

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 441**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)

C08J 11/10 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.07.2015 PCT/EP2015/066208**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2016 WO16008950**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2015 E 15738346 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 3169769**

54 Título: **Procedimiento para la desvulcanización bacteriana de partículas de caucho vulcanizadas con azufre**

30 Prioridad:

16.07.2014 CH 80142014

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.04.2019

73 Titular/es:

**TYRE RECYCLING SOLUTIONS SA (100.0%)
Z.I. Le Trési 9A
1028 Préverenges, CH**

72 Inventor/es:

**STAEDLER, DAVIDE;
SPINETTI, THIBAUD y
LOWE, CHRISTIAN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jaime

ES 2 709 441 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la desvulcanización bacteriana de partículas de caucho vulcanizadas con azufre.

5

Campo de la invención

La invención se refiere a un procedimiento para la desvulcanización bacteriana de partículas de caucho vulcanizadas con azufre.

10

Antecedentes de la invención

Se conocen procedimientos para la activación microbiana y enzimática de caucho en polvo y granulados de caucho.

15

El documento EP1620498 divulga un procedimiento para la activación superficial y/o la desvulcanización de partículas de caucho vulcanizadas con azufre. Para romper los puentes de azufre y reducir el azufre, las partículas de caucho se tratan de manera biotecnológica en un medio con bacterias mesófilas anaerobias y/o mesófilas opcionalmente anaerobias y/o mesófilas microaerófilas y/o con uno o más sistemas enzimáticos de dichas bacterias.

20

El documento EP0493732 divulga un procedimiento para reprocesar caucho de desecho, que produce caucho recuperado a partir de caucho de desecho triturado después de desvulcanización, en un procedimiento de tipo biotecnológico, manteniendo el caucho de desecho triturado en una suspensión bacteriana de microorganismos quimiolitótrofos con un suministro de aire, hasta que el azufre como azufre elemental y/o el ácido sulfúrico se separa del resto del caucho recuperado replastificado. Este reprocesamiento biotecnológico obtiene caucho recuperado y azufre de manera simplificada cuyos productos se pueden reutilizar.

25

El documento DE19728036A divulga un procedimiento para la activación superficial y la modificación de partículas de caucho entrecruzadas con azufre mediante tratamiento biotecnológico en una suspensión de las partículas de caucho, agua y material biológicamente activo para romper los puentes de azufre polisulfídico y para oxidar el azufre, por lo que el tratamiento está limitado a la superficie de la partícula y se forman grupos reactivos en forma de grupos hidroxilo, grupos epoxi y grupos carboxilo durante un periodo de tiempo, terminando el tratamiento biotecnológico cuando la concentración de grupos funcionales reactivos alcanza un máximo.

30

35

El documento US5597851 divulga un procedimiento que consiste, por un lado, en que se usa principalmente *Sulfolobus acidocaldarius* quimioterófilo como microorganismo oxidante de azufre y, por otro lado, el tratamiento de las partículas de caucho se realiza simplemente con el sistema enzimático de este microorganismo. Las propias partículas de caucho no están en contacto directo con los microorganismos.

40

Otro procedimiento se describe en el documento DE19728036, en el que mediante el tratamiento biotecnológico de partículas de caucho vulcanizado por medio de tiempos de reacción/duración de oxidación definidos, se producen grupos funcionales reactivos específicos en forma de grupos hidroxilo, grupos epoxi y grupos carboxilo en la superficie de la partícula. Como resultado, es posible vulcanizar el caucho en polvo activado y granulados de caucho con diferentes plásticos, betunes y otros polímeros. También se usan bacterias del género *Thiobacillus* para la oxidación microbiana.

45

50

Romine A. Romine et al. "Rubbercycle: a bioprocess for surface modification of waste tyre rubber" *Polymer degradation and stability* 59 (1998) 353-358 divulga un cribado de cuatro

microorganismos para la desvulcanización de caucho de neumático molido (GTR). Los microorganismos sometidos a prueba son Thiobacillus ferrooxidans, Thiobacillus thiooxidans, Rhodococcus rhodochrous, Sulfolobus acidocaldarius y una bacteria no identificada ATCC n.º 39327. La evaluación de la desvulcanización se hizo determinando la concentración de sulfato en solución mediante cromatografía iónica y mediante técnicas de análisis de materiales (FTIR con absorbancia a 1032 cm⁻¹ y XANES). Los autores encontraron especies de azufre oxidado sobre la superficie de GTR después de 2-3 días de tratamiento y determinan que el procedimiento de biodesvulcanización se completa después de 7 días. Finalmente, concluyen que "el cultivo de Thiobacillus no era tan eficaz como S. acidocaldarius". A escala global, los autores solo usaron un medio que es un medio de crecimiento estándar también utilizado para la desvulcanización. Además, Romine et al. no consideraron una selección cuidadosa de las especies bacterianas a usar, la importancia de una etapa de crecimiento bacteriano antes del tratamiento de desvulcanización y un medio de crecimiento adaptado que contenga fuentes de azufre como tiosulfato de sodio o tetrionato y hierro. Esto da como resultado un procedimiento de desvulcanización que presenta una baja productividad que tarda varios días y no se puede usar a nivel industrial.

Yuanhu Li et al. "Microbial desulfurization of ground tire rubber by Thiobacillus ferrooxidans" Polymer Degradation and Stability Vol. 96, n.º 9, pág. 1662-1668 (2011) presenta un enfoque para la desvulcanización de caucho de neumático molido (GTR) usando T. ferrooxidans. En particular, se usan técnicas de análisis de material para demostrar la desvulcanización (FTIR y XPS). Sin embargo, existen inconvenientes importantes con este enfoque debido a la alta toxicidad química inicialmente presente en el GTR, que provoca una disminución de la biomasa después de la adición de caucho en cultivos de bacterias. En consecuencia, solo se puede tratar una cantidad limitada de GTR y la desvulcanización tiene lugar únicamente después de 30 días de tratamiento. Por tanto, existe una necesidad de ampliar el procedimiento de desvulcanización de GTR o partículas de caucho vulcanizadas con azufre para mejorar el procedimiento a nivel industrial. Además, retardar la vulcanización también puede ser de interés.

30 **Breve descripción de la invención**

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de partículas de caucho vulcanizadas con azufre, comprendiendo el procedimiento:

40 a) pulverizar artículos que contienen caucho con agua a presión y secar dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre resultantes que tienen un tamaño de 10-2000 micrómetros hasta un contenido de agua inicial de un 0,01 a un 20 % en peso,

45 b) proporcionar bacterias quimiolitótrofas aerobias seleccionadas entre el grupo que consiste en la especie Acidithiobacillus thiooxidans, Acidithiobacillus ferrooxidans que comprende una cepa de Acidithiobacillus ferrooxidans depositada con el número de depósito DSM 32046, Thiobacillus thioparus, Thiobacillus thiophilus o una mezcla de las mismas; en un medio para el crecimiento bacteriano que comprende una solución acuosa que contiene sales inorgánicas y una fuente de energía para promover la desvulcanización bacteriana, seleccionadas entre el grupo que comprende Na₂SO₃, FeSO₄, FeCl₃ y Na₂S₄O₆ o mezclas de las mismas;

50 c) añadir dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre a un medio de tratamiento para la desvulcanización complementada con dicho medio de crecimiento bacteriano que contiene dichas bacterias quimiolitótrofas aerobias, en el que dicho medio de tratamiento para la desvulcanización consume cualquier fuente de energía para promover la desvulcanización bacteriana;

d) mantener dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre en dicho medio de tratamiento para la desvulcanización durante un periodo comprendido entre 24 horas y 15 días; y

5 e) recoger y secar las partículas de caucho desvulcanizadas resultantes.

