

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS AMBIENTALES



**BIODESULFURACIÓN DEL AIRE MEDIADA POR BIOPELÍCULAS
BACTERIANAS EN BIORREACTORES DE LECHO FLUIDIZADO FIJO
INVERTIDO A ESCALA DE LABORATORIO**

Tesis

Para optar el título de

INGENIERO AMBIENTAL

Presentado por

VICTOR MANUEL BETETA ALVARADO

PROMOCIÓN 2010- I

Tingo María – Perú

2011



T01

B41

Beteta Alvarado, Víctor M.

Biodesulfuración del Aire Mediada por Biopelículas Bacterianas en Biorreactores de Lecho Fluidizado fijo Invertido a Escala de Laboratorio. Tingo María, 2011

107 h.; 41 cuadros; 31 fgrs.; 101 ref.; 30 cm.

Tesis (Ing. Ambiental) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Recursos Naturales Renovables.

1. BIODESULFURACION - AIRE 2. BIOFILM 3. ASPECTOS AMBIENTALES 4.

POLUCION 5. ESCALA - LABORATORIO 6. BIOTECNOLOGIA 7. PERU.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 12 de enero de 2012, a horas 04:00 p.m. en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para calificar la tesis titulada:

“BIODESULFURACIÓN DEL AIRE MEDIADA POR BIOPELÍCULAS BACTERIANAS EN BIORREACTORES DE LECHO FLUIDIZADO FIJO INVERTIDO A ESCALA DE LABORATORIO”

Presentado por el Bachiller: **VICTOR MANUEL BETETA ALVARADO**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de **"MUY BUENO"**.

En consecuencia el sustentante queda apto para optar el **Título de INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título correspondiente.

Tingo María, 27 de enero de 2012.

Blgo. M.Sc. **JOSE KALION GUERRA LU**
Presidente

Ing. M.Sc. **JOSE BLAS MATIENZO**
Vocal



Blgo. **ARMANDO MARTIN ENEQUE PUICON**
Vocal

McBlgo. M.Sc. **CÉSAR SAMUEL LOPEZ LOPEZ**
Asesor

DEDICATORIA

A Dios

Mi principal fuerza, refugio e inspiración, por ser guía y camino de mi formación profesional.

A mis padres

Felixander y Nora, por su amor e incondicional apoyo, en mi formación personal, espiritual y profesional.

A mis hermanas

Sandra, Karina y Angélica, por gran su cariño, paciencia y compañía durante mis años de estudio.

En memoria de mí estimado profesor y amigo

Blg. MSc. Luis Alberto Vivar Luque

Q.E.P.D.

AGRADECIMIENTO

- A Dios padre por su protección y la fortaleza física y mental que me brindó en mi vida cotidiana, al guiarme por el buen camino durante mi formación profesional.
- A la UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA, mi Alma Mater, por albergarme en sus aulas durante mi formación profesional.
- A la Facultad de Recursos Naturales Renovables y a los docentes del Departamento de Ciencias Ambientales, por brindarme sus sabios conocimientos, experiencia profesional y todas las facilidades necesarias para la culminación de mi carrera profesional.
- Al Dr. MSc. Mtblgo. César Samuel López López, asesor de esta investigación, por la amistad, exigencia, orientación y confianza que me brindó en la realización del presente trabajo, así como en el proceso de mi formación personal y profesional.
- Al Ing. MSc. Nelino Florida Rofner, por su apoyo incondicional en el préstamo de algunos materiales y equipos necesarios para la realización del presente trabajo.
- Al Ing. Richard Sías Rodríguez, por su amistad y colaboración para poder realizar el presente trabajo.
- A la Ing. Maribel Roca Capcha, por su valiosa amistad, consejo y compañía.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo general.....	2
1.1.1. Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. El bióxido de azufre	4
2.1.1. Propiedades fisicoquímicas de bióxido de azufre.....	4
2.1.2. Producción	6
2.1.3. Usos del bióxido de azufre	7
2.2. Ciclo del azufre	7
2.3. Efectos del óxido de azufre.....	9
2.3.1. Efectos en el suelo	9
2.3.2. Efectos en el agua.....	9
2.3.3. Efectos en el aire.....	10
2.3.4. Efectos sobre las plantas	10
2.3.5. Efectos sobre las construcciones.....	11
2.3.6. Efectos en la salud	12

2.4.	Legislación nacional ambiental del bióxido de azufre	14
2.4.1.	Estándar de Calidad Ambiental del aire (ECA-Aire)	14
2.4.2.	Límite Máximo Permisible en el aire (LMP-Aire)	14
2.5.	Depuración del óxido de azufre	14
2.5.1.	Pretratamientos	15
2.5.2.	Medidas primarias	15
2.5.3.	Medidas secundarias.....	16
2.6.	Biodesulfuración (BDS).....	17
2.7.	Biopelículas.....	22
2.8.	Biorreactores usados en la depuración de gases	27
2.9.	Biofiltración de compuestos gaseosos.....	29
2.9.1.	Consideraciones para el dimensionamiento de un	
	sistema de biofiltración.....	32
2.10.	Lecho Fluidizado Fijo Invertido (LFFI).....	35
2.11.	Topa (<i>Ochroma pyramidale</i>)	37
2.11.1.	Lecho de madera y biopelículas	38
2.12.	PVC flexible	39
2.12.1.	Catéteres de PVC flexible y biopelículas	40
2.13.	Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	41
2.14.	Cascarilla de arroz.....	42
2.14.1.	Propiedades fisicoquímicas de la cascarilla de arroz.....	42

2.14.2. Cascarilla de arroz y biopelículas.....	43
III. MATERIALES Y MÉTODOS	44
3.1. Ubicación	44
3.1.1. Ubicación política	44
3.1.2. Ubicación geográfica.....	44
3.2. Unidades experimentales.....	45
3.2.1. Biopelículas bacterianas.....	45
3.2.2. Componentes químicos.....	45
3.2.3. Lecho.....	45
3.2.2. Aspectos ambientales	45
3.3. Metodología experimental.....	46
3.3.1. Toma de muestras para el aislamiento de bacterias	46
3.3.2. Preparación de medios de cultivo	47
3.3.3. Aislamiento y selección de bacterias.....	48
3.3.4. Conservación de bacterias	49
3.3.5. Etapa de adaptación de las bacterias	49
3.3.6. Diseño y preparación de biorreactores LFFI	50
3.3.7. Generación del SO ₂ y entrada al biorreactor.....	51
3.3.8. Operación en biorreactores LFFI.....	52
3.4. Datos a registrar	52
3.4.1. Cinética del biorreactor.....	52

3.4.2. Parámetros de control	53
3.5. Diseño experimental	55
3.5.1. Tratamientos en estudio	56
3.5.2. Variables	56
3.6. Análisis estadístico	57
3.6.1. Análisis de varianza (ANOVA).....	57
3.6.2. Prueba de múltiple rangos de diferencia	
francamente significativa de Tukey (HSD Tukey).....	57
IV. RESULTADOS	58
4.1. Concentración de biomasa suspendida (Planctónica)	58
4.2. Determinación del pH	64
4.3. Biomasa sedentaria (biopelícula).....	68
4.4. Eficiencia de biodesulfuración.....	72
V. DISCUSIÓN.....	79
5.1. Incremento de biomasa en los biorreactores	79
5.1.1. Biomasa suspendida (Planctónica)	79
5.1.2. Biomasa sedentaria.....	81
5.2. Eficiencia de biodesulfuración.....	82
5.3. Lechos en el proceso de biodesulfuración.....	85
5.3.1. Lecho de madera	86
5.3.2. Lecho de PVC	87

5.3.3. Lecho de cascarilla de arroz.....	88
VI. CONCLUSIONES.....	90
VII. RECOMENDACIONES	92
VIII. ABSTRACT	93
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
X. ANEXOS.....	107

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Propiedades fisicoquímicas del SO ₂	5
2. Efectos del SO ₂ según el grado de exposición.....	12
3. Estándar de Calidad Ambiental para el dióxido de azufre.....	14
4. Límites Máximos Permisibles de emisiones de la Industria de siderúrgica.....	14
5. Microorganismos biodesulfurantes de uso industrial.....	19
6. Puntos seleccionados para la colecta microbiológica.....	46
7. Descripción de los tratamientos estudiados.....	56
8. Análisis de Variancia (ANOVA).....	57
9. Promedio de biomasa suspendida (x 10 ⁶ m.o./mL) en biodesulfuración en biorreactores LFFI.....	58
10. ANOVA para promedios de biomasa suspendida en relación a la concentración de SO ₂ (g/mL) y tipos de lecho.....	62
11. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para biomasa suspendida según la concentración de SO ₂ (g/m ³).....	63
12. Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³) para la biomasa suspendida, según HSD Tukey.....	63
13. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para biomasa suspendida según el tipo de lecho.....	64

14.	Significancia comparativa entre lechos, para la biomasa suspendida final, según HSD de Tukey.....	64
15.	Análisis promedio de la variación del Ph.....	65
16.	Análisis de Varianza del pH para los tratamientos con SO ₂ (g/mL.) y los lechos.....	66
17.	Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para el pH Según la concentración inicial de SO ₂ (g/m ³).....	67
18.	Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³) para el pH, según la prueba H.D.S. de Tukey.....	67
19.	Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para el pH según el tipo de lecho.....	68
20.	Significancia comparativa entre diferentes tipos de lecho, Para el pH, según la prueba H.D.S. de Tukey.....	68
21.	Ganancia de biomasa (g) según el tipo de lecho.....	69
22.	Análisis de Varianza de la biomasa para los tratamientos con SO ₂ (g/mL.) y los lechos.....	70
23.	Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la Biomasa según la concentración inicial de SO ₂ (g/m ³).....	71
24.	Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³) para la biomasa, según la prueba H.D.S. de Tukey.....	71
25.	Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la biomasa, según el tipo de lecho.....	72

26.	Significancia comparativa entre diferentes tipos de lecho, para la biomasa, según la prueba H.D.S. de Tukey.....	72
27.	Análisis promedio del SO ₂ (g/mL) residual no biodesulfurado y el cumplimiento del ECA- Aire.....	73
28.	Análisis promedio del SO ₂ (g/mL) residual no biodesulfurado y el cumplimiento del LMP- Industria siderúrgica.....	73
29.	Análisis promedio de eficiencia de biodesulfuración (%).....	74
30.	Análisis de Varianza de la eficiencia de biodesulfuración para los tratamientos con SO ₂ (g/mL) y los lechos.....	76
31.	Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la eficiencia de biodesulfuración, según la concentración inicial de SO ₂ (g/m ³).....	77
32.	Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³) para la eficiencia de biodesulfuración, según la prueba H.D.S. de Tukey.....	77
33.	Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la eficiencia de biodesulfuración, según el tipo de lecho.....	78
34.	Significancia comparativa entre diferentes tipos de lecho, para la eficiencia de biodesulfuración, según la prueba H.D.S. de Tukey.....	78
35.	Formulación para 1L de medio mínimo de sales.....	111
36.	Formulación para 100 mL de solución traza de elementos.....	111
37.	Producción de SO ₂ , por combustión directa de azufre.....	112

38.	Lecturas espectrofotométricas para tratamientos con lecho de PVC.....	113
39.	Lecturas espectrofotométricas para tratamientos con lecho de cascarilla.....	114
40.	Lecturas espectrofotométricas para tratamientos con lecho de madera.....	115
41.	Resumen general de los parámetros de control evaluados.....	116

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1. Ciclo del azufre.....	8
2. Diagrama del desarrollo de una biopelícula.....	23
3. Diseño experimental.....	55
4. Variación de la biomasa suspendida (m.o./mL.) durante 7 días de operación en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lecho.....	59
5. Biomasa suspendida (m.o./mL) en biodesulfuración de 7.89 g/m ³ de SO ₂ en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lecho.....	60
6. Biomasa suspendida (m.o./mL) en biodesulfuración de 16.53 g/m ³ de SO ₂ en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lechos.....	60
7. Biomasa suspendida (m.o./mL) en biodesulfuración de 19.82 g/m ³ de SO ₂ en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lechos.....	61
8. ANOVA grafico para la biomasa suspendida.....	62
9. Variación del pH para las diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³), según el tipo de lecho.....	65
10. ANOVA grafico para el pH.....	66

11.	Variación de la biomasa (g) para las diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³) según el tipo de lecho.....	69
12.	ANOVA grafico para la biomasa.....	70
13.	Variación promedio de la concentración final del SO ₂ para los distintos tratamientos.....	74
14.	Variación de la eficiencia de biodesulfuración para las diferentes concentraciones de SO ₂ (g/m ³), según el tipo de lecho.....	75
15.	ANOVA grafico para la eficiencia de biodesulfuración.....	76
16.	Curva de combustión para el SO ₂	112
17.	Curva de calibración de sulfatos lecho de PVC.....	113
18.	Curva de calibración de sulfatos lecho de cascarilla.....	114
19.	Curva de calibración de sulfatos lecho de madera.....	115
20.	Mapa de ubicación de los puntos de colecta de muestras.....	117
21.	Detalle estructural de biorreactor de lecho fluidizado fijo invertido.....	118
22.	Acondicionamiento y siembra de selección de m.o. biodesulfurantes.....	119
23.	Preparación de medios de cultivo.....	119
24.	Armado de biorreactores.....	120
25.	Calibracion y opercion de biorreactores.....	120
26.	Extracción de muestra para determinación de parámetros de control.....	121
27.	Extracción y acondicionamiento de lecho pera el secado y pesado respectivo.....	121

28.	Medición de pH.....	122
29.	Medición espectrofotométrica de muestras.....	122
30.	Siembra de m.o. para determinación de densidad celular de la biomasa suspendida.....	123
31.	Recuento de microorganismos suspendidos.....	123

RESUMEN

El presente estudio evaluó la capacidad de remoción de SO_2 a condiciones de laboratorio mediante consorcio bacteriano conformado por microorganismos biodesulfurantes extraídos de lugares característicos para el desarrollo de este tipo de microorganismos (Recreo Aguas Sulfurosas, botadero la Muyuna y granja zootécnica de la UNAS) adaptándose un diseño experimental de estímulo creciente, en el cual se trabajó tres tipos de lecho (PVC, cascarilla de arroz y aserrín), con tres concentraciones de gas (7.89 g/m^3 , 16.53 g/m^3 y 19.82 g/m^3), un tipo de inóculo y con tres repeticiones, de modo que se evaluó la eficiencia de biodesulfuración, el incremento de biomasa fija, biomasa planctónica y la variación del pH durante los siete días de biorreacción.

De este modo se determinó que a 7.89 g/m^3 de SO_2 en tratamiento se consiguieron las mayores eficiencias de biodesulfuración de 92.5% en lecho de madera, 91.2% en lecho de cascarilla y 96.5% en lecho de PVC, siendo el más eficiente el lecho de PVC (96.5%), además se obtuvo la mayor biomasa suspendida en el lecho de cascarilla de arroz ($663.3 \times 10^6 \text{ m.o./mL}$); en tanto que la mayor biomasa sedentaria se presentó en el lecho de madera (0.4446 g) por lo que se concluyó que el lecho más adecuado para biodesulfurar SO_2 a escala de laboratorio en reactores de Lecho Fijo Fluidizado Invertido (LFFI) es el lecho de PVC.

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro planeta ha padecido los efectos de la contaminación atmosférica desde el mismo momento de su formación, llegando a ser un verdadero problema para el medio ambiente y la salud humana; puesto que a partir de la revolución industrial se comenzó la quema masiva de combustibles fósiles y la consecuente emisión de gases contaminantes a la atmósfera, entre ellos el bióxido de azufre (SO_2), que puede llegar a ser altamente tóxico para la salud del hombre, ya que en concentraciones por encima de 10 mg/L (10 ppm) puede causar desde un simple sangrado, e incluso la muerte (DGSPSSA, 2007). Ambientalmente puede reaccionar con el agua atmosférica formando ácido sulfúrico que se precipita en forma de lluvia, neblina, o sólidos de pH ácido, cuya concentración y efectos varía de región a región según la magnitud de la actividad industrial y el desarrollo urbano (ATSDR, 1998); afectando la forma de vida, el uso del suelo y alterando los ecosistemas, por lo que ha sido normada como contaminante criterio, a nivel nacional e internacional (INE, 2010).

Su emisión natural está directamente ligada a la actividad volcánica y descomposición de vegetales, en tanto que las emisiones de origen antrópico están dadas por la extracción y refinamiento de metales, la producción

energética por combustión de carbón, petróleo y gas natural, para las que se han desarrollado múltiples tecnologías de desulfuración valiéndose de procesos físicos, químicos y últimamente biológicos, entre los cuáles la biodesulfuración ofrece una alternativa ecológicamente viable para la reducción de emisiones de SO_2 , por consiguiente se plantea la interrogante ¿En qué medida las bacterias con capacidad de formar biopelículas, aisladas de tres zonas representativas de Tingo María (botadero de la ciudad de Tingo María, la granja zootécnica de la Universidad Nacional Agraria de la Selva y el recreo aguas sulfurosas), sobre tres tipos de lecho (aserrín, cascara de cereal, trozos de PVC) y aplicadas en biorreactores de lecho fluidizado fijo invertido (LFFI), son capaces de disminuir la concentración de SO_2 ?, teniendo como hipótesis que la formación de biopelículas bacterianas tienen capacidad biodesulfurante, al reducir concentraciones de hasta 19.82 g/m^3 de SO_2 .

1.1. Objetivo general

Biodesulfurar aire contaminado con SO_2 a escala de laboratorio mediado por biopelículas bacterianas en biorreactores de lecho fluidizado fijo invertido (LFFI).

1.1.1. Objetivos específicos

- Determinar el grado de eficiencia de biodesulfuración del aire con SO_2 mediado por biopelículas bacterianas.

- Determinar la ganancia de biomasa sedentaria y plantónica en los biorreactores LFFI.
- Determinar el tipo de lecho más adecuado para el proceso de biodesulfuración a escala de laboratorio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El bióxido de azufre

Es un compuesto químico reductor, incoloro de olor penetrante, en estado gaseoso (SO_2) que se oxida a trióxido de azufre líquido (SO_3); (DGSPSSA, 2007). Se generan principalmente por actividades asociadas con la combustión de combustibles fósiles (carbón, petróleo, gas natural) tal como ocurre en plantas de energía o de la fundición de cobre. En la naturaleza, puede ser liberado al aire por erupciones volcánicas (ATSDR, 1998). Gran parte de él se convierte en iones sulfato (SO_4^{2-}) que pueden originar fenómenos como la niebla tóxica sulfurosa (smog clásico), la lluvia ácida, deterioro de materiales por corrosión, toxicidad para la vegetación, animales y el hombre (EUETI, 2009). Es considerado un contaminante crítico del aire, pues representa un riesgo a la salud, por lo que han sido normados y se han establecido límites máximos de concentración en el aire (INE, 2010).

2.1.1. Propiedades fisicoquímicas de bióxido de azufre

El dióxido de azufre existe como moléculas planas en forma de V con un ángulo en enlace de 120° (CARO, 2006); es muy reactivo y se oxida

rápidamente, siendo el ácido sulfúrico y el ácido sulfuroso sus productos más importantes y más relevantes para el medio ambiente (CES, 2005). Al ser un gas más denso que el aire puede alcanzar por inmisión muy rápidamente una concentración nociva en el aire; reacciona violentamente con amoníaco, acroleína, acetileno, metales alcalinos, cloro, óxido de etileno, aminas, butadieno. Su disolución en agua es moderadamente ácida, originando peligro de corrosión, pues ataca a muchos metales incluyendo, aluminio, hierro, acero, cobre, níquel. Es incompatible con los halógenos, ataca a los plásticos, caucho y recubrimientos, si está en forma líquida (DGSPSSA, 2007); el SO₂ presenta un sinergismo más que aditivo cuando actúa en combinación con otros gases nocivos como el NO_x (CES, 2005).

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas del SO₂.

Masa molecular relativa:	64.06 g/mol
Densidad:	1.46 g/cm ³ a -10 °C (líquido) 2.93 g/L a 20 °C (gas)
Densidad relativa del gas:	2.26
Punto de ebullición:	-10 °C
Punto de fusión:	-75.5 °C
Presión de vapor:	331 kPa a 20 °C; 4.62 kPa a 30 °C; 842 kPa a 50 °C;
Umbral de olor:	0.3-1 ppm (en el aire)
Solvólisis:	En agua: 112.7 g/l a 20 °C (1013 mbar); 228.3 g/l a 0 °C (1013 mbar); Se disuelve fácilmente en alcohol, benceno, acetona, tetracloruro de carbono; totalmente miscible con éter, disulfuro de carbono, cloroformo y glicol.
Factores de conversión:	1 ppm = 0.376 mg/m ³ 1 mg/m ³ = 2.663 ppm
$\Delta_f H^0_{\text{gas}}$	-296.84 kJ/mol
$S^0_{\text{gas, 1 bar}}$	248.21 J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹

Fuente: (CES, 2005)

2.1.2. Producción

Las fuentes emisoras de SO_2 pueden ser naturales (producen el 55.2%), como la descomposición de la materia vegetal o el efecto de los volcanes, y antropogénicas (44.7%), como las centrales térmicas (70% de las emisiones antropogénicas), combustión de derivados del petróleo (16%), craqueo del petróleo (4%), la siderurgia (4.5%). El efecto contaminante de las fuentes naturales es mínima, ya que la emisión de SO_2 está muy dispersa por toda la tierra. En cambio las emisiones antropogénicas están muy concentradas.

El Dióxido de azufre puede ser formado directamente calentando sus elementos constitutivos, pero hay que tener en cuenta que las industrias pueden emitir SO_2 directamente o emitir H_2S que se oxida a SO_2 (SMACM, 1993); en cambio el producto técnico se obtiene a partir del azufre elemental, de la pirita, minas de sulfuro, metales no ferrosos, yeso, anhidrita y de los gases fumantes (CES, 2005).

Los procesos en los que se emite H_2S son:

- Obtención de gas natural
- Craqueo del petróleo
- Industria del papel

Mientras las emisiones directas de SO_2 están producidas por:

- Las fundiciones metalúrgicas de metales no ferrosos
- Quema de combustibles fósiles y centrales térmicas
- Calefacciones domésticas
- Producción de ácido sulfúrico

2.1.3. Usos del dióxido de azufre

El dióxido de azufre es uno de los compuestos más importantes de la industria química. 98% del SO_2 técnico se utiliza para la producción de trióxido de azufre como precursor del ácido sulfúrico (CES, 2005). También es empleado en varias otras síntesis como agente reductor en metalurgia, refrigerante en la industria del frío, como desinfectante y blanqueador, para la conservación de sustancias alimenticias, como decolorante y fumigante. Si se hace reaccionar con el cloro y compuestos orgánicos se pueden obtener en una reacción de clorosulfonación directa los clorosulfonatos como precursores de detergentes y otras sustancias (DGSPSSA, 2007).

2.2. Ciclo del azufre

El ciclo comienza cuando las lluvias extraen los sulfatos de las rocas y forma lodos en los que el azufre recircula gracias a las bacterias reductoras del azufre que reducen sulfatos y otros compuestos similares; que son absorbidos por las plantas en su forma sulfatado, SO_4 , es decir en forma

aniónica perteneciente a las distintas sales: sulfatos de calcio, sodio, potasio, etc. (SO_4Ca , SO_4Na_2).

El azufre no solo ingresa a la planta a través del sistema radicular sino también por las hojas en forma de gas de SO_2 , que se encuentra en la atmósfera, a donde se concentra debido a los procesos naturales de descomposición de la materia orgánica, combustión de carburantes y fundición de metales.

Este azufre es devuelto a la tierra por un mecanismo que consiste en convertirlo en compuestos gaseosos tales como el ácido sulfhídrico (H_2S) y el dióxido de azufre (SO_2) que penetran en la atmósfera y vuelven a tierra firme, generalmente lavado por las lluvias (COLINYAUX, 1995).

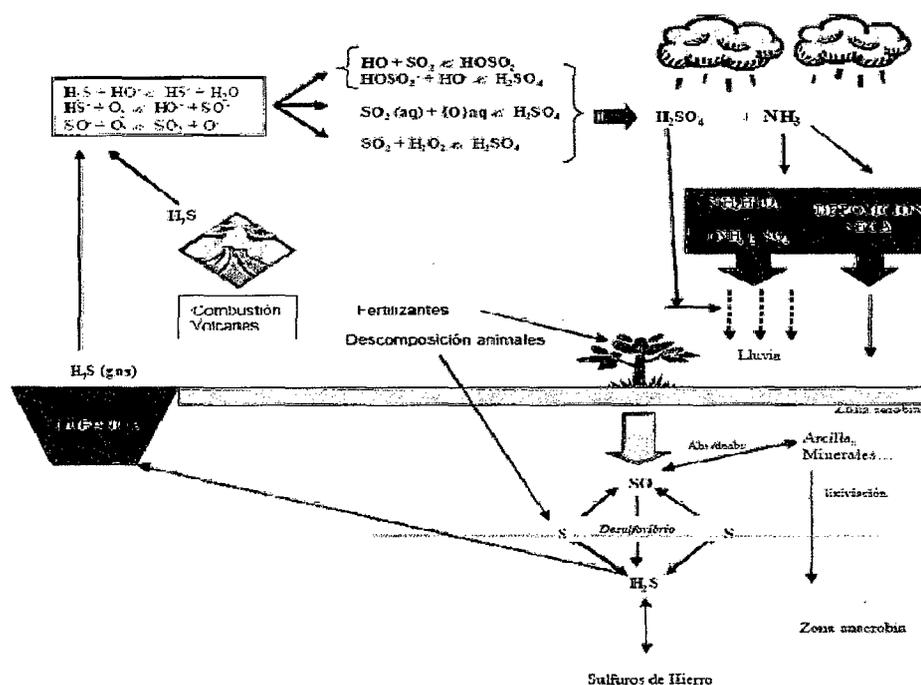


Figura 1. Ciclo del azufre (ARREBOLA *et al.*, 2004).

