

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**MEJORAMIENTO DE LA BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES POR  
*Acidithiobacillus ferrooxidans* CON LA APLICACIÓN DE UN SISTEMA  
NEUROCONTROLADO**

**Por**

**FELIPE SAMUEL HERNÁNDEZ RODARTE**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con especialidad  
en biotecnología**

**Diciembre de 2005**

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a:

**A Dios** por permitirme siempre salir avante en cada uno de los seminarios, por permitirme ir y venir con bien de Mty, por poner siempre las cosas en el tiempo preciso.

**Al Dr. Benito Pereyra Alférez** por la dirección en el desarrollo de este trabajo y por no haber perdido nunca la Fé en mí.

**Al Dr. Hugo A. Luna Olvera** Por su valiosa colaboración y agudas observaciones durante las presentaciones tutoriales.

**Al Dr. Luis J. Galán Wong** por su acertada aportación al realizar un vínculo con el Instituto Tecnológico de Durango.

**A la Dra Katiushka Arévalo Niño** por sus valiosas aportaciones durante los tutoriales aplicados.

**Al Dr. Carlos E. Hernández Luna** por su oportuna aprobación en la revisión de este trabajo.

**Al Dr. Alberto Gallegos Infante** por su efectivo y oportuno apoyo en la publicación de los artículos.

**Al Dr. Hiram Medrano Roldán** por la invitación realizada a cursar este postgrado y el apoyo siempre a tiempo.

**Al Instituto Tecnológico de Durango** por proporcionar un espacio de trabajo en el área de Biotecnología de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica.

**A la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL** por aceptarme como alumno y permitir el desarrollo del presente trabajo.

**Al Dr. Erasmo Orrantia Borunda** de CIMAV Chihuahua por las facilidades otorgadas al realizar una estancia en su centro de trabajo y por las cepas proporcionadas.

**A la Dr. Juliana Morales Castro** por ser un ejemplo de disciplina, perseverancia y trabajo en equipo.

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por el apoyo económico brindado, becario N° 163588.

**A la Dra. Ma. Julia Verde Star** por todas las facilidades brindadas y a **Carmen Vazquez** por su atención y amabilidad

## **DEDICATORIAS**

**Especialmente a Marcela Ibarra**, mi esposa y ayuda idónea, por su amor, por nunca dejar de presionar a pesar de mi mal genio, por su apoyo en la más amplia extensión de la palabra, por orar siempre por mí, por estar atenta siempre a mis pendientes y por creer en mí.

A mis Hijas: **Salma y Silvia**

Este trabajo fue realizado siempre con la meta de brindarles a Uds. mejores condiciones de vida.

A mis Padres, **Sr. Alfonso C. Hernández Rodríguez y Emilia Rodarte Pérez**

Este logro es de Uds. también.

A mi sobrino: **Raúl Silverio Agüero Hernández**

Que el presente sea una punta de flecha y ejemplo para que más miembros de la familia cursen un postgrado, especialmente tú.

## TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
1. INTRODUCCIÓN	3
2. HIPOTESIS	5
3. OBJETIVO	6
3.1 Objetivos Particulares	6
4. ANTECEDENTES	7
4.1 Antecedentes	7
4.2 Microorganismos Involucrados en los Procesos Comerciales	10
4.3 Mecanismos de Oxidación	11
4.4 Mecanismo a Nivel Citoplasmático	15
4.5 Procesos Comerciales	16
4.5.1 Heap y Dumps	17
4.6 Técnicas de Lixiviación Microbiana por Tanques Agitados	18
4.6.1 Reactores	18
4.6.1.1 Reactor de Tanque Agitado	19
4.6.1.2 Reactor de Inyección de Aire	22
4.6.2 Otros Diseños de Reactor	22
4.6.2.1 Bioreactor Aireado a lo Largo	23
4.6.2.2 Bioreactor de Baja Energía	23
4.6.2.3 Bioreactor de Plato Inclinado Delf	24
4.6.2.4 Biorotor	24
4.7 Factores que Influyen en la Lixiviación Microbiana	25
4.7.1 Factores Físicos	26
4.7.1.1 Adsorción-Desorción	26
4.7.1.2 Densidad de Pulpa y Tamaño de Partícula	26
4.7.1.3 Temperatura	27
4.7.1.4 Agitación	27
4.7.2 Factores Químicos	27
4.7.2.1 pH	27
4.7.2.2 Composición del Medio	28
4.7.3 Factores Electroquímicos	29
4.7.3.1 Potencial Óxido-reducción	29
4.7.4 Factores Biológicos	30
4.7.4.1 Velocidad de Crecimiento	30
4.7.4.2 Concentración de Células	30
4.8 Modelos para la Biolixiviación	30
4.8.1 Modelos de Reactores Bien Agitados (Fase Líquida)	32

4.8.1.1	Modelo de Kumar y Gandhi	32
4.8.1.2	Modelo de Lacey Lawson	32
4.8.2	Modelos de Reactores Bien Agitados (Fase Líquida y Sólida)	33
4.8.2.1	Modelo de Blancarte-Zurita y Branion	33
4.8.2.2	Modelo de Konishi y Katoh	33
4.8.2.3	Modelo de Sanmugasunderam y Branion	34
4.8.2.4	Modelo de Hanson	35
4.8.2.5	Modelo de Myerson & Kline y Chang & Myerson	35
4.8.2.6	Modelo de Kargi y Weissman & Myerson	36
4.8.3	Modelos de Reactores No-Ideales	37
4.8.3.1	Modelo de Wichlaez y Unz	37
4.8.3.2	Modelo de Karamaney	38
4.9	Modelos Neuronales	39
4.9.1	Arquitectura de los Modelos de Red Neuronal	42
4.9.1.1	MRN Hacia Adelante	42
4.9.1.2	MRN Recurrente Interna	43
4.9.2	Función de Transferencia	44
4.9.2.1	Función de Transferencia Hardlim o Escalon	44
4.9.2.2	Función de Transferencia Hardlims	45
4.9.2.3	Función de Transferencia logaritmica	45
4.9.2.4	Función de Transferencia Purelin	46
4.9.2.5	Función de Transferencia Satlin	46
4.9.2.6	Función de Transferencia Tangente-Sigmoidal	47
4.9.3	Entrenamiento de Redes	47
4.9.4	Número de Neuronas	48
4.10	Control de Procesos	48
4.10.1	Sistema de Adquisición de Datos "fuera de línea"	48
4.10.2	Sistema de Adquisición de Datos "sobre la línea"	49
4.10.3	Sistema de Adquisición de Datos "en-línea"	50
4.10.4	Sistema de Adquisición de Datos "intra-línea"	50
4.11	Proceso de Lectura y Control de Variables	50
4.12	Procesos Neurocontrolados	51
5.	MÉTODOS	52
5.1	Establecimiento del Sistema de Lectura y Control	52
5.1.1	Hardware	52
5.1.2	Software	52
5.1.3	Variables	52
5.1.4	Pruebas de Funcionamiento	54
5.1.5	Diseño del Dispositivo para Medir Turbidez	54
5.1.6	Pruebas de Estabilidad	55
5.1.7	Ensayos en Fermentador	55
5.1.8	Análisis Estadístico	56
5.2	Obtención de Datos Experimentales	56
5.2.1	Microorganismo y Mineral	56
5.2.2	Condiciones en Matraz	56
5.2.3	Diseño Experimental	56

5.2.4	Análisis Estadístico	57
5.3	Obtención e Implementación del Modelo de Red Neuronal	57
5.3.1	Selección del Modelo de Red Neuronal	57
5.3.2	Optimización	57
5.3.3	Validación	58
5.3.4	Ensayos a Nivel Fermentador	58
5.3.5	Análisis Estadístico	58
6.	RESULTADOS	59
6.1	Descripción del Sistema de Lectura y Control	59
6.1.1	Pruebas de Funcionamiento con agua destilada	61
6.1.2	Pruebas de Funcionamiento con <i>Rhodotorula glutinis</i>	64
6.2	Obtención de Datos con <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	70
6.2.1	Datos Obtenidos a Nivel matraz	70
6.3	Obtención e Implementación del Modelo de Red Neuronal	75
6.3.1	Selección del Modelo de Red Neuronal	75
6.4	Ensayos en Fermentador con <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	81
6.4.1	Ensayos Libres	81
6.4.2	Ensayos a Nivel Fermentador	Apéndice
6.5	Análisis de Espectrofotometría de Absorción Atómica	85
7.	DISCUSIÓN	87
8.	CONCLUSIONES	95
9.	LITERATURA CITADA	97
10.	APENDICE	104

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Síntesis de ATP utilizando la oxidación de $Fe^{2+}$ , la diferencia de pH entre el exterior y el interior, es utilizado por la ATPasa el exceso de protones es utilizado para oxidar $Fe^{2+}$ .....	15
2. Utilización mixotrófica de glucosa por <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> , en estas condiciones, la oxidación del hierro esta reprimida.	16
3. Sistema de tratamiento de menas con oro refractario por biolixiviación.	17
4. Lixiviación en columna estilo "heap" y "dump" (Flores, 1994).	18
5. Reactor aireado a lo largo.....	23
6. Bioreactor de baja energía. ....	23
7. Bioreactor de platos inclinados Delft. ....	24
8. Vista isométrica del Biorotor. ....	25
9. Neurona Biológica.....	40
10. Neurona Artificial. ....	41
11. MRN con tres capas. ....	41
12. Representación esquemática de un MRN de alimentación hacia adelante.	42
13. Representación esquemática de un MRN recurrente. ....	43
14. Función de transferencia Hardlim. ....	44
15. Gráfico para la función de activación de escalón o Hardlims	45
16. Gráfico para la función de activación logarítmica.....	45
17. Gráfico para la función de activación purelin.....	46
18. Diagrama para la función de activación Satlin.....	46
19. Diagrama para la función de activación tangente sigmoidal.	47

20.	Sistema de adquisición de datos "fuera de línea".....	49
21.	Sistema de adquisición de datos "Sobre la línea".....	49
22.	Sistema de adquisición de datos "en-línea".....	50
23.	Esquema del sistema de lectura y control de variables.....	54
24.	Esquema del dispositivo diseñado para leer turbidez en- línea.	55
25.	Comportamiento del pH cuando es llevado de 10 a 8 unidades se utilizó agua destilada en el fermentador de 1 litro, el pH se bajo con ácido sulfúrico al 5 %.....	61
26.	Control sobre la temperatura en el fermentador cuando se aplicó una ecuación que lleva la temperatura en forma de curva.....	62
27.	Control sobre el pH cuando se aplico una ecuación que lo lleva de 7 a 5 en forma de curva y en función del tiempo.....	63
28.	Curva de temperatura del fermentador utilizado en las pruebas con <i>Rhodotorula glutinis</i> , el la temperatura del fermentador se tomó desde que se sacó de la autoclave.....	64
29.	Control del pH durante el ensayo con <i>Rhodotorula glutinis</i> , el pH se controló durante los primeros 1600 minutos en 4, luego fue llevado a 9 por una ecuación en función del tiempo.....	64
30.	Voltaje obtenido en el dispositivo para medir turbidez en-línea en la prueba con <i>Rhodotorula glutinis</i> , los datos del turbidímetro fueron guardados cada hora y los del espectrofotómetro cada 4 horas.	66
31.	Voltaje obtenido en el segundo ensayo con <i>Rhodotorula glutinis</i> en el dispositivo para medir turbidez en-línea.....	67
32.	Valores obtenidos para el voltaje en el tercer ensayo con <i>Rhodotorula glutinis</i> en la medición de la turbidez en-línea.....	68
33.	Valores obtenidos en voltaje para el cuarto ensayo con <i>Rhodotorula glutinis</i> en el turbidímetro.....	69
34.	Datos de potencial óxido-reducción en los matraces del diseño experimental de 2 X 3.....	70
35.	Cajas de Box Whisker para la determinación de la influencia de las tres variables de trabajo sobre el proceso.....	71



36.	Gráficas de influencia de variable sobre el proceso de biolixiviación.	72
37.	Curva de medias para la determinación de la influencia de variables en el proceso de biolixiviación.	73
38.	Análisis de superficie de respuesta para la determinación de los valores óptimos de pH y temperatura en el potencial óxido-reducción.	74
39.	Evolución del error cuadrático medio, para el proceso de convergencia	76
40.	Curva de media para la prueba T en los dos grupos de datos utilizados para la optimización.....	77
41.	Arquitectura propuesta para el modelo de red neuronal, la entrada incluye a las variables pH, temperatura y potencial óxido-reducción la salida es la simulación del potencial óxido-reducción por el modelo de red neuronal.....	79
42.	Desarrollo del error para cada uno de los puntos de convergencia entre los datos de entrada y el modelo neuronal.....	80
43.	Ensayo con <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> en fermentador sin control, únicamente se tomo la lectura del desarrollo del pH.....	81
44.	Determinación de la biolixiviación de Arsénico por espectrofotómetro de Absorción Atómica en muestras de mineral a diferentes pH a nivel matraz.....	82
45.	Determinación de la concentración de Fe total por espectrofotómetro de Absorción Atómica en muestras de biolixiviado a diferentes pH a nivel matraz.....	83
46.	Determinación de $Fe^{3+}$ por permanganimetría en muestras de biolixiviado a diferentes pH a nivel matraz.....	84
47.	Variación de la temperatura en el fermentador durante el ensayo 1, la temperatura se mantuvo en 30 °C.....	Apéndice
48.	Variación del pH durante el ensayo 1, el pH trato de mantenerse constante en 2.....	106
49.	Desarrollo del potencial óxido-reducción durante el ensayo 1.....	107
50.	Control efectuado en el pH durante el segundo ensayo con <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> , se aplico un algoritmo matemático en el control.....	108

51.	Control efectuado en la temperatura en el ensayo 2 en este control se introdujo un algoritmo matemático que modificó el valor de la temperatura en una función matemática.....	109
52.	Potencial óxido-reducción obtenido en el segundo ensayo, cuando se aplicó el modelo de red neuronal al control de variables.	110
53.	Control de la temperatura durante el ensayo 3 el cual tuvo una duración muy corta de solo 4 días.....	111
54.	Control de la temperatura durante el ensayo 3 el cual tuvo una duración muy corta de solo 4 días.....	112
55.	Potencial óxido-reducción para el ensayo 3 que no desarrolló completamente.....	113
56.	Control de la temperatura sobre el ensayo 4, se aplicó nuevamente el algoritmo de la red neuronal.....	114
57.	pH de control sobre el ensayo 4 con una duración de 8 días.....	115
58.	Potencial óxido-reducción obtenido para el ensayo 4.....	116
59	Comportamiento de la temperatura de control durante el ensayo 5, que duro aproximadamente 8 días.....	117
60.	pH de control durante el ensayo 5, se aplicó el algoritmo matemático al proceso.....	118
61.	Comportamiento del potencial óxido-reducción en el ensayo 5.....	119
62.	Control sobre la temperatura del fermentador durante el ensayo 6, la variación al segundo día corresponde a alta temperatura del agua de enfriamiento.....	120
63.	Control del pH sobre el ensayo 6, el pH se mantuvo en 2.....	121
64.	Potencial óxido-reducción para el ensayo 6.....	122
65.	Control en la temperatura obtenido para el ensayo 7, la temperatura se pretendía mantener en 30 °C.....	123
66.	Control obtenido en el pH del ensayo 7.....	124
67.	Resultado obtenido para el Potencial óxido-reducción en el ensayo 7.	125

68.	Temperatura en el ensayo 8.....	126
69.	pH obtenido en el ensayo 8.....	127
70.	Potencial óxido -reducción obtenido en el ensayo 8.....	128
71.	Temperatura obtenida en el ensayo 9.....	129
72.	pH de control en el ensayo 9.....	130
73.	Potencial óxido-reducción obtenido en el ensayo 9.....	131
74.	Temperatura obtenida para el ensayo 10.....	132
75.	pH que se obtuvo en el ensayo 10.....	133
76.	Potencial óxido-reducción en el ensayo 10.....	134

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Título	Página
I.	Producción mundial anual de cobre por biolixiviación, Ton/día (Acevedo, 2000).....	8
II.	Plantas de biolixiviación de oro a nivel comercial (Derksen, 2000).	9
III.	Prueba T para cada grupo de datos..... ..	78
IV.	Análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica para Pb.....	85
V.	Análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica para Zn.....	85
VI.	Análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica para As.....	86
VII.	Potencial óxido-reducción máximo para cada ensayo evaluado cuantitativamente.....	86
VIII.	Comparación cualitativa de los primero cinco ensayos a nivel fermentador con <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> durante las primeras 200 horas.....	92
IX.	Comparación cualitativa de los últimos tres ensayos a nivel fermentador con <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> durante las primeras 200 horas.....	94

## RESUMEN

La industria minera tiene gran relevancia en el desarrollo económico de los estados productores de mineral, así como en los estados que procesan el mineral para la obtención de los metales preciosos, sin embargo, muchas veces la concentración de metal por tonelada es muy baja y requiere tratamientos para remover a los minerales contaminantes, este paso incrementa los costos.

Han surgido alternativas para la extracción económica de minerales, una de ellas es la biolixiviación usando microorganismos en dos formas: como consorcios o solos. Por lo general la biolixiviación es llevada a cabo por microorganismos quimilitotróficos como *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Esta bacteria es capaz de reducir al hierro y otros metales en percoladores, pilas, columnas y bioreactores, de estos métodos, los bioreactores ofrecen mejor control sobre el proceso. *At. ferrooxidans* es uno de los microorganismos más estudiados y utilizados para la extracción de cobre y otros metales. Las reacciones químicas entre el mineral y el microorganismo han sido modeladas con la intención de controlar el proceso y predecir los resultados, así como establecer las condiciones adecuadas para mejorar el rendimiento. La aplicación de modelos en sistemas inteligentes permite mejorar el proceso. En este trabajo hemos elaborado un sistema neurocontrolado que permite el control del pH y la temperatura del proceso para mejorar la biolixiviación de mineral de plomo por *At. ferrooxidans*. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron datos de biolixiviación de mineral de plomo y zinc, obtenidos a nivel matríz para entrenar, optimizar y validar una red neuronal en Mat-Lab ®, se aplicó el algoritmo obtenido en un sistema de control sofisticado diseñado en Visual Basic®, se realizaron ensayos a nivel fermentador de 1 l. **Resultados:** Se logró establecer un sistema de lectura y control en-línea para un fermentador de 1 l, se obtuvo un modelo neuronal que se optimizó utilizando del método de Frangú, 1999 se obtuvo una red neuronal de 2 capas, con 2 neuronas en la primera capa y una neurona en la segunda, se utilizó la función tangente sigmoideal. El modelo se aplicó al proceso de biolixiviación de mineral de Pb y Zn. Se obtuvieron datos de control de pH y temperatura dictados por un algoritmo matemático. Los resultados muestran el potencial óxido-reducción con mejor pendiente para las condiciones del proceso con control neuronal. **Conclusiones:** El sistema que se diseñó es adecuado para realizar el tipo de control que se propone, el cual incluye pantallas interactivas que permiten visualizar el valor de las variables y modificarlo de forma manual o automática, los ensayos a nivel matraz con *At. ferrooxidans* permitieron comprobar que el proceso de biolixiviación presenta un comportamiento No-líneal, por otro lado estos resultados se utilizaron para elaborar la red neuronal y optimizar su arquitectura. La aplicación del modelo de red neuronal en el proceso de biolixiviación en fermentador produjo mejores resultados que la aplicación de condiciones obtenidas por superficie de respuesta para los mismos datos.

## ABSTRACT

The mining industry has a great relevance in the economic development of mineral producing countries, as well as in such countries that process the mineral to precious metals. Nevertheless, often the metal concentration by ton is very low and requires treatments to remove the contaminating minerals, which increases production costs.

Bio - leaching is an economic alternative for mineral extraction, consisting of the use of microorganisms in two ways: as consortium or by its self. Generally bio - leaching is carried out by chemolithotrophic microorganisms like *Acidithiobacillus ferrooxidans*. This bacterium can reduce iron and others metals in air lift reactors, batteries, columns and bioreactors. From all these methods, bioreactors offer a better process control. *At. ferrooxidans* is one of the most studied and used microorganisms for copper and other metal extractions. The chemical reactions between the mineral and the microorganism have been modeled, attempting to control the process and to predict results, as well as to establish the suitable conditions for yield improvement. The application of models in intelligent systems allows improve the process.

A neural - controlled system has been developed, that allows pH and temperature control of the process, to improve bio - leaching of mineral lead by *At. ferrooxidans*. **Material and Methods:** Mineral lead and zinc bio - leaching data was used, obtained at flask level to train, to optimize and to validate a neuronal network in Mat-Lab ®. An algorithm obtained in a sophisticated control system designed in Visual Basic ® was applied. Tests were made at a fermentator of 1 l. **Results:** It was possible to establish an on - line reading and control system for a fermentator of 1 l. A neuronal model, that was optimized using of the method of Frangú, 1999, was obtained. A 2 layer neuronal network with 2 neurons in the first layer and one in the second layer was obtained; a sigmoid tangent function was used. The model was used on a bio - leaching process of mineral Pb and Zn. pH and temperature data sent by a mathematical algorithm were obtained. The results show the oxide - reduction potential with better slope for the neural - controlled process conditions. **Conclusions:** The design system is appropriate to make the type of control desired, which includes interactive screens that allow to visualize the value of the variables and to modify it manually or automatically. The tests at flask level with *At. ferrooxidans* allowed to verify that bio - leaching present a none - lineal behavior, on the other hand, these results were used to elaborate the neuronal network model to a bio - leaching process in the fermentator produced better results than the use of conditions obtained by response surface for the same data.

## INTRODUCCION

La relevancia económica de la industria minera es tan grande que puede crear y deshacer poblados en pocos días, el impulso hacia las entidades vecinas es tal que gran parte del desarrollo industrial y social depende de esta actividad.

Sin embargo, la producción regular de minerales de baja ley, de los cuales recuperar el metal resulta incosteable, es cada día mas frecuente.

Existen alternativas para darle pretratamiento a los minerales de baja ley y de alguna manera extraer los metales por lixiviación ácida, uno de estos tratamientos es la biolixiviación por medio de microorganismos, son reconocidos tres tipos de biolixiviación (Medrano *et al.*, 1992)

1. Usando microorganismos litotróficos en la oxidación de minerales sulfurados, hierro y otros metales que se encuentran en su forma reducida.
2. Usando microorganismos organotróficos que ayudan a biolixiviar minerales de forma indirecta, al formar un compuesto capaz de desintegrarlo.
3. Usando microorganismos organotróficos para la producción de biomasa para precipitar ciertos metales.

El aislamiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* del drenaje de una mina por Colmer y Hinkle fue el primer paso importante en el nacimiento de la biolixiviación. Después de esto se han logrado aislar una cantidad considerable de microorganismos de interés industrial.

*Acidithiobacillus ferrooxidans* es una bacteria autótrofa, mesofílica, acidofílica, utiliza el ión ferroso como último oxidante, lo que le permite oxidar sulfuros inorgánicos y otros compuestos sulfurados de valencia reducida con la producción de ácido sulfúrico.

Por otro lado, el uso de microorganismos para la eliminación de residuos no deseados le da otra utilidad, tal es el caso de la utilización de *At. ferrooxidans* para la oxidación de sulfuro de arsénico, el cual se encuentra en minerales contaminados, que produce dos tipos de problema, por un lado, ocasiona problemas metalúrgicos que dificultan la extracción del metal y de un producto final con alto grado de pureza, , por otro lado, el arsénico que se encuentra en cantidades importantes en los minerales es un tóxico que ocasiona problemas de contaminación en la atmósfera en que se libera (Wiertz *et al.* 1999).

Se han diseñado modelos matemáticos que explican las reacciones químicas que se producen al colocar al microorganismo en contacto con el mineral, con el fin de mejorar y predecir la velocidad de oxidación de metales sulfurados (Haddadin *et al.*, 1995), sin embargo, la heterogeneidad del mineral, así como iones libres debido al pH del medio, dificulta que los modelos puedan predecir con exactitud lo que ocurre, debido a que el proceso de biolixiviación es considerado como altamente no lineal. Los modelos matemáticos elaborados con redes neuronales pueden ser utilizados en procesos no lineales, con los cuales es posible predecir, controlar y simular los procesos asociados con *A. ferrooxidans*.

Una red neuronal es un modelo que tiene similitud con las neuronas biológicas al tener entradas de variables que pueden ser relacionadas en su conjunto con una respuesta, las redes neuronales incluyen una función de transferencia que permite acondicionar el peso de cada variable al comportamiento del proceso. Los modelos neuronales pueden ser integrados al sistema de control del proceso, volviéndolo de cierta forma inteligente, ya que puede tomar decisiones a partir de datos previos con los que la red neuronal ha sido entrenada, el sistema puede tomar lecturas de las variables en tiempo real y utilizar la memoria para detectar cambios en el proceso y realizar los ajustes que permitan ajustarse al modelo neuronal.



## HIPÓTESIS

Al aplicar un sistema neurocontrolado a un proceso de biolixiviación en bioreactor será posible mejorar la biolixiviación de minerales.

## JUSTIFICACIÓN

Las pérdidas en las mineras así como la contaminación ambiental y la exposición de los contaminantes al ambiente impulsan la investigación en este campo.

### 3. OBJETIVO

Acelerar el tiempo de biolixiviación de minerales de baja ley por la manipulación de las variables de proceso con un sistema neurocontrolado.

#### 3.1 Objetivos Particulares

- 3.1.1. Instalar un sistema de lectura y control en un bioreactor
- 3.1.2. Obtener datos experimentales de biolixiviación para entrenar a la red neuronal
- 3.1.3. Diseñar el sistema de neurocontrol
- 3.1.4. Aplicar el sistema neurocontrolado a un mineral a nivel fermentador

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1 Antecedentes

La Biohidrometalurgia se define como la utilización de los microorganismos en el área de la minería, la biohidrometalurgia es un campo interdisciplinario que incluye geomicrobiología, ecología microbiana, bioquímica microbiana e hidrometalurgia. La biohidrometalurgia es una tecnología limpia, que consume menos energía que la técnicas usadas en la industria piro metalúrgica e hidrometalurgia (Brombacher *et al.*,1998) para la recuperación de metales, en las cuales se utilizan agentes inorgánicos como cianuros, bicromatos, hidrosulfuro, los cuales provocan emisiones contaminantes y tóxicas (Santhiya *et al.*,2000) y algunos menos tóxicos como amonio (Lozano Blanco *et al.*,1999)

El uso de microorganismos para extraer metales a partir de minerales consiste en utilizar el proceso natural para propósitos comerciales, los microorganismos han participado en la deposición y solubilización de metales pesados en la tierra desde hace millones de años, la mayoría de los procesos están asociados a los ciclos geológicos del hierro y el azufre; las bacterias anaerobias sulfato reductoras generan sulfuros que pueden reaccionar con una gran cantidad de metales para formar sulfuros de metal insolubles, estos precipitados sirven como una fuente de minerales que pueden llegar a incorporarse en la formación de rocas. El metal sulfurado (CuS, NiS, ZnS) puede servir como donador de electrones para los microorganismos aerobios sulfuro oxidantes lo que resulta en la formación de sulfatos de metal (CuSO<sub>4</sub>, NiSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>), debido a que estos sulfatos son solubles en agua, estos procesos sirven como medio para lixiviar el metal de minerales, a este proceso se le llama biolixiviación (Rawlings, 2002).

La aplicación de la biolixiviación comenzó con la extracción de cobre por la empresa Kenecott Copper Corporation que ha usado este proceso desde 1950, (Brierley *et al.*,1999), en la actualidad (Tabla I) la biolixiviación se usa como un proceso de bajo costo para recuperar cobre a partir de minerales de los cuales resulta económicamente incosteable por otros métodos (Gericke *et al.*,1999).

La expansión de la biolixiviación hacia otros minerales ocurrió en 1986 cuando se instaló la primera planta de recuperación de oro en Fairview Gold Mine (Sudáfrica) con una capacidad de 10 toneladas por día, para 1998 esta planta trataba hasta 35 toneladas por día. La planta mas grande (Tabla II) que utiliza biolixiviación se encuentra en Ashanti, Ghana que para 1998 trataba 1, 100 toneladas de concentrado de piritita para extracción de oro por día, también se reportan operaciones en brasil, Australia y Uganda (Fowler *et al.*,1998).

Tabla I  
Producción mundial anual de cobre por biolixiviación, Ton/día (Acevedo *et al.*,2000)

País	1998	1999	2000
Australia	607	711	829
Canadá	705	620	634
Chile	3686	4391	4602
China	486	520	588
Indonesia	809	790	1005
México	384	381	344
Perú	483	563	553
Polonia	436	463	463
Rusia	518	510	510
Estados Unidos	1860	1601	1480
Zambia	378	271	320
Otros	1930	1915	1912
Total	12, 288	12, 712	13, 243

Tabla II  
Plantas de biolixiviación de oro a nivel comercial (Derksen *et al.*, 2000)

Planta	Alimentación		Análisis	g/T oro	Capacidad T conc/día
	% S	% Fe	% As		
Fairview (Sudáfrica) 1986	20.0			100-144	40
Sao Bento (Brasil) 1991	18.7			30	150
Wiluna (Australia) 1993	24.0	24.0	10.0	80-90	115
Sansu (Ghana) 1994	11.4	17.5	7.7	48-76	720

Esta técnica tiene una larga historia, aunque al principio no se conocía del papel desempeñado por los microorganismos. El uso de los microorganismos para extraer cobre tiene sus inicios en la antigüedad, los prerromanos recuperaban plata y los romanos recuperaban cobre de los depósitos localizados en Sevilla, donde más tarde se conoció como Río Tinto el cual obtuvo su nombre del color rojizo producido por la presencia de hierro férrico debido a la actividad de las bacterias quimiolitotróficas (Rawlings, 2002).

Las bacterias quimiolitotróficas son capaces de catalizar la oxidación de algunos sustratos inorgánicos sin embargo la importancia comercial de estas bacterias es durante la oxidación de minerales sulfurados lo que resulta en la recuperación de metales valiosos, se conocen tres mecanismos para explicar el proceso de oxidación de minerales, el mecanismo Directo donde la bacteria se une a la superficie del mineral y cataliza la disolución del mineral, en seguida el mecanismo Indirecto donde la bacteria cataliza la generación y regeneración de hierro férrico que actúa como oxidante y el tercer mecanismo el cual incluye la corrosión electroquímica del mineral, durante la cual, la bacteria actúa como un conductor de electrones desde el sitio de ataque de oxígeno hasta el último aceptor de electrones (Sampson *et al.*, 2000).

#### 4.2 Microorganismos Involucrados en los Procesos Comerciales

Las bacterias de interés comercial, pertenecen al género *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum* y *Sulfolobus*.

***Acidithiobacillus*** Las bacterias de este género fueron primeramente incluidas en el género *Thiobacillus*, pero como un resultado de un estudio de la secuencia del rARN 16S, se incluyeron a las bacterias sulfuro oxidantes que pertenecían a la división  $\alpha$ -,  $\beta$ -, y  $\gamma$ - de las proteobacterias, *Thiobacillus* fue dividido y un nuevo género, *Acidithiobacillus* fue creado para incluir a las bacterias altamente acidofílicas, sus miembros incluyen: *Acidithiobacillus ferrooxidans* anteriormente *Thiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* anteriormente *Thiobacillus thiooxidans*, y *Acidithiobacillus caldus* anteriormente *Thiobacillus caldus* (Kelly *et al.*, 2000).

***At. ferrooxidans*** es una eubacteria Gram-negativa capaz de solubilizar metales a partir de minerales como cobre, uranio y cobalto y descomponer minerales conteniendo oro además de ser capaz de remover metales pesados de los efluentes contaminantes de la industria, para crecer, este microorganismo requiere solo aire el cual utiliza como fuente de carbono (a partir del dióxido de carbono contenido), fuente de nitrógeno y fuente de oxígeno, en un medio líquido con sales básicas, este microorganismo produce compuestos sulfurados a partir de lo cual obtiene su energía, el pH de crecimiento es muy bajo, entre 1.5 y 4.0 (Appia-Ayme *et al.*, 1999), con un óptimo de 1.6 a 2.2 (Opoon *et al.*, 1998) *At. ferrooxidans* utiliza al oxígeno como oxidante y último aceptor de electrones, durante el proceso de oxidación la bacteria fija carbono a través del ciclo de Calvin, *At. ferrooxidans* puede reemplazar el oxígeno como último aceptor de electrones por ejemplo por hierro ferrico, por medio de la inducción de enzimas (Ramirez *et al.*, 2002) aunque su crecimiento se reduce dos veces mas que el crecimiento con oxígeno como oxidante (Shively *et al.*; 1998). Ohmura *et al.* 2002, menciona la posibilidad de que *At. ferrooxidans* pueda crecer anaerobiamente con la utilización de H<sub>2</sub> como donador de electrones.

***At. thiooxidans***, es nutricionalmente similar a *At. Ferrooxidans* excepto que es incapaz de oxidar el hierro ferroso y esta restringido a utilizar solamente compuestos sulfurados como donadores de electrones (Santhiya *et al.*, 2000), su temperatura de trabajo abarca hasta los 40 °C y pH tan bajo como 0.5 *At. Thiooxidans* requiere contacto directo con el mineral para realizar la oxidación (Konishi *et al.*, 1995) *At thiooxidans* es reconocido como extremadamente tolerante a altas concentraciones de ciertos metales, la oxidación de sulfuro elemental por *At. Thiooxidans* es un proceso complejo que incluye el contacto de las células con las partículas sulfuradas, la oxidación de sulfuro a sulfito y la oxidación de sulfito a sulfato (Suzuki *et al.*, 1999).

***At. caldus***, es la bacteria oxidante de sulfuro (S<sup>0</sup>) mas común, aislada de bioreactores de alta temperatura (Dopson *et al.*, 1999), al igual que *At. Thiooxidans*, puede oxidar compuestos sulfurados pero no hierro ferrico, crece en un pH muy bajo, este microorganismo es moderadamente termofílico pues crece en una temperatura optima de 45 °C, *At. Caldus* es la cepa dominante en los procesos que operan de 35 °C a 50 °C, algunas cepas pueden crecer mixotroficamente en extracto de levadura o glucosa (Rawlings, 2002).

***Leptospirillum ferrooxidans***, bajo ciertas condiciones (pH abajo de 1.0, temperatura de 45 a 50°C) *Leptospirillum ferrooxidans* tiene mas importancia que las bacterias del género *Acidithiobacillus* (Dopson *et al.*, 1999, Coram *et al.*, 2002) muchos

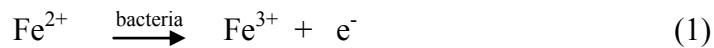
autores mencionan que *leptospirillum* tiene mayor afinidad al fierro que *At. Ferrooxidans*, se ha mostrado que dos procesos determinan la velocidad de reacción de pirita por *Leptospirillum*, la oxidación química de pirita con fierro férrico a sulfato e ión ferroso, y la oxidación de ión ferroso a ión férrico, el género es aerobio estricto (Boon *et al.*, 1999)

### 4.3 Mecanismos de Oxidación

El sulfuro al combinarse con algunos metales forma minerales insolubles, lo cual resulta muy útil en la extracción de cobre, pues el sulfato de cobre que se forma durante la oxidación de las menas de sulfuro de cobre es muy soluble en agua, el ión sulfuro HS<sup>-</sup> se oxida espontáneamente en contacto con la atmósfera, la mayoría de los sulfuros también se oxidan espontáneamente pero a menor velocidad, algunas bacterias sirven como catalizador y aceleran la tasa de oxidación de los minerales que contienen sulfuros ayudando a la solubilización del metal.

Los mecanismos que utilizan las bacterias para catalizar la oxidación de los sulfuros se clasifican de acuerdo a la ayuda del microorganismo en la oxidación, estos mecanismos son determinados por la estructura del mineral (Ramírez *et al.*, 2002).

El mecanismo directo atribuye la oxidación del fierro ferroso y minerales sulfurados a las bacterias, el mecanismo Indirecto promueve la oxidación de sulfuros por el fierro férrico producido por el mecanismo directo, la oxidación de fierro ferroso puede ser descrito por la ecuación (1) (Diaz, 1999).



Sampson, 2000, la define como la oxidación de fierro ferroso y la reducción de oxígeno mediante la ecuación (2):



Este mecanismo de oxidación esta basado en la asociación de fierro ferroso al oxígeno molecular en presencia del citocromo c y citocromo a, los cuales son oxidados y reducidos en forma consecutiva estimulando la transferencia de electrones al oxígeno como aceptor final (Diaz, 1999).

Los mecanismos mas conocidos, el Indirecto y el Directo, pueden ser representados por dos reacciones, para el mecanismo Indirecto la reacción (3)(Soumitro, 1996)

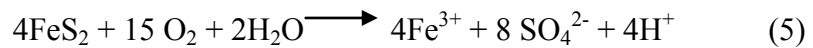


Y para el mecanismo Directo la reacción (4)



Donde MS es el sulfuro metálico bivalente, O es el oxígeno necesario para llevar a cabo la reacción y MSO<sub>4</sub> es el sulfato metálico soluble producto de la oxidación del sulfuro (Flores, 1994).

En forma estequiométrica la oxidación bacteriana de la pirita FeS<sub>2</sub> esta dada por la siguiente reacción (Boon *et al.*,1999)



Que a la vez consiste en dos subprocesos, uno la lixiviación química de hierro férrico de la pirita.

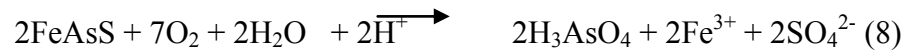


Y la oxidación bacteriana de fierro ferroso a fierro férrico





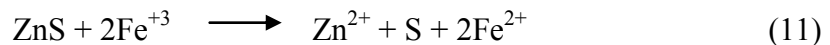
Para la Arsenopirita también se proponen dos mecanismos, el mecanismo Directo (Jones *et al.*,1999):



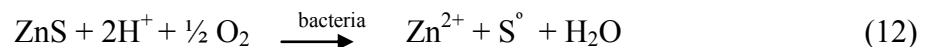
Y el mecanismo Indirecto que incluye la oxidación de hierro ferroso y la oxidación férrica del mineral:



La oxidación bacteriana de esfalerita ZnS esta dada por un mecanismo Indirecto, donde el microorganismo oxida el hierro ferroso y reduce compuestos sulfurados, el hierro ferrico, producto de la oxidación, es un fuerte oxidante capaz de oxidar compuestos sulfurados, este proceso puede ser ejemplificado por las siguientes reacciones (Driessens *et al.*,1999):



También se ha propuesto un mecanismo Directo para la disolución de sulfuro de zinc (ZnS Esfalerita), donde la bacteria es capaz de interactuar directamente con el mineral y acelerar la disolución del mineral, representado por la siguiente reacción (Fowler *et al.*,1998):



La covelita (CuS) junto con la calcocita (Cu<sub>2</sub>S) y la calcopirita (CuFeS<sub>2</sub>) son los más importantes sulfuros de cobre, las siguientes reacciones muestran la disolución de covelita (Monteiro *et al.*, 1999):



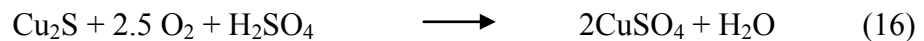
Los productos S<sup>°</sup> y Fe<sup>2+</sup> son oxidados por las bacterias a sulfato y Fe<sup>3+</sup>, ilustrando un ejemplo de mecanismo Indirecto.

Para la calcopirita que es el mineral más importante para la extracción de cobre en el mundo (Third *et al.*, 2000) esta dado por la siguiente ecuación (Konishi *et al.*, 1999):



Debido a que el hierro férrico es automáticamente adicionado por la disolución de la calcopirita, la biolixiviación puede ocurrir por el mecanismo Directo o el Indirecto.

Para la calcocita (Cu<sub>2</sub>S)



En estas reacciones, los poli sulfuros y el azufre elemental son los principales intermediarios.

#### 4.4 Mecanismo a Nivel Citoplasmático

El rendimiento energético de las células que oxidan  $\text{Fe}^{2+}$  se basa en el pH del medio en que viven que es aproximado a 2, el pH dentro del citoplasma de *At. ferrooxidans* es de 6.

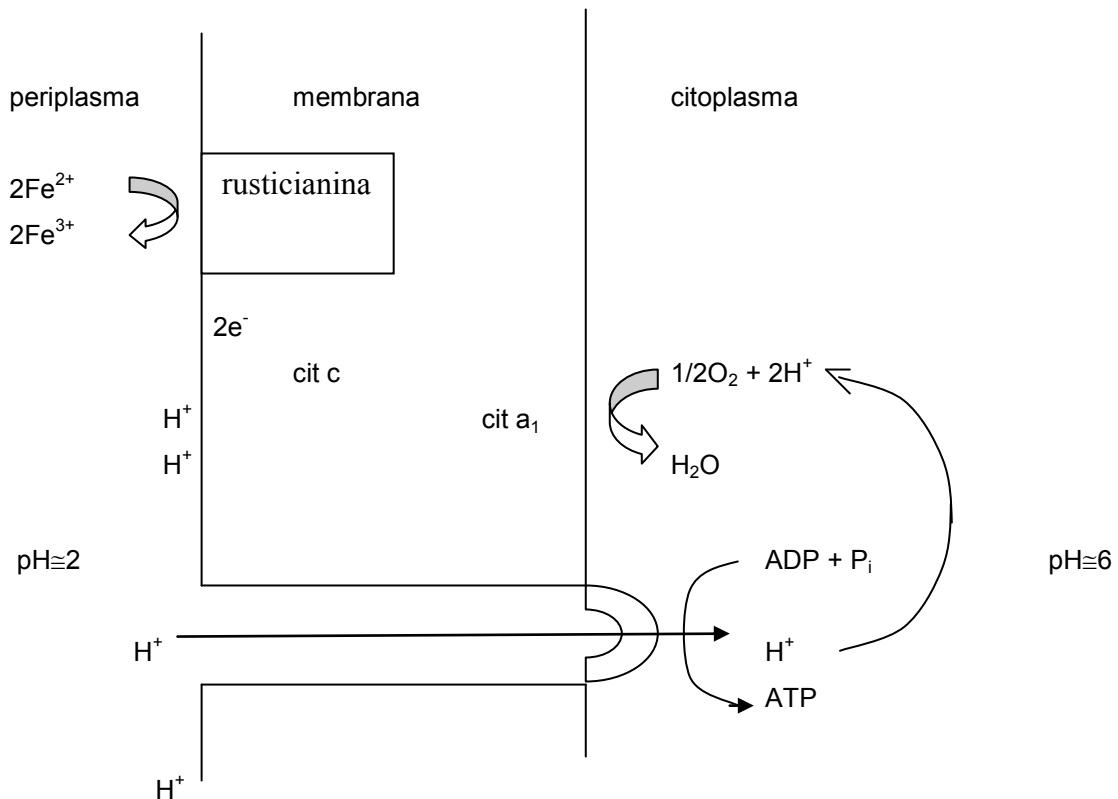


Figura 1. Síntesis de ATP utilizando la oxidación de  $\text{Fe}^{2+}$ , la diferencia de pH entre el exterior y el interior, es utilizada por la ATPasa, el exceso de protones es utilizado para oxidar  $\text{Fe}^{2+}$ .

Lo anterior indica que la concentración de protones en el medio externo es muy superior a la del interior, esto significa que un flujo de electrones hacia el interior, podría generar energía en forma de ATP (adenosil trifosfato), sin embargo, esto modificaría el pH del interior haciéndolo más ácido, de tal manera que la reacción (2) es una reacción que consume protones. En la Figura 1, se muestra que la reacción  $\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+$  tiene lugar en la cara interna de la membrana citoplasmática, y la reacción  $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$  tiene lugar en la cara externa de la membrana.

*At. ferrooxidans*, también es capaz de crecer mixotroficamente, es decir utilizando simultáneamente vías quimiolitautotróficas y quimioorganotróficas, la glucosa, la metabolizaría por la vía de Entner-Doudoroff y de la hexosa monofosfato, como se observa en la Figura 2.

