

**UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN**  
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA  
Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental



**Tratamiento de efluentes minero metalúrgicos mediante  
oxidación bacteriana en la Empresa Administradora Cerro  
S.A.C., Cerro de Pasco**

Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

**Autor:**

Melissa Milagros Cóndor Misari

**Asesor:**

Mg. Milda Amparo Cruz Huaranga

Lima, diciembre 2023

## DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, Milda Amparo Cruz Huaranga, docente de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que la presente investigación titulada: **“TRATAMIENTO DE EFLUENTES MINERO METALÚRGICOS MEDIANTE OXIDACIÓN BACTERIAL EN LA EMPRESA ADMINISTRADORA CERRO S.A.C., CERRO DE PASCO”** del autor Melissa Milagros Cóndor Misari tiene un índice de similitud de 9% verificable en el informe del programa Turnitin, y fue realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponde ante cualquier falsedad u omisión de los documentos como de la información aportada, firmo la presente declaración en la ciudad de Lima, a los 6 días del mes de febrero del año 2024



---

Milda Amparo Cruz Huarang

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Lima, Ñaña, Villa Unión, a los **27 días** día(s) del mes de **diciembre** del año 2023 siendo **las 09:30 horas**, se reunieron en modalidad virtual u online sincrónica, bajo la dirección del Señor Presidente del jurado: **Mg. Jackson Edgardo Pérez Carpio**, el secretario: **Mg. Joel Hugo Fernández Rojas**, y los demás miembros: **Ing. Cesar Asbel Aranda Castillo** y el **Ing. Orlando Alan Poma Porras**, y el asesor **Mg. Milda Amparo Cruz Huaranga**, con el propósito de administrar el acto académico de sustentación de la tesis titulada: "Tratamiento de efluentes minero metalúrgicos mediante oxidación bacteriana en la Empresa Administradora Cerro S.A.C., Cerro de Pasco"

de el(los)/la(las) bachiller/es: a) **MELISSA MILAGROS CÓNDOR MISARI**

.....b)

conducente a la obtención del título profesional de **INGENIERO AMBIENTAL**

(Nombre del Título profesional)

con mención en.....

El Presidente inició el acto académico de sustentación invitando al (los)/a(la)(las) candidato(a)s hacer uso del tiempo determinado para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente invitó a los demás miembros del jurado a efectuar las preguntas, y aclaraciones pertinentes, las cuales fueron absueltas por el(los)/la(las) candidato(a)s. Luego, se produjo un receso para las deliberaciones y la emisión del dictamen del jurado.

Posteriormente, el jurado procedió a dejar constancia escrita sobre la evaluación en la presente acta, con el dictamen siguiente:

Candidato (a): ..... **MELISSA MILAGROS CÓNDOR MISARI** .....

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
<b>APROBADO</b>	<b>18</b>	<b>A-</b>	<b>Muy Bueno</b>	<b>Sobresaliente</b>

Candidato (b): .....

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
	<b>18</b>	<b>A-</b>	<b>Muy Bueno</b>	<b>Sobresaliente</b>

(\*) Ver parte posterior

Finalmente, el Presidente del jurado invitó al(los)/a(la)(las) candidato(a)s a ponerse de pie, para recibir la evaluación final y concluir el acto académico de sustentación procediéndose a registrar las firmas respectivas.

\_\_\_\_\_  
Presidente  
Mg. Jackson Edgardo  
Pérez Carpio

\_\_\_\_\_  
Secretario  
Mg. Joel Hugo  
Fernández Rojas

\_\_\_\_\_  
Asesor  
Mg. Milda Amparo  
Cruz Huaranga

\_\_\_\_\_  
Miembro  
Ing. Cesar Asbel  
Aranda Castillo

\_\_\_\_\_  
Miembro  
Ing. Orlando Alan  
Poma Porras

\_\_\_\_\_  
Candidato/a (a)  
Melissa Milagros  
Córdor Misari

\_\_\_\_\_  
Candidato/a (b)

# **Tratamiento de efluentes minero-metalúrgicos mediante oxidación bacterial en la Empresa Administradora Cerro S.A.C., Cerro de Pasco**

Melissa M. Córdor Misari <sup>1</sup>, Milda Cruz <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escuela Profesional de Ingeniería, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Peruana Unión, Lima, Perú.

## **Resumen**

El tratamiento de efluentes minero-metalúrgicos mediante oxidación bacteriana es una estrategia efectiva utilizada para reducir la toxicidad y la concentración de metales pesados en los efluentes generados por la industria minera y metalúrgica. Este enfoque contribuye a minimizar el impacto ambiental de la industria y garantizar el cumplimiento de las regulaciones ambientales. El presente tiene como objetivo oxidar los efluentes tóxicos, de los efluentes de la industria minero-metalúrgica, para ello se utilizó el *Thiobacillus ferrooxidans*. Teniendo en consideración su capacidad de oxidar compuestos inorgánicos, como el hierro, el azufre y su utilidad en la biooxidación de minerales y la reducción de la concentración de metales pesados en los efluentes. En principio se realizó la adaptación de las cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* proveniente de las aguas ácidas de la Empresa Administradora Cerro SAC, al cual se proporcionó los sustratos adecuados, como sulfuros o compuestos de hierro en el medio 9K, con la finalidad de encontrar un medio óptimo, para el cultivo, logrando aumentar la población bacteriana de cepa *Thiobacillus ferrooxidans* y la supervivencia de las bacterias, con resultados satisfactorios.

**Palabras claves:** *Thiobacillus Ferrooxidans, oxidación bacterial, aguas ácidas de mina, tratamiento de agua, efluentes.*

**Abstract:**

The treatment of mining-metallurgical effluents by bacterial oxidation is an effective strategy used to reduce the toxicity and concentration of heavy metals in the effluents generated by the mining and metallurgical industry. This approach helps minimize the industry's environmental impact and ensure compliance with environmental regulations. The present objective is to oxidize the toxic effluents from the effluents of the mining-metallurgy industry, for this *Thiobacillus ferrooxidans* was used. Taking into account its ability to oxidize inorganic compounds, such as iron, sulfur and its usefulness in the biooxidation of minerals and the reduction of the concentration of heavy metals in effluents. In principle, the adaptation of the strains of *Thiobacillus ferrooxidans* from the acidic waters of the Cerro SAC Administration Company was carried out, to which the appropriate substrates were provided, such as sulfides or iron compounds in the 9K medium, with the purpose of finding a medium. suitable for cultivation, increasing the bacterial population of the *Thiobacillus ferrooxidans* strain and the survival of the bacteria, with satisfactory results.

