

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**DISEÑO CONCEPTUAL DE UN REACTOR BATCH PARA LA
PRECIPITACIÓN DE HIERRO DE UN EFLUENTE DE
CIANURACIÓN MEDIANTE EL USO DE UN CONSORCIO DE
BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
QUÍMICO**

BRIGITTE ESTEFANIA RIVILLA CUEVA

DIRECTOR: ING. IRINA LÓPEZ

CODIRECTOR: Ph.D. DIANA ENDARA

Quito, enero 2016

© Escuela Politécnica Nacional (2016)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Brigitte Estefania Rivilla Cueva, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Brigitte Rivilla

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Brigitte Estefanía Rivilla Cueva, bajo mi supervisión.

Ing. Irina López Herrera
DIRECTOR DE PROYECTO

Ph.D. Diana Endara
CODIRECTOR DE PROYECTO

AUSPICIO

La presente investigación contó con el auspicio financiero del proyecto “Diseño conceptual de un reactor batch para la precipitación de hierro de un efluente de cianuración mediante el uso de un consorcio de Bacterias Sulfato Reductoras”, que se ejecutó en el Laboratorio de Microbiología del Área de Remediación Ambiental del Grupo Minero Bonanza

AGRADECIMIENTO

A Dios le agradezco por todo lo que me ha regalado en esta vida y por siempre iluminar mi camino.

A mis padres y mi hermano, mi bella familia que siempre estuvo a mi lado para alentarme y aconsejarme en todo momento.

A mi esposo Marco Naranjo por apoyarme incondicionalmente con su manera tan especial, gracias por todo amor.

A mis amigas Jhoana, Raquel, Anita, Mishell, Jenny y Vero por compartir una vida universitaria donde entablamos una linda amistad, gracias amigas por los buenos momentos.

A mi directora de tesis Ing. Irina López y a Luis López por las enseñanzas brindadas en el desarrollo del proyecto.

A mi codirectora Ph.D. Diana Endara por el apoyo brindado en el desarrollo del proyecto

Al Grupo Minero Bonanza por brindarme la oportunidad de realizar mi proyecto de tesis en sus laboratorios de alta tecnología.

A la Escuela Politécnica Nacional y sus docentes por la formación profesional brindada en cada aula de la facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial.

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico a mis padres Isidro Rivilla y Fabiola Cueva quienes han sido los ángeles que han guiado mi camino con su amor incondicional, su apoyo ilimitado y su gran ejemplo de lucha y perseverancia

También dedico este trabajo a mi hija Sarita Isabella ya que mientras ella crecía en mi vientre me acompañaba todas las noches de tesis con sus pataditas.

Y a ti hermano Mauricio te dedico este trabajo esperando que nunca dejes de luchar por lo que deseas aun cuando la situación sea adversa, siempre al final del camino esta tu recompensa

Para mis padres, hija y hermano con todo mi amor y agradecimiento

ÍNDICES DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	xiii
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. Biorremediación	1
1.1.1. Biorremediación: generalidades	1
1.1.2. Técnicas de biorremediación	3
1.1.3. Biorremediación de metales pesados	5
1.1.3.1. Contaminación por metales pesados	5
1.1.3.2. Metales pesados	9
1.1.3.3. Procesos de biorremediación para el tratamiento de la contaminación por metales pesados	11
1.2. Bacterias sulfato reductoras, características y sistemas de reducción de sulfato	14
1.2.1. Bacterias sulfato reductoras: generalidades	14
1.2.2. Clasificación de SRB	15
1.2.3. Crecimiento bacteriano en cultivos discontinuos (sistemas batch)	16
1.2.4. Proceso de sulfato reducción	23
1.2.4.1 Generalidades	23
1.2.4.2 Bioquímica del proceso de reducción desasimilatorio de sulfato	24
1.2.4.3 Proceso de sulfato reducción para la bioprecipitación de metales pesados	25
1.2.4.4 Factores que afectan el proceso de sulfato reducción	27
2. PARTE EXPERIMENTAL	30
2.1. Determinación de los parámetros químicos iniciales del efluente de cianuración	30
2.1.1. Medición de pH	30
2.1.2. Determinación de la concentración de sulfatos	31
2.1.3. Determinación de la concentración de cianuro total	31
2.1.4. Determinación de la concentración del metal pesado hierro	32
2.2. Análisis del efecto de la variación de concentración del ión metálico Fe ⁺² en la resistencia bacteriana de un consorcio de bacterias sulfato reductoras	32
2.2.1. Preparación del medio postgate c modificado y formación del inóculo de bacterias sulfato reductoras	32
2.2.2. Preparación de las soluciones de hierro a partir de soluciones estándares	33

2.2.3. Control de crecimiento o densidad poblacional de las bacteria sulfato reductoras	34
2.3. Evaluación cualitativa y cuantitativa de la producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S) de un consorcio de bacterias sulfato reductoras	35
2.3.1. Determinación cualitativa de producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S)	36
2.3.2. Determinación cuantitativa de producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S)	36
2.4. Definición de los parámetros de operación del proceso de precipitación biológica de hierro mediante un consorcio de bacterias sulfato reductoras	38
2.4.1. Ajuste de pH	38
2.4.2. Adaptación de las bacterias sulfato reductoras al efluente de cianuración	39
2.4.3. Determinación de cinética de crecimiento bacteriano	41
2.4.4. Determinación de la población bacteriana o densidad poblacional	42
2.4.5. Determinación de la precipitación de hierro del elfuente de cianuración variando la concentración de la fuente de carbono (ácido láctico)	43
2.4.6. Determinación de la precipitación de hierro del elfuente de cianuración variando la concentración de inóculo de bacterias sulfato reductoras	45
2.5. Diseño conceptual de un reactor batch de 22 m ³ de capacidad para la precipitación de hierro de un efluente de cianuración mediante el uso de un consorcio de bacterias sulfato reductoras	46
2.5.1 Determinación de la cinética de reacción	47
2.5.2 Ecuaciones de diseño del reactor batch	47
2.5.3 Dimensionamiento del reactor batch	48
2.5.4 Estimación de costos del diseño del reactor batch	48
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
3.1. Resultados de la determinación de los parámetros químicos iniciales del efluente de cianuración.	49
3.1.1. Resultados de pH	49
3.1.2. Resultados de la concentración de sulfatos	50
3.1.3. Resultados de la concentración de cianuro total	51
3.1.4. Resultados de la concentración de hierro	51
3.2. Resultados del análisis del efecto de la variación de concentración del ión metálico Fe ²⁺ en la resistencia bacteriana de un consorcio de bacterias sulfato reductoras.	52
3.2.1. Resultados de la preparación del medio postgate c modificado y formación del inóculo de bacterias sulfato reductoras	53
3.2.2. Resultados de la preparación de las soluciones de hierro a distintas concentraciones	55

3.2.3.	Resultados de control de crecimiento o densidad poblacional de las bacterias sulfato reductoras	55
3.3.	Resultados de la evaluación cualitativa y cuantitativa de la producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S) de un consorcio de bacterias sulfato reductoras	57
3.3.1.	Resultados de la determinación cualitativa de producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S)	57
3.3.2.	Resultados de la determinación cuantitativa de producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S)	58
3.3.2.1.	Resultados de la determinación de sulfatos (SO ₄ ⁻²)	58
3.3.2.2.	Resultados de la concentración de sulfuros (S ⁻²)	59
3.4.	Resultados de los parámetros de operación del proceso de precipitación biológica de hierro mediante un consorcio de bacterias sulfato reductoras	61
3.4.1.	Resultados del ajuste de pH	61
3.4.2.	Resultado de la adaptación de las bacterias sulfato reductoras al efluente de cianuración	61
3.4.3.	Resultados de la determinación de cinética de crecimiento bacteriano	63
3.4.4.	Resultados de la determinación de la población bacteriana o densidad poblacional	66
3.4.5.	Resultados de la determinación de la precipitación de hierro del efluente de cianuración variando la concentración de la fuente de carbono (ácido láctico)	67
3.4.6.	Resultados de la determinación de la precipitación de hierro del efluente de cianuración variando la concentración de inóculo de bacterias sulfato reductoras	79
3.5.	Resultados del diseño conceptual de un reactor batch de 22 m ³ de capacidad para la precipitación de hierro de un efluente de cianuración mediante el uso de un consorcio de bacterias sulfato reductoras	86
3.5.1.	Resultados de la determinación de la cinética de reacción	86
3.5.2.	Resultados de las ecuaciones del diseño del reactor batch	88
3.5.3.	Resultados del dimensionamiento del reactor batch	90
3.5.4.	Esquema del reactor batch	93
3.5.5.	Resultados de la estimación de costos del diseño del reactor batch de 22 m ³	95
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	96
4.1.	Conclusiones	96
4.2.	Recomendaciones	98

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

99

ANEXOS

108

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 1.1.	Principales fuentes industriales de generación de sustancias contaminantes	6
Tabla 1.2.	Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce	7
Tabla 1.3.	Concentraciones tóxicas de algunos metales pesados sobre bacterias sulfato reductoras	29
Tabla 2.1.	Composición del medio de cultivo Postgate C modificado	33
Tabla 2.2.	Cantidades volumétricas de medio Postgate C modificado y efluente de cianuración empleados en la formación del medio de cultivo para la adaptación bacteriana	39
Tabla 2.3.	Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración y al medio Postgate C modificado	40
Tabla 2.4.	Cantidades volumétricas de medio Postgate C modificado y efluente de cianuración empleados en la formación del medio de cultivo para la determinación de cinética de crecimiento	41
Tabla 2.5.	Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración y al medio Postgate C modificado para la determinación de cinética de crecimiento	41
Tabla 2.6.	Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración para la determinación de la población bacteriana	43
Tabla 2.7.	Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración para la determinación de la precipitación de hierro	44
Tabla 2.8.	Cantidades volumétricas adicionadas de inóculo de SRB al efluente de cianuración	46
Tabla 3.1.	Valores de pH del efluente de cianuración	49
Tabla 3.2.	Concentración de sulfatos (SO ₄) ⁻² presentes en el efluente de cianuración	50
Tabla 3.3.	Concentración de cianuro total (CN ⁻) presente en el efluente de cianuración	51
Tabla 3.4.	Concentración de hierro total presente en el efluente de cianuración	52
Tabla 3.5.	Cantidades añadidas de solución estándar de hierro para la preparación de soluciones de hierro a 50 ppm, 150 ppm y 300 ppm	55
Tabla 3.6.	Combinaciones de la escala de adaptación bacteriana con crecimiento de biomasa	62

Tabla 3.7.	Combinaciones de la escala de adaptación bacteriana con crecimiento de biomasa y tiempos de crecimiento	63
Tabla 3.8.	Parámetros cinéticos de crecimiento de bacterias SRB	65
Tabla 3.9.	Resultados comparativos de la precipitación de hierro a diferentes concentraciones de inóculo de bacterias a una temperatura de 28 °C	81
Tabla 3.10.	Resultados comparativos de la precipitación de hierro a diferentes concentraciones de inóculo de bacterias a una temperatura de 35 °C	84
Tabla 3.11.	Condiciones iniciales del proceso de precipitación biológica de hierro	89
Tabla 3.12.	Dimensiones del reactor batch de 22m ³ de capacidad	91
Tabla 3.13.	Especificaciones del calentador de inmersión cilíndrico para el reactor batch	92
Tabla 3.14.	Detalle de la estimación de costos del diseño del reactor batch	95
Tabla AII.1.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=28 °C	115
Tabla AII.2.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=28 °C (repetición 2)	115
Tabla AII.3.	Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C	117
Tabla AII.4.	Porcentaje de precipitación de hierro del efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C	117
Tabla AII.5.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración a 2,5 % de ácido láctico, T= 35 °C	118
Tabla AII.6.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 2)	119
Tabla AII.7.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 3)	120
Tabla AII.8.	Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=35 °C	121
Tabla AII.9.	Porcentaje de precipitación de hierro del efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C	121
Tabla AII.10.	Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C	122
Tabla AII.11.	Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C	123
Tabla AII.12.	Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a una concentración de 2,5 % de ácido láctico, T= 35 °C	124

Tabla AII.13.	Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 2)	125
Tabla AII.14.	Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=35 °C (repetición 3)	126
Tabla AII.15.	Producción promedio de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=35 °C	127
Tabla AII.16.	Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a una concentración de 2,5 % de ácido láctico, T= 35 °C	128
Tabla AII.17.	Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 2)	129
Tabla AII.18.	Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 3)	130
Tabla AII.19.	Reducción promedio de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C	131
Tabla AII.20.	Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, concentración de ácido láctico 2,5 %, T=28 °C	132
Tabla AII.21.	Porcentaje de precipitación de hierro del efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, concentración de ácido láctico 2,5 %, T=28 °C	132
Tabla AII.22.	Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, concentración de ácido láctico 2,5 %, T=35 °C	133
Tabla AII.23.	Porcentaje de precipitación de hierro del efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, concentración de ácido láctico 2,5 %, T=35 °C	133
Tabla AIII.1.	Resultados del control de crecimiento bacteriano, utilizando como medio efluente de cianuración con diferentes concentraciones de ácido láctico	134
Tabla AIII.2.	Datos obtenidos para la regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial. Medio: efluente de cianuración. Concentración de ácido láctico 1,0 %	135
Tabla AIII.3.	Datos obtenidos para la regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial. Medio: efluente de cianuración. Concentración de ácido láctico 2,5 %	136
Tabla AIII.4.	Datos obtenidos para la regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial. Medio: efluente de cianuración. Concentración de ácido láctico 5,0 %	137

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.1.	Mecanismos biológicos involucrados en la remoción de metales	12
Figura 1.2.	Curva de crecimiento bacteriano en sistemas discontinuos	17
Figura 1.3.	Gráfica semilogaritmica de la fase de crecimiento exponencial	20
Figura 1.4.	Mecanismo de reducción desasimilatoria (a) y asimilatoria (b) de sulfato en el proceso de sulfato-reducción	23
Figura 1.5.	Rango de pH para una precipitación selectiva de metales pesados	26
Figura 2.1.	Siembras de bacterias sulfato reductoras para la determinación de la densidad poblacional por el método de NMP	35
Figura 2.2.	Siembras de bacterias sulfato reductoras para la prueba de adaptación bacteriana	40
Figura 2.3.	Siembras de bacterias sulfato reductoras para la prueba de cinética de crecimiento	42
Figura 3.1.	Preparación del medio Postgate C modificado: a) formación de precipitados blanquecinos de cal, b) medio Postgate C modificado clarificado	54
Figura 3.2.	Inóculo de bacterias sulfato reductoras obtenidas a partir de la cepa LIBZA1	54
Figura 3.3.	Densidad poblacional de SRB a diferentes concentraciones de hierro, en medio Postgate C modificado, T= 35 °C, concentración de inóculo de SRB=1,0 %	56
Figura 3.4.	Reducción de sulfato en medio Postgate C modificado, T=35 °C concentración de inóculo=1,0 %	58
Figura 3.5.	Producción de sulfuro en medio Postgate C modificado, T=35 °C, concentración de inóculo=1,0 %	59
Figura 3.6.	Producción de sulfuro y reducción de sulfato en medio Postgate C modificado, T=35 °C, concentración de inóculo=1,0 %	60
Figura 3.7.	Curva de crecimiento bacteriano de SRB con ácido láctico como fuente de carbono a diferentes concentraciones, medio: efluente de cianuración, T=35 °C	64
Figura 3.8.	Densidad poblacional de SRB a diferentes concentraciones de ácido láctico, utilizando como medio efluente de cianuración, T=35°C, concentración de inóculo de SRB=1,0 %	66
Figura 3.9.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	67

Figura 3.10.	Precipitación de hierro del efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	68
Figura 3.11.	Producción de sulfuro, medio efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	70
Figura 3.12.	Reducción de sulfato, medio efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	71
Figura 3.13.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración, T= 35 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	73
Figura 3.14.	Precipitación de hierro del efluente de cianuración, T= 35 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	74
Figura 3.15.	Producción de sulfuro, medio efluente de cianuración, T= 35 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	76
Figura 3.16.	Reducción de sulfato, medio: efluente de cianuración, T= 35°C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)	78
Figura 3.17.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración ácido láctico FC=2,5 %, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)	80
Figura 3.18.	Precipitación de hierro del efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración fuente de carbono FC=2,5 %, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)	81
Figura 3.19.	Concentración de hierro en el efluente de cianuración, T= 35 °C, concentración fuente de carbono FC=2,5 %, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)	83
Figura 3.20.	Precipitación de hierro en el efluente de cianuración, T= 35 °C, concentración fuente de carbono FC=2,5 %, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)	85
Figura 3.21.	Regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para la curva de crecimiento bacteriano con una concentración de ácido láctico FC2= 2,5 %, T= 35 °C, medio: efluente de cianuración	87
Figura 3.22.	Resolución gráfica de la ecuación de diseño del reactor batch para la concentración de bacterias y la concentración de hierro en el efluente de cianuración	90
Figura 3.23.	Esquema del reactor batch	94

Figura AI. 1.	Procedimiento gráfico para la lectura de sulfatos en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)	110
Figura AI. 2.	Procedimiento gráfico para la lectura de sulfuro en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)	112
Figura AI. 3.	Procedimiento gráfico para la lectura de cianuro total en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)	114
Figura AIII. 1.	Regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para una concentración de ácido láctico FC1: 1,0 %	138
Figura AIII. 2.	Regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para una concentración de ácido láctico FC2: 2,5 %	138
Figura AIII. 3.	Regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para una concentración de ácido láctico FC3: 5,0 %	139
Figura AIII. 4.	Gráfica de línea ajustada para la prueba FC1 (C.A: 1,0 %), regresión cuadrática	139
Figura AIII. 5.	Gráfica de línea ajustada para la prueba FC2 (C.A: 2,5 %), regresión cuadrática	140
Figura AIII. 6.	Gráfica de línea ajustada para la prueba FC3 (C.A: 5,0 %), regresión cuadrática	140

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	
Protocolos de operación del espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)	109
ANEXO II	
Resultados completos de las pruebas de precipitación de hierro, consumo de sulfatos y producción de sulfuros	115
ANEXO III	
Análisis estadístico XLSTAT	134
ANEXO IV	
Formulación de las ecuaciones de diseño del reactor batch de 22 m ³	141
ANEXO V	
Dimensionamiento del reactor batch de 22 m ³	144
ANEXO VI	
Estimación de costos del diseño del reactor batch de 22 m ³	147

RESUMEN

Los efluentes líquidos procedentes de la actividad minera son contaminantes potenciales que presentan altas concentraciones de sólidos, sulfatos y metales pesados en forma soluble como Fe, Mn, Al, Cu y Cd. El objetivo del presente trabajo es realizar un diseño conceptual de un reactor batch para la precipitación biológica de hierro de un efluente de cianuración mediante un consorcio de bacterias sulfato reductoras que producen sulfuro biogénico para precipitar los metales pesados en forma de sulfuros metálicos.

En primer lugar se determinó la concentración de ácido láctico, para ello se llevó a cabo ensayos a diferentes concentraciones 1,0 %, 2,5 % y 5,0 %, mientras que para la concentración de inóculo de bacterias se realizaron ensayos con concentraciones del 2,0 % y 5,0 %. Las pruebas consistieron en realizar análisis de resistencia bacteriana, densidad poblacional, crecimiento bacteriano, reducción de sulfatos, producción de sulfuros y precipitación de hierro. De igual manera para determinar la temperatura de operación se trabajó a dos temperaturas de 28 °C y 35 °C, el tiempo de operación fue determinado a partir del porcentaje de precipitación de hierro alcanzado en todo el proceso.

Los parámetros determinados para el proceso de precipitación biológica de hierro de un efluente de cianuración mediante un consorcio de bacterias sulfato reductoras son: concentración de ácido láctico 2,5 %; concentración de inóculo 5,0 %; temperatura de operación 35 °C, precipitación de hierro del 70,59 % en 75 horas.

Para el diseño del reactor batch de 22 m³ se consideraron los parámetros mencionados en el párrafo anterior, se formularon las ecuaciones de diseño y su resolución gráfica se realizó en base a estos parámetros. Por último se realizó el dimensionamiento del reactor batch cuyas medidas son: altura 4,23 m y diámetro 2,82 m, el material de construcción seleccionado fue acero inoxidable AISI 316, se incorporó un calentador de inmersión cilíndrico de potencia 4,5 kW para mantener la temperatura en 35 °C.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de ambientes naturales por metales pesados es actualmente uno de los problemas más graves que perturba el equilibrio biológico de la Tierra. La presencia de metales pesados en el medio ambiente puede ser de origen natural encontrados en procesos de meteorización, erupciones volcánicas, incendios, transporte aéreo de partículas, etc. Como resultado de las actividades antropogénicas como las industrias de extracción, minería, molienda, fundición, agricultura, navegación, ganadería, etc., se generan una variedad de metales tóxicos como el As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Pd, Pt, Rd, Sn, Th, U y Zn en el medio ambiente. (López, 2011, p.1; Soto, Guitiérrez, Rey y González, 2010, p.196; Malik, 2003, p.262; Areco, 2011, p.15).

La industria de la minería está constituida a nivel mundial como una de las actividades económicas más importantes que abarca tanto el desarrollo de países y regiones, como sus consecuencias económicas, sociales, ambientales y políticas. Los países andinos como Colombia, Ecuador y Perú califican a la minería como una actividad productiva de creciente importancia para sus finanzas públicas y la balanza comercial (Guerrero, 2011, p.3).

En Ecuador actualmente la minería aurífera formal e informal explota entre 1 500 y 2 000 toneladas diarias de material con diversos contenidos de oro (Salazar, 2011, p.93), como consecuencia de esta explotación se ha incrementado la generación de desechos nocivos que ocasionan un impacto negativo en los ecosistemas cercanos a las zonas mineras (Sacher y Acosta, 2012, p.77).

Los efluentes que se obtienen de la actividad minera como los Drenajes Ácidos de Mina (DAM) y los producidos en los procesos de industrialización, son efluentes líquidos muy contaminantes los cuales poseen altas concentraciones de sólidos, sulfatos y de metales pesados en forma soluble como Fe, Mn, Al, Cu y Cd y metaloides como es el caso del arsénico; además, su elevado grado de acidez proporciona a las aguas un significativo poder corrosivo. Como primera alternativa tecnológica se puede plantear el tratamiento químico con sustancias alcalinas

tales como, hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$, carbonato de calcio CaCO_3 , etc., los cuales son costosos y no muy prácticos. Las actuales investigaciones apuntan al campo de la biorremediación como una solución biotecnológica versátil y con grandes beneficios para la precipitación de metales pesados (Salazar, Hernández, Arango, 2012, p.347 y 351; González, Velasco, Revah, 2001, p.1).

La biorremediación es un proceso que utiliza las actividades metabólicas de los organismos vivos de bajo nivel (hongos, bacterias) para transformar contaminantes en productos insustanciales, o en su defecto, menos tóxicos (Guzmán, Elias, González, Pinos, Carmenate, 2006, p.8). Los tratamientos biológicos utilizados para la remoción de metales en aguas de desecho son: Bioadsorción, Captación y Acumulación Intracelular, Complejación, Oxidación, Reducción, Metilación, Volatilización y Precipitación extracelular. Este último está dado por consorcios de Bacterias Sulfato Reductoras (BSR), las cuales llegan a producir en su metabolismo sulfuro de hidrogeno (H_2S) a través de la reducción de sulfatos (Gutierrez, Terrazas, y Álvarez, 2009, p.2).

Durante la última década se ha estudiado el uso de Bacterias Sulfato Reductoras (SRB) como una alternativa efectiva para precipitar metales pesados. Las ventajas de precipitar metales pesados como sulfuros metálicos sobre otros métodos, son altas eficiencias y la producción de bajos volúmenes de lodos en comparación con la precipitación con hidróxidos (González, Velasco, Revah, 2001, p.2).

El objetivo general del presente proyecto de titulación consiste en el diseño de un reactor batch de 22 m^3 . El diseño del reactor batch parte de la definición de los parámetros de operación del proceso de precipitación biológica de hierro de un efluente de cianuración mediante el uso de un consorcio de bacterias sulfato reductoras que tiene por finalidad proporcionar una alternativa de remediación de contaminantes de efluentes líquidos mediante el uso de cepas nativas. Este proceso es una nueva alternativa biotecnológica de remediación de los efluentes de la minería.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. BIORREMEDIACIÓN

1.1.1. BIORREMEDIACIÓN: GENERALIDADES

El término biorremediación fue definida a principios de la década de los años 80. La biorremediación surge como una alternativa biotecnológica cuyo objetivo es resolver los problemas de contaminación mediante la aplicación de estrategias biológicas, que permitan revertir un daño ecológico que ha provocado desequilibrios en el medio ambiente (Vicente, 2006, p.5).

La biorremediación es un proceso que utiliza las actividades metabólicas de los organismos vivos de bajo nivel (hongos, bacterias) para transformar contaminantes en productos insustanciales, o en su defecto, menos tóxicos (Guzmán, Elias, González, Pinos, Carmenate, 2006, p.8). Estos nuevo productos pueden incorporarse a los sitios bioquímicos naturales, tanto en ecosistemas terrestres como acuáticos, de esta manera se reduce potencialmente la contaminación ambiental.

Para erradicar la contaminación ambiental se han aplicado métodos físico-químicos convencionales como: precipitación química, oxidación y reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, tecnologías de membrana y recuperación por evaporación; sin embargo, estos presentan ciertas desventajas como la elevada relación entre el costo y la efectividad, procesos ineficientes cuando la concentración de los metales es muy baja, y generación de subproductos peligrosos (López, 2011, p.2; Malik, 2003, p.262; Cañizares, 2000, p.133).

Por otro lado la tecnología de la biorremediación es considerada poco intrusiva en el medio al ser definido como un proceso natural. Finalmente al realizar una comparación entre la aplicación de métodos físicos y técnicas de biorremediación

se deduce que biorremediar un ambiente es más económico y causa menos perturbación. (Cortón y Viale, 2006, p.7)

De acuerdo con Guzmán et al. (2006) entre las principales ventajas de la biorremediación se puede mencionar:

- Es una técnica in situ, con lo cual se evita la remoción y desplazamiento de materiales y también preserva la integridad física de los trabajadores al evitar el contacto con el suelo o el agua contaminada.
- Reduce la cantidad de residuos y se elimina la emisión de gases nocivos al aire.
- Es una tecnología más simple y completa por lo que resulta ser menos costosa (p.9).

De igual manera se debe indicar los inconvenientes y limitaciones que existen en el campo de la biorremediación, algunas de ellas son mencionadas por Porras, (2011):

- El tiempo requerido para un tratamiento adecuado puede ser prolongado, así mismo el seguimiento y control del proceso es laborioso.
- Existen compuestos resistentes o que pueden inhibir la biorremediación, por ello su implementación es específica para cada lugar contaminado.
- Para implementar un proceso de optimización se requiere de información esencial acerca del lugar contaminado y del contaminante (p.12).

De acuerdo a bibliografía, la eficacia de los procesos de biorremediación se encuentra limitada por diversos factores como:

- Propiedades del contaminante. Se debe determinar la biodegradabilidad del contaminante. Se entiende por biodegradación a la degradación que ocurre en la naturaleza mismo. (Alegria, 2013, p.3)
- Presencia de comunidades microbianas adecuadas. Se puede hacer alusión a dos posibilidades: microorganismos autóctonos o existentes en el sistema y los microorganismo añadidos para mejorar la degradación.
- Disponibilidad del contaminante. Se debe tener en cuenta sus propiedades físicas y químicas como por ejemplo solubilidad, estado de oxidación, adsorción a componentes del suelo y movilidad (Alba, Ordieres, Vergara, Martínez, González, Ortiz, 2011, p.4906)
- Naturaleza del medio contaminado. Estudiar las características del medio contaminado como permeabilidad, temperatura, presencia o ausencia de nutrientes orgánicos, disponibilidad de oxígeno, pH, etc. (Alba et al., 2011, p.4906)
- Toxicidad. Tiene efecto directo sobre la capacidad de asimilación del microorganismo (Alba et al., 2011, p.4906)

1.1.2. TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN

Dentro del campo de la biorremediación se puede distinguir básicamente tres tipos de procesos para su aplicación: degradación enzimática, remediación microbiana y fitorremediación (Ortega, Benavides, Arteaga y Zermeño, 2007, p.131)

- Degradación enzimática

La degradación enzimática consiste en la utilización de enzimas, las cuales son producidas en bacterias que han sido modificadas genéticamente para producir

enzimas específicas. El objetivo de la utilización de enzimas es degradar las sustancias nocivas que se encuentran en el sitio contaminado (Guzmán et.al, 2006, p.11)

- Remedación bacteriana

La remedación bacteriana se basa en la utilización de microorganismos los cuales son aplicados directamente al sitio de contaminación. El origen de los microorganismos empleados pueden ser de dos tipos: los ya existentes en el sitio de contaminación (autóctonos) y los procedentes de otros ecosistemas, en cuyo caso se realiza un proceso previo de inoculación en el sitio contaminado (Ortega et.al, 2007, p.131)

- Fitorremediación

La fitorremediación es una técnica biológica la cual emplea plantas para la eliminación, degradación o contención de contaminantes en suelos, sedimentos y aguas. La fitorremediación es una técnica no destructiva para descontaminar superficies extensas, no introduce alteraciones en el medio, la generación de subproductos es mínima y el suelo queda restablecido para ser utilizado nuevamente. De igual manera debe mencionarse que los tiempos del proceso pueden ser extensos y la biodisponibilidad del contaminante puede ser un factor limitante en el mecanismo (Guzmán et.al, 2006, p.19; Yagnentkovsky, 2011, p.11)

Actualmente la biorremediación está considerada como una de las alternativas de mayor aplicación para proveer soluciones a problemas ambientales generados por la contaminación. Los principales campos de acción de la biorremediación son:

- Biorremediación de hidrocarburos provenientes de combustibles fósiles
- Biorremediación de hidrocarburos aromáticos polinucleares
- Biorremediación de compuestos xenobióticos
- Biorremediación de metales pesados

1.1.3 BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS

1.1.3.1. Contaminación por metales pesados

Hoy en día una de las peculiaridades de la actual sociedad es el alto grado que se ha alcanzado en el desarrollo tecnológico e industrial a partir de la época de la revolución industrial. Sin embargo, dicho desarrollo ha ocasionado grandes perturbaciones en el medio ambiente, puesto que, la capacidad del ser humano para explotar los recursos naturales ha aumentado sin medida generando un impacto negativo en el medio ambiente (Cañizares, 2000, p.131)

Tanto las actividades industriales como el aumento demográfico a nivel mundial han contribuido a incrementar los niveles de contaminación del medio ambiente. La contaminación industrial se define como la emisión directa o indirecta de sustancias nocivas, tóxicas o peligrosas, hacia el medio natural (Benitez, 2011, p.26). Como resultado de éstas actividades industriales se han liberado contaminantes de concentraciones elevadas como metales pesados y residuos industriales; mientras que el aumento demográfico evidencia problemas en la disposición de aguas residuales domésticas. (Areco, 2011, p.16; Yarto, 2007, p.231)

La contaminación de ambientes naturales por metales pesados es actualmente uno de los problemas más grave que perturba el equilibrio biológico de la Tierra. La presencia de metales pesados en el medio ambiente puede ser de origen natural encontrados en procesos de meteorización, erupciones volcánicas, incendios, transporte aéreo de partículas, etc.; y, como resultado de las actividades antropogénicas tales como las industrias de extracción, molienda, fundición, agricultura, navegación, ganadería, etc., las cuales generan una variedad de metales tóxicos como el As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Pd, Pt, Rd, Sn, Th, U y Zn en el medio ambiente. (López, 2011, p.1; Soto, Gutiérrez, Rey y González, 2010, p.196; Malik, 2003, p.262; Areco, 2011, p.17).

En la Tabla 1.1. se detalla las principales fuentes industriales de generación de sustancias contaminantes.

Tabla 1.1. Principales fuentes industriales de generación de sustancias contaminantes

Industria	Sustancias contaminantes
Construcción	Sólidos en suspensión, metales, pH
Minería	Sólidos en suspensión, metales pesados, materia orgánica, pH, cianuros
Energía	Calor, hidrocarburos y productos químicos
Textil y piel	Cromo, taninos, sulfuros, colorantes, grasas, disolventes orgánicos, ácido acético y fórmico, sólidos en suspensión
Locomoción	Aceites lubricantes, pinturas y aguas residuales
Navales	Petróleo, productos químicos, disolventes y pigmentos
Siderurgia	Cascarillas, aceites, metales disueltos, emulsiones y ácidos
Química Inorgánica	Mercurio, fósforo, fluoruros, cianuros, amoníaco, nitritos, ácido sulfhídrico, flúor, manganeso, molibdeno, plomo, plata, selenio, cinc, etc., y sus respectivos compuestos
Química Orgánica	Organohalogenados, compuestos cancerígenos, biocidas, etc.
Fertilizantes	Nitratos y fosfatos
Pastas y papel	Sólidos en suspensión y otros que afectan al balance de oxígeno
Plaguicidas	Organohalogenados, organofosforados, compuestos cancerígenos, biocidas, etc.
Pinturas, barnices y tintas	Compuestos organoestánicos, compuestos cinc, cromo, selenio, molibdeno, titanio, estaño, bario, cobalto, etc.

(Areco, 2011, p.17)

La industria de la minería está constituida a nivel mundial como una de las actividades económicas más importantes que abarca tanto el desarrollo de países y regiones, como sus consecuencias económicas, sociales, ambientales y políticas. Los países andinos como Colombia, Ecuador y Perú califican a la minería como una actividad productiva de creciente importancia para sus finanzas públicas y la balanza comercial (Guerrero, 2011, p.3).

En Ecuador actualmente la minería aurífera formal e informal explota entre 1 500 y 2 000 toneladas diarias de material con diversos contenidos de oro (Salazar, 2011, p.93), como consecuencia de esta explotación se ha incrementado la generación de desechos nocivos que ocasionan un impacto negativo en los

ecosistemas cercanos a las zonas mineras. Es importante considerar como un factor de riesgo aumentativo de contaminación del agua a la pluviografía que posee el Ecuador, ya que en los últimos años ha ido aumentando debido a los cambios climáticos globales (Sacher y Acosta, 2012, p.77).

Los efluentes obtenidos tanto de la actividad minera (DAM) como de los procesos de industrialización son efluente líquidos muy contaminantes los cuales poseen altas concentraciones de sólidos, sulfatos y de metales pesados en forma soluble como Fe, Mn, Al, Cu y Cd y metaloides como es el caso del As; además, su elevado grado de acidez proporciona a las aguas un significativo poder corrosivo (Salazar, Hernández, Arango, 2012, p.347 y 351; González, Velasco, Revah, 2001, p.1).

Para realizar la descarga de estos efluentes industriales hacia el sistema de alcantarillado y cuerpos de agua (dulce y marina) se debe cumplir con los parámetros establecidos por la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y Grasas.	Sustancias solubles en hexano	mg/L	0,3
Alkil mercurio		mg/L	No detectable
Aldehídos		mg/L	2,0
Aluminio	Al	mg/L	5,0
Arsénico total	As	mg/L	0,1
Bario	Ba	mg/L	2,0
Boro total	B	mg/L	2,0
Cadmio	Cd	mg/L	0,02
Cianuro total	CN ⁻	mg/L	0,1
Cloro Activo	Cl	mg/L	0,5
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo ECC	mg/L	0,1
Cloruros	Cl ⁻	mg/L	1 000
Cobre	Cu	mg/L	1,0
Cobalto	Co	mg/L	0,5
Coliformes Fecales	Nmp/100 ml		Remoción > al 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	Inapreciable en dilución: 1/20
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/L	0,2

Tabla 1.2. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce (continuación...)

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Cromo hexavalente	Cr^{+6}	mg/L	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O ₅ .	mg/L	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/L	250
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/L	1,0
Estaño	Sn	mg/L	5,0
Fluoruros	F	mg/L	5,0
Fósforo Total	P	mg/L	10
Hierro total	Fe	mg/L	10,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/L	20,0
Manganeso total	Mn	mg/L	2,0
Materia flotante	Visibles		Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/L	0,005
Níquel	Ni	mg/L	2,0
Nitratos + Nitritos	Expresado como Nitrógeno (N)	mg/L	10,0
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/L	15
Organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	mg/L	0,05
Organofosforados totales	Concentración de organofosforados totales.	mg/L	0,1
Plata	Ag	mg/L	0,1
Plomo	Pb	mg/L	0,2
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Selenio	Se	mg/L	0,1
Sólidos Sedimentables		ml/L	1,0
Sólidos Suspendedos Totales		mg/L	100
Sólidos totales		mg/L	1 600
Sulfatos	SO_4^-	mg/L	1000
Sulfitos	SO_3	mg/L	2,0
Sulfuros	S	mg/L	0,5
Temperatura	°C		< 35
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/L	0,5
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/L	1,0
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg/L	1,0
Vanadio	V	mg/L	5,0
Zinc	Zn	mg/L	5,0

(LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL, 2003, p.331, modificado)

1.1.3.2. Metales pesados

- **Origen, definición y fuentes de generación**

Los metales pesados son elementos naturales de la corteza terrestre, su presencia es inferior al 0,1 %. En la corteza terrestre se los encuentra en forma de minerales como sulfuros, óxidos, carbonatos y silicatos (Field, 2013, p.3; Yagnentkovsky, 2011, p.2). Se los puede encontrar a partir de procesos de meteorización, erupciones volcánicas, incendios, transporte aéreo de partículas, etc., y, también se debe mencionar la contribución antropogénica que ha dado como resultado un aumento en las cantidades de metales pesados presentes en el ambiente en aproximadamente 100 y 1000 veces (López, 2011, p.6; Cruz, 2013, p.65-66).

