



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas.

Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD OXIDATIVA Y CRECIMIENTO DE
ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS EN LA OXIDACIÓN DE
IÓN FERROSO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO

**Memoria para optar al título
de Ingeniero Civil Químico e Ingeniero Civil en Biotecnología**

PATRICIA CAROLINA DÍAZ ROZAS

PROFESOR GUÍA:
TOMÁS VARGAS VALERO

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:
BLANCA ESCOBAR MIGUEL
M. ELENA LIENQUEO CONTRERAS

Santiago, Chile

Octubre 2007

Resumen

La oxidación bacteriana del ión ferroso con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en presencia de carbón activado es un proceso útil tanto para la generación de ión férrico como para la generación de inóculos de alta concentración bacteriana. El objetivo del presente trabajo es mejorar el entendimiento del mecanismo mediante el cual la presencia del carbón activado afecta los procesos de oxidación del ión ferroso. En particular, en este trabajo se evalúa por primera vez la influencia que el efecto químico del carbón activado sobre el ión férrico pueda tener en el proceso. El trabajo experimental se efectuó a 30 °C.

Experimentos preliminares en que se contactó medio basal MC, de composición igual a 0,4 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,056 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 0,4 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, a pH = 1.6 y 3 g/l de ión férrico con carbón activado, confirmaron que el ión férrico es parcialmente reducido a ión ferroso por la acción química del carbón. Estudios cinéticos conducidos con el mismo medio basal MC, pero con concentraciones de ión férrico en el rango entre 100 a 1200 mg/L, y con 0.2 g carbón en 100 ml de solución, demostraron que la cinética de reducción del ión férrico con carbón se rige por la expresión:

$$\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = \frac{7,68 \times 10^{-6} * ([\text{Fe}_{\text{total}}] - [\text{Fe}^{2+}]) * [\text{C}]}{1 + ([\text{Fe}^{2+}])^{3,369}}$$

Con : $k = 7,68 \times 10^{-6} \text{ [(mg/L)}^{-0,731} / \text{min}]$; $n = 3,369$

Los estudios de crecimiento bacteriano en presencia de carbón activado se efectuaron con 6,2 g/L de carbón, con una cepa pura de *Acidithiobacillus ferrooxidans* con concentración inicial de $2,9 \times 10^9$ [bact/L], en un medio basal MC a pH 1,6 que contenía una concentración inicial de 3 g/L de ión férrico, sin ión ferroso. El experimento se efectuó en un frasco agitado modificado que impedía el contacto directo entre los microorganismos y el carbón, de modo que el crecimiento bacteriano se pudo monitorear por conteo directo. El resultado de este experimento permitió constatar que, a pesar de no haber inicialmente ión ferroso, la población bacteriana después de 19 días creció hasta 4×10^{10} [bact/L]. En un experimento control efectuado en condiciones similares, pero sin agregar carbón, no se observó crecimiento durante el mismo período.

Los resultados de este estudio permitieron confirmar que en el proceso de oxidación bacteriana del ión ferroso con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en presencia de carbón activado, el carbón

contribuye adicionalmente al crecimiento bacteriano a través de la regeneración del ión ferroso por reducción química de ión férrico con el carbón.

El trabajo de simulación efectuado permitió demostrar, además, que la evolución de la población bacteriana, concentración de ión ferroso, ión férrico y Eh durante el proceso se puede describir adecuadamente en base a un modelo que describe la oxidación bacteriana del ión ferroso con una cinética tipo Monod que incluye el efecto inhibitorio del ión férrico y describe la reducción de ión férrico con la expresión cinética deducida en este trabajo.

El efecto químico del carbón activado sobre el ión férrico detectado en este estudio es un aspecto que no ha sido considerado en los artículos reportados hasta el momento en este tema.

El resultado de este estudio contribuirá entonces a aclarar las contradicciones entre los diferentes resultados reportados y posibilitará el estudio de la optimización del proceso sobre bases conceptuales más sólidas.

AGRADECIMIENTOS

Una vez realizado este trabajo, deseo agradecer a todos aquellos que me han ayudado en mi formación profesional y personal.

Agradezco al equipo del laboratorio de Biohidrometalurgia, por colaborar en la realización de esta memoria.

Al Sr. Tomás Vargas, mi profesor guía, por permitirme realizar una memoria que se ajustara a mis inquietudes, en todo momento estuvo ahí para dar el consejo necesario y la guía para poder llevar a buen término esta memoria, por el apoyo y buena disposición con que guió la realización de este trabajo.

A la Sra Blanca Escobar por las recomendaciones, por su apoyo en las presentaciones y por la buena disposición en la realización de mi memoria.

A Emma Fonseca, Raúl Córdoba, Poldie Oyarzún y a Verónica Gautier por la ayuda prestada durante la realización de la memoria.

A los académicos Jaques Wiertz, María Elena Lienqueo y Francisco Gracia, por las recomendaciones y ayuda prestada en el desarrollo de la memoria.

A mi familia por el apoyo que me dan todos los días y en todo lo que hago, en especial a mi madre, no tengo palabras para agradecer todo lo que ha hecho por mí, gracias a ella y a su formación soy la persona que estoy orgullosa de ser.

A mis amigos y compañeros de carrera por el desarrollo personal que me permitieron obtener. En especial quisiera agradecer a Paola Domínguez, Paulina Brusadelli, Jorge León, Yordi Peña y Enrique Sandoval, por sus valiosas opiniones que me ayudaron a mejorar esta memoria.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	INTRODUCCIÓN	1
1.2	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	2
1.2.1	LIXIVIACIÓN BACTERIANA	2
1.2.2	ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS	3
1.2.3	METABOLISMO BACTERIANO	4
1.2.4	OXIDACIÓN BACTERIANA DE IÓN FERROSO	4
1.2.5	CINÉTICA DE OXIDACIÓN	5
1.2.6	CINÉTICA DE ACCIÓN Y CRECIMIENTO BACTERIANO	5
1.2.7	MODELOS DE INHIBICIÓN POR PRODUCTO.	6
1.2.8	CARBÓN ACTIVADO	9
1.2.9	ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE OXIDACIÓN Y CRECIMIENTO BACTERIANO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO.	11
1.3	DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO Y JUSTIFICACIÓN	13
1.4	OBJETIVO	14
1.4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
1.5	ALCANCES	15

<u>CAPÍTULO 2</u>	<u>TRABAJO EXPERIMENTAL</u>	16
2.1	MATERIALES	16
2.2	METODOLOGÍA	16
<u>CAPÍTULO 3</u>	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	20
3.1	ESTUDIO DE LA REDUCCIÓN DE IÓN FÉRRICO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO.	20
3.1.1	RESULTADOS	20
3.1.2	DISCUSIÓN	21
3.2	ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE REDUCCIÓN DE IÓN FÉRRICO UTILIZANDO CARBÓN ACTIVADO.	22
3.2.1	RESULTADOS	23
3.2.2	DISCUSIONES	25
3.3	DESARROLLO DEL MODELO DE LA CINÉTICA DE REDUCCIÓN DE IÓN FÉRRICO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO.	26
3.3.1	PLANTEAMIENTO DE MODELOS	26
3.4	ESTUDIO DEL CRECIMIENTO BACTERIANO Y ACTIVIDAD OXIDATIVA DE SULFATO FERROSO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO	29
3.4.1	RESULTADOS	29
3.4.2	DISCUSIONES	33
3.5	DISCUSIÓN FINAL	35
3.6	SIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO Y ACTIVIDAD OXIDATIVA DE SULFATO FERROSO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO.	35
3.6	OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO.	40

<u>CAPÍTULO 4</u>	<u>CONCLUSIONES</u>	42
4.1	RECOMENDACIONES	43
4.2	PROYECCIONES	43
<u>CAPÍTULO 5</u>	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	44
<u>ANEXOS</u>		48
A.1	COMPARACIÓN ENTRE LOS DATOS EXPERIMENTALES Y EL MODELO AJUSTADO CAMBIANDO EN PASO DE TIEMPO	48
A.2	MÉTODO UTILIZADO PARA LA SIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO Y ACTIVIDAD OXIDATIVA DE SULFATO FERROSO EN PRESENCIA DE CARBÓN ACTIVADO.	49

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria del género *Acidithiobacilli* que tiene una habilidad para oxidar iones ferroso en soluciones de ácido sulfúrico obteniendo la energía necesaria para crecimiento y fijación de CO₂.

Acidithiobacillus ferrooxidans es útil principalmente para aplicaciones en la lixiviación de minerales debido a que esta bacteria puede oxidar sulfuros metálicos a sulfatos solubles en soluciones ácidas. La oxidación de materiales sulfurados es mediada por ión férrico el cual en la reacción es reducido químicamente a Fe²⁺ y reoxidado por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. De esta forma durante el proceso de biolixiviación, *Acidithiobacillus ferrooxidans* mantiene favorable la razón Fe³⁺ / Fe²⁺ el cuál se refleja en el relativamente alto potencial redox en la solución de lixiviación (Grishin y Tuovinen, 1988).

Estudios de ingeniería de procesos tienen como objetivo mejorar la velocidad de la biolixiviación, que es el principal factor que influye en la efectividad de los costos en los procesos industriales. La inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans* permite obtener concentraciones mayores y más estables de bacterias en un biorreactor, por lo cual se ha investigado el uso de numerosas matrices y portadores celulares. Los soportes que han sido investigados para la inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans* pueden clasificarse en dos grupos: materiales inertes (bolitas de cristal, arena, anillos de cristal, etc.) y materiales activos (carbón activado, resinas de intercambio iónico, etc.).

Se ha encontrado en la bibliografía que el carbón activado es ampliamente utilizado para realizar experiencias de crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en base a oxidación de ión ferroso. Sin embargo los resultados obtenidos hasta el momento son insuficientes y a veces hasta contradictorios.

Un mejor entendimiento de la forma en que el carbón influye en el sistema, ya sea positiva o negativamente, puede contribuir a optimizar el proceso. En este contexto el presente trabajo está dirigido a mejorar la comprensión de la interacción entre la reducción de ión férrico y oxidación de ión ferroso de modo de optimizar el crecimiento bacteriano.

1.2 Antecedentes Bibliográficos

1.2.1 Lixiviación Bacteriana

La biolixiviación es la disolución de metales por la acción de bacterias, desde minerales escasamente solubles, que puede ocurrir directamente por el metabolismo del propio microorganismo, o bien indirectamente por algún producto de su metabolismo.

Es posible que el metal de interés se encuentre encapsulado en especies sulfuradas o arsenicales, del tipo pirita, FeS_2 o de la arsenopirita, FeAsS , como en el caso de los minerales de oro refractario. En estos casos la acción bacteriana es requerida para lograr la oxidación, aunque sea solo parcial, de los concentrados encapsulantes.

Las bacterias que han sido usadas más comúnmente en la biolixiviación son del género *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, debido a que éstas son las bacterias que más comúnmente se encuentran en los procesos industriales y en las aguas de mina.

Al profundizar acerca de los mecanismos de lixiviación bacteriana, se puede decir que el mecanismo directo corresponde al que está mediado por la acción bacteriana y donde las reacciones químicas son catalizadas enzimáticamente. Este mecanismo supone un contacto físico entre los microorganismos y el mineral. La reacción química involucrada corresponde a la oxidación del mineral por un transporte de electrones desde la parte reducida del mineral, generalmente un sulfuro, al oxígeno disuelto.

El mecanismo indirecto, a su vez, considera la acción de los iones férricos sobre el mineral sulfurado disolviéndolo. A través de esta reacción se producen ión ferroso y que es reoxidado biológicamente a hierro férrico. Este mecanismo en principio no necesita de la adherencia de las células al sulfuro mineral.

Es posible encontrar gran cantidad de estudios que se han realizado y que permiten conocer más acerca del proceso de lixiviación bacteriana, sin embargo, en este proceso la tasa de disolución del cobre es extremadamente lenta. Por ejemplo, el cobre disuelto de un concentrado de la calcopirita es el 18% después de 30 días de biolixiviación. Se han hecho algunas tentativas de mejorar el índice de la disolución del cobre en biolixiviación del concentrado de la

calcopirita. Wan (1984) demostró que el índice de la disolución de la calcopirita en el sulfato férrico que lixiviaba era realizado por la formación de los agregados de calcopirita-carbón. Se sugirió que las partículas conductoras del carbón cambiarían la conductividad de la capa del producto de la reacción y da cuenta de un fenómeno para el aumento en la tasa de lixiviación.

1.2.2 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Algunas de las bacterias presentes en la lixiviación bacteriana, son oxidantes de hierro transformando el ión ferroso a ión férrico. En ausencia de estas bacterias la velocidad de oxidación es bastante más lenta, y experimenta un incremento del orden de 500 a un millón de veces en presencia de bacterias oxidantes de hierro, tales como las del género *Acidithiobacillus*, *Sulfolobus* y *Leptospirillum*. (Domic, 2001).

La bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, (Norris, 1990) es una bacteria gram negativa del género *thiobacilli*, con forma de bastón. Cuenta con un flagelo polar que le da motilidad en medios líquidos. Se reproduce por fisión binaria, no forma esporas.

Es acidófila, es decir capaz de vivir en medio ácidos, cuyo rango de pH va desde 1.4 a 6.0.

Es mesófila, es decir que puede vivir a temperaturas entre 20 y 35° C, ha sido aislada de los propios yacimientos mineros y está adaptada a algún mineral específico, tiene rapidez para adaptarse a otros elementos tóxicos.

Es aerobia y anaerobia facultativa, en ambiente aerobio utiliza oxígeno como aceptor de electrones y en condiciones anaerobias utiliza ión férrico como aceptor.

Es quimiolitótropa, esta bacteria es capaz de oxidar ión ferroso y compuestos reducidos de azufre en soluciones de ácido sulfúrico en presencia de oxígeno. La energía que se obtiene de la oxidación se usa para fijación de dióxido de carbono, crecimiento y mantenimiento celular.

Parámetros característicos de esta bacteria son (Pirovarova,1985):

Dimensiones, largo que va entre 0.9 y 1.5 [μm], ancho que va desde 0.5 y 0.8 [μm], peso seco entre 1.0×10^{-11} y 2.5×10^{-11} . Su composición química está compuesta por 48.7% carbono, 11.1% nitrógeno, 7.1% hidrógeno.

1.2.3 Metabolismo bacteriano

La bacteria utiliza rutas metabólicas que son comunes en organismos quimiolitótrofos. *Acidithiobacillus ferrooxidans* presenta el ciclo de Calvin para fijación de CO₂ y rutas para fijación de nitrógeno y fosfato. El ciclo de Calvin necesita de la formación de ATP y ADPH. Ambas moléculas energéticas son obtenidas para este caso a través de la oxidación de ión ferroso con oxígeno.