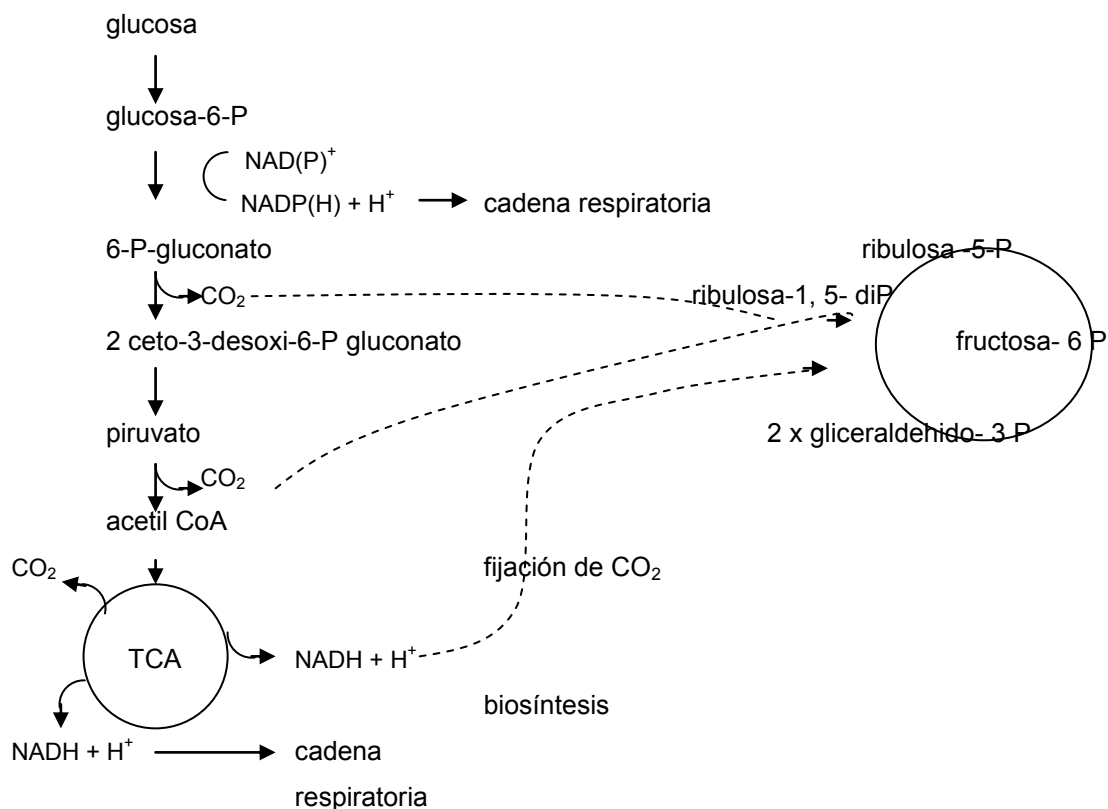


Figura 2. Utilización mixotrófica de glucosa por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, en estas condiciones, la oxidación del hierro está reprimida.

#### 4.5 Procesos Comerciales

El proceso natural de lixiviación produce una acidez muy baja y la solubilización de los metales, el sulfuro al combinarse con muchos metales forma minerales muy insolubles, lo que ocurre en muchas de las menas. Por otro lado si la concentración del metal en la mena es baja, aplicar medios químicos convencionales para concentrar el metal resultaría incosteable, por lo que se utilizan las reacciones que ocurren de forma natural para la recuperación del metal.

El ión sulfuro se oxida en el aire, las bacterias catalizan y aceleran la tasa de oxidación de los minerales que contienen sulfuro, lo que provoca la solubilización del metal, el cual se puede recuperar posteriormente por métodos físicos. La susceptibilidad a la oxidación de los minerales también varía, los que se oxidan más fácilmente, se prestan más a la biolixiviación, las menas de sulfuro de hierro y de sulfuro de cobre como la piritita y la novelita, son biolixiviadas fácilmente, mientras que las de plomo y molibdeno son más difíciles de oxidar.

La biolixiviación es un pretratamiento que se le da al mineral de la mena, posteriormente, seguiría un circuito de cianuración, luego un circuito de tratamiento de aguas residuales y por último presa de jales, el proceso se muestra en el Figura 3 (Rawlings, 2002).

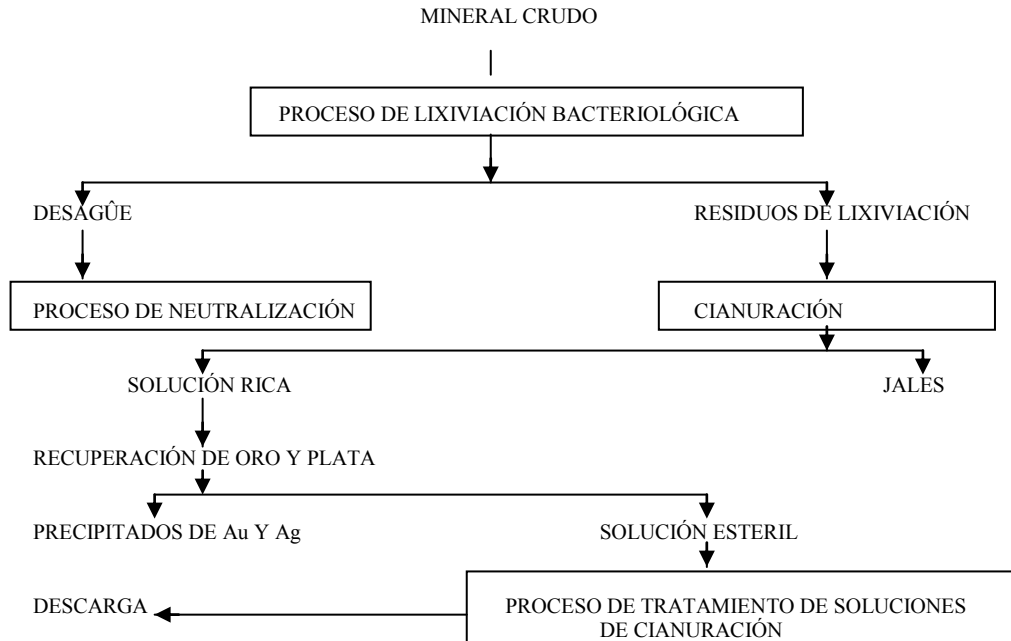


Figura 3. Sistema de tratamiento de menas con oro refractario por biolixiviación.

#### 4.5.1 Heap y Dumps

En el proceso minero, mas utilizado el "heap and Dumps", el número y composición de las bacterias responsables de la oxidación varia con el tiempo, aquí se presenta una diversidad y cambios en las condiciones, que afectan la actividad bacteriana y su supervivencia, incluyendo el pH, la temperatura, potencial óxido-reducción y concentración de solutos (Bruhn *et al.*, 1999) el procedimiento comienza cuando la mena de baja ley se amontona en una pila a través de las cuales se hace pasar una solución de ácido sulfúrico diluido de pH aproximado a 2, se recupera el líquido de la parte inferior de la pila el cual es rico en mineral y se transporta a una planta donde se precipita y purifica, como se muestra en la Figura 4.

Otro proceso para la obtención de hierro oxidante es la planta de precipitado que se usa para recuperar el cobre soluble a partir de la solución lixiviante, se utiliza chatarra de hierro,  $Fe^0$  para recuperar cobre del líquido de lixiviación mediante la reacción que produce bastante cantidad de  $Fe^{2+}$ , en la mayor parte de las operaciones de lixiviación, el líquido rico en  $Fe^{2+}$  es conducido a un estanque de oxidación donde proliferan las bacterias que forman  $Fe^{3+}$ , se añade ácido al tanque para mantener el pH bajo y conservar el  $Fe^{3+}$  en solución, este líquido rico en ión ferrico se bombea a la parte superior de la pila quedando el ión ferrico disponible para oxidar mas mineral con sulfuro.

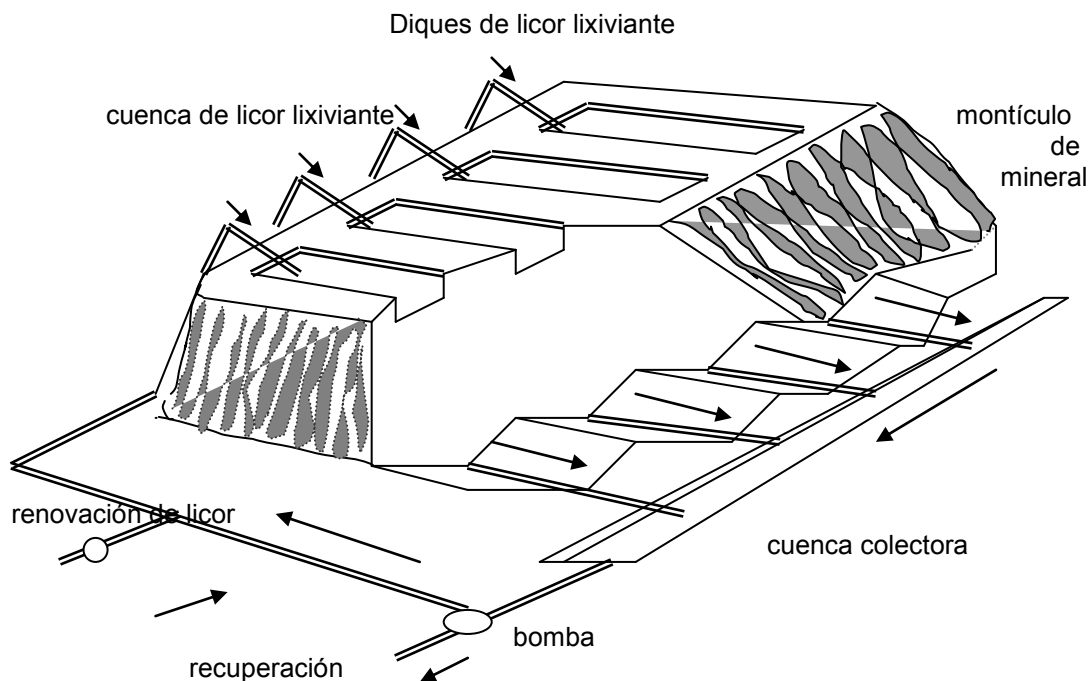


Figura 4. Lixiviación en columna estilo "heap" y "dump" (Flores, 1994).

#### 4.6 Técnicas de Lixiviación microbiana por Tanques Agitados

El percolador Air-lift es una técnica de laboratorio, que consiste en un cilindro de vidrio, metal o plástico lleno con mineral hasta la mitad o cerca de  $2/3$  partes de su capacidad, la solución lixivante es bombeada en la parte superior de la columna y parcialmente saturada con  $O_2$  y  $CO_2$  que utiliza el microorganismo como fuente de carbono y oxidante final, la capacidad de estos equipos es de 200 a 600 g (Flores, 1994).

La biolixiviación en columna simula los procedimientos comerciales de biolixiviación en montones (heap) y terrenos (dump), se trata de cilindros de vidrio, plástico o ductos de drenaje, en las columnas se puede mezclar el mineral a lixiviar con arena lavada u otro material que servirá de soporte.

##### 4.6.1 Reactores

El proceso de hidrometalurgia en reactores es económicamente atractivo cuando las características cualitativas y cuantitativas del producto final justifiquen el gasto de energía, la supervisión, atención y mantenimiento de la planta, así como el tratamiento de efluentes. Los procesos hidrometalúrgicos en reactor toman lugar en tres fases: en una fase acuosa, que es una solución de sales que provee los nutrientes necesarios para que los microorganismos actúen como catalizadores de los procesos de oxidación de los sulfuros metálicos, en segundo lugar, una fase sólida; que consiste en el mineral finamente molido que contiene los metales valiosos mezclados con el mineral de

desecho junto con sulfuros que forman sulfatos, en tercer lugar, una fase gaseosa consistiendo de una mezcla de oxígeno y dióxido de carbono. En la fase acuosa ocurre el crecimiento microbiano y es el medio por el cual los microorganismos se encuentran con las partículas de mineral, también en esta fase acuosa ocurre el encuentro de las partículas sólidas con las moléculas químicamente activas, la liberación de iones metálicos y es aquí donde se logra una distribución uniforme de oxígeno y dióxido de carbono. La fase sólida es la fuente de energía para el crecimiento microbiano y es de donde se libera continuamente el metal y los iones de sulfuro en forma oxidada. La tercera fase es la fase gaseosa que suplementa el oxígeno requerido para los procesos de oxidación así como el dióxido de carbono necesario para la fijación de carbono. Los reactores mas comúnmente utilizados son: el reactor de tanque agitado (Stirred Tank Reactor) STR y el tanque Pachuca (Air Lift Reactor) ALR (Rossi *et al.*, 1999).

#### 4.6.1.1 Reactor de Tanque Agitado

En este reactor el papel más importante lo juega el impulsor el cual cumple con tres tareas: primero, mantener los sólidos en suspensión, en segundo lugar, mezclar y lograr la disolución de oxígeno atmosférico en la fase acuosa y por último maximizar el área interfacial entre la fase gaseosa y la fase acuosa. Por muchos años, el impulsor Rushton (tipo turbina) fue el más utilizado, sin embargo, se comprobó que el impulsor de flujo axial con hoja curvada, requiere menor potencia para lograr el mismo desarrollo que el impulsor Rushton y por otro lado produce menos efectos de corte en la suspensión. Se han sugerido algunos números adimensionales para correlacionar los diferentes tipos de agitadores:

#### Número de Reynolds

$$N_{RE} = \frac{D_i^2 N \rho}{\mu} = \frac{\text{Fuerza de inercia}}{\text{Fuerza viscosa}} = \text{adimensional} \quad (17)$$

Donde:

$N_{RE}$  = Número de Reynolds

$D_i$  = Diámetro de propela (cm)

$N$  = Velocidad de Rotación de propela (1/seg.)

$\rho$  = Densidad del fluido ( $\text{g/cm}^3$ )

$\mu$  = Viscosidad del fluido ( $\text{g/cm seg.}$ )

### Número de Reynolds Modificado

$$N'_{RE} = \frac{D_i^2 N^{2-n} \rho}{0.1 * K} = \frac{n^n}{6 * n + 2} \quad (18)$$

Donde:

$N'_{RE}$  = Número de Reynolds Modificado adimensional

$D_i$  = Diámetro de la propela (cm)

$N$  = Velocidad de rotación de la propela (1/seg.)

$\rho$  = Densidad del fluido ( $g/cm^3$ )

$K$  = Índice de consistencia de flujo ( $g/cm * seg.$ )

$n$  = Índice de comportamiento de flujo

Para la velocidad del impulsor, se utiliza el  $N_{js}$  ó criterio de Zwietering que es un parámetro que indica la capacidad del impulsor para mantener las partículas en suspensión con la menor velocidad (Fangary *et al.*, 2002).

$$\left( \frac{ND^2}{\nu} \right)^{0.1} \left( \frac{N^2 D \rho_l}{g \Delta \rho} \right)^{0.45} \left( \frac{D}{d} \right)^{0.2} = k \left( \frac{T}{D} \right)^\alpha B^{0.13} \quad (19)$$

Número de Reynolds

Número de Froude

Donde:

$D$  = Diámetro de impulsor

$d$  = Diámetro de partícula



T = Diámetro del tanque

Esta expresión remarca la alta relación que existe entre el número de Reynolds, el número de Froude (número adimensional que expresa la relación entre las fuerzas de inercia y de gravedad), la relación de diámetro del impulsor al diámetro de partícula y la relación de diámetro de tanque al impulsor y el porcentaje de “B” que es la relación entre masas líquidas y sólidas en suspensión. Las expresiones entre paréntesis se refieren al sistema físico y pueden ser representadas por Y, el impulsor puede ser caracterizado por su valor dimensional S, k y  $\alpha$  dependen del tipo de impulsor y el ancho de paleta, por lo que el criterio de Zwietering puede ser expresado por:

$$N_{js} = S Y D^{-0.85} \quad (20)$$

Para predecir la potencia del impulsor se utiliza el coeficiente de transferencia de oxígeno que esta calculado por la siguiente ecuación:

$$K_{LA} = f \left[ \left( \frac{P_g}{D_Q^3} \right)^a * (V_s)^b * \left( \frac{B}{6} \right)^{0.8} * \left( \frac{J}{D_i} \right)^{0.3} \right] \quad (21)$$

Donde:

$K_{LA}$  = Coeficiente de transferencia de oxígeno (1/hr.)

$P_g$  = Consumo de potencia por agitación en sistema gaseado (Kg\*m/seg, HP)

$D_Q$  = Volumen de medio de cultivo

$V_s$  = Velocidad superficial del aire (cm/seg)

B = Número de aspas en la propela

J = Ancho de baffles (cm)

$D_i$  = Diámetro de la propela (cm)

Este coeficiente de correlación puede aplicarse a la correlación de Milla:

$$\frac{P_T}{V} = \left( \frac{K_{LA}}{0.10 - 0.0018 \bullet \epsilon} \right)^{1.4925} \frac{1}{V_G^{0.4627}} \quad (22)$$

O a la correlación de Van't Riel

$$\frac{P}{V} = \frac{(K_{LA})^{1.4286}}{0.0001} \frac{1}{V_G^{0.2857}} \quad (23)$$

#### 4.6.1.2 Reactor de Inyección de Aire

Para el Reactor de inyección de aire, tanque Pachuca ó ALR se han desarrollado correlaciones para predecir la potencia requerida y el coeficiente de transferencia de oxígeno. Debido a la sencilla operación del tanque Pachuca también conocido como percolador Air Lift, el coeficiente de transferencia se expresa como:

$$K_{LA} = 0.6 V_G \quad (24)$$

Boon, 1999, propuso la siguiente correlación:

$$K_{LA} = \left( 2.29 \bullet 10^{-2} \frac{Q_G}{V} \right)^{0.66} \quad (25)$$

El tanque Pachuca ha sido utilizado para la extracción de uranio en la India (Mathur, 2000), donde se menciona el uso de una columna con capacidad de 5 Kg., con una presión de aire de 5 Kg./ cm<sup>2</sup>.

#### 4.6.2 Otros Diseños de Reactor

Debido a los problemas inherentes con los procesos biohidrometalúrgicos, como la agitación y la velocidad de transferencia de oxígeno se han sugerido diseños adicionales.

#### 4.6.2.1 Bioreactor Aireado a lo Largo.

Consiste en un tanque rectangular con la base en forma de V, a lo largo del fondo un tubo con perforaciones sirve como difusor de aire (Figura 5), debido a que el diseño con agua da un  $K_{LA}$  de  $0.070 \text{ s}^{-1}$ , pero cae a  $0.012 \text{ s}^{-1}$  cuando se coloca 45 % de sólido, Rossi et al; 1999, sugiere que la aireación es insatisfactoria.

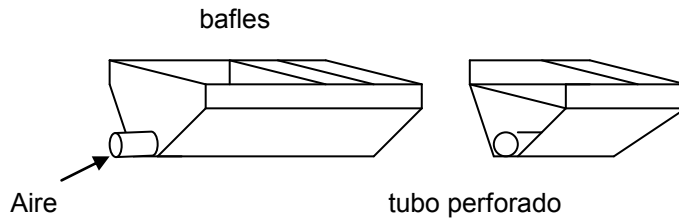


Figura 5. Reactor aireado a lo largo

#### 4.6.2.2 Bioreactor de Baja Energía.

Diseñado con la finalidad de aumentar la velocidad de transferencia de oxígeno sin agregar efectos de corte en la suspensión (Figura 6), consiste de tres componentes: 1.- un tanque, donde se lleva a cabo la lixiviación, un agitador colocado en un tubo interno para disminuir los efectos de corte. 2.- Un dispositivo aereador donde la pulpa es enérgicamente aereada por medio de un tubo venturi y 3.- una bomba para recirculación de pulpa. Este diseño ciertamente, disminuye el gasto de energía, sin embargo la suspensión esta sujeta a fuertes turbulencias y efectos constantes durante el tiempo de residencia en el aereador.

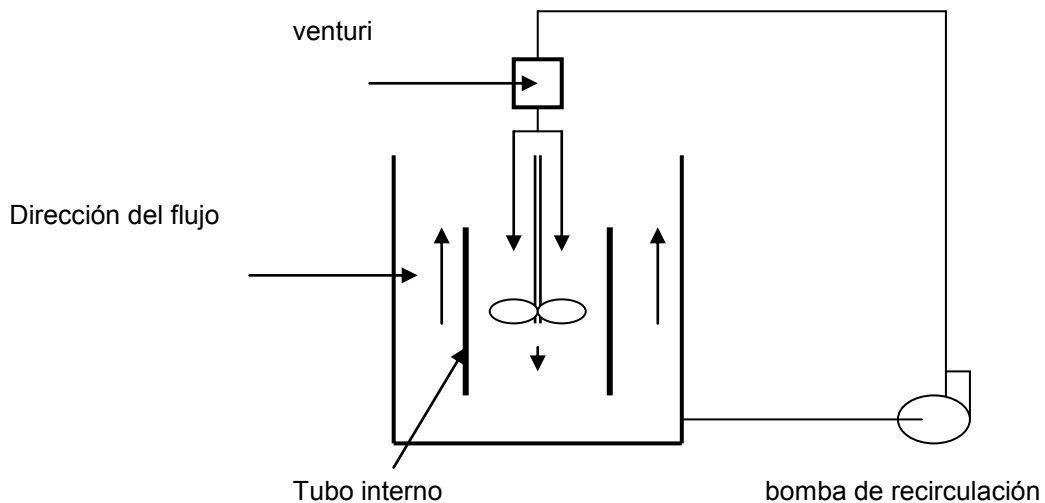


Figura 6. Bioreactor de baja energía

#### 4.6.2.3 Bioreactor de Plato Inclinado Delft.

Consiste de un tanque principal (Figura 7), conteniendo la pulpa cuyos sólidos son mantenidos en suspensión por un agitador inclinado, una bomba de recirculación lleva la pulpa hacia un tanque superior, que alimenta a los platos inclinados. La suspensión fluye a través de estos platos con pendiente hacia el tanque principal, la transferencia de oxígeno se realiza por la entrada de la suspensión en la superficie del tanque principal. La magnitud de la velocidad de transferencia de oxígeno es controlada por la velocidad de flujo, la longitud e inclinación de los platos y por la altura de la caída. La característica mas atractiva de este diseño es la poca potencia que requiere, sin embargo se aprecia los efectos de turbulencia en el diseño del agitador y en la bomba de recirculación.

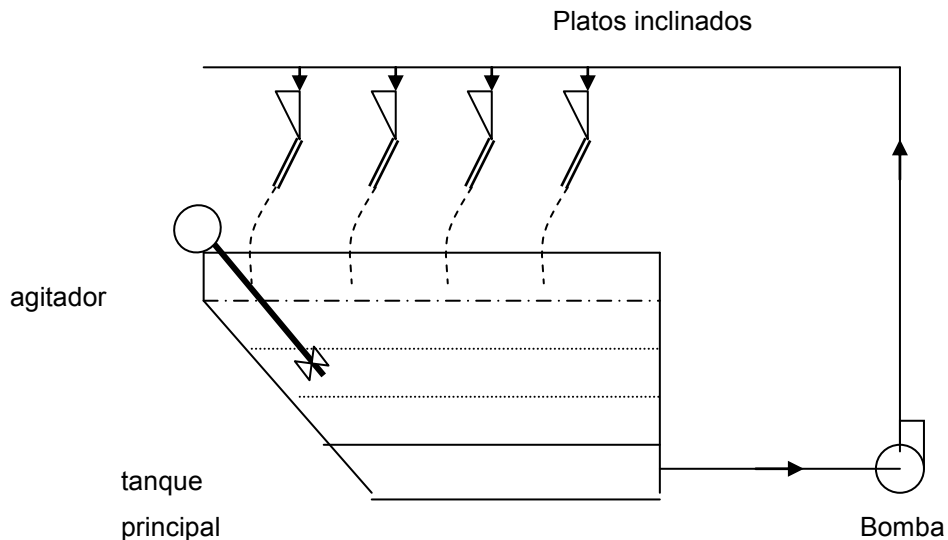


Figura 7. Bioreactor de platos inclinados Delft

#### 4.6.2.4 Biorotor

Bioreactor de tambor revolucionado "Biorotor". El primer prototipo fue diseñado en 1991, pero fue hasta 1993 que fue probado y bautizado con el nombre de "Biorotor". El biorotor (Figura 8), consiste de un barril cilíndrico que en la pared tiene colocados bafles en espacios regulares, cada bafle forma un contenedor donde la pulpa se colecta, la suspensión es puesta en contacto con el aire a través de un tubo en forma de T en la cabeza de alimentación, un tubo colocado en el lado opuesto sirve como salida de aire. A medida que el biorotor gira, levanta la pulpa y la arrastra hacia arriba, cuando llega a la parte superior, la pulpa cae en una película delgada tan alta como el diámetro del

cilindro; la transferencia de oxígeno ocurre durante la caída y cuando la suspensión choca con la superficie de la pulpa en la parte inferior. Este diseño, cumple con los requisitos para un buen reactor de hidrometalurgia: 1.- El mezclado es completo sin puntos muertos 2.- la única turbulencia que se origina es por el choque de la película con la pulpa en la parte inferior 3.- La característica mas interesante es que el oxígeno se encuentra disponible para alcanzar un alto  $K_{LA}$ , de tal manera que los microorganismos se pueden desarrollar en cinéticas de alto crecimiento.

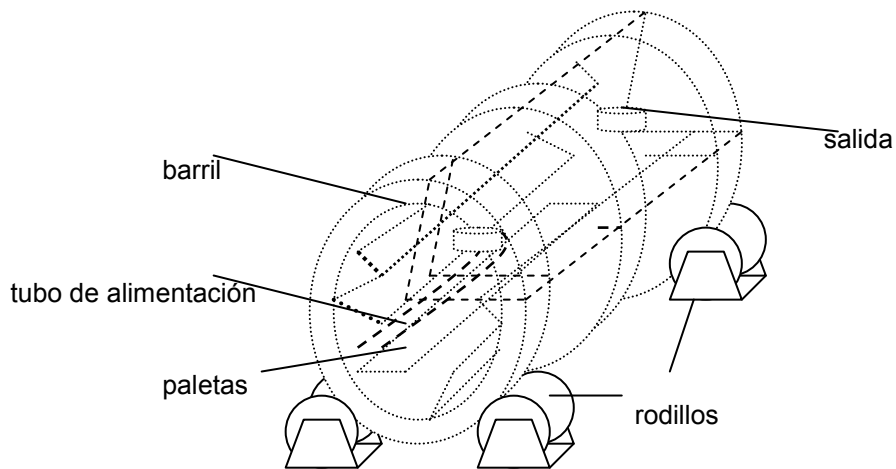


Figura 8. Vista isométrica del Biorotor

El diseño del reactor, tiene por objetivo llevar a efecto la más alta velocidad de oxidación y de solubilización del mineral sulfurado, con tiempos cortos de retención en los tanques y con esto disminuir el consumo de potencia (Loi et al; 1999).

#### 4.7 Factores que Influyen en la Lixiviación Microbiana

Durante la biolixiviación, la cantidad de microorganismos puede cambiar, el pH puede aumentar o disminuir, la temperatura sufre cambios (Varela *et al.*, 1998), la concentración de  $O_2$  y de  $CO_2$  disminuye y la concentración de metales en el medio aumenta, (Stoner et al; 1998). Los parámetros que afectan al proceso de biolixiviación pueden ser (Haddadin *et al.*, 1995):

**Físicos** como fenómenos de adsorción-desorción, densidad de pulpa, tamaño de partícula, agitación y temperatura.

**Biológicos** como velocidad de crecimiento, concentración de células

**Químicos** como pH y composición del medio

## Electroquímicos como potencial óxido -reducción

### 4.7.1 Factores Físicos

#### 4.7.1.1 Adsorción-Desorción.

La adhesión de *At. ferrooxidans* al mineral se ha encontrado que es dependiente de tres factores: tamaño de partícula, tiempo de exposición al mineral y los efectos de agitación durante la incubación (Sampson y Ball, 2000). Los procesos de disolución y oxidación incluyen fenómenos interfaciales entre las bacterias y el mineral (Dziurla *et al.*, 1998). Estos procesos son llevados a cabo principalmente por la unión de las bacterias al mineral, según observaciones realizadas en microscopia de fuerza atómica las bacterias que utilizan el sulfuro, se unen a las superficies hidrofóbicas, las bacterias que utilizan hierro II y sulfato, se adhieren a las superficies negativamente cargadas, es decir los efectos de cargas afectan la adhesión de las bacterias a las partículas de mineral (Gehrke *et al.*, 1998). Dziurla *et al.*, 1998, encontraron que el mineral puede inducir modificaciones en la expresión de componentes de la superficie bacteriana de *At. ferrooxidans*. Por otro lado, en los reactores biológicos, donde las bacterias están suspendidas en un medio acuoso, las condiciones de contacto entre microorganismos y partículas son muy diferentes a las que ocurren en medio sólido (Gourdon *et al.*, 1998).

En medio acuoso, cerca del 90 % de las bacterias son adsorbidas en los primeros 2 minutos después de la inoculación, la velocidad de oxidación de minerales puede ser aumentada al mejorar el coeficiente de adsorción y disminuyendo el coeficiente de desorción; la velocidad de oxidación esta influenciada por el número de bacterias unidas a la partícula de mineral (Haddadin *et al.*, 1995).

#### 4.7.1.2 Densidad de Pulpa y Tamaño de Partícula.

La concentración de sólidos constituye uno de los parámetros mas importantes del proceso de biolixiviación, este parámetro, define el tamaño del equipo de biooxidación, se ha determinado que la concentración de sólidos en suspensión afecta a los requerimientos de oxígeno, disponibilidad de nutrientes y efectos de agitación; que podrían limitar la eficiencia de la biolixiviación (d'Hugues *et al.*, 1999).

Gómez *et al.*, 1999, reportan un decremento en la velocidad de biolixiviación y extracción de cobre en concentraciones de pulpa de 10, 15 y 20 %, mientras que Haddadin *et al.*, 1995 reporta que a un 10 % de concentración de sólidos se obtiene la velocidad máxima de crecimiento, coincide en que a una concentración del 25 % la velocidad de oxidación se retarda, este retardo pudiera ser provocado por efectos de corte, aglomeración de partículas, disminución de la solubilidad y transferencia de nutrientes gaseosos, se ha encontrado que un 12 % de densidad de pulpa peso/volumen da un rendimiento optimo en disolución de antimonio.

El tamaño de partícula, esta directamente relacionado con el área superficial total y específica de biolixiviación del mineral, el tamaño de partícula, afecta la velocidad específica de crecimiento de las bacterias, hasta ciertas dimensiones, por abajo de 0.2 micrones, se ve afectada drásticamente la actividad de las células (Nemati *et al.*, 1999). La interacción de las bacterias con el mineral esta directamente relacionada con el tamaño de partícula, estudios en calcopirita, han mostrado que partículas grandes, producen una mayor velocidad de biolixiviación debido a una más eficiente unión entre la bacteria y el mineral, numerosas técnicas se han utilizado para investigar aspectos del

fenómeno de fijación entre bacteria y partícula como: técnicas espectrofotométricas, fijación de C14, microscopia de escáner electrónico, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) que mide a las bacterias en la fase líquida y las bacterias adheridas al mineral, etc. (Sampson y Ball, 2000). Fowler *et al.*, 1999, encontró que la velocidad de disolución de sulfuro de zinc por *At. ferrooxidans*, está directamente relacionado con las reacciones que ocurren en la superficie de la partícula de mineral, mas de lo que ocurre de forma indirecta.

#### 4.7.1.3 Temperatura

Por lo general a mayor temperatura, mayor es la velocidad de biolixiviación, sin embargo se encuentran límites específicos para diferentes microorganismos, la temperatura donde se registra actividad varía de 4 a 37 °C para *At. ferrooxidans*, una temperatura baja, condiciona a la bacteria a un periodo de adaptación muy largo, por arriba de los 16 °C, la solubilización del mineral se realiza en su totalidad (Ahonen *et al.*, 1991), *At. thiooxidans* se encuentra activo a temperaturas por arriba de 40 °C (Santhiya *et al.*, 2000) *At. caldus*, se ha encontrado en bioreactores operando entre 40 °C y 50 °C (Dopson *et al.*, 1999) *Leptospirillum ferrooxidans*, requiere temperaturas mayores de 40 °C. Coram *et al.*; 2002, reporta bacterias de *Leptospirilla* en plantas operando a 45 °C y menciona un reporte de *L. thermoferrooxidans* creciendo en 55°C. Para los procesos de alta temperatura (65 a 80 °C) se ha reportado el uso de bacterias termofílicas como *Sulfolobus acidocaldarius*, *Sulfolobus metallicus*, *Acidianus brierleyi* y *Metallosphaera sedula* (Nemati *et al.*, 2000).

La temperatura óptima es dependiente del pH del medio, a un pH bajo, la temperatura óptima de crecimiento también decrece (Haddadin *et al.*, 1995).

#### 4.7.1.4 Agitación

En los procesos de tanque agitado, las partículas de mineral son suspendidas en solución acuosa, las condiciones de contacto entre estas partículas y los microorganismos, son muy diferentes a las que se encuentran en las minas, de la misma manera, la velocidad de oxidación de los minerales por los microorganismos, es mayor y más significativa en los reactores agitados que en los procesos a cielo descubierto, por otro lado, las bacterias unidas a la superficie del sólido, se encuentran en un equilibrio de adsorción y desorción con las bacterias en suspensión de la fase líquida (Gourdon *et al.*, 1998), debido a que la mayor parte de la oxidación de los minerales se realiza por el mecanismo directo (Toniazzo *et al.*, 1999), donde el microorganismo se une al mineral, la distribución del mineral dentro de un reactor agitado, juega un papel crucial en el proceso de biolixiviación (Dziurla *et al.*, 1998). Toniazzo *et al.*, 1999, menciona que la cinética microbiana es mejorada cuando se favorece el contacto entre la bacteria y el mineral. Por otro lado, la cantidad de sólidos en suspensión afecta el  $K_L a$  o velocidad de transferencia de oxígeno (Sato *et al.*, 2000).

### 4.7.2 Factores Químicos

#### 4.7.2.1 pH

*Acidithiobacillus ferrooxidans*, es estrictamente acidofílico, crece en soluciones con hierro a un margen de pH de 1 a 4, con un crecimiento óptimo en 2, el aumento en el pH ocasiona disolución de la membrana celular y lisis de la célula (Haddadin *et al.*, 1995).

La forma en que se encuentra el hierro en la naturaleza, depende mucho del pH, debido al alto potencial del par  $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$  que es de + 0.77 V, justo abajo del par de  $\frac{1}{2} \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$  que es de 0.82 V en pH = 6 y 1.23 en pH = 0 del tal manera que se produce mas energía a pH mas bajo (Parés *et al.*, 1997). El único aceptor de electrones que puede oxidar el fierro ferroso, es el oxígeno, a pH neutro, el fierro ferroso se oxida espontáneamente a férrico en contacto con el aire. Debido a que el producto de la oxidación de sulfuros es ácido sulfúrico, el medio, llega a tener un pH muy bajo y los microorganismos que ahí crecen, son acidofílicos, la mayoría crece en el margen 1.5 a 2.0; esto le da una característica especial a los procesos de biooxidación. Ya que a pH tan bajo solo pueden crecer acidofílicos, como los utilizados para biolixiviar, el medio no es estéril y no se trata de esterilizar, por otro lado, el proceso suele tener las condiciones para que los microorganismos mas competentes para descomponer el mineral, sean los que prevalezcan (Rawlings, 2002). También el pH afecta la adhesión de las bacterias con el mineral, debido a que tanto la bacteria como el mineral cambian su carga superficial con el pH de la solución (Zheng *et al.*, 1999).

La velocidad de consumo de oxígeno es afectada dentro de los límites críticos (pH 1.4 a 3.5), pero el consumo permanece relativamente constante dentro de un margen de pH de 1.5 a 2.5, *Acidithiobacillus ferrooxidans* de American Type Culture Collection muestra un consumo optimo de oxígeno a pH 1.7 (Sampson *et al.*, 1999), *At. thiooxidans* utiliza sulfuro elemental y compuestos de sulfuro reducidos como substratos a un pH tan bajo como 0.5, para *Lepstospirilla*, el pH se encuentra por abajo de 1 (Coram *et al.*, 2002).

#### 4.7.2.2 Composición del Medio.

La disponibilidad de oxígeno en la lixiviación microbiana es un factor muy importante, el oxígeno es utilizado por *Acidithiobacillus ferrooxidans* como oxidante y último aceptor de electrones, durante el proceso de oxidación *At. ferrooxidans* creciendo en fierro ferroso, utiliza una cadena transportadora de electrones mediante una reacción doble (ecuación 2, 7 y 10): la oxidación de fierro ferroso y la reducción de oxígeno. Es evidente que la reacción consume oxígeno, iones hidrógeno y fierro ferroso y produce agua, fierro ferrico y energía para la fijación de  $\text{CO}_2$  y crecimiento celular. Durante la oxidación de fierro ferroso, el oxígeno es consumido por la bacteria, la velocidad de consumo de oxígeno ( $V_o$ ) puede ser determinada por la ecuación (26), de Michaelis-Menten:

$$v_o = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m} \quad (26)$$

donde:

$v_o$  = velocidad de consumo de oxígeno

[S] = sustrato

$K_m$  = constante de Michaelis-Menten



El oxígeno es oxidado fuera de la membrana celular a pH de  $\approx 2$  mientras que la reducción del oxígeno ocurre en el interior de la célula a pH de 6.5 (Sampson *et al.*, 1999).

*Acidithiobacillus ferrooxidans*, es un autótrofo obligado que fija carbono por medio del ciclo de Calvin, la enzima Ribulosa bifosfato carboxilasa-oxigenasa (RuBp carboxilasa) es la principal enzima en el ciclo de Calvin. La actividad específica de esta enzima se incrementa 4 veces cuando la concentración de CO<sub>2</sub> es el doble de la concentración en el aire, sin embargo la actividad se reduce cuando la concentración es de 5.4 %. Se reporta un óptimo de concentración de CO<sub>2</sub> del 0.2 % para la producción de uranio y zinc (Haddadin *et al.*, 1995).

La bacteria también necesita tener fuente de nitrógeno, fosfato, sulfato y manganeso, disponibles como componentes esenciales para su crecimiento, la acumulación de productos como iones de metales pesados en una concentración alta inhiben la actividad bacteriana y pueden provocar la formación de productos hidrolíticos insolubles

### 4.7.3 Factores Electroquímicos

#### 4.7.3.1 Potencial Oxido-Reducción

El potencial óxido-reducción indica el equilibrio entre iones en un sistema electroquímico, la medición de este parámetro, durante la oxidación de fierro ferroso es una técnica para medir la actividad química de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, para este fin se utiliza la ecuación de Nernst (27):

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \left[ \frac{Fe^{3+}}{Fe^{2+}} \right] \quad (27)$$

donde:

E = potencial de la solución, en voltios

E<sub>0</sub> = potencial estándar del par Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> en Voltios

R = constante universal de los gases kJK<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>

T = temperatura absoluta en °K

n = número de electrones transferidos por molécula

F = Constante de Faraday kJ V<sup>-1</sup>

[Fe<sup>3+</sup>] = concentración molecular de ión ferrico, kmol m<sup>-1</sup>

[Fe<sup>2+</sup>] = concentración molecular de ión ferroso, kmol m<sup>-1</sup>

De la ecuación (27) se deduce que durante la oxidación de hierro ferroso, debido al incremento de hierro ferrico, el potencial de la solución tiende a aumentar (Nemati *et al.*,1996) por lo que el potencial óxido-reducción puede ser aplicado para la determinación del índice de ión ferrico / ión ferroso (Boon *et al.*,1999).

Durante la oxidación bacteriana de hierro ferroso, (utilizado para la obtención de energía) el potencial óxido-reducción de la solución se hace más positivo debido al aumento de hierro ferrico. En reactores agitados de operación continua, un estado estable es alcanzado en el cual el potencial óxido-reducción permanece casi constante y alto, bajo estas condiciones la capacidad de *At. ferrooxidans* para oxidar el hierro ferroso es fuertemente afectada por la presencia de hierro férrico (Rawlings *et al.*,1999)

#### **4.7.4 Factores Biológicos**

##### **4.7.4.1 Velocidad de crecimiento.**

Los microorganismos que se utilizan en los procesos de biolixiviación tienen tiempos de duplicación que van desde las 20 hasta las 70 horas (Medrano *et al.*; 2000). La biooxidación de minerales por consorcio de bacterias ocurre a una velocidad mayor de la que lo harían las cepas puras, por otro lado, *At. ferrooxidans* acelera la velocidad de oxidación de hierro ferroso de  $10^3$  a  $10^6$  veces, comparado con la reacción química originada por el oxígeno disuelto (Rawlings *et al.*,1999).

La velocidad de crecimiento esta directamente influenciada por la temperatura, a una temperatura baja (4 °C), la velocidad máxima se alcanza en varias semanas, mientras que a temperaturas altas (37 °C) se alcanza en algunos días (Ahonen *et al.*,1991).

Por lo regular las cepas de bacterias biolixiviantes son propagadas en medios sintéticos pero cuando son inoculadas en mineral la fase Lag se extiende indicando que a las bacterias no les agrada el cambio (Sampson *et al.*,2000)

##### **4.7.4.2 Concentración de Células.**

Después de inocular los tanques de fermentación, la población bacteriana crece a un nivel el cual es mantenido por las condiciones y la cantidad del mineral sulfurado, la población se mantiene a un nivel suficiente para asegurar el recubrimiento de cualquier superficie de mineral sulfurado nuevo que venga a estar disponible, sin reducir la velocidad de solubilización del mineral y sin disminuir severamente el número de células (Medrano *et al.*,2000).

En los procesos de biolixiviación se encuentra cierta dificultad para medir la concentración de células, o realizar estimaciones de biomasa relacionada con el contenido de proteína debido a la presencia de carbonatos y iones presentes en el medio (Flores, 1994), un balance entre el estado de reducción y la medición de la velocidad de consumo de oxígeno y dióxido de carbono se ha utilizado para la medición bacteriana (Breed *et al.*,1999).

#### **4.8 Modelos para la Biolixiviación**

Las concentraciones de células y sustratos pueden ser estimadas por medio de modelos matemáticos, un modelo surge de la observación de un fenómeno, este se representa con una serie de símbolos que lo explican y predicen lo que ocurrirá, si las condiciones lo permiten, se pueden manipular las variables para esperar una respuesta conocida (López de Medrano, 1986).

Existen muchas referencias de modelos matemáticos en biotecnología. Los primeros modelos que se propusieron, eran muy generales, basados en el crecimiento de microorganismos y carecían de necesidades para situaciones específicas, actualmente existen muchos modelos para explicar la lixiviación microbiana (Nemati *et al.*, 1997)

Los modelos matemáticos pueden ser tan sencillos como el propuesto por Biagiola *et al.*; 2001, que considera el comportamiento dinámico del proceso con respecto a crecimiento microbiano y consumo de sustrato:

$$\frac{dx}{dt} = \mu_x x \quad (28)$$

$$\frac{ds}{dt} = \mu_s x \quad (29)$$

donde:

x es el crecimiento microbiano

s es el sustrato

$\mu_x$  es la velocidad específica de crecimiento

$\mu_s$  es la velocidad específica de consumo de sustrato

La mayoría de los modelos matemáticos, son modificaciones de la ecuación de Monod (ecuación 30), para la velocidad de crecimiento microbiano:

$$\mu = \mu_m \frac{|S|}{K_s + |S|} \quad (30)$$

donde:

$\mu$  = velocidad específica de crecimiento

$|S|$  = concentración de sustrato limitante

$K_s$  = constante

Haddadin et al; 1995, ha propuesto tres categorías para los modelos de biolixiviación, esta clasificación, toma en cuenta el balance de masas en el sistema. La clasificación es la siguiente:

1. reactores bien agitados, tomando en cuenta solo la fase líquida
2. reactores bien agitados, tomando en cuenta la fase líquida y sólida
3. reactores no ideales, o reactores de biopelícula

#### 4.8.1 Modelos de Reactores Bien Agitados. Tomando en cuenta solo la fase líquida (Haddadin *et al.*,1995).

##### 4.8.1.1 Modelo de Kumar y Gandhi.

El modelo es una expresión de cinética de crecimiento que toma en cuenta varios factores:

- la oxidación del hierro ferroso
- la muerte bacteriana por inhibición de hierro ferrico,
- la presencia de un pH óptimo y el efecto de la variación
- la precipitación de hierro ferrico.

$$\mu = \frac{\mu_{mo} \cdot \exp[-k_1(pH - pH_o)^2] Fe^{2+}}{k_1 + Fe^{2+}} \quad (31)$$

donde  $pH_0$  es el pH óptimo para *At. ferrooxidans* y  $\mu_{mo}$  es la velocidad específica máxima óptima de crecimiento ( $h^{-1}$ ). Este es un modelo simple del tipo Monod que evalúa la evolución del pH y sus efectos en la velocidad de oxidación.