El origen antropogénico de los metales pesados se debe a las actividades humanas que han contribuido con su generación, entre las principales se tiene: industrias de extracción, molienda y acabado de superficies, metalúrgicas, metal-mecánicas, papeleras, azucareras, de pinturas e incluso urbanas y sanitarias, y actividades petroleras, agrícolas, etc. (Malik, 2013, p.3; Cruz, 2013, p.65-66; Castro y Valdés, 2012, p.268).

La definición de metales pesados según la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes (2003), corresponde aquellos metales que poseen un elevado número atómico, son tóxicos en pequeñas concentraciones y tienden a la bioacumulación como: cadmio, cromo, hierro, mercurio, plomo, cinc, manganeso, entre otros.

- **Clasificación de los metales pesados**

Los metales pesados pueden ser clasificados en dos grupos principalmente:

- o Oligoelementos o micronutrientes (esenciales): son aquellos requeridos en pequeñas cantidades para el desarrollo fisiológico de determinados

organismos como plantas y animales (Yagnentkovsky. 2011, p.2; Fayett, 2008, p.6). Los metales traza esenciales para los animales son cobalto (Co) (en rumiantes), cobre (Cu), hierro (Fe), yodo (I), magnesio (Mg), manganeso (Mn), selenio (Se), cinc (Zn), sodio (Na), potasio (K), calcio (Ca), vanadio (V), y molibdeno (Mo). Si el suministro de estos oligoelementos esenciales o micronutrientes es insuficiente puede ocasionar efectos negativos en el crecimiento de las células, mientras que, si el suministro es excesivo causará una toxicidad sobre las células como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas (Cañizares, 2000, p.132).

- o Metales pesados sin función biológica conocida (no esenciales): son aquellos que poseen un alto grado de toxicidad por lo que pueden ocasionar complicaciones biológicas como disfunciones en el funcionamiento del organismo. Su concentración no disminuye con el tiempo, por el contrario, presentan una tendencia de acumulación en organismos vivos como plantas y animales. Dentro de este grupo se encuentran: berilio (Be), cadmio (Cd), mercurio (Hg), níquel (Ni), plomo (Pb), antimonio (Sb), estaño (Sn) y titanio (Ti) (Fayett, 2008, p.6; Marrugo, 2011, p.23-24).

- **Consecuencias de la actividad minera en el Ecuador y alternativas tecnológicas de remediación**

En el Ecuador la industria minera es una de las actividades económicas más importantes para el desarrollo del país, sin embargo, los estudios realizados sobre la actividad minera revelan que ha ocasionado considerables daños ambientales, sobre todo en las zonas de Portovelo, Zaruma, Nambija, San Gerardo y Ponce Enríquez. (Zambrano, 2011, p.25)

Los efluentes que se obtienen de la actividad minera como los Drenajes Ácidos de Mina (DAM) y los producidos en los procesos de industrialización, son efluentes líquidos muy contaminantes los cuales poseen altas concentraciones de sólidos, sulfatos y de metales pesados en forma soluble como Fe, Mn, Al, Cu, Cd y

metaloides como es el caso del As; además, su elevado grado de acidez proporciona a las aguas un significativo poder corrosivo (González et.al, 2001, p.1), lo cual ocasiona daños ambientales como la contaminación de suelos y la degradación de los recursos hídricos que se encuentran cerca de las zonas mineras.

Para la eliminación de los metales pesados se puede aplicar tratamientos físicos y químicos como: encapsulación, solidificación, precipitación con hidróxidos, intercambio iónico, entre otros (Yagnentkovsky, 2011, p.7), los cuales resultan ser muy costosos y poco prácticos. Un tratamiento químico común para el hierro es la precipitación con hidróxidos al añadir cal o piedra caliza para aumentar el pH. (Zambrano, 2011, p.53)

Hoy en día, las investigaciones apuntan hacia nuevas tecnologías como una solución más versátil y con grandes beneficios para la precipitación de metales pesados. Para la remoción del hierro se ha estudiado mecanismos biológicos combinados con remociones químicas, estos tratamientos presentan grandes ventajas en cuanto a costos, reducción del volumen de lodos producidos y mejoramiento de sus características para una disposición final. (Salazar et.al, 2012, p.347 y 351; Zambrano, 2011, p.54)

1.1.3.3. Procesos de biorremediación para el tratamiento de la contaminación por metales pesados

Como ya se ha mencionado anteriormente los metales pesados son el tipo de contaminantes más peligrosos que existe, a diferencia de los contaminantes orgánicos, éstos no pueden ser degradados ni química ni biológicamente (Peng, Song, Yuan, Cui y Oiu, 2008, p.3).

Los métodos de tratamiento biológico aplicados a contaminantes con metales pesados están dados por la interacción microorganismo-metal, cuya relación

dependen de factores como: estado de oxidación del metal, especie química conformada, condiciones físico-químicas del medio (Soto et.al, 2010, p.196).

Las interacciones existentes entre microorganismos y metales son a nivel extracelular, en la superficie bacteriana o intracelularmente. A nivel extracelular los microorganismos tiene efectos directos sobre la movilización e inmovilización del metal (Pérez, 2011, p.7). En la Figura 1.1 se resume los mecanismos por los cuales se llevan a cabo tanto la movilización del metal como la inmovilización del mismo.

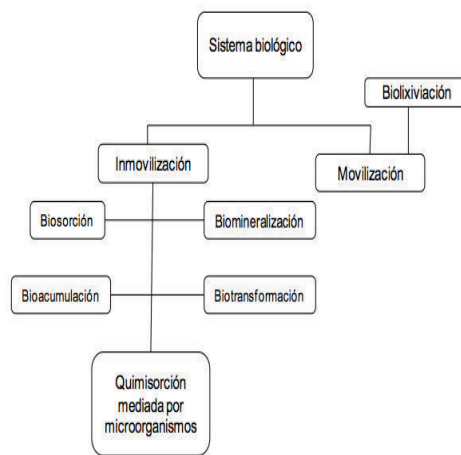


Figura 1.1. Mecanismos biológicos involucrados en la remoción de metales (Pérez, 2011, p.9)

- **Movilización de metales pesados**

La movilización es el proceso por el cual un metal pasa de un estado inicial insoluble (fase sólida) a un estado final soluble (fase acuosa) (Vicente, 2006, p.13-14).

- **Inmovilización de metales pesados**

La inmovilización es el proceso por el cual un metal pasa de un estado soluble inicial en fase acuosa a un estado final en fase sólida (Vicente, 2006, p.13-14). En

la gran diversidad microbiana existen microorganismos resistentes y tolerantes cuando son expuestos a concentraciones tóxicas de un metal. Se define la resistencia microbiana como la habilidad del microorganismo a sobrevivir al estrés causado por la presencia del agente estresante. Por otra parte la tolerancia microbiana se refiere a la indiferencia del microorganismo en presencia o en ausencia del metal (Pérez, 2011, p.7; Vicente, 2006, p.13-14).

Los microorganismos con un peculiar interés son aquellos resistentes y tolerantes frente a los metales pesados. Los mecanismos de tolerancia de los microorganismos están en función del tipo de organismo, del metal y su concentración (Guzmán et.al, 2006, p.15; Pérez, 2011, p.7)

Dentro de los mecanismos para la inmovilización de metales, los más destacados son la biosorción y la bioprecipitación (Pérez, 2011, p.7; Vicente, 2006, p.13-14). En el presente trabajo se emplea el mecanismo de bioprecipitación de metales pesados.

- Bioprecipitación de metales pesados

La bioprecipitación se conoce también como precipitación extracelular. En esta técnica se emplea microorganismos que generan metabolitos a partir de su metabolismo. Estos metabolitos son capaces de precipitar metales pesados mediante la formación de sulfuros o fosfatos. (Gutierrez, Terrazas y Álvarez, 2009, p.2; Guzmán et.al, 2006, p. 17).

Dentro de este grupo de microorganismos, tiene una particular importancia las Bacterias Sulfato Reductoras (SRB's), las cuales producen sulfuros a partir de la reducción de sulfatos. Los sulfuros reaccionan con los metales disueltos para formar precipitados de sulfuro de metal de baja solubilidad, permitiendo la separación de éstos del medio líquido en el que se hallan (Vicente, 2006, p.13-14; Yagnentkovsky, 2011, p.10-11).

1.2. BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS, CARACTERÍSTICAS Y SISTEMAS DE REDUCCIÓN DE SULFATO

1.2.1. BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS: GENERALIDADES

Las bacterias sulfato reductoras (SRB) son catalogadas como microorganismos anaerobios obligados. Poseen la capacidad de reducir en forma desasimilativa el sulfato, el cual es utilizado como aceptor terminal de electrones (agente oxidante) en su metabolismo, para generar ácido sulfhídrico como desecho metabólico (Gariboglio y Smith, 1993, p.99). La mayoría de SRB son capaces también de emplear otros agentes oxidantes como el sulfito, tiosulfato y azufre elemental (López, 2008, p.22; Sáez, 2001, p.3).

Estas bacterias se encuentra ampliamente distribuidas en la naturaleza en ambientes anóxicos como: sedimentos marinos, pantanos salados, lagos hipersalinos y termales, sedimentos de agua dulce contaminada, residuos de alimentos, plantas de drenaje o alcantarillados, campos de arroz, heces de animales y humanos, y también en minas subterráneas, etc., en conclusión, pueden encontrarse en cualquier lugar siempre y cuando exista materia orgánica que pueda descomponerse, alto contenido de sulfatos y ausencia de oxígeno (Carvajal y Perdomo, 2008, p.30).

Las características morfológicas y fisiológicas elementales de las SRB mencionadas por Gariboglio y Smith (1993) se pueden resumir de la siguiente manera:

- Su tamaño celular se encuentra en el rango de 0,5 - 2,0 micrómetros de diámetro y su longitud de 1,0 - 5,0 micrómetros.
- Para la coloración de Gram, la mayoría pertenecen a las Gram negativas, excepto Desulfonema.

- Las SRB en presencia de oxígeno se inactivan sin embargo, pueden sobrevivir en un ambiente cuya concentración de oxígeno disuelto sea de 5,0 mg/L.
- Los parámetros químicos para su crecimiento son: potencial rédox bajo: 0 a 100mV; pH: 7,0 a 7,8. Sin embargo existen SRB que pueden desarrollarse en ambientes levemente ácidos (pH=4,0) y de igual manera especies capaces de crecer en medios alcalinos (pH=9,5); presión: 1 a 100 atm. La mayoría de SRB son mesófilas cuya temperatura óptima es de 20 a 45 °C, pero también existen SRB termófilas que soportan temperaturas hasta 85 °C; salinidad hasta 50-100 g/L NaCl. (Vicente, 2006, p.15-16; Carvajal y Perdomo, 2008, p.32)

1.2.2. CLASIFICACIÓN DE SRB

Una de las formas de clasificación de SRB esta basada en la capacidad para degradar la materia orgánica en forma total o parcial. Se reconocen 18 géneros de SRB, los cuales se dividen en dos grupos:

- Oxidantes incompletas del sustrato

Son aquellas SRB que generan acetato como producto final de la oxidación de la fuente de carbono y energía. Las fuentes de carbono empleadas por este grupo son principalmente: lactato, piruvato y etanol, las cuales aportan energía para el proceso de reducción de sulfato a sulfuro. A ese grupo pertenecen los géneros Desulfovibrio, Desulfomonas, Desulfotomaculum, Desulfobulbus y Thermodesulfobacterium (Sáez, 2001, p.3; López, 2008, p.22).

- Oxidantes completas del sustrato

Del proceso de oxidación completa del sustrato se obtiene como producto final dióxido de carbono y sulfuro. Las fuentes de carbono utilizadas por este grupo son ácidos grasos, en ocasiones benzoato, pero especialmente oxidan acetato. A este

grupo pertenecen los géneros Desulfobacter, Desulfococcus, Desulfosarcina, Desulfomena y Desulfobacterium (Sáez, 2001, p.3; López, 2008, p.22)

1.2.3. CRECIMIENTO BACTERIANO EN CULTIVOS DISCONTINUOS (SISTEMAS BATCH)

El crecimiento bacteriano de un microorganismo depende de la cantidad de nutrientes necesarios presentes en un medio determinado y también de factores ambientales. Los microorganismos pueden ser cultivados de diversas maneras, la más simple corresponde al cultivo discontinuo o cultivo batch. En éste los microorganismos crecen con una limitada cantidad de medio y se da por terminado el crecimiento cuando se ha agotado el nutriente esencial ó se han acumulado subproductos tóxicos que inhiben el proceso de crecimiento (Trevan, 1990, p. 77).

Se determina el crecimiento bacteriano a través de la medición del aumento del número de individuos en la población o el cambio del peso en la biomasa. Los métodos existentes para medir dichos cambios serán aplicados de acuerdo al sistema que se este investigando y también al tratamiento de datos que se aplique (Gaudy y Gaudy, 1980, p.225)

1.2.3.1 Métodos para medir la biomasa

Para la medición de biomasa existen métodos físicos y biológicos. Los métodos físicos son empleados para estimar las poblaciones totales, dentro de este grupo se puede mencionar: conteo directo, el método de turbidez, métodos volumétricos y gravimétricos. De igual manera se debe mencionar los métodos biológicos utilizados para la estimación de unidades cambiantes, los cuales son: recuento en placa, recuento en tubo enrollado, recuento de superficie, método filtro de membrana y el método del número más probable (Ramos, 2008, p.33)

- Método del número más probable (Most Probable Number MPN)

El MPN es una técnica eficiente para la estimación de densidades poblacionales. La técnica esta basada en la suposición de una distribución homogénea de las bacterias en un medio líquido, es decir, se espera que exista en promedio el mismo número de microorganismos en la muestra original como en las réplicas realizadas de igual volumen. Con esta técnica se determina la presencia o ausencia de positivos o negativos en las diluciones consecutivas, por lo cual es vital que la población bacteriana posea una característica esencial en el medio de crecimiento empleado. Para estimar la densidad poblacional la técnica del MPN evalúa el número de microorganismos por unidad de volumen de cada dilución realizada y con ayuda de tablas estadísticas se obtiene el MPN/mL (Ramos, 2008, p.33).

1.2.3.2 Curva de crecimiento bacteriano en cultivos discontinuos (sistemas batch)

El crecimiento de microorganismos en cultivos discontinuos atraviesa varias etapas recopiladas en una gráfica de crecimiento como la presentada en la Figura 1.2, dicha gráfica es usada para describir de manera general el aumento y el descenso de una población bacteriana (Gaudy y Gaudy, 1980, p.230)

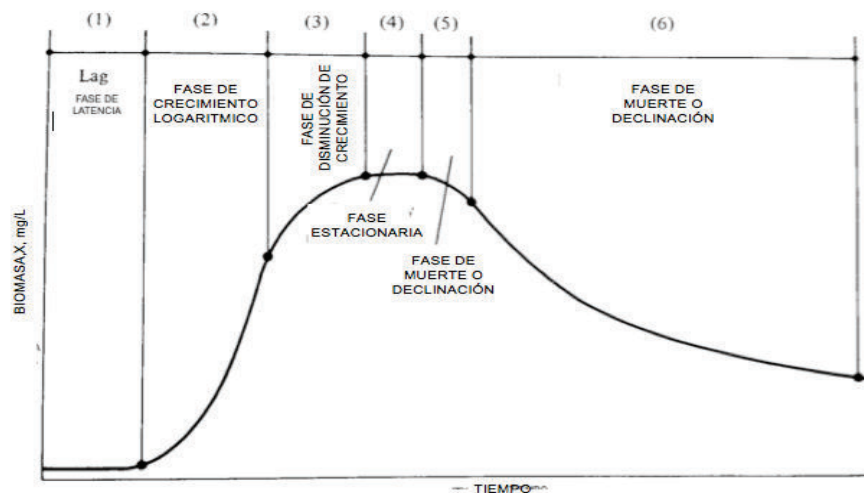


Figura 1.2. Curva de crecimiento bacteriano en sistemas discontinuos (Gaudy y Gaudy, 1980, p.231, modificado)

La curva de crecimiento bacteriano relaciona el tamaño de la población bacteriana en unidades de peso seco mg/L (X) con el transcurso del tiempo (t). A continuación se describirá cada una de las fases de la curva de crecimiento.

- Fase de latencia del crecimiento

La fase de latencia es un periodo previo al crecimiento activo, es decir, debe existir un tiempo de acoplamiento de las células al nuevo medio para luego dar paso al crecimiento. La fase de latencia es llamada también período de adaptación (Trevan, 1990, p.77)

En la fase de latencia puede distinguirse dos etapas. La primera etapa evidencia pequeños cambios en la masa celular, sin embargo, no existe ningún cambio en el número de células; por otra parte, en la segunda etapa la velocidad de crecimiento va en aumento hasta alcanzar la velocidad característica de la fase exponencial de crecimiento (Gaudy y Gaudy, 1980, p.232)

El tiempo de adaptación puede tornarse muy largo tanto que industrialmente no es aceptable, por lo cual se recomienda reducir dicho tiempo para ahorrar tanto en tiempo como en consumo de nutrientes. Para acortar el tiempo de adaptación se podría iniciar el proceso de crecimiento con inóculos de sistemas que ya han alcanzado la fase exponencial (Trevan, 1990, p.77)

- Fases de crecimiento logarítmico o exponencial y disminución del crecimiento

Una vez alcanzada la velocidad característica de la fase exponencial de crecimiento, las células empiezan a crecer a una velocidad máxima constante. En la Figura 1.2. se puede observar en la fase 2 la tendencia de aumento exponencial de la curva, la cual atraviesa un punto de inflexión para dar comienzo a la etapa de desaceleración que posteriormente terminará en fase estacionaria (Gaudy y Gaudy, 1980, p.232)

Las ecuaciones empleadas para describir la fase logarítmica o exponencial se las obtiene mediante un análisis matemático del fragmento de la gráfica correspondiente a la fase 2 hasta la fase 3 presentada en la Figura 1.2. Con lo cual se obtiene la Ecuación [1.1]:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad [1.1]$$

donde:

X es la concentración de células mg/cm^3

t es el tiempo de incubación (h)

μ es la velocidad específica de crecimiento h^{-1}

La Ecuación [1.1] describe la variación de la velocidad de cambio en X con respecto al tiempo, la cual es proporcional a la concentración de células X en el sistema y a un factor de proporcionalidad μ . Se ha denominado a μ como la velocidad específica de crecimiento (Trevan, 1990, p.82)

Al integrar la Ecuación [1.1] se obtiene la Ecuación [1.2]:

$$X_t = X_0 e^{\mu t} \quad [1.2]$$

donde :

X_0 corresponde a la concentración de células en el tiempo cero

X_t corresponde a la concentración de células al tiempo t

La Ecuación [1.2] permite determinar la concentración de las células en cualquier tiempo conociendo los valores de la concentración inicial X_0 y la velocidad específica de crecimiento μ (Gaudy y Gaudy, 1980, p.232)

Las Ecuaciones [1.1] y [1.2] denotan claramente que el tamaño de la biomasa aumenta exponencialmente o logarítmicamente. En cuanto a la cinética de crecimiento, ésta obedece a la ley de Malthus la cual determina su cinética como de primer orden, con velocidad en aumento (Gaudy y Gaudy, 1980, p.233)

A partir de la Ecuación [1.2] se obtendrá la formulación matemática que permita calcular la velocidad específica de crecimiento. En primer lugar se aplica logaritmos naturales a la Ecuación [1.2] para obtener una linealidad, de esta forma la Ecuación [1.2] puede ser escrita como la Ecuación [1.3]:

$$\ln X_t = \ln X_0 + \mu t \quad [1.3]$$

Al graficar la Ecuación [1.3] se obtiene una recta cuya pendiente corresponde a μ la velocidad específica de crecimiento (Trevan, 1990, p.82). La interpretación gráfica de la Ecuación [1.3] se observa en la Figura 1.3 (Gaudy y Gaudy, 1980, p.233)

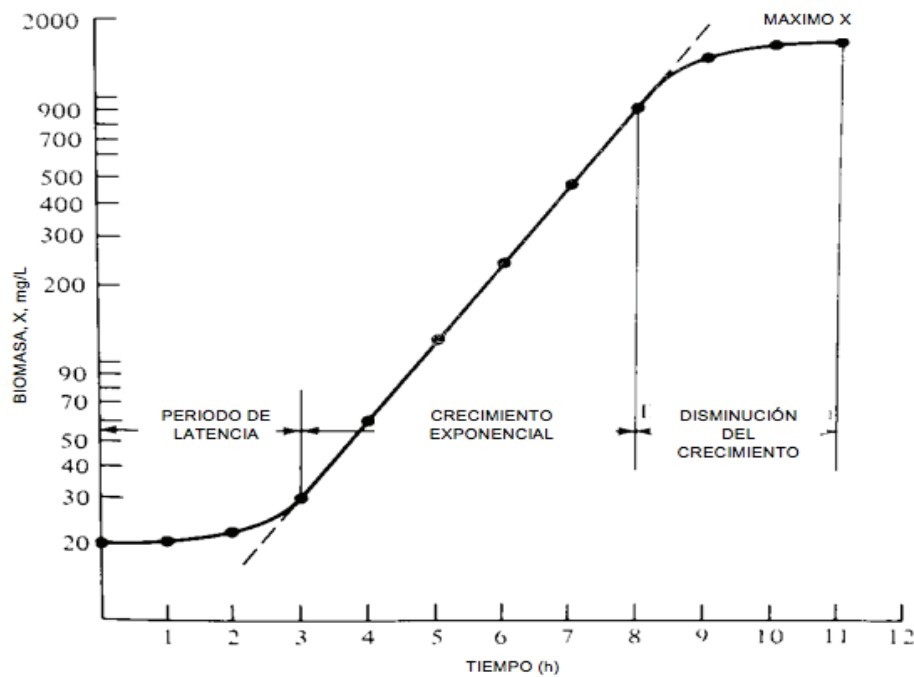


Figura 1.3. Gráfica semilogarítmica de la fase de crecimiento exponencial (Gaudy y Gaudy, 1980, p.233, modificado)

Para establecer la ley de velocidad de crecimiento celular de nuevas células existen diversas expresiones, sin embargo, la más utilizada corresponde a la ecuación de Monod para la fase de crecimiento exponencial (Fogler, 2008, p.423) descrita en la Ecuación [1.4].

$$r_g = \mu * C_c \quad [1.4]$$

donde:

r_g corresponde a la velocidad de crecimiento de la célula, $\text{mg}/\text{cm}^3 \cdot \text{h}$

μ corresponde a la velocidad específica de crecimiento, h^{-1}

C_c corresponde a la concentración de células, mg/cm^3

Otro concepto utilizado para definir el crecimiento de un microorganismo en un cultivo es el tiempo de duplicación, t_d . Se entiende por tiempo de duplicación al tiempo necesario para que se divida una célula (Trevan, 1990, p.82)

A partir de la Ecuación [1.3] se obtendrá la formulación matemática que permita calcular la velocidad específica de crecimiento en función del tiempo de duplicación. Despejando la variable μ de la Ecuación [1.3] se obtiene la ecuación [1.5]:

$$\mu = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t} \quad [1.5]$$

Si se considera en la Ecuación [1.5] que el tiempo $t = t_d$ entonces $X_t = 2X_0$ y reemplazando se obtiene:

$$\mu = \frac{\ln 2}{t_d} = \frac{0,693}{t_d} \quad [1.6]$$

Se debe tomar en cuenta que el crecimiento exponencial no se da de manera indefinida como lo indica la Ecuación [1.2], ya que el período de crecimiento va consumiendo el sustrato, además, existe generación de subproductos tóxicos que

se van acumulando. Tanto el agotamiento del sustrato como la acumulación de sustancias tóxicas producen una desviación en la velocidad específica con respecto a su valor máximo, dando como resultado a largo plazo el cese del crecimiento, entonces, se dice que el sistema ha entrado en fase estacionaria (Trevan, 1990, p.83)

La fase de disminución de la velocidad de crecimiento y el cese del mismo tiene su inicio con el consumo de sustrato y la generación de subproductos tóxicos que se van acumulando, aunque la concentración de células X va en aumento la velocidad específica de crecimiento va disminuyendo (Peralvo, 2001, p.14).

- Fase estacionaria de crecimiento

En la fase estacionaria la cantidad de biomasa presente depende de la composición del medio y de la eficiencia del microorganismo por transformar los sustratos en células.

Como ya se mencionó en la fase de desaceleración, el crecimiento cesa por dos motivos de los cuales idealmente se preferiría que el factor limitante del crecimiento sea solo el sustrato y no la acumulación de las sustancias tóxicas (Trevan, 1990, p.84). En esta fase la velocidad neta de crecimiento es cero como el resultado del agotamiento de nutrientes y metabolitos esenciales (Fogler, 2008, p.423)

- Fase de muerte o declinación

Esta fase corresponde a la reducción de la concentración de células vivas que puede darse por la generación de subproductos tóxicos, condiciones ambientales difíciles, agotamiento del suministro de nutrientes o todas ellas (Fogler, 2008, p.423; Peralvo, 2001, p.14)

1.2.4. PROCESO DE SULFATO REDUCCIÓN

1.2.4.1 Generalidades

El proceso de sulfato reducción es llevado a cabo por bacterias sulfato reductoras, las cuales se encargan de reducir sulfato a sulfuro mediante el proceso de reducción desasimilatorio o el proceso de reducción asimilatorio (Andrade, 2010, p.39), en la Figura 1.4 se ilustra el mecanismo de los dos procesos de reducción de sulfato.

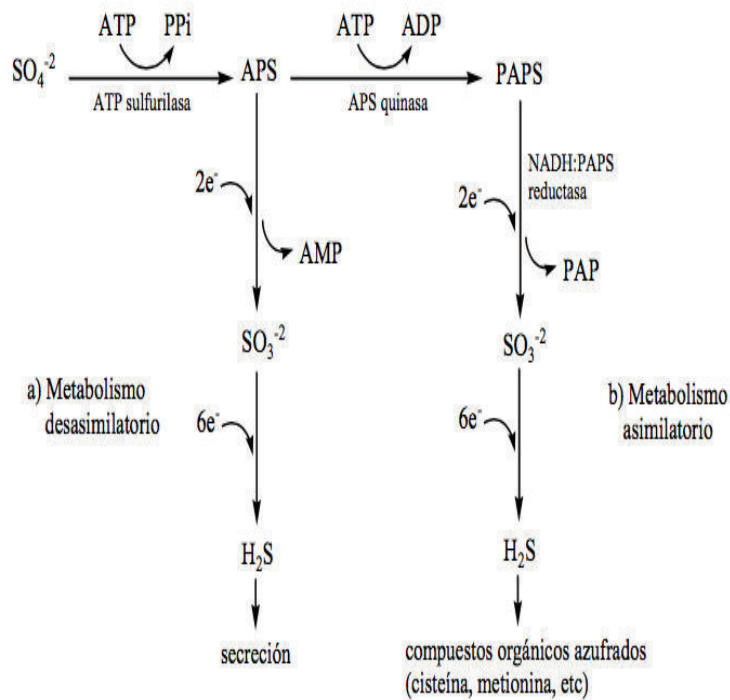


Figura 1.4. Mecanismo de reducción desasimilatoria (a) y asimilatoria (b) de sulfato en el proceso de sulfato-reducción (Andrade, 2010, p.40)

El proceso de reducción desasimilatorio de sulfato se caracterizan por recibir un aporte energético de la reducción de sulfato y por la expulsión al ambiente del sulfuro de hidrógeno H_2S producido. Entre los principales aceptores de electrones se tiene iones o elementos que pueden ser reducidos, por ejemplo: NO^3 , SO_4^{2-} , Fe^{3+} , Cr^{6+} , etc. (Paños et al., 2010, p.8).

Por otro lado, el proceso de reducción asimilatorio de sulfato se caracteriza por recibir un aporte nutricional de la reducción de sulfato y transforma el sulfuro de hidrógeno en azufre orgánico que será utilizado en la formación de aminoácidos como la cisteína o la metionina (Andrade, 2010, p.40).

1.2.4.2 Bioquímica del proceso de reducción desasimilatorio de sulfato

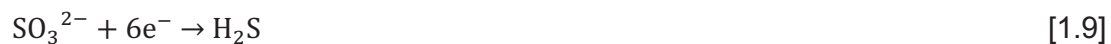
El proceso de reducción desasimilatorio de sulfato se lleva a cabo a través de una serie de reacciones intermedias descritas a continuación: en primer lugar el proceso comienza con la activación del anión sulfato con ATP de cuya reacción se forma el fosfosulfato de adenosina (APS) y el pirofosfato (PPi). Esta reacción requiere de la enzima ATP sulfurilasa como catalizador, como se indica en la Ecuación [1.7].



La segunda reacción corresponde a la reducción del sulfato presente en el APS a sulfito SO_3^{2-} y a su vez genera monofosfato de adenosina (AMP), como se detalla en la Ecuación [1.8]

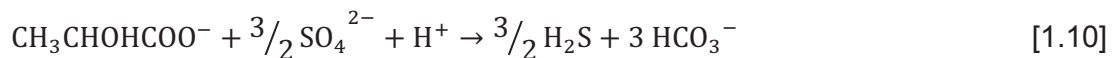


Finalmente el sulfito se reduce a sulfuro de hidrógeno como se indica en la Ecuación [1.9].

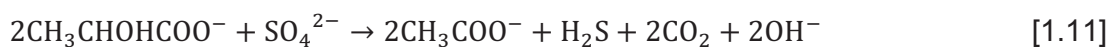


En el proceso de sulfato reducción, los agentes que se reducen se encargan de oxidar a la fuente de energía o carbono. Las principales fuentes de carbono utilizadas por microorganismos anaerobios son: hidrógeno, lactato, piruvato, etanol, compuestos orgánicos de bajo peso molecular, etc. (Sáez, 2001, p.3; Paños et al., 2010, p.8)

Las bacterias sulfato reductoras que emplean lactato como fuente de carbono y SO_4^{2-} como aceptor de electrones, presentan la siguiente estequiometría de reducción de sulfato (Drury, 1999, p.1244):



La Ecuación [1.10] es aplicable para un rango de pH de 6,3 a 7,0. Para valores de pH menores a 7,0 se genera dióxido de carbono en lugar de bicarbonato como se indica en la Ecuación [1.11] (Drury, 1999, p.1244).



1.2.4.3 Proceso de sulfato reducción para la bioprecipitación de metales pesados

El proceso de precipitación de metales pesados se basa en la formación de sulfuros metálicos de baja solubilidad. La reacción química de precipitación llevada a cabo se da entre los iones metálicos y el sulfuro biogénico producido en la respiración anaerobia (Paños et al., 2010, p.5)

El sulfuro biogénico producido en la ecuación [1.10] reacciona con los iones metálicos para formar los sulfuros metálicos mediante la Ecuación [1.12]:



En la Ecuación [1.12], M^{2+} representa a metales como: Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} (Sáez, 2001, p.6; Paños et al., 2010, p.5)

La Ecuación [1.12] libera protones que aportan acidez al medio; para la neutralización del mismo se emplea el bicarbonato producido en la oxidación

sulfidogénica de la materia orgánica presentada en la Ecuación [1.10], mediante la Ecuación [1.13] (Paños et.al, 2010, p.5):



- **Precipitación selectiva de metales pesados**

La precipitación de metales pesados mediante la formación de sulfuros metálicos puede ser un proceso selectivo si se toma en consideración ciertas propiedades de los sulfuros formados. Los sulfuros metálicos en su mayoría son compuestos insolubles a pH neutro y en condiciones anóxicas son bastante estables (Cabrera, 2005, p.94).

Varios estudios han demostrado que la precipitación selectiva de metales pesados esta sujeto a la variabilidad de pH y concentraciones específicas de sulfuro o potencial S^{-2} (pS), en la Figura 1.5 se proporciona valores de pH óptimos para la precipitación selectiva de ciertos metales pesados (Andrade, 2010, p.20).

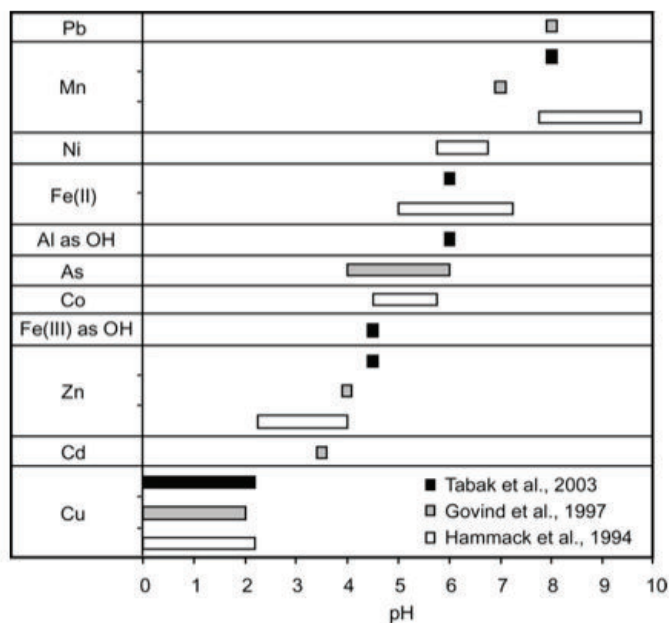


Figura 1.5. Rango de pH para una precipitación selectiva de metales pesados (Kaksonen, Puhakka, 2007, p.549)

1.2.4.4 Factores que afectan el proceso de sulfato reducción

El proceso de sulfato reducción puede verse afectado por varios factores como composición del medio, nutrientes, condiciones de anaerobiosis, fuente de energía, aceptores de electrones, pH, temperatura, concentraciones de ión sulfuro, presencia de metales (Cabrera, 2005, p.96). Cada uno de ellos serán explicados a continuación:

- **Composición del medio:** en la composición del medio se puede encontrar compuestos carbonatados y fosfatados que alterarán el pH del medio o promueven el desarrollo de bacterias coexistentes con las SRB (Cabrera, 2005, p.96)
- **Nutrientes:** se toma en consideración que las bacterias sulfato reductoras son organismos heterótrofos, es decir, requieren de una fuente de carbono para su multiplicación (Paños et al., 2010, p.8)
- **Condiciones de anaerobiosis:** las bacterias sulfato reductoras son anaerobias por lo cual es fundamental que su medio se encuentre libre de oxígeno. Normalmente este proceso de eliminación de oxígeno se lleva a cabo haciendo circular una corriente de gas nitrógeno o empleando compuestos reductores como ácido tioglicólico, ácido ascórbico (Cabrera, 2005, p.96)
- **Fuente de energía:** es necesaria para la multiplicación de las bacterias sulfato reductoras y en ocasiones actúan como donador de electrones (Cabrera, 2005, p.96; Paños et al., 2010, p.10)
- **Aceptor de electrones:** cuando se utiliza sulfato como aceptor de electrones es importante que exista una cantidad adecuada en el medio para evitar el desarrollo de bacterias metanogénicas que normalmente coexisten con las bacterias sulfato reductoras (Cabrera, 2005, p.96)

- pH: el pH es un factor que tiene incidencia directa en el crecimiento bacteriano. Existen estudios indicando un rango de pH entre 7,0 y 7,8 para un crecimiento óptimo de SRB, además, pueden tolerar valores de pH entre 5,5 y 9,0 (Carvajal y Perdomo, 2008, p.32)
- Temperatura: la temperatura es un factor bastante influyente en la velocidad de reacción y en el crecimiento bacteriano, su relación es directamente proporcional. Para el crecimiento bacteriano se considera como rango óptimo de temperatura 28 - 32 °C pero también es importante considerar la temperatura del medio con el que se va a trabajar (Paños et.al, 2010, p.10; Hao et al., 1996, p.158). El proceso de sulfato-reducción se realiza a diferentes temperaturas debido a que las bacterias sulfato reductoras pueden desarrollarse en un amplio rango de temperatura, así se tiene: las psicrófilas (0 - 25 °C), mesófilas (23 - 35 °C) y termófilas (35 - 70°C) (Liamleam, Annachhatre, 2007, p. 455)
- Efecto sulfuro: el sulfuro es un compuesto inhibitorio para las bacterias metanogénicas, acetogénicas y sulfato reductoras. Se cree que el compuesto de mayor toxicidad es el sulfuro de hidrógeno sin disociar, su forma de inhibición se da cuando la molécula neutra atraviesa la membrana celular ocasionando una desnaturalización de las proteínas al formar enlaces sulfuro y disulfuro entre cadenas polipeptídicas (Ramírez, 1998, p.13; Hidalgo y García, 2001, p.185)
- Metales pesados: La mayoría de metales pesados son agentes inhibitorios o tóxicos para los microorganismos, incluidas las bacterias sulfato reductoras. Su mecanismo de inhibición consiste en la desactivación de enzimas al reaccionar con grupos funcionales sulfhidrilo (-SH), desnaturalizan proteínas y compiten con cationes esenciales. El resultado de este proceso de inhibición tiene consecuencias negativas en el crecimiento y la actividad bacteriana (Cabrera, 2005, p.98). La Tabla 1.3. detalla rangos de concentraciones tóxicas de algunos metales sobre cepas de bacterias sulfato reductoras.