Existen dos semi-reacciones que están relacionadas para la oxidación de ión ferroso, estas son:



La bacteria no utiliza para su metabolismo al ión ferroso completo, solo utiliza un electrón ya que este ión no logra atravesar la pared celular, sin embargo a través de ella si pueden pasar protones, moléculas de agua y oxígeno. Aquí comienza el transporte desde el exterior cruzando la pared celular, el transportador recibe el electrón que ha obtenido del ión ferroso y se reduce, para luego oxidarse nuevamente y ceder el electrón al siguiente transportador de la pared celular. De esta manera el electrón va siendo transportado hasta llegar al citoplasma, donde encuentra el oxígeno que es el aceptor final del electrón. Este oxígeno se une a dos protones para formar una molécula de agua. Con el consiguiente consumo de protones a consecuencia de esto (Yamanaka,1995). Dentro de los transportadores que participan en este proceso se encuentran: Rusticianina, citocromo c y citocromo a.

1.2.4 Oxidación bacteriana de ión ferroso

Para el caso de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la oxidación bacteriana de ión ferroso ocurre a través de la siguiente reacción (Domic, 2001):



Se necesita oxidar 2 moles de ión ferroso para formar un mol de moléculas de adenosín-trifosfato (ATP) tal como sigue:



$$\Delta G = -7.8 \text{ Kcal/mol} \quad (6)$$

1.2.5 Cinética de Oxidación

La cinética de oxidación bacteriana del ión ferroso se puede expresar a través de la ecuación (a volumen cte.)(MacDonald,1970):

$$-\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = r_{\text{Fe}^{2+}} = \frac{\mu * N}{Y} \quad (7)$$

con: μ = Velocidad específica de crecimiento bacteriano [1/hr]

N= Número de bacterias/ unidad de volumen

Y=Coeficiente de rendimiento [células generadas / g hierro oxidado]

Expresando la biomasa como gramos de células, es posible encontrar valores de Y de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* entre 0.00625 g células/g Fe^{2+} y 1,33 g células/g Fe^{2+} .

Otra teoría, dada por Jones y Kelly (1983), incluye en esta ecuación un término correspondiente al mantenimiento. Se determinó que el consumo de Fe^{2+} debido al crecimiento celular es aproximadamente 20 veces mayor que el consumo correspondiente al mantenimiento. Por esta razón, este último no será considerado.

1.2.6 Cinética de acción y crecimiento bacteriano

La velocidad específica de crecimiento a su vez, es posible escribirla en función de la disponibilidad de sustrato. Para esto se recurre al siguiente desarrollo:



Aquí se tiene un mecanismo donde interviene una enzima E, que actúa con el sustrato S para

formar el producto P. De aquí en adelante se reemplazará el sustrato S como $[Fe^{2+}]$ y el producto P como $[Fe^{3+}]$

Con este mecanismo se llega a una cinética del tipo Michaelis-Menten y tomando S como el ión ferroso se tiene la siguiente expresión:

$$\mu = \mu_{Max} * \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe^{2+}] + K_m} \quad (10)$$

Aquí,

μ_{Max} = Velocidad máxima de crecimiento del organismo

K_m = Constante de Michaelis-Menten, cantidad de sustrato necesaria para alcanzar la mitad de la actividad máxima.

Este modelo se ajusta de forma adecuada a la oxidación de ión ferroso por parte de *Acidithiobacillus ferrooxidans* para aquellos procesos que operan en fase exponencial y donde no hay factores que puedan inhibir el crecimiento bacteriano, excepto el agotamiento del sustrato (Gomez, 2003). Sin embargo, existen condiciones en las cuales este modelo se aleja de lo que ocurre de forma experimental. Este es el caso de la variación de iones férrico y ferroso, pH, Eh, etc. Por esto es necesario realizar modificaciones al modelo para obtener una cinética adecuada.

1.2.7 Modelos de inhibición por producto.

Existen modelos que dan cuenta de la inhibición producida por producto, que interfiere con el crecimiento bacteriano de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y con la oxidación de ión ferroso. Distintos autores, postulan un modelo de inhibición competitiva, donde el producto utiliza el sitio activo de la enzima, bloqueando a esta enzima. La ecuación está dada por (Bailey J, 1986):

$$\mu = \mu_{Max} * \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe^{2+}] + K_{Fe^{2+}} * (1 + K_{Fe^{3+}} * [Fe^{3+}])} \quad (11)$$

con: $\mu_{Max} = 0,16 \text{ [h}^{-1}\text{]}$

$K_{Fe^{2+}} = 0,0073 \text{ [g/L]}$

$K_{Fe^{3+}} = 1,29 \text{ [L/g]}$

Otros autores, tales como Jones y Kelly (1983) han determinado modelos para la inhibición no competitiva por producto, donde el producto actúa sobre el complejo formado por la enzima y el sustrato, de forma reversible, produciendo un bloqueo temporal de la enzima pero no permanente, dado por:

$$\mu = \frac{\mu_{Max}}{\left(1 + \frac{[Fe^{3+}]}{K_{Fe^{3+}}}\right)} * \frac{[Fe^{2+}]}{K_{Fe^{2+}} + [Fe^{2+}]} \quad (12)$$

Por otro lado, Pagella (1996), aportan una expresión exponencial para la μ_{Max} haciendo que ésta sea dependiente de las concentraciones de sustrato y de producto.

$$\mu^*_{Max} = \mu_{Max} * \exp\left(\frac{-S}{K_{Si}} * \left(1 - \frac{P}{K_p}\right)\right) \quad (13)$$

Con:

$K_{Si} = 12 \text{ g/L de Fe(II)}$

$K_s/K_p = 0,939$

$\mu_{Max} = 0.227 \text{ h}^{-1}$

$K_s = \text{entre } 0,1 \text{ y } 0,6 \text{ g/L}$

Se tiene que a la formación de producto se le debe descontar la formación de jarositas y/o hidroxisulfatos férricos amorfos, dependiendo de la concentración de cationes monovalentes disponibles en el medio y del exceso de aniones de sulfato. Éstas corresponden a los precipitados férricos que tiene lugar durante y después de la oxidación del ión ferroso por la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Los estudios realizados en este tema (Olem, 1977) han dado como resultado que la precipitación de jarositas tiene una velocidad muy inferior a las velocidades de oxidación alcanzadas por el microorganismo.

1.2.7.8 Importancia del pH en la oxidación bacteriana de ión ferroso

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria acidófila, es decir capaz de vivir en medio ácidos, cuyo rango de pH va desde 1,4 a 6,0. Se sabe que esta bacteria mantiene un pH interno cercano a 6,5 por lo que cuenta con un sistema que le permite adaptarse a los cambios que se puedan producir en la acidez del medio externo. Se espera que exista un pH óptimo para la actividad oxidativa de ión ferroso, así que este pH no debe ser tan alto como para inhibir la actividad oxidativa por falta de protones y no tan bajo como para comprometer el metabolismo por excesiva acidez, ya que un pH menor a 1,2 genera una inhibición severa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Pesic (1993) realizó mediciones del efecto del pH sobre la actividad oxidativa de Fe^{2+} llegando a la conclusión de que la mayor actividad oxidativa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* se encuentra en el rango de pH que va desde 1,5 a 2,0.

Cuando se oxida sulfato ferroso bacteriamente se produce un aumento inicial de pH producto del consumo de protones en la oxidación. Este aumento de pH sumado a la presencia de ión férrico formado provoca una hidrólisis de ión férrico. Una reacción competitiva a la hidrólisis es la formación de hidroxisulfatos básicos de hierro (jarositas) (García, 1989).



La precipitación de jarositas es también una reacción generadora de ácido.



La precipitación de jarositas depende del pH y de la composición iónica y concentración de la solución. La formación de estos compuestos férricos puede tener un efecto adverso sobre los procesos de biolixiviación: disminuye la disponibilidad de ión férrico en solución, produce una barrera difusional a los sitios de reacción química. Debido a esto es necesario controlar la formación de jarositas.

La formación de jarositas se produce a pH tan bajos como 1,8 aunque la velocidad de formación es alrededor de 30 veces más lenta que la velocidad de oxidación bacteriana. Por lo tanto no presenta un efecto relevante en la velocidad de oxidación de ión ferroso o en la cinética de lixiviación bacteriana.

1.2.8 Carbón Activado

El carbón activado es un material natural que tiene una superficie específica de 500 a 1500 [m²/g]. Químicamente está compuesto por carbono, oxígeno, hidrógeno y cenizas.

Se obtiene de distintos materiales orgánicos como carbón vegetal, madera, hulla, turba, lignito, serrín, caña de azúcar, residuos celulósicos, hueso de aceituna, cáscara de coco, nueces, arroz, etc. Su fabricación puede hacerse por procesos físicos o químicos. En ambos casos, se incluye una etapa de carbonización y otra de activación. La carbonización es la transformación de la materia prima a carbón, mientras que la activación es el proceso de oxidación lenta del carbón resultante por medio del cual se forman millones de poros microscópicos, con un diámetro que va desde una millonésima a una diez millonésima de milímetro.

En la activación física, la carbonización se realiza normalmente en ausencia de oxígeno y a temperaturas menores a 700°C. Por su parte, la activación se realiza inyectando gases oxidantes como vapor de agua o anhídrido carbónico (CO₂) a temperaturas entre 800°C y 950°C. Estos compuestos crean el poro al oxidar parte de las moléculas de carbono. La activación química combina las etapas de carbonización y activación, a temperaturas de aproximadamente 500°C.

Dependiendo de si el proceso es de pulverización o granulación, el carbón activado puede ser en polvo (PAC), o carbón activado granular (GAC).

El carbón activado tuvo sus primeras aplicaciones en hidrometalurgia en procesos relacionados con la recuperación de oro del proceso de cloración. Luego se utilizó en el proceso de cianuración. En ambos casos el oro es recuperado del carbón cargado por la quema del carbón a cenizas y el oro es fundido en lingotes, proceso que es caro, por lo que fue reemplazado por otros procesos. Luego fue retomado el uso del carbón activado por la elusión de oro y plata adsorbidos en gránulos de carbón lo que permite una reutilización del carbón y la utilización de procesos de concentración-purificación. Esto permite una amplia gama de aplicaciones de esta tecnología.

Al comparar la adsorción de iones metálicos con carbón activado y las resinas de intercambio iónico se tiene que es favorable usualmente sólo para aniones y no para cationes. Para aumentar la capacidad adsorbente del carbón, éste es a veces pre-tratado con ácidos para impartir propiedades de intercambio iónico. Carbón sulfurado o carbón oxidado con ácido nítrico

están disponibles de forma comercial como intercambiadores catiónicos.

1.2.8.1. Propiedades del Carbón Activado

Reacción con iones metálicos

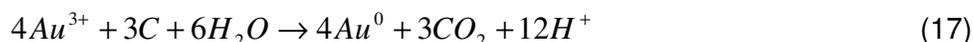
En ausencia de agentes acomplejantes a pH bajo, no hay sorción de iones metálicos. Cuando se tiene una solución neutra o levemente ácida de iones metálicos ($\text{pH} > 4$), tales como mercurio, cobre, cobalto, níquel o plomo, éstos son contactados con carbón activado, tiene lugar la sorción debido a precipitación, debido a que las suspensiones acuosas de carbón activado son usualmente alcalinas (H-Carbón). Un kilo de carbón puede absorber 2 g de iones metálicos. Esta es la base de la descontaminación de aguas que contienen iones metálicos con carbón activado.

Propiedades reductoras

EL carbón reduce fácilmente soluciones de sales de Au(III), Ag(I) y Hg(II) a los respectivos metales a temperatura ambiente. Por ejemplo:



Reacción completa:



Esta fue la base del proceso de recuperación de oro de una solución de lixiviación clorada. Soluciones ácidas de $KMnO_4$ son decoloradas por carbón, y MnO_2 es precipitado. Cromato de potasio es también reducido. (Habashi, 1993)

Otras propiedades

Algunos tipos de carbón activado tienen propiedades oxidativas. Por ejemplo, liberan yodo de soluciones acidificadas de yoduro de potasio. Esto ha sido atribuido a la presencia de peróxido

de hidrógeno cuando el carbón está inmerso en solución. Reacciones de adición pueden tomar lugar en las cuales 2 átomos son adicionados a una doble cadena. El tratamiento de carbón con gas hidrógeno a 150-200°C desarrolla una cantidad apreciable de superficie ácida. Reacciones de sustitución toman lugar cuando el carbón es calentado en vapor de cloruro, se producen considerables cantidades de HCL y el carbón resultante contiene cloruro adsorbido.

El carbón activado es semi-conductor, aunque esta propiedad se pierde gradualmente si el carbón es calentado a temperaturas que excedan 600-700°C. Un carbón preparado a 3000°C se convierte en un conductor metálico como el grafito. La fuerza mecánica del carbón aumenta cuando es preparado sobre los 700°C.

1.2.9 Estudios realizados sobre oxidación y crecimiento bacteriano en presencia de carbón activado.

La densidad celular en cultivos de *Acidithiobacillus ferrooxidans* es baja ya que es quimiolitotrofo y crece lentamente, por lo que es difícil producir iones férricos rápidamente. Soportes para inmovilización pueden proveer una gran área superficial para la adsorción bacteriana y permiten la formación del biofilm. Este biofilm aumenta la biomasa en el reactor debido a que con esto se reduce el lavado celular, e incrementa la tasa de oxidación de ión ferroso (Liu, 2003).

La inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans* da como resultado concentraciones mayores y más estables de bacterias en un biorreactor, por lo cual numerosas matrices y soportes celulares hayan sido investigados. El carbón activado tiene marcadas ventajas frente a otros soportes. Se revisan aquí los estudios de crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* efectuados con este material.

Kai et. al. (1990) realizaron cultivos de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en frascos agitados con y sin aireación, como también con columnas de aireación forzada en presencia de carbón activado. De sus resultados en frascos con aireación infirieron que el carbón activado incrementa la tasa inicial de oxidación, pero luego de un tiempo, la reacción decrece posiblemente debido a que la tasa de reacción depende de la concentración de hierro ferroso y que precipitados tales como jarositas (hidroxisulfatos básicos de hierro), son depositados en los poros del carbón activado. También realizaron experiencias en columnas con aireación forzada; en este caso observaron que el carbón activado aumenta la tasa de oxidación.

Por otra parte, Zhou et. al. (2006), estudiaron la inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y la producción de ión férrico, obteniendo que dentro de los soportes estudiados el carbón activado reportó la producción del ión férrico más rápida en cultivos batch. En cultivos continuos se reportó una producción de ión férrico 4,61 veces mayor en comparación con cultivos de células en suspensión.

Loi et.al. (1992) realizaron estudios sobre la influencia de algunos materiales particulados utilizados como soporte, sobre la actividad oxidativa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* frente a pirita. Se utilizaron tres tipos de carbón activado, tipo RS¹ para microanálisis, tipo RS para Cromatografía y tipo RPE un carbón para decoloración como soportes. Encontraron que para los 3 tipos de carbón la biolixiviación de la pirita fue insignificante, dado que prácticamente no hubo conversión de Fe²⁺ a Fe³⁺. Sin embargo, se afirma que la alta porosidad del carbón activado actúa sólo aparentemente como un inhibidor ya que probablemente secuestra muchas de las células inmovilizándolas impidiendo que éstas entren en contacto con la suspensión de pirita, por lo que la solubilización es drásticamente reducida.

