



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE CIENCIA EXACTAS Y NATURALES

CARRERA DE INGENIERIA QUIMICA

**Incorporación de magnetita en sistemas de biooxidación
de pirita usando *Acidithiobacillus ferrooxidans***

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de:

INGENIERO QUIMICO

Autor: Abad Ortega, Denilson Aldair

Directora: Aguirre Chamba, Paulina Isabel

LOJA

2024



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2024

Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular

Loja, 19 de marzo de 2024

Magister

Natalí Elizabeth Solano Cueva

Directora de la carrera de Ingeniería química

Ciudad. -

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Integración Curricular denominado: Incorporación de magnetita en sistemas de biooxidación de pirita usando *Acidithiobacillus ferrooxidans* realizado por Denilson Aldair Abad Ortega ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Director: PhD. Paulina Isabel Aguirre Chamba

C.I.:1104265226

Correo electrónico: piaguirre@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

Yo, Denilson Aldair Abad Ortega, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: Incorporación de magnetita en sistemas de biooxidación de pirita usando *Acidithiobacillus ferrooxidans*, de la carrera de Ingeniería química, específicamente de los contenidos comprendidos en: Introducción, Metodología, Resultados y Discusión, Conclusiones y Recomendaciones, siendo Paulina Isabel Aguirre Chamba directora del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual de este trabajo.

Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad", en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....
Autor: Denilson Aldair Abad Ortega

C.I.: 1900833912

Correo electrónico: daabad5@utpl.edu.ec

Dedicatoria

Dedico los resultados de mi trabajo primeramente a mis padres por brindarme su confianza, fortaleza y valentía para levantarme día a día y cumplir con mis metas académicas y personales.

A mis hermanos y mi pareja por estar al lado apoyándome incondicionalmente durante el cumplimiento de mis objetivos.

A mis profesores y directora de tesis por todos los conocimientos que aprendí de ellos y me sirvieron para la ejecución de este trabajo.

Agradecimiento

Agradezco a mi directora de tesis, PhD. Paulina Aguirre por depositar su confianza en mí y permitirme llevar a cabo este trabajo, por brindarme su conocimiento, su paciencia y apoyo constante en la realización de este trabajo.

A mis padres por brindarme su confianza, fortaleza y valentía para levantarme día a día y cumplir con mis metas académicas y personales.

A mis hermanos y mi pareja por estar al lado apoyándome incondicionalmente durante el cumplimiento de mis objetivos.

Índice de contenidos

Carátula.....	I
Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular	II
Declaración de autoría y cesión de derechos	III
Dedicatoria	V
Agradecimiento.....	VI
Índice de tablas	X
Resumen.....	1
Abstract	2
Introducción	3
Capítulo uno	5
Marco teórico	5
1.1 Biominería	5
1.1.2 <i>Antecedentes mineros en la región sur del Ecuador</i>	6
1.2 Biolixiviación y biooxidación.....	6
1.4 Sulfuros polimetálicos.....	7
1.4.1 <i>Interacciones galvánicas de sulfuros polimetálicos (calcopirita, pirita, arsenopirita, etc.) y magnetita</i>	7
1.5 Microbiología de la biooxidación.....	8
1.5.1 <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	8
1.5.2 <i>Fijación de parámetros en el proceso de biooxidación</i>	8
1.6 Biooxidación en reactores de tanque agitado.....	9
Capítulo dos	10
Metodología.....	10
2.1 Cultivo de microorganismo y medio	10

2.2 Preparación del mineral	10
2.3 Montaje de los reactores de tanque agitado	10
2.4 Biooxidación en tanque agitado (control)	11
2.5 Biooxidación en tanque agitado (con magnetita en diferentes concentraciones)	11
2.6 Determinaciones Analíticas	11
2.6.1 Determinación de ion ferroso y de hierro total	11
2.6.2 Cuantificación celular (conteo).....	12
2.6.3 Determinación de pH y Eh.....	12
Capítulo tres	13
Resultados y discusión	13
3.1 Composición mineralógica	13
3.1.1 Análisis DRX.....	13
3.1.2 Análisis FRX.....	13
3.1.3 Análisis granulométrico	14
3.2 Oxidación de hierro por <i>A. ferrooxidans</i>	15
3.2.1 Porcentaje de oxidación del ion ferroso del control.....	15
3.2.2 Porcentaje de oxidación incorporando magnetita en diferentes concentraciones	16
3.3 Cinética de crecimiento de <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	19
3.3.1 Crecimiento celular para el control	19
3.3.2 Crecimiento celular en pruebas con magnetita.....	20
3.4 Determinación de Fe ³⁺ y hierro total	22
3.4.1 Concentración de hierro para el control.....	22
3.4.2 Concentración de hierro cuando se agrega magnetita	23
3.4.3 Análisis de pH y potencial redox (Eh).....	25
3.5 Parámetros cinéticos.....	27

Conclusiones	30
Recomendaciones	31
Referencias.....	32
Apéndice.....	35
Apéndice A. Determinación de la velocidad específica de crecimiento (μ_{max})	35
Apéndice B. Determinación de la velocidad específica de producción (σ_p).....	35
Apéndice C. ANOVA para los parámetros de cinética de biooxidación.....	36

Indice de tablas

Tabla 1 Rango de temperatura y pH óptimo de diferentes microorganismos acidófilos de Fe²⁺ y de azufre	5
Tabla 2 Caracterización metalúrgica del mineral	14
Tabla 3 Comparación del porcentaje de oxidación con relación al tiempo del ensayo control y diferentes concentraciones de magnetita	18
Tabla 4 Parámetros cinéticos calculados a diferentes concentraciones de magnetita	28

Indice de figuras

Figura 1 Recuento celular en cámara de Neubauer	12
Figura 2 Análisis DRX del mineral	13
Figura 3 Análisis granulométrico del mineral	15
Figura 4 Porcentaje de oxidación de Fe²⁺ respecto al tiempo (Control)	16
Figura 5 Porcentaje de oxidación con 1%, 2% y 5% de magnetita	17
Figura 6 Crecimiento celular del control.....	19
Figura 7 Crecimiento celular con 1% de concentración de magnetita.....	20
Figura 8 Crecimiento celular con 2% de concentración de magnetita.....	21
Figura 9 Crecimiento celular con 5% de concentración de magnetita.....	21
Figura 10 Producción de Fe³⁺ control.....	22
Figura 11 Producción de Fe³⁺ agregando 1% de magnetita	23
Figura 12 Producción de Fe³⁺ agregando 2% de magnetita	24
Figura 13 Producción de Fe³⁺ agregando 5% de magnetita	24
Figura 14 Variación de pH durante la biooxidación	26
Figura 15 Variación de Eh durante la biooxidación	27

Resumen

En la actividad minera, la insolubilidad de los minerales que acompañan a los metales preciosos complica significativamente la recuperación de éstos, debido a la característica refractaria de estos. En el presente estudio se evaluó la eficiencia de la incorporación de magnetita como inductor en la biooxidación de minerales sulfurados empleando *Acidithiobacillus ferrooxidans* en reactores de tanque agitado. El sistema de biooxidación constó de tanques agitados con condiciones de operación establecidas de 400 rpm, 30°C, 3.5 cm de altura de rotor y densidad de pulpa (10% p/v). Para dar seguimiento a la cinética de biooxidación se determinó consumo de ion ferroso, producción de ión férrico (II, III y total), conteo celular, pH, Eh y porcentaje de oxidación. Los ensayos de biooxidación con adición de magnetita al 1, 2 y 5% p/v presentaron una mayor eficiencia respecto al ensayo control sin magnetita de 96.68%, 97%, 97.95% y 91% de porcentaje de oxidación de Fe²⁺ respectivamente. Realizados los ensayos se concluye que la incorporación del inductor al sistema afecta positivamente en la solubilización del mineral para su posterior tratamiento.

Palabras clave: biooxidación, mineral refractario, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, magnetita.

Abstract

In mining activity, the insolubility of the minerals that accompany precious metals significantly complicates their recovery, due to their refractory characteristic. In the present study, the efficiency of incorporating magnetite as an inducer in the bio-oxidation of sulfide minerals using *Acidithiobacillus ferrooxidans* in stirred tank reactors was evaluated. The bio-oxidation system consists of agitated tanks with established operating conditions of 400 rpm, 30°C, 3.5 cm rotor height and pulp density (10% w/v). To monitor bio-oxidation kinetics, ferrous ion consumption, ferric ion production (II, III and total), cell count, pH, Eh and oxidation percentage were determined. The bio-oxidation tests with the addition of magnetite at 1, 2 and 5% w/v showed a greater efficiency compared to the control test without magnetite of 96.68%, 97%, 97.95% and 91% percentage of Fe²⁺ oxidation respectively. Once the tests have been carried out, it is concluded that the incorporation of the inducer to the system positively affects the solubilization of the mineral for its subsequent treatment.

Keywords: biooxidation, refractory mineral, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, magnetite.

Introducción

Desde hace miles de años los metales son indispensables para el sustento de las sociedades humanas, sus propiedades hacen que estos sean elementos únicos en el desarrollo de civilizaciones (Bernardelli et al., 2017). Los minerales son compuesto formados de manera natural principalmente por tres procesos: magmático, cuando estos se solidifican del magma, metamórfico, producido en las rocas bajo el efecto de la temperatura y presión, finalmente por sedimentación, provenientes de la alteración química y mecánica de las rocas ya existentes (Universidad autónoma de Ciudad de Juárez, 2016). Los minerales se pueden clasificar por su composición química y estructura interna, diferenciadas por sus propiedades físicas. La técnica de aplicación para la extracción de minerales es la minería, la misma que abarca gran cantidad de métodos que son comúnmente usados por las industrias mineras para obtener un material de interés al mismo que se denomina mena (Universidad autónoma de Ciudad de Juárez, 2016).

En la industria minera es común emplear únicamente técnicas tradicionales para la extracción de minerales, sin embargo, al presentarse nuevas necesidades de desarrollo tanto económico como medio ambientales se considera la biominería como una alternativa interesante en la recuperación de metales de manera eficiente y económica. La biominería (biooxidación y biolixiviación) emplea microorganismos para extraer metales (solubilizar) de interés económico, además de limpiar contaminantes de minerales (Calam, 2021). Así mismo, disminuye la producción de gases y polvo, no se requiere una gran inversión y lo principal permite el tratamiento de minas con baja concentración de metales (Calvo, 2014).

La biooxidación es una alternativa para el aprovechamiento de minerales con la presencia de metales tales como: oro, plata, entre otros, especialmente para los minerales que requieren de condiciones drásticas en su procesamiento y que usualmente son fraccionados por pirometalurgia. Sin embargo, la biooxidación es una alternativa limpia que permite obtener un resultado similar al de este proceso tradicional (García & Vázquez, 2014). Se considera la biooxidación como un pretratamiento que se realiza a los metales que están encapsulados en el mineral como es el caso de la pirita, los microorganismos solubilizan la

pirita para la liberación de la mena (Saavedra & Cortón, 2014). Siendo la pirita (FeS_2) algunos de los principales componentes en los residuos mineros, debido a que comúnmente está asociada a las menas de metales base y metales preciosos (Saavedra & Cortón, 2014).

Uno de los microorganismos más eficientes mencionados para este proceso es el *Acidithiobacillus ferrooxidans*, el mismo que oxida el hierro de la pirita iones hidrógeno que conduce a una disminución de pH haciendo que se incremente el sulfuro que es el nutriente del microorganismo, pero simultáneamente se genera el ion férrico. La biolixiviación se ve obstaculizada por su lenta cinética de reacción como, por ejemplo, la duración de la lixiviación suele ser de 4 a 6 meses para los minerales de cobre de baja ley y de 1 a 3 años para los sulfuros de cobre secundarios. La cinética de reacción se explora ampliamente en función del tiempo con respecto al crecimiento microbiano y las propiedades fisicoquímicas de los minerales (Zhong et al., 2023).