2.3. Efectos del óxido de azufre

El SO₂ es una sustancia peligrosa para el ambiente; por los efectos adversos sobre el aire, agua y plantas y animales, puesto que puede alterar los sistemas ecológicos (DGESPSSA, 2007).

2.3.1. Efectos en el suelo

Las inmisiones húmedas y secas provenientes de la atmósfera constituyen las fuentes más importantes de acumulación del azufre en el suelo; las partículas secas consisten principalmente en (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₃H(SO₄)₂, CaSO₄ y MgSO₄ con un pequeño porcentaje de compuestos de azufre orgánico y anhídrido sulfuroso de los que no se sabe su modo de movilización en el suelo (ATSDR, 1998), pero sí que son los principales responsables de la acidificación de los suelos, especialmente cuando los sistemas de amortiguación del suelo no pueden neutralizar a los ácidos que ingresan (CES, 2005).

2.3.2. Efectos en el agua

El dióxido de azufre ingresa a los cuerpos de agua superficiales y subterráneos por deposición seca y mojada. La solución acuosa reacciona como un ácido fuerte y altera la dinámica biológica de los organismos vivos que la habitan (CES, 2005).

2.3.3. Efectos en el aire

El SO_2 es higroscópico en la atmósfera y forma aerosoles de ácido sulfúrico y sulfuroso que luego forman parte de la lluvia ácida, la intensidad de formación de aerosoles y el tiempo medio de permanencia en la atmósfera asciende a unos 3-5 días, de modo que la sustancia puede ser transportada hasta grandes distancias (CES, 2005); y en su trayecto formar ácido sulfúrico, anhídrido sulfúrico, sulfatos y precipitarse en forma de lluvia o smog (ATSDR, 1998). Durante la noche, cuando la concentración de OH es baja y se presentan concentraciones significativas de ozono y alquenos, la oxidación del dióxido de azufre puede presentarse vía la formación de un intermediario de Criegee (banda espectroscópica IR), a través de un mecanismo de reacción complejo (SMACM, 1993).

2.3.4. Efectos sobre las plantas

El SO_2 ingresa a las hojas a través de los estomas y al afectar el mecanismo de apertura de los poros perturba los aspectos fisiológicos y bioquímicos de la fotosíntesis, la respiración y la transpiración de las plantas; también se producen lesiones indirectas, especialmente por acidificación del suelo (lesiones de la micorriza) y alteración del crecimiento (CES, 2005).

Exposiciones agudas a altas concentraciones de dióxido de azufre pueden producir daños en forma de necrosis foliar y clorosis de la hoja; las

exposiciones crónicas a bajas dosis producen una disminución del crecimiento de la planta y un aumento de la senescencia. Muchas especies de líquenes y briofitas son más sensibles al dióxido de azufre que las plantas superiores ya que carecen de la protección de las cutículas y estomas.

2.3.5. Efectos sobre las construcciones

El bióxido de azufre también provoca el deterioro de materiales, mediante los siguientes mecanismos:

– Formación de costras de sulfín

El ácido sulfuroso formado a partir de la reacción del agua con el dióxido de azufre, se oxida bajo la presencia del oxígeno atmosférico, dando lugar al ácido sulfúrico que ataca especialmente a las rocas calizas. Al reaccionar este ácido sulfúrico con el carbonato cálcico bajo la presencia de agua ocasiona sulfato cálcico hidratado y tras la evaporación del agua se forma una costra de sulfín. Estas agresiones se agravan en las zonas costeras donde el sulfato cálcico formado reacciona con el cloruro sódico del agua salada y se forma sulfato sódico, compuesto altamente corrosivo.

– Biodeterioro

Es la degradación física y química de la roca provocada por los organismos vivos. Los líquenes, hongos y musgos retienen humedad, favorecen la colonización y producen ácidos que modifican el color de la roca.

Las sulfobacterias, unas de las bacterias más dañinas, transforman compuestos silicatados en ácidos y oxidan el azufre a sulfato contribuyendo así a la erosión de las rocas.

2.3.6. Efectos en la salud

Según el grado de concentración de SO_2 al que se esté expuesto los efectos pueden ser los siguientes:

Cuadro 2. Efectos del SO_2 según el grado de exposición

Concentración de dióxido de azufre	Efecto
1.3-5.2 mg/m^3 (0.5-2 ppm)	La función pulmonar cambia en sujetos asmáticos durante el ejercicio
7.9-13 mg/m^3 (3-5 ppm)	Detección del olor
16-31 mg/m^3 (6-12 ppm)	Puede causar irritación nasal y de la garganta
21-31 mg/m^3 (8-12 ppm)	Puede producir irritación conjuntival y lagrimeo.
26 mg/m^3 (10 ppm)	Se puede observar irritación de las vías respiratorias superiores y posibles hemorragias nasales
52 mg/m^3 (20 ppm)	Produce irritación de los ojos
131-262 mg/m^3 (50-100 ppm)	Se observa irritación grave de los ojos, garganta, tracto respiratorio inferior y lagrimeo que pueden ser tolerados por durante 30-60 minutos
262 mg/m^3 (100 ppm)	IDLH (inmediatamente peligroso para la vida y la salud: 30 minutos)
1049 mg/m^3 (400 ppm)	Concentración mínima letal en el aire durante una exposición de 1 minuto

Fuente: DGSPSSA, 2007.

Si las personas expuestas son asmáticas, de edad avanzada, que sufren afectaciones pulmonares, y fumadores compulsivos, son más susceptibles a los efectos del SO_2 . Los efectos irritantes se producen, principalmente, en la parte superior del tracto respiratorio y en los ojos, aunque hay una mayor irritación por sulfatos que por dióxido de azufre. Los sulfatos y el ácido sulfúrico forman partículas con diámetro menor de $1 \mu\text{m}$, por lo que pueden alcanzar regiones pulmonares más profundas (ARREBOLA. *et al.*, 2004).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda como límite para preservar la salud pública una concentración de 100 a $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio de 24 horas y de 40 a $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en una media aritmética anual (SMACM, 1993).

La EPA recomienda que la concentración promedio de anhídrido sulfuroso durante 12 meses consecutivos no debe exceder 0.03 ppm. La concentración promedio durante 24 horas no debe exceder 0.14 ppm más de una vez al año (ATSDR, 1998).

Exposiciones a concentraciones de 1049-1311 mg/m^3 (400-500 ppm) están consideradas inmediatamente peligrosas para la vida. Víctimas supervivientes a altas concentraciones pueden desarrollar síndrome de disfunción reactiva de las vías respiratorias (RADS), enfermedad pulmonar obstructiva y restrictiva o bronquitis crónica. El RADS puede persistir desde meses hasta años después de la exposición.

2.4. Legislación nacional ambiental del bióxido de azufre

2.4.1. Estándar de Calidad Ambiental del aire (ECA-Aire)

Cuadro 3. Estándar de calidad ambiental para el dióxido de azufre

Periodo	Vigencia	Forma del estándar		Método de análisis
		$\mu\text{g}/\text{m}^3$	formato	
24 horas	1 de enero de 2009	80	Media	Fluorescencia
24 horas	1 de enero de 2014	20	aritmética	UV (método automático)

Fuente: El Peruano, 2008(DS-3-2008-MINAM).

2.4.2. Límite Máximo Permissible en el aire (LMP-Aire)

Cuadro 4. Límites máximos permisibles de emisiones de la Industria de siderúrgica

Periodo	Vigencia	mg/m^3	Método de análisis
24 horas	1 de enero de 2009	750	2002, NTP 900.006 (EPA 6)

Fuente: El Peruano, 2009 (DS -057-2009- MINAM).

2.5. Depuración del óxido de azufre

Existen varias soluciones para reducir estas emisiones. El principal problema es que el SO_2 se genera diluido con otros gases, por lo que resulta difícil aislarlo, pero existen fundamentalmente 3 etapas en las cuales se puede depurar, o evitar la emisión del bióxido de azufre al ambiente:

2.5.1. Pretratamientos

Son medidas aplicadas antes de que se ejecute el proceso productivo y se emita el bióxido de azufre al ambiente, es lo más recomendable, eficaz y normalmente barato, puesto que se reduce grandemente el volumen de gas a emitirse:

- **Mejora de la calidad de materias primas:**

Se realizan sobre el combustible que se use:

Lavado

Mezcla de combustibles

- **Conversión de las materias primas:**

Gasificación

Licuefacción

2.5.2. Medidas primarias

Son medidas integradas dentro de los procesos que generan contaminación:

- **Combustión convencional**

Modificaciones en la combustión

Inyección de sorbentes

- **Combustión en lechos fluidizados**

- Lechos atmosféricos

- Lechos presurizados

Si a pesar de estos esfuerzos aún se generan cantidades importantes del gas se pueden aplicar lavados básicos con leche de cal para retenerlo del aire de salida como sulfito, el cual se oxida a CaSO_4 de donde se obtiene un fertilizante, o se regenera CaCO_3 o se vuelve a generar SO_2 que ahora como ya está aislado se puede licuar o transformar en ácido sulfúrico. Con este método se puede eliminar el 90% de las emisiones de SO_2 . También se puede transformara azufre elemental mediante el proceso de Claus.

2.5.3. Medidas secundarias

Consisten en sistemas de depuración de los gases antes de salir a la atmósfera, normalmente son tecnologías caras que se usan para partículas en suspensión y sedimentables de SO_2 :

- **Desulfuración de los Gases**

- Procesos de desulfuración por vía húmeda

- Procesos de absorción por atomizado-secado

- Biodesulfuración (EUETI, 2009).

2.6. Biodesulfuración (BDS)

La BDS es el término genérico que engloba toda ruta metabólica en la que los microorganismos actúan como biocatalizadores de la reacción de desulfuración (MONTICELLO *et al.*, 1985), pudiéndose aplicar para desulfurar carbón, petróleo y sus diferentes fracciones.

El uso de microorganismos puede ofrecer un camino alternativo para la eliminación específica de azufre de fracciones de hidrocarburos, sin la alteración del esqueleto de carbono. Además, la biodesulfuración (BDS) es un proceso medioambientalmente benigno, dado que se realiza a bajas presiones y temperaturas, lo que también supone una importante reducción de los riesgos y costos de las instalaciones.

Debido a la baja actividad enzimática, las velocidades de conversión no resultan aceptables desde el punto de vista industrial, por lo que la BDS debe ser considerada como una tecnología complementaria a otros procesos, disminuyendo el contenido en azufre a los niveles legislados.

En cuanto a los metabolismos asociados a procesos de BDS, éstos pueden clasificarse en función del aceptor de electrones, (MCFARLAND, 1999), en metabolismos anaerobio, aerobio o anaerobio facultativo.

En el caso anaerobio, el catabolismo se realiza en ausencia de oxígeno, produciéndose tras el proceso ácido sulfhídrico, según lo reportado por OSAMU *et al.* (2002), los niveles de reducción de azufre por esta vía no son importantes. *Desulfovibrio desulfuricans* M6, una bacteria reductora de sulfato, es el principal microorganismo capaz de eliminar el azufre anaeróbicamente.

El metabolismo en condiciones aerobias es llevado a cabo por infinidad de grupos microbianos. En este caso, el oxígeno actúa como aceptor final de electrones y se alcanzan elevados niveles de desulfuración.

Por último, el metabolismo anaerobio facultativo es el que desempeñan grupos de microorganismos capaces de utilizar oxígeno u otros aceptores de electrones, según la presencia o no de oxígeno en el medio.

Por las ventajas que presentan frente al catabolismo anaerobio, los estudios de BDS se han centrado en los metabolismos aerobios o anaerobios facultativos.

Una de las principales desventajas del proceso de BDS se encuentra en el alto grado de especificidad de las enzimas encargadas del metabolismo de los compuestos orgánicos azufrados. Además, el uso de agua como medio de reacción imprescindible para la supervivencia de los microorganismos implica numerosos problemas de transferencia de los compuestos orgánicos a degradar, así como en las posteriores operaciones de

separación. Entre las ventajas de la biodesulfuración caben destacar el menor requerimiento energético y la eliminación de compuestos con azufre difíciles de eliminar con técnicas más clásicas.

Existen numerosos microorganismos capaces de metabolizar compuestos azufrados, incluyendo archaeas, bacterias de tipo gramnegativo y grampositivo, (filamentosas y no filamentosas), fungi (mohos y levaduras), (KILBANE, 2006). Sin embargo son pocos los que eliminan el azufre a través de rutas selectiva (no destructiva) (GALLARDO *et al.*, 1997).

Cuadro 5. Microorganismos biodesulfurantes de uso industrial

N°	Microorganismos desulfurantes
1	<i>Rhodococcuserythropolis</i> KA 2-5-1, (natural)
2	<i>Rhodococcuserythropolis</i> KA 2-5-1, (modificado genéticamente)
3	<i>Rhodococcuserythropolis</i> IGTS8
4	<i>Rhodococcuserythropolis</i> XP
5	<i>Mycobacterium</i> sp. GB
6	<i>Mycobacterium</i> sp. X7B
7	<i>Mycobacterium</i> sp. G3, (natural)
8	<i>Mycobacterium</i> sp. G3, (promotor hsp 60)
9	<i>Mycobacterium</i> sp. G3, (promotor hsp 60 más sulfato)
10	<i>Pseudomonasdelafieldii</i> R-8
11	<i>Pseudomonasdelafieldii</i> R-8, natural
12	<i>Pseudomonasdelafieldii</i> R-8, con Al ₂ O ₃

Fuente: Kilbane, 2006.

De las cuales *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 es una cepa capaz de metabolizar un gran rango de compuestos orgánicos azufrados como única

fuentes de azufre, (KAYSER *et al.*, 1993; IZUMI *et al.*, 1994); pero también otros microorganismos son aplicados habitualmente, y actualmente han atraído especial interés aquellos modificados genéticamente. Entre las cepas con capacidad desulfurante se encuentran las especies de *Corynebacterium* (OMORI *et al.*, 1992; MAGHSOUDI *et al.*, 2001), *Gordona* (OLDFIELD *et al.*, 1998; JIA *et al.*, 2006), *Nocardia* (CHANG *et al.*, 2000) *Escherichia* (LE BORGNE *et al.*, 2003) o *Pseudomonas* (KERTESZ, 2004; LUO *et al.*, 2002; GUOBIN *et al.*, 2006).

Además, en los últimos años se ha reconocido la ventaja de emplear microorganismos termófilos, dado que se podrían alcanzar mayores velocidades específicas de desulfuración, menores problemas de contaminación y mejoras en la estabilidad del biocatalizador.

Entre las especies termófilas empleadas hasta la fecha encontramos *Paenibacillus*, (KONISHI *et al.*, 2000; ONAKA *et al.*, 2000), *Bacillus subtilis*, (KIRIMURA *et al.*, 2001; OHSHIRO *et al.*, 2005), *Mycobacterium phlei*, (KONISHI *et al.*, 2000; FURUYA *et al.*, 2005; KAYSER *et al.*, 1993; OKADA *et al.*, 2002). Todas estas cepas siguen la misma ruta de desulfuración que *R. erythropolis* IGTS8.

En referencia a la escala de trabajo, la mayor parte de los trabajos publicados hasta la fecha se han desarrollado en erlenmeyer, aunque también hay algunos estudios en biorreactores. La mayoría de éstos trabajos se han

llevado a cabo con tanques agitados, (MARCELIS *et al.*, 2003; JIA *et al.*, 2006), aunque también hay algunos estudios con reactores de inmovilización de células enteras, (SETTI *et al.*, 1997), lechos fluidizados, (MCFARLAND *et al.*, 1998), reactores de contacto en fase emulsionada, (KAUFMAN *et al.*, 1997) y reactores de interfase (ODA *et al.*, 2002).

Para alcanzar un elevado grado de mezcla, estableciéndose condiciones de emulsión, habitualmente se emplean reactores tipo tanque agitado, (SETTI *et al.*, 1997; LE BORGNE, 2003; MARCELIS *et al.*, 2003), si bien también se han realizado investigaciones con reactores tipo airlift, reactores de contacto en fase emulsionada, reactores tipo lecho fluidizado con células inmovilizadas, (MCFARLAND *et al.*, 1998), y en los últimos años están cobrando importancia los reactores de membrana.

Por otro lado, y dado que se trata de un proceso con microorganismos aerobios, el conocimiento de la transferencia de oxígeno juega un papel fundamental en las condiciones óptimas de operación, y por tanto en el diseño de los equipos a utilizar.

En relación con la fase acuosa empleada en este tipo de procesos, la mayoría de los autores emplean un medio estándar de reacción con tampón fosfato como el HEPES, 12 g/L. En cuanto a las condiciones de operación, la mayoría de los autores trabajan con microorganismos mesófilos, con

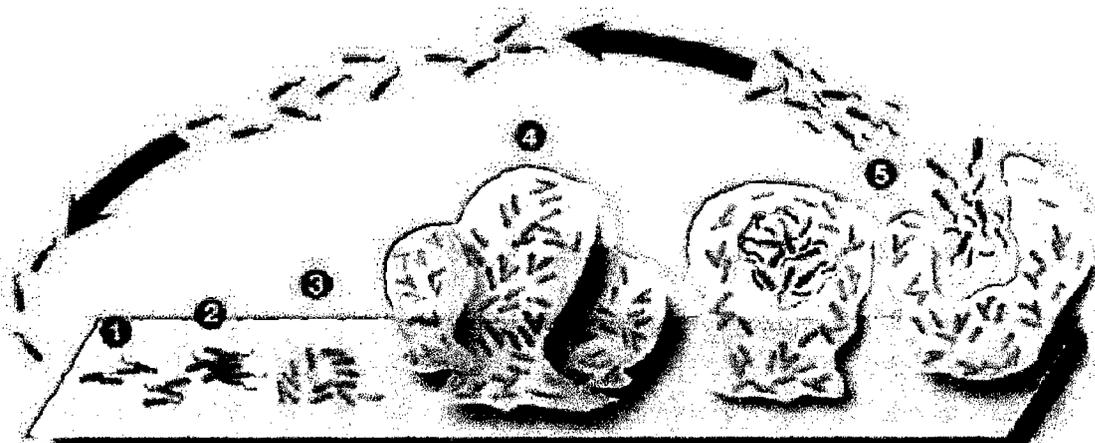
velocidades de agitación entre 150-300 rpm y pH neutro o ligeramente básico, (OHSHIRO *et al.*, 1999; H. DEL OLMO *et al.*, 2005; CARO, 2006).

2.7. Biopelículas

El término biopelícula (biofilm) hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran agregados en un exopolímero compuesto de glicocálix (75%) y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, ya sean blandas, animadas e inanimadas. El exopolisacárido (EPS) que es producido por los mismos microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos.

Una de sus características es la heterogeneidad, lo que las hace organizaciones únicas que pueden estar conformadas por bacterias, hongos y protozoos. Se ha visto entonces, que los microorganismos al ser variados dentro de esta organización presentan diferentes microambientes de pH, tensión de oxígeno, concentración de iones, carbono y nitrógeno; La hidrodinámica juega un papel importante en el desarrollo de la biopelícula pues estas organizaciones se desarrollan en una interfase líquido-sólido donde la velocidad del flujo que lo atraviesa influye en el desprendimiento físico de los microorganismos. Además, poseen un sistema de canales que les permiten el transporte de nutrientes y desechos. Otra característica de las biopelículas es su resistencia a las defensas del hospedero y agentes antimicrobianos.

Mientras que los microorganismos aislados son susceptibles a estos factores de control, las colonias organizadas e incluidas en el exopolímero forman una capa impermeable en donde sólo los microorganismos más superficiales se ven afectados (BETANCOUR *et al.*, 2004).



1. Adhesión inicial de las células a la superficie.
2. Producción de EPS ofreciendo fijación "irreversible" más firme de las células a la superficie.
3. Desarrollo temprano de la arquitectura de la biopelícula.
4. Maduración de la arquitectura de la biopelícula.
5. Dispersión de células de la biopelícula.

Figura 2. Diagrama del desarrollo de una biopelícula (STOODLEY *et al.*, 2002).

Las biopelículas pueden estar formadas de una población que se desarrolla a partir de especies únicas o una comunidad de múltiples especies microbianas (MCLEOD *et al.*, 1990). Sin embargo, la coexistencia de diferentes microorganismos en una biopelícula otorga beneficios tales como asociaciones sintróficas estables que se caracterizan por ser procesos metabólicos en los que dos o más microorganismos cooperan para llevar a cabo un proceso que un solo microorganismo no podría realizar. No obstante, debido a la variedad de microorganismos presentes en la biopelícula también puede existir

competencia por un mismo sustrato en presencia de un aceptor de electrones específico (THAUER *et al.*, 2007).

El desarrollo de una biopelícula es el resultado de diferentes fenómenos tales como la adhesión de los microorganismos a la superficie sólida, adsorción y desorción de microorganismos, así como crecimiento y desprendimiento de la biopelícula. Dentro de la biopelícula los contaminantes gaseosos llegan a la biopelícula por un mecanismo de transferencia de masa entre la fase líquida y vapor, por lo que los gases deben ser fácilmente solubles en la biopelícula para que así estén disponibles para los microorganismos ya que la degradación de los mismos ocurre en la fase líquida o de biopelícula. No solamente los contaminantes difunden en la biopelícula, sino también lo hacen el oxígeno, dióxido de carbono y otros posibles compuestos bajo la influencia de gradientes de concentración (CRESSON *et al.*, 2006).

En la célula, la hidrofobicidad de superficie depende de la presencia de fimbrias y flagelos y la producción de exopolisacarido (EPS). Estos tres factores influyen en la velocidad y el grado de unión de las células microbianas a un determinado lecho de asentamiento. La mayoría de las bacterias tienen carga negativa en la superficie de su pared y membrana, que es compatible con sectores moleculares conformados por sustancias hidrófobas. Las fimbrias, (apéndices no flagelares diferentes a los pili, implicados en la transferencia de ácidos nucleicos virales o bacterianas),

contribuyen a la hidrofobicidad de la superficie celular, dado su alto contenido en residuos de aminoácidos hidrofóbicos (ROSENBERG *et al.*, 1986).

Un número elevado de bacterias acuáticas poseen fimbrias que están involucradas en la adhesión bacteriana a las células de los animales, sin embargo ROSENBERG *et al.* (1982), y BULLITT *et al.* (1995) han mostrado pruebas definitivas sobre el papel de las fimbrias en la adhesión bacteriana a otras superficies.

En cuanto a la localización espacial de las uniones biopelícula - lecho en el seno de fluidos en movimiento, KORBER *et al.* (1989), manejando cepas móviles y no móviles de *Pseudomonas fluorescens*, vieron que en ámbitos sometidos al movimiento de un fluido, las células móviles se colocaban más rápidamente y en mayor número, en contra del sentido del flujo (backgrowth). Sin embargo, los flagelos mostraban su participación, en las primeras etapas de la adhesión bacteriana, al facilitar la superación de las fuerzas repulsivas asociadas al lecho de desarrollo de las biopelículas.

Ciertamente, la superficie sólida sobre la que se desarrolla la biopelícula, también presenta características que condicionan el proceso de adhesión. CHARACKLIS *et al.* (1990) señalan que el grado de colonización microbiana parece aumentar a medida que aumenta la rugosidad superficial. En general, la adherencia se produce más fácilmente sobre superficies ásperas, más hidrofóbicas, una vez se ha recubierto la superficie por una

película de acondicionamiento. Esto se debe a que las fuerzas de corte se reducen, y la superficie es mayor en superficies más ásperas. Las propiedades físico-químicas de la superficie también ejercen una fuerte influencia en el índice y grado de vinculación.

De forma general se ha contrastado, que los microorganismos se adhieren más rápidamente a superficies hidrófobas no polares, tales como el teflón y otros plásticos, así como también se adhieren a materiales hidrofílicos, como vidrio o metales (FLETCHER *et al.* 1979; PRINGLE *et al.* 1983 y BENDINGER *et al.* 1993).

Sin embargo los resultados a veces son contradictorios, al no existir métodos estandarizados para la determinación de la hidrofobicidad de las superficie, y aparentemente se produce algún tipo de interacción hidrofóbica entre la superficie de la célula y el sustrato, que obliga a la célula superar las fuerzas de repulsión activa a cierta distancia de la superficie del sustrato y para unirse después de forma irreversible. En medios acuáticos, un aumento en la velocidad de flujo, en la temperatura, o en la concentración de nutrientes puede estimular una mejor conexión, si no superan niveles críticos. Las propiedades de la superficie celular, específicamente la presencia de fimbrias, flagelos, y los polisacáridos de superficie asociados, o las proteínas, también son importantes y, posiblemente, puede proporcionar una ventaja competitiva para un organismo cuando se trate de una comunidad mixta (FLETCHER *et al.* 1979).