Nakazawa et.al. (1998), estudiaron el efecto del carbón activado en la biolixiviación de calcopirita y observaron que el potencial redox es menor con la adición de una mayor cantidad de carbón activado y que puede ser atribuido a la existencia de hierro ferroso. El pH aumenta con la biolixiviación lo que es coincidente con la oxidación de ión ferroso a férrico por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. La oxidación de ión ferroso se vio retrasada por la adición de 0,5 g de carbón activado y aparentemente se inhibió la oxidación de ión ferroso por *Acidithiobacillus ferrooxidans* con la adición de altas cantidades de carbón activado. También se propone que el carbón activado podría formar una unión galvánica en contacto con la calcopirita, produciéndose una disolución anódica de calcopirita y esfalerita y una reducción catódica de oxígeno en la superficie del carbón activado.

En su estudio, Ginsburg y Karamaev (2007) observaron que existe un aumento en la inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en fibras de carbón activado cuando el inóculo es expuesto a preparaciones con grandes áreas superficiales por gramo.

Por último, Nemati et. al. (1999) estudiaron la oxidación biológica y química del sulfato ferroso usando *Acidithiobacillus ferrooxidans* inmovilizado. Tomaron como punto de partida estudios

¹ Las siglas RS y RPE indican especificaciones de calidad.

previos que han reportado el efecto de la oxidación biológica de sulfato ferroso, utilizando un soporte inerte. Conociendo lo anterior, estudiaron el sistema usando carbón activado, material que no es inerte, por lo que tendría una influencia en la actividad oxidativa de sulfato ferroso del sistema. En su estudio concluyeron que para concentraciones entre 5 y 10 Kg/m³, la utilización de carbón activado no ofrece una ventaja significativa a la tasa de oxidación de sulfato ferroso. Para concentraciones mayores de sulfato ferroso, la utilización de carbón activado da como resultado un aumento marcado de la tasa de oxidación. Se registró que la mayor tasa de oxidación de sulfato ferroso utilizando carbón activado como soporte para el cultivo bacteriano fue dos veces mayor a la oxidación sólo biológica.

1.3 Descripción del Proyecto y Justificación

Se han realizado bastantes estudios referidos la actividad oxidativa y crecimiento de la bacteria *A. ferrooxidans* inmovilizado en carbón activado. Sin embargo, la influencia que puede tener el soporte utilizado para estos estudios en la oxidación de sulfato ferroso, no ha sido determinada de forma adecuada. Esto es porque el carbón activado ha sido principalmente considerado como un aporte solo debido a su área superficial, mientras que su influencia en términos de oxidación de ión ferroso ha sido desplazada a un nivel secundario.

En la sección anterior se reportan los casos donde sí se ha estudiado la influencia del carbón activado de acuerdo a sus propiedades catalíticas. Autores como Kai (1990), G Loi (1993), Nakazawa (1998) y Nemati (1999) afirman que existe una disminución en la tasa de oxidación de hierro ferroso al agregar carbón activado. Nakazawa (1998) habla además de una disminución en el potencial redox. Estos autores obtienen los mismos resultados, sin embargo sus experimentos se realizaron de tal forma que cualquier efecto reductor del carbón activado sobre el ión ferroso queda encubierto, impidiéndoles llegar a conclusiones acertadas sobre el por qué de la disminución en la tasa de oxidación de iones Fe²⁺. Por esta misma razón solo presentan sugerencias sobre las posibles causas que dan lugar a esos resultados.

Por otro lado Zhou (2006), en su estudio de la inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y la producción de ión férrico, reportó una mayor tasa oxidación de ión ferroso comparada con otros soportes, hecho que sería contradictorio con Kai (1990), Nakazawa (1998), Loi (1993) y Nemati (1999). Zhou (2006), realizó la comparación entre distintos soportes.

Nemati (1999) afirma que el carbón activado tendría un efecto inhibitor sobre la oxidación de

hierro. Esta inhibición que plantea Nemati (1999) podría ser sólo aparente, ya que el carbón activado podría estar actuando como un reductor de ión férrico, lo que permitiría regenerar el sustrato aumentando la población celular, que a su vez oxidaría aún más ión ferroso.

De las contradicciones reportadas y de la falta de claridad en los resultados obtenidos como producto del procedimiento experimental, surge la necesidad de aclarar cual es el efecto catalítico del carbón activado utilizado como soporte para el cultivo celular de *A. ferrooxidans*. Por lo tanto, se pretende estudiar el efecto reductor del carbón activado sobre los iones férricos en solución y evaluar el efecto de esta reacción sobre el crecimiento bacteriano.

1.4 Objetivo

El objetivo del presente estudio es mejorar el entendimiento del mecanismo mediante el cual la presencia del carbón activado afecta los procesos de oxidación del ión ferroso.

1.4.1 Objetivos Específicos

- Estudiar el comportamiento reductor del ión férrico en presencia de carbón activado, cuantificando la velocidad de generación de ión ferroso.
- Determinar la velocidad específica de oxidación y crecimiento bacteriano de *A. ferrooxidans* en presencia de carbón activado.
- Modelar el proceso de oxidación y crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en presencia de carbón activado
- Determinar las condiciones óptimas de crecimiento bacteriano y de generación de ión ferroso en presencia de carbón activado.

1.5 Alcances

El proyecto pretende determinar la cinética de producción de ión ferroso por parte del carbón activado y determinar la cinética de crecimiento bacteriano considerando la generación de ión ferroso.

Para esto se realizarán experiencia a escala de laboratorio en matraces, a fin de obtener los parámetros necesarios para determinar las cinéticas objetivo.

CAPÍTULO 2 TRABAJO EXPERIMENTAL

2.1 Materiales

Solución de sulfato ferroso al 33% p/v

Solución de sulfato férrico, 3 g/L

Solución de sulfato férrico 0,04 g/L

MC pH 1,6 estéril y no-estéril de composición igual a 0,4 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,056 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 0,4 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Cepa bacteriana *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Cultivada en medio MC 1.6

Carbón activado marca merck.

2.2 Metodología

Para la determinación preliminar de producción de ión ferroso por parte del carbón activado, se realizaron pruebas donde se tuvo sólo carbón activado en presencia de ión férrico en un medio ácido. Se utilizó un medidor de Eh para determinar la concentración de ión ferroso utilizando además la ecuación de Nernst. Además se controló el pH con un medidor de pH

Para la determinación del crecimiento bacteriano se realizó un cultivo en presencia de ión ferroso, se medirá el pH, Eh, determinación de Fe total y Fe^{+2} utilizando técnicas colorimétricas y un espectrofotómetro, recuento bacteriano en solución utilizando una cámara de Neubauer,

Para determinar los modelos matemáticos se utilizarán programas computacionales, tales como Matlab u otro afín.

A continuación se detalla paso a paso la metodología antes resumida.

2.2.1 Preparación del carbón a utilizar.

El carbón activado se caracteriza por tener una gran área superficial, por lo que es comúnmente usado para filtrar. Sin embargo, para este estudio las partículas de menor tamaño entorpecen el funcionamiento adecuado del sistema ideado para monitorear el crecimiento bacteriano.

Además debido a su gran área dificulta la observación al microscopio de las bacterias en solución ya que estas tienden a adherirse al carbón. Para poder utilizar el carbón activado, éste se debe tamizar a fin de eliminar esas partículas muy pequeñas y de esta manera poder separar el carbón de las bacterias a través de una membrana.

Se tamizó el carbón en seco. Para lo cual se utilizaron 2 tamices de 106 μm y 53 μm . A continuación los tamices fueron bañados en agua desionizada, para facilitar la eliminación del carbón fino. Se implementó un sistema de tamizado al vacío donde se utiliza un kitasato con un embudo de decantación al vacío, al cual se le adicionó el sistema de tamices. Para poder crear el vacío se aisló el sistema con parafilm. Se lavó con agua destilada hasta logra que las partículas desprendidas del tamiz más fino sean mayores a 0,22 μm . No fue posible eliminar todas las partículas más pequeñas que 53 μm debido a las características hidrofóbicas parciales del carbón activado.

Finalmente, el carbón se depositó en un vidrio reloj y se dejó secar en una estufa a 30°C por 3 días, y se monitoreó el peso hasta que el peso se mantuvo constante.

2.2.2 Estudio del poder reductor del carbón activado sobre el ión férrico.

Se utilizaron 2 matraces de 250 ml de capacidad a los cuales se agregó 100 ml solución de sulfato férrico 3 g/L en MC pH 1,6 de composición igual a 0,4 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,056 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 0,4 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Se midió tanto el pH como el Eh inicial, se tomó además una muestra de 0,5 ml para realizar análisis de fierro total y de ión Fe^{+2} . A estos matraces se les agregó 0,0651 g de carbón activado de tamaño entre 106 y 53 μm . Se dejó en un agitador ambiental a 30 °C, monitoreando día por medio aproximadamente el pH y el Eh de la solución. Además se tomaron muestras de solución a fin de determinar fierro total y de ión Fe^{+2} a través del tiempo.

2.2.3 Estudio de la cinética de reducción del sulfato férrico en presencia de carbón activado.

Se realizaron 4 experiencias de 1 hora de duración cada una, en cada experiencia se contó con dos matraces de 250 ml de capacidad, a los cuales se les agregó 100 ml de solución y 0,02 g de carbón activado de tamaño entre 106 y 53 μm . En cada experiencia se varió la cantidad de sulfato férrico agregada, a la primera experiencia se le agregó MC pH 1,6 de composición igual

a 0,4 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,056 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 0,4 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y a una concentración inicial de 0,3 g/L de sulfato férrico. Luego esta concentración varió entre 0,1 y 1,2 g/L . Se monitoreó cada 10 minutos el pH y el Eh de la solución tomando muestras de solución que se filtraron para poder frenar la reacción, además se determinó fierro total y de ión Fe^{+2} a través del tiempo.

Meruane (2002) determinó una curva de calibración del electrodo de Eh, para lo cual realizó mediciones de Eh en soluciones preparadas con distinta razón férrico/ferroso, a una temperatura constante de operación a pH=1,8. Con esos datos se obtuvo la ecuación de Nernst adaptada al medio basal, para una solución férrico/ferroso:

$$Eh = 0,671 + 0,0579 * \log\left(\frac{[\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Fe}^{2+}]}\right) \quad (18)$$

Se utilizó esta curva de calibración para expresar los datos experimentales de Eh en términos de concentración de férrico y ferroso de las muestras y se comparó con las concentraciones obtenidas experimentalmente

2.2.4 Estudio del crecimiento bacteriano y actividad oxidativa de sulfato ferroso en presencia de carbón activado

Se utilizaron 2 matraces de 250 ml de capacidad de boca ancha que cuentan con un tubo de polipropileno de alta densidad con una base de PVC que se ajusta al cuello de cada matraz al cual se le agregó un filtro de papel de 0,22 μm de tamaño de poro. Dentro de estos tubos se agregó 0,2 g de carbón activado de tamaño entre 106 y 53 μm . En el exterior del tubo se agregó una solución de sulfato férrico 3 g/L en MC pH 1,6 de composición igual a 0,4 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,056 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 0,4 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 ml/L de esta solución y se inoculó con alrededor de 10^9 [bacterias/L]. Se midió tanto el pH como el Eh inicial, se tomó además una muestra de 0,5 ml para realizar análisis de fierro total y de ión Fe^{+2} . Se dejó en un agitador ambiental a 30 °C, monitoreando aproximadamente día por medio el pH y el Eh de la solución. Además se tomaron muestras de solución a fin de determinar fierro total y de ión Fe^{+2} a través del tiempo y se realizó un conteo directo del número de bacterias en solución. Luego de un tiempo se agregó aún más carbón activado 0,42 g más de carbón activado. En total se agregó 0,62 g de carbón activado en cada copia.

La figura 1 muestra el esquema consistente en un matraz que contiene solución de sulfato férrico en medio basal de concentración de hierro [3 g/L], que tiene dentro un tubo de poliestireno de alta densidad parcialmente sumergido en la solución, el interior del tubo tiene una membrana de tamaño de poro de 0,22 micrones. Se otro extremo del tubo se coloca un algodón a fin de mantener un ambiente estéril. Se le agregó además un inóculo de bacterias de población inicial igual a $2,88 \times 10^9$ [cel/L], fuera del tubo.

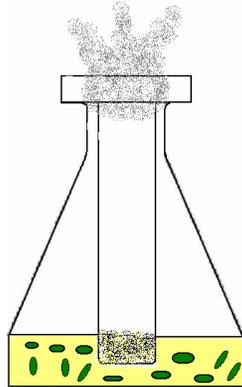


Figura 1: Montaje de la experiencia consistente en estudio del crecimiento bacteriano y actividad oxidativa de sulfato ferroso en presencia de carbón activado.

La figura 2 muestra el detalle de lo ocurrido en la experiencia, el carbón entra en contacto con los iones férricos presentes en solución y estos iones son reducidos, luego estos iones traspasan la membrana hasta entrar en contacto con las células, donde son reducidos nuevamente a ión férrico completando un ciclo.

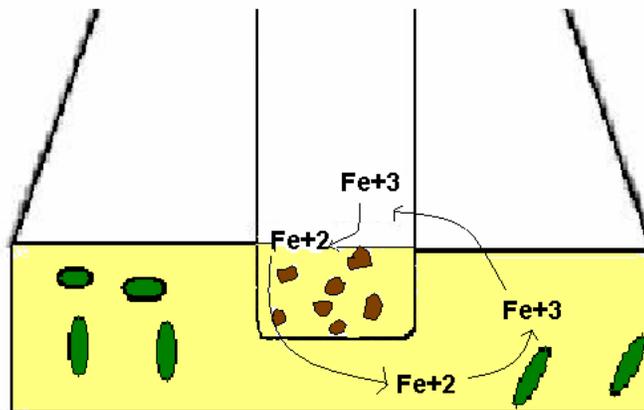


Figura 2: Montaje de la experiencia consistente en estudio del crecimiento bacteriano y actividad oxidativa de sulfato ferroso en presencia de carbón activado.

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudio de la reducción de ión férrico en presencia de carbón activado.

El estudio del comportamiento de sulfato férrico en presencia de carbón activado se realizó para determinar el efecto reductor que produce sobre los iones Fe^{3+} el carbón activado a través del tiempo.

Se realizó una prueba con 2952 mg de sulfato férrico disuelto en MC pH=1,6 al cual se le agrega 0,065 g de carbón activado, dispuesto en matraz agitado durante 3 días.

