.8 mg O<sub>2</sub>/ g proteína.min, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados en la literatura ( Smith, Kelly 1998; Plas y Jordan 1993,1995).

Si se compara el valor de  $R_{max}$  de tiosulfato con los valores de  $R_{max}$  de CS<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S, se puede observar que la  $R_{max}$  de tiosulfato es mucho mayor que los valores obtenidos para el bisulfuro de carbón y el ácido sulfhídrico. Esta diferencia se debe probablemente por que el tiosulfato no presenta problemas de toxicidad, por lo que los microorganismos pueden crecer en concentraciones altas de tiosulfato (por ejemplo, de 30 g/L). Por otra parte, en concentraciones bajas de sulfuro (por ejemplo, de 200 mg/L), éste es severamente tóxico inhibiendo la capacidad sulfooxidante de las especies microbianas. Al respecto, en diferentes trabajos se ha observado, que si bien la mayoría de los microorganismos pueden utilizar como fuente de energía al tiosulfato, una menor diversidad microbiana es capaz de utilizar compuestos como el CS<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S, seguramente debido a las características altamente tóxicas de estos compuestos.

Otro factor que posiblemente afecte la tasa de oxidación de un compuesto reducido de azufre específico al utilizar un consorcio de bacterias sulfooxidantes, es la adaptación del consorcio al medio de cultivo. Cabe mencionar que el consorcio utilizado, se encontraba ya adaptado en tiosulfato por un periodo de 3 años.

Por otra parte, si se asocia la tasa máxima de oxidación de tiosulfato, determinada en 68 mg O<sub>2</sub>/ g proteína.min con las condiciones de oxígeno disuelto (5 mg/L) y el tiempo de residencia (alrededor de 2 min.) del líquido en el aireador, se puede asumir que en éste recipiente, se da una mayor formación de los productos mas oxidados, de la esperada en las relaciones molares experimentales determinadas en el reactor. Es decir, que las condiciones en el aireador y la alta tasa de oxidación del tiosulfato, son la causa que dan la diferencias entre las relaciones molares determinadas por el balance de oxígeno presente en el producto de oxidación y las relaciones molares determinadas por las cargas de oxígeno y tiosulfato en el reactor.

Para trabajos futuros se debe de diseñar un vaso de aireación en el cual se considere la máxima velocidad de oxidación del tiosulfato en el diseño con la finalidad de limitar la oxidación de este en el aireador. Una alternativa es disminuir el tiempo de residencia en este recipiente, ya sea por la disminución del volumen del líquido en el vaso o por aumento en la recirculación del líquido. Sin embargo, la limitante en esta alternativa es la velocidad de transferencia de oxígeno del aire al líquido.

#### IV.4 Aspectos físicos del proceso.

A continuación se dan a conocer algunas de las propiedades físicas del líquido del sistema y del aglomerado de azufre elemental-biomasa que tiende a sedimentar en el fondo del reactor. Las determinaciones de estas propiedades se realizaron a 30°C. Los resultados se presentan en la tabla IV.13.

