



Patente Chilena

Proceso y Sistema para la Producción de ácido sulfhídrico por
reducción biotecnológica de azufre elemental.

Solicitud 22-07 DPI

Autores:

Albert Leandro Herrera Zeppelin (6.975.962-9) y

José Octavio Hernández Pavéz (5.056.468-1)

Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología

Beauchef 861, Santiago

Propiedad de la Universidad de Chile

Enero 2007

MEMORIA DESCRIPTIVA

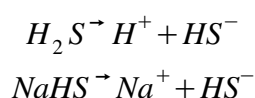
La presente invención divulga un proceso y un sistema biotecnológicos para la producción de ácido sulfhídrico por reducción bacteriana autotrófica de azufre elemental/no metálico, utilizando bacterias sulfato reductoras en presencia de hidrógeno y del par dióxido de carbono - carbonato

Antecedentes de la Invención

Esta invención se sitúa en el campo de la producción de reactivos útiles para la minería y en particular en la producción de ácido sulfhídrico para su utilización en: la flotación selectiva de molibdenita en concentrados de sulfuros de cobre y de molibdeno; en la eliminación y estabilización ambiental de Arsénico y; en la recuperación o eliminación de otros metales pesados que forman sulfuros insolubles. La invención permite producir de manera controlada ácido sulfhídrico *in situ* sin tener que recurrir a la acumulación de inventarios importantes de sulfuros, como el sulfhidrato de sodio NaSH o el sulfuro de sodio Na₂S. También permite producir H₂S de manera controlada, sin acumulación de inventarios que implican riesgos por la alta toxicidad de dicho reactivo.

El Molibdeno (Mo) se obtiene en Chile como subproducto de la metalurgia extractiva del Cobre (Cu). De hecho se obtiene por flotación selectiva de sulfuro de Mo, que se encuentra acompañando a los sulfuros de cobre en la mayor parte de los minerales de dicho metal explotados en el país.

La flotación selectiva de Mo utiliza sulfhidrato de sodio (NaHS), que actúa como depresante de flotación de los sulfuros de Cobre. En este proceso es el ión sulfhidrato (HS⁻) quien impide que floten los sulfuros de Cobre, favoreciendo así la flotación selectiva de la molibdenita (MoS₂). Dado que la molécula activa es el ión sulfhidrato, dicho ión puede ser aportado como ácido sulfhídrico (H₂S), reemplazándose de esta manera el reactivo sulfhidrato de sodio (NaHS) por dicho ácido. El producto de la ionización de ambos reactivos (H₂S y NaHS) es el mismo ion sulfhidrato (HS⁻):



La utilización de ácido sulfhídrico, producido mediante esta invención, en lugar de sulfhidrato de sodio tiene como ventaja un menor costo de reactivos y evita, al ser producido *in situ*, mantener inventarios considerables debido a que dicho reactivo es importado y peligroso. En lugar de transportar y acopiar sulfuro reactivo, se acopia azufre elemental, que es un reactivo de mucho menor impacto ambiental y menor riesgo de accidentes. Además, el azufre elemental (S⁰) es de menor costo que el sulfhidrato de sodio (NaHS).

El ácido sulfhídrico es útil también para otro problema importante de la minería. En Chile, hoy, uno de los mayores problemas ambientales que se presenta es la contaminación de las aguas con arsénico (As). La contaminación con As puede deberse a procesos naturales o a instalaciones industriales, principalmente mineras. Por ejemplo, en el norte de Chile, principalmente en la II Región, existe una elevada contaminación con As de las aguas naturales, tanta que la expectativa de vida es menor que la media nacional, debido al cáncer a la piel, a problemas cardiovasculares y a enfermedades respiratorias.