Tabla 1.3. Concentraciones tóxicas de algunos metales pesados sobre bacterias sulfato reductoras

METAL	CEPA SRB	CONCENTRACIÓN TÓXICA (mg/L)	REFERENCIA
Cu	Cepas Desulfovibrio	20-50	Booth y Mercer (1963)
	Cepas Desulfovibrio	3	Temple y Le Roux (1964)
	Cepas Desulfovibrio	2-20	Saleh y col. (1964)
	Cultivo mixto	4-20	Hao y col. (1994)
	Cultivo mixto	12	Utgikar y col. (2003)
Zn	Cultivo mixto	25-40	Hao y col. (1994)
	Cultivo mixto	20	Utgikar y col. (2003)
	Desulfovibrio Desulfuricans	13	Poulson y col. (1997)
Pb	Cultivo mixto	75-80	Hao y col. (1994)
	Cepa L60	125	Loka Bharath y col.(1990)
Cd	Cultivo mixto	>4-20	Hao y col. (1994)
	Cepa L60	54	Loka Bharath y col.(1990)
Ni	Cultivo mixto	10-20	Hao y col. (1994)
	Desulfovibrio desulfuricans	10	Poulson y col. (1997)
Cr	Cultivo mixto	60	Hao y col. (1994)
Hg	Cepa L60	74	Loka Bharath y col.(1990)
Mezcla (Cr, Ni, Cu, Cd, Zn, Pb)	Cultivo mixto	20	Hao y col. (1994)

(Cabrera, 2005, p.99)

2. PARTE EXPERIMENTAL

Se trabajó con una cepa de Bacterias Sulfato Reductoras aislada en el Laboratorio de Microbiología del Área de Remediación Ambiental del Grupo Minero Bonanza, con denominación LIBZA1; y, efluentes del proceso de cianuración de la Planta de Cianurización Rumicuri S.A., también perteneciente al Grupo Minero Bonanza.

2.1. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS QUÍMICOS INICIALES DEL AFLUENTE DE CIANURACIÓN

Para iniciar la prueba, se realizó una toma de muestra compuesta del efluente según el procedimiento establecido en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176:98. Agua: Calidad del agua, muestreo, técnicas de muestreo. En un tiempo de 2 horas se tomó 1L de muestra de efluente cada 15 minutos. La muestra compuesta fue almacenada en un recipiente plástico. Una vez obtenida la muestra de efluente representativa se procedió a determinar los siguientes parámetros químicos: pH, concentración de sulfatos, concentración de cianuro total, concentración de hierro. La determinación de estos parámetros químicos del efluente se realizaron durante toda la experimentación al inicio de cada prueba.

2.1.1. MEDICIÓN DE pH

Para determinar el pH del efluente se empleó la técnica de la electrometría. El procedimiento empezó con la calibración del pH-metro HACH SESSION TH31, luego fue introducido el electrodo en la muestra recolectada y se determinó el valor de pH.

2.1.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SULFATOS

La determinación de concentración de sulfatos presentes en el efluente se lo realizó por el método turbidimétrico en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

En un matraz aforado se colocó 0,5 mL de muestra y se diluyó hasta 10 mL con agua destilada. La muestra diluida fue trasvasada a la celda de lectura. A cada celda se le añadió un sobre de reactivo sulfaver N°4 y se agitó (ver Anexo I), además se utilizó una celda blanco con 10 mL de agua destilada.

Para las lecturas se utilizó el método #680 del espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Se colocó la celda blanco en el espectrofotómetro y luego la celda de la muestra diluida a analizar. El resultado obtenido fue multiplicado por el factor de dilución empleado.

2.1.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CIANURO TOTAL

La medición de la concentración de cianuro total en el efluente se lo realizó por el método Piridina-Pyrazalone en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

En una celda de lectura se colocó 10 mL de muestra, a cada celda se añadió Cyaniver®Cyanide 3 Reagent, Cyaniver®Cyanide 4 Reagent, Cyaniver®Cyanide 5 Reagent, de acuerdo con lo descrito en el manual del espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH) (ver Anexo I), además se empleó una celda blanco de 10 mL de agua destilada.

Para las lecturas se utilizó el método #160 del espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Se colocó la celda blanco en el espectrofotómetro y luego la celda de la muestra a analizar.

2.1.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL METAL PESADO HIERRO

La concentración del metal pesado hierro en el efluente fue determinada por absorción atómica mediante el uso del equipo de Absorción Atómica Buck Scientific 210 VGP.

2.2. ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA VARIACIÓN DE CONCENTRACIÓN DEL IÓN METÁLICO Fe^{+2} EN LA RESISTENCIA BACTERIANA DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Este análisis fue llevado a cabo en tres partes, las cuales fueron: la preparación del medio Postgate C modificado y formación del inóculo de bacterias sulfato reductoras, luego se preparó soluciones de hierro de concentraciones de 50 ppm, 150 ppm y 300 ppm a partir de una solución estándar de hierro de concentración 1 000 ug/mL, finalmente se realizó el control de crecimiento o densidad poblacional de las bacterias sulfato reductoras.

2.2.1. PREPARACIÓN DEL MEDIO POSTGATE C MODIFICADO Y FORMACIÓN DEL INÓCULO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Se preparó 1,5 L de medio Postgate C modificado en Erlenmeyers de 1 000 mL, en la Tabla 2.1 se indica la composición del medio Postgate C modificado. Para la homogenización del medio se realizó una agitación por 15 minutos. Transcurrido dicho tiempo el medio fue esterilizado en el autoclave Yamato a una temperatura de 120 °C por 20 minutos.

Terminado el proceso de esterilización se procedió con la adición de 15 mL de fuente de carbono (ácido láctico). La estabilización del pH en 7,0 se lo realizó agregando cal en solución. Por último se realizó una filtración para eliminar los precipitados formados por la cal.

Tabla 2.1. Composición del medio de cultivo Postgate C modificado

Compuesto	Cantidad
KH_2PO_4	0,50 g
$\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	7,86 g
NH_4Cl	1,00 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,06 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,06 g
$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$	0,30 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,004 g
H_2O	1,00 L

La preparación del inóculo consistió en extraer 15 mL de bacterias sulfato reductoras de la cepa LIBZA1 y después filtrarla. En viales de 60 mL se dosificó 0,5 mL de filtrado y 50 mL de medio Postgate C modificado. En total se obtuvieron 20 viales de siembra.

Los viales fueron sellados e introducidos en la incubadora a 35 °C por 7 días. Cuando el cultivo alcanzó la fase de crecimiento exponencial, se empleó como inóculo para la realización de las distintas pruebas.

2.2.2. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE HIERRO A PARTIR DE SOLUCIONES ESTÁNDARES

Para la preparación de las soluciones de hierro a diferentes concentraciones, se procedió de la siguiente manera:

- A partir de una solución estándar de hierro de concentración 1 000 ug/mL marca Buck Scientific, se realizaron soluciones de hierro de concentraciones: 50 ppm, 150 ppm y 300 ppm.

- Se empleó 2,0 L de medio Postgate C modificado preparado en el apartado 2.2.1.
- Para la solución cuya concentración de hierro corresponde a 50 ppm, se utilizó 570 mL de medio Postgate C modificado y 30 mL de solución estándar de hierro, dando un volumen total de solución de 600 mL para la prueba.
- Para la solución cuya concentración de hierro corresponde a 150 ppm, se utilizó 510 mL de medio Postgate C modificado y 90 mL de solución estándar de hierro, dando un volumen total de solución de 600 mL para la prueba.
- Para la solución cuya concentración de hierro corresponde a 300 ppm, se utilizó 420 mL de medio Postgate C modificado y 180 mL de solución estándar de hierro, dando un volumen total de solución de 600 mL para la prueba.

2.2.3. CONTROL DE CRECIMIENTO O DENSIDAD POBLACIONAL DE LAS BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

El crecimiento bacteriano se determinó por el método del Número Más Probable (NMP). Para el desarrollo de esta prueba se ocupó las soluciones preparadas en el apartado 2.2.2.

Para las pruebas realizadas a diferentes concentraciones de hierro (50 ppm, 150 pmm y 300 pmm) se ocupó un volumen de 600 mL de solución preparada en el apartado 2.2.2. En viales de 60 mL se dosificó 40 mL de la solución.

Una vez terminada la dosificación de los viales, al primer vial se añadió 0,4 mL de inóculo de Bacterias Sulfato Reductoras preparado en el apartado 2.2.1., luego se

procedió a realizar las diluciones en serie, la cual consiste en transferir 0,4 mL de bacterias sulfato reductoras de un vial a otro. Cada transferencia corresponde a una dilucion de 1 en 100.

Este procedimiento se repitió hasta obtener 14 diluciones (10^{-14}). Los frascos fueron sellados completamente e introducidos en la incubadora a 35 °C, en la Figura 2.1 se observa las siembras realizadas. Los controles visuales de positivos y negativos fueron realizados cada 24 horas por 21 días.



Figura 2.1. Siembras de bacterias sulfato reductoras para la determinación de la densidad poblacional por el método de NMP

2.3. EVALUACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (H₂S) DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Los análisis llevados a cabo para determinar la producción de ácido sulfhídrico (H₂S) son descritos a continuación:

2.3.1. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (H₂S)

Para la determinación cualitativa de la producción de ácido sulfhídrico se realizó el ensayo de acetato de plomo aplicado por Gutierrez et al. (2009).

La primera parte de la prueba consistió en realizar 20 siembras de SRB en viales de 60 mL. Cada vial fue dosificado con 50 mL de medio Postgate C modificado y 0,5 mL de inóculo de bacterias sulfato reductoras. Los frascos fueron sellados e introducidos en la incubadora a 35 °C, por 7 días; transcurrido este tiempo, el siguiente paso de la prueba consistió en succionar con una jeringuilla aproximadamente 10 cm³ de gas sulfhídrico que se genera en cada uno de los cultivos.

Por último se preparó una solución de acetato de plomo al 5% según el procedimiento descrito en la Norma Técnica Ecuatoriana, INEN 679: Determinación del sulfato de hidrógeno método de acetato de plomo. Finalmente el gas sulfhídrico succionado de las siembras mencionadas se esparció sobre un papel filtro humedecido en la solución de acetato de plomo.

2.3.2. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (H₂S)

Para la determinación cuantitativa de la producción de ácido sulfhídrico se realizaron los análisis descritos a continuación:

2.3.2.1 Determinación de sulfatos (SO₄⁻²)

La determinación de la concentración de sulfatos se realizó por el método turbidimétrico. En un matraz aforado se colocó 0,5 mL de muestra fresca de los viales de siembra y se diluyó hasta 10 mL con agua destilada. La muestra diluida fue trasvasada a la celda de lectura. A cada celda se le añadió un sobre de

reactivo sulfaver N°4 y se agitó, el protocolo de operación se lo adjunta en el Anexo I, además se utilizó una celda blanco con 10 mL de agua destilada.

Para las lecturas se utilizó el método #680 del espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Se colocó la celda blanco en el espectrofotómetro y luego la celda de la muestra diluida a analizar. El resultado obtenido fue multiplicado por el factor de dilución empleado.

2.3.2.2 Determinación de sulfuros (S^{2-})

La determinación de la concentración de sulfuros se realizó mediante el método 4500-S2- D Azul de metileno por espectrofotometría.

En un matraz aforado se colocó 0,5 mL de muestra fresca de los viales de siembra y se diluyó hasta 10 mL con agua destilada. La muestra diluida fue trasvasada a la celda de lectura. A cada celda se agregó 3 gotas de reactivo sulfide 1® y se agitó, luego se añadió 3 gotas de reactivo sulfide 2® y se agitó, el protocolo de operación se lo adjunta en el Anexo I. Además se utilizó una celda blanco con 10 mL de agua destilada.

Para las lecturas se utilizó el método #690 del espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Se colocó la celda blanco en el espectrofotómetro y luego la celda de la muestra diluida a analizar. El resultado obtenido fue multiplicado por el factor de dilución empleado. Los análisis descritos fueron realizados cada 3 horas por 7 días.

La evaluación cuantitativa de la producción de ácido sulfhídrico (H_2S) se analizó a partir de las gráficas de concentración versus el tiempo obtenidas del apartado 2.3.2.1 y 2.3.2.2.

2.4. DEFINICIÓN DE LOS PARÁMETROS DE OPERACIÓN DEL PROCESO DE PRECIPITACIÓN BIOLÓGICA DE HIERRO MEDIANTE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Para la definición de los parámetros de operación de precipitación biológica de hierro mediante un consorcio de Bacterias Sulfato Reductoras, se consideró una variación de la concentración de fuente de carbono (ácido láctico) en los siguientes valores: 1,0 %, 2,5 % y 5,0 %. Para determinar la concentración de fuente de carbono se realizaron las siguientes pruebas: ajuste de pH, adaptación de las bacterias sulfato reductoras al efluente de cianuración, determinación de cinética de crecimiento bacteriano, determinación de la población bacteriana o densidad poblacional y la determinación de la precipitación de hierro del efluente de cianuración variando la concentración de la fuente de carbono (ácido láctico).

Para determinar la concentración de inóculo de Bacterias Sulfato Reductoras se realizó una variación de la concentración de SRB en los siguientes valores: 2,0 % y 5,0 %. La prueba llevada a cabo fue la determinación de la precipitación de hierro del efluente de cianuración variando la concentración de inóculo de bacterias sulfato reductoras.

Para determinar la temperatura de trabajo se operó con dos valores de temperatura: 28 °C y 35 °C. Las pruebas realizadas fueron: la determinación de la precipitación de hierro del efluente de cianuración variando la concentración de la fuente de carbono (ácido láctico) y la determinación de la precipitación de hierro del efluente de cianuración variando la concentración de inóculo de bacterias sulfato reductoras.

2.4.1. AJUSTE DE pH

El efluente de cianuración recolectado presentó valores iniciales de pH entre 9,0 y 10,0 por lo que fue necesario realizar un ajuste de pH a 7,0. En primer lugar se añadió ácido láctico al efluente de cianuración e inmediatamente después se

realizó la medición de pH con el equipo pH-metro HACH SESION TH31. Para el ajuste de pH en 7,0 se utilizó cal en solución. Este procedimiento se realizó para los tres valores de concentración de fuente de carbono (ácido láctico).

2.4.2. ADAPTACIÓN DE LAS BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS AL EFLUENTE DE CIANURACIÓN

La adaptación bacteriana al efluente se realizó con el objetivo de habituar a las bacterias sulfato reductoras a un nuevo medio, el cual prescinde de los micronutrientes necesarios para el desarrollo de las mismas.

El procedimiento llevado a cabo consistió en obtener un medio de cultivo que comprenda una mezcla de medio Postgate C modificado y efluente de cianuración. Para ello se estableció una escala de porcentajes indicada en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Cantidades volumétricas de medio Postgate C modificado y efluente de cianuración empleados en la formación del medio de cultivo para la adaptación bacteriana

% Medio Postgate C	% efluente de cianuración	Volumen (mL) de Medio Postgate C	Volumen (mL) de efluente de cianuración	Volumen (mL) de siembra
0	100	0	50	50
10	90	5	45	
20	80	10	40	
30	70	15	35	
40	60	20	30	
50	50	25	25	
60	40	30	20	
70	30	35	15	
80	20	40	10	
90	10	45	5	
100	0	50	0	

Para cada ensayo de concentración de fuente de carbono se preparó 600 mL de medio Postgate C modificado y se recolectó 600 mL de efluente de cianuración. Tanto al medio Postgate C modificado como al efluente de cianuración se

adicionó ácido láctico según lo establecido en la Tabla 2.3., luego se ajustó el valor de pH en 7,0 y finalmente se filtró cada solución.

Tabla 2.3. Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración y al medio Postgate C modificado

Concentración fuente de carbono (ácido láctico)	Volumen (mL) añadido de ácido láctico al medio Postgate C modificado	Volumen (mL) añadido de ácido láctico al efluente de cianuración
1,0%	6,0	6,0
2,5%	15,0	15,0
5,0%	30,0	30,0

En viales de 60 mL se dosificó el filtrado de cada solución en las cantidades descritas en la Tabla 2.2. y se añadió 0,5 mL de inóculo de bacterias sulfato reductoras correspondiente al 1,0 %, obteniéndose un total de 22 viales de siembra por cada concentración de fuente de carbono como se puede observar en la Figura 2.2. Los frascos fueron sellados e introducidos en la incubadora a 35 °C. Los controles se realizaron cada 2 horas por 7 días.



Figura 2.2. Siembras de bacterias sulfato reductoras para la prueba de adaptación bacteriana

2.4.3. DETERMINACIÓN DE CINÉTICA DE CRECIMIENTO BACTERIANO

La prueba de cinética de crecimiento se realizó para los porcentajes de mezcla de adaptación bacteriana descritos en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4. Cantidades volumétricas de medio Postgate C modificado y efluente de cianuración empleados en la formación del medio de cultivo para la determinación de cinética de crecimiento

% Medio Postgate C	% efluente de cianuración	Volumen (mL) de Medio Postgate C	Volumen (mL) de efluente de cianuración	Volumen (mL) de siembra
0	100	0	50	50
10	90	5	45	
20	80	10	40	
30	70	15	35	

Para cada ensayo de concentración de fuente de carbono se preparó 100 mL de medio Postgate C modificado y se recolectó 400 mL de efluente de cianuración. Tanto al medio Postgate C modificado como al efluente de cianuración se adicionó ácido láctico según lo establecido en la Tabla 2.5., luego se ajustó el valor de pH en 7,0 y finalmente se filtró cada solución.

Tabla 2.5. Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración y al medio Postgate C modificado para la determinación de cinética de crecimiento

Concentración fuente de carbono (ácido láctico)	Volumen (mL) añadido de ácido láctico al medio Postgate C modificado	Volumen (mL) añadido de ácido láctico al efluente de cianuración
1,0 %	1,0	4,0
2,5 %	2,5	10,0
5,0 %	5,0	20,0

En viales de 60 mL se dosificó el filtrado de cada solución en las cantidades descritas en la Tabla 2.4. y se añadió 0,5 mL de inóculo de bacterias sulfato reductoras correspondiente al 1,0 %. El inóculo añadido fue seleccionado de la prueba de adaptación bacteriana que presentó mayor crecimiento bacteriano. Se seleccionó 3 tipos de inóculos uno para cada concentración de fuente de carbono. En total se obtuvo 8 viales de siembra por cada concentración de fuente de carbono (Figura 2.3). Los frascos fueron sellados e introducidos en la incubadora a 35 °C. Los controles se realizaron cada 2 horas por 7 días.



Figura 2.3. Siembras de bacterias sulfato reductoras para la prueba de cinética de crecimiento

Para el cálculo de la velocidad específica de crecimiento de masa celular se realizó una gráfica de $\log(\text{Biomasa})$ versus tiempo. Se realizó una regresión lineal en la zona exponencial de crecimiento y se calculó la pendiente de la recta la cual corresponde a la velocidad específica de crecimiento. Para este análisis matemático se utilizó el programa XLSTAT Data analysis and statistics with MS Excel.

2.4.4. DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA O DENSIDAD POBLACIONAL

La población bacteriana o densidad poblacional se determinó por el método del Número Más Probable (NMP). Para el desarrollo de esta prueba se ocupó 2,1 L de efluente de cianuración por cada fuente de carbono (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %). Para la adición de fuente de carbono se ocupó los valores descritos en la Tabla 2.6, se procedió al ajuste de pH en 7,0 y finalmente se filtró la solución.

Tabla 2.6. Cantidades volumétricas adicionadas de ácido láctico al efluente de cianuración para la determinación de la población bacteriana

Concentración fuente de carbono (ácido láctico)	Volumen (mL) añadido de ácido láctico al efluente de cianuración
1,0%	21,0
2,5%	52,5
5,0%	105,0

En viales de 25 mL se dosificó 20 mL de la solución filtrada. El inóculo fue tomado del vial que presentó mejor crecimiento en la prueba realizada en el apartado 2.4.3. Una vez terminada la dosificación de los viales, al primer vial se añadió 0,2 mL de inóculo de Bacterias Sulfato Reductoras, luego se procedió a realizar las diluciones en serie. Este procedimiento consistió en transferir 0,2 mL de bacterias sulfato reductoras de un vial a otro. Cada transferencia corresponde a una dilución de 1 en 100.

Este procedimiento se repitió hasta obtener 100 diluciones (10^{-100}), obteniéndose un total de 101 viales de siembra por cada concentración de fuente de carbono. Los frascos fueron sellados completamente e introducidos en la incubadora a 35 °C. Los controles visuales de positivos consistió en identificar visualmente el sobrenadante presente en la solución, y los negativos fueron identificados por la ausencia de dicho sobrenadante. Estos controles fueron realizados cada 24 horas por 21 días.

2.4.5. DETERMINACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO DEL ELFUENTE DE CIANURACIÓN VARIANDO LA CONCENTRACIÓN DE LA FUENTE DE CARBONO (ÁCIDO LÁCTICO)

En esta prueba se trabajó con un volumen de efluente 2,0 L para cada concentración de fuente de carbono (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %). Para la adición de fuente de carbono se ocupó los valores descritos en la Tabla 2.7, se procedió al ajuste de pH en 7,0 y finalmente se filtró la solución.

Tabla 2.7. Volumen adicionado de ácido láctico al efluente de cianuración para la determinación de la precipitación de hierro

Concentración fuente de carbono (ácido láctico)	Volumen (mL) añadido de ácido láctico al efluente de cianuración
1,0%	20,0
2,5%	50,0
5,0%	100,0

Para asegurar que el medio sea completamente anóxico se empleó un sistema de sueros fisiológicos de 1 L de capacidad. Previamente a su utilización se realizó un vaciado del contenido de los sueros fisiológicos y también un secado, todo esto se llevo a cabo con la finalidad de evitar una contaminación con el medio de cultivo que se empleó para la prueba.

A cada suero se le dosificó 1 L de la solución filtrada y se añadió 10 mL de inóculo de bacterias sulfato reductoras. El inóculo fue tomado del vial que presentó mejor crecimiento en la prueba realizada en la sección 2.4.3. En total se seleccionó tres tipos de inóculos, uno para cada concentración de fuente de carbono. La prueba se realizó para dos valores de temperatura: 28 °C y 35 °C, obteniéndose 2 sueros por siembra por cada concentración de fuente de carbono.

Los controles fueron realizados cada 3 horas por 8 días, en cada control se procedió a tomar 10 mL de muestra del suero, sobre la cual se determinó los siguientes parámetros:

- Concentración de hierro en solución con el uso de un equipo de Absorción Atómica (Buck Scientific 210 VGP).
- Cantidad de sulfatos presentes en la solución por el método turbidimétrico en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).
- Cantidad de sulfuros presentes en la solución mediante el método 4500-S2-D Azul de metileno por espectrofotometría en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

Para determinar la precipitación de hierro del efluente de cianuración se construyó una gráfica de concentración de hierro versus tiempo. El porcentaje de precipitación de hierro se lo realizó mediante un cálculo matemático de porcentaje utilizando los datos obtenidos de las mediciones de la concentración de hierro en el equipo de Absorción Atómica.

2.4.6. DETERMINACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO DEL ELFUENTE DE CIANURACIÓN VARIANDO LA CONCENTRACIÓN DE INÓCULO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

En esta prueba se trabajó con un volumen de efluente 1,0 L para dos concentraciones de inóculo de bacterias sulfato reductoras (2,0 % y 5,0 %). La concentración de ácido láctico añadido fue del 2,5 % para cada litro de efluente, luego se ajustó el valor de pH en 7,0 y finalmente se filtró cada solución.

Para asegurar un medio anóxico se empleó un sistema de sueros fisiológicos de 500 mL de capacidad, el proceso previo a la utilización de los sueros fisiológicos es el mismo que se detalló en el apartado 2.4.5.

A cada suero se le dosificó 500 mL de la solución filtrada y se añadió la cantidad de inóculo de bacterias sulfato reductoras descrita en la Tabla 2.8. El inóculo fue tomado del vial que presentó mejor crecimiento en la prueba realizada en el apartado 2.4.3.

La prueba se realizó para dos valores de temperatura: 28 °C y 35 °C, obteniéndose 2 sueros por cada concentración de inóculo de bacterias sulfato reductoras.

Tabla 2.8. Cantidades volumétricas adicionadas de inóculo de SRB al efluente de cianuración

Concentración de inóculo de SRB	Volumen (mL) añadido de inóculo de SRB al efluente de cianuración
2,0%	10,0
5,0%	25,0

Los controles fueron realizados cada 3 horas por 8 días, en cada control se procedió a tomar 10 mL de muestra del suero, sobre la cual se determinó la concentración de hierro en solución con el uso de un equipo de Absorción Atómica (Buck Scientific 210 VGP)

Para determinar la precipitación de hierro del efluente de cianuración se construyó una gráfica de concentración de hierro versus tiempo. El porcentaje de precipitación de hierro se lo realizó mediante un cálculo matemático de porcentaje utilizando los datos obtenidos de las mediciones de la concentración de hierro en el equipo de Absorción Atómica.

2.5. DISEÑO CONCEPTUAL DE UN REACTOR BATCH DE 22 m³ DE CAPACIDAD PARA LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO DE UN EFLUENTE DE CIANURACIÓN MEDIANTE EL USO DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Con base a los resultados obtenidos de las pruebas de laboratorio realizadas para determinar los parámetros de operación del proceso de precipitación biológica de hierro mediante un consorcio de bacterias sulfato reductoras se logró establecer las condiciones óptimas de operación, a partir de las cuales se procedió al diseño conceptual del reactor batch de 22 m³.

2.5.1 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE REACCIÓN

A partir del cálculo de la velocidad específica de crecimiento de masa celular determinado en el apartado 2.4.3 se estableció la ley de velocidad de crecimiento celular mediante la aplicación de la ecuación de Monod para crecimiento exponencial, mencionada en la Ecuación [1.4] de la sección 1.2.3.2. De esta manera se estableció la cinética de reacción.

2.5.2 ECUACIONES DE DISEÑO DEL REACTOR BATCH

Para la formulación de las ecuaciones del diseño del reactor batch se realizó los respectivos balances de masa, luego se formuló la ecuación del diseño para un sistema batch y conjuntamente con la ecuación planteada para determinar la ley de velocidad se estableció un sistema de ecuaciones para el diseño conceptual del reactor batch. En la Figura 2.4 se ilustra el algoritmo llevado a cabo para establecer las ecuaciones del diseño del reactor batch.

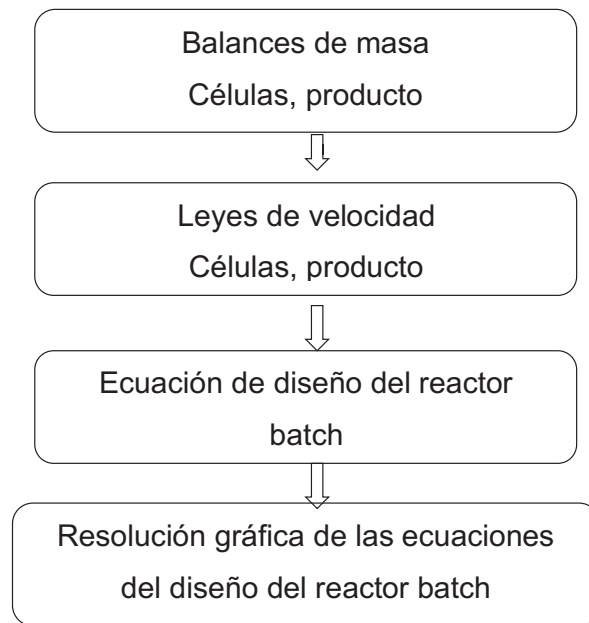


Figura 2.4. Algoritmo del diseño conceptual del reactor batch

2.5.3 DIMENSIONAMIENTO DEL REACTOR BATCH

Para realizar el dimensionamiento del reactor batch primero se estableció la relación entre la altura y el diámetro del reactor para lo cual se consideró el criterio de Anyanwu, Mbajorgu, Oparaku, Odigboh y Emmanuel (2012) quienes exponen que la relación de altura a diámetro de un reactor sin deflectores debe estar entre 0,75 y 1,5. Por tanto se asumió que la altura es igual a 1,5 veces el diámetro del reactor.

La selección del material se lo realizó tomando en cuenta la resistencia del material a los productos obtenidos. Finalmente se elaboró un esquema del reactor batch con las medidas determinadas en el dimensionamiento.

2.5.4 ESTIMACIÓN DE COSTOS DEL DISEÑO DEL REACTOR BATCH

La estimación de costos es una predicción de los recursos monetarios necesarios para el desarrollo de una actividad o un proyecto que permite establecer su viabilidad o posibilidad de llevarlo a cabo.

La estimación de los costos del diseño del reactor batch se realizó con base al costo de construcción del reactor de acuerdo al dimensionamiento realizado y al material de construcción seleccionado, además, se consideró los costos de servicios industriales.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS QUÍMICOS INICIALES DEL EFLUENTE DE CIANURACIÓN.

Los resultados obtenidos de la determinación de los parámetros químicos: pH, concentración de sulfatos, concentración de cianuro total, concentración de hierro, son presentados a continuación.

3.1.1. RESULTADOS DE pH

En la Tabla 3.1. se presenta los valores de pH del efluente de cianuración con el cual se realizó toda la experimentación.

Tabla 3.1. Valores de pH del efluente de cianuración

Efluente de cianuración	Nº ensayos	pH
	1	9,58
	2	9,92
	3	9,15
	4	9,30
	5	9,71
	6	9,25
	7	10,33
	8	9,70
	9	9,50
	10	9,63
Promedio		9,61

Para este análisis se llevó a cabo 10 ensayos, cada ensayo fue realizado por triplicado, dando un total de 30 muestras. Como se puede observar el pH promedio del efluente de cianuración corresponde a 9,61, es decir, posee un pH alcalino dentro de la escala de pH. Normalmente los procesos de cianuración de oro trabajan dentro de un rango de pH entre 10,5 y 11,0 para evitar la producción

de ácido cianhídrico, es por eso que sus efluentes tienen un pH básico del orden 9,0 hasta 11,0 en sus descargas. La determinación de pH es necesaria porque interviene tanto en el crecimiento bacteriano como en la precipitación selectiva de los metales pesados, como se ha descrito en la revisión bibliográfica.

3.1.2. RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SULFATOS

De igual manera que en el punto anterior, la Tabla 3.2. reporta los valores promedios de la concentración de sulfatos en el efluente de cianuración.

Tabla 3.2. Concentración de sulfatos (SO_4^{2-}) presentes en el efluente de cianuración

Efluente de cianuración	Nº ensayos	Sulfato (mg/L)
	1	445,00
	2	670,00
	3	1 080,00
	4	700,00
	5	1 100,00
	6	850,00
	7	730,00
	8	545,00
	9	370,00
	10	680,00
Promedio		717,00

El efluente con el que se trabajó presenta en promedio una concentración de sulfatos de 717,00 mg/L. Este valor está dentro del límite máximo permisible de descarga de efluentes a un cuerpo de agua dulce (LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL, 2003, p. 42). Además es importante mencionar que la concentración de sulfato en el efluente depende de la composición del mineral con el que se haya trabajado para el proceso de cianuración, es por eso que existe una variación en la concentración de sulfatos en el efluente con el que se trabajó. La determinación de la concentración de sulfato es necesaria conocerla ya que este parámetro es fundamental en el proceso de reducción de sulfato como se ha mencionado en bibliografía.

3.1.3. RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE CIANURO TOTAL

En la Tabla 3.3. se reporta la concentración de cianuro total presente en el efluente de cianuración.

Tabla 3.3. Concentración de cianuro total (CN⁻) presente en el efluente de cianuración

Efluente de cianuración	N° ensayos	Cianuro total (mg/L)
	1	0,63
	2	0,32
	3	0,42
	4	1,37
	5	0,63
	6	0,63
	7	0,63
	8	0,55
	9	0,42
	10	0,42
Promedio		0,60

El efluente de cianuración con el que se trabajó presenta en promedio una concentración de cianuro total de 0,60 (mg/L), esta concentración se encuentra por encima del límite máximo permisible de descarga de efluentes a un cuerpo de agua dulce según la LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL.

3.1.4. RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO

La Tabla 3.4. reporta las concentraciones de hierro en el efluente de cianuración. La concentración promedio de hierro en el efluente es de 56,44 ppm, cuyo valor excede al valor establecido en la LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL.

Tabla 3.4. Concentración de hierro total presente en el efluente de cianuración

	Nº ensayos	Hierro total (ppm)
	Efluente de cianuración	1
2		49,80
3		45,80
4		46,00
5		61,60
6		57,80
7		68,40
8		65,20
9		47,30
10		55,68
Promedio		56,44

Los efluentes del proceso de cianuración tienen como característica la presencia de altos contenidos de metales pesados, elevadas concentraciones de cianuro, concentraciones elevadas de sulfatos, etc. (Salazar et al., 2012, p.349). La determinación de la concentración de metales pesados, hierro, es necesario conocer ya que su presencia interviene en el proceso de sulfato reducción como ha sido mencionado en la revisión bibliográfica.

3.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA VARIACIÓN DE CONCENTRACIÓN DEL IÓN METÁLICO Fe^{2+} EN LA RESISTENCIA BACTERIANA DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS.

Se presenta la discusión de los resultados obtenidos de la prueba de análisis del efecto de la variación de concentración del ión metálico Fe^{2+} en la resistencia bacteriana de un consorcio de Bacterias Sulfato Reductoras.

3.2.1. RESULTADOS DE LA PREPARACIÓN DEL MEDIO POSTGATE C MODIFICADO Y FORMACIÓN DEL INÓCULO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

La preparación del medio Postgate C modificado fue realizado como se indica en el apartado 2.2.1. El medio de cultivo obtenido fue bastante satisfactorio para el desarrollo de las bacterias, a lo largo de este proceso es importante considerar la parte de la esterilización ya que se requiere de un medio de cultivo libre de impurezas o que no presente algún tipo de contaminación.

Otro aspecto relevante en la preparación del medio fue la medición de pH, el momento que se adicionó ácido láctico al medio los valores de pH alcanzados fueron ácidos, por lo que fue necesario realizar un ajuste de pH en 7,0 con el uso de cal en solución.

El empleo de cal en solución produjo precipitados de color blanquecino como se observa en la Figura 3.1, los cuales producían una turbidez en el medio imposibilitando la posterior identificación visual de precipitados bacterianos, por tanto fue necesario realizar una filtración para clarificar el medio.

Para la preparación del inóculo se filtró un volumen de 15 mL de bacterias sulfato reductoras tomadas de la cepa LIBZA1, la filtración de bacterias se lo realizó para evitar que algún precipitado bacteriano presente en la cepa LIBZA1 se introdujera en el nuevo medio. Al cabo de 7 días las nuevas siembras presentaron precipitados bacterianos debido al incremento de la biomasa, esto se puede observar en la Figura 3.2.

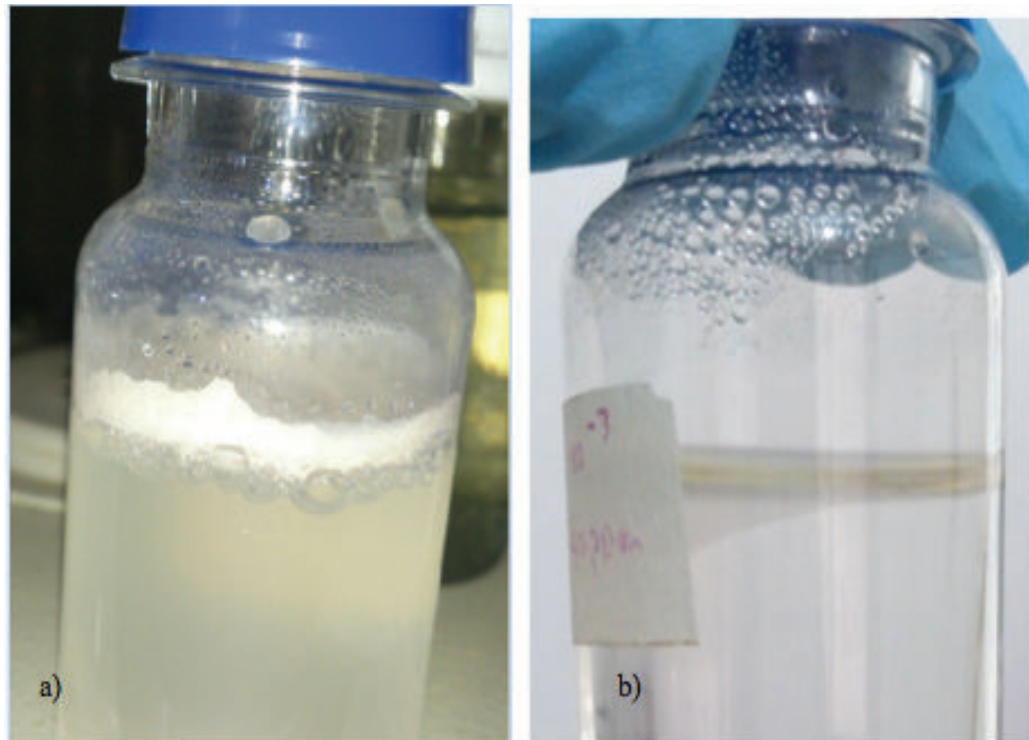


Figura 3.1. Preparación del medio Postgate C modificado: a) formación de precipitados blanquecinos de cal, b) medio Postgate C modificado clarificado

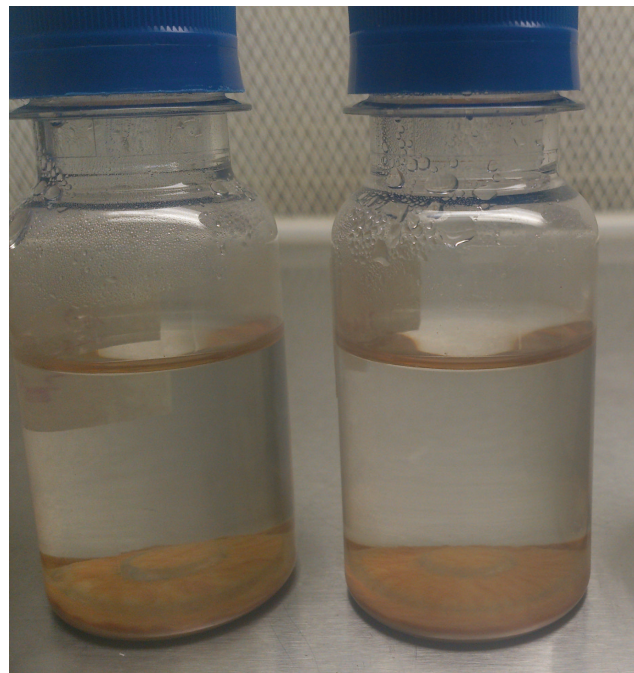


Figura 3.2. Inóculo de bacterias sulfato reductoras obtenidas a partir de la cepa LIBZA1

3.2.2. RESULTADOS DE LA PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE HIERRO A DISTINTAS CONCENTRACIONES

Para la preparación de las soluciones de hierro se empleó el medio Postgate C modificado y el inóculo de bacterias obtenido. Para lograr la concentración de hierro en cada solución se realizó los cálculos pertinentes tomando como base una solución estándar de hierro de concentración 1 000 ug/mL.