En la presente investigación se pretende usar magnetita como inductor de la biooxidación de sulfuros polimetálicos, así mismo, determinar la cinética de biooxidación de la pirita en un reactor de tanque agitado usando *Acidithiobacillus ferrooxidans* y magnetita como inductor en diferentes concentraciones para luego evaluar la eficiencia de estos sistemas de biooxidación. De este modo se genera una alternativa sustentable que contrarreste el impacto ambiental que implican los procesos de minería tradicionales.

Capítulo uno

Marco teórico

1.1 Biominería

Biominería es el término aplicado a los procesos o tecnologías que emplean sistemas biológicos para facilitar la recuperación de metales de interés a partir de minerales, utilizando principalmente microorganismos. Actualmente las biotecnologías empleadas en la industria minera abarcan biorremediación, biosorción, bioacumulación y biohidrometalurgia. La biohidrometalurgia se puede clasificar en biooxidación y biolixiviación, técnicas que son las más empleadas industrialmente en la recuperación de metales preciosos (Chandra Sekhar et al., 2012).

El primer proceso biominero se instauró posteriormente al descubrimiento de la primera especie de bacteria que se demostró que cataliza la disolución de pirita y varios minerales sulfurados. La nueva biotecnología fue establecida en la década de 1960 por Kennecott Copper Corporation para la extracción de cobre de los depósitos de roca estéril en la mina Bingham Canyon en Utah, Estados Unidos (Johnson, 2014).

Para los procesos de biominería, existen múltiples e importantes cantidades de bacterias y fundamentalmente de arqueas que han sido aisladas y caracterizadas. Se observan en la tabla 1 algunas de éstas.

Tabla 1

Rango de temperatura y pH óptimo de diferentes microorganismos acidófilos de Fe²⁺ y de azufre (Schippers, 2007)

Bacterias moderadamente Termófilas	pH	T (°C)	Archaeas extremadamente termófilas	pH	T (°C)
<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i> ¹	2	45-50	<i>Acidianus brierleyi</i> ⁵	1.5-2	70
<i>Acidithiobacillus caldus</i> ²	2-2.5	45	<i>Acidianus infernus</i> ⁵	2	90
<i>Caldibacillus ferrivorus</i> ³	1.8	45	<i>Metallosphaera kakonensis</i> ⁵	3	70

<i>Sufobacillus acidophilus</i> ³	2	45-50	<i>Metalloisphaera prunae</i> ⁵	2-3	75
<i>Sufobacillus sibericus</i> ³	2.2-2.5	55	<i>Metallosphaera sedula</i> ⁵	2-3	75
<i>Sufobacillus thermosulfooxidans</i> ³	2	45-48	<i>Sulfolobus metallicus</i> ⁵	2-3	65
<i>Sufobacillus thermotolerans</i> ³	2	40	<i>Sulfolobus yanmisgensis</i> ⁵	2-2.6	80
Archaeas moderadamente Termófilas	pH	T (°C)	<i>Sulfurococcus mirabilis</i> ⁵	2-2.6	75-80
<i>Ferroplasma acidarmanus</i> ⁴	1.2	42	<i>Sulfurococcus yellostonensis</i> ⁵	2-2.6	60

Nota: 1-Actinobacterias, 2-Proteobacteria, 3-Firmicutes, 4-Euryarchaeota, 5-Crenarchaeota.

1.1.2 Antecedentes mineros en la región sur del Ecuador

El proyecto minero Cobre Mirador, situado en la parroquia Tundayme del cantón El Pangui en la provincia de Zamora Chinchipe es uno o el mayor proyecto minero a nivel nacional, es una colaboración entre el Estado Ecuatoriano-China operado por Ecuacorriente S.A. de propiedad de las compañías estatales chinas Tongling Non-ferrous Metals Group y China Railway Construction Corporation Limited (InfoECSA, 2021).

La mina de cobre Mirador posee 860 millones de toneladas de recursos, con una ley de Cu de 0.525%. El contenido metálico de cobre es de 4516 millones de toneladas. La mina Mirador Norte contiene una cantidad de recursos inmensa, alrededor de 596 millones de toneladas según el estudio geológico, una ley de Cu de 0.44% con un contenido metálico de cobre de 2'624600 toneladas. La mina Mirador cuenta con una producción de material concentrado de cobre de 354000 toneladas/año y 96000 toneladas de Cu metálico (InfoECSA, 2021).

1.2 Biolixiviación y biooxidación

La biolixiviación es el proceso mediante el cual se cataliza la solubilización de metales presentes en minerales utilizando microorganismos los cuales utilizan hierro y azufre como

fuerza de energía (Aguirre Chamba, 2015). Esta técnica de extracción brinda alternativas ventajosas diferentes a los procesos tradicionales; ventajas como el tratamiento de minerales sulfurados de baja ley, aquí, la biolixiviación será más rentable, a la vez que genera un menor impacto ambiental. La biolixiviación se aplica a escala industrial (microorganismos presentes en el mineral de las pilas de lixiviación) en la recuperación de cobre (Breed & Hansford, 1999).

Por otro lado, la biooxidación es una variante al proceso de biolixiviación. Esta técnica no solubiliza el metal de interés, simplemente aumenta su exposición de las especies sulfuradas que lo cubren. Se utiliza como proceso de pretratamiento de minerales refractarios de oro para desprenderlo de los sulfuros y arsenosulfuros que suelen acompañarlo naturalmente, de esta forma, el metal es expuesto para ser lixiviado de manera más eficiente durante el posterior tratamiento con cianuro (Fleming, 1992; Iglesias & Carranza, 1994).

1.4 Sulfuros polimetálicos

Los minerales constituidos por Cu-Fe-S, Zn-S, Fe-S, entre otros (pirita, calcopirita, blenda, arsenopirita, etc.) generalmente acompañan a las menas de metales preciosos (Au, Cu, Ag, Ti, Ni), poseen propiedades refractarias, las cuales los vuelven difíciles de disolver en soluciones acuosas. Para disolverse a velocidades relativamente rápidas necesitan un agente oxidante, generalmente iones férricos, que se acoplan a las soluciones de lixiviación (Rawlings et al., 2003).

La biohidrometalurgia se ve obstaculizada por la baja solubilización de los minerales sulfurados que puede deberse a varios factores, uno de ellos el fenómeno de pasivación de minerales. Frente a la pasivación de minerales sulfurados se emplean bacterias oxidantes de azufre y hierro que aceleran la oxidación de estos elementos (Saavedra et al., 2018a).

1.4.1 Interacciones galvánicas de sulfuros polimetálicos (calcopirita, pirita, arsenopirita, etc.) y magnetita

Otra estrategia frente a la pasivación de minerales para mejorar la disolución de sulfuros es la implementación de las interacciones galvánicas, este proceso se da por el contacto entre dos minerales. Durante la interacción galvánica, el mineral con el más alto potencial eléctrico actúa como cátodo y no permite su solubilización, lo contrario sucede con

el mineral de menor potencial eléctrico, el cual se oxida. El agrupamiento magnetita-calcopirita ha sido reportado en varias formaciones geológicas, sin embargo, su interacción galvánica aún no ha sido reportada (Saavedra et al., 2018a).

1.5 Microbiología de la biooxidación

1.5.1 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Es un microorganismo que se caracteriza por crecer quimiolitotróficamente en ambientes ácidos con pH de 1.5 a 2, presentando una alta concentración de iones metálicos, estos microorganismos son capaces de emplear el ion ferroso o los compuestos sulfurados como fuente de energía, es decir son autótrofos (Watling, 2006). *A. ferrooxidans* es una bacteria perteneciente al género *Acidithiobacillus*, posee forma de bacilo, de tipo gran negativo, mesófilas y estrictamente aerobio. Autores reportan la capacidad de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en la oxidación de minerales sulfurados (pirita, calcopirita, arsenopirita y pirrotita). Como se mencionó anteriormente, este microorganismo obtiene su energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos, tales como Fe^{2+} , S^{-2} , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$. Como fuente de carbono emplea únicamente el carbono proveniente de la fijación de CO_2 disuelto en el medio ácido (Díaz Banegas & Aguirre Chamba, 2012).

1.5.2 Fijación de parámetros en el proceso de biooxidación

Temperatura. *A. ferrooxidans* es un organismo netamente mesófilo, motivo por el cual establecer un rango óptimo de temperatura para desarrollar al máximo su capacidad de lixiviar sulfuros es del rango entre 25 °C y 30 °C.

pH. El pH óptimo para que *A. ferrooxidans* pueda desarrollar sus actividades se ubica entre 1.5 a 2. Valores superiores conducen a la formación y precipitación de jarosita. Si los minerales presentes poseen consumidores de ácido el pH puede variar debido a éstos. Si el pH es inferior a 1.5 existirá un efecto de desaceleración sobre el metabolismo de los microorganismos.

Concentración de inóculo. Es la cantidad de bacterias presentes en un determinado volumen que intervienen en el proceso de biooxidación, la cantidad de bacterias del medio

puro deberán ser adaptadas al medio mineral para ser utilizadas en la inoculación en el proceso de biooxidación.

Inductor. Generalmente se utiliza sulfato ferroso heptahidratado como inductor de Fe^{2+} en el proceso de oxidación biológica. En este estudio se plantea utilizar magnetita ($\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_2\text{O}_4$) como inductor en diferentes concentraciones, la cantidad de Fe^{2+} estará dada por la concentración de magnetita en los ensayos, está relacionada con un mecanismo indirecto, induciendo a la reacción de ion ferroso a ion férrico, produciendo así la biooxidación

Nutrientes. Al ser un organismo autótrofo, *A. ferrooxidans* no requiere de nutrientes orgánicos, su fuente de energía proviene de la oxidación de compuestos inorgánicos del mineral presente, tales como Fe^{2+} , S^{-2} , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$. Su fuente de carbono la consume del CO_2 del medio ácido en el que se encuentra.

1.6 Biooxidación en reactores de tanque agitado

La biooxidación de concentrados de oro refractario es la tecnología empleada para el tratamiento de estos minerales; en reactores de tanque agitado específicamente, en el laboratorio son los más empleados, industrialmente presentan una alta acogida también debido a sus múltiples ventajas tales como: un sencillo y eficiente control en las variables del proceso, reducción en tiempos de operación a diferencia de la lixiviación en pilas y escombreras. En la práctica se ha demostrado que se obtiene hasta un 90% de oro removiendo entre un 40% a 50% del contenido de sulfuros (Arroyave et al., 2009).

La oxidación biológica en este tipo de reactores aumenta significativamente en términos de eficiencia y velocidad del bioproceso, debido a la minimización de gradientes en la composición, pH, Eh y temperatura. Evita acumulaciones de sólido gracias a su sistema de aireación y agitación que brinda este reactor, lo cual deriva en una óptima operación en la transferencia de masa y calor (Jaramillo & Aguirre, 2014)

Capítulo dos

Metodología

2.1 Cultivo de microorganismo y medio

La bacteria, *A. ferrooxidans* se cultivó con 50 mL de medio Kim modificado constituido por distintas sales entre las cuales tenemos: 0.005 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.004 g/L de KCl, 0.0012 de CaCl_2 y 0.15 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Kim et al., 2002), se suplementó como fuente energética $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y se ajustó el pH con H_2SO_4 concentrado a 1.8. Los cultivos de *A. ferrooxidans* se conservaron a temperatura aproximada de 25°C - 30°C bajo condiciones aeróbicas y en constante agitación.

El enriquecimiento se realizó sacando 5 mL del cultivo de *A. ferrooxidans*, y se inoculó en un matraz de 250 mL, en estos se colocó además 1 mL de medio 9K concentrado 50 veces, 8 mL de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1M y 36 mL de agua acidificada con H_2SO_4 a pH 1.8, una vez listos, se mantuvieron a temperatura y agitación constante (agitador orbital) de 30°C y 150 rpm respectivamente.