La mayor parte del arsénico presente en minerales se encuentra como arsenopiritas (FeAsS), realgar (AsS) y orpiment (As_2S_3) (Smedley y Kinniburgh, 2002), minerales que se encuentran habitualmente mezclados con las especies de cobre que se llevan a procesos industriales. De esta manera, la principal fuente de contaminación con As proviene de las instalaciones de la industria cuprífera. En efecto las principales instalaciones mineras procesan minerales de cobre con contenidos elevados de minerales de As (principalmente arsenopiritas). Estos minerales al ser procesados producen concentrados de cobre con contenidos elevados de As. Al fundir dichos concentrados el As se volatiliza y forma parte de las emisiones gaseosas, junto al anhídrido sulfuroso (SO_2) que ha conformado el impacto ambiental principal de la fundición. Para evitar la contaminación que producen las emisiones de SO_2 y cumplir con la reglamentación ambiental, se han instalado plantas de captura y limpieza de humos de fundición. Particularmente en Chile, se han instalado varias plantas productoras de ácido sulfúrico. Estas plantas captan los gases de la fundición, principalmente dióxido de azufre (SO_2) y en menor medida trióxido de azufre (SO_3), los limpian y luego los oxidan para producir ácido sulfúrico (H_2SO_4). En el proceso de limpieza se produce ácido sulfúrico con altos contenidos de As, mayoritariamente presente como As(III), toda vez que el mineral procesado tenga As en cantidades apreciables. Los procesos existentes hasta el presente logran eliminar el As de las aguas o efluentes pero los compuestos sólidos de As obtenidos no son estables y no pueden ser dispuestos de una manera ambientalmente aceptable, siendo necesario el desarrollo de procesos que logren este objetivo.

Para que un compuesto se considere ambientalmente estable, particularmente en cuanto a compuestos de As o residuos conteniendo arsénico, estos deben pasar el Test TCLP 1311 de la EPA (<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/1311.pdf>) que consiste en un procedimiento de lixiviación ligeramente ácida a una temperatura y tiempo dados en un equipamiento estandarizado. El

As lixiviado en el ensayo de sólidos ambientalmente estables no debe superar el límite de 5 mg de As/L en la fase líquida.

La solicitud de patente chilena N° 1499-2003 utiliza ácido sulfhídrico para la eliminación y estabilización ambiental de compuestos de As, ya sea por formación de As_2S_3 o de un complejo superficial As(V)-Fe(III) que cumplen el test TCLP 1311 de la USEPA. Esta aplicación al ser usada en la industria minera chilena requeriría la fabricación industrial de ácido sulfhídrico pues el uso de sulfhidrato o sulfuro de sodio es menos factible económicamente.

Se han clasificado muchos géneros de bacterias reductoras del sulfato (BRS) u otros compuestos oxidados de S, entre las que destacan (orden alfabético): *Archaeoglobus*; *Desulfoarculus*; *Desulfobacter*; *Desulfobacterium*; *Desulfobotulus*; *Desulfobulbus*; *Desulfococcus*; *Desulfohalobium*; *Desulfomicrobium*; *Desulfomonile*; *Desulfonema*; *Desulfosarcina*; *Desulfotomaculum*; *Desulfovibrio* y *Thermodesulfobacterium*. Naturalmente, existen especies aún no clasificadas y la bioreducción, natural o en reactores industriales, suele ocurrir con mezclas de bacterias.

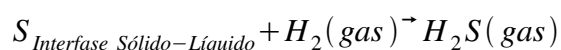
Las BRS presentan una sorprendente gama de reacciones vitales para su propio desarrollo. En particular, desde el punto de vista del carbono necesario para la síntesis de su materia orgánica, existen tanto las variedades autotróficas (que obtienen carbono desde el gas dióxido de carbono, si bien disuelto en fase acuosa, donde se encuentra como bicarbonato) como las heterotróficas (que utilizan compuestos orgánicos). Desde el punto de vista energético se encuentran tanto las variedades litotróficas (que obtienen su energía mediante la oxidación de inorgánicos, particularmente el hidrógeno

molecular) como heterotróficas (que obtienen energía desde los mismos orgánicos que utilizan como fuente de carbono). Finalmente, desde el punto de vista respiratorio (disposición de electrones) pueden utilizar el sulfato (de donde se las ha denominado reductoras de sulfato) pero también pueden disponer sus electrones reduciendo una amplia variedad de elementos inorgánicos, como sulfito, azufre elemental, desbalance de valencia de hierro e incluso el oxígeno molecular en baja concentración, sin que por ello se las deje clasificar como anaerobias. Dada esta gran variedad de mecanismos de síntesis celular (desde orgánicos o desde CO_2), de mecanismos de obtención de energía (desde orgánicos o desde H_2) y de respiración (sulfato, sulfito, oxígeno, hierro en alto estado de oxidación, o azufre sólido como se ha encontrado en resultados no publicados de nuestro laboratorio etc.) la adaptabilidad de estas bacterias es altísima y se las encuentra en prácticamente cualquier hábitat en que se las busque (se las suele considerar ubicuas).

