

Biooxidación de tiosulfato como mecanismo indirecto para la lixiviación de minerales mediante cepas nativas acidófilas

Thiosulfate biooxidation as an indirect mechanism for ore leaching by acidophilic native strains

Vladimir Arias A.¹, Daniel Lovera D.¹, Jorge Diego C.¹, Juan Gil R.², Luis Ramírez O.², Hans Cayo G.²

RECIBIDO: 13/04/2015 - APROBADO: 28/09/2015

RESUMEN

Los mecanismos de conversión a azufre elemental, sulfitos, sulfatos y otros; son diversos, conllevando a la formación de ácido sulfúrico y por ende, a la acidificación del medio. En base a estas características, las bacterias acidófilas son consideradas como quimiolitótrofas de azufre, ya que obtienen su energía a partir de la conversión de compuestos de azufre y, en la mayoría de los casos, el producto final es el sulfato. El ácido formado por estas bacterias que oxidan los sulfuros es el ácido sulfúrico. Del mismo modo, las bacterias aisladas de drenajes ácidos, durante su acción metabólica, generan la disminución del pH.

El género *Thiobacillus* es relevante entre los demás por su capacidad de oxidar compuestos azufrados, produciendo azufre elemental de manera extracelular. La energía necesaria para llevar a cabo sus funciones se deriva de la oxidación de uno o más compuestos reducidos de azufre incluyendo sulfuro y tiosulfato. En el estudio de la oxidación del tiosulfato se observó el incremento de la población bacteriana hasta 8.6×10^8 Cel/ml y potenciales de óxido reducción (ORP) de hasta 615 mV. a valores de pH entre 1.8 y 2.2 y a concentraciones de tiosulfato de 2.2 gr/L. El mayor incremento poblacional de la bacteria se obtuvo en periodos de 10 y 15 días de evolución. El monitoreo del potencial permitió identificar el estado de funcionamiento que tiene el sistema sulfooxidante. Se encontró una relación directa entre el ORP y la población bacteriana.

PALABRAS CLAVE: Biooxidación de tiosulfato, cepas nativas acidófilas, efluentes ácidos, disolución de sulfuros, potencial ORP

ABSTRAC

Mechanisms of conversion to elemental sulfur, sulfides, sulfates and others are diverse, leading to the formation of sulfuric acid, and therefore the acidification of the medium. Based on these characteristics, acidophilic bacteria are considered as chemolithotrophae of sulfur, since they get their energy from converting sulfur compounds and in most cases the final product is sulfate. The acid formed by these bacteria that oxidize sulfides is the sulfuric acid. In the same way, the bacteria isolated from acid drainage, during its metabolic action generate the decreasing of pH.

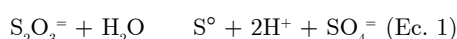
The *Thiobacillus* genus is relevant among others by its ability to oxidize sulfur compounds, producing elemental sulfur in an extracellular way. The energy required to perform its functions is derived from the oxidation of one or more sulfur reduced compounds including sulfides and thiosulfate. In the study of the oxidation of thiosulphate it was observed that the bacterial population increased to 8.6×10^8 cells / mL, and oxide reduction potentials (ORP) from 615 mV., to pH values between 1.8 and 2.2 and thiosulfate concentrations of 2.2 g /L. The greatest population increase of the bacteria was obtained in evolution periods of 10 and 15 days. Monitoring the potentials allowed the identifying of the operating state related to the sulfooxidant system. It is found a direct relationship between ORP and the bacterial population.

KEYWORDS: Bio oxidation of thiosulfate, acidophilic native strains, acid effluents, dissolution of sulphides, ORP potential

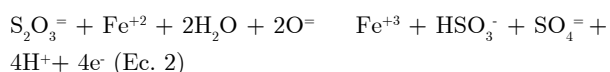
I. INTRODUCCIÓN

1 Docentes de la EAP Ingeniería Metalúrgica, UNMSM. Emails: variasa@unmsm.edu.pe, dloverad@unmsm.edu.pe, jdiegoc@unmsm.edu.pe
2 Tesis integrantes del Grupo de Biometalúrgia. Emails: sjuan_remi_12@hotmail.com, iqluisramirez@gmail.com, hans.c.g@hotmail.com