##### 4.8.1.2 Modelo Lacey y Lawson.

En este modelo, se asume la presencia abundante de oxígeno, dióxido de carbono y otros nutrientes, aquí, la disponibilidad de hierro ferroso limita la velocidad de crecimiento de la bacteria y es el único factor limitante. El modelo esta diseñado para la velocidad específica de crecimiento en cultivo por lote dada por:

$$\frac{dX_T}{dt} = \frac{\mu_m \cdot Fe^{2+}}{K_S + Fe^{2+}} X_r \quad (32)$$

Esta expresión asume que hay una relación entre la velocidad específica de crecimiento y la oxidación de hierro ferroso.

## 4.8.2 Modelos para Tanque Bien Agitado. Tomando en cuenta la fase líquida y/o fase sólida (Haddadin *et al.*, 1995)

### 4.8.2.1 Modelo de Blancarte-Zurita y Branion.

El modelo describe la lixiviación de metal a partir de minerales sulfurados, también toma en cuenta los efectos del tamaño de partícula durante la disolución de cobre, hierro y zinc a partir de su fuente.

Hace las siguientes suposiciones:

1. La densidad de las partículas, la forma de la partícula y el número de partículas por unidad de volumen, permanecen constantes.
- 2.- El tamaño de partícula comienza a decrecer en forma simultánea a la lixiviación.

El modelo expresa que la velocidad de disolución de una partícula simple, puede ser expresada como sigue:

$$-\frac{dM}{dt} = -3 \alpha \rho dD_p^2 \frac{d(dD_p)}{dt} \quad (33)$$

donde: M es la masa de la partícula y  $dD_p$  es el diámetro de la partícula.

Este modelo, presenta un enfoque relevante para estimar el decremento del tamaño de partícula durante el proceso de biolixiviación, pero carece de aspectos microbianos.

### 4.8.2.2 Modelo de Konishi y Katoh

A partir de sus datos, Konishi y Katoh mencionan que la disolución de la pirita por las bacterias, es tan baja como lo es la adhesión de las bacterias a la superficie del mineral y concluyen que el equilibrio de adhesión microbiana siempre se establece durante el proceso de disolución. Aquí se asume que el crecimiento de *At. ferrooxidans* puede darse tanto en la fase líquida como en la fase sólida de la pirita.

El crecimiento, la adsorción y desorción de bacterias, puede ocurrir simultáneamente durante el proceso de disolución. La velocidad de crecimiento de las bacterias adsorbidas es proporcional a la producción de células adsorbidas y a la fracción de superficie que no es ocupada por las bacterias. El modelo está dado por la siguiente expresión, que relaciona la velocidad de disolución con el crecimiento de bacterias adheridas al mineral:

$$\frac{rX_a}{Y_{X4/S}} = \left( \frac{1}{V} \right) \left( \frac{dW}{dt} \right) \quad (34)$$

donde:

$rX_a$  = velocidad de crecimiento de bacterias adheridas al mineral

$y_{X4/S}$  = producción de bacterias adsorbidas en crecimiento

$V$  = volumen de la mezcla sólido-líquido

$W$  = peso de la partícula sólida en cualquier momento

El modelo es un enfoque matemático de la ecuación de Langmuir, que toma en cuenta los procesos de adsorción y desorción de la bacteria, este modelo no toma en cuenta a los limitantes e inhibidores para el crecimiento bacteriano o la velocidad de oxidación por factores macro y micro ambientales.

#### 4.8.2.3 Modelo de Sanmugasunderam y Branion.

El modelo desarrollado es aplicable a los procesos continuos de *At. ferrooxidans* en concentrado de sulfuro de zinc, se asume que:

1. La adsorción de la bacteria a la superficie sólida es necesaria para la biolixiviación
2. La oxidación del fierro ferroso es despreciable

Se establecieron postulados para bacterias fijas y bacterias libres:

1. La velocidad de la adsorción bacteriana es proporcional al número de bacterias libres y al área superficial libre.
2. La velocidad de desorción bacteriana es proporcional a la concentración bacteriana en la superficie.

El modelo esta expresado para el número de bacterias adsorbidas  $X_A$ :

$$X_A = \frac{(A + X_T \theta + k) \pm \left[ (A + X_T \theta + K)^2 - \theta X_T A \right]^{1/2}}{2\theta} \quad (35)$$

donde:

$A$  = concentración en el área superficial

$\theta$  = área superficial ocupada por la bacteria

$K$  = índice entre la  $k$  de desorción y la  $k$  de adsorción

$X_T$  = número de bacterias libres

#### 4.8.2.4 Modelo de Hanson.

El modelo que propone, predice la velocidad de disolución de concentrado de calcopirita, para procesos mas allá de la precipitación de jarosita, hace varias suposiciones para ayudar a predecir la velocidad de disolución:

1. El crecimiento bacteriano, sigue la ecuación cinética de Monod
2. La transferencia de masa, oxígeno y nutrientes no son factores limitantes
3. Un cierto número de bacterias se adsorbe en la superficie de la partícula

El modelo es una expresión que une la velocidad de crecimiento microbiano  $dX_T/dt$  a la producción de bacterias adsorbidas en crecimiento  $y_{X4/S}$

$$dX_T/dt = \mu_m X \left[ \frac{(1 - K_b)}{K_S + [Fe^{2+}]} \right] [Fe^{2+}] + K_b \quad (36)$$

donde:

$K_b$  = coeficiente de partición entre células libres y células absorbidas

$$r_{\text{calcopirita}} = \frac{\mu_m X_A}{Y_{X4/S}} \quad (37)$$

donde:

$Y_{X4/S}$  = producción de bacterias creciendo en sustrato (calcopirita)

Por lo anterior, las bacterias libres oxidando el fierro ferroso a fierro férrico esta expresado por la siguiente ecuación:

$$r_{Fe^{2+}} = \frac{\mu_m X_F [Fe^{2+}]}{Y_{x4/Fe^{2+}} ([Fe^{2+}] + K_S)} \quad (38)$$

Este modelo toma en cuenta la inhibición por fierro férrico, pero no toma en cuenta la precipitación de jarosita, y tampoco toma en cuenta los efectos provocados por la acumulación de altas concentraciones de iones metálicos.

#### 4.8.2.5. Modelo de Myerson & Kline y Chang & Myerson.

En este modelo, se estudia la lixiviación continua de sulfuro pirítico a partir de carbón, aquí se modeló la velocidad de biolixiviación para expresarla en términos de velocidad de adsorción y concentración bacteriana en solución.

$$r_{\text{pirita}} = \frac{\mu_A X_A A}{Y_{X4/S}} \quad (39)$$

Para construir el modelo se tomo la velocidad de adsorción de *At. ferrooxidans* en la superficie de carbón con una cinética de segundo orden:

$$dX_F/dt = -K_A [X_F] [A] \quad (40)$$

donde:

$$A = \frac{\theta_0}{V}$$

También, la concentración bacteriana en la solución, que puede ser determinada como la diferencia entre la concentración inicial de la solución  $[X_F]_0$  y la concentración de la bacteria unida a la superficie de la partícula  $[X_A]$  expresadas por las siguientes ecuaciones.

$$[X_F] = [X_F]_0 - [X_A] \quad (41)$$

$$[X_A] = [A]_0 - \theta [X_A] \quad (42)$$

Después de sustituir la ecuación 17 y 18 en la ecuación 16, se reorganiza y se integra para obtener el modelo propuesto:

$$K_{At} = \frac{1}{[A]_0 - \theta [X_F]_0} \ln \left[ \frac{[X_F]_0 ([A]_0 - \theta [X_A])}{[A]_0 ([X_F]_0 - [X_A])} \right] \quad (43)$$

donde:

$K_A$  = constante cinética experimentalmente determinada para diferentes tipos de carbón

Este modelo matemáticamente representa la relación entre bacterias adheridas y bacterias libres.

#### 4.8.2.6 Modelo de Kargi y Weissman & Myerson.

Este modelo determina la influencia de parámetros físicos y biológicos en la desulfuración de carbón. Se hacen las siguientes suposiciones:

1. La distribución de la pirita es uniforme en las partículas de carbón
2. El tamaño de las partículas es uniforme
3. Las bacterias utilizan el mecanismo directo
4. Las bacterias unidas a la superficie libre de la pirita, es insignificante
5. El reactor es bien agitado, aireado con enriquecimiento con  $CO_2$
6. El pH y la temperatura son controlados

Un balance de masa de bacterias unidas y bacterias libres y la concentración de sustrato en partículas de carbón, fueron la base para este modelo.

Los elementos del modelo son:

- a) La oxidación del sustrato depende de la superficie de la partícula ( $r \theta_0$ ) y el volumen de mezcla en reacción ( $r_v$ ), caracterizados por el porcentaje de pulpa en el medio ( $\rho_p$ ), la densidad del carbón bituminoso ( $\rho_t$ ) y el diámetro de la partícula ( $D_p$ ), dada por la siguiente relación:



$$-r_v = -(r\theta_0) \frac{6}{D_p} \frac{\rho_p}{\rho_t} \quad (44)$$

b) La velocidad de oxidación del sulfuro pirítico, da un coeficiente de rendimiento expresado por:

$$Y_{X4/S} = \frac{(X_T - X_{T0})}{N^0 (S_{pirita}^0 - S_{pirita}) V_p} \quad (45)$$

donde:

$V_p$  = volumen de una partícula simple de carbón bituminoso

$X_{T0}$  = concentración inicial de bacterias

$S_{pirita}^0$  = concentración inicial de sustrato

$N^0$  = número de partículas de carbón por unidad de volumen

$X_T$  = número total de bacterias por unidad de volumen de mezcla

Para expresar el modelo, se utiliza la siguiente ecuación que reúne los parámetros anteriores:

$$X_T = \rho_p Y_{X4/S} \frac{S_{pirita}^0}{\rho_t} + X_{T0} \quad (46)$$

Este modelo es el que mejor representa al proceso de biolixiviación, ya que reúne factores biológicos y aspectos físicos, además, este modelo puede ser utilizado como una base para la evaluación económica del proceso de desulfuración y su comparación con los procesos industriales.

#### **4.8.3 Modelos de Reactores no-ideales o Reactores de Biopelícula (Haddadin et al., 1995)**

Este tipo de reactores han sido utilizados para el tratamiento aerobio de aguas residuales

##### **4.8.3.1. Modelo de Wichlaez y Unz.**

El modelo desarrollado, describe la oxidación del hierro ferroso y el crecimiento de bacterias oxidativas unidas al disco de un contactor biológico rotativo.

Las bases de este modelo son:

1. No hay problemas de difusión ni transferencia de masa
2. La bacteria se encuentra en la superficie acuosa del disco
3. La difusión del sustrato esta libre
4. Hay perfecta agitación del sustrato
5. La bacteria es la responsable del decremento en la concentración de hierro ferroso
6. La mayor parte de la oxidación del sustrato ocurre por la adhesión de la bacteria mas que por las bacteria en la fase acuosa.
7. La muerte de microorganismos es despreciable comparada con la división bacteriana

La expresión del modelo se ha utilizado para estimar la velocidad de oxidación de hierro ferroso:

$$r\text{Fe}^{2+} = \frac{P \cdot [\text{Fe}^{2+}]}{K_s + [\text{Fe}^{2+}]} \quad (47)$$

donde:

$r\text{Fe}^{2+}$  = es la cantidad de hierro oxidado por  $\text{h cm}^2$

P = constante de capacidad de área

La constante de capacidad de área, puede ser modificada por la concentración de hierro ferroso y el  $K_s$ . Este modelo carece de aspectos físicos y su relación con aspectos biológicos

#### 4.8.3.2. Modelo de Karamaney.

El modelo describe la estructura de una película de *At. ferrooxidans*, refiriéndose a película como la asociación entre microorganismos, compuestos extracelulares polisacáridos y soporte de sólidos inertes.

Se hacen algunas suposiciones:

- La adhesión del microorganismo, se realiza en la superficie de una sustancia porosa inerte, la cual forma el soporte para la bacteria.
- La presencia de los microorganismos en la superficie, origina una sola capa. Gourdon, 1998 demostró que no se forma una película o "biofilm".
- durante la división celular, una célula continúa unida a la superficie, mientras que otra la abandona y emigra a la fase acuosa.
- El volumen de la mezcla es constante
- La velocidad de acumulación de biopelícula es no significativa comparada con la velocidad de crecimiento celular.
- Las células en fase acuosa y fase sólida, utilizan el mismo sustrato, forman el mismo producto y tiene la misma velocidad de crecimiento.

El modelo representa a las bacterias que se encuentra en el reactor:

$$X_F = Y_{X/F\text{e}^{2+}} [\text{Fe}_0^{2+} - (-\beta - \sqrt{\beta^2 - 4DFe_0^{2+}K_s[\mu_m - D]})/2(\mu_m - D)] \quad (48)$$

Este modelo representa la relación de las células adheridas y células libres.

#### 4.9 Modelos de Red Neuronal

Los Modelos de Red Neuronal (MRN), surgen por el interés de modelar el sistema nervioso humano en la década de los 40's, en la actualidad, las aplicaciones de los MRN van más allá de modelar los sistemas nerviosos (Rico *et al.*,1998), las aplicaciones están reportadas (MatLab ToolBox, 2002) en una amplia gama de áreas como:

**Negocios:** El estudio DARPA de redes neuronales, enlista varias aplicaciones de MRN comenzando en 1984 con el ecualizador de canal adaptativo. Este dispositivo el cual tuvo éxito comercial, es un MRN de una sola neurona utilizada en telefonía de larga distancia para estabilizar la señal auditiva.

**Tecnología de aviación:** Piloto automático de alto desempeño, simulador de vías aéreas, sistema de control de aviones, simulación de componentes de aviones, detección de fallas en aviones.

**Industria Automotriz:** Sistema de conducción automática, análisis de garantías en piezas de desgaste.

**Actividad de tarjetas de crédito:** Los MRN son utilizados para detectar una actividad inusualmente alta que pudiera estar asociada a pérdida de tarjeta de crédito.

**Ejercito:** Dirección de defensa, ajuste de objetivos, discriminación de objetos, reconocimiento de rostros, nuevos tipos de sensores, sonares, radares y procesadores de imagen, supresión de ruidos e interferencia, identificación de señal de imagen, etc.

**Electrónica:** Predicción de secuencia de códigos, programación de circuitos integrados, control de procesos, circuitos de análisis de fallas, visión mecánica, sintetizador de voz, modelamiento no-lineal.

**Entretenimiento:** Efectos especiales, mercado de predicción del tiempo.

**Actividades financieras:** Análisis de línea de crédito, análisis corporativo financiero, predicción de interés

**Industria:** Predicción de emisión de gases de hornos y otros procesos industriales.

Pólizas de seguros: evaluación de aplicaciones.

**Manufactura:** Control de procesos, diseño y análisis de productos, diagnostico de maquinaria y procesos, sistemas de inspección de calidad, pruebas en bebidas, predicción de calidad de papel, análisis, diseño de productos químicos, etc.

**Medicina:** Análisis de células cancerosas, diseño de prótesis, optimización en los tiempos de transplante, mejoramiento de la calidad en hospitales,

**Robótica:** Control de trayectoria, controladores, sistemas de visión, etc.

**Telecomunicaciones:** Compresión de datos e imágenes, servicios de información automática, traducción en tiempo real de lenguaje.

Cuando los procesos tienen un comportamiento altamente no-lineal, las redes neuronales son utilizados satisfactoriamente para modelar y controlar estos procesos, los bioreactores presentan un comportamiento complejo, ya que por lo general incluyen subsistemas biológicos que tienen numerosos estados internos los cuales requieren el uso de parámetros con interrelaciones altamente no-lineales (Aoyama, 1995). Los MRN tienen cierta ventaja sobre los métodos estadísticos convencionales; ya que pueden tratar con la variabilidad inherente asociada a los procesos biológicos (Noble *et al.*,2000).

Los Modelos de Red Neuronal (MRN) son construidos por medio de un software de computación, consisten de capas y neuronas que realizan una evaluación independiente y transfieren una respuesta a otras neuronas, cada neurona en una capa

esta conectada a otra neurona en la siguiente capa de tal manera que la respuesta de una neurona, afecta a las neuronas a las cuales esta conectada, (Noble *et al.*,2000).

Los MRN son un sistema de procesamiento de datos que consiste de cierto número de elementos simples de procesamiento interconectados entre ellos en una forma que esta inspirada en la estructura de la corteza cerebral humana, en un intento por emular la función de las neuronas biológicas con métodos computacionales.

Una neurona biológica es una unidad celular del sistema nervioso cerebral (Figura 9) que recibe y procesa señales a través de sus vías de entrada llamadas dendritas, la señal de entrada, produce una respuesta que sale a través del axón, el cual esta conectado a otras dendritas de otras neuronas diferentes.

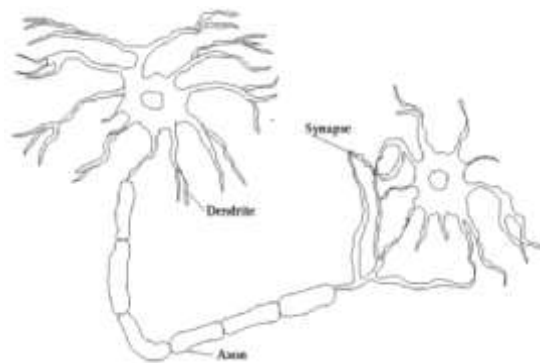


Figura 9. Neurona Biológica

Un Modelo de Red Neuronal (MRN) es un modelo cuyos elementos están basados en la fisiología y procesamiento de los elementos individuales del cerebro humano, en la Figura 10 se muestra el modelo de McCulloch-Pitts (Page et al; 1991) cada variable de entrada 1, 2 y 3, (**inputs**) es transmitida a través de una conexión que multiplica su influencia por un valor **w** (**weight**) y forma el producto **w(i)**. Las variables de entrada **w(i)** se suman a un escalar **b** que le da flexibilidad y amplitud al modelo, la sumatoria de todas las variables de entrada, multiplicadas por su influencia y sumadas con **b**, son la cantidad que llegará a la función de transferencia **f**, la cual produce una respuesta **a** (**output**) que tendrá el comportamiento de acuerdo a la función de activación que se halla seleccionado para el proceso, la función de transferencia, es una función de paso que toma el valor de  $(W(i)+b)$  y produce una respuesta **a**. La idea principal de los MRN es que los parámetros de **w** y **b** puedan ser ajustados por medio de datos experimentales utilizando un proceso que se llama entrenamiento, para que la red exhiba un comportamiento deseado; los **w** ajustados pueden ser utilizados para reconocer patrones de comportamiento, proveer información respecto de relaciones entre componentes de un perfil, o por medio de un análisis de sensibilidad determinar la contribución relativa de las entradas de cada neurona en el resultado final, los **w** de la

red pueden ser modificados durante un proceso en-línea y cambiar el resultado de un proceso.

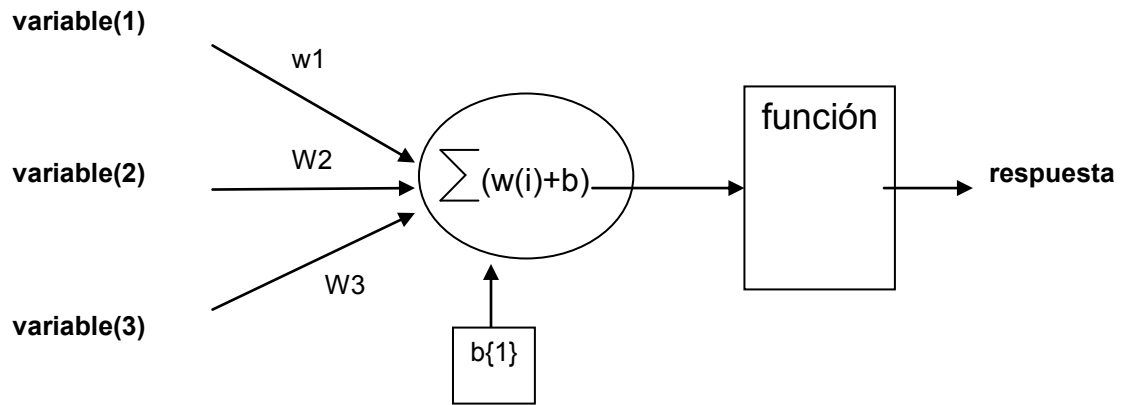


Figura 10. Neurona Artificial

Las neuronas se pueden combinar unas con otras en una configuración llamada **capa**. Algunos MRN pueden tener varias capas, en la Figura 11, se muestra la estructura de una MRN con tres capas; aquí se puede apreciar una capa oculta.

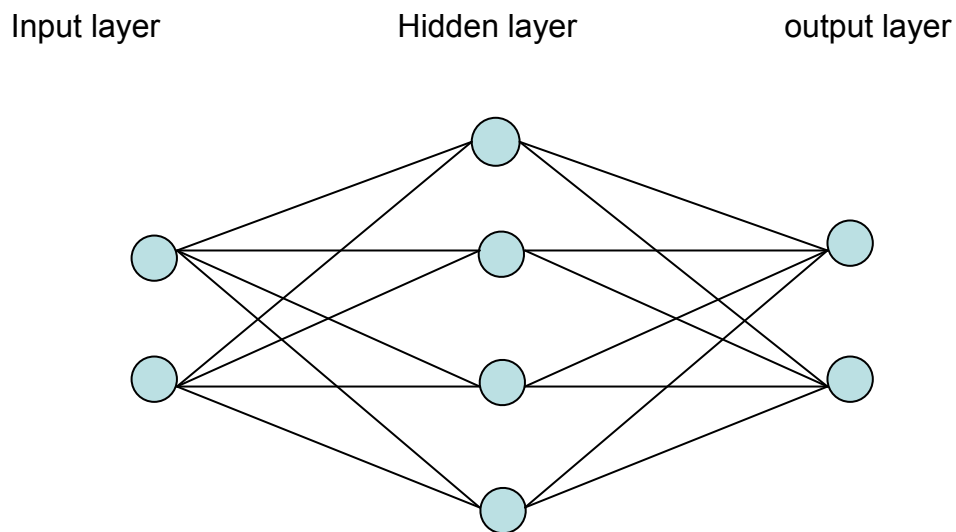


Figura 11. MRN con tres capas

#### 4.9.1 Arquitectura de los Modelos de Red Neuronal.

La arquitectura de un MRN se refiere a como trabaja la red neuronal, las arquitecturas simples se utilizan en cuatro tipos: MRN de alimentación hacia adelante, MRN recurrentes, MRN de retroalimentación interna y MRN no-supervisada (Irwin *et al.*, 1995).

##### 4.9.1.1 MRN Hacia Adelante.

Algunas veces llamadas redes de propagación hacia atrás. La conectividad de estas redes esta establecida de tal manera que cada neurona en una capa distribuye su respuesta a todas las neuronas de la capa inmediata superior, en este tipo de arquitectura (Figura 12) las neuronas de la primera capa tienen la función de distribuir sus entradas a la capa inmediata superior, las neuronas en las capas intermedias, calculan sus salidas en la forma que ya se menciono: como una función escalar no-lineal de la suma de influencia de sus entradas mas una variable. Estas estructuras, tienen propiedades de aproximadores universales, es decir que pueden ser utilizadas para aproximar cualquier función continua de  $n$  variables reales con un soporte en el hiper-cubo unitario.

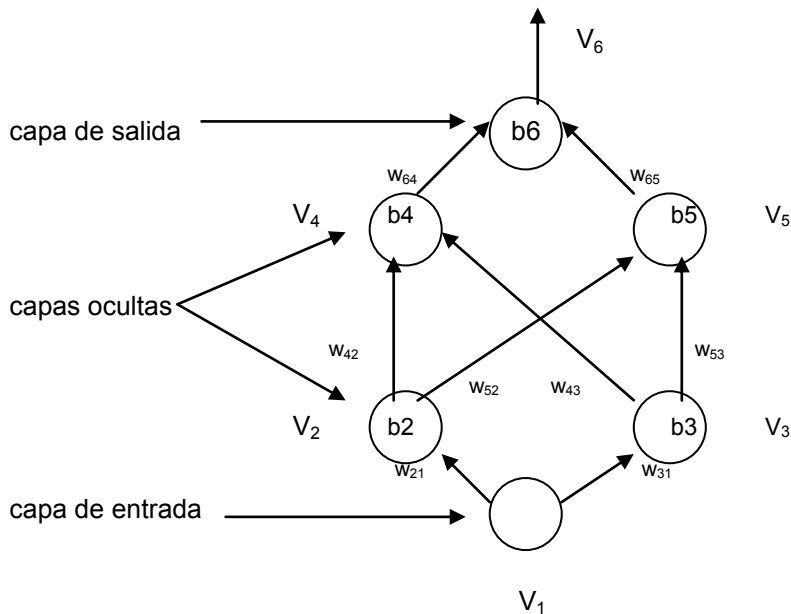


Figura 12. Representación esquemática de un MRN de alimentación hacia adelante

Las fórmulas para el cálculo de la salida de cada neurona, nos ilustra como se realiza cada operación:

$$V_6 = f(w_{64}V_4 + w_{65}V_5 + b_6) \quad (49)$$

$$V_5 = f(w_{52}V_2 + w_{53}V_3 + b_5) \quad (50)$$

$$V_4 = f(w_{42}V_2 + w_{43}V_3 + b_4) \quad (51)$$

$$V_3 = f(w_{31}V_1 + b_3) \quad (52)$$

$$V_2 = f(w_{21}V_1 + b_2) \quad (53)$$

En las capas ocultas, se encuentra la función de activación  $f$ , la forma de la función no-lineal puede variar de acuerdo a las aplicaciones.

#### 4.9.1.2 MRN Recurrente Interna

En este tipo de redes, se permite la existencia de conexiones en lazos de retroalimentación (laterales y hacia atrás).

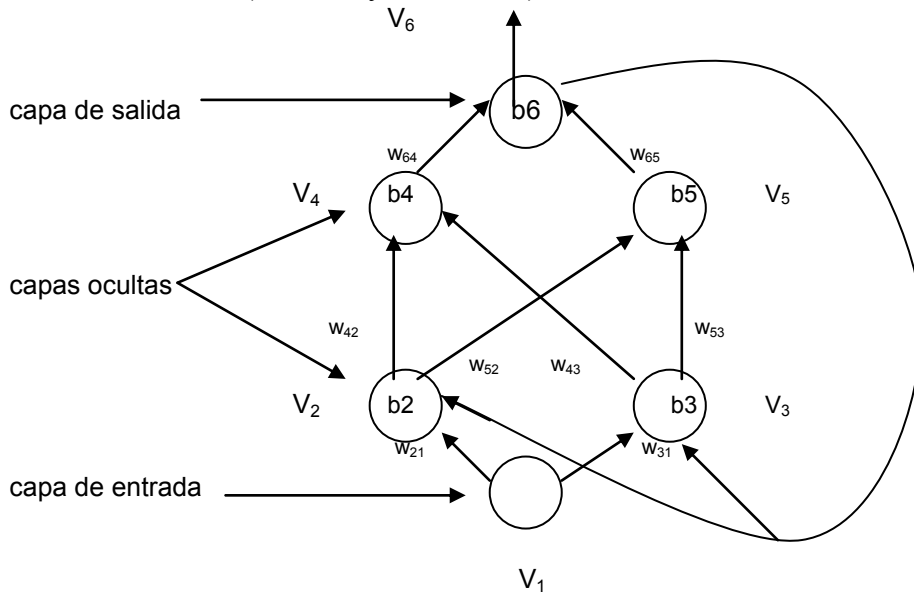


Figura 13. Representación esquemática de una MRN recurrente

La conexión de la neurona 6 con las neuronas 2 y 3 convierte al MRN de alimentación hacia adelante (Figura 13), en un tipo de red completamente diferente, la

fórmula para el cálculo de salida de la neurona 6 se da en seguida siendo notorio que el valor de  $V_6$  depende de si mismo:

$$V_6 = w_{64}f(w_{42}f(w_{21}V_1 + w_{26}V_6 + b_2) + w_{43}f(w_{31}V_1 + w_{36}V_6 + b_3)) + w_{65}f(w_{52}f(w_{21}V_1 + w_{26}V_6 + b_2) + w_{53}f(w_{31}V_1 + w_{36}V_6 + b_3)) \quad (54)$$

En muchas aplicaciones como son la rectificación de señales, modulación de sistemas continuos, etc., frecuentemente se hace uso de redes recurrentes, son comunes las redes en que una capa completa de neuronas recurrentes se retroalimenta a una capa inferior, este tipo de arquitectura se denomina "redes tipo Elman", se diseñaron con la finalidad de proporcionar memoria a las redes.

#### 4.9.2 Función de transferencia.

La forma de esta función puede variar de acuerdo a sus aplicaciones, una de las formas más comunes de la función de activación para las neuronas en las capas ocultas, es la sigmoïdal:

$$f(n) = \frac{1}{1 + e^{-n}} \quad (55)$$

##### 4.9.2.1 La Función de Transferencia Hardlim o Escalón

La función obliga a la neurona a producir un 1 si su entrada neta, alcanza un umbral, de otra forma produce un 0, esto permite a la neurona realizar clasificaciones o decir Si o No, este tipo de función (Figura 14), se utiliza en un tipo de red llamado Perceptron.

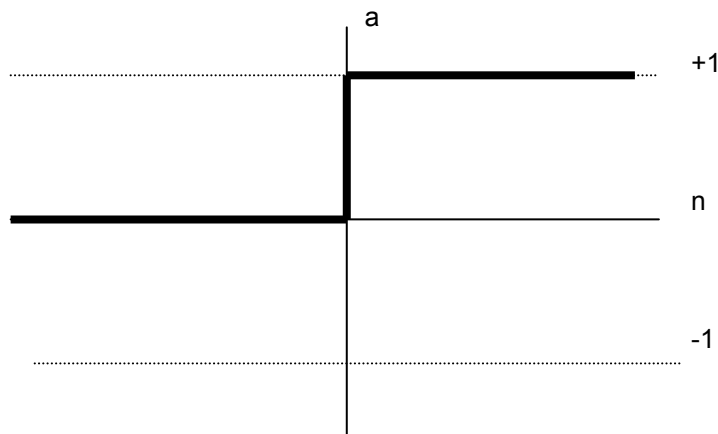


Figura 14. Función de transferencia Hardlim



#### 4.9.2.2. Función de Hardlims.

La función de transferencia de escalón simétrico o Hardlims (Figura 15), obliga a la neurona a producir un 1 si su entrada alcanza un umbral, de otra forma produce un -1, de igual manera, la neurona es capaz de clasificar o decir Si o No.

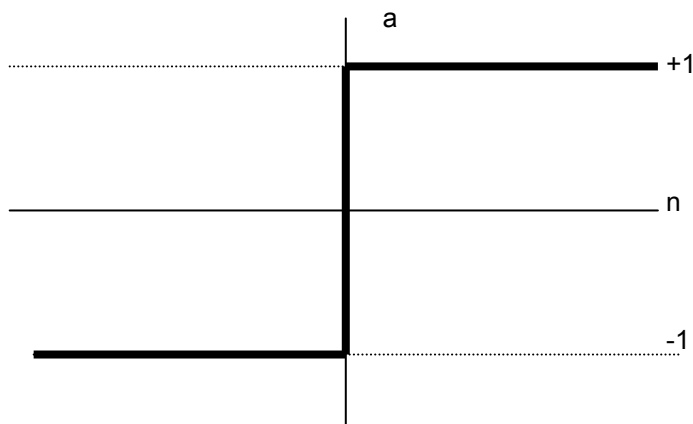


Figura 15. Gráfico para la función de activación de escalón o Hardlims.

#### 4.9.2.3 Función Logaritmo Sigmoidal.

Esta función (Figura 16), calcula la respuesta a partir de la variable de entrada por medio de la siguiente fórmula.

$$\text{logsig} = 1 / (1 + \exp(-n)) \quad (56)$$

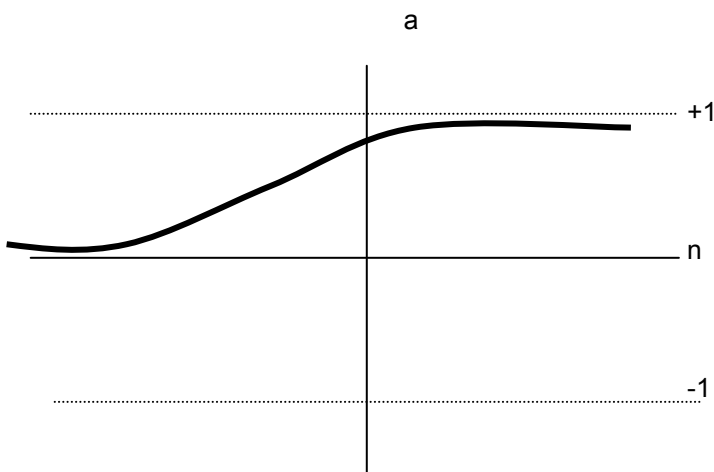


Figura 16. Gráfico para la función de activación logarítmica

#### 4.9.2.4 Función de Transferencia Purelin.

Produce el mismo valor de la variable de entrada (Figura 17), aplica el siguiente logaritmo matemático:

$$\text{Purelin}(n) = n \quad (57)$$

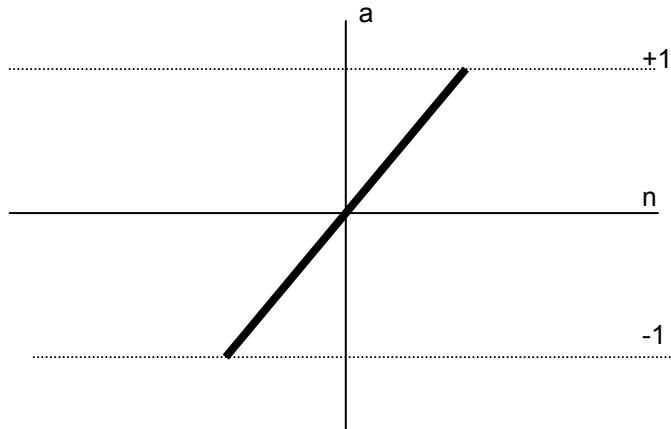


Figura 17. Gráfico para la función de activación purelin

#### 4.9.2.5 Función de Transferencia Satlin,.

Esta función (Figura 18), produce un cero si n es menor o igual a 0, un mismo valor de n si n es igual o mayor de 0 y un 1 si n es igual o mayor de 1.

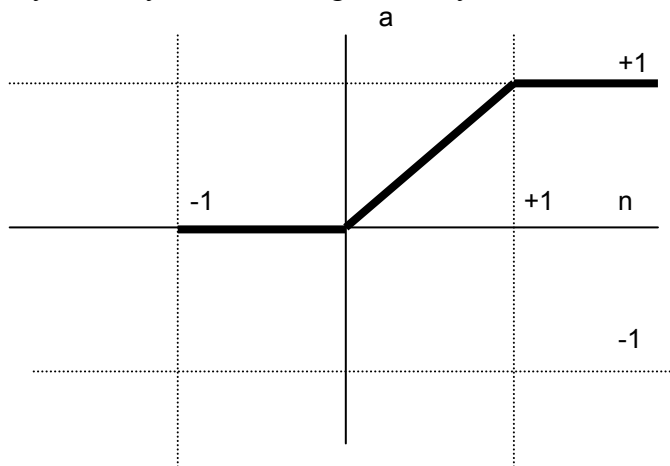


Figura 18. Diagrama para la función de activación Satlin

#### 4.9.2.6 Función de Transferencia Tangente-sigmoidal.

La función (Figura 19), calcula su respuesta de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$n = 2 / (1 + \exp(-2 * n)) - 1 \quad (58)$$

Esto es matemáticamente equivalente a  $\text{Tanh}(n)$ .

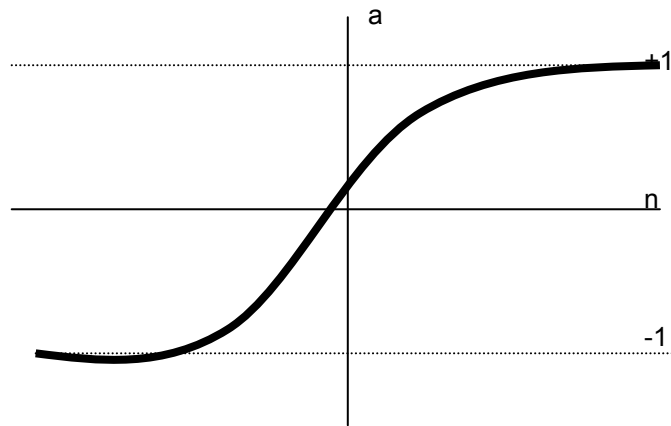


Figura 19. Diagrama para la función de activación tangente sigmoideal

#### 4.9.3 Entrenamiento de Redes.

El entrenamiento de la red también conocido como regla de aprendizaje, es una regla para actualizar la fuerza de una conexión entre neuronas, el proceso de entrenamiento de la red, se formula como un problema de minimización en el sentido de mínimos cuadrados. El MRN hacia adelante, tiene su regla de aprendizaje, uno puede alterar las propiedades de un aproximador cambiando la manera en las neuronas se combinan entre si, o buscar cambiar la fuerza de las conexiones entre neuronas mediante "experiencias" si tenemos un conjunto de  $p$  pares entrada-salida y se desea construir una red que capture el mapeo implícito entre dichas entradas y salidas. El proceso de entrenamiento de la red "aprendizaje por experiencia" se alcanza al minimizar la suma del cuadrado de los errores entre las salidas de la red y los valores experimentales observados para cada par de entrada-salida.

ejemplo: para la red de la Figura 12, suponemos un conjunto de pares  $\text{input}^k - \text{output}^k$  donde  $k= 1, \dots, p$ , para evaluar la red se asigna la salida de la neurona de la primera capa con su entrada:  $V_1^k = \text{input}^k$ , en términos matemáticos, el entrenamiento de la red se alcanza al resolver el siguiente problema de minimización:

$$\min E_{w,0} = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^P (O^k - V_6^k)^2 = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^P (e^k)^2 \quad (59)$$

donde:  $V_6^k$  es la salida de la red usando las entradas del k-ésimo par.

Para resolver la ecuación (59), se utiliza la propagación hacia atrás, o el método de gradiente conjugado.

#### 4.9.4 Número de Neuronas.

Un punto importante en la elaboración de redes es determinar el número de neuronas en las capas ocultas, no se encuentra una forma exacta de determinar el número de neuronas, la elección suele ser por experiencia, a mayor número de neuronas, mayor suele ser el grado de complejidad del problema. Por lo general se utiliza un método estadístico conocido como validación cruzada, que consiste en hacer uso de un conjunto de datos experimentales diferentes a los incluidos en el conjunto de datos experimentales para examinar la capacidad de generalización de la red, este proceso busca que la red pueda generalizar y se evite el sobreentrenamiento. El gradiente de la función error y el cambio de parámetros de la red se calculan respecto del conjunto de entrenamiento, el criterio para declarar convergencia esta basado en la evolución del error, la convergencia se declara después de que han pasado un número significativo de iteraciones sin ningún decremento significativo del error respecto de dicho conjunto de prueba.

#### 4.10 Control de Procesos

Un uso ideal de los modelos matemáticos es el control de procesos, para esto se requiere un modelo adecuado al tipo de sensores disponibles para la captura de datos (Teheira, 1989), la aparición de nuevas técnicas de alto desempeño, reactores computarizados y nuevas técnicas analíticas permite el control y el mejoramiento de los procesos asociados con la lixiviación. Para obtener un buen modelo, es necesario tener un esquema detallado de los mecanismos incluidos en el proceso; aquí se incluyen los parámetros físicos, biológicos, electroquímicos y químicos (Haddadin, 1995).

Inicialmente las computadoras se utilizaron para automatizar los cálculos comunes y los instrumentos existentes, posteriormente, se desarrollaron nuevos métodos de medición que solo se hicieron más prácticos mediante el uso de sistemas de computo y técnicas de procesamiento de datos a alta velocidad. La evolución de las técnicas de medición notoriamente han mejorado la interacción: Instrumentos de medición-computadora-analista (Willard, 1991).

##### 4.10.1 Sistema de Adquisición de Datos "fuera de línea".

El sistema más común es el sistema de adquisición de datos "fuera de línea" (Figura 20), donde el analista toma los datos del instrumento de medición y por medio de un programa de computación, somete los datos a procesamiento, la computadora no esta en comunicación directa con el proceso y los cambios necesarios tienen que esperar a la interpretación del analista así mismo, están sujetos a los cambios inherentes a la toma de muestra del analista (Willard, 1991)

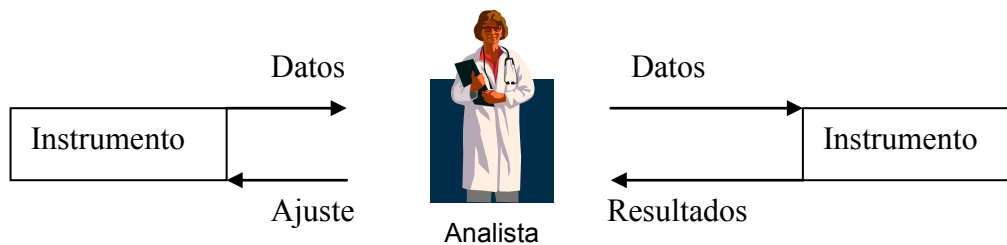


Figura 20. Sistema de adquisición de datos "fuera de línea"

#### 4.10.2 Sistema de Adquisición de Datos "sobre la línea".

Cuando la computadora esta conectada a los instrumentos de medición por medio de una interfaz electrónica (Figura 21), el sistema se llama sobre la línea, el analista interacciona tanto con los instrumentos como con la computadora para obtener y procesar los datos, el sistema permite al analista realizar los ajustes necesarios para mantener el proceso en condiciones estables.