En la Tabla 3.5. se presenta las cantidades necesarias de hierro para formar las soluciones requeridas.

Tabla 3.5. Cantidades añadidas de solución estándar de hierro para la preparación de soluciones de hierro a 50 ppm, 150 ppm y 300 ppm

Volumen de solución de hierro (mL)	Concentración de hierro en la solución (ppm)	Volumen de la solución estándar de hierro añadido (mL)
600	50	30
	150	90
	300	180

La adición del metal al medio Postgate C modificado produjo un ligero cambio de coloración en el medio, sin embargo, al homogenizar la mezcla retornó a su color original, esto se debe a reacciones paralelas que se producen entre los compuestos del medio Postgate C modificado y la solución estándar de metal añadida. Cuando las soluciones estaban listas se procedió a la adición del inóculo de bacterias sulfato reductoras, para ello se procedió de acuerdo a lo indicado en el apartado 2.2.3.

3.2.3. RESULTADOS DE CONTROL DE CRECIMIENTO O DENSIDAD POBLACIONAL DE LAS BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

En la Figura 3.3. se presentan los resultados obtenidos de 21 días de ensayo para la densidad poblacional de las Bacterias Sulfato Reductoras a diferentes concentraciones de hierro.

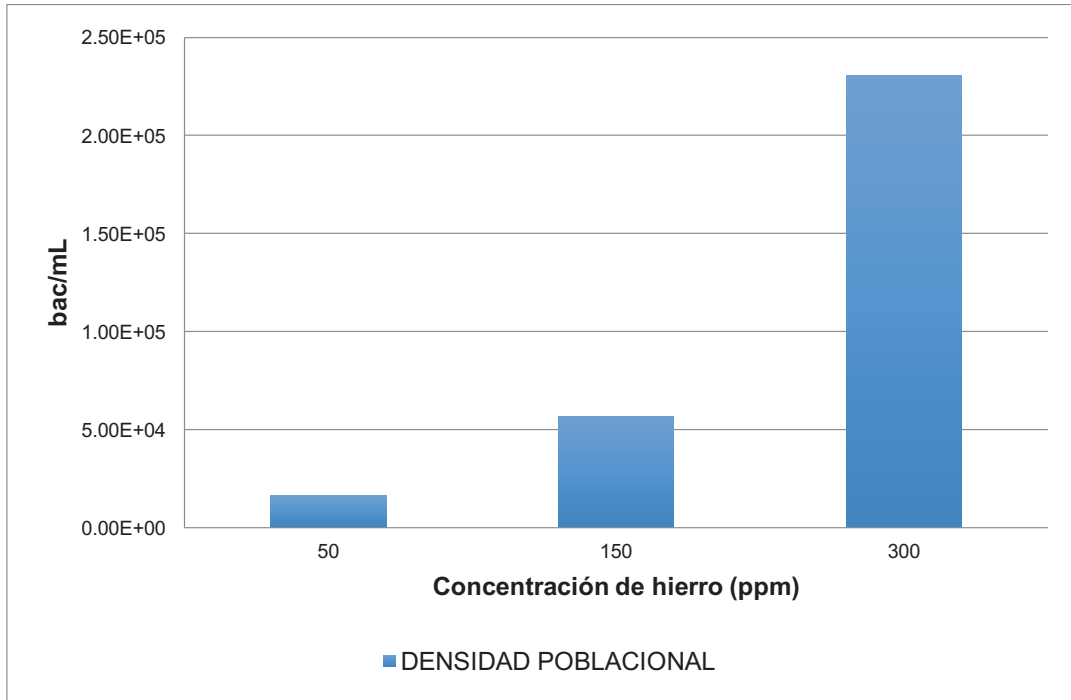


Figura 3.3. Densidad poblacional de SRB a diferentes concentraciones de hierro, en medio Postgate C modificado, T= 35 °C, concentración de inóculo de SRB=1,0 %

Como se puede observar en la Figura 3.3, el proceso de inhibición frente a las diferentes concentraciones de hierro es nulo lo cual indica que la resistencia bacteriana del consorcio supera el rango de concentración de hierro seleccionado.

Para este análisis se utilizó medio Postgate C modificado, el cual contiene todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de las bacterias y los resultados obtenidos indican que las bacterias pueden desarrollarse en presencia de hierro hasta una concentración de 300 ppm. Por lo tanto cuando se realice las pruebas con el efluente de cianuración, éste debe presentar concentraciones de hierro menores o iguales a 300 ppm para que las bacterias puedan desarrollarse sin que exista proceso de inhibición.

La densidad poblacional de las bacterias a 50 ppm de hierro fue de $1,69 \times 10^4$, para 150 ppm de hierro fue de $5,72 \times 10^4$ y finalmente para 300 ppm de hierro fue de $2,31 \times 10^5$.

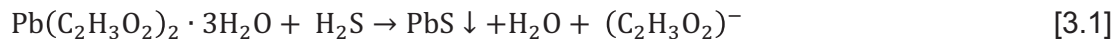
3.3. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (H₂S) DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Los resultados de la evaluación cualitativa y cuantitativa de la producción de ácido sulfhídrico de un consorcio de Bacterias Sulfato Reductoras son presentados a continuación.

3.3.1. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (H₂S)

Para la identificación cualitativa de ácido sulfhídrico o sulfuro de hidrógeno gaseoso se realizó el ensayo de acetato de plomo. Existen muchos medios para detectar la producción de ácido sulfhídrico o sulfuro de hidrógeno gaseoso (H₂S), pero los procedimientos con acetato de plomo son los más sensibles para la detección de cantidades ínfimas de H₂S en las bacterias (MacFaddin, 2003, p.194).

La reacción correspondiente al ensayo de acetato de plomo se presenta en la Ecuación [3.1].



La Ecuación [3.1] describe la reacción química de precipitación del ácido sulfhídrico o sulfuro de hidrógeno gaseoso con acetato de plomo para obtener un precipitado de sulfuro de plomo de color marrón oscuro visible. El resultado positivo de esta prueba evidencia la producción de ácido sulfhídrico en las siembras realizadas en el apartado 2.3.1

3.3.2. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (H₂S)

Para la determinación cuantitativa de producción de ácido sulfhídrico (H₂S) se llevó a cabo dos análisis cuyos resultados son expuestos a continuación.

3.3.2.1. Resultados de la determinación de sulfatos (SO₄⁻²)

Para determinar la reducción de sulfato se empleó el método turbidimétrico (EPA 9038) con la ayuda de un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH), a continuación se presenta la Figura 3.4. la cual indica la curva de reducción de sulfato en función del tiempo.

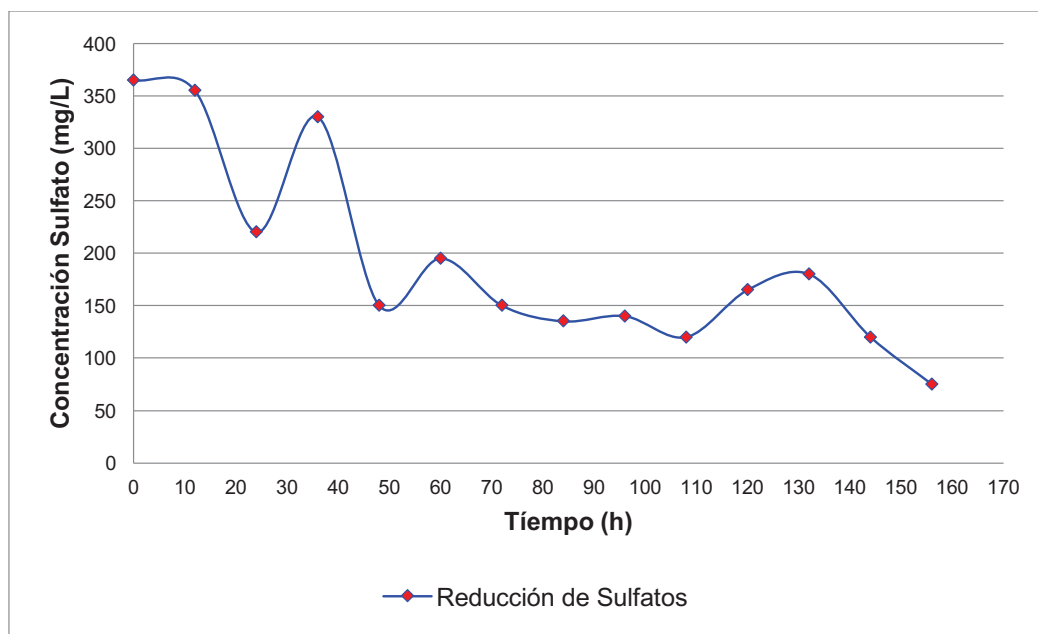


Figura 3.4. Reducción de sulfato en medio Postgate C modificado, T=35 °C, concentración de inóculo=1,0 %

La gráfica anterior, presenta una tendencia de disminución relativa con respecto al tiempo. Se habla de una tendencia de disminución relativa puesto que existen segmentos de la gráfica que presentan un aumento en la concentración de sulfato o se mantiene constante; esto se puede relacionar con el proceso de crecimiento bacteriano de la siguiente manera: en el proceso de reducción desasimilatorio de

sulfato, éste es empleado como un agente oxidante cuyo aporte energético sirve para oxidar la fuente de carbono (necesaria para la multiplicación de microorganismos), entonces al no existir un consumo de sulfato, no existe aporte energético que oxide la fuente de carbono y por lo tanto no hay crecimiento bacteriano. El comportamiento evidenciado en la gráfica permite afirmar que el proceso de reducción de sulfato se encuentra relacionado directamente con el crecimiento bacteriano (Paños et al., 2010, p.8; Andrade, 2010, p.40; Vicente, 2006, p.38). De la gráfica de reducción de sulfato se puede observar que la mínima concentración alcanzada es de 120 mg/L a las 108 horas de proceso.

3.3.2.2. Resultados de la concentración de sulfuros (S^{-2})

La determinación de la producción de sulfuros se llevó a cabo por espectrofotometría (EPA 376.2), mediante el método 4500-S2- D Azul de metileno, en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH), a continuación se presenta la Figura 3.5. la cual indica la curva de producción de sulfuros en función del tiempo.

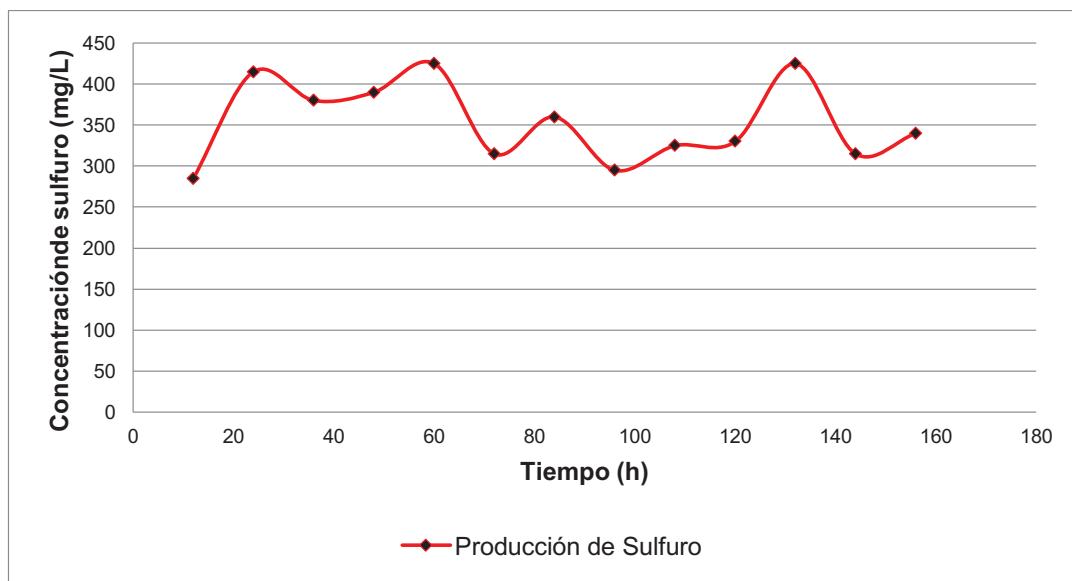


Figura 3.5. Producción de sulfuro en medio Postgate C modificado, T=35 °C, concentración de inóculo=1,0 %

La mencionada gráfica presenta una tendencia de aumento relativo en la concentración de sulfuro con respecto al tiempo. Se habla de una tendencia de aumento relativo de la concentración de sulfuro ya que existe segmentos de la gráfica que presentan una disminución de la concentración de sulfuros, esto puede suceder porque el sulfuro es producido a partir del proceso de reducción desasimilatorio de sulfato, entonces cuando existe reducción de sulfato habrá una producción de sulfuro. Además en la gráfica de producción de sulfuro se puede observar que la máxima concentración alcanzada es de 425 mg/L a las 132 horas de proceso.

En la Figura 3.6. se presenta una gráfica comparativa de la reducción de sulfato y la producción de sulfuro.

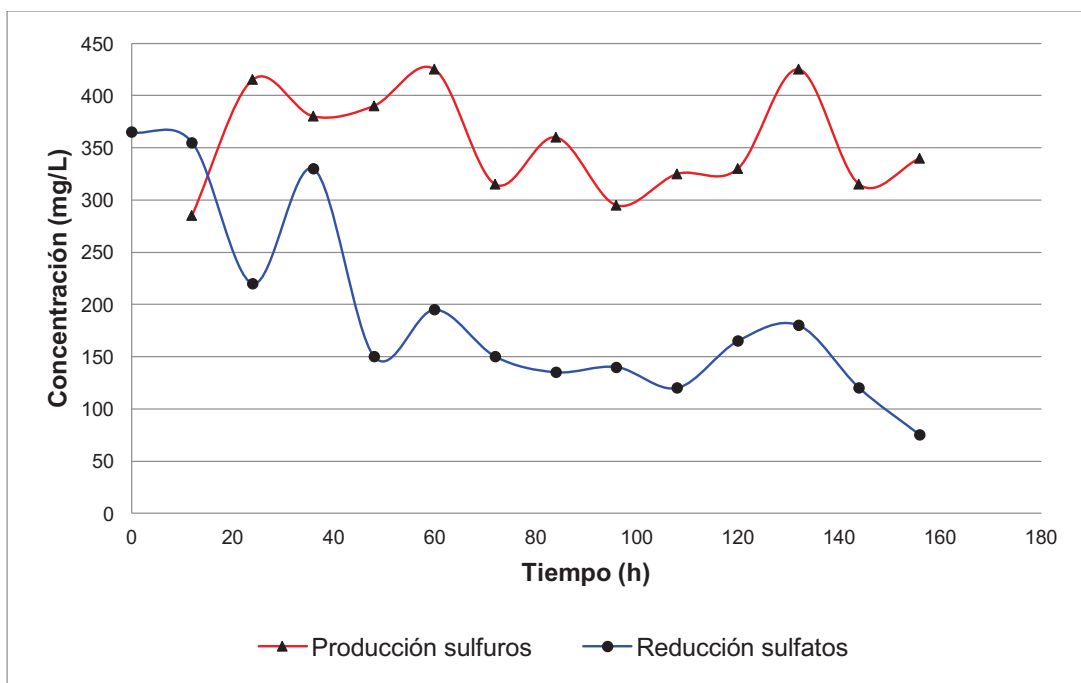


Figura 3.6. Producción de sulfuro y reducción de sulfato en medio Postgate C modificado, $T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración de inóculo=1,0 %

Al analizar las tendencias de las gráficas presentadas en la Figura 3.6 se puede establecer que mientras se reduce el sulfato existe una producción de sulfuro, aunque existen segmentos de la gráfica que presentan un comportamiento contrario, la tendencia de la gráfica en general representa satisfactoriamente el

proceso de producción de sulfuro biogénico. La máxima concentración de sulfuro producido es de 425 mg/L en 132 horas mientras que el consumo de sulfato para ese mismo tiempo es de 180 mg/L, sin embargo la reducción de sulfato llega a alcanzar una concentración de 75 mg/L en 156 horas.

3.4. RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE OPERACIÓN DEL PROCESO DE PRECIPITACIÓN BIOLÓGICA DE HIERRO MEDIANTE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

3.4.1. RESULTADOS DEL AJUSTE DE pH

En la Tabla 3.1. se presenta los valores de pH del efluente de cianuración con el cual se realizó la experimentación. Como se puede observar el pH promedio del efluente de cianuración corresponde a 9,61, es decir, posee un pH alcalino dentro de la escala de pH. De acuerdo a este valor de pH es necesario que el efluente sea sometido a un ajuste de pH para poder iniciar el proceso de precipitación biológica de hierro. El valor de pH requerido para una precipitación selectiva de hierro según bibliografía mencionada en este texto debe ser de 7,0.

3.4.2. RESULTADO DE LA ADAPTACIÓN DE LAS BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS AL EFLUENTE DE CIANURACIÓN

La composición del medio para el desarrollo de las SRB es fundamental ya que pueden existir compuestos que alteren el medio y promuevan el desarrollo de otras bacterias que puedan coexistir con las SRB (Cabrera, 2005, p.96). En esta parte de la experimentación se utilizó como medio de cultivo al efluente de cianuración en reemplazo del medio Postgate C modificado, el nuevo medio de cultivo no contiene todos los micronutrientes necesarios para el desarrollo de las SRB y como se ha determinado tiene concentraciones altas de hierro lo cual

podría ocasionar un proceso de inhibición bacteriana. Para evitar la inhibición bacteriana y el desarrollo de otras bacterias se realizó una adaptación de las bacterias al nuevo medio, el procedimiento llevado a cabo para la adaptación bacteriana fue descrito en el apartado 2.4.2.

Se planteó una escala de adaptación entre 0 % efluente – 100 % medio Postgate C modificado hasta 100 % efluente – 0 % medio Postgate C modificado, las combinaciones que presentaron crecimiento de biomasa se detallan en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6. Combinaciones de la escala de adaptación bacteriana con crecimiento de biomasa

% Medio Postgate C	% efluente de cianuración	Combinaciones posibles	*Crecimiento de biomasa
0	100	1	+
10	90	2	+
20	80	3	+
30	70	4	+
40	60	5	+
50	50	6	+
60	40	7	+
70	30	8	+
80	20	9	+
90	10	10	+
100	0	11	+

* “+” Indicativo de respuesta positiva al crecimiento de biomasa

En la Tabla 3.6. se presentan los resultados globales de la prueba realizada para los tres concentraciones de ácido láctico, se tiene interés particular por las combinaciones que tengan mayor porcentaje de efluente es por ello que se seleccionó las combinaciones 1, 2, 3 y 4 como las mejores.

Con estas combinaciones se realizó una nueva prueba de adaptación bacteriana para que las bacterias se desarrollen más rápidamente en el nuevo medio, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7. Combinaciones de la escala de adaptación bacteriana con crecimiento de biomasa y tiempos de crecimiento

% Medio Postgate C	% efluente de cianuración	Combinaciones posibles	Crecimiento de biomasa	Tiempo de crecimiento para FC1 ^a (h)	Tiempo de crecimiento para FC2 ^b (h)	Tiempo de crecimiento para FC3 ^c (h)
0	100	1	+	12	4	6
10	90	2	+	2	2	2
20	80	3	+	2	2	2
30	70	4	+	2	2	2

^a FC1: concentración de ácido láctico de 1,0 %

^b FC2: concentración de ácido láctico de 2,5 %

^c FC3: concentración de ácido láctico de 5,0 %

Los resultados presentados en la Tabla 3.7. indican que todas las combinaciones presentaron crecimiento de biomasa, sin embargo, las combinaciones 2, 3 y 4 presentan crecimiento de biomasa en menor tiempo frente a la combinación 1. A pesar de esta particularidad, se eligió a la combinación 1 como la mejor puesto que utiliza como medio únicamente efluente de cianuración y el objetivo de la adaptación bacteriana es estimular a las bacterias para que se adapten a un nuevo medio y puedan realizar sus procesos.

3.4.3. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CINÉTICA DE CRECIMIENTO BACTERIANO

En la Figura 3.7 se pueden observar las curvas de crecimiento de biomasa a diferentes concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3), se utilizó como medio efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 35 °C. En la curva de crecimiento de biomasa se observan las etapas de desarrollo de las bacterias SRB para cada una de las concentraciones de ácido láctico utilizadas.

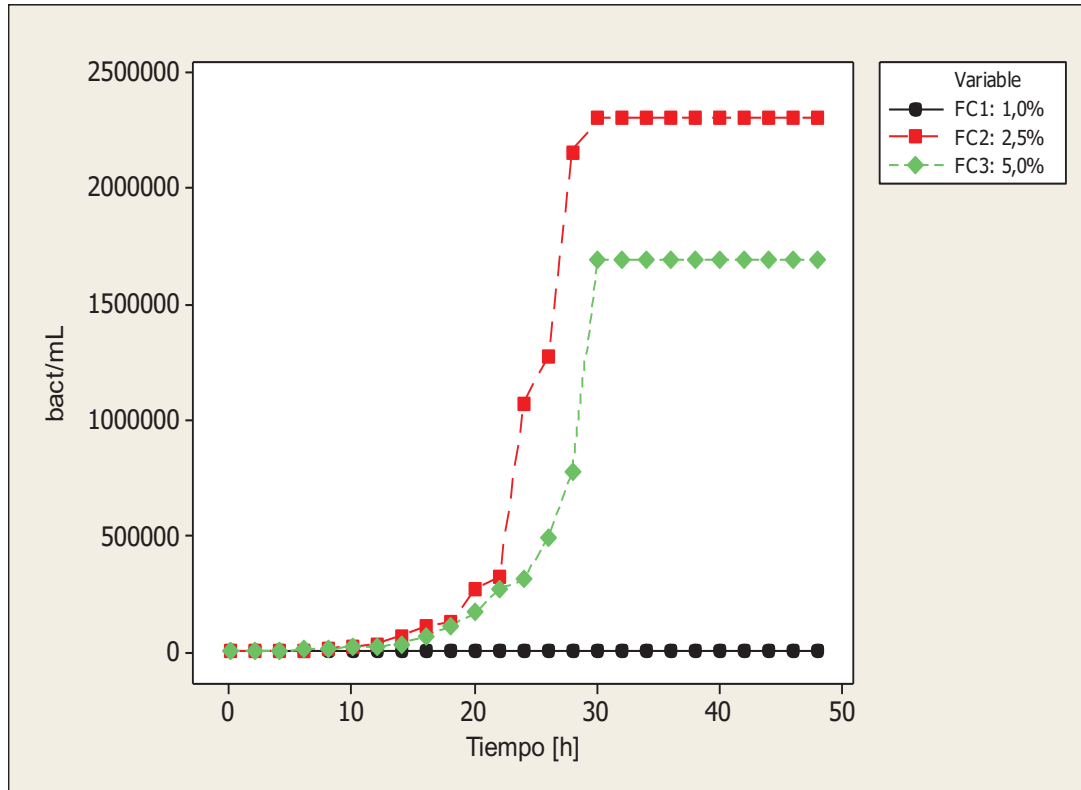


Figura 3.7. Curva de crecimiento bacteriano de SRB con ácido láctico como fuente de carbono a diferentes concentraciones, medio: efluente de cianuración, $T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$

En la Figura 3.7 se puede apreciar que al incrementar la concentración de ácido láctico se logra reducir el tiempo de la fase de latencia como es el caso de FC3 que presenta una fase de latencia menor a 4 horas, seguida por FC2 con una fase de latencia menor a 6 horas. Para FC1 se observa en la Figura 3.7 una recta durante todo el proceso, esto se debe a la escala seleccionada para graficar. En el Anexo III, Figura AIII.4 se presenta la gráfica de curva de crecimiento bacteriano para FC1 donde se aprecia que su fase de latencia es menor a 10 horas.

Para la fase de crecimiento exponencial FC3 presenta un intervalo de tiempo de 6 - 30 horas, seguido por FC2 de 8 - 30 horas y finalmente FC1 de 10 - 26 horas, siendo éste el menor de los intervalos para la zona de crecimiento exponencial. Para la zona de disminución de la velocidad de crecimiento FC3 va desde las 32 - 34 horas, FC2 desde las 30 - 34 horas y FC1 desde las 28 - 32 horas.

Finalmente FC3 alcanza la fase estacionaria a partir de las 38 horas, seguida de FC2 a partir de las 36 horas y FC1 a partir de las 34 horas. FC2 y FC3 presentan intervalos similares de tiempo para el desarrollo de la zona de crecimiento exponencial, sin embargo, la curva de crecimiento exponencial de FC2 es mayor frente a FC3 y logra alcanzar mayor desarrollo bacteriano. En el Anexo III, Tabla AIII.1 se presentan los datos con los cuales se elaboró la curva de crecimiento bacteriano de SRB.

Para determinar la velocidad específica de crecimiento bacteriano se realizó una regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para cada una de las curvas obtenidas de la Figura 3.7. Los datos para el análisis de regresión se presentan en el Anexo III, Tabla AIII.2, AIII.3 y AIII.4. En la Tabla 3.8 se presenta los resultados de la cinética de crecimiento de bacterias SRB a diferentes concentraciones de ácido láctico.

Tabla 3.8. Parámetros cinéticos de crecimiento de bacterias SRB

Concentración ácido láctico	Parámetros	
	Velocidad específica de crecimiento (h^{-1})	Tiempo de duplicación (h)
FC1: 1,0 %	0,1333	5,20
FC2: 2,5 %	0,2419	2,87
FC3: 5,0 %	0,2099	3,30

Los resultados presentados en la Tabla 3.8 permiten establecer que FC2 presenta una velocidad específica de crecimiento mayor que FC1 y FC3 y su tiempo de duplicación es menor con respecto a las demás. La relación que existe entre la velocidad específica de crecimiento y el tiempo de duplicación explicada en bibliografía es inversamente proporcional es por eso que a mayor velocidad específica de crecimiento menor tiempo de duplicación de la célula.

3.4.4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA O DENSIDAD POBLACIONAL

En la Figura 3.8. se presentan los resultados obtenidos de la densidad poblacional durante 21 días de ensayo a diferentes concentraciones de ácido láctico.

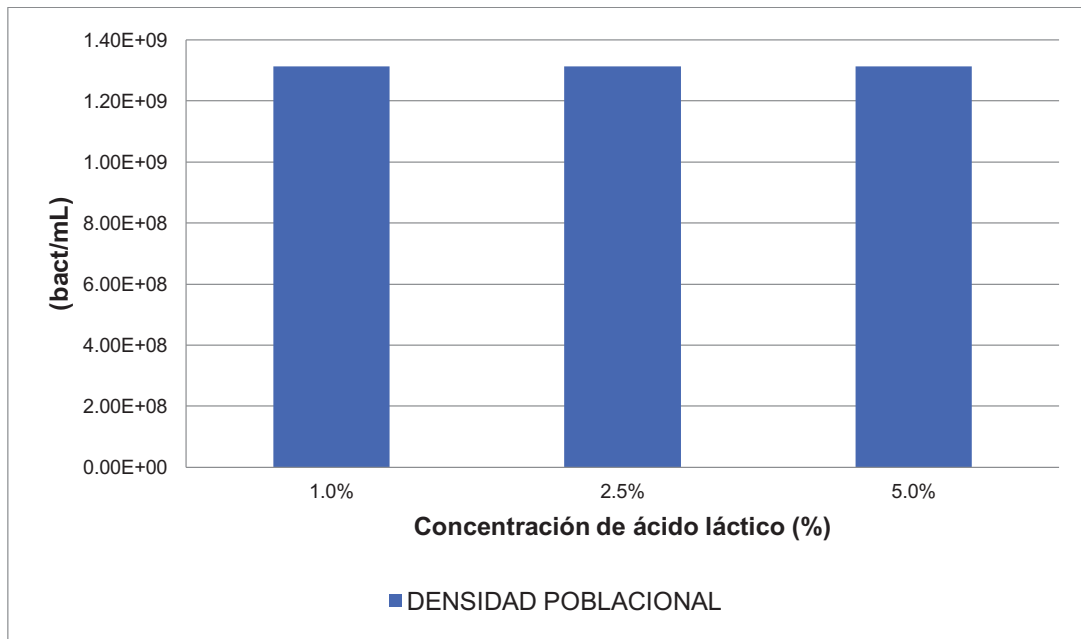


Figura 3.8. Densidad poblacional de SRB a diferentes concentraciones de ácido láctico, utilizando como medio efluente de cianuración, T=35 °C, concentración de inóculo de SRB=1,0 %

Como se puede observar en la gráfica presentada, el aumento de la concentración de ácido láctico ocasionó un aumento incontable en la poblacional bacteriana ya que este análisis fue realizado con tres factores de dilución: 10, 100 y 1 000, y con 10 repeticiones por cada factor. Para los tres factores de dilución mencionados se obtuvieron resultados positivos antes de los 21 días de ensayo. Tras varios resultados positivos de los ensayos realizados se concluye que el consorcio bacteriano presenta una densidad poblacional incontable, es decir, presenta un aumento constante en la concentración de bacterias a partir de su último valor de $1,4 \times 10^9$ bact/mL. Este valor de concentración fue determinado con un factor de dilución de 1 000.

3.4.5. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO DEL EFLUENTE DE CIANURACIÓN VARIANDO LA CONCENTRACIÓN DE LA FUENTE DE CARBONO (ÁCIDO LÁCTICO)

El siguiente ensayo se realizó para tres concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3), se empleó una concentración de inóculo de bacterias del 1,0 %, se utilizó como medio efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 28 °C. Para determinar la concentración de hierro en el efluente se utilizó el método de absorción atómica, los resultados parciales del ensayo se encuentran descritos en las Tablas AII.1 y AII.2 del Anexo II. Los resultados totales con los que se elaboran las gráficas se detallan en la Tabla AII.3 del Anexo II. En la Figura 3.9 se presentan las curvas obtenidas de la concentración de hierro en el efluente para cada una de las concentraciones de ácido láctico.

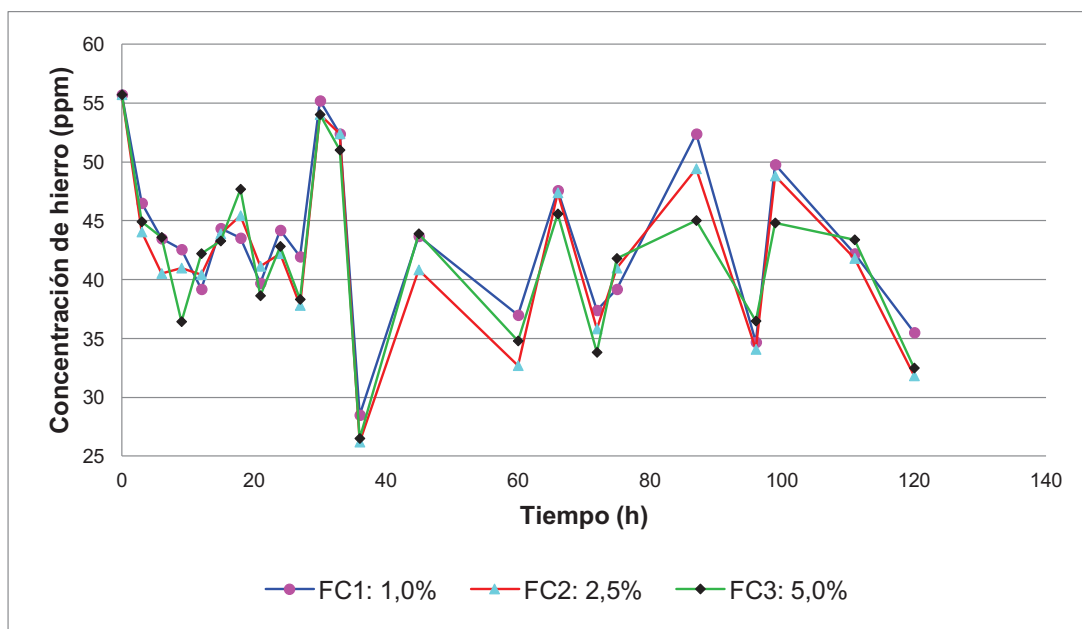


Figura 3.9. Concentración de hierro en el efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la gráfica anterior, el empleo de diferentes concentraciones de ácido láctico no presentan una diferencia significativa en cuanto a la disminución de la concentración de hierro, sin embargo, de la gráfica

se puede distinguir que existe una mejor disminución de la concentración de hierro empleando ácido láctico al 2,5 %, seguida por la concentración de ácido láctico del 5,0 % y por último la concentración de ácido láctico al 1,0 %.

Al final del proceso transcurridas 120 horas, la concentración de hierro alcanzada por FC1 fue de 35,50 ppm, la de FC2 fue de 31,80 ppm y la de FC3 fue de 32,50 ppm, entonces se podría afirmar que relativamente las mejores concentraciones de ácido láctico para el proceso son de 2,5 % y 5,0 %, pero al considerar factores como la disponibilidad y el costo de ácido láctico se concluye que la mejor concentración de ácido láctico es de 2,5 % para un proceso cuya temperatura de trabajo sea de 28 °C.

En la Figura 3.10. se presenta la gráfica de porcentaje de precipitación de hierro con respecto al tiempo. Los resultados obtenidos para el porcentaje de precipitación de hierro se encuentran detallados en la Tabla AII.4 del Anexo II.

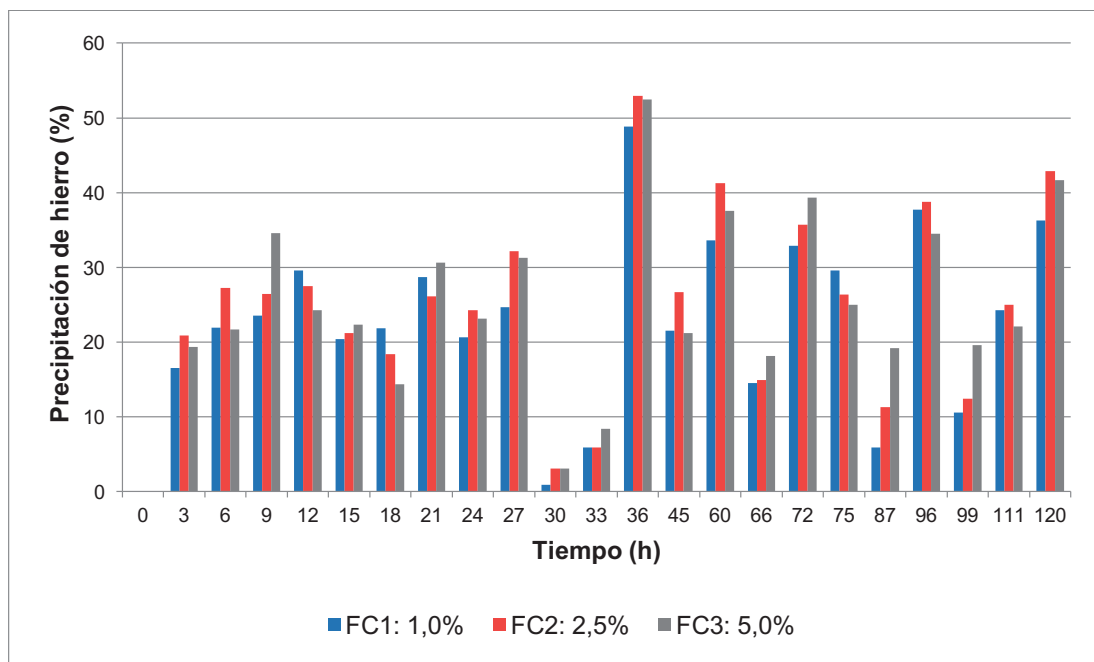


Figura 3.10. Precipitación de hierro del efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.10 los porcentajes de precipitación de hierro para las diferentes concentraciones de ácido láctico van aumentando relativamente con el tiempo. De la gráfica se puede analizar que no existe una incidencia significativa al emplear diferentes concentraciones de ácido láctico pues las precipitaciones de hierro son valores muy cercanos para las tres concentraciones de ácido láctico. A medida que el tiempo transcurre se puede observar una ligera mejoría en la precipitación de hierro al utilizar ácido láctico al 2,5 %, esto se vuelve más relevante a partir de las 36 horas.