**Tabla IV.13.** Propiedades físicas.

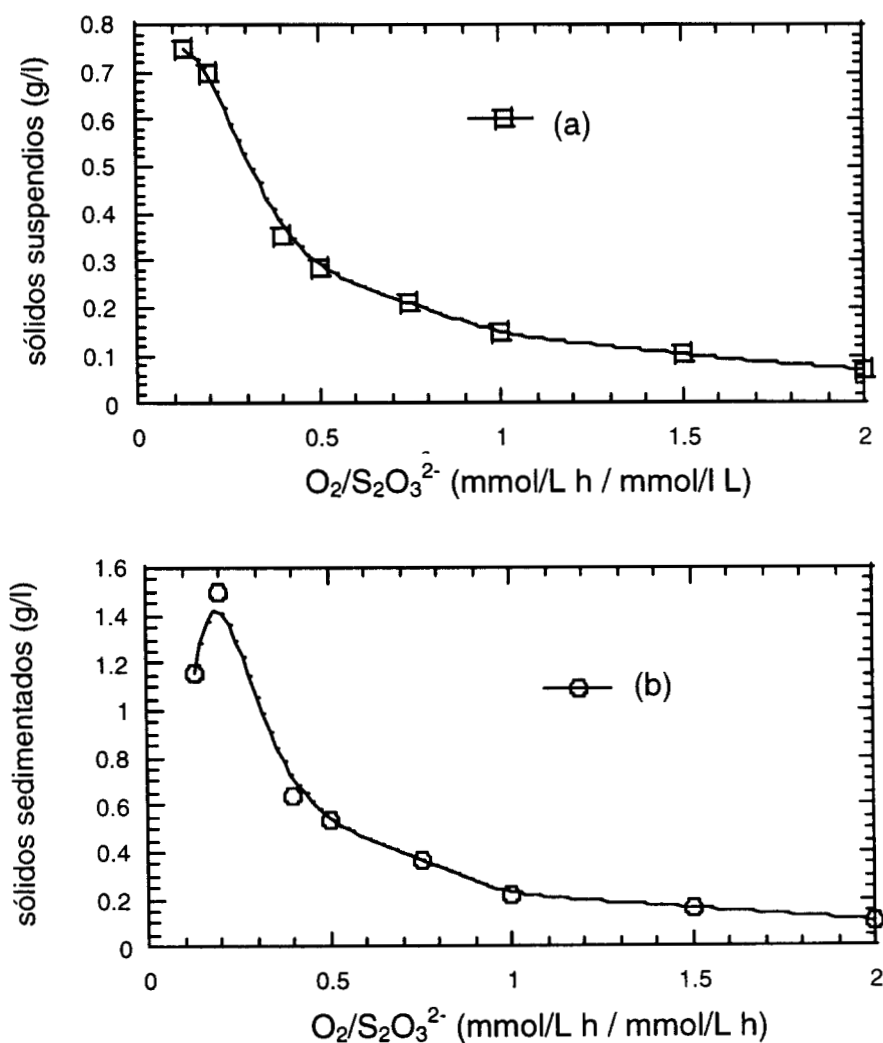
Propiedades	Densidad, $\rho$ (Kg/m <sup>3</sup> )	Viscosidad, $\mu$ (cp)
Líquido	1016	0.960
Aglomerado	1085	No determinado
Agua destilada	995	0.840

En la tabla IV.5, se observa que la densidad del aglomerado es mayor que la densidad del líquido del sistema, éste análisis comprueba que los sólidos que se encuentran en suspensión en el sistema experimental tenderán a sedimentar. También, se observa que la densidad del líquido del sistema es mayor que la densidad del agua destilada, lo que hace suponer que esta diferencia se deba a los sólidos suspendidos en el líquido.

Por otra parte, se determino que los sólidos sedimentados y suspendidos están constituidos de un 90 % de azufre elemental y un 6% de biomasa activa. Se observo que estos aglomerados son la mejor manera de conservar al consorcio microbiano, ya que éste esta adherido al azufre elemental.

#### IV.4.1 Sólidos suspendidos y sedimentados.

La determinación de las cantidades de sólidos en suspensión y sedimentados se realizó durante los estados estacionarios en las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) de 2.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5, 0.4, 0.2 y 0.13. Las cantidades de sólidos en suspensión y sedimentados se obtuvieron de los puntos de muestra (2) y (3) de la figura III.1, respectivamente. Los resultados se presentan en la figura IV.14.



**Figura IV.14** Sólidos suspendidos y sedimentados a diferentes relación molares experimentales. El pH fue controlado en 5.0 y 30 °C de temperatura.

En la figura IV.14, se observa que las cantidades de sólidos suspendidos y sedimentados determinados en relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ )  $> 0.4$ , son menores a las cantidades obtenidas en las relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ )  $< 0.4$ , es decir, las cantidades de sólidos suspendidos y sedimentados están en función del grado de conversión de tiosulfato en azufre elemental, el cual se produjo en mayor proporción en las relaciones molares de 0.2 y 0.13 (sección. IV.2.1 y IV.2.2).

Las cantidades de sólidos sedimentados que se dan en las dos últimas relaciones molares representan el 70% de los sólidos totales, mientras que los sólidos suspendidos representan solamente el 30%.

Es importante señalar que se tiene un buen porcentaje de remoción de aglomerados de azufre elemental -biomasa activa por sedimentación en el fondo del reactor, sin embargo esto también indica que se tendrá una pérdida importante de población microbiana al retirar los aglomerados del sistema los cuales están constituidos de un 6% biomasa. Para evitar la pérdida de población microbiana será necesario implementar dentro del reactor (paredes) algún tipo de soporte que permita la formación de biopelículas y de esta manera mantener una población microbiana constante en el sistema.