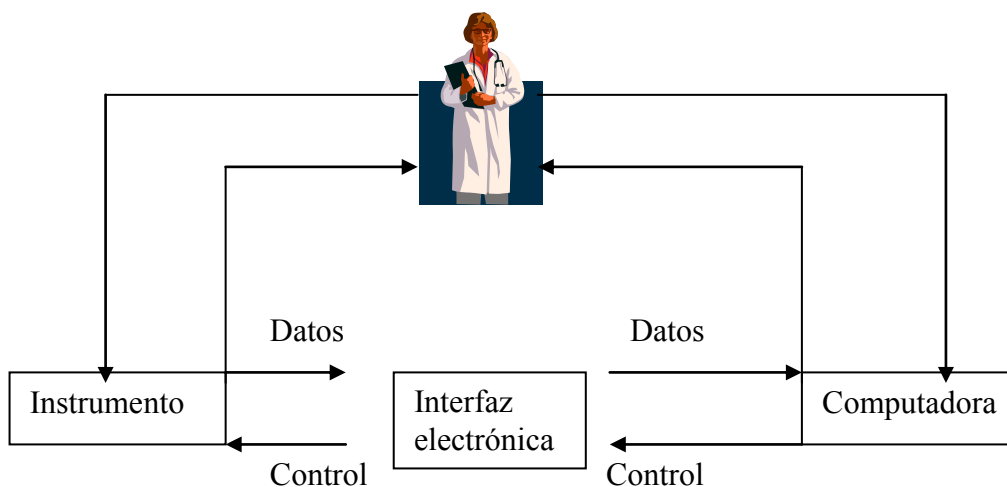


Figura 21 Sistema de adquisición de datos "Sobre la línea"

#### 4.10.3 Sistemas de Adquisición de Datos "en-línea".

Cuando la computadora se convierte en parte íntegra de los aparatos de medición (Figura 22), se llama en-línea, los programas del equipo de medición están previamente programados. Los sistemas en-línea permiten tener un control de los procesos en tiempo real. Este es el sistema que se utiliza para verificar la calidad de los productos en el momento que se están elaborando. En la configuración básica de los bioreactores, hay control solo para los parámetros físicos y químicos como: pH, temperatura, velocidad de agitación, aereación, volumen, etc. (Stoner *et al.*, 1998)

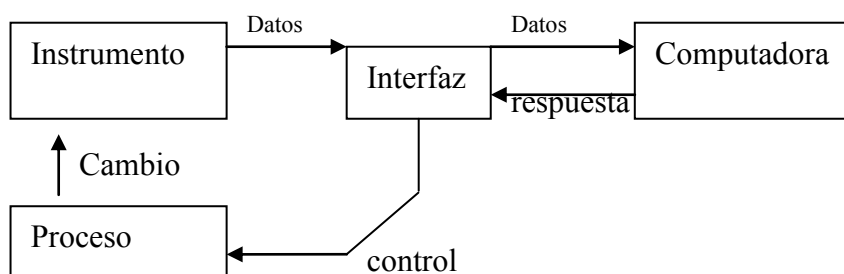


Figura 22. Sistema de adquisición de datos "en-línea"

#### 4.10.4 Sistema de Adquisición Datos y Control "intra-línea".

En esta configuración, existen varias microcomputadoras con la capacidad de cambiar la naturaleza del sistema de medición, el sistema múltiple de microprocesadores tiene funciones individuales que permiten tener información y control de proceso en tiempo real. Las ventajas que se obtienen de reemplazar el equipo electrónico instrumental por microcomputadoras son: mayor confiabilidad, análisis más completos y confiables, mayor exactitud de datos y facilidad de comunicación con otros dispositivos.

#### 4.11 Proceso de Lectura y Control de Variables.

Muchos fenómenos químicos o electroquímicos son evaluados por la medición en el cambio de un parámetro físico, tal como la temperatura, absorbancia, pH.

El proceso de medición incluye la conversión de un parámetro físico en señal eléctrica, la cual representa la magnitud del cambio a lo que se le llama señal analógica, estas señales incluyen: voltaje, amperaje, resistencia, capacitancia, etc.

Las señales analógicas son relacionadas con el parámetro físico por medio de una función constante o curva de calibración. La señal analógica necesita ser digitalizada antes de entrar a la computadora para esto se utiliza la interfaz o convertidor analógico-digital.

La selección de una interfaz entre dispositivos y la computadora, requiere un análisis cuidadoso debido a que la interfaz puede crear datos erráticos por el simple hecho de convertirlos de señal analógica a lenguaje digital, la señal analógica es una serie de puntos continúa e infinita y la señal digital es una serie de puntos de número definido.

#### **4.12 Procesos Neurocontrolados.**

El uso de redes neuronales en procesos donde la respuesta de la red es utilizada para controlar motores, válvulas, resistencias, o cualquier cosa que necesite ser accionada es lo que se conoce como neurocontrol. Existen 5 métodos básicos utilizados en neurocontrol:

1. El primero es el control supervisado, el modelo de red neuronal es entrenado para tomar lecturas de los electrodos colocados en el reactor y realiza una tarea específica a partir de los datos recolectados.
2. El control inverso los cambios al proceso se realizan de manera de retroalimentación, cambiando las condiciones y evaluando el resultado continuamente.
3. El control neuronal adaptativo, tiene el objetivo de controlar un proceso por medio de un modelo propuesto, el que actúa como un diseño de especificaciones para sistema no-lineales.
4. La retrogradación permite derivar un calendario de acciones para adaptar acciones óptimas que maximizan los procesos en múltiples periodos de tiempo.
5. El método adaptado a situaciones críticas permite maximizar funciones sobre el tiempo (Maren, 1990).

## 5. MÉTODOS

La metodología se llevo a cabo en tres etapas, en la primer etapa se acondicionó un fermentador con sistemas de lectura y control de variables con la finalidad de tener los parámetros en-línea y poder controlarlos por medios computarizados; en esta etapa se realizaron pruebas con agua y con un microorganismo de crecimiento rápido con requerimientos específicos de pH y temperatura, el microorganismo seleccionado fue *Rhodotorula glutinis* la importancia de esto fue determinar la funcionalidad del sistema elaborado. En la segunda etapa se realizaron ensayos a nivel matraz con mineral de plomo y zinc contaminado con arsénico, aquí se utilizó el microorganismo de trabajo *Acidithiobacillus ferroxidans* para obtener datos suficientes con los cuales elaborar un modelo neuronal que relacionara el crecimiento del microorganismo, que se estimó indirectamente por medio del potencial óxido-reducción (Nemati *et al.*,1996, Fowler *et al.*,1999), con las variables pH y temperatura. En la tercera etapa se desarrolló la red neuronal, la cual se optimizó, se validó y se aplicó en ensayos a nivel fermentador con control constante de las variables del sistema.

### 5.1 Establecimiento del Sistema de Lectura y Control.

#### 5.1.1 Hardware

Se utilizó una computadora marca Alaska Pentium II a la cual se le instaló una tarjeta CIO-DAS 08/ Jr de Computer Boards ® de 8 canales de lectura y 8 salidas digitales.

#### 5.1.2 Software

Se diseñó y escribió un código de lectura y control en Visual Basic ® con las siguientes características:

- Pantalla interactiva
- Tiempo de lectura cada 500 milisegundos
- Control programado y por algoritmo
- Almacenamiento de datos cada 60 min.
- Actualización de gráficos cada 60 min.

#### 5.1.3 Variables

Las variables de lectura fueron:

- pH
- Temperatura
- Potencial óxido-reducción
- Oxígeno Disuelto
- Turbidez del medio



Las variables de control fueron

- pH
- temperatura

Para el control, se utilizaron 4 relevadores de estado sólido como actuadores de fase de potencia los cuales fueron accionados por señal digital de 5 voltios proveniente de la tarjeta de lectura y control.

Los pasos necesarios para que ocurra la lectura de señales son: después de que ocurre un cambio químico o físico, el sensor detecta el cambio y lo transforma en una cantidad de electricidad, la interfaz o tarjeta amplifica ese cambio o lo acondiciona, el procesador reconoce la señal que ha sido transformada a lenguaje binario, el programa lo hace entendible al aplicarle unidades reconocidas.

Se utilizó un fermentador de 1 litro marca Bioflo modelo II con agitación y aireación integrada. Los sensores fueron colocados en la tapa superior y se localizaron a la mitad del nivel del medio.

En la Figura 23 se muestra la forma en que se realizó la lectura y control de variables, el sistema contiene un procesador que sostiene al programa Visual Basic®, la tarjeta de lectura y control, los actuadores, los sensores en el fermentador, las bombas peristálticas para el control de pH, la banda térmica para calentar el medio y la válvula de agua para enfriamiento.

### Sistema de lectura y control al bioreactor

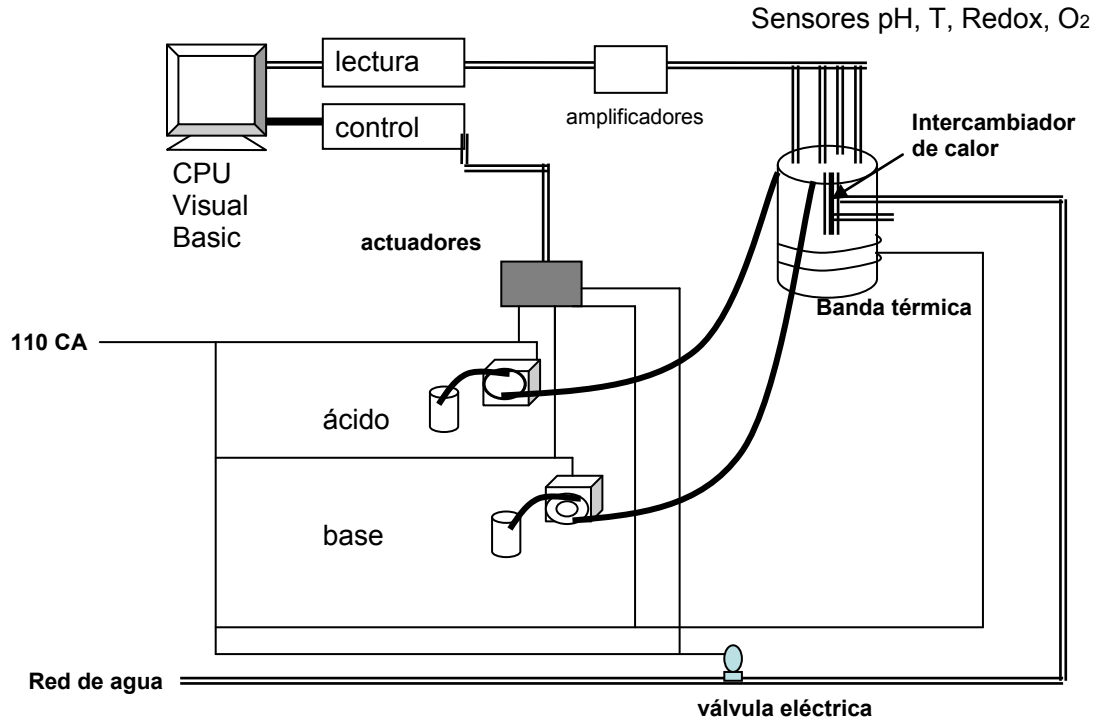


Figura 23. Esquema del sistema de lectura y control de variables.

#### 5.1.4 Pruebas de Funcionamiento

Dentro de la primera etapa se realizaron pruebas de funcionamiento, primeramente con agua destilada para determinar la funcionalidad de los sensores y el control.

Enseguida se realizaron pruebas de funcionamiento para la medición de la turbidez en-línea con *Rhodotorula glutinis*, que tiene un tiempo de duplicación mas corto que *At. ferrooxidans*.

#### 5.1.5 Diseño del Dispositivo para Medir Turbidez

Se utilizó un bloque de aluminio compacto de 8 x 7 x 4.5 cm como soporte, al bloque se le realizó una perforación de 8mm y se introdujo una pipeta de 5 ml, otra perforación en dirección perpendicular fue realizada para colocar la fuente de luz y en la parte contraria se colocó el sensor óptico. En la Figura 24, se muestra el diagrama del dispositivo para medir la turbidez en-línea.

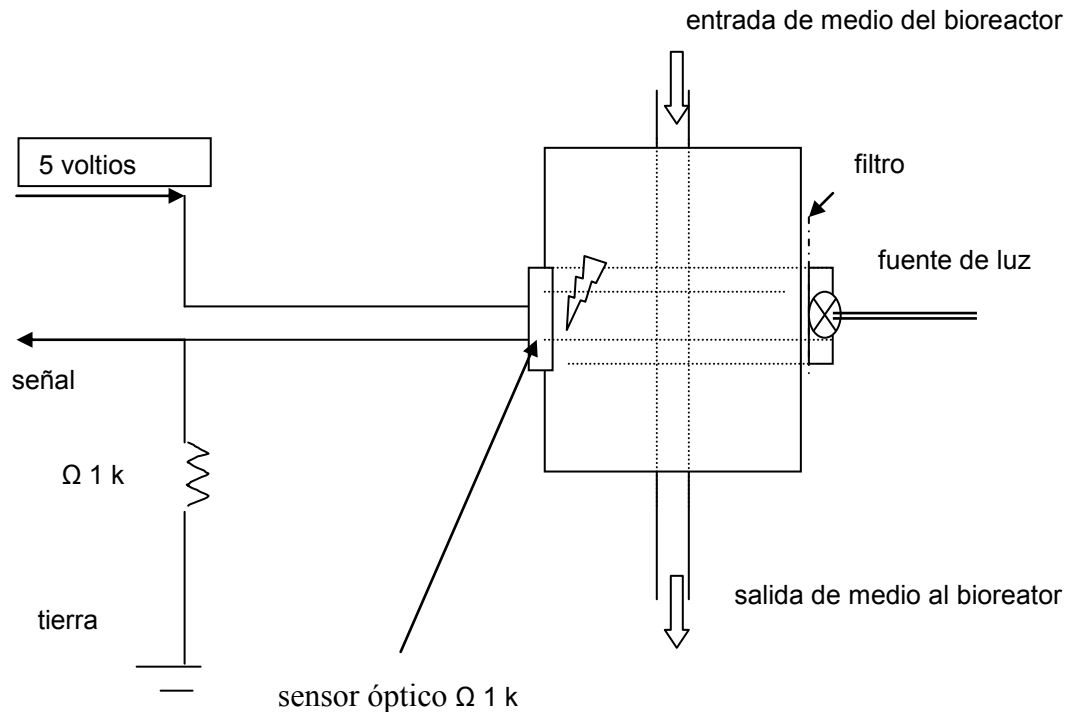


Figura 24. Esquema del dispositivo diseñado para leer turbidez en- línea

La señal analógica (cambio de resistencia) producida por el sensor se conectó a un divisor de voltaje para obtener un voltaje proporcional a la variación de la fotorresistencia.

### 5.1.6 Pruebas de Estabilidad

Se realizaron pruebas con agua destilada para conocer la variación que pudiera tener el dispositivo así como la magnitud del ruido en la señal, el agua se hizo fluir por medio de una bomba peristáltica a través del dispositivo para medir turbidez.

### 5.1.7 Ensayos en Fermentador

**Cepa.** Se utilizó una cepa de *Rhodotorula glutinis* de la colección del Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Durango.

**Fermentador.** Se utilizó un fermentador Bioflo II de 1 litro de capacidad, con 800 ml. de medio de cultivo para métodos estándar.

**Inóculo:** Se agregó 10 % de inóculo de semilla de 24 hrs. de crecimiento

**Condiciones:** Se controló la temperatura a 30 °C, la velocidad de agitación en 200 rpm, el pH en 4.0 y la velocidad de agitación en 1 vvm.

**Adquisición de datos.** La turbidez se leyó continuamente, y se guardó un dato cada 30 minutos automáticamente en Excel ®

**Espectrofotómetro.** El valor de la transmitancia del medio fue tomado cada 4 hrs. con un espectrofotómetro marca Spectronic en una longitud de onda de 460 nm, el valor obtenido se trasladó a absorbancia por la siguiente ecuación:

$$A = 2 - \log_{10} T = \log P_o / P \quad (60)$$

**Estrategia Experimental:** Se reportan 4 ensayos en fermentador que se mantuvieron durante 40 a 48 hrs.

### 5.1.8 Análisis Estadístico

Se realizaron análisis de anova-manova en Statistic ® versión 4.9 Microsoft ® para determinar la diferencia significativa entre el dispositivo de turbidez y el espectrofotómetro.

## 5.2 Obtención de Datos Experimentales.

### 5.2.1 Microorganismo y Mineral

**Cepa:** Se utilizó una cepa de *acidithiobacillus ferrooxidans* proporcionada por el Dr. Erasmo Orrantia del CIMAV Chihuahua, denominada T18 con probada resistencia a altas concentraciones de Arsénico.

**Propagación:** la cepa fue propagada en medio 9 K (compuesto principalmente de sulfato ferroso y sales minerales) por resiembras sucesivas en incubadora a 30 °C y 150 rpm.

**Mineral:** el mineral utilizado es concentrado de plomo y zinc de la mina La Soledad de Parral, Chihuahua con 8 % de arsénico.

### 5.2.2 Condiciones en Matraz

Matraz de 250 ml.

100 ml de agua destilada

10 % de inóculo agitación 150 ml.

Concentración del inóculo  $10^9$  bacterias /ml.

### 5.2.3 Diseño Experimental

Se seleccionaron condiciones límites para establecer el valor mínimo y máximo de pH y temperatura, los matraces fueron mantenidos al pH y temperatura de trabajo de acuerdo al diseño factorial que se muestra enseguida:

ensayo 1	pH 1.5 y	Temp 25 °C
ensayo 2	pH 1.5 y	Temp 30 °C
ensayo 3	pH 1.5 y	Temp 35 °C
ensayo 4	pH 2.0 y	Temp 25 °C
ensayo 5	pH 2.0 y	Temp 30 °C
ensayo 6	pH 2.0 y	Temp 35 °C
ensayo 7	pH 2.5 y	Temp 25 °C
ensayo 8	pH 2.5 y	Temp 30 °C
ensayo 9	pH 2.5 y	Temp 35 °C

Los ensayos se mantuvieron durante 20 días, en incubación a la temperatura indicada, el pH se ajustó de manera manual cada día, agregando ácido sulfúrico o hidróxido de sodio, según fuera necesario. Se midió manualmente el potencial óxido-reducción en cada uno de los matraces con un electrodo de potencial óxido-reducción Ag/AgCl Marca Conductronic ®

#### **5.2.4 Análisis Estadísticos**

Se realizaron análisis estadísticos mediante un análisis de superficie de respuesta, de Statistic®, para determinar las condiciones óptimas de las variables pH y temperatura sobre el proceso de biolixiviación.

Se realizaron análisis de Box Wiskas para determinar el efecto de cada variable sobre la respuesta en el proceso de biolixiviación.

### **5.3 Obtención e Implementación del Modelo de Red Neuronal**

#### **5.3.1 Selección de la red neuronal**

Se utilizó la NNTool® de MatLab ® para diseñar el Modelo de Red Neuronal (MRN)

Arquitectura propuesta: Feed Forward Back Propagation

Función de entrenamiento: TrainLM

Determinación del error: Mínimos cuadrados

#### **5.3.2 Optimización**

Se utilizó el método empleado por Noble, 1999; el efecto de la arquitectura en la determinación del modelo fue establecido por selección aleatoria de dos grupos de datos (Tabla 6), cada grupo fue usado para crear redes, se variaron el número de capas y el número de neuronas.

Grupo 1: (25 °C pH 1.5), (30 °C pH 2.5), (35 °C pH 1.5), (35 °C pH 2.5)

Grupo 2: (25 °C pH 2.0), (25 °C pH 2.5), (30 °C pH 1.5), (30 °C pH 2.0)

### **5.3.3 Validación**

Se utilizó el método presentado por Frangú *et al.*,2001; donde se comparó el error obtenido para cada grupo de datos por análisis de varianza con Statistic ®.

### **5.3.4 Ensayos a Nivel Fermentador**

Los ensayos se realizaron en fermentador de 1 litro marca Bioflo II se utilizó:

1 % de mineral

10 % de inóculo

800 ml de agua destilada

Aireación de 0.2 vvm

Agitación de 250 rpm

Se midió el Potencial óxido-reducción en-línea y se controló el pH y temperatura

Se tomaron muestras de 10 ml. cada 3 días en cuatro de los ensayos y se analizaron por espectrofotometría de Absorción Atómica.

### **5.3.5 Análisis Estadístico:**

Se determinó diferencia significativa por Anova-Manova de Statistic ® y Se evaluó la pendiente de cada ensayo

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Descripción del Sistema de Lectura y Control.

Para la primer etapa se obtuvo un sistema que permite llevar un seguimiento de la magnitud de las variables pH, temperatura, potencial óxido-reducción y oxígeno disuelto en-línea, por otro lado el diseño del sistema de control permite mantener la magnitud de las variable pH y/o temperatura a un valor específico; ya sea mantenerlo constante o modificarlo por medio de una pantalla interactiva con una caja de texto que permite modificar el valor programado de la variable, el sistema detecta la diferencia y acciona los dispositivos necesarios para ajustar el valor de la variable.

Por otro lado, el sistema permite la inserción de un algoritmo o modelo matemático para que la magnitud de la variable sea modificada siguiendo el valor de referencia con función al tiempo u otro parámetro.

El sistema permite graficar los valores de las variables del proceso con actualización cada hora o el tiempo que se le especifique, también el sistema permite almacenar las lecturas en línea en archivos de Excel®, Notepad® ó Word®, para el análisis posterior del proceso.

El sistema fue diseñado para calibrar el electrodo de pH y oxígeno disuelto cada vez que así se considerara necesario, para lo cual se incluyo un menú interactivo que al seleccionar "calibrar" se despliega una ventana con opciones para los buffer de calibración 4 y 7, 7 y 10, 4 y 10 o 7 y 10, posteriormente el sistema da instrucciones para calibrar el pH colocando el electrodo en el buffer solicitado y presionando un comando de estabilidad de lectura, después de colocar los dos buffers de referencia, el sistema aplica los valores obtenidos por la señal analógica en milivoltios y el valor introducido en las ventanas de interacción en una fórmula que determina la pendiente para aplicarla en la ecuación de la recta para modificar el valor de pH.

Para la calibración del electrodo de oxígeno la ventana del menú presenta dos opciones, una de las opciones calibra al electrodo en miligramos por mililitro; para esto es necesario tener un electrodo comercial o un cilindro estándar para realizar la calibración, el procedimiento es el mismo que para el electrodo de pH, donde el sistema solicita colocar al electrodo en la muestra de referencia y seleccionar un botón de estabilidad de lectura, posteriormente solicita cambiar el electrodo a una concentración diferente para poder realizar la estimación de la pendiente y aplicarla en la ecuación de conversión analógica a digital. La otra opción calibra al electrodo en una escala de 0 a 100 %, en este caso, el procedimiento es diferente, pues el electrodo se coloca en el fermentador al cual se le inyecta nitrógeno para desplazar todo el oxígeno, el sistema solicita colocar el electrodo en la concentración mínima de oxígeno hasta que no se registra disminución, alrededor de ½ hora, en seguida el sistema solicita cambiar la inyección de nitrógeno por oxígeno durante el tiempo suficiente para que se sature el medio, en este momento se selecciona el comando de estabilidad y el sistema automáticamente coloca en la etiqueta de concentración de oxígeno un 100 %. Posteriormente el sistema mide la concentración de oxígeno en las unidades seleccionadas y almacena los datos. Para el almacenamiento de datos, el sistema abre un

archivo en Excel ® con un nombre que es previamente asignado, este archivo se cierra en seguida y se guarda en C:/

El sistema diseñado tiene la opción de aplicar un algoritmo matemático en el control de las variables, se utilizó un comando que habilita a un contador donde se incluye al modelo matemático en función del tiempo, el contador en minutos, actualiza el valor de referencia del modelo para cada variable y la envía a la ventana de programación en la pantalla de control, el cambio es continuo y se actualiza cada hora, sin embargo el sistema evalúa las condiciones del fermentador cada 500 milisegundos y envía señales a los actuadores para mantener las condiciones colocadas en las ventanas de programación.



### 6.1.1 Pruebas de Funcionamiento. Con agua destilada en fermentador

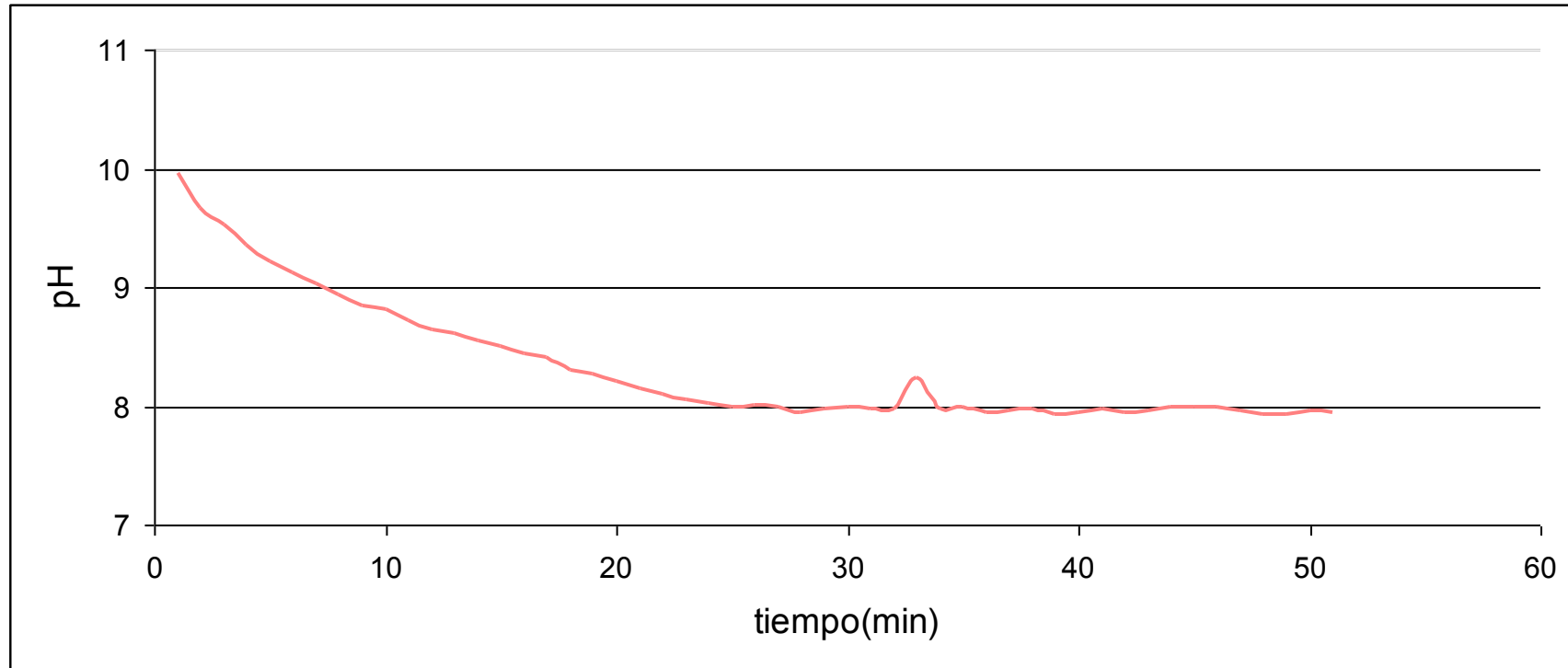


Figura 25. Comportamiento del pH cuando es llevado de 10 a 8 unidades, se utilizó agua destilada en el fermentador de 1 litro, el pH se bajo con ácido sulfúrico al 5 %.

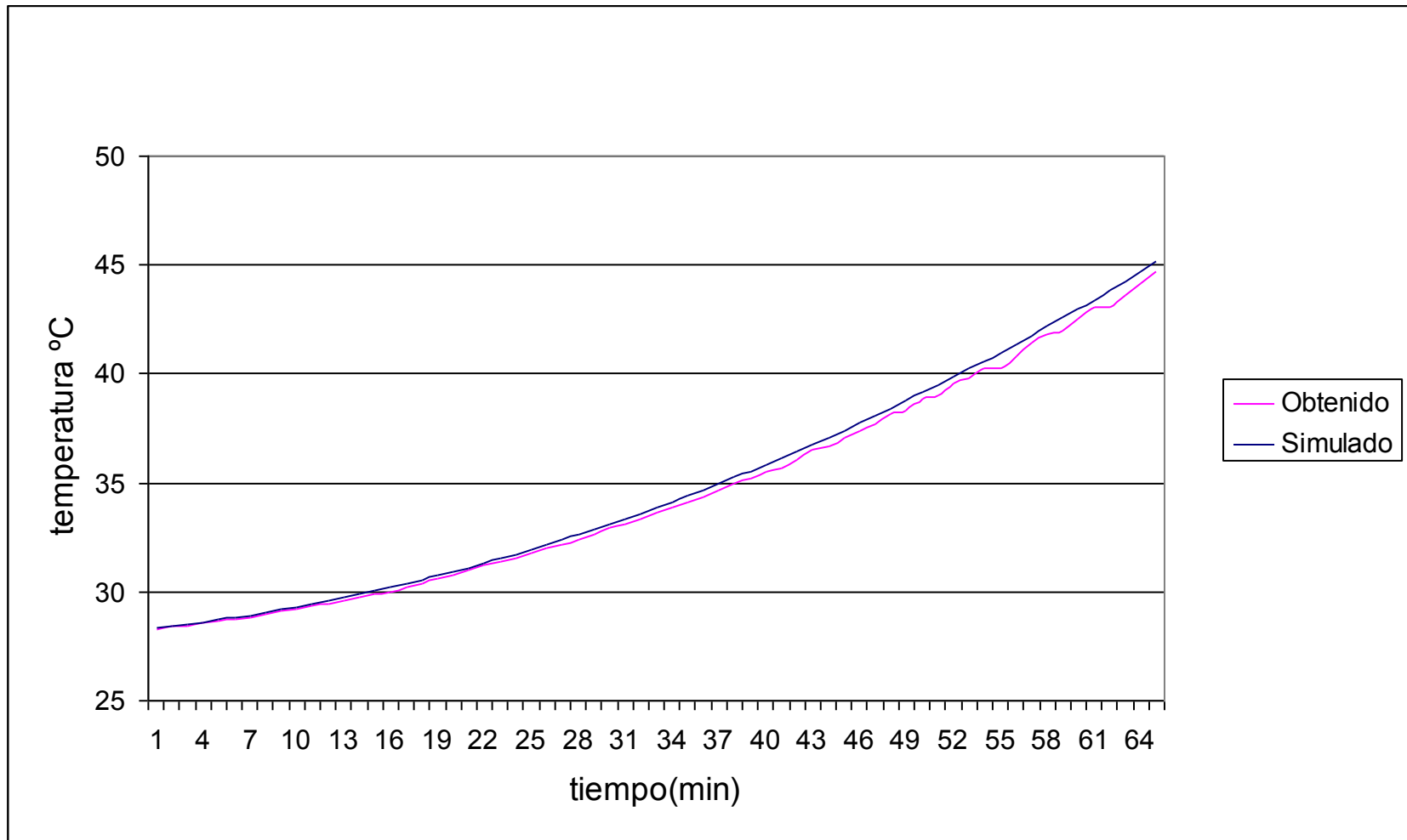


Figura 26. Control sobre la temperatura en el fermentador cuando se aplicó una ecuación que lleva la temperatura en forma de curva.

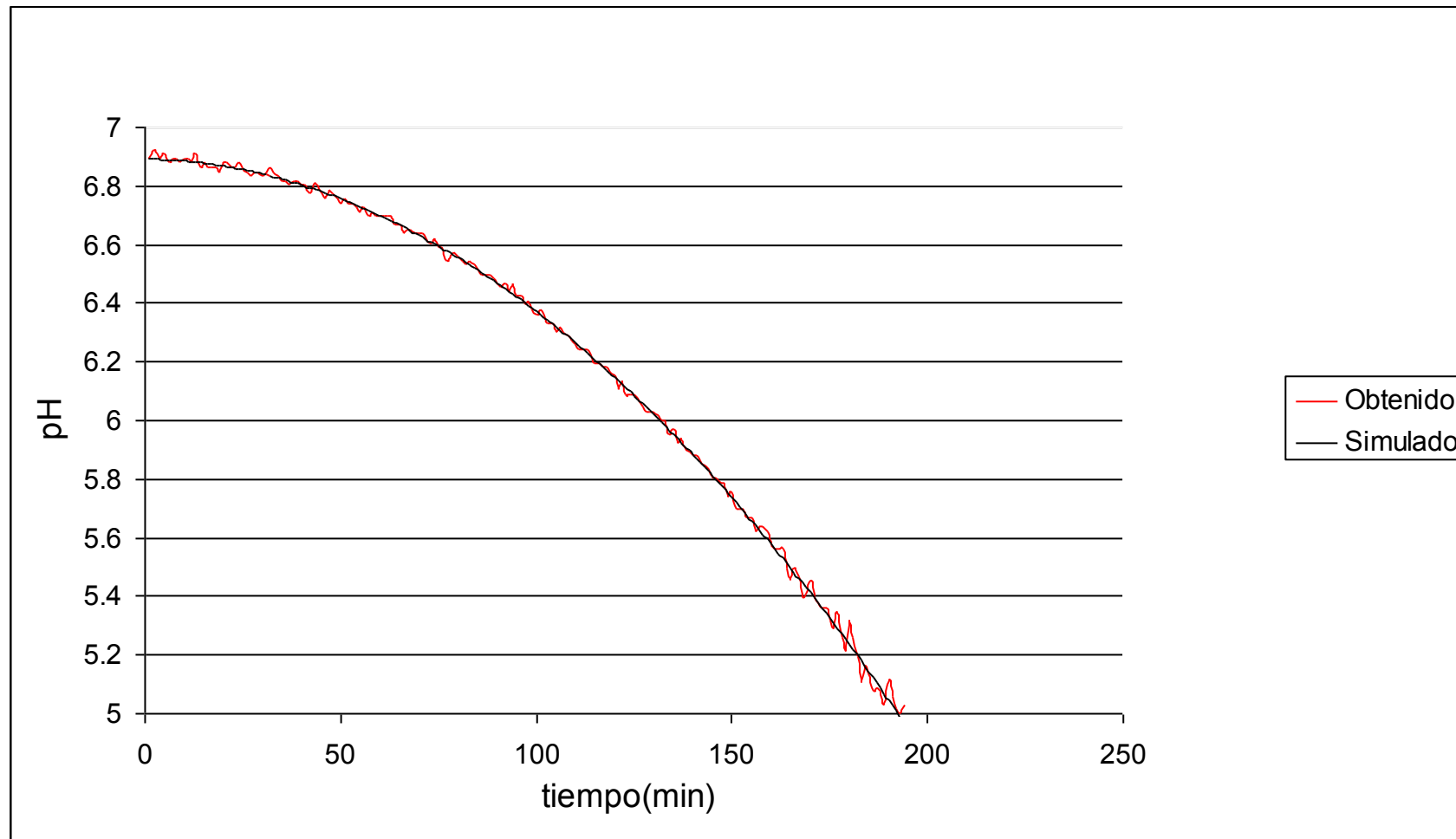


Figura 27. Control sobre el pH cuando se aplicó una ecuación que lo lleva de 7 a 5 en forma de curva y en función del tiempo.

### 6.1.2 Pruebas de Funcionamiento con *Rhodotorula glutinis* en fermentador de 1 litro

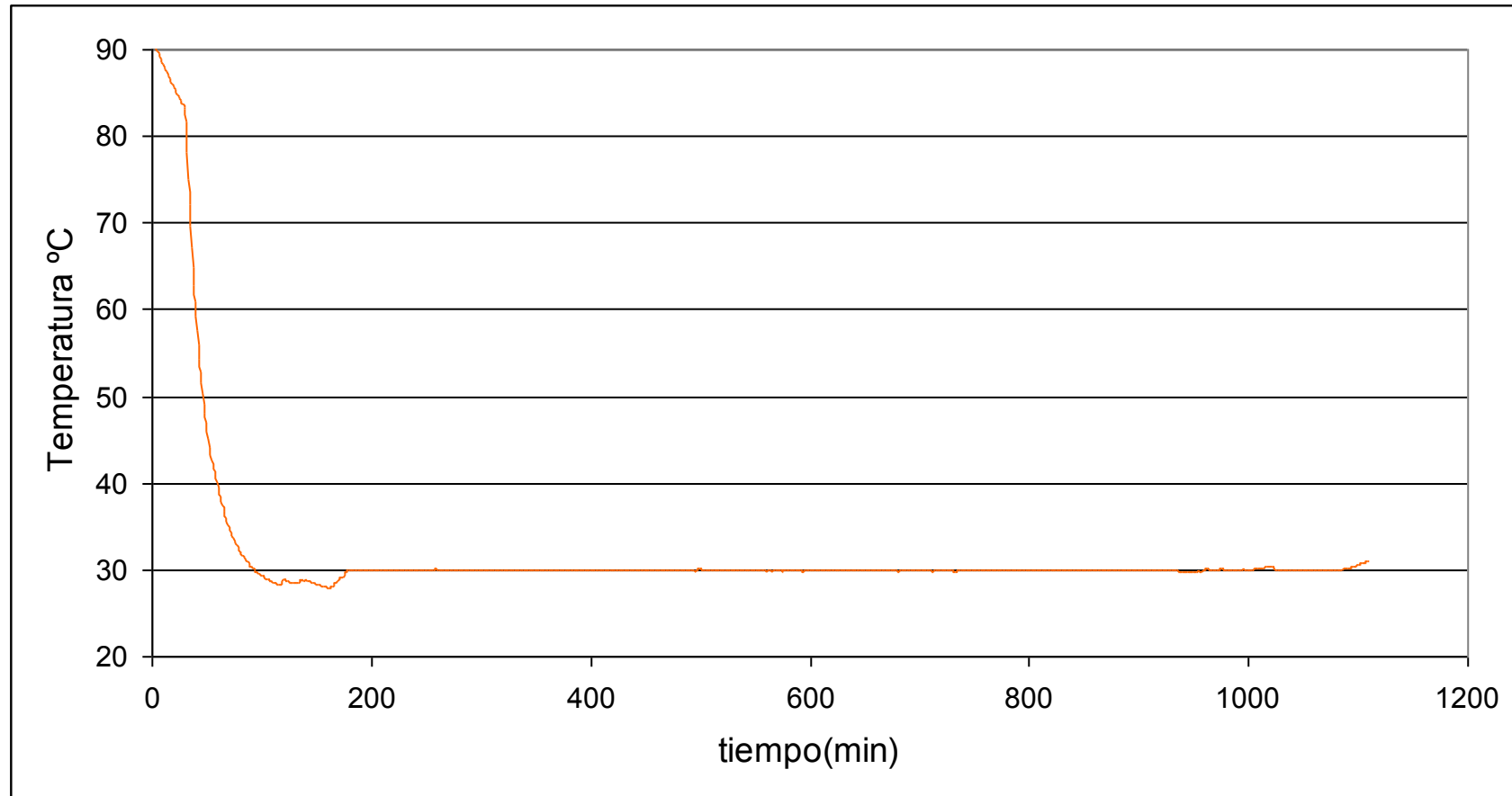


Figura 28. Curva de temperatura del fermentador utilizado en las pruebas con *Rhodotorula glutinis*, el la temperatura del fermentador se tomó desde que se sacó de la autoclave.

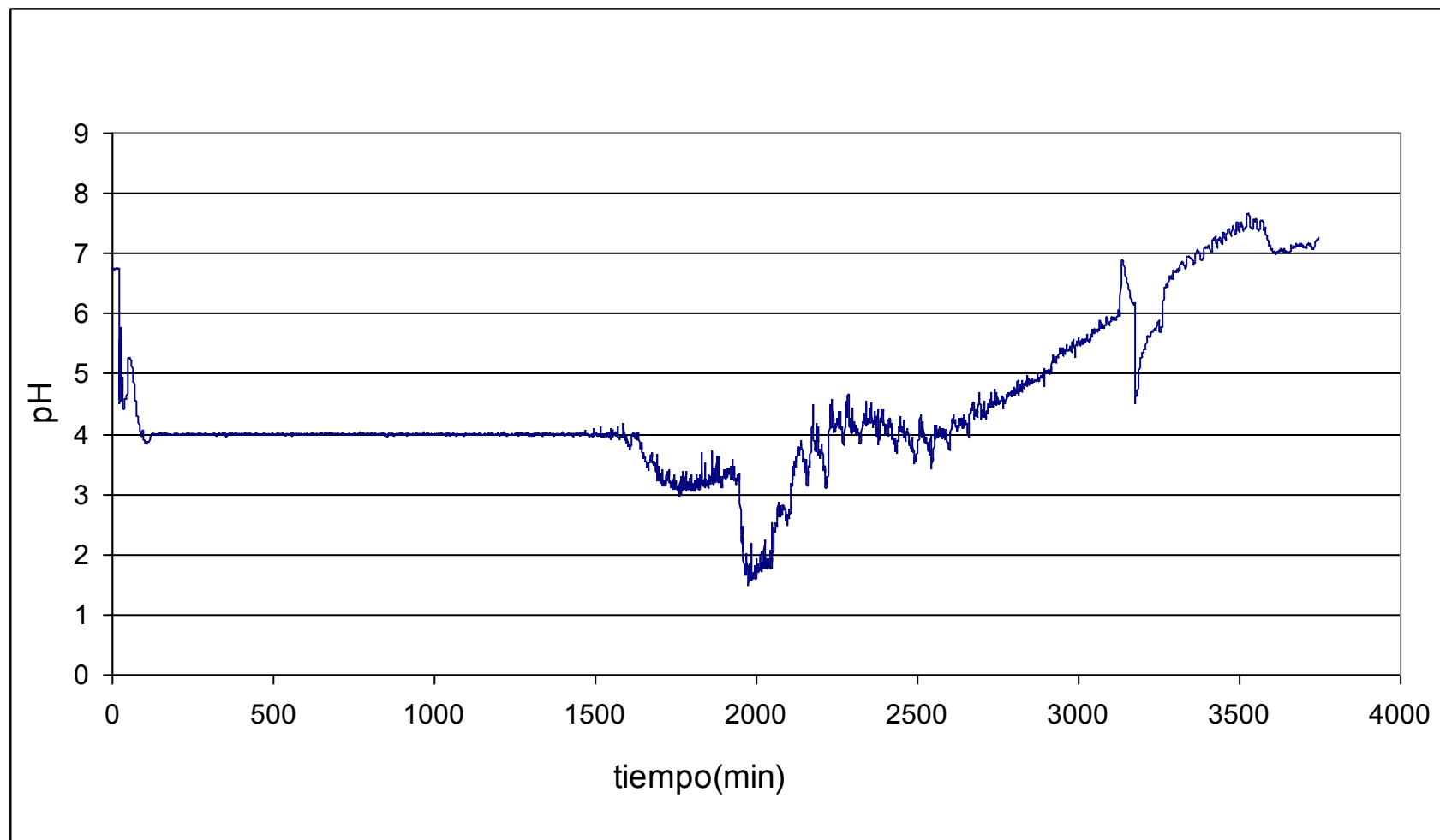


Figura 29. Control del pH durante el ensayo con *Rhodotorula glutinis*, el pH se controló durante los primeros 1600 minutos en 4, luego fue llevado a 9 por una ecuación en función del tiempo.

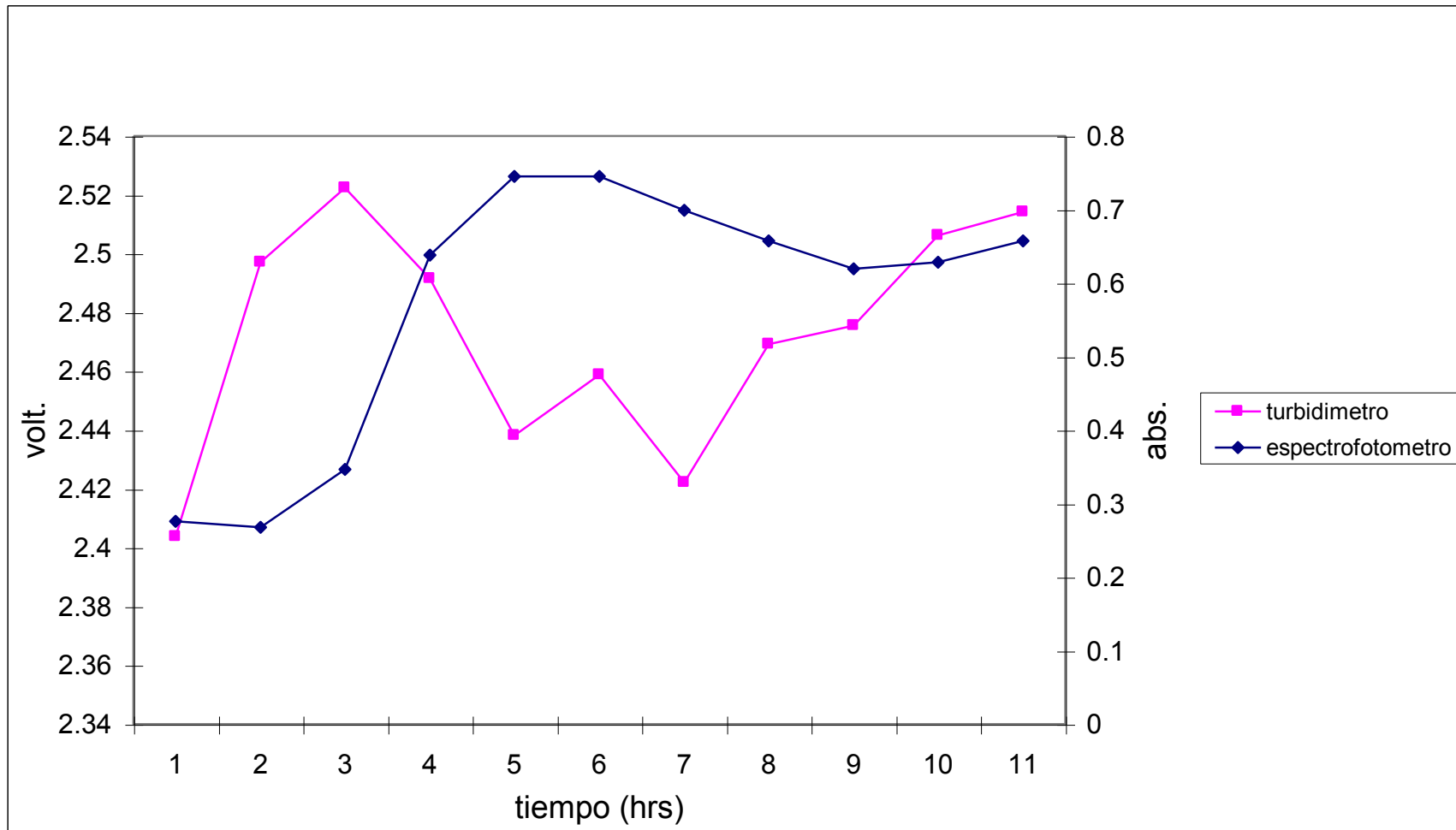


Figura 30. Voltaje obtenido en el dispositivo para medir turbidez en línea en la prueba con *Rhodotorula glutinis*, los datos del turbidímetro fueron guardados cada hora y los del espectrofotómetro cada 4 horas.

