



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA DE INGENIERIA AMBIENTAL**

**OPTIMIZACIÓN DE UN SISTEMA DE
TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AIRE TIPO
AIRLIFT PARA LA ELIMINACIÓN DE VAPORES
CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS
VOLÁTILES.**

Por

PAMELA VIVIANA AGUAYO ORTIZ

**Tesis presentada a la
Facultad de Ingeniería de la Universidad Católica de Temuco
Para Optar al grado de Licenciado en Ciencias de la Ingeniería**

- Temuco, 2005 -

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE CONTENIDOS	ii
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE TABLAS	x
INDICE DE ANEXOS	xii
NOMENCLATURA	xii
1. INTRODUCCIÓN	17
<hr/>	
1.1 Hipótesis	22
1.2 Objetivos	22
1.2.1 Objetivo General	22
1.2.2 Objetivos Específicos	23
1.3 Antecedentes bibliográficos	24
1.3.1 Tratamiento biológico.	24
1.3.1.1 Tecnologías de tratamiento biológico	25
1.3.2 Biodegradación de compuestos Orgánicos Volátiles (COVs)	27
1.3.3 Reactor de lecho fluidizado tipo Airlift	29
1.3.4 Factores que influyen en la operación del biorreactor Airlift.	31
1.3.4.1 Soporte	32
1.3.4.2 Temperatura	33

1.3.4.3	pH	35
1.3.4.4	Velocidad de flujo y tiempo de residencia de la fase gaseosa	36
1.3.4.5	Nutrientes.	37
1.3.4.5	Microorganismos y biopelícula.	37
1.3.4.6	Control de biomasa.	39
1.3.5	Aplicación del sistema de biofiltración	42
2. MATERIALES Y MÉTODOS		44
<hr/>		
2.1	Materiales	45
2.1.1	Gas contaminante	45
2.1.2	Microorganismos	45
2.1.3	Material de soporte	45
2.1.4	Nutrientes	46
2.1.5	Equipos	46
2.2	Cultivo de microorganismos.	52
2.2.1	Determinación del medio de cultivo.	52
2.2.2	Preparación del inóculo.	52
2.2.3	Determinación de la velocidad de crecimiento.	52
2.3	Condiciones de operación del biorreactor.	54
2.4.	Medición de parámetros de control.	55
2.4.1	Temperatura	55
2.4.2	pH	55
2.4.3	Cuantificación de biomasa	56
2.4.3.1	Peso seco	56

2.4.3.2 Recuento de bacterias	57
2.4.3.3 Determinación de proteínas	58
2.4.4 Determinación de la concentración de tolueno	61
2.4.5 Determinación de la eficiencia de eliminación de tolueno en el sistema	63
3. RESULTADOS	66
<hr/>	
3.1 Etapa 1: Determinación de la velocidad de crecimiento y Operación del biorreactor	67
3.1.1 Velocidad de crecimiento de los microorganismos.	67
3.1.2 Operación del biorreactor.	68
3.1.2.1 Comportamiento del pH.	69
3.1.2.2 Efecto de la temperatura en la capacidad de eliminación de tolueno	71
3.1.2.3 Variación de la eficiencia de eliminación de tolueno con la carga de tolueno.	77
3.1.2.4 Variación de la concentración de biomasa en diferentes concentraciones de entrada de tolueno	81
3.1.2.5 Efecto de la carga de tolueno en la capacidad de eliminación de tolueno.	84
3.1.2.6 Efecto de la concentración de biomasa en la capacidad de eliminación de tolueno.	86
3.1.2.7 Análisis Integrado de los factores operacionales que influyen en la optimización del sistema de tratamiento tipo Airlift	96
3.2 Etapa 2: Análisis estadístico de las técnicas de cuantificación de biomasa	98
3.2.1 Análisis de los distintos métodos de obtención de biomasa con respecto al flujo de aire.	98
3.2.1.1 Primera prueba experimental.	98
3.2.1.2 Segunda prueba experimental.	103
3.2.2 Análisis de los distintos métodos de obtención de biomasa con respecto a la eficacia de eliminación	106
3.2.2.1 Primera prueba experimental	106

3.2.2.2 Segunda prueba experimental.	109
4. DISCUSIÓN	112
4.1 Velocidad máxima de crecimiento de los microorganismos	113
4.2 Comportamiento del pH en el sistema	115
4.3 Efecto de la temperatura en la capacidad de eliminación de tolueno.	116
4.4 Variación de la eficiencia de eliminación con la carga de tolueno.	119
4.5 Variación de la concentración de biomasa con la concentración de entrada de tolueno.	119
4.6 Efecto de la carga de tolueno con la capacidad de eliminación de tolueno.	120
4.7 Efecto de la concentración de biomasa en la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno.	122
4.8 Análisis estadísticos técnicas de cuantificación de biomasa	123
4.8.1 Análisis de los distintos métodos de determinación de biomasa con respecto al flujo de aire	123
4.8.2 Análisis de los distintos métodos de determinación de biomasa con respecto a la eficiencia de eliminación de tolueno.	126
5.CONCLUSIONES	130
6.RECOMENDACIONES	133
7.REFERENCIAS	135
8. ANEXOS	143
8.1 Curva de calibrado para concentración de biomasa	144
8.2 Curva de Calibrado para obtención de concentración de entrada de tolueno	144
8.4Análisis estadísticos	145

8.4.1 Análisis estadístico para concentración de biomasa y flujo de gas para la técnica de peso seco	145
8.4.2 Análisis estadístico para concentración de biomasa y flujo de gas para la determinación de proteína	147
8.4.3 Análisis estadístico para concentración de biomasa y flujo de gas para la cuantificación de bacterias	149

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Biodegradación aeróbica de contaminantes BTEX	28
Figura 1.2	Mecanismos de degradación de tolueno llevados a cabo por diversas géneros de Pseudomonas.	28
Figura 1.3	Esquema de un biorreactor Aerobio de lecho fluidizado tipo Airlift	30
Figura 2.1	Esquema de un biorreactor tipo Airlift.	47
Figura 2.2	Biorreactor Airlift	49
Figura 2.3	Dimensiones del sedimentador	51
Figura 3.1	Curva de crecimiento de los microorganismos degradadores de tolueno	67
Figura 3.2	Variación del pH en el biorreactor	68
Figura 3.3	a) Flujo de gas y concentración de entrada de tolueno en el tiempo b) Capacidad de eliminación de tolueno y temperatura del biorreactor en el tiempo (primera prueba experimental)	70
Figura 3.4	a) Flujo de gas y concentración de entrada de tolueno en el tiempo b) Capacidad de eliminación de tolueno y temperatura del biorreactor en el tiempo (segunda prueba experimental)	72
Figura 3.5	a) Flujo de gas y concentración de entrada de tolueno en el tiempo b) Capacidad de eliminación de tolueno y temperatura del biorreactor en el tiempo (tercera prueba experimental)	74
Figura 3.6	Variación de la eficacia de eliminación de tolueno del sistema Airlif en función de la carga de tolueno(primera prueba experimental).	76
Figura 3.7	Variación de la eficacia de eliminación de tolueno del sistema Airlift en función de la carga de tolueno (segunda prueba experimental).	78

Figura 3.9	Variación de la eficacia de eliminación de tolueno del sistema Airlift en función de la carga de tolueno (tercera prueba experimental).	79
Figura 3.10	Variación de la concentración de biomasa en diferentes concentraciones de entrada de tolueno (primera prueba experimental).	81
Figura 3.11	Variación de la concentración de biomasa en diferentes concentraciones de entrada de tolueno (segunda prueba experimental).	83
Figura 3.12	Variación de la concentración de biomasa en diferentes concentraciones de entrada de tolueno (tercera prueba experimental).	85
Figura 3.13	Efecto de la carga de tolueno en la capacidad de eliminación de tolueno (primera prueba experimental).	87
Figura 3.14	Efecto de la carga de tolueno en la capacidad de eliminación de tolueno (segunda prueba experimental).	88
Figura 3.15	Efecto de la carga de tolueno en la capacidad de eliminación de tolueno (tercera prueba experimental).	89
Figura 3.16	Influencia de la concentración de biomasa sobre la capacidad de eliminación de tolueno (primera prueba experimental).	91
Figura 3.17	Influencia de la concentración celular sobre la eficiencia de eliminación (primera prueba experimental).	92
Figura 3.18	Influencia de la concentración celular sobre la capacidad de eliminación de tolueno (segunda prueba experimental).	93
Figura 3.19	Influencia de la concentración celular sobre la eficiencia eliminación de tolueno (segunda prueba experimental).	94
Figura 3.20	Influencia de la concentración celular sobre la capacidad de eliminación de tolueno (tercera prueba experimental)	95
Figura 3.21	Influencia de la concentración celular sobre la eficiencia de eliminación de tolueno (tercera prueba experimental).	96
Figura 3.22	Modelo de regresión para la técnica del peso seco (primera prueba experimental).	100

Figura 3.23	Modelo de regresión para la determinación de proteínas (primera prueba experimental).	101
Figura 3.24	Modelo de regresión para la cuantificación de bacterias (primera prueba experimental)	102
Figura 3.25	Modelo de regresión para la técnica del peso seco (segunda prueba experimental).	103
Figura 3.26	Modelo de regresión para la determinación de proteínas (segunda prueba experimental).	104
Figura 3.27	Modelo de regresión para la cuantificación de bacterias (segunda prueba experimental).	105
Figura 3.28	Modelo de regresión para la técnica del peso (primera prueba experimental).	106
Figura 3.29	Modelo de regresión para la cuantificación de bacterias (primera prueba experimental).	107
Figura 3.30	Modelo de regresión para la técnica del peso seco (segunda prueba experimental).	110
Figura 3.31	Modelo de regresión para la cuantificación de bacterias (segunda prueba experimental).	111

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Características de las tecnologías para el tratamiento de gases	26
Tabla 2	Compuestos constituyentes de la solución de nutrientes	46
Tabla 3	Condiciones de operación del biorreactor	56
Tabla 4	Valores experimentales óptimos de parámetros de operación	97
Tabla 5	Resultados estadísticos (determinación proteína)	101
Tabla 6	Resultados estadísticos (unidades formadoras de colonias)	102
Tabla 7	Resultados estadísticos (peso seco)	103
Tabla 8	Resultados estadísticos (determinación proteína)	104
Tabla 9	Resultados estadísticos (unidades formadoras de colonias)	105
Tabla 10	Resultados estadísticos (peso seco)	106
Tabla 11	Resultados estadísticos (determinación proteína)	107
Tabla 12	Resultados estadísticos (unidades formadoras de colonias)	108
Tabla 13	Resultados estadísticos (determinación proteína)	109
Tabla 14	Resultados estadísticos (determinación proteína)	110
Tabla 15	Resultados estadísticos (unidades formadoras de colonias)	111
Tabla 4	Reporte estadístico (peso seco)	145
Tabla 5	Tabla Anova (peso seco)	145
Tabla 6	Reporte estadístico (concentración proteína)	147
Tabla 7	Tabla Anova (concentración proteína).	147

Tabla 8	Reporte estadístico (unidades formadoras de colonias)	149
Tabla 9	Tabla Anova (unidades formadoras de colonias)	149

INDICE DE ANEXOS

Anexo 8.1	Curva de calibrado para concentración de biomasa	144
Anexo 8.2	Curva de Calibrado para obtención de concentración de entrada de tolueno	144
Anexo 8.3	Análisis estadísticos para las técnicas de cuantificación de biomasa.	145
Anexo 8.3.1	Análisis estadístico para concentración celular y flujo de gas para la técnica del peso seco. (Primera prueba experimental)	145
Anexo 8.3.2	Análisis estadístico para concentración celular y flujo de gas para la determinación de proteína. (Primera prueba experimental).	147
Anexo 8.3.3	Análisis estadístico para concentración celular y flujo de gas para la cuantificación de unidades formadoras de colonias (Primera prueba experimental).	149

NOMENCLATURA

COVs	Compuestos orgánicos volátiles.
$Y_{X/S}$	Rendimiento del elemento en la célula, adimensional.
% <i>elemento</i> _{fuelle}	Porcentaje del elemento en la fuente (nutriente).
% <i>elemento</i> _{célula}	Porcentaje del elemento presente en la célula.
n° átomos _{fuelle} :	número de átomos del elemento en la fuente.
$P.A.$ _{elemento} :	peso atómico del elemento (g/mol).
$P.M.$ _{fuelle} :	peso molecular de la fuente (g/mol).
f	Factor de corrección.
S_0	Concentración de sustrato inicial requerido (g/l).
S_f	Concentración de sustrato final.
ΔX :	Crecimiento celular (g/l).
M	Concentración biomasa en g de peso seco (L^{-1}).
M_1	Peso de la muestra luego de la estufa (g).
M_2	Peso de la muestra después del horno (g).
V	Volumen de la muestra inicial (L)
$UFC\ ml^{-1}$	Unidades formadoras de colonias por ml de muestra.
UFC	Unidades formadoras de colonia en la placa.
d	Dilución.

$[proteína]$	Concentración de proteína (mg/ml).
Abs	Absorbancia a 595 nm.
TL	carga de tolueno ($g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$).
Q	Flujo de gas ($m^3 \cdot h^{-1}$).
V_V	Volúmen del reactor (m^3).
C_{go}	Concentración de entrada de tolueno ($g \cdot m^{-3}$).
C_{gs}	Concentración de salida de tolueno ($g \cdot m^{-3}$).
ζ	Eficiencia de eliminación del contaminante (%).
CE	Capacidad de eliminación del contaminante ($g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$).
F_{aire}	Flujo de aire contaminado (ml/min).
$F_{biomasa+soporte}$	Purga de biomasa que alimenta al sedimentador (ml/min).
CE en purga biomasa	Capacidad de eliminación del contaminante en purga de biomasa ($g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$).

RESUMEN

En el presente estudio, se determinó la variación en la eficiencia y capacidad de eliminación del sistema biológico en función del flujo de gas, concentración de entrada de tolueno, carga de tolueno y concentración celular. Para ello se utilizó un biorreactor de lecho circulante del tipo Airlift que presenta un volumen útil de 2L. La biodegradación del tolueno fue evaluada para flujos de aire entre $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ y $0.132 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ en una gama de concentraciones de entrada de tolueno de 13.3 a 37 gm^{-3} .

Para realizar la comparación entre los flujos ensayados, se mantuvo constante la concentración de biomasa en suspensión permitiendo la variación de los parámetros de interés. El sistema de control utilizado correspondió a un sedimentador de biomasa, el cual permitió obtener eficiencias de eliminación de tolueno de hasta un 98%.

Se observó que al aumentar el flujo de aire desde un 32 hasta un 450 %, la eficiencia de eliminación de tolueno, disminuye bruscamente desde 98 hasta un 58%. Sin embargo, mediante diferentes regulaciones de concentraciones de biomasa, se logró flexibilizar el sistema de operación en el biorreactor ante aumentos importantes de flujo de gas, alcanzando eficacias de eliminación de hasta un 98 %. El biorreactor utilizado permitió alcanzar capacidades de eliminación de $723 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$, para una carga de tolueno de $1022 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Además se realizó un análisis estadístico de las distintas técnicas de cuantificación de biomasa desarrolladas. Los resultados experimentales y teóricos confirmaron que concentraciones de biomasa de 4000 g.m^{-3} , o mayores son concentraciones de biomasa razonables para obtener eficiencias de eliminación superiores al 75 %, en el biorreactor Airlift

ABSTRACT

In this study, the variation of effectiveness and elimination capacity of the biological system based on the gas flow, input concentration of toluene, toluene load and cellular concentration, was determined. For this to happen, a continuous airlift bioreactor was used with a useful volume of 2L. The toluene degradation was evaluated for airflows between $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ and $0.132 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ in a concentration input range of 13.3 a 37 gm^{-3}

For an strict comparison among the tested flows, it was essential to keep the suspended biomass concentration constant, allowing the variation of the other parameters. The control system used was a cell sedimentator, which yielded in toluene elimination effectiveness of 98%.

It was observed that when increasing the airflow from 32% to 450%, the toluene elimination effectiveness drops abruptly from 98 to 58%. However, by means of different biomass flow regulation, it was possible to achieve a flexible operational system in the reactor in presence of important changes in the gas flow, reaching elimination effectiveness of 95%. The used reactor allowed achieved elimination capacities of $723 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$, for a toluene load of $1022 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Additionally, an statistical analysis of the different biomass quantification techniques was made. The experimental and theoretical results confirmed that cellular concentrations of 4000 g.m^{-3} , or greater, are reasonable biomass concentrations to obtain elimination effectiveness greater than 75%, in the Airlift reactor.

1. INTRODUCCIÓN

El aumento del desarrollo de la actividad industrial, genera la emisión de productos químicos al ambiente, provocando un desequilibrio de los ecosistemas naturales y afectando a la salud de las personas. Ante tal situación, en las últimas décadas se han desarrollado tecnologías de tratamiento de gases basadas en la actividad biológica de algunos microorganismos, capaces de convertir ciertos componentes químicos en fase acuosa (contaminante), a productos de degradación biológica como CO₂, agua y biomasa (Adler *et al.*, 2002).

Estas tecnologías de tratamiento de gases han demostrado ser un método efectivo y económico, para trabajar con bajas concentraciones de contaminantes (< 5 g/m³) y bajas temperaturas (15 a 30°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, desde 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 Airlifts 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).

A diferencia de los sistemas tradicionales de tratamiento biológico de gases, los biorreactores de lecho circulante del tipo Airlift se caracterizan por poseer la biomasa

dispersa y adherida a un soporte el cual también se encuentra en un medio líquido (Gjaltelma *et al.*, 1997).

Los biorreactores Airlift ofrecen ciertas ventajas con respecto a las demás tecnologías de tratamiento biológico, como la incorporación de transferencia y biodegradación total en un solo recipiente del biorreactor y además no presentan problemas de humedad, siendo el control de biomasa su única limitación (Edwards, *et al.*, 2002).

Dentro de las variables que deben ser controladas en un biorreactor Airlift, destaca la concentración de la biomasa en suspensión debido a que como señalan Quiroz (2003) y Edwards *et al.*, (2002), existe una relación directa entre este parámetro y la eficiencia de eliminación del contaminante, por lo tanto el control de biomasa aumenta la flexibilidad operacional del sistema.

Una alternativa que permite mantener constante la concentración de biomasa en suspensión, es incorporar una fase líquida continua, provista de un sedimentador de células que permita la separación del soporte y biomasa, retornando el soporte al biorreactor y realizando una purga de células continuamente (Quiroz, 2003).

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 tolueno, de forma tal de encontrar un valor óptimo de concentración de biomasa en el biorreactor que asegure elevadas eficiencias y capacidades de eliminación del contaminante.

Es importante señalar, conforme al funcionamiento del sistema, la capacidad de eliminación del sistema, la cual es determinada para proporcionar una segunda base de comparación, para cada una de las etapas de operación; siendo esta un importante parámetro, que indica la masa del contaminante degradada por unidad de volumen en el tiempo, que el sistema es capaz de eliminar.

La finalidad buscada por medio del monitoreo de los flujos de biomasa en el biorreactor, es lograr mantenerla controlada, ello mediante la extracción de diferentes purgas que alimentan al sedimentador, de tal forma que la eficiencia en la eliminación del contaminante se mantenga en el valor requerido, esto aún ante posibles aumentos de la concentración de entrada del contaminante. Es así como ante aumentos de cargas del contaminante, es posible controlar la concentración de biomasa a un mayor valor, de tal modo que la eficiencia de eliminación no sea afectada. De la misma manera, un aumento de flujo de gas, debería ser contrastado con una mayor concentración de biomasa en el biorreactor, disminuyendo la corriente de ésta al sedimentador y así poder mantener en un alto nivel la eficiencia de eliminación.

Existen numerosos contaminantes gaseosos que pueden ser tratados mediante la utilización de los sistemas Airlift, entre ellos, los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) que corresponden, principalmente a compuestos gaseosos tóxicos que emanan de las industrias de refinería de petróleo y procesadoras de la madera y muebles. Sin embargo se debe tener presente, que no todos los BTEX pueden ser aplicados al tratamiento en sí, ya que aquellos muy hidrófobos, no permiten lograr una transferencia de masa adecuada en el sistema. Es relevante destacar conforme a lo anteriormente

señalado, la alta concentración de industrias del mueble existente en la IX región de la Araucanía, la cual en estos últimos años, se ha potenciado de tal manera que ha llegado a transformarse en una industria competitiva a nivel nacional e internacional.

De los antecedentes mencionados se desprende que el estudio de la optimización de este tipo de tecnología, es de suma relevancia para hacerla mas viable, ello ante cambios importantes de flujo de gas contaminado y variaciones de concentraciones de contaminante. Con el estudio señalado, es posible ampliar el rango de aplicación de esta técnica en el tratamiento de emisiones gaseosas de diversas industrias, tanto a nivel regional (industria del mueble, celulosa, imprentas), como nacional (petroquímicas, metalúrgicas, de pintura, etc). Junto con lo anterior, se puede igualmente ampliar el conocimiento en la operación de los biorreactores tipo Airlift, permitiendo así un avance sustantivo en el diseño y optimización de su funcionamiento, logrando maximizar las capacidades de eliminación de los contaminantes.

1.1 Hipótesis

La eficiencia alcanzada por los biorreactores tipo Airlift se puede incrementar mediante un buen control de biomasa en suspensión, elevando con ello la flexibilidad operacional del biorreactor ante aumentos de flujo de la corriente de gas contaminado, y a su vez manteniendo la eficiencia de eliminación en un valor adecuado.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

- Optimizar el sistema de tratamiento biológico de gases tipo Airlift, utilizando tolueno como compuesto modelo, mediante el control de biomasa en suspensión en el biorreactor, para la obtención de una mayor eficiencia de eliminación de contaminante, ante aumentos importantes en el flujo de entrada de gas.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las variables involucradas en la optimización de este tipo de tecnología.
- Realizar el montaje y puesta en marcha del biorreactor implementando las medidas de optimización.
- Analizar la influencia de las variables involucradas en el proceso de optimización del sistema
- Determinar la eficiencia y capacidad de eliminación del sistema, en función del flujo de gas, carga de tolueno, concentración de entrada de tolueno y concentración de biomasa en el biorreactor.
- Analizar el comportamiento del proceso de biodegradación del contaminante, frente a la variación de parámetros como flujo de gas, carga de tolueno, concentración de entrada de tolueno y concentración de biomasa en el biorreactor.
- Analizar el efecto de la variación de la concentración de biomasa en suspensión en el biorreactor sobre la eficiencia de eliminación, ante aumentos de flujo de gas.
- Estimar los parámetros cinéticos en el proceso de biodegradación del contaminante.
- Desarrollar y evaluar alternativas de cuantificación de biomasa, asociadas a la biopelícula.

1.3 Antecedentes Bibliográficos

1.3.1 Tratamiento biológico.

Zuber *et al.*, (1997) y Young *et al.*, (2001) plantean que el tratamiento biológico de gases es una nueva tecnología que utiliza una mezcla de microorganismos para degradar los compuestos químicos en estado gaseoso. Edwards *et al.*, (2002) y Blenkle *et al.*, (2002), afirman que los tratamientos biológicos presentan la ventaja de degradar completamente los contaminantes a productos inocuos o menos contaminantes a una temperatura y presión normales, por lo que representa una tecnología eficiente cuando se compara con los tratamientos tradicionales de gases contaminantes. Jorio *et al.*, (2001), confirma lo anterior al señalar que el tratamiento de gases mediante la acción de microorganismos es un método mas económico y efectivo, frente a las tecnologías convencionales de tratamiento.

La implementación y uso a escala industrial del tratamiento biológico está creciendo en forma exponencial, debido a la gran necesidad de conservar y ahorrar energía. Por tal razón, hoy en día, se está planteando, el estudio detallado de los aspectos energéticos. De acuerdo a lo planteado por Musteman *et al.*,(2002), se está prestando gran atención a la elección de procesos que conserven dicha energía, como es el caso del tratamiento biológico.

1.3.2 Tecnologías de tratamiento biológico.

Aunque todas estas técnicas se basan en el mismo principio de funcionamiento, adsorción/absorción en la película de microorganismos y posterior degradación a CO₂ y H₂O, ellas difieren en sus diseños, control de parámetros, flexibilidad de operación y en algunas características funcionales (Edwards *et al.*, 2002).

- Biofiltros de lecho fijo : El método biológico de la biofiltración se basa en la alimentación de aire contaminado a un sistema de fase sólida en donde la biomasa está inmovilizada en un soporte orgánico o inorgánico y la fase móvil corresponde a un gas. Este sistema requiere de un preacondicionamiento, consistente en la humidificación del gas a tratar, lo que proporcionará la humedad necesaria para la actividad biológica dentro del biorreactor (Vergara *et al.*, 2002).
- Biofiltros de lecho escurrido: Este sistema consiste en un biorreactor en cuyo interior existe un soporte sintético en donde se desarrolla la biopelícula que será alimentada continuamente, por el tope de la columna, con un medio líquido que proporcionará a los microorganismos los nutrientes faltantes para su desarrollo. Por otro lado, el gas contaminante se alimentará en contracorriente a través de la columna. Cuando los contaminantes entren en contacto con los microorganismos, estos los absorberán para su degradación (Vergara *et al.*, 2002).
- Biolavadores: Este sistema se divide en dos etapas: la primera se basa en la transferencia de los contaminantes solubles en agua a una fase acuosa, a través de un contacto intensivo de ambas fases. El efluente de salida de la columna de

intercambio gas/líquido debe ser tratado, en una segunda etapa, utilizando un biorreactor de fase líquida.

Dentro de los biolavadores existen los reactores Airlifts y biorreactores aerobios de lecho fluidizado. Estos consisten en una columna en cuyo interior se encuentra una fase líquida móvil que contiene al lecho filtrante en suspensión. En este caso, el contaminante gaseoso se transfiere a la fase líquida quedando disponible para los microorganismos que posteriormente lo degradarán a agua y CO₂. Se caracterizan por poseer la biomasa dispersa y adherida a un soporte, el cual se encuentra en un medio líquido.

Las tecnologías de tratamiento biológico difieren entre sí debido a la presencia o no de soporte, así como también por la presencia de una fase móvil líquida, tal como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1 Características de las tecnologías para el tratamiento de gases.

Fuente: Vergara et al., (2002)

Diseño del reactor	Fase móvil	Soporte	Biomasa activa
Biofiltro de lecho fijo.	Gas	Orgánico/inorgánico /sintético	Inmovilizada
Biofiltro de lecho escurrido.	Líquido y gas	Sintético	Inmovilizada
Biolavador	Líquido y gas	Ninguno	Dispersa
Airlift	Líquido y gas	Orgánico	Dispersa

La eficiencia de eliminación de estos sistemas biológicos, depende directamente de la adecuada selección de los componentes involucrados en el proceso (microorganismos, material de soporte) y del adecuado control de las condiciones medioambientales donde

se desarrollan los microorganismos (pH, temperatura, caída de presión, humedad y control de biomasa).

1.3.3 Biodegradación de Compuestos Orgánicos Volátiles.

Los COVs por el hecho de ser altamente reducidos, son fuentes ricas de energía. Estos pueden ser biodegradados mediante reacciones de catabolismo de muchos microorganismos aerobios, selectivamente o genéticamente modificados (Levin, 1998).

La biodegradación de los BTEX es llevada a cabo, principalmente, por bacterias de las especies *Pseudomonas*. Estos microorganismos, son capaces de transformar estos contaminantes a diferentes compuestos de catecol, el que posteriormente se degrada a compuestos que pueden participar en el ciclo de Krebs del metabolismo microbiano (succinato, piruvato o acetil-CoA) (Rula y Alvaréz, 2000).

Según Duetz *et al.*, (1994), el tolueno presenta varias vías de biodegradación, algunas de las cuales incluyen 3-metilcatecol como compuesto intermediario, el etilbenceno puede ser degradado a 3-etilcatecol; y los xilenos son metabolizados a catecoles mono-metilados. En la Figura 1.1 se representa, en forma general la degradación aerobia de los compuestos BTEX.

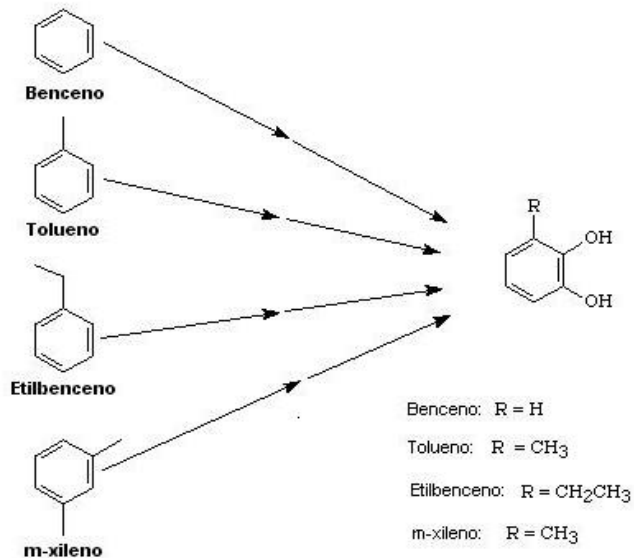


Figura 1. 1 Biodegradación aerobia de contaminantes BTEX
Fuente: Smets, (2002).

En forma mas específica, se representa en la Figura 1.2 la ruta de biodegradación del tolueno realizada por distintas bacterias de género *Pseudomona*.

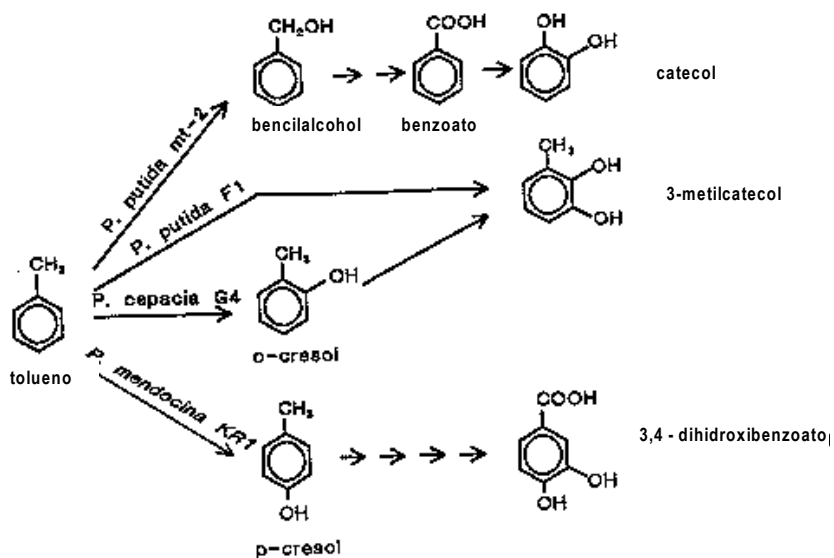


Figura 1. 2 Mecanismos de degradación de tolueno llevados a cabo por diversos géneros de *Pseudomonas*. *Fuente: Duetz et al., (1994).*

1.3.4 Biorreactor de lecho fluidizado tipo Airlift.

Un sistema de tratamiento biológico tipo Airlift, consiste básicamente en una columna en cuyo interior se encuentra una fase líquida móvil que contiene al lecho filtrante en suspensión y una fase continua de reacción de gas o líquido. Este tipo de tecnología se representa en la Figura 1.3.