Al finalizar el proceso, transcurridas 120 horas se ha obtenido una precipitación de hierro del 42,91 % para FC2, seguido de FC3 con una precipitación de hierro del 41,65 % y finalmente para FC1 se tiene una precipitación de 36,27 %. A pesar de emplear diferentes concentraciones de ácido láctico no se obtiene una precipitación mayor al 45,00 % en un tiempo de 120 horas, por tanto para un proceso cuya temperatura de trabajo sea de 28 °C se puede emplear una concentración de ácido láctico del 2,5 %.

La Figura 3.11 corresponde a la prueba realizada para determinar la producción de sulfuros a tres concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3). Se empleó una concentración de inóculo de bacterias del 1,0 %, se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 28 °C

Para determinar la producción de sulfuros se determinó su concentración por la técnica de espectrofotometría (EPA 376.2), mediante el método 4500-S2- D Azul de metileno, en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Los resultados obtenidos de la producción de sulfuro son detallados en la Tabla AII.10 del Anexo II.

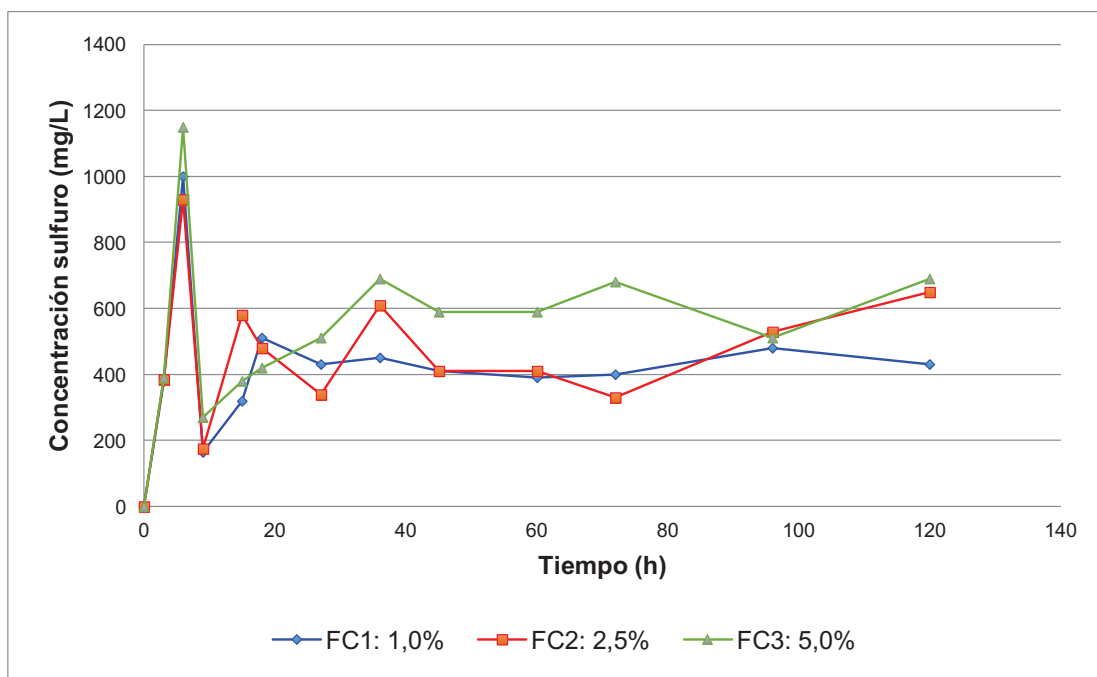


Figura 3.11. Producción de sulfuro, medio efluente de cianuración, $T=28\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.11. las curvas de producción de sulfuro para las tres concentraciones de ácido láctico presentan una tendencia irregular de aumento con respecto al tiempo. De las tres concentraciones de ácido láctico empleadas, la que presenta mayor producción de sulfuro es la FC3, muy cercana a ésta se encuentra la producción de sulfuro de FC2 y por último se tiene la producción de sulfuro de FC1. Además existe una diferencia significativa de producción de sulfuro entre las concentraciones de FC1 y FC2-FC3, por lo que se puede afirmar que una variación en la concentración de ácido láctico produce una variación positiva en la producción de sulfuros. Esta dependencia tiene su justificación con base a la relación existente entre la fuente de carbono empleada y el crecimiento bacteriano, ya que para la multiplicación de microorganismos se requiere de una adecuada concentración de fuente de carbono (Cabrera, 2005, p.96). Al finalizar el proceso transcurrida 120 horas, se ha llegado a producir una concentración de sulfuro del 690 mg/L para FC3, seguida de FC2 con una concentración de sulfuro de 650 mg/L y finalmente se encuentra FC1 con una concentración de sulfuro de 430 mg/L. Por tanto la concentración de ácido láctico

tiene un efecto positivo en la producción de sulfuro biogénico, entonces la mejor concentración de ácido láctico sería de 5,0 %, sin embargo, no existe una diferencia apreciable entre la concentración de ácido láctico del 2,5 % y la de 5,0 %, lo cual implica que se podría trabajar con cualquiera de las dos, pero si se considera factores como disponibilidad y costo del reactivo se optaría por utilizar una concentración de ácido láctico del 2,5 %.

La Figura 3.12 presentada, corresponde a la prueba realizada para determinar la reducción de sulfatos a tres concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3). Se empleó una concentración de inóculo de bacterias del 1,0 %, se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 28 °C. Para determinar la reducción de sulfatos se determinó su concentración empleando el método turbidimétrico (EPA 9038) en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Los resultados obtenidos de la reducción de sulfatos son detallados en la Tabla AII.11 del Anexo II.

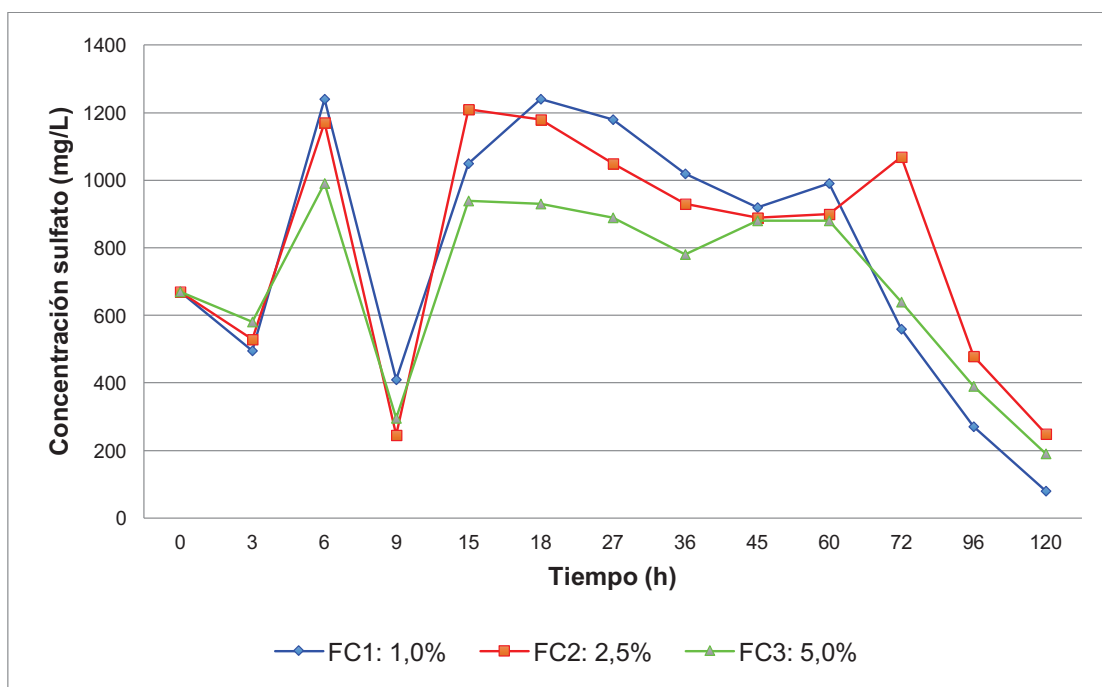


Figura 3.12. Reducción de sulfato, medio efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.12, las curvas de reducción de sulfato para las tres concentraciones de ácido láctico presentan una tendencia irregular de disminución con respecto al tiempo. Inicialmente el efluente dispone de una concentración de 670 mg/L de sulfato como lo indica la Tabla AII.11 del Anexo II, a medida que el tiempo transcurre la concentración de sulfato disminuye lo cual indica que hay una producción de sulfuro y que el proceso de reducción desasimilatorio de sulfato se está llevando a cabo correctamente, sin embargo, la variación de la concentración de fuente de carbono no presenta una incidencia en cuanto a la reducción de sulfato ya que para las tres concentraciones los valores de reducción de sulfato son muy cercanos.

Es importante mencionar que a partir de las 72 horas se puede observar una ligera superioridad en la reducción de sulfato por parte de FC1 la cual se mantiene hasta finalizar el proceso. Al final del proceso, transcurridas 120 horas se ha llegado a reducir sulfato a una concentración de 80 mg/L para FC1, seguida de FC3 con una concentración de sulfato de 190 mg/L y finalmente se encuentra FC2 con una concentración de 250 mg/L. Para la reducción de sulfato se debería emplear una concentración de ácido láctico del 1,0 %, sin embargo la producción de sulfuro no evidencia lo mismo como indica la Figura 3.11 y tampoco la precipitación de hierro observada en la Figura 3.10, esta variabilidad en los resultados puede deberse a que la producción de sulfuro biogénico por parte de FC1 no es suficiente para precipitar todos los iones de hierro presentes en el efluente pero como se ha reducido la mayor cantidad de sulfatos el proceso se da por terminado, aunque no sucede lo mismo para FC2 y FC3.

La Figura 3.13. corresponde al ensayo realizado para determinar la concentración de hierro en el efluente de cianuración para tres concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3). Se empleó una concentración de inóculo de bacterias del 1,0 %, se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 35 °C.

Para determinar la concentración de hierro en el efluente se utilizó el método de absorción atómica, los resultados obtenidos de la concentración de hierro son detallados en la Tabla AII.8 del Anexo II.

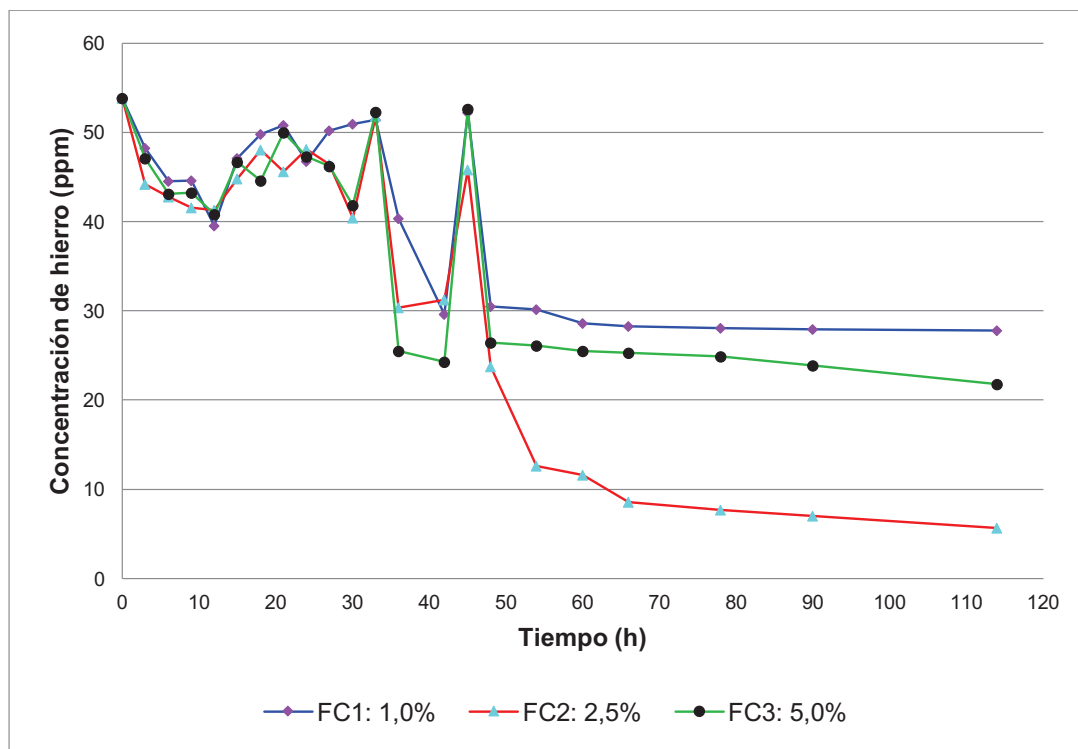


Figura 3.13. Concentración de hierro en el efluente de cianuración, $T= 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

En la Figura 3.13. se presenta las curvas obtenidas de la concentración de hierro en el efluente para cada una de las concentraciones de ácido láctico. Como se puede observar en la gráfica presentada, inicialmente el empleo de diferentes concentraciones de ácido láctico no presentan una diferencia significativa en cuanto a la disminución de la concentración de hierro, sin embargo, a partir de las 48 horas se puede observar una diferencia marcada en la disminución de la concentración de hierro. De acuerdo con la gráfica anterior, la mejor disminución de la concentración de hierro se logra empleando ácido láctico al 2,5 %, seguida por la concentración de ácido láctico del 5,0 % y por último la concentración de ácido láctico al 1,0 %.

Al finalizar el proceso, transcurridas 114 horas la concentración de hierro alcanzada por FC1 fue de 27,80 ppm, la de FC2 fue de 5,65 ppm y la de FC3 fue de 21,80 ppm. De acuerdo al comportamiento presentado en la Figura 3.13. se puede afirmar que un aumento en la temperatura incide favorablemente en la disminución de la concentración de hierro comparada con la gráfica obtenida en la Figura 3.9, ya que la temperatura tiene una relación directamente proporcional sobre la velocidad de reacción y el crecimiento bacteriano, como consecuencia de ello se mejora el proceso de precipitación biológica de hierro (Hao et al., 1996, p.158)

En la Figura 3.14. se presenta la gráfica de porcentaje de precipitación de hierro con respecto al tiempo. Los resultados obtenidos para el porcentaje de precipitación de hierro se encuentran detallados en la Tabla AII.9 del Anexo II.

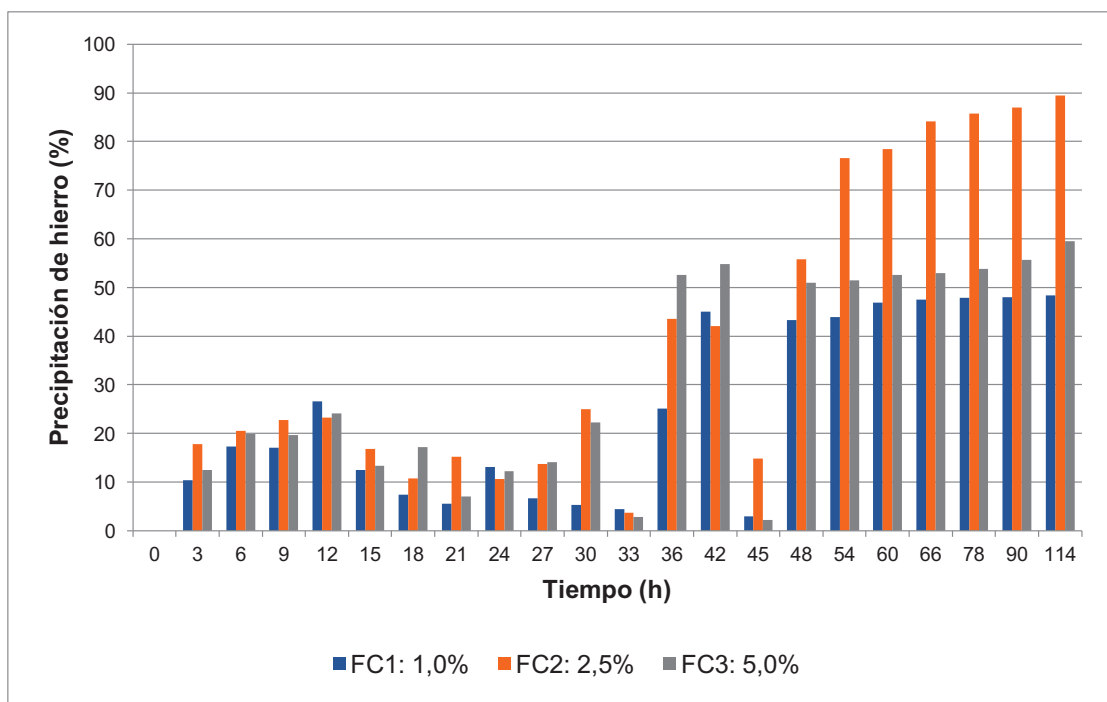


Figura 3.14. Precipitación de hierro del efluente de cianuración, $T= 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.14, los porcentajes de precipitación de hierro van aumentando a medida que transcurre el tiempo, en un inicio se puede observar que los porcentajes de precipitación de hierro son relativamente cercanos para las tres concentraciones empleadas de ácido láctico, pero, a partir de las 27 horas FC2 y FC3 presentan una mejor precipitación de hierro frente a FC1. De acuerdo a la gráfica anterior las concentraciones de ácido láctico más favorables para la precipitación de hierro son FC2 y FC3 aunque a las 48 horas de proceso, FC2 presenta una marcada diferencia en la precipitación de hierro con respecto a FC3.

Al finalizar el proceso, transcurridas 114 horas se ha obtenido una precipitación de hierro del 89,50 % para FC2, seguido de FC3 con una precipitación de hierro del 59,48 % y finalmente para FC1 se tiene una precipitación de 48,33 %. Los porcentajes de precipitación de hierro obtenidos para las tres concentraciones de ácido láctico superan el 45,00 % en 114 horas, este resultado comparado con el obtenido en la Figura 3.10 es notablemente superior ya que se requiere menos de 120 horas para obtener una precipitación de hierro mayor al 45,00 %.

De los resultados obtenidos de esta prueba se comprueba que al aumentar la temperatura se genera un efecto positivo en el proceso de precipitación de hierro para la misma concentración de ácido láctico del 2,5 %. Para una temperatura de trabajo de 35 °C se logró una precipitación de hierro del 89,50 % mientras que para una temperatura de trabajo de 28 °C se obtuvo una precipitación de hierro del 42,91 % empleando una concentración de ácido láctico del 2,5 % para ambos casos.

La Figura 3.15 corresponde a la prueba realizada para determinar la producción de sulfuros a tres concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3). Se empleó una concentración de inóculo de bacterias del 1,0 %, se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 35 °C.

Para determinar la producción de sulfuros se determinó su concentración por la técnica de espectrofotometría (EPA 376.2), mediante el método 4500-S2- D Azul de metileno, en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH). Los resultados obtenidos de la producción de sulfuro son detallados en la Tabla AII.15 del Anexo II.

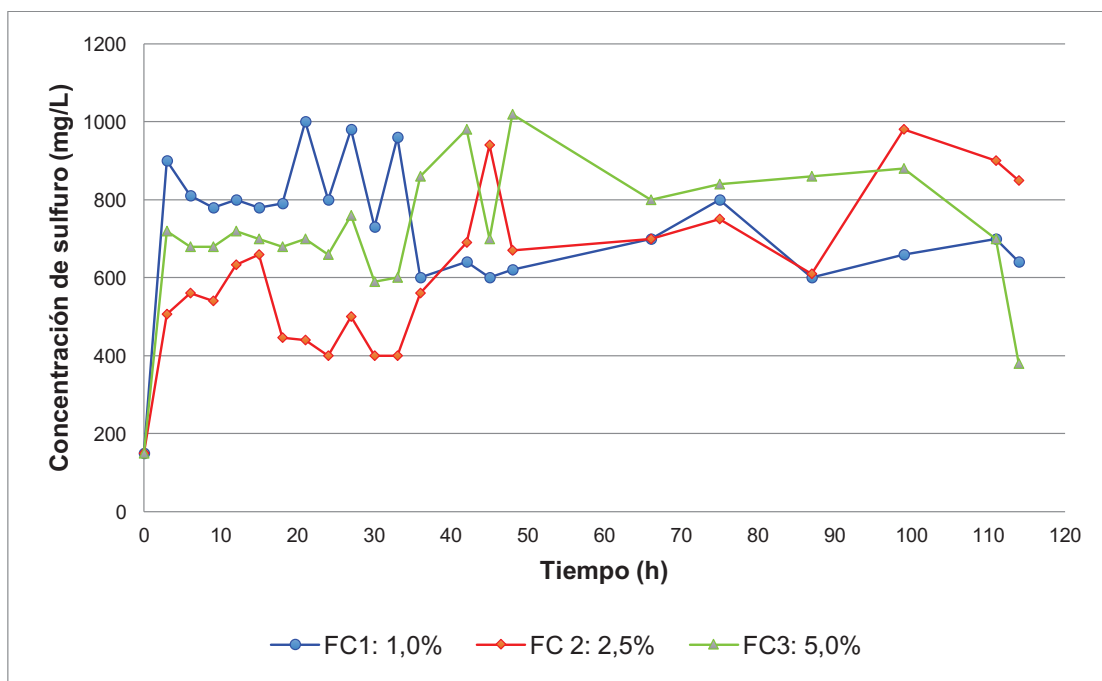


Figura 3.15. Producción de sulfuro, medio efluente de cianuración, $T= 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.15. las curvas de producción de sulfuro para las tres concentraciones de ácido láctico presentan una tendencia irregular de aumento con respecto al tiempo. Inicialmente la mayor producción de sulfuro se tiene con FC1, seguida de FC3 y por último FC2, esta tendencia puede ser discutida a partir del proceso de reducción de sulfatos de donde se genera el sulfuro de hidrógeno (Andrade, 2010, p.40), entonces se puede afirmar que la producción de sulfuro se da de manera constante hasta las 36 horas, momento en el cual FC3 presenta una producción de sulfuro mucho mayor que FC2 y FC1.

Esta tendencia no permanece constante por mucho tiempo ya que a partir de las 48 horas la producción de sulfuro de FC3 comienza a decaer, con base a esto se puede afirmar que el proceso de reducción de sulfato ha comenzado a declinar. En todo el proceso se puede observar que para FC2 la producción de sulfuro es constante y ascendente hasta el final del proceso lo que implica que la reducción de sulfatos se lleva a cabo de manera regular. Al finalizar el proceso, transcurridas 114 horas se ha llegado a obtener una concentración de sulfuro del 850 mg/L para FC2, seguida de FC1 con una concentración de sulfuro de 640 mg/L y finalmente se encuentra FC3 con una concentración de sulfuro de 380 mg/L.

Con base a la gráfica presentada, se obtiene una producción de sulfuro de 850 mg/L para FC2 a una temperatura de 35 °C mientras que para una temperatura a 28 °C la producción de sulfuro fue de 650 mg/L para FC2, al realizar una comparación entre estos dos valores se concluye que la temperatura tuvo un efecto positivo en la producción de sulfuros y además se redujo el tiempo de proceso de 120 horas a 114 horas. Cabe mencionar que el aumento de temperatura produce mejores resultados en la precipitación de hierro como se puede observar en la Figura 3.14.

La Figura 3.16 corresponde a la prueba realizada para determinar la reducción de sulfatos a tres concentraciones de ácido láctico: 1,0 % (FC1), 2,5 % (FC2) y 5,0 % (FC3). Se empleó una concentración de inóculo de bacterias del 1,0 %, se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 35 °C.

Para determinar la reducción de sulfatos se determinó su concentración empleando el método turbidimétrico (EPA 9038) en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 Hach). Los resultados obtenidos de la reducción de sulfatos son detallados en la Tabla AII.19 del Anexo II.

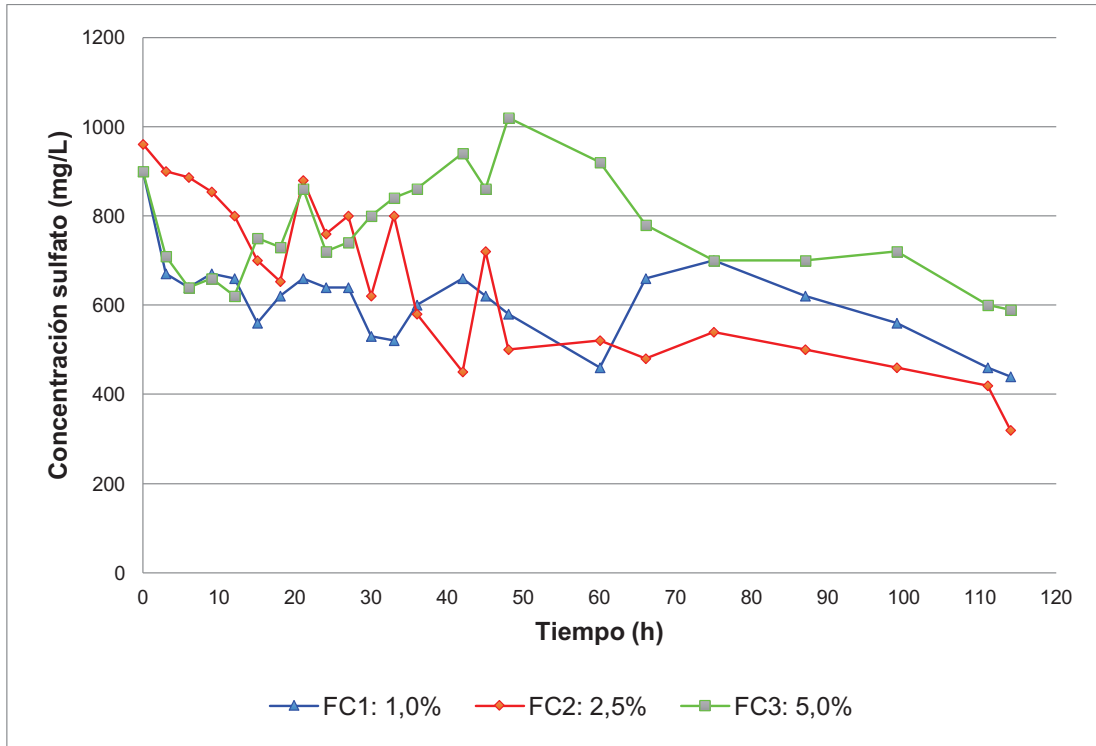


Figura 3.16. Reducción de sulfato, medio: efluente de cianuración, $T= 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración de inóculo=1,0 %, concentración fuente de carbono FC (1,0 %, 2,5 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.16, las curvas de reducción de sulfato para las tres concentraciones de ácido láctico presentan una tendencia irregular de disminución con respecto al tiempo. Inicialmente la mejor reducción de sulfato la presentan FC1 y FC3 que tienen valores muy similares de reducción de sulfato, seguidos por FC2, esta tendencia inicial se corrobora al analizar la producción de sulfuros en la Figura 3.15 ya que mientras exista reducción desasimilatoria de sulfatos hay producción de sulfuros y en este caso presentan una correlación con respecto al orden de las concentraciones de ácido láctico. Sin embargo, a medida que transcurre el tiempo la tendencia de la gráfica va cambiando para las tres concentraciones de ácido láctico, cuando se llega a las 48 horas FC2 presenta una mejor reducción de sulfato frente a FC1 y FC3. A las 48 horas FC3 presenta un aumento inesperado en la concentración de sulfatos, posiblemente este punto atípico se deba a una contaminación al momento de tomar la muestra, lo cual alteró el resultado de la prueba.

Al finalizar el proceso, transcurridas 114 horas se logró reducir la concentración de sulfato a 320 mg/L para FC2, seguida de FC1 con una concentración de sulfato de 440 mg/L y finalmente se encuentra FC3 con una concentración de sulfato de 590 mg/L.

Con base a la gráfica presentada, se logró reducir la concentración de sulfato del efluente a un valor de 320 mg/L para FC2 a una temperatura de trabajo de 35 °C mientras que para una temperatura a 28 °C la concentración final de sulfato obtenida fue de 250 mg/L. El análisis de estos resultados denotan que no existe una influencia relevante de la temperatura en el proceso de reducción de sulfato, sin embargo, se debe considerar que se logra reducir sulfatos en menor tiempo cuando se aumenta la temperatura.

3.4.6. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO DEL ELFUENTE DE CIANURACIÓN VARIANDO LA CONCENTRACIÓN DE INÓCULO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

La Figura 3.17 corresponde a la prueba realizada para determinar la precipitación de hierro a dos concentraciones de inóculo de bacterias: 2,0 % y 5,0 %. Se empleó una concentración de ácido láctico de 2,5 %, la cual fue seleccionada como la mejor fuente de carbono tanto para el crecimiento bacteriano como para la precipitación de hierro. Se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 28 °C.

Para determinar la concentración de hierro en el efluente se utilizó el método de absorción atómica, los resultados obtenidos de la concentración de hierro son detallados en la Tabla AII.20 del Anexo II.

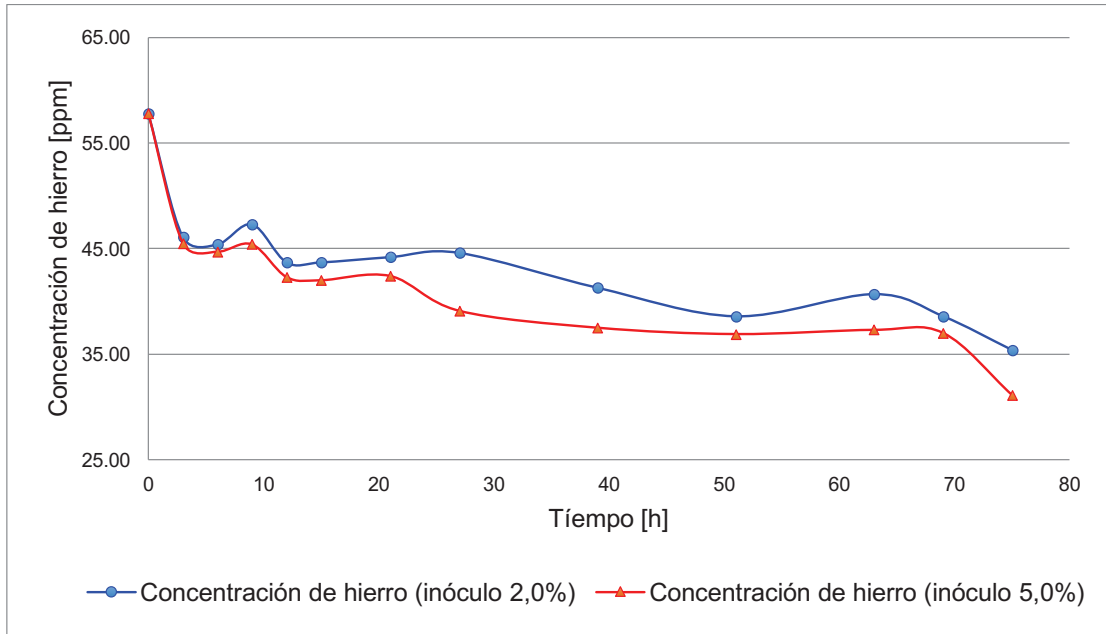


Figura 3.17. Concentración de hierro en el efluente de cianuración, $T= 28\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración ácido láctico $FC=2,5\%$, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)

En la Figura 3.17 se presenta las curvas de concentración de hierro en el efluente de cianuración para una concentración de inóculo de bacterias del 2,0 % y otra del 5,0 %. Ambas gráficas presentan una tendencia de disminución de la concentración de hierro con respecto al tiempo. Como se puede observar inicialmente no existe una diferencia marcada en las curvas de disminución de la concentración de hierro para los dos valores de la concentración de inóculo de bacterias, sin embargo, a partir de las 27 horas la curva correspondiente a la concentración de inóculo 5,0 % presenta una mejoría en la disminución de la concentración de hierro frente a la curva correspondiente a la concentración de inóculo 2,0 %. Al final del proceso, transcurridas 75 horas la prueba cuya concentración de inóculo es del 5,0 % ha logrado una concentración final de hierro de 31,10 ppm mientras que la prueba cuya concentración de inóculo es del 2,0 % alcanzó una concentración final de hierro de 35,40 ppm.

En la Tabla 3.9 se detallan los resultados obtenidos de la precipitación de hierro cuando se varía la concentración de bacterias y se realiza una comparación con los resultados obtenidos en el apartado 3.4.5 de la Figura 3.9

Tabla 3.9. Resultados comparativos de la precipitación de hierro a diferentes concentraciones de inóculo de bacterias a una temperatura de 28 °C

Concentración de bacterias	Temperatura de trabajo (°C)	Concentración de ácido láctico	Concentración inicial de hierro en el efluente de cianuración (ppm)	Concentración final de hierro en el efluente de cianuración (ppm)	Tiempo de proceso (h)
1,0%	28	2,5%	55,70	31,80	120
2,0%			57,80	35,40	75
5,0%			57,80	31,10	75

Al analizar los resultados de la Tabla 3.9 se puede afirmar que al aumentar la concentración de bacterias a 5,0% se reduce el tiempo de proceso de 120 horas a 75 horas bajo las mismas condiciones de temperatura y concentración de ácido láctico para obtener una concentración final de hierro de 31,10 ppm.

En la Figura 3.18 se presenta la gráfica de porcentaje de precipitación de hierro con respecto al tiempo. Los resultados obtenidos para el porcentaje de precipitación de hierro se encuentran detallados en la Tabla AII.21 del Anexo II.

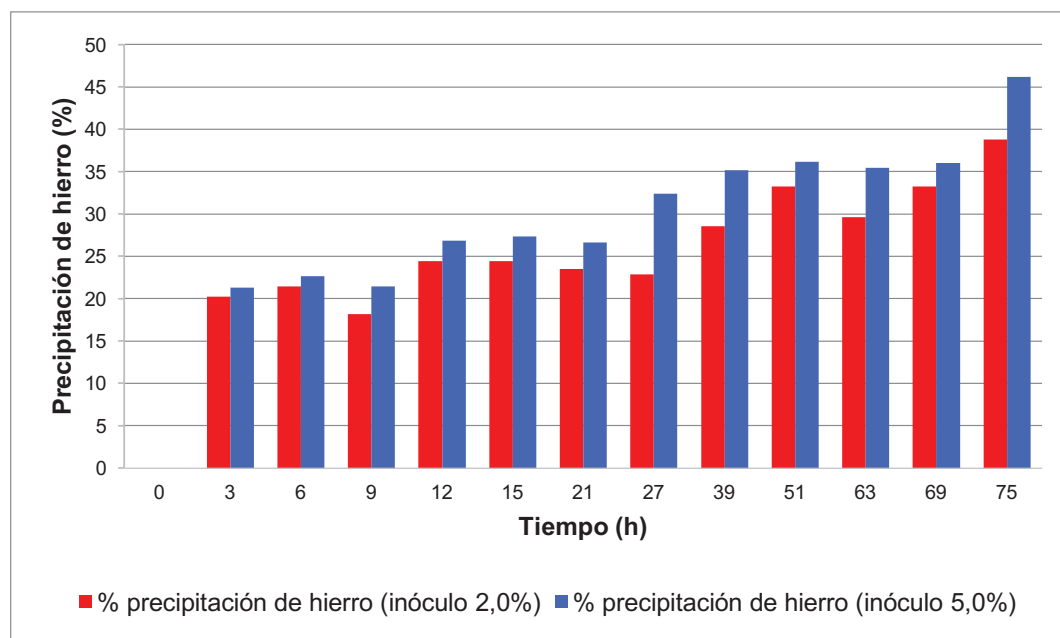


Figura 3.18. Precipitación de hierro del efluente de cianuración, T= 28 °C, concentración fuente de carbono FC=2,5 %, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la Figura 3.18, los porcentajes de precipitación de hierro van aumentando a medida que transcurre el tiempo. Inicialmente los porcentajes de precipitación de hierro para las dos concentraciones de inóculo de bacterias son valores muy cercanos, pero, a medida que el tiempo avanza se puede observar que la prueba cuya concentración de inóculo es 5,0 % presenta una mayor precipitación de hierro frente a la prueba cuya concentración de inóculo es 2,0 %. A partir de las 27 horas de proceso se logra una mayor precipitación de hierro con la concentración de inóculo 5,0 %.

Al final del proceso, transcurridas 75 horas la prueba de concentración de inóculo 5,0 % ha logrado una precipitación final de hierro de 46,19 % mientras que la prueba de concentración de inóculo 2,0 % alcanzó una precipitación final de hierro de 38,75 %.

De acuerdo a la Figura 3.18 a pesar de aumentar la concentración de inóculo de bacterias en el proceso de precipitación biológica de hierro no se ha logrado obtener una precipitación mayor al 46,19 % a una temperatura de 28 °C, por tanto se debería considerar variar algún parámetro, como la temperatura, para evaluar su incidencia en el proceso.

La Figura 3.19 corresponde a la prueba realizada para determinar la precipitación de hierro a dos concentraciones de inóculo de bacterias: 2,0 % (Prueba 1) y 5,0 % (Prueba 2). Se empleó una concentración de ácido láctico de 2,5 %, la cual fue seleccionada como la mejor fuente de carbono tanto para el crecimiento bacteriano como para la precipitación de hierro. Se utilizó como medio el efluente de cianuración y se trabajó a una temperatura de 35 °C.

Para determinar la concentración de hierro en el efluente se utilizó el método de absorción atómica, los resultados obtenidos de la concentración de hierro son detallados en la Tabla AII.22 del Anexo II.

