

TABLA DE CONTENIDO

1	<u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1	ANTECEDENTES GENERALES	1
1.2	BIOLIXIVIACIÓN Y BIOOXIDACIÓN	3
1.3	MICROORGANISMOS QUE PARTICIPAN EN LOS PROCESOS DE BIOOXIDACIÓN Y BIOLIXIVIACIÓN	4
1.4	EL AZUFRE Y LAS BACTERIAS AZUFRE-OXIDANTES	6
1.5	CARACTERÍSTICAS DE <i>SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS</i>	8
1.6	MECANISMOS DE BIOLIXIVIACIÓN	9
1.6.1	MECANISMO DEL TIOSULFATO.....	9
1.6.2	MECANISMO DEL POLISULFURO.....	10
1.6.3	MECANISMO DE LIXIVIACIÓN INDIRECTA	11
1.6.4	MECANISMO DE LIXIVIACIÓN POR CONTACTO	12
1.6.5	MECANISMO DE LIXIVIACIÓN COOPERATIVO	13
1.7	FUNCIÓN DE LAS BACTERIAS AZUFRE OXIDANTES EN LA LIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS	14
1.8	CRECIMIENTO BACTERIANO	15
1.9	ADHESIÓN BACTERIANA AL MINERAL	17
1.10	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VELOCIDAD DE BIOOXIDACIÓN	20
1.11	REACCIONES HETEROGÉNEAS	21
1.11.1	LA REACCIÓN QUÍMICA COMO ETAPA CONTROLANTE.....	24
1.11.2	LA DIFUSIÓN A TRAVÉS DE LA PELÍCULA GASEOSA COMO ETAPA CONTROLANTE	25
2	<u>MOTIVACIÓN</u>	26
3	<u>DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO Y JUSTIFICACIÓN</u>	27
4	<u>OBJETIVOS</u>	28
4.1	OBJETIVO GENERAL	28
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4.3	ALCANCES	29
5	<u>METODOLOGÍA</u>	30
5.1	MATERIALES Y EQUIPOS	30
5.2	DISEÑO DEL EXPERIMENTO	30
5.3	IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE ESFERAS O PERLAS DE AZUFRE	31
5.4	ESTERILIZACIÓN DEL AZUFRE ELEMENTAL	32
5.4.1	CULTIVOS DE BACTERIAS EN AZUFRE CON EXTRACTO DE LEVADURA.....	32
5.4.2	EXPERIMENTOS CONTROL.....	33
5.5	ANÁLISIS BIOLÓGICOS	34
5.5.1	DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ADHERENCIA BACTERIANA AL AZUFRE	34
5.5.2	RECUENTO DE BACTERIAS PLANCTÓNICAS Y ADHERIDAS AL MINERAL MEDIANTE TINCIÓN DAPI	
	35	