3.1.1 Resultados

Los resultados se muestran en las figuras 3, 4 y 5. En la figura 3 se notó una reacción muy rápida, ya que los valores del potencial de óxido reducción bajaron antes e inmediatamente después de agregar el carbón activado. En la figura 4 se aprecia una generación de sulfato ferroso a medida que hay una disminución de sulfato férrico. Mientras que en la figura 5 se observa un aumento del pH que inicialmente se encontraba alrededor de 1,5 a 1,8.

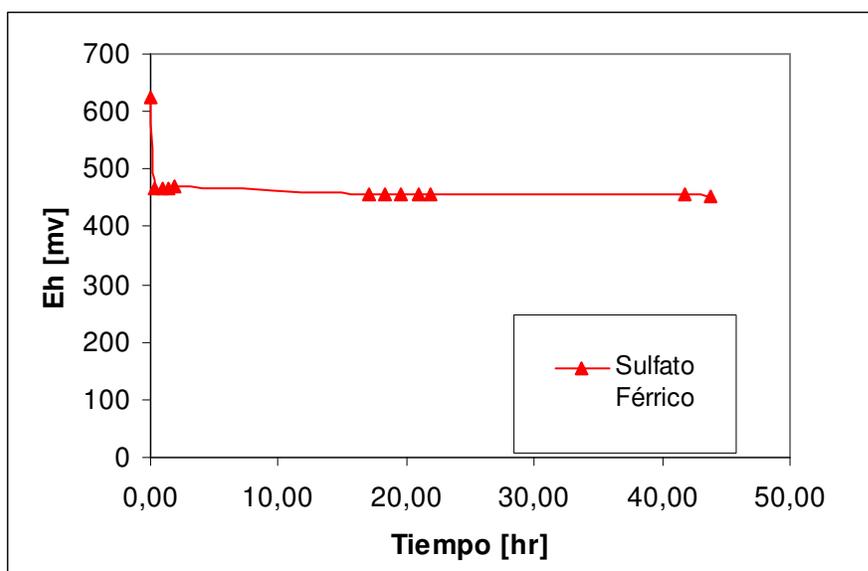


Figura 3: Curva de potencial óxido-reducción para un sistema de sulfato férrico en presencia de carbón activado.

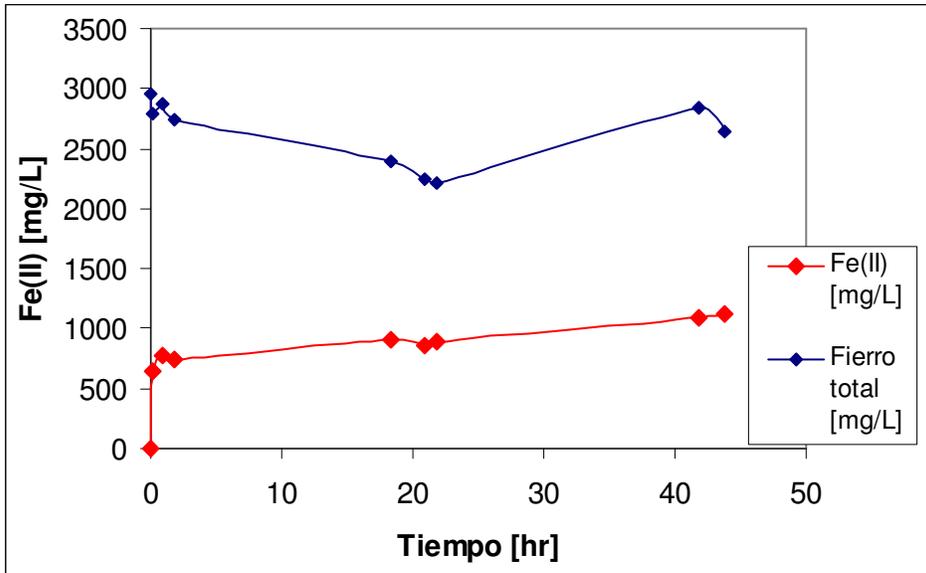


Figura 4: Concentración de ión Fe(II) y fierro total a través del tiempo en presencia de carbón activado.

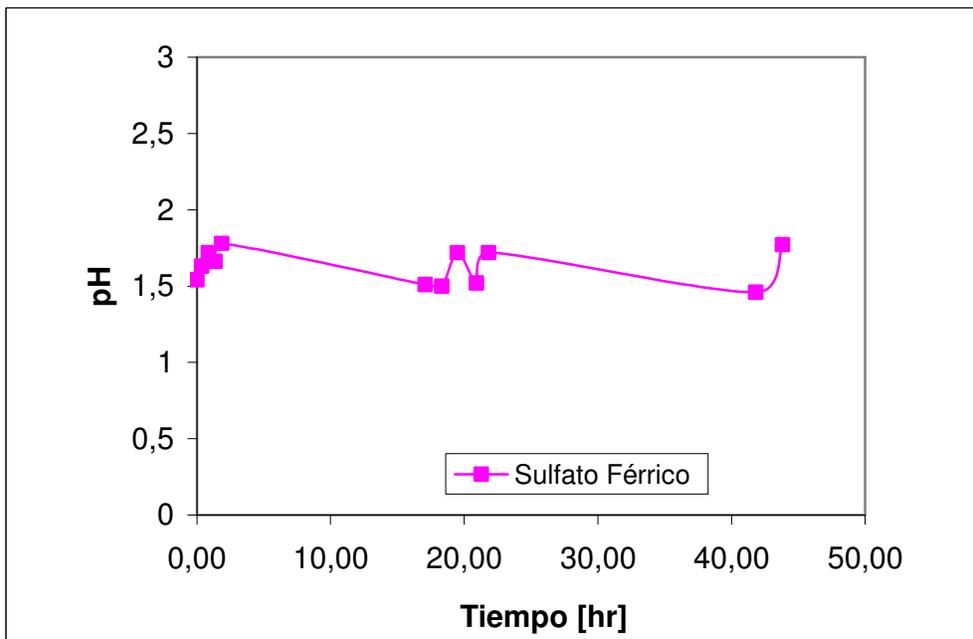


Figura 5: Curva de pH para un sistema de sulfato férrico en presencia de carbón activado.

3.1.2 Discusión

El potencial redox concuerda con la generación de ión ferroso de forma teórica ya que el potencial se puede expresar por medio de la ecuación de Nernst, que para el caso de una

solución de sulfato férrico la ecuación queda:

$$E = 0,771 + 0.059 \cdot \ln(\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}) \quad (19)$$

La disminución del potencial redox observado antes e inmediatamente después de agregar el carbón activado concuerda con la generación de iones Fe^{2+} observada por el método de determinación de Fe^{2+} y hierro total de la orto-fenantrolina.

Se descarta una contaminación de los experimentos con iones Fe^{2+} ya que previo a llevar a cabo las experiencias se determinó la cantidad de iones ferroso que contiene la solución preparada, y se notó que la generación de iones Fe^{2+} es proporcional a la cantidad de iones Fe^{3+} en solución y corresponde al 30% de la concentración inicial de sulfato férrico.

Tal como se aprecia en la figura 4, se notó una leve disminución del hierro total, posiblemente debido a la adsorción del hierro en la superficie del carbón activado. Esta disminución del hierro total aumenta cuando aumentan las concentraciones de carbón activado. Luego de un tiempo se nota una desorción de hierro por lo que el hierro total aumenta con respecto a lo observado inmediatamente después de agregar el carbón activado a la solución de sulfato férrico. Se descarta la pérdida de hierro por manipulación durante el experimento debido a que en todas las pruebas realizadas con las concentraciones de sulfato férrico antes mencionadas y con la cantidad de carbón activado agregado se observó el mismo efecto.

En el gráfico de la figura 5 se observa un aumento del pH, el que inicialmente se encontraba alrededor de 1,5 a 1,8. Sin embargo, este aumento no llega a niveles que puedan resultar un problema para el crecimiento, ya que se sabe que el pH óptimo para el cultivo de *Acidithiobacillus ferrooxidans* va entre 1,5 y 2,0 (Pescic, 1993). Por otra parte, este aumento de pH puede propiciar la formación de jarositas, ya que la precipitación de jarositas puede producirse a pH tan bajos como 1,8. Sin embargo esta formación de jarositas, aunque se produzca no afecta de manera significativa a la cinética de oxidación ni al crecimiento bacteriano por lo que este factor ha sido tomado en cuenta en las experiencias.

3.2 Estudio de la cinética de reducción de ión férrico utilizando carbón activado.

El estudio de la cinética de reducción de ión ferroso por parte del carbón activado, tuvo por

objetivo determinar un modelo que describa lo observado durante estas experiencias. Fue llevado a cabo realizando experimentos que mantuvieron constante la cantidad de carbón activado utilizado y variaron las concentraciones de sulfato férrico en cada experiencia. Se midió Eh, pH, hierro total y Fe^{2+} de muestras tomadas cada una hora aproximadamente.

3.2.1 Resultados

En la figura 6 se muestra la variación de Eh en el tiempo para cada uno de los experimentos a diferente concentración de Fe^{3+} inicial. Se observa que aún cuando los reactivos se encuentran diluidos, se registra una generación de iones ferrosos, con una generación brusca al inicio de la reacción que luego se comienza a estabilizar. Se tiene que la velocidad de reacción es inversamente proporcional a la concentración de ión ferroso. Aquí se nota un descenso en el potencial redox, que da cuenta de la generación de iones ferrosos, esta reacción comienza siendo muy rápida y con el tiempo se va volviendo más lenta.

Se puede observar del gráfico de la figura 7, las curvas obtenidas no tienen una forma estable. La curva de menor concentración presenta fuentes de error mayor que la demás ya que el método de por el cual se obtuvo las concentraciones de ión ferroso aumenta el error a medida que la concentración de hierro es menor. También se observa que para el caso de la curva de mayor concentración inicial de sulfato ferroso los valores obtenidos en la curva no presentan las mismas características que las demás curvas.

En la figura 8 cada curva representa una experiencia realizada, con una concentración inicial de 100, 300, 600, 700, 1000, 1200 mg/L de sulfato férrico.

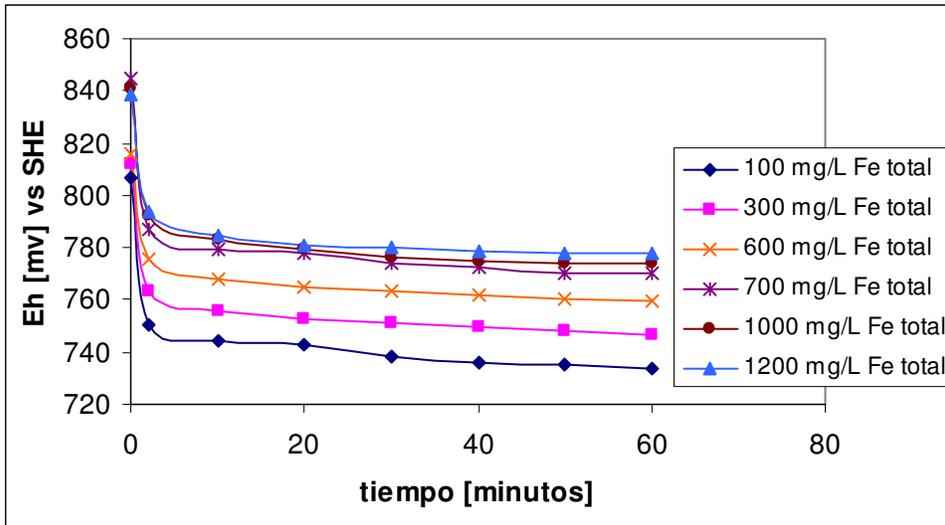


Figura 6: Curva de Potencial redox versus SHE para distintas soluciones de sulfato férrico en presencia de Carbón Activado.

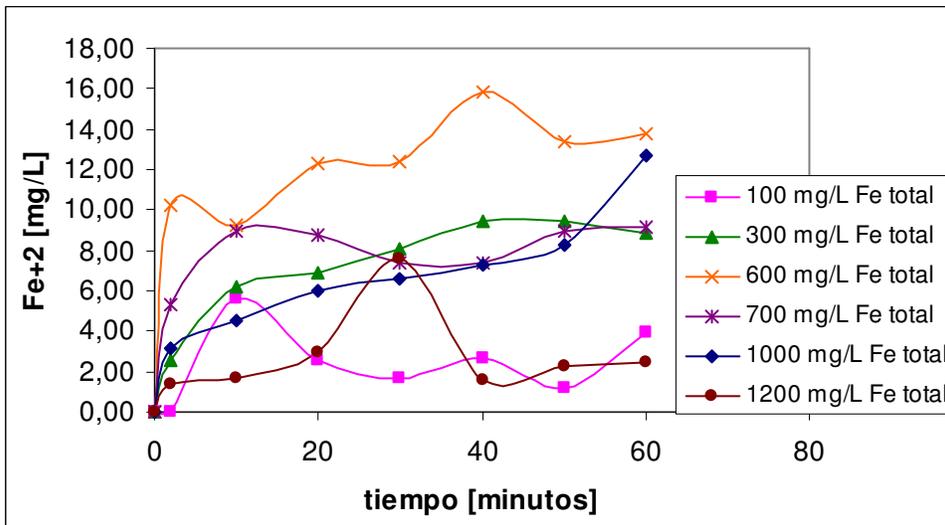


Figura 7: Curva de ión ferroso en función del tiempo para distintas soluciones de ión férrico en presencia de carbón activado.

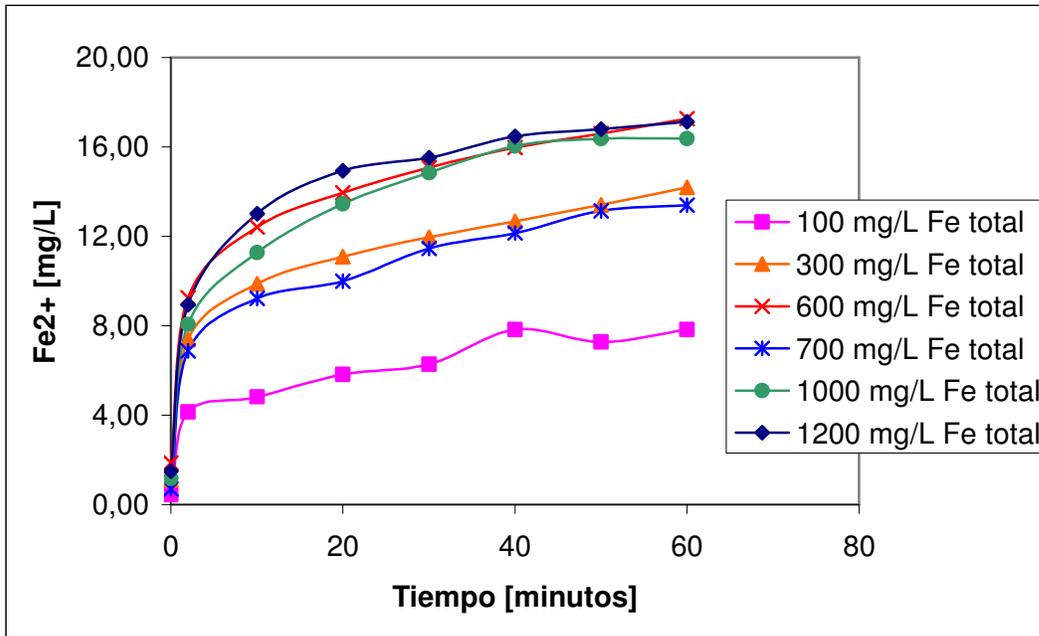


Figura N°8: Curva de ión ferroso en función del tiempo para distintas soluciones de sulfato férrico en presencia de carbón activado.