El hábitat de las bacterias aciditio bacillus son los sustratos sulfurados conteniendo entre otros compuestos, el ion tiosulfao ($S_2O_3^{2-}$), que es un anion metaestable que tiende a descomponerse en soluciones acuosas, está constituido de dos átomos de azufre no equivalentes. El **átomo** de azufre central tiene un número de oxidación de +6 y el átomo de azufre unido, el número de oxidación de -2. El ácido tiosulfúrico $H_2S_2O_3$ es inestable y cuando se trata el ion tiosulfato con un ácido, se forman azufre y dióxido de azufre. Este ácido es un ejemplo de una clase general de ácidos, llamados sulfoácidos, en los que uno o más átomos de oxígeno de un oxácido son remplazados por átomos de azufre. El tiosulfato por si mismo no es un factor de deterioro ambiental sin embargo, sus productos de la oxidación biológica o química. Se puede observar como la siguiente reacción:



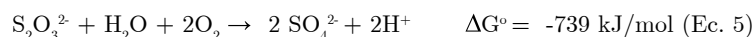
En la disolución de minerales sulfurados existen variadas formas de acción de los microorganismos (Rodríguez, Y., Ballester, A., 2001), de acuerdo al mecanismo principal de catálisis identificado como mecanismo indirecto por la oxidación bacteriana de ion ferroso con oxígeno disuelto de acuerdo con la reacción:



La oxidación de compuestos reducidos de azufre, especialmente el radical tiosulfato (y la consiguiente formación de ácido sulfúrico), se convierten en sulfito (SO_3^{2-}) que a su vez son transformados posteriormente a sulfato por la enzima sulfito oxidasa. Algunos organismos, realizan la misma oxidación usando un sistema inverso de APS reductasa, invirtiendo el usado por las bacterias reductoras del sulfato (Buisman C., 1998, Ponce J., 2007). En todos los casos, la energía liberada se transfiere a la cadena de transporte de agentes metabólicos. Además de la oxidación aerobia del azufre, algunos organismos utilizan nitrato (NO_3^{2-}) como receptor terminal de electrones y por lo tanto crecen anaeróbicamente (Donati E. and Sand W., 2007). La energía obtenida de los procesos de oxidación se utiliza en la fijación de dióxido de carbono, mantenimiento y crecimiento celular (Corbett C, Ingledew W., 1987, Velasco T, 2001).

Los conocimientos fisiológicos de estos microorganismos

$$\Delta G^\circ = -231 \text{ kJ/mol} \quad (\text{Ec. 3})$$



han permitido entender de manera más detallada y precisa las rutas bioquímicas de la oxidación de los compuestos reducidos de azufre. La relación molar de los componentes y especialmente entre el oxígeno y tiosulfato, permite identificar la formación de compuestos intermedios o finales bajo las condiciones de trabajo y de los objetivos de investigación establecidos.

De acuerdo a la información bioquímica, fisiológica y los recientes datos genómicos disponibles se han postulado al menos cuatro vías para la oxidación del tiosulfato. En una de las vías el tiosulfato se oxidaría completamente hasta sulfato, en la segunda el tiosulfato sería oxidado a través del tetrationato como intermediario principal y en la tercera, el tiosulfato sería hidrolizado a azufre y sulfito. En cuanto a la cuarta vía de oxidación del tiosulfato, ésta se iniciaría con la ruptura del enlace **S-S** del tiosulfato por la enzima tiosulfato azufre transferasa de acuerdo a la reacción reversible (Suzuki, 1999).

La identificación de la conversión del tiosulfato es analizado mediante 4 sistemas (Figura N° 1): una rodonasa rompe las moléculas, originado un azufre y sulfito (1) (González S, 2002); una enzima reductora origina sulfito y sulfhídrico (2); un complejo multienzimático oxidante del tiosulfato origina dos moléculas de sulfato sin otros intermediarios (3); finalmente, la oxidación a sulfato pasa previamente por el tetrationato (4).

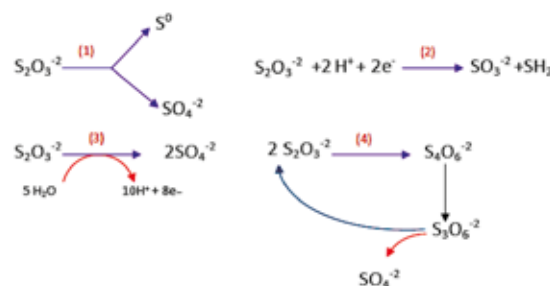
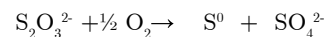


Figura N° 1. Reacciones de disociación del radical tiosulfato.