#### IV.4.2 Determinación de la velocidad libre de sedimentación.

En la eliminación de partículas sólidas relativamente gruesas, que se encuentran en suspensión en un líquido, resulta satisfactorio realizar la separación de estas mediante la sedimentación libre o impedida. Sin embargo, para lograr satisfactoriamente la separación de partículas finas de diámetro de unas pocas micras, la sedimentación libre resulta in adecuada debido a que estas partículas tienen velocidades de sedimentación bajas. Por ello, es necesario el uso de clarificadores o espesadores los cuales forman suspensiones de mayor velocidad de sedimentación.

Con la finalidad de determinar el comportamiento de las partículas en el interior del reactor se realizó un estudio para relacionar el tamaño de partícula con la velocidad de sedimentación libre. Por tal motivo, se hizo una clasificación de los tamaños de los aglomerados de azufre elemental-biomasa activa con la ayuda de embudo de separación y un microscopio y posteriormente se

realizó la determinación de las velocidades de sedimentación de estas partículas en agua destilada a 30°C, como se explica en la sección III.8. Los resultados se muestran en la tabla IV.14.

Para comparar el comportamiento de la sedimentación de las partículas en el interior del reactor con los valores determinados de la velocidad libre de sedimentación dados en la tabla IV.14, se evaluaron dos velocidades de flujo de recirculación los cuales fueron de 35 L/h ( $D_R = 3 \text{ h}^{-1}$ ) y de 80 L/h ( $D_R = 7 \text{ h}^{-1}$ ), que corresponden a velocidades de flujo de ascensión en el interior del reactor de 240 cm/h y 520 cm/h, respectivamente. El área de sección transversal del reactor es de 154 cm<sup>2</sup>. Los resultados se presentan en la tabla IV.14.

**Tabla IV.14.** Relación entre tamaños de partículas y las velocidades libres de sedimentación

Diametro de partícula (micras)	% de distribución de tamaño de las partículas	Velocidad libre de sedimentación de las partículas (cm/h)
5 – 100	38	220
100 – 200	29	660
200 – 300	25	1131
300 – 400	8	2330

El pH se mantuvo en 5.0, el cual es el valor al cual se mantiene controlado el reactor.

**Tabla IV.15.** Porcentajes de sólidos sedimentados y suspendidos a diferentes velocidades de flujos ascendentes en el interior del reactor

Tasa de dilución de recirculación ( $\text{h}^{-1}$ )	Velocidad del flujo de ascensión en el interior del reactor (cm/h)	Número de Reynolds	% de sólidos sedimentados	% de sólidos suspendidos
3	240	110	72	28
7	520	220	40	60



En la tabla IV.14, se observa que el 62% de las partículas tienden a sedimentar cuando la velocidad de ascensión en el interior del reactor es menor de 660 cm/h y corresponden a partículas con tamaños entre 100 a 400 micras. Los resultados de la tabla IV.15, indican que a velocidad de ascensión de 240 cm/h, el 72% de las partículas tienden a sedimentar, mientras que a velocidades de 520 cm/h, el porcentaje de sólidos que tienden a sedimentar disminuye a un valor de 40%. Esto indica que al aumentar la velocidad de ascensión del líquido a través del reactor de 240 a 520 cm/h, ocasiona una mayor turbulencia en el interior del reactor evitando la sedimentación de los aglomerados de azufre-biomasa (ver sección IV.1. 1-2).

De lo anterior se puede concluir que la sedimentación de las partículas en el interior del reactor esta en función de:

- Tamaño de partícula
- Flujo de recirculación
- Diseño del reactor

Este último permite una zona sin turbulencia solamente cuando se trabaja con flujo de recirculación menores de alrededor de 40 L/h .( Número de Reynolds = 130).

En este experimento no se empleó ningún tipo de clarificador, ya que estos pudieron ocasionar algún tipo de inhibición (no determinada) en el consorcio sulfooxidante, además ocasionan un incremento en el costo de operación.