Otros objetivos y ventajas de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de una revisión de la descripción detallada que sigue, que transcurre con referencia a los siguientes dibujos ilustrativos y las reivindicaciones consiguientes.

10

Breve descripción de las figuras

Figura 1: muestra imágenes de SEM de partículas de caucho obtenidas pulverizando neumáticos de automóviles con agua a alta presión. Izquierda: aumento 150x; derecha: aumento 500x.

15

Figura 2: ilustra el análisis de FTIR del caucho de neumáticos en polvo tratados con A. ferrooxidans cepa DSM 32046. Pico a 3300 cm^{-1} : grupos hidroxilo. NT: sin tratar; 48 h: tratamiento de 48 h, 6 d: tratamiento de 6 días.

20

Figura 3: muestra el análisis de EDX de NR tratado durante 48 h con A. ferrooxidans cepa DSM 32046. Los valores sin tratar y tratados se compararon mediante una prueba de la t de Student. ***p < 0,001

Figura 4: ilustra el análisis de FTIR del caucho de neumáticos en polvo tratados con A. ferrooxidans cepa DSM 32046. Pico a 1536 cm^{-1} : enlaces dobles conjugados asistidos por metilo.

25

Figura 5: muestra el análisis del contenido de azufre en partículas de caucho mediante cromatografía iónica de combustión. NT: sin tratar (100 %), TT: tratamiento con A. thiooxidans, TF: tratamiento con A. ferrooxidans.

30

Figura 6: cuantificación de azufre superficial mediante análisis de SEM/EDX de EPDM tratado con A. ferrooxidans cepa DSM 32046.

35

Descripción detallada de la invención

Aunque se pueden usar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o la prueba de la presente invención, los procedimientos y materiales adecuados se describen a continuación. Las publicaciones y solicitudes que se analizan en el presente documento se proporcionan únicamente para su divulgación anterior a la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a ser anterior a dicha publicación en virtud de la invención anterior. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

40

45

En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la técnica a la que pertenece el contenido del presente documento. Como se usan en el presente documento, las siguientes definiciones se aportan para facilitar la comprensión de la presente invención.

50

- 5 El caucho es la materia prima principal usada en la fabricación de neumáticos, y se usa tanto caucho natural como caucho sintético. El caucho natural se encuentra como un líquido lechoso en la corteza del árbol del caucho, *Hevea brasiliensis*. Para producir el caucho sin procesar usado en la fabricación de neumáticos, el látex líquido se mezcla con ácidos que hacen que el caucho se solidifique. Las prensas exprimen el exceso de agua y forman el caucho en láminas, y luego las láminas se secan en ahumaderos altos, se prensan en balas enormes y se envían a fábricas de neumáticos de todo el mundo. El caucho sintético se produce a partir de los polímeros que se encuentran en el petróleo crudo.
- 10 El otro ingrediente principal en el caucho de los neumáticos es el negro de carbón. El negro de carbón es un polvo fino y suave creado cuando se quema petróleo crudo o gas natural con una cantidad limitada de oxígeno, lo que provoca una combustión incompleta y crea una gran cantidad de hollín fino.
- 15 También se usa azufre y otros productos químicos en los neumáticos. Los productos químicos específicos, cuando se mezclan con el caucho y luego se calientan, producen características específicas de los neumáticos tales como una alta fricción (pero un bajo kilometraje) para un neumático de carrera o un alto kilometraje (pero una menor fricción) para un neumático de automóvil. Algunos productos químicos mantienen el caucho flexible mientras se está conformando en un neumático, mientras que otros productos químicos protegen el caucho de la radiación ultravioleta bajo la luz solar.
- 20
- En total, más de 200 materias primas entran en la composición de los neumáticos. Los investigadores se basan en esta amplia gama para combinar componentes de neumáticos, cada uno de los cuales tiene una función que desempeñar, dependiendo del tipo de neumático producido. Los compuestos de caucho están formados de elastómeros, rellenos de refuerzo, plastificantes y otros elementos químicos.
- 25
- El término "comprender" se usa en general en el sentido de incluir, es decir, permitir la presencia de una o más características o componentes.
- 30
- Como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, las formas singulares "un", "uno/a" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.
- 35
- ATR-FTIR es la abreviatura de espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier acoplada a módulo de reflexión total atenuada.
- 40
- Las bacterias quimiolitótrofas son bacterias que pueden obtener energía de la oxidación de compuestos inorgánicos de hierro, nitrógeno, azufre o hidrógeno.
- Una bacteria aerobia es un organismo que puede sobrevivir y crecer en un ambiente oxigenado.
- 45
- La desvulcanización es la modificación de la química superficial de las partículas de caucho mediante las bacterias, lo que causa la reducción del contenido de azufre en la matriz de caucho y la adición de grupos químicos, tales como grupos hidroxilo. La desvulcanización se produce cuando se añaden partículas de caucho a los medios de desvulcanización complementados por las bacterias.
- 50
- Las partículas de caucho desvulcanizadas son partículas de caucho que se sometieron a desvulcanización.

Un dienófilo es el componente olefínico o acetilénico que se ve atraído por un dieno en la reacción de Diels-Alder. EPDM representa el monómero de etileno-propileno-dieno del caucho.

5 NR es la abreviatura de caucho natural. El látex lechoso y blanco, que contiene glóbulos de caucho, se obtiene haciendo una incisión en la corteza de los árboles del caucho, cuyo cultivo requiere condiciones climáticas específicas y precipitaciones. Las plantaciones de árboles del caucho se encuentran principalmente en el sudeste asiático (incluida Tailandia, el mayor productor del mundo e Indonesia), América Latina y África. En formulaciones compuestas, el caucho natural reduce la generación de calor interno en los neumáticos, mientras que ofrece una alta resistencia mecánica. Se usa en muchas partes del neumático, principalmente se usa para la banda de rodadura de los camiones y las excavadoras.

15 SBR es la abreviatura de caucho de estireno-butadieno. El 60 % del caucho usado en la industria de los neumáticos es caucho sintético, producido a partir de hidrocarburos derivados del petróleo, aunque el caucho natural todavía es necesario para el 40 % restante. Los elastómeros sintéticos se deforman bajo tensión y vuelven a su forma original cuando se elimina la tensión (histéresis). Esta propiedad es extremadamente valiosa para la fabricación de neumáticos de alto agarre. El caucho sintético también proporciona otras propiedades específicas, especialmente en las zonas de longevidad y resistencia al rodamiento. Se usa principalmente para los neumáticos de automóviles y motocicletas, ya que les proporciona un buen rendimiento de agarre.

25 SEM/EDX representa la abreviatura de microscopio electrónico de barrido acoplado con un sistema de análisis de rayos X de dispersión de energía.

Un objetivo de la invención es proporcionar un procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de partículas de caucho vulcanizadas con azufre, comprendiendo el procedimiento:

30 a) pulverizar artículos que contienen caucho con agua a presión y secar dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre resultantes que tienen un tamaño de 10-2000 micrómetros hasta un contenido de agua inicial de un 0,01 a un 20 % en peso,

35 b) proporcionar bacterias quimiolitótrofas aerobias seleccionadas entre el grupo que consiste en la especie *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* que comprende una cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* depositada con el número de depósito DSM 32046, *Thiobacillus thioparus*, *Thiobacillus thiophilus* o una mezcla de las mismas; en un medio para el crecimiento bacteriano que comprende una solución acuosa que contiene sales inorgánicas y una fuente de energía para promover la desvulcanización bacteriana, seleccionadas entre el grupo que comprende Na_2SO_3 , FeSO_4 , FeCl_3 y $\text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$ o mezclas de las mismas;

40 c) añadir dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre a un medio de tratamiento para la desvulcanización complementada con dicho medio de crecimiento bacteriano que contiene dichas bacterias quimiolitótrofas aerobias, en el que dicho medio de tratamiento para la desvulcanización consume cualquier fuente de energía para promover la desvulcanización bacteriana;

45 d) mantener dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre en dicho medio de tratamiento para la desvulcanización durante un periodo comprendido entre 24 horas y 15 días; y

e) recoger y secar las partículas de caucho desvulcanizadas resultantes.