**Keywords:** *Thiobacillus Ferrooxidans, bacterial oxidation, acid mine water, water treatment, effluents.*

## **1. Introducción**

Una de las actividades industriales como la minería es la que utiliza gran cantidad de agua para el desarrollo de sus procesos y operaciones, generando Drenajes Ácidos de Mina (DAM) siendo uno de los retos ambientales más significativos asociados con la industria minera. Los DAM son aguas ácidas y contaminadas que se producen cuando minerales sulfurados expuestos al aire y al agua se oxidan, liberando ácido sulfúrico y metales pesados en el proceso. Esto puede tener un impacto negativo en los cuerpos de agua circundantes y en el medio ambiente en general. En todo proyecto minero, ya sea de explotación o de extracción, se deben considerar los medios indispensables para el control de los vertidos así como las medidas de prevención de la contaminación de las aguas durante las fases de explotación del yacimiento, tratamiento y cierre de mina posterior.

Los efluentes mineros contienen elementos contaminantes en suspensión, como el cobre, hierro, zinc, arsénico y otros; estos contaminantes generan grandes problemas ambientales en todo el país. Por esta razón se desarrollan nuevas tecnologías para eliminar o minimizar las concentraciones de dichos metales. Los efluentes mineros contienen elementos contaminantes en suspensión, como el cobre, hierro, zinc, arsénico y otros; estos contaminantes generan grandes problemas ambientales en todo el país. Por esta razón se desarrollan nuevas tecnologías para eliminar o minimizar las concentraciones de dichos metales. Tal es el caso de la investigación realizada por Y. Reyes et. al, (2016), investigo y dijo que la contaminación ambiental es uno de los problemas más importantes que afectan a la sociedad en el siglo XXI. La pérdida de calidad del aire, de recursos hídricos y de suelo disponible para la actividad agrícola esta aumentando exponencialmente.

La empresa Administradora Cerro SAC, para tratar sus aguas acidas dispone de la “Planta de Neutralización”, donde utilizan como insumo la cal, siendo su costo de tratamiento muy elevado. Estas soluciones acidas de depositos metálicos contienen residuos de minerales

sulfurados como piritita ( $\text{FeS}_2$ ), calcopiritita ( $\text{CuFeS}_2$ ) (Moodley et al., 2018). Cuando estos minerales entran en contacto con el agua, el oxígeno y microorganismos, forman lixiviados llamados drenaje ácido de mina (DAM) (Wang et al., 2021).

El DAM, es una contaminación compleja y multifactorial que resulta de interacciones químicas, físicas y biológicas que ocurren en las condiciones ambientales de las minas abandonadas y activas (Ighalo y Eletta, 2020). Cuando el agua alcanza cierto grado de acidez, aparece una bacteria común llamada “Thiobacillus Ferroxidans”, que acelera el proceso de oxidación, acidificación y filtra aún más los elementos restantes (Price y Errington, 1998).

El microorganismo Thiobacillus ferrooxidans se encarga de disolver los elementos de los minerales. Son principalmente organismos quimiosintéticos y autótrofos del género Thiobacillus. Colmer y Hinkle demostraron su existencia en minas de carbón a principios de los años cincuenta, informa un alto contenido de ácido y hierro. (Simpson, 2014).

El Thiobacillus ferrooxidans es un bacilo negativo con un tamaño de 0,5 a 1,7  $\mu$ . Algunas cepas tienen flagelos y pueden oxidar compuestos inorgánicos como iones de hierro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) y azufre como principal fuente de energía. El carbono necesario para su estructura celular se obtiene fijando dióxido de carbono, de forma similar a las plantas verdes (ciclo de Calvin-Benson). Es aeróbico (requiere  $\text{O}_2$  como aceptor final de electrones), acidófilo (crece en un rango de pH de 1,5 a 3,0) y crece en un rango de temperatura de 25 a 35 °C. Se cree que contribuye de manera importante a la producción de agua ácida a partir de depósitos de metales sulfurados debido a su capacidad para oxidar el mineral de piritita para formar una solución ácida de sulfato de hierro. (Simpson, 2014)

## **2. Metodología**

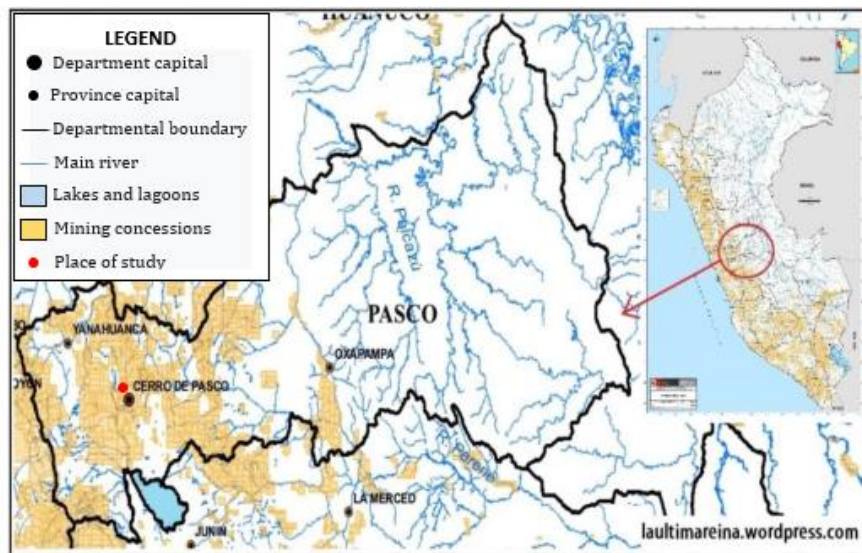
### **2.1 Lugar de ejecución**

El proyecto de investigación se realizó en la ciudad de Cerro de Pasco, distrito de Simón Bolívar, provincia y departamento de Pasco, capital minera del Perú, ubicado a 4380 msnm, a

310 km al este de la ciudad de Lima, las muestras se tomaron de los efluentes de la empresa Administradora Cerro SAC, productora de concentrados plomo, zinc y plata. La parte experimental con las bacterias se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad Nacional Daniel A. Carrión, Pasco.