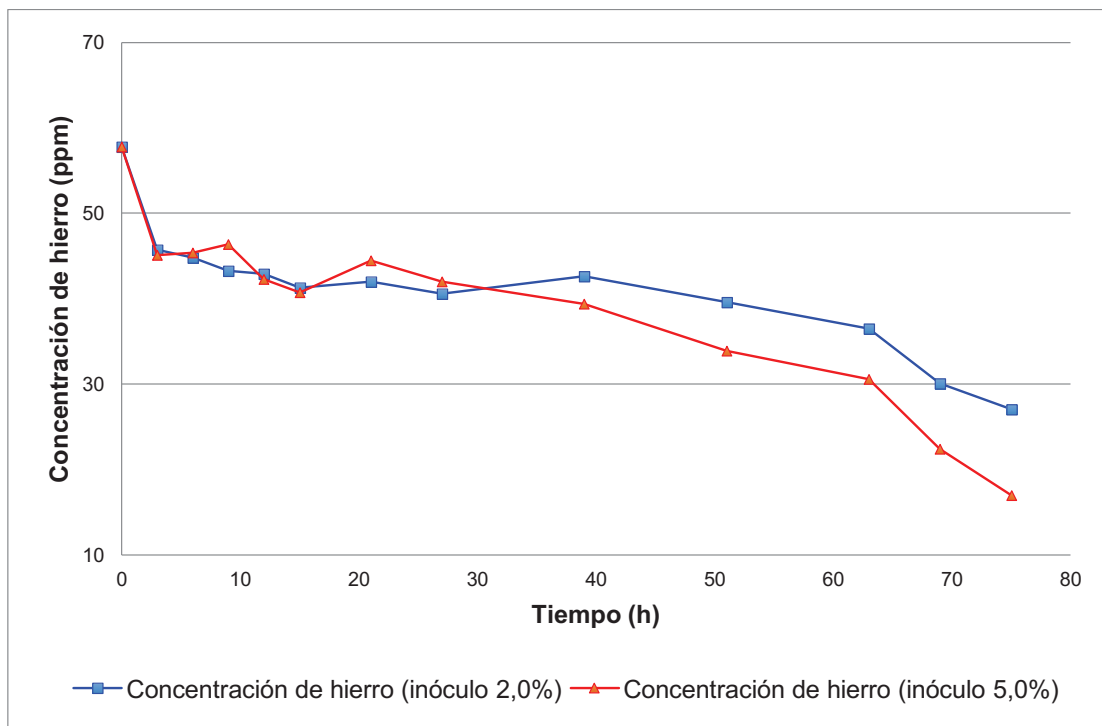


Figura 3.19. Concentración de hierro en el efluente de cianuración, $T= 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración fuente de carbono $FC=2,5\%$, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)

En la Figura 3.19, se puede apreciar que la gráfica presenta una tendencia de disminución de la concentración de hierro en el efluente con respecto al tiempo. Como se puede observar, inicialmente las curvas de las dos concentraciones de inóculo tienden a disminuir en las mismas proporciones sin que exista una diferencia marcada entre las dos, sin embargo, a partir de las 39 horas de proceso la curva correspondiente a la prueba 2 presenta una disminución más apreciable frente a la curva correspondiente a la prueba 1. A las 39 horas de proceso los valores de concentración de hierro para la prueba 1 fue de 42,60 ppm mientras que para la prueba 2 fue de 39,40 ppm. Al final del proceso, transcurridas 75 horas se ha alcanzado una concentración final de hierro de 27,10 ppm para la prueba 1 mientras tanto para la prueba 2 se alcanzó una concentración final de hierro de 17,00 ppm.

En la Tabla 3.10 se detallan los resultados obtenidos de la precipitación de hierro cuando se varía la concentración de bacterias y se realiza una comparación con los resultados obtenidos en el apartado 3.4.5 de la Figura 3.13

Tabla 3.10. Resultados comparativos de la precipitación de hierro a diferentes concentraciones de inóculo de bacterias a una temperatura de 35 °C

Concentración de bacterias	Temperatura de trabajo (°C)	Concentración de ácido láctico	Concentración inicial de hierro en el efluente de cianuración (ppm)	Concentración final de hierro en el efluente de cianuración (ppm)	Tiempo de proceso (h)
1,0 %	35	2,5 %	53,80	5,65	114
2,0 %			57,80	27,10	75
5,0 %			57,80	17,00	75

Al analizar los resultados de la Tabla 3.10 se puede afirmar que al aumentar la concentración de bacterias a 5,0 % se reduce el tiempo de proceso de 114 horas a 75 horas bajo las mismas condiciones de temperatura y concentración de ácido láctico para obtener una concentración final de hierro de 17,00 ppm. Sin embargo, es importante mencionar que se logra obtener una menor concentración de hierro al trabajar con una concentración de bacterias del 1,0 % pero el tiempo de proceso se prolonga a 114 horas, tomando en cuenta criterios de eficiencia para el proceso, se prefiere reducir el tiempo de operación a 75 horas, aumentar la concentración de bacterias al 5,0 %, trabajar a una temperatura de 35 °C y utilizar una concentración de ácido láctico del 2,5 %.

En la Figura 3.20 se presenta la gráfica de porcentaje de precipitación de hierro con respecto al tiempo para las dos concentraciones de inóculo de bacterias: 2,0 % (Prueba 1) y 5,0 % (Prueba 2). Los resultados obtenidos para el porcentaje de precipitación de hierro se encuentran detallados en la Tabla AII.23 del Anexo II.

En la Figura 3.20, los porcentajes de precipitación de hierro para las dos concentraciones de inóculo de bacterias aumentan a medida que transcurre el tiempo.

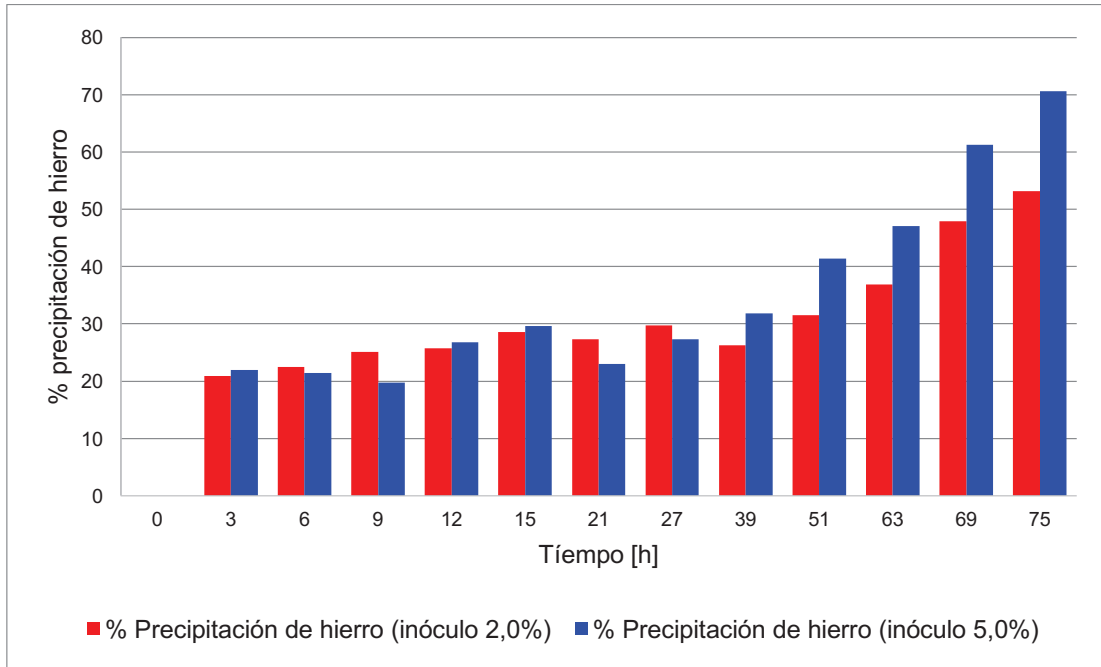


Figura 3.20. Precipitación de hierro en el efluente de cianuración, $T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentración fuente de carbono $FC=2,5\%$, concentración de inóculo (2,0 % y 5,0 %)

Como se puede observar en la gráfica anterior, inicialmente no existe una diferencia marcada en los porcentajes de precipitación de hierro, sin embargo, a partir de las 39 horas de proceso la prueba 2 presenta valores mayores de precipitación de hierro con respecto a la prueba 1.

Una vez terminado el proceso a las 75 horas, la prueba 2 ha logrado una precipitación final de hierro de 70,59 % mientras que la prueba 1 alcanzó una precipitación final de hierro de 53,11 %. Es importante mencionar que al aumentar la temperatura a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ el porcentaje de precipitación de hierro alcanzado fue mayor al 50,00 %, mientras que el porcentaje de precipitación de hierro a una temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ fue menor al 50,00 % como se observa en la Figura 3.18, lo cual indica que la temperatura es un factor que incide de manera favorable en el proceso de precipitación biológica de hierro.

3.5. RESULTADOS DEL DISEÑO CONCEPTUAL DE UN REACTOR BATCH DE 22 m³ DE CAPACIDAD PARA LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO DE UN EFLUENTE DE CIANURACIÓN MEDIANTE EL USO DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Se presenta el diseño conceptual de un reactor batch de 22 m³ de capacidad para la precipitación de hierro de un efluente de cianuración mediante el uso de un consorcio de bacterias sulfato reductoras.

Para el diseño conceptual del reactor batch se determinó la cinética de reacción, se realizó los balances de masa, con lo cual se logró establecer las ecuaciones del diseño. Posterior a ello se realizó un dimensionamiento del reactor, selección de material de construcción, se elaboró un esquema del reactor y finalmente se realizó una estimación de costos del diseño del reactor batch de 22 m³ de capacidad.

3.5.1. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE REACCIÓN

En la Figura 3.21 se presenta la gráfica del $\ln(X_t/X_0)$ versus el tiempo para la zona de crecimiento exponencial de la curva de crecimiento bacteriano para una concentración de ácido láctico del 2,5 %.

Esta gráfica permite determinar los parámetros cinéticos como la velocidad específica de crecimiento y el tiempo de duplicación. Los datos con los cuales se construyó esta gráfica son detallados en la Tabla AIII.3 del Anexo III.

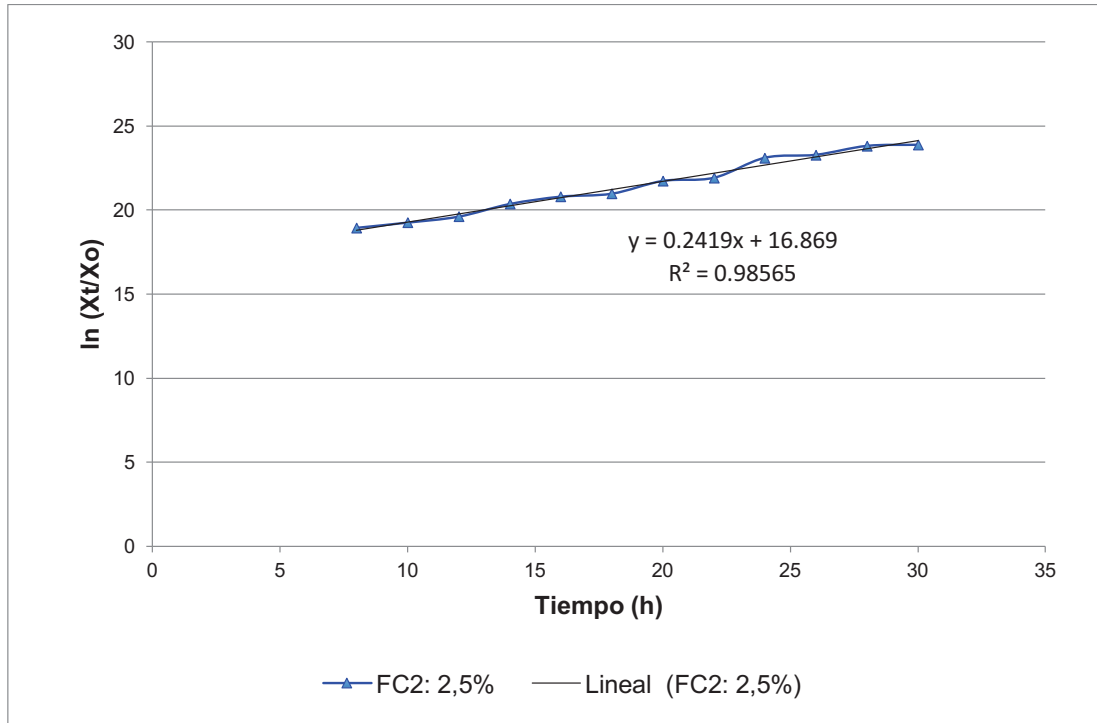


Figura 3.21. Regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para la curva de crecimiento bacteriano con una concentración de ácido láctico FC2= 2,5 %, T= 35 °C, medio: efluente de cianuración

A partir de la gráfica presentada en la Figura 3.21 se deduce el orden de la reacción el cual corresponde a una reacción de primer orden, ya que la pendiente de la gráfica $\ln (X_t/X_0)$ versus el tiempo es lineal y presenta un R^2 de 0,98565, es decir, los datos obtenidos para la gráfica se ajustan a la ecuación establecida para la zona de crecimiento exponencial de la curva de crecimiento bacteriano en cultivos discontinuos (sistemas batch) (Fogler, 2008, p.236).

Para establecer la cinética de reacción se determinó la ley de velocidad para la zona de crecimiento exponencial de la curva de crecimiento bacteriano que se encuentra descrita por la ecuación de Monod mencionada en la Ecuación [1.4], obteniéndose la Ecuación [3.2]:

$$r_g = \mu * C_c \quad [3.2]$$

3.5.2. RESULTADOS DE LAS ECUACIONES DEL DISEÑO DEL REACTOR BATCH

Para formular las ecuaciones del diseño del reactor batch se realizó los respectivos balances de masa y se trabajó conjuntamente con la cinética de reacción para plantear el sistema de ecuaciones.

Dentro del reactor se produce dos tipos de reacciones, la una corresponde a la reacción biológica de crecimiento bacteriano y la otra es la reacción química de precipitación de hierro como sulfuro ferroso. Además se consideró que la cinética de crecimiento bacteriano presenta la misma cinética para la reacción de precipitación de metales pesados (Fe) (del Castillo, R., 1993, p.23).

Se presentan las Ecuaciones [3.3]-[3.8] del diseño del reactor batch, la deducción de las mismas se encuentran detalladas en el Anexo IV.

$$\frac{dC_{cel}}{dt} = (r_g - r_d) \quad [3.3]$$

$$r_g = \mu * C_{cel} \quad [3.4]$$

$$r_d = C_{cel} * K_d \quad [3.5]$$

$$\frac{dC_{cel}}{C_{cel}} = (\mu - k_d) * dt \quad [3.6]$$

$$\frac{dC_B}{dt} = -r_B = r_g \quad [3.7]$$

$$\frac{dC_B}{C_B} = -(\mu - k_d) * dt \quad [3.8]$$

donde:

r_g corresponde a la velocidad de crecimiento de la célula, $\text{bact/mL} \cdot \text{h}$

r_d corresponde a la velocidad de la muerte de las células, $\text{bact/mL} \cdot \text{h}$

r_B corresponde a la velocidad de desaparición del hierro, ppm/h

μ corresponde a la velocidad específica de crecimiento, h^{-1}

k_d corresponde a la constante de muerte de las células, h^{-1}

C_{cel} corresponde a la concentración de células, bact/mL

C_B corresponde a la concentración de hierro, ppm

Para la resolución de las ecuaciones planteadas se consideró los parámetros de operación del proceso de precipitación biológica de hierro mediante un consorcio de Bacterias Sulfato Reductoras definidos en la fase experimental del proyecto, los cuales se encuentran detallados en la Tabla 3.11.

Tabla 3.11. Condiciones iniciales del proceso de precipitación biológica de hierro

Parámetro	Valor
Velocidad específica de crecimiento μ (h^{-1})	0,2419
Constante de muerte de las células k_d (h^{-1})	0,1
Concentración inicial de células (bact/mL)	$1,07 \times 10^4$
Concentración inicial de hierro (ppm)	57,80
Tiempo de operación (h)	75

La gráfica obtenida de la resolución de las ecuaciones se presenta en la Figura 3.22. Se puede observar las curvas de la concentración de hierro y la concentración de bacterias versus el tiempo. En la gráfica mencionada se puede apreciar que la tendencia de la curva de la concentración de hierro disminuye con el tiempo mientras tanto la curva de concentración de bacterias se incrementa.

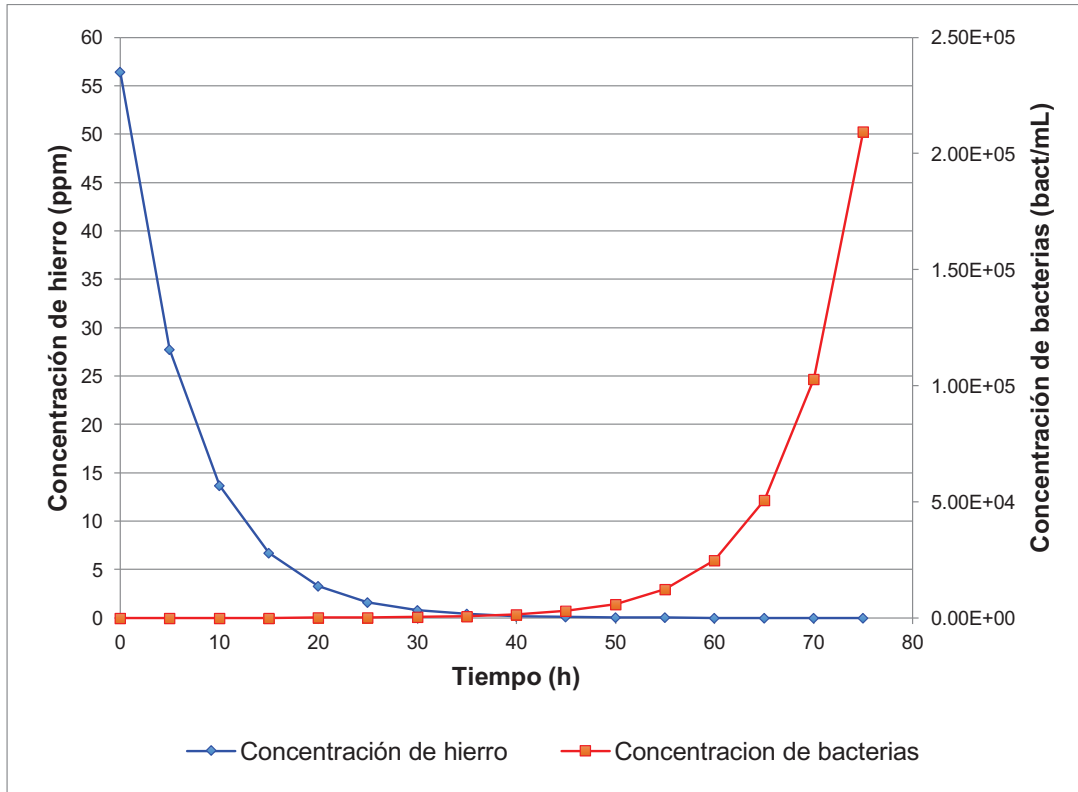


Figura 3.22. Resolución gráfica de la ecuación de diseño del reactor batch para la concentración de bacterias y la concentración de hierro en el efluente de cianuración

Como se ha mencionado en bibliografía, las bacterias sulfato reductoras son las encargadas de la reducción de sulfato para producir sulfuro biogénico el cual al entrar en contacto con el ión hierro reacciona para formar sulfuro ferroso de baja solubilidad, es por eso que el aumento progresivo de la concentración de bacterias genera una disminución progresiva en la concentración de hierro en el efluente de cianuración. Por lo tanto cabe mencionar que las ecuaciones propuestas para el diseño conceptual del reactor batch describen satisfactoriamente el proceso de precipitación biológica de hierro.

3.5.3. RESULTADOS DEL DIMENSIONAMIENTO DEL REACTOR BATCH

Para el dimensionamiento del reactor batch se estableció en primer lugar un factor de seguridad según la norma API 2350 "Overfill Protection for Storage Tanks in

Petroleum Facilities” se debe aumentar un 20 % al volumen total. Este factor de seguridad en el volumen significa que el volumen de trabajo del reactor será menor que el volumen máximo del recipiente para evitar cualquier posible derrame del líquido, por lo tanto se realizará un dimensionamiento para un volumen de 26,40 m³. Además se consideró el criterio de Anyanwu, Mbajjorgu, Oparaku, Odigboh y Emmanuel (2012) para establecer la relación de altura a diámetro del reactor la cual fue de 1,5 veces.

En el Anexo V se detalla el procedimiento para el dimensionamiento del reactor batch de 22 m³ donde se realizará la precipitación biológica de hierro de un efluente de cianuración mediante el uso de un consorcio de bacterias sulfato reductoras. Las dimensiones calculadas para el reactor batch se detallan en la Tabla 3.12.

Tabla 3.12. Dimensiones del reactor batch de 22 m³ de capacidad

Equipo	Altura (m)	Diámetro (m)
Reactor batch	4,23	2,82

Para seleccionar el material de construcción del reactor, se debe tomar en cuenta la resistencia a la corrosión, el costo y la disponibilidad del material en el mercado. Dentro de la industria química, en lo que se refiere a construcción de recipientes, fabricación de equipos normalmente se emplea la serie 300 de la familia de aceros inoxidables austeníticos.

En cuanto a la disponibilidad de aceros inoxidables en el mercado ecuatoriano se puede encontrar dos tipos de aceros de la serie 300, estos son AISI 304 y AISI 316 (Coronel, 2014, p.19). Ambos aceros tienen propiedades semejantes como buena resistencia a la corrosión y sus principales aplicaciones son comunes, sin embargo, el acero AISI 316 se emplea más en la elaboración de equipos de procesos especializados en industria química, minera, etc., razón por

la cual se eligió al acero AISI 316 como el material idóneo para la construcción del reactor.

En cuanto al dimensionamiento de la transferencia de calor, la temperatura de trabajo para el proceso de precipitación biológica de hierro se estableció en 35 °C razón por la cual fue necesario realizar un dimensionamiento del sistema de transferencia de calor que proporcione la energía suficiente para alcanzar dicha temperatura dentro del reactor.

El sistema de calentamiento seleccionado se lo realizó con base al cálculo del flujo de calor necesario para alcanzar la temperatura de trabajo, estos cálculos se encuentran detallados en el Anexo V. Se determinó entonces emplear un calentador de inmersión cilíndrico para asegurar el calentamiento correcto del líquido dentro del reactor y para evitar que el calentador se pueda fundir al no transmitir calor correctamente.

En la Tabla 3.13 se presenta las características del calentador de inmersión cilíndrico seleccionado para el reactor.

Tabla 3.13. Especificaciones del calentador de inmersión cilíndrico para el reactor batch

Características	Calentador de inmersión cilíndrico	Material de construcción
Potencia (W)	4 500	Acero inoxidable AISI 321
Longitud caliente (Lc), mm	585	
Diámetro de la rosca (\emptyset), mm	125	

Los datos expuestos en la Tabla 3.13 son seleccionados de catálogos comerciales más comunes en el mercado. El calentador de inmersión cilíndrico será colocado en la parte superior del reactor y su material de construcción será acero inoxidable AISI 321 para evitar daños por corrosión del medio.

3.5.4. ESQUEMA DEL REACTOR BATCH

El proceso de precipitación biológica de hierro de un efluente de cianuración consiste básicamente en precipitar hierro en forma de sulfuro ferroso de baja solubilidad para lo cual se emplea un consorcio de bacterias sulfato reductoras.

Se diseñó conceptualmente un reactor batch de 22 m³ que permita desarrollar el proceso con base a los parámetros de operación definidos en la fase experimental, los cuales fueron: concentración de ácido láctico: 2,5 %; concentración de inóculo de bacterias sulfato reductoras 5,0 %; la velocidad específica de crecimiento bacteriano fue de 0,2419 h⁻¹; temperatura de trabajo 35 °C; tiempo de proceso 75 horas y porcentaje de precipitación de hierro 70,59 %. Además del diseño se consideró ciertas adaptaciones requeridas para el funcionamiento del reactor, como son: electrodos de pH, una termocupla, un calentador de inmersión cilíndrico, una entrada para la dosificación de ácido láctico.

Dichas adaptaciones son consideradas en función de los parámetros del proceso fijados en la fase experimental, a continuación se explica de forma general su función en el proceso.

La temperatura de operación fijada es de 35 °C, por lo que fue necesario implementar un calentador de inmersión cilíndrico para alcanzar dicha temperatura, además se requirió del uso de una termocupla para enviar señales al transmisor de temperatura y de esta manera poder controlar la temperatura en el valor deseado.

Con la dosificación de ácido láctico al medio se modifica su pH y para mantener la condición de pH en 7,0 es necesario utilizar un electrodo de pH que transmita señales al registrador de pH para que se regule automáticamente el pH.

En la Figura 3.23 se presenta el esquema del reactor batch con las adaptaciones mencionadas y con las dimensiones establecidas en su diseño.

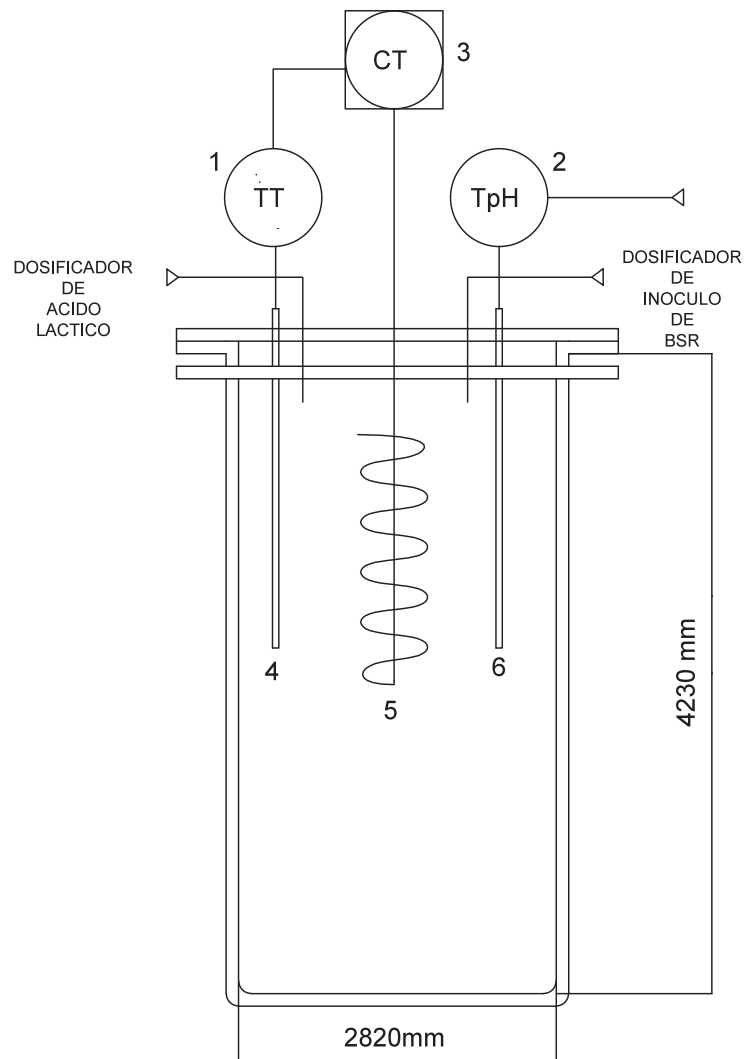


Figura 3.23. Esquema del reactor batch

Donde:

1. TT = transmisor de temperatura
2. TpH = transmisor de pH
3. CT = controlador de temperatura
4. Termocupla
5. Calentador de inmersión cilíndrico
6. Electrodo de pH

3.5.5. RESULTADOS DE LA ESTIMACIÓN DE COSTOS DEL DISEÑO DEL REACTOR BATCH DE 22 m³

En la Tabla 3.14 se detalla los costos generales contemplados en el dimensionamiento del reactor batch de 22 m³ de capacidad, los cálculos de la estimación de costos se encuentran detallados en el Anexo VI.

Tabla 3.14. Detalle de la estimación de costos del diseño del reactor batch

Parámetro	Costo
Consumo energético del calentador de inmersión cilíndrico (Costo ₁)	33,75 USD/lote
Costo de material de construcción del reactor batch (Costo ₂)	USD 1 518,00
Calefactor de inmersión cilíndrico	80 USD
Termocupla	30 USD
Control automático de temperatura	100 USD
Costo total	1 761,65 USD

El consumo energético del calentador de inmersión cilíndrico se considera un costo de servicio industrial que depende de la potencia del mismo, en este caso se seleccionó una de 4,5 kW. En la Tabla 3.14 el costo energético se calculó para una sola carga del reactor batch.

En cuanto al costo del material de construcción del reactor batch el cual fue acero AISI 316, se estableció su valor a partir de precios comerciales resumidos en catálogos. Se encontró planchas de acero AISI 316 de 3,0 x 3,0 m a un precio de 506,00 USD/plancha, según las dimensiones del reactor se requirió de 3 planchas para su construcción.

El calentador de inmersión cilíndrico, la termocupla y el control automático de temperatura son las adaptaciones necesarias para el funcionamiento del reactor que también se consideró como un costo representativo en la estimación de costos.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Los parámetros químicos iniciales del efluente de cianuración fueron: pH 9,61; concentración de sulfatos 717,00 mg/L; concentración de cianuro 0,60 mg/L; concentración de hierro 56,44 ppm.
- La cepa LBZA1 no evidencia proceso de inhibición bacteriana hasta concentraciones iguales e inferiores a 300,00 ppm de hierro .
- A una temperatura de 35 °C y una concentración de bacterias del 1,0 % se obtuvo una producción máxima de sulfuro de 425 mg/L en 132 horas de proceso.
- A una temperatura de 35 °C y una concentración de bacterias del 1,0 % se obtuvo una mayor reducción de sulfatos a 108 horas de proceso con una concentración de sulfatos de 120,00 mg/L.
- Se determinó la velocidad específica de crecimiento de bacterias para cada concentración de ácido láctico: 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % que fueron $0,1333 \text{ h}^{-1}$, $0,2419 \text{ h}^{-1}$ y $0,2099 \text{ h}^{-1}$ respectivamente.
- Otro parámetro cinético determinado fue el tiempo de duplicación de la célula para cada concentración de ácido láctico: 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % fue de 5,20 h, 2,87 h y 3,30 h respectivamente.
- La densidad poblacional de la cepa LBZA1 a diferentes concentraciones de ácido láctico, utilizando como medio efluente de cianuración, a temperatura de 35 °C y concentración de inóculo de SRB=1,0 %, se determinó incontable a partir de una concentración de $1,4 \times 10^9$ bact/mL.

- Los resultados obtenidos de la precipitación de hierro del efluente de cianuración para una temperatura de 28 °C, concentración de inóculo 1,0 % y concentración de ácido láctico: 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % fue de 36,27 %, 42,91 % y 41,65 % respectivamente, en 120 horas.
- Los resultados obtenidos de la precipitación de hierro del efluente de cianuración para una temperatura de 35 °C, concentración de inóculo 1,0 % y concentración de ácido láctico: 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % fue de 48,33 %, 89,50 % y 59,48 % respectivamente, en 114 horas.
- Los resultados obtenidos de la precipitación de hierro del efluente de cianuración para una temperatura de 28 °C, concentración de ácido láctico 2,5 % y concentración de inóculo: 2,0 % y 5,0 % fue de 38,75 % y 46,19 % respectivamente, en 75 horas.
- Los resultados obtenidos de la precipitación de hierro del efluente de cianuración para una temperatura de 35 °C, concentración de ácido láctico 2,5 % y concentración de inóculo: 2,0 % y 5,0 % fue de 53,11 % y 70,59 % respectivamente, en 75 horas.
- Los parámetros de operación definidos del proceso de precipitación biológica de hierro de un efluente de cianuración mediante un consorcio de bacterias sulfato reductoras fueron: concentración de ácido láctico: 2,5 %; concentración de inóculo 5,0 %; la velocidad específica de crecimiento bacteriano fue de $0,2419 \text{ h}^{-1}$; temperatura de trabajo 35 °C; tiempo de proceso 75 horas y porcentaje de precipitación de hierro 70,59 %.
- Las tendencias de las curvas de la gráfica obtenida de la resolución de las ecuaciones de diseño del reactor batch describe satisfactoriamente el proceso de precipitación biológica de hierro de acuerdo a las condiciones determinadas en la fase experimental.

- En el dimensionamiento del reactor batch se determinó el valor de la altura de 4,23 m y el diámetro de 2,82 m, el material de construcción seleccionado fue acero AISI 316. Además se requirió de un calentador de inmersión cilíndrico de potencia 4,5 kW para mantener la temperatura en 35 °C
- La estimación de costos del diseño del reactor batch de 22 m³ de capacidad fue de 1 761,65 USD.

4.2. RECOMENDACIONES

- Realizar más investigaciones en el campo de la biotecnología ya que ofrece soluciones más amigables con el ambiente, más rentables y sin consecuencias laterales.
- Realizar ensayos empleando la técnica de recombinación genética para mejorar las cepas de SRB para lograr mejorar el proceso metabólico y por ende un mejoramiento en el proceso de precipitación biológica de metales.
- Realizar experimentos que aseguren un medio completamente anóxico para mantener las condiciones óptimas del proceso. Se sugiere emplear sueros fisiológicos reciclados ya que permiten un medio anóxico completo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alba, F., Ordieres, J., Vergara, E., Martínez, F., González, A. y Ortiz, I. (2011). *Tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados empleando compost usado de champiñón como agente biorregenerador*. Congresos Málaga, España. Recuperado de http://aeipro.com/files/congresos/2005malaga/ciip05_0903_0918.144.pdf (Noviembre, 2014)
2. Alegría, J. (2013). *Biotecnología y Biorremediación*. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, San Salvador, El Salvador. Recuperado de http://www.conacyt.gob.sv/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=11:charlas-y-presentaciones&download=46:biotecnologia-y-biorremedacion&Itemid=115 (Diciembre, 2014)
3. Andrade, V. (2010). *Evaluación del Potencial de Generación de Sulfuro por la Acción de las Bacterias Sulfato Reductoras y sus Posibles Aplicaciones en el Tratamiento de los Drenajes Ácidos de Mina*. (Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de pregrado en Ingeniería Química). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.
4. Anyanwu, C.N., Mbajjorgu, C.C., Oparaku, O.U., Odigboh, E.U. y Emmanuel, U.N. (2012). A design algorithm for batch stirred tank transesterification reactors. *Energy Conversion and Management*, 62(2012), 40-46. doi: 10.1016/j.enconman.2012.03.027
5. API. (2005). API 2350: Overfill Protection for Storage Tanks in Petroleum Facilities. Washington D.C.: American Petroleum Institute. Estados Unidos

6. Areco, M. (2011). *Métodos alternativos para el tratamiento de la contaminación ambiental por metales pesados*. (Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas). Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
7. Benitez, N. (2011). Producción limpia y biorremediación para disminución de la contaminación por cromo en la industria de curtiembres. *Revista del Doctorado Interinstitucional en Ciencias Ambientales, volumen(1):* 25-31. Recuperado de <http://revistaambiente.univalle.edu.co/index.php/ays/article/view/2435> (Noviembre, 2014).
8. Cabrera, G. (2005). *Estudio de procesos para la solubilización y precipitación de iones metálicos contaminantes mediante bacterias azufre-oxidantes y sulfato- reductoras*. (Memoria para optar al grado de Doctor). Universidad de Cádiz, Andalucía, España.
9. Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología-México, volumen(42):* 131-143. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2000/mi003f.pdf> (Enero, 2015)
10. Carvajal, M. y Perdomo, N. (2008). *Caracterización fenotípica de la cepa sulfato reductora termofílica USBA 53 aislada del manantial termal Ojo del Diablo en Paipa, Boyacá*. (Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Microbióloga Industrial). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
11. Castro, G. y Valdés, J. (2012). Concentración de metales pesados (Cu, Ni, Zn, Cd, Pb) en la biota y sedimentos de una playa artificial, en la bahía San Jorge 23°S, norte de Chile. *Latin American Journal of*

Aquatic Research, volumen 40(2): 267-281. DOI: 10.3856/vol40-issue2-fulltext-3

12. Coronel, J. (2014). *Diseño y construcción de un reactor tipo batch para el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Internacional SEK*. (Trabajo de fin de carrera como requisito para la obtención del título de Ingeniero Químico Industrial). Universidad Internacional SEK, Quito, Ecuador.
13. Corton, E. y Viale, A. (2006). Solucionando grandes problemas ambientales con la ayuda de pequeños amigos: las técnicas de biorremediación. *Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente, Ecosistema volumen(15) No3*, 148-157. Recuperado de <http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/download/499/476> (Diciembre, 2014)
14. Cruz, F. (2013). Efecto de la contaminación por metales pesados en los ecosistemas costeros del sureste de México. *KUXULKAB` Revista de Divulgación de la División Académica de Ciencias Biológicas, Volumen(XIX)*, 65-68. Recuperado de <http://www.revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/view/351> (Octubre, 2014)
15. del Castillo, R. (1993). *Biolixiviación de arsenopiritas auríferas con microorganismos mesófilos y termófilos*. (Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico) . Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
16. Drury, W. (1999). Treatment of Acid Mine Drainage with Anaerobic Solid-Substrate Reactors. *Water Environment Research, volumen(71)*, No6: 1244-1250. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/25045308> (Enero, 2015)

17. Fayett, D. (2008). *Optimización del proceso de secado solar para lodos residuales y cuantificación de metales pesados*. (Tesis Licenciatura en Química). Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Juárez, México
18. Field, J. (2013). *Biorremediación de metales pesados*. Universidad de Arizona. Recuperado de http://binational.pharmacy.arizona.edu/sites/binational.pharmacy.arizona.edu/files/all_files/Bioreem-MP.pdf (Agosto, 2014)
19. Fogler, S. (2008). *Elementos de ingeniería de las reacciones químicas*. (4ta. edición). México, México: Pearson Educación de México, S.A.
20. Gariboglio, M. y Smith, S. (1993). *Corrosión e incrustación microbiológica en sistemas de captación y conducción de agua – Aspectos teóricos y aplicados*. Buenos Aires, Argentina: Tucumán.
21. Gaudy, A. y Gaudy, E. (1980). *Microbiology for environmental scientists and engineers*. (1ra. edición). New York, Estados Unidos: McGraw-Hill Book Company
22. González, P., Velasco, J.A., Revah, S.(2001). Remoción de metales pesados (M^{+2}) por H_2S gas producido por la reducción biológica de sulfato empleando celulosa. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalpa 1-7, México D.F., México. Recuperado de <http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI13016.pdf> (Octubre, 2014)
23. Guerrero, E. (2011). Implicaciones de la minería en los páramos de Colombia, Ecuador y Perú. Recuperado de <http://www.bibliotecavirtual.info/2011/04/implicaciones-de-la-mineria-en-los-paramos-de-colombia-ecuador-y-peru-documento-de-trabajo/> (Junio, 2014)

24. Gutierrez, A. Terrazas, L. y Álvarez, M.T. (2009). Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato reductoras acidófilas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados. *BIOFARBO. Volumen(17) (1):1-8*. Recuperado de http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632009000100002&script=sci_arttext (Junio, 2014)
25. Guzmán A., Elias, S., González, M., Pinos, N. y Carminate, R. (2006). *La Biorremediación, un método para descontaminar áreas agrícolas*. (Monografía). Revista ciencia en UNAH ISBN, 959-16 Universidad Agraria de la Habana. La Habana, Cuba.
26. Hao, O.J., Chen,J.M., Huang,L. and Buglass, R.L. (1996). Sulfate-reducing bacteria. *Critical Reviews in Enviromental Science and Technology volumen26,(1):155-187*. DOI: 10.1080/10643389609388489
27. Hidalgo, M. y García, P. (2001). Influencia del sulfato en la degradación anaerobia de materia orgánica. Grupo de Tecnología Ambiental, Universidad de Valladolid, Valladolid, España. Recuperado de <http://www.inese.es/html/files/pdf/amb/iq/383/05articulo.pdf> (Febrero, 2015)
28. INEN 679 (1982). *Gas licuado de petroleo. Determinación del sulfato de hidrogeno. Método de acetato de plomo*. Ecuador
29. Kaksonen, A. y Puhakka, J. (2007). Sulfate Reduction Based Bioprocesses for the Treatment of Acid Mine Drainage and Recovery of Metals. *Wiley InterScience, volumen(7), No 6, 541-564*. DOI: 10.1002/elsc.200720216
30. LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL. (2003). *Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua*. Ecuador

31. Liamleam, W. y Annachhatre, A.P. (2007). Electron donor for biological sulfate reduction. *Biotechnology Advances*, volumen (25):452-463. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.05.002
32. López, I. (2008). *Determinación de las concentraciones inhibitorias de un consorcio de Bacterias Sulfato – Reductoras frente al Arsénico*. (Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.
33. López, M. (2011). *Biorremediación de metales pesados con aislados microbianos procedentes de procesos de compostaje* (Trabajo fin de máster). Recuperado de <http://hdl.handle.net/10835/474>
34. MacFaddin, J.F. (2003). *Pruebas Bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. (3ra. edición). Buenos Aires, Argentina: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.
35. Malik, A. (2003). Metal bioremediation through growing cells. *Environment international*, volumen(30) No2, 261-278. DOI: 10.1016/j.envint.2003.08.001
36. Marrugo, J. (2011). *Evaluación de la contaminación por metales pesados en la Ciénaga la Soledad y Bahía de Cispatá, cuenca del bajo Sinú, Departamento de Córdoba*. (Proyecto presentado para la convocatoria interna de la Universidad de Córdoba). Universidad de Córdoba, Córdoba, Argentina.
37. Ortega, H., Benavides, A., Arteaga, R. y Zermeño, A. (2007). Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. En Benavides Mendoza, A. (Ed.). *Temas Modernos de Nutrición Vegetal* (pp. 124-147). Texcoco, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C.