Verificando la ocurrencia en el análisis de las siguientes reacciones, se puede apreciar la viabilidad a condiciones normales.



La energía necesaria para llevar a cabo sus funciones se deriva de la oxidación del tiosulfato y otros compuestos reducidos de azufre incluyendo sulfuro, azufre elemental, sulfito, tiocianato y politionatos (Hazeu W., et al, 1988, Celis G. y col. 2005).

II. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

De los antecedentes bibliográficos, se puede resumir que el trabajo que a continuación se presenta está enfocado en determinar los parámetros que favorecen la oxidación biológica total o parcial de tiosulfato mediante un consorcio de microorganismos sulfooxidantes (Alcántara, 2000). La oxidación biológica del tiosulfato en azufre elemental

y sulfato, permitió de una manera general incrementar el conocimiento de la fisiología, metabolismo, formación de biopelículas en diferentes medios de pH ácidos y neutros, como puede apreciarse en la Tabla N° 1.

Los procesos fisicoquímicos requieren de altos flujos de energía. Sin embargo, la conversión del ion tiosulfato no es el único factor que se considera para su aplicación o sustitución por un proceso biológico. La disponibilidad de consorcios bacterianos sulfooxidantes identificados permitirá su aplicación, teniendo en consideración el costo, se menciona que a bajas concentraciones de contaminantes los procesos biológicos presentan ventaja económica y tecnológica.

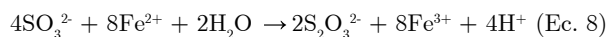
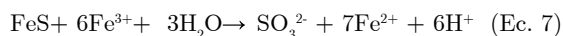
Tabla N° 1. Bacterias sulfooxidantes de compuestos reducidos de azufre.

Género y especie	Donador de e ⁻ (litotrófico)	pH para crecimiento
Crecimiento deficiente en medios orgánicos		
<i>Thiobacillus thioparus</i>	$H_2S, S^0, S_2O_3^{2-}$	6 - 8
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	$H_2S, S^0, S_2O_3^{2-}$	6 - 8
<i>Thiobacillus neapolitanus</i>	$H_2S, S^0, S_2O_3^{2-}$	6 - 8
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	S^0	2 - 5
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	$S^0, H_2S, Fe^{2+},$ <i>sulfuros metálicos</i>	1.5 - 4

2.1 Oxidación de Compuestos Reducidos de Azufre

La cantidad de reacciones involucradas en las transformaciones químicas y biológicas de los compuestos reducidos de azufre (azufre, sulfuro y tiosulfato), hacen complejo el estudio del comportamiento bioquímicas de los microorganismos. En la evolución biológica se ha identificado 2 procesos básicos: 1 El mecanismo que involucra la formación de politionatos, presente en todos los thiobacillus que son quimiolitotróficos obligados y otros thiobacilli verdaderos como *Thiobacillus acidophilus* y 2 El mecanismo que no involucra la formación de politionatos observado en *Paracoccus*. '*Thiobacillus versutus*' y posiblemente *Thiobacillus novellus* y *Thiobacillus tepidarius*. (Gonzaga L. et al., 2011).

Cuando el ión férrico hexa-hidratado comienza el ataque indirecto a los sulfuros, la pirita es disuelta vía la extracción de electrones por los iones hidratados de Fe^{3+} de acuerdo a las siguientes reacciones (Suzuki, 2001):



En estas reacciones, el tiosulfato se supone es formado a partir del di-sulfuro contenido en el cristal de la pirita ($Fe-S-S \rightarrow Fe^{2+} + S-SO_3^{2-}$). En este mecanismo los sulfuros no generan azufre como principal producto en la oxidación si no tiosulfato, que es el primer intermediario liberado por el sulfuro luego de la oxidación.

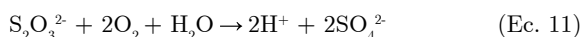
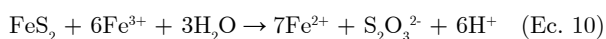
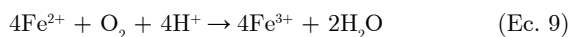
Dependiendo el propósito de la oxidación biológica del tiosulfato, puede realizarse bien buscando la conversión total de sulfuros a azufre elemental, a azufre elemental + sulfatos o, como el propósito de esta investigación, buscando la oxidación aeróbica con cepas bacterianas acidófilas de *Thiobacillus ferrooxidans* aislados de drenajes ácidos provenientes de una región andina del Perú.