**Figura 1**

*ubicación de la zona de estudio*



Fuente: *laultimareina.wordpress.com*. 2020

### Ubicación del punto de muestreo

**Tabla 1**

*Punto de muestreo*

ESTACION	UBICACION	ORIGEN	CUERPO RECEPTOR	COORDENADAS	
				NORTE	ESTE
204	Aguas neutras de mina	Agua de mina	Riachuelo de la ciudad	N 8819907	E 0361762

El punto de recolección de la muestra se realizó en las cercanías de la estación 204, aguas neutras de mina, con origen agua de mina donde el cuerpo receptor fue el riachuelo de la ciudad, cuyas coordenadas UTM, N 88199007, E 0361762.

**Tabla 2***Toma de muestra*

Tomas de muestra	Hora	Cantidad L
1	8.00 am	1
2	9.00 am	1
3	10.00 am	1
4	11.00 am	1
5	12.00 pm	1
6	1.00 pm	1

**Preparación del medio de cultivo 9K**

Se efectuarán los cultivos de bacterias utilizando las muestras de agua de mina que en forma natural contiene bacterias del tipo *Thiobacillus ferrooxidans*. este medio de cultivo que se considera es el 9K donde está compuesto por dos soluciones a (80%) y (20%). las bacterias requieren de  $Fe^{+2}$ ,  $S^{\circ}$ , y  $S_2O_3^{-2}$  como fuentes de energía.

La solución A en volumen de 500 ml, se disolvió en 1 L de agua destilada ( $p/p = 80\%$ ), posteriormente se reguló el pH de la solución en el rango de 2.0 – 3.0 con solución de ácido sulfúrico al 97%. Finalmente, la solución A se ingreso al autoclave para ser esterilizada. Luego se preparó la solución B la cual estuvo compuesta de 33.3 g de  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , disueltos en 200 ml de agua destilada acidificada con acido sulfurico hasta alcanzar un pH entre 1.5 – 2, con la finalidad de evitar la oxidación del Fe. Las bacterias se incubó a 30 °C, y en oscuridad durante 20 días.

## Preparación de las muestras

Solución A

**Tabla 3**

*Preparación de la solución A*

Compuesto	Concentración	Preparación
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3 M	90.5 g en 500 ml de solución
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	3 M	81.64 g en 500 ml de solución
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3M	147.0 g en 500 ml de solución

Solución B

**Tabla 4**

*Preparación de la solución B*

Compuesto	Concentración	Preparación
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3 M	33.3 g en 200 ml de solución

## Condiciones de cultivo

El medio de cultivo se preparó en una celda de 1 1/2L, se vertió 75mL de DAM y 675 mL de medio de cultivo 9k, luego se procedió a la agitación a 180 rpm y a temperatura de 35 °C mediante un agitador magnético; la oxigenación se hizo a 3L/min, suministrado por un aireador.

## Crecimiento bacteriano

El crecimiento bacteriano se realiza en cuatro fases, se describe a continuación:

**Fase de latencia:** Hay aumento de los componentes macromoleculares y de la actividad metabólica, casi sin división celular, asociado a un incremento de la susceptibilidad a los

agentes físicos y químicos. Por lo tanto, la mal llamada fase de latencia implica intensa actividad metabólica.

**Fase exponencial:** Las células se dividen a velocidad constante, determinada por la naturaleza intrínseca de la bacteria y por las condiciones del medio. Existe gran aumento del número total de células viables, que puede ser expresado en forma exponencial (Varela, Grotiuz, 2008).

**Fase estacionaria:** Eventualmente el agotamiento de los nutrientes o la acumulación de productos tóxicos determina el cese del crecimiento. Hay pérdida de células por muerte, la cual es balanceada por la formación de nuevas células (Varela, Grotiuz, 2008).

**Fase de muerte:** Luego de la fase estacionaria, la tasa de muerte se incrementa, el número de bacterias viables disminuye rápidamente, por lo tanto, la curva de crecimiento declina.

Las características de la curva de crecimiento pueden variar, dependiendo de las características propias del microorganismo, del estado metabólico del inóculo, del medio de cultivo y de las condiciones de incubación (Varela, Grotiuz, 2008).

### **Monitoreo del potencial Redox, pH**

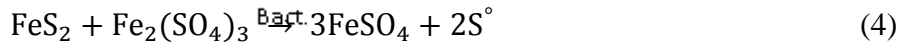
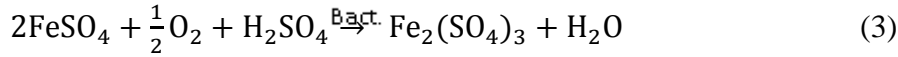
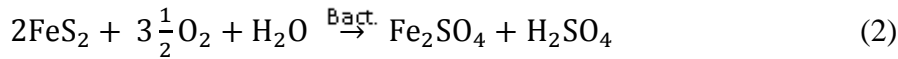
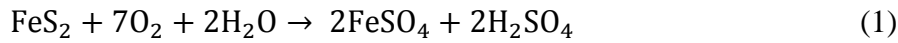
La característica quimiolitotrófica del *Thiobacillus ferrooxidans* es un indicador determinante en la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  (Misari, 2016; Drobner et al., 1990).

### **Monitoreo de parámetros fisicoquímicos**

Para el monitoreo de los parámetros fisicoquímicos como son: Potencial redox (ORP), temperatura y pH se utilizó el Multiparámetro Phoenix EC-10

### **Reacciones**

Consideramos las siguientes reacciones para preparar las soluciones y observar la oxidación de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ .



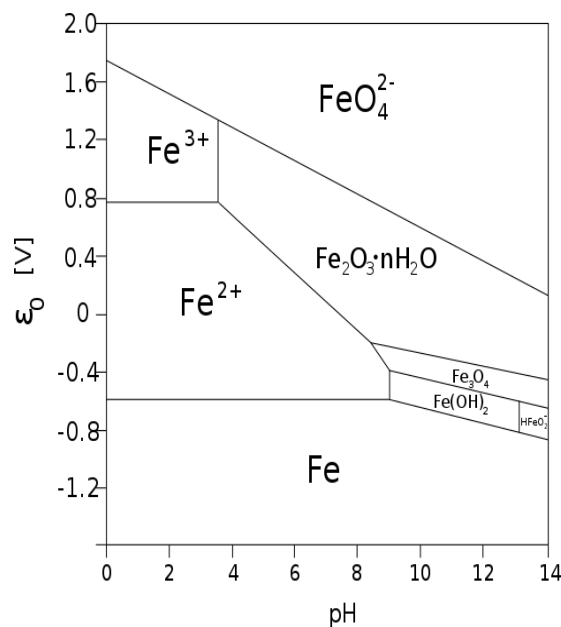
### Diagrama de Pourbaix del Hierro

Un diagrama de Pourbaix es una representación gráfica del potencial (ordenada) en función del pH (abscisa) para un metal dado, bajo condiciones termodinámicas estándar (usualmente agua a 25 °C). El diagrama tiene en cuenta los equilibrios químicos y electroquímicos, define el dominio de estabilidad para el electrólito (normalmente agua), el metal y los compuestos relacionados, por ejemplo, óxidos, hidróxidos e hidruros (Takeno, 2005).

Para el caso del Hierro en la Figura 2 se ve el diagrama de Pourbaix para un sistema metal-agua, como es el caso del sistema Hierro-agua a 25 °C. En dicho diagrama se observa las regiones de estabilidad termodinámica de las especies de Hierro en agua.

**Figura 2**

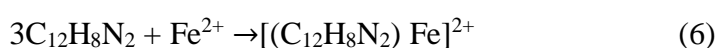
*Diagrama de Pourbaix del Hierro*



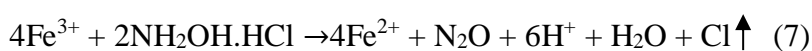
## Determinación de Fe<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup>

Para la determinación del Fe<sup>2+</sup> se utilizó el método de la Fenantrolina (Garver K., et al. 2017) y la determinación del Fe<sup>3+</sup> se hizo por diferencia entre el Hierro total y Fe<sup>2+</sup>. Las concentraciones para la determinación del Fe<sup>2+</sup> se muestran en la tabla 5.

La determinación de hierro mediante la reacción del Fe<sup>2+</sup> con la o-fenantrolina (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub> compuesto orgánico) para formar un complejo de hierro rojo-naranja. La ecuación para la formación del complejo de hierro es:



Sin embargo, antes de que se forme el complejo de Fe<sup>2+</sup> colorido, todos los Fe<sup>3+</sup> presentes se deben reducir a Fe<sup>2+</sup>. La reducción se alcanza usando un exceso de clorhidrato de hidroxilamina:



**Tabla 5**

*Solución para la oxidación de Fe<sup>2+</sup>*

Compuesto	Concentración	Preparación
Acetato de amonio	1 M	10.9 g en 100 ml
Hidroxilamina Hidroclorada	10 % (m/v)	10 g en 100 ml de sol.
o-fenantrolina	1.0 % (m/v)	0.25 g en 250 ml de sol.
Fluoruro sódico	5 M	21 g en 100 ml de sol.
Solución estándar de Hierro	1mL=0.050mg Fe	Sulfato ferroso amoniacal 0.07 g + 2 ml ácido sulfúrico (97%), aforar a 1000 ml

## Control de pH

Es importante mantener el ajuste del pH del medio, para que ocurra un buen crecimiento de las bacterias con las que se hará la lixiviación metálica. Los microorganismos que participan en la oxidación bacteriana de los minerales sulfurados son acidófilos, esto quiere decir que son activos a un pH por debajo de 3.0, se considera un pH óptimo de crecimiento para el *Thiobacillus ferrooxidans* en el intervalo de 1.5 a 2.5 (Cabrera, I. 2015).

### 3. Resultados

#### Caracterización de la muestra

De las muestras tomadas en el campo se hizo un composito, con el fin de tener una muestra en común y realizar la caracterización, para preparar las condiciones del medio de cultivo a efecto de reproducir de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* de Pasco.

**Tabla 6**

*Caracterización de la muestra*

	lectura 1	lectura 2	lectura 3
pH	5.17	5.19	5.22
conductividad μS/cm	825	825	825
T °C	19	19	19
TDS mg/L	528	528	528

Fuente. Laboratorio de Asesoría y Consultoría “Andi”

Nota: En la Tabla 6 se aprecia los parámetros que intervienen en la oxidación del  $Fe^{2+}$ , el pH promedio es 5.19 y la temperatura de 19 °C, la conductividad eléctrica es de 825 μS/cm (micro siemens/cm). En el análisis se determinó que la muestra contiene 5.4 mg/L de  $Fe^{2+}$ , con la cual se pretende oxidar a  $Fe^{3+}$ . Estos parámetros ayudan alcanzar las condiciones del medio de cultivo para obtener un ambiente de las bacterias, generando el aumento o reproducción de las bacterias T.F.

## Monitoreo del cultivo 9K

El cultivo con el medio 9K modificado, se realiza durante un periodo de 20 días. Durante este tiempo, se registraron y controlaron varios parámetros diarios: Temperatura (T°), pH, Fe<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup>, los resultados se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7**

*Resumen de datos de medio de cultivo 9K*

Monitoreo del cultivo de las bacterias Thiobacillus ferrooxidans y Proceso de oxidación				
día	T°	pH	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>
1	31.0	2.4	5.4	1.0
2	31.3	2.4	5.4	1.0
3	31.8	2.6	5.2	1.1
4	32.0	3.0	5.2	1.3
5	32.5	3.5	5.1	1.3
6	32.7	4.1	5.0	1.5
7	33.0	3.9	4.9	1.7
8	34.0	3.8	4.5	1.8
9	34.2	4.1	4.3	2.0
10	34.9	4.5	4.1	2.2
11	35.0	4.8	4.0	2.5
12	35.0	5.2	3.5	2.8
13	35.0	4.6	3.2	3.1
14	34.0	4.3	3.0	3.3
15	34.8	3.9	2.8	3.3
16	34.6	3.8	2.6	3.6
17	34.1	3.4	2.4	3.8
18	34.5	3.2	2.0	4.2
19	34.9	3.0	1.8	4.4
20	34.8	3.5	1.5	4.8

Fuente: *Laboratorio de Asesoría y Consultoría "Andi"*

Nota. En la tabla 7, se muestra el control de Temperatura, el análisis de pH y la oxidación del Fe<sup>2+</sup>; además se observó que en los primeros 7 días no se logra una temperatura óptima para el crecimiento de las bacterias Thiobacillus ferrooxidans.