En cuanto al mecanismo de reducción de azufre elemental, aportado como sólido a la fase acuosa de un cultivo de células, Belkin y colaboradores (Shimshon Belkin, Carl O. Wirsen, y Holger W. Jannasch. "A New Sulfur-Reducing, Extremely Thermophilic Eubacterium from a Submarine Thermal Vent". *Applied And Environmental Microbiology*, June 1986, p. 1180-1185 Vol. 51, No. 6) han aislado y descrito una bacteria termofílica (bacterias que crecen a altas temperaturas), estrictamente anaeróbica, de origen marino, nombrada cepa NS-E, que es estrictamente heterotrofa y que reduce de manera facultativa azufre a ácido sulfhídrico en el rango de temperatura de 50 a 95°C, con un óptimo a 77°C y a pH 7,5. Las concentraciones de sulfuro entre 0,1 a 10 milimolar (3,2 a 320 mg/l) limitan su crecimiento en 65 y 95 % respectivamente.

Stetter y colaboradores (K.O. Stetter, H. König y E. Stackebrandt, "Pyrodictium gen.nov., a New Genus of submarine Disc-Shaped sulphur reducing Archaeobacteria growing optimally at 105°C. System. Appl. Microbiol. 4, 535-551, 1983), aislaron un nuevo genero de archaeobacteria anaeróbica extremófila (bacterias que crecen a muy alta temperatura), denominada Pyrodictium, que reduce azufre autotróficamente entre 110 a 105 °C y crecen con buen rendimiento con la adición de extracto de levadura.

La presente invención se relaciona, concretamente, con un proceso en que se utilizan las bacterias anaerobias, autotróficas y litotróficas reductoras de compuestos de S de carácter mesofílico. La estequiometría global que se propone para este tipo de bacterias, al reaccionar con azufre es:



Se propone que las reacciones se realizan en serie, de manera que el azufre es humectado por el agua del medio de cultivo y que es la interfase resultante la que reacciona con las bacterias en el reactor biológico o bioreactor.

La reducción de sulfato, mediante bacterias litotróficas, según nuestros estudios de laboratorio, está cinéticamente limitada por la biodisponibilidad de hidrógeno molecular disuelto en la fase acuosa en que residen las BRS, de modo que en un proceso de reducción de sulfato (o sulfito u otras formas solubles) la operación debe realizarse en reactores de alta tasa de transferencia de masa. Existen diversos tipos de reactores que buscan elevar la tasa de transferencia de masa: columnas de burbujeo; tanques Pachuca; reactores gas-lift (bombeo por gas inyección del gas); reactores deep-shaft (pozo profundo); etc. Cualquiera de estos reactores permitiría optimizar la cinética y se conocen algunos resultados de uno de ellos: el reactor gas-lift de

van Heuten et al. (van Houten R., Hulshoff-Pol L., Lettinga G. (1994) Biological sulphate reduction using gas-lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon source. *Biotechnology and Bioengineering*, volumen 44, páginas 586-94). En nuestros laboratorios hemos determinado la factibilidad técnica de operación de un reactor gas lift, obteniendo resultados similares, pero más detallados.

En cuanto a las aplicaciones industriales vigentes, se conocen procesos de reducción de sulfato a escala industrial como los asociados a la empresa Nederlandse PAQUES (accesible en su página web en www.paques.nl), quienes utilizan BRS de carácter heterotróficas (en base a diversos orgánicos pero con predominancia de alcoholes) y en base a gas metano para remediación de aguas con diversos contaminantes, entre ellos sulfato. Existen también procesos asociados a la reducción de sulfato utilizando autótrofos, cuya fuente de energía es el hidrógeno molecular y cuya fuente de carbono es el dióxido de carbono, si bien el gas de entrada al proceso es metano, este se lleva internamente a hidrógeno y dióxido de carbono (conocido como la “planta de hidrógeno”). Estas patentes reivindican procesos orientados al sulfato en fase acuosa y no a la reducción de azufre elemental.

La patente norteamericana 6.852.305 que trata sobre un proceso para la producción de ácido sulfhídrico por reducción bacteriana de una mezcla de azufre líquido y elemental con una fuente de electrones tal como hidrógeno gaseoso, monóxido de carbono o compuestos orgánicos utiliza concentraciones elevadas de sulfuro en el reactor (sobre 300 mg/L) y concentraciones elevadas de ácido sulfhídrico en la mezcla gaseosa de salida del biorreactor (sobre 3% en volumen), lo cual es bastante diferente a las concentraciones tanto de sulfuro en el interior del bioreactor (menos de 300 mg/l) como de ácido sulfhídrico en el gas de salida (menos de 0,5%) que son

las condiciones importantes y limitantes del crecimiento bacteriano de esta solicitud de patente

En general, en cuanto a la reducción de azufre mediante BRS no existen procesos conocidos, a pesar de que las ventajas económicas serían evidentes. La ausencia de información es particularmente notoria en bacterias mesofilas (que operan a temperaturas en el rango bajo aproximadamente 40°C).