Para Blenkle *et al* (2002), un reactor de biopelícula de lecho circulante típico tiene dos fases: una fase sólida y una fase líquida que crean el movimiento de los sólidos dentro del biorreactor. 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. Los contaminantes a ser degradados por la biopelícula deben estar presentes en la fase líquida.

Según Zuber *et al.*, (1997), los biorreactores del tipo Airlift son extensamente utilizados para el tratamiento de agua; sin embargo, su aplicación al tratamiento de gases ha sido escasamente desarrollada. Originalmente los biorreactores Airlift se desarrollaron para el postratamiento de aguas industriales tratadas anaeróbicamente, existiendo instalaciones a nivel industrial en funcionamiento (Heijnen *et al.*, 2001).

En el caso de los biorreactores trifásicos Airlift, su escalamiento se esta potenciando a nivel industrial. Al respecto Yu *et al.*, (2001), asegura que recientemente se ha utilizado con éxito reactores de biopelícula trifásicos de lecho circulante para eliminación de COVs desde un flujo de gas contaminado.

Leyenda:

[1]: Entrada de Gas, [2]: Válvula de Retención, [3]: Sensor de pH/mV, [4]: Purga de Biomasa, [5]: Entrada de Nutrientes, [6]: Entrada de NaOH, [7]: Retorno de sólidos, [8]: Sensor de Temperatura, [9]: Salida de Gas.

Figura 1. 3 Esquema de un bioreactor Aerobio de Lecho Fluidizado Airlift

Fuente: Quiroz, (2003)

Edwards *et al.*, (2002) y Nirnalakhandan *et al* (2000), plantean que los biofiltros han sido utilizado extensamente en el pasado para tratar gases contaminantes, sin embargo en la actualidad los reactores Airlift han sido recientemente estudiados y utilizados para la eliminación de hidrocarburos volátiles, de los solventes y de otros contaminantes orgánicos, tales como el benceno, xileno y etilbenceno). A pesar de que los biofiltros han ganado la aceptación pública como sistema de tratamiento, presentan ciertas desventajas a largo plazo, las que repercuten en la eficiencia de eliminación de estos sistemas. Estos problemas operacionales son: el difícil control de humedad y la alta resistencia al paso del flujo de gas que ofrece el lecho filtrante.

El desempeño del bioreactor Airlift, 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 para BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) e hidrocarburos halogenados están en la gama de 90 a 99% y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno, acenaftileno, acenafteno) entre un 75% a 90% (Morgan *et al.*, 1989). Resultados experimentales obtenidos por Khandan (2001), Chisti *et al.*, (2002), Quiroz (2003), y Klein *et al.*, (2005), entre otros, registran una eliminación del contaminante superior al 90 % al tratar un flujo de gases contaminados COVs mediante un bioreactor Airlift.

1.3.5 Factores que influyen en la operación del biorreactor Airlift.

Existen una serie de factores que influyen en la operación y eficiencia de un sistema de tratamiento tipo Airlift y de los sistemas de tratamiento biológico en general, sin embargo el análisis y control de ellos dependerá de las condiciones operacionales del sistema que se desea implementar. En este caso, se analizarán estos componentes específicamente para un biorreactor del tipo Airlift.

1.3.5.1 Soporte

En el proceso de tratamiento, mediante un biorreactor tipo Airlift, se debe tener especial atención en la elección del soporte que es el material donde se producirá el desarrollo microbiano. Este material debe presentar características de bajo costo, alta eficiencia y buena estabilidad en el tiempo. Además, se deben considerar otras características físicas y mecánicas: como estructura, área específica, resistencia al flujo y capacidad buffer; y propiedades biológicas: como disponibilidad de nutrientes inorgánicos y actividad biológica específica (Roustan *et al.*, 2002).

El compost corresponde a uno de los soportes más empleados para la eliminación de compuestos orgánicos volátiles como benceno y tolueno (Ergas *et al.*, 1997; Quiroz, 2003). A esto se debe sumar un importante contenido de nutrientes presentes en su estructura química, registrado por otros autores (Tijhuis *et al.*, 2000; Gjaltema *et al.*, 1997), de los cuales un alto porcentaje está disponible para ser empleado para el desarrollo de los microorganismos.

Estudios anteriores para el tratamiento de aguas residuales, como los de Tijhuis *et al.*, (1994); Tijhuis *et al.* (1995); Gjaltema *et al.*, (1997) y para gases, como los realizados por Lee *et al.*, (2002); Chisti *et al.*, (2002) y Quiroz (2003), entre otros, indican que el compost presenta un buen comportamiento hidrodinámico, factor fundamental y determinante para un buen funcionamiento del biorreactor tipo Airlift.

1.3.5.2 Temperatura.

La mayoría de los microorganismos que se utilizan para la degradación de compuestos orgánicos volátiles son mesófilos, es decir, pueden desarrollarse o realizar sus funciones metabólicas a temperaturas que oscilan entre los 10 y 35 °C (Vergara *et al.*, 2002). Brown *et al.*, (2000) y Lee *et al.*, (2002) proponen temperaturas óptimas para la biodegradación de tolueno de alrededor de los 30° C, Zuber *et al.*, (1997) plantea un rango entre 28 y 35°C y Holden *et al.*, (2002) señala que esta debe variar entre 30 y 37 °C, siendo la temperatura óptima 35 °C.

Braur *et al.*, (2002), señala que la temperatura del interior del biorreactor se incrementa cuando las células son más activas, lo que se produce dentro de un rango entre 35 y 40 °C para los microorganismos degradadores de tolueno. Algunos autores como Devinny *et al.*, (1999) y Jorio *et al.*, (2001), indican que la actividad metabólica de los microorganismos aumenta en forma proporcional al aumento de temperatura, dentro del rango en que ellos se desarrollan.

En un biorreactor Airlift inoculado con una sola especie, la mejor estrategia para lograr una alta efectividad de tratamiento, es mantener constante, durante la operación del sistema, la temperatura óptima donde ese microorganismo alcanza una máxima degradación. Sin embargo, cualquier cambio en las condiciones de operación afectará la eficacia de degradación del sistema (Quiroz, 2003).

Cuando los microorganismos degradadores corresponden a más de una especie, las variaciones de temperatura no afectan en forma tan drástica en la eficiencia de eliminación del sistema debido a que frente a leves cambios, este parámetro se restaura rápidamente pues se logran condiciones ambientales más favorables para especies que antes estaban inactivas. Este fenómeno, sin embargo, presenta algunas limitaciones. Las altas temperaturas pueden provocar que algunas reacciones metabólicas de los microorganismos ocurran muy rápidamente, provocando una descoordinación en su metabolismo y disminuyendo entonces la eficiencia de eliminación del biorreactor.

Según Deeb *et al.*, (1999), el aumento de temperatura sobre la óptima, produce la pérdida de la estructura nativa de la enzima, provocando efectos como cambios en las propiedades hidrodinámicas de la enzima, aumentando de esta forma la viscosidad y disminuyendo el coeficiente de difusión. Además produce una drástica disminución de su solubilidad en la biopelícula y por lo tanto disminuye la actividad microbiana, produciéndose una menor degradación del contaminante, lo que se traduce en la pérdida de las propiedades biológicas de las bacterias.

Según Quiroz (2003), las variaciones de temperatura afectan la constante de Henry de los gases generando variaciones en el coeficiente de transferencia de masa y alterando la transferencia de tolueno desde la fase gaseosa a la fase líquida. Una disminución en la temperatura resulta en una disminución en la constante de Henry, mejorándose de esta forma la transferencia de masa del gas hacia el líquido, esta transferencia es suficiente para compensar la reducida difusión en la biopelícula y la actividad biológica. Por el contrario un aumento en la temperatura disminuye la solubilidad del gas contaminante

en la fase líquida, pero se produce un aumento en la actividad microbiológica que compensa esta baja solubilidad (Villouta *et al.*, 2000).

De lo expuesto anteriormente, se desprende que existe una temperatura óptima de operación con la cual se puede alcanzar una máxima eficiencia de eliminación del sistema (Lara, 2003).

1.3.5.3 pH

Los valores de pH más adecuados para la actividad microbiana dependerán de las condiciones ambientales que necesite el microorganismo para su adecuado desarrollo biológico. Generalmente, las condiciones de pH requeridas para la biodegradación de compuestos orgánicos volátiles son neutras (entre 7 y 8), debido a que bajo estas condiciones los microorganismos alcanzan máximas velocidades de desarrollo (Ottengraf *et al.*, 2001).

Normalmente, durante la operación del sistema, el pH empieza a decrecer debido a la formación de ácidos intermedios que reaccionan con algunos de los componentes del medio, lo que puede disminuir e incluso detener la actividad microbiana en el interior del biorreactor (Ottengraf *et al.*, 2001). Para remediar esta situación, periódicamente debe agregarse al biorreactor una solución alcalina que permita equilibrar el pH de éste.

Según Chisti *et al.*, (2002) la regulación del pH, tiene relación directa con el crecimiento de biomasa en suspensión. Una vez alcanzada una concentración establecida para la operación, la regulación de pH en el sistema se favorece tanto por la relativa estabilidad

de la concentración de biomasa en suspensión como del eventual perfeccionamiento del sistema de control manual.

La influencia de la variación de pH sobre la eficiencia de eliminación del contaminante es significativa, ya que cambios ligeros de este parámetro operacional, pueden provocar la desnaturalización de los biocatalizadores.

Cualquier cambio brusco de pH, sabiendo que los microorganismos son enzimas, puede alterar el carácter iónico de los grupos amino y carboxilo en la superficie de la enzima, afectando así las propiedades catalíticas de la enzima (Vergara *et al.*, 2002).

1.3.5.4 Velocidad de flujo y Tiempo de Residencia de la Fase Gaseosa.

La velocidad del flujo de gas de entrada es uno de los parámetros hidrodinámicos más importantes en el proceso, ya que regula el régimen de flujo dentro del biorreactor y cuantifica la cantidad de gas contaminado a ser tratado por unidad de tiempo, así como la transferencia de masa entre las fases (Quiroz, 2003).

El tiempo de residencia del gas dentro del biorreactor es un parámetro muy importante a considerar y está directamente relacionado con la velocidad del flujo del gas de entrada. Mientras mayor sea el tiempo de residencia, mayor será el tiempo de contacto entre el contaminante y los microorganismos degradadores, por lo tanto, la capacidad de eliminación del sistema será también mayor (Vergara *et al.*, 2002).

Según Chisti *et al.*, (2002) el incremento en la velocidad de flujo del gas tiene un efecto inverso sobre la eficacia de eliminación del sistema. Al aumentar el flujo de trabajo,

disminuye el tiempo de contacto entre el aire contaminado y la flora microbiana y, consecuentemente, disminuye la eficiencia de degradación.

1.3.5.5 Nutrientes.

Los nutrientes son componentes esenciales para el desarrollo de los microorganismos. Los organismos, en condiciones naturales, generalmente presentan carencias en fósforo, nitrógeno y azufre. La adición de estos compuestos estimula el crecimiento de la población natural, y quizás aún más importante, mejora su metabolismo, facilitando el transporte por las membranas celulares y, por lo tanto, el ataque metabólico (Levin, 1997).

Muchas veces cuando se utiliza algún soporte orgánico no es necesario la adición de soluciones nutricionales, ya que el mismo material le entrega a los microorganismos los componentes esenciales para su metabolismo.

Algunos microorganismos pueden necesitar también algunos nutrientes orgánicos. Los nutrientes orgánicos conocidos como factores de crecimiento, son compuestos que necesitan los microorganismos como precursores o constituyentes para la síntesis de materia celular orgánica que no se puede obtener a partir de otras fuentes de carbono.

1.3.5.6 Microorganismos y biopelícula.

Autores como (Jorio *et al.*, 2001; Olive *et al.*, 2002; y Blenkle *et al.*, 2002) señalan que los microorganismos o la biopelícula son el componente más crítico del sistema Airlift,

ya que son ellos los que producen la transformación o destrucción del contaminante. La población microbiana requiere un cuidadoso control de su ambiente, tomando en cuenta factores como temperatura, pH y nutrientes.

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 y de las características biológicas del microorganismo, vale decir, de 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 soporte, 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).

1.3.5.7 Control de biomasa.

Dentro de las variables que deben ser controladas en un reactor Airlift, destaca la concentración de la biomasa en suspensión, debido a que como señala Quiroz (2003), existe una relación directa entre este parámetro y la eficiencia de eliminación del contaminante, por lo tanto el control de la biomasa posibilita el aumento de la flexibilidad operacional del sistema.

Lo anterior se fundamenta, debido a que el desarrollo de la biopelícula en suspensión y distribución uniforme en el interior del reactor, es una tarea importante para la operación estable y confiada de un biorreactor Airlift (Fran *et al.*, 2004). Asimismo el control de esta variable es un factor muy importante ya que condiciona la transferencia del contaminante entre las fases.

Klein *et al.*, (2005), establece que una acumulación de biomasa continua, produce el desplome de la circulación o pérdida dramática de la velocidad de circulación del gas. Este análisis fue demostrado por Leson *et al.*, (2004), en uno de sus estudios donde comprobó que al no existir una regulación de la biomasa en suspensión en el reactor, la biomasa comienza a acumularse en el fondo del reactor, resultando finalmente un rompimiento de la circulación del proceso.

Según Rathor *et al.*, (2003) el aumento equilibrado de biomasa, significa la existencia de una mayor cantidad de microorganismos activos presentes en el reactor, ya que estos

requieren una mayor cantidad de oxígeno para realizar su actividad metabólica y reproducción.

En este caso, se genera un aumento en la demanda de carbono en el medio, dado el aumento de biomasa en el mismo (Vergara *et al.*, 2002). Ello trae como consecuencia un incremento de la actividad celular y del coeficiente de transferencia de masa para tolueno producto de un aumento en el gradiente de concentraciones entre la fase gas y líquido, disminuyendo la concentración de tolueno a la salida del reactor y aumentando la eficiencia de eliminación.

Freídier *et al.*, (2002), señalan que cuando existe una deficiencia de biomasa en suspensión, el crecimiento de los microorganismos disminuye considerablemente, afectando la cinética del biorreactor, y por consiguiente el funcionamiento de éste. Por tal razón la mantención de la biomasa constante, optimiza notablemente el funcionamiento del sistema.

Merchuk *et al.*, (2002), plantea que al no existir un control de este parámetro operacional, el oxígeno actúa como reactivo limitante, por lo tanto la transferencia adecuada de oxígeno es crítica en estos sistemas biológicos, afectando considerablemente en la biodegradación del contaminante, y por consiguiente a la eficiencia de eliminación del sistema. Esto se fundamenta al señalar que la capacidad de transferencia de oxígeno es crucial en el crecimiento de los microorganismos degradadores de tolueno.

Wubber *et al.*, (1997), plantea que la concentración de biomasa disminuye al incrementar el flujo de tratamiento, dado un menor tiempo de residencia del gas en el reactor. Considerando que este tipo de biorreactores trabaja con altas velocidades del gas, el tiempo de residencia en el mismo decrece, esto disminuye la transferencia del contaminante, lo que atenta la eficacia de eliminación de éste.

Según lo señalado por Quiroz (2003), un sedimentador de células es una atractiva alternativa, ya que permite llevar un control del crecimiento de microorganismo en el interior del reactor, lo que hace posible realizar una estricta comparación entre los flujos de trabajo, de tal forma encontrar un valor adecuado que asegure elevadas eficiencias de eliminación de tolueno, ante aumentos de flujos de gas.

El planteamiento inicial es la regulación del flujo de alimentación al sedimentador, de diversos volúmenes de purga de biomasa, de tal modo conseguir condiciones de crecimiento que permitan la maximización de la producción, aumentando la eficiencia de eliminación del contaminante para flujos elevados.

Merchuk *et al.*, (2002), plantea que la concentración de biomasa de 3 g/l o mayores son concentraciones razonables para el funcionamiento óptimo del biorreactor Airlift, de lo contrario existe una baja eficiencia de eliminación de contaminantes, debido a que bajo estas condiciones existe un mayor requerimiento de oxígeno para la degradación del contaminante (Blenkle *et al.*, 2002; Nikolov *et al.*, 2001).

Verlaan *et al.*, (2002), señala que cuando no existe un control adecuado de biomasa en suspensión en el biorreactor Airlift, ésta es afectada negativamente por variables de proceso como pH o nutrientes que escapan al rango de operación normal.

Según Quiroz (2003), cuando la biomasa en suspensión alcanza su concentración más alta, se registra una mayor eficiencia de eliminación de contaminantes. Además indica que la influencia de la concentración de biomasa en suspensión sobre la eficiencia de eliminación no es instantánea, es decir, existe un intervalo de tiempo de 24 horas, aproximadamente, que determina la influencia de una variable sobre la otra.

1.3.6 Aplicación del sistema Airlift.

En el país existen muchas fuentes industriales de contaminación gaseosa. Dentro de ellas, las más representativas en cuanto a la composición de sus gases contaminantes, corresponden a la industria de harina de pescado, celulosas, refinería de petróleo, pinturas, químicos, termoeléctricas, fundiciones metalúrgicas, tratamiento de residuos sólidos y líquidos, textil e industria del mueble. Los contaminantes que generan dichas industrias son: sulfuro de hidrógeno, trimetilamina, sulfuro de metilo, óxidos de nitrógeno, alcoholes, aldehídos, ésteres, anhídrido sulfuroso, anhídrido sulfuroso, aminas, y compuestos orgánicos volátiles. Todos los compuestos nombrados son factibles de tratar mediante procesos de tratamiento biológico tipo Airlift. Esta tecnología tiene la ventaja de ser aplicada, en la misma fuente emisora de contaminación, lo que implica una disminución en los costos de tratamiento, transporte y almacenamiento del residuo.

Las emisiones de COVs comprenden un amplio rango de posibles contaminantes, ya sea alcoholes (metanol, alcohol isopropílico), cetonas (metil etil cetona), cloruros de vinilo y fenol, hidrocarburos alifáticos (hexano, isooctano), y los hidrocarburos aromáticos BTX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno).

Analizando la actividad industrial maderera en nuestra región, es posible constatar la generación de grandes cantidades de emanaciones gaseosas constituidas por COVs, las cuales deben ser removidas para impedir la contaminación atmosférica, con el consiguiente riesgo a la salud de la comunidad. Es por esto, que se desprende que la aplicación de esta tecnología es fundamental para la lograr una producción limpia en la industria del mueble.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales.

2.1.1 Gas contaminante.

El compuesto modelo utilizado como contaminante es Tolueno líquido, marca Mallinckrodt, grado analítico, 99.7% de pureza.

2.1.2 Microorganismos.

Los microorganismos utilizados para la degradación de tolueno corresponden a la flora microbiana presente en el compost, que se utilizó como material de soporte. Los microorganismos utilizados corresponderían a un conglomerado de especies, donde según Blenkle *et al.*, (2002), la más representativa y estudiada en el sistema Airlift son las bacterias del género *Pseudomonas*.

2.1.3 Material de soporte.

El material de soporte utilizado corresponde al compost, el cual provee al sistema de nutrientes, presentes en su estructura química y flora microbiana capaces de degradar el tolueno. El criterio de selección para el soporte corresponde al comportamiento hidrodinámico en el biorreactor (Quiroz, 2003), además de ser uno de los soportes más empleados para la eliminación de compuestos orgánicos volátiles como benceno y tolueno (Ergas *et al.*, 2001; Quiroz, 2003).

El tamaño específico para la formación de la biopelícula fue seleccionado mediante equipo de tamizado marca W.S. Tyler, modelo RX-86-3. El tamaño seleccionado corresponde a la fracción desprendida entre las mallas N° 3 y N° 6, que corresponde a

un diámetro de partícula de 355 a 710 μm respectivamente. La cantidad de soporte adicionado al biorreactor corresponde a una concentración de 20 g/l (Tijhuis *et al.*, 1995; Quiroz, 2003).

2.1.4 Nutrientes.

Según lo señalado por Quiroz (2003), una vez por semana se adiciona al biorreactor una solución concentrada de nutrientes, cuyos componentes corresponden a los descritos en la tabla N° 2. Estos compuestos se seleccionaron en función de aquellos sugeridos en literatura (Pedersen *et al.*, 1997; Quiroz, 2003; Lara, 2003).

Tabla 2. Composición del medio de cultivo.

Compuesto	Concentración (g/l)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.14
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.092
KH_2PO_4	0.22
C_7H_8 , tolueno	1.92

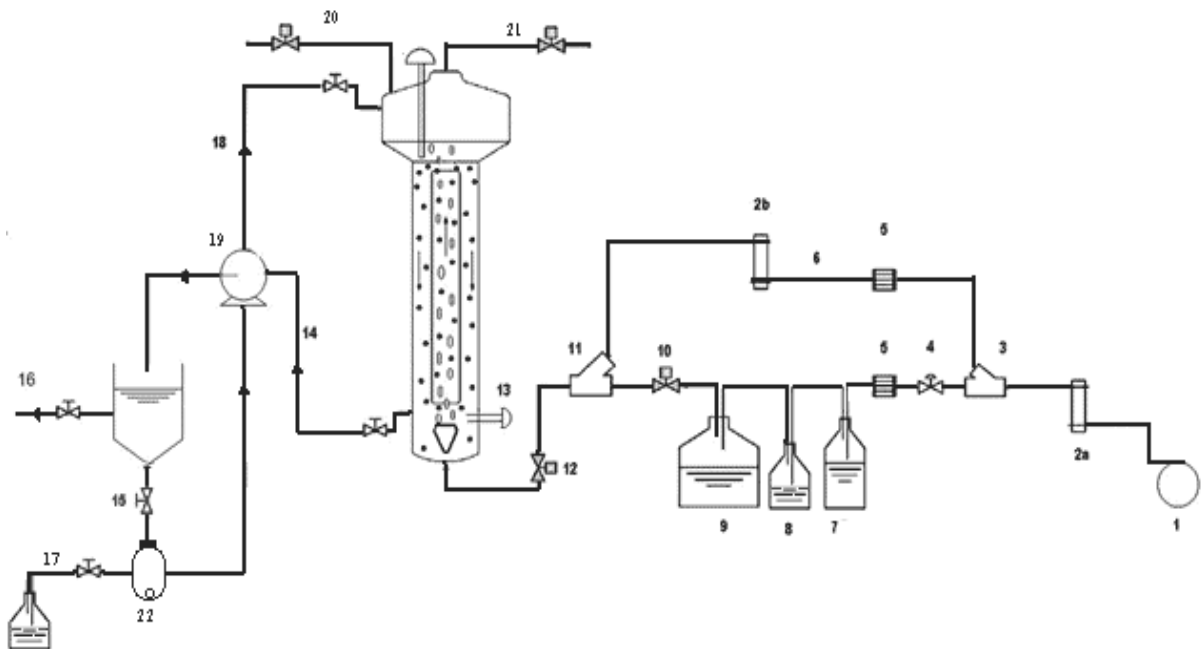
2.1.5 Equipos.

Para el desarrollo del trabajo experimental, se trabajó con un biorreactor de lecho circulante tipo Airlift a escala de laboratorio, donde se implemento un sedimentador de células, para conseguir un incremento en la eficiencia y capacidad de eliminación del contaminante. Un esquema del sistema se presenta en la Figura 2.1.

La biodegradación del tolueno fue efectuada durante un período de 172 días, de los cuales 112 fueron puesta en marcha y operación normal, tiempo durante el cual se realizaron las mediciones de interés, tales como pH, temperatura, concentración de

biomasa y concentración de tolueno; 60 fueron de marcha blanca, período correspondiente a la aclimatación y crecimiento de la flora microbiana.

La descripción de los equipos utilizados en el montaje y puesta en marcha de este sistema de tratamiento tipo Airlift, se explican a continuación, siguiendo la línea de proceso representada en la Figura 2.1



Leyenda:

[1]:Compresor, [2a]:Medidor de Flujo Total, [2b]:Medidor de Flujo Línea de Dilución, [3]:Divisor de Flujo, [4]:válvula de control, [5]:Filtros de Aire, [6]:Línea de Dilución, [7]:Condensador, [8]: Trampa de agua, [9]:Saturador, [10]:Toma para Muestra Gaseosa, [11]:Mezclador de Vidrio, [12]:Toma para Muestra Gaseosa, [13]:Electrodo pH/mV, [14]:Purga de Biomasa, [15]:Soporte, [16]:Biomasa, [17]:Agua [18]:Retorno de soporte, [19]:Bomba peristáltica, [20]:Nutrientes, [21]:Toma de muestra gaseosa, [22]:Homogenizador.

Figura 2.1 Esquema del biorreactor tipo Airlif.

Fuente: Modificación de Quiroz, (2003)

La entrada de aire al sistema se realiza utilizando un compresor (1) marca THOMAS modelo TA-3101. Seguido de este, se coloca un rotámetro (2a) marca Cole-parmer modelo N-082-03, cuya función es medir el flujo total de entrada de aire al sistema. Este flujo total se divide en dos corrientes por medio de un divisor de flujo (3). Una de las corrientes es desviada hacia un filtro de aire (5), para eliminar material particulado e impurezas. Este flujo es alimentado al saturador de tolueno (9), de vidrio Pirex de 500 ml de capacidad, para generar la contaminación del aire.

Previo al saturador de tolueno, se dispone de un condensador (7), el que evita condensaciones en el saturador y de una trampa de agua (8) la cual retiene la posible humedad que se mantiene en la corriente de gas. Todo este sistema de saturación del gas, junto con la trampa de agua y condensador, es mantenido en una caja de plumavit, en cuyo interior se mantiene una temperatura de 3 °C, la que es mantenida con hielo, el cual se renueva cada 24 horas.

La segunda corriente de aire corresponde a la línea de dilución (6) y es medida por un segundo rotámetro (2b) marca Cole-parmer modelo N 012-10. Ambas corrientes se unen en un mezclador de vidrio (11), de modo de mantener en un valor preciso y deseado la concentración de entrada del tolueno al biorreactor. La mezcla gaseosa ingresa al biorreactor, momento en el cual se produce la transferencia líquido gas, ocasionando la biotransformación del contaminante.

El biorreactor Airlift, es mantenido en una cámara termoregulada, con la cual se mantiene la temperatura exterior del reactor en un rango que varía entre 32 y 37 °C. La temperatura se mantiene utilizando un termoventilador, marca Starlight, modelo TMV-

220, el cual permite generar un flujo de calor tanto en el reactor como en la cámara, el cual es mantenido en el rango adecuado por medio de un controlador de temperatura marca Cole-Palmer, modelo 08516-55.

El biorreactor Airlift consiste en una columna de acrílico de 0.85 m de altura, con un volumen total de 3.1 L, y un volumen útil de 2 L. (Figura 2.2); esta constituido por dos tubos concéntricos. Por el tubo interno se introduce una corriente de aire contaminado que provoca la mezcla del líquido, debido a la diferencia de densidades que se produce entre ambos tubos. Cuando las burbujas de gas suben en el tubo, inducen un flujo de líquido ascendente dentro de éste y un flujo descendente en la región exterior del tubo. Una tercera zona se ubica en la parte superior del biorreactor, de un volumen de 1.1 L, cuyo objetivo es lograr la separación de las fases y la salida del efluente gaseoso.

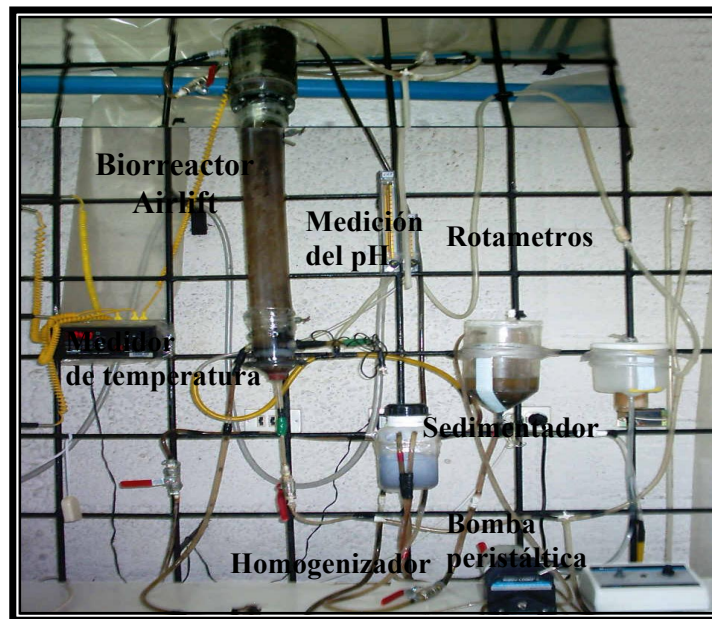


Figura 2. 2. Biorreactor Airlift

Para mantener la concentración de biomasa en suspensión constante en el bioreactor, se utilizó un sedimentador de células, en donde una corriente con biomasa y soporte ingresa a este (14), permitiendo la separación del soporte (15) y biomasa (16), retornando el soporte al biorreactor (18), por medio de una bomba peristáltica Masterflex (19). Luego se realizó una purga de células en forma diaria (16), para determinar su concentración celular por la técnica del peso seco, que se será descrita mas adelante.

Para mantener homogéneo el soporte decantado en el sedimentador, este fue conducido a un recipiente con agitador magnético (22), en donde se mezcla con un volumen de agua necesaria (17) para completar el flujo deseado, para su posterior recirculación al biorreactor. Los flujos de recirculación al biorreactor, corresponden a 0.55 ml/min, 0.42 ml/min, 0.35 ml/min, 0.2 ml/min, 0.14 ml/min, 0.10 ml/min y 0.07 ml/min. Para regular el flujo de soporte a recircular y el flujo de biomasa que ingresa al sedimentador, se conectaron dos mangueras Masterflex (14 y 18) a la bomba peristáltica, a tiempos de marcha y velocidad predeterminados.

El sedimentador, consiste en un cilindro con fondo cónico de acrílico de 20 cm de largo, con un diámetro interno de 12 cm, el cual esta provisto de cuatro salidas laterales, en cuyos orificios se dispone la salida de biomasa, para su posterior determinación de concentración celular y un orificio en el fondo por donde sale el soporte que retorna al biorreactor. Las dimensiones del sedimentador se observan el la Figura 2.3

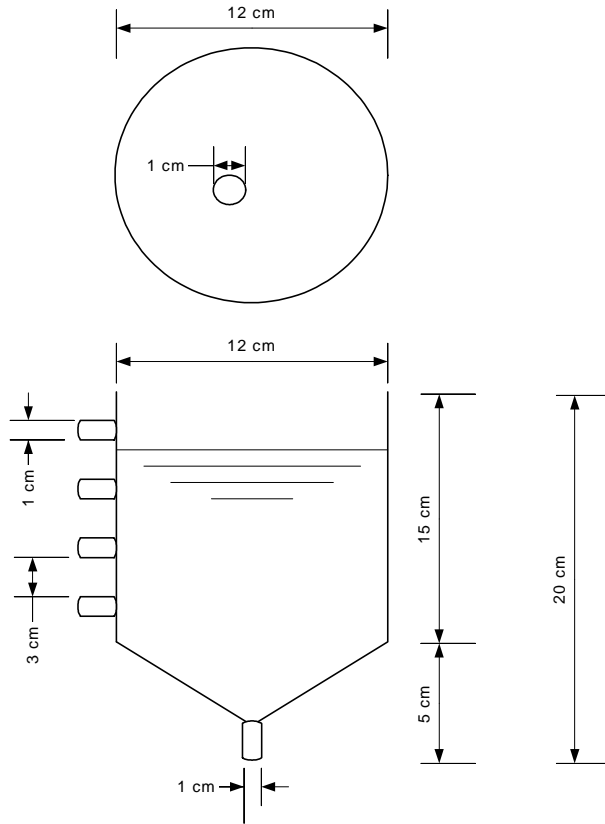


Figura 2.3 Dimensiones del sedimentador.