2.2 Preparación del mineral

La preparación del mineral consistió en obtener un tamaño de partícula óptimo, se realizó la respectiva granulometría obteniendo un D_{80} pasante de la malla 120 de la serie de tamices ASTM E11. Seguidamente se realizó la acidificación y posterior esterilización. El proceso de acidificación consistió en pesar 2 kg de mineral sulfurado, del cual se tomó una pequeña alícuota para realizar una caracterización mediante análisis por difracción de rayos X y fluorescencia de rayos X (DRX y FRX respectivamente). El mineral se colocó en un recipiente con agitación constante y se agregó H_2SO_4 al 95% hasta obtener un pH de 2. Posteriormente el mineral fue secado y esterilizado en la estufa a 105 °C por 24 horas.

2.3 Montaje de los reactores de tanque agitado

El proceso de biooxidación se llevó a cabo en un sistema Bach en reactores de tanque agitado, los biorreactores poseen un sistema de aireación, el mismo que consiste en la existencia deflectores en las paredes del tanque enlazado a un flujómetro y esta a su vez

conectado a un sistema de comprensión. Seguidamente, se establecieron los parámetros operacionales de los biorreactores a un flujo constante de aire de 3 vvm, la temperatura de 25°C - 30°C, una agitación de 400 rpm y una altura de rotor de 3.5 cm.

2.4 Biooxidación en tanque agitado (control)

Los ensayos de biooxidación se realizaron a escala de laboratorio, para esto se empleó 300 mL de cultivo de bacterias *A. ferrooxidans* en su fase de crecimiento exponencial máximo. El cultivo fue inoculado a los reactores de 3 L de capacidad junto con un 10% (p/v) de mineral, además se colocó el medio Kim modificado y ajustado a pH 2. El volumen de trabajo fue de 333 mL del volumen total del reactor (1000 mL). Los parámetros operacionales fueron de 3 vvm de flujo de aire, 400 rpm de agitación, 30°C y 3.5 cm de altura de rotor. El ensayo de biooxidación finalizó cuando todo el ion ferroso (Fe^{2+}) se oxidó a Fe^{3+} . Durante el proceso se determinó consumo de Fe^{2+} y Fe total, crecimiento bacteriano usando conteo en cámara de Neubauer de 0,02 mm de profundidad, potencial hidrógeno (pH) y potencial rédox (Eh).

2.5 Biooxidación en taque agitado (con magnetita en diferentes concentraciones)

Los ensayos de biooxidación incorporando magnetita se realizaron de la misma forma que los ensayos control (sin magnetita). Para estos experimentos se agregó el inductor ($\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_2\text{O}$) en diferentes concentraciones, realizando los ensayos por triplicado, con duplicado analítico para cada concentración empleada. Las concentraciones utilizadas fueron de 1%, 2% y 5% (p/v).

2.6 Determinaciones Analíticas

Para los análisis físicos y químicos mencionados se realizaron las siguientes determinaciones analíticas.

2.6.1 Determinación de ion ferroso y de hierro total

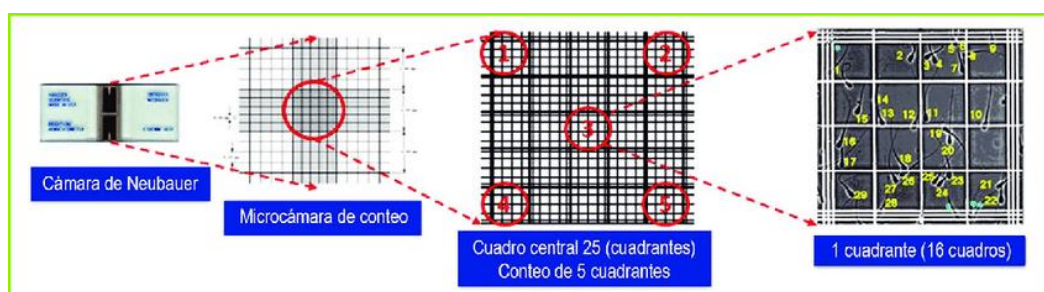
La determinación del ion ferroso y el hierro total se realizó mediante espectrofotometría a 562 nm empleando el método Ferrozine (Muir & Andersen, 1977), la determinación de ion hierro férrico se realizó por la diferencia de hierro total y ion ferroso.

2.6.2 Cuantificación celular (conteo)

La cuantificación del número de bacterias en cada biorreactor se determinó mediante conteo celular en cámara de Neubauer de 0.02 mm de profundidad, agregando 15 uL de muestra aproximadamente entre la cámara y el cubreobjetos. La cámara posee 25 cuadrantes con 16 cuadros cada uno. El conteo se realiza en 5 cuadrantes como se muestra en la Figura 1. El primer conteo se lo realiza en el cuadrante superior izquierdo, el segundo en el cuadrante superior derecho, el tercero en el cuadrante inferior izquierdo, el cuarto conteo en el inferior derecho y finalmente en el cuadrante central. Realizado el conteo se calcula el promedio de los 5 cuadrantes y se obtiene el número de células.

Figura 1

Recuento celular en cámara de Neubauer



Nota. Adaptado de Metodología de conteo de células en cámara de Neubauer (p. 101), por Olivera, Morales, Ruiz Cortés, López & Giraldo, 2014, Biogénesis.

2.6.3 Determinación de pH y Eh

La determinación de pH y Eh se realizó con un pH metro marca Hanna y el electrodo respectivo para cada caso.

Capítulo tres

Resultados y discusión

3.1 Composición mineralógica

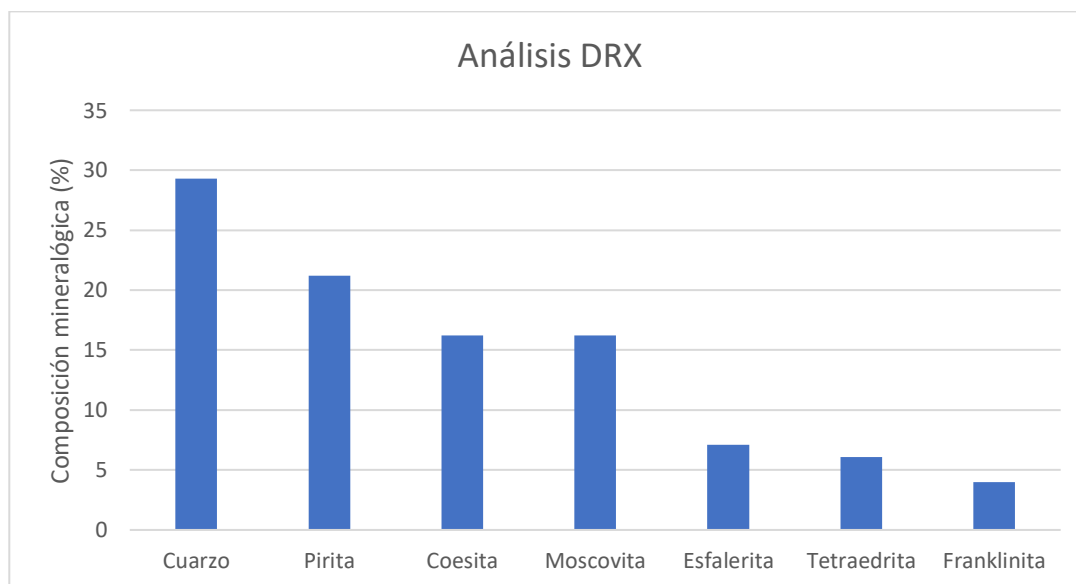
Se realizó tres análisis para la caracterización del mineral, un análisis DRX, análisis FRX y un análisis granulométrico.

3.1.1 Análisis DRX

La composición mineralógica del suelo empleado para los ensayos de biooxidación se realizó mediante análisis de Difracción de Rayos X obteniendo la siguiente composición en porcentaje: 29.3% de cuarzo, pirita 21.2%; coesita 16.2%; moscovita 16.2%; esfalerita 7.1%; tetraedrita 6.1% y franklinita con un 4%.

Figura 2

Análisis DRX del mineral



Nota. Composición mineralógica del suelo empleado durante la biooxidación.

3.1.2 Análisis FRX

Del mismo modo se realizó la caracterización metalúrgica mediante un análisis FRX. En la siguiente tabla (Tabla 2) se observa la composición metalúrgica del mineral con su respectivo volumen expresado en porcentaje (%).

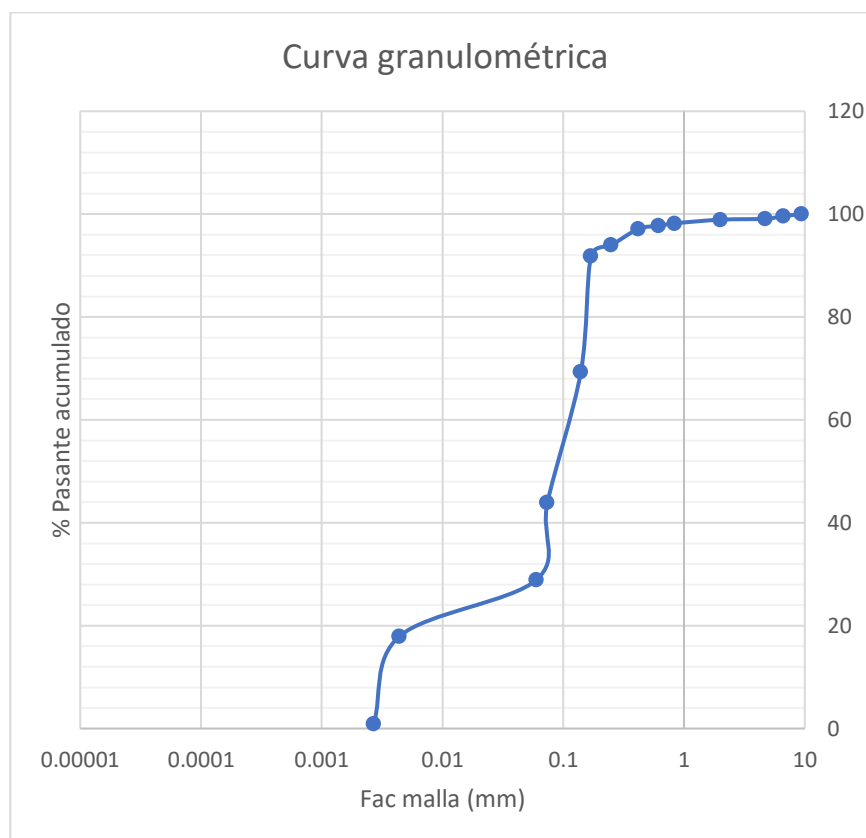
Tabla 2*Caracterización metalúrgica del mineral*

Elemento	Volumen (%)
SiO ₂	9.85
Al ₂ O ₃	8.36
S	23.1
K ₂ O	1.41
CaO	2.735
Fe ₂ O ₃	17.45
Co ₃ O ₄	0.507
P ₂ O ₅	0.905
MnO	1.77
TiO ₂	0.302
ZnO	25.98
PbO	2.47
HfO ₂	0.306

Nota. El Na₂O, MgO y Carbono no es analizado por el equipo de FRX, pero la muestra los puede contener. Los metales son representados por sus respectivos óxidos metálicos, a excepción del azufre que es un no metal.

3.1.3 Análisis granulométrico

La granulometría del mineral es importante en la biooxidación, por eso se definió un tamaño de partícula D80 de la malla 120.

Figura 3*Análisis granulométrico del mineral*

Nota. Análisis granulométrico utilizando la serie de tamices ASTM E11.