Por consiguiente, el problema que debe resolver la presente invención es proporcionar, en el campo de las técnicas, un proceso para la producción biotecnológica de ácido sulfhídrico por reducción bacteriana de S elemental utilizando bacterias autóctonas, cuyas características son similares a las del género *Desulfovibrio desulfuricans*, en presencia de hidrógeno molecular.

Resumen de la Invención

Esta invención divulga un proceso y un sistema para la producción de ácido sulfhídrico por reducción biotecnológica de azufre elemental, utilizando bacterias autóctonas, similares al género *Desulfovibrio desulfuricans* y otras, en cultivo mixto y en condiciones mesofílicas. Esta invención utiliza estas bacterias en condiciones autotrofas y usa hidrógeno gaseoso molecular (H₂) como fuente de electrones. La reacción se desarrolla en un bioreactor, al cual se le introduce periódicamente azufre elemental y, de manera continua, hidrógeno molecular. La temperatura del bioreactor se puede controlar para mantenerlo operando a temperatura constante entre aproximadamente 15 a 40°C

(condiciones mesofílicas). El hidrógeno se inyecta para asegurar que la transferencia de masa a la interfase bacteria-partícula de azufre sea óptima, así como también para asegurar agitación. El hidrógeno se hace circular a través del bioreactor con el objeto adicional de liberar el ácido sulfhídrico producido y evitar que la concentración en el seno del bioreactor supere los aproximadamente 300 mg/L, condición que limita e inhibe el crecimiento bacteriano en esta invención. El bioreactor se encuentra dotado de un sistema de control de pH para mantenerlo alrededor de 7, mediante la inyección de dióxido de carbono en la medida que el pH sube durante el proceso, garantizando al mismo tiempo la mantención de concentraciones adecuadas de ión bicarbonato para asegurar que el carbono necesario para el crecimiento bacteriano no limita el desarrollo celular. El ácido sulfhídrico producido es continuamente extraído del bioreactor por el caudal de hidrógeno que circula continuamente. El ácido sulfhídrico de la mezcla de gases se separa para utilizarlo en actividades económicamente rentables.

Descripción detallada de la invención.

Esta invención divulga un proceso y un sistema para la producción de ácido sulfhídrico por reducción biotecnológica de azufre elemental. El proceso y el sistema utilizan bacterias autótrofas autóctonas, similares al género *Desulfovibrio desulfuricans*, e hidrógeno como fuente de electrones. El producto, ácido sulfhídrico y el ión sulfhidrato (que corresponde a su especie disociada, HS⁻), pueden ser utilizados para la flotación selectiva del Mo o para la precipitación y remoción de especies que formen sulfuros insolubles, como, por ejemplo, especies de arsénico. El proceso y sistema para la producción de

ácido sulfhídrico por reducción biotecnológica de azufre elemental puede operar a una tasa precisa requerida, con lo cual no se requiere mantener inventarios del reactivo sulfhidrato de sodio, al cual reemplaza. Asimismo se puede modular la producción local de ácido sulfhídrico, mediante el flujo de hidrógeno, controlando la producción para igualar la tasa de consumo de H_2S necesaria. La tasa necesaria se puede regular según la tasa de formación y precipitación de sulfuros de metales pesados o Arsénico o, según la aplicación, la tasa de consumo de la depresión de flotación para separación de molibdenita.

La Figura 1 presenta un diagrama de flujos de proceso simplificado, en el que la reacción se desarrolla en un bioreactor agitado, sea esta agitación de carácter mecánico; gas lift; o cualquier otro.

La temperatura del bioreactor se controla para mantener a este operando a temperatura constante entre aproximadamente 15 a 40 °C.