3.2.2 Discusiones

La figura 8 muestra que a mayor cantidad de sulfato férrico inicial, mayor será la tasa de generación de ión ferroso para un tiempo determinado. De aquí se puede ver que la concentración que da como resultado una mayor cantidad de ión ferroso al cabo de una hora es de 600 mg/L.

De los resultados en figuras 6, 7 y 8 se puede corroborar la tendencia observada en la sección anterior donde se observó la generación de ión ferroso, aunque en estos experimentos la velocidad de reacción es considerablemente más lenta debido al menor valor de concentración de ión férrico. Se aplicó factores de dilución que van desde 2,5 a 30 veces con respecto a las concentraciones iniciales mientras que el carbón activado utilizado bajó desde 0,065 a 0,02 gr. Con estas bajas concentraciones fue posible encontrar y cuantificar la generación de ión ferroso en el tiempo.

Además, este comportamiento da cuenta de una dependencia de la razón existente ente las concentraciones de iones férrico y ferroso, que deberá ser considerada en lo posible en el modelo a proponer.

Como se puede observar del gráfico de la figura 7, para el caso de la curva de mayor concentración inicial de ión ferroso los valores obtenidos en la curva no presentan las mismas características que las demás curvas. Esto podría deberse a que el carbón activado que se ha mantenido constante en todas las experiencias se sature con los iones férricos en solución, lo que disminuiría la tasa de generación de ión ferroso.

3.3 Desarrollo del Modelo de la Cinética de Reducción de Ión Férrico en presencia de Carbón activado.

Para la obtención del modelo cinético de reducción de ión férrico utilizando carbón activado, fueron propuestos modelos que se ajusten a los datos experimentales, a la vez que satisfagan las condiciones observadas en el estudio de la cinética de reducción de ión ferroso por parte del carbón activado.

3.3.1 Planteamiento de Modelos

De la sección anterior, que corresponde al estudio de la cinética de reducción de ión ferroso por parte del carbón activado, se destaca:

- La enorme tasa de formación inicial de ión ferroso que luego disminuye, sin haberse consumido todo el ión férrico disponible.
- La dependencia de la cinética de las concentraciones de iones férrico y ferroso en solución.

Para describir la reducción de ión férrico sobre carbón activado se tomó como base la ecuación propuesta por Hansford y Vargas (2001),

$$\xi_{Fe^{2+}} = \frac{-r_{Fe^{2+}}}{\alpha[FeS_2]} = \frac{\xi_{Fe^{2+}}^{\max}}{1 + B \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe^{3+}]}} \quad (20)$$

Tomando como base este modelo, se evaluó para describir el sistema en estudio por los siguientes modelos alternativos:

$$\bullet \quad \frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = k * ([Fe^{2+}])^n \quad (21)$$

$$\bullet \quad \frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{k([Fe_{total}] - [Fe^{2+}])}{1 + ([Fe^{2+}])^n} \quad (22)$$

$$\bullet \quad \frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{k([Fe_{total}] - [Fe^{2+}])^n}{1 + ([Fe^{2+}])^n} \quad (23)$$

Para la obtención del modelo cinético de reducción de ión férrico utilizando carbón activado, se utilizó el programa computacional llamado Matlab R2006a, específicamente una herramienta llamada “curve fitting” que se encuentra en toolboxes.

Se le entregó a este programa los datos obtenidos de la parte experimental, dispuestos como tasa de reducción de ión férrico en el tiempo versus la concentración de ión férrico tal como se muestra en la figura 9. Cada curva representa una experiencia realizada, con una concentración inicial de 100, 300, 600, 700, 1000, 1200 mg/L de sulfato férrico.

:

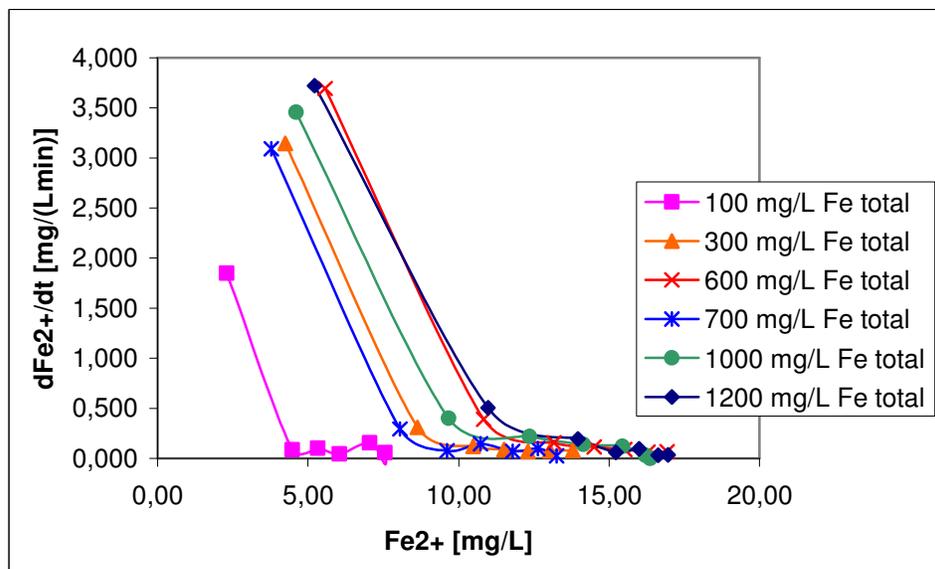


Figura 9: Tasa de generación de ión ferroso versus concentración de ión ferroso para distintas soluciones de sulfato férrico en presencia de carbón activado.

El ajuste fue realizado utilizando el modelo de mínimos cuadrados no lineal. El algoritmo utilizado fue del intervalo de confianza.

Con estas curvas, se realiza un ajuste proponiendo los siguientes modelos cinéticos, obtenidos como una adaptación de modelos encontrados en la bibliografía consultada:

Tabla 2: Resumen de los modelos que mejor se ajustan a las curvas cinéticas.

Modelo	Coeficientes (con 95% intervalo de confianza):	
	k	n
$d[Fe^{2+}]/dt = k*[Fe^{2+}]^n*[C]$	417,6 (301,9; 533,3)	-3,384 (-3,574; -3,194)
$d[Fe^{2+}]/dt = k*(Fe_{total}-Fe^{2+})*[C]/(1+((Fe^{2+})^n))$	1,392 (1,017; 1,768)	3,369 (3,182; 3,555)
$d[Fe^{2+}]/dt = k*(Fe_{total}-Fe^{2+})^n*[C]/(1+(Fe^{2+})^n)$	$2,451e^{-6}$ ($5,763e^{-7}$; $4,326e^{-6}$)	3,315 (3,135; 3,495)

Tabla 3: Bondad de ajuste de los modelos que mejor se ajustan a las curvas cinéticas.

Modelo	Bondad de ajuste			
	SSE	R-raíz	R-raíz ajustada	RMSE
$d[Fe^{2+}]/dt = a*[Fe^{2+}]^n*[C]$	0,002408	0,9997	0,9996	0,02195
$d[Fe^{2+}]/dt = k*(Fe_{total}-Fe^{2+})*[C]/(1+((Fe^{2+})^n))$	0,002367	0,9997	0,9996	0,02176
$d[Fe^{2+}]/dt = k*(Fe_{total}-Fe^{2+})^n*[C]/(1+(Fe^{2+})^n)$	0,002314	0,9997	0,9996	0,02151

Donde:

SSE (suma del error cuadrático): Este valor estadístico mide la desviación entre los valores ajustados y los valores experimentales. Un valor más cercano a 0 indica un ajuste mejor.

R-cuadrado (el coeficiente de determinación múltiple): Este valor estadístico mide cuán acertado es el ajuste. Un valor más cercano a 1 indica un ajuste mejor.

R-cuadrado ajustado (el grado de libertad del R-cuadrado ajustado): Es generalmente el mejor indicador de la calidad apta cuando se tienen coeficientes adicionales al modelo. Un valor más cercano a 1 indica un ajuste mejor.

RMSE (El error cuadrático medio). Un valor más cercano a 0 indica un ajuste mejor.

Para los modelos, k está dado por:

$$k_1 = \frac{(mg/L)^{0,228}}{\min} ; k_2 = \frac{(mg/L)^{-0,731}}{\min} ; k_3 = \frac{(mg/L)^{-1}}{\min}$$

Donde k_1 , k_2 y k_3 corresponden a los modelos 1, 2 y 3 respectivamente.

Luego de los resultados en tablas 2 y 3 se puede concluir que los tres modelos permiten obtener una adecuada descripción de la cinética de reducción del ión férrico con carbón activado.

3.4 Estudio del Crecimiento Bacteriano y Actividad Oxidativa de Sulfato Ferroso en Presencia de Carbón Activado

A continuación se reportan los resultados del experimento en que se contactan carbón activado con una solución de sulfato férrico, y un inóculo de bacterias *Acidithiobacillus ferrooxidans* en un cultivo batch. El carbón activado y las células se separan por una membrana milipore 0,22 μm que se utiliza normalmente para recuperar bacterias en solución². Además se realizó un control que contiene bacterias en sulfato férrico, pero sin carbón. Notar que comúnmente se realizan estos cultivos en sulfato ferroso, por lo que se espera que no haya crecimiento celular en sulfato férrico en el control, debido a la ausencia de sustrato. Eso sí, en el experimento con carbón activado se espera un crecimiento celular debido al poder reductor de este material que resulta en la generación de ión ferroso.

3.4.1 Resultados

En las figuras 10 a 15 se reportan los resultados obtenidos de esta sección. En la figura 10 se observa la variación de la concentración de bacterias en el experimento con y sin carbón activado. Se observa que, naturalmente, no hay crecimiento bacteriano en sulfato férrico sin carbón durante el tiempo de observación (19 días). En cuanto al cultivo que contiene carbón activado, en un principio no registró cambios notables en el número de células en solución, por

² Para mayor detalle acerca del sistema empleado para el estudio del crecimiento bacteriano y actividad oxidativa de sulfato ferroso en presencia de carbón activado ver la sección metodología 2.2.4

lo que se agregó más carbón activado en el día 3. Luego de esto se notó un aumento de células en el cultivo hasta llegar a un aumento en la población correspondiente a un orden de magnitud mayor que en el control. Esto es, de $2,88 \times 10^9$ a 4×10^{10} [cel/L].

En la figura 11 se muestra el potencial redox a través del tiempo, este potencial presenta alzas y bajas a diferencia del potencial redox perteneciente al control que permanece dentro de un rango, sobre los 800 mv.

En la figura 12 se aprecia una acumulación de ión ferroso y un posterior consumo. Se registra una generación de ión ferroso promedio de 82 [mg/L], correspondiente al 2,69% hierro inicial presente en solución.

En la figura 14 se puede ver que el control no está en presencia de carbón activado. Se registra una generación promedio de ión ferroso de 202,188 [mg/L], correspondiente al 6,45% del ión férrico disponible. Además esto concuerda con lo obtenido en la figura 12.

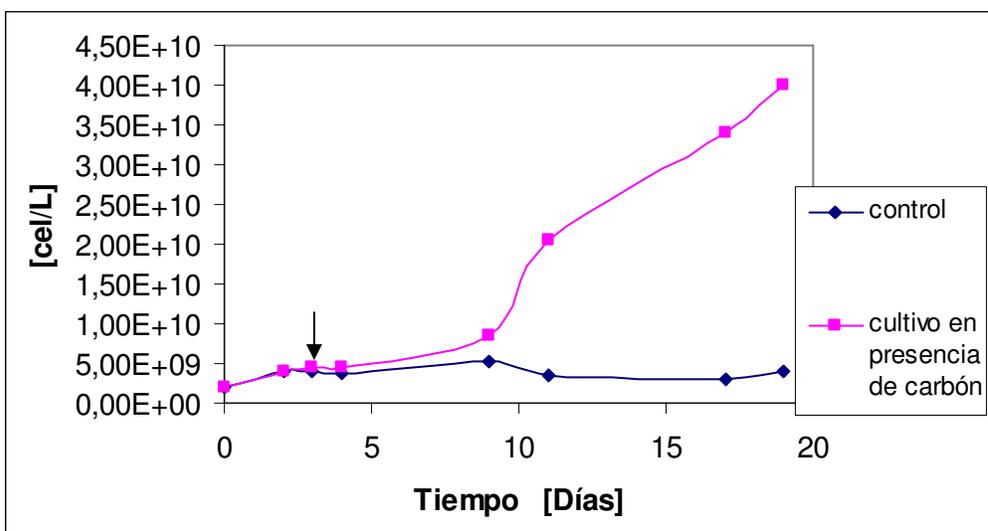


Figura 10: Crecimiento bacteriano a través del tiempo en solución de sulfato férrico en presencia de carbón activado, inicialmente 0,0065 gr. La curva azul indica el control que no contiene carbón activado. La flecha indica el punto donde se agregó carbón activado hasta llegar a 0,06 gr.

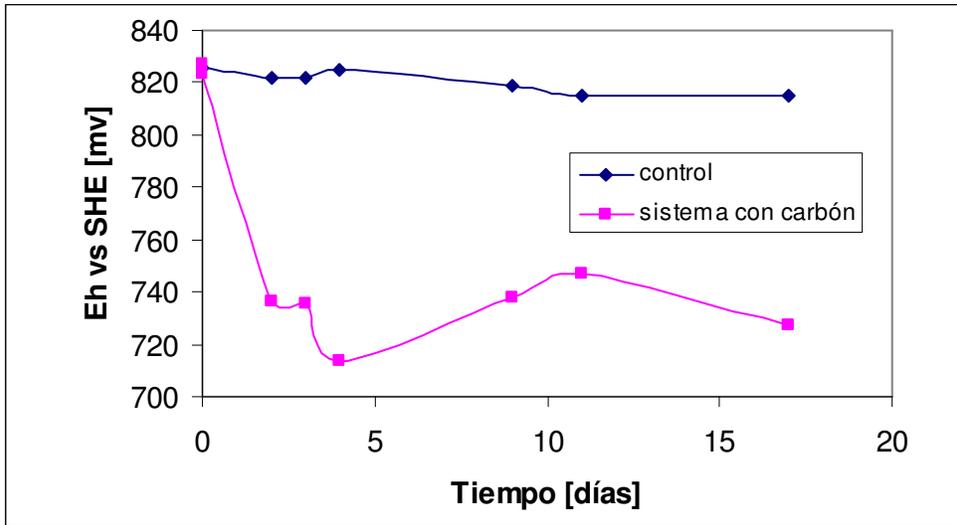


Figura 11: Curva de potencial redox versus SHE para distintas el cultivo bacteriano en presencia de carbón activado y para el control. El control no contiene carbón activado.