En la tabla IV.16, se presenta la comparación entre la velocidad libre de sedimentación de las partículas determinadas experimentalmente y la velocidad teórica de caída de una esfera en el seno de un líquido, determinada por la ley de stokes. La fuerza total ( $F_t$ ) del fluido sobre la esfera viene dado por la ecuación 4.10.

$$F_t = \frac{4}{3}\pi R_p^3 \rho g_a + 6\pi\mu R_p V_\infty \quad 4.10$$

El primer termino, del segundo miembro se debe a la fuerza que se ejerce aunque el fluido esté en reposo y el segundo termino se debe a la fuerza resultado del movimiento del fluido, el cuál es conocido como la ley de stokes, Esta ley se aplica en el movimiento de partículas coloidales en la

teoría de sedimentación. Téngase en cuenta que esta ley es válida para número de Reynolds (basado en el diámetro de la esfera) inferiores aproximadamente 0.1.

Si una esfera, inicialmente en reposo, se deja caer en un fluido viscoso, adquiere un movimiento acelerado hasta alcanzar una velocidad constante de caída ( $V_\infty$ ). Cuando se alcanza este estado, la suma de las fuerzas que actúan sobre la esfera es cero. La fuerza de gravedad actúa sobre el sólido en la dirección de caída y la fuerza debida al movimiento actúa en sentido contrario, es decir:

$$4/3\pi R_p^3 \rho_s g_a = 4/3\pi R_p^3 \rho g_a + 6\pi\mu R_p V_\infty \quad 4.11$$

Despejando  $V_\infty$  de la ecuación 4.11, se tendrá

$$V_\infty = \frac{2 R^2 g_a (\rho_s - \rho)}{9\mu} \quad 4.12$$

Donde:

$V_\infty$  = Velocidad constante de caída (libre sedimentación)

$R_p$  = radio de la partícula.

$g_a$  = fuerza de gravedad =  $9.79 \text{ m/s}^2$

$\rho_s$  = densidad de la partícula (aglomerado) =  $1085 \text{ Kg/m}^3$

$\rho$  = densidad del líquido (agua destilada) =  $995 \text{ kg/m}^3$

$\mu$  = viscosidad del líquido (agua destilada) =  $0.840 \text{ cp}$

**Tiaba IV.16.** Comparación entre las velocidades libre de sedimentación experimental y teórica.

Diámetro de la partícula (micras)	Radio promedio de partícula (micras)	Velocidad libre de sedimentación experimental (cm/h)	Velocidad libre de sedimentación teórica (cm/h)
5-100	50	220	187
100-200	75	660	422
200-300	125	1131	1172
300-400	175	2330	2290

En la tabla IV.16, se observa que los valores de la determinación experimental y teórica de la velocidad libre de sedimentación son muy similares, lo que hace de los resultados experimentales confiables.

## V. Conclusiones

- El sistema biológico experimental se logró operar y estabilizar a diferentes relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) experimentales, obtenidas por la relación de la carga de oxígeno sobre carga de tiosulfato en el reactor, durante un período de un año.
  
- El diseño del sistema permitió la formación y recuperación de azufre elemental, debido:
  - a) Al hecho de que el sistema permitió tener un control de un bajo nivel de oxígeno disuelto en el reactor, lo cual se tradujo en la acumulación de azufre elemental para las relaciones molares determinadas a partir del balance de oxígeno presente en el producto de oxidación ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) entre 0.90 y 0.50. Estos valores se asemejan a lo reportado en la literatura.
  - b) A la escasa turbulencia en el reactor, dada por: la separación de la aireación del reactor y la separación de dos zonas en el reactor ( una zona sin turbulencia; parte baja y otra con turbulencia; parte alta. Estos dos factores favorecieron la recuperación del azufre elemental por sedimentación en el fondo del reactor.
  
- De acuerdo al estudio del patrón del flujo en el sistema, se determinó que éste se comporta como un tanque de mezcla completa. De acuerdo con Levenspiel, (1972), esto se da para sistemas con recirculación alta. Sin embargo, el reactor se puede clasificar de dos formas:
  - a) Reactor con zona muerta, el cuál se da en números de Reynolds aproximadamente menores de 130.
  - b) Reactor sin zona muerta, el cuál se da en números de Reynolds aproximadamente mayores de 130.