2.2 La oxidación del Hierro y el rendimiento energético por la reducción del azufre

La oxidación del hierro ha sido primeramente observada como la oxidación de sustratos orgánicos por los microorganismos sulfooxidantes y los depósitos de sales de hidróxido férrico en ambientes de pH neutro o alcalino, condiciones en las cuales el ion ferroso es insoluble y se oxida espontáneamente en presencia de aire, por lo que ha sido muy difícil asociar el crecimiento de estos microorganismos a la oxidación del hierro. Ocurrendo ello a pH ácidos. La oxidación del tiosulfato de sodio en sustrato ácido y la conversión a compuestos reducidos de azufre y en la mayoría de casos la producción de sulfato es causado por las cepas de *acidithiobacillus*. Simultáneamente, la producción de protones origina un descenso del pH, de manera que se produce la acidificación del medio. El ácido formado por estas bacterias que oxidan los sulfuros es el H_2SO_4 y con frecuencia origina una notable disminución de pH en el medio.

2.3 Mecanismo indirecto de biolixiviación vía tiosulfato

La presencia y acción de compuestos intermedios de azufre (sulfitos, tiosulfatos y tetracionatos) durante la disolución de pirita, nos invoca a proponer un mecanismo indirecto para la oxidación de sulfuros metálicos, siendo atacado por ión férrico hexahidratado produciendo tiosulfato, al no ser estable en soluciones ácidas que contienen Fe^{3+} , reacciona produciendo ion ferroso y tetracionato. Según este mecanismo, una vez que la célula bacteriana se encuentra adherida a la superficie mineral, el ion férrico hexahidratado contenido en el exopolímero extracelular empieza a atacar al sulfuro metálico de forma indirecta produciendo Fe^{2+} y tiosulfato (intermediario). Este último reacciona generando otros productos intermedios, tales como tetracionato y tritionato, hasta llegar a sulfato (Rodríguez et al., 2001).



El ión ferroso es, rápidamente, oxidado a ion férrico por la bacteria y reciclado dentro del exopolímero. Parte de los politionatos producidos sirven como fuente de energética a las bacterias, asimismo proveen características de coloración y turbidez al medio y la consiguiente generación de precipitados.

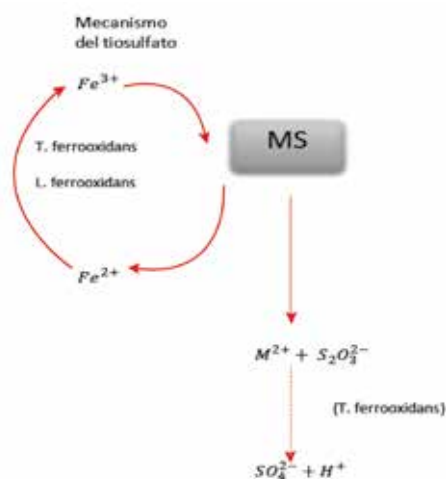


Figura N° 2. Mecanismo de lixiviación vía tiosulfato.

2.4 El Potencial de oxido-reducción (ORP)

El potencial de reducción oxidación (ORP) representa la cantidad de energía liberada por unidad de tiempo cuando un cierto número de electrones que contribuyen todos los compuestos iónicos presentes, se movilizan en un medio. Esta energía es calculada mediante la ecuación de Nernst, sin embargo el verdadero valor será el producto de la contribución de las reacciones de oxidación y reducción desarrolladas en el medio de reacción. En principio el valor del ORP depende de los potenciales estándar (E^0H) de las mitades que forman el par redox y de las concentraciones de los reactantes y de la reactividad o capacidad de intercambiar electrones con la superficie del electrodo de platino. También cabe considerar que la lectura se realiza en el ambiente extracelular, ignorando actividades al interior de la célula o intracelular. Resumiendo, la lectura del valor ORP ocurre en ambiente extracelular y puede variar en función a la sonda y, brin-

darnos información útil para correlacionar la formación de productos y la densidad bacteriana.

III. MATERIALES Y MÉTODO

Se describe el mecanismo físico del sistema experimental empleado en la oxidación de tiosulfato. También, el desarrollo de las determinaciones analíticas (pH, ORP y crecimiento bacteriano) cuyos resultados fueron de gran utilidad para explorar conocimientos sobre biooxidación del tiosulfato.