2.2 Cultivo de Microorganismos.

2.2.1 Determinación de la composición del medio de cultivo.

La composición del medio de cultivo para un crecimiento de 2 g/l, fue calculada, estimando el rendimiento de un nutriente en la célula, según la siguiente relación (Acevedo *et al.*, 2002).

$$Y_{x/s} = \frac{\% \text{ elemento}_{fuente}}{\% \text{ elemento}_{célula}} \quad (1)$$

Donde,

$Y_{x/s}$: rendimiento del elemento en la célula, adimensional,

$\% \text{ elemento}_{fuente}$: porcentaje del elemento en la fuente (nutriente),

$\% \text{ elemento}_{célula}$: porcentaje del elemento presente en la célula.

El porcentaje del elemento en la fuente, se determina utilizando la siguiente expresión:

$$\% \text{ elemento}_{fuente} = \frac{n^{\circ} \text{ átomos}_{fuente} * P.A._{elemento}}{P.M._{fuente}} \quad (2)$$

Donde,

$n^{\circ} \text{ átomos}_{fuente}$: número de átomos del elemento en la fuente,

$P.A._{elemento}$: peso atómico del elemento (g/mol),

$P.M._{fuente}$: peso molecular de la fuente (g/mol).

En cuanto a la fuente de carbono y energía, no todo el carbono utilizado aparece en la biomasa, sino que una porción forma parte de los productos de oxidación (CO₂ y moléculas orgánicas pequeñas en metabolismo anaerobio). En este caso, la Ecuación 1 debe multiplicarse por un factor de corrección, como se muestra en la Ecuación 3. (Acevedo *et al.*, 2002).

$$Y_{x/s} = \frac{\% \text{ elemento}_{fuente}}{\% \text{ elemento}_{célula}} * f \quad (3)$$

Donde,

f : factor de corrección. En metabolismo aerobio su valor está comprendido entre 0.5 y 0.6.

Para determinar la concentración de cada nutriente en el medio de cultivo, para un crecimiento celular de 2 g/l, se obtiene según la siguiente relación (Acevedo *et al.*, 2002).

$$S_0 - S_f = \frac{\Delta X}{Y_{x/s}} \quad (4)$$

Donde,

S_0 : concentración de sustrato inicial requerido (g/l),

$S_f = 0$: concentración de sustrato final (se considera que el elemento se ha utilizado por completo en el metabolismo microbiano),

ΔX : crecimiento celular, se suponen valores entre 1.5 y 2.0 g/l (Acevedo *et al.*, 2002),

$Y_{x/s}$: rendimiento de un nutriente en célula, adimensional.

2.2.2 Preparación del inóculo.

En un matraz, se preparan 200 ml de una solución compuesta por 1.14 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.22 g/l de KH_2PO_4 , 0.092 g/l de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1.92 g/l de C_7H_8 , tolueno. A esta solución, se le adicionan 5 g de compost y 10 g de lodo de la planta de tratamiento de aguas servidas de Pucón. El cultivo se introduce en un Shaker incubator Thermo, modelo 420, a 220 rpm y a una temperatura de 37°C, durante 3 días.

2.2.3 Determinación de la velocidad de crecimiento de los microorganismos.

Con el objetivo de determinar la cinética de crecimiento de los microorganismos, se estudia el crecimiento de la biomasa en un cultivo por lote al cual se proporcionan los nutrientes necesarios y fuente de carbono, para una concentración requerida de 2 g/l.

Días antes de determinar la cinética de crecimiento de los microorganismos, se debe realizar un cultivo de microorganismos en el equipo shaker, de la forma descrita en el punto anterior, de manera que se alcance una alta concentración celular. Luego se preparan una solución de 200 ml de nutrientes, la que servirá de blanco para el método de espectrofotometría.

Luego se adicionan 20 ml de la solución con microorganismos al matraz con nutrientes y se agita en el Shaker a 220 rpm y 37°C durante 5 minutos. Finalizado este tiempo, se toma la muestra al inicio del experimento, midiendo su absorbancia en el

espectrofotómetro a 450 nm; luego cada una hora, de tal forma mantener constante la absorbancia, alcanzando el estado estacionario de los microorganismos, siendo esta la solución final. En este momento se representan los datos obtenidos en un gráfico absorbancia v/s tiempo. De esta solución final, se extraen 40 ml, los que se colocan en un capacho de aluminio, para llevarlo a una estufa a 105°C, determinando la concentración de biomasa mediante la técnica de peso seco.

De la solución final, se realizan una serie de diluciones en tubos de ensayo, determinando su absorbancia, mediante espectrofotometría y su respectiva concentración de biomasa. Luego los datos se representan en un gráfico que relaciona absorbancia v/s concentración.

Posteriormente las absorbancias determinadas en la primera etapa, se interpolan en una curva de calibrado, obteniendo su concentración. Finalmente se representan gráficamente las concentraciones obtenidas en la interpolación anterior v/s los tiempos en los cuales se tomaron las muestras, obteniendo la curva de crecimiento de los microorganismos. La pendiente de la etapa de crecimiento exponencial permite determinar la velocidad de crecimiento de los microorganismos correspondiente a 2 g/l.

2.3 Condiciones de operación del biorreactor.

Durante este estudio se realizó la operación del biorreactor de tipo Airlift, durante un período de 60 días en marcha blanca, con puesta en marcha y régimen de operación normal de 112 días. El biorreactor se operó a distintos flujos de gas contaminante y diferentes purgas de biomasa del biorreactor, que alimentan al sedimentador. La operación del biorreactor luego de la puesta en marcha, se separa en 15 períodos, como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de operación del biorreactor

Período	Días de operación	Condición	F _{aire} (m ³ .h ⁻¹)	F _{biomasa+soporte} (m ³ .h ⁻¹)
0	0-60	Marcha blanca	2.4x10 ⁻²	-
1	61-67	Puesta en marcha y operación normal	2.4x10 ⁻²	25x10 ⁻⁶
2	68-74	Operación normal	2.4x10 ⁻²	33x10 ⁻⁶
3	75-81	Operación normal	3.2x10 ⁻²	25x10 ⁻⁶
4	82-88	Operación normal	3.2x10 ⁻²	33x10 ⁻⁶
5	89-95	Operación normal	4.74x10 ⁻²	25x10 ⁻⁶
6	96-102	Operación normal	4.74x10 ⁻²	33x10 ⁻⁶
7	103-109	Operación normal	6.4x10 ⁻²	25x10 ⁻⁶
8	110-116	Operación normal	6.4x10 ⁻²	33x10 ⁻⁶
9	117-123	Operación normal	0.132	25x10 ⁻⁶
10	124-130	Operación normal	0.132	33x10 ⁻⁶
11	131-137	Operación normal	0.132	21x10 ⁻⁶
12	138-144	Operación normal	0.132	12x10 ⁻⁶
13	145-151	Operación normal	0.132	9x10 ⁻⁶
14	152-158	Operación normal	0.132	6x10 ⁻⁶
15	165-172	Operación normal	0.132	42x10 ⁻⁷

2.4 Medición de parámetros de control.

Durante la operación del biorreactor, se realizó un seguimiento de los parámetros operacionales, tanto de la fase líquida como de la fase gaseosa, los que se describen a continuación:

2.4.1 Temperatura.

Se mide la temperatura, dentro de la cámara calefactora y en el interior del biorreactor. Para ello se registra la temperatura del biorreactor mediante una termocupla tipo K marca Cole-Palmer modelo 08516-55, conectada a un medidor digital marca Extech, la cual debe ser controlada entre 35-38°C, de tal forma de asegurar un óptimo funcionamiento del sistema.

2.4.2 pH

El pH es determinado en forma manual, mediante la utilización de un electrodo marca Hanna Instruments modelo HI 1230 conectado a un medidor marca ORION, modelo 1250-A. El pH es mantenido entre 6.5 y 7.5 agregando una solución de NaOH. Este parámetro debe ser medido todos los días para observar su comportamiento a través del biorreactor en el tiempo.

2.4.3 Cuantificación de biomasa.

Los métodos usados para la cuantificación de la biomasa se describen a continuación.

2.4.3.1 Peso seco.

La estimación de biomasa en suspensión en el biorreactor, se realiza mediante la técnica del peso seco, extrayendo diferentes purgas de sobrenadante en forma diaria del sedimentador, las cuales se depositan en un vaso precipitado. Se deja decantar el soporte durante 10 minutos, para luego retirar la solución sobrenadante con microorganismos en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml, la cual se deja decantar por un período de 5 minutos adicionales, para asegurar la separación de partículas de menor tamaño y evitar así extraer partículas de compost que alteren el análisis.

Posteriormente, se extrae de esta solución 20 ml por medio de una pipeta parcial, la cual se trasvasija a un capacho de papel aluminio previamente secado y pesado (M_1). El capacho es llevado a una estufa marca W.T.C Binder modelo IP 20 a 105°C por 24 hrs, para luego ser pesado en una balanza digital (M_2) marca Bell Engineering. Finalmente conforme a la diferencia de peso respecto del capacho seco, se determina la biomasa y la concentración celular en suspensión en el biorreactor, según la siguiente ecuación:

$$M = \frac{M_1 - M_2}{V} \quad (5)$$

Donde,

M : concentración celular en g de peso seco L^{-1} .

M_1 : peso de la muestra luego de la estufa en g.

M_2 : peso de la muestra después del horno en g.

V : volumen de la muestra inicial, en L.

2.4.3.2 Recuento de bacterias.

La evaluación del crecimiento bacteriano se realizó por el método de recuento en placas con Agar, el cual cuantifica la existencia de unidades formadoras de colonias de bacterias mesófilas aerobias viables. Las actividades se realizaron de acuerdo al método propuesto por el ISP (1998). Este método determina la viabilidad en cuanto a la proporción de la población microbiana capaz de continuar multiplicándose en las condiciones de incubación (Diez *et al.*, 1999).

La solución de dilución consistió en agua destilada, la cual se vierte en botellas microbiológicas, en una cantidad de 99 ml. Se prepara un medio de cultivo de Agar, para lo cual se diluyen 11.3 de g de Agar Plate Count en agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Una vez esterilizados los materiales se comienza la siembra.

Las muestras celulares líquidas fueron diluidas hasta 10^{-7} (siete diluciones), luego 0.1 ml de cada dilución se cultivó en placas de Agar. La dilución se mezcló con el medio fundido y de forma inmediata se movieron las placas con un movimiento de vaivén 5 veces en forma inversa. Una vez solidificado el Agar, se invirtieron las placas rápidamente, para prevenir el crecimiento de colonias invasivas por acumulación de humedad. Las muestras se incubaron en una estufa de a 35°C por 48 horas. Terminado el proceso de incubación, las placas utilizadas para el conteo, fueron aquellas que tuviesen entre 30-300 unidades formadoras de colonias (UFC), según la siguiente ecuación:

$$UFCml^{-1} = \frac{UFC \cdot 0.1}{d} \quad (6)$$

Donde,

$UFC ml^{-1}$: unidades formadoras de colonias por ml de muestra.

UFC : unidades formadoras de colonia en la placa.

d : dilución.

2.4.3.3 Determinación de Proteína.

La medición de proteína se realizó utilizando el Método de Bradford, el cual utiliza como propiedad, la coloración de la sustancia de interés. Este fenómeno se debe al acoplamiento del Azul de Coomassie a la proteína. Normalmente la proteína tiene una lectura de absorbancia a 465 nm, sin coloración, pero al aplicar este método alcanza un máximo de 595 nm, en el cual pueden evitarse las interferencias por aminoácidos y amonio (Mendéz *et al.*, 2000).

Para poder relacionar la concentración de proteína versus la absorbancia, se debe realizar una curva de calibrado. Su elaboración se realizará midiendo las absorbancia a 595 nm, de las distintas muestras que contienen concentraciones conocidas de albúmina de bovino (proteína), en las cuales se ha adicionado el reactivo de Bradford. Para luego medir sus diferentes absorbancias. Con los datos obtenidos debe de obtenerse una correlación lo mas lineal posible.

Las muestras de biomasa que forman la biopelícula sobre los soportes necesitan ser desprendida previa a la cuantificación. Para ello la muestra se somete a un sonicador a ultrasonido durante 5 min.

Preparación del Reactivo de Bradford:

Se disuelven 100 mg de azul de Coomassie en 50 ml de etanol al 95 % (v/v). Se agrega lentamente 100 ml de ácido fosfórico al 85% (p/v). Aforar a 1L con agua desionizada.

Protocolo de medición:

Se adicionan 5 ml de reactivo de Bradford a 0.5 ml de la muestra previamente sonicada y centrifugada. Mezclar y leer la absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro. La medición se realiza 15 minutos después de homogenizar la muestra y contra un blanco. Posteriormente se debe elaborar una solución patrón de albúmina con una concentración de 0.5 mg/ml. Esta solución se prepara disolviendo completamente el sólido de albúmina en tampón fosfato 0.2 M pH 7.8.

Curva de calibrado para proteína

- ❑ Preparar una solución estándar de albúmina de concentración 0.5 mg/ml.
- ❑ Preparar diferentes muestras de concentraciones conocidas desde 20 a 100 μ l, diluyendo la solución patrón con tampón fosfato, hasta lograr un volumen de 0.5 ml.
- ❑ Hacer reaccionar cada muestra con el reactivo de Bradford adicionando 5 ml del reactivo.

- Homogenizar y medir después de 15 minutos en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 595 nm.
- Graficar los datos obtenidos en Absorbancia (595 nm) versus (mg proteína/ml).

La formula para la determinación de concentración de proteína se obtiene despejando de la ecuación de la curva de calibrado (Ecuación 8).

$$Y = m \times x + b \quad (7)$$

Donde:

Y :valores de Absorbancia (595 nm).

m : pendiente de la recta obtenida a partir de los datos experimentales.

x : valores de concentración de proteína (mg/l)

b : coeficiente de regresión obtenido a partir de los datos experimentales.

La formula que permitió obtener la concentración de proteína en cada muestra es:

$$[proteína] = \frac{Abs - b}{m} * f \quad (8)$$

Donde:

$[proteína]$ = concentración de proteína (mg/l).

Abs = absorbancia a 595 nm.

f = factor de dilución.

El factor de dilución se aplica a las muestras que tienen concentraciones de proteína fuera del rango de las concentraciones de la curva de calibrado.

2.4.4.4 Determinación de la concentración de tolueno.

La concentración de tolueno se determina en la entrada y salida del biorreactor, mediante la técnica de cromatografía gaseosa. El cromatógrafo de gases utilizado en las mediciones, corresponde a un equipo marca Perkin Elmer, modelo Clarus 500. Por su parte el cromatógrafo registra un tiempo de retención del tolueno de 0.4 minutos y a su vez, el nitrógeno fue utilizado como gas portador. El área de los cromatogramas entregados por el equipo, se determinó utilizando el programa computacional Total Chrom Work Station, versión 6.2.

Para la toma de muestra, a la salida del gas desde el biorreactor, es conectado un bulbo de vidrio de 500 ml, el cual cuenta con válvulas en sus extremos que permiten mantener la muestra de gas en su interior, sin que esta se libere. Además el bulbo cuenta con una septa por donde se introduce la jeringa para sacar la muestra que se inyectará en el equipo de cromatografía. Para la extracción de la muestra se utiliza una jeringa para gases de 5 ml marca SGE, modelo P/N 008775, y el volumen de gas inyectado correspondió a 1 ml.

La toma de muestra de aire contaminado a la entrada del reactor es semejante a la de la salida de este, con la salvedad que cuando se conecta el bulbo a la tubería de entrada, es necesario girar la válvula de entrada de gas al biorreactor de tal forma que la totalidad del flujo sea desviado al bulbo y no al biorreactor. Una vez obtenidas las áreas de las concentraciones conocidas, se realiza la curva de calibrado, obteniendo las concentraciones de las áreas de entrada y salida del reactor.

Elaboración de la curva de calibrado:

Una vez que se han obtenido las áreas correspondientes a cada pico, se procedió a determinar la concentración de tolueno, mediante la elaboración de una curva de calibrado (ver Anexo 8.2.).

Se conecta un bulbo de 500 ml a la salida del compresor de aire. Para asegurar que el aire se encuentre en altas condiciones de pureza, seguido del compresor se conecta un filtro de aire. Mientras ambas válvulas del bulbo se encuentran abiertas, se deja pasar un flujo de aire hasta que desplace totalmente. Después de 5 minutos, se cierran ambas válvulas del bulbo. Posteriormente se inyecta un volumen determinado de tolueno líquido al bulbo, con concentración conocida, por medio de una jeringa de líquidos. Luego se lleva el bulbo a una estufa a 105°C, durante 1 minuto, de tal forma que ocurra la evaporación del tolueno. Transcurrido ese tiempo, se extrae una muestra de tolueno, por medio de una jeringa para gases, la cual es inyectada y analizada por medio del cromatógrafo de gases, obteniendo el área correspondiente.

El protocolo para obtener las áreas de las sucesivas concentraciones conocidas, es semejante al descrito, con la salvedad que cuando se termina una medición, se hace pasar aire nuevamente, para asegurar una total renovación de este. Además se debe tener presente, que luego de una medición, se debe cebar 6 veces la jeringa de gases para posteriormente extraer otro volumen de muestra.

2.4.5 Determinación de la eficiencia y capacidad de eliminación del sistema.

Una vez obtenida las concentraciones de entrada y salida del biorreactor, se determina la eficacia (ξ) y capacidad de eliminación (CE) de tolueno, en función de la carga de tolueno (TL), flujo de gas y concentración de entrada de tolueno. Por lo tanto, la expresiones con las cuales se determinan estos parámetros quedan expresada en las siguientes ecuaciones (Jorio *et al.*, 2000).

$$TL = \frac{Q}{V_V} C_{go} \quad (9)$$

$$\xi = \left(\frac{C_{go} - C_{gs}}{C_{go}} \right) \cdot 100 \quad (10)$$

$$CE = \frac{Q}{V_V} (C_{go} - C_{gs}) \quad (11)$$

Donde:

TL : carga de tolueno, $\text{g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$

Q : flujo de gas, $\text{m}^3.\text{h}^{-1}$

V_V : volumen del reactor, m^3

C_{go} : concentración de entrada de tolueno, g.m^{-3}

C_{gs} : concentración de salida de tolueno, g.m^{-3}

ξ : eficiencia de eliminación, %

CE : capacidad de eliminación, $\text{g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$

3. RESULTADOS

El trabajo experimental que se presenta a continuación, consta de dos etapas: en la primera de ellas se muestra la determinación de la velocidad de crecimiento de los microorganismos y resultados operacionales que plantean soluciones para el control de las variables del proceso de tratamiento, y en la segunda etapa se da a conocer el análisis estadístico de las técnicas de cuantificación de biomasa.

3.1 Etapa 1: Velocidad de crecimiento de los microorganismos y operación del biorreactor.

3.1.1 Velocidad de crecimiento de los microorganismos.

Se observa en la Figura 3.1, la cinética de crecimiento de los microorganismos degradadores de tolueno. En general se puede apreciar, que la primera etapa de la curva de crecimiento microbiano corresponde a la etapa de latencia, desarrollada durante 9 horas, dado una lenta degradación de la fuente de carbono. Inmediatamente después, se observa la etapa de crecimiento exponencial, momento en el cual el crecimiento celular se ve favorecido por un aumento de la biodegradación.

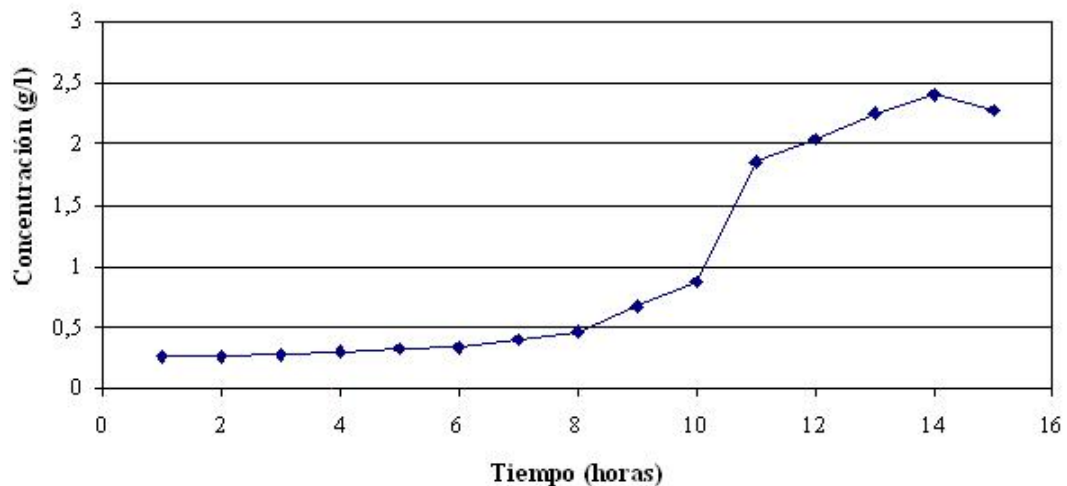


Figura 3.1 Curva de crecimiento de los microorganismos degradadores de tolueno.

Luego de la fase exponencial, el desarrollo microbiano se mantiene en estado estacionario, donde prácticamente no se observa desarrollo microbiano debido al déficit de elementos esenciales para su metabolismo. Para la determinación de la velocidad de crecimiento de los microorganismos, se consideran los puntos de la curva correspondientes a la etapa de crecimiento exponencial. La pendiente de este segmento, entrega la velocidad de crecimiento, que en este caso corresponde a 0.38 h^{-1} .

La curva de calibración utilizada para determinar la cinética de crecimiento de los microorganismos, se muestra en el Anexo 8.1.

3.1.2 Operación del Biorreactor.

El biorreactor fue operado durante un período de 60 días en marcha blanca, con puesta en marcha y régimen de operación normal de 112 días. El biorreactor se operó a flujos de gas; $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, $3.2 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, $4.74 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, $6.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ y $0.132 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. La concentración de entrada de tolueno, varió entre 13.27 y 37.06 gm^{-3} .

Durante el tiempo de operación, se realizaron tres pruebas experimentales: la primera consistió en operar a una purga de biomasa del biorreactor que alimenta al sedimentador, de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ y la segunda a una purga mayor de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. En ambas pruebas se trabajó con la totalidad de los flujos de gas, donde el objetivo buscado fue mantener constante la biomasa en suspensión en el biorreactor para una estricta comparación entre los flujos ensayados. La tercera prueba experimental consistió en la regulación de diversos volúmenes de purgas de biomasa del biorreactor (un total de siete sometidas a estudio), en un rango de 42×10^{-7} a $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, con la finalidad de

determinar cual de ellas, permite lograr una mayor eficiencia y capacidad de eliminación ante un flujo elevado de gas.

Una vez indicado el marco de análisis respecto de las pruebas experimentales, se presenta la operación del biorreactor Airlift, el cual se observa y discute en términos de la carga de tolueno, de la eficiencia de eliminación y de la capacidad de eliminación, de acuerdo a lo descrito en la sección de materiales y métodos.

3.1.2.1 Comportamiento del pH.

Como se observa en la Figura 3.2, el pH se mantuvo en un rango de operación entre 6.5 y 7.5. Siendo su valor máximo de 7.5 y su mínimo de 5.9. El control del pH en el rango adecuado de trabajo, se logro mediante la adición de una solución buffer (NaOH).

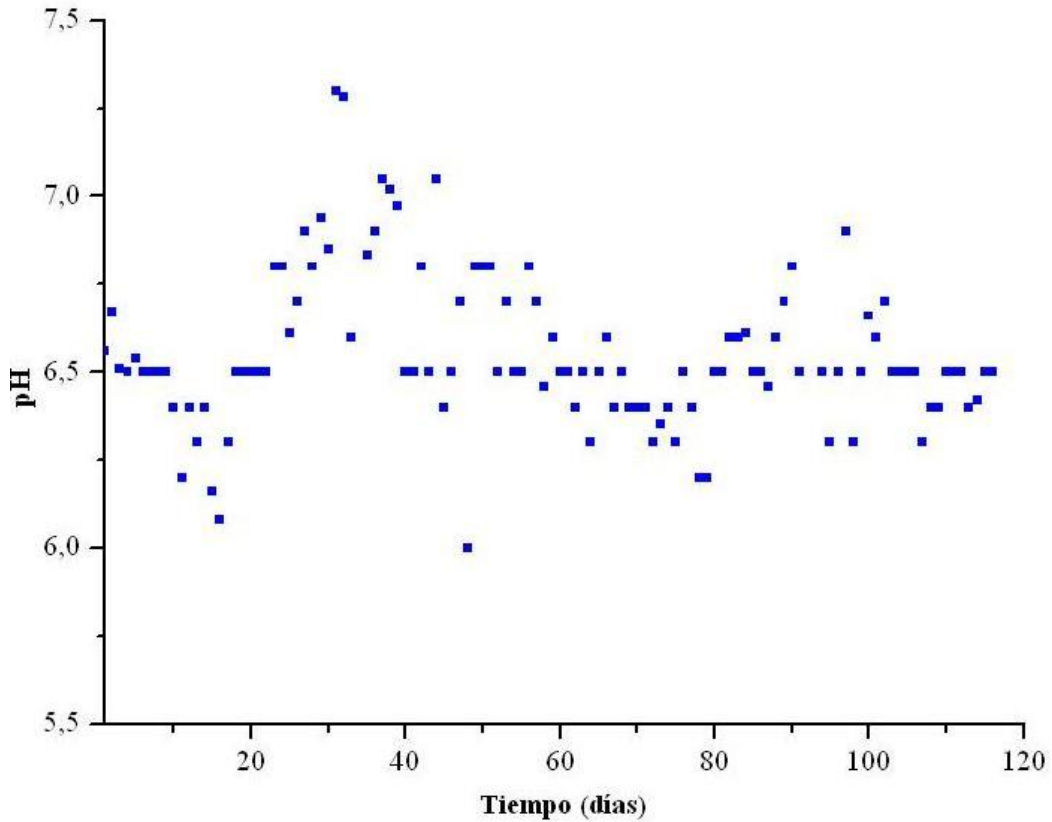


Figura 3.2 Variación del pH en el biorreactor durante el período de operación.

La Figura 3.2 muestra una tendencia relativamente estable de pH en un rango de 6 a 7. Esto refleja que existe una estabilidad en el funcionamiento del sistema, lo que se ve reflejado en un incremento de las reacciones de degradación de los microorganismos, dado un aumento de biomasa en el reactor. Sin embargo, el pH registro valores menores, que se escapan del rango de operación, como el observado en el día 14, el cual registra un valor de 5.9.

3.1.2.2 Efecto de la temperatura en la Capacidad de eliminación.

i) Primera prueba experimental

La Figura 3.3 muestra un período de operación normal de 35 días, en el que se aprecia la relación entre la CE del sistema y la temperatura del medio, para una purga de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. En general se observa que al aumentar la temperatura del medio, la CE también aumenta.

Durante los primeros 3 días, para un flujo de $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ y concentración de entrada de tolueno de 37.06 g/m^3 , la temperatura inicial del reactor es de 28°C . Un posterior aumento de temperatura a 30°C va acompañado por un aumento de la CE de 400 a $430 \text{ gm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. A partir del día 8, la temperatura aumenta de 30 a 37°C , observando que la CE se mantiene en un rango entre 410 a $395 \text{ gm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, aún existiendo un aumento de un 32 % del flujo de gas con una concentración de entrada de tolueno de 31.26 g/m^3 . Luego del día 13 de operación, el flujo de gas aumenta a $4.74 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, con una concentración de tolueno de 28.55 g/m^3 , período en el cual la temperatura alcanza su valor máximo de 40°C , mientras que la CE se reduce a $307 \text{ gm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

Posteriormente, el flujo de gas aumenta a un 450 %, manteniéndose la temperatura en su valor adecuado (34 - 37°C), generando la máxima CE, correspondiente a $525 \text{ gm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, lo que se relaciona con el aumento del flujo de gas que se ve equiparado por una disminución de la diferencia de la concentración de entrada y salida del biorreactor, ya sea por una baja concentración de entrada de tolueno (15 g/m^3), o porque no se logra una

buena eficiencia de eliminación. Por lo tanto el flujo de gas en este caso provoca un aumento de la CE

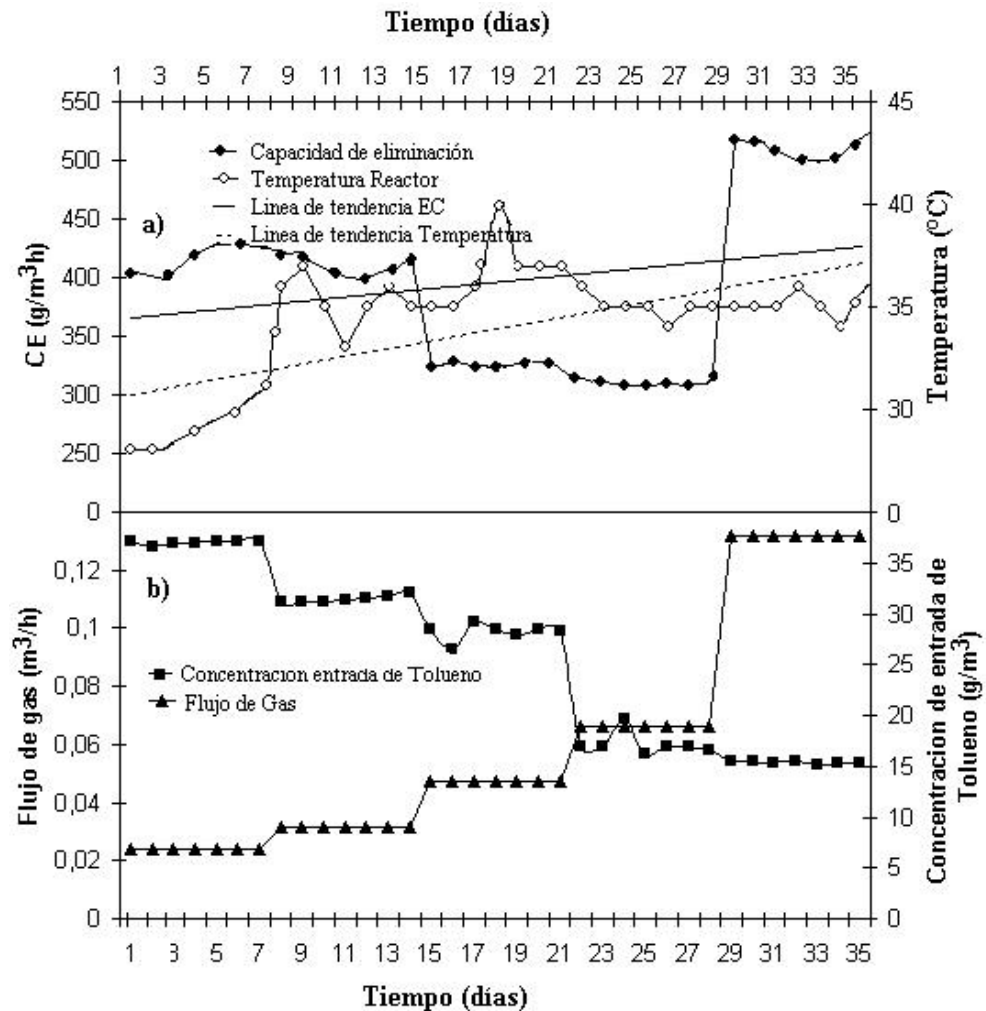


Figura 3.3 a) Flujo de gas y concentración de entrada tolueno en el tiempo.
b) Capacidad de eliminación y temperatura del biorreactor en el tiempo.

ii) Segunda prueba experimental

La Figura 3.4 muestra un período de operación normal de 35 días, en el que se aprecia la relación entre la CE del sistema y la temperatura del medio, para una purga de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. En la Figura 3.4, se aprecia que para un flujo de gas de $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$

y concentración de tolueno de entrada de 35.38 g/m^3 , la temperatura del reactor muestra una tendencia estable, manteniendo un valor óptimo de 35°C , producto de la utilización de un controlador de temperatura. Esta estabilidad tiene directa relación con el comportamiento de la CE, presentando un valor promedio de $380 \text{ gm}^3\text{h}^{-1}$.