En el hombre las biopelículas se asocian con un gran número de procesos infecciosos por lo general de transcurso lento, ocasionando que su tratamiento sea dificultoso. En el área industrial y del medio ambiente el papel de las biopelículas se centra en el biodeterioro (biofouling) y la biorremediación. El biofouling es la contaminación de un sistema producido por la actividad microbiana de la biopelícula sobre diferentes superficies, a las cuales corroe, mientras que la bioremediación utiliza las biopelículas para mejorar las condiciones de un sistema contaminado (BETANCOUR *et al.*, 2004).

2.8. Biorreactores usados en la depuración de gases

Los organismos que se utilizan para inocular los biorreactores son muy variados, dentro de ellos, los más comunes son las bacterias, hongos y algunas algas. Su selección dependerá principalmente, de la naturaleza del contaminante, las características biológicas del microorganismo y las condiciones ambientales a las cuales este se desarrolla (RATHOR *et al.*, 2003).

Eligiendo las condiciones de operación correctas, muchos microorganismos pueden adherirse a una superficie sólida, que puede ser utilizada como sustrato o solamente como lecho, formando una biopelícula que se compone de una compleja estructura de células y productos celulares como polímeros extracelulares (OLIVE *et al.*, 2002).

Cuando la biopelícula está compuesta de diferentes microorganismos, donde cada uno tiene sus propias necesidades y parámetros cinéticos los microorganismos tienden a competir por el espacio y por el sustrato, esto es, donde exista la menor limitación y la mayor concentración de sustrato, respectivamente (BLENKLE *et al.*, 2002).

Numerosos factores ambientales afectan el desarrollo de la biopelícula, los cuales pueden ser separados en dos grupos de parámetros: el primero incluye los procesos de transporte y reacción en la biopelícula a escala microscópica que son principalmente independientes del desempeño del reactor. Con el segundo grupo de parámetros se describen las condiciones de transporte de nutrientes y condiciones hidráulicas en la superficie de la biopelícula, procesos de intercambio de gas, configuración del reactor, condiciones de operación (RATHOR *et al.*, 2003).

Las tecnologías de tratamiento de gases han demostrado ser un método efectivo y económico, para trabajar con bajas concentraciones de contaminantes ($< 5 \text{ g/m}^3$) y bajas temperaturas ($15 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$) ofreciendo altas eficiencias de eliminación ($> 90 \%$), bajos costos de capital inicial y de operación (GARNIER, *et al.*, 2001). Estas tecnologías presentan dos ventajas: remueven compuestos generadores de olores y eliminan los compuestos orgánicos volátiles y solventes primarios, del aire contaminado.

Las tecnologías biológicas de tratamiento se agrupan en biofiltros de lecho fijo, biolavadores (bioscrubbers) y biofiltros de lecho escurrido (biotrickling); dentro de los biolavadores existen los biorreactores Airlift y biorreactores aerobios de lecho fluidizado, aunque todas estas técnicas operan bajo el mismo mecanismo de degradación, ellas difieren en sus diseños, control de parámetros, flexibilidad de operación y en algunas características funcionales (EDWARDS *et al.*, 2002).

2.9. Biofiltración de compuestos gaseosos

A todo proceso biológico utilizado para el control o tratamiento de compuestos volátiles orgánicos e inorgánicos presentes en corrientes gaseosas, se le conoce con el nombre de biofiltración en ella los contaminantes son degradados por microorganismos adheridos a un lecho orgánico o sintético (DEVINNY *et al.*, 1999). En función de la forma de operar, se pueden encontrar cuatro tipos de tratamientos biológicos: biolavadores (bioscrubbers), biofiltros de escurrimiento (biotrickling filter), lechos fluidizados y biofiltros propiamente dichos.

Los sistemas biológicos de tratamiento de aire son considerados como tecnologías limpias o verdes y presentan una serie de ventajas comunes, entre las que destacan:

- Su capacidad para degradar los contaminantes a otros productos inocuos o menos contaminantes a una temperatura y presión ambientales.
- Costes de inversión moderados.
- Costes de operación son relativamente bajos, teniendo en cuenta el elevado volumen de gases que se pueden tratar con bajas concentraciones de los compuestos contaminantes.
- Se obtienen altos rendimientos de degradación en el tratamiento de un elevado número de compuestos contaminantes atmosféricos, pudiéndose tratar de forma efectiva mezclas de compuestos orgánicos e inorgánicos.
- Procesos aceptados por la opinión pública como "naturales" y tienen un bajo requerimiento energético en el equipamiento.

En cuanto a las desventajas, cada configuración tiene las propias, pero las comunes son:

- Necesidad de una etapa de acondicionamiento de la corriente de entrada.
- Ciertos compuestos de etapas previas de depuración o del proceso productivo pueden ser tóxicos y/o letales para los microorganismos.
- Elevada sensibilidad de éstos a los cambios de temperatura, humedad y pH.

(VAN GROENESTIJN *et al.*, 1993; KENNES *et al.*, 1998; DEVINNY *et al.*, 1999; DELHOMENIE *et al.*, 2005).

La eficiencia de los biofiltros está en función, de la actividad de la biopelícula formada sobre el lecho. La evaluación de ésta última se ha limitado a la capacidad de eliminación global (CE) del biofiltro y estudios en microcosmos (ACUÑA, *et al.* 1999).

La evaluación inicial de formación fue altamente dependiente de la porosidad de los lechos y la heterogeneidad de la película, además la biomasa no es siempre un indicativo de la actividad de la biopelícula: se ha reportado una menor CE a mayor biomasa (OSTLIE, 1998).

Además características propias de los lechos pueden influir directamente en la formación de la biopelícula, tal es así que el carácter hidrofílico - hidrofóbico de las superficies de los lechos, puede ser una característica importante que favorezca la adhesión de los microorganismos (HAMADI, *et al.* 2005).

Con un flujo constante del sustrato y nutrientes, se produce un crecimiento exponencial de los microorganismos. A fin de mantener un estado estacionario, el crecimiento ha de controlarse desde el exterior mediante la limitación de un componente, por ejemplo, los nutrientes (nitrógeno y fósforo), o extraer la biomasa producida continuamente.

2.9.1. Consideraciones para el dimensionamiento de un sistema de biofiltración

Los principales componentes para un sistema de biofiltración incluyen el preacondicionamiento de la corriente gaseosa, humidificación, distribución del gas de entrada y material filtrante.

- Preacondicionamiento de la corriente de gas

Las partículas como polvo, grasas, aceites pueden llegar a obstruir los poros del material filtrante o el sistema de distribución de aire; es por esto que es necesario ubicar equipos de control de partículas como son los lavadores, filtros de tela o cualquier otro que evite la entrada de este tipo de material al biofiltro.

La temperatura de operación también es otro factor a considerar, la reacción de oxidación biológica es altamente exotérmica por lo que se presenta evaporación de la humedad del filtro durante la operación causando un incremento en la temperatura del reactor. Dado que los principales microorganismos activos en un biofiltro son las bacterias mesofílicas, que ejercen bien sus funciones en el rango entre 5 y 50 °C (con una temperatura óptima de alrededor de 37 °C) un incremento exagerado de la temperatura inhibiría su actividad metabólica llegando a ser mortal para las bacterias. La temperatura óptima de operación de un biofiltro se encuentra entre 20 y 40 °C y es importante mantenerla no sólo para no afectar el hábitat de los

microorganismos sino también porque altas temperaturas disminuyen la solubilidad de los gases en el agua, es decir habría poca disponibilidad del contaminante y por ende una baja eficiencia de remoción (ASTRID, 2007).

- **Humidificación**

El contenido de humedad del material filtrante es fundamental para la supervivencia y metabolismo de los microorganismos. Las estrategias para asegurar un porcentaje de humedad adecuado consisten en humidificar el aire de entrada al biofiltro y adicionalmente permitir la entrada de agua, en forma esporádica, para así contrarrestar el calor generado por la reacción.

Generalmente el aire de entrada debe tener una humedad relativa superior al 95% y la entrada de agua al biofiltro se realiza por medio de boquillas instaladas en la parte superior del reactor (SILVA, 1999).

- **Sistema de distribución del aire**

La principal función de este sistema es dispersar homogéneamente el aire a través del lecho filtrante para esto se utiliza materiales como grava o tuberías perforadas para evitar la canalización.

- **Material filtrante**

Los lechos filtrantes más utilizados son el suelo y el compost obtenido a partir de lodos activados, madera y otros materiales de origen orgánico. Las consideraciones más importantes en la selección de un material filtrante son: El tamaño de partícula, distribución y estructura de los poros ya

que debe proveer una mayor área superficial para la población microbiana. Un material filtrante con un alto contenido orgánico es recomendable ya que también posee una alta concentración de nutrientes y evita la adición de nutrientes al biofiltro. Se requiere también que exista una baja caída de presión a través del lecho esto se logra añadiendo a algunos filtros como el suelo (que tienen una gran tendencia a la compactación), materiales de lecho estructural como la cascarilla de arroz, esferas de polietileno, o trozos de madera que le dan una mayor porosidad al lecho.

La elección del material filtrante no es un trabajo fácil debido a que si sus características propias no son suficientes para proporcionar un crecimiento microbiano óptimo, la necesidad de mejorar estas características por medios artificiales puede tener un impacto adverso en los costos de inversión y funcionamiento de la instalación.

Los siguientes criterios podrían tenerse en cuenta para la elección del material de lecho para biofiltración: Contenido inorgánico de nutrientes, volumen total, contenido de agua, pH, volumen hueco, área superficial intrínseca, propiedades mecánicas, emisión de olores, costo del empaque y tiempo de vida. La biofiltración resulta eficiente siempre y cuando se traten altos caudales de aire y bajas concentraciones de contaminantes que sean altamente solubles en agua, como lo son la mayoría de los compuestos orgánicos volátiles, siendo de este modo la zona de entrada de aire contaminado al biofiltro la de más alta actividad biológica (ASTRID, 2007).

2.10. Lecho Fluidizado Fijo Invertido (LFFI)

Los LFFI son una modificación de los biofiltros en los que el lecho está sumergido continuamente y consiste en un reactor con lecho en el cual los microorganismos se pueden fijar. En éstos sistemas se pueden alimentar por la parte inferior o superior del filtro (lecho fijo) y como lechos se emplean distintos tipos de materiales naturales y sintéticos como el poliestireno, cerámica, carbón. En estos sistemas, el lecho ocupa una altura variable que depende de la superficie específica y diámetro del lecho. Para evitar malos olores, estas unidades pueden estar cubiertas. Los filtros deben ser lavados a contracorriente con el objeto de retirar parte de la biomasa del filtro y evitar incrementos de pérdida de carga y taponamientos de medio filtrante (RCA, 2009).

Los LFFI son considerados como reactores anaerobicos que se basan en el desarrollo de biopelículas sobre partículas que soportan el crecimiento bacteriano, esto permite retener la biomasa dentro del reactor y por lo tanto operar a cortos tiempos de retención hidráulica (TRH) (CELIS *et al.*, 2009).

Por otro lado, la actividad de la biomasa se considera un sistema hidrodinámico, que involucra un equilibrio entre el crecimiento y desprendimiento de la biopelícula. Este tipo de reactor presenta ventajas tales como una fácil separación de las fases sólida - líquida, y una alta concentración

de biomasa con mayor actividad específica, lo cual lleva a un diseño de proceso más compacto y robusto (NICOLELLA *et al.*, 2000).

Asimismo, en este tipo de reactor se reducen los problemas por obstrucción que se presentan en un reactor de biopelícula de lecho fijo. Por otra parte, los reactores fluidificados han mostrado buenos resultados en relación a una biopelícula delgada con una alta actividad específica, por consiguiente con un menor espesor de lecho (CHAN CHOI *et al.*, 1995; BUFFIÈRE *et al.*, 2000).

Para BLENKLE *et al.*, (2002), un reactor de biopelícula de lecho circulante (fluidizado) típico tiene dos fases: una fase sólida y una fase líquida que crean el movimiento de los sólidos dentro del biorreactor; que según EDWARDS *et al.*, (2002), pueden estar presente también una fase gaseosa la cual proporciona el sustrato gaseoso y/o generar el movimiento de la biopelícula, de modo que los contaminantes a ser degradados por la biopelícula deben estar presentes en la fase líquida. Manteniendo la biomasa en suspensión constante en el sistema, es posible realizar comparaciones de eficiencia y capacidad de eliminación para diversos flujos de gas de alimentación al biorreactor y diferentes concentraciones de gases, de forma que se encuentre un valor óptimo de concentración de biomasa en el biorreactor que asegure elevadas eficiencias y capacidades de eliminación del contaminante.

El desempeño depende del tipo de contaminante tratado y sus concentraciones, así como también de los criterios de diseño. Cuando se encuentran los criterios óptimos de diseño y operación, los valores de remoción pueden llegar hasta 99% de eficiencia (BLENKLE *et al.*, 2002).

2.11. Topa (*Ochroma pyramidale*)

Es un elemento indicador de bosque alterado, ya sea en forma natural o por el hombre. Se localiza principalmente en elevaciones bajas o bajo-medianas con climas húmedos o muy húmedos. Es nativo de los trópicos de Sudamérica y Centroamérica. La madera por su suavidad y poca densidad es muy utilizada en la fabricación de cajas, flotadores, modelos de aeromodelismo, etc. El algodón que cubre sus semillas, es utilizado como relleno de colchones, almohadas, muebles, etc.

Es un árbol hasta de 30 m de altura. Hojas simples alternas, enteras de 3 a 5 lobuladas, de 10 a 40 cm de largo por 11 a 35 cm de ancho, flores solitarias. Pedicelos de 4 a 11 cm de largo, lóbulos del cáliz tomentosos, de 2.5 a 4 cm de largo. Pétalos blanquecinos, de 11 a 15 cm de largo. Columna estaminal cilíndrica, de 10 a 12 cm de largo. Frutos cápsulas, oblongo-fusiformes, de 16 a 25 cm de largo, dehiscentes por 5 valvas. Semillas numerosas, cubiertas por tricomas castaños (CASCANTE, 1999).

2.11.1. Lecho de madera y biopelículas

THONATHIUH, (2005). Sostiene que la presencia de biopelículas en maderas, generalmente está ligada a los cuerpos de agua, algunas suelen ser miembros dominantes de la comunidad del perifiton, y viven en sustratos sumergidos en la mayoría de ecosistemas acuáticos (COSTERNON, *et al.*, 1995). Los microorganismos que forman biopelículas sobre la madera reciben el nombre de Epixilon (WETZEL, 1975). Los productores primarios de mayor importancia, especialmente en pequeños arroyos, lo constituyen las algas diatomeas y otros productores microscópicos que conforman la biopelícula; se producen donde la luz, los nutrientes, y otras condiciones son adecuadas para su crecimiento. (ABUHATAB, 2011).

En la industria alimentaria es muy común la presencia de biopelículas en conducciones, equipos y materiales ya que pueden formarse en cualquier tipo de superficie, incluyendo plástico, cristal, madera, metal y sobre los alimentos (CHMIELEWSKY *et al.*, 2003). Puesto que estas formaciones pueden contener microorganismos patógenos y presentan una mayor resistencia a la desinfección, su presencia en estas superficies es la causa principal de contaminación del producto final que puede generar pérdidas económicas debidas tanto al necesario rechazo del producto como al desarrollo de enfermedades, si intervienen microorganismos patógenos (GONZALEZ, 2011), a este tipo de biopelículas perjudiciales se las conoce con el nombre de biodeterioro o biofouling (BETANCOUR *et al.*, 2004).

En los procesos de biofiltración los lechos más utilizados son el compost y la turba, aunque algunos autores añaden otros materiales como perlita y/o astillas de madera para intentar evitar los fenómenos de compactación del lecho (WANI *et al.*, 1999; LI *et al.*, 2003; JONES *et al.*, 2004). Kim *et al.* (2002) empleó dos biofiltros empaquetados uno con astillas de madera y otro con carbón activo granular. Alcanzando porcentajes de eliminación del 99% y 92% para el H₂S y NH₃ respectivamente. Empleando como inóculo *Thiobacillus thioparus* (ATCC 23645) para la eliminación de H₂S y un lodo activo como cultivo mixto de bacterias nitrificantes para el NH₃.

2.12. PVC flexible

El Policloruro de Vinilo o PVC, es una combinación química entre carbono, hidrógeno y cloro. Es un material termoplástico, es decir, que bajo la acción del calor se reblandece, y puede así moldearse fácilmente; al enfriarse recupera la consistencia inicial y conserva la nueva forma (EFS, 2011).

Presenta un peso molecular variable entre 0.650 a 1.348, así como una densidad entre 1.36 y 1.40 g/cm³, presenta una temperaturas de procesamiento de resina baja por tanto es procesada más fácilmente, las propiedades físicas en el producto terminado, tales como la tensión y la resistencia al rasgado, son pobres; en cambio el brillo y la capacidad de aceptar más carga son mejores y la fragilidad a baja temperatura es menor entre -35 °C a 60 °C (TRANSGLASS, 2009).

El PVC flexible es empleado en la fabricación de zapatos, tenis, sandalias, suelas, películas para forros de carpetas, cortinas para baño, cintas adhesivas, pañales, envolturas, empaques para alimentos, recubrimiento de cables, mangueras para jardín, mangueras de riego, recubrimientos de pisos, materiales médicos, etc.

2.12.1. Catéteres de PVC flexible y biopelículas

Las mangueras de los catéteres son elaborados con PVC flexible de grado médico y esterilizados con rayos gamma (PISA, 2011). La pared externa sirve de lecho físico para una proliferación bacteriana que se organiza en capas de biopelícula. Las bacterias se mantienen adheridas mediante elementos específicos como las fimbrias y también mediante mecanismos inespecíficos como la producción de glicocalix y películas biológicas. En éstas últimas, las bacterias están protegidas del arrastre de la fluidos orgánicos y posiblemente de la acción antibiótica, por tanto los catéteres de PVC parecen tener el mayor índice de adherencia demicroorganismos en comparación con los de Teflón MR, silicona o poliuretano (RUIZ, 2009).

Los agentes patógenos que forman biopelículas en los catéteres en las salas de los hospitales son *E.coli* (26%) *Enterococcosp.* (16%), *Pseudomona aeruginosa* (12%) *Klebsiella sp.* (12%), *Enterobacter sp.* (12%), *Candida sp.* (9%) y otros (13%). La formación de biopelículas en los mecanismos defensivos del huésped (paciente), neutralizan la propiedad anti adhesiva del

catéter, por lo que se incrementa la supervivencia y resistencia bacteriana, siendo necesario solicitar el respectivo cultivo de identificación para poder iniciar una terapia empírica (BISSO, 2007).

En estudios realizados por CERCADO, *et al.* (1999) y TOLEDO, *et al.* (2007), sobre la formación de biopelículas en lechos sintéticos, el PVC muestra una inferioridad en la ganancia de biomasa frente a la fibra de nylon, vidrio, acero y poliamida.

2.13. Arroz (*Oryza sativa*)

Oryza sativa, comúnmente llamado arroz, es una especie perteneciente a la familia de las gramíneas (Poáceas), cuyo fruto es comestible y constituye la base de la dieta de casi la mitad de la población mundial. El nutriente principal que lo compone es el hidratos de carbono, aunque también aporta proteínas (7%), minerales y en estado natural, bastantes vitaminas.

La producción mundial de arroz ha estado subiendo, desde los 200 millones de toneladas de arroz en 1960 a 600 millones de toneladas el 2004, siendo los tres productores más importantes fueron China (31 % de la producción mundial), India (20 %), e Indonesia (9 %), de los cuales el 32 % del peso corresponde a la cascarilla de arroz (UNTAD, 2005).

2.14. Cascarilla de arroz

La cascarilla es el elemento que acompaña a dicho grano hasta antes del proceso de secado y descascarillado. (PALACIO, 2005); siendo un subproducto de la industria molinera, que resulta abundantemente en las zonas arroceras de muchos países y que ofrece buenas propiedades para ser usado como sustrato. Entre sus principales propiedades físico - químicas tenemos que es un sustrato orgánico de baja tasa de descomposición, es liviano, de buen drenaje, buena aireación y su principal costo es el transporte. El principal inconveniente que presenta la cascarilla de arroz es su baja capacidad de retención de humedad y lo difícil que es lograr el reparto homogéneo de la misma (humectabilidad) cuando se usa como sustrato único (CALDERÓN, 2002).

La cascarilla de arroz es un tejido vegetal constituido por Celulosa y Sílice, elementos que ayudan a su buen rendimiento como combustible, presenta una gran variedad de características fisicoquímicas que es preciso estudiar, según la aplicación que se desee darle (USTIN, *et al.* 2007).

2.14.1. Propiedades fisicoquímicas de la cascarilla de arroz

La cascarilla tiene un aspecto parecido al de la paja, es muy ligera, con una humedad promedio es de 8 % y una densidad aparente 100 kg / cm^3 (PALACIO, 2005). Por lo que su composición típica obtenidos para el análisis

químico a nivel mundial corresponden a los siguientes: La celulosa 25.89 – 35.5 %; Hemicelulosa 18.1 % – 21.35 % y la Lignina 18.20 % – 24.6 %; en tanto que la composición elemental muestra los siguientes rangos de variabilidad para cada elemento: Carbono 37.6 %- 42.6 %; Hidrógeno 4.7 % – 5.78 %; Oxígeno 31.37 % – 37.62 %; Nitrógeno 0.38 % – 1.88 %; Azufre 0.01 % – 0.18 %; Cenizas 16.93 % – 24.6 %, con un poder calórico entre 13.24 - 14.22 Mj / Kg, de la cual el 89 % de las cenizas de la cascarilla de arroz son sílice (SiO_2) (FERNANDEZ, 2004).

2.14.2. Cascarilla de arroz y biopelículas

La cascarilla de arroz ha sido usada como sustrato agrícola en cultivos hidropónicos y en digestores de biogás, donde se reportó la formación de biopelículas múltiples, según el tipo de cultivo hidropónico, o variedad de cascarilla de arroz usada en el proceso de gasificación (CEBI, 2005).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

3.1.1. Ubicación política

El trabajo se desarrolló en el área de Biotecnología Ambiental del laboratorio de Microbiología General, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, políticamente ubicado en la ciudad de Tingo María, distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco.

3.1.2. Ubicación geográfica

Geográficamente el laboratorio de Microbiología General está ubicado en las coordenadas UTM (E: 390552 m. y N: 8970269 m.); a una altitud de 668 m.s.n.m. dentro del empalme Tingo María hoja 19-k de la Carta Nacional del Instituto Geográfico Nacional, correspondiente a la Región Selva, a la cual se accede por vía terrestre, por la carretera de Lima a Tingo María.

3.2. Unidades experimentales

3.2.1. Biopelículas bacterianas

Biopelículas bacterianas con capacidad de desulfurar el SO_2 .

3.2.2. Componentes químicos

SO_2 a concentraciones de 7.89 g/m^3 , 16.53 g/m^3 y 19.82 g/m^3 .

3.2.3. Lecho

Los lechos de PVC, aserrín de madera y cascarilla de arroz.

3.2.2. Aspectos ambientales

Ecológicamente de acuerdo a la clasificación de zonas de vida o formaciones vegetales del mundo y el diagrama bioclimático de HOLDRIDGE (1982), Tingo María se encuentra en la formación vegetal bosque muy húmedo Pre-montano Tropical bmh-PT, y de acuerdo a las regiones naturales del Perú corresponde a Rupa Rupa o Selva Alta. Hidrográficamente pertenece a la cuenca del río Huallaga; el comportamiento climático es variable, con una precipitación anual promedio de 3328.9 mm. Las mayores precipitaciones se producen entre los meses de septiembre a abril y alcanza un máximo extremo

en el mes de febrero con un promedio mensual de 608.4 mm. En los últimos años se han registrado los siguientes datos climatológicos (Estación meteorológica José Abelardo Quiñones, 2010):

Temperatura máxima	: 30.70 ° C
Temperatura mínima	: 18.90 ° C
Temperatura promedio	: 24.90 ° C
Humedad relativa promedio	: 86 %
Velocidad del viento máxima	: 22.2 m/s

3.3. Metodología experimental

3.3.1. Toma de muestras para el aislamiento de bacterias

Las muestras fueron tomadas de las coordenadas UTM correspondientes a la zona horaria 18 con datum WGS 84 como se señala en el Cuadro 6 (ANEXO H):

Cuadro 6. Puntos seleccionados para la colecta microbiológica

Punto de colecta	Tipo de muestra	E (m)	N (m)	Z (m.s.n.m.)
Aguas sulfurosas	Lodo	387176	8969134	682
Granja zotécnica	Lodo	390487	8970408	665
Botadero la Muyuna	Suelo	390307	8973910	652

- **Muestras de lodo**

La toma de muestras se realizó en Aguas Sulfurosas y en el Canal Efluente de la Granja Zootécnica, utilizando frascos de vidrio esterilizados, de boca ancha con capacidad de 1 litro debidamente limpio y rotulado. En cada punto de muestreo, se destapó el frasco, se enjuagó con agua de la misma fuente y enseguida se sumergió rápidamente a 20 cm de profundidad, dirigiendo la boca del frasco en sentido vertical sobre el fondo ejerciendo presión sobre el frasco para poder extraer las muestras de lodo. Se tomaron tres muestras en cada punto, se etiquetaron y adecuadamente trasladadas al laboratorio de microbiología general, sometiendo el lodo a secado a 105 °C por 8 horas (ISP, 2004).