Una diferencia importante entre el enfoque descrito en Yuanhu Li et al. y la presente invención es la elección de las técnicas de pulverización/molienda para obtener GTR. Aunque el enfoque más popular para reciclar neumáticos es mediante molienda mecánica, los solicitantes han elegido una tecnología que utiliza agua a alta presión para descomponer completamente los neumáticos de desecho. La tecnología de molienda por chorro de agua a presión alta o presión muy alta se puede considerar como una nueva tendencia para el molido fino de elastómeros, tales como el caucho y materiales elásticos similares. En lugar de la trituración convencional y la molienda mecánica de neumáticos, esta tecnología únicamente aplica chorro de agua a alta presión (es decir, como se describe en el documento US 5115983 A; D&R Recycling, Inc.) para la extracción y la molienda simultánea de partes de caucho (elásticas) para obtener un polvo de caucho fino.

En particular, la técnica de pulverización de la presente invención se basa en agua o chorro de agua a alta presión combinado con un medio de cultivo optimizado que permite una reducción de los productos químicos tóxicos presentes en el GTR. De forma ventajosa, los solicitantes pueden trabajar con una mayor concentración de GRT (preferentemente un 20 % en lugar de un 5 % como se presenta por Li et al.) y sin observar ninguna disminución de la biomasa después de la adición de caucho en cultivos bacterianos. Además, la presente invención se basa en una elección específica de especies bacterianas y de medio de crecimiento que usa una combinación entre compuestos que contienen enlaces de el hierro y azufre, tales como tiosulfato y tetracionato, que aumentan la capacidad de las bacterias de usar enlaces disulfuro en la GTR como fuente de energía. Sorprendentemente, el procedimiento de desvulcanización de la invención tiene lugar ya después de 48 horas de tratamiento en lugar de 30 días, como se describe por Li et al.

Preferentemente, los artículos que contienen caucho se seleccionan de neumáticos o segmentos de neumáticos, bandas de rodadura, suelas de zapatos, cintas transportadoras. Los artículos que contienen caucho también incluyen, pero no se limitan a, neumáticos, botas de caucho, ropa de caucho, trajes de neopreno, trajes secos, parachoques, guardabarros, defensas marinas, amortiguadores de caucho, almohadillas para camiones cisterna, orugas de caucho, almohadillas antivibratoras de máquinas, revestimientos interiores protectores de coches de ferrocarril, rellenos aislantes de ruido, baldosas, amortiguadores de rieles, almohadillas para remolques de embarcaciones, escobillas de limpiaparabrisas, perfiles extruidos, núcleos de moldeo por inyección, aletas de guardabarros. Los neumáticos se usan en muchos tipos de vehículos, incluidos automóviles, bicicletas, motocicletas, camiones, equipos pesados y aviones. Los neumáticos de caucho sólido (u otro polímero) se usan en diversas aplicaciones que no son de automoción, tales como algunas ruedas, carros, cortacéspedes y carretillas. Los neumáticos de trabajos pesados también se denominan neumáticos de camiones/autobuses.

Las partículas de caucho vulcanizadas con azufre a desvulcanizar se obtienen de forma ventajosa pulverizando artículos que contienen caucho, tales como neumáticos o segmentos de neumáticos con agua a alta presión y secando las partículas resultantes.

De acuerdo con un modo de realización de la invención, el volumen del medio para el crecimiento bacteriano que contiene dichas bacterias quimiolitótrofas aerobias que está complementado con el medio de tratamiento para la desvulcanización comprende entre un 10 y un 80 %.

En un modo de realización preferido, las partículas de caucho vulcanizadas con azufre de la etapa c) se añaden a una concentración entre un 1 y un 35 % en peso.

De acuerdo con el procedimiento de la invención, las bacterias quimiolitótrofas aerobias de la etapa b) se emplean como cepa pura o en una comunidad.

De forma ventajosa, el medio para el crecimiento bacteriano de la etapa b) y el medio de tratamiento para la desvulcanización de la etapa p) se agitan. Preferentemente, la agitación comprende mezclado helicoidal agitando de forma vertical u horizontal en un intervalo de 10 a 300 revoluciones por minuto (rpm) y/o agitación orbital en un intervalo de 10 a 500 rpm y/o insuflación de aire en un intervalo de 0,01 a 20 l/min.

El medio para el cultivo y crecimiento bacteriano contiene: Na_2SO_3 , FeSO_4 , FeCl_3 y $\text{a}_2\text{S}_4\text{O}_6$ o sus mezclas.

10 a. Na_2SO_3 y/o FeSO_4 en una concentración comprendida entre 0,05 y 4,0 g/L y/o

b. FeCl_3 y/o $\text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$ en una concentración comprendida entre 0,05 y 10,0 g/l.

15 En otro modo de realización preferente, el medio de tratamiento para la desvulcanización de la etapa p) contiene además dienófilos y ácidos orgánicos. Preferentemente, los ácidos orgánicos se seleccionan entre el grupo de ácido maleico, ácido pirúvico, ácido benzoico, ácido salicílico y/o sus mezclas. Habitualmente, los dienófilos se seleccionan entre el grupo que consiste en anhídrido maleico, 2-oxopropanal o sus mezclas. En particular, el medio para el cultivo y crecimiento bacteriano puede comprender ácido salicílico en una concentración comprendida entre 0, preferentemente 0,01 y 0,5 g/l y/o ácido benzoico en una concentración comprendida entre 0, preferentemente 0,01 y 0,5 g/l y/o ácido pirúvico en una concentración comprendida entre 0, preferentemente 0,01 y 0,5 g/l y/o ácido maleico en una concentración comprendida entre 0, preferentemente 0,01 y 0,5 g/l.

25 De acuerdo con otro modo de realización de la invención, el medio para el crecimiento bacteriano comprende además al menos un constituyente adicional opcional seleccionado de: MnSO_4 ; leucina; timol; ácido salicílico o sus mezclas. El pH entre 1,0 y 7,0, preferentemente entre 1,5 y 6,5, del medio para el crecimiento bacteriano se puede regular usando HCl 1 M a 10 M, H_2SO_4 al 60 % hasta el 98 %, NaOH 1 M a 10 M y K_2CO_3 1 M a 2 M.

30 El consumo de la fuente de energía para el crecimiento bacteriano se controla evaluando la concentración de Fe^{2+} y/o Fe^{3+} midiendo la absorbancia del medio a 220-250 nm (Fe^{2+}) y/o 280-340 nm (Fe^{3+}) y/o mediante análisis con espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP) y/o con espectroscopia de absorción atómica (AAS), en la que se determina la utilización de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mediante decoloración de azul de metileno y/o cromatografía iónica, y en la que se determina la oxidación del azufre midiendo el consumo de oxígeno mediante un respirómetro.

40 En un modo de realización preferente de la invención, la bacteria quimiolitótrofa aerobia de la etapa b) es la cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* depositada con el número de depósito DSM 32046 empleada como una cepa pura o en una comunidad.