A continuación el flujo de gas aumenta a $3.2 \times 10^{-2} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ presentando una concentración de entrada de tolueno de 29.89 g/m^3 , mientras que la temperatura baja de 37 a 35°C , causando una disminución de la CE de 375 a $350 \text{ gm}^3\text{h}^{-1}$. A partir del día 15 de operación, el flujo de gas aumenta a $4.74 \times 10^{-2} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ con una concentración de tolueno de 28.55 g/m^3 , la temperatura al mismo tiempo alcanza su valor máximo de 42°C , lo que coincide con el aumento de la CE, que alcanza un valor máximo de $404 \text{ gm}^3\text{h}^{-1}$.

A partir del día 21, el flujo de gas aumenta a $6.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ con una concentración de entrada de tolueno es 16.97 g/m^3 , generando inicialmente una disminución de temperatura a 33°C , que viene acompañada por una disminución progresiva de la CE de 404 a $340 \text{ gm}^3\text{h}^{-1}$. Finalmente en el flujo final, de $0.132 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, cuya concentración de entrada de tolueno es de 13.27 g/m^3 , la temperatura presenta una disminución de 38 a 34°C , mientras que la CE se mantiene en un rango de 370 a $380 \text{ gm}^3\text{h}^{-1}$.

Para una estricta comparación entre ambas pruebas experimentales antes descritas, fue indispensable mantener ciertas variables de operación constantes, como temperatura del biorreactor y concentración de entrada de tolueno. Sin embargo, dado que en la primera prueba experimental, no se contó con el controlador de temperatura y en la etapa final de la segunda prueba se registraron fallas en el sistema de control, ello junto con la imposibilidad de mantener la concentración de tolueno constante en la corriente de

entrada, todo lo cual implica que la variación entre ambas pruebas experimentales. Por lo tanto la comparación de CE entre los diversos flujos, debe necesariamente ser analizada tomando en consideración los aspectos mencionados.

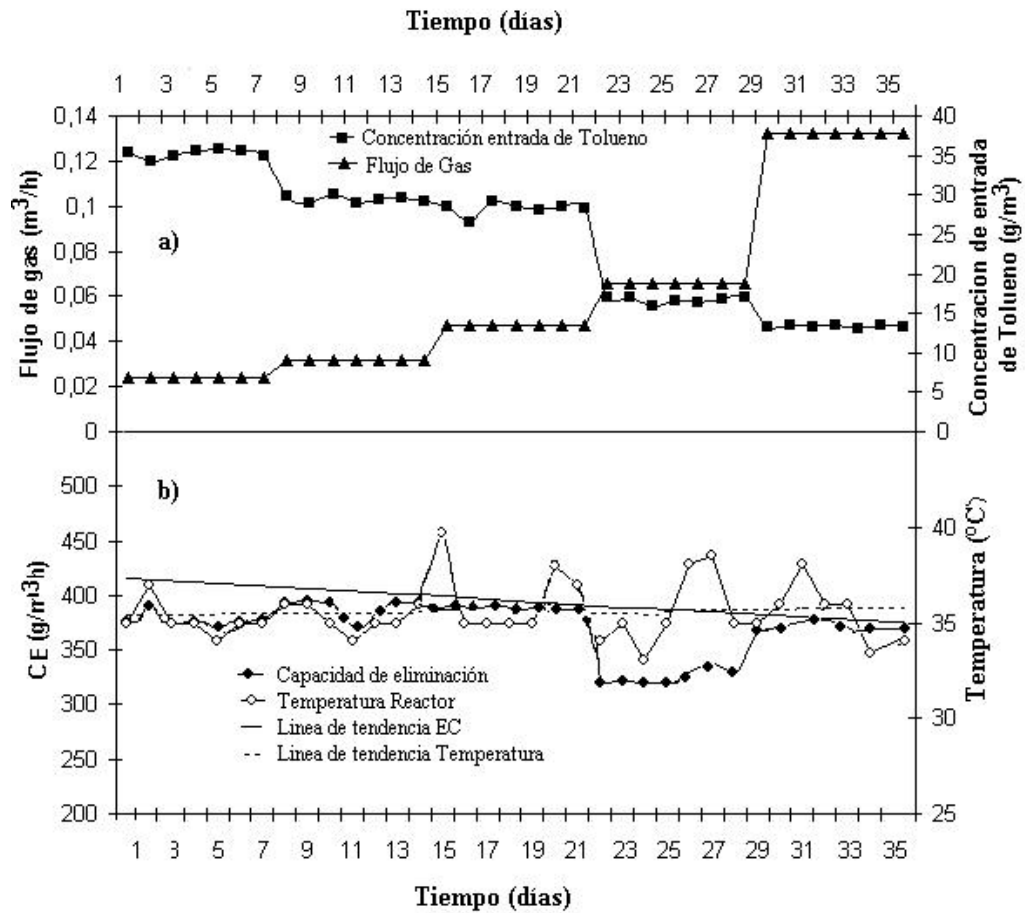


Figura 3.4 a) Flujo de gas y concentración de entrada tolueno en el tiempo. b) Capacidad de eliminación y temperatura del biorreactor en el tiempo.

iii) Tercera prueba experimental

En la Figura 3.5, se observa que para la purga de biomasa de $35 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{h}$ y concentración de tolueno de entrada de 13.27 g/m^3 , la temperatura presenta una disminución de 35 a 33°C observando que la CE se mantiene en un rango de 370 a $380 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$. Posteriormente a partir del día 8, la purga de biomasa disminuye en un 6% , siendo la concentración de entrada de tolueno igual a 15.37 g/m^3 . En este período la temperatura del biorreactor, presenta su valor máximo correspondiente a 42°C producto de fallas en su control. Este aumento va acompañado de una disminución de CE, que baja de 500 a $470 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$. Luego de esto, en la purga de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, con concentración de entrada de 13.27 g/m^3 , se genera inicialmente una disminución de temperatura a 35°C , con una consecuente disminución de la CE. La tendencia general de la variación de la CE contra la temperatura, en las purgas de biomasa de $21 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{h}$, $84 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{h}$, $6 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{h}$ y $42 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{h}$, con concentraciones celulares de 4000 g/m^3 , 5500 g/m^3 , 6000 g/m^3 y 6500 g/m^3 , respectivamente, es un comportamiento similar, ya que la CE aumenta progresivamente alcanzado un valor máximo de $670 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$. Estos resultados revelan que la capacidad de eliminación, es mayor para menores extracciones de purgas de biorreactor, siendo claramente dependientes de la mantención de la temperatura y concentración de entrada de tolueno en un rango adecuado.

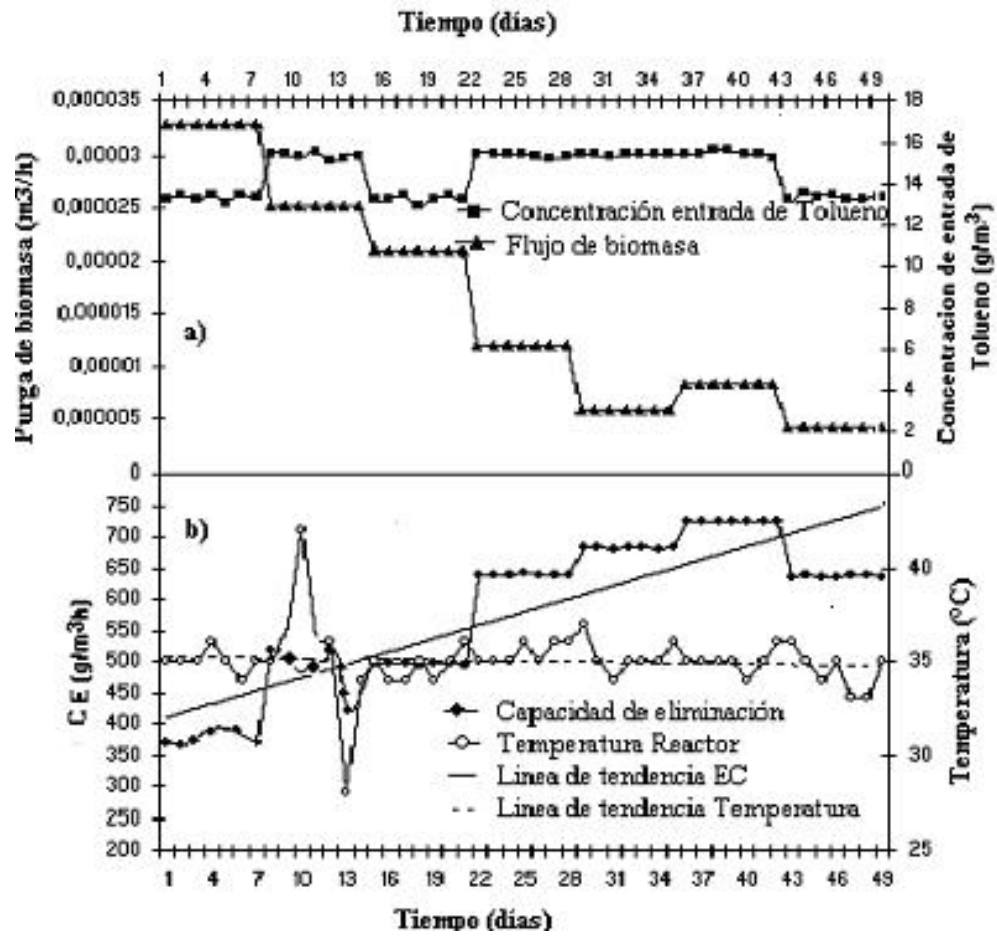


Figura 3.5 a) Purga de biomasa y concentración de entrada tolueno en l tiempo.
 b) Capacidad de eliminación y temperatura del biorreactor en el tiempo

3.1.2.3 Variación de la eficiencia de eliminación con la carga de tolueno.

i) Primera prueba experimental

En la Figura 3.6, se muestra el efecto de la carga de tolueno sobre la eficiencia de eliminación de tolueno, para la purga de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

Según lo observado en la Figura 3.6, el aumento en la entrada de TL tiene un efecto inverso en la eficacia de eliminación del sistema. Cuando se aumenta la entrada TL en un 22% (desde 450 a 550 gm^3h^{-1}), la concentración celular varía en un 42 % (desde 7000 a 4000 g/m^3), con lo cual se tiene un efecto importante en la ξ que varía en un 28 % (desde del 98% al 70%). Sin embargo, con aumentos en el TL de hasta 122%, la concentración celular disminuye en un 63 %, reduciéndose la ξ hasta el 63 %.

La Figura 3.6, también muestra la caída de ξ con el aumento de un 450% en el flujo de gas (entre $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ y $0.132 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$). Se observa que el sistema es sensible a aumentos de flujo de gas, disminuyendo significativamente la ξ , del 98% hasta el 50% cuando el flujo inicial de gas se incrementa de $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ y $0.132 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, siendo sus concentraciones celulares de 7000 g/m^3 y 2500 g/m^3 , respectivamente. Este comportamiento se debe a que el aumento de la carga de gas contaminado, lleva asociado una disminución del tiempo de residencia de la fase gaseosa en el biorreactor disminuyendo la cantidad de contaminante que se solubiliza en el medio líquido.

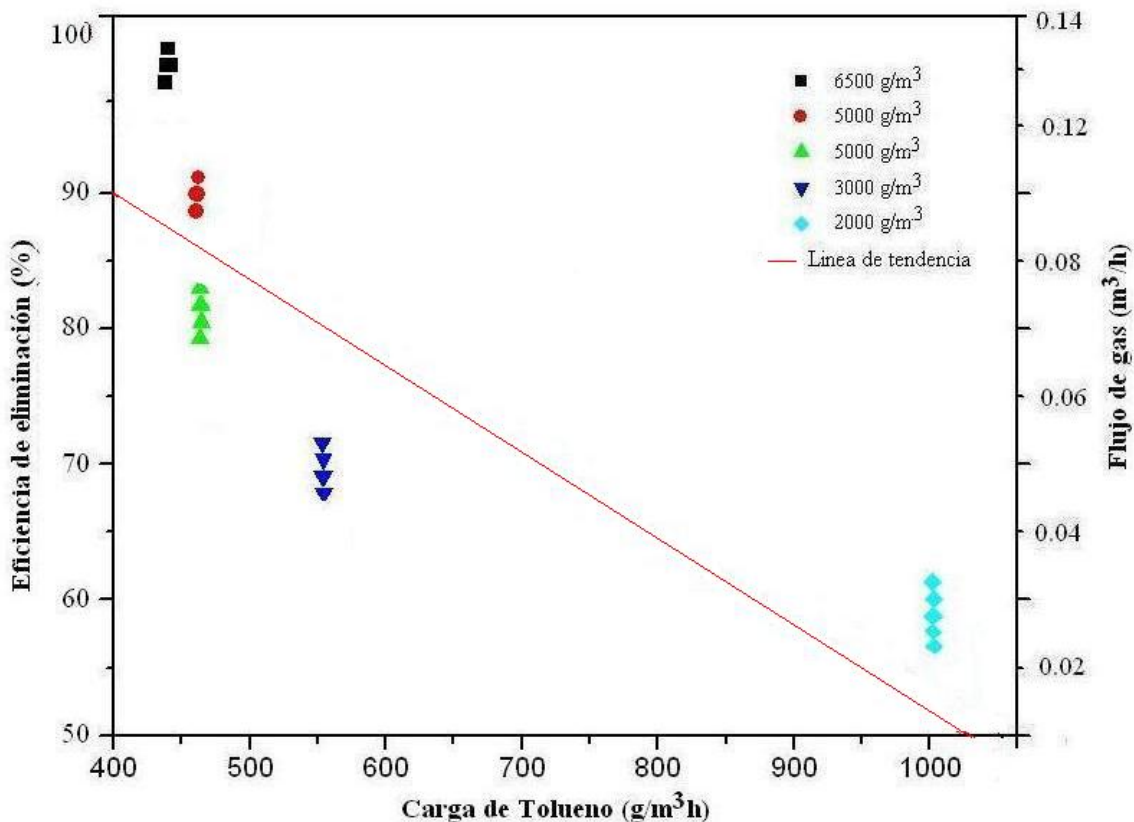


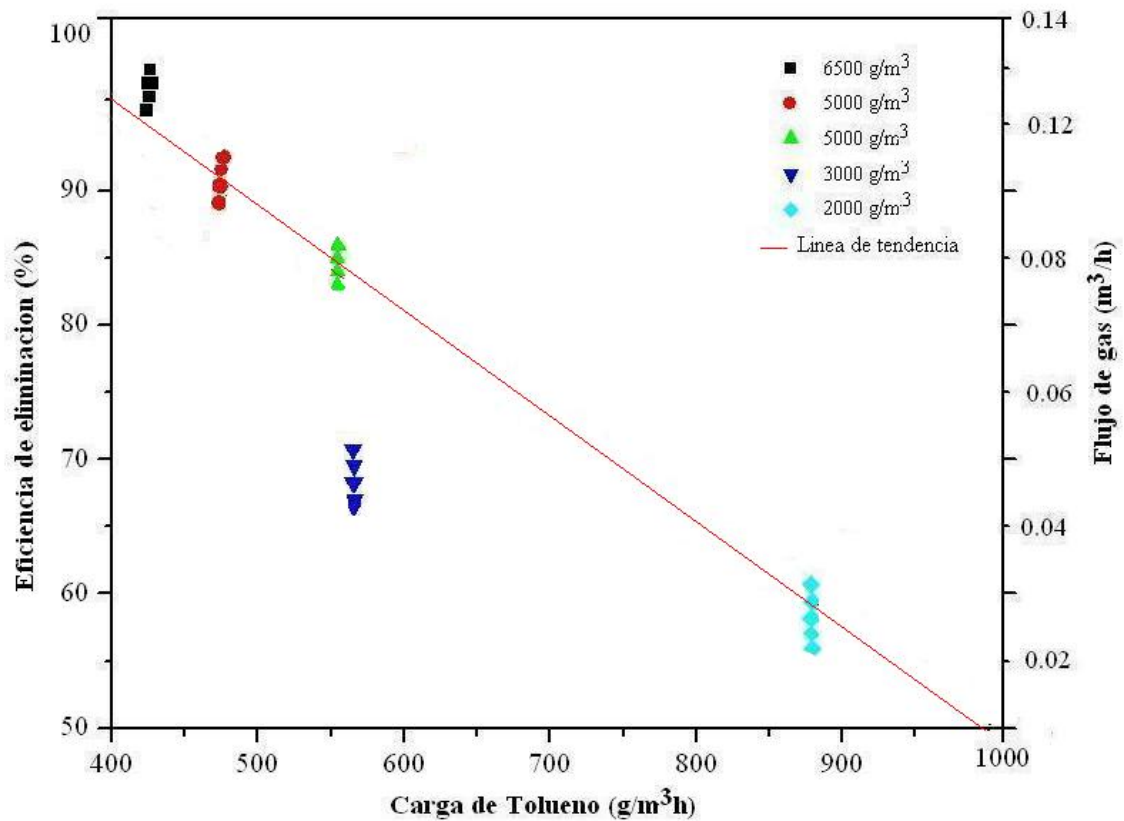
Figura 3.6 Variación de la ξ del sistema Airlift en función de TL, flujos de gas y concentración celular

ii) Segunda prueba experimental

En la Figura 37, se muestra el efecto de la carga de tolueno sobre la eficiencia de eliminación de tolueno, para la purga de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

Como se aprecia en la Figura 3.7, el aumento en el ingreso de TL tiene un efecto inverso en la ξ , lo cual se verifica, cuando la TL aumenta en un 23 % (desde 450 a 554 $\text{g/m}^3 \cdot \text{h}$), disminuyendo su concentración celular de 6500 g/m^3 a 3000 g/m^3 , lo cual ocasiona la variación del 40.61% de la ξ (desde 98% al 58%). Además la Figura 3.7, indica que al

aumentar el flujo de gas, disminuye la concentración celular en el biorreactor y como consecuencia su ξ .



se debe, a la variación existente en la concentración de entrada de tolueno, lo que se explica en una variación de temperatura en el sistema de saturación de tolueno, desencadenando aumentos importantes de tolueno en el flujo de salida del saturador, dado a que la temperatura juega un rol destacable al afectar la volatilidad del tolueno.

En la Figura 3.8, es posible apreciar, que la entrada de TL se mantiene constante en un valor de $870 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$, para la purgas de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, $21 \times 10^{-6} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ y $42 \times 10^{-7} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, las que presentan concentraciones celulares de 2000 g/m^3 , 4000 g/m^3 y 7000 g/m^3 , respectivamente. Además se aprecia que la ξ del sistema, varía significativamente con respecto a cada purga de biomasa, en un 40% (desde 98% al 58%),

Para las purgas de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, $12 \times 10^{-6} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, $9 \times 10^{-6} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ y $6 \times 10^{-6} \text{ m}^3\text{h}^{-1}$, sus concentraciones celulares aumentan a 2500 g/m^3 , 5500 g/m^3 , 6000 g/m^3 y 6500 g/m^3 respectivamente, manteniéndose constante la TL cuyo valor es $1100 \text{ g.m}^{-3}\text{h}^{-1}$, es así como la ξ se incrementa significativamente, variando en un 27% (desde 65 a 92 %). Eso indica que el sistema es sensible a la concentración de biomasa en el biorreactor, lo cual es una consecuencia directa de las purgas de biomasa.

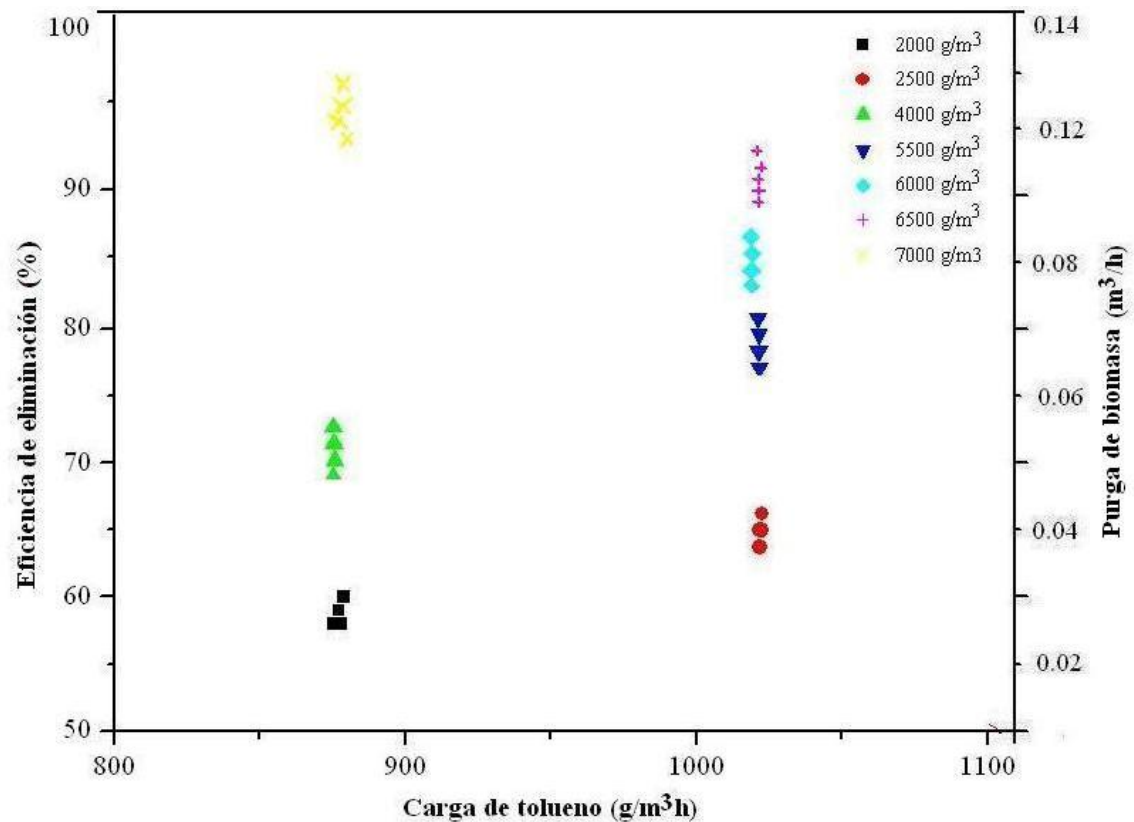


Figura 3.8 Variación de la ξ del sistema Airlift, en función de TL, purgas de biomasa y concentración celular.

3.1.2.4 Variación de la concentración de biomasa en diferentes concentraciones de entrada de tolueno.

i) Primera prueba experimental

La evaluación del efecto de la concentración de entrada de tolueno sobre la concentración de biomasa, para una purga de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, se observa en la Figura 3.9. En ella es posible apreciar que a medida que aumenta el flujo de gas a tratar, la concentración de tolueno que ingresa al biorreactor desciende, generando una disminución de sustrato disponible para que los microorganismos desarrollen sus actividades metabólicas. Esto se traduce en una menor biodegradación de la sustancia,

reflejado en una disminución de la concentración de biomasa y por consiguiente en una disminución de la eficiencia de eliminación de tolueno.

Para un flujo de gas contaminado de $2.4 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, la concentración de entrada de tolueno registra su máximo valor, correspondiente a $37.06 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, alcanzando una concentración de biomasa de $7000 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ y una eficiencia de eliminación de 98 %. Sin embargo, para los flujo de gas de 6.4×10^{-2} y $0.132 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, con concentraciones de entrada de tolueno de 16.7 y $15.4 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, bajan las concentraciones de biomasa de 4000 y $2500 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, respectivamente, logrando obtener eficiencias de eliminación de un 70 y 64 %, respectivamente.

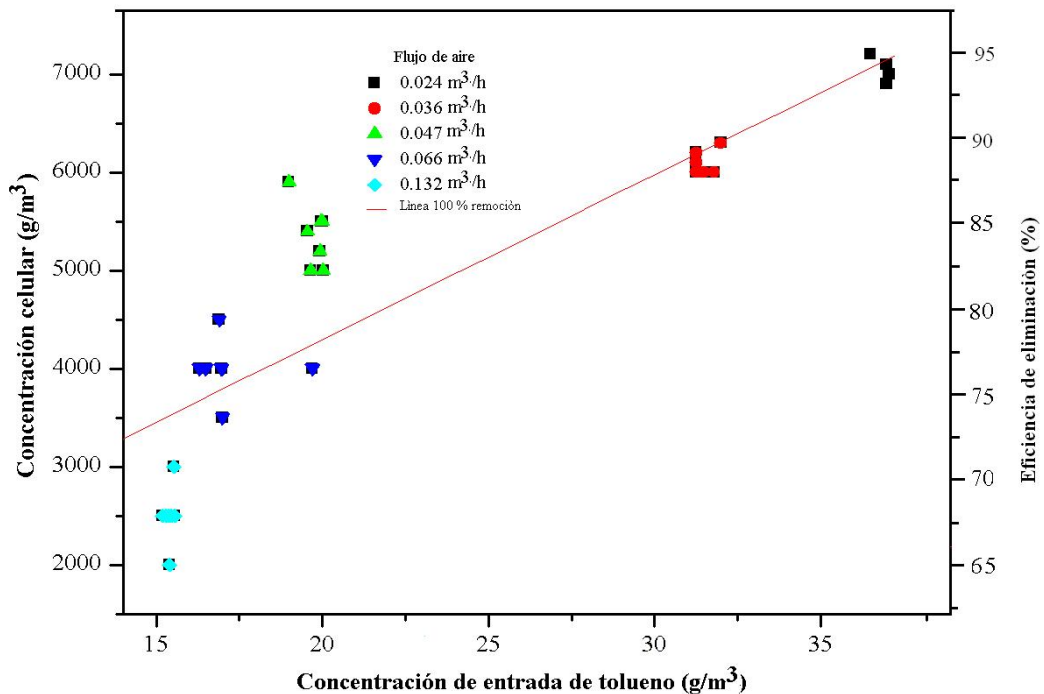


Figura 3.9 Variación de la concentración celular del sistema, en función de la concentración de entrada de tolueno.

ii) Segunda prueba experimental

La evaluación del efecto de la concentración de entrada de tolueno sobre la concentración de biomasa, para una purga de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, se aprecia en la Figura 3.10.

La Figura 3.10, presenta una tendencia similar a la primera prueba experimental, apreciándose que la concentración de entrada de tolueno, se encuentra directamente relacionada con la concentración de biomasa del biorreactor, registrándose un valor máximo de concentración de biomasa de $6500 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ en el flujo de gas de $2.4 \times 10^{-2} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, con concentración de entrada de $35.38 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, logrando obtener una eficiencia de eliminación del 97 %.

Por el contrario, en el periodo analizado, cuando la concentración de entrada de tolueno alcanza su concentración más baja ($28.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$), se registra la menor concentración de biomasa ($2000 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$) y por consiguiente se obtiene una eficiencia de eliminación de 58 %.

Cabe destaca, conforme a lo anteriormente señalado, que en ambas pruebas experimentales (Figuras 3.8 y 3.9), a pesar de trabajar en equidad de condiciones experimentales, igualmente existieron ciertas diferencias de parámetros, tales como temperatura, concentración de entrada de tolueno y sobre todo concentración de biomasa. Por lo tanto un cambio de concentración de tolueno que ingresa al biorreactor, afecta considerablemente la concentración de biomasa, parámetro sensible y crucial para obtener una determinada eficiencia de eliminación del contaminante.

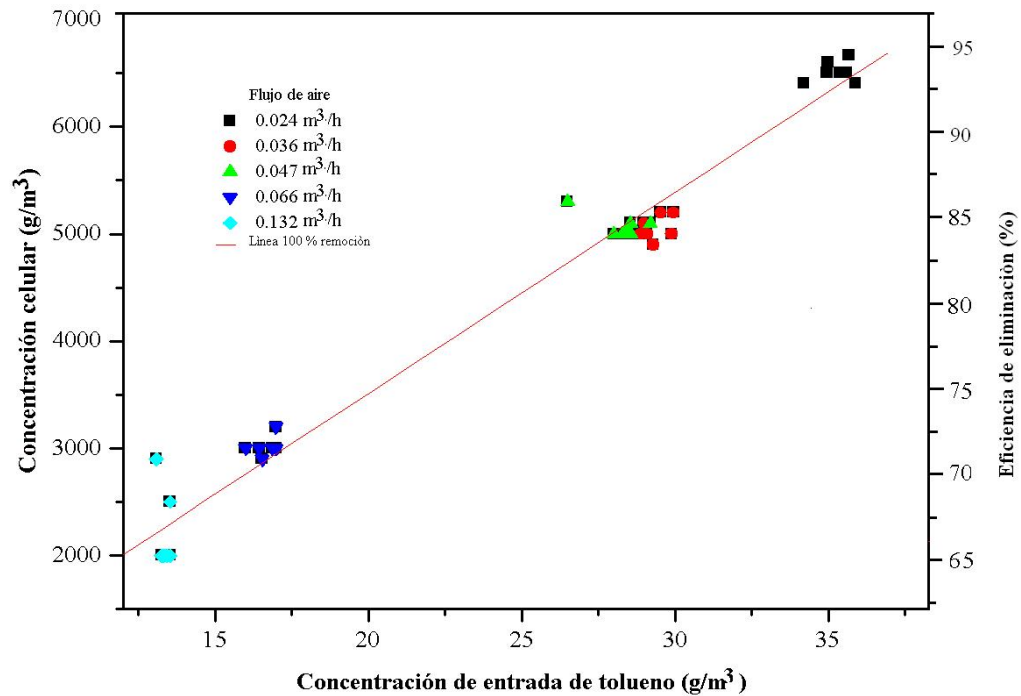


Figura 3.10 Variación de la concentración celular del sistema, en función de la concentración de entrada de tolueno.

iii) Tercera prueba experimental

En la Figura 3.11, se observa la operación con distintas purgas de biomasa que alimentan al sedimentador, para lo cual se operó con el mayor flujo de gas, correspondiente a $0.132 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, con una concentración de entrada de tolueno relativamente constante, la cual fluctúa entre 13.3 a $15.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$.

