

Tabla de Contenido

Agradecimientos.....	ii
Tabla de Contenido	iii
Índice de Figuras	vi
Índice de Tablas	viii
1 Introducción	1
1.1 Antecedentes Generales.....	1
1.2 Biolixiviación y biooxidación de azufre.....	2
1.2.1 Mecanismos de Biolixiviación	2
1.3 Minerales fosfatados y producción de fertilizantes	5
1.4 Biolixiviación de fosfatos	6
1.5 Microorganismos involucrados en la biolixiviación	7
1.5.1 <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	7
1.6 Cinética enzimática y actividad bacteriana	8
1.6.1 Mecanismos de inhibición enzimática	10
1.7 Curva de crecimiento microbiano	12
1.8 Factores que afectan el crecimiento y actividad oxidativa de Fe + 2 y/o SO de bacterias biolixiviantes	14
1.8.1 Efecto de la presencia de iones metálicos y no metálicos sobre la actividad oxidativa de bacterias biolixiviantes	14
1.8.2 Efecto del pH sobre la actividad oxidativa de bacterias biolixiviantes	16
1.8.3 Efecto de algunas sales y fuerza iónica sobre la actividad oxidativa de bacterias biolixiviantes	17
2 Motivación y Justificación del proyecto.....	18
3 Objetivos	19
3.1 Objetivo general.....	19
3.2 Objetivos específicos.....	19
4 Metodología Experimental.....	20
4.1 Diseño Experimental	20
4.1.1 Lixiviación química.....	20
4.1.2 Inoculación y colonización de perlas de azufre elemental con <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	21

4.1.3	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en soluciones de lixiviación química ajustada a diferentes pH.....	22
4.1.4	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios de cultivo basales con variadas concentraciones de K_2SO_4	23
4.1.5	Estudio preliminar de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios basales con 12 g/L de ion $PO_4 - 3$	25
4.2	Análisis Químicos y Biológicos.....	26
4.2.1	Medición de pH.....	26
4.2.2	Determinación de la concentración de ion sulfato $SO_4 - 2$ en solución por turbidimetría	26
4.2.3	Medición de la concentración de ácido sulfúrico (H^+) por titulación.....	28
4.2.4	Recuento del número de células en suspensión con marcador fluorescente DAPI	29
5	Resultados	31
5.1	Lixiviación química.....	31
5.2	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en soluciones de lixiviación química ajustadas a diferentes pH.....	32
5.3	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios de cultivo basal con múltiples concentraciones de K_2SO_4	38
5.4	Estudio preliminar de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios basales con 12 g/L de ion $PO_4 - 3$	43
6	Discusiones.....	44
6.1	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en soluciones de lixiviación química ajustadas a diferentes pH.....	44
6.2	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios de cultivo basal con múltiples concentraciones de K_2SO_4	45
6.2.1	Evolución del pH en los cultivos.....	46
6.2.2	Evolución de la concentración del ion sulfato en solución	47
6.2.3	Concentración de ácido sulfúrico	47
6.2.4	Generación de ácido sulfúrico en el tiempo	48
6.2.5	Curvas de crecimiento bacteriano	48
6.2.6	Conversión	50
6.2.7	Ajuste del modelo de partícula decreciente modificado	50

6.2.8	Consideraciones al modelo modificado de partícula decreciente	51
6.3	Estudio preliminar de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios basales con 12 <i>gL</i> de ion $PO_4 - 3$	52
7	Conclusiones.....	53
8	Bibliografía	55
9	Anexos.....	58
9.1	Tabla de simbología	58
9.2	Metodología de preparación de perlas de azufre esféricas	59
9.3	Resultados Adicionales.....	60
9.3.1	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en soluciones de lixiviación química ajustada a diferentes pH.....	60
9.3.2	Estudio de la actividad oxidativa de azufre de las bacterias en medios de cultivo basales con variadas concentraciones de K_2SO_4	62
9.4	Ejemplo de cálculo de generación de ácido y conversión	73

Índice de Figuras

Figura 1: Mecanismos de Biolixiviación propuestos por Tributsch H. (Tributsch 2001)...	3
Figura 2: Vías de disolución de los minerales sulfurados. (I) Vía del tiosulfato, (D) Vía del polisulfuro; (Sand et al. 2001)	4
Figura 3: Diagrama de flujo proceso de producción de ácido fosfórico, vía húmeda (Aesseal 2002).	5
Figura 4: Reacción enzimática (Voet 2006)	8
Figura 5: Gráfico de Michaelis-Menten (Doran 1995)	9
Figura 6: Modelo general de Inhibición Competitiva (Voet 2006).....	10
Figura 7: Modelo general de Inhibición No competitiva (Voet 2006).....	11
Figura 8: Modelo general de Inhibición Mixta (Voet 2006)	11
Figura 9: Curva de crecimiento microbiano en cultivo Batch (Doran 1995)	12
Figura 10: Evolución del pH en el tiempo de cultivos microbianos en soluciones de lixiviación ajustadas a tres pH diferentes (1,4; 1,8 y 2,03) y control en medio basal a pH 2,3. Todos los experimentos fueron realizados en duplicado.	33
Figura 11: Concentración de ion sulfato en el tiempo, de los tres cultivos en soluciones de lixiviación a diferentes pH y del control en medio basal y pH 2,3. Todos los experimentos fueron realizados en duplicado.	34
Figura 12: Concentración de ácido sulfúrico en el tiempo, de cultivos en soluciones de lixiviación a tres pH diferentes y el cultivo control en medio basal a pH 2,3. Todos los experimentos fueron realizados en duplicado.	35
Figura 13: Curva de masa de ácido sulfúrico generado en el transcurso del tiempo.	36
Figura 14: Curvas de crecimiento bacteriano de los cultivos en la solución de lixiviación ajustada a diferentes pH	36
Figura 15: Curva de conversión molar de azufre elemental en ácido sulfúrico	38
Figura 16: Gráfico de barras de la conversión final alcanzada en cada uno de los medios experimentales, comparados con la conversión alcanzada en el medio basal.....	39
Figura 17: Curva de crecimiento bacteriano en suspensión, de los medios con distintas concentraciones de sulfato de potasio.	40
Figura 18: Ajuste del modelo de partícula decreciente con la reacción química como etapa controlante modificado (incorpora la concentración de bacterias adheridas como un reactante más), a la conversión obtenida en el cultivo en medio basal, en función del tiempo.....	42
Figura 19: Ajuste del modelo modificado de partícula decreciente con la reacción química como etapa controlante a partir de las 120 horas (izquierda) y a partir de las 200 horas (derecha).....	42
Figura 20: Evolución del pH en el tiempo de un cultivo control en medio basal y de un cultivo en medio basal con 0,852 [ml] de H ₃ PO ₄ (ácido fosfórico). Este se añadió para lograr una concentración de 12 gL de ion fosfato PO ₄ – 3.....	43