· Al evaluar diferentes relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ), se encontró que a relaciones molares ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) por arriba de 1.0, todo el tiosulfato se oxida a sulfatos y en relaciones a bajo de este valor, se empezó a observar la formación de azufre elemental, lo que indicó la oxidación parcial del tiosulfato. La relación molar ( $O_2/S_2O_3^{2-}$ ) en la cuál se obtuvo una optima formación de azufre elemental (65%) fue alrededor de 0.80,

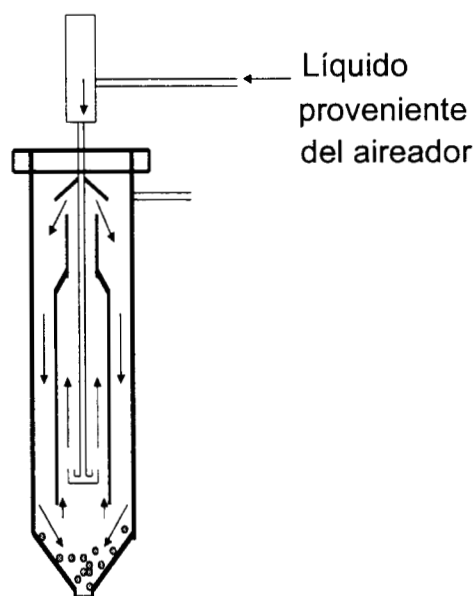
· Si bien es cierto que la oxidación biológica del tiosulfato parcial ó total, esta en función del tipo de microorganismos y de las condiciones de cultivo, en este trabajo se demostró que el oxígeno y el tipo de sistema son un factor determinante para favorecer la oxidación parcial de este compuesto.

## VI. Recomendaciones

· Se recomienda diseñar el aireador, de tal manera que el consumo de oxígeno por el consorcio en este recipiente sea bajo. Por la siguiente razón:

a) Evitar que se lleven a cabo las reacciones mas oxidativas, con la finalidad de que la relación molar determinada por el balance de oxígeno presente en el producto de oxidación sea la misma que la relación molar determinada por la carga de oxígeno y tiosulfato en el reactor, lo cual con llevará a tener un control real del sistema.

· Se recomienda el uso de cilindros concéntricos como reactor, con la finalidad de aumentar el área interna del reactor las cuales favorecerán la formación de bio-películas, incrementándose de esta manera la población microbiana y la tasa específica de reacción. Dado que el cilindro externo mantendrá un flujo descendente, esto hace suponer que se propiciara la sedimentación de las partículas más gruesas en el fondo del reactor, por lo cual no será necesario tener un volumen muerto del reactor del 40%. Por otra parte las partículas más finas se mantendrían en suspensión circulando en el interior del reactor. El sistema se muestra en la figura VI.1



**Figura VI.1.** Reactor de cilindros concéntricos

## VI. Bibliografía

- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson J (1994) Introduction to the cell. En: Molecular Biology of the Cell. Garland Pub., N.Y. pp 3-41.
- Alcántara S, Estrada I, Vásquez M, Revah S (1999) Carbon disulfide oxidation by a microbial consortium from a trickling filter. *Biotechnol. Lett.* **21**, 815-819.
- 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.
- Bailey R, Clark H, Feris J, Strong L, Krause, S (1978) The environmental chemistry of some important elements. En Chemistry of the environment. Academic Press, NY. pp. 361-406
- Bartlett J, Skoog D (1954) Colorimetric Determination of Elemental Sulfur in Hydrocarbons. *Anal. Chem.* **26**(6), 1008.
- Beffa T, Berczy M, Aragno M (1991b) Growth and respiratory oxidation of reduced sulfur compounds by intact cells of *Thiobacillus novellus* (type strain) grown on thiosulfate. *Curr. Microbiol.* **26**, 323-326.
- Bettelheim, J Billinge, H (1983) Eliminación de óxidos de azufre de los gases de chimenea de las centrales de energía y las calderas industriales. En Contaminación del aire por la industria. Parker, A. comp. Td. José Costa L. Ed. Reverté, España. pp. 295-321.
- Bernstein B (1981) Ecology and economics: complex systems in changing environments. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **12**, 309-330.
- Buisman C (1998) Industrial applications of new sulphur biotechnology. The Biological Sulphur Cycle: Environmental Science and Technology. Wageningen, The Netherlands, April 19-24.
- Buisman C, Prins, W (1994) New process for biological (flue) gas desulfurization. Symposium on Biological Waste Gas Cleaning. Heidelberg, FRG. pp. 95-103.
- Buisman C, Ijspeert P, Janssen A, Lettinga G (1990) Kinetics of chemical and biological sulphide Oxidation in aqueous solutions. *Wat. Res.* **24**(5), 667-671.
- Buisman C, Geraats B, Ijspeert P, Lettinga G (1990) Optimization of sulfur production in a biotechnological sulfide removing reactor. *Biotechnol. Bioeng.* **35**, 50-56.
- Buisman C, Wit B, Lettinga G, (1990), Biotechnological sulphide removal in three polyurethane carrier reactors: stirred reactor, biorotor reactor and upflow reactor. *Wat. Res.* **24**(2), 245-251.
- Buisman C, Post R, Ijspeert P, Geraats G, Lettinga G (1989) Biotechnological process for