Para eliminar emisiones o evitar pérdidas de gases valiosos, se establece una recirculación gaseosa a través del sistema de reacción (entrada en línea 3 y salida en línea 5). El gas (línea 3) se inyecta preferentemente en burbujas finas, para asegurar que la transferencia de masa con la interfase bacteria-partícula de azufre sea óptima, así como también para asegurar agitación en el caso que se esté utilizando un reactor gas-lift. El flujo de gas a través del sistema de reacción cumple también el rol de gas de arrastre con el objetivo adicional de liberar el ácido sulfhídrico producido y evitar que su concentración acuosa supere los aproximadamente 300 mg/L, condición que limita e inhibe el crecimiento bacteriano. El gas de salida (línea 5) se lleva a un proceso de separación del ácido sulfhídrico (línea 6) y el gas limpio (línea 4) se recicla con una baja presión parcial de H_2S . El H_2S separado se despacha a los procesos que lo requieran.

El azufre elemental se introduce periódicamente, de preferencia finamente dividido (línea 1) en partículas de tamaño de aproximadamente 10 micrones de diámetro, para asegurar una interfase de reacción máxima (sin que esta magnitud limite esta invención). El medio acuoso utilizado para los ejemplos consistió en el medio de cultivo modificado que se especifica en la Tabla 1 (sin que esta receta sea limitante para esta invención). El medio se agrega al sistema de reacción al inicio de la operación y se reemplaza periódicamente en la medida que se consume (línea 1).

TABLA 1: Medio de Cultivo, Modificado de ATCC Culture Medium 1283		
Parte A		
KH ₂ PO ₄	0,2	g
NH ₄ Cl	0,3	g
NaCl	1	g
MgCl ₂ . 6H ₂ O	0,4	g
KCl	0,5	g
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,15	g
Agua Destilada	789	mL
Parte B, Elementos en trazas		
Ácido Clorhídrico 25%	10	mL
FeCl ₂ . 4H ₂ O	1,5	g
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,19	g
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,1	g
ZnCl ₂	0,07	g
H ₃ BO ₃	0,062	
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,036	
NiCl ₂ . 6H ₂ O	0,024	
CuCl ₂ . 2H ₂ O	0,017	
Agua Destilada	1.000	mL
Disolver FeCl ₂ . 4H ₂ O en el HCl concentrado y diluir después		
Use 1,0 ml/L de este medio B		

Parte C	
NaHCO ₃	5 g
Agua Destilada	100 mL
Parte D	
Butirato de Sodio	0,7 g
Caproato de Sodio	0,3 g
Octanoato de Sodio	0,15 g
Agua Destilada	100 mL
Parte E	
Extracto de Levadura	1 g
Ácido p-Aminobenzóico	40 µg
D(+)-biotina	100 µg
Tiamina HCl	100 µg
Agua destilada	10 mL
<p>Prepare y esterilice Parte A anaerobicamente bajo atmósfera de 90% N₂ y 10% CO₂.</p> <p>Esterilice las Partes B, D y E separadamente bajo atmósfera de nitrógeno.</p> <p>Esterilice la Parte C y lave con 80% N₂ y 20% CO₂ para retirar oxígeno disuelto.</p> <p>Agregue las partes B a E a la parte A una vez esterilizada y fría.</p> <p>Ajuste el pH final a 7,7</p>	

De manera continua se introduce hidrógeno molecular H₂ (línea 2) a la línea de recirculación gaseosa (línea 4) para mantener una presión total constante en el sistema de reacción (que en los ejemplos de aplicación fue de aproximadamente 26,7 KPa (2 psig), sin que esta presión sea determinante para esta invención) a una tasa que asegure que la reacción no se encuentra limitada por la concentración o biodisponibilidad de hidrógeno H₂ en fase acuosa.

El sistema de reacción se encuentra dotado de un sistema de control de pH para mantenerlo alrededor de 7 (el pH puede fijarse entre alrededor de 5 a 8,2, si bien es preferible el pH 7), mediante la inyección periódica de dióxido de carbono (línea 7) garantizando al mismo tiempo la mantención de concentraciones adecuadas de ión bicarbonato para asegurar el carbono necesario para el crecimiento bacteriano.

El ácido sulfhídrico producido es continuamente extraído del bioreactor (línea 5) por el gas que circula a través de él. La mezcla de gases (línea 5) se separa por cualquier proceso, como por ejemplo la absorción en solución acuosa debido a la alta solubilidad del H₂S en agua y la baja solubilidad del hidrógeno. El ácido sulfhídrico es entonces dirigido a otros procesos que lo requieran (línea 6) y la línea gaseosa (que contiene hidrógeno, agua y dióxido de carbono) se recircula al bioreactor (línea 4).

