

# Tabla de contenido

---

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 ASPECTOS ECONÓMICOS.....	1
1.2 MARCO TEÓRICO.....	2
1.2.1 El Hormigón.....	2
1.2.2 La Corrosión.....	4
1.2.3 La Corrosión Inducida por Microorganismos (MIC).....	5
1.2.4 Etapas de la Corrosión Mediada por Microorganismos del Hormigón.....	6
I. Producción de H <sub>2</sub> S.....	7
II. Generación biológica de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	9
III. Decrecimiento del pH.....	9
IV. Mecanismo de corrosión y pérdida de masa.....	10
1.2.5 <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> .....	11
1.2.6 Oxidación de Azufre elemental por <i>A. thiooxidans</i> .....	12
1.2.7 Fundamentos de la Identificación de Microorganismos mediante CARD-FISH.....	15
1.3 MOTIVACIÓN.....	19
1.4 DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	19
1.5 JUSTIFICACIÓN.....	19
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
2.3 LIMITACIONES Y ALCANCE.....	21
<b>3. METODOLOGÍA.....</b>	<b>22</b>
3.1 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DESDE HORMIGÓN CORROÍDO.....	22
3.1.1 Aislamiento de bacterias desde hormigón corroído.....	22
3.1.2 Recuento directo de células planctónicas.....	24
3.1.3 Identificación de las Bacterias por CARD-FISH.....	24
3.1.4 Protocolo para el tratamiento de células en suspensión.....	25
3.2 CULTIVO DE <i>A. THIOOXIDANS</i> EN MEDIO DE CULTIVO CON CEMENTO ENDURECIDO.....	28
3.2.1 Preparación Inóculo.....	28
3.2.2 Obtención de perlas de azufre.....	28
3.2.3 Esterilización de las perlas de azufre.....	29
3.2.4 Cultivo de inóculos en matraces sobre perlas de azufre.....	30
3.2.5 Colonización de perlas de azufre con <i>A. thiooxidans</i> .....	31
3.2.6 Preparación de probetas de mortero de cemento Portland.....	33
3.2.7 Esterilización de muestras de cemento.....	33
3.2.8 Medición de Sulfatos en solución por turbidimetría.....	34
3.2.9 Medición de ion calcio por espectrofotometría absorción atómica.....	34

<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>36</b>
4.1 AISLAMIENTO DE BACTERIAS DESDE HORMIGÓN CORROÍDO .....	36
4.2 CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS PLANCTÓNICAS .....	41
4.3 IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS POR CARD-FISH.....	44
4.3.1 Microfotografías de tinciones DAPI y CARD-FISH a una muestra de Central Termoeléctrica Norte Grande – Granulometría Baja (Matraz M1).....	45
4.3.2 Microfotografías de tinciones DAPI y CARD-FISH a una muestra de Central Termoeléctrica Norte Grande – Granulometría Alta (Matraz M1').....	46
4.3.3 Microfotografías de tinciones DAPI y CARD.FISH a una muestra Pavimento yacimiento minero Zona Central – Granulometría baja (Matraz M2) .....	47
4.3.4 Microfotografía de tinciones DAPI y CARD-FISH a una muestra de Pavimento yacimiento minero Zona Central – Sin moler (Matraz M2').....	47
4.4 CULTIVO DE <i>A. THIOOXIDANS</i> EN CEMENTO ENDURECIDO PARA EL ESTUDIO DEL EFECTO DE SU METABOLISMO SOBRE EL HORMIGÓN.....	49
4.4.1 Preparación de Inóculo de <i>A. thiooxidans</i> .....	49
4.4.2 Determinación de pH en cultivo de <i>A. thiooxidans</i> con cemento endurecido.....	50
4.4.3 Determinación de concentración de sulfatos en cultivo de <i>A. thiooxidans</i> con cemento endurecido.....	51
4.4.4 Determinación de la concentración de $Ca^{2+}$ en cultivo de <i>A. thiooxidans</i> con cemento endurecido.....	55
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>58</b>
6.1 PARA EL AISLAMIENTO DE BACTERIAS DESDE HORMIGÓN CORROÍDO .....	58
6.2 PARA EL DESARROLLO DE <i>A. THIOOXIDANS</i> EN MEDIO DE CULTIVO CON CEMENTO ENDURECIDO ..	58
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>60</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>68</b>
8.1 ANEXO 1: pH CULTIVOS DE MUESTRAS DE HORMIGÓN CORROÍDO .....	68
8.2 ANEXO 2: ENZIMAS INVOLUCRADAS EN LA OXIDACIÓN DE AZUFRE EN.....	68
<i>A. THIOOXIDANS</i> .....	68
8.3 ANEXO3: CARACTERIZACIÓN QUÍMICA CEMENTO .....	69
8.4 ANEXO 4: pH PREPARACIÓN DE INÓCULO DE <i>A. THIOOXIDANS</i> .....	70
8.5 ANEXO 5: COLONIZACIÓN DE PERLAS DE AZUFRE CON <i>A. THIOOXIDANS</i> .....	70
8.6 ANEXO 6: CONFIGURACIÓN EXPERIMENTAL CULTIVO DE <i>A. THIOOXIDANS</i> EN CEMENTO ENDURECIDO .....	71
8.7 ANEXO 7: CONFIGURACIÓN DE MATRACES CURVA DE CALIBRACIÓN DE $[Ca^{2+}]$ .....	72
8.8 ANEXO 8: DATOS EXPERIMENTALES CULTIVO DE <i>A. THIOOXIDANS</i> EN CEMENTO ENDURECIDO .....	73