- sulfide removal with sulphur reclamation. *Acta Biotechnol.* **9**(3), 255-267.
- Chan C, Suzuki I (1994) Thiosulfate oxidation by sulfur-grown *Thiobacillus thiooxidans* cells, cell free extracts and thiosulfate-oxidizing enzyme. *Can. J. Microbiol.* **40**, 816-822.
- Chan C, Suzuki I (1993) Quantitative extraction and determination of elemental sulfur and stoichiometric oxidation of sulfide to elemental sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*. *Can. J. Microbiol.* **39**, 1166-1168.
- Cho J, Sublette K, Raterman K (1995) Oxidation of hydrogen sulfide by an enrichment from sour water coproduced with petroleum. *Appl. Biochem. Biotech.* **51**, 761-770.
- Comisión metropolitana para la prevención y control de la contaminación ambiental en el valle de México. 1992. ¿Que estamos haciendo para combatir la contaminación ambiental en el Valle de México. 20 pp.
- Cork DJ, Jerger DE, Maka A (1986) Biocatalytic production of sulfur from process waste streams. *Biotechnol. Bioeng. Symp. Ser.* **16**, 149-162.
- Dhawale S (1993) Thiosulfate. An interesting sulfur oxoanion that is useful in both medicine and industries -but is implicated in corrosion. *J. Chem. Education.* **70**(1), 12-14.
- Degorce-Dumas J, Kowai S, Le Cloirec P (1997) Microbiological oxidation of hydrogen sulphide in a biofilter. *Can. J. Microbiol.* **43**, 264-271.
- Estrada I (1998) Aspectos microcinéticos de la oxidación de compuestos azufrados. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa México. 60 pp.
- Gommers P, Bijlereld W, Zuijderwijk F, Kuenen J (1988a) Simultaneous sulfide and acetate oxidation in a denitrifying fluidized bed reactor-I. *Wat. Res.* **22**(9), 1075-1083.
- González C M (1993) Regulación por nitrógeno de la síntesis de gentamicina por *Micromonospora purpurea* NRRL-2953. Tesis de Maestría, UNAM. 100 pp.
- Groenestijn J, Hesselink, P (1993) Biotechniques for air pollution control. *Biodegradation*, **4**, 283-301.
- Hill M (1997a) Energy production and use. En: Understanding environmental pollution. Cambridge University Press, SA. pp. 260-280.
- Hill M (1997b) Understanding pollution. En: Understanding environmental pollution. Cambridge University Press, SA. pp. 260-280.
- Janssen A, Ma S, Lens P, Lettinga G (1997) Performance of a sulfide-oxidizing expanded-bed reactor supplied with dissolved oxygen. *Biotechnol. Bioeng.* **53**:32-40.
- Janssen A (1996) Formation and colloidal behavior of elemental sulphur produced from the biological oxidation of hydrogensulphide. PhD thesis, Wageningen, The Netherlands.
- Janssen A, Sleyster R, van der Kaa C, Jochemsen A, Bontsema J, Lettinga G (1995) Biological