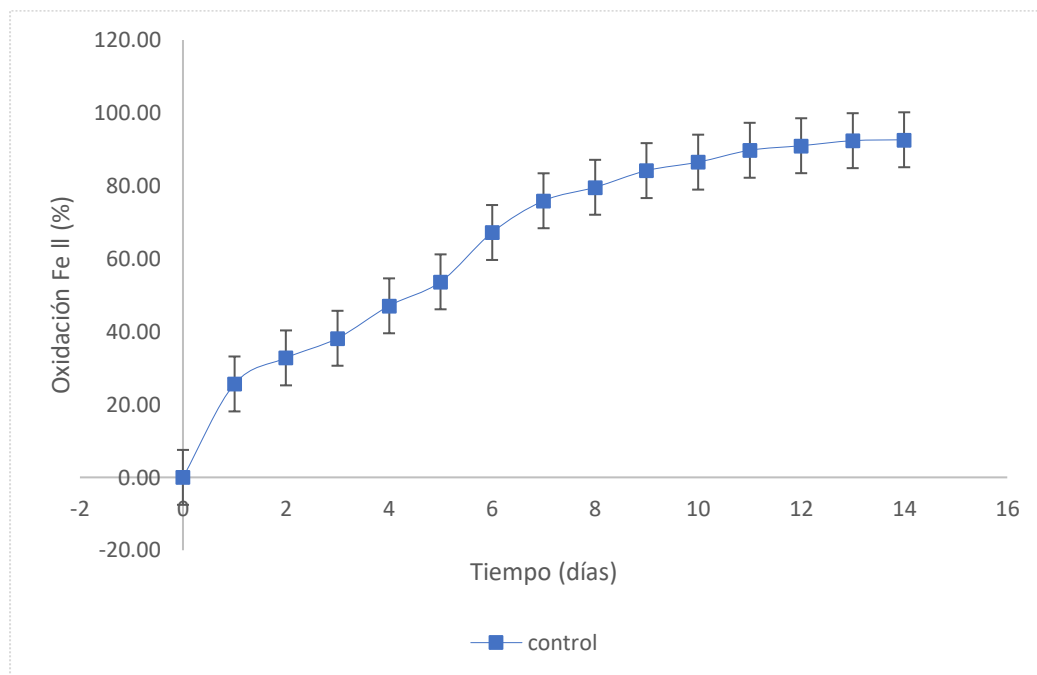
3.2 Oxidación de hierro por *A. ferrooxidans*

3.2.1 Porcentaje de oxidación del ion ferroso del control

En la Figura 4 se observa el tiempo (días) necesario para llevar a cabo la oxidación de Fe^{2+} sin inductor. Se observa un aumento exponencial en el porcentaje de oxidación, estos valores se corroboran con la fase de crecimiento exponencial de la bacteria *A. ferrooxidans*. El valor máximo de oxidación alcanzado durante este ensayo fue de 92.12% en un periodo de 14 días, cabe mencionar que, a partir de este valor, el porcentaje de oxidación se mantiene constante indicando que se alcanzó el valor final.

Figura 4

Porcentaje de oxidación de Fe^{2+} respecto al tiempo (Control)



Nota. Porcentaje de oxidación de hierro por *A. ferrooxidans* sin adición de magnetita (control).

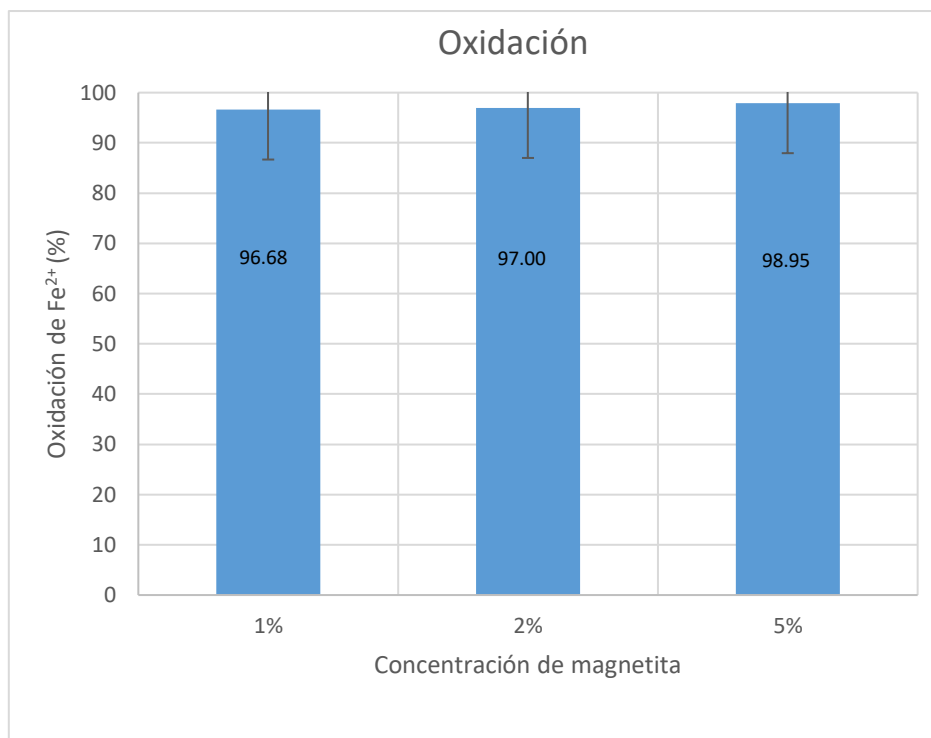
Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

3.2.2 Porcentaje de oxidación incorporando magnetita en diferentes concentraciones

El porcentaje de oxidación se da mejor cuando la concentración de magnetita aumenta, esto se ve reflejado en la Figura 5, cuando la concentración de magnetita es de 1% el tiempo en el que se da la oxidación claramente es mayor con respecto a la biooxidación cuando se tiene una concentración de magnetita del 5%.

Figura 5

Porcentaje de oxidación con 1%, 2% y 5% de magnetita



Nota. Porcentaje de oxidación de las tres pruebas realizadas con magnetita ± Desviación estándar.

La oxidación se ve favorecida principalmente por el aumento de iones Fe²⁺ que aporta la magnetita, además, por la interacción galvánica entre la magnetita y los minerales sulfurados, como la pirita. Esta interacción galvánica ocurre debido a las diferencias en el potencial eléctrico entre estos minerales. La magnetita actúa como un agente oxidante, mientras que el mineral se comporta como un material más fácilmente oxidable (Saavedra et al., 2018).

Para tener una mejor comprensión de esta diferencia en el porcentaje de oxidación del ion ferroso con respecto del tiempo de las distintas concentraciones se emplea la tabla 3, de la misma que se obtuvieron los datos para graficar la figuras 5.

Tabla 3

Comparación del porcentaje de oxidación con relación al tiempo del ensayo control y diferentes concentraciones de magnetita

Control		1% Magnetita		2% Magnetita		5% Magnetita	
Tiempo (días)	% de oxidación	Tiempo (días)	% de oxidación	Tiempo (días)	% de oxidación	Tiempo (días)	% de oxidación
0	0.00 ± 0.00	0	0.00 ± 0.00	0	0.00 ± 0.00	0	0.00 ± 0.00
1	25.74 ± 0.15	1	28.11 ± 2.38	1	33.41 ± 0.3	1	33.70 ± 2.53
2	33.48 ± 1.00	2	39.04 ± 0.09	2	44.28 ± 0.21	2	46.77 ± 1.45
3	38.84 ± 0.94	3	47.37 ± 0.29	3	48.98 ± 0.03	3	57.02 ± 1.08
4	47.40 ± 0.47	4	56.14 ± 0.33	4	59.59 ± 0.27	4	67.19 ± 0.47
5	53.99 ± 0.49	5	65.83 ± 0.12	5	67.58 ± 0.20	5	77.38 ± 0.14
6	67.50 ± 0.45	6	75.91 ± 1.55	6	75.93 ± 0.70	6	86.03 ± 1.23
7	75.97 ± 0.10	7	83.87 ± 0.29	7	83.69 ± 2.00	7	89.32 ± 0.86
8	79.45 ± 0.20	8	92.18 ± 0.48	8	89.77 ± 0.16	8	93.92 ± 2.94
9	84.55 ± 0.55	9	94.94 ± 0.07	9	95.47 ± 0.24	9	97.44 ± 0.03
10	87.75 ± 1.79	10	95.36 ± 0.14	10	96.12 ± 0.03	10	97.84 ± 0.07
11	90.06 ± 0.45	11	95.91 ± 0.03	11	97.00 ± 0.05	11	97.91 ± 0.13
12	91.00 ± 0.00	12	96.68 ± 0.10	12	97.00 ± 0.16	12	97.95 ± 0.09
13	91.87 ± 0.71	13	96.64 ± 0.13				
14	92.12 ± 0.72						

Nota. Porcentaje de oxidación de las cuatro pruebas realizadas ± Desviación estándar.

La disminución del tiempo y el incremento de la oxidación están directamente relacionados con el aumento de la concentración de magnetita. A medida que la concentración de magnetita aumenta, se observa una disminución significativa en el tiempo requerido para que ocurra la oxidación de manera mas eficiente.

Por lo que a una concentración de 1% el tiempo es de 13 días y la oxidación de 96.64% y en el caso de mayor concentración de magnetita 5% el valor de la oxidación se acerca más al 100% que en las demás pruebas y se da en un menor tiempo siendo de 12 días. En cuanto al ensayo sin magnetita se observa que requiere de 14 días para alcanzar un porcentaje de

oxidación del 92.12%, el cual es evidentemente menor en comparación a los ensayos agregando magnetita.

Según (Saavedra et al., 2018) en el artículo “Understanding galvanic interactions between chalcopyrite and magnetite in acid medium to improve copper (Bio)Leaching” menciona que las interacciones galvánicas entre calcopirita y magnetita mejora la disolución (oxidación), dado este caso considerando que en lugar de los metales empleados por el estudio mencionado en el presente se relaciona la pirita y magnetita, como ambos presentan azufre y hierro se pondera la misma situación.

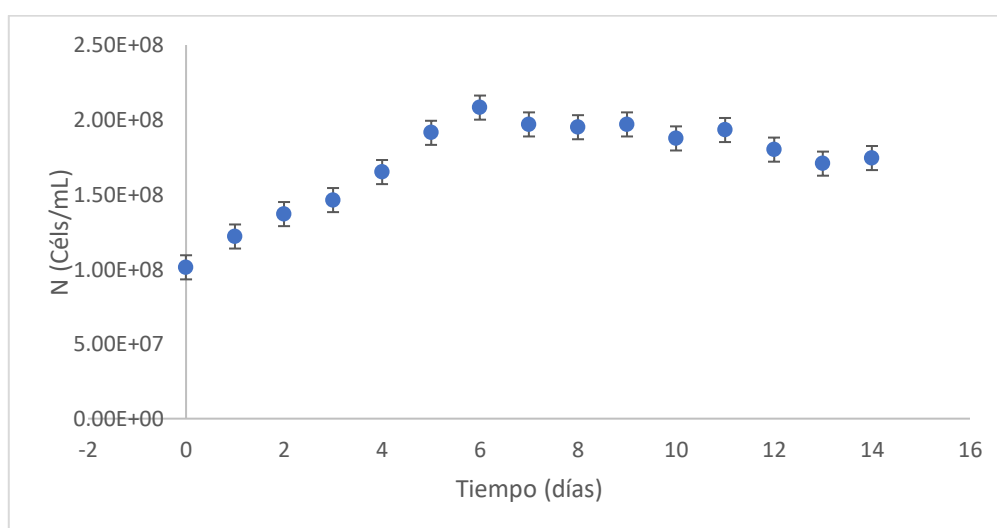
3.3 Cinética de crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans*

3.3.1 Crecimiento celular para el control

En el estudio del crecimiento bacteriano en el control, se observará un crecimiento exponencial hasta los primeros 7 días de observación. Sin embargo, a partir de ese punto, se produjo un descenso en el número de células, lo cual indica que el crecimiento se volvió irregular. Este cambio en el patrón de crecimiento podría estar relacionado con la fase de muerte celular, con factores de pH y la presencia de sustancias inhibidoras.