38. Paños, N.H., Encinas, J.C., Gutiérrez, L.V. y Senese, A. (2010). Reducción microbiana de sulfatos y precipitación de metales para la descontaminación de efluentes. *En Jornadas de Ciencia y Técnica en la UNSJ, San Juan, Argentina, 1-7* Recuperado de <http://www.microbiologiaminera.com/home/Trabajo%20Metales%20I.doc> (Mayo, 2014)
39. Peng, J., Song, Y., Yuan, P., Cui, X. y Qiu, G. (2008). Review The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Journal of Hazardous Materials*, volumen(161): 633-640. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.04061
40. Peralvo, C. (2001). *Determinación de la cinética de crecimiento en medio líquido del Hongo MUCOR JAVANICUS para la producción de ácido gama linolénico*. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
41. Pérez, S. (2011). *Estudio de la acumulación microbiana de metales y formación de nanopartículas con aplicación potencial en la industria minera*. (Tesis presentada para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Bioprocesos). Instituto Politécnico Nacional, México D.F, México.
42. Porras, M. (2011). *Tratamiento de desechos del cianuro por biorremediación*. (Informe final de Proyecto). Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.
43. Ramirez, R. (1998). *Degradación del 4-Carboxibenzaldehido por sulfato-reducción y metanogénesis simultánea*. (Tesis para obtener el grado de Maestro en Biotecnología). Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México D.F., México.

44. Ramos, O. (2008). *Identificación y evaluación de la capacidad de corrosión de una bacteria esporulada aislada de un gasoducto*. (Tesis para obtener el grado de: Maestro en Ciencias Quimicobiológicas). Instituto Politécnico Nacional, México D.F, México.
45. Sacher, W. y Acosta, A. (2012). *La minería a gran escala en Ecuador: Análisis y datos estadísticos sobre la minería industrial en el Ecuador*. (1era.Ed.). Quito, Ecuador: Ediciones Abya-Yala.
46. Sáez, C. (2001). *Modelación dinámica fenomenológica de un biorreactor continuo de reducción de sulfato*. (Tesis para optar al grado de doctor en ciencias de la Ingeniería mención Química). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
47. Salazar, E. (2011). Minería a Gran Escala. *Minería I. Cap#3*. 93-97. Recuperado de <http://www.cme.org.ec/attachments/article/47/Mineria%20a%20gran%20escala.pdf> (Julio, 2014)
48. Salazar, J., Hernández, M. y Arango, A. (2012). *Alternativas de tratamientos de las aguas de los drenajes ácidos de minas: una revisión*. Cap # 19, 347-366. Medellín, Colombia: Corporación Universitaria Lasallista
49. Soto, C., Gutiérrez, S., Rey, A. y González, E. (2010). Biotransformación de metales pesados presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo. *NOVA-Publicación científica en ciencias biomédicas, volumen(8)*, 195-205. Recuperado de http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA14_ARTO RIG6.pdf (Octubre, 2014).
50. Trevan, D., Boffey, S., Goulding, K. y Stanbury, P. (1990). *Biotechnology: The Biological Principles*. (1ra. edición). Zaragoza, España: Acibia S.A.

51. Vicente, M.S. (2006). *Uso de bacterias sulfato-reductoras inmovilizadas para la precipitación de metales pesados*. (Trabajo final de Laboratorio de Procesos Biotecnológicos). Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/2191>
52. Yagnentkovsky, N. (2011). *Aplicación de técnicas de biorremediación para el tratamiento de residuos industriales con alto contenido de metales pesados*. (Trabajo de Tesis Doctoral). Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina.
53. Yarto, M. (2007). *Los efectos de la contaminación: el caso de las sustancias tóxicas persistentes*. En Sánchez, O. Peters, E. Márquez, H. Vega, E. Portales, G. Valdez, M. y Azuara, D. (Ed.). *Temas sobre restauración ecológica* (231-250). México D.F., México: Primera Edición
54. Zambrano, J. (2011). *Tratamiento de efluentes generados por biolixiviación en la extracción de metales preciosos mediante recuperación selectiva de hierro, cobre y cinc*. (Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Ingeniera Ambiental). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.

ANEXOS

ANEXO I

PROTOCOLOS DE OPERACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO UV VISIBLE (DR2700 HACH)

DETERMINACIÓN DE SULFATOS

La cantidad de sulfatos presentes en la solución se determina por el método turbidimétrico (EPA 9038) en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

PREPARACIÓN DE LA PRUEBA

1. Seleccionar el método #680 en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).
2. Preparar la muestra blanco: se toma 10 mL de agua destilada y se la coloca en la celda de lectura, al contenido se añade reactivo SulfaVer 4 Reagent y se agita la celda en sentido horizontal hasta obtener una disolución completa del reactivo.
3. La celda blanco se coloca en reposo por 5 minutos, transcurrido dicho tiempo se encera el equipo para ello se introduce la celda blanco en el equipo y se presiona ZERO.
4. Preparar la muestra de lectura: se toma 10 mL de muestra y se la coloca en la celda de lectura, al contenido se añade reactivo SulfaVer 4 Reagent y se agita la celda en sentido horizontal hasta obtener una disolución completa del reactivo.
5. La celda con la muestra se coloca en reposo por 5 minutos, transcurrido dicho tiempo se realiza la lectura, para ello se introduce la celda en el equipo y se presiona READ.

En la Figura AI.1. se explica de manera gráfica el procedimiento para la realización de lecturas de sulfato en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

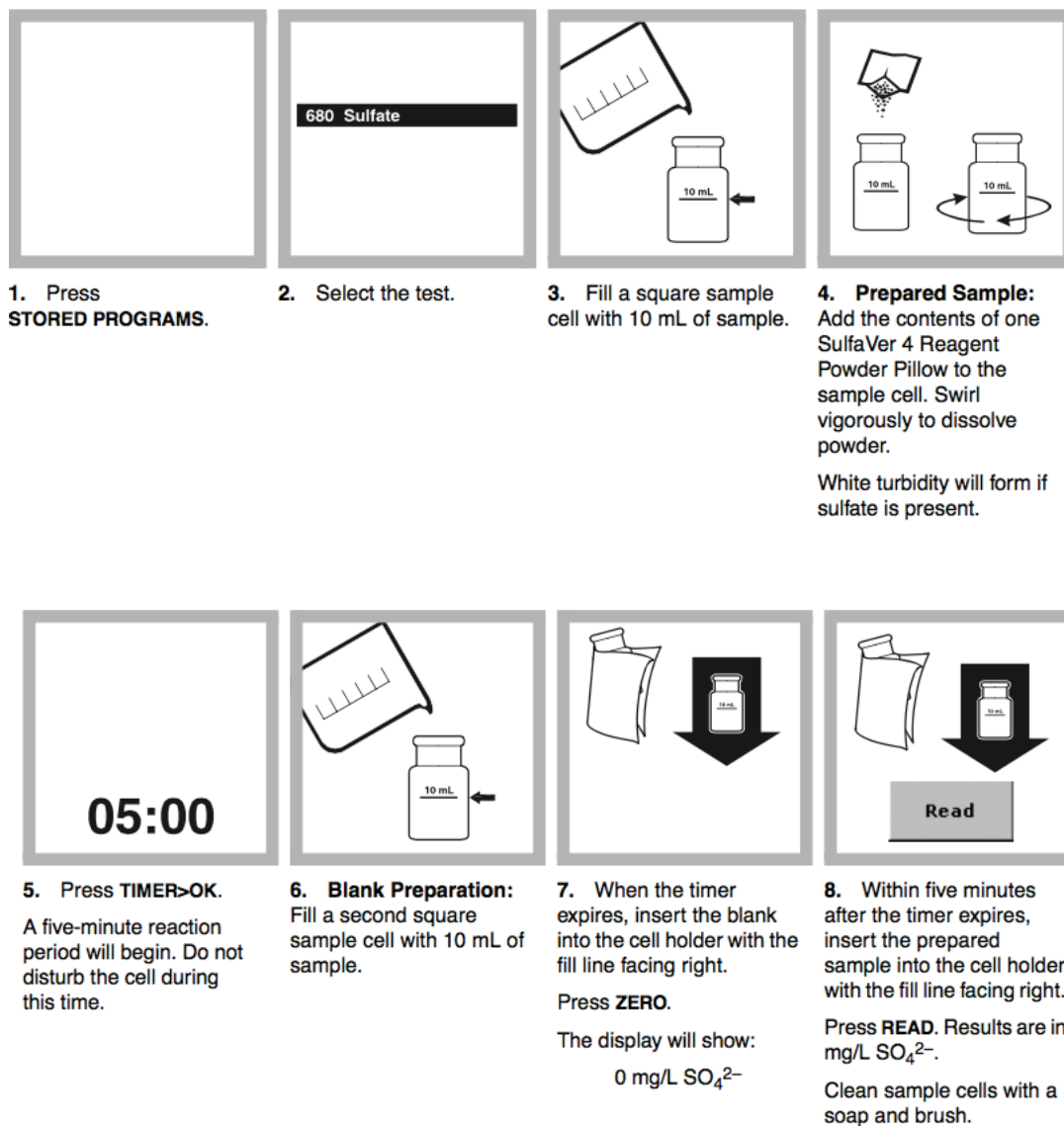


Figura AI. 1 Procedimiento gráfico para la lectura de sulfatos en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)

DETERMINACIÓN DE SULFUROS

La cantidad de sulfuros presentes en la solución se determina mediante el método 4500-S2- D Azul de metileno por espectrofotometría en un espectrofotómetro (EPA 376.2) UV visible (DR2700 HACH)

PREPARACIÓN DE LA PRUEBA

1. Seleccionar el método #690 en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).
2. Preparar la muestra blanco: se toma 10 mL de agua destilada y se la coloca en la celda de lectura. Al contenido se añade 0,5 mL (3 gotas) de reactivo Sulfide 1 Reagent y se agita la celda en sentido horizontal, luego se añade 0,5 mL (3 gotas) de reactivo Sulfide 2 Reagent y se agita la celda en sentido vertical.
3. La celda blanco se coloca en reposo por 5 minutos, transcurrido dicho tiempo se encera el equipo para ello se introduce la celda blanco en el equipo y se presiona ZERO.
4. Preparar la muestra de lectura: se toma 10 mL de muestra y se la coloca en la celda de lectura. Al contenido se añade 0,5 mL (3 gotas) de reactivo Sulfide 1 Reagent y se agita la celda en sentido horizontal, luego se añade 0,5 mL (3 gotas) de reactivo Sulfide 2 Reagent y se agita la celda en sentido vertical.
5. La celda con la muestra se coloca en reposo por 5 minutos, transcurrido dicho tiempo se realiza la lectura, para ello se introduce la celda en el equipo y se presiona READ.

En la Figura AI.2. se explica de manera gráfica el procedimiento para la realización de lecturas de sulfuro en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

1. Press STORED PROGRAMS.

2. Select the test.

3. Prepared Sample: Avoiding excess agitation of the sample, use a pipet add 10 mL of sample to a square sample cell.

4. Blank Preparation: Measure 10 mL of deionized water into a second square sample cell.

5. Use the calibrated dropper to add 0.5 mL of Sulfide 1 Reagent to each cell. Swirl to mix.

6. Use the calibrated dropper to add 0.5 mL of Sulfide 2 Reagent to each cell.

7. Cap the cell and immediately invert to mix. A pink color will develop, then the solution will turn blue if sulfide is present.

8. Press TIMER>OK. A five-minute reaction period will begin.

9. When the timer expires, wipe the blank and insert it into the cell holder with the fill line facing right.

10. Press ZERO. The display will show:
 $0 \mu\text{g/L S}^{2-}$

11. Wipe the prepared sample and insert it into the cell holder with the fill line facing right.

12. Press READ. Results are in $\mu\text{g/L S}^{2-}$.

Figura AI. 2. Procedimiento gráfico para la lectura de sulfuro en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)

DETERMINACIÓN DE CIANURO TOTAL

La cantidad de cianuro total presentes en la solución se determina por el método Piridina-Pyrazalone en un espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

PREPARACIÓN DE LA PRUEBA

1. Seleccionar el método #160 en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).
2. Preparar la muestra blanco: se toma 10 mL de agua destilada y se la coloca en la celda de lectura. Al contenido se añade reactivo CyaniVer 3 Cyanide Reagent y se agita la celda en sentido horizontal por 30 segundos, después se deja reposar por 30 segundos más.
3. Transcurrido dicho tiempo a la celda blanco se añade CyaniVer 4 Cyanide Reagent y se agita fuertemente por 10 segundos.
4. Trascurridos los 10 segundos de agitación se añade CyaniVer 5 Cyanide Reagent y se agita fuertemente en sentido vertical.
5. Finalmente la celda blanco se coloca en reposo por 30 minutos, transcurrido dicho tiempo se encera el equipo para ello se introduce la celda blanco en el equipo y se presiona ZERO.
6. Para la preparación de la muestra de lectura se repite desde el paso 2 hasta el paso 4. La lectura de cianuro se la realiza introduciendo la celda en el equipo y se presiona READ.

En la Figura A1.3. se explica de manera gráfica el procedimiento para la realización de lecturas de cianuro total en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH).

1. Press STORED PROGRAMS .	2. Select the test.	3. Using a graduated cylinder, fill a square sample cell with a 10 mL of sample.	4. Prepared Sample: Add the contents of one CyaniVer 3 Cyanide Reagent Powder Pillow. Cap the cell.
5. Shake the sample cell for 30 seconds.	6. Leave the sample cell undisturbed for an additional 30 seconds.	7. Add the contents of one CyaniVer 4 Cyanide Reagent Powder Pillow. Cap the sample cell.	8. Shake the sample for 10 seconds. Immediately proceed to <i>step 9</i> . (Delaying the addition of the CyaniVer 5 will produce low test results.)
9. Add the contents of one CyaniVer 5 Cyanide Reagent Powder Pillow. Cap the sample cell.	10. Shake the cell vigorously. If cyanide is present, a pink color will develop.	11. Press TIMER>OK . A 30-minute reaction period will begin. The solution will turn from pink to blue.	12. Blank Preparation: When the timer expires, fill a second square sample cell with 10 mL of sample.
13. Wipe the blank and insert it into the cell holder with the fill line facing right.	14. Press ZERO . The display will show: 0.000 mg/L CN ⁻	15. Wipe the prepared sample and insert it into the cell holder with the fill line facing right.	16. Press READ . Results are in mg/L CN ⁻ .

Figura AI. 3. Procedimiento gráfico para la lectura de cianuro total en el espectrofotómetro UV visible (DR2700 HACH)

ANEXO II

RESULTADOS COMPLETOS DE LAS PRUEBAS DE PRECIPITACIÓN DE HIERRO, CONSUMO DE SULFATOS Y PRODUCCIÓN DE SULFUROS

Tabla AII.1. Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=28 °C

Tiempo (h)	FUENTE DE CARBONO 1,0 %				FUENTE DE CARBONO 2,5 %				FUENTE DE CARBONO 5,0 %			
	FACTOR	Concentración de Fe (ppm)		FACTOR	Concentración de Fe (ppm)		FACTOR	Concentración de Fe (ppm)		FACTOR	Concentración de Fe (ppm)	
		muestra 1	muestra 2		promedio	muestra 1		muestra 2	promedio		muestra 1	muestra 2
0	10	4,98	4,98	49,80	10	4,98	4,98	49,80	10	4,98	4,98	49,80
3	10	3,91	3,89	39,00	10	3,36	3,78	35,70	10	3,87	3,74	38,05
6	20	2,04	2,06	41,00	20	2,04	2,02	40,60	20	2,24	2,18	44,20
9	10	3,06	3,05	30,55	10	2,90	2,81	28,55	10	2,89	2,92	29,05
15	10	3,52	3,26	33,90	10	3,45	3,50	34,75	10	3,63	3,48	35,55
18	20	1,89	1,86	37,50	20	1,83	1,74	35,70	20	1,89	1,97	38,60
21	20	1,86	1,70	35,60	20	1,68	1,85	35,30	20	1,64	1,61	32,50
27	20	2,08	1,95	40,30	20	1,58	1,54	31,20	20	1,61	1,69	33,00
36	20	1,33	1,52	28,50	20	1,27	1,35	26,20	20	1,27	1,38	26,50
45	20	1,68	1,52	32,00	20	1,65	1,62	32,70	20	1,79	1,69	34,80
60	20	1,63	2,07	37,00	20	1,65	1,62	32,70	20	1,79	1,69	34,80
72	20	1,78	1,96	37,40	20	1,85	1,73	35,80	20	1,68	1,70	33,80
96	20	1,75	1,72	34,70	20	1,70	1,71	34,10	20	1,85	1,8	36,50
120	20	1,80	1,75	35,50	20	1,61	1,57	31,80	20	1,58	1,67	32,50

Tabla AII.2. Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=28 °C (repetición 2)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %		FUENTE DE CARBONO 2,5 %		FUENTE DE CARBONO 5,0 %	
		Concentración de Fe (ppm)		Concentración de Fe (ppm)		Concentración de Fe (ppm)	
		muestra 1	valor total	muestra 1	valor total	muestra 1	valor total
0	20	3,02	61,60	3,02	61,60	3,02	61,60
3	20	2,70	54,00	2,62	52,40	2,59	51,80
6	20	2,30	46,00	2,02	40,40	2,15	43,00
9	20	2,73	54,60	2,67	53,40	2,19	43,80
12	20	1,96	39,20	2,02	40,40	2,11	42,20
15	20	2,74	54,80	2,65	53,00	2,55	51,00
18	20	2,48	49,60	2,76	55,20	2,84	56,80
21	20	2,19	43,80	2,35	47,00	2,24	44,80
24	20	2,21	44,20	2,11	42,20	2,14	42,80
27	20	2,18	43,60	2,22	44,40	2,18	43,60
30	20	2,76	55,20	2,70	54,00	2,70	54,00
33	20	2,62	52,40	2,62	52,40	2,55	51,00
45	20	2,77	55,40	2,45	49,00	2,65	53,00
66	20	2,38	47,60	2,37	47,40	2,28	45,60
75	20	1,96	39,20	2,05	41,00	2,09	41,80
87	20	2,62	52,40	2,47	49,40	2,25	45,00
99	20	2,49	49,80	2,44	48,80	2,24	44,80
111	20	2,11	42,20	2,09	41,80	2,17	43,40

Tabla AII.3. Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE HIERRO (ppm)		
	FC 1,0 %	FC 2,5 %	FC 5,0 %
0	55,70	55,70	55,70
3	46,50	44,05	44,93
6	43,50	40,50	43,60
9	42,58	40,98	36,43
12	39,20	40,40	42,20
15	44,35	43,88	43,28
18	43,55	45,45	47,70
21	39,70	41,15	38,65
24	44,20	42,20	42,80
27	41,95	37,80	38,30
30	55,20	54,00	54,00
33	52,40	52,40	51,00
36	28,50	26,20	26,50
45	43,70	40,85	43,90
60	37,00	32,70	34,80
66	47,60	47,40	45,60
72	37,40	35,80	33,80
75	39,20	41,00	41,80
87	52,40	49,40	45,00
96	34,70	34,10	36,50
99	49,80	48,80	44,80
111	42,20	41,80	43,40
120	35,50	31,80	32,50

Tabla AII.4. Porcentaje de precipitación de hierro del efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C

Tiempo (h)	% PRECIPITACIÓN DE HIERRO		
	FC 1,0 %	FC 2,5 %	FC 5,0 %
0	0,00	0,00	0,00
3	16,52	20,92	19,34
6	21,90	27,29	21,72
9	23,56	26,44	34,61
12	29,62	27,47	24,24
15	20,38	21,23	22,31
18	21,81	18,40	14,36
21	28,73	26,12	30,61
24	20,65	24,24	23,16
27	24,69	32,14	31,24
30	0,90	3,05	3,05
33	5,92	5,92	8,44
36	48,83	52,96	52,42
45	21,54	26,66	21,18
60	33,57	41,29	37,52
66	14,54	14,90	18,13
72	32,85	35,73	39,32
75	29,62	26,39	24,96
87	5,92	11,31	19,21
96	37,70	38,78	34,47
99	10,59	12,39	19,57
111	24,24	24,96	22,08
120	36,27	42,91	41,65

Tabla AII.5. Concentración de hierro en el efluente de cianuración a 2,5 % de ácido láctico, T= 35 °C

Tiempo (h)	FACTOR	Concentracion de Fe (ppm)		
		FC 2,5 %		
		muestra 1	muestra 2	promedio
0	20	2,32	2,26	45,80
3	20	1,85	1,85	37,00
6	20	2,28	2,28	45,60
9	20	2,06	2,06	41,20
12	20	2,28	2,21	44,90
15	20	2,20	2,20	44,00
18	20	2,16	2,18	43,40
21	20	2,10	2,12	42,20
30	20	1,78	1,86	36,40
36	20	1,76	1,80	35,60
42	20	1,90	1,90	38,00
48	20	1,11	1,10	22,10
54	20	0,64	0,62	12,60
60	20	0,59	0,57	11,60
66	10	0,88	0,83	8,55
72	10	0,83	0,79	8,10
78	10	0,78	0,75	7,65
90	10	0,68	0,72	7,00
114	10	0,63	0,50	5,65

Tabla AII.6. Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 2)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %			FUENTE DE CARBONO 2,5 %			FUENTE DE CARBONO 5,0 %		
		Concentración de Fe (ppm)			Concentración de Fe (ppm)			Concentración de Fe (ppm)		
		muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio
0	20	2,30	2,30	46,00	2,30	2,30	46,00	2,30	2,30	46,00
3	20	2,25	2,20	44,50	2,20	2,18	43,80	2,13	2,13	42,60
6	20	1,92	1,90	38,20	1,77	1,75	35,20	1,94	1,92	38,60
9	20	1,89	1,85	37,40	1,74	1,70	34,40	1,87	1,85	37,20
12	20	2,01	2,01	40,20	1,97	1,97	39,40	2,02	2,02	40,40
15	20	2,06	2,04	41,00	1,86	1,89	37,50	2,01	1,94	39,50
18	20	2,04	2,02	40,60	2,24	2,26	45,00	2,00	1,37	33,70
24	20	2,01	2,04	40,50	2,22	2,00	42,20	2,07	2,00	40,70
30	20	2,07	2,02	40,90	1,30	1,27	25,70	1,32	1,35	26,70
36	20	2,02	2,01	40,30	1,28	1,23	25,10	1,28	1,27	25,50
42	20	1,46	1,50	29,60	1,25	1,19	24,40	1,23	1,20	24,30
48	20	1,50	1,55	30,50	1,26	1,28	25,40	1,30	1,34	26,40
60	20	1,37	1,49	28,60	0,86	0,75	16,10	0,71	0,70	14,10

Tabla AII.7. Concentración de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 3)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %		FUENTE DE CARBONO 2,5%		FUENTE DE CARBONO 5,0%	
		Concentración de Fe (ppm) muestra 1	valor total	Concentración de Fe (ppm) muestra 1	valor total	Concentración de Fe (ppm) muestra 1	valor total
0	20	3,02	61,60	3,02	61,60	3,02	61,60
3	20	2,60	52,00	2,59	51,80	2,58	51,60
6	20	2,54	50,80	2,37	47,40	2,38	47,60
9	20	2,59	51,80	2,45	49,00	2,46	49,20
12	20	1,94	38,80	1,98	39,60	2,06	41,20
15	20	2,66	53,20	2,64	52,80	2,69	53,80
18	20	2,95	59,00	2,78	55,60	2,77	55,40
21	20	2,54	50,80	2,45	49,00	2,50	50,00
24	20	2,65	53,00	2,70	54,00	2,69	53,80
27	20	2,51	50,20	2,32	46,40	2,31	46,20
30	20	3,05	61,00	2,95	59,00	2,85	57,00
33	20	2,77	55,40	2,79	55,80	2,95	59,00
45	20	2,61	52,20	2,29	45,80	2,63	52,60
66	20	2,23	44,60	2,21	44,20	1,95	39,00
75	20	1,83	36,60	2,05	41,00	1,60	32,00
87	20	2,17	43,40	2,06	41,20	1,40	28,00
99	20	2,07	41,40	2,08	41,60	1,38	27,60
111	20	1,39	27,80	2,05	41,00	1,09	21,80

Tabla AII.8. Concentración promedio de hierro en el efuente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=35 °C

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE HIERRO (ppm)		
	FC 1,0 %	FC 2,5 %	FC 5,0 %
0	53,80	53,80	53,80
3	48,25	44,20	47,10
6	44,50	42,73	43,10
9	44,60	41,53	43,20
12	39,50	41,30	40,80
15	47,10	44,77	46,65
18	49,80	48,00	44,55
21	50,80	45,60	50,00
24	46,75	48,10	47,25
27	50,20	46,40	46,20
30	50,95	40,37	41,85
33	51,40	51,80	52,30
36	40,30	30,35	25,50
42	29,60	31,20	24,30
45	52,20	45,80	52,60
48	30,50	23,75	26,40
54	30,15	12,60	26,10
60	28,60	11,60	25,50
66	28,25	8,55	25,30
78	28,05	7,65	24,85
90	27,95	7,00	23,85
114	27,80	5,65	21,80

Tabla AII.9. Porcentaje de precipitación de hierro del efuente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C

Tiempo (h)	% PRECIPITACIÓN DE HIERRO		
	FC 1,0 %	FC 2,5 %	FC 5,0 %
0	0,00	0,00	0,00
3	10,32	17,84	12,45
6	17,29	20,57	19,89
9	17,10	22,80	19,70
12	26,58	23,23	24,16
15	12,45	16,79	13,29
18	7,43	10,78	17,19
21	5,58	15,24	7,06
24	13,10	10,59	12,17
27	6,69	13,75	14,13
30	5,30	24,97	22,21
33	4,46	3,72	2,79
36	25,09	43,59	52,60
42	44,98	42,01	54,83
45	2,97	14,87	2,23
48	43,31	55,86	50,93
54	43,96	76,58	51,49
60	46,84	78,44	52,60
66	47,49	84,11	52,97
78	47,86	85,78	53,81
90	48,05	86,99	55,67
114	48,33	89,50	59,48

Tabla AII.10. Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %			FUENTE DE CARBONO 2,5 %			FUENTE DE CARBONO 5,0 %		
		Concentración de sulfuros (mg/L)			Concentración de sulfuros (mg/L)			Concentración de sulfuros (mg/L)		
		muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio
0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	10	41,00	35,00	380,00	40,00	37,00	385,00	39,00	39,00	390,00
6	20	56,00	44,00	1 000,00	49,00	44,00	930,00	47,00	68,00	1 150,00
9	10	14,00	19,00	165,00	15,00	20,00	175,00	33,00	21,00	270,00
15	20	17,00	15,00	320,00	36,00	22,00	580,00	16,00	22,00	380,00
18	20	22,00	29,00	510,00	20,00	28,00	480,00	20,00	22,00	420,00
27	20	19,00	24,00	430,00	17,00	17,00	340,00	27,00	24,00	510,00
36	20	23,00	22,00	450,00	28,00	33,00	610,00	37,00	32,00	690,00
45	20	20,00	21,00	410,00	22,00	19,00	410,00	31,00	28,00	590,00
60	20	19,00	20,00	390,00	22,00	19,00	410,00	31,00	28,00	590,00
72	20	19,00	21,00	400,00	18,00	15,00	330,00	33,00	35,00	680,00
96	20	23,00	25,00	480,00	26,00	27,00	530,00	23,00	28,00	510,00
120	20	22,00	21,00	430,00	30,00	35,00	650,00	33,00	36,00	690,00

Tabla AII.11. Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 28 °C

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %			FUENTE DE CARBONO 2,5 %			FUENTE DE CARBONO 5,0 %		
		Concentración de sulfatos (mg/L)			Concentración de sulfatos (mg/L)			Concentración de sulfatos (mg/L)		
		muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio
0	10	67,00	-	670,00	67,00	-	670,00	67,00	-	670,00
3	10	51,00	48,00	495,00	39,00	67,00	530,00	56,00	60,00	580,00
6	20	63,00	61,00	1 240,00	58,00	59,00	1 170,00	48,00	51,00	990,00
9	10	39,00	43,00	410,00	26,00	23,00	245,00	31,00	28,00	295,00
15	20	60,00	45,00	1 050,00	61,00	60,00	1 210,00	49,00	45,00	940,00
18	20	61,00	63,00	1 240,00	59,00	59,00	1 180,00	49,00	44,00	930,00
27	20	53,00	65,00	1 180,00	52,00	53,00	1 050,00	45,00	44,00	890,00
36	20	52,00	50,00	1 020,00	48,00	45,00	930,00	40,00	38,00	780,00
45	20	50,00	42,00	920,00	46,00	43,00	890,00	42,00	46,00	880,00
60	20	50,00	49,00	990,00	46,00	44,00	900,00	42,00	46,00	880,00
72	20	31,00	25,00	560,00	55,00	52,00	1 070,00	30,00	34,00	640,00
96	20	12,00	15,00	270,00	26,00	22,00	480,00	17,00	22,00	390,00
120	20	3,00	5,00	80,00	12,00	13,00	250,00	5,00	14,00	190,00

Tabla AII.12. Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a una concentración de 2,5 % de ácido láctico, T= 35 °C

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 2,5 % Concentración de sulfuros (mg/L)	
		muestra 1	valor total
0	20	-	-
3	20	23,00	460,00
6	20	26,00	520,00
9	20	25,00	500,00
12	20	30,00	600,00
15	20	28,00	560,00
18	20	28,00	560,00
30	20	26,00	520,00
36	20	23,00	460,00
42	20	29,00	580,00
48	20	23,00	460,00
54	20	17,00	340,00
60	20	18,00	360,00
66	20	22,00	440,00
72	20	25,00	500,00
78	20	15,00	300,00
90	20	12,00	240,00
114	20	5,00	100,00

Tabla AII.13. Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 2)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %		FUENTE DE CARBONO 2,5 %		FUENTE DE CARBONO 5,0 %	
		Concentración de sulfuros (mg/L)		Concentración de sulfuros (mg/L)		Concentración de sulfuros (mg/L)	
		muestra 1	valor total	muestra 1	valor total	muestra 1	valor total
0	20,00	-	-	-	-	-	-
3	20,00	39,00	780,00	31,00	620,00	35,00	700,00
6	20,00	31,00	620,00	33,00	660,00	29,00	580,00
9	20,00	28,00	560,00	31,00	620,00	30,00	600,00
12	20,00	25,00	500,00	28,00	560,00	32,00	640,00
15	20,00	30,00	600,00	51,00	1 020,00	38,00	760,00
18	20,00	33,00	660,00	21,00	420,00	36,00	720,00
24	20,00	31,00	620,00	20,00	400,00	34,00	680,00
30	20,00	31,00	620,00	17,00	340,00	29,00	580,00
36	20,00	30,00	600,00	33,00	660,00	43,00	860,00
42	20,00	32,00	640,00	40,00	800,00	49,00	980,00
48	20,00	31,00	620,00	44,00	880,00	51,00	1 020,00
60	20,00	32,00	640,00	10,00	200,00	19,00	380,00

Tabla AIII.14. Producción de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=35 °C (repetición 3)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %		FUENTE DE CARBONO 2,5 %		FUENTE DE CARBONO 5,0 %	
		Concentración de sulfuros (mg/L)		Concentración de sulfuros (mg/L)		Concentración de sulfuros (mg/L)	
		muestra 1	valor total	muestra 1	valor total	muestra 1	valor total
0	20,00	74,00	1 480,00	74,00	1 480,00	74,00	1 480,00
3	20,00	51,00	1 020,00	22,00	440,00	37,00	740,00
6	20,00	50,00	1 000,00	25,00	500,00	39,00	780,00
9	20,00	50,00	1 000,00	25,00	500,00	38,00	760,00
12	20,00	55,00	1 100,00	37,00	740,00	40,00	800,00
15	20,00	48,00	960,00	20,00	400,00	32,00	640,00
18	20,00	46,00	920,00	18,00	360,00	32,00	640,00
21	20,00	50,00	1 000,00	22,00	440,00	35,00	700,00
24	20,00	49,00	980,00	20,00	400,00	32,00	640,00
27	20,00	49,00	980,00	25,00	500,00	38,00	760,00
30	20,00	42,00	840,00	17,00	340,00	30,00	600,00
33	20,00	48,00	960,00	20,00	400,00	30,00	600,00
45	20,00	30,00	600,00	47,00	940,00	35,00	700,00
66	20,00	35,00	700,00	48,00	960,00	40,00	800,00
75	20,00	40,00	800,00	50,00	1 000,00	42,00	840,00
87	20,00	30,00	600,00	49,00	980,00	43,00	860,00
99	20,00	33,00	660,00	49,00	980,00	44,00	880,00
111	20,00	35,00	700,00	45,00	900,00	35,00	700,00

Tabla AII.15. Producción promedio de sulfuro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T=35 °C

Tiempo (h)	PRODUCCIÓN PROMEDIO DE SULFURO (mg/L)		
	FC 1,0 %	FC 2,5 %	FC 5,0 %
0	150,00	150,00	150,00
3	900,00	506,67	720,00
6	810,00	560,00	680,00
9	780,00	540,00	680,00
12	800,00	633,33	720,00
15	780,00	660,00	700,00
18	790,00	446,67	680,00
21	1 000,00	440,00	700,00
24	800,00	400,00	660,00
27	980,00	500,00	760,00
30	730,00	400,00	590,00
33	960,00	400,00	600,00
36	600,00	560,00	860,00
42	640,00	690,00	980,00
45	600,00	940,00	700,00
48	620,00	670,00	1 020,00
66	700,00	700,00	800,00
75	800,00	750,00	840,00
87	600,00	610,00	860,00
99	660,00	980,00	880,00
111	700,00	900,00	700,00
114	640,00	850,00	380,00