- **Muestra de suelo**

Se extrajo de 300 g de suelo de un área de 30 x 30 cm con una profundidad de 5 cm, de tres zonas contiguas, se mezclaron para homogenización, y finalmente se extrajo una muestra de 300 g, que fue trasladada al laboratorio para su respectivo secado a 105 °C por 8 horas (ISP, 2004).

3.3.2. Preparación de medios de cultivo

3.3.2.1. Medio Mínimo de Sales (MMS)

Para la operación de biodesulfuración en biorreactores de lecho

fluidizado fijo invertido (LFFI) se preparó Medio Mínimo de Sales (MMS) como medio basal, que fue esterilizado a 121 °C por 15 minutos a 15 psi. Para ser agregado a los biorreactores en un volumen de 900 mL (ANEXO B).

3.3.2.2. Medios de aislamiento, selección y aclimatación

Para la etapa de aislamiento, selección y aclimatación de las bacterias a desarrollarse sobre sustratos azufrados, se prepararon los medios de BHI, medio CLED, Agar BREWER, Agar Actinomiceto, Agar Nutritivo y Agar Rosa de Bengala.

3.3.2.3. Sustrato fuente de carbono

Como sustrato carbonado se preparó solución glucosa al 1 % (1 g/100 mL).

3.3.3. Aislamiento y selección de bacterias

Se tomó 15 g de las muestras, de suelo y lodo seco, fueron diluidas decimalmente en caldo peptona, hasta la dilución 10^{-5} , sembrándose 1 mL por profundidad a su vez tanto en medio CLED, Agar Brewer, Agar Actinomiceto, Agar Nutritivo y Agar Rosa de Bengala para el proceso de aislamiento bacteriano, todas las placas fueron incubadas a temperatura ambiente en cámara de anaerobiosis por 24 horas. Las colonias desarrolladas fueron

seleccionadas repicándolas en medio CLED e incubadas a temperatura ambiente por 24 horas en anaerobiosis (LOPEZ, 2006).

3.3.4. Conservación de bacterias

Las colonias bacterianas seleccionadas desarrolladas sobre el medio CLED, se repicaron en su totalidad en 250 mL de caldo BHI e incubado a temperatura ambiente, en cámara de anaerobiosis por 24 horas y posteriormente conservado en refrigeración (4 °C a 8 °C) hasta la etapa de aclimatación-adaptación (LOPEZ, 2006).

3.3.5. Etapa de adaptación de las bacterias

Un mL de los cultivos de BHI con las bacterias conservadas en refrigeración, se repicaron en 50 mL. de medio mínimo de sales (MMS) con 1 % de glucosa más tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) como donador de azufre en concentraciones crecientes de 0.0004 g, 0.0008 g, 0.0016 g, 0.0032 g, 0.0064 g, 0.1 g, 0.5 g, y 1 g, con su respectivo control de MMS sin glucosa y sin tiosulfato, los cuales fueron incubados en anaerobiosis a temperatura ambiente por 24 horas, determinándose la concentración que ostentaba crecimiento más abundante (turbidez y formación de precipitado blanquecino). Esta concentración constituyó previo repique en medio BHI el cultivo madre de bacterias adaptadas al azufre, para los inóculos de los biorreactores.

3.3.6. Diseño y preparación de biorreactores LFFI

3.3.6.1. Componentes de los biorreactores

Los biorreactores LFFI utilizados para este trabajo fueron preparados en el laboratorio, y contaron con los siguientes componentes:

1. Un matraz de 500 mL. como depósito transitorio de SO_2 ,
2. Una cámara de cultivo cilíndrica de vidrio de 100 mm de diámetro 200 mm de altura, con un volumen de 1,000 mL
3. Un lecho según la serie: de PVC, cascarilla de cereal y aserrín de madera,
4. Un trípode,
5. Frascos de 250 mL como trampa de sólidos
6. Bandeja de plástico de 1,000 mL como contenedor de enfriamiento del frasco trampa para sólidos y del medio mínimo de sales,
7. Una bomba compresora para recircular tanto el gas contaminante (SO_2) como el medio mínimo de sales (ANEXO I).

Los biorreactores fueron esterilizados al vapor de agua (cámara de cultivo y frascos anexos) utilizando el autoclave a 121 °C (15 psi) por 15 minutos, y los accesorios como válvulas, conectores, mangueras y tapas del biorreactor se esterilizaron por sumersión en solución alcohol-ácida al 1 % (etanol más ácido clorhídrico) por 24 horas (LOPEZ, 1998; MIRANDA *et al.*, 2006).

3.3.6.2. Preparación de lechos

Los lechos fueron preparados en el laboratorio, para los tres tipos distintos de lechos (madera, PVC y cascarilla), consistieron, en dos láminas plásticas circulares con agujeros radiales equidistantes de 4 mm de diámetro, y un agujero central de 1 cm. de diámetro, en el cual se insertaba un perno de pulgada y media, con su respectiva contratuerca y tuerca tipo mariposa, el lecho contó con un envoltorio de gasa, y un espesor de 2.5 cm de ancho.

Los lechos de madera y cascarilla fueron previamente tamizados, (2 mm y 3.15 mm), posteriormente lavados y esterilizados en autoclave, mientras que el lecho de PVC se obtuvo al cortar mangueras de venoclinis en trocitos de 5 mm de largo, y esterilizados en solución alcohol- ácido por 24 horas.

3.3.7. Generación del SO₂ y entrada al biorreactor

El gas contaminante fue generado, mediante la quema directa de 1g, 2g y 3g de azufre elemental ($S + O_2 = SO_2$) en matraces de 500 mL con tapa rosca, y su concentración (7.89 g/m³, 16.53 g/m³ y 19.82 g/m³) determinada mediante la generación de su respectiva curva de combustión (Figura 16 del ANEXO C) para luego ser insuflado al sistema mediante una bomba de inmersión.

3.3.8. Operación en biorreactores LFFI

Los inóculos tomados de las bacterias seleccionadas en la etapa de adaptación, en una cantidad del 5 % (45 mL) del volumen total del medio de operación en los biorreactores (900 mL de MMS), y Glucosa al 1 % como sustrato carbonado, se adicionaron a los biorreactores, y se dio inicio a la operación en blanco (sin SO₂) por 48 horas, para facilitar la propagación de los microorganismos en el medio y su adhesión sobre los respectivos lechos.

Posteriormente se abrió el frasco de depósito del gas contaminante y se dejó entrar al sistema por la parte superior del biorreactor las concentraciones generadas de SO₂ (7.89 g/m³, 16.53 g/m³ ó 19.82 g/m³), que por recirculación a flujo fijo establecido (1.50796×10^{-7} m³/s) permitió la formación de biopelículas en los lechos y reducción del gas.

3.4. Datos a registrar

3.4.1. Cinética del biorreactor

– Caudal de ingreso y salida de SO₂

La caudal de ingreso del SO₂ se mantuvo constante en 1.50796×10^{-7} m³/s, mediante el manejo de las válvulas a la entrada y salida del biorreactor.

– **Temperatura**

La temperatura se mantuvo ambientalmente constante en 25°C, mediante la adición periódica de hielo al interior del contenedor de enfriamiento del biorreactor.

– **Presión**

Se consideró ambientalmente constante en 707 mmHg (13.67 psi, 0.93 atm, 0.09 MPa).

3.4.2. Parámetros de control

– **Concentración de SO₂**

Se determinó indirectamente por diferencia de concentración del SO₂ inyectado inicialmente a cada tratamiento, menos el equivalente estequiométrico del sulfato, (Determinación de Sulfatos por espectrofotometría, Método ASTM D 516 –90) un efluente de 30 mL extraído de cada biorreactor, fue centrifugado a 5,000 rpm por 20 minutos, e inmediatamente leído a 420 nm en espectrofotómetro LV-UV (ANEXO A).

– **Biomasa en lecho**

Se evaluó en la fracción de peso en gramos (g) ganado por los lechos después de los 7 días de iniciada la operación.

$$\Delta B_s = W_{fs} - W_{is}$$

Dónde: ΔB_s = Variación de biomasa en lecho

W_{fs} = Peso final del lecho (g)

W_{is} = Peso inicial del lecho (g)

– **Biomasa suspendida (plantónica)**

La biomasa bacteriana plantónica en los biorreactores, se determinó a los 4 y 7 días de iniciada la operación en el biorreactor, realizando recuentos en placa con previas diluciones con siembras en medio Plate Count incubados en anaerobiosis a temperatura ambiental. Los resultados se expresaron en células por gramo (cél/g).

– **pH**

La determinación del pH se realizó con la ayuda de un pH-metro (EXTECH) debidamente calibrado (Método N° 11,032 de la AOAC, 2003), y se midió al final de la operación del biorreactor.

– **Eficiencia de biodesulfuración**

Se calculó mediante una correlación porcentual entre la concentración inicial y final de SO_2 presente en cada biorreactor, según el tratamiento del mismo, mediante la siguiente fórmula:

$$E_{bd} = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) * 100$$

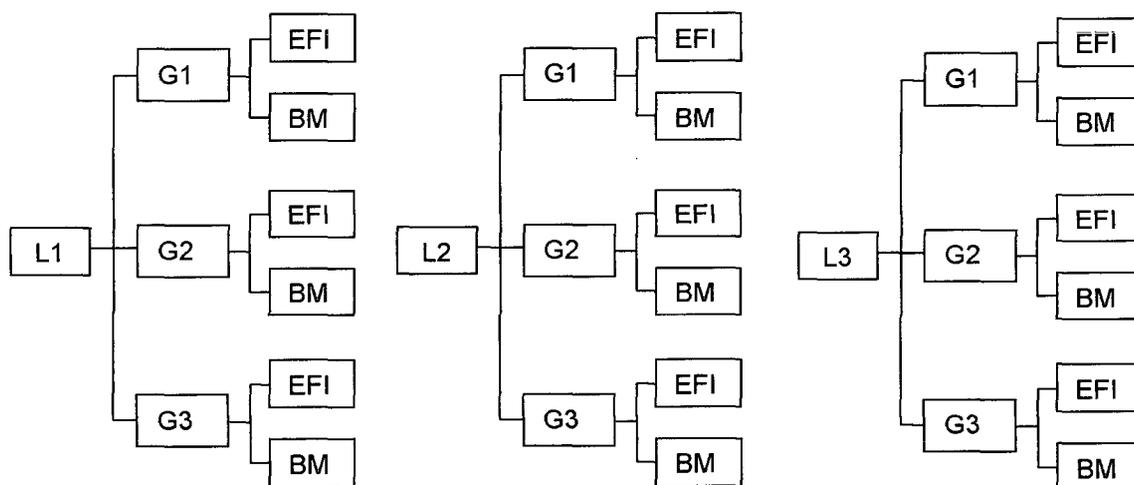
Dónde: E_{bd} = eficiencia de biodesulfuración (%)

C_i = Concentración inicial de SO_2 (g/m^3)

C_f = Concentración final de SO_2 (g/m^3).

3.5. Diseño experimental

Se adaptó un diseño experimental con estímulo creciente, en el cual se trabajó tres tipos de lecho (L1: partículas de PVC, L2: cascarilla de cereal y L3: aserrín de madera), con tres concentraciones de gas (G1: 7.89 g/m^3 , G2: 16.53 g/m^3 y G3: 19.82 g/m^3), con un tipo de inóculo y con tres repeticiones, de modo que se evaluó la eficiencia de biodesulfuración (EFI) y el consecuente incremento de la biomasa (BM), según el siguiente esquema:



Leyenda:

[L1]: Lecho de partículas de PVC, [L2]: Lecho de cascarilla de cereal, [L3] Lecho de aserrín, [G1]: Concentración de SO_2 de 7.89 g/m^3 , [G2]: Concentración de SO_2 de 16.53 g/m^3 , [G3]: Concentración de SO_2 de 19.82 g/m^3 , [EFI]: Eficiencia de biodesulfuración, [BM]: Incremento de biomasa

Figura 3. Diseño experimental.

3.5.1. Tratamientos en estudio

Los tratamientos en estudio utilizados fueron los siguientes:

Cuadro 7. Descripción de los tratamientos estudiados.

Tratamiento	Tipo lecho	Concentración de SO ₂ (g/m ³)	Inoculo (% VT)	Repeticiones
T1	L1	7.89	5	3
T2	L1	16.53	5	3
T3	L1	19.82	5	3
T4	L2	7.89	5	3
T5	L2	16.53	5	3
T6	L2	19.82	5	3
T7	L3	7.89	5	3
T8	L3	16.53	5	3
T9	L3	19.82	5	3

3.5.2. Variables

3.5.2.1. Variables dependientes

Entre las variables dependientes evaluadas tenemos:

- Biomasa bacteriana (BM)
- Eficiencia de biodesulfuración (EFI).

3.5.2.2. Variables independientes

Entre las variables independientes evaluadas tenemos:

- Concentración de SO₂ (G1, G2, G3)
- Tipo de lecho (L1, L2, L3)

3.6. Análisis estadístico

3.6.1. Análisis de varianza (ANOVA)

Se distribuyeron las variables estadísticas y tratamientos de acuerdo al diseño experimental se utilizó el modelo estadístico completamente al azar (DCA) con arreglo 3 x 3 x 2 con tres repeticiones, utilizando el programa Statgraphics centurión XV.II en español, para un nivel de significación del 5%.

Cuadro 8. Análisis de Variancia (ANOVA)

Fuente de variación	GL	SC	CM	Fc	Signif
Tratamientos	t – 1	ST- e	SCtrat/GLtrat	CMtrat/CMe	Fc > Ft
Error	t(r-1)	SCT-SCtrat	SCerror/GLe		
TOTAL	t.r-1				

3.6.2. Prueba de múltiple rangos de diferencia francamente significativa de Tukey (HSD Tukey)

Se empleó la Diferencia Francamente Significativa de Tukey (HSD - Tukey) a fin de determinar entre que tratamientos había diferencias significativas, para un nivel de significación del 5%, utilizando el programa Statgraphics centurión XV.II en español.

IV. RESULTADOS

4.1. Concentración de biomasa suspendida (Planctónica)

Se evaluó la biomasa en suspensión dentro de los biorreactores, para los diferentes tipos de lecho, teniéndose los datos registrados como se indica en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Promedio de biomasa suspendida ($\times 10^6$ m.o./mL) en biodesulfuración en biorreactores LFFI

Lecho	Días	Concentración de contaminante (g/m^3)		
		7.89	16.53	19.82
PVC	0	244.500	244.500	244.500
	4	97.650	140.200	40.450
	7	417.800	336.033	177.883
Cascarilla	0	663.300	663.300	663.300
	4	353.175	327.050	233.125
	7	778.500	1250.100	732.275
Madera	0	472.600	472.600	472.600
	4	386.225	60.625	179.775
	7	513.075	46.416	20.400

En la Figura 4 (datos tomados del Cuadro 9) se presenta la variación de la biomasa suspendida, determinada a los 4 y 7 días de iniciarse el proceso debiodesulfuración a distintas concentraciones de SO_2 y diferente tipo de lecho.

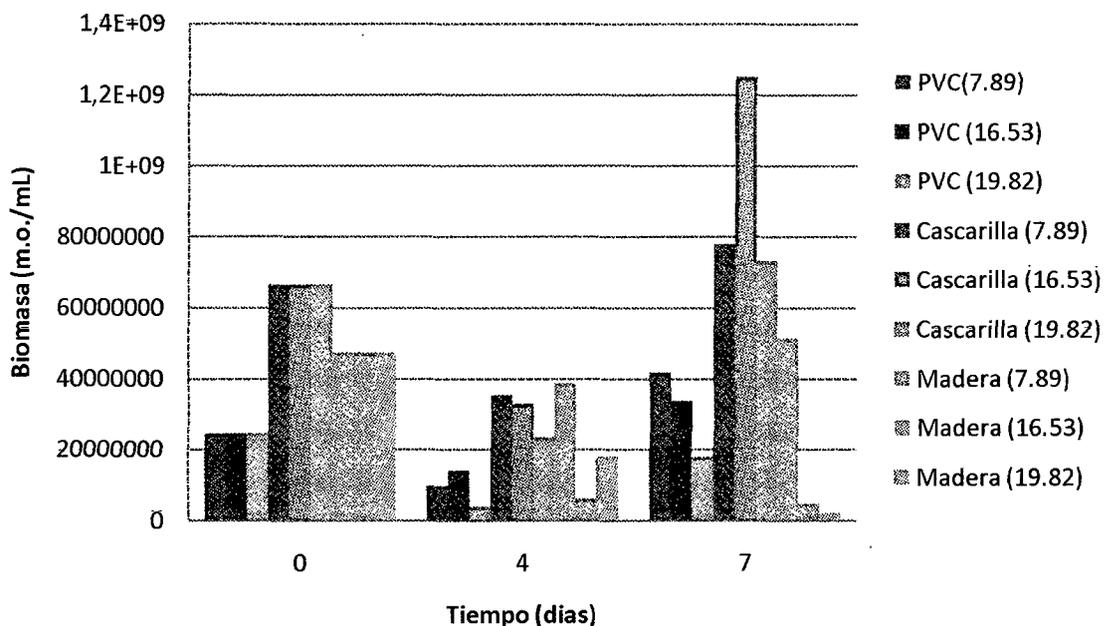


Figura 4. Variación de la biomasa suspendida (m.o./mL.) durante 7 días de operación en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lecho.

Se puede observar que en los tres tipos de lecho para la concentración 7.89 g/m^3 de SO_2 , la biomasa suspendida presentó una disminución a los 4 días y un incremento considerable, por encima de la carga microbiana inicial (inóculo) a los 7 días de la operación, siendo el lecho de cascarilla el que presentó las mayores cargas y el lecho de PVC las menores, como se muestra en la Figura 5 (datos tomados del Cuadro 9).

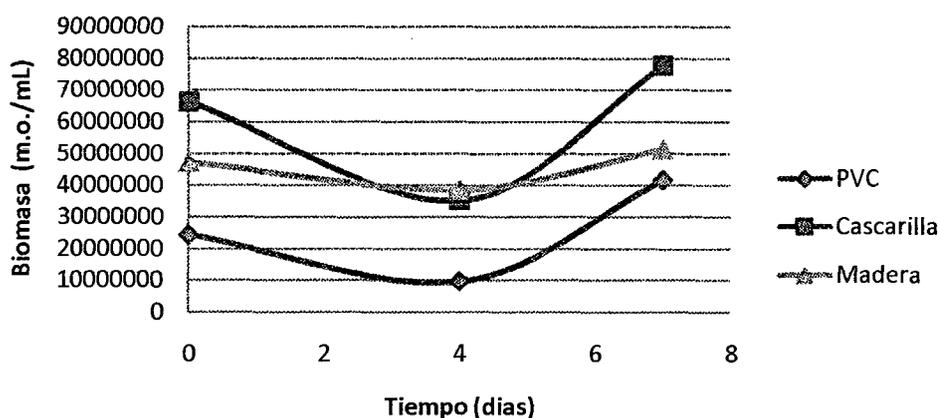


Figura 5. Biomasa suspendida (m.o./mL) en biodesulfuración de 7.89 g/m^3 de SO_2 en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lecho.

En la concentración 16.53 g/m^3 de SO_2 solo el lecho de madera presentó una notoria disminución de la biomasa suspendida en relación al inóculo inicial, en tanto que los otros dos lechos mostraron un ligero desarrollo bacteriano (PVC) y un franco incremento (cascarilla) a 7 días de la operación (Figura 6) (datos tomados del Cuadro 9).

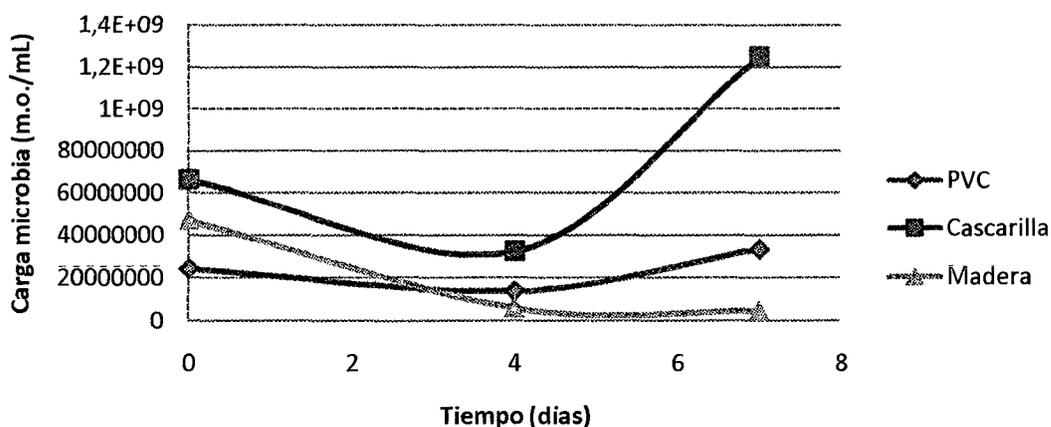


Figura 6. Biomasa suspendida (m.o./mL) en biodesulfuración de 16.53 g/m^3 de SO_2 en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lechos.

En la concentración de 19.82 g/m^3 la concentración celular suspendida en el biorreactor con lecho de madera, muestra una tendencia decreciente a cifras bastante menores, a las del lecho de PVC que presentó un incremento ligero a los 7 días, en tanto que el lecho de cascarilla se obtuvieron cifras mayores a la del inoculo inicial (Figura 7, cuyos datos fueron tomados del Cuadro 9).

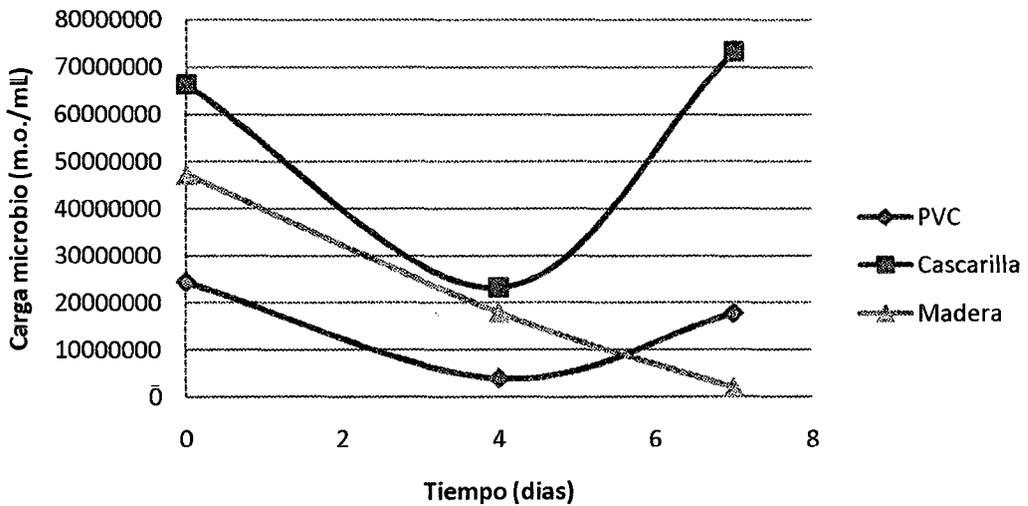


Figura 7. Biomasa suspendida (m.o./mL) en biodesulfuración de 19.82 g/m^3 de SO_2 en biorreactores LFFI para los diferentes tipos de lechos.

El análisis de varianza para los promedios de biomasa suspendida encontrada al finalizar la operación de biodesulfuración en biorreactores LFFI, (Cuadro 10 y Figura 8), muestra que existe significancia estadística entre la concentración de SO_2 y el tipo de lecho sobre la carga microbiana final en suspensión, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 10. ANOVA para promedios de biomasa suspendida en relación a la concentración de SO_2 (g/mL) y tipos de lecho.

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: SO_2	3.68417E17	2	1.84208E17	3.56	0.0459
B:Lecho	2.7421E18	2	1.37105E18	26.46	0.0000
Residuos	1.13991E18	22	5.18142E16		
TOTAL	4.25043E18	26			

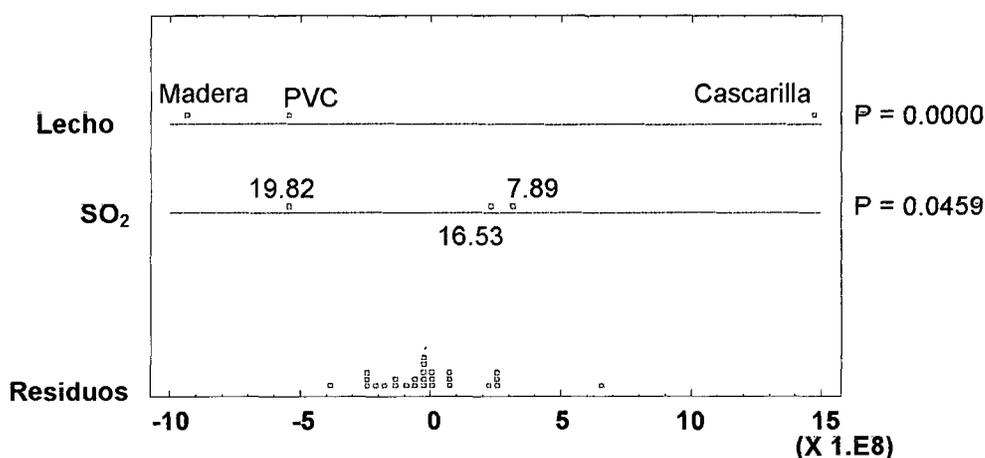


Figura 8. ANOVA gráfico para la biomasa suspendida

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia de las distintas concentraciones de SO_2 (g/m^3) sobre la carga microbiana suspendida fue homogénea (Cuadro 11).