En esta gráfica se aprecia que para las purgas de biomasa de 33×10^{-6} y $21 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, la concentración de entrada de tolueno se mantiene en un valor de $13.3 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, presentando concentraciones celulares de 2000 y $4000 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ y por consiguiente eficiencias de

eliminación de 58 y 64,5, respectivamente. Respecto a las purgas de biomasa de 25×10^{-6} , 12×10^{-6} , 9×10^{-6} , 6×10^{-6} y $42 \times 10^{-7} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, la concentración de entrada de tolueno se mantiene en $15.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, salvo en el último flujo de biomasa, que presenta un valor de $13.3 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ aumentando la concentración celular a 2500, 5500, 6000, 6500 y 7000 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$, respectivamente, lo que repercute directamente en un aumento en la eficiencia de eliminación, lográndose alcanzar valores de 64, 79, 84, 90 y 98 %.

Es importante señalar, de acuerdo a los resultados revelados, que el sistema es flexible ante aumentos de flujo de gas contaminado, logrando mantener una mayor concentración de biomasa en el biorreactor, a medida que se disminuyen las purgas de biomasa, logrando así, conseguir eficiencias de eliminación en un valor adecuado.

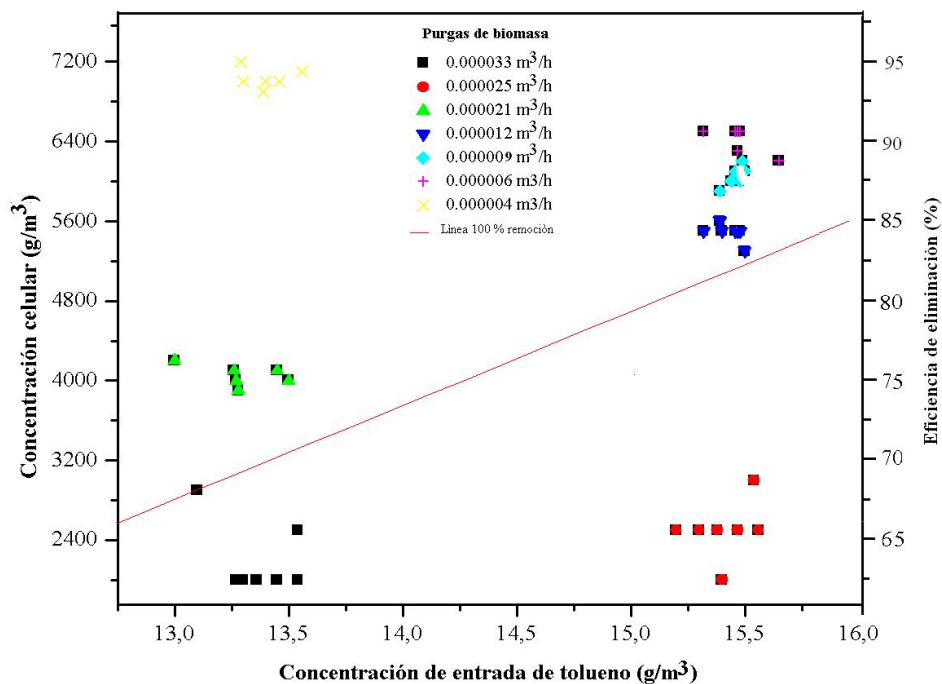


Figura 3. 11 Variación de la concentración celular del sistema en función de la concentración de entrada de tolueno.

3.1.2.5 Efecto de la carga de tolueno en la capacidad de eliminación.

i) Primera prueba experimental

La evaluación del efecto de la TL sobre la CE, para una purga de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, se aprecia en la Figura 3.12. En ella es posible observar que la TL varía de 444 a $1021 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$, presentando un comportamiento lineal respecto de CE, la cual registra valores de 320 a $517 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$.

Es importante señalar, que el comportamiento anterior, es causado por la baja concentración de entrada de tolueno, registrada por parte de una alta TL, lo cual conlleva a que ambas variables tengan prácticamente la misma proporcionalidad. En la Figura 3.12, se aprecia además, que el 100 % de la eliminación del contaminante, se alcanza solamente con cargas menores de $450 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. Es por esto, que cuando aumenta TL, la CE también aumenta alcanzando un valor máximo de $517 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. En la Figura 3.12, se observa, que para cantidades de tolueno de hasta $1021 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ (TLcrit), el factor limitador en el funcionamiento del sistema es la transferencia de masa. Este comportamiento se puede describir como zona de limitación por difusión.

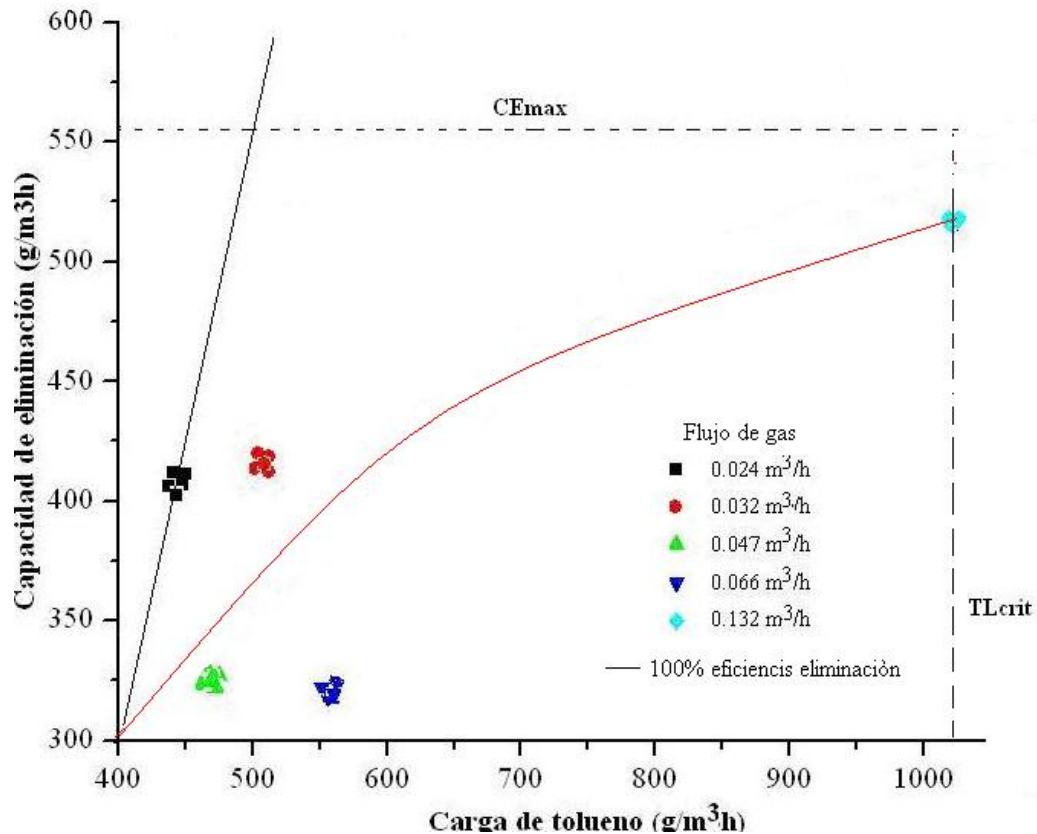


Figura 3.12 Variación de la CE con respecto a la TL.

ii) Segunda prueba experimental

La evaluación del efecto de la TL sobre la CE, para una purga de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, se aprecia en la Figura 3.13. En ella, se observa un comportamiento similar a la prueba anterior, ya que para los flujos de gas de 2.4×10^{-2} , 3.2×10^{-2} y $4.74 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, la CE del tolueno varía en forma lineal con respecto a la carga de tolueno, presentando valores de 375, 390 y 404 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$, para TL de 424, 474 y 554 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. Para los flujos de gas más elevados, como 6.4×10^{-2} y $0.132 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, el aumento de la entrada de la TL, tiene un efecto inverso en la CE del sistema, presentando valores de 320 y 360 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$, para TL de 560 y 878 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ respectivamente.

Cabe destacar, que la tendencia general de la variación de la CE con respecto a la TL, demuestra un aumento de CE, al aumentar la TL, con la salvedad que solo a cierto valor esto depende del flujo de gas contaminado, ya que en la Figura 3.13, demuestra que el 100 % de la eficiencia de eliminación, se alcanza en TL menores de $430 \text{ g.m}^{-3}\text{h}^{-1}$, encontrándose el TLcrit de $878 \text{ g.m}^{-3}\text{.h}^{-1}$.

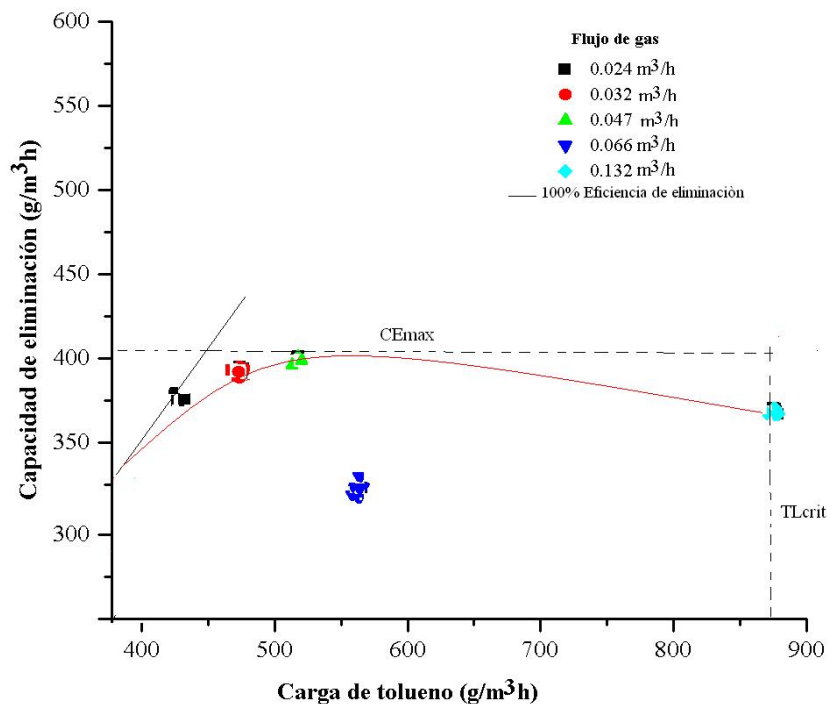


Figura 3.13 Variación de la CE con respecto a la TL.

iii) Tercera prueba experimental

En la Figura 3.14, se revela una TL relativamente constante, la cual se encuentra en un rango de 875 a $1021 \text{ g.m}^{-3}\text{h}^{-1}$. Se aprecia además que para los flujos de biomasa de 33×10^{-6} , 25×10^{-6} y $21 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ la concentración de entrada de tolueno se mantiene en

un promedio de 875 g/m^3 , presentando una CE de 367, 517 y $495 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$, respectivamente. Sin embargo para las menores purgas de biomasa en el biorreactor, como 12×10^{-6} , 9×10^{-6} , 6×10^{-6} y $42 \times 10^{-7} \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$, la CE en TL relativamente constante, aumenta progresivamente, obteniendo un máximo valor de $723.5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$.

El análisis del funcionamiento del biorreactor en esta prueba, demuestra que la CE en TL relativamente constante, aumenta a medida que disminuyen las purgas de biomasa en el biorreactor, no lográndose obtener un TL_{crit} , ya que la disminución progresiva de las purgas de biomasa, provoca el aumento de la población bacteriana, lo cual repercute en aumentos de la CE.

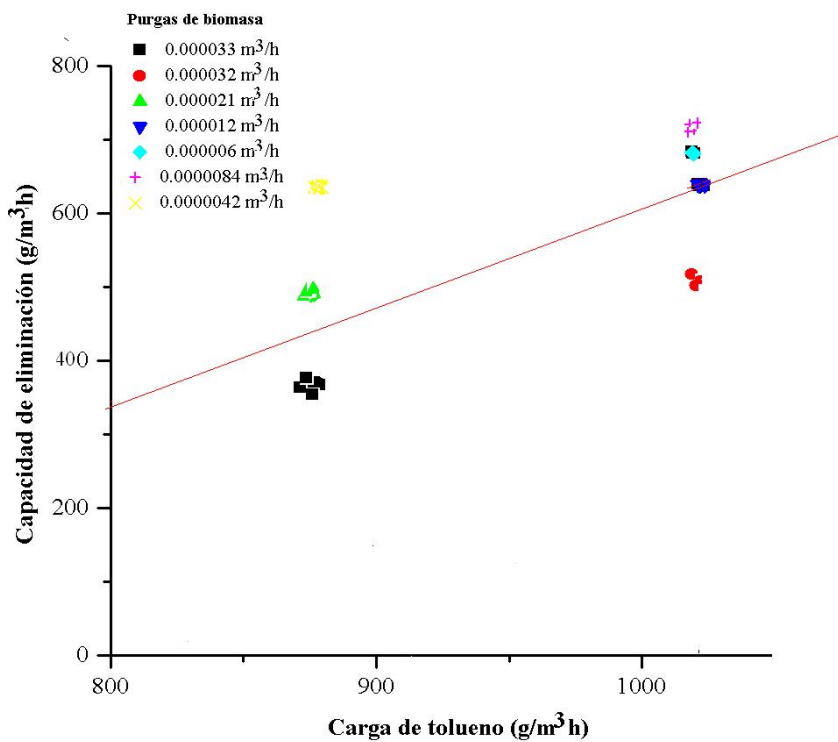


Figura 3.14 Variación de la CE con respecto a la TL.

3.1.2.6 Efecto de la concentración de biomasa en la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno.

i) Primera prueba experimental

En la Figuras 3.15 y 3.16, se observa el efecto de la concentración de biomasa sobre la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno, para la purga de biomasa de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Los resultados experimentales en ambas figuras, revelan que el funcionamiento del sistema, en términos de la eficiencia y capacidad de eliminación, son mas altos para flujos de gas más pequeños, existiendo una relación directamente proporcional con la concentración de biomasa en el birreactor. Sin embargo (Figura 3.15), se observa que el mayor flujo de gas contaminado, provoca un aumento de la CE, lo cual no necesariamente significa que exista una mayor capacidad de eliminación, sino que indica que el sistema aun no se encuentra en una etapa de limitación de reacción por parte de los microorganismos, presentando una concentración de biomasa suficiente para consumir la fuente de carbono.

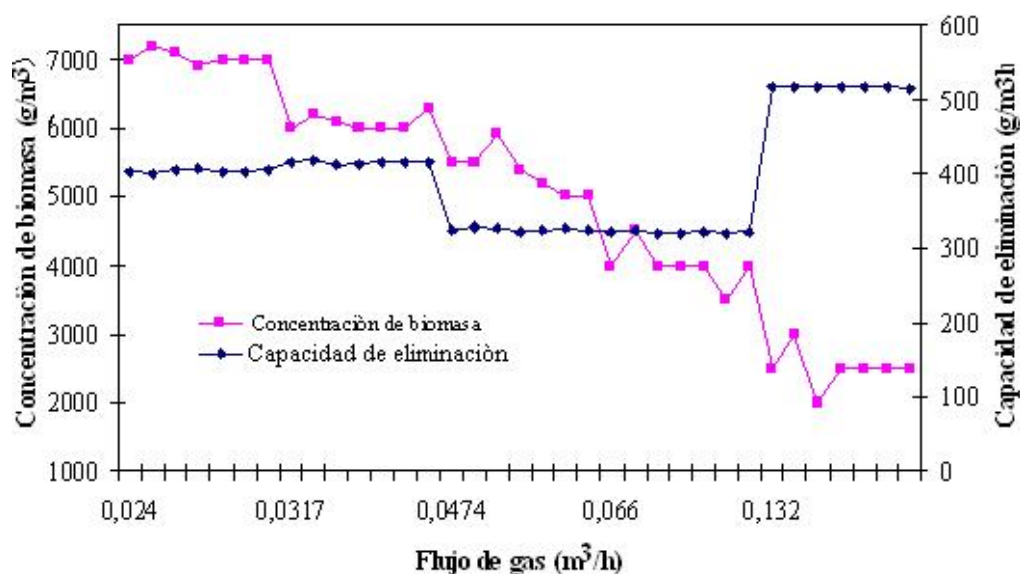


Figura 3.15 Influencia de la concentración de biomasa sobre la capacidad de eliminación

La Figura 3.16, muestra que la eficiencia de eliminación disminuye desde un 98 %, hasta cerca de un 64 %, cuando se incrementa el flujo de gas en un factor de 5. Se observa que el sistema es altamente sensible, frente a la variación de la concentración de biomasa en el birreactor, alcanzando eficiencias de eliminación de hasta un 98 %, cuando la concentración de biomasa registra su máximo valor de $7000 \text{ g}\cdot\text{m}^3$. Lo anterior se puede explicar, debido a que una mayor concentración de biomasa lleva asociada una mayor actividad microbiana y por lo tanto, una mayor biodegradación de tolueno.

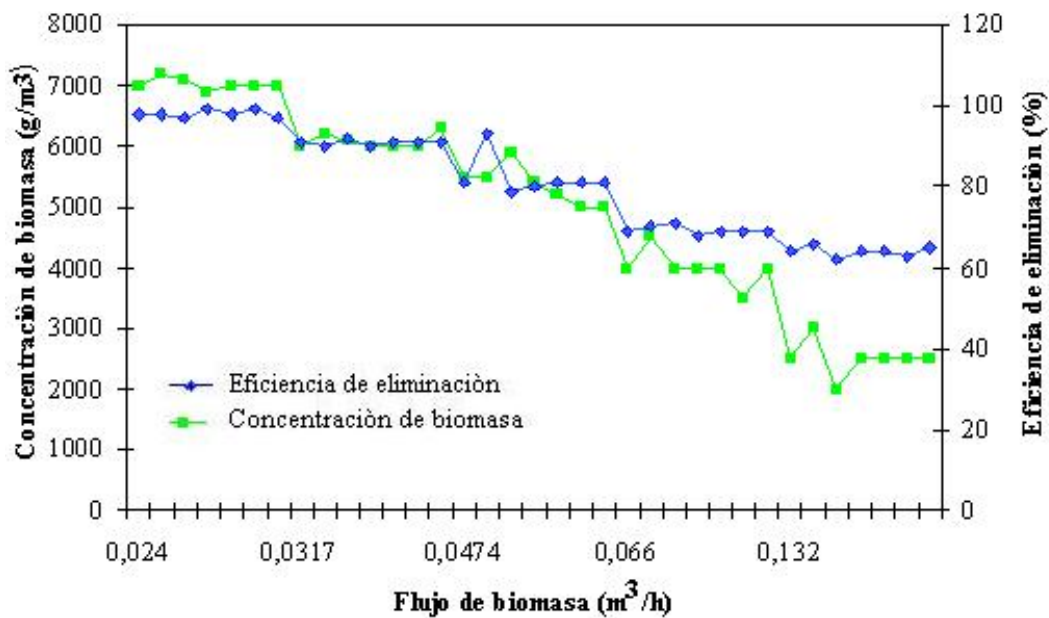


Figura 3.16 Influencia de la concentración de biomasa sobre la eficiencia de eliminación.

ii) Segunda prueba experimental

En la Figuras 3.17 y 3.18, se observa el efecto de la concentración de biomasa sobre la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno, para la purga de biomasa de $33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

De acuerdo a la Figura 3.17, se observa que la CE se mantiene relativamente constante, presentando una CE máxima de $494 \text{ g} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, que se puede asociar a una concentración creciente de biomasa en el biorreactor, debido al aumento de la cantidad de tolueno de ingreso. Posteriormente la CE baja, en conjunto con la concentración de biomasa, a partir del flujo $6.6 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

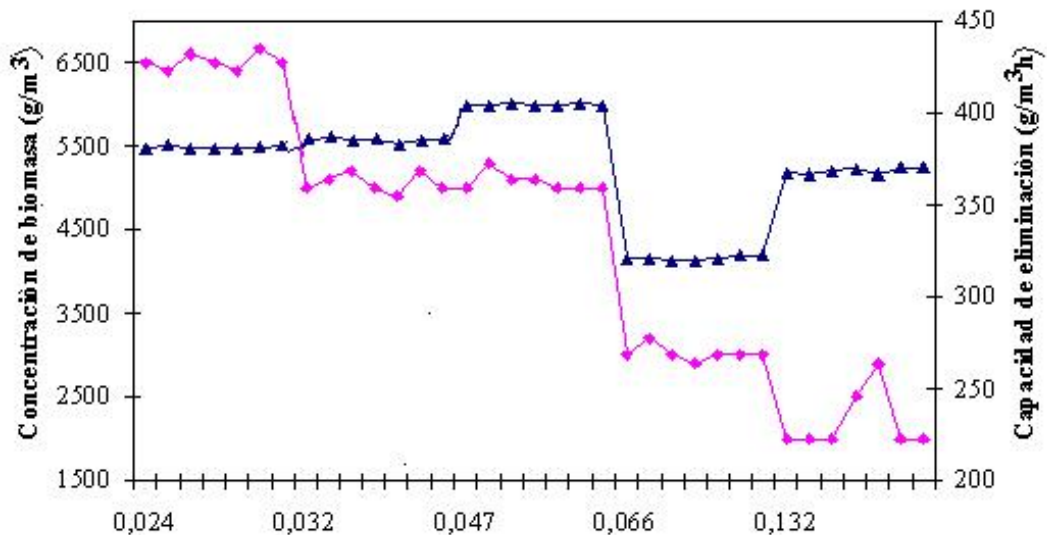


Figura 3.17 Influencia de la concentración de biomasa sobre la capacidad de eliminación

Al igual que en el resultado anterior, en la Figura 3.18 se observa una relación directa entre eficiencia de eliminación y concentración de biomasa en el biorreactor, registrándose la mayor eficiencia de eliminación cuando la biomasa alcanza su máxima

concentración en el período estudiado (6500 g.m^{-3}). Por el contrario, en el periodo analizado, cuando la biomasa alcanza su concentración más baja (2000 g.m^{-3}) se registra la menor eficiencia de eliminación (58 %).

Cabe destacar que en la primera prueba experimental (Figura 3.16), se observa una concentración máxima de biomasa mayor que la del período estudiado (Figura 3.18). Este comportamiento se debe, a que en la primera prueba experimental existió una mayor concentración de entrada de tolueno, que afecto en el aumento de la concentración de biomasa.

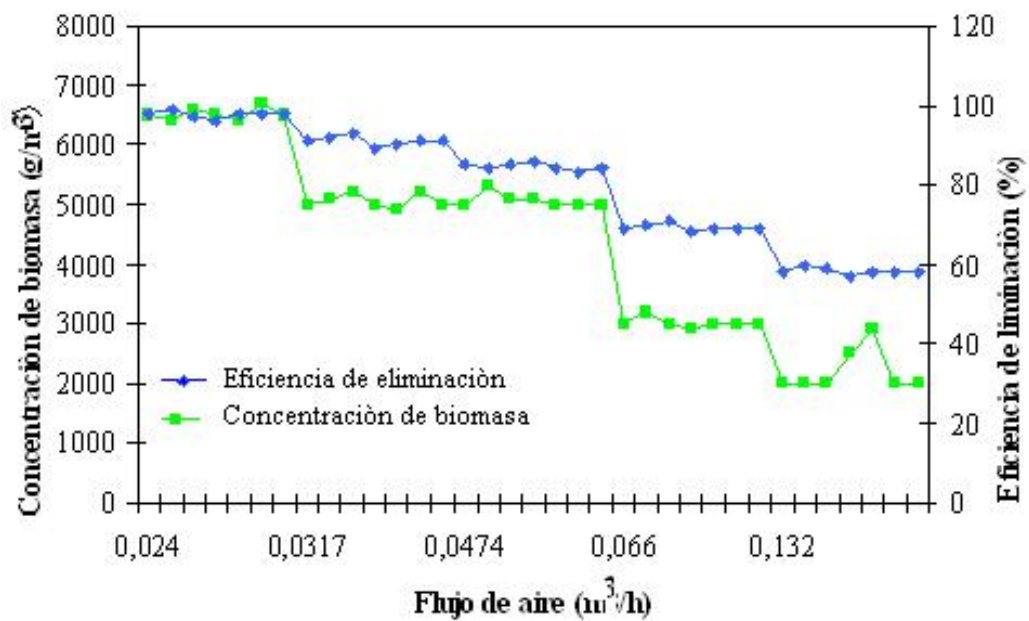


Figura 3.18 Influencia de la concentración de biomasa sobre la eficiencia de eliminación.

iii) Tercera prueba experimental

Las Figuras 3.19 y 3.20, muestran la relación existente entre la eficiencia y capacidad de eliminación del contaminante, para las diferentes purgas de biomasa sometidas a estudio. Este análisis se realizó para el mayor flujo de gas ($0.132 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$).

Al igual que en los períodos anteriores se observa una relación directa entre la CE y la concentración celular en el birreactor, registrándose la mayor CE ($723 \text{ a.m.}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$), cuando la concentración de biomasa alcanza un valor de 7000 g.m.^{-3} , en el período en que se purga la menor cantidad de biomasa del birreactor ($42 \times 10^{-7} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$). Por el contrario, cuando la concentración de biomasa alcanza un valor de 2000 g.m.^{-3} , se registra la menor CE ($367 \text{ g.m.}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$), en el período de mayor purga de biomasa ($33 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$).

Se puede observar un incremento notorio de concentración de biomasa el día 21 de operación, desde 4000 g.m.^{-3} , hasta 7000 g.m.^{-3} , en el día 35, punto en el cual se disminuye la purga diaria al sistema. Posteriormente se disminuye aún más la purga, ello desde el día 36 al día 49 de operación, tiempo en el cual la concentración de biomasa aumentó desde los 4000 hasta los 7000 a.m.^{-3} . Cabe destacar el rápido incremento de la concentración de biomasa, desde 2000 hasta 7000 a.m.^{-3} .

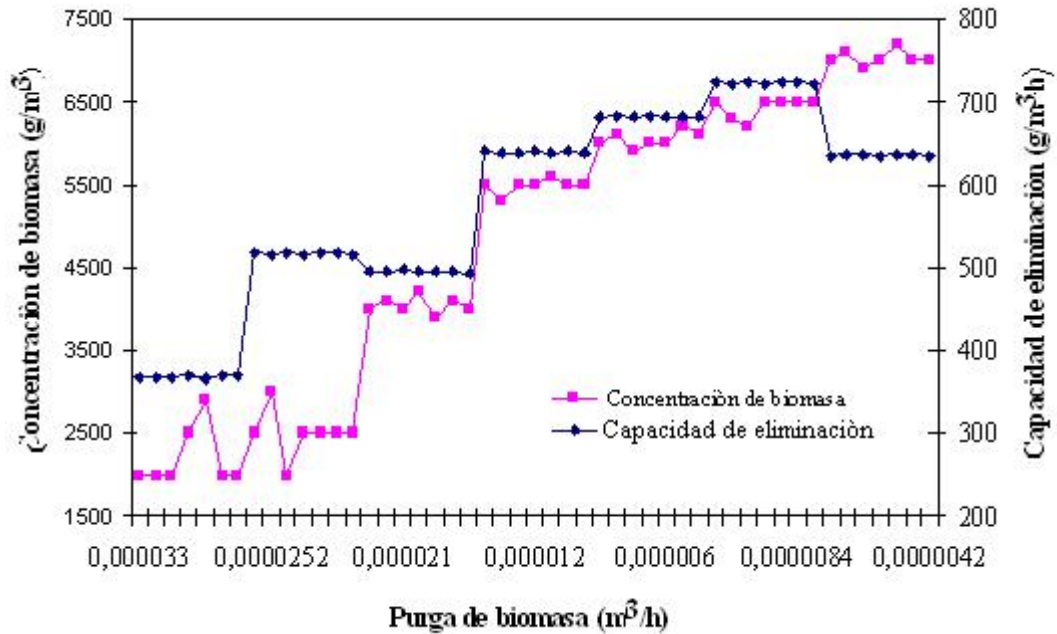


Figura 3.19 Influencia de la concentración celular en suspensión sobre la capacidad de eliminación.

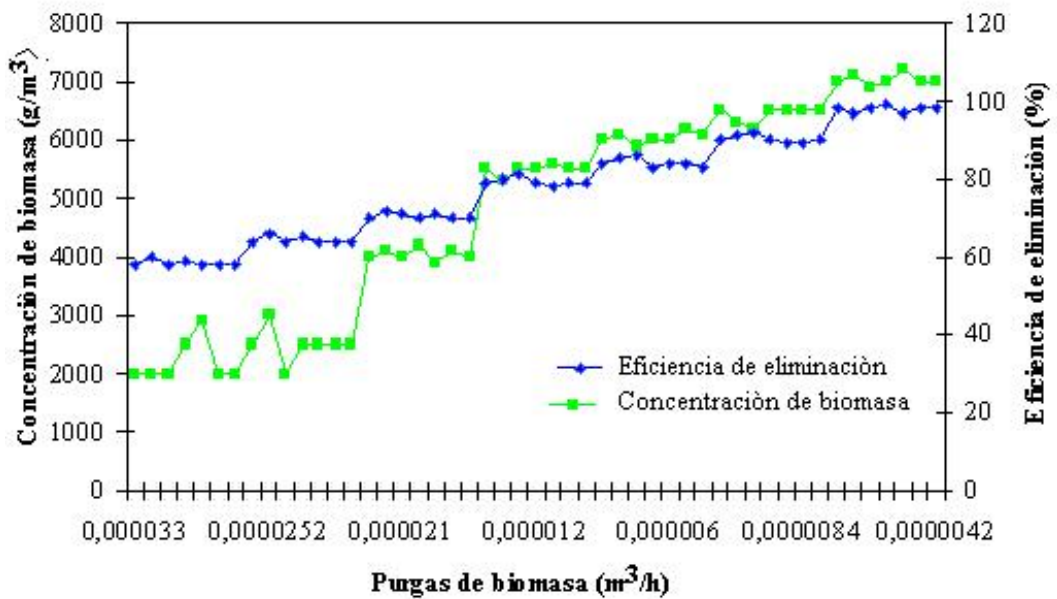


Figura 3.20 Influencia de la concentración de biomasa sobre la eficiencia de eliminación.

3.1.2.7 Análisis integrado de los factores operacionales que influyen en la optimización del sistema de tratamiento tipo Airlift.