## **Análisis microbiológico**

### **Método del NMP**

Para el conteo de la cepa de las bacterias se usó el método de Numero más Probable (NMP) lo cual permite determinar el crecimiento bacteriano por día, cuyos resultados se muestran en la tabla 8,

**Tabla 8**

*Inoculo de bacterias*

Número de tubos positivos inoculando, 20 tubos	NMP/100 mL	Número de tubos positivos inoculando 20 tubos	NMP/100 mL
10 mL		10 mL	
1	3	11	39
2	3	12	64
3	5	13	70
4	8	14	75
5	8	15	120
6	12	16	160
7	14	17	180
8	16	18	210
9	20	19	240
10	23	20	300

Para determinar el NMP de cepa de bacterias se tomó una muestra de 10 mL por cada día, al observar los datos obtenidos, se ve el crecimiento bacteriano satisfactoriamente.

El índice de NMP/100 mL al 95 % de límite de confianza se obtiene el día 20, se extrae de la matriz muestras de la cepa en 5 tubos de 20 mL, a fin de hacer el conteo de la población de las bacterias, Tabla 9

**Tabla 9**

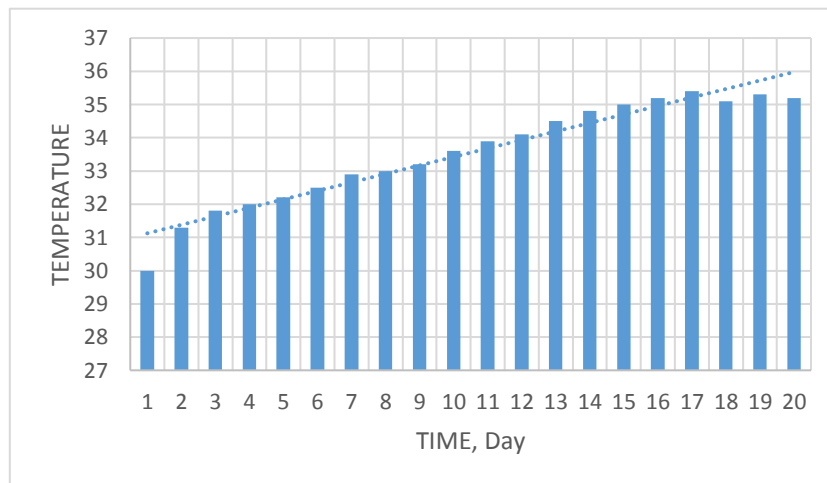
*Conteo de la Población de las bacterias*

# de tubos que dan reacción positiva en una serie de 5 tubos de 20 mL	NMP/100 mL	Límite de confianza del 95 %	
		Inferior	superior
1	12,0	3,1	21,1
2	16,1	4,3	27,1
3	23,0	5,9	36,8
4	23,0	8,1	59,5
5	28.5	13,5	Infinito

Respecto al control de temperatura, se observa en la siguiente figura 3.

### Figura 3

#### *Control de Temperatura*

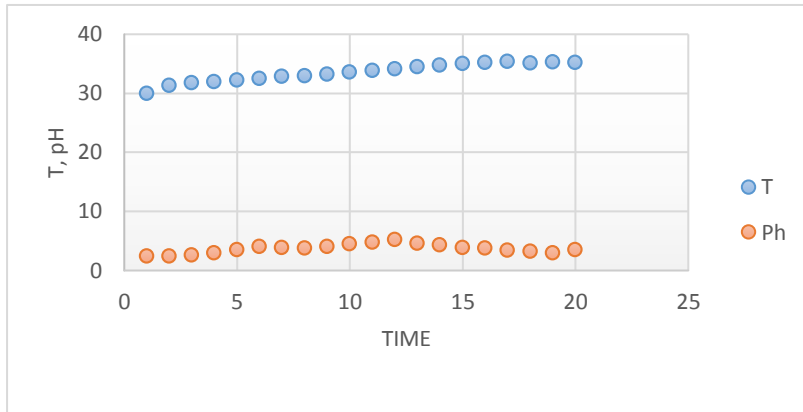


Nota. La T° para la supervivencia de la bacteria, hasta el día 17 se incrementó a 35.2°C, luego del 18 día empezó a disminuir la T° hasta el día 20.

De las pruebas se determinó que, para un mejor cultivo de bacterias es necesario que la temperatura se mantenga entre 30-35 °C, mientras que el pH óptimo para que las bacterias *Thiobacillus ferrooxidans* sobrevivan, es de 2.0 a 6.0, Dicho control se muestra en la figura 4.