Cuadro 11. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para biomasa suspendida según la concentración de SO₂ (g/m³).

SO ₂	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
19.82	9	3.10186E8	7.58758E7	X
16.53	9	5.44183E8	7.58758E7	X
7.89	9	5.69792E8	7.58758E7	X

Por tanto como se muestra en el Cuadro 12 hay un riesgo del 5% al decir que no hay diferencias significativas entre la biomasa suspendida a diferentes concentraciones de SO₂.

Cuadro 12. Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO₂ (g/m³) para la biomasa suspendida, según HSD Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
7.89 – 16.53	-	2.56083E7	2.69653E8
7.89 – 19.82	-	2.59606E8	2.69653E8
16.53 – 19.82	-	2.33997E8	2.69653E8

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la influencia del tipo de lecho sobre la carga microbiana suspendida fue heterogénea solamente para el lecho cascarilla como se muestra en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para biomasa suspendida según el tipo de lecho.

Lecho	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Madera	9	1.93297E8	7.58758E7	X
PVC	9	3.10572E8	7.58758E7	X
Cascarilla	9	9.20292E8	7.58758E7	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 14 hay un riesgo del 5% al decir que hay diferencias significativas en la carga microbiana final al comparar el lecho de cascarilla con los otros lechos en el proceso de biodesulfuración.

Cuadro 14. Significancia comparativa entre lechos, para la biomasa suspendida final, según HSD de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Cascarilla - Madera	*	7.26994E8	2.69653E8
Cascarilla - PVC	*	6.09719E8	2.69653E8
Madera - PVC	-	-1.17275E8	2.69653E8

(* Indica una diferencia significativa).

4.2. Determinación del pH

En el Cuadro 15 y Figura 9 se muestra la variación del pH en función de la carga de SO₂ a tratar y el tipo de lecho, en los que se muestra una tendencia hacia la acidificación del medio mínimo de sales.

Cuadro 15. Análisis promedio de la variación del pH

Lecho	SO ₂ (g/m ³)		
	7.89	16.53	19.82
PVC	6.08	6.18	6.01
Cascarilla	6.12	5.59	5.09
Madera	4.55	3.95	3.74

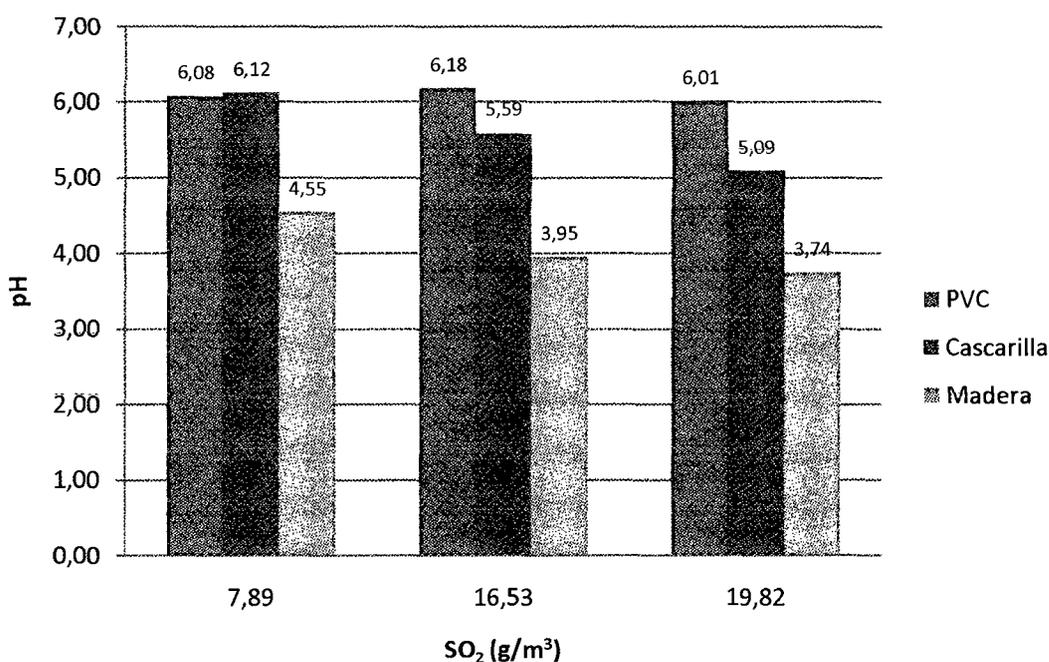


Figura 9. Variación del pH para las diferentes concentraciones de SO₂ (g/m³), según el tipo de lecho

En el Cuadro 16 y Figura 10 se muestra el ANOVA con los valores-P que prueban la significancia estadística de la concentración de SO₂ y del tipo de lecho sobre los valores de pH final, mostrando valores-P menores que 0,05, por tanto tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el pH final con un 95,0% de nivel de confianza.

Cuadro 16. Análisis de Varianza del pH para los tratamientos con SO₂ (g/mL.) y los lechos

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:SO ₂	1.81509	2	0.907544	13.14	0.0002
B:Lecho	19.7718	2	9.8859	143.13	0.0000
RESIDUOS	1.51958	22	0.0690717		
TOTAL	23.1065	26			

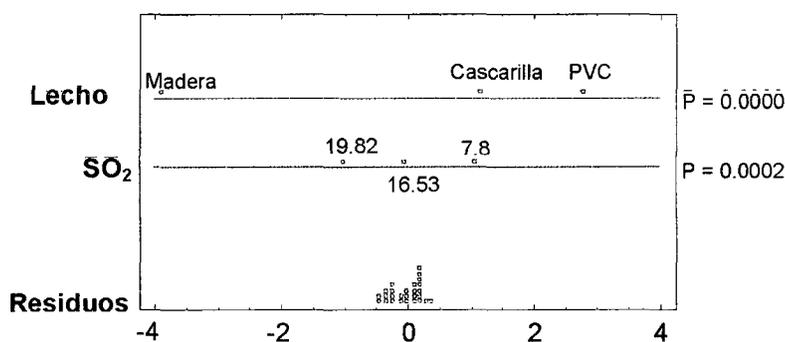


Figura 10. ANOVA grafico para el pH

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia de las distintas concentraciones de SO₂ (g/m³) sobre las lecturas finales de pH fue heterogénea para una concentración de 7.89g/m³ de SO₂ como se muestra en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para el pH según la concentración inicial de SO₂ (g/m³)

SO ₂	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
19.82	9	4.94667	0.087605	X
16.53	9	5.23889	0.087605	X
7.89	9	5.58111	0.087605	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 18 hay un riesgo del 5% al decir que hay diferencias significativas en la lectura de pH final al comparar las concentraciones de 7.89 g/m³ de SO₂ respecto a las otras concentraciones.

Cuadro 18. Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO₂ (g/m³) para el pH, según la prueba H.D.S. de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
7.89 - 16.53	*	0.342222	0.311337
7.89 - 19.82	*	0.634444	0.311337
16.53 - 19.82	-	0.292222	0.311337

(* Indica una diferencia significativa).

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia del tipo de lecho sobre las lecturas finales de pH fue completamente heterogénea, como se muestra en el Cuadro 19.

Cuadro 19. Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para el pH según el tipo de lecho.

Lecho	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Madera	9	4.07889	0.087605	X
Cascarilla	9	5.59889	0.087605	X
PVC	9	6.08889	0.087605	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 20 hay un riesgo del 5% al decir que hay diferencias significativas en la lectura de pH final al comparar todos los distintos tipos de lecho.

Cuadro 20. Significancia comparativa entre diferentes tipos de lecho, para el pH, según la prueba H.D.S. de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Cascarilla - Madera	*	1.52	0.311337
Cascarilla - PVC	*	-0.49	0.311337
Madera - PVC	*	-2.01	0.311337

(* Indica una diferencia significativa.)

4.3. Biomasa sedentaria (biopelícula)

En el Cuadro 21 y Figura 11 se muestra la variación de la biomasa en función de la concentración de SO₂ y el tipo de lecho, en los que se muestra

una tendencia hacia el incremento de la biomasa, siendo mayor en el lecho de madera.

Cuadro 21. Ganancia de biomasa (g) según el tipo de lecho.

Lecho	SO ₂ (g/m ³)		
	7.89	16.53	19.82
PVC	0.1494	0.1557	0.1591
Cascarilla	0.0776	0.2000	0.3188
Madera	0.4446	0.5166	0.5950

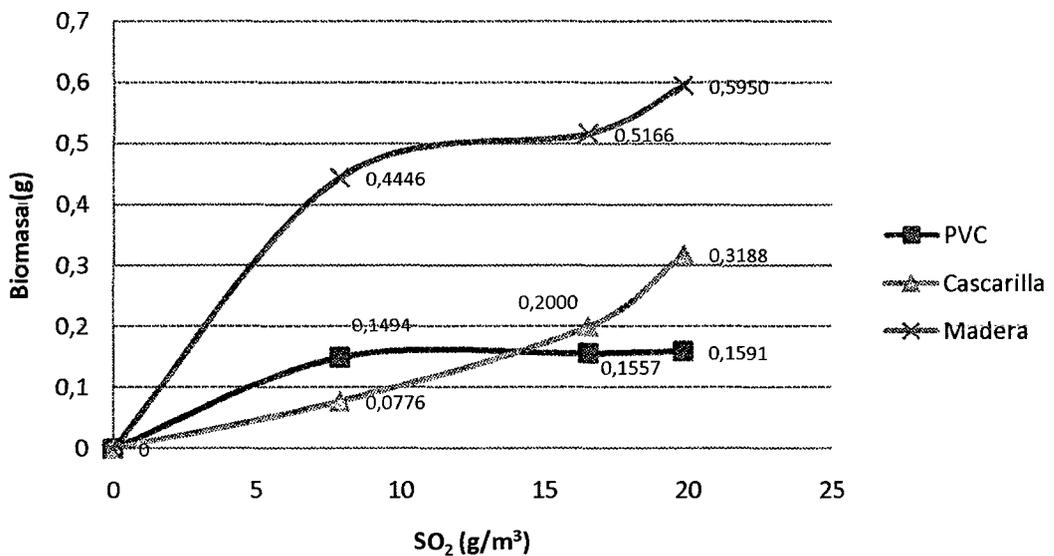


Figura 11. Variación de la biomasa (g) para las diferentes concentraciones de SO₂ (g/m³) según el tipo de lecho.

El ANOVA (Cuadro 22 y Figura 12) que prueban la significancia estadística de la concentración de SO₂ y del tipo de lecho sobre la ganancia final de biomasa (g), muestra valores-P menores que 0.05, por tanto tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la ganancia de biomasa final con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 22. Análisis de Varianza de la biomasa para los tratamientos con SO₂ (g/mL.) y los lechos

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:SO ₂	0.0813407	2	0.0406704	9.33	0.0012
B:Lecho	0.704319	2	0.352159	80.77	0.0000
Residuos	0.0959259	22	0.00436027		
TOTAL	0.881585	26			

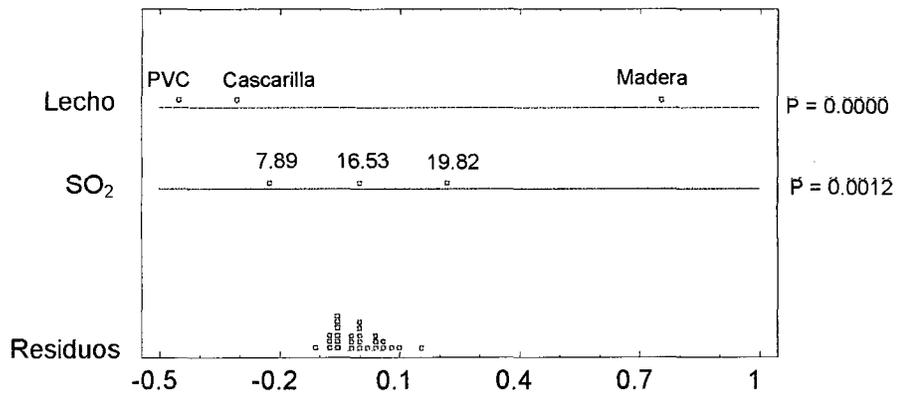


Figura 12. ANOVA grafico para la biomasa.

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia de las distintas concentraciones de SO₂ (g/m³) sobre la ganancia final de biomasa en los lechos fue heterogénea (Cuadro 23).

Cuadro 23. Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la Biomasa según la concentración inicial de SO_2 (g/m^3).

SO₂	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
7.89	9	0.223333	0.0220108	X
16.53	9	0.291111	0.0220108	X X
19.82	9	0.357778	0.0220108	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 24 hay un riesgo del 5% al decir que hay diferencias significativas en la ganancia de biomasa final (g) entre las concentraciones de $7.89 \text{ g}/\text{m}^3$ y $19.82 \text{ g}/\text{m}^3$ de SO_2 respecto a las otras concentraciones.

Cuadro 24. Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO_2 (g/m^3) para la biomasa, según la prueba H.D.S. de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
7.89 – 16.53	-	-0.0677778	0.0782235
7.89 – 19.82	*	-0.134444	0.0782235
16.53 – 19.82	-	-0.0666667	0.0782235

(* Indica una diferencia significativa).

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia del tipo de lecho sobre la ganancia final de biomasa (g) fue heterogénea respecto al lecho de madera como se muestra en el Cuadro 25.

Cuadro 25. Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la biomasa, según el tipo de lecho

Lecho	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
PVC	9	0.155556	0.0220108	X
Cascarilla	9	0.198889	0.0220108	X
Madera	9	0.517778	0.0220108	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 26 hay un riesgo del 5% al decir que hay diferencias significativas en la ganancia final de biomasa respecto al lecho de madera, frente a los otros tipos de lecho.

Cuadro 26. Significancia comparativa entre diferentes tipos de lecho, para la biomasa, según la prueba H.D.S. de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Cascarilla - Madera	*	-0.318889	0.0782235
Cascarilla - PVC	-	0.0433333	0.0782235
Madera - PVC	*	0.362222	0.0782235

(* Indica una diferencia significativa).

4.4. Eficiencia de biodesulfuración

El proceso de biodesulfuración realizado, reportó que el tratamiento de SO₂ con distintos tipos de lecho, no reduce la concentración de la misma por debajo de la normatividad ambiental vigente (ECA-Aire), como se muestra en el Cuadro 27 y 28.

Cuadro 27. Análisis promedio del SO₂ (g/mL) residual no biodesulfurado y el cumplimiento del ECA- Aire

Lecho	SO ₂ (g/m ³)			ECA SO ₂ (g/m ³)	Cumplimiento
	7.89	16.53	19.82		
PVC	0.27	7.14	10.95	0.00008	No
Cascarilla	0.69	4.81	10.78	0.00008	No
Madera	0.59	6.14	8.23	0.00008	No

Fuente: Según (DS-3-2008-MINAM).

Cuadro 28. Análisis promedio del SO₂ (g/mL) residual no biodesulfurado y el cumplimiento del LMP- Industria siderúrgica

SO ₂ (g/m ³)	Lecho			LMP SO ₂ (g/m ³)	Cumplimiento
	PVC	Cascarilla	Madera		
7.89	0.27	0.69	0.59	0.75	Si
16.53	7.14	4.81	6.14	0.75	No
19.82	10.95	10.78	8.23	0.75	No

Fuente: Según (DS -057-2009- MINAM).

La cantidad de gas residual, no biodesulfurado, fue mucho mayor a una concentración de 19.82 g/m³ de SO₂, en cambio se expresó una mayor capacidad biodesulfurante para una concentración menor (7.89 g/m³ y 16.53 g/m³) y por ende un menor porcentaje de biodesulfuración, llegando hasta el 44.4 % como biodesulfuración mínima, y 96.5 % como máxima, para el lecho de PVC, como se detalla en las Figuras 13, 14 y Cuadro 29.

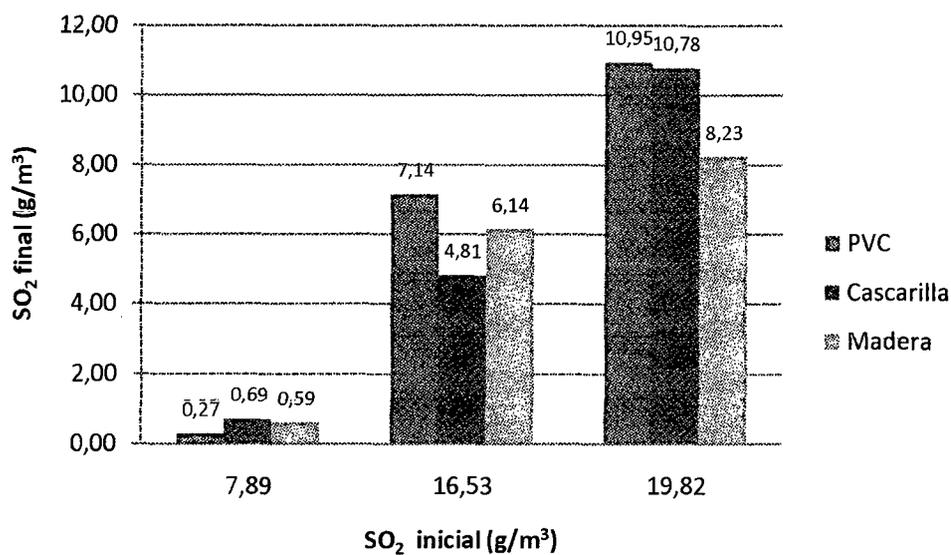


Figura 13. Variación promedio de la concentración final del SO₂ para los distintos tratamientos.

Cuadro 29. Análisis promedio de eficiencia de biodesulfuración (%)

Lecho	SO ₂ (g/m ³)		
	7.89	16.53	19.82
PVC	96.5	56.7	44.4
Cascarilla	91.2	70.8	45.3
Madera	92.5	62.7	58.2

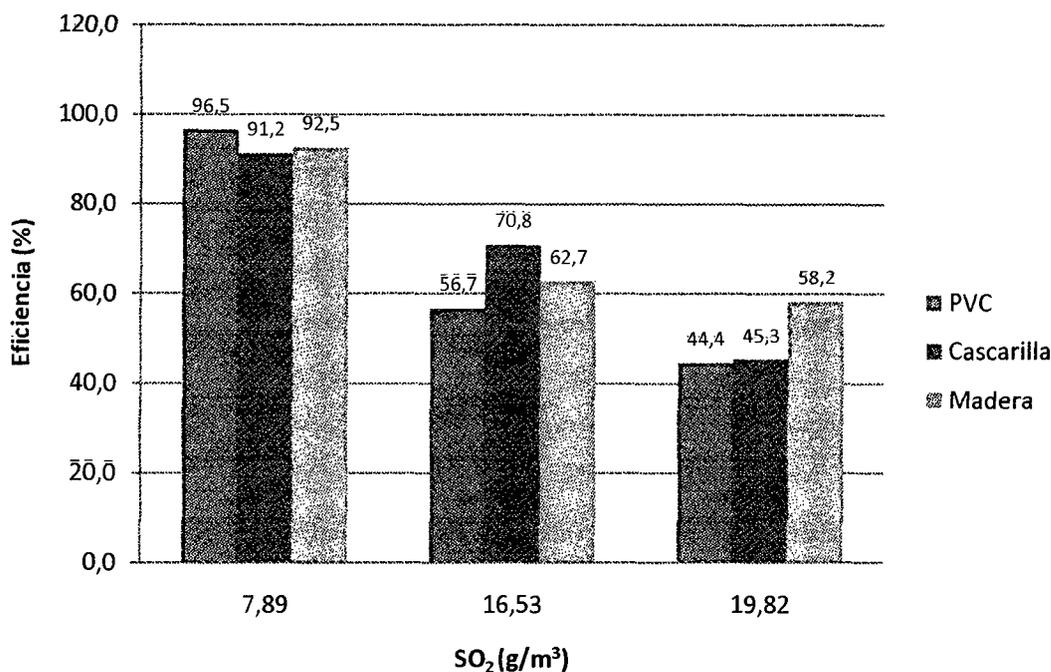


Figura 14. Variación de la eficiencia de biodesulfuración para las diferentes concentraciones de SO₂ (g/m³), según el tipo de lecho.

El ANOVA, del Cuadro 30 y Figura 15, los valores-P que prueban la significancia estadística de la concentración de SO₂ y del tipo de lechos sobre la eficiencia de biodesulfuración (%), muestra un valore-P menores que 0.05, para la concentración de SO₂ por tanto tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la eficiencia de biodesulfuración, con un 95.0% de nivel de confianza. Mientras que respecto al valore-P de los lechos fue superior a 0.05, por lo que no hay un efecto estadísticamente significativo sobre la eficiencia de biodesulfuración, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 30. Análisis de Varianza de la eficiencia de biodesulfuración para los tratamientos con SO₂ (g/mL) y los lechos

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:SO ₂	9134.53	2	4567.27	132.88	0.0000
B:Lecho	127.402	2	63.7008	1.85	0.1804
Residuos	756.183	22	34.372		
TOTAL	10018.1	26			

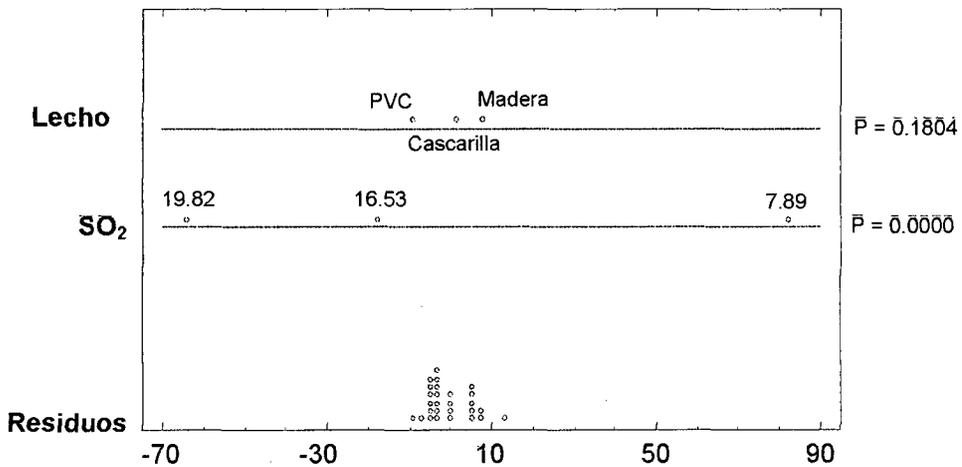


Figura 15. ANOVA grafico para la eficiencia de biodesulfuración.

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia de las distintas concentraciones de SO₂ (g/m³) sobre la eficiencia de biodesulfuración fue heterogénea, como se muestra en el Cuadro 31.

Cuadro 31. Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la eficiencia de biodesulfuración, según la concentración inicial de SO_2 (g/m^3).

SO_2	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
19.82	9	49.3156	1.95425	X
16.53	9	63.3978	1.95425	X
7.89	9	93.42	1.95425	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 32 hay un riesgo del 5% al decir que hay diferencias significativas en la eficiencia de biodesulfuración (%) para las distintas concentraciones de SO_2 (g/m^3).

Cuadro 32. Significancia comparativa entre diferentes concentraciones de SO_2 (g/m^3) para la eficiencia de biodesulfuración, según la prueba H.D.S. de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
7.89 – 16.53	*	30.0222	6.94517
7.89 – 19.82	*	44.1044	6.94517
16.53 – 19.82	*	14.0822	6.94517

(* Indica una diferencia significativa).

Se determinó mediante la prueba HSD de Tukey que la comparación de la influencia del tipo de lecho sobre la eficiencia de biodesulfuración (%) fue homogénea para los tres lechos como se muestra en el Cuadro 33.

Cuadro 33. Pruebas de Múltiple Rangos H.D.S. de Tukey para la eficiencia de biodesulfuración, según el tipo de lecho.

Lecho	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
PVC	9	65.8733	1.95425	X
Cascarilla	9	69.111	1.95425	X
Madera	9	71.1489	1.95425	X

En tanto que como se muestra en el Cuadro 34 hay un riesgo del 5% al decir que no hay diferencias significativas en la eficiencia de biodesulfuración respecto al uso de cualquiera de los lechos.

Cuadro 34. Significancia comparativa entre diferentes tipos de lecho, para la eficiencia de biodesulfuración, según la prueba H.D.S. de Tukey.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Cascarilla - Madera	-	-2.03778	6.94517
Cascarilla - PVC	-	3.23778	6.94517
Madera - PVC	-	5.27556	6.94517

(* Indica una diferencia significativa).

V. DISCUSIÓN

5.1. Incremento de biomasa en los biorreactores

5.1.1. Biomasa suspendida (Planctónica)

En los tratamientos en biorreactor con SO_2 como fuente de azufre tuvo un efecto significativo para la biomasa microbiana suspendida, como se muestra en el ANOVA del Cuadro 10, debido a una buena capacidad biodesulfurante y a la buena disolución del contaminante disponibles para el metabolismo de los microorganismos (CRESSON *et al.*, 2006).

Esto es comparable a las condiciones de trabajo con microorganismos biodesulfurantes mesofilos, reportado por varios autores para biorreactores anaerobios de tanque agitado (OHSHIRO *et al.*, 1999; H. DEL OLMO *et al.*, 2005; CARO, 2006), en donde alcanzaron un elevado grado de mezcla, estableciéndose condiciones de suspensión de biomasa de alta concentración (SETTI *et al.*, 1997; LE BORGNE, 2003; MARCELIS *et al.*, 2003).