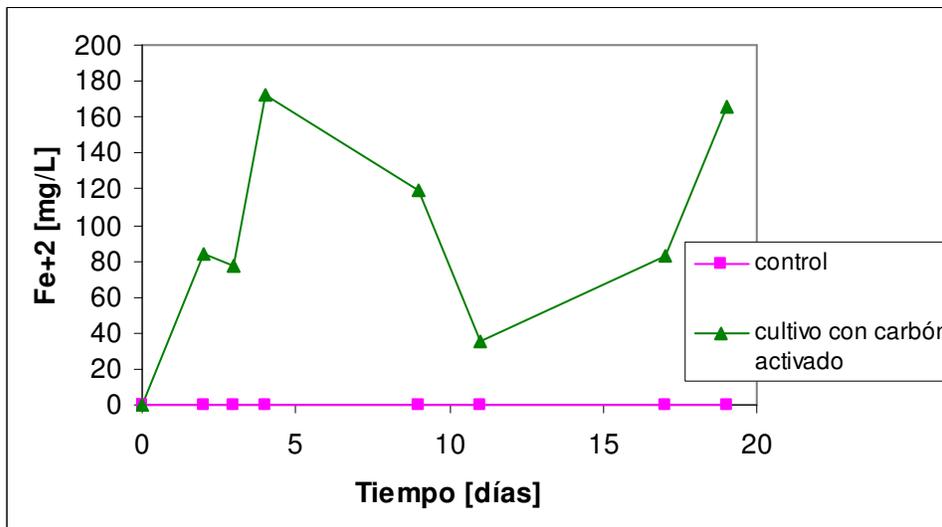


Figura 12: Curva de ión ferroso en función del tiempo para el cultivo en solución de sulfato férrico. El control no está en presencia de carbón activado.

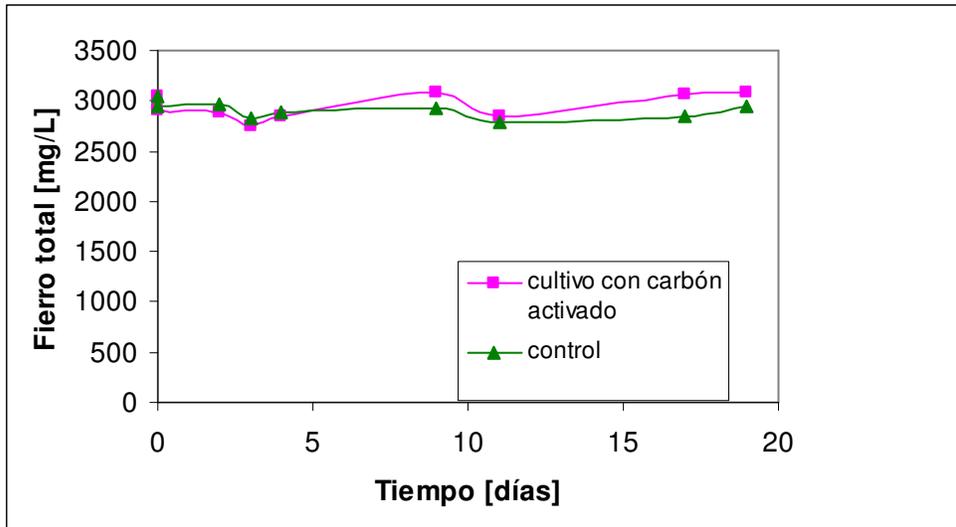


Figura 13: Concentración de hierro total a través del tiempo de un cultivo control y otro cultivo en presencia de Carbón Activado.

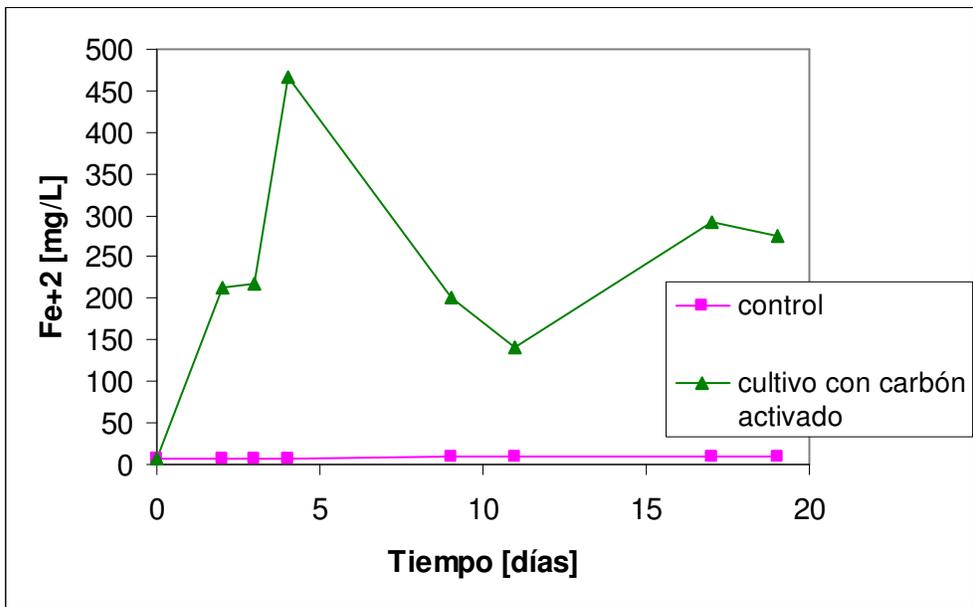


Figura 14: Curva de ión ferroso obtenido a través de la curva de calibración que se aprecia en la sección de metodología 2.2.3, en función del tiempo para el cultivo en solución de sulfato férrico.

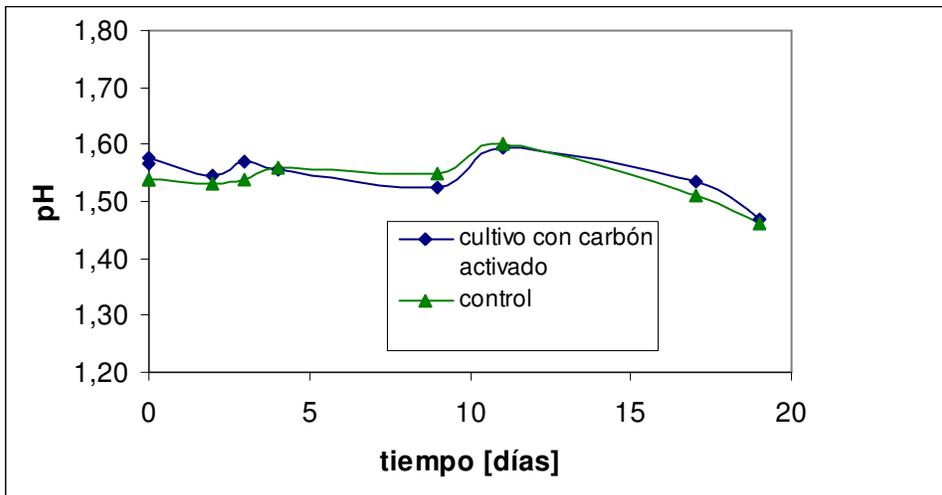


Figura 15: Curva de pH para un cultivo bacteriano en sulfato férrico en presencia de Carbón Activado y un control sin carbón activado.

3.4.2 Discusiones

Las figuras 10, 11 y 12 se relacionan dado que existe crecimiento bacteriano a la vez que se registra una disminución en el potencial redox, a su vez también se registra la generación de ión ferroso, luego un posterior consumo del ión ferroso a medida que aumenta la población bacteriana. Este resultado corrobora lo observado en la sección del estudio del comportamiento de sulfato férrico en presencia de carbón activado, de donde se obtuvo que el carbón actúa reduciendo los iones férricos presentes transformándolos en iones ferrosos.

El ión férrico presente en la solución puede atravesar a través de la membrana hasta la superficie de carbón activado, donde se reduce. Al mismo tiempo el ión ferroso también puede atravesar la membrana hasta la bacteria oxidándose. Esto explica lo observado en la Figura 12 y 14. De ambas figuras se muestra el hierro total y el ión ferroso en solución, obtenido de distintas formas.

La Figura 11 muestra el potencial redox a través del tiempo, el que presenta alzas y bajas a diferencia del potencial redox perteneciente al control que permanece dentro de un rango, sobre los 800 mv. Estas alzas y bajas indican una variación del predominio entre la reducción química de ión férrico y la oxidación biológica de ión ferroso respectivamente.

Lo anterior se corrobora con la Figura 12 donde se aprecia una acumulación de ión ferroso y un posterior consumo. Luego, es posible que al principio las bacterias se encuentren en un proceso de adaptación al medio por lo que no se produjo un aumento en su población con la consiguiente acumulación de sustrato. A partir de cierto momento, se comienzan a consumir los iones Fe^{2+} , momento en que se comienza a apreciar el crecimiento bacteriano. Finalmente la cantidad de ión ferroso comienza a aumentar nuevamente. Esto probablemente se debe a que, tal como se vio en el estudio de la cinética de generación de sulfato ferroso, al existir una menor cantidad de iones ferrosos en solución, la reacción se vuelve muy rápida, siendo la tasa de generación de sustrato mayor que la tasa de consumo de éste que de hecho disminuye en presencia de pequeñas cantidades de sustrato.

Al comparar las figuras 12 y 14 se observan diferencia entre las cantidades de generación de ión ferroso a través del tiempo. Esto se debe a que el método de la orto-fenantrolina, aumenta su error a medida que disminuye la cantidad de ión ferroso en solución. Además para aplicar el análisis se debe diluir, lo que también constituye una fuente de error.

De la figura 12 se registró una generación de ión ferroso promedio de 82 [mg/L], correspondiente al 2,69%. Mientras que de la figura 14 se registró una generación promedio de iones ferrosos de 202,188 [mg/L], correspondiente al 6,45% del hierro inicial presente en solución. Debido a que la cinética ha sido obtenida de las concentraciones determinadas por el potencial de oxido reducción, estos serán los valores a considerar en adelante en cuanto a la generación o consumo de iones ferrosos.

En base a los resultados se puede decir que la aparente inhibición observada en la oxidación de ión ferroso en presencia de carbón por otros autores, (Nakazawa, 1998), es mas bien debida a la regeneración del ión ferroso por la reducción de ión ferrico sobre el carbón.

Loi et.al, (1993) proponen que existe una adsorción de células por parte del carbón activado, y que es esta adsorción la que impide a las células entrar en contacto con el mineral que en este caso correspondería a Fe^{2+} . En la experiencia presentada, se tiene a las células separadas por una membrana del carbón activado, por lo que se elimina la adsorción celular. Estas bacterias no se encuentran inhibidas por la presencia del carbón activado, ya que se registra un consumo de ión ferroso.

3.5 Discusión final

Los resultados obtenidos en las secciones anteriores concuerdan con los resultados obtenidos de los estudios comentados en la parte de antecedentes bibliográficos, y explican el por qué se registra una disminución en la tasa de oxidación de hierro en las experiencias reportadas. El carbón está actuando como un agente reductor del hierro lo que está retrazando la oxidación de los iones en solución.

Autores como Zhou (2006) y Nematí (1999), dan cuenta de que la presencia de carbón activado aumenta la oxidación de ión ferroso. Esto es posible en el sistema estudiado si en el transcurso del tiempo el área expuesta al medio de carbón activado se satura o la población bacteriana aumenta al nivel en que el consumo supera la generación de ión ferroso. Cabe mencionar que en las experiencias reportadas en este trabajo se utilizó cultivos en presencia de ión ferroso, no de ión férrico como en este trabajo por lo que la población bacteriana debe ser mucho mayor y debe tener por lo tanto una tasa de oxidación de ferroso mayor.

3.6 Simulación del Crecimiento Bacteriano y Actividad Oxidativa de Sulfato Ferroso en Presencia de Carbón Activado.

Con la ecuación de reducción de ión Fe^{3+} a Fe^{2+} sobre carbón activado y la ecuación de oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} por *A. ferrooxidans* (ecuación 11) se procedió a simular los resultados experimentales obtenidos en la sección 2.2.3. Para esto se utilizarán los modelos cinéticos de oxidación de ión ferroso bacteriano con inhibición competitiva por producto (obtenido de la bibliografía consultada) y los modelos determinados para determinar la cinética de reducción de ión férrico por parte del carbón activado, obtenidos de la sección 3.3.1.

Para realizar esta simulación es necesario tener una ecuación cinética que de cuenta de la reducción y la oxidación de sulfato férrico y ferroso respectivamente, además del crecimiento bacteriano. Esta ecuación se obtiene realizando un balance de masa, tal como se muestra a continuación:

Concentración de ión ferroso en solución = +Generación de ión ferroso usando carbón - Consumo de ión ferroso por parte de las bacterias

Para la oxidación de Fe^{2+} con *A. ferrooxidans* se usa la expresión:

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = - \frac{2,67 \times 10^{-4} * 2,88 \times 10^9}{2,36 \times 10^7 ([Fe^{2+}] + 73 * (1 + 1,29 \times 10^{-3} [Fe_{total} - Fe^{2+}]])} \quad (24)$$

Por otra parte se compararon las modelaciones con cada uno de los 3 modelos de reducción química de los iones férricos. La opción que mejor se ajustó a los resultados experimentales, correspondió al modelo:

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{7,68 \times 10^{-6} * ([Fe_{total}] - [Fe^{2+}]) * [C]}{1 + ([Fe^{2+}])^{3,369}} \quad (25)$$

Por lo tanto este es el modelo que se incluyó en el balance de masa dando lugar a la siguiente ecuación:

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{7,68 \times 10^{-6} * ([Fe_{total}] - [Fe^{2+}]) * [C]}{1 + ([Fe^{2+}])^{3,369}} - \frac{2,67 \times 10^{-4} * 2,88 \times 10^9}{2,36 \times 10^7 ([Fe^{2+}] + 73 * (1 + 1,29 \times 10^{-3} [Fe_{total} - Fe^{2+}]])} \quad (26)$$

La simulación se llevó a cabo con datos experimentales obtenidos de la sección anterior, los que se observan en la siguiente tabla:

Tabla 4: Condiciones iniciales determinadas experimentalmente para el comienzo de la simulación.