### Figura 4

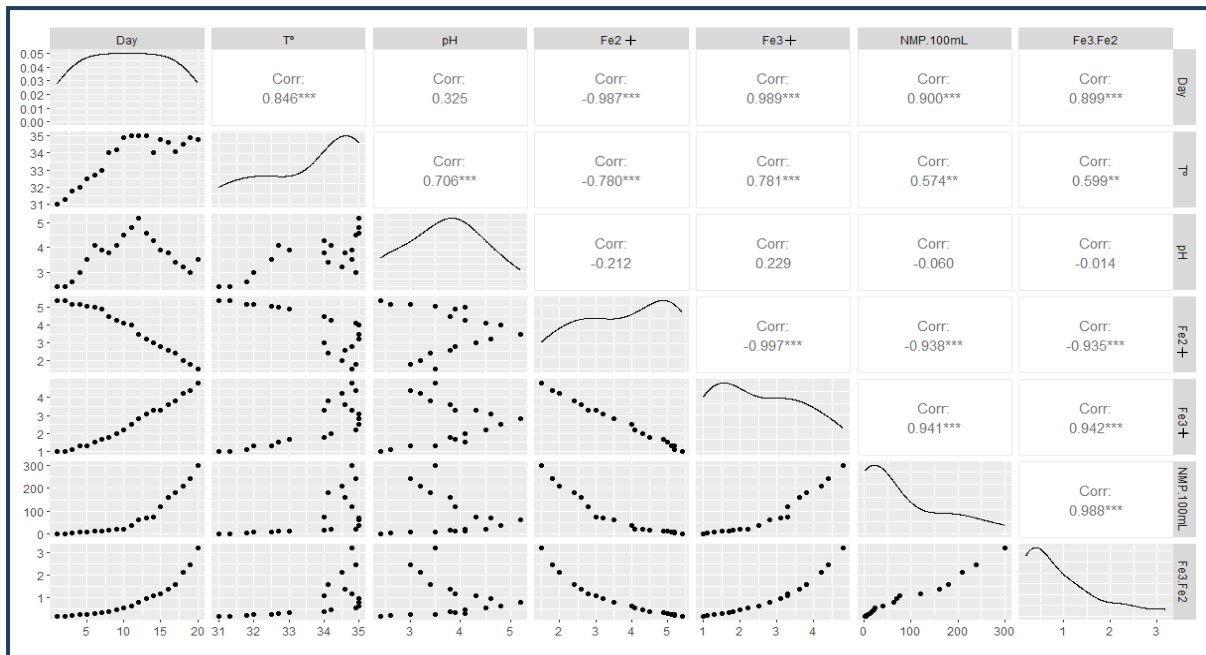
#### *Variación del pH en función de la Temperatura*



En la Figura 5 se presenta la correlación de las variables:  $T^\circ$ , pH,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ , NMP/100mL y  $Fe^{2+} / Fe^{3+}$

**Figura 5**

*Correlación de variables*



Nota: En la figura 5 se tiene en un primer momento las correlaciones de las variables de estudio, especialmente la de las acciones de las bacterias en la oxidación de  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ , Se puede apreciar que la concentración de  $Fe^{3+}$  va en aumento conforme transcurren los días, así como la concentración de  $Fe^{2+}$  disminuye conforme pasan los días.

Por otro lado, la correlación entre las variables dependientes  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  y Relación de la concentración de entre  $Fe^{3+}$  y  $Fe^{2+}$ , e independientes x Día, Temperatura, pH y el Numero más probable por cada 100 mL. son altamente correlacionados, y el único que brinda una casi nula correlación es la del pH, lo que indica que el pH tiene poca influencia en los resultados o se tiene que controlarlo de manera constante en el proceso.

**Regresión lineal múltiple entre la Relación de equilibrio entre  $Fe^{3+} / Fe^{2+}$**

Se obtuvo la ecuación siguiente:

$$\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+} = -1.58533876 + 0.01081340 \text{ NMP}/100\text{mL} + 0.08589071 \text{ pH} + 0.05101285 \text{ T}^\circ - 0.03558163 \text{ Day}$$

Cumpliendo el requisito de normalidad para el modelo con un p-value = 0.2605

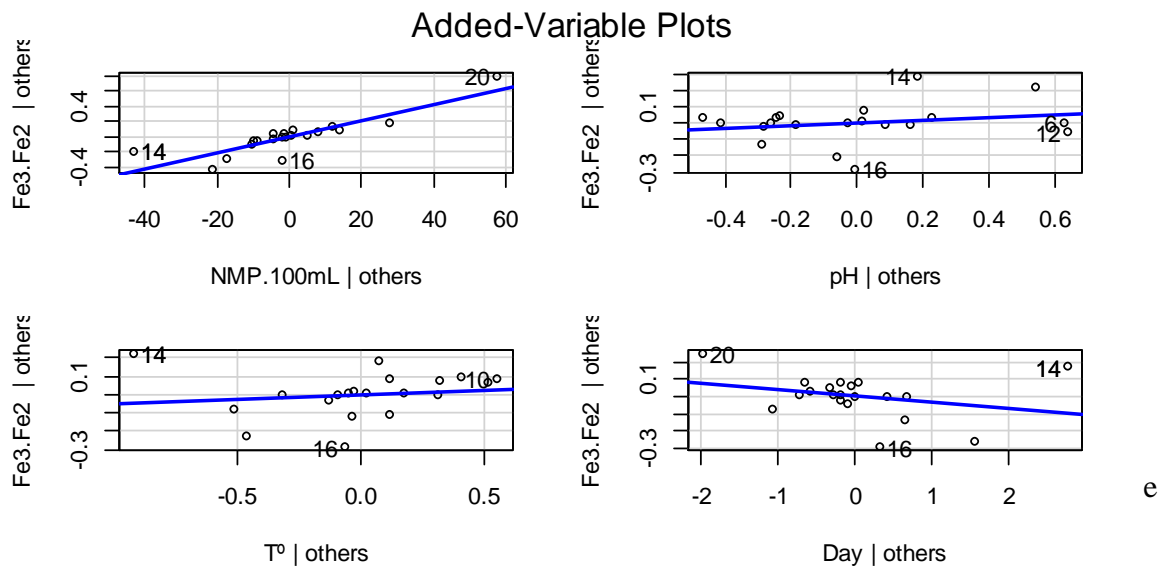
Al obtener el análisis de varianza se obtiene que el NMP/100ml es el que tiene el efecto significativo sobre la Relación de equilibrio entre  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ , con lo cual se corrobora que la influencia de los microorganismos bacteriales son las que influyen en la oxidación.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F Value	Pr(>F)
NMP.100mL	1	13.258	13.258	725.652	4.07e-14 ***
pH	1	0.028	0.028	1.552	0.232
T°	1	0.000	0.000	0.027	0.872
Day	1	0.023	0.023	1.237	0.284
Residuals	15	0.274	0.018		

Todo lo anterior podemos corroborarlos con un análisis visual de las variables del modelo.