Figura 6

Crecimiento celular del control



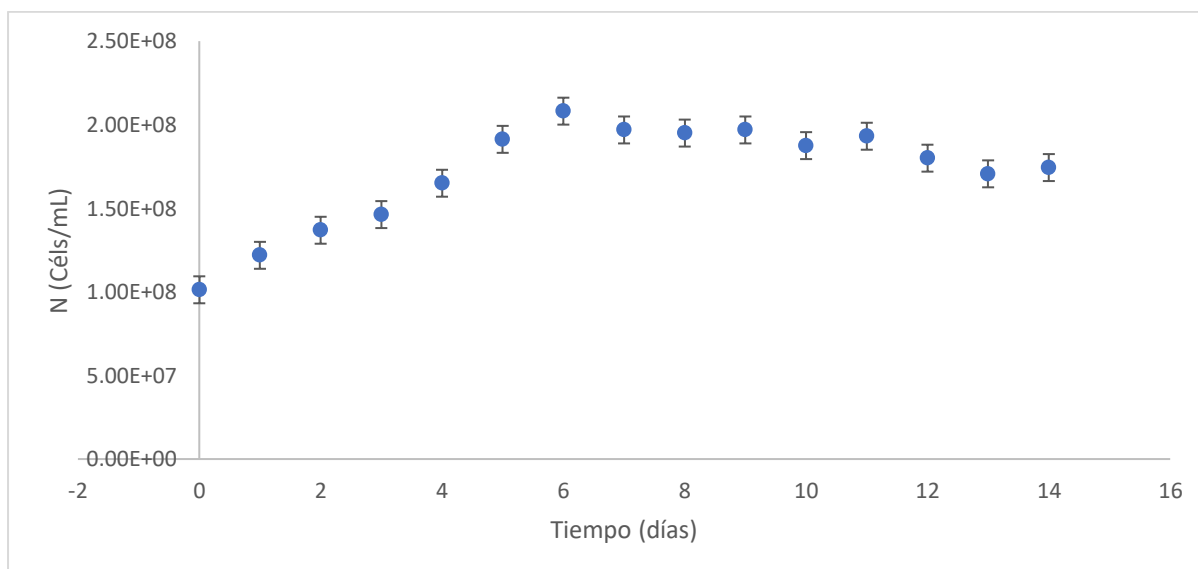
Nota. Numero de células según el porcentaje de las dos muestras de control realizadas. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

3.3.2 Crecimiento celular en pruebas con magnetita

Las pruebas realizadas con diferentes concentraciones de magnetita mostraron un crecimiento celular más alto en comparación con el control (apartado 3.2.1). Al observar la Figura 7, se puede apreciar que la magnetita con una concentración del 1% presenta un crecimiento dinámico, lo cual implica que la bacteria tiende a mantenerse activa después de los doce días, al contrario de la concentración más alta de magnetita (Figura 9), en donde se contempla un aumento significativo en el número de células en un periodo de tiempo más corto (12 días). Se puede observar que al 1% de magnetita se alcanza aproximadamente 2×10^8 cel/mL, para el 2% de magnetita se alcanza una concentración celular de 2.5×10^8 cel/mL mientras que al 5% de magnetita se alcanzó una concentración celular de aproximadamente 3×10^8 cel/mL

Figura 7

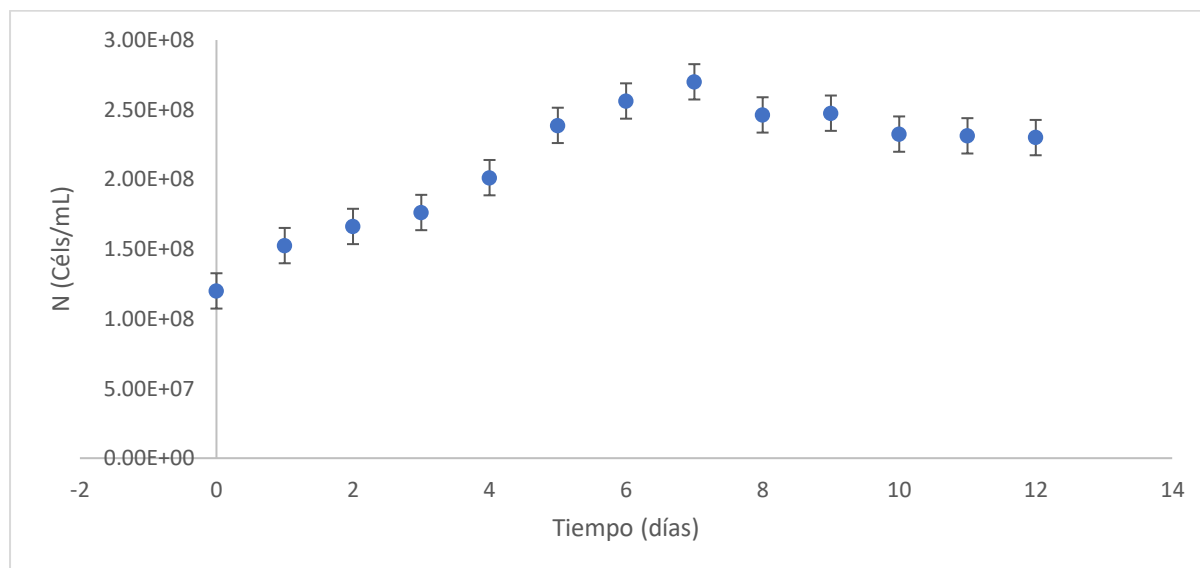
Crecimiento celular con 1% de concentración de magnetita



Nota. Crecimiento celular agregando 1% (p/v) de magnetita. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

Figura 8

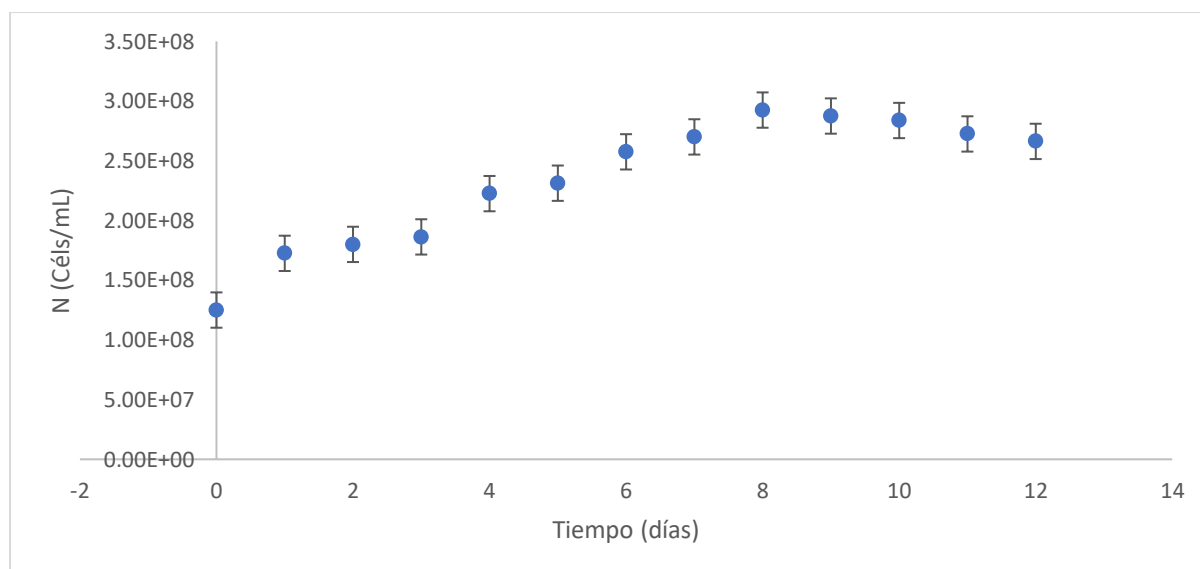
Crecimiento celular con 2% de concentración de magnetita



Nota. Crecimiento celular agregando 2% (p/v) de magnetita. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

Figura 9

Crecimiento celular con 5% de concentración de magnetita



Nota. Crecimiento celular agregando 5% (p/v) de magnetita. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

Como se observa existe un aumento en el número de bacterias conforme se aumenta la concentración de inductor, en el ensayo con 5% de magnetita se alcanza el valor máximo de células por mL con un valor de 2.93×10^8 cél/mL. El aumento de células está relacionado con la concentración de inductor, una relación directamente proporcional. Cabe mencionar que

esta relación está dada según el tipo de mineral y la composición mineralógica del mismo (Ramírez Oscco, n.d.).

Un aumento en el número de células conlleva a una mejora en la biooxidación, pues el mayor porcentaje de oxidación y en menor tiempo (días) se alcanza agregando la mayor cantidad de inductor (5% p/v).

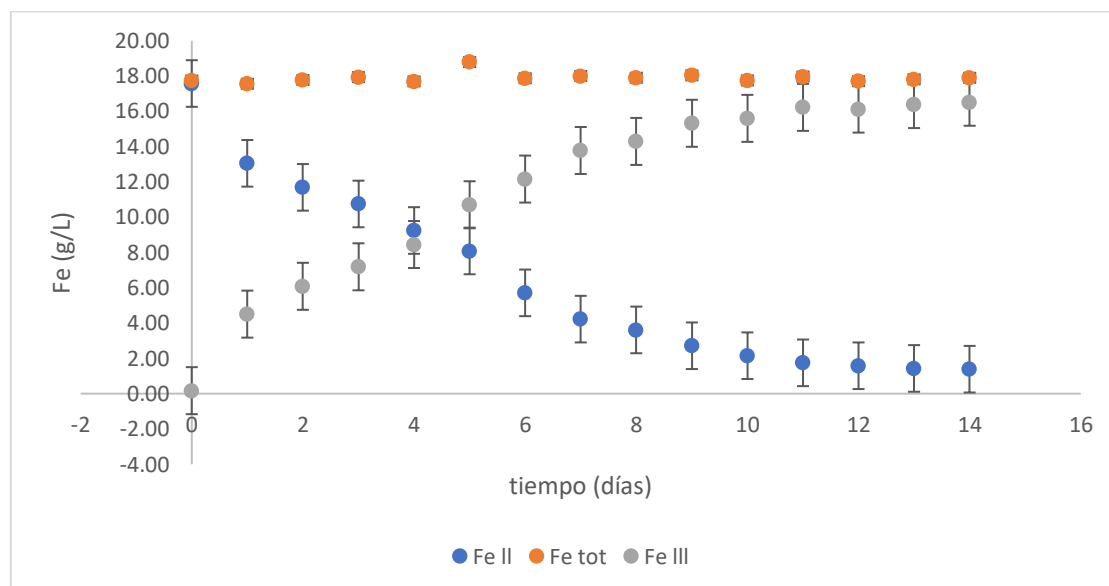
3.4 Determinación de Fe^{3+} y hierro total

3.4.1 Concentración de hierro para el control

Como se ha considerado a lo largo de las pruebas realizadas señalamos en un inicio el control, se muestra la concentración de Fe^{2+} , Fe^{3+} y hierro total dado los 14 días representado en la figura 10.

Figura 10

Producción de Fe^{3+} control



Nota. Representación de la oxidación de hierro II con respecto del tiempo. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

La concentración de hierro se expresa en g/L y se ha observado que la concentración de hierro total se mantiene constante a medida que avanza el tiempo, como se muestra en la Figura 10. Esta constancia en la concentración se debe a la relación de equilibrio de oxidación-reducción que existe entre los iones ferrosos y férricos.