6	<u>RESULTADOS</u>	37
6.1	CAPACIDAD DE ADHERENCIA DE LA BACTERIA <i>SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS</i> AL AZUFRE ELEMENTAL	37
6.2	BIOOXIDACIÓN DE AZUFRE ELEMENTAL CON <i>SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS</i> A 45°C	38
6.2.1	EVOLUCIÓN DEL PH	38
6.2.2	EVOLUCIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE AZUFRE.....	39
6.3	ANÁLISIS BIOLÓGICOS	43
6.3.1	CUANTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS PLANCTÓNICAS	43
6.3.2	CUANTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS ADHERIDAS A LA SUPERFICIE DEL AZUFRE	46
6.3.3	CURVA DE CRECIMIENTO	48
6.3.4	CINÉTICA DE LA OXIDACIÓN DE AZUFRE POR <i>SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS</i> A 45°C	49
6.4	ANÁLISIS CUALITATIVOS DE LOS CULTIVO DE BIOOXIDACIÓN Y EXPERIMENTO CONTROL	57
7	<u>DISCUSIONES</u>	60
7.1	CAPACIDAD DE ADHERENCIA DE <i>SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS</i> SOBRE AZUFRE ELEMENTAL	60
7.2	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	62
7.3	ANÁLISIS BIOLÓGICOS	66
7.4	CONVERSIÓN DEL PROCESO	69
7.5	COMPARACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE AZUFRE ELEMENTAL CON <i>SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS</i> A 45°C Y <i>SULFOLOBUS METALLICUS</i> A 67°C	71
8	<u>DISCUSIÓN GENERAL</u>	75
9	<u>CONCLUSIONES</u>	77
10	<u>RECOMENDACIONES</u>	79
11	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	80
12	<u>ANEXOS</u>	84
A.	DETERMINACIÓN DE LA ADHERENCIA BACTERIANA AL AZUFRE	84
B.	CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS PLANCTÓNICAS Y ADHERIDAS	84
C.	ANÁLISIS QUÍMICOS	86
C.1	DETERMINACIÓN DE SULFATO EN SOLUCIÓN POR TURBIDIMETRÍA.....	86
C.2	ENSAYOS DE TITULACIÓN	87
	MEDICIÓN DE LOS PROTONES EN SOLUCIÓN	87
D.	GRÁFICOS DE LA OXIDACIÓN DE AZUFRE ELEMENTAL CON <i>SULFOLOBUS METALLICUS</i>	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Reacciones de oxidación y reducción catalizadas por bacterias.	7
Tabla 2: Nomenclatura Modelo del Núcleo sin Reaccionar.....	23
Tabla 3: Características de las Partículas de Azufre Elemental.....	46
Tabla 4: Datos del Azufre Utilizado en los Experimentos	46
Tabla 5: Tiempos de Conversión Completa para las Resistencias de la Reacción Química y la Difusión en la Película.....	56
Tabla 6: Relación molar entre sulfato y protones.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distintos hábitats donde se desarrollan bacterias quimiolitotróficas	8
Figura 2: Mecanismos Propuestos por W. Sand. A) Mecanismos del Tiosulfato; B) Mecanismo del Polisulfuro (Sand et al., 2001)	10
Figura 3: Mecanismo de Lixiviación por Contacto Propuesto por H. Tributsch (Tributsch., 2001)	13
Figura 4: Mecanismos de Lixiviación Propuestos por H. Tributsch (Ballester., 2005). .	14
Figura 5: Fases del Crecimiento Bacteriano (Gómez., 2012).....	16
Figura 6: Representación del mecanismo de lixiviación por contacto catalizada por una célula de <i>At. ferrooxidans</i> . La célula queda embebida en la capa de EPS adhiriéndose a la piritita por interacción electrostática. Durante la oxidación de tiosulfato y tetratiónatos puede formar agregados de azufre elemental y politionatos en el espacio periplasmático (glóbulos de azufre) (Rohwerder et al., 2003).....	18
Figura 7: Modelo de la Oxidación Bacteriana de Azufre Elemental (Rohwerder et al., 2003).....	19
Figura 10: Ilustración del Modelo del Núcleo sin Reaccionar en Ausencia de Ceniza (Levenspiel., 1987)	23
Figura 11: Fotografía al Microscopio de Epifluorescencia de las Bacterias Planctónicas. 1) 0 horas de cultivo, 2) 72 horas de cultivo, 3) 144 horas de cultivo, 4) 216 horas de cultivo.	45
Figura 12: Fotografía al Microscopio de Epifluorescencia de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> en Azufre Elemental. 1) 0 horas de cultivo, 2) 24 horas de cultivo	47
Figura 13: Fotografía de los Experimentos Control al Inicio (1) y Final de los Experimentos (2).....	58
Figura 14: Fotografía de los Cultivos de Biooxidación con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> . A la derecha: Cultivos en tiempo inicial y su duplicado; A la izquierda: Cultivos en su tiempo final y duplicado	59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Recuento de bacterias planctónicas totales y porcentaje de adherencia de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> sobre azufre a 45°C durante las primeras 5 horas.	37
Gráfico 2: Comparación de la variación del pH durante el proceso de biooxidación de azufre a 45°C con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> y el experimento control.	39
Gráfico 3: Comparación de la variación de la concentración de sulfato en solución medida en el experimento control y la determinada durante el proceso de biooxidación de azufre a 45°C con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> .	40
Gráfico 4: Variación de la concentración de Ácido Sulfúrico y Protones en el cultivo de biooxidación con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> a 45°C.	41
Gráfico 5: Relación entre el pH y la concentración de Ácido Sulfúrico.	41
Gráfico 6: Variación de la concentración de azufre oxidado durante el proceso de biooxidación a 45°C con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> .	42
Gráfico 7: Crecimiento de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> en Solución a 45°C.	43
Gráfico 8: Fase Exponencial del Crecimiento de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> en Solución a 45°C.	44
Gráfico 9: Linealización de la Fase Exponencial del Crecimiento Celular de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> .	44
Gráfico 10: Crecimiento de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> en Azufre Elemental.	47
Gráfico 11: Curva de Crecimiento de <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> en Azufre Elemental a 45°C.	48
Gráfico 12: Conversión Molar de Azufre a Ácido Sulfúrico.	49
Gráfico 13: Ajuste Modelo del Núcleo sin Reaccionar; Control por la Reacción Química.	49
Gráfico 14: Ajuste Modelo del Núcleo sin reaccionar; Control por Difusión en la Película.	50
Gráfico 15: Ajuste Modelo del Núcleo sin Reaccionar; Control por Difusión en la Ceniza.	50
Gráfico 16: Ajuste Modelo del Núcleo sin Reaccionar; Control por Difusión en la Película con Tamaño de Partícula Decreciente.	51
Gráfico 17: Crecimiento Bacteriano en Azufre Elemental.	52
Gráfico 18: Modelo Cinético para los Resultados de Oxidación de Azufre con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> a 45°C.	55
Gráfico 19: Rendimiento de la Biooxidación de Azufre con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> a 45°C.	57
Gráfico 20: Comparación entre el pH medido y el pH estimado mediante la concentración de protones en solución.	64
Gráfico 21: Evolución del pH en un cultivo de seis meses de antigüedad con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> en azufre a 45°C.	66
Gráfico 22: Evolución de la conversión de azufre elemental a ácido sulfúrico con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> a 45°C.	70
Gráfico 24: Adherencia al Azufre Elemental de <i>Sulfolobus metallicus</i> (Pacheco., 2012).	88
Gráfico 25: Variación del pH en el Proceso de Oxidación de Azufre Elemental con <i>Sulfolobus metallicus</i> a 67°C (Pacheco., 2012).	89
Gráfico 26: Crecimiento Celular de <i>Sulfolobus metallicus</i> en Azufre Elemental a 67°C (Pacheco., 2012).	89

Gráfico 27: Concentración de Ácido Sulfúrico y Protones en la Oxidación de Azufre Elemental con <i>Sulfolobus metallicus</i> a 67°C (Pacheco., 2012)	90
Gráfico 28: Concentración de Sulfato en la Oxidación de Azufre Elemental con <i>Sulfolobus metallicus</i> a 67°C (Pacheco., 2012).....	90
Gráfico 29: Conversión del Proceso de Oxidación de Azufre Elemental con <i>Sulfolobus metallicus</i> a 67°C (Pacheco., 2012).....	91
Gráfico 30: Modelo del Núcleo sin Reaccionar para la Oxidación de Azufre Elemental con <i>Sulfolobus metallicus</i> a 67°C (Pacheco., 2012).....	91