Tabla AII.16. Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a una concentración de 2,5 % de ácido láctico, T= 35 °C

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 2,5 %	
		Concentracion de sulfatos (mg/L)	
		muestra 1	valor total
0	20	54,00	1 080,00
3	20	55,00	1 100,00
6	20	57,00	1 140,00
9	20	51,00	1 020,00
12	20	48,00	960,00
15	20	35,00	700,00
18	20	24,00	480,00
30	20	17,00	340,00
36	20	28,00	560,00
42	20	19,00	380,00
48	20	17,00	340,00
54	20	15,00	300,00
60	20	15,00	300,00
66	20	13,00	260,00
72	20	14,00	280,00
78	20	20,00	400,00
90	20	12,00	240,00
114	20	13,00	260,00

Tabla AII.17. Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 2)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %		FUENTE DE CARBONO 2,5 %		FUENTE DE CARBONO 5,0 %	
		Concentración de sulfatos (mg/L)		Concentración de sulfatos (mg/L)		Concentración de sulfatos (mg/L)	
		muestra 1	valor total	muestra 1	valor total	muestra a 1	valor total
0	20,00	35,00	700,00	35,00	700,00	35,00	700,00
3	20,00	30,00	600,00	36,00	720,00	35,00	700,00
6	20,00	29,00	580,00	34,00	680,00	29,00	580,00
9	20,00	33,00	660,00	35,00	700,00	31,00	620,00
12	20,00	36,00	720,00	33,00	660,00	32,00	640,00
15	20,00	28,00	560,00	25,00	500,00	38,00	760,00
18	20,00	34,00	680,00	31,00	620,00	36,00	720,00
24	20,00	32,00	640,00	31,00	620,00	35,00	700,00
30	20,00	31,00	620,00	33,00	660,00	38,00	760,00
36	20,00	30,00	600,00	30,00	600,00	43,00	860,00
42	20,00	33,00	660,00	26,00	520,00	47,00	940,00
48	20,00	29,00	580,00	33,00	660,00	51,00	1 020,00
60	20,00	23,00	460,00	37,00	740,00	46,00	920,00

Tabla AII.18. Reducción de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C (repetición 3)

Tiempo (h)	FACTOR	FUENTE DE CARBONO 1,0 %		FUENTE DE CARBONO 2,5 %		FUENTE DE CARBONO 5,0 %	
		Concentración de sulfatos (mg/L)		Concentración de sulfatos (mg/L)		Concentración de sulfatos (mg/L)	
		muestra 1	valor total	muestra 1	valor total	muestra 1	valor total
0	20,00	55,00	1 100,00	55,00	1 100,00	55,00	1 100,00
3	20,00	37,00	740,00	44,00	880,00	36,00	720,00
6	20,00	35,00	700,00	42,00	840,00	35,00	700,00
9	20,00	34,00	680,00	42,00	840,00	35,00	700,00
12	20,00	30,00	600,00	39,00	780,00	30,00	600,00
15	20,00	28,00	560,00	45,00	900,00	37,00	740,00
18	20,00	28,00	560,00	43,00	860,00	37,00	740,00
21	20,00	33,00	660,00	44,00	880,00	43,00	860,00
24	20,00	32,00	640,00	45,00	900,00	37,00	740,00
27	20,00	32,00	640,00	40,00	800,00	37,00	740,00
30	20,00	22,00	440,00	43,00	860,00	42,00	840,00
33	20,00	26,00	520,00	40,00	800,00	42,00	840,00
45	20,00	31,00	620,00	36,00	720,00	43,00	860,00
66	20,00	33,00	660,00	35,00	700,00	39,00	780,00
75	20,00	35,00	700,00	40,00	800,00	35,00	700,00
87	20,00	31,00	620,00	38,00	760,00	35,00	700,00
99	20,00	28,00	560,00	38,00	760,00	36,00	720,00
111	20,00	23,00	460,00	36,00	720,00	30,00	600,00

Tabla AII.19. Reducción promedio de sulfatos en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de ácido láctico, T= 35 °C

Tiempo (h)	REDUCCIÓN PROMEDIO DE SULFATO (mg/L)		
	FC1: 1,0 %	FC2: 2,5 %	FC3: 5,0 %
0	900,00	960,00	900,00
3	670,00	900,00	710,00
6	640,00	886,67	640,00
9	670,00	853,33	660,00
12	660,00	800,00	620,00
15	560,00	700,00	750,00
18	620,00	653,33	730,00
21	660,00	880,00	860,00
24	640,00	760,00	720,00
27	640,00	800,00	740,00
30	530,00	620,00	800,00
33	520,00	800,00	840,00
36	600,00	580,00	860,00
42	660,00	450,00	940,00
45	620,00	720,00	860,00
48	580,00	500,00	1 020,00
60	460,00	520,00	920,00
66	660,00	480,00	780,00
75	700,00	540,00	700,00
87	620,00	500,00	700,00
99	560,00	460,00	720,00
111	460,00	420,00	600,00
114	440,00	320,00	590,00

Tabla AII.20. Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, concentración de ácido láctico 2,5 %, T=28 °C

Tiempo (h)	FACTOR	INÓCULO 2,0 %			INOCULO 5,0 %		
		Concentraci3n de Fe (ppm)			Concentraci3n de Fe (ppm)		
		muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio
0	20	2,84	2,94	57,80	2,84	2,94	57,80
3	20	2,30	2,31	46,10	2,27	2,28	45,50
6	20	2,28	2,26	45,40	2,25	2,22	44,70
9	20	2,35	2,38	47,30	2,30	2,24	45,40
12	20	2,17	2,20	43,70	2,13	2,10	42,30
15	20	2,14	2,23	43,70	2,08	2,12	42,00
21	20	2,23	2,19	44,20	2,10	2,14	42,40
27	20	2,21	2,25	44,60	1,93	1,98	39,10
39	20	2,04	2,09	41,30	1,86	1,89	37,50
51	20	1,97	1,89	38,60	1,87	1,82	36,90
63	20	2,07	2,00	40,70	1,87	1,86	37,30
69	20	1,91	1,95	38,60	1,86	1,84	37,00
75	20	1,75	1,79	35,40	1,57	1,54	31,10

Tabla AII.21. Porcentaje de precipitaci3n de hierro del efluente de cianuraci3n a diferentes concentraciones de in3culo de SRB, una concentraci3n de 3cido l3ctico 2,5 %, T=28 °C

Tiempo (h)	INOCULO 2,0%	INOCULO 5,0%
	% precipitacion	% precipitacion
0	0,00	0,00
3	20,24	21,28
6	21,45	22,66
9	18,17	21,45
12	24,39	26,82
15	24,39	27,34
21	23,53	26,64
27	22,84	32,35
39	28,55	35,12
51	33,22	36,16
63	29,58	35,47
69	33,22	35,99
75	38,75	46,19

Tabla AII.22. Concentración promedio de hierro en el efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, concentración de ácido láctico 2,5 %, T=35 °C

Tiempo (h)	FACTOR	INÓCULO 2,0 %			INÓCULO 5,0 %		
		Concentración de Fe (ppm)			Concentración de Fe (ppm)		
		muestra 1	muestra 2	promedio	muestra 1	muestra 2	promedio
0	20	2,84	2,94	57,80	2,84	2,94	57,80
3	20	2,32	2,25	45,70	2,28	2,23	45,10
6	20	2,25	2,23	44,80	2,26	2,28	45,40
9	20	2,18	2,15	43,30	2,31	2,33	46,40
12	20	2,13	2,16	42,90	2,15	2,08	42,30
15	20	2,04	2,09	41,30	1,98	2,09	40,70
21	20	2,13	2,07	42,00	2,22	2,23	44,50
27	20	2,03	2,03	40,60	2,04	2,16	42,00
39	20	2,15	2,11	42,60	1,90	2,04	39,40
51	20	1,97	1,99	39,60	1,74	1,65	33,90
63	20	1,80	1,85	36,50	1,52	1,54	30,60
69	20	1,49	1,52	30,10	1,15	1,09	22,40
75	20	1,39	1,32	27,10	1,05	0,85	17,00

Tabla AII.23. Porcentaje de precipitación de hierro del efluente de cianuración a diferentes concentraciones de inóculo de SRB, una concentración de ácido láctico 2,5 %, T=35 °C

Tiempo (h)	INÓCULO 2,0 %	INÓCULO 5,0 %
	% precipitación	% precipitación
0	0,00	0,00
3	20,93	21,97
6	22,49	21,45
9	25,09	19,72
12	25,78	26,82
15	28,55	29,58
21	27,34	23,01
27	29,76	27,34
39	26,30	31,83
51	31,49	41,35
63	36,85	47,06
69	47,92	61,25
75	53,11	70,59

ANEXO III

ANÁLISIS ESTADÍSTICO XLSTAT

Tabla AIII. 1. Resultados del control de crecimiento bacteriano, utilizando como medio efluente de cianuración con diferentes concentraciones de ácido láctico

TIEMPO (h)	CONCENTRACIÓN ÁCIDO LÁCTICO 1,0%	POBLACIÓN ESTIMADA bact/mL	CONCENTRACIÓN ÁCIDO LÁCTICO 2,5%	POBLACIÓN ESTIMADA bact/mL	CONCENTRACIÓN ÁCIDO LÁCTICO 5,0%	POBLACIÓN ESTIMADA bact/mL
0	-	0,00E+00	-	0,00E+00	-	0,00E+00
2	-	0,00E+00	-	0,00E+00	-	0,00E+00
4	-	0,00E+00	-	0,00E+00	-	0,00E+00
6	-	0,00E+00	-	0,00E+00	+	1,07E+04
8	-	0,00E+00	+	1,69E+04	+	1,28E+04
10	-	0,00E+00	+	2,31E+04	+	2,16E+04
12	+	1,07E+03	+	3,28E+04	+	2,31E+04
14	+	1,27E+03	+	6,92E+04	+	3,28E+04
16	+	2,16E+03	+	1,07E+05	+	6,92E+04
18	+	2,30E+03	+	1,28E+05	+	1,07E+05
20	+	3,12E+03	+	2,72E+05	+	1,69E+05
22	+	4,53E+03	+	3,27E+05	+	2,72E+05
24	+	4,88E+03	+	1,07E+06	+	3,12E+05
26	+	4,87E+03	+	1,28E+06	+	4,92E+05
28	+	4,85E+03	+	2,16E+06	+	7,81E+05
30	+	4,83E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
32	+	4,80E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
34	+	4,79E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
36	+	4,80E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
38	+	4,81E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
40	+	4,83E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
42	+	4,82E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
44	+	4,84E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
46	+	4,85E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06
48	+	4,85E+03	+	2,31E+06	+	1,69E+06

Tabla AIII. 2. Datos obtenidos para la regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial. Medio: efluente de cianuración. Concentración de ácido láctico 1,0%

Tiempo (h)	FCI: 1,0 % bact/mL	Ln(Xt/Xo)	
0	0,00	0,00	
2	0,00	0,00	
4	0,00	0,00	
6	0,00	0,00	
8	0,00	0,00	
10	0,00	0,00	
12	1 070,00	16,19	16,19
14	1 270,00	16,36	16,36
16	2 160,00	16,89	16,89
18	2 300,00	16,95	16,95
20	3 120,00	17,26	17,26
22	4 530,00	17,63	17,63
24	4 880,00	17,70	17,70
26	4 870,00	17,70	17,70
28	4 850,00	17,70	17,70
30	4 830,00	17,69	17,69
32	4 800,00	17,69	
34	4 790,00	17,68	
36	4 800,00	17,69	
38	4 810,00	17,69	
40	4 830,00	17,69	
42	4 820,00	17,69	
44	4 840,00	17,70	
46	4 850,00	17,70	
48	4 850,00	17,70	

Zona de crecimiento
exponencial

*Xt= concentración de células al tiempo t

*Xo= concentración de células en el tiempo cero

$$y = m * x + b \quad \text{[AIII.1]}$$

$$\ln \frac{X_t}{X_o} = 0,1333 * \text{tiempo} + 14,597 \quad R^2 = 0,97212 \quad \text{[AIII.2]}$$

Para el cálculo de la velocidad específica de crecimiento, se analiza la correspondencia entre la Ecuación [1.4] y la Ecuación [AIII.2], entonces el valor de $\mu = 0,1333 \text{ h}^{-1}$

Para el cálculo del tiempo de duplicación se aplica la Ecuación [1.6]

$$t_d = \frac{\ln 2}{0,1333} = 5,20 \text{ h}$$

Tabla AIII. 3. Datos obtenidos para la regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial. Medio: efluente de cianuración. Concentración de ácido láctico 2,5%

Tiempo (h)	FC2: 2,5 % bact/mL	Ln(Xt/Xo)	
0	0,00	0,00	
2	0,00	0,00	
4	0,00	0,00	
6	0,00	0,00	
8	16 900,00	18,95	18,95
10	23 050,00	19,26	19,26
12	32 820,00	19,61	19,61
14	69 180,00	20,35	20,35
16	107 020,00	20,79	20,79
18	127 530,00	20,97	20,97
20	271 500,00	21,72	21,72
22	327 200,00	21,91	21,91
24	1 070 220,00	23,09	23,09
26	1 275 280,00	23,27	23,27
28	2 158 990,00	23,80	23,80
30	2 305 460,00	23,86	23,86
32	2 305 450,00	23,86	
34	2 305 440,00	23,86	
36	2 305 440,00	23,86	
38	2 305 430,00	23,86	
40	2 305 440,00	23,86	
42	2 305 440,00	23,86	
44	2 305 420,00	23,86	
46	2 305 440,00	23,86	
48	2 305 410,00	23,86	

Zona de crecimiento exponencial

*Xt= concentración final de células

*Xo= concentración inicial de células

$$y = m * x + b \quad \text{[AIII.3]}$$

$$\ln \frac{X_t}{X_o} = 0,2419 * \text{tiempo} + 16,869 \quad R^2 = 0,98565 \quad \text{[AIII.4]}$$

Para el cálculo de la velocidad específica de crecimiento, se analiza la correspondencia entre la Ecuación [1.4] y la Ecuación [AIII.4], entonces el valor de $\mu = 0,2419 \text{ h}^{-1}$

Para el cálculo del tiempo de duplicación se aplica la Ecuación [1.6]

$$t_d = \frac{\ln 2}{0,2419} = 2,87 \text{ h}$$

Tabla AIII. 4. Datos obtenidos para la regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial. Medio: efluente de cianuración. Concentración de ácido láctico 5,0%

Tiempo (h)	FC3: 5,0 % bact/mL	Ln(Xt/Xo)	
0	0,00	0,00	
2	0,00	0,00	
4	0,00	0,00	
6	10 700,00	18,49	18,49
8	12 750,00	18,66	18,66
10	21 590,00	19,19	19,19
12	23 050,00	19,26	19,26
14	32 820,00	19,61	19,61
16	69 180,00	20,35	20,35
18	107 020,00	20,79	20,79
20	169 020,00	21,25	21,25
22	271 500,00	21,72	21,72
24	312 250,00	21,86	21,86
26	492 240,00	22,32	22,32
28	781 270,00	22,78	22,78
30	1 690 280,00	23,55	23,55
32	1 690 260,00	23,55	
34	1 690 230,00	23,55	
36	1 690 250,00	23,55	
38	1 690 220,00	23,55	
40	1 690 200,00	23,55	
42	1 691 900,00	23,55	
44	1 690 210,00	23,55	
46	1 690 260,00	23,55	
48	1 690 270,00	23,55	

Zona de crecimiento exponencial

*Xt= concentración final de células

*Xo= concentración inicial de células

$$y = m * x + b \quad \text{[AIII.5]}$$

$$\ln \frac{X_t}{X_o} = 0,2099 * \text{tiempo} + 16,978 \quad R^2 = 0,98857 \quad \text{[AIII.6]}$$

Para el cálculo de la velocidad específica de crecimiento, se analiza la correspondencia entre la Ecuación [1.4] y la Ecuación [AIII.6], entonces el valor de $\mu = 0,2099 \text{ h}^{-1}$

Para el cálculo del tiempo de duplicación se aplica la ecuación [1.6]

$$t_d = \frac{\ln 2}{0,2099} = 3,30 \text{ h}$$

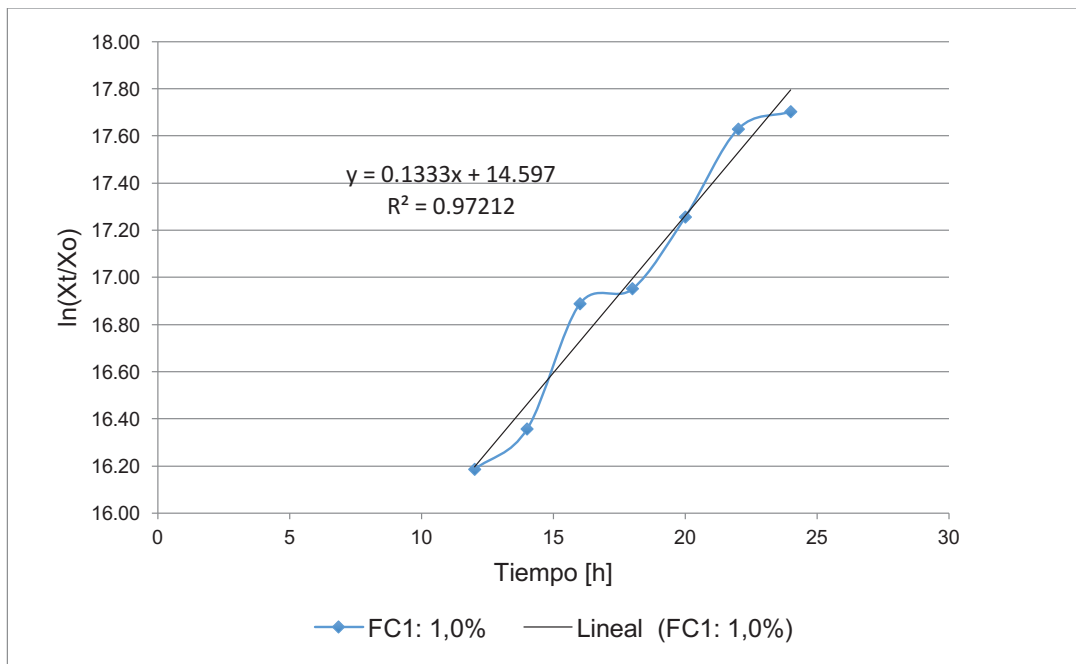


Figura AIII. 1 Regressão linear na zona de crescimento exponencial para uma concentração de ácido láctico FC1: 1,0 %

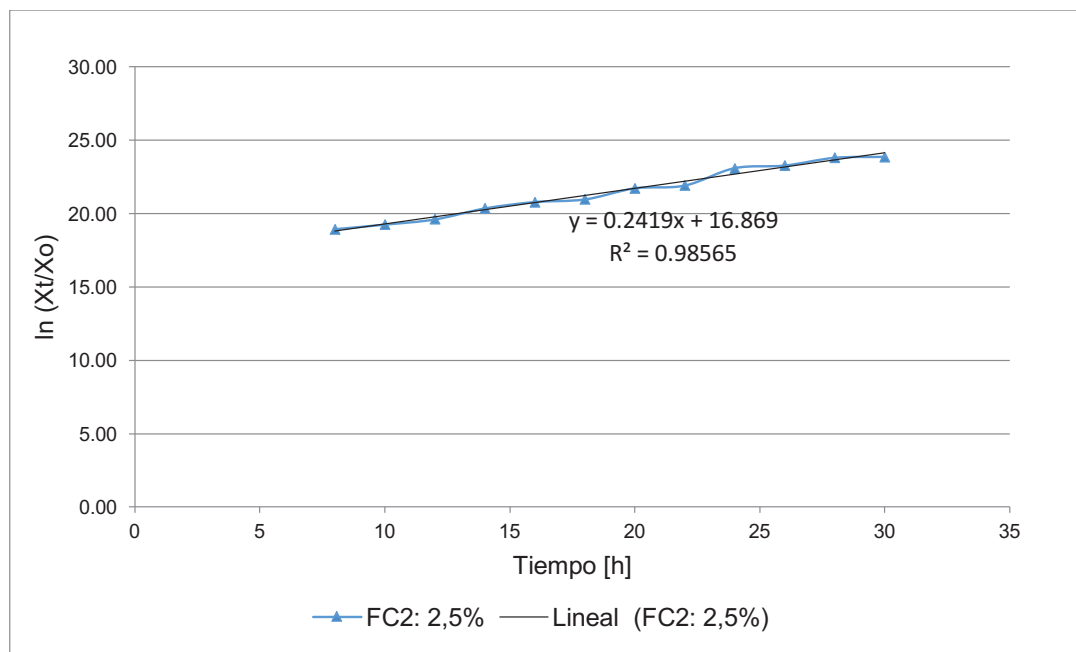


Figura AIII. 2. Regressão linear na zona de crescimento exponencial para uma concentração de ácido láctico FC2: 2,5 %

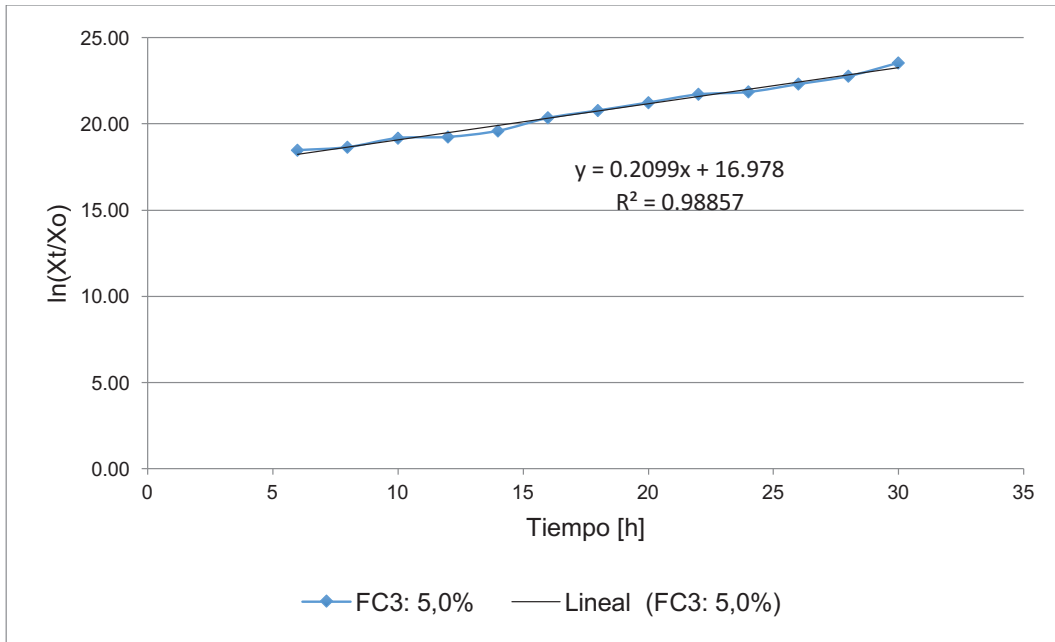


Figura AIII. 3. Regresión lineal en la zona de crecimiento exponencial para una concentración de ácido láctico FC3: 5,0 %

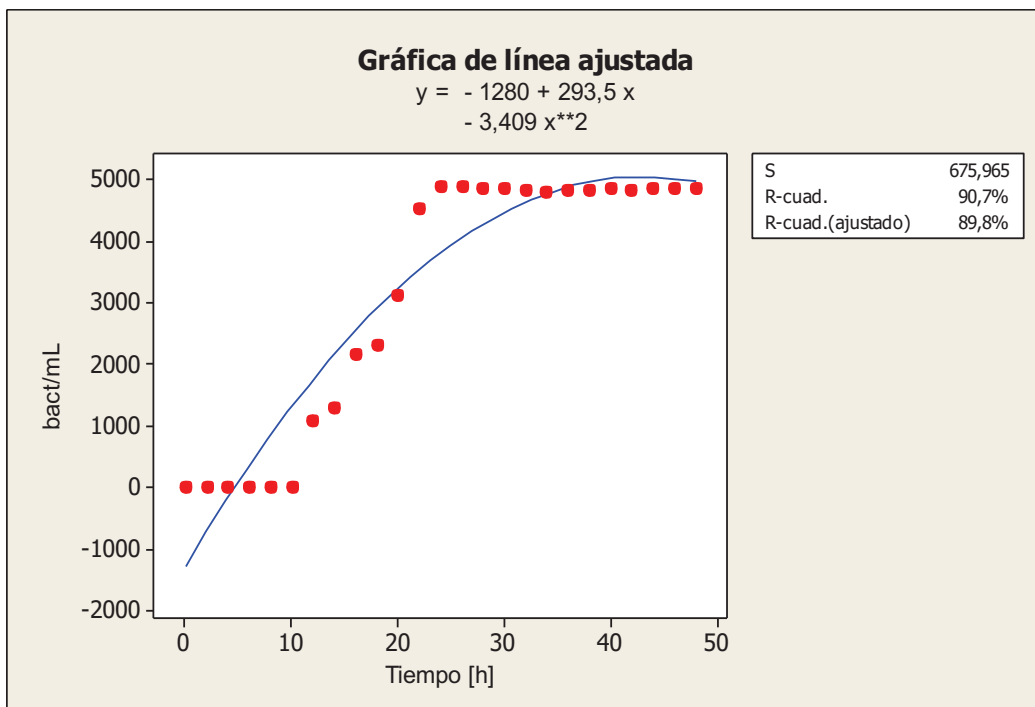


Figura AIII. 4. Gráfica de línea ajustada para la prueba FC1 (C.A: 1,0 %), regresión cuadrática

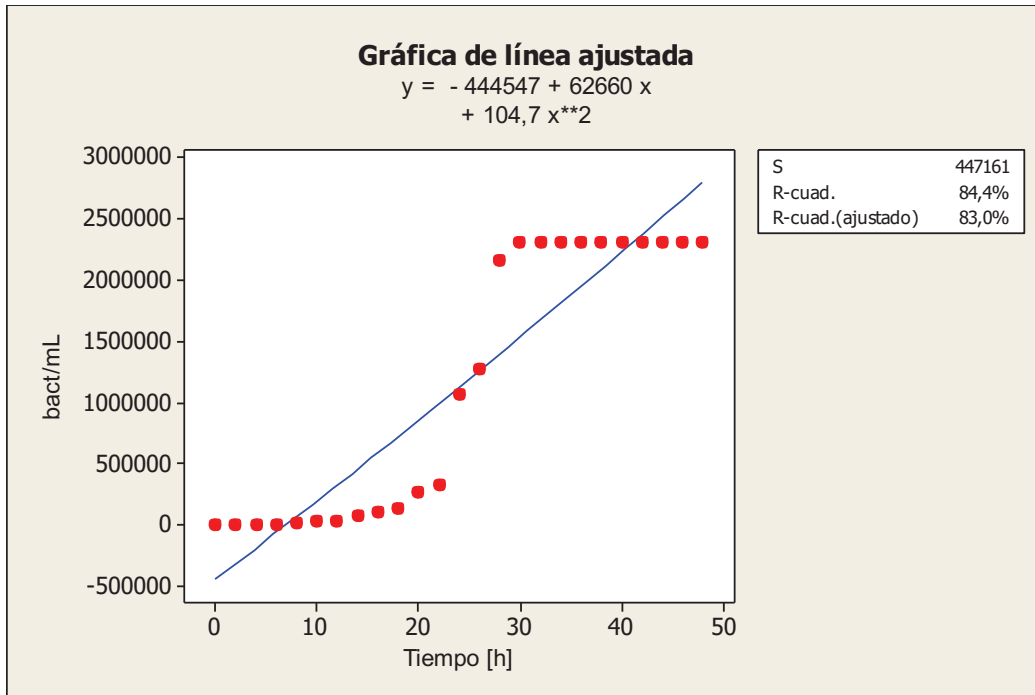


Figura AIII. 5. Gráfica de línea ajustada para la prueba FC2 (C.A: 2,5 %), regresión cuadrática

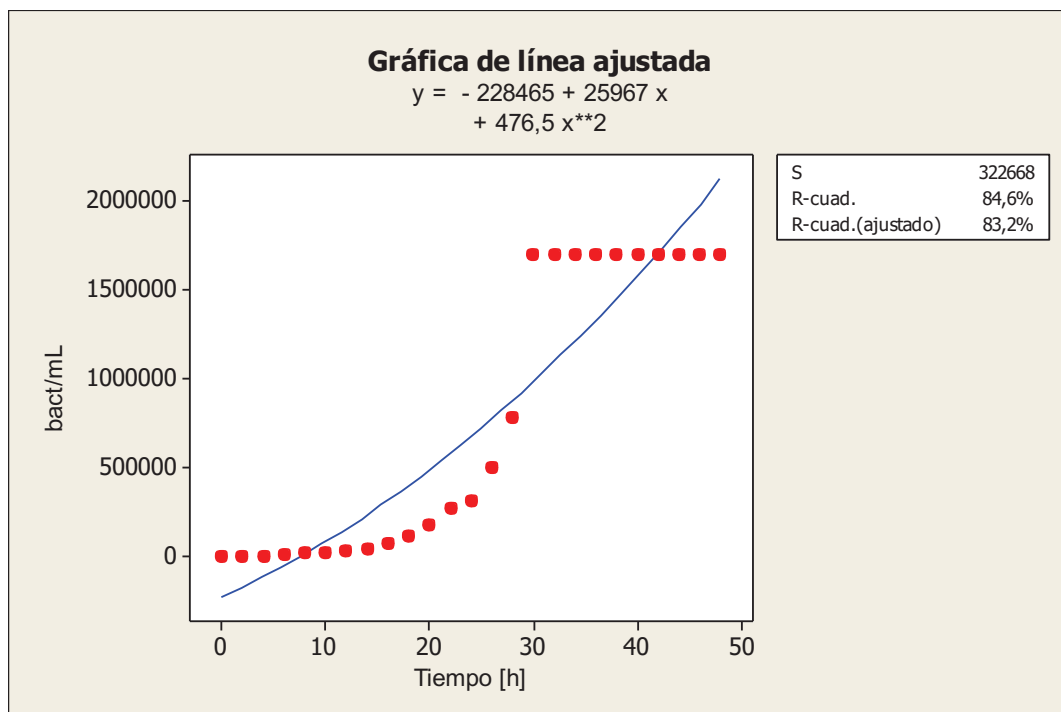
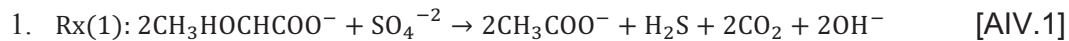


Figura AIII. 6. Gráfica de línea ajustada para la prueba FC3 (C.A: 5,0 %), regresión cuadrática

ANEXO IV

**FORMULACIÓN DE LAS ECUACIONES DE DISEÑO DEL
REACTOR BATCH DE 22 m³**

Reacción de reducción de sulfato:



Balance de masa:

Células:

$$E - S + G = A \quad [\text{AIV.2}]$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Velocidad con} \\ \text{que} \\ \text{entran células} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{l} \text{Velocidad con} \\ \text{que salen} \\ \text{células} \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} \text{Velocidad neta} \\ \text{de generación} \\ \text{de células vivas} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{Velocidad de} \\ \text{acumulación} \\ \text{de células} \end{array} \right\} \quad [\text{AIV.3}]$$

Para un reactor batch la entrada y la salida es cero, entonces:

$$V \frac{dC_{cel}}{dt} = (r_g - r_d) * V \quad [\text{AIV.4}]$$

Para un volumen constante:

$$\frac{dC_{cel}}{dt} = (r_g - r_d) \quad [\text{AIV.5}]$$

Donde r_g y r_d corresponden a las leyes de velocidad del crecimiento celular y velocidad de la muerte de las células respectivamente:

$$r_g = \mu * C_c \quad [\text{AIV.6}]$$

$$r_d = C_{cel} * K_d \quad [AIV.7]$$

Reacción de precipitación de sulfuros metálicos:



Se presenta el balance de masa para un sistema batch:

$$E - S + G = A \quad [AIV.9]$$

Para un reactor batch la entrada y la salida es cero, entonces:

$$-r_B * V = \frac{dN_B}{dt} \quad [AIV.10]$$

Para un volumen constante:

$$\frac{dC_B}{dt} = -r_B \quad [AIV.11]$$

Donde r_B corresponde a la ley de velocidad de desaparición del hierro, se considerará que la cinética de crecimiento bacteriano presenta la misma cinética para la reacción de precipitación de metales pesados (Fe) (del Castillo, R., 1993, p.23), entonces:

$$\frac{dC_B}{dt} = -r_B = r_g \quad [AIV.12]$$

Por tanto las ecuaciones necesarias para el diseño del reactor batch son las que se presentan de la AIV.13 - AIV.17:

$$\frac{dC_{cel}}{dt} = (r_g - r_d) \quad [AIV.13]$$

$$\frac{dC_B}{dt} = -r_B = r_g \quad [AIV.14]$$

En la ecuación [AIV.13] se reemplaza las ecuaciones [1.6] y [1.7], entonces:

$$\frac{dC_{cel}}{dt} = (\mu * C_c) - (k_d * C_c) \quad \text{[AIV.15]}$$

Reordenando términos en la ecuación [AIV.15] se tiene:

$$\frac{dC_{cel}}{C_c} = (\mu - k_d) * dt \quad \text{[AIV.16]}$$

Y para la concentración de hierro se tiene:

$$\frac{dC_B}{C_B} = -(\mu - k_d) * dt \quad \text{[AIV.17]}$$

ANEXO V

DIMENSIONAMIENTO DEL REACTOR BATCH DE 22 m³

El volumen conceptual del reactor se estableció a partir del caudal de efluente de trabajo de la planta, además se consideró un factor de seguridad en el volumen del reactor del 20 %.

$$\text{Volumen de seguridad} = 22 \text{ m}^3 \times 0,2 = 4,40 \text{ m}^3$$

$$\text{Volumen total del reactor} = 26,40 \text{ m}^3$$

Para el cálculo del diámetro y altura del reactor se tomó una relación 1:1,5, con esta relación se tiene mayor área de contacto:

$$H = 1,5D \quad \text{[AV.1]}$$

El volumen de un cilindro es:

$$V = \frac{\pi D^2 H}{4} \quad \text{[AV.2]}$$

donde:

V= volumen del cilindro, m³

H= altura, m

D= diámetro, m

Reemplazando la Ecuación [AV.1] en [AV.2] se tiene la Ecuación [AV.3]:

$$D = \sqrt[3]{\frac{4V}{1,5\pi}} \quad \text{[AV.3]}$$

Reemplazando los valores tenemos:

$$D = \sqrt[3]{\frac{4(26,40)}{1,5\pi}} = 2,82 \text{ m}$$

Para encontrar el valor de la altura H se emplea la ecuación [AV.1]:

$$H = 1,5 \times (2,82) = 4,23 \text{ m}$$

Determinación de la cantidad de calor requerida para el calentamiento

Se tiene un volumen de trabajo de 22 m^3 a una temperatura inicial de $28 \text{ }^\circ\text{C}$ y se requiere llegar a una temperatura de reacción de $35 \text{ }^\circ\text{C}$, para calcular el calor necesario para incrementar la temperatura se emplea la ecuación [AV.4]:

$$Q = m * C_p * \Delta T \quad \text{[AV.4]}$$

donde:

Q= calor requerido, J

m= masa del líquido, kg

C_p= calor específico del líquido, J/kg*K

ΔT= variación de la temperatura, K

Para calcular la masa de líquido a calentar se parte del volumen de trabajo establecido y mediante el uso de la densidad se calcula su masa.

$$m_{liq} = 22\text{m}^3 * \frac{10^3\text{kg}}{\text{m}^3} = 22 * 10^3\text{kg}$$

Reemplazando datos en la ecuación [AV.4] se tiene:

$$Q = 22 * 10^3 \text{kg} * 4186 \frac{\text{J}}{\text{kg} * \text{K}} * (35 - 28) \text{K}$$

$$Q = 6,45 * 10^8 \text{ J} * \frac{1 \text{ kJ}}{10^3 \text{ J}} * \frac{1}{75 \text{ horas}} * \frac{1 \text{ horas}}{60 \text{ min}} * \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ seg}}$$

$$\dot{Q} = 2,39 \text{ kW}$$

ANEXO VI

ESTIMACIÓN DE COSTOS DEL DISEÑO DEL REACTOR BATCH DE 22 m³

Costo de servicios industriales

Consumo energético del calefactor de inmersión cilíndrico esta dado por la Ecuación [AVI.1]

$$\text{Costo}_1 = 4,5 \frac{\text{kW}}{\text{lote}} * \frac{0,10 \text{ USD}}{\text{kW.h}} * 75 \text{ h} = 33,75 \frac{\text{USD}}{\text{lote}} \quad [\text{AVI.1}]$$

Costo de material de construcción del reactor batch

El material de construcción seleccionado para el reactor batch fue acero AISI 316, de catálogos se seleccionó planchas de este acero de medidas 3,00 x 3,00 m de espesor 3,0 mm. Para las dimensiones establecidas para el reactor batch se requiere de 3 planchas, el precio de cada plancha es de 506,00 USD

$$\text{Costo}_2 = 3 \text{ planchas de acero AISI 316} * \frac{506,00 \text{ USD}}{1 \text{ plancha}} = 1 518,00 \text{ USD} \quad [\text{AVI.2}]$$

$$\text{Costo}_{\text{total}} = \text{Costo}_1 + \text{Costo}_2 = 33,75 + 1 518 = 1 551,75 \text{ USD} \quad [\text{AVI.3}]$$