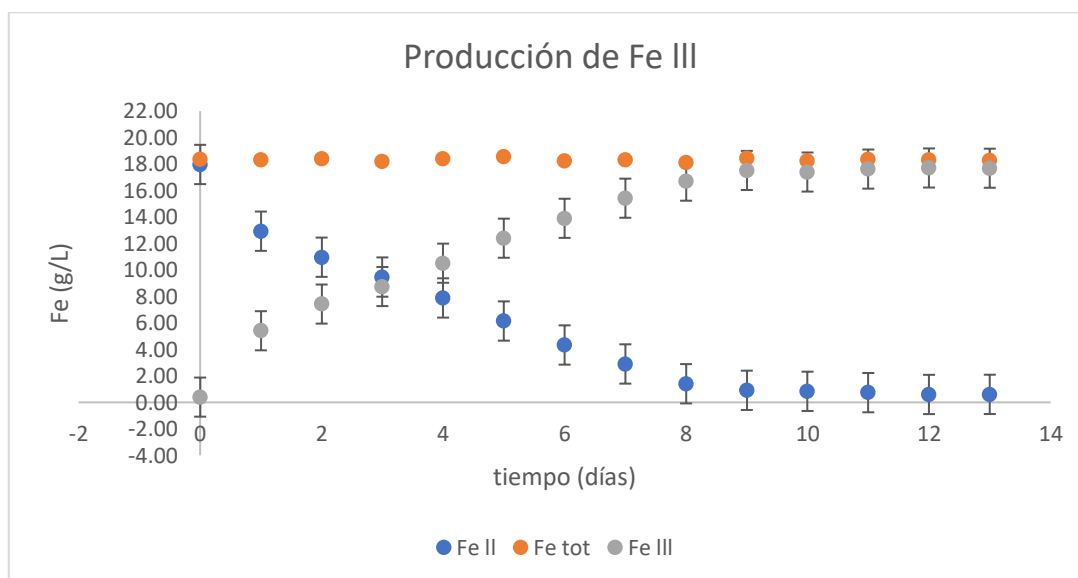
A medida que el ion ferroso se oxida, se produce la formación del ion férrico. Este proceso de oxidación implica una transferencia de electrones, donde el ion ferroso pierde electrones y se convierte en ion férrico (Boccio et al., 2003). Sin embargo, debido a la existencia de un equilibrio en el sistema, la concentración total de hierro se mantiene constante, ya que la formación de iones férricos es compensada por la oxidación de iones ferrosos.

3.4.2 Concentración de hierro cuando se agrega magnetita

La generación del ion férrico en estos casos no difiere de lo que sucede con el control, pero se da una generación en menor tiempo y esto es correcto considerando la oxidación presentada en el apartado 3.2.2, como se muestra en las Figuras 11, 12 y 13 para las distintas concentraciones de magnetita. Cabe mencionar el aumento de concentración de hierro total para los tres ensayos: de 18.10 g/L; 18.65 g/L y 20.03 g/L para las concentraciones de magnetita agregadas de 1%, 2% y 5% respectivamente.

Figura 11

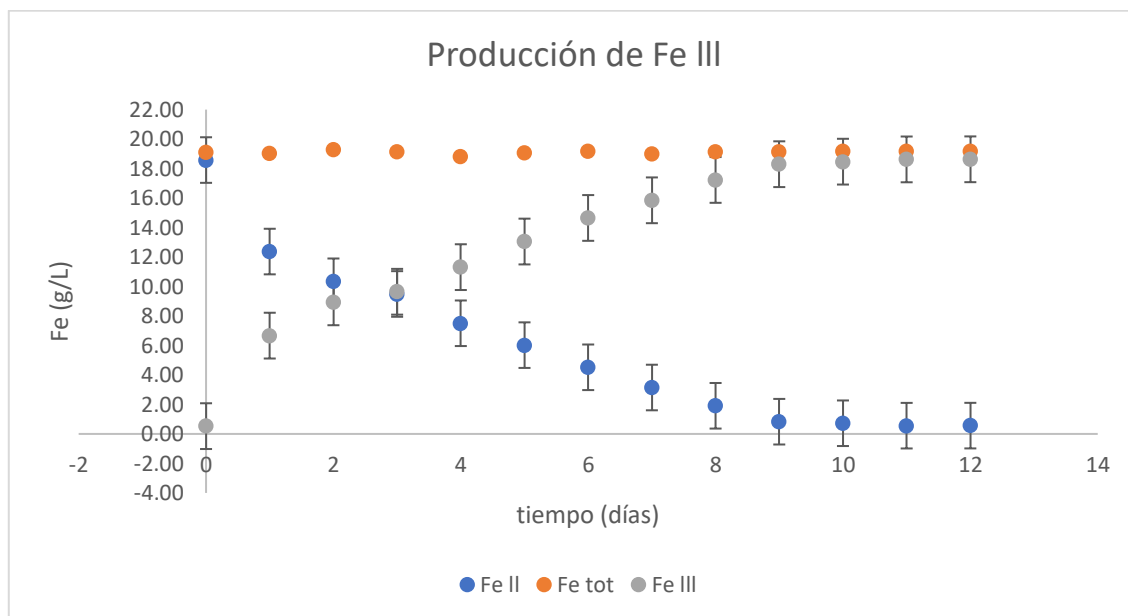
Producción de Fe³⁺ agregando 1% de magnetita



Nota. Representación de la oxidación de hierro II con respecto del tiempo para el ensayo con 1% (p/v) de magnetita. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

Figura 12

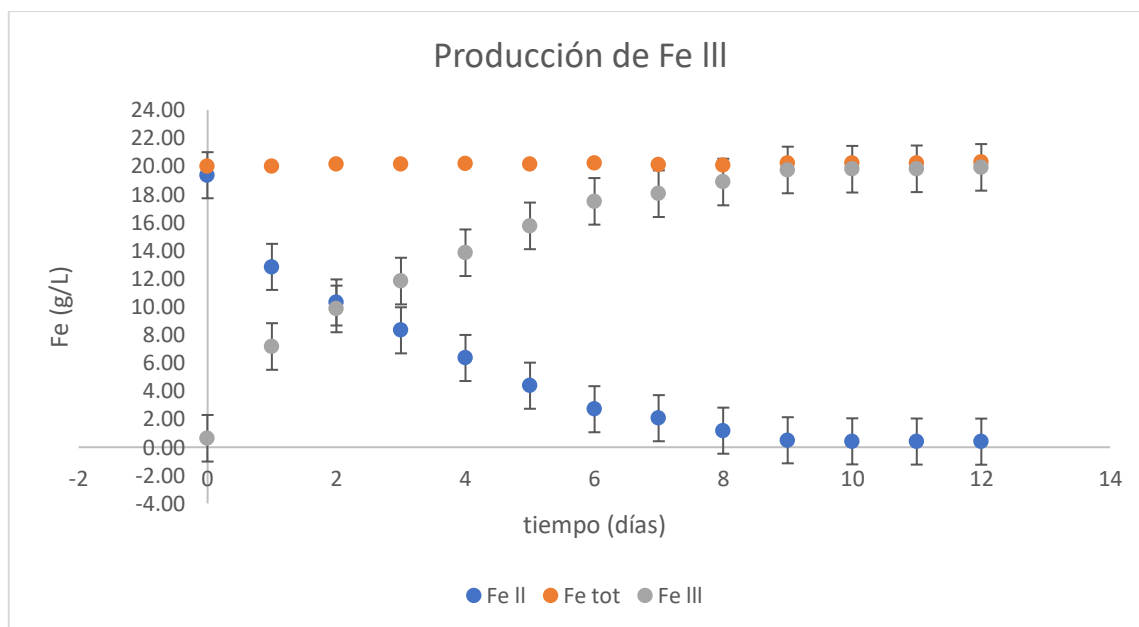
Producción de Fe³⁺ agregando 2% de magnetita



Nota. Representación de la oxidación de hierro II con respecto del tiempo para el ensayo con 2% (p/v) de magnetita. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

Figura 13

Producción de Fe³⁺ agregando 5% de magnetita



Nota. Representación de la oxidación de hierro II con respecto del tiempo para el ensayo con 5% (p/v) de magnetita. Los datos corresponden al valor medio \pm Desviación estándar.

El incremento en la concentración total de hierro está influenciado por la concentración del inductor (magnetita) respaldado por el artículo "Optimización de parámetros para la

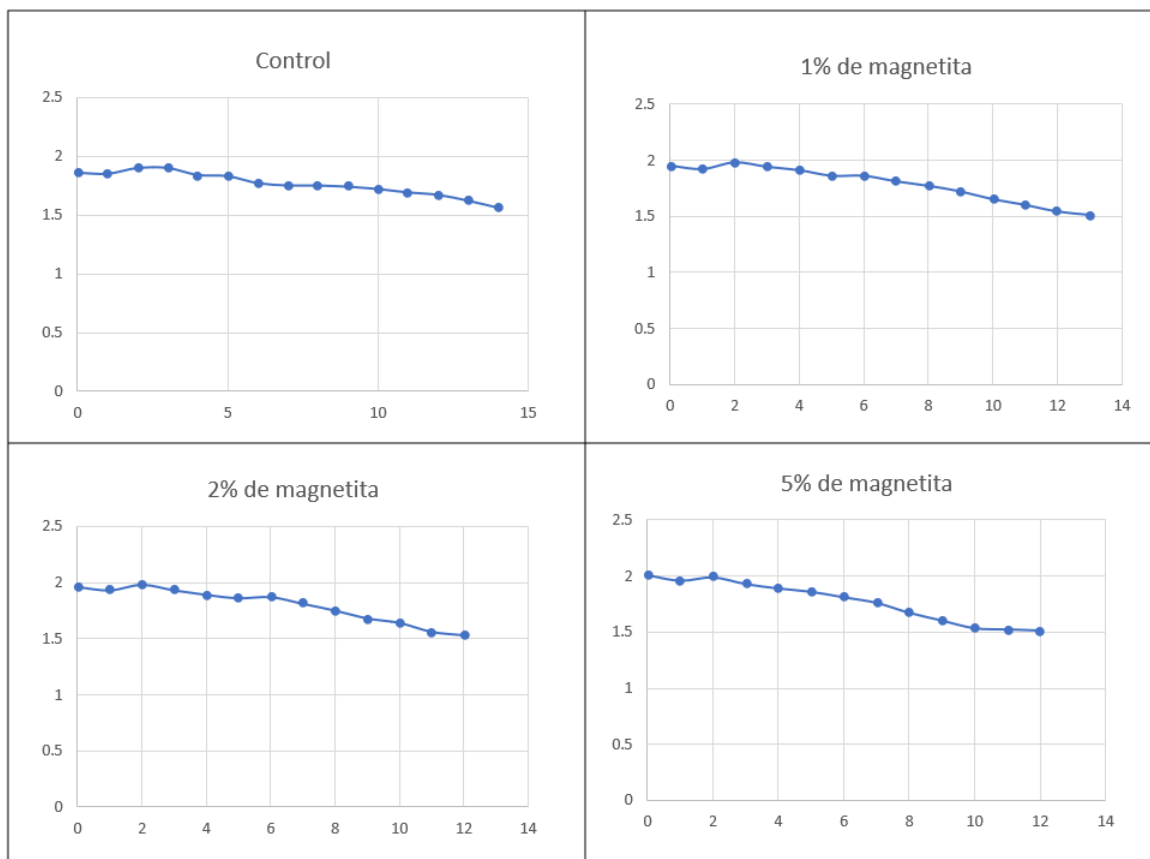
biooxidación de minerales polimetálicos del distrito minero de Portovelo”(Banegas, 2012). A medida que la concentración del inductor (magnetita, compuesta por Fe II y Fe III) aumenta, se observa un aumento en la concentración total de hierro, como se puede apreciar en las Figuras 11, 12 y 13 correspondientes a cada concentración. Este fenómeno puede estar relacionado con la capacidad de la magnetita para adsorber y retener el hierro presente en el sistema (González, 2016). A medida que aumenta la concentración del inductor (magnetita), se incrementa la superficie disponible para la adsorción del hierro, lo que resulta en un mayor contenido de hierro total.

3.4.3 Análisis de pH y potencial redox (Eh)

En la figura 14 se muestra el cambio que tuvo el pH desde el día cero hasta considerando el control y las pruebas con distintas concentraciones de magnetita.