Ejemplos de Aplicación

La invención ahora se describe además haciendo referencia a los siguientes ejemplos, que no limitan en modo alguno la amplitud de las aplicaciones de la innovación en diversos procesos.

Ejemplo 1.

Se procedió a cargar un reactor de vidrio de 1,2 L, dotado de agitación mecánica (150 RPM); control de temperatura (30°C) y; control de pH (pH 7) mediante la inyección de CO₂. El medio de reacción correspondió a 1,0 L del medio de cultivo especificado en la Tabla 1, el cual resulta adecuado para el crecimiento bacteriano. Se estableció un flujo de hidrógeno de 1,0 ± 0,5 L/min que fue inyectado a través de un difusor ubicado en el fondo del reactor. Una vez obtenidas las condiciones de temperatura, agitación y burbujeo de hidrógeno se agregaron 20 gr de azufre elemental finamente dividido. Después de 15 minutos el azufre se humectó y se consiguió obtener una suspensión

homogénea de azufre en el reactor. Luego de efectuadas todas estas operaciones se inoculó el reactor con un cultivo de nuestro laboratorio que se desarrolló a partir de *Desulfovibrio desulfuricans* para asegurar una concentración bacteriana en el reactor en el orden de 10^7 células/mL, concentración que ha demostrado ser adecuada en un bioreactor anaerobio de las características antes señaladas. El ácido sulfhídrico resultante fue extraído de manera constante por la corriente gaseosa. La mezcla gaseosa resultante fue burbujeada a través de 2 frascos lavadores dotados de soluciones absorbentes de hidróxido de sodio para retenerlo y cuantificar la velocidad de producción de ácido sulfhídrico. Luego del lavado el H_2S , la línea gaseosa (H_2 , humedad, CO_2) se recirculó de manera continua al bioreactor. Dado que el pH en el bioreactor tiende a subir, el bioreactor fue dotado de un control de pH que accionaba una inyección de dióxido de carbono a pulsos de duración adecuada para la modificación de pH necesaria. El pH en el bioreactor se mantuvo en $7,0 \pm 0,2$. El bioreactor produjo ácido sulfhídrico a razón de 2 g por día hasta la disminución de la tasa de producción por agotamiento del azufre y retomó la misma tasa al agregar azufre fresco.

Ejemplo 2.

Se utilizó un reactor tipo *gas lift* de 5,5 L, con un cilindro externo construido en plástico acrílico, de 92 cm de alto y 7,2 cm de diámetro interno. El tubo de corrientes se construyó de un tubo de vidrio de 53 cm de alto, 7,02 cm de diámetro interno y 7,62 cm de diámetro externo. La luz inferior del tubo de corrientes fue de 4,0 cm. En el fondo del reactor se instaló un flange con un difusor de gas constituido por pequeñas perforaciones de alrededor de 1 mm de diámetro, y que se encuentran ubicadas en la proyección del espacio anular formado por los dos cilindros, conformando el patrón de flujo inverso, es decir, el flujo en la región cilíndrica interior desciende y en el espacio anular el flujo asciende. El medio de cultivo, la temperatura y el pH de operación fueron

idénticos al ejemplo 1. El flujo de hidrógeno se fijó en 4 ± 1 L/min y se agregaron 50 g de azufre. Una vez obtenidas las condiciones de temperatura, agitación, burbujeo de hidrógeno y humectación del azufre se inoculó el reactor para asegurar una concentración bacteriana en el reactor en el orden de 10^7 células/mL. El ácido sulfhídrico resultante fue extraído de manera constante por la corriente de gaseosa y la mezcla gaseosa resultante fue hecha burbujear a través de 2 frascos lavadores dotados de soluciones absorbentes de hidróxido de sodio para retener y cuantificar la velocidad de producción de ácido sulfhídrico. Luego del lavado el gas se recirculó de manera continua al bioreactor. Dado que el pH en el bioreactor tiende a subir, el bioreactor fue dotado de un control de pH que acciona una inyección de dióxido de carbono. La velocidad de producción de ácido sulfhídrico fue de 2,2 g/L por día, que disminuyó al consumirse el azufre y que retomó la tasa de producción al agregar azufre fresco.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la producción de ácido sulfhídrico por reducción biotecnológica de azufre elemental **CHARACTERIZADO** porque comprende reducir biológicamente azufre elemental suspendido en un medio acuoso a un pH entre aproximadamente 5 a 8,2, en un sistema de reacción o biorreactor anaeróbico en presencia de bacterias anaeróbicas autotróficas reductoras de azufre, hidrógeno gaseoso como fuente de electrones; el par bicarbonato - dióxido de carbono como fuente de carbono, con una velocidad de producción de 0,1 a 10 kg $H_2S/(m^3 \cdot día)$, manteniendo en el reactor, una concentración de sulfuro menor a aproximadamente 300 mg/L.
2. Un proceso de acuerdo a la reivindicación 1, **CHARACTERIZADO** porque comprende remover ácido sulfhídrico desde el biorreactor con una corriente gaseosa.