Los trabajos con microorganismos mesofilos planctónicos, refieren que estos suelen adherirse a lechos, a modo de biofiltros, y que son las

bacterias mesofílicas, fisiológicamente activas entre 5 y 50 °C (con una temperatura óptima de alrededor de 37 °C) las que participan mayoritariamente en estos sistemas. Un incremento exagerado de la temperatura inhibe su actividad metabólica, llegando a ser mortal para las bacterias, siendo la temperatura óptima de operación de un biofiltro se encuentra entre 20 y 40 °C y es importante mantenerla para no afectar el hábitat de los microorganismos sino también porque altas temperaturas disminuyen la solubilidad de los gases en el agua; es decir habría poca disponibilidad del contaminante y por ende una baja eficiencia de remoción (ASTRID, 2007), por lo que en el presente trabajo la estructura de enfriamiento y trampa de sólidos mantuvo la temperatura del biorreactor a niveles ambientalmente adecuados para organismos mesofilos; y al realizarse la comparación respectiva de los efectos de las distintas concentraciones de SO₂ sobre la carga microbiana suspendida, no se reportó significancia alguna (prueba H.D.S. de Tukey, Cuadro 12), sino que fue influenciada significativamente por el tipo de lecho (Cuadro 13 y 14).

La acción de los microorganismos tanto en suspensión como en biopelículas solamente se da al entrar en contacto con el contaminante al ser biodegradados en la fase líquida; fundamentando la biodesulfuración encontrada en este estudio, tal y como lo afirma EDWARDS *et al.*, (2002) quienes determinaron que manteniendo la biomasa en suspensión constante en el sistema, es posible realizar comparaciones de eficiencia y capacidad de eliminación para diversos flujos de gas de alimentación al biorreactor y diferentes concentraciones de gases, de forma que se encuentre

un valor óptimo de concentración de biomasa en el biorreactor que asegure elevadas eficiencias y capacidades de eliminación del contaminante.

5.1.2. Biomasa sedentaria

En los tratamientos el incremento de biomasa sedentaria en los lechos estuvo ligado directamente a la formación de biopelícula sobre el lecho a los 7 días de operación, teniéndose una diferencia significativa (Cuadros 22,23,24,25,26 y Figura 12) entre el lecho de madera que presentó la mayor ganancia de biomasa, equivalente a 0.595 g. y la ganancia mínima de biomasa, correspondiente al lecho de PVC que apenas alcanzó 0.1591 g, quedando el lecho de cascarilla de arroz con una biomasa intermedia de 0.3188 g (Cuadro 21 y Figura 11). Al respecto los autores como FLETCHER *et al.* (1979); PRINGLE *et al.* (1983) y BENDINGER *et al.* (1993) atribuyen que los microorganismos pueden adherirse más rápidamente a las superficies hidrófobas, no polares, tales como el teflón y otros plásticos así como también a materiales hidrofílicos, como vidrio o metales y suelen estar facilitadas por estructuras celulares de colonización como fimbrias, flagelos y la formación gradual de exopolisacarido (EPS) que limitan la velocidad y el grado de unión de las células microbianas a un determinado lecho tal y como sostiene ROSENBERG *et al.* (1986). Teniéndose que para los distintos lechos en estudio las células móviles se colocaron más rápidamente y en mayor número, en contra del sentido del flujo coincidiendo con lo sostenido por KORBBER *et al.* (1989), siendo más notorio en el lecho de madera; por lo que si se tuviese un

flujo constante del sustrato y nutrientes, se produciría un crecimiento exponencial de los microorganismos, que suele ser controlado desde el exterior para mantener la biopelícula en un estado estacionario, mediante la limitación de un componente; por ejemplo, los nutrientes (nitrógeno y fósforo), o extraer la biomasa producida continuamente como refiere KORBER *et al.* (1989).

Por otra parte, los reactores fluidificados han mostrado buenos resultados en relación a una biopelícula delgada con una alta actividad específica (CHAN CHOI *et al.*, 1995; BUFFIÈRE *et al.*, 2000), dado que la biomasa no es siempre un indicativo de la actividad de la biopelícula: se ha reportado una menor Capacidad de eliminación global (CE) a mayor biomasa (OSTLIE, 1998). Por ello el análisis estadístico de la concentración de SO₂ mostro significancia en el ANOVA respecto a la ganancia de biomasa de los lechos (Cuadro 22, Figura 12), específicamente al comparar las concentraciones extremas de 7.89 g/m³ y 19.82 g/m³ de SO₂ (prueba H.D.S. de Tukey, Cuadro 24), en tanto que la concentración de 16.53 g/m³ fue no significativa respecto a los demás lechos, pues la ganancia de biomasa en los lechos no presento incrementos bruscos por la concentración de SO₂ (Figura 11).

5.2. Eficiencia de biodesulfuración

Dado que el tiempo medio de permanencia del SO₂ en la atmósfera es de unos 3 - 5 días (CES, 2005); se determinó un periodo de BDS en reactor

por 7 días, pues este tipo de tratamiento de gases ha demostrado ser un método efectivo y económico, para trabajar con bajas concentraciones de contaminantes ($< 5 \text{ g/m}^3$) y bajas temperaturas ($15 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$) ofreciendo altas eficiencias de eliminación ($> 90\%$), bajos costos de capital inicial y de operación (GARNIER, *et al.*, 2001). Puesto que todos los tratamientos trabajaron con concentraciones por encima de 5 g/m^3 se obtuvo una eficiencia máxima de BDS de 96.5%, para el lecho de PVC, y una concentración inicial de 7.89 g/m^3 de SO_2 (Cuadro 29 y Figura 14), pudiendo depender el desempeño de BDS, del tipo de contaminante tratado y sus concentraciones, así como también de los criterios de diseño del biorreactor (BLENKLE *et al.*, 2002), la actividad de la biopelícula formada sobre el lecho, la capacidad de eliminación global (CE) del biofiltro (ACUÑA, *et al.* 1999), la porosidad de los lechos y la heterogeneidad de la película, hasta que se encuentren los criterios óptimos de diseño y operación, los valores de remoción pueden llegar hasta 99% de eficiencia (BLENKLE *et al.*, 2002); ya que en el presente trabajo solo se evaluaron algunos de los parámetros anteriormente mencionados el ANOVA demostró que solamente la concentración del contaminante (SO_2) tiene una influencia significativa sobre la eficiencia de biodesulfuración, siendo indiferente al tipo de lecho usado (Cuadro 30 y Figura 15); esto se reafirma con el respectivo análisis comparativo (prueba H.D.S. de Tukey, (Cuadros 31 y 32) que determino una diferencia significativa para las tres concentraciones de SO_2 en tratamiento, lo contrario sucede con el análisis estadístico realizado respecto al tipo de lecho donde se reportó homogeneidad para los valores

medios de los lechos, y ninguna diferencia significativa entre los mismos (Cuadro 33 y 34).

Considerando que todas las concentraciones de trabajo estuvieron muy por encima de la concentración mínima letal en el aire para exposiciones máximas de un minuto a 1.049 g/m^3 (DGSPSSA, 2007.) el proceso de BDS logro que la máxima eficiencia de biodesulfuración de 96.5% al reducir la concentración de 7.89 g/m^3 de SO_2 a 0.27 g/m^3 (Cuadro 29 y Figura 14), llegando a cumplir apenas con el LMP para industria siderúrgica (EL PERUANO, 2009) en los tres tipos de lecho usados a 7.89g/m^3 , puesto que a concentraciones mayores se incumple con dicha normativa; en tanto que no se logró cumplir en la totalidad de los tratamientos con el ECA respectivo para el SO_2 (EL PERUANO, 2008).

Con lo que se confirma lo sostenido por EUETI, (2009) sobre los procesos de biodesulfuración son medidas secundarias de desulfuración de los gases pues las velocidades de conversión no resultan aceptables desde el punto de vista industrial, por lo que la biodesulfuración debe ser considerada como una tecnología complementaria a otros procesos, disminuyendo el contenido en azufre a los niveles legislados posterior a otros tratamientos de remoción de azufre.

5.3. Lechos en el proceso de biodesulfuración

Actualmente en los procesos de biofiltración los lechos más utilizados son el compost y la turba, aunque algunos autores añaden otros materiales como perlita, astillas de madera, cascarilla de arroz, esferas de polietileno, que le dan una mayor porosidad al lecho y le permiten evitar los fenómenos de compactación del lecho y caídas bruscas de la presión (WANI *et al.*, 1999; LI *et al.*, 2003; JONES *et al.*, 2004), por ello la selección de un material filtrante tiene varios criterios, como el tamaño de partícula, distribución y estructura de los poros ya que debe proveer una alta área superficial para la población microbiana (NICOLELLA *et al.*, 2000), que influyen fundamentalmente en la formación de la biopelícula y se reflejaron en el pH como indicador de la actividad microbiana, de modo que el ANOVA efectuado para las lecturas de pH final fueron significativas, tanto para los distintos lechos como para las concentraciones de SO₂ (Cuadro 16 y Figura 10), mientras que los resultados de la prueba H.D.S. de Tukey los grupos fueron completamente heterogéneos y la diferencia comparativa entre lechos fue significativa (cuadro 19 y 20).

Respecto a la carga microbiana suspendida final, el ANOVA la influencia del tipo de lecho fue significativo (Cuadro 10 y Figura 8), en tanto que la prueba H.D.S. de Tukey los tratamientos por lecho fueron heterogéneos, y significativamente diferenciados respecto al lecho de cascarilla (Cuadro 13 y 14).

El tipo de lecho tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la ganancia de biomasa de los lechos (g) conforme al ANOVA realizado (Cuadro 22 y Figura 12), mientras que mediante la prueba H.D.S. de Tukey se determinó la heterogeneidad y diferencia significativa para el lecho de madera, respecto a los demás lechos (Cuadro 25 y 26).

En tanto que la influencia directa del tipo de lecho sobre la eficiencia de biodesulfuración, no fue significativa según el ANOVA (Cuadro 30 y Figura 15), ya que hay similitud entre las medias de los datos, refiriendo una homogeneidad de los mismos (Cuadro 33 y 34).

5.3.1. Lecho de madera

Puesto que en los trabajos en biorreactor la madera cumple función de aditivo para intentar evitar los fenómenos compactación del lecho (WANI *et al.*, 1999; LI *et al.*, 2003; JONES *et al.*, 2004), siendo estudiado también por los problemas que genera en las superficies a modo de biofouling (BETANCOUR *et al.*, 2004).

Por tanto los estudios realizados en laboratorio demostraron que el uso de la madera como lecho presentó el mayor porcentaje de biodesulfuración a 19.82 g/m^3 , la concentración más alta de SO_2 en tratamiento, alcanzando un 58.2% de biodesulfuración (Cuadro 29 y Figura 14); además acumuló la mayor cantidad de biomasa en el lecho, y alcanzó una capacidad biodesulfurante intermedia respecto al PVC y la cascarilla, pero presenta los valores de pH más

ácidos de hasta 3.74, que incrementarían los costos para la neutralización de los efluentes ácidos de la biorreacción (Cuadro 15, Figura 9), en tanto que la carga microbiana en suspensión para el lecho de madera, tuvo una tendencia decreciente a medida que se evaluó a concentraciones altas de SO_2 (Cuadro 9 y Figura 4), pero presentó una mayor cantidad de biomasa adherida a los lechos (Cuadro 21 y Figura 11), lo que indica que es un lecho adecuado para la formación más rápida de biopelículas, pero por cortos periodos de tiempo, pues presenta la tendencia de obstruirse más rápidamente.

5.3.2. Lecho de PVC

Los estudios realizados de los catéteres de PVC están relacionados mayoritariamente con casos médicos, como los realizados por RUIZ (2009), que demostró que los catéteres de PVC tienen un mayor índice de adherencia de microorganismos en comparación con estructuras de silicona y poliuretano; en tanto que estudios realizados por CERCADO. *et al.* (1999) y TOLEDO, *et al.* (2007), indican que el PVC muestra una inferioridad en la ganancia de biomasa frente a la fibra de nylon, vidrio, acero y poliamida.

En el presente estudio el lecho de PVC presentó el porcentaje más alto de biodesulfuración (96%), para la concentración más baja de SO_2 , en tratamiento (7.89 g/m^3), puesto que en concentraciones más altas de SO_2 , su eficiencia de biodesulfuración fue la más baja de todos los tratamientos, llegando hasta una concentración de 44.4 %, para 19.82 g/m^3 de SO_2 tratado

(Cuadro 29 y Figura 14). Además este lecho no presentó una tendencia de acidificación extrema, pues el pH solo descendió hasta 6.01 (Cuadro 15 y Figura 9).

En tanto que la carga microbiana suspendida (m.o./mL) presentó una tendencia descendiente al tratar concentraciones más altas de SO_2 (Cuadro 9 y Figura 4), mientras que su carga de biomasa se mantuvo estable para las distintas concentraciones de SO_2 (Cuadro 21 y Figura 11), siendo inferior a la biomasa ganada por los lechos de madera y cascarilla de arroz, por lo tanto el PVC demostró ser el más adecuado para trabajar a concentraciones bajas de hasta 7.89 g/m^3 de SO_2 .

5.3.3. Lecho de cascarilla de arroz

Los estudios en cascarilla de arroz están relacionados con la formación de biopelículas múltiples, en cultivo hidropónico, que usan como lecho a la cascarilla, además como fuente energética indirecta para la obtención de biogás, asimismo por quema directa como refieren los estudios realizados por CEBI (2005); mientras que su uso en biorreactor está limitado a ser un aditivo de control de porosidad en lechos mixtos (WANI *et al.*, 1999; LI *et al.*, 2003; JONES *et al.*, 2004).

En tanto los resultados del presente trabajo para la cascarilla de arroz presentó una eficiencia de biodesulfuración baja de 91.2 % para la concentración baja (7.89 g/m^3), con tendencia al descenso a medida que se

incrementa la concentración de SO_2 , pero es la más eficiente a concentración media de 16.53 g/m^3 , alcanzando una eficiencia de biodesulfuración de 70.8 % (Cuadro 29 y Figura 14).

En tanto que la carga microbiana suspendida (m.o./mL) presento una tendencia variable, alcanzando su punto más bajo de biodesulfuración a 16.53 g/m^3 , y su pico más alto a 19.82 g/m^3 de SO_2 (Cuadro 9 y Figura 4). En tanto que la ganancia de biomasa en el lecho presento una tendencia al crecimiento lenta para las distintas concentraciones de SO_2 , y numéricamente similares a las del PVC (Cuadro 21 y Figura 11); el pH presenta una tendencia al descenso, llegando hasta 5.09 en la concentración más alta de 19.82 g/m^3 de SO_2 (Cuadro 15 y Figura 9). Siendo de este modo el lecho más adecuado para concentraciones medias de 16.53 g/m^3 de SO_2 .

VI. CONCLUSIONES

1. A 7.89 g/m^3 de SO_2 en tratamiento se consiguieron las mayores eficiencias de biodesulfuración, siendo el más eficiente el lecho de PVC (96.5 %), seguido por el lecho de madera (92.5%) y el lecho de cascarilla de arroz (91.2 %) respectivamente.

2. La mayor biomasa suspendida se presentó en el lecho de cascarilla de arroz ($663.3 \times 10^6 \text{ m.o./mL}$) seguido de los lechos de madera ($513.075 \times 10^6 \text{ mo/mL}$), y PVC ($417.800 \times 10^6 \text{ mo/mL}$) consecutivamente para la concentración de SO_2 en la que se consiguió la mayor eficiencia (7.89 g/m^3 de SO_2).

3. La mayor biomasa sedentaria se presentó en el lecho de madera (0.4446 g) seguido de los lechos de PVC (0.1494 g), y cascarilla de arroz (0.0776 g) consecutivamente para la concentración de SO_2 en la que se consiguió la mayor eficiencia (7.89 g/m^3 de SO_2).

4. El lecho más adecuado parabiodesulfurar SO_2 a escala de laboratorio en reactores de Lecho Fijo Fluidizado Invertido (LFFI) en el que se alcanzó la más altas eficiencias de biodesulfuración (7.89 g/m^3 de SO_2) es el

lecho de PVC, puesto que con él se alcanzó el más alto nivel de biodesulfuración (96.5%), la más baja ganancia de biomasa suspendida (417.800×10^6 mo/mL), una ganancia intermedia de biomasa sedentaria (0.1494 g) y la menor disminución del pH (6.08) respecto a los demás lechos, después de los 7 días de operación.

VII. RECOMENDACIONES

1. Trabajar con concentraciones por debajo de 8 g/m^3 de SO_2 para obtener eficiencias de biodesulfuración por encima del 90%.
2. Probar con otros tipos de lechos o con combinaciones de lechos de origen orgánico que logren eficiencias equivalentes o superiores de biodesulfuración.
3. Tener en cuenta la influencia de otros parámetros no evaluados en el presente estudio, tales como: el espesor del lecho, área superficial e hidrofovidad de los lechos.
4. Identificar y caracterizar los microorganismos que en consorcio biodesulfuraron el SO_2 .

VIII. ABSTRACT

This research evaluated the ability of removal of SO₂ to laboratory conditions using bacterial consortium formed by microorganisms extracted biodesulfurantes characteristic locations for the development of this type of microorganisms (sulphurous water playground, dump the animal husbandry and farm Muyuna the nails) adapting a increased stimulation experimental design, in which he worked for three types of bedding (PVC particles, rice husks and sawdust), with three gas concentrations (7.89 g/m³, 16.53 g/m³ and 19.82 g/m³), a type inoculum and three repetitions, so that biodesulfuration evaluated the efficiency of the fixed biomass increase, plankton biomass and the change in pH during the seven days of biorreaction.

Thus it was determined that 7.89 g/m³ of SO₂ treatment achieved the highest efficiencies of 92.5% in biodesulfuration wooden support, 91.2% in support of husk and 96.5% in PVC support, the most efficient support PVC (96.5%), and obtained the largest plankton biomass in the bed of rice husks (663.3X10⁶ m.o./mL) while the highest biomass occurred in sedentary wooden bed (0.4446 g) it was concluded that the most suitable for SO₂ biodesulfurar laboratory scale fixed bed reactors Fluid Inverted (LFFI) is the support of PVC.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUHATAB, A. 2011. Actividad metabólica diaria del biofilm en el sector medio de un río de alta montaña (Río Tota, Boyaca - Colombia) Yaira. Bogotá, Colombia. 109 p.
- ACUÑA, M., PÉREZ, F., AURIA, R., REVAH, S. 1999. Microbiological and kinetic aspects of a biofilter for the removal of toluene from waste gases. 63p.
- ARREBOLA J.P.M., FERNÁNDEZ MONTERO A., LEÓN NAVARRO J. 2004. Aspectos Sanitarios de los óxidos de azufre como contaminantes atmosféricos. *Higiene y Sanidad Ambiental*. 4:106-113.
- ASTRID, A. 2007. Tratamiento biológico de compuestos orgánicos volátiles: dimensionamiento de un sistema de biofiltración de gases. Mexico, Mexico. 8 p.
- ATSDR. 1998. Resumen de salud pública Anhidrido Sulfuroso CAS#: 7446-09-5. Estados Unidos. 7p.
- BENDINGER, B., RIJNAARTS, H., ALTENDORF, K., ZEHNDER, A.1993. Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Appl. Environ Microbiol.* 77 p.

- BETANCOUR, M. 2004. Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. Colombia medica. VOLUMEN 35 N°3 (Supl 1), Cali, Colombia, 10 p.
- BISSO, A. 2007. Infecciones asociadas a catéteres, Lima, Perú, 46 p.
- BLENKLE, F., SMERT, D. 2002. Biotransformation of Aromatics Hydrocarbons. Material for distribution only to students. Biodegradation & Bioremediation. CE 320-01.
- BUFFIÈRE, P., MOLETTA, R. 2000. Relations between carbon removal rates, biofilm size and density of a novel anaerobic reactor: The inverse turbulent bed. Water Sci. Technol. 7 p.
- BULLITT, R., MAKOWSKI, L. 1995. Structural polymorphism of bacterial adhesion pili. *Nature*, 7 p.
- CALDERÓN, F. 2002. La cascarilla de arroz "caolinizada"; una alternativa para mejorar la retención de humedad como sustrato para cultivos hidropónicos. [En línea] <http://www.drcalderonlabs.com/index.html>. Bogotá, Colombia.
- CARO, A. 2006. Biodesulfuración de fracciones petrolíferas: tratamiento de dibenzotiofeno en distintas condiciones de operación; Universidad de Alcalá, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica e Ingeniería Química. Alcalá, España. 254 p.
- CASCANTE, A. 1999. Bombacaceae. Manual de las Plantas de Costa Rica. Missouri Botanical Garden-INBio. Costa Rica, 87p.
- CEBI. 2005. Balance de Ciencia y Técnica. Informe final. La Abana, Cuba. 73p.

- CELIS, L., VILLA, D., ALPUCHE, A., ORTEGA, B., RAZO, E. 2009. Characterization of sulfate-reducing bacteria dominated surface communities during start-up of a fluidized bed reactor. *Microbiol Biotechnol.* 10 p.
- CERCADO, B., MEZA, C., CÁRDENAS, B., AURIA, R., REVAH, S. 1999. Caracterización de biopelícula en soportes sintéticos. Oaxaca, México. 2 p.
- CES. 2005. Óxido de azufre. [En línea]: CES, (<http://ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol323a.htm>, energy, 14 Mar. 2011).
- CHAN CHOI, Y., SEOG KIM, D., JOO PARK, K., KOO SONG, S. 1995. Wastewater treatment in a pilot scale inverse fluidized bed biofilm reactor. *Biotechnol.Tech.* 5 p.
- CHANG, J., CHANG, Y., RYU, H., CHANG H. 2000. Desulfurization of light gas oil in immobilized-cell systems of *Gordona* sp. CYKS1 and *Nocardia* sp. CYKS2. *FEMS Microbiol.*p. 309-312.
- CHARACKLIS, W., MCFETERS, G., MARSHALL, K. 1990. Physiological ecology in biofilm systems. In: Characklis WG, Marshall KC, editors. *Biofilms*. New York, Estados Unidos. 94 p.
- CHMIELEWSKY, R., FRANK, J. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 32 p.
- COLINYAUX, P. 1995. Introducción a la Ecología. Editorial Limusa, S.A. Cuerna.Vaca. México.5 p.

- COSTERTON, J., LEWANDOWSKI, Z. 1995. Microbial films. *Microbiol.* 34 p.
- CRESSON R., CARRÈRE, H., DELGENÈS, J., BERNET, N., 2006. Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor- impact of nutrient complementation. *J. Biochem. Engin.* 7 p.
- DELHOMENIE, M., HEITZ, M. 2005. Biofiltration of air: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*. Estados Unidos. 53 p.
- DEVINNY, J., DESHUSSES, M., WEBSTER, T., 1999. *Biofiltration for Air Pollution Control*: Lewis Publishers. Estados Unidos. 7 p.
- DGSPSSA (DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA SERVICIO DE SANIDAD AMBIENTAL). 2007. *Riesgo Químico - Accidentes Graves: Dióxido de Azufre*. Murcia. España. 19 p.
- EDWARDS, S., SCHROEDER, C., MORTON R. 2002. Control of volatile organic compound emissions using a compost biofilter. *Biotechnology and Water Environmental Research*. N°65. p. 316-321.
- EFS. 2011. *Compuestos de PVC*. [En línea]. (<http://www.efsplasticos.cl/pag/compuesto-de-pvc.php>) 21 de Noviembre del 2011. Santiago, Chile.
- EL PERUANO. 2008. DS-003-2008-MINAM. *Aprueban estándares de calidad ambiental para el aire*. Lima, Perú. 2 p.
- EL PERUANO. 2009. DS-057-2009- MINAM, *Aprueban los Límites Máximos Permisibles (LMP) de Emisiones Atmosféricas y Efluentes Líquidos Para la Industria Siderúrgica*. Lima, Perú. 11 p.
- EUETI (ESCOLA UNIVERSITARIA DE ENXEÑERÍA TÉCNICA INDUSTRIAL). 2009. *Contaminación Atmosférica*. Almudena. España. 12 p.

- FERNANDEZ, B. 2004. Tesis de Maestría en Eficiencia Energética, CEEMA, UCF: Aerodinámica de la combustión con doble Turbolizador Estático. Pereira, España. 182 p.
- FLETCHER.M., LOEB, G.1979. Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. *Appl Environ Microbiol*, 72 p.
- FURUYA, T., TAKAHASHI, S., IWASAKI, I., ISHII, Y., KINO, K., KIRIMURA, K., 2005. Gene cloning and characterization of *Mycobacterium phlei* flavin reductase involved in DBT desulfurization. *J. Biosci. Bioeng.* p. 577-585.
- GALLARDO, M., FERRANDEZ, A., DE LORENZO, V., GARCIA, J., DIAZ, E. 1997. Designing recombinant *Pseudomonas* strains to enhance biodesulfurization. *J. Bacteriol.*, 179 p.
- GALLEGOS, M., CELIS, L., RANGEL, R., RAZO, E. 2009. Precipitation and recovery of metal sulfides from metal containing acid wastewater in a sulfidogenic down-flow fluidized bed reactor. *Biotechnol.Bioeng.* 8 p.
- GARNIER, V., FERNANDEZ, G. 2001. A study of clogging in a biofilter tracking toluene vapors, *Chem. Eng. Comm.*, Vol. 194(1), p. 35-45.
- GONZÁLEZ, S. 2011. Los biofilms y sus implicaciones en edafología y sanidad, Salamanca, España.96 p.
- GUOBIN, S., HUAIYING, Z., JIANMIN, X., GUO, C., WANGLIANG, L., HUIZHOU, L. 2006. Biodesulfurization of hydrodesulfurized diesel oil with *Pseudomonas delafieldii* R-8 from high density culture. *Biochem. Eng. J.*, 27 p.