Figura 14

Variación de pH durante la biooxidación



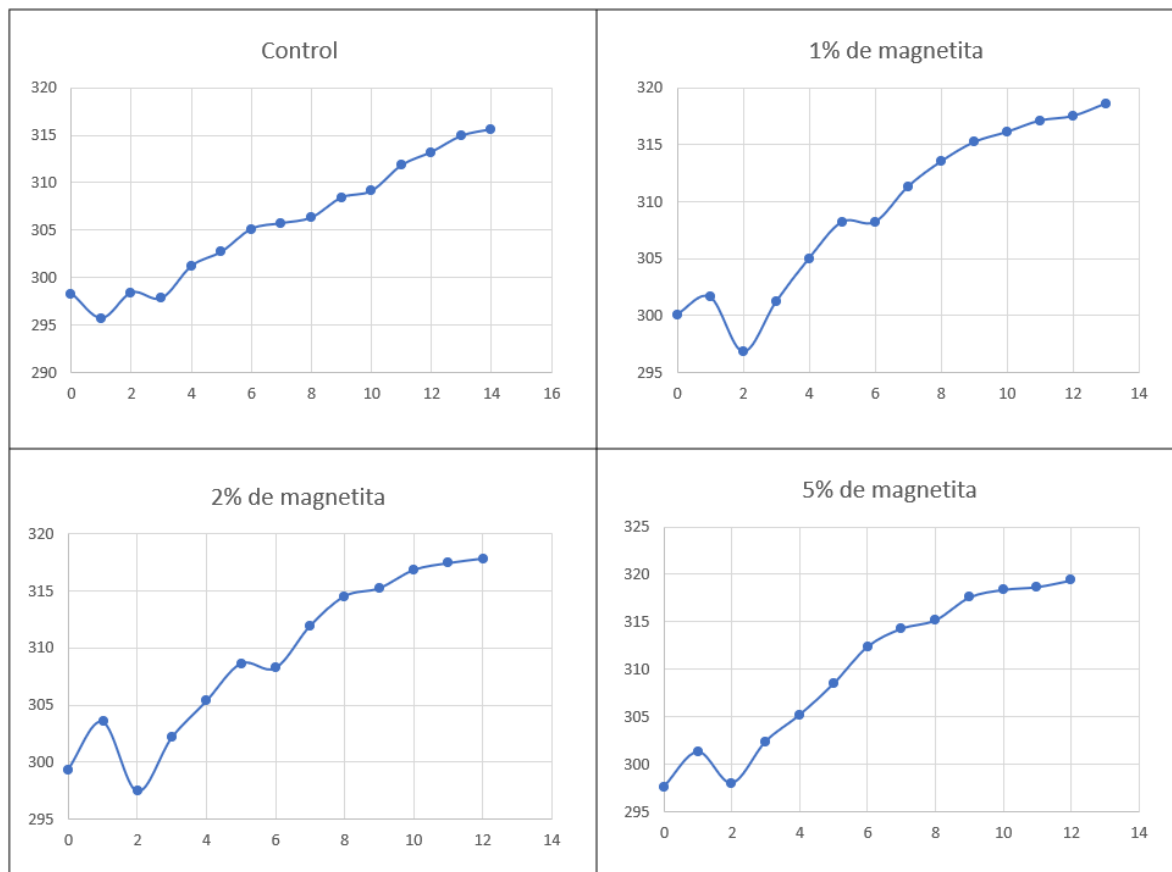
Nota. Valores de pH para cada prueba realizada.

En todos los casos, se observa una disminución del pH, aunque se parte de valores de pH diferentes. El valor de pH en el grupo de control fue de 1.86, mientras que en el grupo con una concentración de magnetita del 5% fue de 2.01 al inicio, presentando una disminución progresiva del pH a lo largo del tiempo de 1.56 y 1.51 respectivamente.

El potencial de redox (Figura 15), se muestra para cada una de las pruebas relacionadas, así mismo para las distintas concentraciones de magnetita y con el respectivo control para determinar el cambio con la aplicación de un inductor.

Figura 15

Variación de Eh durante la biooxidación



Nota. Valores de Eh para las pruebas realizadas de control para comparación a diferentes concentración de inductor.

La oxidación del Fe^{2+} se encuentra estrechamente relacionada con un incremento en el potencial redox (Eh). El potencial de redox es una medida de la capacidad de un sistema para aceptar o donar electrones. En el caso específico de la oxidación del Fe^{2+} , se produce una transferencia de electrones, lo cual resulta en un aumento en el potencial de redox como se aprecia en las gráficas de los ensayos realizados, notar que existe un ligero aumento en el Eh entre cada ensayo, este aumento se debe a la capacidad oxidativa mayor que existe al agregar el inductor.

3.5 Parámetros cinéticos

Los parámetros cinéticos calculados se reflejan a continuación (Tabla 4), se observa que la velocidad específica de crecimiento (μ_{max}) mayor se dio durante el ensayo control (sin

magnetita) con un valor de 0.108 h^{-1} . Del mismo modo con la velocidad específica de producción de Fe^{3+} (σ_p), con un valor de 0.21 h^{-1} . Por otro lado, la productividad volumétrica que representa la cantidad de biomasa generada en un volumen determinado de cultivo en un período de tiempo específico presentó el mayor valor en el ensayo con 5% de inductor con un valor de $1.60 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$. Para el parámetro de rendimiento, el cual representa la biomasa generada por cantidad de la fuente de energía consumida ($Y_{X/S}$), en los tres tratamientos que se agregó inductor presentan valores similares, en el ensayo control se observa un menor valor.

Tabla 4

Parámetros cinéticos calculados a diferentes concentraciones de magnetita

Conc. Inductor (%)	$\mu_{max} (\text{h}^{-1})$	Prod. Vol ($\text{gL}^{-1}\text{h}^{-1}$)	$\sigma_p (\text{h}^{-1})$	$Y_{X/S} (\text{g}_{\text{cél}}/\text{g}_S)$
0	0.108	1.166	0.21	0.005
1	0.080	1.330	0.17	0.007
2	0.102	1.508	0.14	0.007
5	0.181	1.606	0.15	0.009

Nota. μ_{max} = velocidad específica de crecimiento expresada en h^{-1} ; σ_p = velocidad específica de producción de Fe^{3+} expresada en h^{-1} ; $Y_{X/S}$ = Rendimiento en biomasa expresada en gramos de células por gramos de sustrato al máximo tiempo de crecimiento; Prod. Vol = Productividad volumétrica expresada en $(\text{gL}^{-1}\text{h}^{-1})$.

3.6 Análisis estadístico para diferente concentración de inductor

Culminado los ensayos y recolectado los diferentes datos, se realizó un análisis ANOVA para los parámetros de oxidación de Fe^{2+} (ver Apéndice C Tabla C.1), conteo celular (ver Tabla C.2), producción de Fe^{3+} (ver Tabla C.3) y hierro total (ver Tabla C.4).

El análisis realizado nos muestra que no existe una diferencia significativa entre los tres ensayos con diferente concentración de inductor y el ensayo control sin inductor, a excepción del parámetro de conteo celular en el que se obtiene un p-valor es de 0.0016, siendo este menor al valor de significancia ($\alpha = 0.05$). Es importante mencionar que, si bien no existe una diferencia significativa estadísticamente, la significancia práctica entre los ensayos con inductor

y ensayo control sin inductor es bastante notoria, pues, el ensayo con 5% de magnetita presenta un porcentaje de oxidación final de aproximadamente el 98% en un periodo de 12 días, a diferencia del ensayo control, que en un periodo de 14 días alcanzó el 92.12%.

Conclusiones

Mediante el presente estudio se determinó que el mayor porcentaje de oxidación del ion ferroso se obtuvo con la adición de 5% de magnetita como inductor, éste mineral debido a su alta concentración de Fe^{2+} aporta el suministro energético necesario para una optimización en el factor oxidativo de la bacteria *A. ferrooxidans*. Además, las interacciones galvánicas entre la magnetita y el mineral sulfurado mejora la disolución evitando la pasivación de este. Como se observó en la tabla 3, los porcentajes de oxidación son relativamente similares agregando magnetita como inductor, obteniendo en un periodo de 12 días un 96.66%; 97% y 97.95% de oxidación para concentraciones de 1, 2 y 5% respectivamente. Se evidencia la eficiencia de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* en presencia de un inductor, ya que optimiza la capacidad oxidativa de los sulfuros presentes en las betas que acompañan a los metales preciosos o en la recuperación de metales pesados.

Acidithiobacillus ferrooxidans es un microorganismo netamente oxidante de compuestos de hierro (Fe^{2+}) y azufre, convirtiendo estos compuestos insolubles o difícilmente solubles en compuestos solubles como son a ion Fe^{3+} y ácido sulfúrico. Como se observa en el ensayo control, se alcanza un 92.12% en 14 días, esta capacidad oxidativa se puede optimizar con la adición de un agente inductor rico en Fe^{2+} .

El aumento del potencial redox (Eh) indica la eficiente oxidación de Fe^{2+} , pues este microorganismo es capaz de oxidar iones ferrosos a férrico, del mismo modo el azufre. Así también, la disminución del pH nos indica el poder oxidativo de esta bacteria, pues estos factores presentan una relación inversamente proporcional.

Recomendaciones

Mantener el sistema de biooxidación controlado, puesto que existe la evaporación debido a la constante agitación y temperatura a la cual se lleva a cabo los ensayos.

Esterilizar medios, materiales y mineral a emplear para evitar la contaminación del sistema, ya sea por otros consorcios bacterianos o factores humanos.

Promover el estudio, optimización y escalado a niveles industriales en el Ecuador, pues es una alternativa más ecológica y novedosa en cuanto a la mejora en la disolución de minerales insolubles (sulfurados) para su posterior tratamiento en la recuperación de metales de interés.

Estudiar más a fondo sobre la concentración adecuada de magnetita, pues en estudios similares una mayor concentración no significa una óptima oxidación del mineral. Una mayor concentración puede conllevar a la inhibición de la bacteria, posteriormente problemas en el proceso.

Referencias

- Aguirre Chamba, P. (2015). La biominería aspira a proteger el ambiente y la rentabilidad.
- Arroyave, D., Márquez, M., Gallego, D., & Pacheco, G. (2009). Evaluation and mineralogical characterization of biooxidation process in a continuous stirred tank reactor. in año (vol. 77).
- Banegas, D. (2012). Optimización de parámetros para la biooxidación de minerales polimetálicos del distrito minero Portovelo.
- Bernardelli, C., Plaza, J., Urbieto, M. S., & Donati, E. R. (2017). Biominería: Los Microorganismos en la Extracción y Remediación de Metales. *Artículos Técnicos*, 368, 47–56.
- Boccio, J., Salgueiro, J., Lysionek, A., Zubillaga, M., Goldman, C., & Weill, R. (2003). Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. ISSN 0004-0622.
- Breed, A. W., & Hansford, G. S. (1999). Studies on the mechanism and kinetics of bioleaching. In *Minerals Engineering* (Vol. 12, Issue 4).
- Calam, C. (2021, July 7). Biominería. ThermoFisher. <https://www.thermofisher.com/blog/cienciaacelerada/mineria/biomineria-en-la-luna/#:~:text=El%20sitio%20web%20de%20American,han%20sido%20contaminados%20con%20metales.>
- Calvo, M. (2014, November 4). Biomineria o biolixiviacion. https://prezi.com/twzpzg_bp7s/biomineria-o-biolixiviacion/
- Chandra Sekhar, G., Dong-Jin, K., & Ata, A. (2012). Biohydrometallurgy and Biomineral Processing Technology: A Review on its Past, Present and Future Removal and Recovery of Mercury from Waste Fluorescent Lamps View project Book project on the various developments in this area View project. www.isca.in
- Díaz Banegas, E. D., & Aguirre Chamba, P. I. (2012). Optimización de parámetros para la biooxidación de minerales polimetálicos del distrito minero Portovelo. Universidad Técnica Particular de Loja.