El control del proceso del birreactor Airlift, es importante para mantener elevados niveles de rendimiento, frente a una gran variedad de condiciones de funcionamiento. Como se ha comentado anteriormente, los principales factores que influyen en la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno son: flujo de gas contaminado, carga de tolueno, pH, temperatura, tiempo de residencia de la fase gaseosa en el birreactor, concentración de biomasa, concentración de entrada (sustrato) y salida de tolueno (producto).

Una vez analizado en forma separada el efecto de cada variable de operación, respecto de la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno, se presenta a modo de resumen (Tabla 4), los resultados revelados en las distintas pruebas experimentales, que aseguraron mantener una máxima eficiencia y capacidad de eliminación en el birreactor.

Tabla 4. Valores experimentales óptimos de los parámetros de operación.

Parámetro	Unidad	Valor	Efecto
pH	-	6.5 - 7	Proporciona estabilidad en el sistema
Temperatura	° C	35 - 37	Aumenta la velocidad de reacción
Flujo de gas	m ³ /h	2.4x10 ⁻² 0.132	Regula el tiempo de contacto del contaminante con los microorganismos
Carga de tolueno	g/m ³ h	450	Cuantifica la cantidad de gas que ingresa al sistema por unidad de tiempo
Concentración de biomasa	g/m ³	7000	Biodegradación de tolueno
Concentración de entrada de tolueno	g/m ³	37	Proporciona el sustrato disponible para que los microorganismos desarrollen sus actividades
Capacidad de eliminación	g/m ³ h	447	Capacidad de eliminación de la masa del contaminante por unidad de volumen en el tiempo
Eficiencia de eliminación	(%)	98	Conversión de biodegradación de tolueno

Para la obtención de los resultados que incidieron en el aumento de la eficiencia y capacidad de eliminación de tolueno, fue indispensable mantener los factores antes mencionados en el valor adecuado, pero junto con lo anterior, se debe tener presente, la estrecha relación entre dichos factores.

3.2 Etapa 2: Análisis estadístico de las técnicas de cuantificación de biomasa.

Se realizó una comparación entre los métodos empleados para la determinación de biomasa, con el objetivo de buscar la respuesta más confiable, que asegure elevadas eficacias de eliminación del contaminante.

Para cumplir este objetivo, se aplicó un modelo de regresión simple, ($Y = A + BX$) que plantea la teoría en la cual solo una variable afecta a una determinada respuesta, que en este caso corresponde a la biodegradación del tolueno. Este modelo analiza el comportamiento de los datos que incluye las variables independientes, como la concentración celular por peso seco, concentración de proteínas y cuantificación de unidades formadoras de colonias. En este caso se han asumido como variables dependientes el flujo de aire y eficacia de eliminación del contaminante.

3.2.1 Análisis de los diferentes métodos de determinación de biomasa con respecto al flujo de aire.

3.2.1.1 Primera prueba experimental

A) Técnica empleada: Concentración celular por peso seco.

El reporte entregado por el programa Stat Most (ver anexo 8.3.1, Tabla 4) para la regresión lineal entre flujo de aire y concentración celular, indica que el modelo representa el 91 % de los datos analizados. Luego, se verifica el aporte global de las variables involucradas en el modelo propuesto, por medio del análisis de varianza (ver

anexo 8.3.1, Tabla 5), con un 95% de confianza ($\alpha = 0.05$). Para esto se trabajo con dos hipótesis:

- H_0 : No existe aporte entre el conjunto de valores que corresponde a los coeficientes de regresión (A y B), es decir son iguales a cero.

- H_1 : El conjunto de valores son distintos de cero y aportan al modelo.

Estudiando la grafica de normalidad (ver anexo 8.3.1, Figura 8.3), se pueden estimar en forma inicial, que los errores se comportan en forma normal, pero el estudio de la grafica es meramente subjetivo, por lo tanto para determinar realmente la normalidad de los errores es muy útil el test de Kolmogorov – Smirnov's (Canavos, 1984), el cual arrojó una probabilidad de 0.0310, lo cual indica que al ser inferior a 0.05, los errores optan una distribución normal.

Posteriormente se realizó el análisis estadístico de homocedasticidad, es decir, el grado de interdependencia entre los coeficientes de regresión. Para ello bastó con estudiar la grafica correspondiente (ver anexo 8.3.1, Figura 8.4). En este caso el repartimiento de los puntos no presenta una distribución característica, de lo cual se desprende que no se presentarían problemas de multicolinealidad.

Finalmente se observa la gráfica 3.21 el modelo de regresión, con sus intervalos de confianza y límites de ajuste.

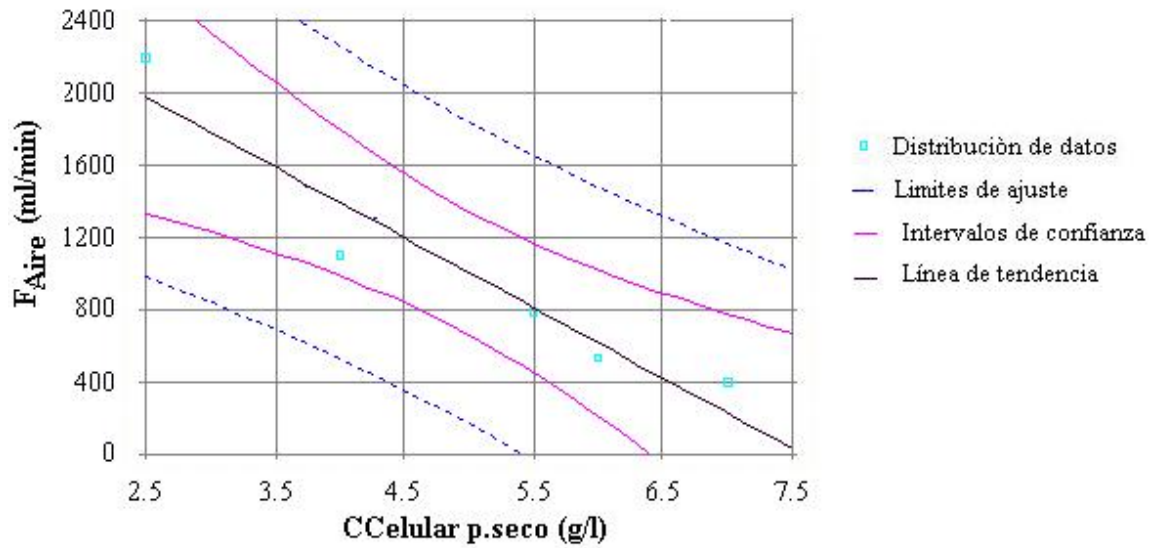


Figura 3. 21 Modelo de regresión.

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$F_{Aire} = 2954.2000 - 390.0800 \times CCelular_{p.seco} \quad (12)$$

por lo tanto, se puede concluir que este cumple con todas las condiciones requeridas para ser válido como modelo para estimar la concentración celular por peso seco par diferentes flujos de aire.

B) Técnica empleada: Concentración de proteína.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 5.

. **Tabla 5.** Resultados estadísticos.

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
69	0.03	Sin multicolinealidad

** Probabilidad (ver anexo 8.3.2, Figura 8.5)

** homocedasticidad (ver anexo 8.3.2, Figura 8.6)

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$F_{Aire} = 2527.6474 - 3668.3855 \times C_{Proteina} \quad (13)$$

se concluye, que el modelo cumple con todas las condiciones requeridas para ser válido como modelo para estimar la concentración de biomasa por peso seco par diferentes flujos de aire. Se observa en la Figura 3.22, que existe una buena correlación entre la concentración de proteína y el flujo de aire, lo cual determina que el método propuesto es muy confiable para determinar la concentración celular.

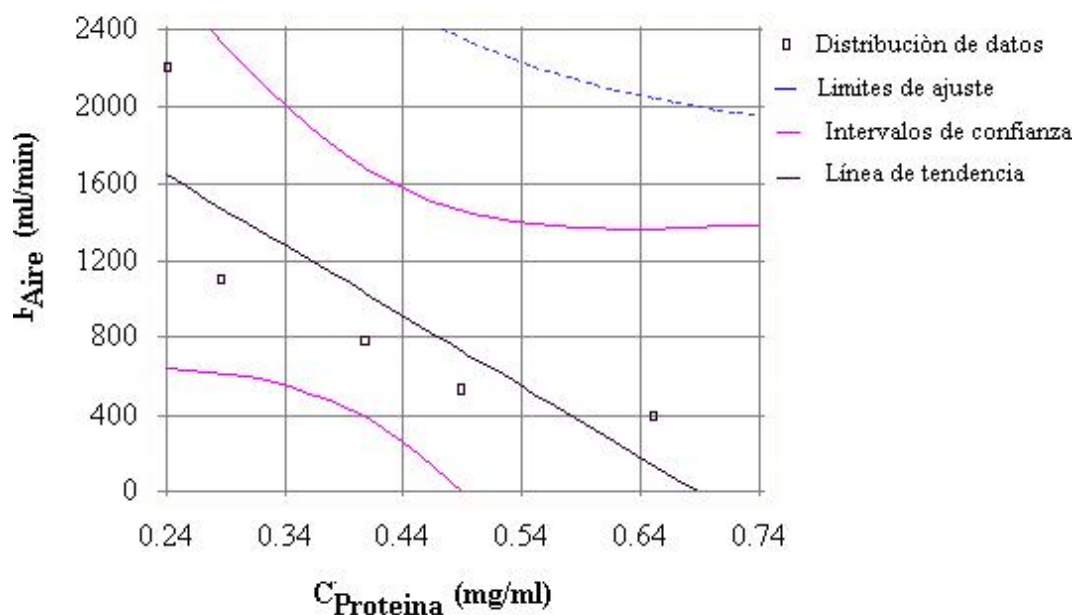


Figura 3. 22 Modelo de regresión.

C) Técnica empleada: Cuantificación de U.F.C

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r^2)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
49	0.03	Sin multicolinealidad

** Probabilidad (ver anexo 8.3.3, Figura 8.7)

** homocedasticidad (ver anexo 8.3.3, Figura 8.8)

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$F_{Aire} = 1538.3495 - 0.4398 \times C_{U.F.C} \quad (14)$$

Se concluye que el modelo cumple con el modelo de regresión (Figura 3.23). Sin embargo, presenta una mayor tendencia a errores, con respecto a los anteriores. Además este método sólo representa el 49% de los datos.

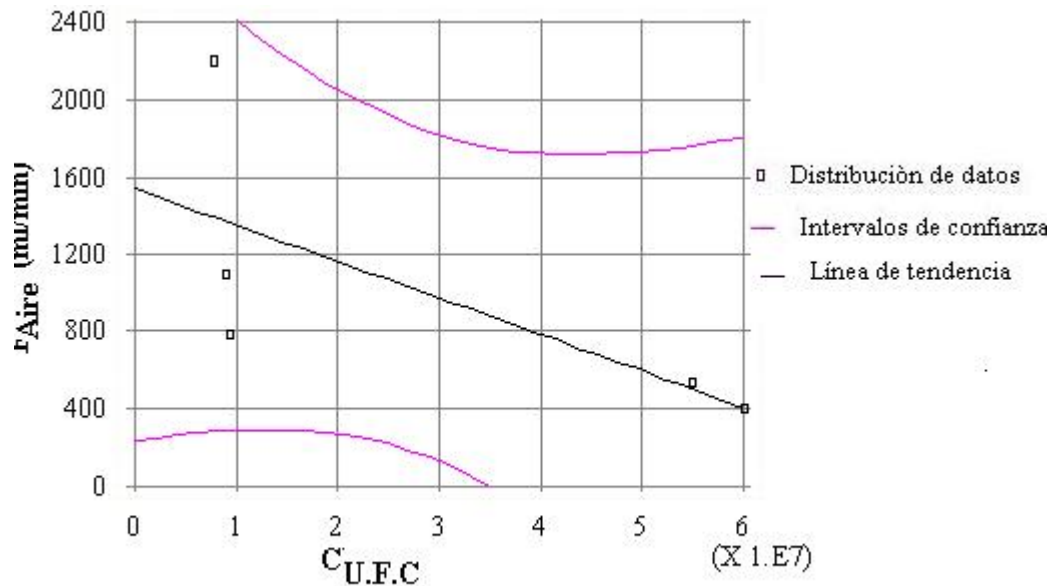


Figura 3. 23 Modelo de regresión.

3.3.1.2 Segunda prueba experimental.

A) Técnica empleada: Concentración celular por peso seco.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 7.

. Tabla 7. Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
82	0.009	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$F_{Aire} = 2578.2383 - 0.0000 \times C_{Celular\ p.seco} \quad (15)$$

es valido. En la Figura 3.24, se aprecia el modelo de regresión, que le da validez.

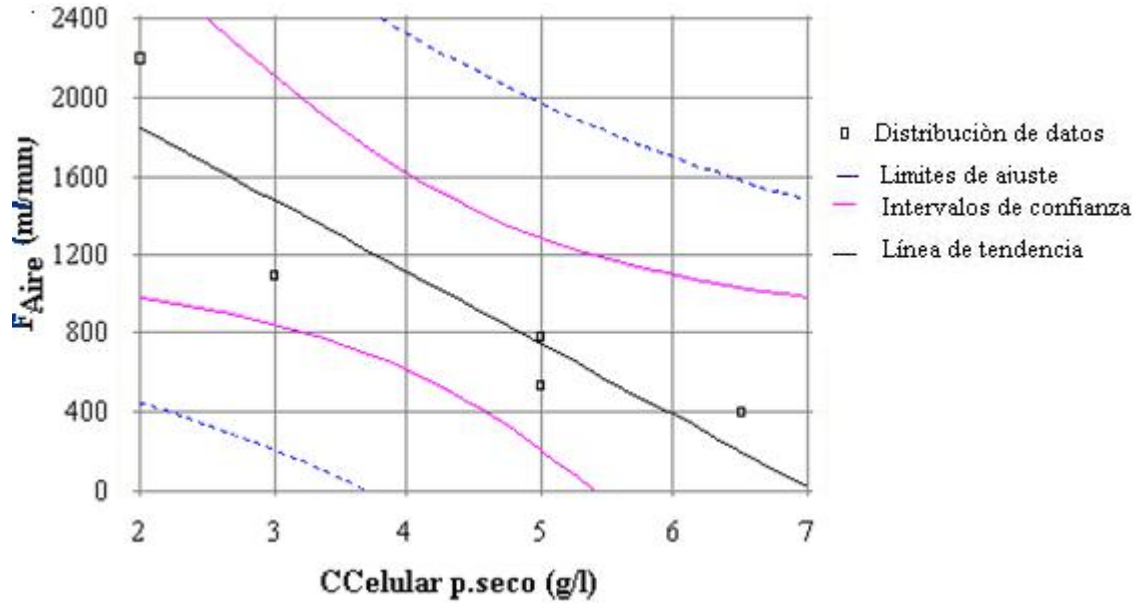


Figura 3. 24 Modelo de regresión.

B) Técnica empleada: Concentración de proteína.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
63	0.03	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$F_{Aire} = 2452.4860 - 3995.2731 \times C_{Proteina} \quad (16)$$

es valido, observándose en la Figura 3.25, el modelo de regresión que le da validez.

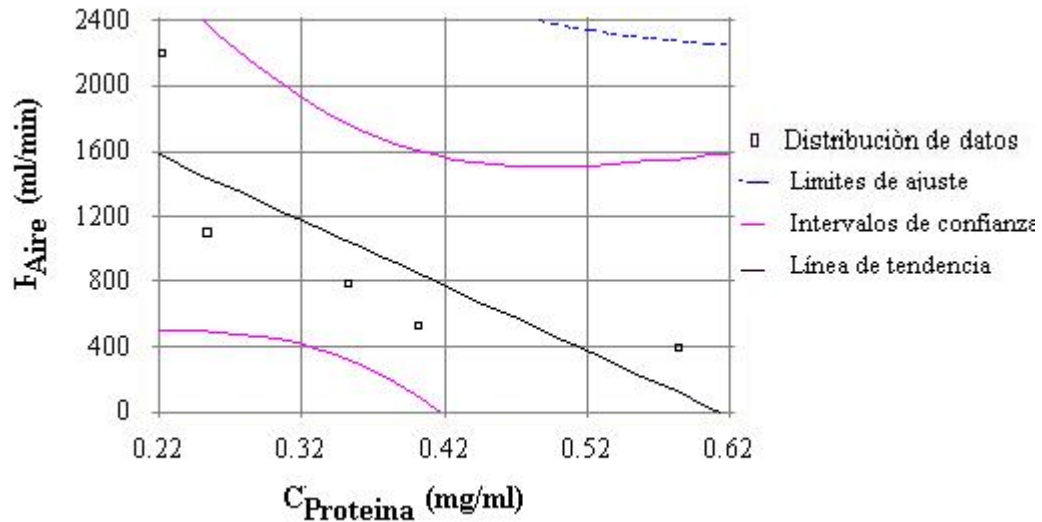


Figura 3. 25 Modelo de regresión.

C) Técnica empleada: Cuantificación de U.F.C.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 9.

. **Tabla 9.** Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r ²) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
49	0.03	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$F_{Aire} = 1528.8884 - 0.0000 \times C_{U.F.C} \quad (17)$$

es valido, observándose en la Figura 3.26, el modelo de regresión que le da validez.

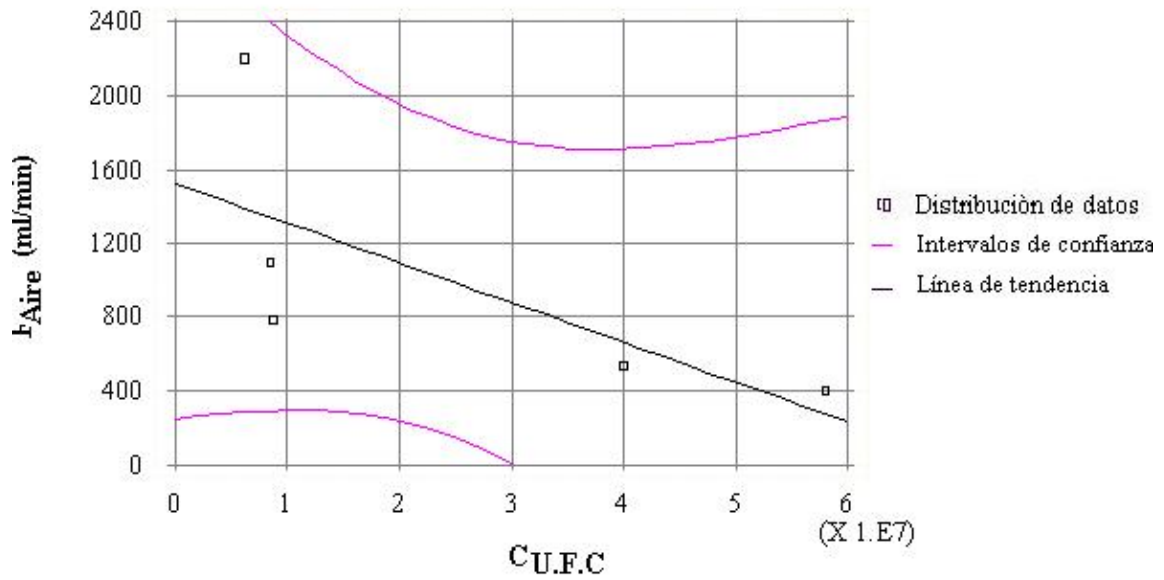


Figura 3. 26 Modelo de regresión.

3.2.2 Análisis de los diferentes métodos de determinación de biomasa con respecto a la eficacia de eliminación del contaminante.

3.2.2.1 Primera prueba experimental

A) Técnica empleada: Concentración celular por peso seco.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
94	0.04	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$Eficacia = 41.2000 + 7.8800 \times CCelular_{p.seco} \quad (18)$$

es valido. En la Figura 3.27, se aprecia el modelo de regresión, que le da validez.

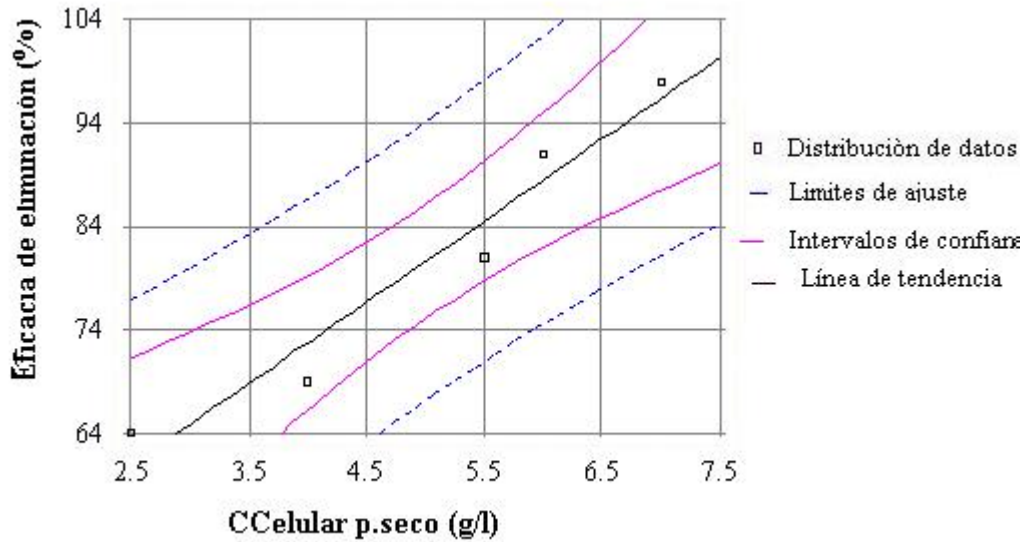


Figura 3. 27 Modelo de regresión.

B) Técnica empleada: Concentración de proteína.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11. Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r ²) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
96	0.44	Sin multicolinealidad

Por lo tanto al fallar una de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$Eficacia = 44.9948 + 85.7131 \times C_{Proteina} \quad (19)$$

no es válido.

C) Técnica empleada: Cuantificación de U.F.C.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12 Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r²) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
81	0.03	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$Eficacia = 66.9117 + 0.0000 \times C_{U.F.C} \quad (20)$$

es válido. En la Figura 3.28, se aprecia el modelo de regresión, que le da validez.

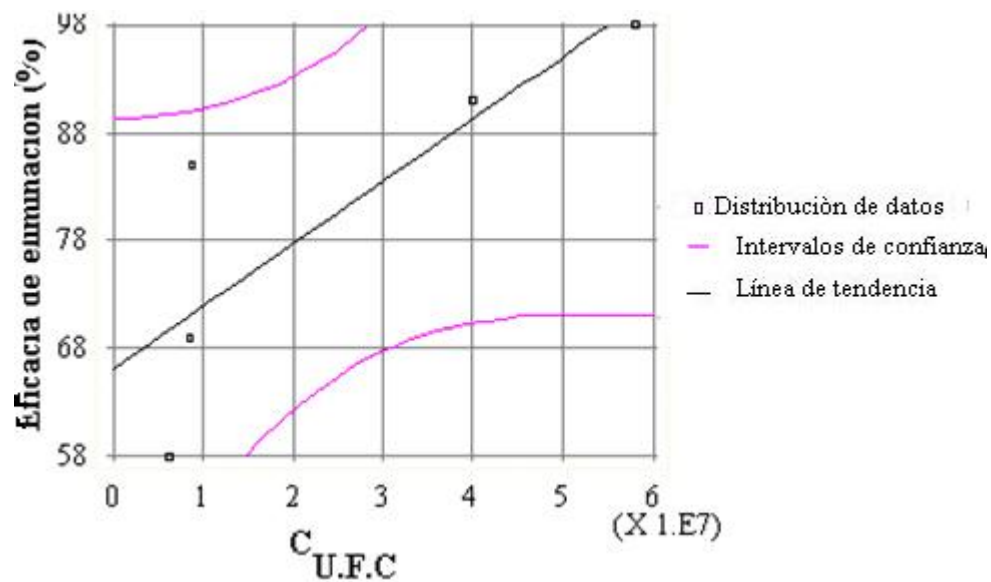


Figura 3. 28 Modelo de regresión.

3.2.2.2 Segunda prueba experimental.

A) Técnica empleada: Concentración celular por peso seco.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Resultados estadísticos

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
97	0.028	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$Eficacia = 41.3320 + 9.0391 \times CCelular_{p.seco} \quad (21)$$

es válido. En la Figura 3.29, se aprecia el modelo de regresión, que le da validez.

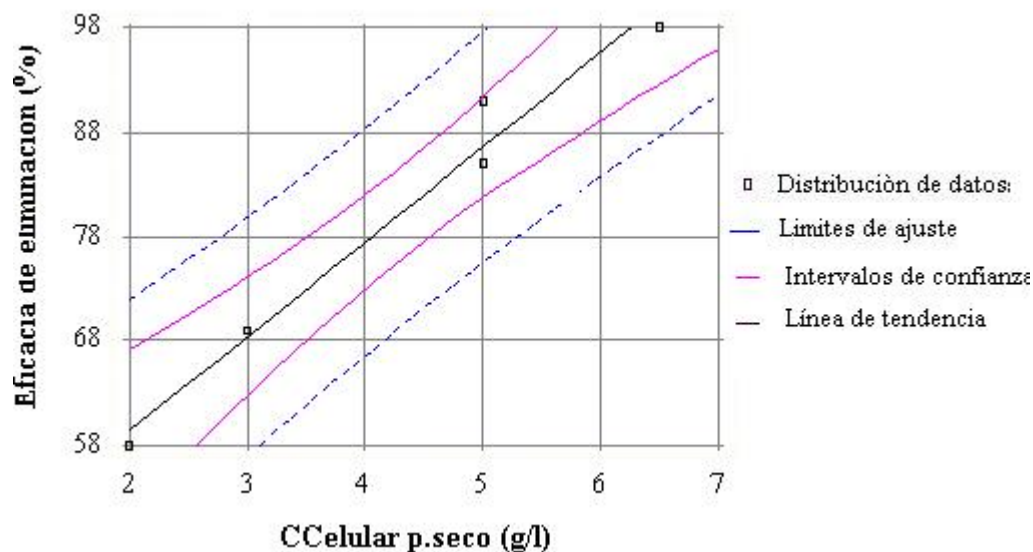


Figura 3. 29 Modelo de regresión.

B) Técnica empleada: Concentración de proteína.

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14 Resultados estadísticos.

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
84	0.31	Sin multicolinealidad

Por lo tanto al fallar una de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$Eficacia = 42.0615 + 105.1807 \times C_{Proteina} \quad (21)$$

no es válido.

C) Técnica empleada: Cuantificación de U.F.C

Los resultados estadísticos de esta técnica, se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Composición del medio de cultivo

Coefficiente de regresión (r^2) (%)	Probabilidad (p)	Homocedasticidad
68	0.05	Sin multicolinealidad

Por lo tanto a través de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto,

$$Eficacia = 66.1650 + 0.00000 \times C_{U.F.C} \quad (22)$$

se puede concluir que el modelo es válido. En la Figura 3.30, se aprecia el modelo de regresión, que le da validez.

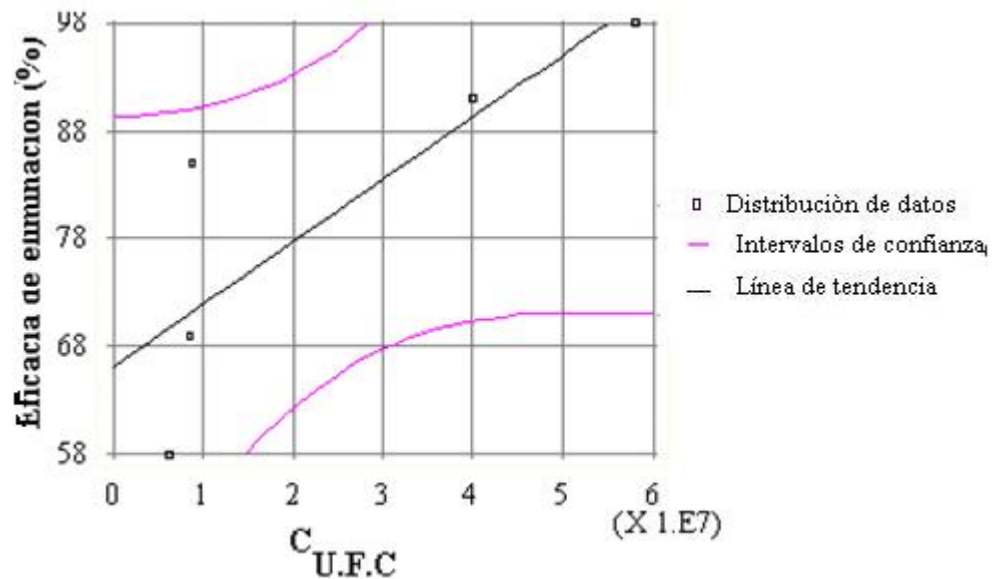


Figura 3. 30 Modelo de regresión.

4. DISCUSIÓN

En este estudio se obtuvieron una serie de resultados, cuyo análisis y discusión se presenta a continuación.

4.1 Velocidad de crecimiento de los microorganismos.

En este estudio, la cinética de la flora microbiana se realizó mediante un cultivo por lote. Si analizamos el crecimiento microbiano en el tiempo, este describe una típica curva de crecimiento (Figura 3.1), que puede ser dividida en fases distinguibles.

La primera etapa de cinética de crecimiento microbiano corresponde a la etapa de latencia, en donde no se observa un gran crecimiento celular, principalmente porque el cultivo realizado correspondió a un cultivo fresco, lo que determina un período largo de aclimatación (Pineda *et al.*, 2000). En este caso el período de latencia abarca 9 horas, lo que correspondió a un tiempo prolongado, dado a una lenta degradación de la fuente de carbono

Luego se observa la fase de crecimiento exponencial, en donde se puede apreciar que en esta experiencia, la flora microbiana experimentó un crecimiento exponencial muy rápido, que se desarrolla durante 3 horas, período en el cual los microorganismos consumen toda la fuente de carbono y nutrientes del medio. Victorino *et al.*,(2000), señala que en esta fase ocurre la síntesis de todos los constituyentes celulares aumentando a una rapidez constante, de modo que la población de células se duplica y continua duplicándose a intervalos regulares.

Posteriormente, el desarrollo microbiano se mantiene en estado estacionario, momento en el cual, el crecimiento exponencial se detiene, no hay incremento o decremento en el número de células, los nutrientes indispensables se agotan, y hay acumulación de sustancias tóxicas. Autores como Leson *et al.*, (2004) y Pineda *et al.*, (2000), indican que el crecimiento puede estar ocurriendo, pero está equilibrado por la rapidez de muerte o lisis celular, pudiendo permanecer las células viables por períodos largos con existencia de metabolismo endógeno, oxidación y almacenamiento de polímeros, proteínas, etc.

La velocidad de crecimiento obtenida por las especies *Pseudomonas putida* en la curva de crecimiento, fue de 0.38 h^{-1} , similar a la registrada por otros autores en trabajos anteriores, cuyos valores fluctúan entre los 0.132 h^{-1} (Khandan, *et al.*, 1999) hasta 0.42 h^{-1} (Wubber, *et al.*, 1997). Se debe destacar el hecho de que el crecimiento se realizó con control de pH, lo cual provoca el aumento de la velocidad de crecimiento de los microorganismos degradadores.