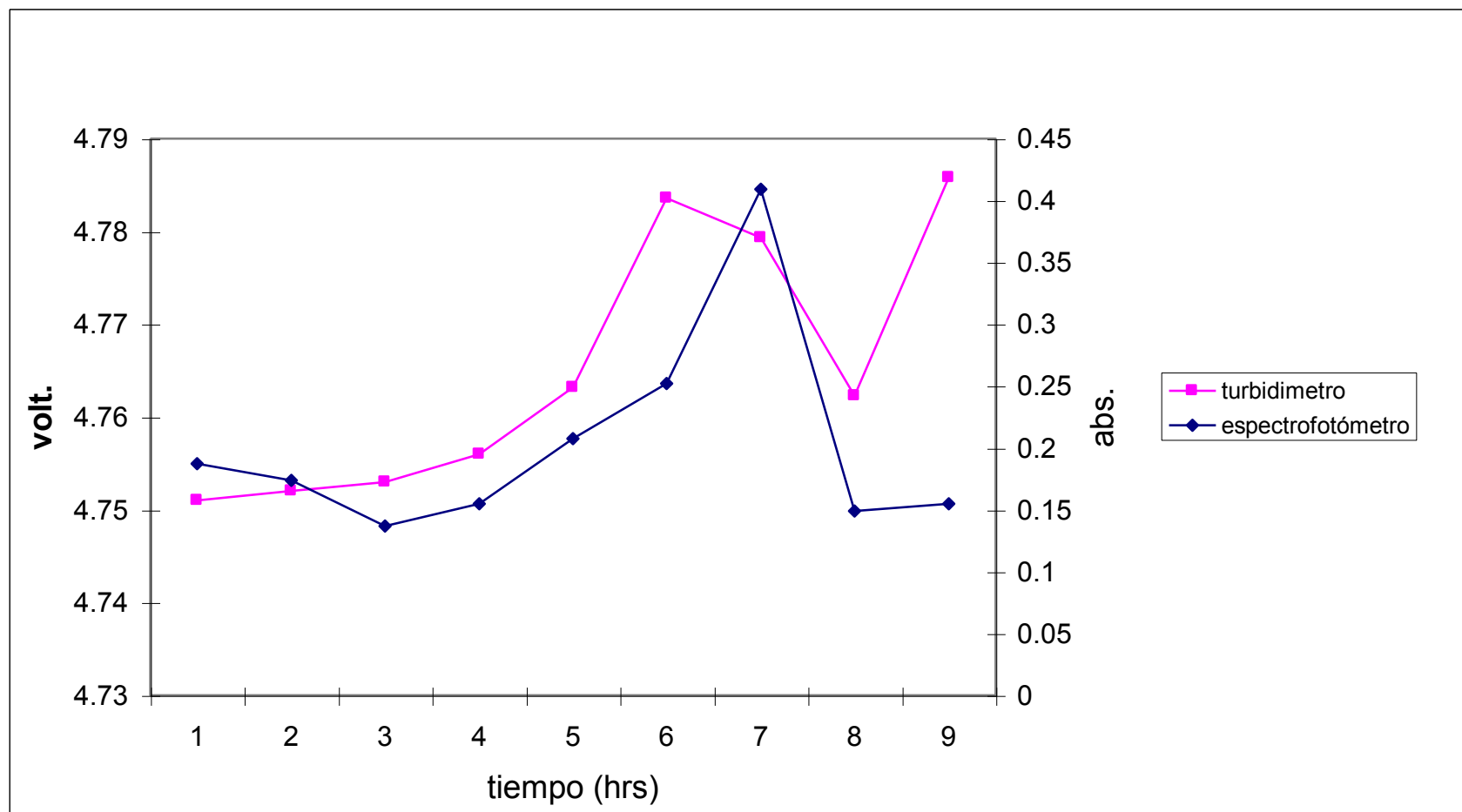


Figura 31. Voltaje obtenido en el segundo ensayo con *Rhodotorula glutinis* en el dispositivo para medir turbidez en-línea

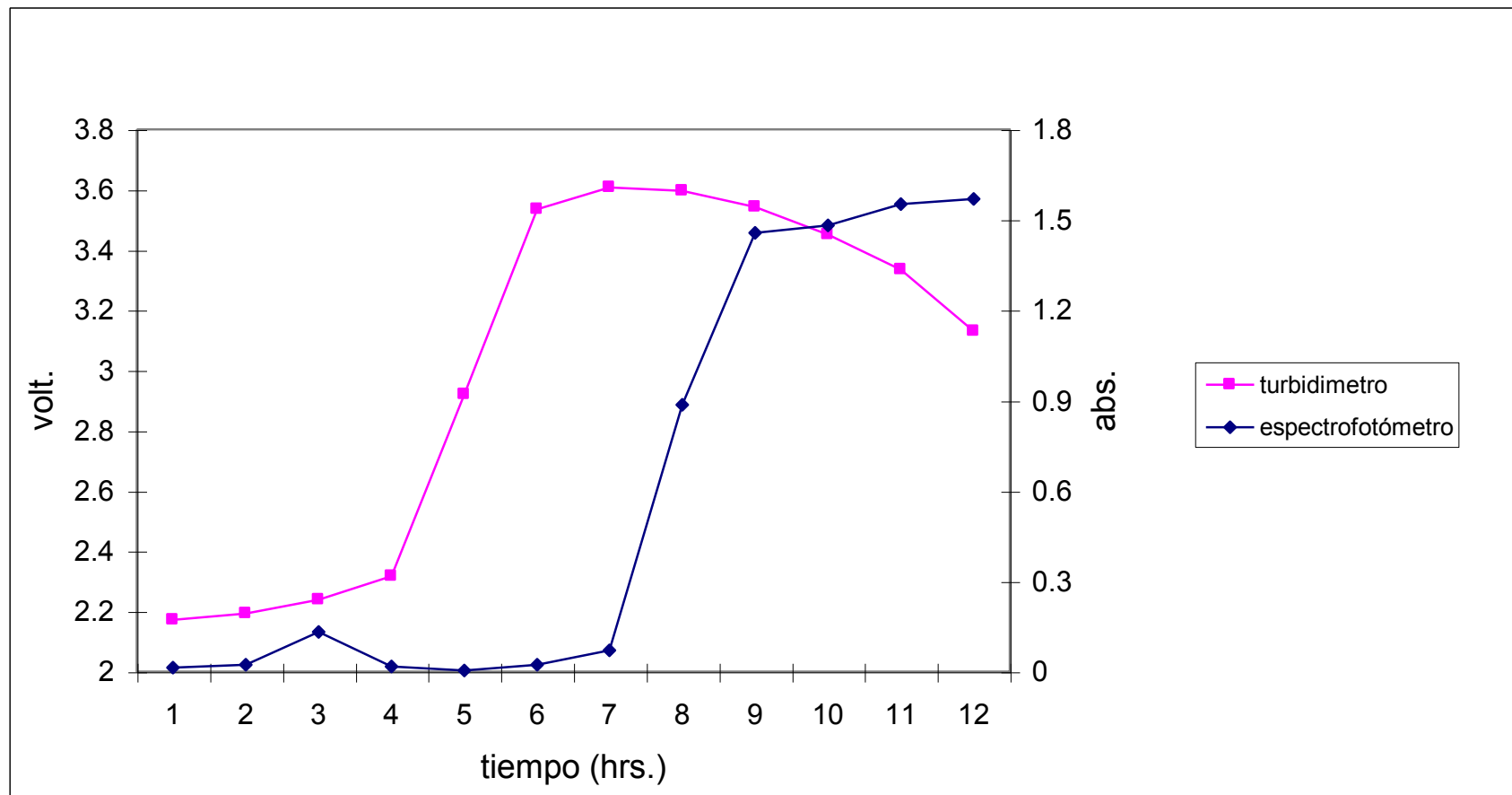


Figura 32. Valores obtenidos para el voltaje en el tercer ensayo con *Rhodotorula glutinis* en la medición de la turbidez en-línea.



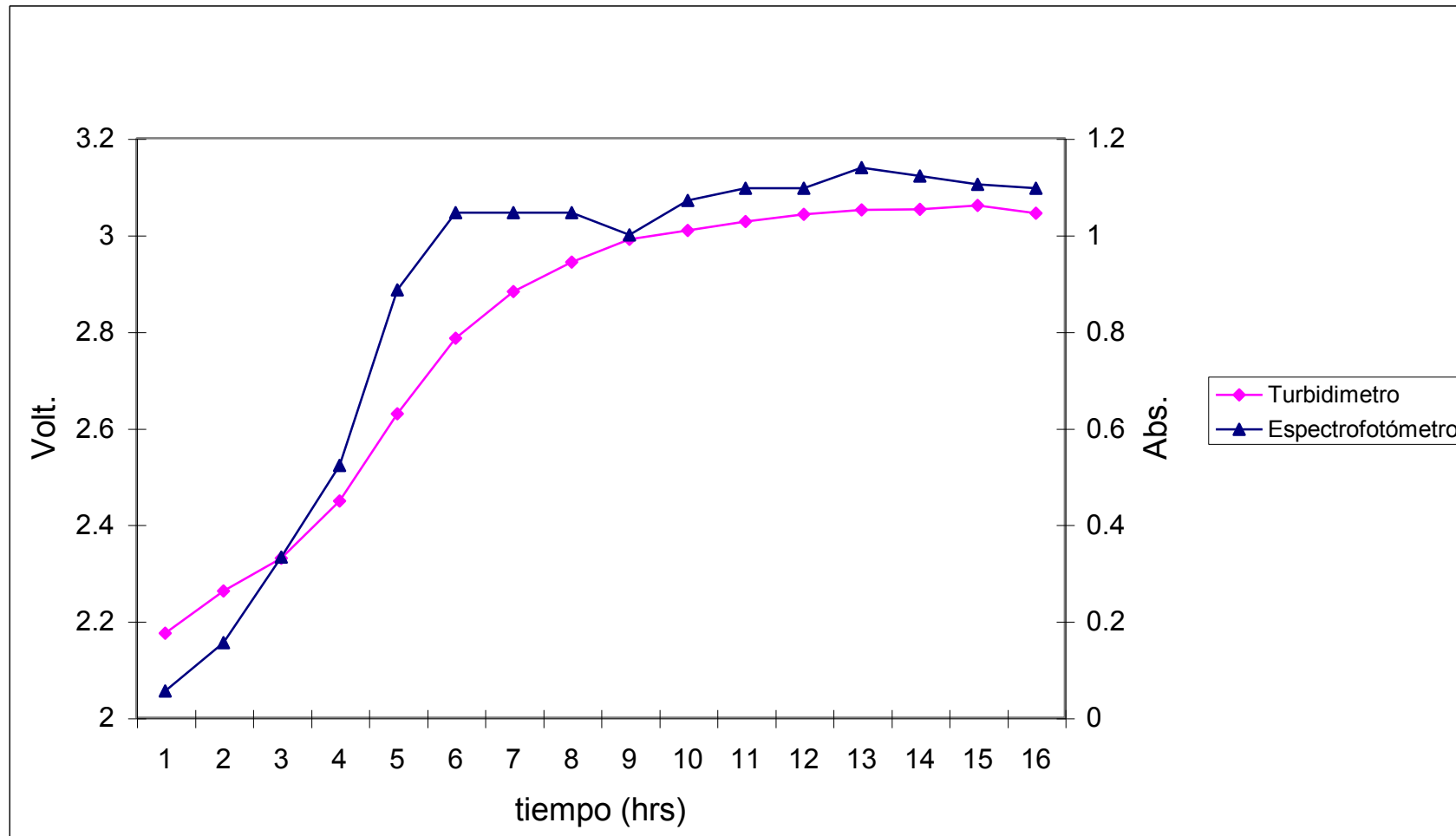


Figura 33. Valores obtenidos en voltaje para el cuarto ensayo con *Rhodotorula glutinis* en el turbidímetro

## 6.2 Obtención de Datos Con Acidithiobacillus ferrooxidans

6.2.1 Datos Obtenidos a Nivel Matraz. Se obtuvieron datos de potencial óxido-reducción para cada combinación del diseño factorial.

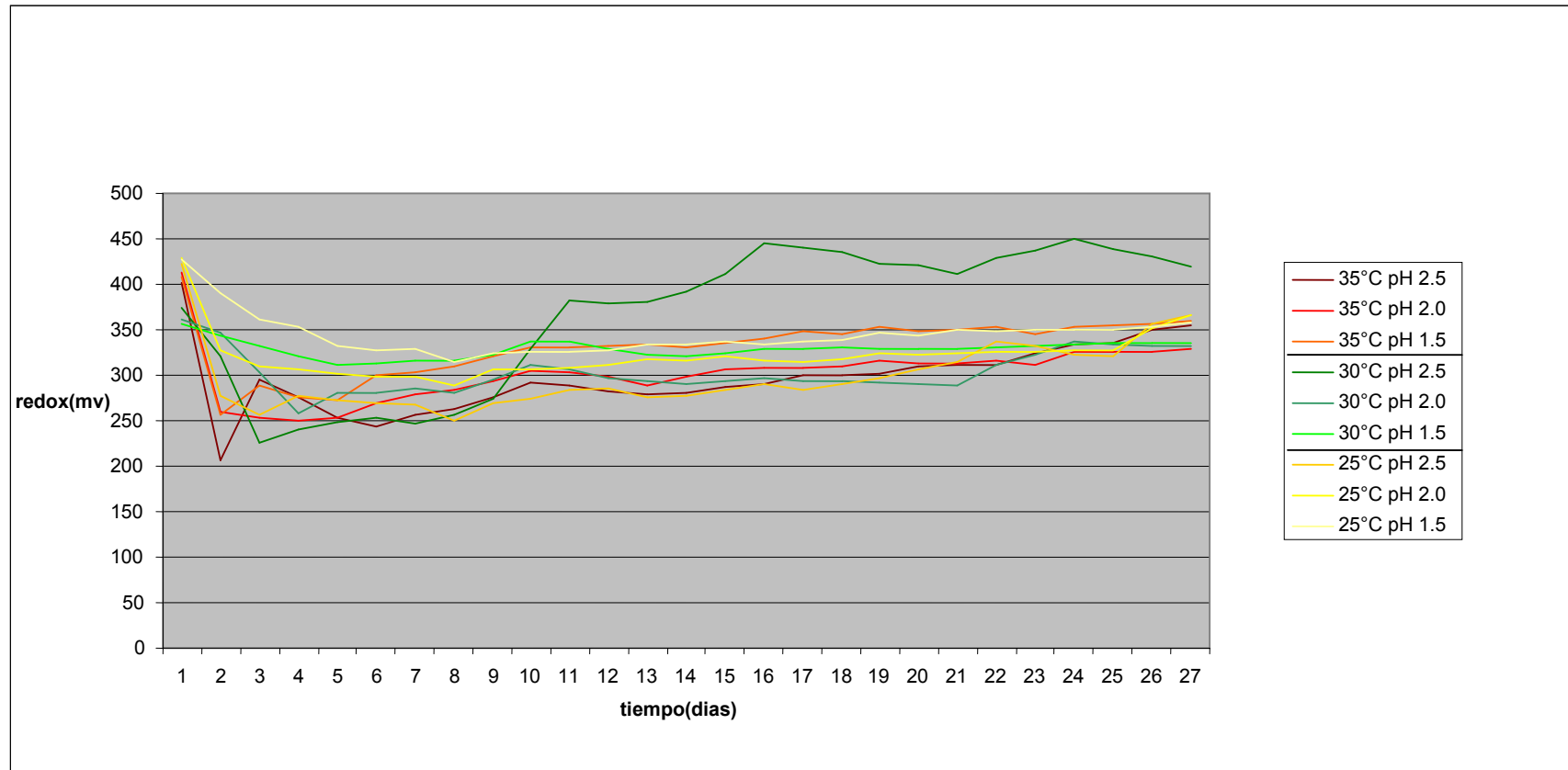


Figura 34. Datos de potencial óxido-reducción en los matraces del diseño experimental de 2 X 3

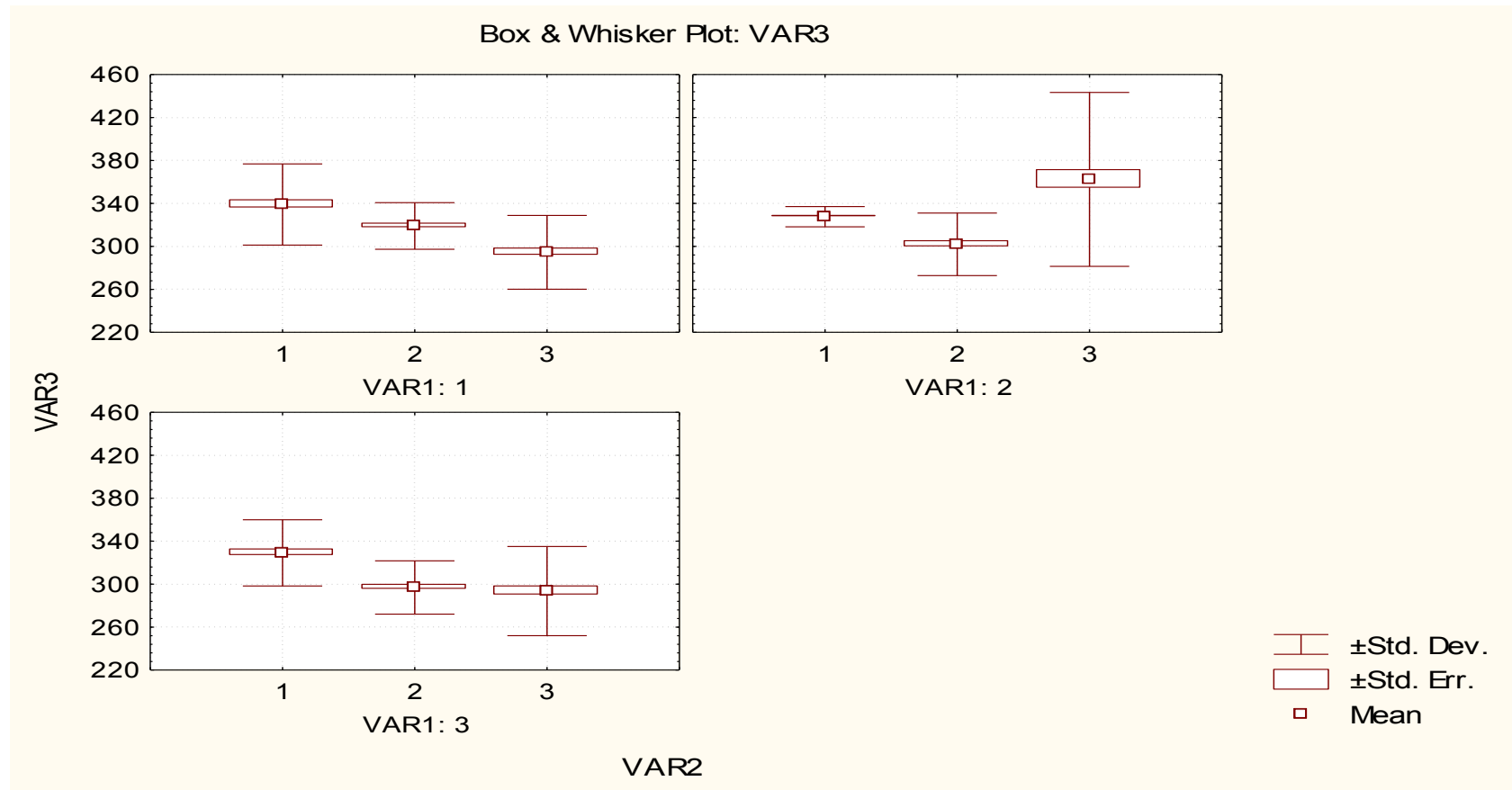


Figura 35. Cajas de Box Whisker para la determinación de la influencia de las tres variables de trabajo sobre el proceso

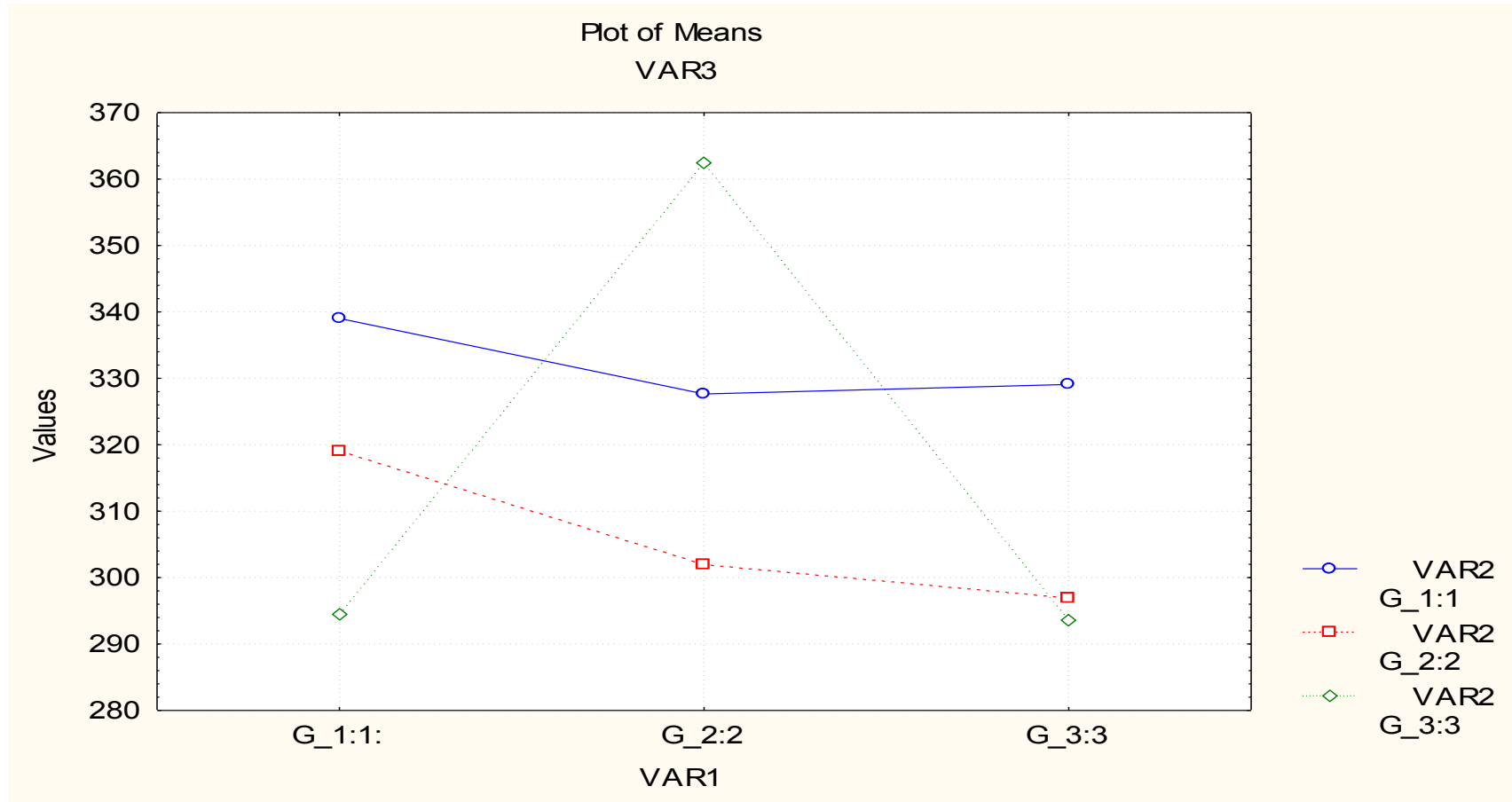


Figura 36. Gráficas de influencia de variable sobre el proceso de biolixiviación

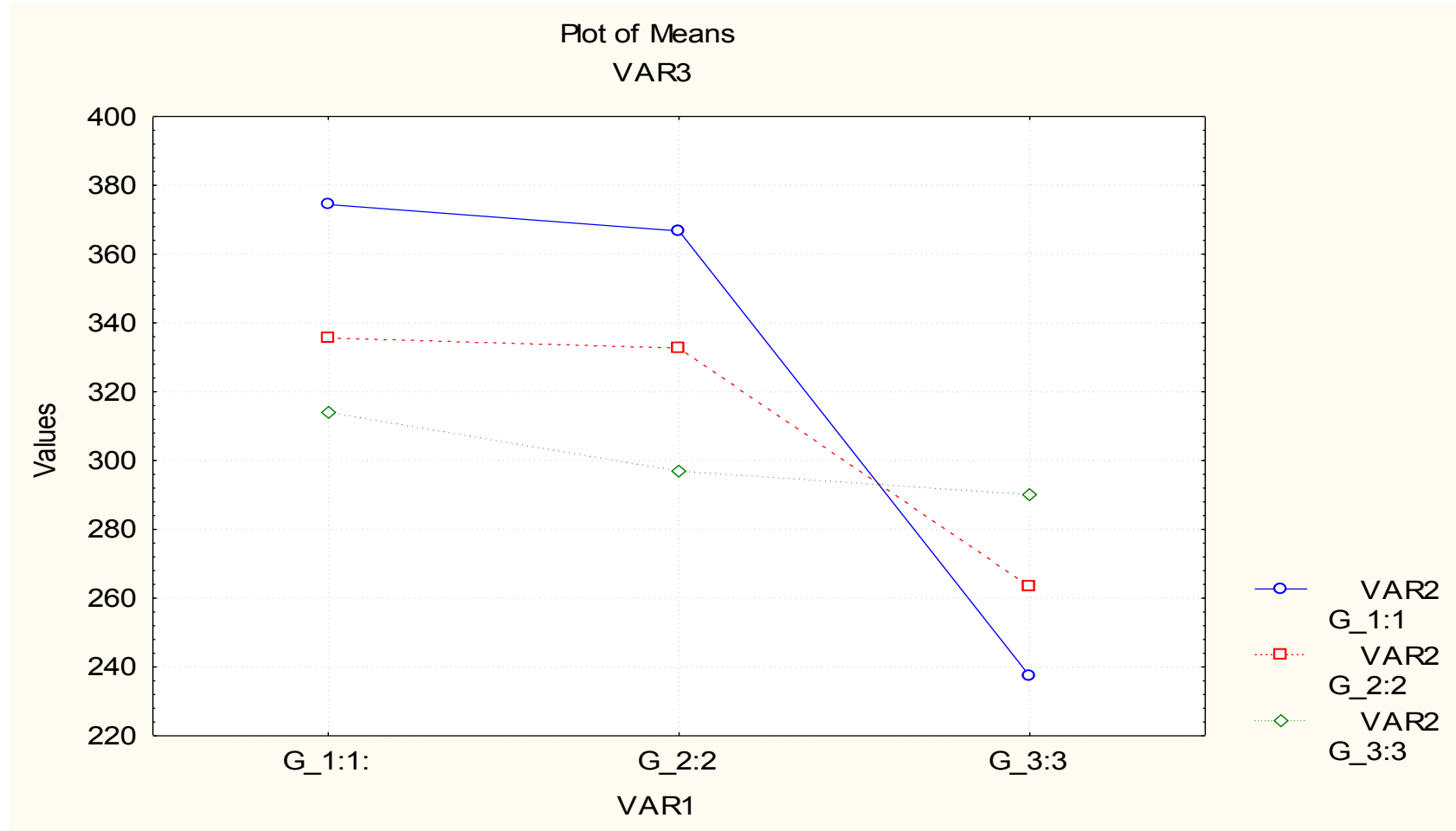


Figura 37. Curva de medias para la determinación de la influencia de variables en el proceso de biolixiviación

Analisis de superficie de respuesta para el segundo mineral

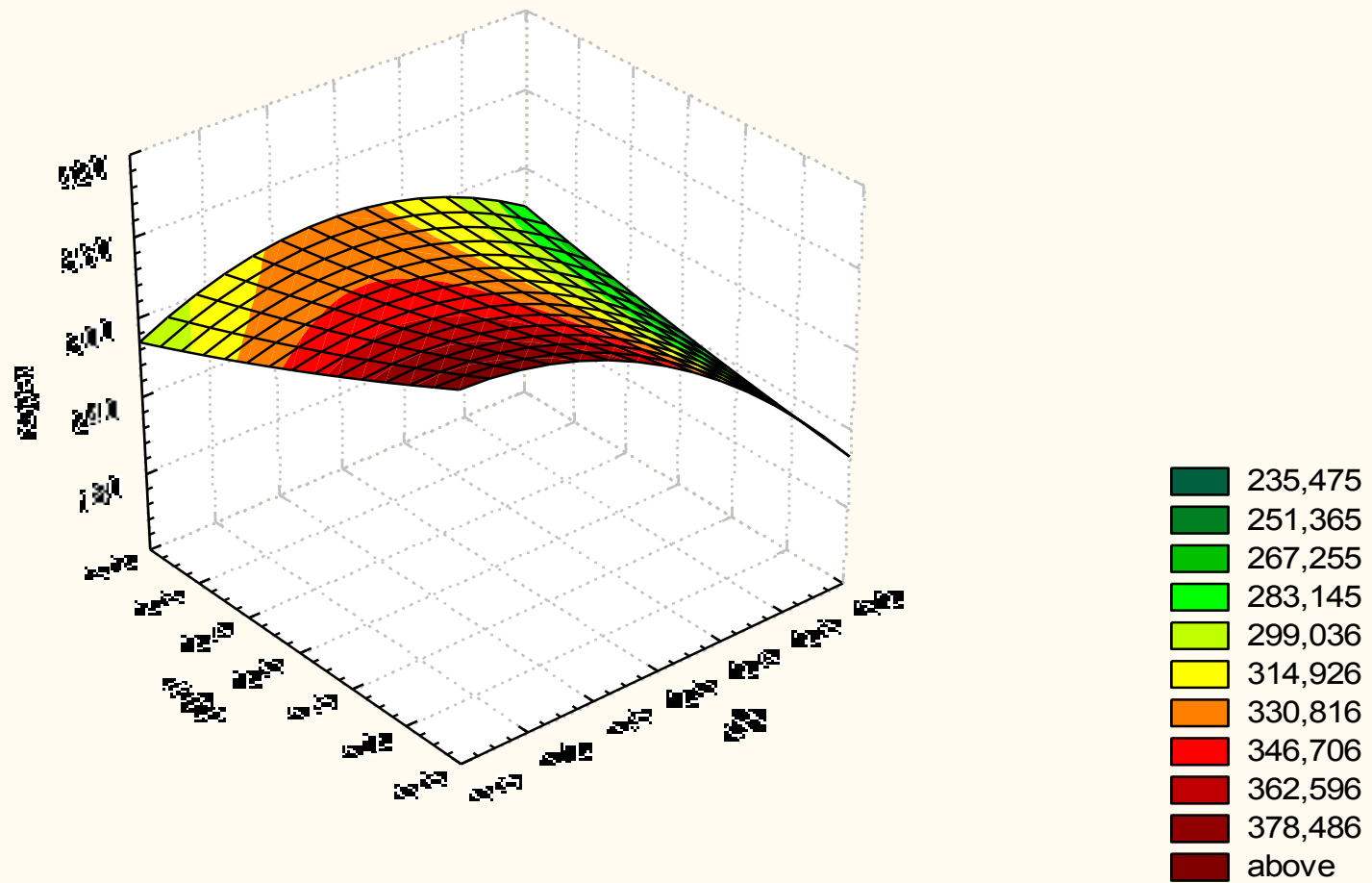


Figura 38. Análisis de superficie de respuesta para la determinación de los valores óptimos de pH y temperatura en el potencial óxido-reducción.

## 6.3 Obtención e Implementación del Modelo de Red Neuronal

### 6.3.1 Selección del Modelo de Red Neuronal

La arquitectura que se utilizó para la red neuronal, se obtuvo por el método de Frangú, haciendo uso de NNTool de MatLab® las características son las siguientes:

Tipo: Feedforward back propagation

Función de entrenamiento: TrainLM

Determinación del error: MSE

Número de capas: se probó de 1 a 2 capas

Número de neuronas: de 1 a 2

Función de transferencia: TanSig

Se calculó el peso ( $W$ ) de cada variable en la optimización de la neurona y se obtuvieron

los siguientes valores:

$W(11)$  [0.1 1.9; -0.73 -0.015]

$W(21)$  [0.19 -0.036]

$b(1)$  [-15.1898]

$b(2)$  [0.4784]

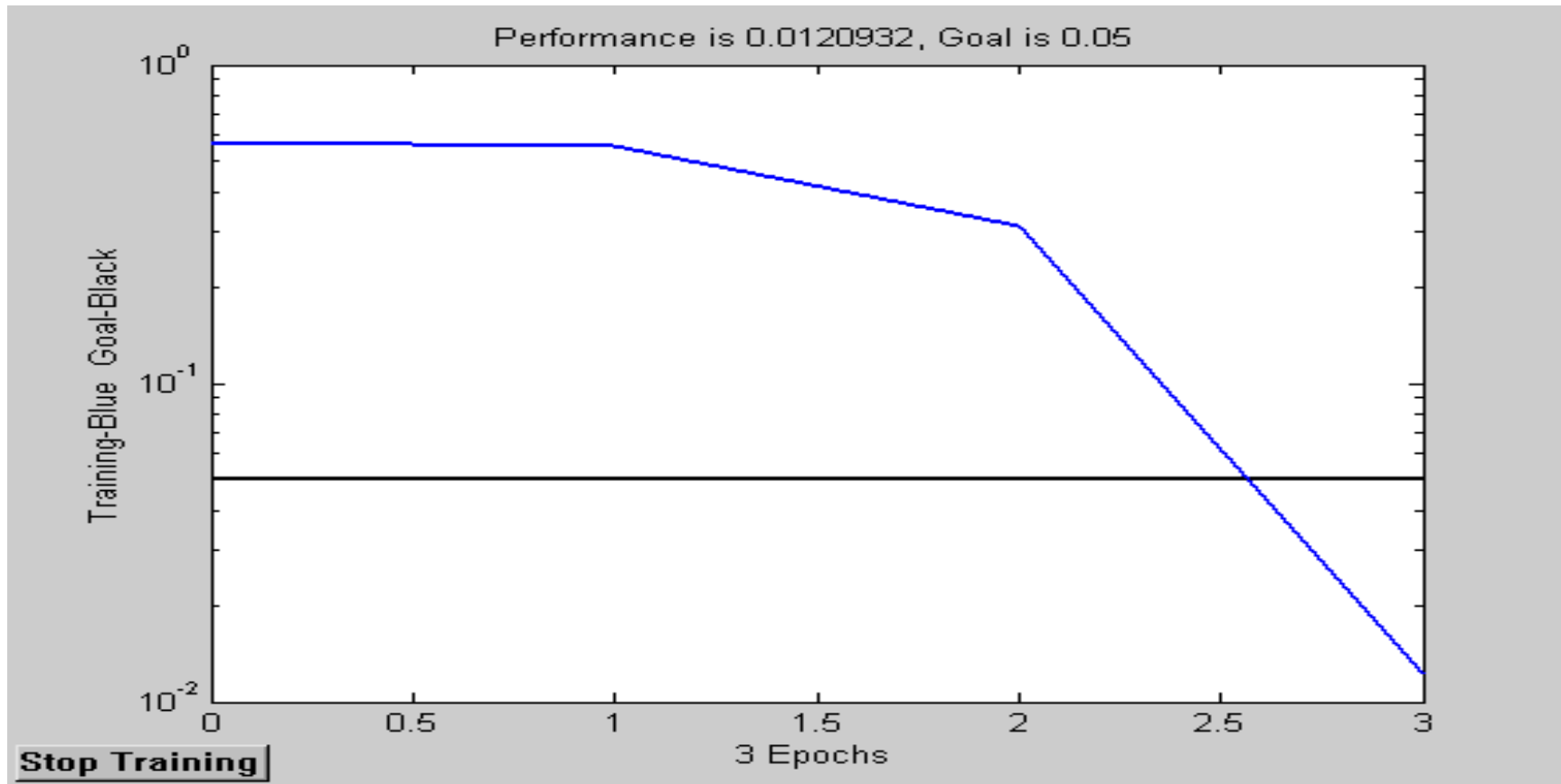


Figura 39. Evolución del error cuadrático medio, para el proceso de convergencia



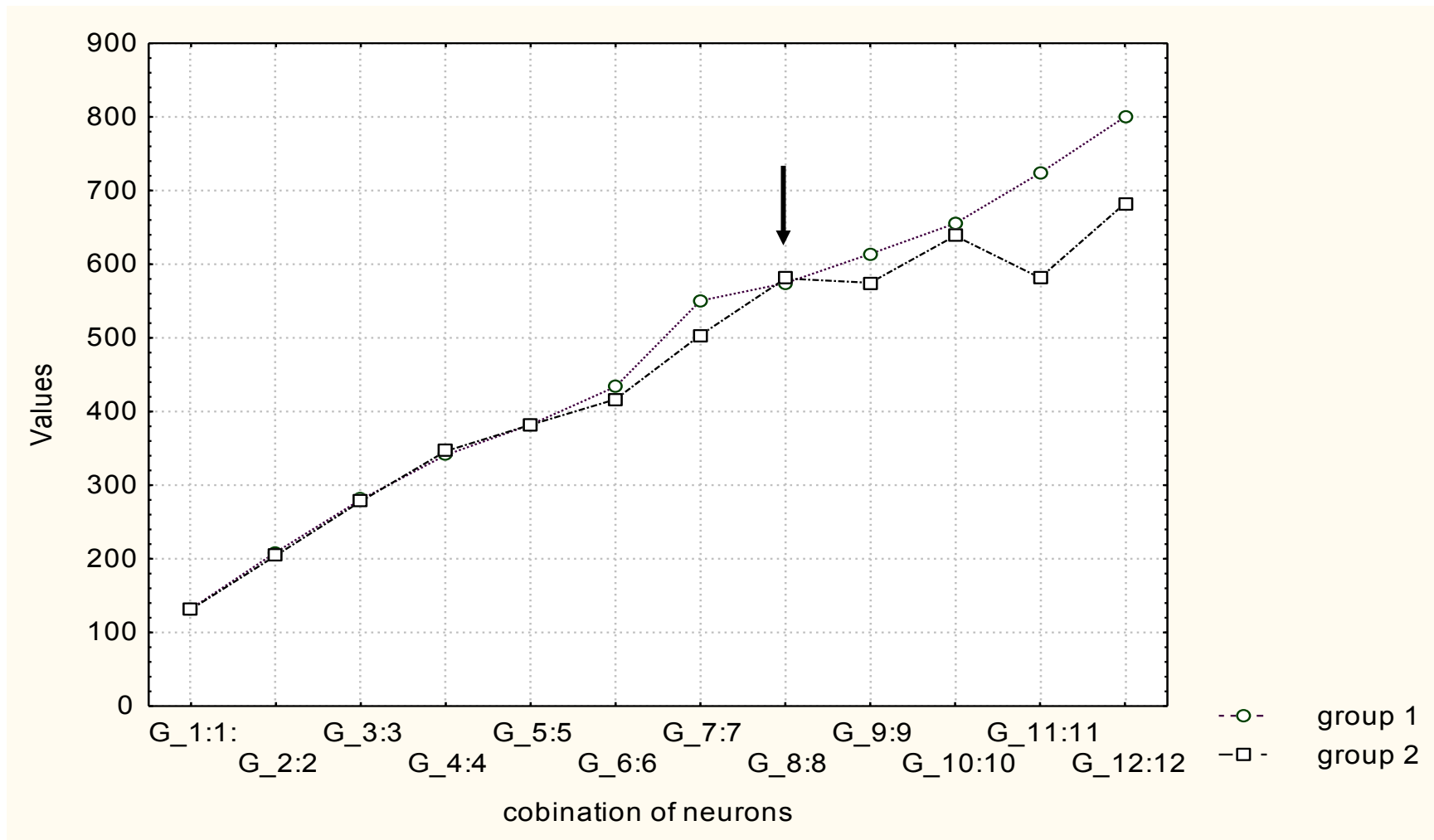


Figura 40. Curva de media para la prueba T en los dos grupos de datos utilizados para la optimización

Tabla III  
Prueba T para cada grupo de datos

Group layers:neurons /	Diff.	Std. Dv. Diff.	t	Marked diff.
G 1:1 / 1:1	0.7291	15.802	0.452	
G 2:2 / 1:2	-78.604	184.48	-4.174	*
G 3:3 / 1:3	-55.52	135.05	-4.027	*
G 4:4 / 1:4	-74.885	125.301	-5.855	*
G 5:5 / 1:5	-72.833	186.96	-3.816	*
G 6:6 / 1:6	22.656	193.435	1.147	
G 7:7 / 2:1	22.822	115.2535	1.9402	
G 8:8 / 2:2	-6.375	111.7438	-0.558	
G 9:9 / 2:3	74.239	185.47	3.921	*
G 10:10 / 2:4	31.125	220.37	1.383	
G 11:11 / 2:5	174.25	305.16	5.5947	*
G 12:12 / 2:6	176.81	271.14	6.389	*

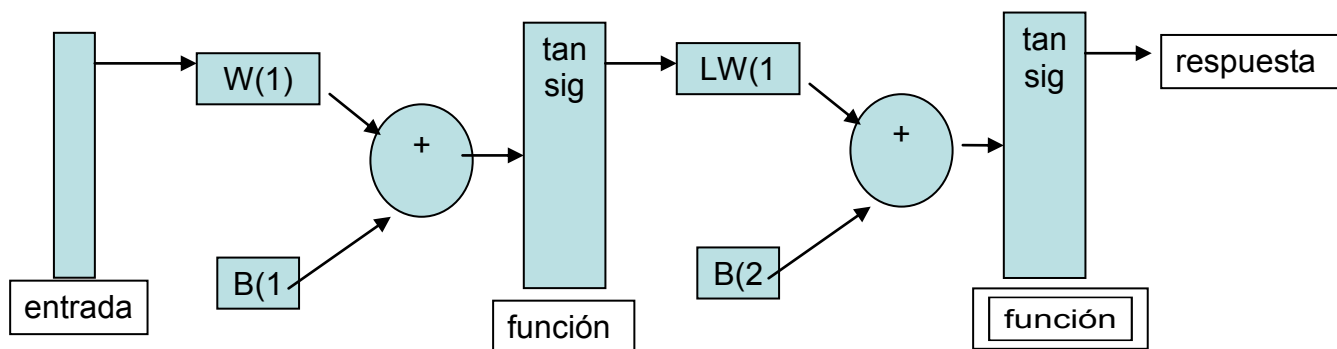


Figura 41. Arquitectura propuesta para el modelo de red neuronal, la entrada incluye a las variables pH, temperatura y potencial óxido-reducción, la salida es la simulación del potencial óxido-reducción por el modelo de red neuronal