3.1 Material biológico y medio de cultivo

Las cepas de *tiobacillus ferrooxidans* se adaptaron en soluciones de tiosulfato de acuerdo al siguiente procedimiento: En matraces de Erlenmeyer de 250 ml se adicionó 90 ml de medio 9k y 10 ml de cepa, las que fueron aisladas de drenaje ácido. Se dejaron crecer por 4 días en medio a 25 °C, 180 rpm de agitación y a pH de 1.8, 2.0 y 2.2.

3.2 Determinaciones analíticas

Estas fueron realizadas con la finalidad de conocer el estado de operación del sistema sulfooxidante, para ello se monitoreo continuamente el pH, ORP y crecimiento bacteriano y, para posteriormente determinar el comportamiento en función a la concentración de sulfato ferroso, tiosulfato de sodio y el tiempo.

El ORP fue medido a través de un electrodo de platino (Ag/AgCl) de código HI 3131 conectado a un medidor multiparámetros HANNA HI 8424.

El potencial redox de la solución es un indicador del metabolismo energético o actividad de la bacteria en el proceso de biooxidación, debido a que es una medida del cambio de la solución en función a la naturaleza oxidante y reductora de las sustancias presentes que son catalizadas por las bacterias. Durante la fase de crecimiento exponencial, el Eh del medio alcanza valores de hasta 630 mV, superando el rango de 400 – 450 mV formulado por Acevedo y Gentina, 2005.

IV. RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

La biooxidación del tiosulfato mediante cepas bacterianas nativas Acidófilas facilito el crecimiento bacteriano y el incremento del potencial favorable para la oxidación de sulfuros metálicos con la consiguiente acumulación de residuos de biomasa y sulfatos metálicos de bajo potencial de toxicidad, de esta manera se puede favorecer al tratamiento y minimización de impactos negativos.

Tabla N° 2. Lectura de potencial ORP (mV) a diferentes pHs en función al tiempo en sustrato con 10ml/L de Fe²⁺

pH	Tiempo(Días)								
	1	2	3	4	5	6	10	15	20
1.8	380	384	392	397	390	397	492	540	595
2.0	370	360	364	375	389	418	506	545	585
2.2	362	352	358	370	380	380	480	525	571

4.1 Efecto de diferentes concentraciones de tiosulfato

El efecto del sustrato conteniendo tiosulfato es revelado en el pH, población bacteriana sulfooxidante y la fuente de energía sobre el crecimiento, ORP. Teniéndose la formación de precipitados como sulfatos alrededor del décimo día con la consiguiente disminución de los valores energéticos en el medio de cultivo. Permitiendo observar los posibles efectos regulatorios pH y concentración iónica en el medio. Las concentraciones evaluadas fueron diversas. Para concentraciones de hasta 2 gr/L de tiosulfato se obtuvieron crecimiento bacteriano y potenciales de ORP abundantes y favorables para procesos de oxidación de compuestos sulfurados. La Figura 3. muestra el comportamiento de las concentraciones crecientes de tiosulfato donde se puede observar que el incremento de la concentración de tiosulfato hasta 2 gr/L en el periodo

de 5 a 15 días es favorable para el incremento del potencial y se estimula el crecimiento del consorcio bacteriano y el incremento del potencial. Se puede observar que el incremento de la concentración de tiosulfato de 5 a 8gr/L se estimuló el crecimiento del consorcio poblacional y el incremento del potencial. Después de 10 días las concentraciones superiores a 3 gr/L de tiosulfato disminuyen en potencial y en población bacteriana.

La Figura N° 4 muestra el comportamiento del potencial a concentraciones crecientes de tiosulfato se puede observar que el incremento de la concentración de tiosulfato de 5 a 8gr/L se estimuló el crecimiento del consorcio poblacional y el incremento del potencial. Después de 15 días las concentraciones superiores a 3 gr/L de tiosulfato disminuyen en potencial y en población bacteriana.