Hickey *et al.*, (2002) plantea, que el no control de pH durante la cinética de crecimiento, puede ser el factor más significativo en la inhibición del crecimiento de los microorganismos degradadores. Lo anterior es fundamentado por Asenjo *et al.*, (1995), quien señala que la transición entre las fases exponencial y estacionaria del crecimiento está influenciada por dos eventos: uno de ellos corresponde a la limitación de nutrientes en el medio, y el otro factor corresponde a la acumulación de productos que inhiben el crecimiento.

4.2 Comportamiento del pH en el sistema.

Según lo observado en la Figura 3.2, la regulación del pH se torna un tanto dificultosa durante la primera etapa de operación del biorreactor, lo cual tiene directa relación con el crecimiento de biomasa en suspensión. Lo anterior lo confirma Brown *et al.*, (2000), al indicar que durante el arranque del reactor la población bacteriana es muy pequeña, por lo tanto no esta adaptada al tipo de contaminante. Autores como Switzenbaum *et al.*, (2001) y Fran *et al.*, (2004), señalan que la tendencia del reactor a acidificarse es grande, debido al aumento de productos secundarios de propiedades ácidas, las cuales son tóxicas para los microorganismos, y pueden inhibir el crecimiento celular en el reactor, por lo cual se hace necesario regular el pH con una solución buffer.

Además la Figura 3.2 refleja, que la regulación del pH se favorece a medida que transcurren los días de operación en el biorreactor, esto ocurre, una vez alcanzada la concentración celular adecuada en el sistema, logrando mantener un rango óptimo de operación, el cual coincide con lo planteado por autores tales como, Lu *et al* (1999), Hickey *et al.*, (2002) Quiroz (2003) y Lara (2003), al señalar que el pH óptimo para la transformación de BTEX es de 7.0

De acuerdo a lo planteado por Hickey *et al.*, (2002), la influencia de la variación de pH sobre la eficacia de eliminación del contaminante es significativa, ya que cambios ligeros de este parámetro operacional, pueden provocar la desnaturalización de los biocatalizadores. Según Kemmes *et al.* (1996), cualquier cambio brusco de pH, sabiendo que los microorganismos poseen enzimas, puede alterar el carácter iónico de los grupos

amino y carboxilo en la superficie de la enzima, afectando así las propiedades catalíticas de ésta

4.3 Efecto de la temperatura en la capacidad de eliminación.

Al realizar un análisis para cada prueba experimental, se aprecia la relación existente entre la CE del sistema y la temperatura del medio, lo cual se puede observar en las Figuras 3.3, 3.4 y 3.5, en que se registran oscilaciones de ambas variables, puesto que hay períodos, en que reduciéndose la CE, igualmente se registra un descenso de la temperatura; a su vez, al aumentar la temperatura del medio, existe un incremento en la CE. El análisis anterior, se puede sustentar, conforme a lo observado por los autores, Kiared *et al.*, (1997), Jorio *et al.*, (2000), Heitz, *et al.*, (2002) y Vergara *et al.*, (2005).

Jorio *et al.*, (2000), señala que la temperatura de operación de un biorreactor es un parámetro muy sensible, que afecta la CE, lo cual implica que cualquier cambio registrado por la temperatura de operación, resulta una variación de la CE. Según Heitz *et al.*, (2002), lo anterior se debe, a que la constante de Henry de los gases se ve afectada, generando alteraciones en la transferencia de masa, producto de un variación de temperatura. En vista de lo anterior, la mejor estrategia para lograr una alta CE en el sistema, es mantener constante la temperatura óptima de operación.

Una serie de estudios anteriores indican que el rango de temperatura de trabajo en el reactor Airlit fue el óptimo, tal como lo indica Brown *et al.*, (2000) y Lee *et al.*, (2002), los cuales proponen temperaturas satisfactorias de biodegradación de tolueno de 33°C; Zúber *et al.*, (1997), plantea un rango entre 28 y 35°C; Morsi *et al.*, (2002) y Quiroz

(2003), señalan que la temperatura óptima de biodegradación de tolueno es 35°C. Por otra parte, aunque temperaturas más altas en el sistema se asocian a microorganismos más activos, los efectos físicos y químicos son generalmente menos favorables. Para la mayoría de los gases, el coeficiente de Henry, aumenta con la temperatura, y esto se asocia a una reducción de la solubilidad del gas en la fase acuosa, por lo tanto el contaminante está menos disponible para los microorganismos.

De acuerdo a lo planteado por Victorino *et al.*, (2000), el aumento de temperatura, es producto del calor liberado durante la degradación del tolueno, provocando un incremento de la velocidad de reacción hasta alcanzar la temperatura óptima del sistema, ya que después de aproximadamente 45°C, se produce la desnaturalización térmica de los biocatalizadores.

Gallegos *et al.* (2001), a su vez, señala que esta alteración produce la pérdida de la estructura nativa de los microorganismos, provocando efectos, tales como, cambios en las propiedades hidrodinámicas de ésta, aumentando de esta forma la viscosidad y disminuyendo el coeficiente de difusión. Además produce una drástica disminución de su solubilidad en el sistema, disminuyendo así, la actividad microbiana, produciendo una menor degradación del contaminante, lo que se traduce en la pérdida de las propiedades biológicas de las bacterias.

En relación a los resultados experimentales obtenidos en las pruebas 1 y 2, (Figuras 3.3 y 3.4), estos revelaron que el funcionamiento del sistema, en términos de la CE, es más alto para flujos pequeños de gas contaminado, manteniendo el rango óptimo de temperatura de operación. Sin embargo, se observó en algunas ocasiones, el aumento del

flujo de gas, provocó un aumento de CE (Figura 3.3), lo cual no necesariamente implica que exista una mayor CE en el sistema, sino mas bien, que el sistema aun no esta limitado por la reacción de biodegradación de tolueno, lo que quiere decir que en este flujo de gas, existe suficiente concentración de biomasa para seguir aumentando el flujo como indicador directo de la carga de entrada, obteniendo CE elevadas.

Por el contrario, en la segunda prueba experimental, la CE se mantiene constante, lo cual indica que el sistema se encuentra en una zona de limitación de reacción de biodegradación de tolueno, por lo tanto el crecimiento de microorganismos se encuentra en estado estacionario, ya sea por factores tales como inhibición del sustrato y variación de temperatura, lo cual afecta la concentración de biomasa, que es un parámetro muy sensible. Es por esto, que los microorganismos consumen mas fuente de carbono, que se traduce en una mayor CE (Figura 3.3), que en el mantenimiento celular (Figura 3.4).

Cabe destacar, conforme a lo anteriormente señalado, que la CE, no se puede utilizar como único parámetro de comparación entre los flujo de gas ensayados. Heitz *et al.*, (2002), confirma lo anterior, al señalar que la CE, no se puede utilizar como ideal parámetro de estimación del tamaño requerido de un biorreactor, para soportar las cargas de emisiones de COVs, debido a que en uno de sus estudios observó que un alto flujo de gas, alcanzaba un valor máximo de CE. A su vez, Jorio *et al.*, (2000), indica que el flujo de gas no es una medida directa concentración de contaminante, sino mas bien, es un indicador directo de la carga que ingresa al biorreactor.

Con respecto a la tercera prueba experimental (Figura 3.5), la tendencia general de la variación de la CE en función de la temperatura del medio, para las purgas de biomasa

que alimentan al sedimentador, presenta un comportamiento similar, ya que la CE aumenta en forma sostenida, alcanzado un valor máximo de $670 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$, lo cual se asocia al incremento de la concentración celular en el reactor. Lo anterior es una consecuencia, de la disminución progresiva en la purga de biomasa que se extrae del biorreactor, aumentando así, la población bacteriana, lo cual repercute en un aumento en la CE del contaminante en el sistema.

Lo anterior se confirma, de acuerdo a lo planteado por Fran *et al.*, (2004), quien señala que la relación proporcional de CE con respecto a la temperatura del reactor, se asocia a un aumento en la concentración celular en el biorreactor. Estudios anteriores a este trabajo (Pineda *et al.*, 2000 y García *et al.*, 2004) indican, que al aumentar la concentración celular, se genera un aumento en la demanda de carbono en el medio. Ello trae como consecuencia un incremento de la actividad celular y del coeficiente de transferencia de masa para tolueno producto de un aumento en el gradiente de concentraciones entre la fase gas y líquido, disminuyendo la concentración de tolueno a la salida del reactor y aumentando la CE en el sistema.

4.3 Variación de la eficiencia de eliminación con la carga de tolueno.

Según lo observado en las Figuras 3.6 y 3.7, el aumento en la entrada de TL, tiene un efecto inverso en la ξ del sistema. Lo anterior, es fundamentado por Klein *et al.*, (2005), quien indica que al aumentar la TL en el sistema, se produce una disminución significativa en su ξ , provocando efectos como la disminución de la concentración celular en el biorreactor. Lo anterior provoca consecuencias, como cambios en las

propiedades hidrodinámicas dentro del sistema, aumentando de esta forma la viscosidad y disminuyendo el coeficiente de difusión.

Varios autores han reportado acerca de tal comportamiento. Vicente *et al.*, (2001) demostró que el sistema Airlift puede ser operado con TL altas, hasta alcanzar una máxima concentración de biomasa; sin embargo Hickey *et al.*, (2002), afirmó que lo anterior puede tener un efecto negativo sobre el fenómeno de transporte, mezcla y distribución del contaminante en el reactor. Tal información acerca de la hidrodinámica del transporte de gas en el reactor, puede ser usado a priori o durante la realización de futuros estudios, de tal forma evitar la ocurrencia de una pérdida de velocidad de sistema.

Para Klein *et al.*, (2005), la ξ del contaminante, es limitada por el índice de la difusión dentro del reactor, cuando la carga del contaminante es mayor a $550 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Así la ξ , disminuye al existir un aumento en la velocidad del gas, debido a corto tiempo de residencia del gas. Sin embargo, cuando la TL es menor a $550 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$, la ξ del biorreactor funciona a menor velocidad.

Estudios anteriores como los de Leson *et al.*, (2004) y Govind *et al.* (2000), indican que el aumento de la TL transferida al biorreactor, puede provocar un efecto de inhibición en la biodegradación del contaminante. Este análisis revela que la biodegradación del tolueno en el biorreactor, se reduce al aumentar la TL en el sistema.

Además las figura 3.6 y 3.7, indican que la ξ del tolueno, disminuye a medida que aumenta el flujo de gas a tratar. Goving *et al.*, (2000), señala que el flujo de gas es el

parámetro dominante, ya que varía el tiempo de residencia, el cual debe ser suficientemente grande, como para permitir la transferencia del agente contaminador y del oxígeno a partir de la fase de gas al sistema y a su biodegradación para la microflora. Esto demuestra que el sistema es sensible a las variaciones de flujo, cuando este se incrementa. Lo anterior, se pudo solucionar operando a distintas purgas de biomasa que alimentan al sedimentador, trabajando con el mayor flujo de gas (Figura 3.8), manteniendo constante la TL, aumentando con esto, la concentración celular en el biorreactor, lo cual repercute en un incremento en la ξ . Autores como Marsch *et al.* (1994) y Pineda *et al.*, (2000), destacan que concentraciones celulares elevadas, favorecen la biodegradación de altos flujos de aire contaminado.

Se observa en la Figura 3.8, que la ξ del sistema, presenta una variación significativa con respecto a cada purga de biomasa extraída del reactor, lo cual se atribuye a un incremento de la concentración celular, a medida que disminuye progresivamente la purga de biomasa extraída del biorreactor. Pineda *et al.*, (2000), indica que la purga de biomasa es el parámetro dominante, ya que varía la concentración bacteriana en el interior del reactor, permitiendo un rápido crecimiento de biomasa en el sistema.

4.4 Variación de la concentración celular con la concentración de entrada de tolueno.

En las Figuras 3.9 y 3.10, se observa el perfil de concentraciones celulares en el sistema, para diferentes concentraciones de entrada de tolueno, apreciándose que el incremento de la concentración de entrada de tolueno, conlleva a un aumento de la concentración celular en el biorreactor. Lo anterior, ocurre como consecuencia, debido a que cuando el gas incorpora al biorreactor una mayor concentración de tolueno, el crecimiento de los microorganismos degradadores de tolueno se ve favorecido (Pereira *et al.* 2000).

Legile *et al.*, (2003), señala que un aumento en la concentración de entrada de tolueno, causa un aumento en la concentración celular y de la ξ de tolueno. Sin embargo Leson *et al.* (2004), afirma que la del biorreactor es proporcional a la concentración de tolueno de entrada a bajas concentraciones, mientras que a concentraciones mayores a 700 ppmv se torna independiente de esta, permaneciendo constante a medida que se incrementa la velocidad de carga.

Para las condiciones de operación especificada en las pruebas experimentales 1, 2 y 3 (Figuras 3.9, 3.10 y 3.11), se determinaron la máximas concentraciones celulares en el sistema, cuando la concentraciones de entrada de tolueno registran su mayor valor, lo cual explica el incremento del volumen de la biopelícula, disminuyendo así la velocidad de circulación del sistema y a su vez aumentando la ξ de tolueno.

Sin embargo Klein *et al.* (2005), señala que la máxima concentración de biomasa registrada en el biorreactor, es independiente de la ξ de tolueno, dado que al

determinarse el límite máximo de concentración celular, la disminución de velocidad de circulación comienza a ser observada. Recientemente Klein *et al.*, (2005), demostró lo anterior, al indicar que la existencia de un valor crítico de concentración de biomasa, trae consigo una desaceleración dramática de la velocidad de circulación, debido a que alta viscosidad de biomasa, tiende a acumularse en el fondo del reactor, lo cual conlleva, al rompimiento de la circulación del proceso, afectando la cinética del reactor y por consiguiente el funcionamiento de este.

4.5 Efecto de la carga de tolueno en la capacidad de eliminación.

En la primera prueba experimental (Figura 3.12), se observó la relación existente entre la CE alcanzada en el sistema y la TL, apreciándose que existe un comportamiento lineal entre ambas variables, cuando el flujo de gas de operación es pequeño; este resultado es similar al divulgado por Tang (1997), para la eliminación de tolueno en un biofiltro, usando como soporte una mezcla de paja y estiércol vegetal.

Según Vergara *et al.*, (2005), el comportamiento anterior, ocurre, debido a que la contribución del aumento del flujo de gas, se ve equiparado por una disminución en la diferencia de las concentraciones de entrada y salida de tolueno que ingresa al biorreactor, ya sea por una disminución de la concentración de entrada, producto del tiempo reducido de contacto en el saturador de tolueno, o porque la concentración de salida aumenta, por ausencia de una buena eficiencia de eliminación del contaminante.

De acuerdo a la segunda prueba experimental (Figura 3.13), se observó que luego de obtener el 100 % de eliminación, en cargas menores de $430 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$, la CE se mantuvo

relativamente constante, hasta alcanzar una disminución significativa de la CE, en el período final. Según Hickey *et al.*, (2002), el aumento de TL transferida al biorreactor, sobre las condiciones de una CE máxima, tiene un efecto de inhibición en la biodegradación del contaminante. Vergara *et al.*, (2005), confirma lo anterior, al señalar que ese comportamiento es propio de una zona de limitación de reacción biológica, provocada por una limitación en la difusión del contaminante, que afecta la transferencia de masa del sistema.

En relación a la tercera prueba experimental (Figura 3.14), se observa que para la totalidad de los flujos de biomasa, TL se mantiene relativamente constante, aumentando de esta manera la CE, lo cual se logra, a medida que disminuyen las purgas de biomasa extraídos del biorreactor. Este hecho se debe a las drásticas disminuciones de biomasa en el bioreactor, logran provocar un efecto significativo en el sistema, logrando así, generar un rápido aumento de la concentración celular.

La facilidad para lograr concentraciones de biomasa elevada en corto tiempo en el sistema, es un hecho sumamente importante a destacar, ya que en corto periodo de tiempo se alcanza una concentración adecuada de trabajo en el reactor, (López, 1995).

4.6 Efecto de la concentración celular en la eficiencia y capacidad de eliminación.

Los resultados experimentales en las tres pruebas experimentales (Figuras 3.15, 3.16, 3.17, 3.18, 3.19 y 3.20), revelaron que el funcionamiento del sistema, en términos de la eficiencia y capacidad de eliminación, es mas alto para concentraciones de biomasa mayores. Este comportamiento se debe al incremento de la concentración de biomasa en el biorreactor, lo cual favorece la biodegradación de tolueno; ello trae como consecuencia un incremento de la actividad celular y del gradiente de concentraciones entre la fase gas y líquido, disminuyendo la concentración de tolueno a la salida del reactor y aumentando la ξ y CE del sistema (Jorio *et al.*, 2001).

Con respecto al valor óptimo de concentración de biomasa de trabajo en el biorreactor, hay diversas opiniones encontradas, en autores que han observado el efecto de concentraciones de biomasa elevadas sobre la ξ y CE del contaminante. Autores como (Wubber *et al.*, 2002 y Vicente *et al.*, 2000), han registrado ξ para tolueno de mas del 99% en reactores, que registran concentraciones celulares de $5000 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$; Khandan (1999), realizó estudios considerando una concentración celular en suspensión de $3000 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$; Quiroz (2003), establece que concentraciones de biomasa de $3000 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ o mayores son razonables para el funcionamiento adecuado del biorreactor mientras menores a esta, los aumentos requeridos de la concentración del sustrato son marcados y la concentración del oxígeno disuelto aumentan levemente; Sin embargo, en esta experiencia se alcanzó valores de concentración celular de $7000 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$, lo cual aumenta la CE del contaminante.

4.7 Análisis estadísticos de las técnicas de cuantificación de biomasa.

4.7.1 Análisis de los diferentes métodos de determinación de biomasa con respecto al flujo de aire.

En la Figura 3.21 y 3.24 se observa un modelo de regresión simple que evalúa la relación existente entre la concentración celular por peso seco, y el flujo de gas, para las pruebas experimentales 1 y 2; apreciándose en ambas, que el modelo es válido, debido a la gran cantidad de combinaciones obtenidas tanto para la técnica del peso seco, como para el flujo de gas. Además se verificó el aporte global de la variable dependiente propuesta (flujo de gas), así como el aporte individual en el modelo, aprobándose el cumplimiento de los supuestos para los errores (normalidad, homocedasticidad, independencia y multicolinealidad).

Estas dos variables aportan al modelo de regresión, debido a que una el flujo de gas, tiene un efecto significativo sobre la concentración celular por peso seco. Varios autores han reportado acerca de este comportamiento; Jorio *et al.*, (2001), Quiroz; (2003) y Hickey *et al.*, (2002), demostraron en sus estudios que la concentración celular disminuye al incrementar el flujo de contaminante, dado un menor tiempo de residencia del gas en el reactor. Considerando que este tipo de biorreactor trabaja con altas velocidades del gas, el tiempo de residencia en el mismo decrece, esto disminuye la transferencia del contaminante, lo que atenta la eficacia de eliminación de éste.

Por otro lado en las Figuras 3.22 y 3.25, se observa el modelo de regresión simple que evalúa la relación existente entre la determinación de proteína y el flujo de gas, para las pruebas experimentales 1 y 2, apreciándose que el modelo es válido, cumpliendo con

todas las condiciones requeridas, que afirman que la recta es confiable para una predicción confiable.

García *et al.*, (2004), señala que esta técnica experimentalmente, es mas rápida que la anterior, ya que la técnica del peso seco presenta el inconveniente de obtener los resultados con retraso, lo cual puede ser significativo en relación con la dinámica de crecimiento de los microorganismos y el número reducido de muestras que se pueden extraer durante el proceso. Además la técnica del peso seco presenta la desventaja de que los componentes volátiles de la célula pueden perderse por el secado y puede existir alguna degradación. Asimismo la muestra puede recobrar humedad durante el pesado, principalmente si el ambiente tiene una humedad relativamente alta, lo que lo hace ser un método no tan confiable.

A su vez, la determinación de proteína, presenta la ventaja de que permite llegar a una predicción confiable de la cantidad de biomasa, debido a que ésta, posee un alto contenido de proteína (55-60 %), lo cual la hace suponer como un componente mayoritario en la membrana externa de las bacterias *pseudomonas putida*, las que secretan proteínas al medio extracelular en la fermentación continua del biorreactor Airlift. Lo anterior se fundamenta, ya que el sistema tipo Airlift, se caracteriza por poseer la biomasa dispersa y adherida al soporte, por lo tanto esta técnica representa un método directo, ya que considera la totalidad de microorganismos presentes en la muestra (Méndez *et al.*,2000).

En lo que concierne a la relación existente entre la cuantificación de U.F.C, y el flujo de biomasa, se establece de acuerdo a lo observado en las Figuras 3.23 y 3.26, el modelo es

válido para las pruebas experimentales 1 y 2. Sin embargo, presenta una mayor tendencia a errores, con respecto a las técnicas anteriores, ya que este método sólo representa el 49% de los datos.

Lo anterior se fundamentado por Villouta *et al.*, (2000), quien señala, que esta técnica es un método viable, que permite distinguir células vivas de muertas, a diferencia de las anteriores. Diez *et al.* (1999) establece que el método de recuento de placa, sólo evalúa la presencia de bacterias aerobias, permitiendo aislarlas de protozoos, rotíferos, nemátodos, entre otros.

Según González *et al.* (2004), este método es ideal para el diagnóstico de especies del género *pseudomonas*, sin embargo al ser un microorganismo que necesita requerimientos especiales para su crecimiento, se dificulta su aislamiento en los medios microbiológicos comúnmente usados, por lo que desafortunadamente muchos laboratorios no la cultivan.

4.7.2 Análisis de los diferentes métodos de determinación de biomasa con respecto a la eficacia de eliminación del contaminante.

En la Figura 3.27 y 3.29, se observa un modelo de regresión simple que evalúa la relación existente entre la concentración celular por peso seco y la eficacia de eliminación del contaminante, para las dos pruebas experimentales, apreciándose que en ambas, el modelo es válido. Esto se atribuye a que por medio de la implementación del sedimentador al sistema, esta técnica, mejoro considerablemente, debido a que se logró mantener constante la concentración de biomasa para cada flujo de trabajo. Además, se

puede predecir que al retornar el soporte al biorreactor, existe una mayor cantidad de microorganismos que ayudan a degradar el substrato, debido a que el soporte genera un aumento en la superficie de contacto (substrato/ microorganismos), lo cual lleva consigo una mayor eficacia de eliminación.

Vactorino *et al.*, (2000), indica que al incorporarse una fase líquida continua a un biorreactor tipo Airlift, se logra una distribución mas uniforme del contaminante desde el tope del biorreactor hasta el fondo. De este análisis se puede afirmar, que lo anterior, facilitó una distribución más espacial de la biomasa en función de la altura de la columna.

Con respecto a la relación existente entre la determinación de proteína y la eficacia de eliminación para las dos pruebas experimentales, se desprende, que por la falla de una de las pruebas estadísticas realizadas al modelo propuesto, se puede concluir, su no validez. Lo anterior se atribuye, a los pocos datos que desafortunadamente estuvieron disponibles, por lo que cualquier conclusión adicional en relación a la variación de esta variable con la eficacia de eliminación, sería solo especulativa.

En lo que respecta a la relación entre la cuantificación de U.F.C y la eficacia de eliminación de tolueno para las dos pruebas experimentales (Figuras 3.28 y 3.30), se afirma que el modelo es válido. Se desprende que el mayor aumento de U.F.C, se obtiene en los menores flujos de gas, destacando que el número bacterias varían de acuerdo a la variación del tiempo de residencia hidráulico (Villouta *et al.*, 2000). Lo anterior se fundamenta al señalar que al aumentar el flujo de trabajo, disminuye el tiempo de contacto entre el aire contaminado y la flora microbiana.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a lo expuesto, las principales conclusiones del estudio realizado son:

- El sedimentador de células, fue una valiosa alternativa que permitió aumentar y mantener constante la concentración de biomasa en suspensión en el biorreactor, obteniendo resultados satisfactorios que llegaron a determinar un valor óptimo de concentración de biomasa que asegura elevadas eficiencias y capacidades de eliminación del contaminante.
- Los resultados revelaron que el biorreactor Airlif, es altamente eficaz para el tratamiento de aire contaminado con tolueno, presentando así un grado de flexibilidad cuando se somete a cambios repentinos en las condiciones de funcionamiento, tales como aumentos de flujo de gas, concentración de entrada del contaminante y carga de tolueno.
- La eficiencia de eliminación del sistema disminuye con el aumento en la entrada de TL del contaminante a partir del 98% a 58%, para TLs de 424 y 878 $\text{g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ respectivamente, dado un menor tiempo de residencia del gas en el reactor que afecta la transferencia de masa del tolueno desde la fase gas a la líquida. Esto demuestra que el sistema Airlift es sensible a diversas condiciones de funcionamiento. Sin embargo, el sistema se flexibiliza con la variación de purgas de biomasa del biorreactor, para un aumento de flujo de gas importante, alcanzando una eficiencia de eliminación de 98%, para un TL constante de 876 $\text{g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$.

- La CE del biorreactor Airlift para las tres pruebas experimentales aumenta con el aumento de la temperatura, a partir de 375 a 722 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$, para las temperaturas de 32 a 37°C respectivamente. Este aumento se atribuye al aumento de la actividad microbiana en el interior del reactor lo que trae consigo un aumento de la concentración celular en el biorreactor.
- Sin embargo, en algunos casos la eficiencia de eliminación del biorreactor Airlift se ve afectada por el incremento de la temperatura; este efecto esta dado, por el aumento del coeficiente de Henry, lo que se asocia a una reducción de la solubilidad del gas en la fase acuosa.
- Es posible obtener CE en el rango de 325 a 722 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ en un biorreactor Airlift, manteniendo concentraciones de biomasa entre 2000 a 7000 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ para concentraciones de entrada de tolueno menores a 37 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$
- Los resultados experimentales y teóricos confirmaron que concentraciones celulares de 4000 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, o mayores, son concentraciones de biomasa razonables para obtener un funcionamiento satisfactorio en el sistema, ya que logran alcanzar eficiencias de eliminación iguales o superiores al 75 %, en el biorreactor Airlift.
- Los análisis estadísticos realizados para las diversas técnicas de cuantificación de biomasa, revelaron la validez de las distintas técnicas propuestas, pronosticando una respuesta confiable frente a las variables incidentes de esta experiencia como flujo de gas, concentración celular y eficacia de eliminación del contaminante.

6. RECOMENDACIONES.

El principal problema que se presentó durante la operación del sistema, fue la variación de la concentración de entrada de tolueno. Esto podría atribuirse a una variación de temperatura en el sistema de saturación, desencadenando aumentos importantes de tolueno en el flujo de salida del saturador. Este problema podría solucionarse al contar con un sistema mas sofisticado compuesto por un controlador graduado de temperatura que permita mantener el sistema sin variaciones de esta.

Otro factor a tener en cuenta, fue la recirculación del soporte. Para regular la cantidad de soporte a recircular y el flujo de biomasa que ingresa al sedimentador, se conectaron dos mangueras Masterflex a la bomba peristáltica, a velocidades dadas. Esta situación implicó que fuera muy difícil medir la cantidad real del soporte recirculado, y aunque no fue un hecho determinante en el funcionamiento del reactor, conviene tenerlo presente. Este problema podría solucionarse, al implementar un temporizador que conecte y desconecte el suministro eléctrico de la bomba peristáltica (la cual arrastra la biomasa del reactor), a tiempos de marcha y detención programados de modo tal que se alcance el flujo deseado.

Otro problema presentado durante la operación del biorreactor, fue la generación de espumas, las cuales ensucian el sistema y su entorno, además de arrastrar al exterior del biorreactor algo de soporte, que dependiendo de la cantidad, podría ser un problema operacional. Cabe destacar que al estabilizarse el sistema, se terminó la generación de espumas. Este problema podría solucionarse utilizando un antiespumante. Debido a que la espuma apareció sólo cuando el sistema no se encontraba estabilizado, su aparición o

desaparición podría convertirse en un buen indicador de un sistema desestabilizado o en equilibrio.

La evaluación del crecimiento bacteriano se realizó por el método de recuento en placas con Agar, en donde se logró cuantificar la existencia de unidades formadoras de colonias de bacterias mesófilas aerobias viables, sin embargo debido que las especies del género *pseudomonas*, son microorganismo que necesita requerimientos especiales para su crecimiento, se dificultó su aislamiento. En vista de lo anterior, sería muy interesante que en investigaciones futuras, se realice el aislamiento y caracterización de los microorganismos nativos asociados a la biotransformación de tolueno mediante medios microbiológicos.

7. REFERENCIAS

Acevedo, F; Gentina, Juan Carlos; Illanes, Andrés. *Fundamentos de Ingeniería Bioquímica*. Ediciones Universitarias de Valparaíso, Universidad Católica de Valparaíso, 2002.

Adler, S; Robbers, B. and Loock, R. "Biofiltration a Primer". *Environmental Protection*. Abril, 2002.

Asenjo, Juan; Merchuk, José. *Bioreactor System Design*. Editorial Marcel Dekker. New York. United States of America, 1995.

Bailey, James; Ollis, David. *Biochemical Engineering Fundamentals*. Editorial Mc Graw Hill. 2° Edición. 1986.

Blenkle, F. Smert, D. Biotransformation of Aromatics Hydrocarbons. Material for distribution only to students. *Biodegradation & Bioremediation*. CE 320-01.2002.

Braur T. and M. Madigan, *Microbiología*, Prentice Hall Hispanoamericana S.A., México, (2002).

Brown, W; Cooper, D. and Liss, S.. Toluene removal in an automated cyclical biorreactor. *Biotechnology Progress*. Vol. 16, 2000. pp 378-384.

Canavos, G. Probabilidad y Estadística, Aplicaciones y Métodos. Mc Graw- Hill Interamericana, México (1984).

Chisti, M.. and Moo-Young, M. Airlift Reactors: Characteristics, Applications and Design Considerations, *Chem. Eng. Commun.*, Vol. 60, 2002. pp 195-242.

Deeb, R.A. and Alvarez-Cohen, L., Temperature Effects and Substrate Interactions During the Aerobic Biotransformation of BTEX Mixtures by Toluene-Enriched Consortia and *Rhodococcus rhodochrous*, *Biotechnol. Bioeng.* 62 (5): 526-536 (1999).

Delhomenie M; A estudy of clogging in a biofilter tracking toluene vapors, *Chem. Eng. Comm.*, Vol. 194(1), 2003. pp. 35-45

Devanny, Joseph; Deshusses, Marc; Webster, Todd. *Biofiltration for air pollution control*. Lewis Publishers, United States of America, 1999.

Diez, M.C y Scheuerman, E. (1999). Manual de Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Ediciones Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

Duetz, W. A., C. de Jong, P. A. Williams, and J. G. van Andel. Competition in chemostat culture between *Pseudomonas* strains that use different pathways for the degradation of toluene. *Applied and Environmental Microbiology*. 60, 1994. pp 2858-2863.