**Figura 6**

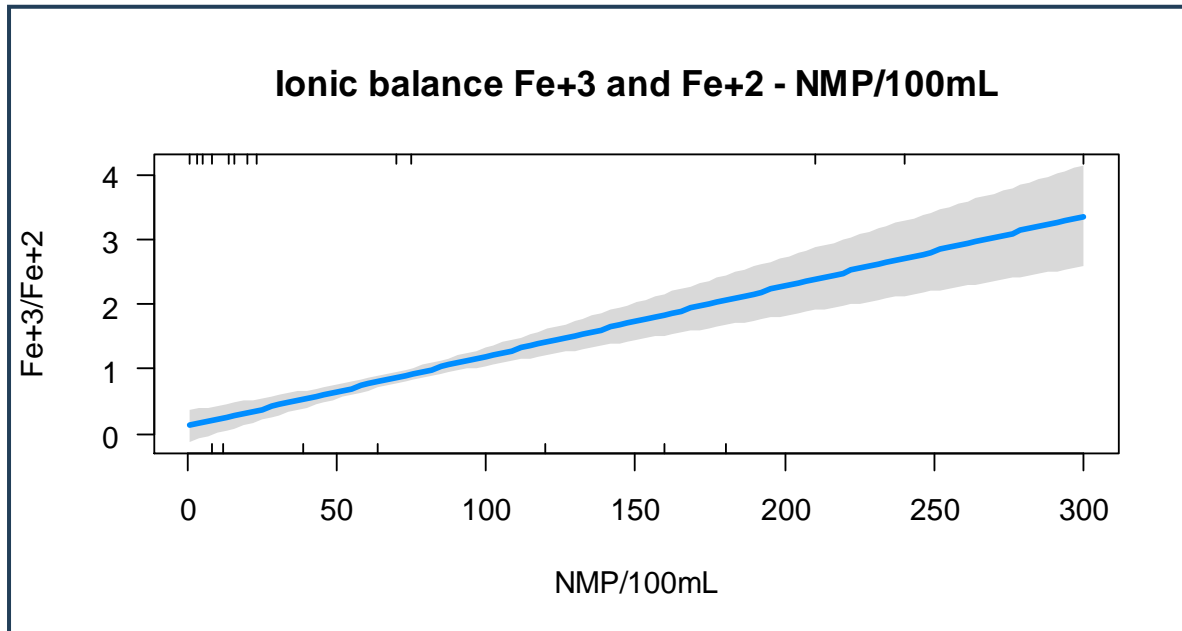
*Análisis Visual de las variables*



Finalmente, el modelo de regresión lineal múltiple nos arroja un RSE de 0.1352 con 15 grados de libertad y un MRS de 0.9798, un  $R^2$  ajustado de 0.9744 con un F-statistic 182.1 con un p-value de  $1.624 \times 10^{-12}$ , un Aikake Information Criterion AIC de -17.04600 y un Bayesian Information Criterion BIC de -11.07161.

**Figura 7**

*Balance Iónico*



La temperatura óptima que garantiza el incremento de las bacterias *Thiobacillus ferrooxidans*, según el experimento realizado es de 33 a 35 °C para la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ , mientras que Willian, et al., (2005) para la oxidación del azufre la temperatura considera entre 45 a 60 °C. Por lo cual determino que en la oxidación de metales la temperatura es un parámetro fundamental.

Cuando hablamos del pH óptimo para que en el proceso se incremente y sobreviva las bacterias, debe cumplir condiciones establecidas que permitan que el proceso se desarrolle de manera normal y satisfactoria, en el estudio se determinó el rango óptimo de 2.5 a 3.5 de pH, favoreciendo el porcentaje de disolución de los elementos metálicos. Por su lado Jackson, (2009) menciona que un pH superior a 3,0 está parcialmente relacionada con la formación de precipitados de hierro férrico.

En los datos obtenidos del control del medio de cultivo se ve que se logró la oxidación de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ . En el análisis inicial del contenido de  $\text{Fe}^{2+}$ , se obtuvo un valor de 5.4 mg/L; luego de oxidar se obtuvo un contenido de  $\text{Fe}^{3+}$  de 4.8 mg/L. Consiguientemente Peláez, (2009) en su resultado de los valores obtenidos están próximos por no decir coinciden con el resultado del experimento.

Asimismo, se determinó la temperatura óptima que garantiza el incremento de las bacterias Thiobacillus ferrooxidans, la cual permite la disolución de los elementos metálicos a partir de la generación de los sulfuros. Por lo que representa una solución potencial al problema planteado.

## **5. Conclusión**

El medio de cultivo 9k es ideal para el aislamiento y cultivo de cepas de Thiobacillus ferrooxidans. Donde su nivel de crecimiento y adaptación a nuevas condiciones va en función de la Temperatura y el pH. Así como a las condiciones de los sustratos a los cuales son sometidos.

El crecimiento de las bacterias de la cepa Thiobacillus ferrooxidans de la compañía minera Administradora Cerro SAC, se determinó por el contenido de sulfato de hierro en el sustrato y el control estricto del pH. Siendo estos valores 5.4mg/L y 3.5 respectivamente. Se propone un medio 9k modificado.

En todas las condiciones en las primeras 48 horas se genera un consumo de iones de hidrogeno, con la cual se reduce la acidez de 4.2 a 5.0, siendo menor el efecto a bajas concentraciones de sustrato. La producción de ácido sulfúrico por el mecanismo indirecto de oxidación bacteriana es apreciable del octavo día en adelante estabilizando el pH entre 3 a 3.5 siendo los más ácidos los que tienen mayor contenido de sustrato asegurando el crecimiento bacteriano, por ende, la oxidación eficaz.

Se determinó la capacidad de oxidación de Thiobacillus ferrooxidans en el tratamiento, obteniéndose mayores concentraciones del  $Fe^{3+}$  de 4.8 mg/L, mientras que el testigo relativo por su parte tuvo una concentración de 1 mg/L  $Fe^{3+}$  inicialmente.

## **6. Referencias bibliográficas**

Akcil, A., Koldas. S., (2006) *Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies.*

J Clean Prod 14:1139–1145.

Cabrera, I. (2015). *Influencia del pasivo minero sulfometales sobre el drenaje ácido y elementos potencialmente tóxicos en el manglar*. Tesis de maestría, Universidad de Pinar del Río Hermanos Saiz Montes de Oca.

Chakrabarty, A., (2009) “Genetic Mechanisms in Metal-Microbe Interactions”. General Electric Company, Corporate Research & Development. Schenectady New York. USA.

Decreto Supremo N°010-2010-MINAM. (2010). *Niveles máximos permisibles para efluentes líquidos para las actividades minero- metalúrgicas*. Perú: Ministerio de Medio Ambiente.