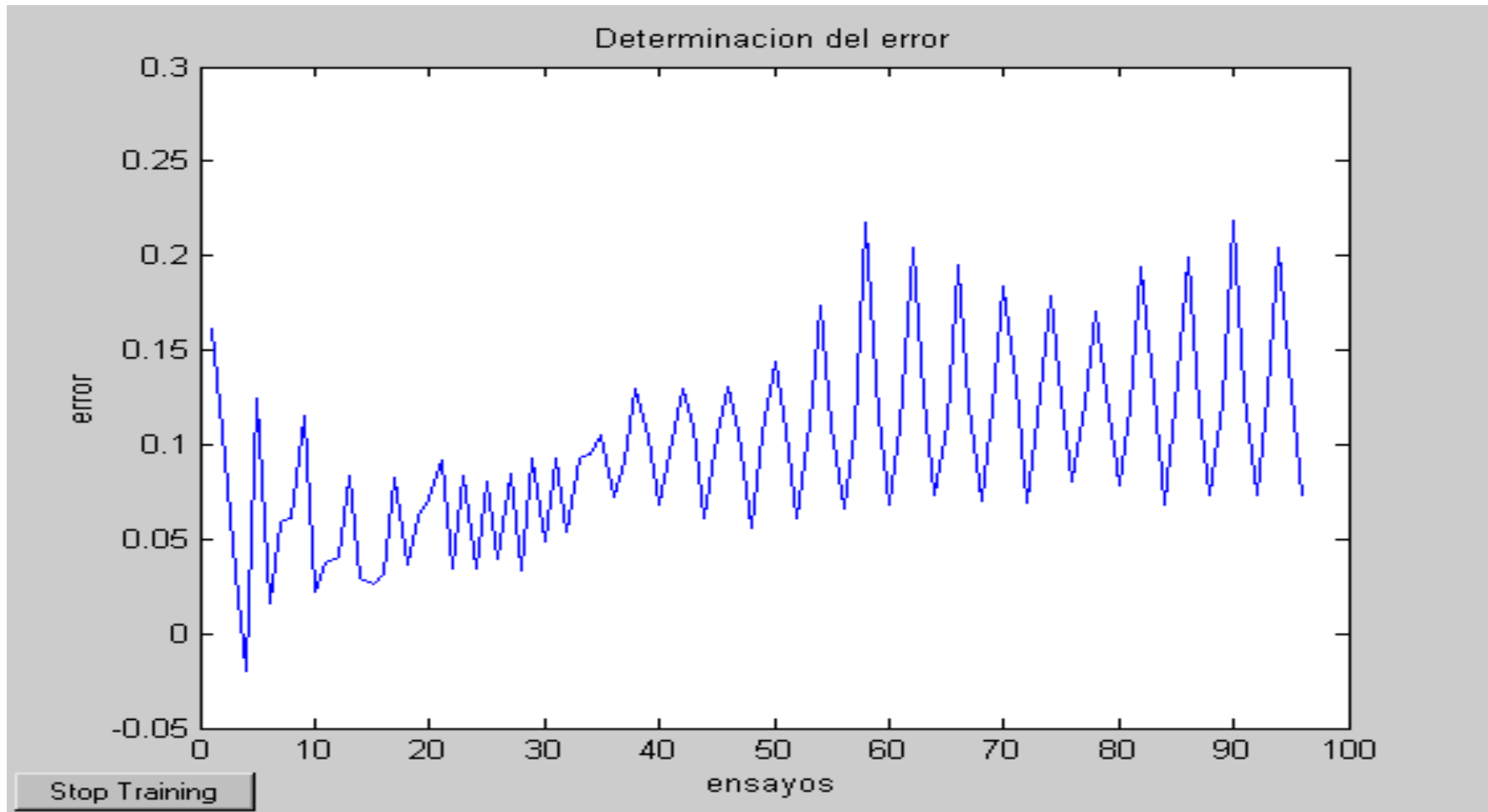


Figura 42. Desarrollo del error para cada uno de los puntos de convergencia entre los datos de entrada y el modelo neuronal

## 6.4 Ensayos en Fermentador con *Acidithiobacillus ferrooxidans*

### 6.4.1 Ensayos Libres

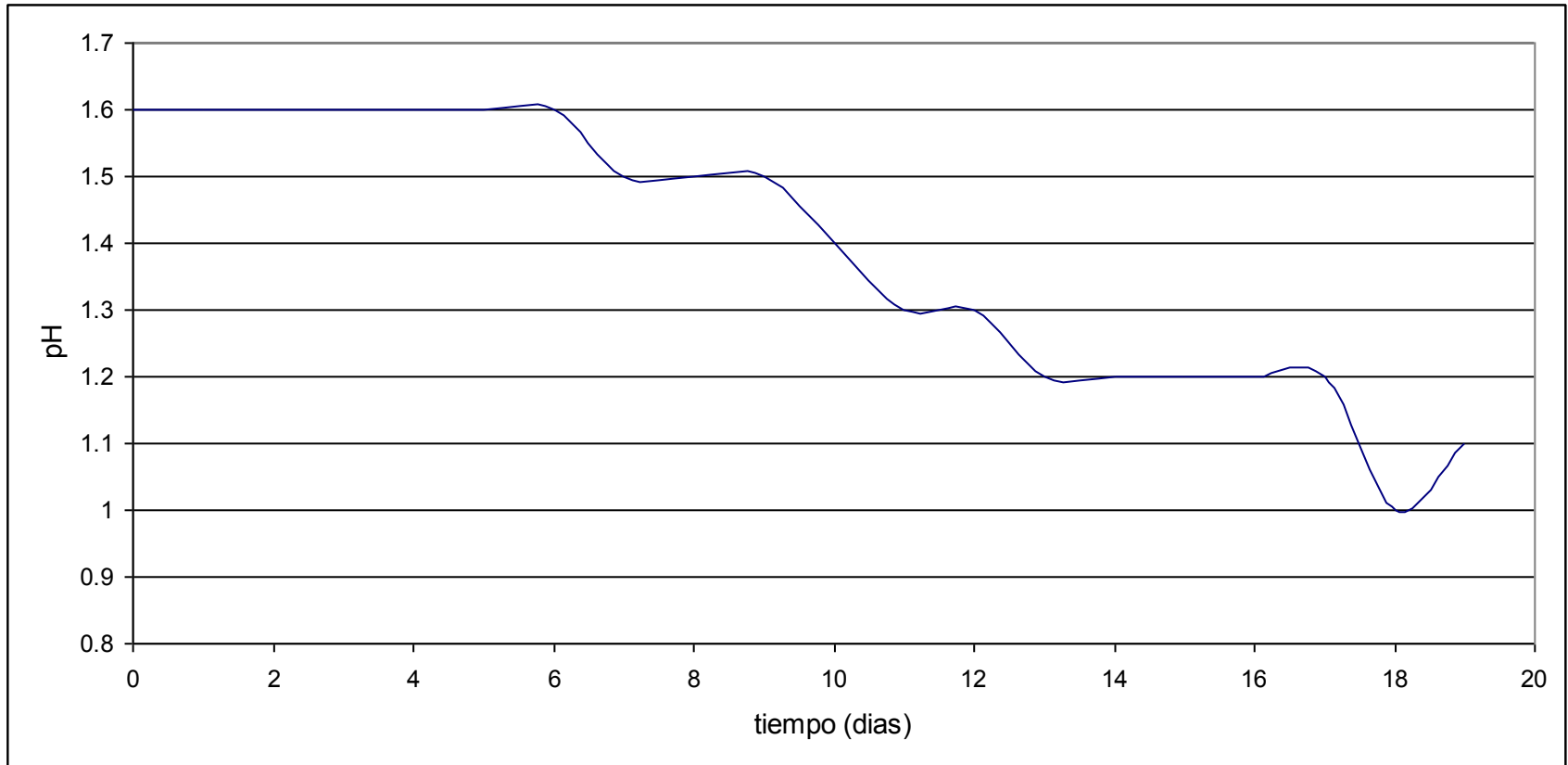


Figura 43. Ensayo con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en fermentador sin control, únicamente se tomó la lectura del desarrollo del pH

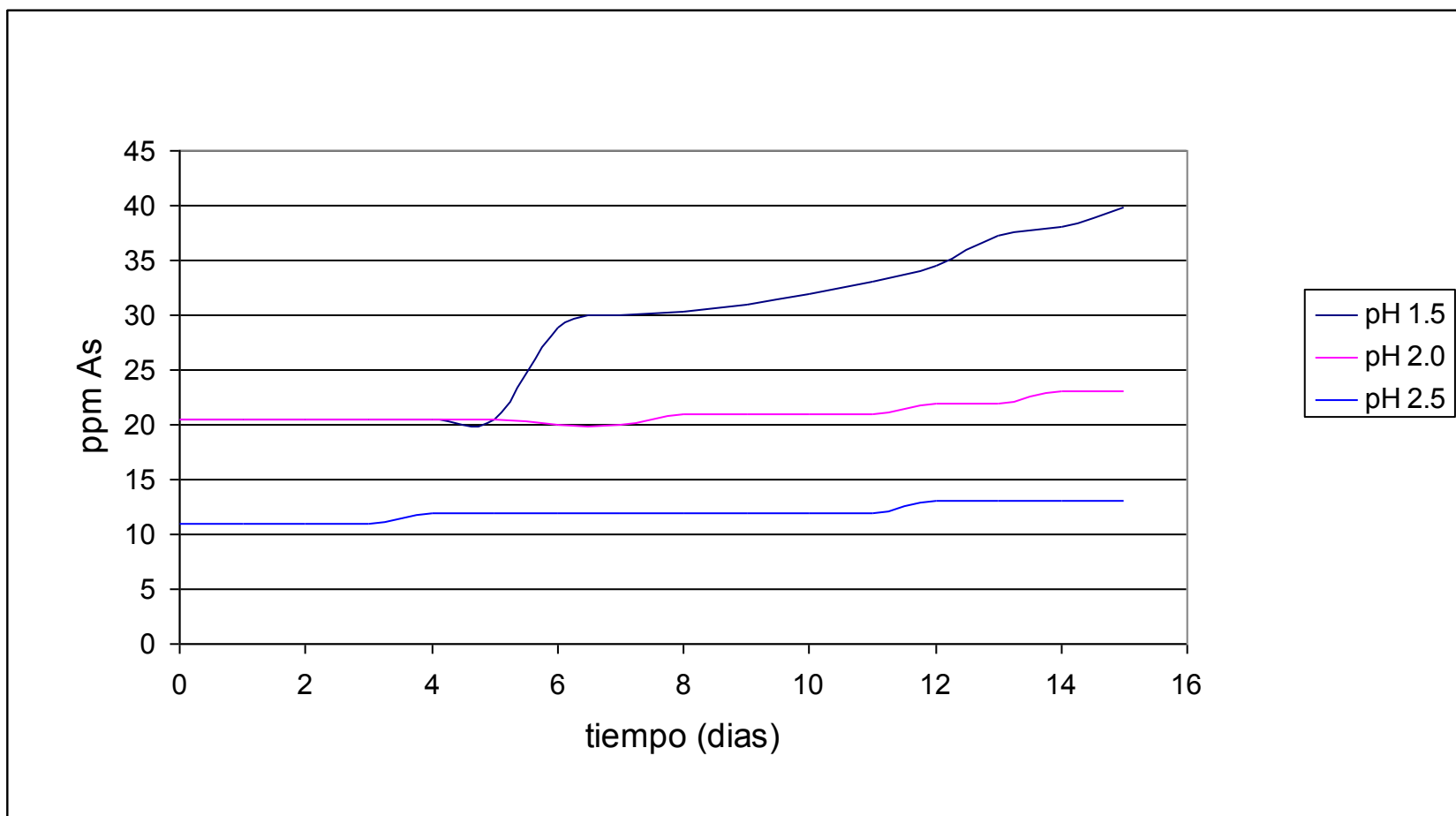


Figura 44. Determinación de la biolixiviación de Arsénico por espectrofotómetro de Absorción Atómica en muestras de mineral a diferentes pH a nivel matraz.

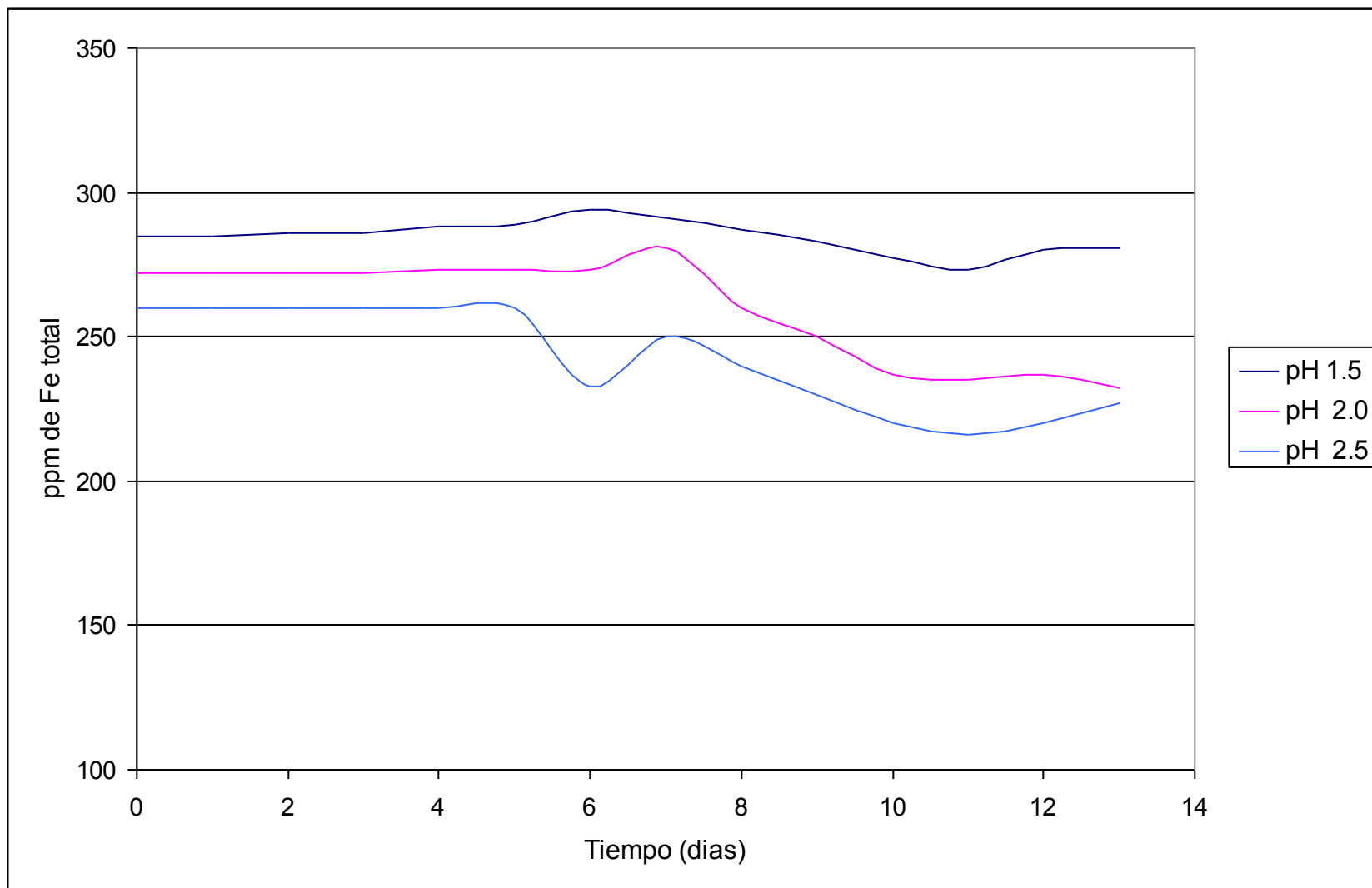


Figura 45. Determinación de la concentración de Fe total por espectrofotómetro de Absorción Atómica en muestras de biolixiviado a diferentes pH a nivel matraz.

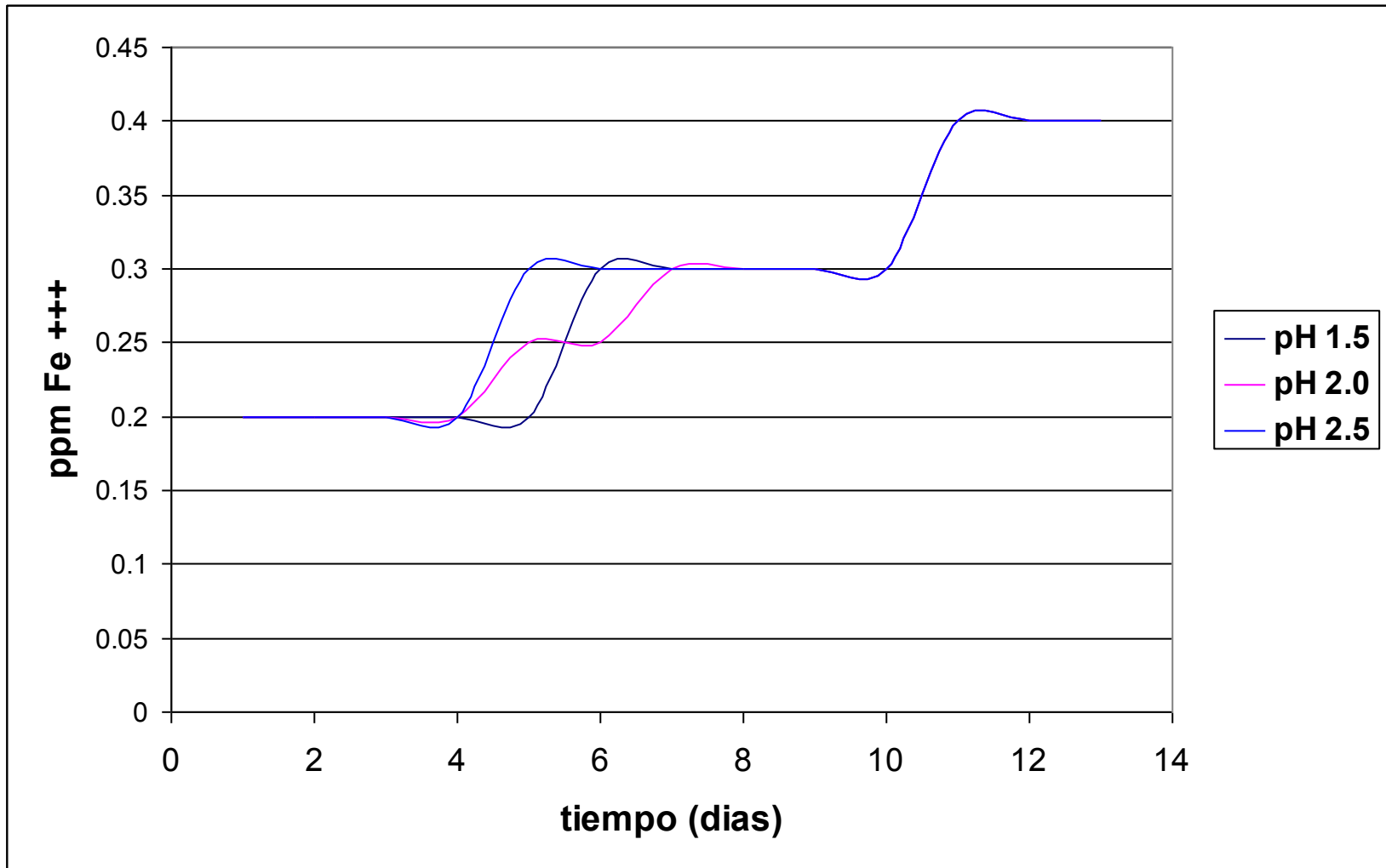


Figura 46. Determinación de Fe<sup>3+</sup> por permanganimetría en muestras de biolixiviado a diferentes pH a nivel matraz



#### 6.4.2 Ensayos a Nivel Fermentador (Esta sección se encuentra en el apéndice)

#### 6.5 Análisis de Espectrofotometría de Absorción Atómica

Tabla IV

Análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica para Pb.

horas	ensayo 8 [mg/l]	ensayo 9 [mg/l]	ensayo 10 [mg/l]
0	6.03	6.03	6.06
120	6.335	6.621	5.26
216	7.47	22.64	5.3
288	5.9	11.8	5.9

Tabla V

Análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica para Zn.

horas	ensayo 8 [mg/l]	ensayo 9 [mg/l]	ensayo 10 [mg/l]
0	37.8	37.8	30.7
120	86.41	77.26	80.81
216	87.15	93.7	106.5
288	89.5	99.1	99.5

Tabla VI  
Análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica para As.

horas	ensayo 8 [mg/l]	ensayo 9 [mg/l]	ensayo 10 [mg/l]
0	77.25	19.1	20.6
120	52.21	32.1	59
216	52.0	51.0	79.4
288	47.7	62.8	98.8

Tabla VII  
Potencial óxido-reducción máximo para cada ensayo evaluado cuantitativamente

horas	ensayo 8 constante	ensayo 9 neurocontrolado	ensayo 10 neurocontrolado
min	266	286	247
120	328	305	313
216	343	336	344
288	353	347	362
384	356	360	373

## VII. DISCUSIÓN

### ETAPA I

El sistema diseñado permite visualizar continuamente las variables involucradas en el control del proceso, Lubenova *et al.*, 2003, menciona que uno de los problemas con el control y seguimiento de los procesos tiene que ver con la ausencia de un valor de los parámetros.

En el sistema que se propone, se realiza la característica principal de que se pueden tener los valores de las variables pH y temperatura en el momento en que ocurren y modificarlas de forma manual y/o automática. El Potencial óxido-reducción se puede leer en-línea con un electrodo adecuado, lo que da una lectura real y no recíproca como la daría un electrodo de pH en modo de milivoltios. Flores, 1994, presenta gráficos donde el pH y el potencial óxido-reducción siguen un comportamiento recíproco, es decir si el pH sube, el potencial óxido-reducción baja y así sucesivamente, esto pudiera deberse a que el electrodo que se usó fue un electrodo de pH en modo de milivoltios, Nemati *et al.*, 1996, y Fowler *et al.*, 1999, utilizaron un electrodo de combinación platino/referencia (Ag/AgCl), aunque Nemati *et al.*; 1996, utilizó un medidor de pH y Fowler *et al.*; 1999, un galvanómetro para medir el voltaje del electrodo. Third *et al.*, 2000, utilizó un electrodo de doble referencia plata/cloruro de plata y otro electrodo para medir el pH.

Acerca de la pantalla interactiva, se diseñó en Visual Basic ® y permite visualizar las variables en tiempo real, calibrar los electrodos de pH y Oxígeno Disuelto. El programa realiza la lectura y el control simultáneamente; por medio de una interfase de la Computer Boards ®, *et al.*, 1998, utilizó Lab VIEW (National Instruments Corporation) únicamente para interactuar con las variables de entrada y salidas de control en un lenguaje que califica de sofisticado, además utilizó otro programa comercial aparte para ajustar las condiciones, calibrar los electrodos, establecer el tiempo para la adquisición de datos y mantenerse fuera de línea para limpieza, en este trabajo se utilizó un solo programa.

En las pruebas de funcionamiento del sistema, se utilizó agua destilada en el fermentador (Figura 25). Se ajustó a un pH de 10, luego se le pidió al programa que lo modificara a pH 8, lo que se logró en un tiempo de 25 minutos, posteriormente se mantuvo en pH 8 durante 25 minutos, se puede observar en la curva obtenida que el sistema llevo el pH de una forma pausada evitando que baje demasiado rápido.

Se realizaron ensayos en el pH y temperatura (Figura 26 y 27) para llevar estos valores aplicando una ecuación dependiente del tiempo, a medida que el tiempo avanzaba, el valor del pH y la temperatura se modificaban automáticamente, el descenso del pH se logró con ácido sulfúrico al 5% y el aumento con hidróxido de sodio 4 N, el aumento de temperatura se logró con una banda térmica y el descenso con un intercambiador de calor conectado a la red de agua potable; se obtuvieron resultados

adecuados para mantener las condiciones lo más cercanas posible al valor requerido en una ecuación no-lineal.

En los ensayos de prueba con *Rhodotorula glutinis*, se llevó un control lineal de la temperatura, que se mantuvo en 30 °C (Figura 28), en la curva se aprecia la temperatura dentro del fermentador luego de ser sacado de la autoclave. Al sistema se le pidió que llevara la temperatura a 30 °C lo que se logró en un tiempo de 2 ½ horas, posteriormente se inoculó, mientras la temperatura cayó hasta 28 °C, después de inocular, se pidió al sistema llevar la temperatura a 30 °C lo que se logró en 5 minutos y posteriormente permaneció estable durante todo el experimento. El pH para este experimento (Figura 29) fue de mucha ilustración acerca de lo que pudiera pasar en los futuros ensayos, pues una variación en la concentración de ácido sulfúrico provocó una alteración en el control del pH entre el tiempo 1500 minutos y 2400 minutos, aquí se tuvieron problemas para mantener el pH estable, en el minuto 2500 se aplicó una ecuación matemática que llevó al pH de 4 a 9 de forma secuenciada (*Rhodotorula glutinis*, produce pigmento a pH 9 pero su crecimiento óptimo se lleva en pH 4).

Se realizaron pruebas para medir la turbidez en línea con *Rhodotorula glutinis*, las cuales comienzan en la Figura 30, aquí se aprecia el voltaje de salida de la fotoresistencia asociada al cambio de transmitancia de la solución, la gráfica muestra dos líneas, la línea oscura es la que se obtuvo del espectrofotómetro y la línea clara es la que se obtuvo del dispositivo diseñado, para elaborar estos gráficos, se extrajeron solo los datos correspondientes a la hora en que se tomó la muestra, es decir cada 4 horas, para el primer ensayo, las curvas no tuvieron ninguna relación debido a que el valor de la resistencia era muy bajo y no detectó cambio alguno. Para el segundo ensayo (Figura 31), se modificó el valor de la resistencia a 1 k, en este ensayo ya se pudo apreciar un patrón relacionado con lo que ocurría en el fermentador, es de notar que aproximadamente a las 6 horas ocurre un lavado del medio, lo que origina una caída en el valor de turbidez aumentando la transmitancia. En el tercer ensayo (Figura 32), el dispositivo detectó la fase larga de adaptación del ensayo, se aprecia un aumento temprano de la turbidez debido a deposición de células en la pipeta dentro del dispositivo de turbidez. En el cuarto ensayo (Figura 33), el dispositivo muestra mejor desempeño que los valores obtenidos para el espectrofotómetro, se observa en las curvas el aumento de células y la fase exponencial así como la fase estacionaria, en los datos del dispositivo, se aprecia una línea suave con pocas alteraciones, no así en las lecturas fuera de línea se aprecian bordes y aumentos en la curva. Al igual que los gráficos que muestra Lubenova *et al.*, 2003, al inicio de los ensayos el valor de la turbidez fluctúa un poco pero en seguida se estabiliza, podemos mencionar que el sistema cumple con los requerimientos necesarios para medir la turbidez en línea en procesos fermentativos con levaduras o bacterias en medio sintético, pero en el caso de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, se tuvo el problema de que se trabajó con mineral. La deposición del mineral en la pipeta impidió que se tuvieran buenas lecturas, por lo que se desechó la idea de medir la turbidez en línea para *At. ferrooxidans*.

## ETAPA II

En la Figura 34, se muestran los datos obtenidos a nivel matraz con *Acidithiobacillus ferrooxidans* a los pH y temperatura del diseño experimental, en esta etapa, se incluyeron matraces testigo cuyos datos no se muestran. En los resultados obtenidos, se puede apreciar un descenso del Potencial óxido-reducción en las primeras 24 horas,

debidas a la tendencia del microorganismo de disolver el mineral y liberar carbonatos e iones (Riekkola-Vanhanen *et al.*, 1999, Bevilaqua-Mascarini *et al.*, 1999), además de una tendencia a un aumento en el pH. El pH del medio fue controlado de forma manual, cada 24 horas. Se aprecia un aumento del Potencial óxido-reducción muy retardado, debido probablemente a que la cepa no fue acondicionada al mineral, es decir se propagó en medio sintético (9 k) y de ahí se pasó a los matraces a la concentración de 1 %. El análisis estadístico demuestra que existe una correlación de variable pH, temperatura y tiempo reflejado en el valor de potencial óxido-reducción (Figura 35), las cajas de Box Whisker (Statistic ®) para las variables 1 pH, variable 2 temperatura variable 3 tiempo, muestran correlación debido a que no hay sobreposición. Las gráficas de influencia de las variables, curva de medias (Statistic ®) muestran una mayor influencia para la variable pH (Figura 36 y 37), sobre la respuesta de potencial óxido-reducción, Stoner, 1998, utilizó pH de 1.65 a 1.95, y la temperatura de 26 °C a 55°C, también encontró mas impacto del pH sobre el proceso de oxidación. Para este grupo de datos se obtuvo una gráfica de superficie de respuesta (Statistic ®) (Figura 38), que permitió definir los valores óptimos de pH y temperatura de los cuales se obtuvieran mejores valores de potencial óxido-reducción, los valores óptimos fueron pH a un valor de 2 y temperatura a un valor de 30 °C, Ahonen, 1991, encontró que un pH de 2.1 y una temperatura de 37 °C tenían mejor rendimiento sobre la disolución de cobre. Estos valores se utilizaron para realizar ensayos a nivel fermentador en condiciones constantes, con la finalidad de comparar los resultados obtenidos a condiciones modificadas por el modelo de red neuronal.

Los datos obtenidos fueron utilizados para elaborar un modelo de red neuronal. Se utilizó la NNTool de Mat Lab ® que usa un método interactivo, se introdujeron los datos y se seleccionó una arquitectura, posteriormente se entrena la red, lo cual lleva cierto tiempo de horas a meses según la complejidad de los datos y la capacidad de la computadora, en nuestro caso la convergencia (Figura 39) al error seleccionado (0.001) se alcanzo en 30 minutos y requirió de 3 iteraciones, la convergencia se refiere al momento en que el error no varia significativamente (Rico-Martinez 1998). Para la optimización se utilizó prueba T para determinar la diferencia significativa (Tabla III) entre los errores de los dos grupos de datos a diferente número de neuronas y capas (Figura 40). Se obtuvo un modelo neuronal de 2 capas con dos neuronas en la entrada y una neurona en la salida (Figura 41), Frangú et al; 2001, obtuvo una red neuronal de tres capas, cuatro neuronas de entrada, siete neuronas en la capa oculta y una neurona de salida. La función que se utilizó fue la tangente sigmoideal, Frangu, 2001, también utilizó la función sigmoideal que es la que mejor predice el tipo de comportamiento que presenta el crecimiento microbiano. La ilustración mas adecuada del modelo de red neuronal es la graficación del error obtenido entre el modelo y los datos de entrada, esta gráfica (Figura 42), determina la forma que siguen los datos de entrada, el modelo abarca el total de ellos.

### ETAPA III

Para iniciar los ensayos a nivel matraz, primeramente se realizaron pruebas para conocer el comportamiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en ensayos libres, sin aplicar ninguna forma de control, en la Figura 43, se muestra el ensayo en el que solamente se midió la evolución del pH, se aprecia un descenso marcado de pH 1.6 a pH 1 durante los 18 días que duro el ensayo, Monteiro *et al.*, 1999, encontró que el pH aumentaba por

la alta concentración de sulfuro, aunque el pH puede aumentar o decrecer (Stoner *et al.*, 1998), la tendencia es que baje por la liberación de  $H^+$  al medio (Cabral *et al.*, 1999, Chawakitchareon *et al.*, 1999, Rivera-Santillán *et al.*, 1999)

Se realizaron ensayos a pH controlado para determinar la biolixiviación de Arsénico por el microorganismo a diferentes valores de pH, en las curvas obtenidas (Figura 44), las ppm de Arsénico en el biolixiviado (líquido) permanece bajo hasta el día 4 que muestra una elevación en los pH de 2.0 y 1.5, principalmente a pH de 1.4, en el pH de 2.5 la concentración permanece constante. Para la determinación de Fe total por Absorción Atómica (Figura 45) se obtuvieron curvas con un leve descenso debido a la utilización de  $Fe^{2+}$  por el microorganismo, y precipitación de fierro (Monteiro *et al.*, 1999), en este caso, la disminución más pronunciada se obtuvo a pH 2.5. La determinación de  $Fe^{3+}$  por permanganimetría (Figura 46), muestra que no hay diferencia significativa entre estos valores a los pH de trabajo, solamente se separan los datos en un intervalo muy corto entre el día 4 y el día 5.

**Ensayos a nivel fermentador:** en el primero ensayo a nivel fermentador se mantuvo la temperatura a 30 °C (Figura 47) con un margen de tolerancia de +/- 0.01 °C durante las primeras 240 horas, después de esto se cambió la tolerancia a +/- 0.1 °C, lo que originó que el control sobre la temperatura se mantuviera de 0.2 °C a 0.5 °C durante el resto del ensayo. El pH para este ensayo se trató de mantener en 2 (Figura 48), pero se tuvieron variaciones de hasta 0.16 unidades ocasionadas por alta concentración de ácido sulfúrico la cual fue provocada por evaporación de agua. En el ensayo 1, se obtuvo una curva de potencial óxido-reducción con algunos picos provocados por interferencia eléctrica, acerca del patrón que muestra (Figura 49), este es típico del crecimiento microbiano y concuerda con los ensayos obtenidos a nivel matraz, donde en las primeras horas se presentaba un descenso en el valor y un posterior aumento, que es interpretado como una oxidación de  $Fe^{2+}$  (Bevilaqua- Mascarín *et al.*, 1999), el proceso fue llevado hasta las 400 horas. Este proceso de los más largos efectuados, mostró un incremento considerable en el potencial óxido-reducción hasta un máximo de 370 mv en 400 horas, se observa en las primeras 24 horas del ensayo un decremento provocado por la liberación de iones y carbonatos (Medrano *et al.*, 2000).

En el segundo ensayo se aplicó el modelo de red neuronal a las variables de control pH y temperatura, en la Figura 50, se muestra la curva del comportamiento del pH durante el ensayo, se observa el comportamiento típico de un control sobre el pH de una solución, el sistema trató de seguir los valores que le fueron dictados por la red neuronal, el proceso duro únicamente 200 horas que es la mitad del ensayo 1, en la Figura 51, se muestra el control efectuado en la temperatura en el transcurso del tiempo, el control es más cercano que el efectuado sobre el pH. La respuesta que se obtuvo en el potencial óxido-reducción (Figura 52) no fue satisfactoria, pues no se muestra un aumento significativo en este valor, debido probablemente a una etapa muy larga de adaptación del microorganismo al mineral, en el tiempo de 145 horas se observa un pico muy alto que no tiene relación con el pH ni con la temperatura, que pudiera ser debido a efectos de disolución del mineral.

El ensayo 3, uno de los más cortos, de solo 97 horas tuvo varias fallas; para empezar una falla en la corriente eléctrica al tiempo 46 es decir solo dos días después de iniciado el ensayo, en la Figura 53, que muestra el control efectuado sobre la temperatura muestra que al inicio se aplicó el modelo de red neuronal para que iniciara en la temperatura de 32.4 °C este procedimiento prosiguió hasta la falla eléctrica y

posteriormente el control se efectuó a 30 °C. El control sobre el pH también muestra los efectos de la falla eléctrica sobre el tiempo de 42 horas (Figura 54) el pH también fue controlado en un valor cercano a 2 durante el tiempo restante. El potencial óxido-reducción para este ensayo no tuvo la relevancia suficiente para ser tomado en cuenta (Figura 55).

El ensayo 4 también de tiempo corto, de 200 horas, también se aplicó el modelo de red neuronal, en la Figura 56, se muestra el control efectuado sobre la temperatura del fermentador, para las primeras horas del ensayo, (1 a 9), la temperatura del agua de enfriamiento era muy alta por lo que la temperatura de control muestra un pico antes de iniciar la curva del modelo. El control del pH (Figura 57) también muestra problemas para ser controlado, ya que al inicio se reinició la aplicación del modelo de red neuronal por una descalibración del electrodo lo que provoco que el control fuera desplazado hacia un nivel más bajo. El potencial óxido-reducción de este ensayo (Figura 58) muestra un incremento temprano y una posterior estabilización, que indica una buena adaptación del microorganismo a las condiciones del medio.

En el ensayo 5 también se aplicó el modelo de red neuronal a las variables de control, aunque el proceso tuvo una corta duración (200 horas) fue un claro ejemplo de un buen control, en la Figura 59, se muestra el control efectuado sobre la temperatura, se aprecia una línea suavizada con poca desviación estándar, solamente en la temperatura máxima al tiempo de 85 horas en que hay diferencia de hasta 0.5 °C por sobre el modelo. Para el control del pH (Figura 60), el control de pH se salio ligeramente del esperado en la parte final donde se aprecia una tendencia del microorganismo a elevar el pH y nos da una idea de una fase de adaptación muy larga. El potencial óxido-reducción (Figura 61) como era de esperarse tuvo un lento desarrollo; en las primeras horas el descenso típico de disolución del mineral se muestra retrasado alrededor de 8 horas.

Se estimó que en los ensayos anteriores el desarrollo del potencial óxido-reducción fue aceptable para los ensayos en que se aplicó el modelo neuronal, pero no se analizaron las muestras para la concentración de metales en los biolixiviados. La Tabla VIII muestra una comparación de los primeros cinco ensayos a las 200 horas. En el ensayo controlado por red neuronal, se aprecia una diferencia considerable en el valor de potencial óxido-reducción; aunque el ensayo 1 desarrollo bien, el potencial óxido-reducción llevo solamente a 330 mv.

Tabla VIII  
Comparación cualitativa de los primero cinco ensayos a nivel fermentador con *Acidithiobacillus ferrooxidans* durante las primeras 200 horas.

ensayo	Control de variables	Potencial óxido-reducción máximo
1	Constante, pH = 2 temperatura = 30 °C	331 mv
2	por modelo de red neuronal	334 mv
3	48 horas por modelo 48 horas constante	----
4	por modelo de red neuronal	400 mv
5	por modelo de red neuronal	336 mv

El 6° ensayo se utilizó como referencia para evaluar cuantitativamente los efectos de aplicar un modelo de red neuronal en las variables de control pH y temperatura, en este ensayo se ajustó la temperatura a 30 °C pero se tuvieron problemas con el agua de enfriamiento que estaba demasiado alta y no conseguía bajar la temperatura del medio durante el día, en la curva de la Figura 62, se aprecian ciclos repetidos de noche y día caluroso. En el control de pH, la Figura 63, muestra datos dispersos pero con poca variación, la desviación estándar es de 0.6 unidades de pH con algunas variaciones poco significativas a los tiempos 218 horas y 590 horas. El potencial óxido -reducción para este ensayo tuvo un buen patrón de comportamiento, Figura 64, con un mínimo de 316 milivoltios y un máximo de 327 milivoltios.

El ensayo 7 se utilizó como repetición del ensayo 6 y se mantuvieron las condiciones a pH 2 y temperatura de 30 °C, el ensayo duró 155 horas y se tuvieron problemas para bajar la temperatura del medio durante el día (Figura 65). En el pH se



aplico el modelo neuronal (Figura 66) pero nuevamente una falla eléctrica origino un mal control sobre el pH. El potencial óxido-reducción para este ensayo comenzó desarrollando bien hasta el momento que ocurrió la falla eléctrica y la respuesta se altera (Figura 67).

El ensayo 8 muestra un control acertado sobre la temperatura (Figura 68) con una desviación estándar de  $\pm 0.6$  °C. El pH se mantuvo en 2, en la Figura 69, puede apreciarse la tendencia del microorganismo por alterar el pH del medio durante las primeras 24 horas, ocasionado por la liberación de carbonatos y CO<sub>2</sub> posteriormente el pH fue controlado con una desviación de 0.03 unidades de pH por arriba del programado. El potencial óxido-reducción (Figura 70) para este ensayo desarrollo bien para obtener un mínimo de 260 y un máximo de 354 a las 400 horas que duro el ensayo.

El ensayo 9 tuvo dos curvas de modelo de red neuronal para el control de la temperatura, en la Figura 71, se puede apreciar el seguimiento tan cercano que tuvo el sistema para el modelo de red neuronal. El pH de control para este ensayo también fue muy cercano sin variaciones bruscas, se puede apreciar en el tiempo 130 de la Figura 72 que el medio tiende a aumentar su valor de pH, en todo el proceso, es notorio que la tendencia es hacia alcalinizar el medio. El potencial óxido-reducción (Figura 73) para este ensayo tuvo un buen desarrollo con un mínimo de 300 milivoltios, no se observa un descenso aparente en las primeras horas, y un máximo de 377 milivoltios a las 400 horas de este ensayo, aunque no llego tanto como 500 mv que reporta Tipre *et al.*, 1999, a 39 °C, esta diferencia provocada tal vez por la temperatura.

En el último ensayo, se aplicó nuevamente el modelo de red neuronal en las variables de pH y temperatura, en la Figura 74 se muestra el control efectuado sobre la temperatura del medio, se puede apreciar un control adecuado con solo un pico en el tiempo 345, sin consecuencia aparente en el potencial óxido-reducción. En la Figura 75 se muestra el control efectuado en el pH, nuevamente, el medio tiende a elevar su pH hacia una alcalinidad durante las primeras 85 horas, posteriormente el control se hace más efectivo y el desequilibrio es menor, el patrón que se aplicó al pH es muy similar al que presenta el microorganismo adaptado a medio sintético 9k (Chawakitchareon *et al.*, 1999) .

La Tabla IV, muestra el resultado del análisis de espectrofotometría de Absorción Atómica para plomo en los ensayos 8, 9 y 10; con mejor biolixiviación en el ensayo 10. Para el Zn (Tabla V), se obtuvo mejor rendimiento para los ensayos 9 y 10 y para el As (Tabla VI), la mejor lixiviación se obtuvo con el ensayo 10. La Tabla VII, muestra una relación del potencial óxido-reducción en los ensayos 8, 9 y 10 a diferentes tiempos, el ensayo 10 es ligeramente mayor que el 8 y 9. El potencial óxido-reducción de este ensayo, Figura 76, muestra un mínimo de 244 milivoltios y un máximo de 382 milivoltios a las 400 horas, siendo el mejor rendimiento de los anteriores (Tabla IX). Rivera-Santillan *et al.*, 1999 obtuvo un valor de 350 mv a mismo tiempo a 35 °C y muestra el valor de 380 mv hasta los 30 días.