- sulphide oxidation in a fed-batch reactor. *Biotechnol. Bioeng.* **47**, 327-333.
- Jenssen A, Webb C (1995) Treatment of H<sub>2</sub>S-containing gases: A review of microbiological alternatives. *Enzyme Microbiol. Technol.* **17**, 2-10.
- Kelly D, Shergill J, Lu W, Wood A (1997) Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria. *Antoine van Leeuwenhoek.* **71**, 195-107.
- Kelly P, Wood A (1994) Enzymes involved in the microbiological oxidation of thiosulfate and polithionates. *Methods in Enzymology.* **243**, 510-520.
- Kelly D, Wood A, Jordan S, Padden A, Gorlenko V, Dubinina G (1994) Biological production and consumption of gaseous organic sulphur compounds. *Atmospheric Gas Production and Consumption.* **22**, 1011.
- Kelly D (1990) Energetics of Chemolithotrophs. En: The Bacteria, vol. XII, Ed. T.A. Krulwich, Academic Press, Inc. USA. pp. 479-501.
- Kelly D, (1982) Biochemistry of the chemolithotrophic oxidation of inorganic sulfur. *Phil.Trans R. Soc. Lond.* **238**, 499-528.
- Kenneth W, Warner C (1990) Control de los óxidos de azufre. En: Contaminación del aire origen y control. Td. Carlos A. García. Noriega Editores. pp. 433-465.
- Kong S, Allen E (1997) Control of organo-sulfur emissions using biofiltration: Dimethyl sulfide, air & waste management association's 90<sup>th</sup> Annual Meeting & Exhibition, Toronto, Ontario, Canadá.
- Konishi Y, Takasaka Y, Asai S (1994) Kinetics of growth and elemental sulfur oxidation in batch culture of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotech. Bioeng.* **44**, 667-673.
- Kuenen JG, Pronk JT, Hazeu, Meulenberg R, Bos P (1993) A review of bioenergetics and enzymology of sulfur compound oxidation by acidophilic thiobacilli. En: In Biohydrometallurgical Technologies. Torma AE and Lakshman VL. TMS press. pp. 487-493.
- Lee M, Senios J, Grossman M (1995) Sulfur-specific microbial desulfurization of sterically hindered analogs of dibenzothiophene. *App. Environ. Microbiol.* **61**, 4362-66.
- Levenspiel O. (1972). Chemical reaction engineering. 2<sup>nd</sup> Ed., Wiley, New York.
- Lizama H, Sankey B (1993) Conversion of hydrogen sulphide by acidophilic bacteria. *Appl Microbiol. Biotechnol.* **40**, 438-441.
- Lobo R, Revah S, Viveros G (1999) An analysis of a trickle bed bioreactor: Carbon disulfide removal. *Biotechnol. Bioeng.* **63**,1, 98- 109.
- López A (1985) Contaminación atmosférica de gas natural y gas L.P. IPN, México. pp. 25-29.
- Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, Randal R J (1951) Protein measurements with the Folin



- phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Mackenzie F (1995) Biogeochemistry. En: Encyclopedia of environmental biology. Vol. I. Academic Press, USA. pp. 249-276.
- Madigan M, Martinko J, Parker J (1999) Diversidad metabólica de los microorganismos. En: Biología de microorganismos. Prentice Hall Iberia. pp. 473-531.
- Prosser J (1989) Autotrophic nitrification in bacteria. En: Advances in microbial physiology. Vol. 30, 125-177.
- Revah S, Acosta M, Hugler W, Trinidad R, Avila C, Estrada I, Hinojosa A, (1995) Air biodesulfuration from viscose plants: Carbon disulfide elimination, conference on biofiltration (an Air Pollution Control Technology), Los Angeles, California, Oct. 5-6.
- Riveros H, (1996), Contaminación atmosférica en la ciudad de México, primer coloquio binacional México-Japón sobre gestión ambiental: Contaminación atmosférica, México, enero 25-26.
- Robertson L, Kuenen J (1991) The colorless sulfur bacteria, En: Balows A, Trüper H, Dworkin M, Harder H, Schleifer K (eds) The prokaryotes, vol. 1, Springer, Berlín Heidelberg New York, pp. 385-413.
- Sánchez O, van Gemerden H, Más J (1996) Description of a redox controlled sulfidostat for the growth of sulfide- oxidizing phototrophs. *Appl. Environm. Microbiol.* **62**, 3640- 3645
- Sistema general en materia de equilibrio ecológico y protección del ambiente (SGEEyPA). (1992). Calidad ambiental. Informe 1989-1990. Comisión Nacional de Ecología, México. pp. 70-106.
- Smith N, Kelly D (1988) Oxidation of carbon disulphide as the sole source of energy for the autotrophic growth of *Thiobacillus thioeparus* strain Tk-m. *J. Gen. Microbiol.* **134**, 3041-3048.
- Smith N, Kelly D (1988) Mechanism of oxidation of dimethyl disulfide by *Thiobacillus thioeparus* Strain E6. *J. Gen. Microbiol.* **134**, 3031-3039.
- Steffes G, Torremans A, Schrijver R, Robertson L, Kuenen J (1996) Quantitative measurement of sulphur formation by steady-state and transient-state continuous cultures of autotrophic *Thiobacillus* species. *App. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 169-175.
- Stedel R, (1996), The yellow element and Its astounding complexity. *Anorganische chemie.* **5**, 226-234.
- Stedel R (1998) Sulfur chemistry: Speciation, natural occurrence, redox reactions and colloidal aspects. En: Cycle. Environmental Science and Technology, Wageningen, The Netherlands, April 19-24.