Glave, M., Kuramoto, J., (2015) “La minería peruana: lo que sabemos y lo que aún nos falta por saber”. En: *Investigación, políticas y desarrollo en el Perú*. Lima.

Garver K., Wade J., (2017) Characterization of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV), Canadian Science Advisory Secretariat, Canada.

<https://waves-vagues.dfo-mpo.gc.ca/library-bibliotheque/4065378x.pdf>

Jackson, J., Ream, B., (2009) Solution Management in Dump Leaching”. Kennecott Minerals Company, UTAH.

<https://www.osti.gov/servlets/purl/6111296>

Moodley, I., Sheridan, C., Kappelmeyer, U., & Akcil, A. (2018). Environmentally sustainable acid mine drainage remediation: Research developments with a focus on waste/by-products. *Minerals Engineering*, 126, 207–220.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mineng.2017.08.008>

Peláez, H., Prada, M., Caidedo, G., Moreno, C., Márquez, M., (2013). Influencia de la Relación Inicial de  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ , en un Proceso de BIODESULFURIZACIÓN DE CARBONES EN SUSPENSIÓN. Universidad Nacional de Colombia

<https://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v29n2/v29n2a7.pdf>

Salas, F., Guadarrama, G., Fernández, G., González, J., Barraza, L., (2020). Prediction of acid mine drainage, tailings from la prieta mine, Chihuahua, Mexico. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 36(4), 825–834. <https://doi.org/10.20937/RICA.53523>

Semeza, M., Gurutchet, G., Viera, M., Donati, E., (2010). “Importancia de Thiobacillus Caldus en la Lixiviación de Sulfuros Metálicos”, Centro de Investigación y Desarrollo de Fermentaciones Industriales (CINDEFI-CONICET). La Plata, Argentina.

Silver, M., (2016). Metabolic Mechanisms of iron-oxidizing Thiobacilli”. Université Laval, Québec, Canada.

Simpson, J., (2014). Lixiviación Bacteriana. *Departamento de Ingeniería Metalúrgica de La Universidad de Santiago de Chile*, 1–14.

Takeno, (2005). Atlas of Eh-pH Diagrams, Geological Survey of Japan Open File Report Scientific Research. [https://www.scirp.org/\(S\(vtj3fa45qm1ean45vffcz55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=495007](https://www.scirp.org/(S(vtj3fa45qm1ean45vffcz55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=495007)

Toro, L., Paponetti, B., Cantalini, C., (2019). Precipitate Formation in the Oxidation of ferrous Ions in the Presence of Thiobacillus Ferrooxidans. Departament di Chimica, Ingeniering Chimica e Materiali, Università dell’L’Aquila, Italy.

Varela, G., Grotiuz, G., (2018). Fisiología y metabolismo bacteriano Metabolismo productor de energía. *Temas De Bacteriología Y Virología Médica*, 43–57.

Wang, X., Jiang, H., Zheng, G., Liang, J., Zhou, L., (2021). Recovering iron and sulfate in the form of mineral from acid mine drainage by a bacteria-driven cyclic biomineralization system. *Chemosphere*, 262, 127567.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127567>

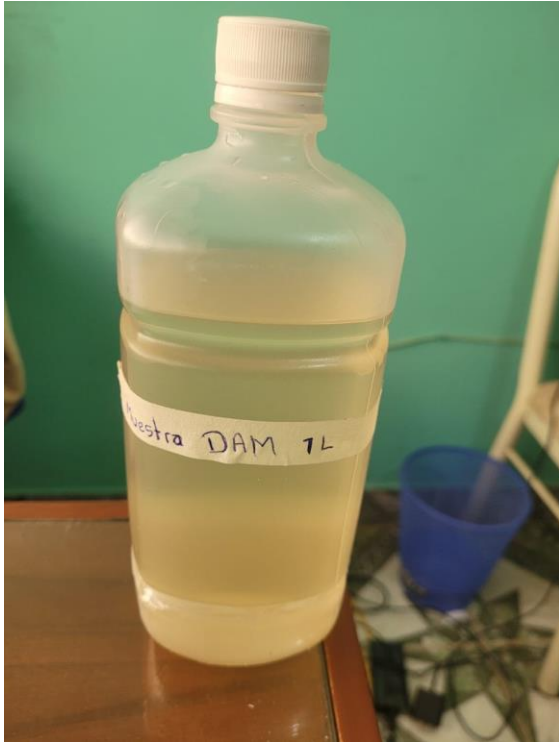
Willian, A., Dugan, P., (2017) Hidrogen Ion Utilization by Iron-Grown Thiobacillus Ferrooxidans. Departament of Microbiollogy The Ohio Satate University, Columbus, Ohio, USA.

# **ANEXOS**

## PANEL FOTOGRAFICO

**Figura 8**

*Obtención de la muestra*



**Figura 9**

*Preparación para su conservación*



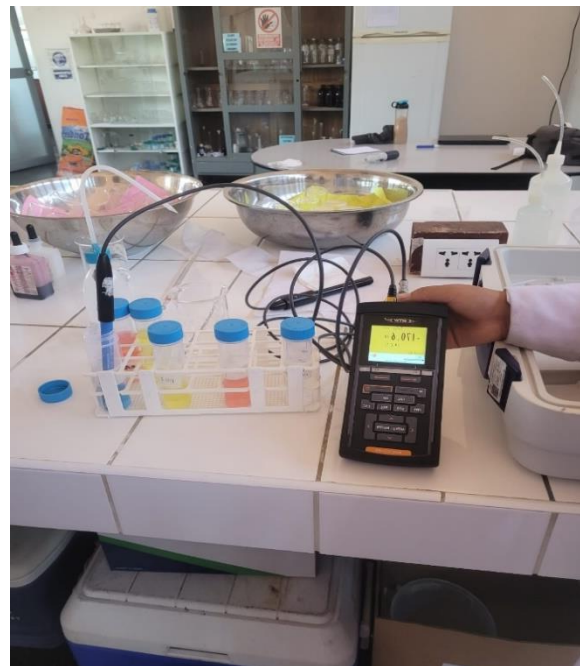
**Figura 10**

*Conservación de la muestra*



**Figura 11**

*Calibración del equipo*





**Figura 14**

*Preparación de los reactivos para el medio de cultivo*