Figura 21: Evolución del pH en el tiempo, de cultivos en medios de cultivo basal con altas concentraciones de sulfato de potasio K_2SO_4 y el control sin agregar K_2SO_4	62
Figura 22: Evolución del pH en el tiempo, de cultivos en medios de cultivo basal con bajas concentraciones de sulfato de potasio (K_2SO_4) y el control sin agregar K_2SO_4	63
Figura 23: Concentración de ion sulfato en el tiempo, de cultivos de medio basal con altas concentraciones de ion sulfato y el control sin agregar K_2SO_4	64
Figura 24: Concentración de ion sulfato en el tiempo, de cultivos de medio basal con altas concentraciones de ion sulfato y el control sin agregar K_2SO_4	65
Figura 25: Concentración de ácido sulfúrico en el tiempo, de cultivos en medios basales con altas concentraciones de sulfato de potasio y el control sin agregar K_2SO_4	66
Figura 26: Concentración de ácido sulfúrico en el tiempo, de cultivos en medios basales con bajas concentraciones de sulfato de potasio y el control sin agregar K_2SO_4	67
Figura 27: Curva de la masa de ácido sulfúrico producido en cada uno de los medios de cultivo con altas concentraciones de sulfato de potasio	68
Figura 28: Curva de la masa de ácido sulfúrico producido en cada uno de los medios de cultivo con bajas concentraciones de sulfato de potasio	69
Figura 29: Curva de crecimiento bacteriano de cultivos en medios basales con altas concentraciones de sulfato de potasio y control sin agregar sulfato de potasio K_2SO_4 . ..	70
Figura 30: Imágenes del recuento de células con el marcador fluorescente DAPI, de los cultivos con medio basal (0,8 [g/L] SO_4), con 7 [g/L] SO_4 y con 20 [g/L] (columnas) en los tiempos 0, 120 y 360 horas (filas).	72

Índice de Tablas

Tabla 1: Modelos de crecimiento microbiano (Alzate Fontalvo et al. 2009)	13
Tabla 2: Tabla de resistencias a altas concentraciones de metales de diversos microorganismos (Dopson et al. 2003).	15
Tabla 3: Contenido de iones del lixiviado	31
Tabla 4: Composición de los medios experimentales antes y después de la precipitación. Para los diferentes pH se obtuvieron precipitados de diferente composición.....	32
Tabla 5: Tabla de simbología	58
Tabla 6: Tabla de mediciones de pH en el tiempo, estudio de actividad biooxidativa de azufre en soluciones de lixiviación química ajustada a diferentes pH iniciales y control en medio de cultivo basal a pH inicial 2,3	60
Tabla 7: Tabla de mediciones de la concentración de ion sulfato en solución, en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en soluciones de lixiviación química ajustada a diferentes pH iniciales y control en medio de cultivo basal a pH inicial 2,3.....	60
Tabla 8: Concentración de ácido sulfúrico en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en soluciones de lixiviación química ajustada a diferentes pH iniciales y control en medio de cultivo basal a pH inicial 2,3.....	60
Tabla 9: Curva de crecimiento bacteriano en cultivo Batch, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en soluciones de lixiviación química ajustada a diferentes pH iniciales y control en medio de cultivo basal a pH inicial 2,3.....	61
Tabla 10: Tabla de mediciones de pH en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con altas concentraciones de ion sulfato en solución	62
Tabla 11: Tabla de mediciones de pH en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con bajas concentraciones de ion sulfato en solución.	63
Tabla 12: Tabla de mediciones de la concentración de ion sulfato en solución en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con altas concentraciones de ion sulfato en solución.	64
Tabla 13: Tabla de mediciones de la concentración de ion sulfato en solución en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con bajas concentraciones de ion sulfato en solución.	65
Tabla 14: Mediciones de la concentración de ácido sulfúrico en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con altas concentraciones de ion sulfato en solución.	66
Tabla 15: Mediciones de la concentración de ácido sulfúrico en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con altas concentraciones de ion sulfato en solución.	67
Tabla 16: Masa de ácido sulfúrico producido y existente en los distintos medios de cultivo con altas concentraciones de sulfato de potasio	68

Tabla 17: Masa de ácido sulfúrico producido y existente en los distintos medios de cultivo con bajas concentraciones de sulfato de potasio	69
Tabla 18: Curva de crecimiento bacteriano en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con altas concentraciones de ion sulfato en solución.....	70
Tabla 19: Curva de crecimiento bacteriano en el tiempo, estudio de la actividad biooxidativa de azufre en medios de cultivo basales con bajas concentraciones de ion sulfato en solución.....	71