

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

# Uso de técnicas moleculares para la detección de arqueas en procesos de biolixiviación

Memoria para optar al título de Ingeniero Civil en Biotecnología

Por:

**Juan Pablo Elgueta Jara**

Profesor guía: Blanca Escobar Miguel

**Santiago de Chile – Abril 2008**

Tesis con restricción de acceso en línea, según petición de su autor.

Miembros de la Comisión: Oriana Salazar Aguirre y José Tomás Vargas Valero



<b>Resumen .</b>	<b>1</b>
<b>Texto con restricción . .</b>	<b>3</b>



## Resumen

El presente trabajo de título tiene por objetivo la detección de arqueas en procesos de biolixiviación, y el estudio de la relación que pudiese existir entre la variación de los parámetros fisicoquímicos presentes en el ambiente en estudio y la presencia de arqueas para cada condición estudiada.

Utilizando una mini columna rellena con mineral sulfurado y alimentada con medio basal conteniendo sulfato ferroso, a la que se hicieron una serie de cambios, como la temperatura dentro de ésta y los iones presentes en las soluciones utilizadas. Las temperaturas utilizadas para este estudio fueron de 45°, 55° y 65°C.

Para lo anterior, se realizó el análisis mediante reacción de PCR de las arqueas presentes en las soluciones obtenidas de una mini columna de biolixiviación montada en el Laboratorio de Biohidrometalurgia. La ventaja que presenta este tipo de análisis es el ser independiente de cultivos, por lo que permite obtener una aproximación de los organismos presentes en solución, en particular en el caso de arqueas, microorganismos difíciles de cultivar.

La técnica utilizada consiste en realizar la concentración de las células presentes en la solución, la extracción del DNA de las células, la reacción de PCR con *primers* universales específicos para arqueas en procesos de biolixiviación y la posterior visualización en gel de agarosa del producto de PCR.

Para realizar el PCR, se seleccionó un par de *primers* universales para arqueas desde la literatura, realizando un PCR virtual, mediante programas computacionales y

analizando los productos amplificados teóricos; el criterio de obtener los productos más homogéneos en cuanto a tamaño y representatividad respecto a las muestras.

Posterior a dicha selección se encargó su síntesis a un laboratorio externo, se procedió a realizar el PCR con los *primers* universales seleccionados, y el posterior análisis de la electroforesis en gel de agarosa de los productos de PCR.

Fue posible detectar arqueas en las muestras M2(45°C), M3(45°C), M7(55°C), M8(65°C), M9(65°C) y M10(65°C), es decir, a todas las temperaturas utilizadas en este trabajo. Se podría estimar que las arqueas presentes en estas soluciones corresponderían a: *Sulfolobus acidocaldarius*, *Acidianus brierleyi*, *Acidianus ambivalens*, *Ferroplasma sp.* y/o *Picrophilus oshimae*.

Se realizó también PCR con *primers* específicos para *S. metallicus*, para todas las muestras estudiadas. Para todas éstas la amplificación dio negativa, por lo que se descartó la presencia de esta arqueas en las muestras analizadas.

Dentro de las condiciones fisicoquímicas, no se pudo establecer una relación directa entre éstas y el desarrollo de arqueas, salvo la influencia de la temperatura. De todos modos se pudo comprobar que el factor más importante para el desarrollo microbiológico en estas pruebas es la adaptación de los microorganismos al mineral.

También se realizó una prueba con muestras ajenas a este trabajo, las cuales resultaron positivas para las muestras provenientes de procesos de biolixiviación.

De esta forma, es posible asegurar que los *primers* universales para arqueas seleccionados para procesos de biolixiviación (ArqF y ArqR) son efectivos, en cuanto a la utilización de estos para la detección de arqueas en dichos procesos, mediante la técnica de PCR

# Texto con restricción

Tesis con restricción de acceso en línea, según petición de su autor.