3. Un proceso de acuerdo a la reivindicación 2, CARACTERIZADO porque la corriente gaseosa es la corriente de hidrógeno burbujeada a través del biorreactor.
4. Un proceso de acuerdo a la reivindicación 2, CARACTERIZADO porque comprende producir una mezcla gaseosa que tiene una concentración de ácido sulfhídrico menor de 1%, mediante su remoción.
5. Un proceso de acuerdo a la reivindicación 2, CARACTERIZADO porque comprenden producir una mezcla gaseosa que tiene una concentración de ácido sulfhídrico menor de 0,5 %, mediante su remoción.
6. Un proceso de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque comprende la etapa adicional de concentrar el ácido sulfhídrico arrastrado desde el biorreactor.
7. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque en la etapa de reducción biológica de azufre elemental se desarrollan y utilizan bacterias reductoras anaeróbicas, autotróficas autóctonas.
8. El proceso de la reivindicación 8 CARACTERIZADO porque en la etapa de reducción biológica de azufre elemental se utilizan bacterias autotrofas autóctonas que presentan mecanismos de reducción biológica similares a los conocidos para la bacteria *Desulfovibrio desulfuricans*.
9. El proceso de la reivindicación 8 CARACTERIZADO porque en la etapa de reducción biológica de azufre elemental se utilizan cultivos mixtos de diversas bacterias en condiciones mesofílicas, entre 15 y 40°C.
10. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque la etapa de reducción biológica de azufre no metálico comprende introducir periódicamente al reactor agitado azufre finamente dividido y de manera continua hidrógeno.
11. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque comprende introducir el azufre elemental finamente dividido, en partículas cuyo diámetro es aproximadamente 10 micrones.
12. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque además comprende controlar la temperatura en el bioreactor entre 15-40°C.

13. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque comprende suministrar hidrógeno continuamente en forma de burbujas finas.
14. El proceso de la reivindicación 13 CARACTERIZADO porque comprende suministrar hidrógeno continuamente en forma de burbujas finas de diámetro en el rango entre aproximadamente 0,25 a 5 mm.
15. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 13 ó 14 CARACTERIZADO porque comprende hacer recircular el gas, que contiene hidrógeno, a través del todo el bioreactor.
16. El proceso de la reivindicación 15 CARACTERIZADO porque comprende hacer circular el gas, que contiene hidrógeno, a través del todo el biorreactor, retirando ácido sulfhídrico durante la recirculación de gas de salida del sistema de reacción o bioreactor.
17. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque comprende controlar el pH en alrededor de 7.
18. El proceso de la reivindicación 17 CARACTERIZADO porque el pH se controla inyectando al bioreactor dióxido de carbono, cada vez que el pH sube.
19. El proceso de las reivindicaciones 15 y 16 CARACTERIZADO porque además comprende extraer continuamente el ácido sulfhídrico producido.
20. El proceso de la reivindicación 19 CARACTERIZADO porque comprende extraer continuamente el ácido sulfhídrico mediante el gas que circula continuamente en el bioreactor.
21. El proceso de la reivindicación 20 CARACTERIZADO porque comprende separar la mezcla de gases, $H_2S - H_2$, por absorción en solución acuosa del H_2S .
22. El proceso de la reivindicación 31 CARACTERIZADO porque además comprende recircular el hidrógeno separado del ácido sulfhídrico del gas de la salida del reactor.
23. El proceso de la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque comprende reducir biológicamente azufre elemental suspendido en un medio acuoso que contiene KH_2PO_4 , NH_4Cl , $NaCl$, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, KCl , $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, ácido

Clorhídrico 25%, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , H_3BO_3 , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , Butirato de Sodio, Caproato de Sodio, Octanoato de Sodio, Extracto de Levadura, Ácido p-Aminobenzóico, D(+)-biotina, Tiamina HCl.