- H. DEL OLMO, C., ALCON, A., SANTOS, V. E., GARCÍA-OCHOA, F. 2005. Modeling the production of a *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 biocatalyst for DBT biodesulfurization: Influence of media composition. *Enz. Microbiol. Technol.*, 37, p.157-166
- HAMADI, F., LATRACHE, H., MABRROUKI, M.2005. Effect of pH on distribution and adhesion of staphylococcus aureus to glass. *J. Adhesion Sci. Technol.*, Vol (19): 73-85 p.
- INE. 2010. Manual 1: principios de medición de la calidad del aire, Mexico D. F., Mexico. 43 p.
- ISP (INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA). 2004. Requerimientos de Toma de Muestras y Preservación: Líquidos, Sólidos, Gases, Materias Primas y Alimentos. Santiago, Chile. 11 p.
- IZUMI, Y., OHSHIRO, T., OGINO, H., HINE, Y., SHIMAO, M. 1994. Selective desulfurization of dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* D-1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, p. 223-226.
- JIA, X., WEN, J. SUN, Z., CAIYIN, Q., XIE, S. 2006. Modeling of DBT biodegradation behaviors by resting cells of *Gordonia* sp. WQ-01 and its mutant in oil-water dispersions. *Chem. Eng. Sci.*, 61 p.
- JONES, K., MARTINEZ, A., MAROO, K., DESHPANDE, S., BOSWELL, J. 2004. Kinetic Evaluation of H₂S and NH₃ Biofiltration for Two Media Used for Wastewater Lift Station Emissions. *Journal of the Air and Waste Management Association*. 11 p.

- KAUFMAN, E., HARKINS, J., RODRIGUEZ JR, M., TSOURIS, C., SELVARAJ, P., MURPHY, S. 1997. Development of an electro-spray bioreactor for crude oil processing. *Fuel Process Technol.*, 52 p.
- KAYSER K., BIELAGA-JONES B., JACKOWSKI, K., ODUSAN, O., KILBANE, J. 1993. Utilization of organosulfur compounds by axenic and mixed cultures of *Rhodococcus rhodochrous* IGTS8. *J. Gen. Microbiol.*, 139, p.
- KENNES, C., THALASSO, F. 1998. Waste gas biotreatment technology. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. Estados Unidos. 16 p.
- KERTÉSZ, R., SCHLOSSER, S., SIMO, M. 2004. Mass-transfer characteristics of a spiralchannel SLM module in extraction of phenylalanine, *Desalination*, p. 103 – 117.
- KILBANE, J. 2006. Microbial biocatalyst developments to upgrade fossil fuels. *Curr. Op. in Biotechnol.*, 17p.
- KIM, H., KIM, Y., CHUNG, J., XIE, Q. 2002. Long-term operation of a biofilter for simultaneous removal of H₂S and NH₃. *Journal of the Air & Waste Management Association*. 9 p.
- KIRIMURA, K., FURUYA, T., NISHII, Y., ISHII, Y., KINO, K., USAMI, S. 2001. Biodesulfurization of dibenzothiophene and its derivatives through the selective cleavage of carbon-sulfur bonds by moderately thermophilic bacterium *Bacillus subtilis* WU-S2B. *J. Biosc. Bioeng.*, 91p.
- KONISHI, J., ONAKA, T., ISHII, Y. AND SUZUKI, M., 2000. Demonstration of the carbon-sulfur bond targeted desulfurization of benzothiophene by

thermophilic *Paenibacillus* sp. starin A11-2 capable of desulfurizing dibenzothiophene. FEMS Microbiol.Lett.,187 p.

KORBER, D., LAWRENCE, J., SUTTON, B., CALDWELL, D. 1989. Effect of laminar flow velocity on the kinetics of surface recolonization by Mot+ and Mot- *Pseudomonas fluorescens*. 19 p.

LE BORGNE, S., QUINTERO, R. 2003. Biotechnological processes for the refining of petroleum. Fuel Process Technol., p. 155-169.

LI, H., MIHELICIC, J., CRITTENDEN, J., ANDERSON, K., 2003. Field Measurements and Modeling of Two - Stage Biofilter that Treats Odorous Sulfur Air Emissions. Journal of Environmental Engineering. Reston, United States. 129 p.

LÓPEZ, C. 1998. Transformación de tetracloroetano (TcCA) por biopelículas metilotróficas. Tesis Maestría en Biotecnología y Bioingeniería, Trujillo, Escuela de Postgrado, Sección de Postgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.

LÓPEZ, C., VIVAR, L., MAZABEL, C., GARCIA, R., SIAS, R. 2006. Biorremediación de contaminantes por fermentación sumergida utilizando biopelículas de microorganismos nativos de suelos tropicales de la zona de Tingo Maria. Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María- Perú

LUO, M., XING, J., GOU, Z., LI, S., LIU, H., CHEN, J., 2002. Desulfurization of dibenzothiophene by lyophilized cells of *Pseudomonas delafieldii* R-8 in the presence of dodecane. Biochem. Eng. J.,13 p.

- MAGHSOUDI, S., VOSSOUGH, M., KHEIROLOMOOM, A., TANAKA, E., KATOH, S. 2001. Biodesulfurization of hydrocarbons and diesel fuels by *Rhodococcus* sp. Strain P32C1. *Biochem. Eng. J.*, 8 p.
- MARCELIS, C., LEEUWEN, M. VAN, POLDERMAN, H., JANSSEN, A., LETTINGA, G. 2003. Model description of dibenzothiophene mass transfer in oil/water dispersions with respect to biodesulfurization. *Biochem.Eng. J.*, 16 p.
- MCFARLAND, B. 1999. Biodesulfurization. *Curr.Op. in Microbiology*, p. 257-264.
- MCFARLAND, B., BORON, D., DEEVER, W., MEYER, J., JOHNSON, A., ATLAS, R., 1998. Biocatalytic sulfur removal from fuels: applicability for producing low sulfur gasoline. *Crit. Rev. in Microbiol*, p. 99-147.
- MCLEOD, F., GUIOT, S., COSTERTON, J.W. 1990. Layered structure of bacterial produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 18 p.
- MIRANDA, H., ROBLES, H., VILLANUEVA, L., RODRIGUEZ, C. 2006. *Biorreactores, Diseño y Aplicaciones*, Sociedad Peruana de Biotecnología, Trujillo, Perú.
- MONTICELLO, D., FINNERTY, W. 1985. Microbial desulfurization of fossil fuels. *Ann.Rev.Microbiol.*, 39, 371-389.
- NICOLELLA, C., VAN, M., HEIJNEN, J. 2000. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *J. Biotechnol.* 33 p.

- ODA, S, OHTA, H., 2002. Biodesulfurization of dibenzothiophene with *Rhodococcus erythropolis* ATCC 53968 and its mutant in an interface bioreactor. *J. Biosci. Bioeng.*, 94 p.
- OHSHIRO, T., ISHII, Y., MATSUBARA, T., UEDA, K., IZUMI, Y., KINA, K., KIRIMURA, K. 2005. DBT desulfurizing enzymes from moderately thermophilic bacterium *Bacillus subtilis* WU-S2B: purification, characterization and overexpression. *J. Biosci. Bioeng.*, 100(3), 266-273.
- OHSHIRO, T., IZUMI, Y. 1999. Microbial desulfurization of organic sulfur compounds in petroleum. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63 p.
- OKADA, H., NOMURA, N., NAKAHARA, T., MARUHASHI, K. 2002. Analyses of substrate specificity of the desulfurizing bacterium *Mycobacterium* sp. G3. *J. Biosci. Bioeng.* 93 p.
- OLDFIELD, C., WOOD, N., GILBERT, S., MURRAY, F., FAURE, F.R. 1998. Desulfurisation of benzothiophene and dibenzothiophene by actinomicete organisms belonging to the genus *Rhodococcus*, and related taxa. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74 p.
- OLIVE, S., OOZAWA, Y., HIRATIA, K., WATANBE, Y. 2002. Relationship between population dynamics of nitrifiers in biofilm and reactor performance at various C:N ratios. *Wat. Sci. Technol.* 35 (6), p.91-99.
- OMORI, T., MONNA, L., SAIKI, Y., KODAMA, T. 1992. Desulfurization of dibenzothiophene by *Corynebacterium* sp. strain SY-1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 p.

- ONAKA, T., KOBAYASHI, M., ISHII, Y., OKUMURA, K., SUZUKI, M. 2000. Application of solid-phase extraction to the analysis of the isomers generated in biodesulfurization against methylated dibenzothiophenes. *J. Chromatography. A*, 903 p.
- OSAMU, Y., ISHII, Y., KOIZUMI, K., OSHIRO, T., IZUMI, Y., MARUHASHI, K., 2002. Enhancement and stabilization of desulfurization activity of *Rhodococcus erythropolis* KA2-5-1 by feeding ethanol and sulfur components. *J. Biosci. Bioeng.*, 94 p.
- OSTLIE, T. 1998. Filter-based trickle bed bioreactors for air purification. Estados Unidos. 23 p.
- PALACIO L. 2005. Caracterización de propiedades fluidodinámicas de lechos fluidizados en frío con mezclas de carbon-biomasas usadas en procesos de co-gasificación. Medellín, Colombia. 273 p.
- PISA. 2011. Vademécum equipos médicos y material de curación, Mexico, México. 154p.
- PRINGLE, J., FLETCHER, M. 1983. Influence of substratum wettability on attachment of freshwater bacteria to solid surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 17 p.
- RATHOR, A., ALVAREZ L. 2003. Aerobic Biostransformation of Gasoline Aromatics in Multi Component Mixtures, *Bioremediation Journal*: 4(1), p. 1-9.
- RCA. 2009. Eliminación biológica de nitrógeno en aguas residuales. Madrid, España. 12 p.

- ROSENBERG, M., BAYER, E., DELAREA, J., ROSENBERG, E. 1982. Role of thin fimbriae in adherence and growth of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 on hexadecane. *Appl Environ Microbiol.* 37 p.
- ROSENBERG, M., KJELLEBERG, S. 1986. Hydrophobic interactions in bacterial adhesion. *Advances in Microbial Ecology*, 93 p.
- RUIZ, E. 2009. Normas de prevención y control de infección, chaco, argentina. 166p.
- SETTI, L., LANZARINI G., PIFFERI P. 1997. Whole cell biocatalysis for an oil desulfurization process. *Fuel Process Technol.*, 52 p.
- SILVA, J. 1999. Influencia de la humedad y carga superficial en la eficiencia de remoción de H₂S en un biofiltro tipo compost. Universidad del Valle, Mexico, Mexico. 18 p.
- SMACM (Sistema de Monitoreo Atmosferico de la Ciudad de Mexico). 1993. Oxido de Azufre. [En línea]: SMA, (<http://www.sma.df.gob.mx/simat2/informaciontecnica/index.php?opcion=2&opcionmonitoreo=4>, Información, 18 Mar. 2011).
- STOODLEY, P., SAUER, K., DAVIES, D., COSTERTON, J. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Microbiol.* 22 p.
- THAUER, R., STACKEBRAND, E., HAMILTON, A. 2007. Energy metabolism and phylogenetic diversity of sulphate - reducing bacteria. Barton L.L. y Hamilton A. Sulphate-reducing bacteria: environmental and engineered systems. Cambridge University Press. 27 p.

- TOLEDO, A., GONZÁLEZ, A., REVAH, S. 2007. Inmovilización de bacterias alcalófilas sulfoxidantes sobre diferentes materiales de soporte. Iztapalapa. México. 1p.
- TONATIUH, J. 2005. Estructura y aspectos biotecnológicos de las comunidades acuáticas microbianas: biopelículas y tapetes microbianos, Iztapalapa, México. 9 p.
- TRANSGLOSS. 2009. PVC flexible. Asturias, España, 1p.
- UNTAD. 2005. todas las cifras UNTAD 1998-2002 and the International Rice Research Institute statistics
- USTIN, A., BIENVENIDO, G., SARRIA, L., MONTEAGUDO, J., 2007. Análisis comparativo de las características fisicoquímicas de la cascarilla de arroz. Cali Colombia 6 p.
- VAN GROENESTIJN, J., HESSELINK, P. 1993. Biotechniques for air pollution control. Biodegradation. Estados Unidos. 18 p.
- WANI, A., BRANION R., LAU, A., 1998. Effects of periods of starvation and fluctuating hydrogen sulfide concentration on biofilter dynamics and performance. Journal of Hazardous Materials 60 p.
- WETZEL, R. 1975. Limnology. Saunders. New York, Estados Unidos. 214 p.

X. ANEXOS

ANEXO A. Método de determinación de sulfatos ASTM D 516 – 90

1. Principios

La muestra es tratada con cloruro de bario, en medio ácido, formándose un precipitado blanco de sulfato de bario, se requiere de un solvente acondicionador, que contiene glicerina y alcohol, para modificar la viscosidad de la muestra y así permitir que el precipitado de BaSO_4 se mantenga en suspensión, produciendo valores de turbidez estables

La turbidez de este precipitado se mide en un espectrofotometro a una longitud de onda de 420 nm y con una celda de 1 cm.

2. Interferencias

En este método las principales interferencias son los sólidos suspendidos, materia orgánica y sílice, las cuales pueden ser eliminadas por filtración antes del análisis de sulfatos.

3. Aparatos

Cualquier espectrofotómetro que se pueda operar a una longitud de onda de 420 nanometros, con celdas de de 1 cm

4. Material

- 1 Matraz volumétrico de 1000 ml
- 6 matraces volumétricos de 100ml
- 7 Matraces Erlenmeyer de 125 ml
- 1 Cápsula de porcelana
- 1 Soporte con pinzas para bureta
- 1 Bureta de 25 ml
- 1 Pipeta de 5 y 10 ml.

5. Reactivos

5.1. Solución ácida acondicionadora

- Añadir 50 ml de glicerina a una solución que contenga:
- 30 mL de HCl concentrado.
- 300 mL de agua destilada.
- 100 mL de alcohol etílico.
- 75 g de cloruro de sodio.

5.2. Reactivo de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (tamaño de partícula: malla 20 a 30)

Se requieren 0.5 g de cristales para cada muestra.

5.3. Solución patrón de 100 ppm de SO_4^{2-}

Disolver 0.1479 g de Na_2SO_4 secados a 110°C durante 2 horas y aforar a 1000 ml.

6. Procedimiento

6.1 Curva de calibración de sulfatos

Preparar una curva de calibración con los siguientes puntos: 0, 5, 10, 15, 20 y 25 ppm de SO_4^{2-}

- Se colocan en 6 matraces volumétricos de 100 ml los siguientes volúmenes de solución estandar de 100 ppm de SO_4^{2-} : 0, 5, 10, 15, 20 y 25 ml, se afora con agua destilada hasta la marca.
- Añadir 1 ml de la solución ácida acondicionadora y mezclar bien
- Agregar 0.5 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- Agitar durante 1 minuto.

- Transferir la muestra a una celda de 1 cm del espectrofotómetro y leer la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm dentro de los 2 minutos siguientes.

6.2. Blanco

Preparar un blanco con agua destilada y reactivos y ajustar la absorbancia a un valor de 0.

6.3. Muestra

- Colocar 10 ml de la muestra de agua en un matraz Erlenmeyer de 50 ml.
- Añadir 1 ml de la solución ácida acondicionadora y mezclar bien
- Agregar 0.5 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- Agitar durante 1 minuto.
- Transferir la muestra a una celda de 1 cm del espectrofotómetro y leer la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm dentro de los 2 minutos siguientes.

De la curva de calibración: Obtenga las ppm de $\text{SO}_4^{=}$, de acuerdo con la lectura de absorbancia de la muestra.

En caso de utilizar diluciones, se multiplica por el factor de dilución correspondiente.

$$\text{Meq./L de } \text{SO}_4^{=} = \frac{\text{ppm} * \text{Dilucion}}{\text{PE del } \text{SO}_4^{=}}$$

PE : Peso equivalente del ión sulfato = 48.0 g

7. Precisión

En estudios efectuados entre laboratorios y utilizando una muestra sintética, se encontro una desviación estandar relativa de 9 % y un error relativo de 1.9 %

ANEXO B. Fórmula del Medio Mínimo de Sales (según Davis)

Cuadro 35. Formulación para 1L de medio mínimo de sales

Compuestos	Cantidad
fosfato de potasio dibasico	5.23 g/L
fosfato de potasio monobásico	1.91 g/L
sulfato de magnesio	0.09 g/L
sulfato de amonio	1 g/L
solución traza de elementos	1 ml/L

Cuadro 36. Formulación para 100 mL de solución traza de elementos

Compuestos	Cantidad
cloruro de cobalto	20 mg/L
ácido bórico	30 mg/L
sulfato de zinc	10 mg/L
sulfato de cobre	1 mg/L
molibdato de sodio	3 mg/L
sulfato de hierro	10 mg/L
sulfato de magnesio	2.6 mg/L
agua destilada	1000 ml

ANEXO C. producción de SO₂ por combustión directa de S

Cuadro 37. Producción de SO₂, por combustión directa de azufre

Muestra	W tubos(g)	WT +S (g)	S inicial (g)	WT +S final (g)	S final (g)	SO ₂ (g)
0	-	-	0	-	-	0
1	19,5026	19,603	0,1004	19,5965	0,0939	0,0065
2	18,9399	19,0897	0,1498	19,079	0,1391	0,0107
3	19,5482	19,7457	0,1975	19,7321	0,1839	0,0136
4	19,2199	19,468	0,2481	19,4528	0,2329	0,0152
5	20,2866	20,5874	0,3008	20,571	0,2844	0,0164
6	19,4965	19,8412	0,3447	19,8246	0,3281	0,0166

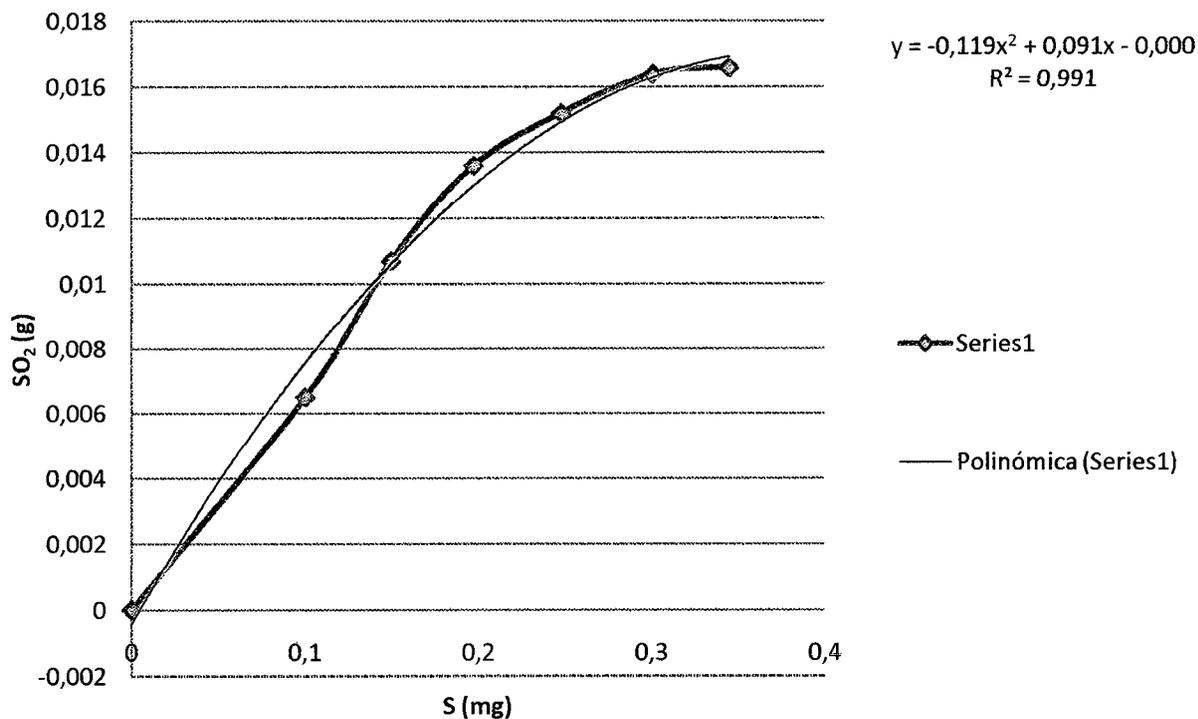


Figura 16. Curva de combustión para el SO₂

ANEXO D. Determinación de SO₂ para tratamientos con lecho de PVC

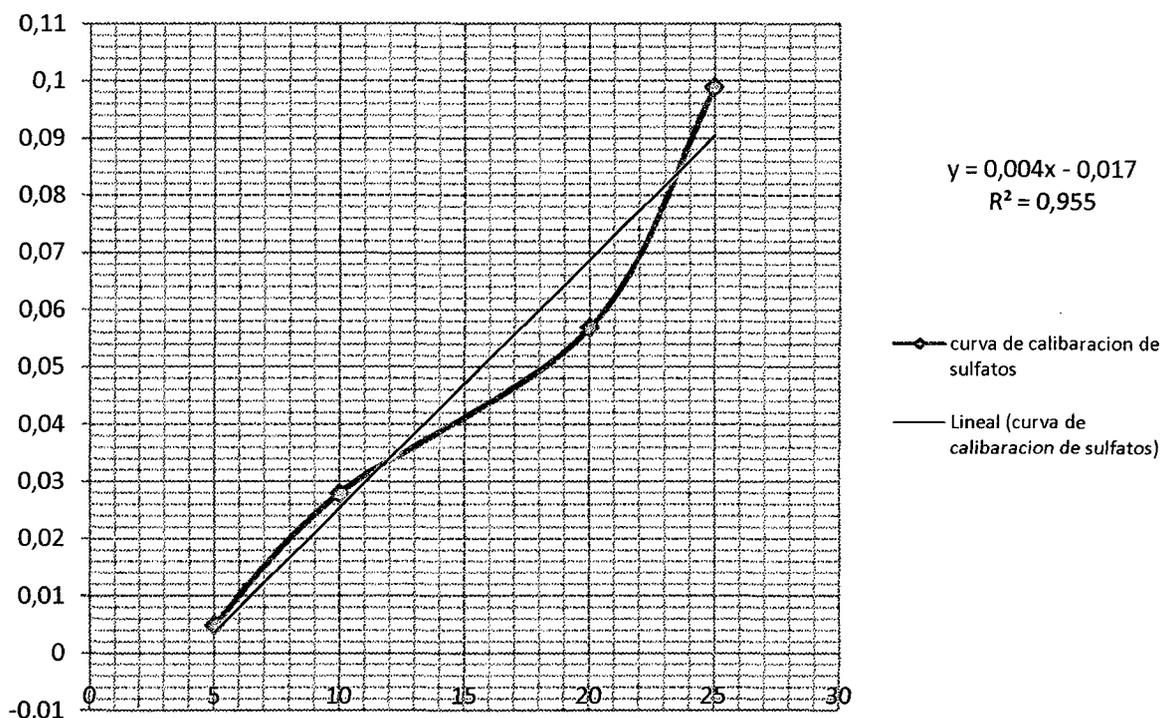


Figura 17. Curva de calibración de sulfatos lecho de PVC

Cuadro 38. Lecturas espectrofotométricas para tratamientos con lecho de PVC

Reactor	Absorbancia muestra	Absorbancia blanco	ppm diluidos de SO ₄	ppm total de SO ₄ (mg/L)	Equivalencia (mg de SO ₂)
R1	0,043	0,014	11,5	1150	766,71
R2	0,048	0,014	12,75	1275	850,04
R3	0,047	0,014	12,5	1250	833,38
R4	0,042	0,014	11,25	1125	750,04
R5	0,058	0,014	15,25	1525	1016,72
R6	0,052	0,014	13,75	1375	916,71
R7	0,043	0,014	11,375	1137,5	758,37
R8	0,053	0,014	14	1400	933,38
R9	0,050	0,014	13,125	1312,5	875,04