45 La necesidad de cultivar bacterias por separado como una solución madre de microorganismos vivos para la desvulcanización es fundamental para una industrialización eficaz del procedimiento.

50 La presencia de contaminaciones en el polvo de caucho representa un obstáculo para una desvulcanización eficaz, ya que la fuente de contaminaciones (hongos u otras bacterias) puede interferir con el crecimiento de las bacterias seleccionadas, puede degradar las partículas de caucho y puede interferir con las reacciones químicas y enzimáticas implicadas en la desvulcanización.

Opcionalmente, las partículas de caucho se esterilizan antes y/o después de la desvulcanización para evitar contaminaciones de bacterias y otros microorganismos por

esterilización y o esterilización con vapor o esterilización química basada en óxido de etileno o dióxido de nitrógeno u ozono. La invención se entenderá más claramente a partir de la siguiente descripción de un modo de realización preferente, que se proporciona únicamente a modo de ejemplo.

5

En un modo de realización preferente, la invención proporciona un procedimiento para la desvulcanización bacteriana de partículas de caucho vulcanizadas con azufre que tienen un tamaño de 10-2000 micrómetros, preferentemente de 10-900 micrómetros y más preferentemente un tamaño de 150-600 micrómetros, y un contenido de humedad inicial de un 0,01 a un 20 %, preferentemente de un 0,01 a un 5 % en peso y más preferentemente de un 0,1 a un 4 %. Las partículas de caucho vulcanizadas con azufre a tratar pueden provenir de muchas fuentes. Por ejemplo, las partículas de caucho vulcanizadas con azufre se pueden obtener pulverizando neumáticos o segmentos de neumáticos con agua a alta presión y secando las partículas resultantes. En este caso, las partículas de caucho vulcanizadas con azufre a desvulcanizar se pueden someter a un tratamiento de secado preliminar para alcanzar el contenido de humedad inicial especificado. En una variante menos preferente, las partículas de caucho vulcanizadas con azufre pueden proceder de un procedimiento de trituración que no requiere un tratamiento de secado.

10

15

20

En dicho modo de realización preferente, las partículas de caucho se esterilizan mediante esterilización y, esterilización con vapor antes de la desvulcanización para evitar contaminaciones de bacterias y otros microorganismos.

25

En dicho modo de realización preferente, las bacterias se seleccionan de organismos quimiolitótrofos aerobios. En un primer modo de realización, *Acidithiobacillus thiooxidans* representa un 30 % de la comunidad y *Acidithiobacillus ferrooxidans* representan un 30 % de la comunidad y *Thiobacillus thioparus* representa un 30 % de la comunidad y *Thiobacillus thiophilus* representa un 10 % de la comunidad.

30

La comunidad de bacterias se somete a un procedimiento de cultivo para hacer crecer las bacterias, en un medio de crecimiento bacteriano que comprende una solución acuosa que contiene sales inorgánicas a un pH de 0,5 a 7, preferentemente de 0,5 a 4,5, y una temperatura de 20 a 35 °C, preferentemente de 20 a 30 °C, comprendiendo además dicho medio de cultivo una fuente de energía para promover el crecimiento bacteriano, seleccionada de Na₂SO₃ y/o FeSO₄ y/o FeCl₃ y/o Na₂S₄O₆ y/o sus mezclas.

35

El pH del medio para el crecimiento bacteriano se puede regular usando HCl 1 M a 10 M, H₂SO₄ al 60 % hasta el 98 %, NaOH 1 M a 10 M y/o K₂CO₃ 1 M a 2 M.

40

El medio de crecimiento se puede agitar de diferentes maneras. La agitación puede mezclado helicoidal agitando de forma vertical u horizontal en un intervalo de 10 a 300 revoluciones por minuto (rpm), preferentemente de 30 a 100 120 rpm, o agitación orbital en un intervalo de 10 a 500 rpm, preferentemente de 50 a 200 rpm, o insuflación de aire en un intervalo de 0,01 a 20l/min.

45

El consumo de la fuente de energía para el crecimiento bacteriano se controla midiendo la absorbancia del medio a 220-250 nm (Fe²⁺) y/o 280-340 nm (Fe³⁺) o midiendo la oxidación de Fe²⁺ en Fe³⁺ de forma colorimétrica o a 230-260 nm (Na₂S₂O₃), en la que se determina la utilización de Na₂S₂O₃ mediante la decoloración de azul de metileno en valoración del yodo, y en la que se determina la oxidación de azufre midiendo el consumo de oxígeno por medio de un respirómetro.

50

Las partículas de caucho se someten luego a un tratamiento de desvulcanización de azufre en un medio de tratamiento que comprende las bacterias y que contiene una concentración de

partículas de caucho entre un 1 y un 35 % en peso. Durante la desvulcanización, el medio está preferentemente a un pH de 0,5 a 4,5 y a una temperatura de 20 a 30 °C.

5 En dicho modo de realización preferente, el medio de tratamiento que comprende las bacterias y que contiene una concentración de partículas de caucho entre un 1 y un 35 % en peso contiene además $MgSO_4$ en una concentración comprendida entre 0,05 y 4,0 g/l, preferentemente entre 0,05 y 3,0 g/l y K_2HPO_4 en una concentración comprendida entre 0,05 y 10,0 g/l, preferentemente entre 0,05 y 3,5 g/l y $(NH_4)_2SO_4$ en una concentración comprendida entre 0,05 y 10,0 g/l, preferentemente entre 2,0 y 8,0 g/l. Este medio puede comprender al menos un constituyente adicional opcional seleccionado de:

a. KCl en una concentración comprendida entre 0,1 y 2 g/l, y/ o

15 b. $Ca(NO_3)_2$ en una concentración comprendida entre 0,1 y 0,5 g/l, y/ o

c. Productos químicos seleccionados de timol en una concentración comprendida entre 0,01 y 0,5 g/l y/o ácido salicílico en una concentración comprendida entre 0,01 y 0,5 g/l y/o ácido pirúvico en una concentración comprendida entre 0,01 y 0,5 g/l y/o ácido maleico en una concentración comprendida entre 0,01 y 0,5 g/l.

20 El tratamiento de desvulcanización puede durar de 24 horas a 12 días.

Una vez finalizado el procedimiento, las partículas de caucho desvulcanizadas resultantes están húmedas y se secan hasta un contenido de humedad de un 0,01 a un 15 % en peso.

25 En una etapa adicional, las partículas de caucho se esterilizan después de la desvulcanización para evitar contaminaciones de bacterias y otros microorganismos por calentamiento con esterilización y o esterilización con vapor.

30 Las partículas de caucho desvulcanizadas de la invención se definen por la presencia de materia orgánica libre en una concentración entre un 0,1 % y un 0,5 % en peso, la reducción de más de un 80 % de la concentración de compuestos volátiles tales como ciclohexanona, ciclopropano y etanol en una mezcla de NR/SBR (neumáticos para automóviles), una reducción de la concentración de metil isobutil cetona (MIBK) de al menos un 50% (en neumáticos para automóviles y camiones), una mayor humectabilidad evaluada midiendo la reducción del ángulo de contacto del agua en un intervalo entre un 75 % y un 95 %, así como un aumento de la retención de agua en un intervalo entre un 75 % y un 150 %. La retención de agua se evaluó midiendo el porcentaje de agua destilada retenida en una cantidad definida de partículas de caucho.