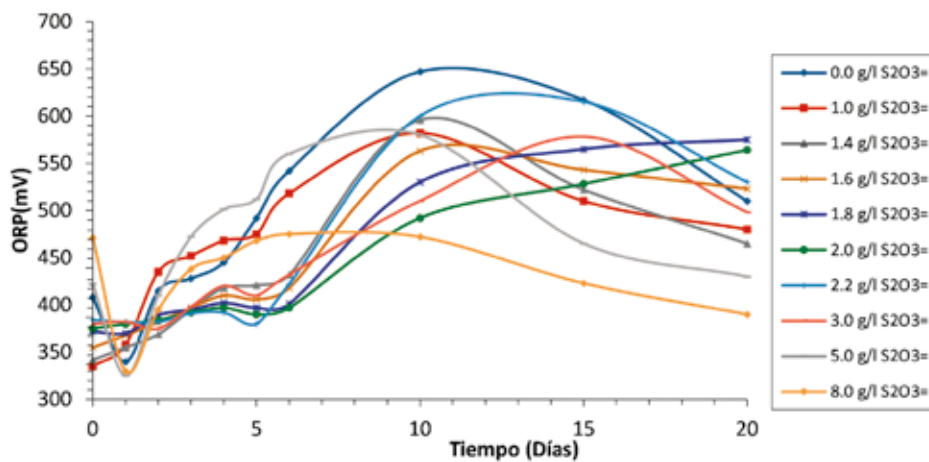


Figura N° 3. Determinación de ORP en función al tiempo para diversas concentraciones de tiosulfato en el sustrato adecuado para el crecimiento de las cepas aciditibacillus sulfooxidans. Condiciones: pH 1.8, vol. de sustrato 9k 90 ml., vol. de inoculo 10 ml., sulfato ferroso 10 gr/L

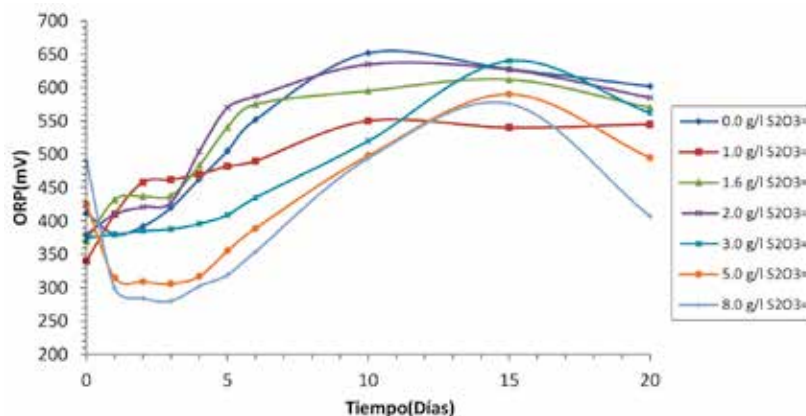


Figura N° 4. Determinación de ORP en función al tiempo para diversas concentraciones de tiosulfato en el sustrato adecuado para el crecimiento de las cepas aciditibacillus sulfooxidans. Condiciones: pH 1.8, vol. de sustrato 9k 90 ml., vol. de inoculo 10 ml., sulfato ferroso 15 gr/L.

Con el incremento de la carga de tiosulfato a 8 gr/L, se observó la formación de azufre elemental en el medio de cultivo y reducidos incrementos del crecimiento del consorcio bacteriano e igualmente bajas lecturas de potencial ORP

4.2 El efecto del sulfato de Hierro en el crecimiento bacteriano

El crecimiento bacteriano es afectado por las condiciones del medio. La cantidad del hierro favorece inicialmente el crecimiento y por ende el incremento del potencial del medio, mostrándose que a 15 gr/L en los primeros 10 días alcanza valores altos de ORP y luego cae aceleradamente por la formación de sulfatos y otros precipitados. Paralelamente a valores de 10 gr/L de sulfato de Hierro el crecimiento bacteriano y el incremento del potencial es regular y casi constante, independientemente de la presencia de tiosulfato de sodio en el sustrato o medio de crecimiento. Se concluye que debido a una mayor cantidad de sulfato ferroso el potencial de óxido reducción (ORP) es mayor para un determinado tiempo debido a que las bacterias oxidan el Fe+2 (ión ferroso) a Fe+3 (ión férrico).

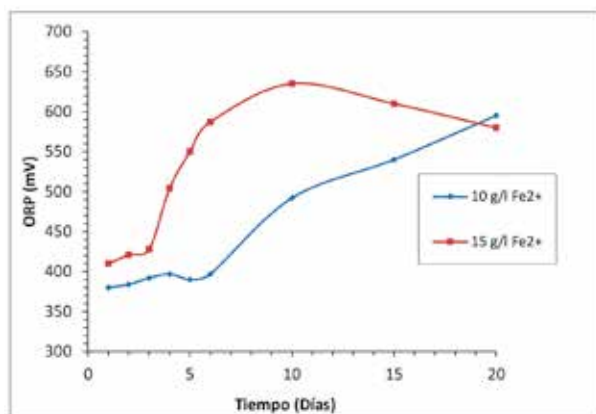


Figura N° 5. Comportamiento del potencial ORP en función de sulfato de hierro en el medio.