ANEXO E. Determinación de SO₂ para tratamientos con lecho de Cascarilla de Arroz

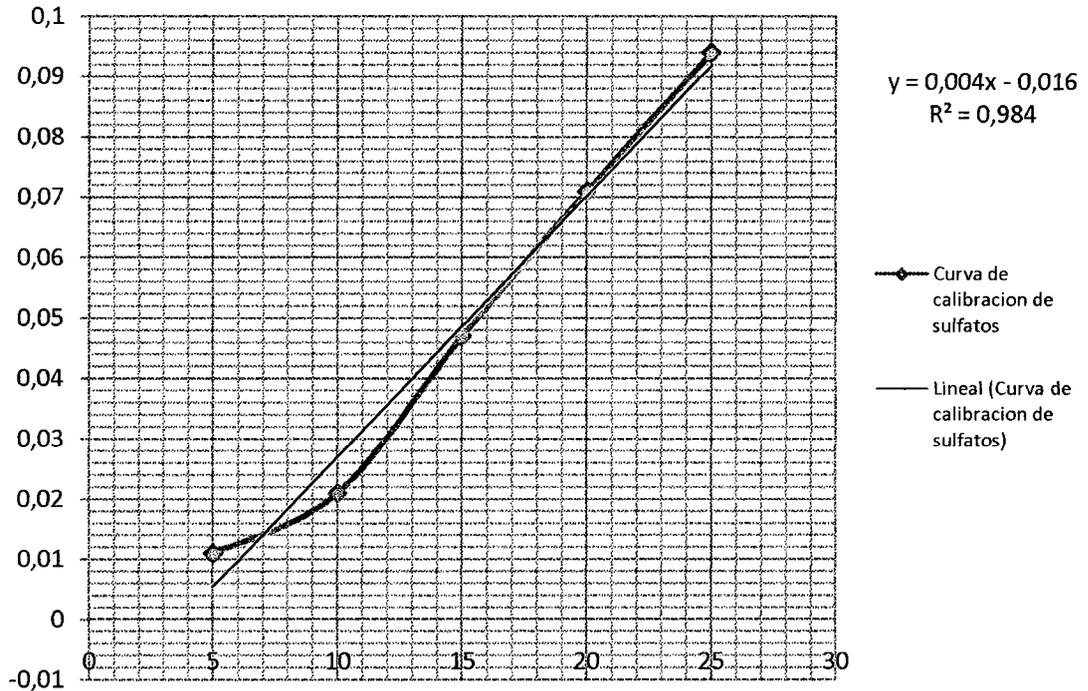


Figura 18. Curva de calibración de sulfatos lecho de cascarilla

Cuadro 39. Lecturas espectrofotométricas para tratamientos con lecho de cascarilla de arroz

Reactor	Absorbancia muestra	Absorbancia blanco	ppm diluidos de SO ₄	ppm total de SO ₄ (mg/L)	equivalencia (mg de SO ₂)
R1	0,042	0,016	10,5	1050	700,035
R2	0,064	0,016	16	1600	1066,72
R3	0,051	0,016	12,75	1275	850,0425
R4	0,044	0,016	11	1100	733,37
R5	0,076	0,016	19	1900	1266,73
R6	0,056	0,016	14	1400	933,38
R7	0,043	0,016	10,75	1075	716,7025
R8	0,070	0,016	17,5	1750	1166,725
R9	0,054	0,016	13,375	1337,5	891,71125

ANEXO F. Determinación de SO₂ para tratamientos con lecho de madera

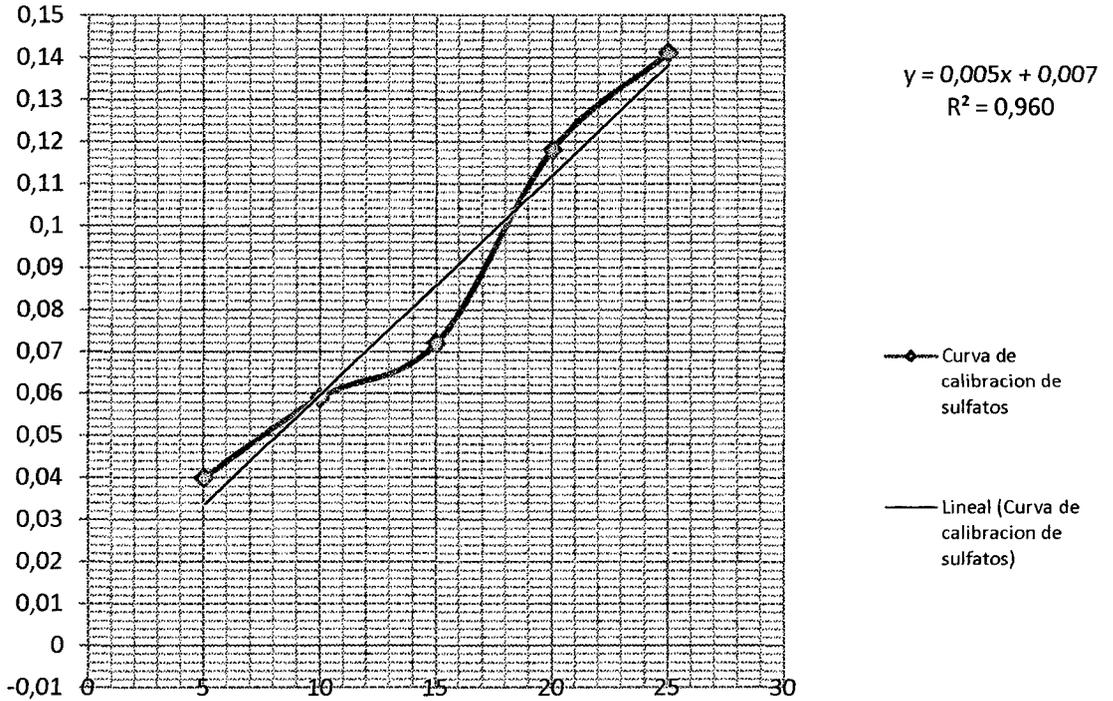


Figura 19. Curva de calibración de sulfatos lecho de madera

Cuadro 40. Lecturas espectrofotométricas para tratamientos con lecho de madera

Reactor	Absorbancia muestra	Absorbancia blanco	ppm diluidos de SO ₄	ppm total de SO ₄ (mg/L)	Equivalencia (mg de SO ₂)
R1	0,114	0,053	10,8	1080	720,036
R2	0,136	0,053	15,2	1520	1013,384
R3	0,145	0,053	17	1700	1133,39
R4	0,115	0,053	11	1100	733,37
R5	0,139	0,053	15,8	1580	1053,386
R6	0,147	0,053	17,4	1740	1160,058
R7	0,115	0,053	10,9	1090	726,703
R8	0,138	0,053	15,5	1550	1033,385
R9	0,146	0,053	17,2	1720	1146,724

ANEXO G. Parámetros de control evaluados de la biodesulfuración

Cuadro 41. Resumen general de los parámetros de control evaluados

Tratamiento	SO ₂ inicial (g/m ³)	Tipo de lecho	Eficiencia de B.D.S. (%)	Ganancia de Biomasa (g)	carga microbiana final (m.o./mL)	pH final
T1 (1°)	7,89	PVC	97,14	0,13	345850000	6,11
T2 (1°)	16,53	PVC	51,42	0,17	403900000	6,29
T3 (1°)	19,82	PVC	42,05	0,17	223750000	6,06
T1 (2°)	7,89	PVC	95,91	0,17	489750000	6,04
T2 (2°)	16,53	PVC	61,80	0,14	268150000	6,07
T3 (2°)	19,82	PVC	46,75	0,15	132000000	5,96
T1 (3°)	7,89	PVC	96,53	0,15	417800000	6,08
T2 (3°)	16,53	PVC	56,75	0,16	336050000	6,18
T3 (3°)	19,82	PVC	44,51	0,16	177900000	6,01
T4 (1°)	7,89	Cascarilla	88,69	0,08	632950000	6,16
T5 (1°)	16,53	Cascarilla	64,53	0,18	1250750000	5,35
T6 (1°)	19,82	Cascarilla	42,89	0,22	842150000	5,06
T4 (2°)	7,89	Cascarilla	93,78	0,07	924050000	6,08
T5 (2°)	16,53	Cascarilla	76,99	0,22	1249450000	5,82
T6 (2°)	19,82	Cascarilla	47,60	0,42	622400000	5,12
T4 (3°)	7,89	Cascarilla	91,22	0,08	778500000	6,12
T5 (3°)	16,53	Cascarilla	70,94	0,20	1250100000	5,59
T6 (3°)	19,82	Cascarilla	45,36	0,32	732275000	5,09
T7 (1°)	7,89	Madera	91,23	0,40	81650000	4,77
T8 (1°)	16,53	Madera	61,30	0,41	31350000	4,29
T9 (1°)	19,82	Madera	57,19	0,54	24200000	4,03
T7 (2°)	7,89	Madera	93,78	0,49	944500000	4,32
T8 (2°)	16,53	Madera	64,02	0,62	87500000	3,61
T9 (2°)	19,82	Madera	59,16	0,65	23500000	3,45
T7 (3°)	7,89	Madera	92,50	0,44	513075000	4,55
T8 (3°)	16,53	Madera	62,83	0,52	20400000	3,95
T9 (3°)	19,82	Madera	58,33	0,59	13500000	3,74

ANEXO H. ubicación de muestras

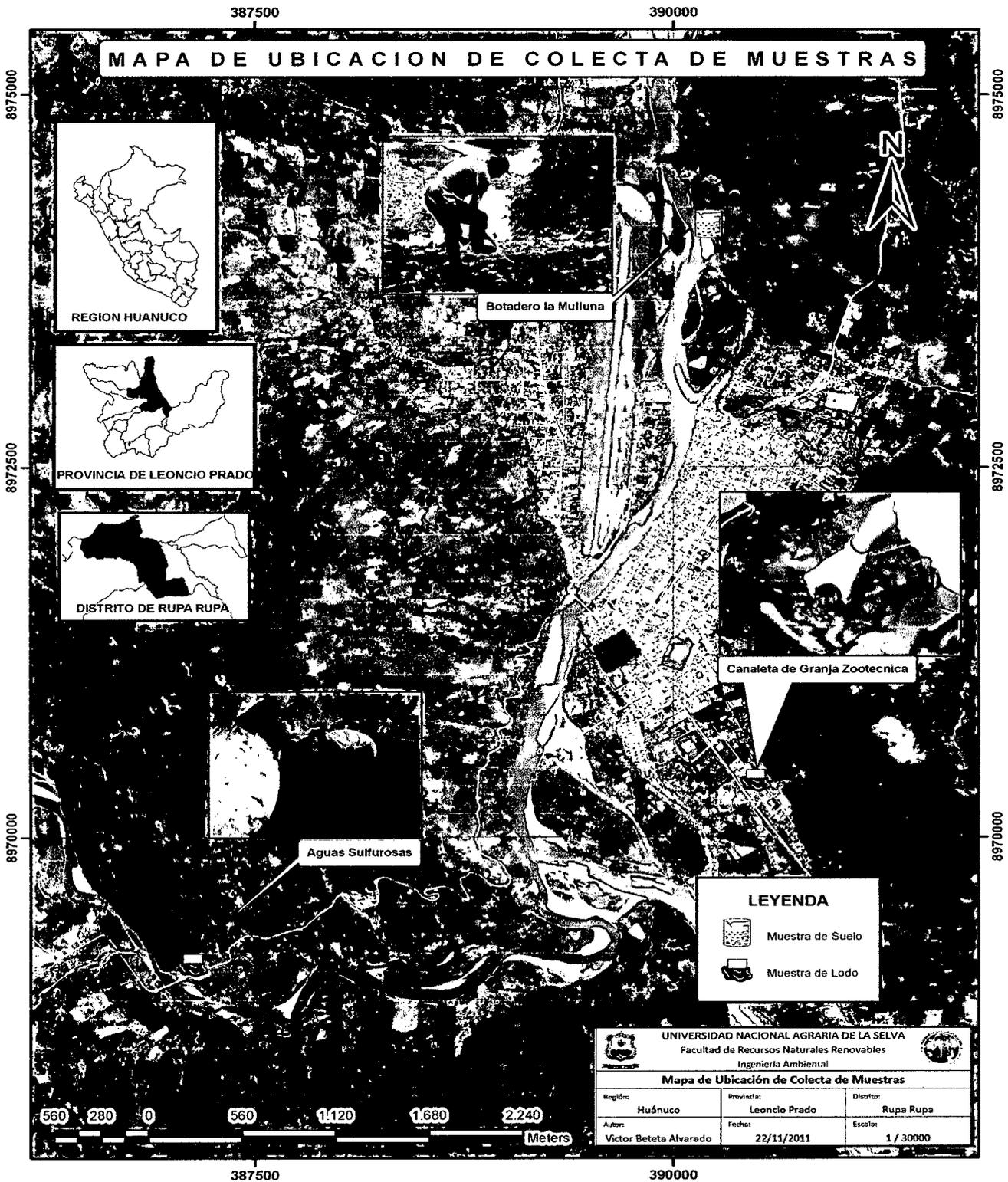
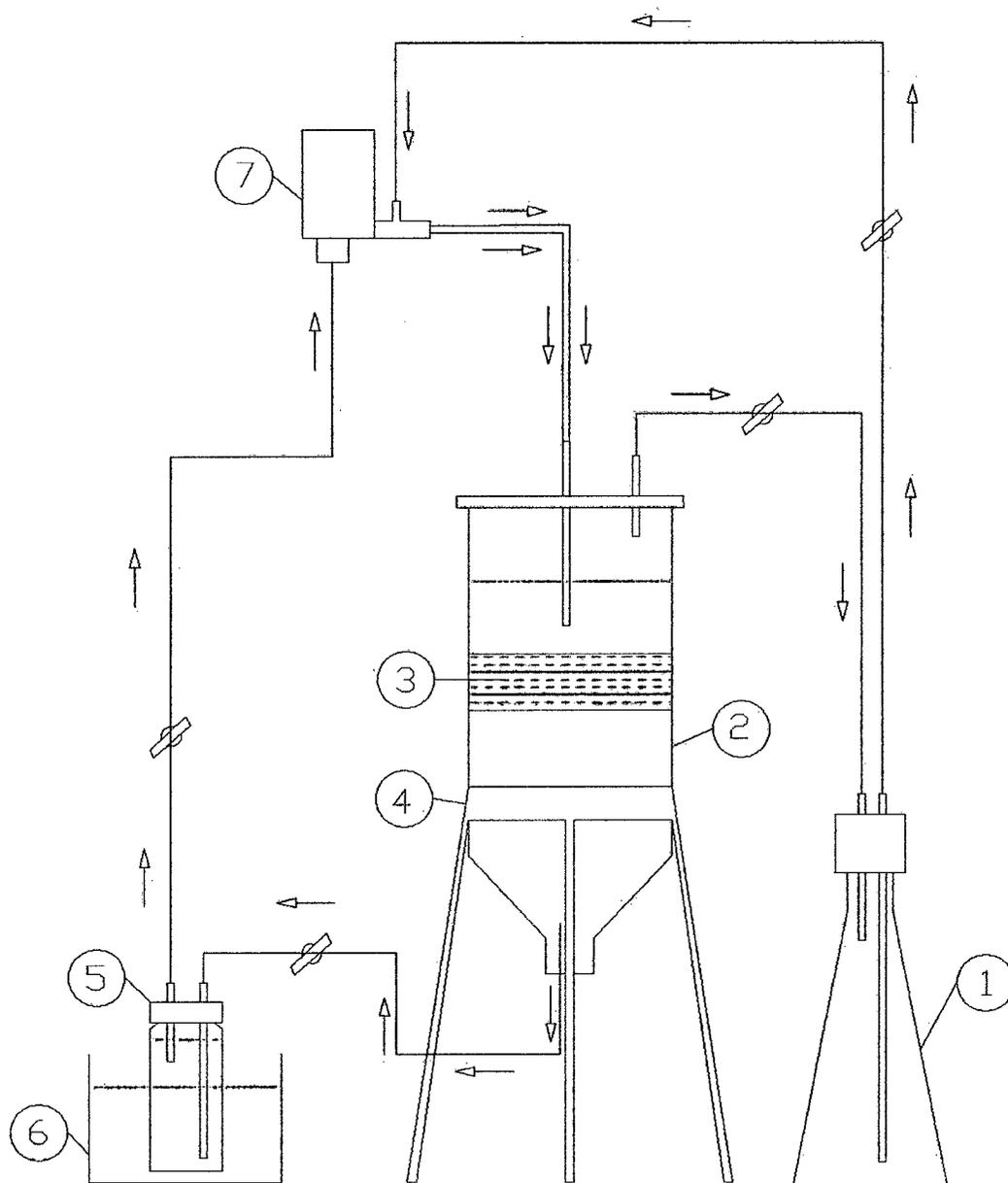


Figura 20. Mapa de ubicación de los puntos de colecta de muestras

ANEXO I. Esquema de Biorreactor



[1] Matraz de 500 mL. para depósito transitorio de SO_2 , [2]. Cámara de cultivo cilíndrica de 1000 mL
 [3] Lecho según la serie: de PVC, cascarilla de cereal y aserrín de madera, [4]. Tripode,
 [5] Trampa de sólidos de 250 mL [6] contenedor de enfriamiento 1000 mL, [7] Bomba compresora.

Figura 21. Detalle estructural de biorreactor de lecho fluidizado fijo invertido

ANEXO J. Galería de imágenes

Figura 22. Acondicionamiento y siembra de selección de m.o. biodesulfurantes



Figura 23. Preparación de medios de cultivo



Figura 24. Armado de biorreactores

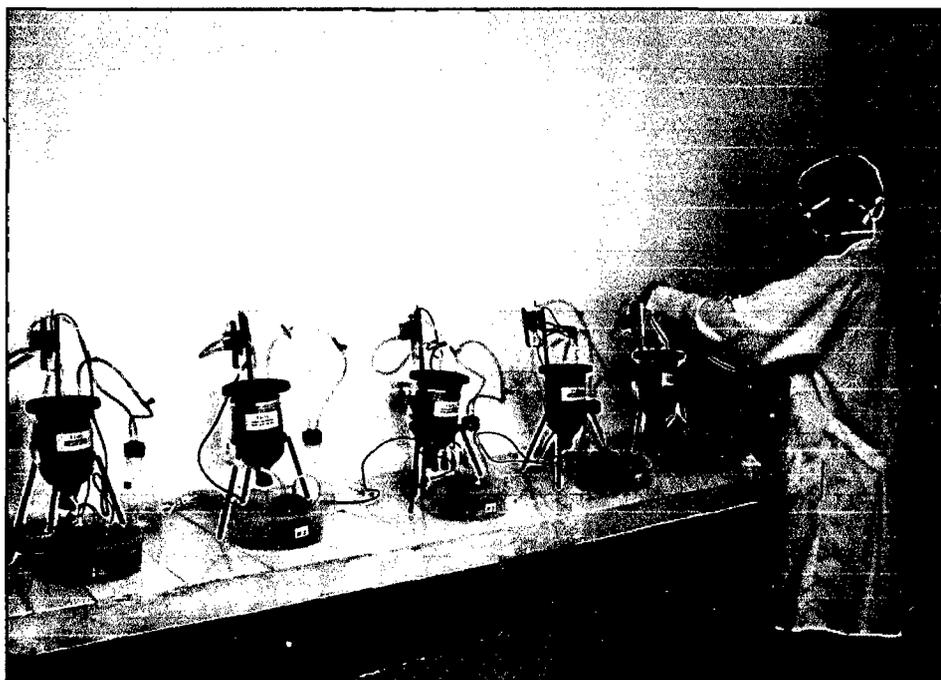


Figura 25. Calibracion y opercion de biorreactores

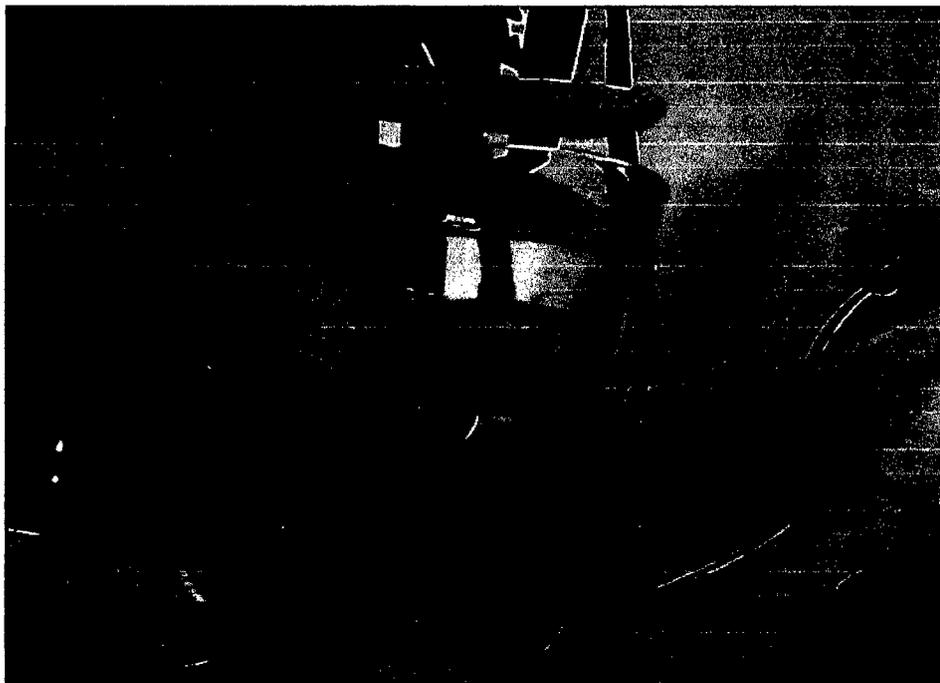


Figura 26. Extracción de muestra para determinación de parámetros de control



Figura 27. Extracción y acondicionamiento de lecho para el secado y pesado respectivo

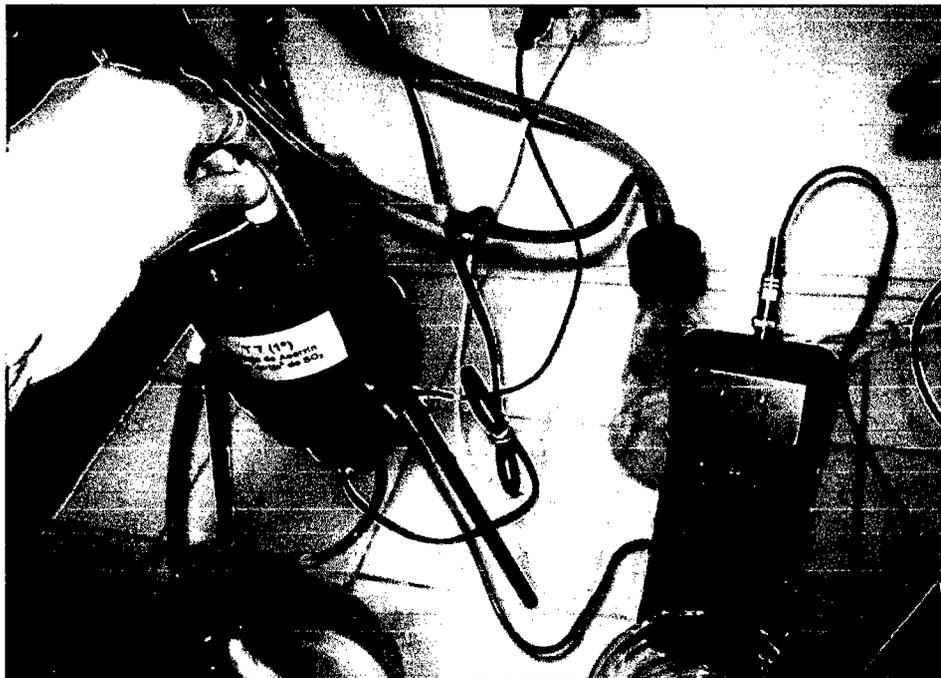


Figura 28. Medición de pH



Figura 29. Medición espectrofotométrica de muestras



Figura 30. Siembra de m.o. para determinación de densidad celular de la biomasa suspendida.

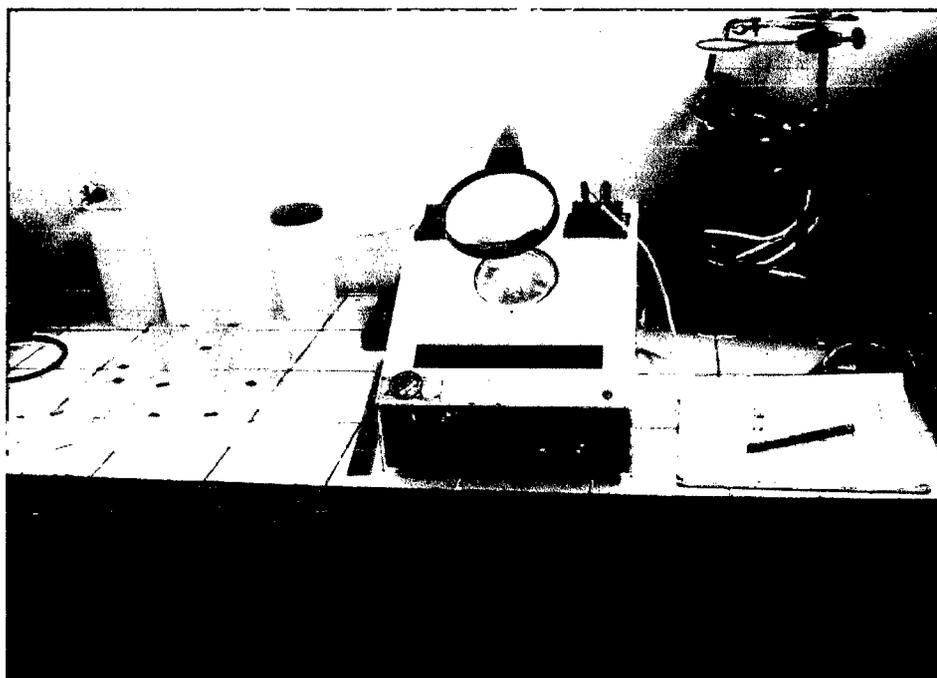


Figura 31. Recuento de microorganismos suspendidos