Tabla IX  
 Comparación cualitativa de los últimos tres ensayos a nivel fermentador con  
*Acidithiobacillus ferrooxidans* durante las primeras 200 horas.

ensayo	Control de variables	Potencial óxido-reducción
8	Constante, pH = 2 temperatura = 30 °C	354 mv
9	por modelo de red neuronal	363 mv
10	por modelo de red neuronal	380 mv

## 8. CONCLUSIONES

- El diseño del sistema fue adecuado para el tipo de ensayos que se pretendía realizar, teniendo en cuenta que se inicio de el diseño del sistema y se continuó con la programación de todos los códigos en Visual Basic ®
- La ventaja de tener las variables en línea es un avance relevante en el desarrollo de los procesos fermentativos, cuyas nuevas tendencias son visualizar también aspectos de viscosidad del medio y concentración de sustratos así como de productos.
- La característica mas relevante del sistema es su flexibilidad para calibrar los electrodos con pantallas interactivas lo que resulta en datos más confiables y un control más preciso
- La medición en línea del potencial óxido-reducción con un electrodo apropiado, permitió diferenciar a los iones  $H^+$  de los iones debidos a la disolución del mineral, es de mencionarse que los cambios de pH tiene un efecto sobre el potencial óxido-reducción cuando se realizan cambios importantes.
- El control de temperatura (calentamiento) se logro con una banda térmica alrededor del fermentador, lo cual fue determinante para tener estabilidad en las lecturas de pH y potencial óxido-reducción al no haber interferencia eléctrica en el medio.
- Las variaciones que presento el sistema fueron mínimas, lo que quedo comprobado con las pruebas con agua y el ruido debido a interferencias eléctricas no fue relevante en la mayoría de los ensayos, la velocidad de respuesta del sistema es muy rápida para el sistema de lectura, pues se tuvo una actualización de datos cada  $\frac{1}{2}$  segundo.
- La velocidad de modificación de las condiciones del medio fue adecuada debido a que los procesos fermentativos con *Acidithiobacillus ferrooxidans* se consideran lentos, aún así las pruebas de cambio de pH dieron buenos resultados cuando se llevo el pH del medio a otro valor.
- De las variable que se propusieron en el protocolo como variables de lectura se desecho a la turbidez pues la presencia del mineral afecto el movimiento del fluido a través de las tuberías, se propuso filtrar el biolixiviado para estimar la cantidad de células, pero el hecho de que el microorganismo biolixivia al mineral, cuando se une a el, fue determinante para desechar la idea. Para medir al oxígeno disuelto, se utilizo un electrodo marca Biostat, el cual nunca dio una lectura estable ni con un patrón definido, por lo que no se mostraron esos resultados.
- Para la obtención de datos experimentales, se utilizaron condiciones limites.
- El análisis de superficie determinó que las condiciones óptimas de crecimiento eran: pH 2 y temperatura 30 °C, sin embargo nuestra hipótesis argumentaba que bajo condiciones cambiantes, el equilibrio entre la velocidad de disolución del mineral y la velocidad de crecimiento y adaptación del microorganismo se lograría.
- La etapa II diseñar un modelo de red neuronal para las variables de pH y temperatura que maximizaran el valor de potencial óxido-reducción.

- La aplicación y análisis de los resultados en la etapa III nos permiten concluir que el medio de crecimiento microbiano en minerales es un medio cambiante, en este ambiente no solo cambia el pH sino que también la temperatura y que están correlacionadas como lo comprueba la Ley de Nerst.
- El abatimiento de sustratos disponibles, la competencia con la flora nativa, la presencia de Arsénico y Plomo, los efectos de corte y precipitación de partículas, la disponibilidad de oxígeno y CO<sub>2</sub> y otros factores como la adaptación de la cepa al mineral hacen de este tipo de ensayos, procesos altamente no-lineales que justifican el uso de redes neuronales para su control y entendimiento.

## LITERATURA CITADA

Acevedo F., Canales C., y Gentina J. C. 1999. Biooxidation of an enargite- pyrite gold concentrate in aerated columns. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century, Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 301-307

Ahonen Lasse y Tuovinen Olli H. 1991. Temperature Effects on Bacterial Leaching of Sulfide Minerals in Shake Flask Experiments. Applied and Environmental Microbiology, Junio 1991. 57:138-145.

Aoyama Atsushi.1995. Internal Model Control Framework Using Neural Networks for the Modeling and Control of a Bioreactor. Engineering application and Artificial Intelligence. 8:689-701.

Appia-Ayme, Guiliani Nicolas, Ratouchniak. 1999. Caracterización of an Operon Encoding Two *c*-Type Cytochromes, an *aa<sub>3</sub>*-Type Cytochrome Oxidase, and Rusticyanin in *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 33020. Applied And Environmental Microbiology, Nov. 1999: 4781-4787.

Bevilaqua-Mascarín D., García Jr. O., y Tuovinen O. H. 1999. Oxidative Dissolution of Chalcopyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century, Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 291-299

Biagiola S., Solsona J. Milocco R. 2001. BIOMASS ESTIMATION IN BATCH *THIOBACILLUS FERROXIDANS* CULTURES. Latin American Applied Research. 31:255-260

Boon M., Brasser H. J., Hansford G. S., Heijnen J. J. 1999. Comparison of the oxidation kinetics of different pyrites in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* or *Leptospirillum ferrooxidans*. Hydrometallurgy 53:57-72.

Breed A. W., Hansford. 1999. STUDIES ON THE MECHANISM AND KINETICS OF BIOLEACHING. Minerals Engineering, 12:383-392.

Brierley J.A. y Brierley C.L. 1999, Present and future commercial applications of biohidrometallurgy, En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 85-89

Brombacher Christopher, Bachofen Reinhard, Brandl Helmut, 1998 Development of a Laboratory-Scale Leaching Plant for Metal Extraction from Ash by *Thiobacillus ferrooxidans*, Applied and Environmental Microbiology, 64:1237-1241

Cabral T y Ignatiadis I. 1999. Mechanistic study of the pyrite-solution interface during the oxidative bacterial dissolution of pyrite (FeS<sub>2</sub>) by using electrochemical techniques. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 357-376

Chawakitchareon P., Thiravetyan P., Ngeimvijawat T. 1999. Comparison of Chemical Leaching and Bioleaching of Nickel from Nickel Hydroxide Sludge. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century, Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 187-199

Coram Nicolette J., Douglas E. Rawlings. 2002. Molecular Relationship between Two Groups of the Genus *Leptospirillum* and the Finding that *Leptospirillum ferriphilum* sp. Nov. Dominates South African Commercial Biooxidation Tanks That Operate at 40 °C. Applied and Environmental Microbiology, Feb, 2002:838-845.

Derksen J. J., Buist K., Weert G. Van, y Reuter M. A. 2000. OXIGEN TRANSFER IN AGITATED SILICA AND PYRITE SLURRIES. Minerals Engineering, 13:25-36

d'Hugues P., Cezac P., Battaglia F., y Morin D. 1999. Bioleaching of cobaltiferous pyrite at 20 % solids: a continuous laboratory-scale study. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 167-176

Diaz X., Roldán C. 1999. A study of the adaptation of native iron oxidizing bacteria to thiourea. En Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century, Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 103-105

Dopson Mark, Lindstrom Börje E. 1999. Potential Role of *Thiobacillus caldus* in Arsenopyrite Bioleaching. Applied And Environmental Microbiology. 65:36-40

Driessens Y. P. M., Fowler T. A. y Crundwell F. K. (1999) A comparison of the bacterial and chemical leaching of sphalerite at the same solution conditions, En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 201-208

Dziurla Marie-Antoinette, Achouak Wafa, Lam Bach-Tuyet, Heulin Thierry, y Berthelin Jacques. 1998. Enzyme-Linked Immunofiltration Assay To Estimate Attachment of Thiobacilli to Pyrite. Applied and Environmental Microbiology. 64:2937-2942

Fangary Y. S., Barigou M., Seville J. P. K., Parker D. J. 2002. A Lagrangian Study of Solids Suspension in a Stirred Vessel by Positron Emission Particle Tracking (PEPT). Chemical Engineering & Technology. 25:521-528.

Flores Tavizón Edith. 1994. Parámetros de Importancia Industrial en la Bio-oxidación de Sulfuro de Arsénico de Concentrados Minerales de plomo y Zinc. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Durango. México

Fowler T. A., Holmes P. R., y Crundwell. 1999. Mechanism of pyrite Dissolution in the Presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. Applied and Environmental Microbiology, Feb, 2002: 838-845.

Fowler T. A. y Crundwell F. K. 1998. Leaching of Zinc Sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*: Experiments with a Controlled Redox Potential Indicate No Direct Bacterial Mechanism. Minerals Engineering. 12:93-106.

Fowler T. A. y Crundwell F. K. 1999. Leaching of Zinc Sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*: Bacterial Oxidation of the Sulfur Product Layer Increases the Rate of Zinc Sulfide Dissolution at High Concentrations of Ferrous Ions. Applied And Environmental Microbiology. 65:5285-5292

Frangu, L., Caraman, S., and Ceanga E. 2001. **Model Based Predictive Control using Neural Network for Bioreactor Process Control**, Control Engineering and Applied Informatics. No. 1/2001.

Gehrke Tilman, Telegdi Judit, Thierry Dominique, y Sand Wolfgang. 1998. Importance of Extracellular Polymeric Substances from *Thiobacillus ferrooxidans* for Bioleaching. Applied and Environmental Microbiology, 64:2743-2747.

Gericke M. y Pinches A. 1999. Bioleaching of Copper Sulphide Concentrate Using Extreme Thermophilic Bacteria. Mineral Engineering. 12: 893-904

Guiliani Nicolas y Jerez Carlos A. 2000. Molecular Cloning, Sequencing, and Expression of omp-40, the Gene Coding for the Major Outer Membrane Protein from the Acidophilic Bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. Applied And Environmental Microbiology. 66:2318- 2324

Gómez C., Blázquez M. L. y Ballester A. 1999. BIOLEACHING OF A SPANISH COMPLEX SULPHIDE ORE BULK CONCENTRATE. Minerals Engineering, 12:93-106.

Gourdon R., Funtowics. 1998. Kinetic model of elemental sulfur oxidation by *Thiobacillus thiooxidans* in batch slurry reactors. Bioprocess Engineering. 15: 241-249.

Haddadin Jamal, Dagot Christophe, y Fick Michel. 1995. Models of bacterial leaching. Enzyme and Microbial Technology. 17:290-305.

Harahuc Lesia, Hector M. Lizama, and Isamu Suzuki, 2000. Selective Inhibition of the Oxidation of Ferrous Iron or Sulfur in *Thiobacillus ferrooxidans*. Applied and Environmental Microbiology, Mar. 2000:1031-1037

Irwin G. W. Warwick K. y Hunt K. J. 1995. NEURAL NETWORK APPLICATIONS IN CONTROL. The Institution of Electrical Engineers, London. Inglaterra.

Kelly D. P., Wood A. P. 2000. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* ge. nov. *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2:511-516

Konishi Yasuhiro, Asai Satoru y Yoshida Noriaki. 1995. Growth Kinetics of *Thiobacillus thiooxidans* on the Surface of Elemental Sulfur. *Applied Environmental Microbiology*, Oct. 1995:3617-3622.

Loi G., Trois P. y Rossi G. 1999. Biohydrometallurgical process improvements through a combination of bioreactor and biochemical environmental modulation. En: *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century*. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 543-550

López de Medrano S., 1986. *Modelos Matemáticos*, Editorial Trillas. México

Lozano Blanco L. J., Meseguer Zapata V. F., De Juan García D. 1999. Statistical analysis of laboratory results of Zn wastes leaching. *Hydrometallurgy* 54:41-48

Lubenova V., Rocha I. Ferreira E. C. 2003. Estimation of multiple biomass growth rates and biomass concentration in a class of bioprocesses. *Bioprocess Biosystem Engineering*. 25:395-406

Maren, Alianna J., Harston, C., & Pap, R.1990. *Handbook of Neural Computing Applications*. Academic Press,.

Mathur A. K., Viswamohan K., Mohanty K. B., Murthy V. K. y Seshadrinath S. T. 2000. URANIUM EXTRACTION USING BIOGENIC FERRIC SULFATE A CASE STUDY ON QUARTZ CHLORITE ORE FROM JADUGUDA, SINGHBHUM THRUST BELT (STB), BIHAR, INDIA. *Minerals Engineering*, 13:575-579

Mat Lab® Tool Box 2002.

Medrano Roldán H., Galán Wong Luis J. 2000. *Biotecnología de Minerales*. Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología. Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango. COCyTED Laguna . Primera Edición. México

Monteiro V. F., Garcia Jr. O. y Tuovinen O. H. (1999). Oxidative Dissolution of Covellite by *Thiobacillus ferrooxidans*. En: *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century*. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 283-290

Nemati M., Webb C. 1997. A Kinetic Model for Biological Oxidation of Ferrous Iron By *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology Bioengineering* 53:478-486

Nemati M. y Harrison. 1999. Effects of solid particles on thermophilic bioleaching of sulphide minerals. En: *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century*, Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 473-482



Nemati M. y Harrison S. T. L. 2000. A COMPARATIVE STUDY ON THERMOPHILIC AND MESOPHILIC BIOOXIDATION OF FERROUS IRON. *Minerals Engineering*. 13:1140-1150.

Noble Peter A., Almeida Jonas S., Lovell Charles R. 2000. Application of Neural Computing Methods for Inte Phospholipid Fatty Acid Profiles of Natural Microbial Communities. *Applied And Environmental Microbiology*, Feb. 2000: 694-699

Ohmura Naoya, Kazuhiro Sasaki, Norio Matsumoto, and Hiroshi Saiki, 2002. Anaerobic Respiration Using  $Fe^3$ ,  $S^0$ , and  $H_2$  in the Chemolithoautotrophic Bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Bacteriology*, Apr, 2002:2081-2087

Oppon Joseph C., Sarnovsky Robert J., Craig Nancy L., Rawlings Douglas E. 1998. A Tn7-Like Transposon Is Present in the glmUS Region of the Obligately Chemoautolithotrophic Bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Bacteriology* 180: 3007-3012

Page G. F., Gomm J. B. y Williams D. 1993. Application of Neural Networks to Modelling and Control. Chapman & Hall, Inglaterra.

Parés Farrás Ramón, Juárez giménez Antonio. 1997. Bioquímica de los microorganismos. Editorial Reverté. S. A. España. pp. 281-288

Peccia Jordan, Marchand Eric A., Silverstein Joann, y Hernández Mark. 2000. Development and Application of Small-Subunit rRNA probes for Assessment of Selected *Thiobacillus* Species and Members of the Genus *Acidiphilum*. *Applied And Environmental Microbiology*. 66:3065-3072

Ramírez Pablo, Toledo Hector, Guiliani Nicolas y Jerez Carlos A. 2002. An Exported Rhodanese-Like Protein Is Induced durin Growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans* in Metal sulfides and Different Sulfur Compounds. *Applied And Environmental Microbiology*. 68: 1837-1845

Rawlings D. E., Tributsch H. y Hansford G. S. 1999. Reasons why "Leptospirillum"-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominat iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidatio of pyrite and related ores. *Microbiology*. 145: 5-13.

Rawlings Douglas E., 2002. Heavy Metal Mining Using Microbes. *Annu. Rev. Microbiol.* 56: 65-91

Rico-Martínez Ramiro, 1998. Aplicación de las Redes Neuronales en Ingeniería. Seminario anual. Departamento de Ingeniería Química. Instituto Tecnológico de Celaya. XVIII Seminario Anual.

Riekkola-Vanhanen M. y Heimal S. 1999. Study of the bioleaching of a nickel containing black-schist ore. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 533-542

Rivera-Santillan R. E., Ballester Perez A., Blazquez Izquierdo M. L., y González González F. 1999. Bioleaching of copper sulphide flotation concentrate using mesophilic and thermophilic microorganisms. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 149-158

Rojas-Chapana J. A. y Tributsch H. 1999. Biochemistry of sulfur extraction in bio-corrosion of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. En: Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 597-605

Sampson M. I. y Blake R. C. II 1999. THE CELL ATTACHMENT AND OXYGEN CONSUMPTION OF TWO STRAINS OF *THIOBACILLUS FERROOXIDANS*. Mineral Engineering, 12:671-686.

Sampson M. I., Phillips C. V. y Blake II R. C. 2000. INFLUENCE OF THE ATTACHMENT OF ACIDOPHILIC BACTERIA DURING THE OXIDATION OF MINERAL SULFIDES. Mineral Engineering, 13:373-389

Sampson M. I., Phillips C. V. y Ball A. S. 2000. INVESTIGATION OF THE ATTACHMENT OF *THIOBACILLUS FERROOXIDANS* TO MINERAL SULFIDES USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPY ANALYSIS. Minerals Engineering, 13: 643-656.

Santhiya D., Subramanian S., y Natarajan K. A. 2000. SURFACE CHEMICAL STUDIES ON GALENA AND SPHALERITE IN THE PRESENCE OF *THIOBACILLUS THIOOXIDANS* WITH REFERENCE TO MINERAL BENEFICIATION. Minerals Engineering, 13:747-763.

Sato Hayato, Nakazawa Hiroshi y Kudo Yasuo. 2000. Effect of silver chloride on the bioleaching of chalcopyrite concentrate. International Journal of Mineral Processing. 59 :17-24

Shively Jessup M., Keulen Geertje Van, Meijer Wim G. 1998. SOMETHING FROM ALMOST NOTHING: Carbon Dioxide Fixation in Chemoautotrophs. Annual Review Microbiology. 52:191-230

Soumitro Nagpal. 1997. A Structured Model for *Thiobacillus ferrooxidans* Growth on ferrous Iron. Biotechnology Bioengineering 53:310-319

Stoner Daphne L., Miller Karen S., Fife Dee Jay, Larsen Eric D., Tolle Charles R., Johnson John A. 1998. Use of an Intelligent Control System To Evaluate

Multiparametric Effects on Iron Oxidation by Thermophilic Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, Nov. 1998: 4555-4565

Suzuki Isamu, Lee Douglas, Mackay Byron, Harahuc Lesia y Key Oh Jae. 1999. Effect of Varios Ions, pH and Osmotic Pressure on Oxidation of Elemental Sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*. *Applied And Environmental Microbiology*, Nov. 1999:5163-5168

Teheira A. A. 1989. *Computerized Food Processing Operations*. Van Nostrand Reinhold. New York. E.U.A.

Third K. A., Cord-Ruwisch R., Watling H. R. 2000. The role of iron-oxidizing bacteria in stimulation or inhibition of chalcopyrite bioleaching. *Hydrometallurgy* 57:225-233

Toniazzo V., Mustin C. Benoit R., Humbert B. y Berthelin J. 1999. Superficial compounds produced by Fe(III) mineral oxidation as essential reactants for bio-oxidation of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. En: *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century*. Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 177-186.

Varela Patricia, Levican Gloria, Rivera Francisco y Jerez Carlos A. 1998. An immunological Strategy To Monitor In Situ The Phosphate Starvation State in *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64:4990-4993.

Willard H. H., Merrit L. L., Dean A. J., Settle A. F. 1991. *Métodos Instrumentales de Análisis*. Grupo Editorial Iberoamérica, México, D.F.

Zheng X., Arps P. J. y Smith R. W. 1999. Adsorption of *bacillus subtilis* to minerals: effect on the flotation of dolomite and epatite. En: *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century*, Editorial Elsevier, Amsterdam. pp. 127-134

## **APENDICE**

### **6.4.2 Ensayos a Nivel Fermentador**

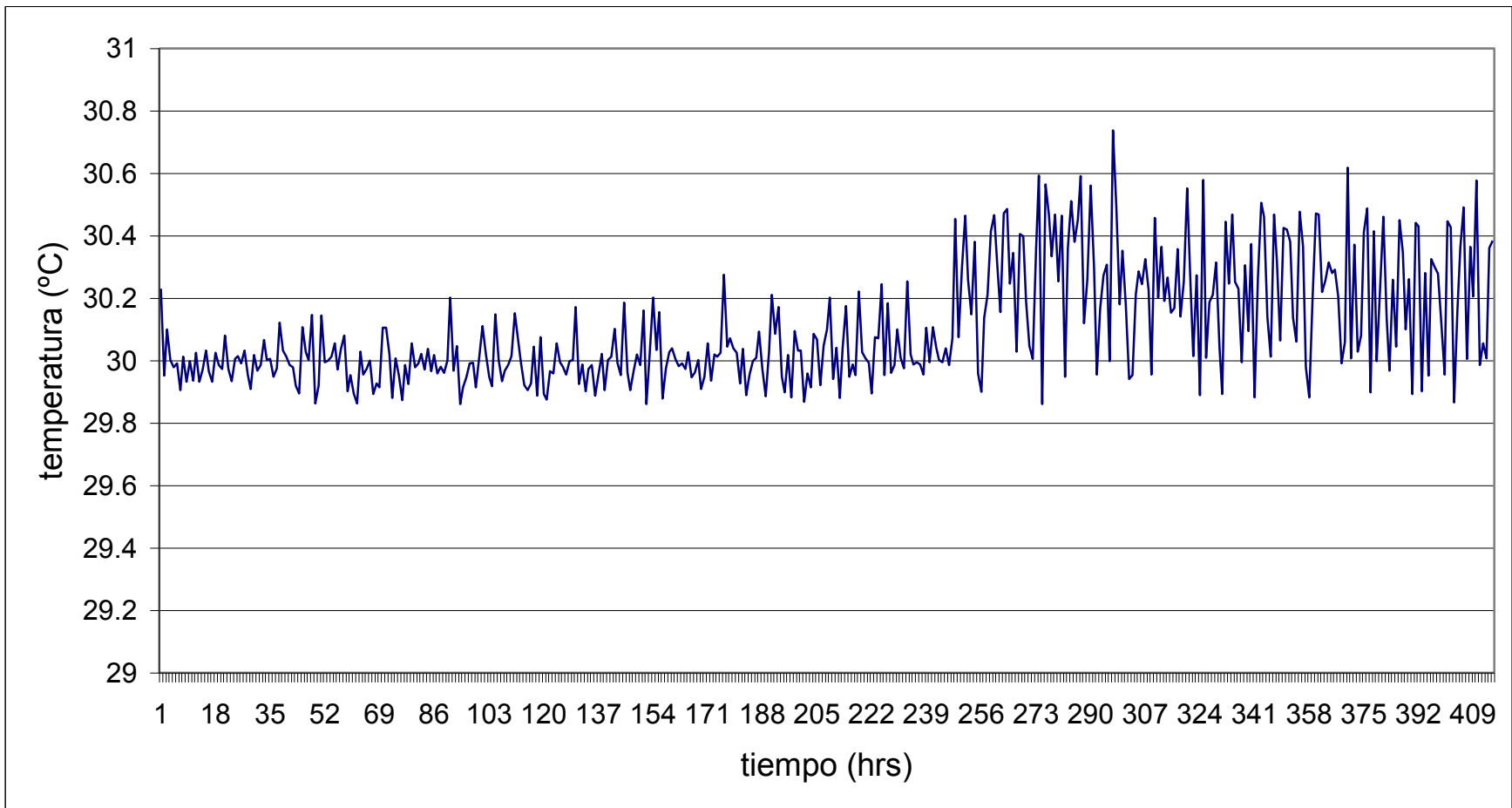


Figura 47. Variación de la temperatura en el fermentador durante el ensayo 1, la temperatura se mantuvo en 30 °C.

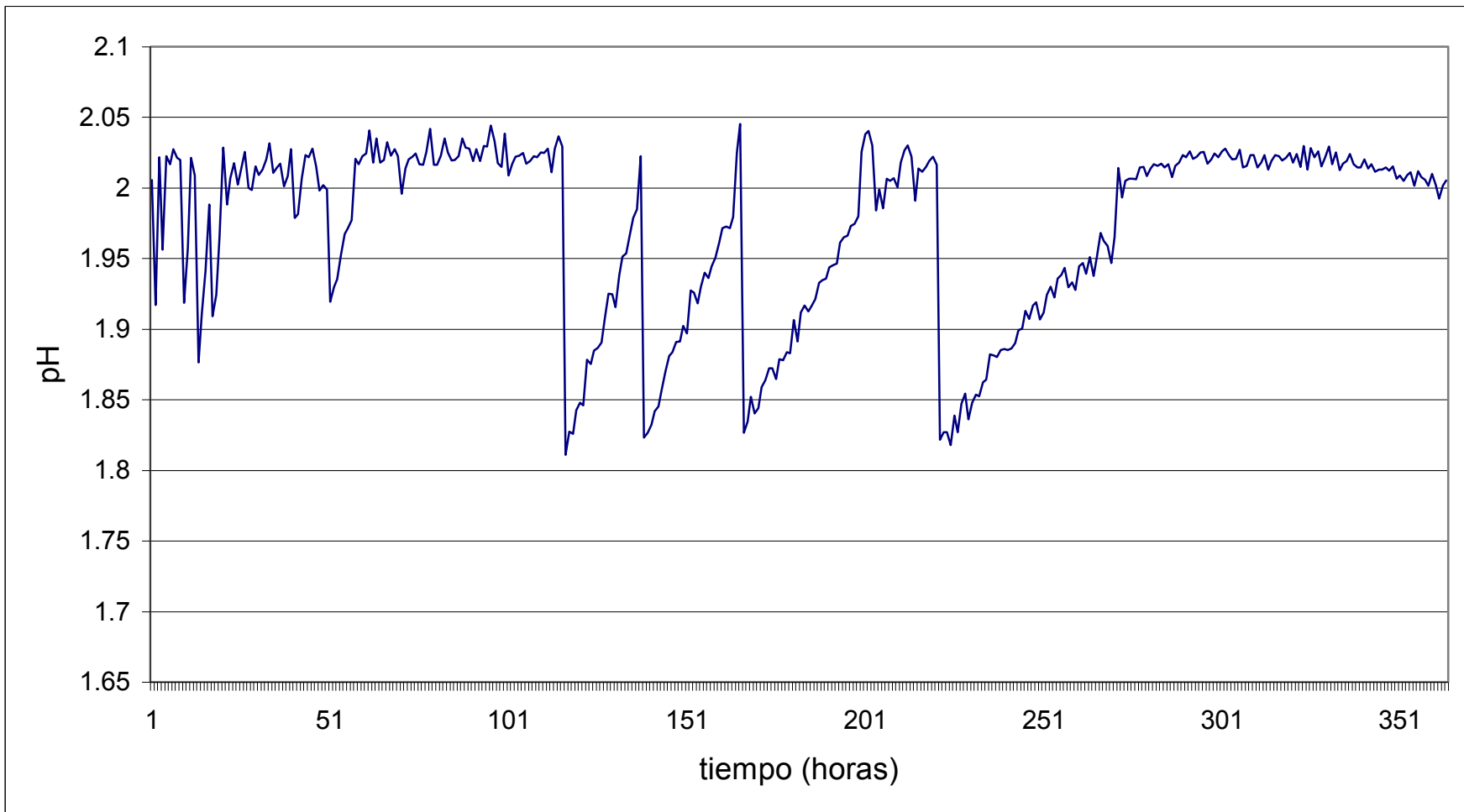


Figura 48. Variación del pH durante el ensayo 1, el pH trato de mantenerse constante en 2.

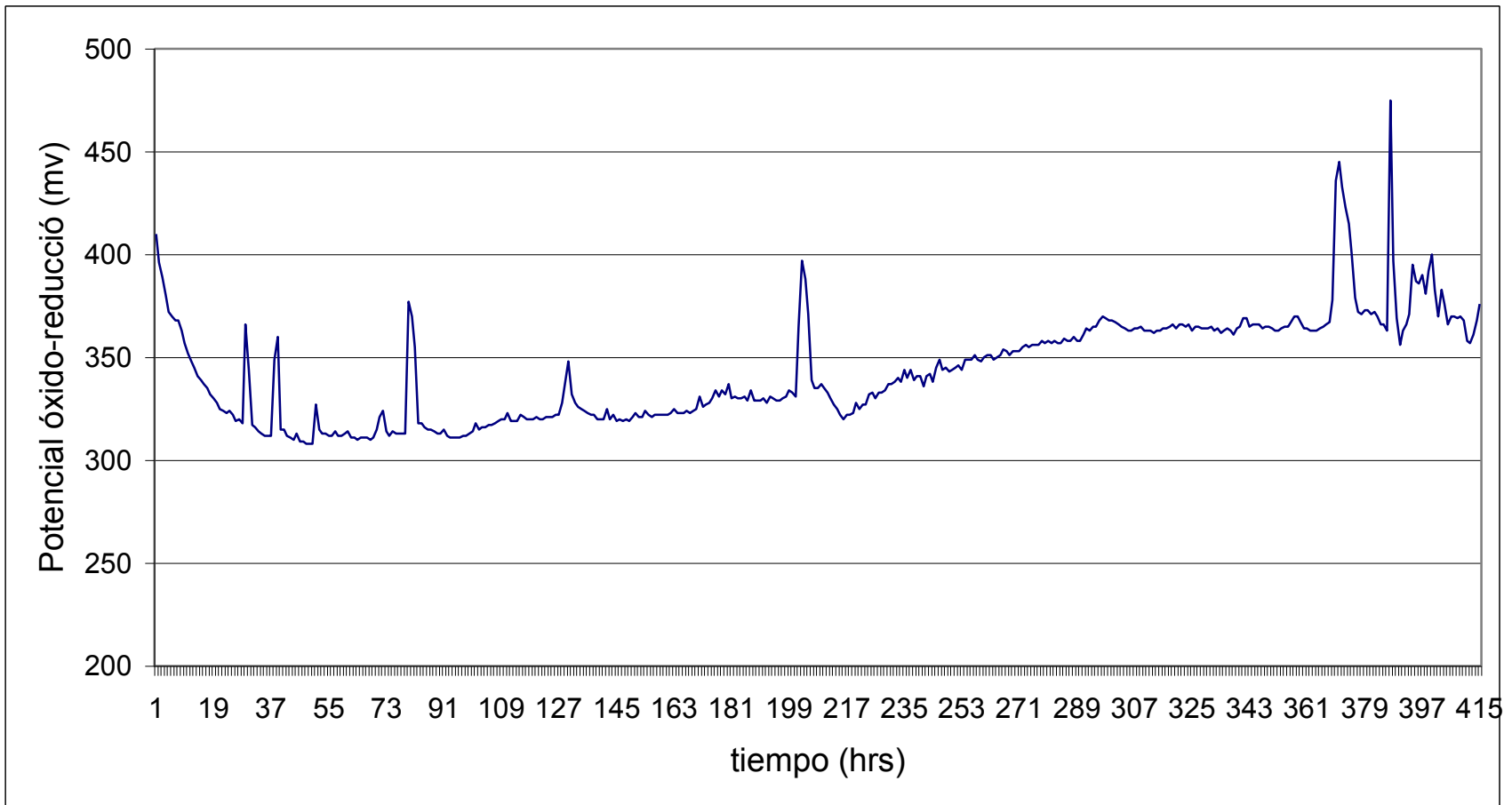


Figura 49. Desarrollo del potencial óxido-reducción durante el ensayo 1.

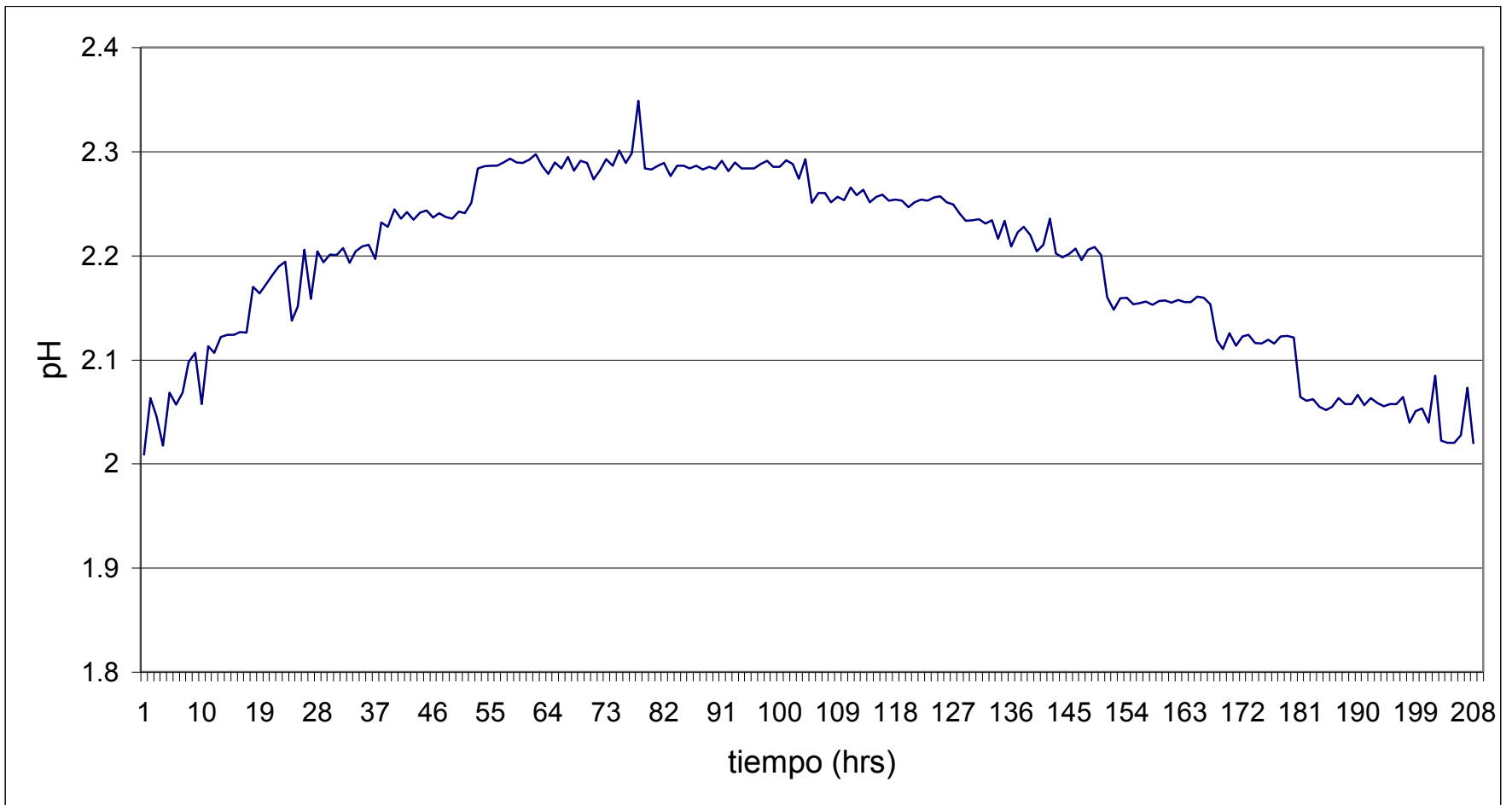


Figura 50. Control efectuado en el pH durante el segundo ensayo con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, se aplico un algoritmo matemático en el control.



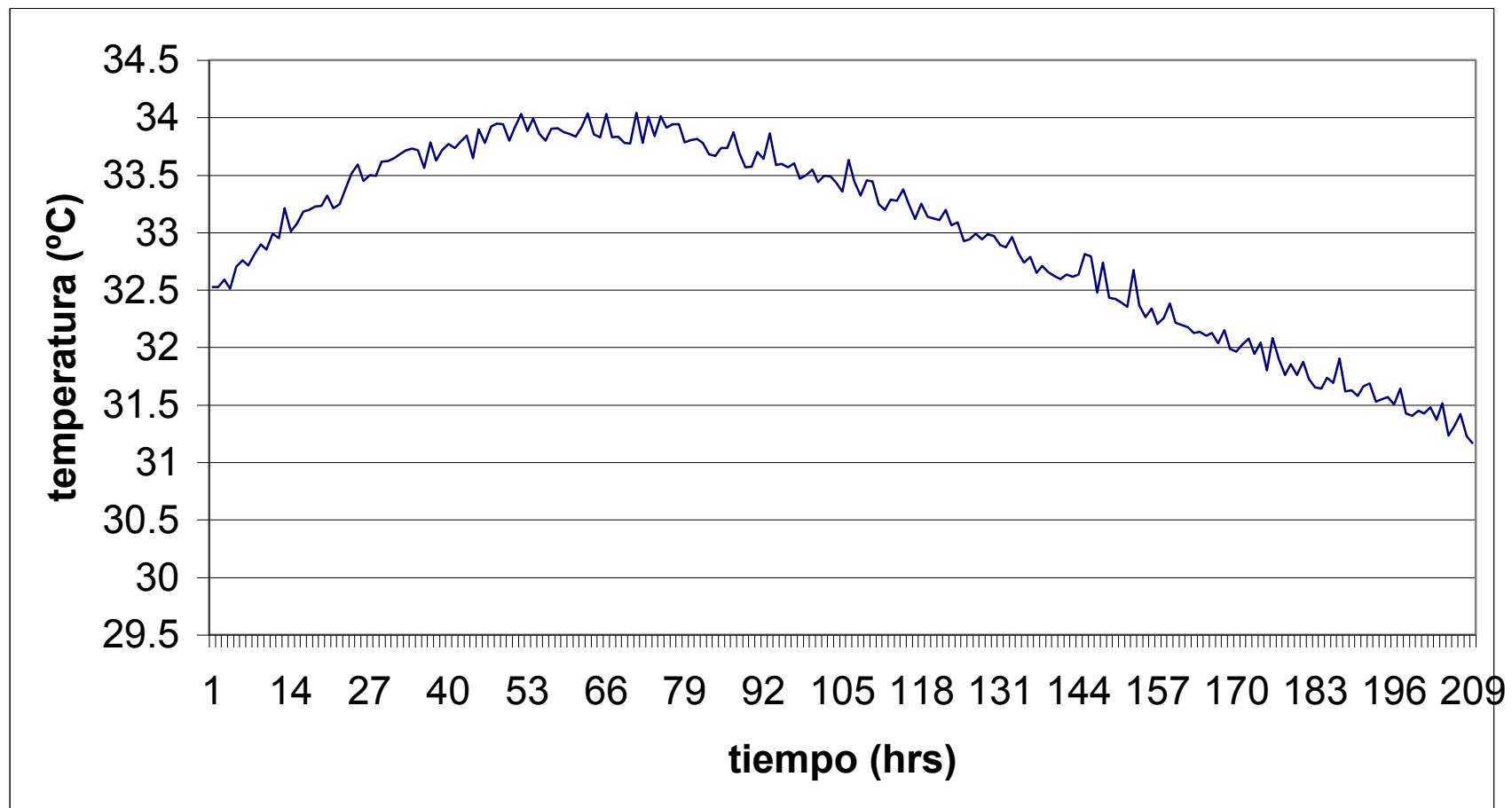


Figura 51. Control efectuado en la temperatura en el ensayo 2 en este control se introdujo un algoritmo matemático que modificó el valor de la temperatura en una función matemática.

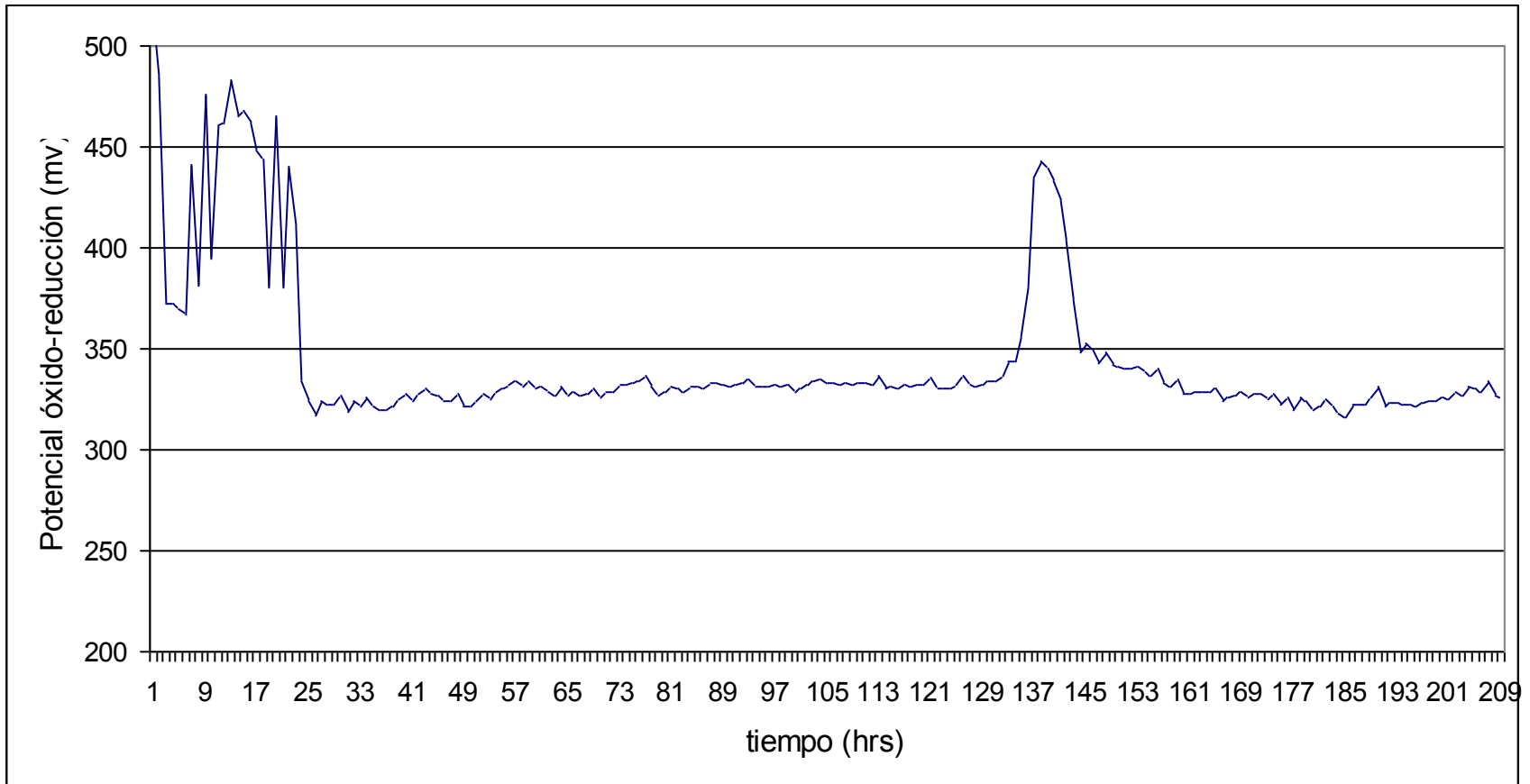


Figura 52. Potencial óxido-reducción obtenido en el segundo ensayo, cuando se aplicó el modelo de red neuronal al control de variables.

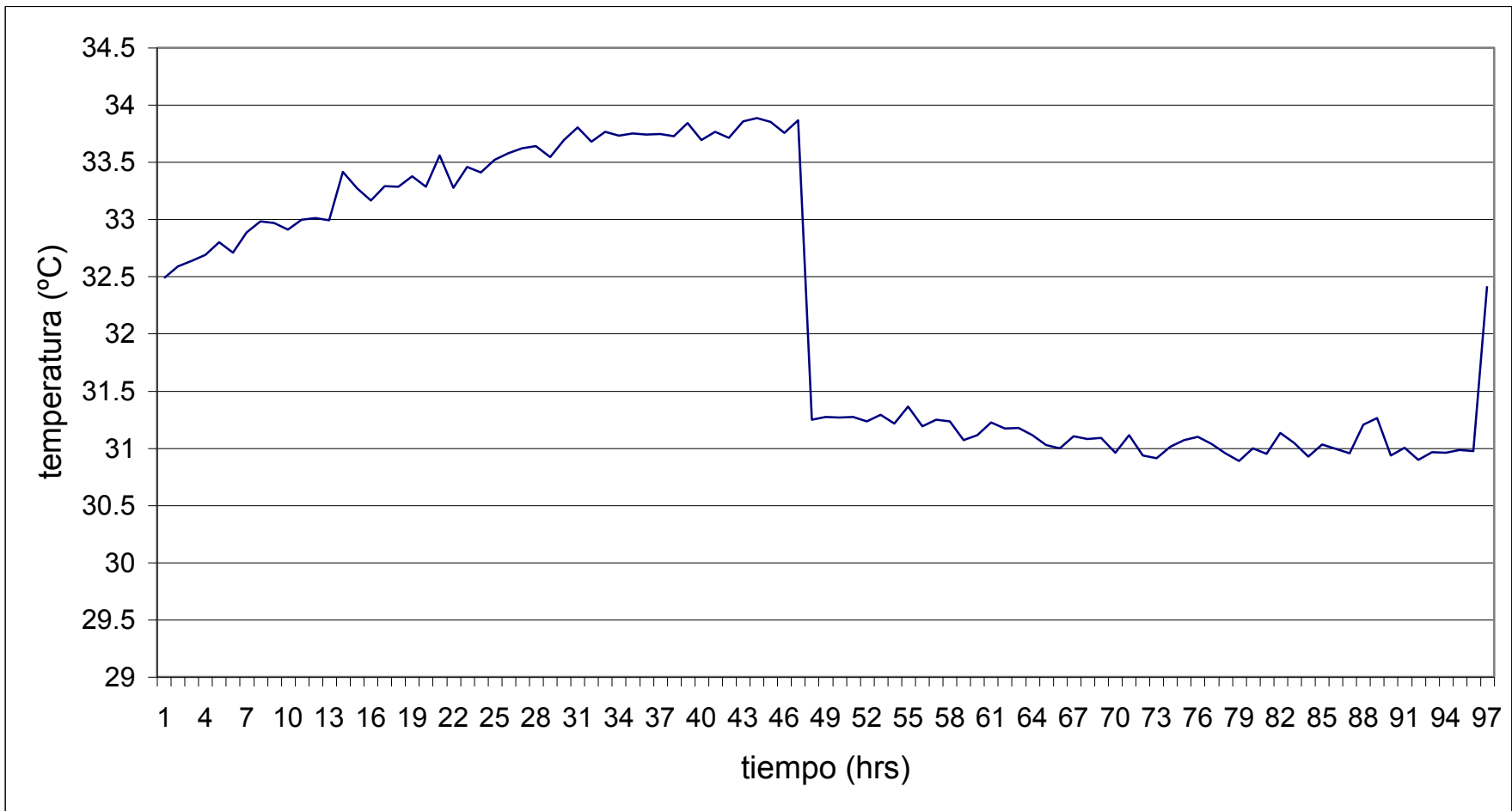


Figura 53. Control de la temperatura durante el ensayo 3 el cual tuvo una duración muy corta de solo 4 días.