Condiciones iniciales	
Fe^{2+}_0 [mg/L]	6,017
Fe^{3+}_0 [mg/L]	3036
Fe_{total} [mg/L]	3042
No (células iniciales) [cel/L]	2,88E+09

En cuanto a las concentraciones de iones Fe^{2+} , es importante señalar que se utilizó sulfato férrico en las experiencias, que no registró presencia de iones ferrosos del análisis de hierro por el método de la orto-fenantrolina. Sin embargo, de la sección correspondiente al estudio de la cinética de reducción de ión férrico utilizando carbón activado, se sabe que es posible determinar las concentraciones de iones férricos y ferrosos a través del potencial redox y que

estos resultados registran una cantidad inicial de Fe^{2+} . Debido a que se optó en esa oportunidad expresar las curvas cinéticas con los datos entregados por el potencial redox, se tiene que la concentración inicial de Fe^{2+} es distinta de 0.

Para realizar la simulación, se tomó un intervalo de tiempo de 19 días, ya que este es el tiempo en que se llevó a cabo la experiencia de crecimiento bacteriano en presencia de carbón activado.

Con las condiciones dadas se realiza la simulación, esta se realiza a través de un método iterativo, donde a partir de las condiciones iniciales y para un intervalo de tiempo dado, se obtiene el siguiente valor de Fe^{2+} y ya que el hierro total es constante, se tiene por diferencias la concentración de Fe^{3+} .

En la determinación de cada nuevo valor se programó además las condiciones de borde tales como:

- Si existe una concentración de Fe^{2+} o Fe^{3+} menor que 0, entonces reemplazar el valor por 0.
- Si existe una concentración de Fe^{2+} o Fe^{3+} mayor que la cantidad de fe total, reemplazar el valor por la concentración de hierro total.
- La concentración de Fe^{3+} está dada por la diferencia entre la concentración de hierro total y la concentración de Fe^{2+} .

Detalles del método utilizado se encuentran en la sección de anexos A.2

De la figura 16 se observa en una primera etapa la generación del sustrato a ser utilizado por las bacterias, seguida por un consumo de estos iones Fe^{2+} lo que disminuye la concentración. Esto tiene como consecuencia el aumento de la población bacteriana hasta llegar a $2,02 \times 10^{10}$ [cel/L].

A medida que existe más sustrato en solución, también hay una mayor tasa de consumo, la tasa de crecimiento disminuye a medida que disminuye la concentración de sustrato, lo que produce un cambio en la pendiente de la curva correspondiente al crecimiento bacteriano.

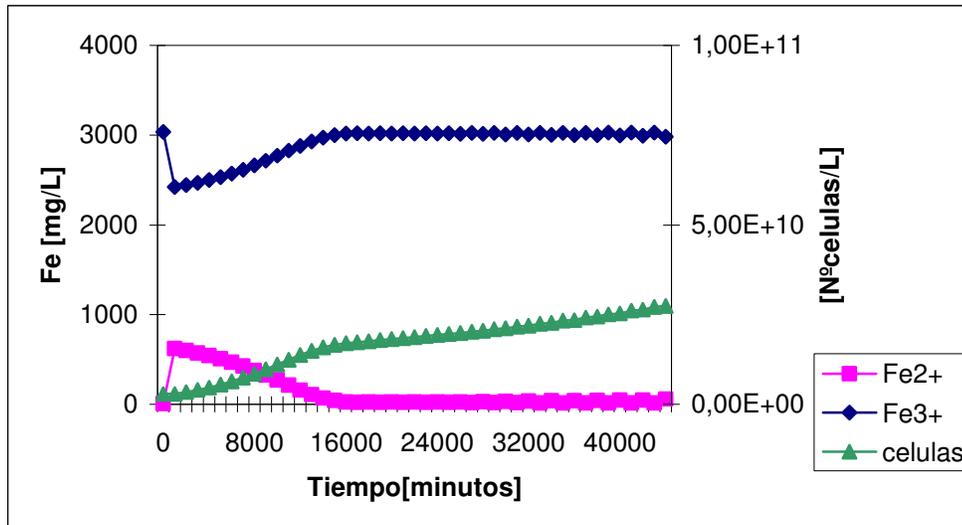


Figura 16: Simulación de la variación de crecimiento bacteriano, concentración de Fe^{2+} , concentración de Fe^{3+} .

En la figura 17 se observa de forma más detallada las curvas de concentración de iones Fe^{3+} y Fe^{2+} . Se observa un crecimiento brusco de Fe^{2+} que concuerda con la disminución de Fe^{3+} seguida de una disminución de Fe^{2+} debido a la oxidación bacteriana. Cerca del final del intervalo temporal estudiado se observan pequeñas generaciones de ión Fe^{2+} seguidas de disminuciones en la concentración debido al consumo bacteriano, estas generaciones van en aumento.

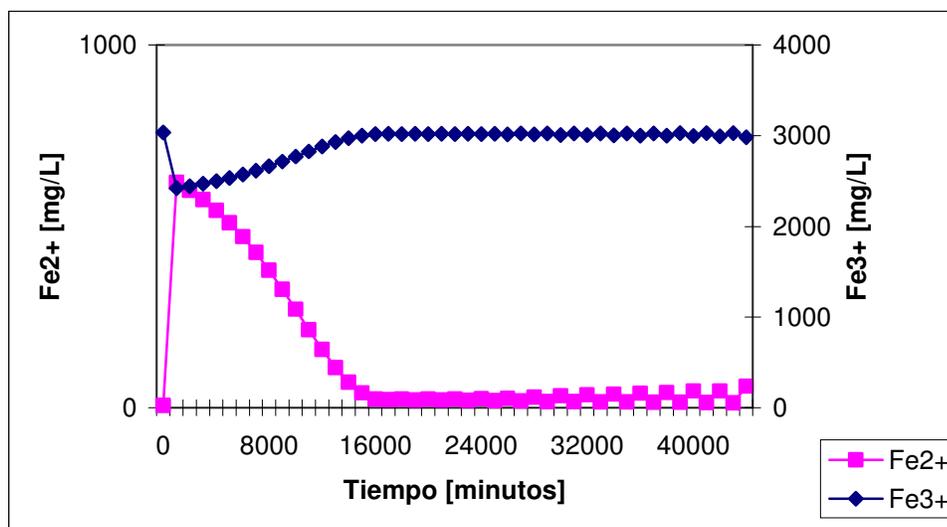


Figura 17: Simulación de generación y consumo de iones Fe^{2+} en el tiempo.

En la figura 18 y 19 se comparan los resultados experimentales con los resultados de la simulación, en la figura 18 se observa que estas curvas tienen un mejor ajuste al principio de la reacción y a medida que aumenta el tiempo estas curvas de comienzan a alejar.

Es importante destacar que este ajuste se efectuó de manera que tanto la curva de crecimiento bacteriano como la curva de generación de Fe^{2+} sean similares a los resultados experimentales, para un mismo delta de tiempo. Por esta razón es posible ajustar mejor la curva de crecimiento bacteriano sin embargo esto empeora la similitud de la curva de generación de ión ferroso³. Al utilizar la herramienta de Excel llamada Solver para encontrar la curva óptima que describe lo ocurrido de forma experimental, se obtuvo que esta herramienta sólo considera la curva de crecimiento bacteriano o la curva de generación de Fe^{2+} pero no ambas. Por esta razón se determinó el óptimo para cada caso y luego se obtuvo un paso de tiempo intermedio entre esos dos valores, se obtuvo además el error medio entre las curvas. Llegando a las curvas mostradas en las figuras 18 y 19.

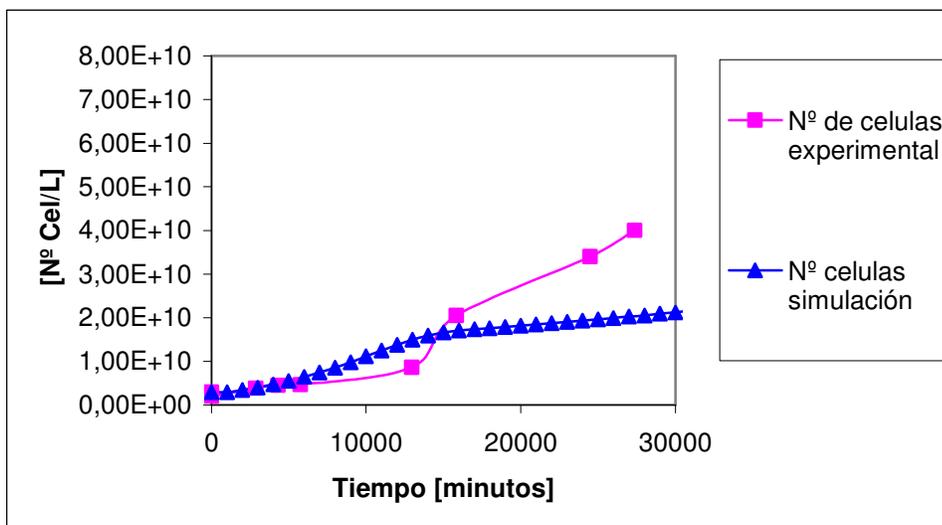


Figura 18: Comparación entre los datos experimentales y simulación para el crecimiento celular. Intervalo de tiempo de 1000 minutos.

³ Para mayor detalle acerca del mejor ajuste del crecimiento bacteriano ver la sección de anexos A.2

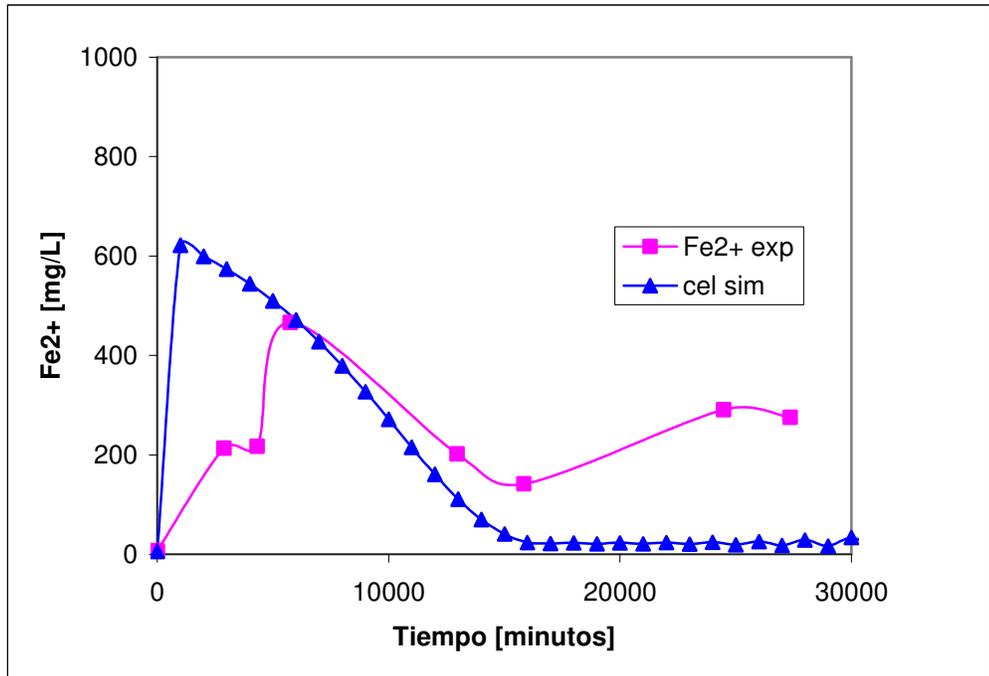


Figura 19: Comparación entre los datos experimentales y simulación de generación Ión Ferroso.

3.6 Optimización del Crecimiento.

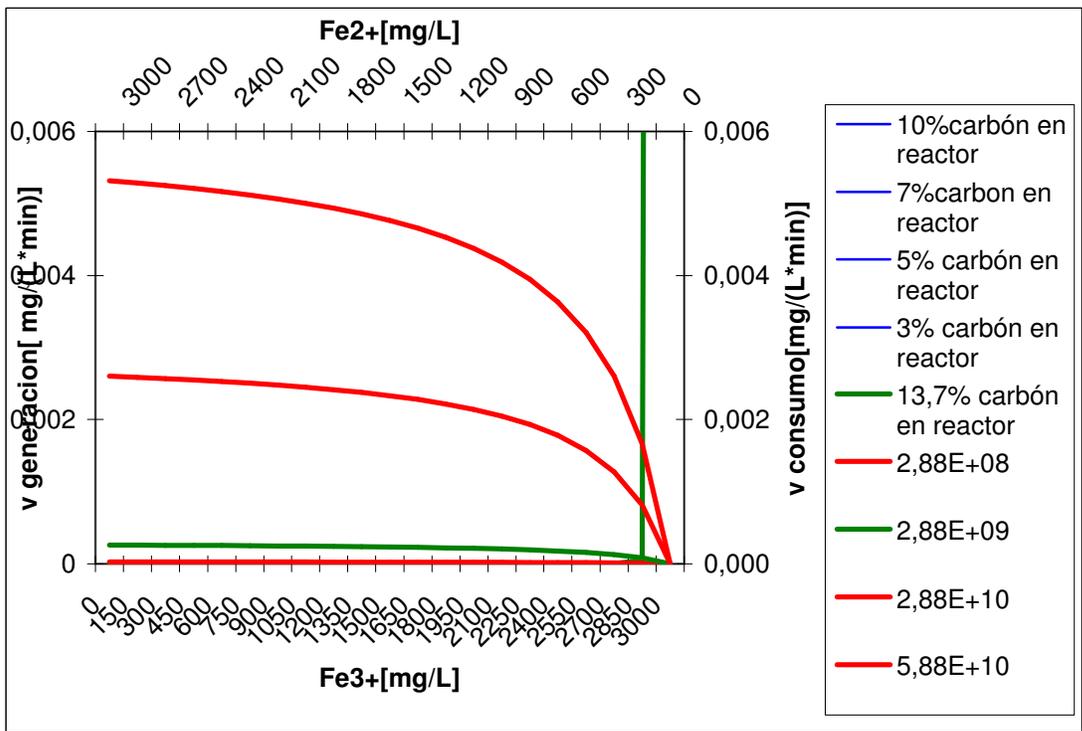


Fig 20: Velocidad de oxidación bacteriana de ión ferroso y generación química de ión como función de la concentración Fe^{3+}/Fe^{2+} .

En la figura 20 se ha graficado las velocidades de consumo de ión ferroso (curvas rojas) y las velocidades de generación de ión ferroso (curvas azules). Se han graficado distintos casos y también el caso experimental (sección 3.4, curvas color verde) La curva experimental de consumo de ión ferroso corresponde al inóculo inicial de $2,88 \times 10^9$ [cel/L], mientras que la curva experimental de generación de ión ferroso corresponde a la curva de 13,7% de carbón activado en un volumen de 1 L.

Al ubicarse al lado izquierdo de la figura, se observa que la velocidad de consumo de ión ferroso es mayor que la velocidad de generación de este ión. Mientras que al lado derecho de la figura se observa que la velocidad de generación de ión ferroso es mayor al consumo.

Luego en la intersección de las curvas se tiene el punto donde las velocidades se igualan. Esto corresponde en un reactor al estado estacionario. Esto explica por que en el experimento se llega a un estado en que prácticamente no hay variación. En este experimento se usó $2,88 \times 10^9$ [cel/L] (curva horizontal verde) y se obtuvo las velocidades de reducción y oxidación de Fe^{3+} y Fe^{2+} .