- Sublette K, Kolhalkar B, Ratermank, K (1998) Technological aspects of the microbial treatment of sulfide-rich wastewaters: A case study. *Biodegradation*. **9**, 259-271.
- Sublette K L (1990) Microbial treatment of sour gases for the removal and oxidation of hydrogen sulphide. *Gas. Sep. Purif.* **4**, 91-96.
- Sublette K (1987) Oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*: desulfurization of natural gas. *Biotechnol. Bioeng.* **29**, 249-257.
- Sublette K, Sylvester N (1987) Oxidation of hydrogen sulfide by mixed cultures of *Thiobacillus denitrificans* and heterotrophs. *Biotechnol. Bioeng.* **29**, 759-761.
- Sublette K, (1987), Aerobic oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*, *Biotech. Bioeng.* **29**, 690-695.
- Suzuki I, Chan C, Takeuchi T (1992) Oxidation of elemental sulfur to sulfite by *Thiobacillus thiooxidans* cells. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**(11), 3767-3769.
- Suzuki I (1999) Oxidation of inorganic sulfur compounds: Chemical and enzymatic reactions. *Can. J. Microbiol.* **45**, 97-105.
- Takakuwa S (1992) Biochemical aspects of microbial oxidations of inorganic sulfur compounds. En: Organic sulfur chemistry: biochemical aspects. Eds. Oae S, Okuyama T CRC Press, USA. pp. 1-44.
- Torres P, (1998), Estudio del efecto de algunos factores de operación en la oxidación biológica de CS<sub>2</sub> en un biolavador de lecho escurrido (BLE), Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
- Torres C M, Revah S, Hinojosa M A, Paez M F, Morales V (1993) Biological process for the elimination of sulphur compounds present in gas mixture. U.S. Patent 5,236,677.
- Trinidad R, (1996), Estudios de remoción de CS<sub>2</sub> de corrientes gaseosas en un biolavador de lecho escurrido (BLE), Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
- Visser J, Jong G, Robertson L, Kuenen J (1997) Purification and characterization of a periplasmic thiosulfate dehydrogenase from the obligately autotrophic *Thiobacillus* sp. W5, *Arch. Microbiol.* **166**, 372-378.
- Visser J, Jong G, Robertson L, Kuenen J (1997) A novel membrane-bound flavocytochrome c sulfide dehydrogenase from the colourless sulfur bacterium *Thiobacillus* sp. W5. *Arch Microbiol.* **167**, 295-301.
- Visser J, Robertson L, Verseveld H, Kuenen J (1997) Sulfur production by obligately chemolithoautotrophic *Thiobacillus* Species. *Appl. Environmental. Microbiol.* **63**(6), 2300-2305.

- Warner P (1980) Orígenes y medida de los contaminantes inorgánicos del aire. En: Análisis de los contaminantes del aire. Ed. Paraninfo. pp. 115-182
- Wentzien S, Samd W, Albertsen A, Steudel R (1994) Thiosulfate and tetrathionate degradation as well as biofilm generation by *Thiobacillus intermedius* and *Thiobacillus versutus* studied by microcalorimetry, HPLC and ion-pair chromatography. *Arch. Microbiol.* **161**, 116-125.