40 El ángulo de contacto del agua se evaluó midiendo el ángulo de contacto del agua de una gota de agua en la superficie de un compuesto de caucho. Se toma una imagen horizontal para cada gota y se mide el ángulo de contacto en la imagen. Además, se observó (véase el ejemplo 2) una reducción de la concentración de metil isobutil cetona (MIBK) (usada como disolvente en los neumáticos) en el intervalo de un 50 % a un 80 % en SBR y NR (en neumáticos de automóviles y camiones), así como una reducción de más de un 80 % de la concentración de compuestos volátiles, tales como ciclohexanona, ciclopropano y etanol en una mezcla de NR/SBR (neumáticos para automóviles). En particular, los compuestos orgánicos volátiles se identificaron y cuantificaron mediante espectrometría de masas y cromatografía de gases del espacio vacío (EM-CG-EV).

50 La invención también incluye todas las etapas, características, composiciones y compuestos mencionados o indicados en esta memoria descriptiva, individual o colectivamente, y todas y cada una de las combinaciones o dos o más de dichas etapas o características cualesquiera.

Por lo tanto, la presente divulgación se debe considerar como ilustrada en todos los aspectos y no restrictiva, estando el alcance de la invención indicado por las reivindicaciones adjuntas, y se pretende que todos los cambios que están dentro del significado e intervalo de equivalencia estén incluidos en las mismas.

5 La descripción anterior se entenderá más completamente con referencia a los siguientes ejemplos. Dichos ejemplos, sin embargo, son ejemplos de procedimientos para poner en práctica la presente invención y se pretende que limiten el alcance de la invención.

10 Ejemplos

Se obtienen partículas de caucho pulverizando neumáticos con agua a una tasa entre 1 y 4 metros por minuto, con agua a alta presión en el intervalo de 800 a 3000 bares, y luego se secan. Estas partículas se caracterizan por una gran superficie y una forma irregular (figura 1).
15 Las partículas obtenidas de este modo tienen una distribución de tamaño comprendida entre 2000 y 50 micrómetros. A continuación se describe un protocolo general para el tratamiento de partículas de caucho con bacterias seleccionadas. En general, las bacterias se mantienen en cultivo con sal inorgánica y sustrato energético para promover su expansión. Para el tratamiento del polvo de caucho, el medio acuoso agota las fuentes energéticas para promover
20 el abordaje selectivo del compuesto sulfurado presente en el caucho. Debido a eso, las bacterias usan directamente el compuesto de azufre de las partículas de caucho como fuente de energía y esto da lugar a la desvulcanización del caucho.

Ejemplo 1:

25 Acidithiobacillus ferrooxidans cepa DSM 32046 se mantiene en cultivo en un medio de crecimiento acuoso que contiene 0,5 g/l de FeSO_4 , 0,4 g/l de MgSO_4 , 0,6 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,4 g/l de K_2HPO_4 , 0,3 g/l de $\text{K}_2\text{S}_4\text{O}_6$. El pH se ajusta con H_2SO_4 a 2,20. Las bacterias se cultivan en biorreactores de 500 l.

30 Cuando el recuento de bacterias alcanza 1×10^6 bacterias/ml, se diluyen 750 l del medio bacteriano de los cultivos de crecimiento con medio de desvulcanización en una proporción de 1:6 en el biorreactor de desvulcanización, para alcanzar un volumen final de 3000 l. El medio de desvulcanización está compuesto por 0,6 g/l de MgSO_4 , 2 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g/l de KH_2PO_4 , 0,5 g/l de K_2HPO_4 .

40 Luego, las partículas de caucho compuestas por NR se añaden al biorreactor de desvulcanización en una concentración de un 20 % en peso/volumen (600 kg para 3000 l). La mezcla de partículas de caucho y bacterias se mantiene en agitación a 100 rpm a una temperatura de 30 °C durante 48 horas o 6 días. Después del tratamiento, las partículas de caucho se separan del medio acuoso al pasar la mezcla a través de un escurridor (disponible en el mercado), luego se secan a 120 °C en una instalación industrial disponible en el mercado, para obtener un polvo de caucho con un 1,0 + 0,3 % de humedad.

45 Las partículas de caucho tratadas se analizan mediante ATR-FTIR y mediante SEM/EDX. El análisis de ATR-FTIR muestra la aparición de grupos hidroxilo en la superficie de las partículas de caucho (véase la figura 2, pico ancho a 3300 cm^{-1}). La intensidad del pico, que es atribuible a la cantidad de grupos hidroxilo, depende del tiempo y aumenta después de 6 días de tratamiento (figura 2). El análisis de SEM/EDX de las partículas de caucho después de 48 h de
50 tratamiento mostró una disminución del azufre en la superficie de las partículas y un aumento de oxígeno, lo que confirma la presencia de grupos hidroxilo en la superficie (figura 3). En conjunto, estos resultados muestran que la cepa seleccionada de *A. ferrooxidans* es particularmente eficaz en la realización de la desvulcanización de las partículas de caucho y este efecto es dependiente del tiempo de tratamiento.

- Además, el polvo de caucho antes del tratamiento presenta algunos enlaces de dobles conjugados asistidos por metilo en la superficie, lo que es visible por análisis de ATR-FTIR (pico a 1536 cm^{-1} , figura 4). Estas estructuras químicas disminuyen las propiedades mecánicas del caucho y el tratamiento con *A. ferrooxidans* en presencia de ácido salicílico permite la desaparición de estas estructuras no deseadas (figura 4). Esto demuestra que el tratamiento bacteriano de acuerdo con la invención provoca la modificación de la química superficial de las partículas de caucho y aumenta de forma ventajosa las propiedades mecánicas del producto final.
- 5
- 10 Ejemplo 2:
- Dos cepas de tiobacilos, la cepa de *A. ferrooxidans* DSM 32046 y una cepa de *Acidithiobacillus thiooxidans*, se cultivan por separado en biorreactores de 15 l.
- 15 El medio de crecimiento para la cepa de *A. ferrooxidans* está compuesto por 0,1 g/l de FeSO_4 , 0,5 g/l de MgSO_4 , 3 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g/l de K_2HPO_4 , 2 g/l de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y 0,05 g/l de ácido salicílico. El pH se ajusta con H_2SO_4 a 4,5. El medio de crecimiento para la cepa de *A. thiooxidans* está compuesto por 0,05 g/l de MnSO_4 , 0,5 g/l de MgSO_4 , 3,0 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,0 g/l de KH_2PO_4 , 2,0 g/l de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y 0,05 g/l de ácido salicílico. El pH se ajusta con H_2SO_4 a 4,5.
- 20
- Cuando el recuento de bacterias alcanza 1×10^6 bacterias/ml, se diluyen 10 l del medio bacteriano de cada cultivo de reserva por separado con el medio de desvulcanización en una proporción de 1:3 en los dos biorreactores de desvulcanización (uno por cepa), hasta alcanzar un volumen final de 30 l.
- 25
- El medio de desvulcanización para la cepa de *A. ferrooxidans* está compuesta de 0,5 g/l de MgSO_4 , 3,0 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,8 g/l de KH_2PO_4 , 1,0 g/l de K_2HPO_4 , 0,05 g/l de ácido salicílico y 0,01 g/l de ácido pirúvico.
- 30
- El medio de desvulcanización para la cepa de *A. thiooxidans* está compuesto por 0,5 g/l de MgSO_4 , 3,0 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,8 g/l de KH_2PO_4 , 1,0 g/l de K_2HPO_4 , 0,05 g/l de ácido salicílico y 0,01 g/l de ácido pirúvico.
- 35
- Luego, las partículas de caucho compuestas por SBR/NR se añaden a los biorreactores de desvulcanización en una concentración de un 20 % en peso/volumen (6 kg para 30 l). La mezcla de partículas de caucho y bacterias se mantiene en agitación a 100 rpm a una temperatura de $30\text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 horas.
- 40
- Después del tratamiento, las partículas de caucho se separan del medio acuoso al pasar la mezcla a través de un escurridor (disponible en el mercado), luego se secan a $55\text{ }^\circ\text{C}$ en una instalación industrial disponible en el mercado, para obtener un polvo de caucho con un 1,5 + 0,2 % de humedad. El contenido total de azufre de las partículas tratadas se analiza mediante cromatografía iónica de combustión. Se observa una disminución de un 16 % y de un 29 % del contenido total de azufre en las partículas tratadas después del tratamiento con *A. thiooxidans* y *A. ferrooxidans*, respectivamente (figura 5). Estos resultados demuestran que ambas especies pueden reducir el contenido de azufre en las partículas de caucho, por lo que son completamente capaces de realizar la desvulcanización.
- 45
- Además, el polvo de caucho antes del tratamiento presenta algunos enlaces de dobles conjugados asistidos por metilo en la superficie, lo que es visible por análisis de ATR-FTIR (pico a 1536 cm^{-1} , figura 5). Esta estructura química disminuye las propiedades mecánicas del caucho y el tratamiento con *A. ferrooxidans* en presencia de ácido salicílico permite la desaparición de estas estructuras no deseadas (figura 5). Esto demuestra que el tratamiento
- 50