De acuerdo a las curvas en la figura 20 se puede observar que aumentando la concentración de sustrato se puede aumentar la velocidad de oxidación de Fe^{2+} y reducción de Fe^{3+} . Luego es posible aumentar la velocidad de crecimiento.

Además se puede ver que a mayor cantidad de inóculo inicial, se tendrá una intersección entre las curvas de generación y de consumo mayor. Por lo que se desprende la conveniencia de aumentar el inóculo inicial por sobre $2,88 \times 10^9$ [cel/L] que corresponde al caso experimental. Por otro lado, se tiene que al disminuir la cantidad de carbón utilizado, no se aprecia mayor diferencia entre el caso con 3% y el caso con 13,7% que fue el experimental. Luego es posible disminuir la cantidad de carbón a utilizar sin que afecte la velocidad de generación de ión ferroso.

CAPÍTULO 4 CONCLUSIONES

- Se confirmó que el carbón activado ejerce un poder reductor activo que resulta de la reducción del ión férrico a ión ferroso en medios basales MC a pH=1,6 de composición igual a 0,4 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,056 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 0,4 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.
- La cinética de reducción de ión ferroso en presencia de carbón activado se puede describir por la expresión:

$$\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = \frac{7,68 \times 10^{-6} * ([\text{Fe}_{\text{total}}] - [\text{Fe}^{2+}]) * [\text{C}]}{1 + ([\text{Fe}^{2+}])^{3,369}}$$

Con : $k = 7,68 \times 10^{-6} \text{ [(mg/L)}^{-0,731} / \text{min}]$; $n = 3,369$

- En la función de oxidación de ión ferroso con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en presencia de carbón activado, la generación de ión ferroso por reducción de ión férrico contribuye acelerando el proceso de crecimiento bacteriano al aumentar la concentración de ión ferroso disponible.
- Fue posible simular el proceso de oxidación de ión ferroso y crecimiento bacteriano en un reactor en base a:

$$\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = \frac{7,68 \times 10^{-6} * ([\text{Fe}_{\text{total}}] - [\text{Fe}^{2+}]) * [\text{C}]}{1 + ([\text{Fe}^{2+}])^{3,369}} \text{ ecuación de generación de ión ferroso}$$

$$\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = - \frac{2,67 \times 10^{-4} * 2,88 \times 10^9}{2,36 \times 10^7 ([\text{Fe}^{2+}] + 73 * (1 + 1,29 \times 10^{-3} [\text{Fe}_{\text{total}} - \text{Fe}^{2+}]))} \text{ Ecuación de consumo de ión ferroso}$$

- El modelo desarrollado provee una base conceptual para intentar la optimización del proceso de crecimiento bacteriano en un reactor.

4.1 Recomendaciones

Se recomienda utilizar una cantidad de carbón activado proporcional a la concentración de iones férricos en solución.

Se sugiere perfeccionar la cinética de reducción de iones ferrosos para lograr un mejor ajuste de los datos y describir de mejor forma el fenómeno ocurrido.

Además se recomienda un ajuste de parámetros en la simulación de modo de obtener una simulación que describa de mejor forma el proceso estudiado.

4.2 Proyecciones

Los resultados de este trabajo podrían tener aplicaciones en la industria minera, dado que estos resultados contribuyen a mejorar la velocidad de la biolixiviación al aumentar la población bacteriana en un menor tiempo, que es el principal factor que influye en la efectividad de los costos en los procesos industriales. La inmovilización de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, da concentraciones mayores y más estables de bacterias en un biorreactor.

El carbón activado tiene marcadas ventajas frente a otros soportes y adicionalmente a las ventajas de superficie que presenta ahora se ha descubierto esta nueva ventaja como regenerador del sustrato necesario para el crecimiento bacteriano.

CAPÍTULO 5 BIBLIOGRAFÍA

Acevedo F, Gentina J (2005). "Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras", Ediciones Universitarias de Valparaíso, cap. 2.

Bailey, J. (1986). "Biochemical engineering fundamentals", McGraw-Hill, New York, N.Y. pp. 382–394

Domic E (2001). "Hidrometalurgia, fundamentos procesos y aplicaciones", Andros Impresores Ltda. Chile. 316-333.

Escobar B (2006). "Apuntes del curso Tecnologías Microbianas, semestre primavera 2006"

Espinoza S (1998) "Estudio y Desarrollo de un Reactor de Biolixiviación de Hierro con Bacterias Inmovilizadas", Memoria para optar al Título de Ingeniero Civil Químico, Universidad de Chile.

Gálvez S (2005). "Cinética de Oxidación Bacteriana del Ión Ferroso con *Leptospirillum ferrooxidans*". Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Químico. Universidad de Chile, 1-2, 7-19.

García M, (1989). "Biological ferrous iron oxidation in packed-bed columns with low-grade sulphide mineral as support. Process Biochemistry 24(3), 84-87.

Gericke M, Muller H, Neale J, Norton A, Crundwell F (2005). "Inoculation of Heap-leaching Operations" Hydrocopper, pp 281-291.

Ginsburg M, (2007). "Experimental study of the immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on carbon based supports". Biochemical Engineering Journal. pp1-7.

Grishin S, Tuovinen O (1988). "Fast Kinetics of Fe²⁺ Oxidation in Packed-Bed Reactors" Applied and Environmental Microbiology, Vol. 54, pp 3092-3100.

Habashi F (1993). "A Text Book of Hydrometallurgy". Metallurgie Extractive Quebec Enr.

355-374. 622-624.

Hansford G, Vargas T (2001). "Chemical and Electrochemical basis of bioleaching processes". *Hydrometallurgy*, Vol 59, Issues 2-3, 135-145

Harvey P, (1997). "Growth of *Thiobacillus ferrooxidans*: a Novel Experimental Design for Batch growth and Bacterial Leaching Studies". *Applied and Environmental Microbiology*, 2586-2592.

Jones C (1983). "Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on ferrous iron in chemostat culture: influence of product and substrate inhibition. " *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 33B, 241-261.

Kai T (1990). "Decrease in Iron Oxidizing Activity of *Thiobacillus ferrooxidans* Adsorbed on Activated Carbon ". *Biotechnology and Bioengineering*, Vol 36, pp 1005-1109.

Kawabe Y (2003). "Inhibitory Effect of High Concentrations of Ferric Ions on the Activity of *Acidithiobacillus ferrooxidans*". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 96, Nº. 4, 375-379. 2003

Levenspiel O (1993). "Ingeniería de las Reacciones Químicas". Reverté Ediciones S.A. México D.F. 48-95

LIU Yu (2003). "Sewage Disposal by the Means of Bio-Film" Chinese Architecture Industry Press.

Loi G (1993). "Modification of Oxidizing Activity of *Thiobacillus ferrooxidans* by Some Particulate Solids". *Fuel*, Vol 72, number 12, pp 1607-1611.

MacDonald, D (1970). "The oxidation of aqueous ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*". *Canadian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 48, 669-676.

Meruane G (2002). "Oxidación bacteriana de sulfato ferroso con *acidithiobacillus ferrooxidans*" Tesis (doctor en ciencias de la ingeniería, mención química), Universidad de Chile. 3-43.

Meruane G, Salhe C, Wiertz J, Vargas T (2002). "Novel Electrochemical-Enzymatic Model Which Quantifies the Effect of the Solution Eh on the Kinetics of Ferrous Iron Oxidation With *Acidithiobacillus ferrooxidans*" *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 80, pp 281-287.

Nakazawa H (1998). "Effect of Activated Carbon on the Bioleaching of Chalcopyrite Concentrate" *Internacional Journal of Mineral Processing*. vol 55, pp 87-94.

Nemati M, (1999). "Combined biological and chemical oxidation of ferrous sulfate using immobilised *Thiobacillus ferrooxidans*". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol 72, pp 562-570.

Norris P, (1990). "Acidophilic bacteria and their activity in mineral sulfide oxidation. *Microbial Mineral Recovery*. New York. Mc Graw-Hill, 3-27.

Pesic B, (1993). "Redox potencial technique to study the factors of importance during reactions of *Thiobacillus ferrooxidans* with Fe²⁺. *Biohydrometallurgical technologies*, pp 545-560

Pirovarova T (1985). "Microorganisms important for hydrometallurgy: cytology, physiology, and biochemistry". *Biotechnology of metals. Proceedings of international Seminar and International Training Course*. Eds: G.I. Karavaiko and N. Groudev. Moscow.

Posadas D, (1980). "Introducción a la Electroquímica, Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, DC, pp 91.

Rojas M (1997). "Estudio de la Influencia del Potencial Electroquímico en la Cinética de Oxidación Bacteriana del Ión Ferroso" Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Químico. Universidad de Chile, 6-20.

Salhe C (1999). "Evaluación de la Inhibición Bacteriana en Soluciones de Lixiviación Industrial Usando Métodos Bioelectroquímicos". Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Químico. Universidad de Chile, 6-21.

Tuovinen O, (1973). "Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans* .I. Use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable numbers, and comparison with CO₂ fixation

and iron oxidation as measures of growth". Archives of Microbiology vol 88, 285-298.

Wan R, (1984). "Electrochemical features of the ferric sulfate leaching of CuFeS₂/C aggregates". Electrochemistry in Mineral and Metal Processing. Electrochemical Society, Pennington, NJ, 391-416.

Yamanaka T, (1995). "Molecular aspects of the electron transfer system which participates in the oxidation of ferrous ion by Thiobacillus ferrooxidans". FEMS Microbiology Reviews 17. 401-413.

ZHOU H (2006). "Immobilization of *Acidithiobacillus Ferrooxidans* and Ferric Iron Production", Trans. Nonferrous Met. Soc. China, vol 16, 931-936.

ANEXOS

A.1 Comparación entre los datos experimentales y el modelo ajustado cambiando en paso de tiempo

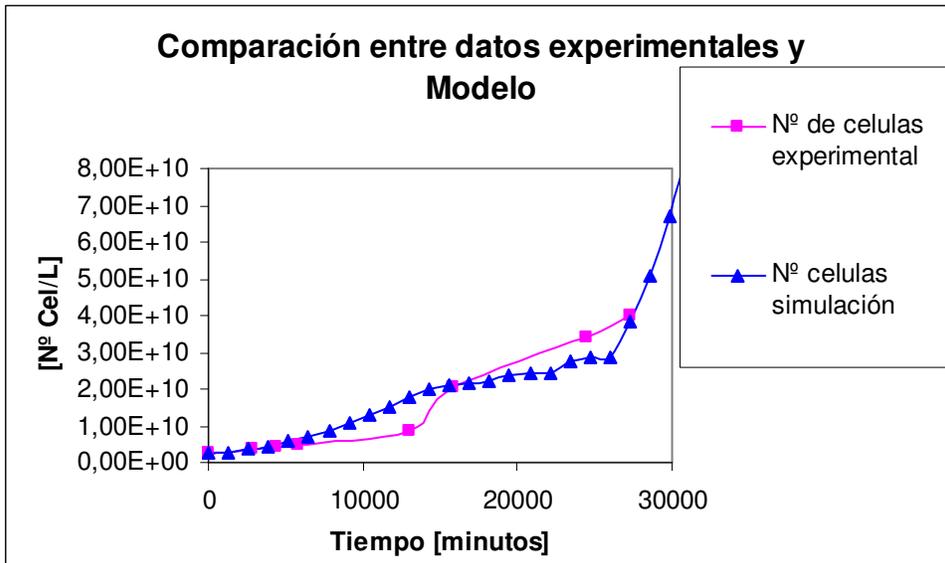


Figura A.2.1: Comparación entre los datos experimentales y simulación para el crecimiento celular. Intervalo de tiempo de 1300 minutos. Este ajuste se adecua mejor al crecimiento celular, sin embargo empeora el ajuste de la generación de ión ferroso.

A.2 Método utilizado para la simulación del crecimiento bacteriano y actividad oxidativa de sulfato ferroso en presencia de carbón activado.

El desarrollo del método iterativo es el siguiente:

Para la parte biológica, es decir la cinética de oxidación bacteriana de ión ferroso:

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{\mu_{\max} N}{Y([Fe^{2+}] + k_s(1 + k_i[Fe_{total} - Fe^{2+}]])}$$

Se obtiene la velocidad específica de crecimiento bacteriano μ , reemplazando las condiciones iniciales.

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{([Fe^{2+}] + k_s(1 + k_i[Fe_{total} - Fe^{2+}]])}$$

Luego se obtiene $-\frac{d[Fe^{2+}]}{dt}$ debido a la oxidación bacteriana de Fe^{2+} .

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} \text{ biológico} = \frac{\mu_{\max} N}{Y([Fe^{2+}] + k_s(1 + k_i[Fe_{total} - Fe^{2+}]])}$$

A continuación se reemplazan las condiciones iniciales en la cinética de reducción de Fe^{3+} dado por:

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} \text{ química} = \frac{k([Fe_{total}] - [Fe^{2+}]_i)}{1 + ([Fe^{2+}]_i)^n}$$

Con estos valores se realiza un balance de masa, de la siguiente manera:

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{d[Fe^{2+}]}{dt} \text{ químico} - \frac{d[Fe^{2+}]}{dt} \text{ biológico}$$

$$\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = \frac{k([Fe_{total}] - [Fe^{2+}]_i)}{1 + ([Fe^{2+}]_i)^n} - \frac{\mu_{\max} N_i}{Y([Fe^{2+}] + k_s(1 + k_i[Fe_{total} - Fe^{2+}]])}$$

Esta ecuación es a tiempo continuo, para tiempo discreto queda así:

$$\frac{[Fe_f^{2+}] - [Fe_i^{2+}]}{t_f - t_i} = \frac{k([Fe_{totali}] - [Fe_i^{2+}])}{1 + ([Fe_i^{2+}])^n} - \frac{\mu_{max} i N_i}{Y([Fe_i^{2+}] + k_s(1 + k_i[Fe_{totali} - Fe_i^{2+}])}$$

Luego $[Fe_f^{2+}]$ se puede expresar como:

$$[Fe_f^{2+}] = \left(\frac{k([Fe_{totali}] - [Fe_i^{2+}])}{1 + ([Fe_i^{2+}])^n} - \frac{\mu_{max} i N_i}{Y([Fe_i^{2+}] + k_s(1 + k_i[Fe_{totali} - Fe_i^{2+}])} \right) * (t_f - t_i) + [Fe_i^{2+}]$$

Este valor entonces pasa a ser el nuevo punto de partida. Con este valor se obtiene el nuevo valor de $[Fe^{3+}]$, N

El nuevo valor de Fe^{3+} se obtiene restando al fierro total que se asume constante el nuevo valor de Fe^{2+} .

El nuevo valor de N se obtiene como sigue:

$$N_f = (t_f - t_i) * \mu_i * N_i + N_i$$