4.3 Efecto del pH en la determinación del potencial de óxido – reducción (ORP).

La medición directa del potencial de esta determinado por las concentraciones de los reactantes. En la práctica la medición del ORP es principalmente determinado por el compuesto con la más alta densidad y movilidad electrónica de sulfato y otros compuestos del ambiente extracelular. Por lo tanto se puede predecir que el potencial de ORP representa sulfitos, sulfuros, tiosulfatos y oxígeno bajo las condiciones del sistema.

La respuesta ORP al cambio en las concentraciones de tiosulfato es tan significativa, observándose cambios desde 300 a 600 mV a las condiciones realizadas (pH: 1.8, 2.0, y 2.2, temperatura a 25 °C, sulfato ferroso 10 y 15 gr/L). Adquiriendo mayor importancia los valores más altos del crecimiento bacterial logrado en periodos medios de 10 días. Se concluye (Figura N° 6) que a menor pH el potencial de óxido reducción es mayor para un determinado tiempo por la mayor concentración de iones H⁺ en la solución, lo que permite una mayor oxidación en

menor tiempo tanto del sulfato ferroso como del tiosulfato presente en la solución. También se concluye (Figura N° 7) que a pH 1.8 en los primeros 10 días se presenta la mayor oxidación debido a que presenta el potencial de óxido reducción (ORP) más alto.

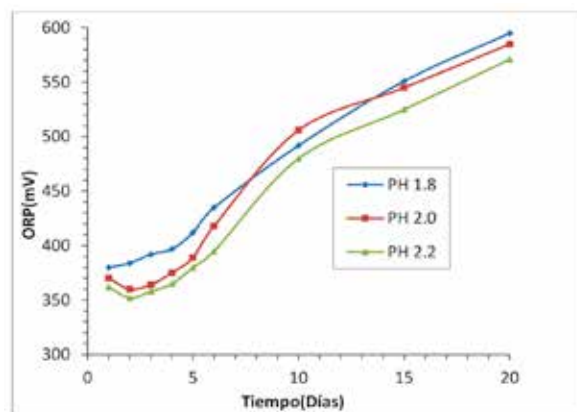


Figura N° 6. Lectura de potencial ORP (mV) a diversos grados de acidez en función al tiempo. Condiciones: Vol. Sustrato 9K 90 ml, vol. inoculo 10 ml., sulfato de hierro 10 gr/L, tiosulfato 2 gr/L

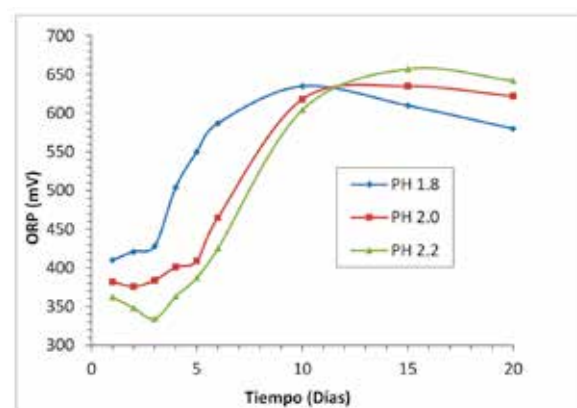


Figura N° 7. Lectura de potencial ORP (mV) a diversos grados de acidez en función al tiempo. Condiciones: Vol. Sustrato 9K 90 ml, vol. inoculo 10 ml., sulfato de hierro 15 gr/L, tiosulfato 2 gr/L

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. Las condiciones de cultivo que favorecen la oxidación biológica del tiosulfato de sodio mediante cepas nativas aisladas de drenaje ácido de mina conteniendo *thiobacillus ferrooxidans* fueron: intervalo de pH entre 1.8 y 2.2, temperatura de 25 °C teniendo en cuenta la presencia de bacterias acidófilas azufre-oxidantes.
2. La oxidación biológica del tiosulfato está en función del crecimiento bacteriano y el pH del sustrato. A un máximo crecimiento poblacional 8.6×10^8 y después de aproximadamente 10 días la solución presenta turbidez alertando la formación de sulfatos conjuntamente con la biomasa.