bacteriano provoca la modificación de la química superficial de las partículas de caucho y aumenta de forma ventajosa las propiedades mecánicas del producto final.

5 Finalmente, la liberación de compuestos volátiles sobre partículas tratadas con *A. ferrooxidans* y las partículas de caucho no tratadas se evaluó mediante EM-CG-EV, concretamente los compuestos orgánicos volátiles se identificaron y cuantificaron mediante espectrometría de masas y cromatografía de gases del espacio vacío (EM-CG-EV). A escala global, se midió una disminución de la concentración de compuestos volátiles después del tratamiento. En particular, la concentración de metil isobutil cetona (MIBK) disminuyó en un 70 %, la concentración de ciclohexanona disminuyó en un 82 %, la concentración de ciclopropano disminuyó en un 84 % y la concentración de etanol disminuyó en un 87 %.

Ejemplo 3:

15 La cepa de *A. ferrooxidans* DSM 32046 se cultiva como se describe en el ejemplo 2.

20 Cuando el recuento de bacterias alcanza 1×10^6 bacterias/ml, se diluyen 10 l del medio bacteriano del cultivo de reserva con el medio de desvulcanización (composición como se describe en el ejemplo 2) en una proporción de 1:3 en el biorreactor de desvulcanización, hasta alcanzar un volumen de 30 l.

25 Luego, las partículas de caucho compuestas por EPDM se añaden al biorreactor de desvulcanización en una concentración de un 10 % en peso/volumen (3 kg para 30 l). La mezcla de partículas de caucho y bacterias se mantiene en agitación a 100 rpm a una temperatura de 30 °C durante 48 horas.

30 Al final del tratamiento, las partículas obtenidas se drenan y se secan como se describe en el ejemplo 2, para obtener un polvo de caucho con - 1.5 % de humedad. Las partículas tratadas y no tratadas se analizaron por MEB/EDX y se mostró una disminución del contenido de azufre en la superficie de las partículas después del tratamiento, lo que evidencia que la cepa de *A. ferrooxidans* DSM 32046 puede desvulcanizar varios tipos de cauchos.

Ejemplo 4:

35 Dos cepas de tiobacilos, uno de *Thiobacillus thioparus* y una de *Thiobacillus thiophilus*, se cultivan por separado en biorreactores de 15 l.

40 El medio de crecimiento de *T. thioparus* está compuesto por 0,01 g/l $MnSO_4$, 0,5 g/l de $MgSO_4$, 0,1 g/l de $(NH_4)_2SO_4$, 4,0 g/l de KH_2PO_4 , 2,0 g/l de K_2HPO_4 , 0,15 g/l de $FeCl_3$ y 5,0 g/l de $Na_2S_2O_3$. El pH se ajusta con H_2SO_4 a 6,5. El medio de crecimiento de *T. thiophilus* está compuesto por 0,8 g/l de NH_4Cl , 1,0 g/l de $MgSO_4$, 0,1 g/L de $(NH_4)_2SO_4$, 2,0 g/l de KH_2PO_4 , 0,2 g/l de K_2HPO_4 , 0,8 g/l de KNO_3 y 5,0 g/l de $Na_2S_2O_3$. El pH se ajusta con H_2SO_4 a 6,5.

45 Estas cepas se emplean para la desvulcanización de NR como se describe en el ejemplo 2.

El medio de desvulcanización para *T. thioparus* está compuesto por 0,8 g/l de $MgSO_4$, 0,25 g/l de $(NH_4)_2SO_4$, 4,0 g/l de KH_2PO_4 , 0,5 g/l de K_2HPO_4 y 0,05 g/l de $FeCl_3$.

50 El medio de crecimiento para *T. thiophilus* está compuesto por 0,8 g/l de NH_4Cl , 1,0 g/l de $MgSO_4$, 0,25 g/l de $(NH_4)_2SO_4$, 2,0 g/l de KH_2PO_4 , 0,5 g/l de K_2HPO_4 y 1,0 g/l de KNO_3 .

Los resultados preliminares obtenidos por ATR-FTIR y SEM/EDX mostraron que estas cepas son completamente eficaces en la desvulcanización de partículas de caucho en el procedimiento de acuerdo con la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de partículas de caucho vulcanizadas con azufre, comprendiendo el procedimiento:
- 5
- a) pulverizar artículos que contienen caucho con agua a presión y secar dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre resultantes que tienen un tamaño de 10-2000 micrómetros hasta un contenido de agua inicial de un 0,01 a un 20 % en peso,
- 10
- b) proporcionar bacterias quimiolitótrofas aerobias seleccionadas entre el grupo que consiste en la especie *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* que comprende una cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* depositada con el número de depósito DSM 32046, *Thiobacillus thioparus*, *Thiobacillus thiophilus* o una mezcla de las mismas; en un medio para el crecimiento bacteriano que comprende una solución acuosa que contiene sales inorgánicas y
- 15
- una fuente de energía para promover la desvulcanización bacteriana, seleccionadas entre el grupo que comprende Na_2SO_3 , FeSO_4 , FeCl_3 y $\text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$ o mezclas de las mismas;
- c) añadir dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre a un medio de tratamiento para la desvulcanización complementada con dicho medio de crecimiento bacteriano que contiene
- 20
- dichas bacterias quimiolitótrofas aerobias, en el que dicho medio de tratamiento para la desvulcanización consume cualquier fuente de energía para promover la desvulcanización bacteriana;
- d) mantener dichas partículas de caucho vulcanizadas con azufre en dicho medio de
- 25
- tratamiento para la desvulcanización durante un periodo comprendido entre 24 horas y 15 días; y
- e) recoger y secar las partículas de caucho desvulcanizadas resultantes.
- 30
2. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los artículos que contienen caucho se seleccionan de neumáticos o segmentos de neumáticos, bandas de rodadura de neumáticos, suelas de zapatos, cintas transportadoras.
- 35
3. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el volumen de dicho medio para el crecimiento bacteriano que contiene dichas bacterias quimiolitótrofas aerobias que está complementado con dicho medio de tratamiento para la desvulcanización comprende entre un 10 y un 80 %.
- 40
4. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dichas partículas de caucho vulcanizado con azufre de la etapa c) se añaden a una concentración entre un 1 y un 35 % en peso.
5. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera
- 45
- de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dichas bacterias quimiolitótrofas aerobias de la etapa b) se emplean como una cepa pura o en una comunidad.
6. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera
- 50
- de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el medio para el crecimiento bacteriano de la etapa b) y el medio de tratamiento para la desvulcanización de la etapa c) se agitan.
7. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el medio de tratamiento para la desvulcanización de la etapa c) contiene además dienófilos y ácidos orgánicos.

8. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de la reivindicación 7, en el que los ácidos orgánicos se seleccionan entre el grupo de ácido maleico, ácido pirúvico, ácido benzoico, ácido salicílico y/o sus mezclas.
- 5 9. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de la reivindicación 7, en el que los dienófilos se seleccionan entre el grupo que consiste en anhídrido maleico, 2-oxopropanal o sus mezclas.
- 10 10. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el medio para el crecimiento bacteriano comprende además al menos un constituyente adicional opcional seleccionado de: $MnSO_4$, leucina, ácido salicílico o sus mezclas.
- 15 11. El procedimiento para la desvulcanización con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el consumo de la fuente de energía para el crecimiento de bacterias se controla evaluando la concentración de Fe^{2+} y/o Fe^{3+} midiendo la absorbancia del medio a 220-250 nm (Fe^{2+}) y/o 280-340 nm (Fe^{3+}) y/o mediante análisis con espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP) y/o con espectroscopia de absorción atómica (AAS), en la que se determina la utilización de $Na_2S_2O_3$ por decoloración de azul de metileno y/o cromatografía iónica, y en la que se determina la oxidación del azufre midiendo el consumo de oxígeno por medio de un respirómetro.
- 20 12. El procedimiento para la desviación con bacterias aerobias de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicha cepa *Acidithiobacillus ferrooxidans* depositada con el número de depósito DSM 32046 de la etapa b) se emplea como una cepa pura o en una comunidad.
- 25

FIG: 1

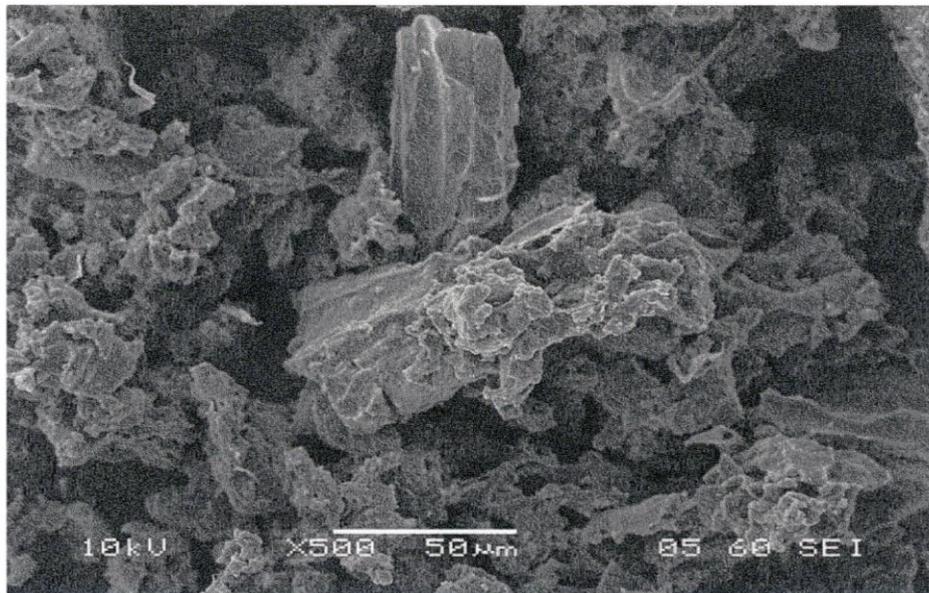
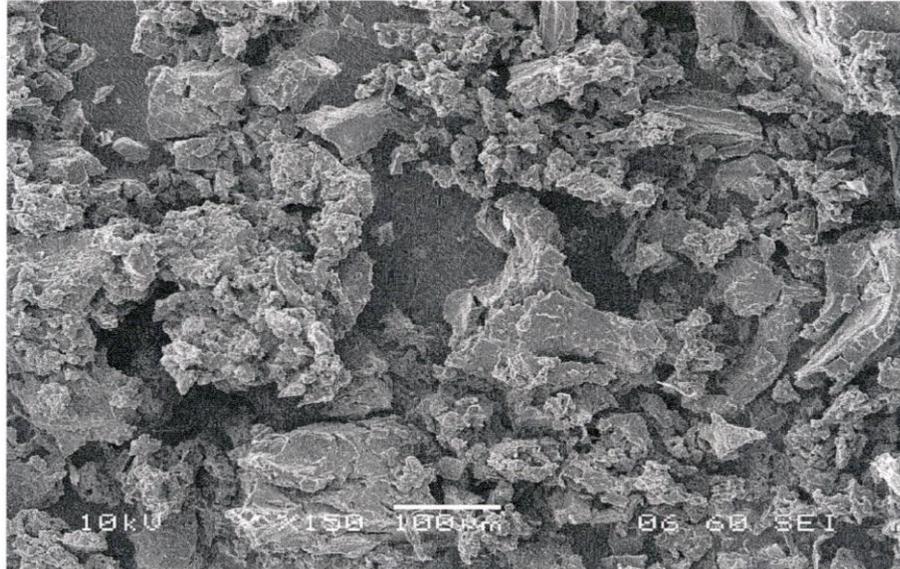