- Fleming, C. A. (1992). *Hydrometallurgy of precious metals recovery* (Vol. 30). Elsevier Science Publishers.
- García, N., & Vázquez, V. (2014). 305574-Article Text-429658-1-10-20160219.
- González, A. (2016). Ensamblado de nanopartículas de magnetita a sólidos porosos por interacción con ferrofluidos para el desarrollo de materiales multifuncionales.
- Iglesias, N., & Carranza, F. (1994). Refractory gold-bearing ores: a review of treatment methods and recent advances in biotechnological techniques. In *Hydrometallurgy* (Vol. 34).
- InfoECSA. (2021, August 3). La mina de cobre Mirador, un modelo de cooperación China-Ecuador La mina de cobre Mirador es un modelo de cooperación China-Ecuador. <https://ecsa.com.ec/index.php/es/component/k2/item/8-2021-08-02-16-33-56>
- Jaramillo, K., & Aguirre, P. (2014). Influencia de los parámetros de agitación y aireación en la biooxidación de un mineral aurífero refractario.
- Johnson, D. B. (2014). Biomining-biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. In *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 30, pp. 24–31). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.04.008>
- Kim, T. W., Kim, C. J., Yong, K. C., Ryu, H. W., & Cho, K. S. (2002). Development of an optimal medium for continuous ferrous iron oxidation by immobilized *Acidithiobacillus ferrooxidans* cells. *Biotechnology Progress*, 18(4), 752–759. <https://doi.org/10.1021/bp020289j>
- Muir, M. K., & Andersen, T. N. (1977). Determination of ferrous iron in copper-process metallurgical solutions by the o-phenanthroline colorimetric method. *Metallurgical Transactions B*, 8(2), 517–518. <https://doi.org/10.1007/BF02696942>
- Ramírez Oscco, L. A. (n.d.). Biolixiviación del cobre en minerales sulfurados refractarios como proceso preliminar para la lixiviación de oro por cianuración.
- Rawlings, D. E., Dew, D., & Du Plessis, C. (2003). Biomineralization of metal-containing ores and concentrates. <http://tibtec.trends.com>
- Saavedra, A., & Cortón, E. (2014). Biotecnología microbiana aplicada a la minería.

- Saavedra, A., García-Meza, J. V., Cortón, E., & González, I. (2018a). Understanding galvanic interactions between chalcopyrite and magnetite in acid medium to improve copper (Bio)Leaching. *Electrochimica Acta*, 265, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.01.169>
- Saavedra, A., García-Meza, J. V., Cortón, E., & González, I. (2018b). Understanding galvanic interactions between chalcopyrite and magnetite in acid medium to improve copper (Bio)Leaching. *Electrochimica Acta*, 265, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.01.169>
- Schippers, A. (2007). Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. <http://www.bacterio.cict.fr/>
- Universidad autónoma de Ciudad de Juárez. (2016). ¿Que son los minerales?
- Watling, H. R. (2006). The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - A review. *Hydrometallurgy*, 84(1–2), 81–108. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.05.001>

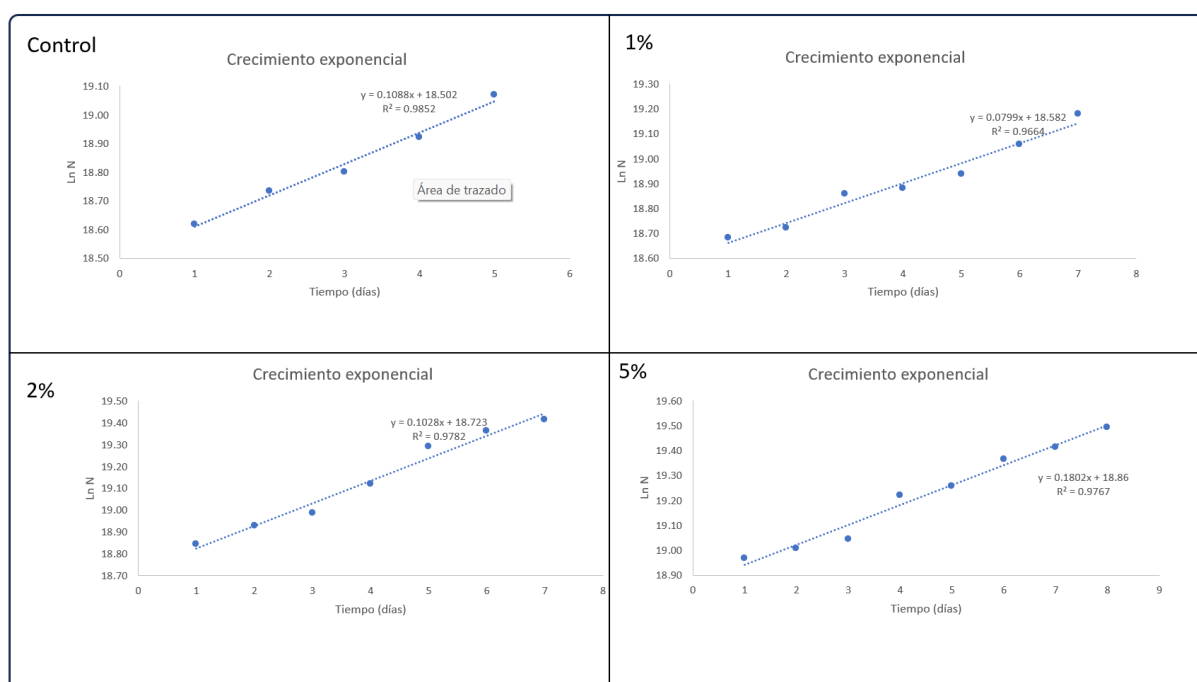
Apéndice

Apéndice A. Determinación de la velocidad específica de crecimiento (μ_{max})

Para la determinación de la velocidad específica de crecimiento (μ_{max}) se graficó el logaritmo natural del conteo celular en el tiempo de fase exponencial, correspondiendo μ_{max} a la pendiente de la recta resultante.

Figura A.1

*Determinación de las velocidades de crecimiento específicas (μ_{max}) para *A. ferrooxidans* en los ensayos realizados con y sin magnetita*



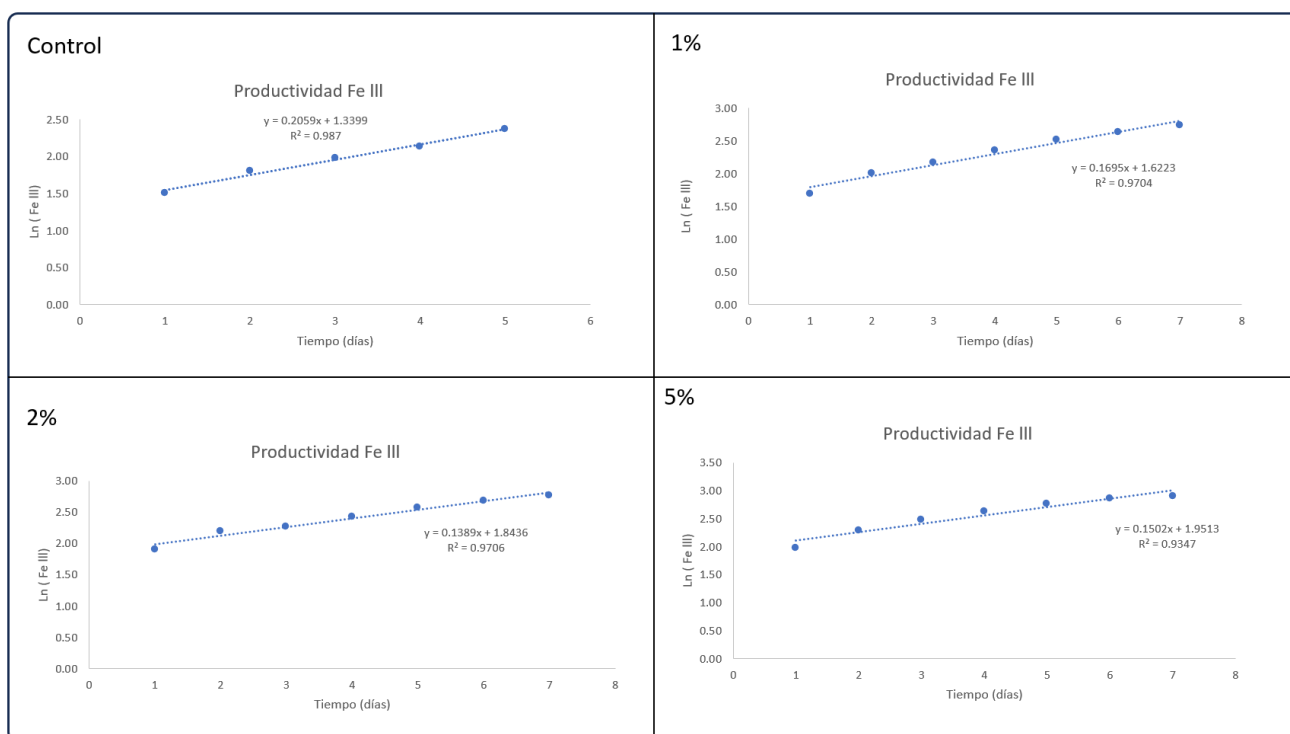
Nota. Velocidad de crecimiento específico (μ_{max}) para *A. ferrooxidans*. Ensayo control (0% magnetita), 1%, 2% y 5%.

Apéndice B. Determinación de la velocidad específica de producción (σ_p)

Para la determinación de la velocidad específica de producción (σ_p) se graficó el logaritmo natural de la concentración de iones férricos y sulfatos, respectivamente, producidos en el tiempo de fase exponencial, correspondiendo σ_p a la pendiente de la recta resultante.

Figura C.1

*Determinación de la velocidad específica de producción (σ_p) para *A. ferrooxidans**



Nota. Velocidad específica de producción (σ_p) para para *A. ferrooxidans* Ensayo control (0% magnetita), 1%, 2% y 5%.

Apéndice C. ANOVA para los parámetros de cinética de biooxidación.

Se realizó un análisis estadístico ANOVA para los parámetros de oxidación de Fe^{2+} , conteo celular, producción de Fe^3 y hierro total.

Tabla C.1

ANOVA para porcentaje de oxidación

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Control	13	775.73	59.67153846	837.103597		
1% (Fe3O4)	13	871.34	67.02615385	965.622609		
2% (Fe3O4)	13	888.82	68.37076923	902.026124		
5% (Fe3O4)	13	942.47	72.49769231	933.136935		
				4		
				4		
				9		
				9		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1114.926877	3	371.6422923	0.40863507		
Dentro de los grupos	43654.6712	48	909.4723167	9	0.747496562	2.798060635
Total	44769.59808	51				
	Control	1% (Fe3O4)	2% (Fe3O4)	5% (Fe3O4)		
Control	1					
1% (Fe3O4)	0.995588679	1				
2% (Fe3O4)	0.99406077	0.998009108	1			
5% (Fe3O4)	0.978871484	0.991209608	0.99274933	1		

Nota. ANOVA de un solo factor realizado para el porcentaje de oxidación de los 4 ensayos realizados.

Tabla C.2

ANOVA para conteo celular

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Control	13	2220000000	170769230.8	1.13903E+		
1% (Fe3O4)	13	2344000000	180307692.3	1.60006E+		
2% (Fe3O4)	13	2769000000	213000000	2.08933E+		
5% (Fe3O4)	13	3050000000	234615384.6	2.85509E+		
				15		
				15		
				15		
				15		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.39173E+16	3	1.13058E+16	5.8857260		
Dentro de los grupos	9.22022E+16	48	1.92088E+15	13	0.001663621	2.798060635
Total	1.26119E+17	51				
	Control	1% (Fe3O4)	2% (Fe3O4)	5% (Fe3O4)		
Control	1					
1% (Fe3O4)	0.892831319	1				
2% (Fe3O4)	0.984715972	0.89344688	1			
5% (Fe3O4)	0.938207813	0.978328667	0.932559214	1		

Nota. ANOVA de un solo factor realizado para el conteo celular de los 4 ensayos realizados.

Tabla C.3

ANOVA para producción de Fe³⁺

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Control	13	232.72	17.90153846	0.090597 436		
1% (Fe3O4)	13	238.31	18.33153846	0.011980 769		
2% (Fe3O4)	13	248.46	19.11230769	0.012919 231		
5% (Fe3O4)	13	261.94	20.14923077	0.008374 359		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	37.99834423	3	12.66611474	409.0072 242	3.61933E-34	2.798060635
Dentro de los grupos	1.486461538	48	0.030967949			
Total	39.48480577	51				
				5% (Fe3O4)		
Control	1					
1% (Fe3O4)	0.485820958	1				
2% (Fe3O4)	-0.010586382	-0.282973164	1			
5% (Fe3O4)	0.062672644	0.084987556	0.219705445	1		

Nota. ANOVA de un solo factor realizado para la concentración de Fe total de los 4 ensayos realizados.