3. El monitoreo del potencial de oxido-reducción (ORP), permite identificar el estado de funcionamiento que tiene el sistema sulfooxidante, encontrándose una relación directa del ORP y la población bacteriana.
4. Se concluye que debido a una mayor cantidad de sulfato ferroso el potencial de óxido reducción es mayor para un determinado tiempo debido a que las bacterias oxidan el Fe^{+2} (ión ferroso) a Fe^{+3} (ión férrico).
5. La presencia de iones ferroso y el pH del medio determinaron el incremento del potencial de óxido reducción, siendo mayor para un determinado tiempo por la mayor concentración de iones H^+ en la solución, lo que permite una mayor oxidación en menor tiempo tanto del sulfato ferroso como del tiosulfato presente en la solución.
6. La caracterización del sistema sulfooxidante por el monitoreo del potencial de oxidoreducción, puede ser una útil herramienta en el conocimiento del estado de funcionamiento que tiene el SS, debido a que se encontró una correlación entre la población bacteriana y el ORP medido en el medio de reacción.

5.2. Recomendaciones

- Continuar en la investigación a fin de determinar las relaciones molares óptimas de la concentración de oxígeno y sulfuros reducidos en el medio, con la finalidad de tener el balance de masa y carga en el reactor.
- Identificar las etapas reductiva y oxidativa a las condiciones del sistema sulfooxidante a fin de identificar un óptimo crecimiento bacteriano en pro de su aplicación a especies minerales sulfurados.

VI. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación, que a través del Consejo Superior de Investigaciones, financio económicamente en la realización del proyecto de Investigación N° 14160105, también a cada uno de los integrantes del grupo de estudio en **Biotecnología Metalúrgica**, por su entrega en la realización de las tareas que implicaron la consecución de los resultados.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acevedo F., Gentina J. C. (2005). Biolixiviación de minerales de cobre. In: Fernando Acevedo y Juan Carlos Gentina (Editores). Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras. p 14-43.
2. Alcántara S, (2000) Estudios de la oxidación biológica de los compuestos reducidos de azufre utilizando

un consorcio de microorganismos sulfoxidantes. Tesis de Doctorado.

3. Buisman C., (1998) Industrial applications of new sulphur biotechnology. The Biological
4. Corbett C, Ingledew W (1987). Is Fe^{3+} cycling an intermediate in sulphur oxidation by Fe^{2+} grown *Thiobacillus Ferrooxidans* FEMS Microbiol. Lett. 41, 1-6.
5. Donati Edgardo R., Sand Wolfgang, 2007. *Microbial Processing of Metal Sulfides*, Springer. ISBN 978-1-4020-5588-1
6. Gonzaga L. et al (2011). Biohydrometallurgical Processes: A practical approach. Centre for mineral technology – CETEM, Ministry of science, technology and innovation – MCTI. Rio de Janeiro, Brasil.
7. González S, (2002). Operación, caracterización y modelado de un sistema de oxidación biológica de tiosulfato a azufre elemental, Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.
8. Hazeu W., et al (1988) The production and utilization of intermediary elemental sulfur during the oxidation of reduced sulfur compounds by *Thiobacillus ferrooxidans*. Arch Microbiol. 150, 574-579
9. José Antonio Ponce Barrera, 2007. Caracterización de una tiosulfato azufre transferasa (rodanasa) del microorganismo quimiolitotrófico *Acidithiobacillus ferrooxidans*". Tesis para título de Bioquímico. Universidad de Chile.
10. Ma. de Lourdes Celis G. y col. (2005). Estimación de la velocidad de producción de azufre elemental en un reactor sulfoxidante. Universidad Autónoma Metropolitana, Dpto. de Biotecnología. Iztapalapa, México.
11. Ponce J, (2007). Caracterización de una tiosulfato azufre transferasa (rodanasa) del microorganismo quimiolitotrófico *Acidithiobacillus ferrooxidans*"
12. Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M.L., González, F. (2001). Mecanismo de biolixiviación de sulfuros metálicos. Revista de metalurgia de Madrid, 37: 665-672
13. Sulphur Cycle: Environmental Science and Technology. Wageningen, The Netherlands, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa México.
14. Suzuki I (1999). Oxidation of inorganic sulfur compounds: Chemical and enzymatic reactions. Can. J. Microbiol. 45, 97-105.
15. Velasco T, (2001). Evaluación de los parámetros que determinan la oxidación biológica del tiosulfato en azufre elemental, Tesis de Maestría, Universidad Autónoma.