FIG: 2

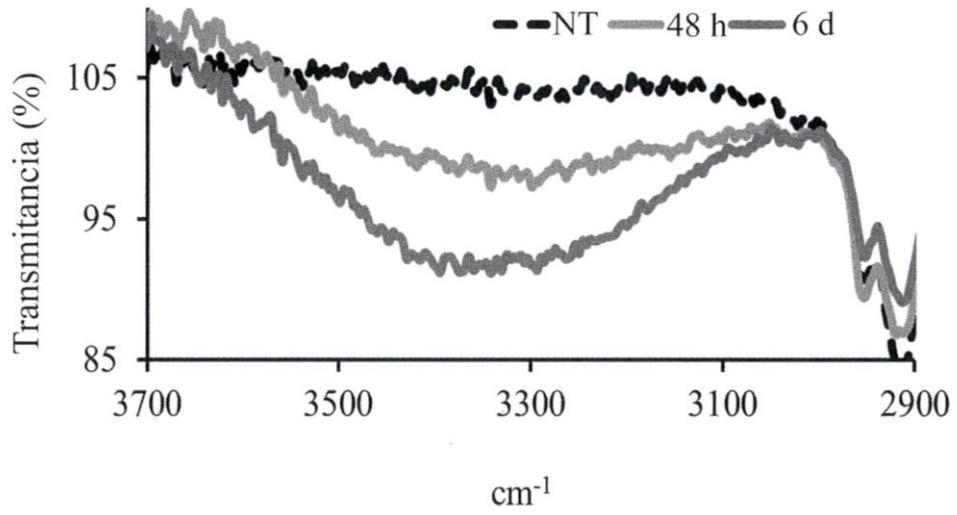


FIG: 3

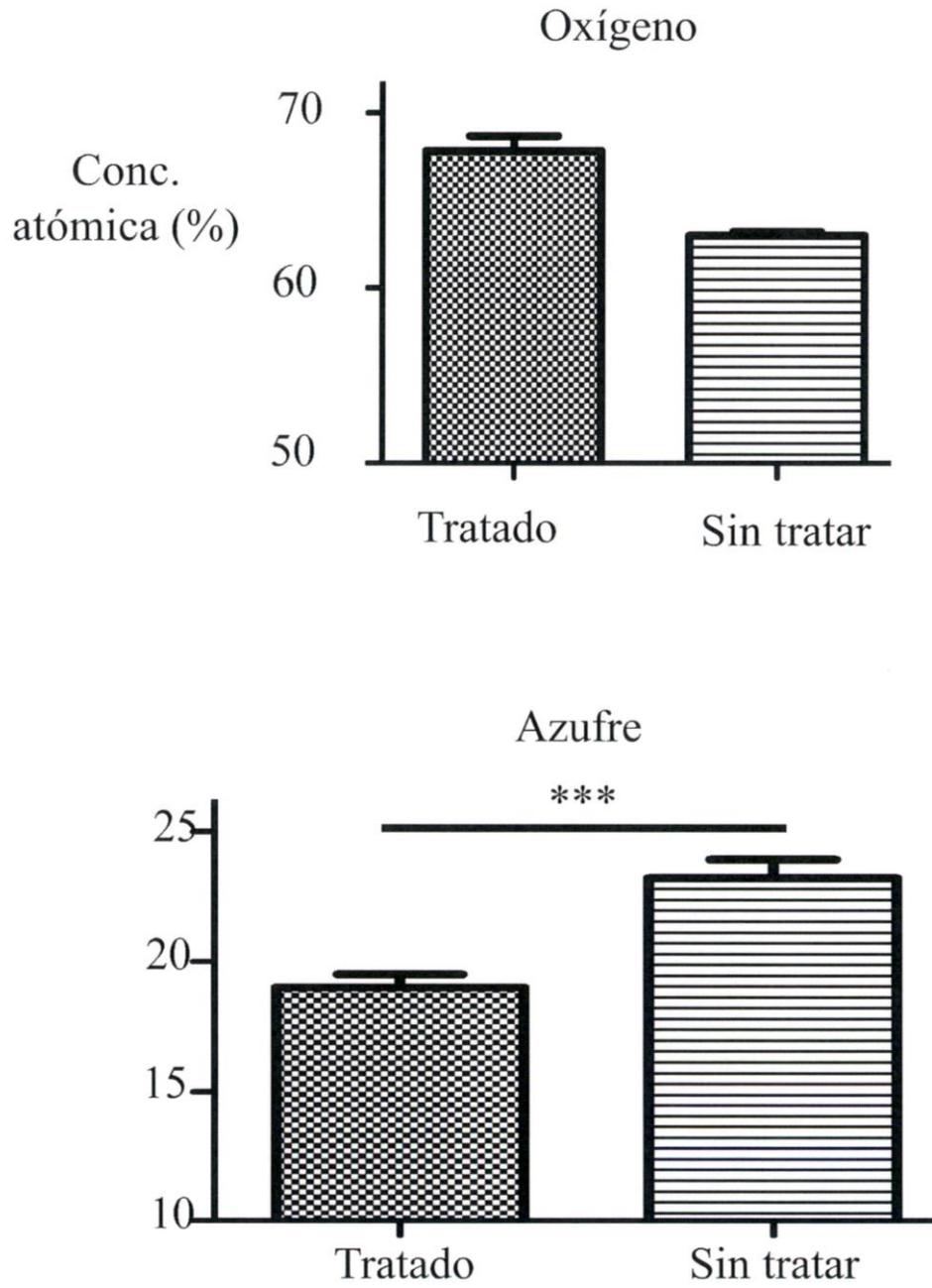


FIG: 4

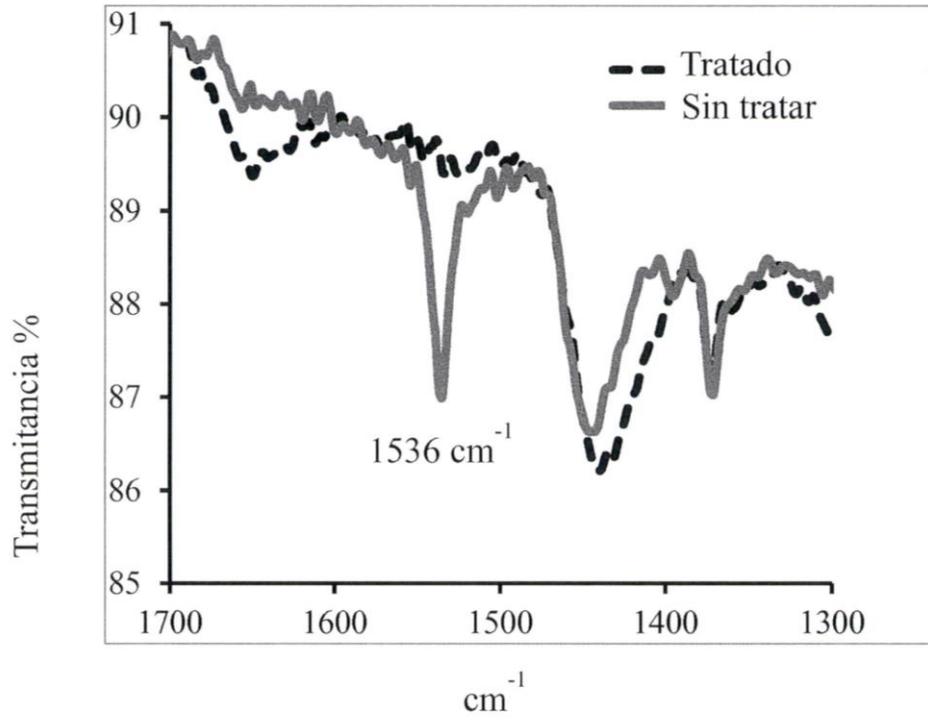


FIG: 5

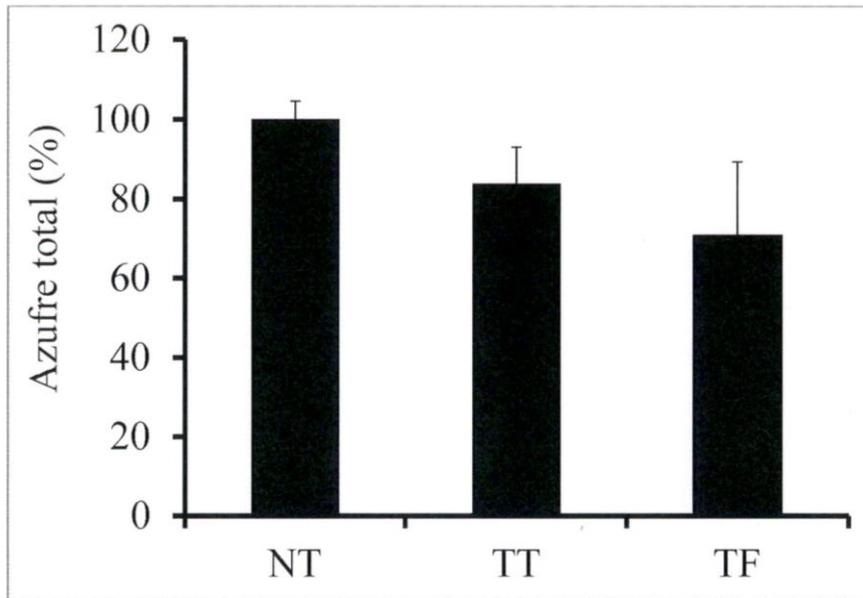


FIG: 6