24. Un sistema para la producción de ácido sulfhídrico por reducción biotecnológica de azufre elemental CARACTERIZADO porque comprende:

- a) un medio de reacción para:
 - i. agregar una fase acuosa conformada por el medio de cultivo;
 - ii. agregar azufre elemental;
 - iii. agregar bacterias;
 - iv. producir la transferencia de masa gas – líquido con una fuente continua de gas que recibe hidrógeno gaseoso; y
 - v. agregar dióxido de carbono;
- b) un medio de separación para retirar ácido sulfhídrico de una mezcla gaseosa de ácido sulfhídrico, hidrógeno gaseoso, dióxido de carbono y humedad.
- c) un medio para recircular un gas, desde la salida del medio de separación hacia la entrada del medio de reacción.

25. El sistema de la reivindicación 24 CARACTERIZADO porque el medio de reacción es un reactor.

26. El sistema de la reivindicación 25 CARACTERIZADO porque el reactor posee agitación mecánica.

27. El sistema de la reivindicación 25 CARACTERIZADO porque el reactor posee agitación hidráulica, sea del tipo Pachuca, gas lift o cualquier otra.

28. El sistema de la reivindicación 24 CARACTERIZADO porque el medio de separación es una unidad de absorción en fase acuosa.

29. El sistema de la reivindicación 28 CARACTERIZADO porque el medio de separación es una unidad de absorción en fase acuosa de carácter alcalino.

30. El sistema de la reivindicación 29 CARACTERIZADO porque el medio de separación es una unidad de absorción en fase acuosa de hidróxido de sodio.
31. El sistema de la reivindicación 30 CARACTERIZADO porque el sistema de separación es un enfriador de condensación de ácido sulfhídrico.

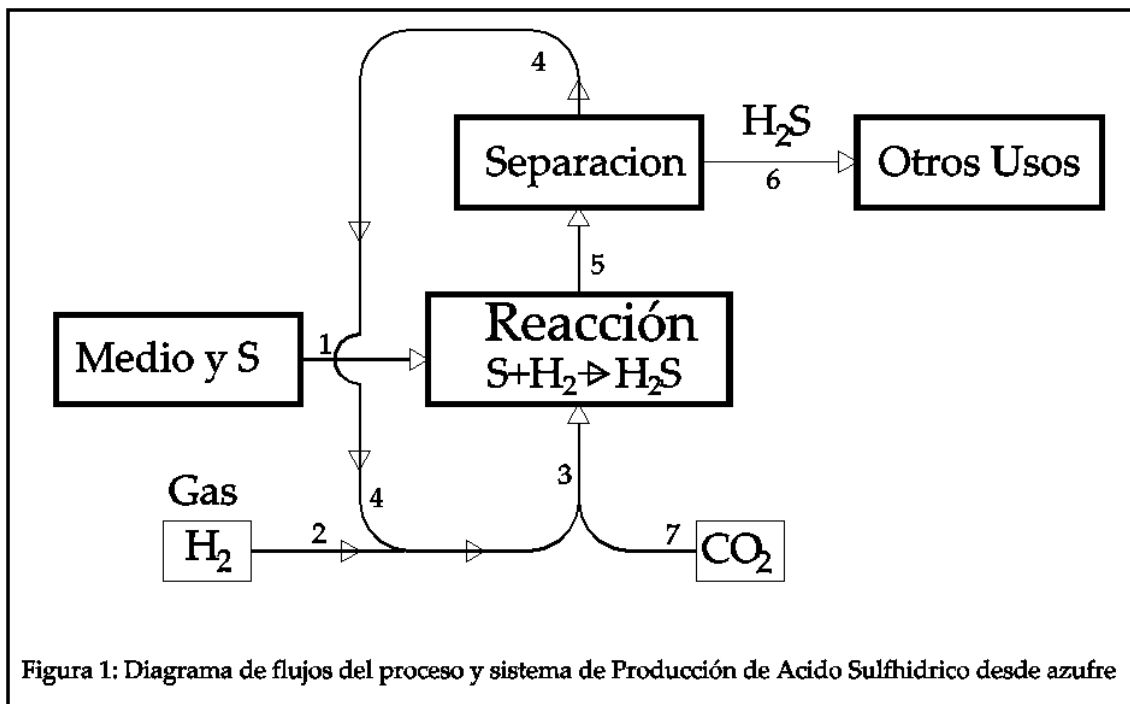


Figura 1: Diagrama de flujos del proceso y del sistema para la Producción de ácido sulfhídrico por reducción biotecnológica de azufre elemental.