Ergas, Sarina; Schroeder, Edward; Chang Daniel and Morton Robert. Control of volatile organic compound emissions using a compost biofilter. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 44 1997. pp.188-199.

Edwards, Sarina; Schroeder, Chang Daniel and Morton Robert. Control of volatile organic compound emissions using a compost biofilter. *Biotechnology and Water Environmental Research*. N° 65. 2002. pp 316-321.

Fran, J.; Rotter, H and Loock, F; Activity of Toluene-Degrading *Pseudomonas putida* in the Early Growth Phase of a Biofilm for Waste Gas Treatment, *Biotechnol. Bioeng.* 14: 32-36 (2004).

Freidier, V. And Olive, F; Kinetics of Organic Compound Removal from Waste Gases with a Biological Filter, *Biotechnol. Bioeng.* 34: 308-310 (2002).

Gallegos K.; Funderberger, B.; Brzezinski, R. Biofiltration of air Polluted with Toluene Under Steady-State Conditions: Experimental Observations. *Ind. Eng. Chem. Res. American Chemical Society*. 36, 2001. pp 4719-4725.

Garcia,A.,Polac, G and Frederic, B; Abrasion of suspended pellets in Airlift reactors: effect of particle size. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 23. N°1 2004. pp.98-115.

Garnier, V; Fernandez, G; A study of clogging in a biofilter tracking toluene vapors, *Chem. Eng. Comm.*, Vol. 194(1), 2001. pp. 35-45.

Gjaltema,A., Vinke, J.L., M.C.M. van Loosdrecht and Heijnen, J.J. Abrasion of suspended biofilm pellets in Airlift reactors: Importance of shape, structure and particle concentrations . *Biotechnology and bioengineering*. Vol 53. 1997. pp.88-99.

González, D; Mieres, P; *Procesos de Transferencia de Calor*. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V.México, 2004.

Heijnen, J.J., van Loosdrecht, M.C.M., Mulder, R. and Weltevrede , A. Large scale anaerobic aerobic treatment of complex industrial wastewater using biofilm reactors. *Wat. Sci. Technol.* 23. 2001. pp. 427-436.

Hickey, V. and follins, K; Biofiltration of Benzene Contaminated Air Streams Using Compost-Activated Carbon Filter Media, *Environ. Prog.* 12:123-172 (2002).

Holden, Patricia and Firestone, Mary. Soil Microorganism in soil Cleanup: How Can We Improve Our Understanding? *Journal Environmental Quality* N°26 .2002 . pp. 32-40.

Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), Ministerio de Salud, Subdepartamento Laboratorio de Ambiente. (1998). Manual de Técnicas Microbiológicas para alimentos y aguas..

Jorio H., Bibeau L., Viel G. and Heitz M., Effects of gas flow rate and inlet concentration on xylene vapors biofiltration performance, *J. Chem. Eng.* 76 (3): 209-221 (2000).

Jorio H., Bibeau L., Viel G. and Heitz M., Effect of concentration on xylene vapors biofiltration performance, *J. Chem. Eng.* 79 (2): 345-367 (2001).

Khandan, N. Prototipe Development of a Novel Bioreactor Configuration For Treating Airstreams Contaminated With Organic Vapors. Technical Completion Report. February 1999.

Khandan, N. Prototipe Development of a Novel Bioreactor Configuration for Treating VOC Contaminated Air Streams .Technical Completion Report. October 1997.

Karied, K.; Funderberger, B.; Brzezinski, R. Biofiltration of air Polluted with Toluene Under Steady-State Conditions: Experimental Observations. *Ind. Eng. Chem. Res. American Chemical Society.* 36, 1997. pp 4719-4725.

Klein, J. Maria., A. Vicente, L. Domínguez. Relationship Bbetween hydrodynamics and rheology of flocculatinng yeast suspensoons in a high cell density Airlift Biorreactor. Portugal, 2005.

Kennes C., Cox H., Doddema H. and Harder W., Design and Performance of Biofilters for The Removal of Alkylbenzene Vapors, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 66: 300-304 (1996).

Lara L; Montaje y puesta en marcha de un biofiltro para tratamiento de gases contaminados con hidrocarburos volátiles, Tesis para optar al título de Ingeniero Ambiental. Universidad Católica de Temuco, Facultad de Ciencias Básicas, Temuco. 2003.

LEE, D; Pérez, F; Auria, R; Revah, S. Eliminación de tolueno por medio de biofiltros, evaluación del espesor activo. *Avances en Ingeniería Química*, vol. 5 (1), 2002, pp 54-59.

Legile.A, Larsen L.H., Revsbech N.P.,Amann,R., Chleifer K.H. Structure and function of a nitrifyng biofilm as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Applied. Environmental Microbiology.* 62 (12).2003. pp. 4641-4647.

Leson, V; Gómez, F; Effect of Drying on Biofilter Performance : Modeling and Experimental Approach, *Environ. Sci. Technol.* 37:985-992 (2004).

Levin, Morris. *Biotratamiento de Residuos Tóxicos y Peligrosos*. Editorial Mc.Graw Hill. Madrid, España,1998.

López, D; Pérez, F; Auria, R; Revah, S. Eliminación de tolueno por medio de biofiltros, evaluación del espesor activo. *Avances en Ingeniería Química*, vol. 5 (1), 1995, pp 54-59.

Manzini M, Moresi M 2000. Rheological behaviour of baker's yeast suspensions, *J Food Eng* 44:225-231.

Marsh R., Jones W. and Bryers J., Toluene Degradation Kinetics for Planktonic and Biofilm-Grown Cells of *Pseudomonas putida* 54G. *Biotechnol. Bioeng.* 53 (69): 535-546 (1994).

Méndez M. Abrasion of suspended pellets in airlift reactors: effect of particle size. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 55. N°1 2000. pp.206-215.

Merchuk, M; Revah, Sergio; Auria, Richard. Elimination of gasoline compounds by biofiltration. *USC-TRG, Conference on Biofiltration*. U.S.A, 2002

Metcalf & Eddy. *Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización*. Editorial Mc Graw Hill, Madrid, 1995.

Moreci, M; Revah, Sergio; Auria, Richard. Elimination of gasoline compounds by biofiltration. *USC-TRG, Conference on Biofiltration*. U.S.A, 2000.

Morci, R; Goye E., J. L. Ditty, and C. S. Harwood. Toluene-Degrading Bacteria Are Chemotactic towards the Environmental Pollutants Benzene, Toluene, and Trichloroethylene. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002, p. 4098 – 4104.

Morgan, P., and Watkinson, R.J. 1989. "Hydrocarbon Degradation in Soils and Methods for biofiltration Treatment". *Critical Reviews in Biotechnology*. 8(4):305-333.

Musteman. H; Forch, G; Elimination of toluene by biofiltration. *USC-TRG, Conference on Biofiltration*. México, 2002

Nirnalakhandan, F; Eggas, W; Biological wastewater treatment in the finish pulp and paper industry and Development Conference in Environmental Training in Engineering Education, 2000.

Nikolov, H; Fran, D; Degradation of Waste Gas Containing Toluene in an Airlift Bioreactor. *Environ .2001 Sci. Technol.* 38: 2271-2280

Ottengraf S.; Laurenzis, A.; Werner, U.; Friedrich, C. Controlled Biomass formation and kinetics of toluene degradation in a bioscrubber and in a reactor with a periodically moved trickle-bed. *Biotechnology and bioengineering*. Vol.55 (4), 2001 pp 686-693.

Olive, S., Oozawa, Y., Hiratia, K and Watanbe, Y. Relationship between population dynamics of nitrifiers in biofilm and reactor performance at various C:N ratios. *Wat. Sci. Technol.* 2002. 35 (6). pp.91-99.

Pederson, G; Fuller, D; Biodegradation Kinetics of Benzene, Toluene, and Phenol as Single and Mixed Substrates for *Pseudomonas putida* F1. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 69, 4, 1997. pp. 385-400.

Pereira, C, Herrera, H; effect of particle size. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 55. N°1 2000. pp.206-215.

Pineda F., Patricia and Firestone, Mary. Soil Microorganism in soil Cleanup: How Can We Improve Our Understanding? *Journal Environmental Quality* N°26 .2000 . pp. 32-40

Quiroz, E: Montaje y puesta en marcha del sistema tipo Ailift para el tratamiento de gases contaminados con hidrocarburos volátiles., Tesis para optar al título de Ingeniero Ambiental, Universidad Católica de Temuco, Facultad de Ciencias Básicas, Temuco. 2003.

Rathor A. Deeb and Lisa Alvarez-Cohen, Aerobic Biostransformation of Gasoline Aromatics in MultiComponent Mixtures, *Bioremediation Journal*: 4(1), 2003. pp 1-9.

Reardon ,K.F.; Mostelle, D.C.; Bull, J.D. Biodegradation Kinetics of Benzene, Toluene, and Phenol as Single and Mixed Substrates for *Pseudomonas putida* F1. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 69, 4, 2000. pp. 385-400.

Roustan A., Larion.H., Roberts K., Chleifer K.H. Function of a nitrifying biofilm as determined by in situ hybridization. *Applied. Environmental Microbiology*. 69 (12). 2002. pp. 647-649.

Rula A. Deeb and Lisa Alvarez-Cohen, Aerobic Biostransformation of Gasoline Aromatics in MultiComponent Mixtures, *Bioremediation Journal*: 4(1), 2000. pp 1-9.

Smets, V; Fox, K. Biotransformation of BTEX Mixtures by Toluene-Enriched Consortia and *Rhodococcus rhodochrous*. *Biotechnology and Bioengineering*; 2002. pp 1-9.

Switzenbaum A., Larsen L.H., Revsbech N.P., Amann, R., Chleifer K.H. Structure and function of a nitrifying biofilm as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Applied. Environmental Microbiology*. 62 (12).2001. pp. 4641-4647.

Tang, R., Biological treatment in the pulp and paper and Aerobic Biotransformation Development Conference in Environmental Engineering 62 (12).1997. pp. 4461-468

Tijhuis,L.,Husman,L.,Hekelman,H.D.,M.C.M van Loosdrecht and Heijnen,J.J. Nitrifying of suspended particles in airlift reactors. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 47. 1994. pp 585-595.

Tijhuis,L.,Husman,L.,Hekelman,H.D.,M.C.M van Loosdrecht and Heijnen,J.J. Formation of nitrifying biofilms on small suspended particles in airlift reactors. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 48. 1995. pp 123-124.

Tijhuis,L.,Husman,L.,Hekelman,H.D.,M.C.M van Loosdrecht and Heijnen,J.J. Structure and Formation of nitrifying biofilms in airlift reactors. *Biotechnology and bioengineering*. Vol 54. 2000. pp 609-614

Verlaan, F and Cox, G; Friedrich, C. Controlled Biomass formation and kinetics of toluene degradation in a bioscrubber and in a reactor Airlift. *Biotechnology and bioengineering*. Vol.55 (4), 2002. pp 686-693.

Vergara, A. O.; Alarcón, N. A.; Aroca, G. E., y Encina, F. R.. Modelado y simulación de un biofiltro para el tratamiento de gases contaminados con compuestos sulfurados, *Información Tecnológica*: 13(3), 2002. pp 17-24.

Vergara, A. O.; Alarcón, N. A.; Aroca, G. E., y Lara L. Effects of Gas Flow Rate, Inlet Concentration and Temperature on Biofiltration of Vapors Toluene in a Biofilter; *Información Tecnológica*: 2005. pp 7-23

Vicente, D and March, J; Degradation of Waste Gas Containing Toluene in an Airlift Bioreactor. *Environ. 2001, Sci. Technol.* 38: 2271-2280

Victorino, H.; Kim, B.J. and Rittmann, B.E. Contributions of biofilm versus suspended bacteria in an aerobic circulating-bed biofilm reactor. *Journal Water Science and technology* Vol.43 N°1. 2000. pp 303-310.

Villouta V. And Fruier, G; Biodegradation Kinetics of Benzene,Toluene, and Phenol as Single and Mixed Substrates for *Pseudomonas putida*F1. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 69, 4, 2000. pp. 385-400.

Wubber,S.; Laurenzis, A.; Werner, U.; Friedrich, C. Controlled Biomass formation and kinetics of toluene degradation in a bioscrubber and in a reactor with a periodically moved trickle-bed. *Biotechnology and bioengineering*. Vol.55 (4), 1997. pp 686-693.

Young, Eun; Shin, Youn; Suk, Kyung; Wook, Hee. Degradation Characteristics of Toluene, Benzene, Ethylbenzene, and Xylene by *Stenotrophomonas maltophilia* T3-c. *Journal of the Air & Waste Management Association*. Volume N°52. April.2002. pp 400-406.

Yu, H.; Kim, B.J. and Rittmann, B.E. Contributions of biofilm versus suspended bacteria in an aerobic circulating-bed biofilm reactor. *Journal Water Science and technology* Vol.43 N°1. 2001. pp 303-310.

Zuber, Laurent; Dunn, Irving and Deshusses, Marc. Comparative Escalation and Cost Estimation Of a Biological Trickling Filter and a Three-Phase Airlift Bioreactor for the Removal of Methylene Chloride from Polluted Air. *Journal of the Air & Waste Management Association*. Volume N°47. September. 1997.pp 969-975.

8. ANEXOS

8.1 Curva de calibrado para concentración de biomasa.

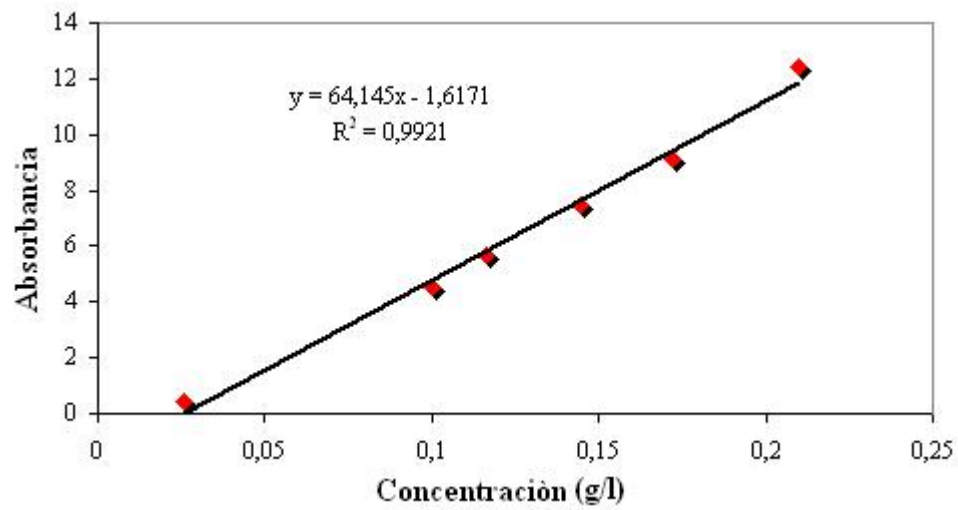


Figura 8. 1 Curva de calibrado para concentración de biomasa.

8.2 Curva de calibrado para obtención de concentración de entrada de tolueno.

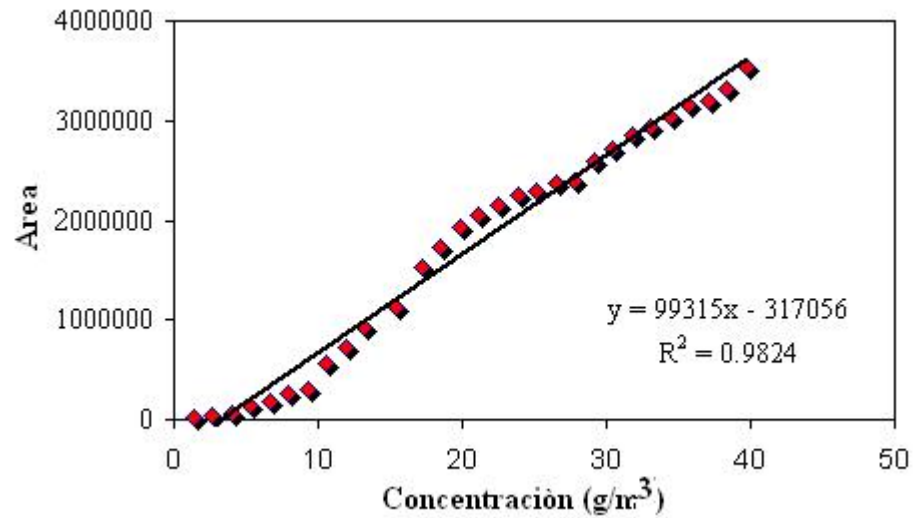


Figura 8. 2 Curva de calibrado para determinación de concentración de entrada de tolueno.

8.3 Análisis estadísticos de las técnicas de cuantificación de biomasa.

8.3.1 Análisis estadístico para concentración celular y flujo de gas para la técnica del peso seco. (Primera prueba experimental).

```

StatMost for Windows
-----
-----
Linear Regression Analysis Results
=====

Variables:   X = "C_Celular", Y = "F_Aire"

Equation: F_Aire = 2954.2000 -390.0800*C_Celular

Variable      N      Mean      Variance
-----+-----+-----+-----
C_Celular     5       5.0000       3.1250
F_Aire        5      1003.8000     518967.2000
-----+-----+-----+-----

Regression Coefficient      = -390.080000
Standard Error of B        = 68.085969
Y-Intercept                 = 2954.200000
R-Squared                   = 0.916257
Adjusted R-Squared          = 0.888343

Standard Error of Estimate   = 240.720253

```

Tabla 16. Reporte estadístico.

```

Analysis of Variance Table
-----

Source      DF      SS      MS      F      P
-----+-----+-----+-----+-----
Linear      1  1.902E+006  1.902E+006  32.8240  0.0106
Deviation   3  1.738E+005  57946.2400
-----+-----+-----+-----+-----
Total       4  2.076E+006  5.190E+005

```

Tabla 17. Reporte Anova Stat Most.

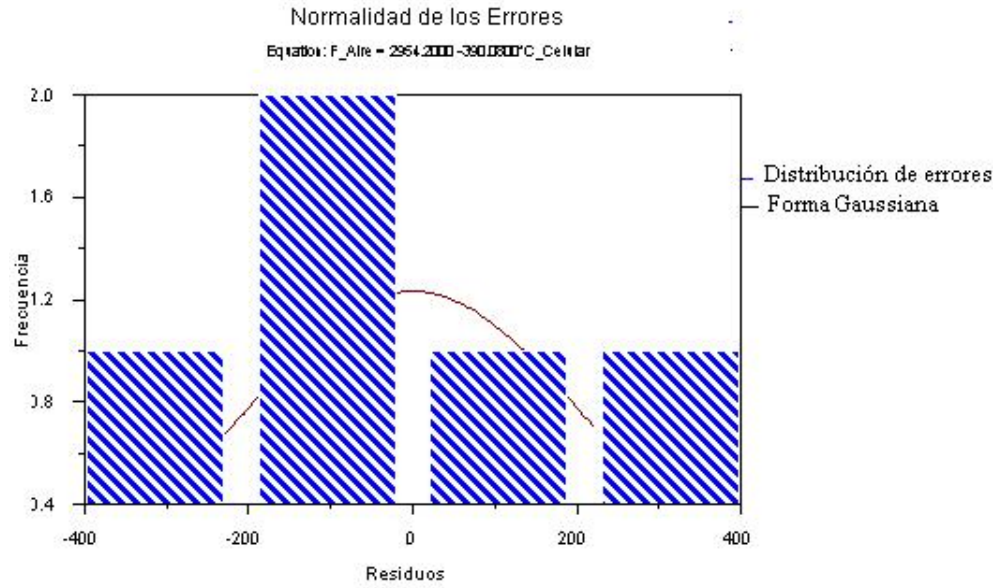


Figura 8.3 Normalidad de los errores.

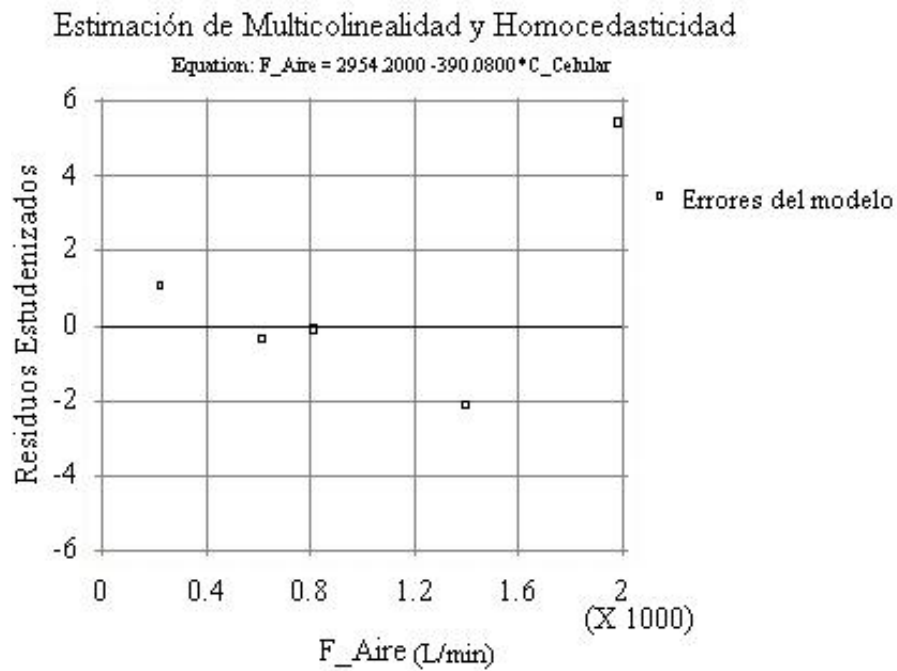


Figura 8.4 Estimación de Multicolinealidad y Homocedasticidad.

8.3.2 Análisis estadístico para concentración celular y flujo de gas para la determinación de proteína. (Primera prueba experimental).

```

-----
StatMost for Windows
-----

Linear Regression Analysis Results
=====

Variables:  X = "C_Proteina",  Y = "F_Aire"
Equation:  F_Aire = 2527.6474 -3668.3855*C_Proteina

Variable      N      Mean      Variance
-----+-----+-----+-----+
C_Proteina    5      0.4154    0.0270
F_Aire        5     1003.8000  518967.2000
-----+-----+-----+-----+

Regression Coefficient  = -3668.385536
Standard Error of B     = 1387.417479
Y-Intercept             = 2527.647351
R-Squared                = 0.699728
Adjusted R-Squared       = 0.599637
Standard Error of Estimate = 455.823550

```

Tabla 18. Reporte estadístico.

```

Analysis of Variance Table
-----

Source      DF      SS      MS      F      P
-----+-----+-----+-----+-----+
Linear      1  1.453E+006  1.453E+006  6.9909  0.0774
Deviation   3  6.233E+005  2.078E+005
-----+-----+-----+-----+-----+
Total      4  2.076E+006  5.190E+005

```

Tabla 19. Reporte Anova Stat Most.

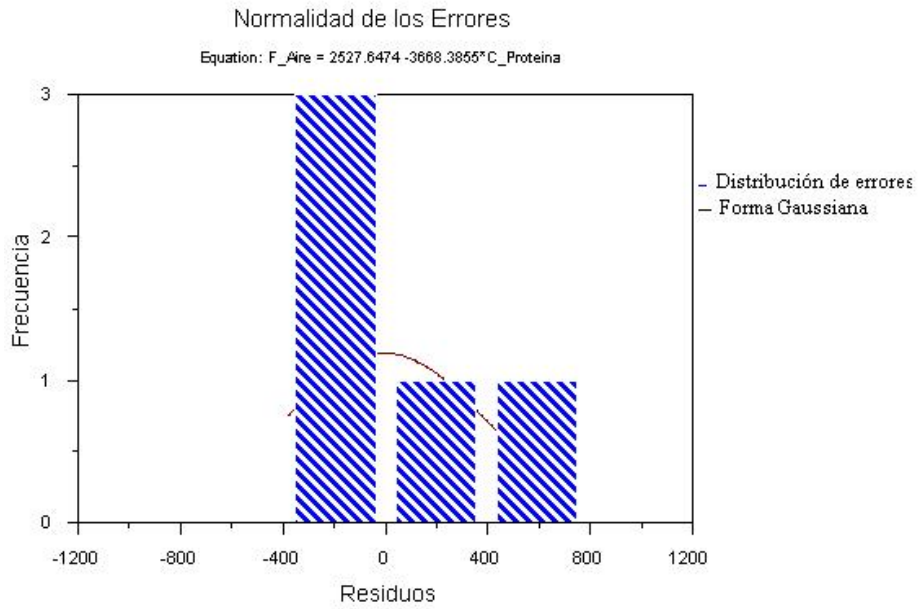


Figura 8.5 Normalidad de los errores.

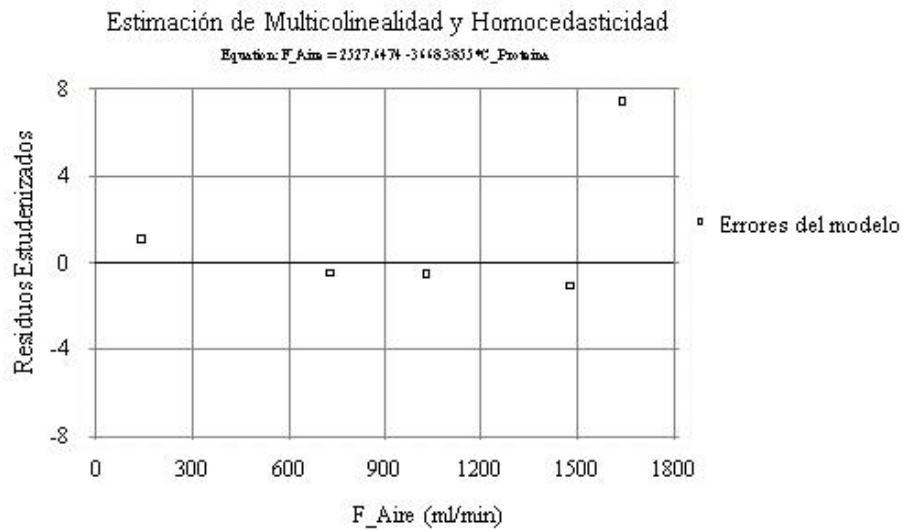


Figura 8.6 Estimación de Multicolinealidad y Homocedasticidad.

8.3.3 Análisis estadístico para concentración celular y flujo de gas para la cuantificación de U.F.C. (Primera prueba experimental).

```

-----
                        -----
                        StatMost for Windows
                        -----
-----

                        Linear Regression Analysis Results
=====

Variables:   X = "U_Bacterias", Y = "F_Aire"
Equation: F_Aire = 1538.3495 -0.0000*U_Bacterias

Variable      N      Mean      Variance
-----+-----+-----+-----
U_Bacterias   5      28280000.0000  7.14967000E+014
F_Aire        5      1003.8000      518967.2000
-----+-----+-----+-----

Regression Coefficient = -0.000019
Standard Error of B    = 0.000011
Y-Intercept           = 1538.349500
R-Squared              = 0.492224
Adjusted R-Squared    = 0.322966
Standard Error of Estimate = 592.755020

```

Tabla 8. Reporte estadístico.

```

                        Analysis of Variance Table
                        -----

Source      DF      SS      MS      F      P
-----+-----+-----+-----+-----
Linear      1      1.022E+006  1.022E+006  2.9081  0.1867
Deviation   3      1.054E+006  3.514E+005
-----+-----+-----+-----+-----
Total      4      2.076E+006  5.190E+005

```

Tabla 9. Reporte Anova Stat Most.

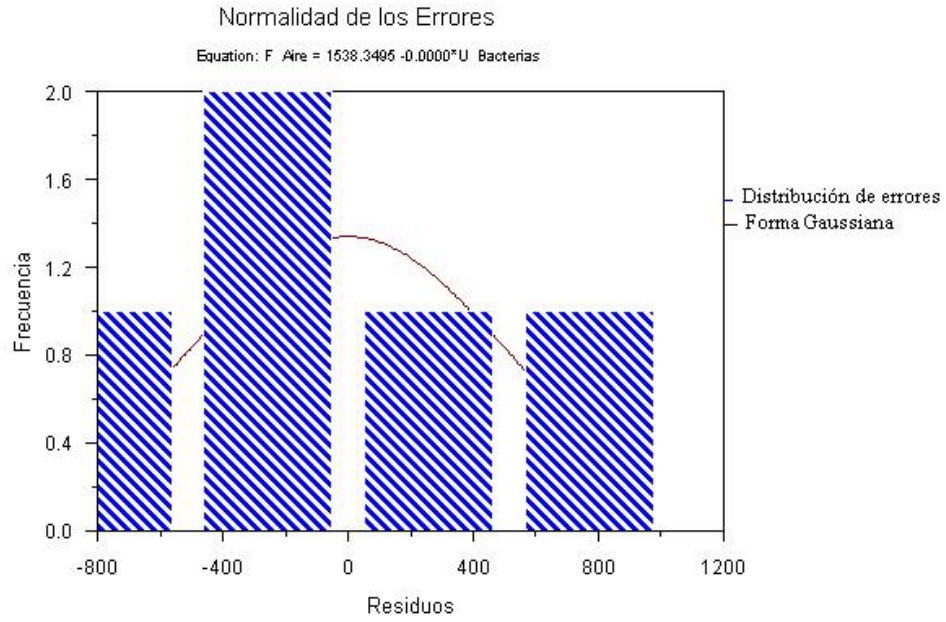


Figura 8.7 Normalidad de los errores.

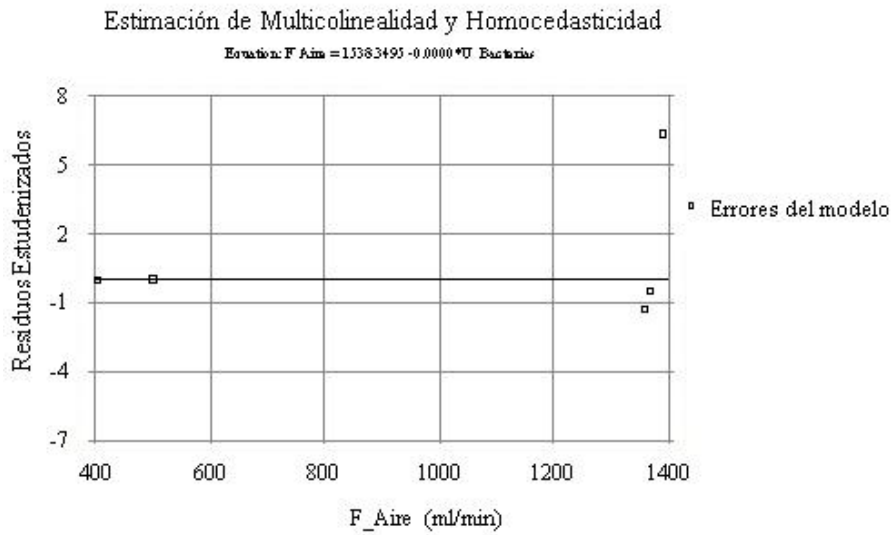


Figura 8.8 Estimación de Multicolinealidad y Homocedasticidad.