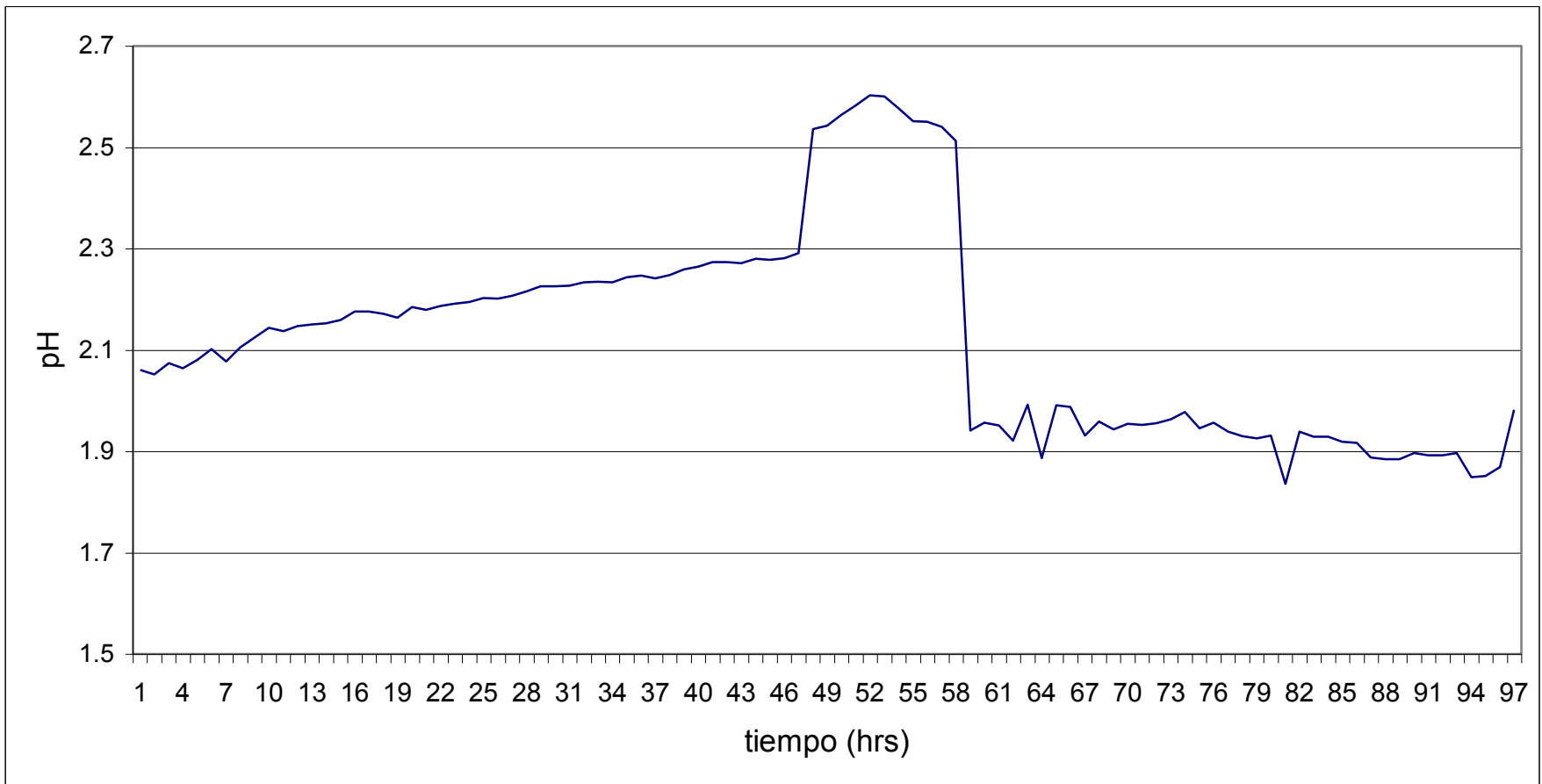


Figura 54. Control sobre el pH en el ensayo 3, a las 48 horas aproximadamente se produjo una falla en la corriente eléctrica.

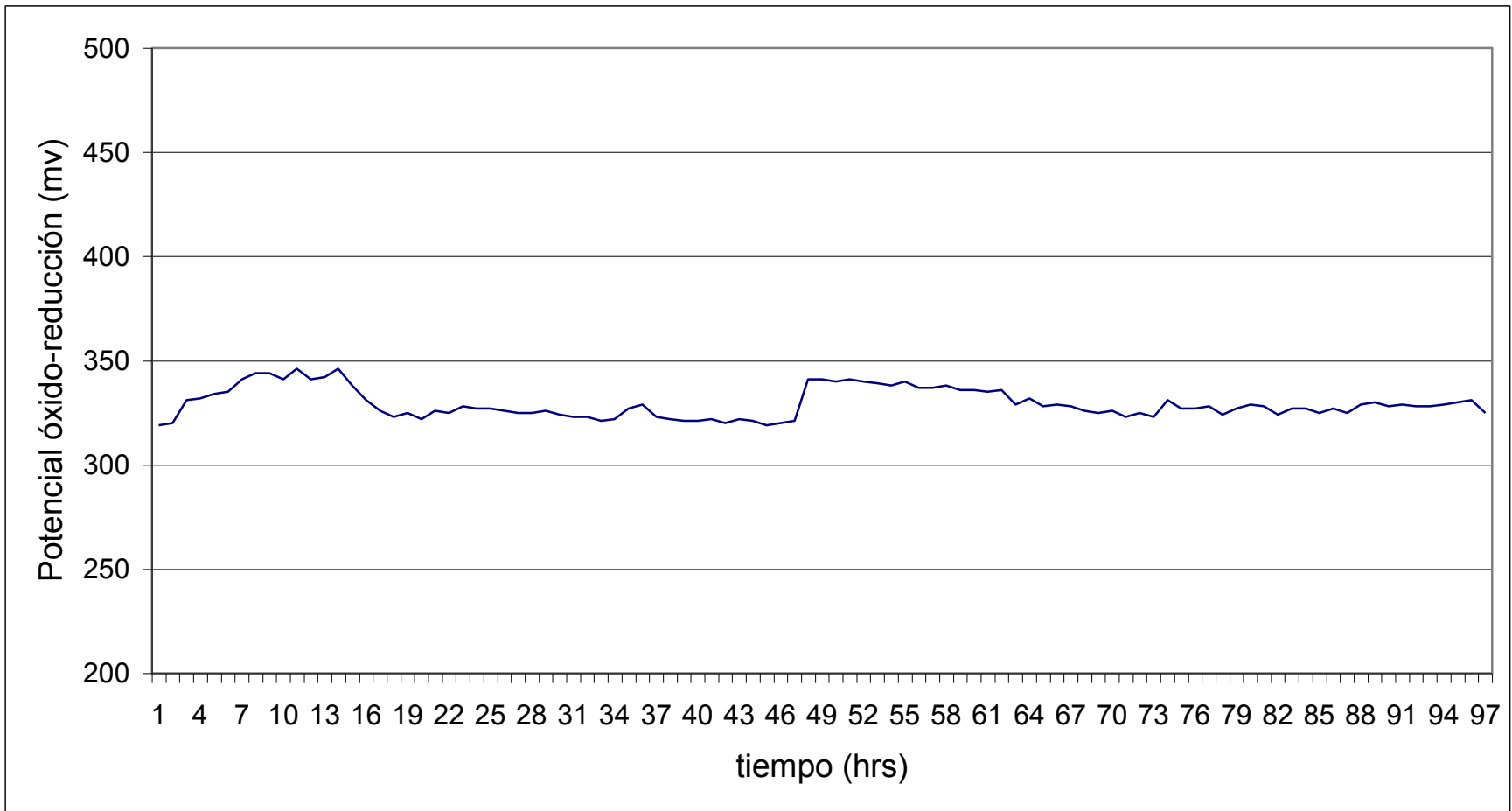


Figura 55. Potencial óxido-reducción para el ensayo 3 que no desarrolló completamente.

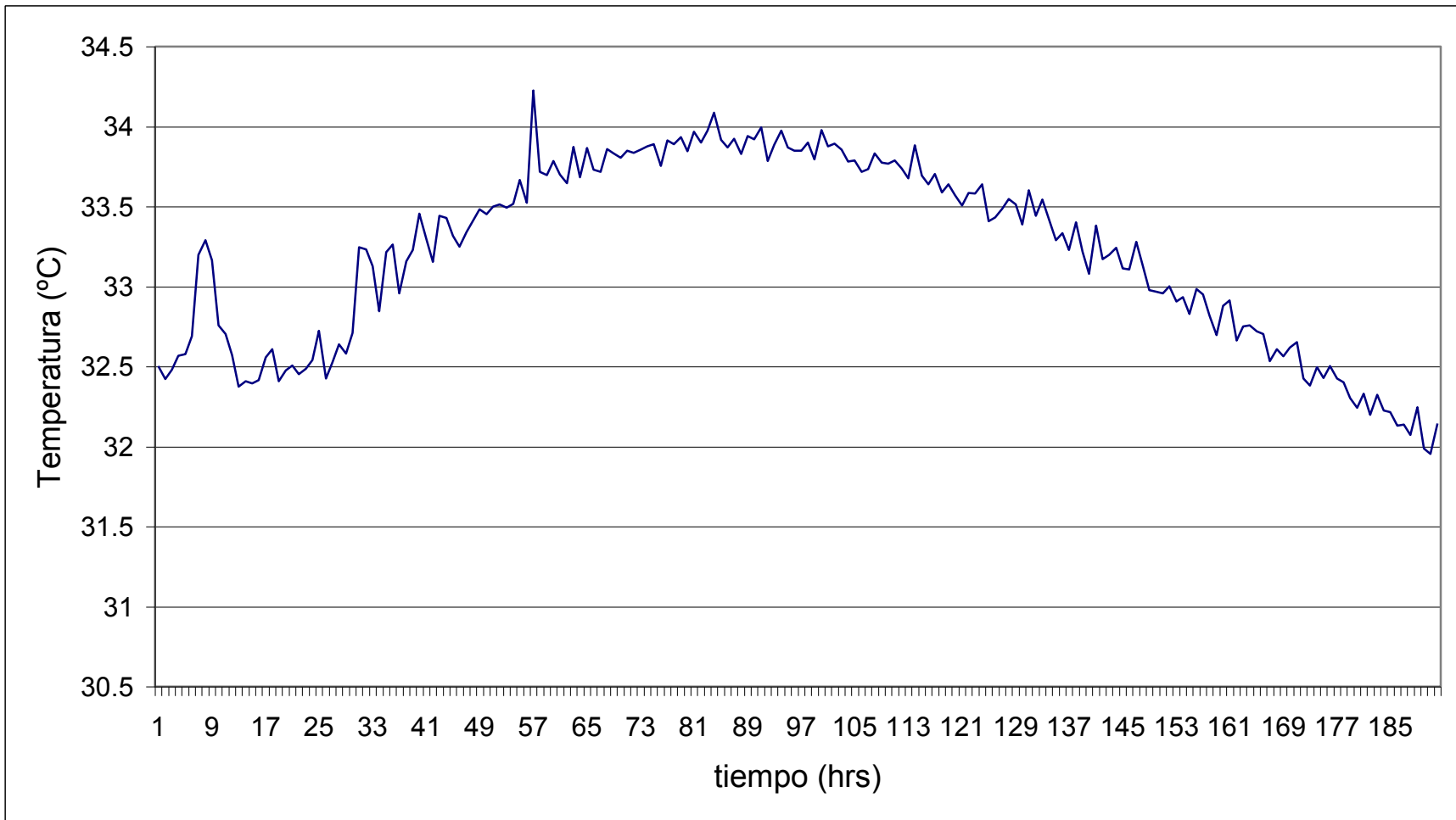


Figura 56. Control de la temperatura sobre el ensayo 4, se aplicó nuevamente el algoritmo de la red neuronal

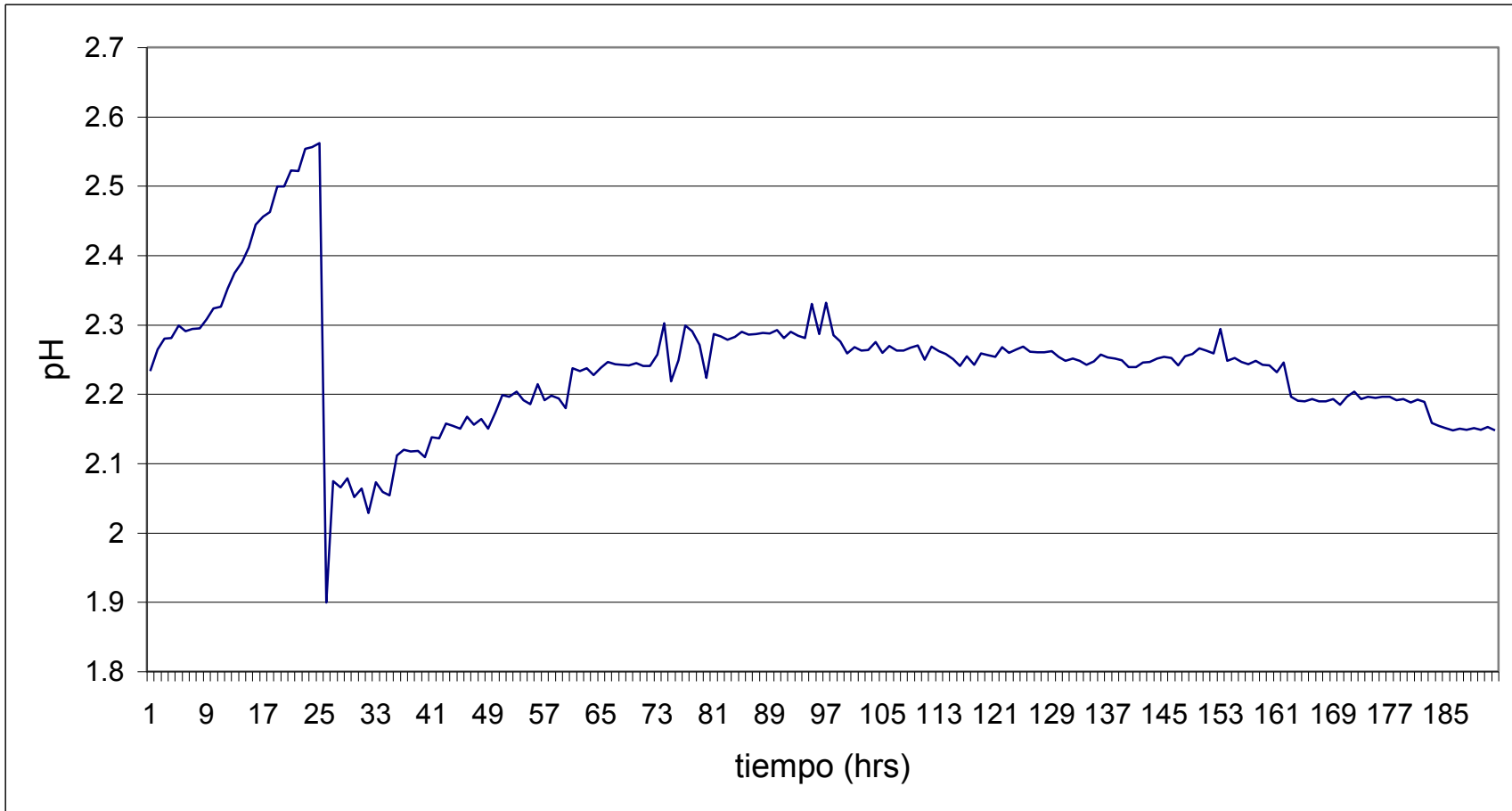


Figura 57. pH de control sobre el ensayo 4 con una duración de 8 días

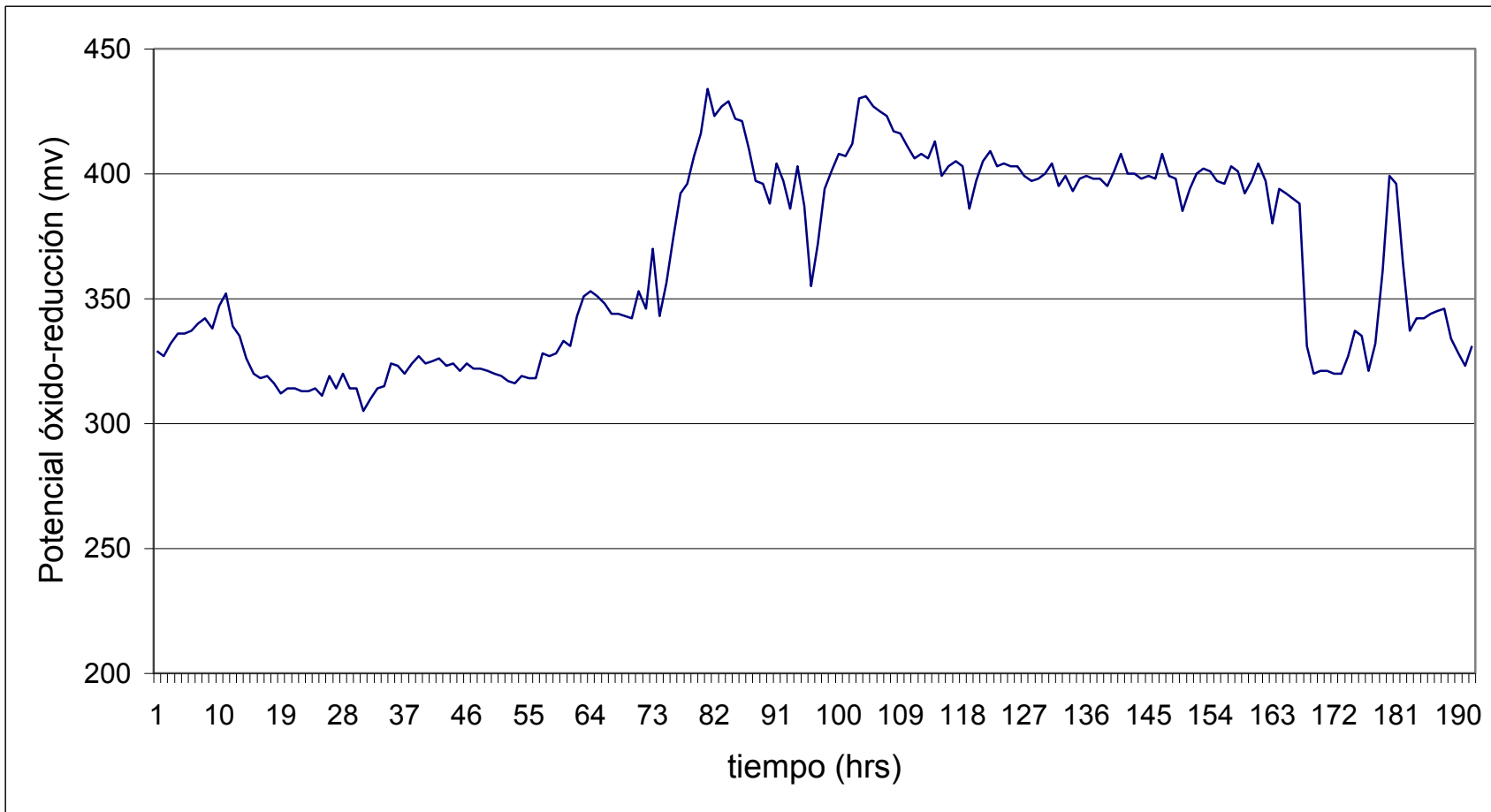


Figura 58. Potencial óxido-reducción obtenido para el ensayo 4.



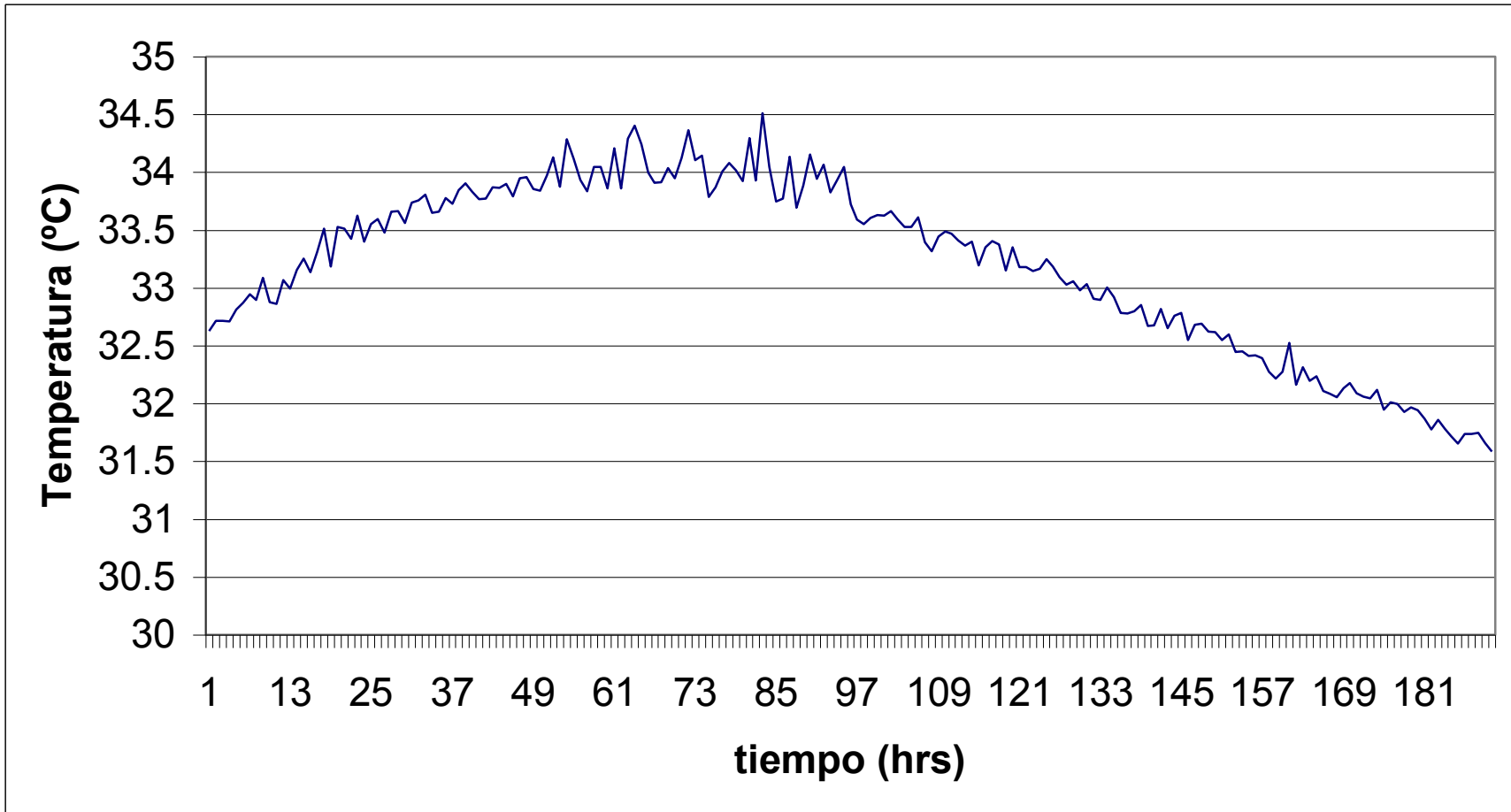


Figura 59. Comportamiento de la temperatura de control durante el ensayo 5, que duro aproximadamente 8 días.

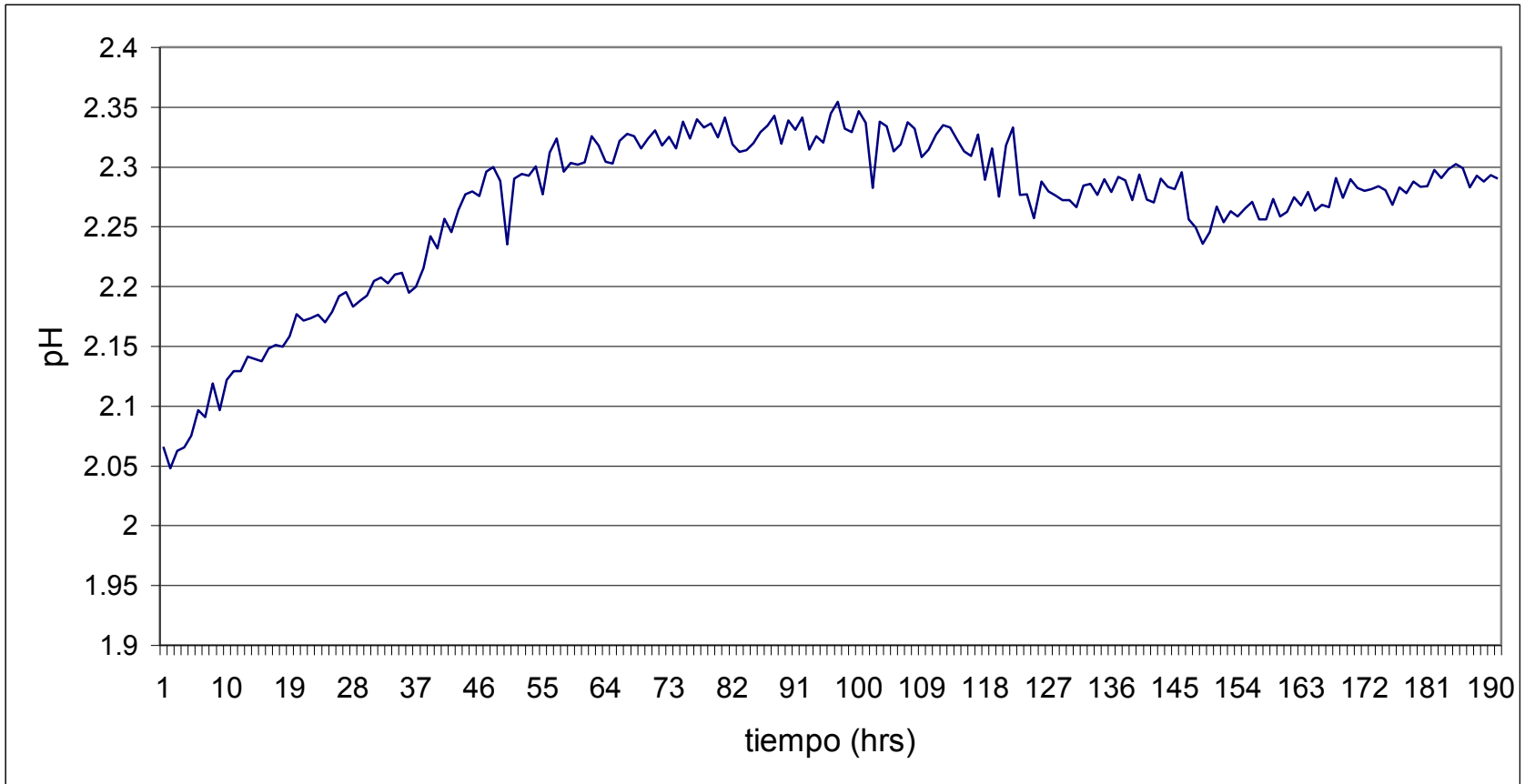


Figura 60. pH de control durante el ensayo 5, se aplicó el algoritmo matemático al proceso.

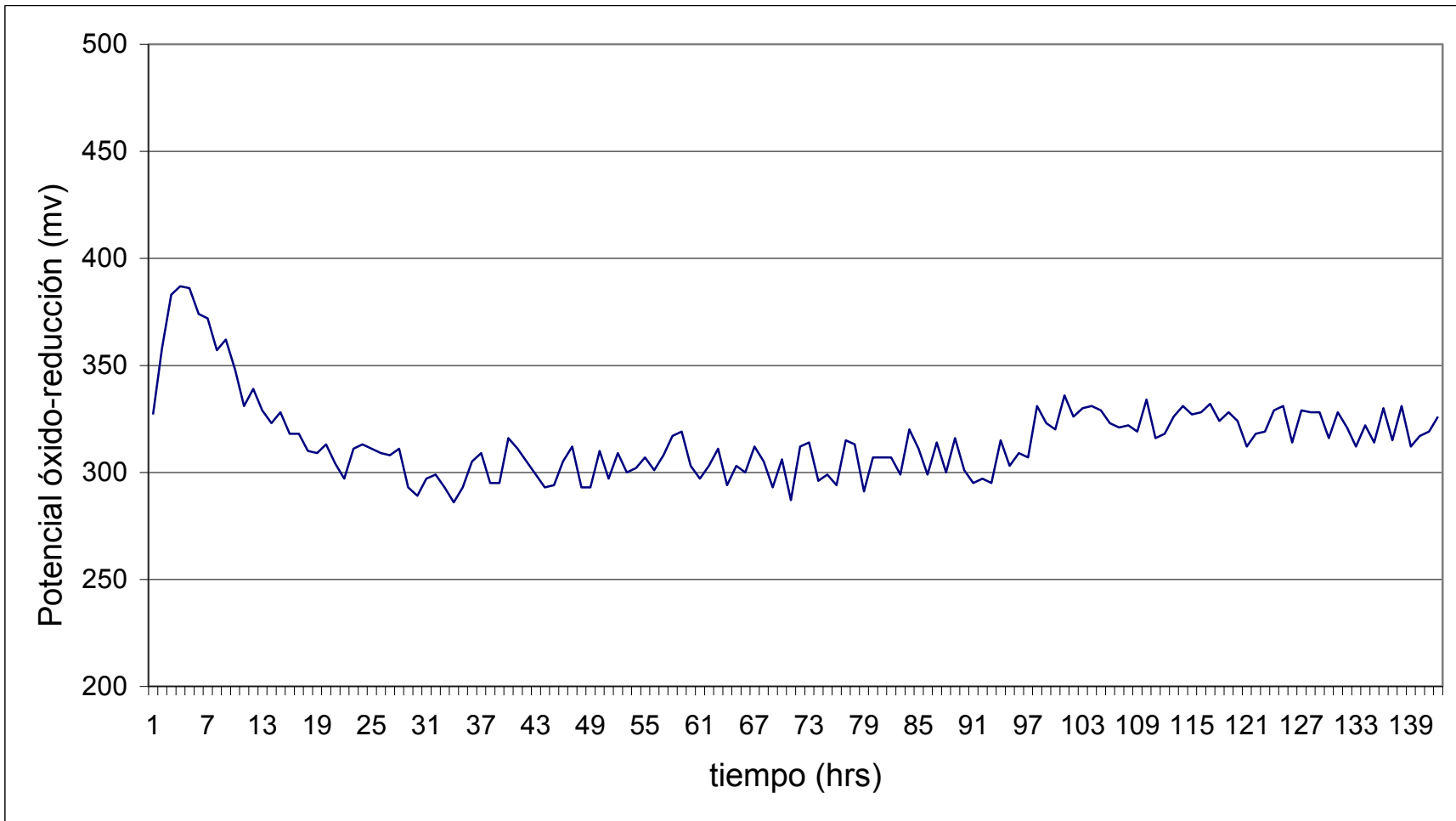


Figura 61. Comportamiento del potencial óxido-reducción en el ensayo 5.

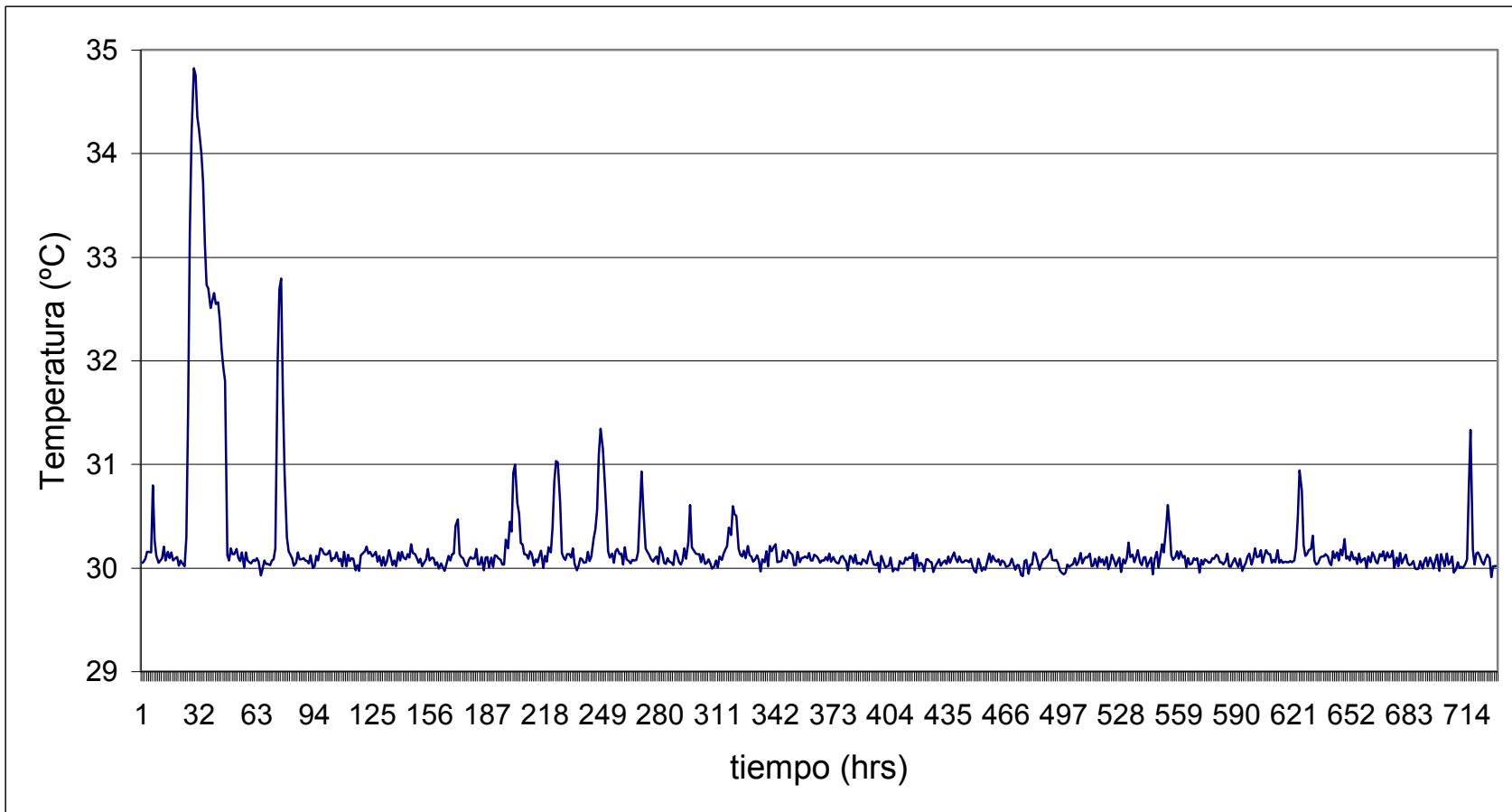


Figura 62. Control sobre la temperatura del fermentador durante el ensayo 6, la variación al segundo día corresponde a alta temperatura del agua de enfriamiento.

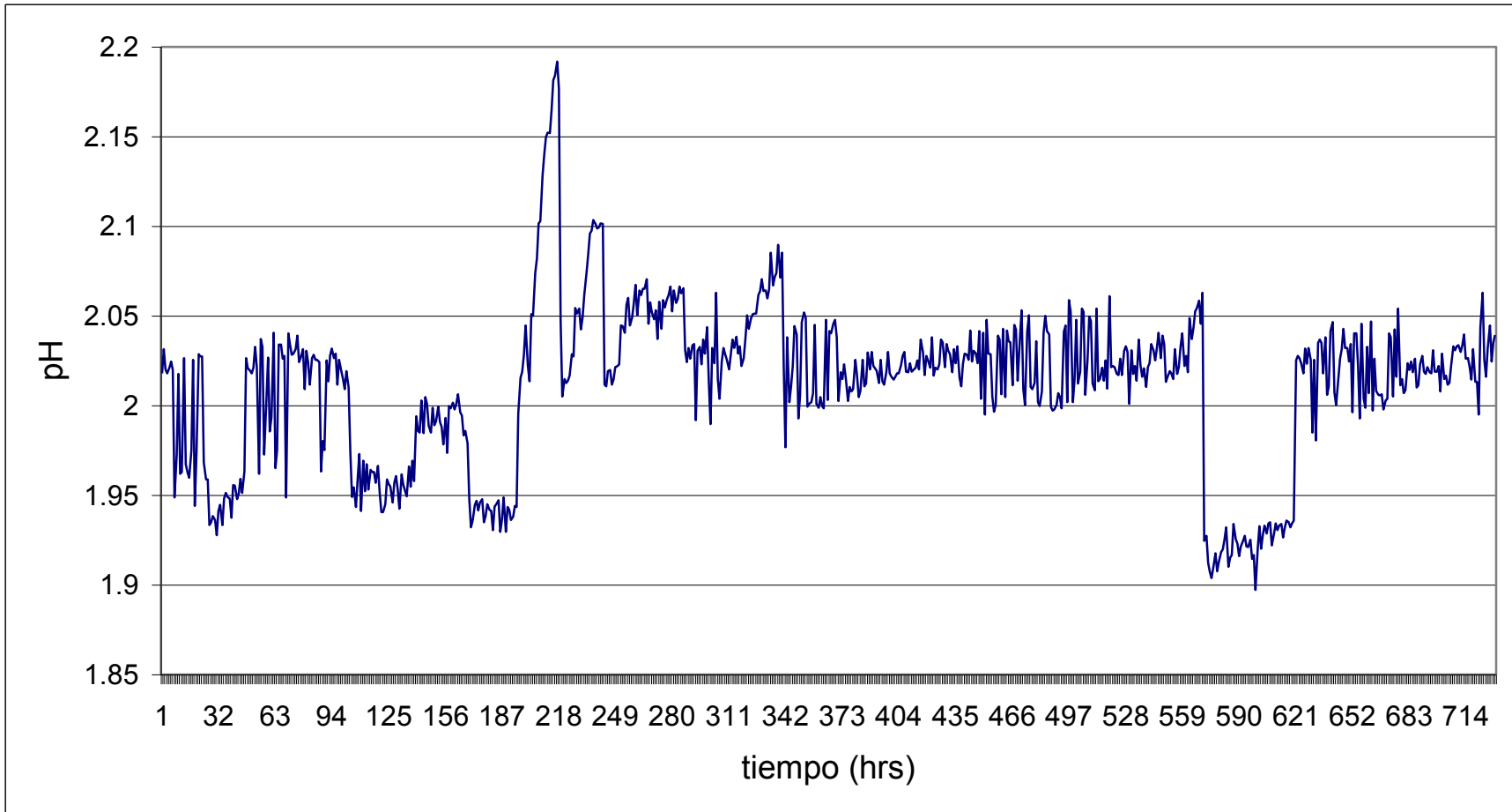


Figura 63. Control del pH sobre el ensayo 6, el pH se mantuvo en 2.

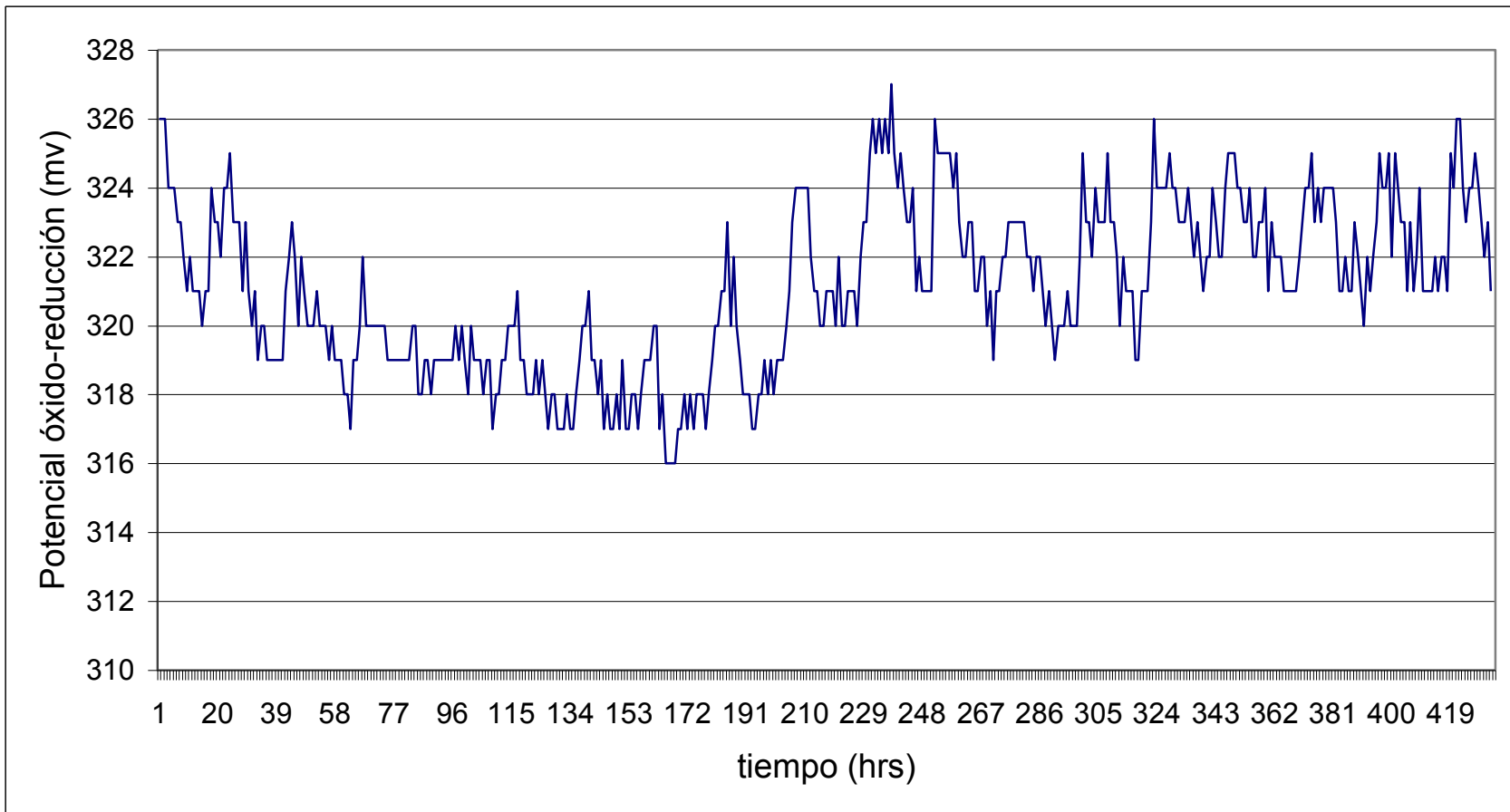


Figura 64. Potencial óxido-reducción para el ensayo 6.

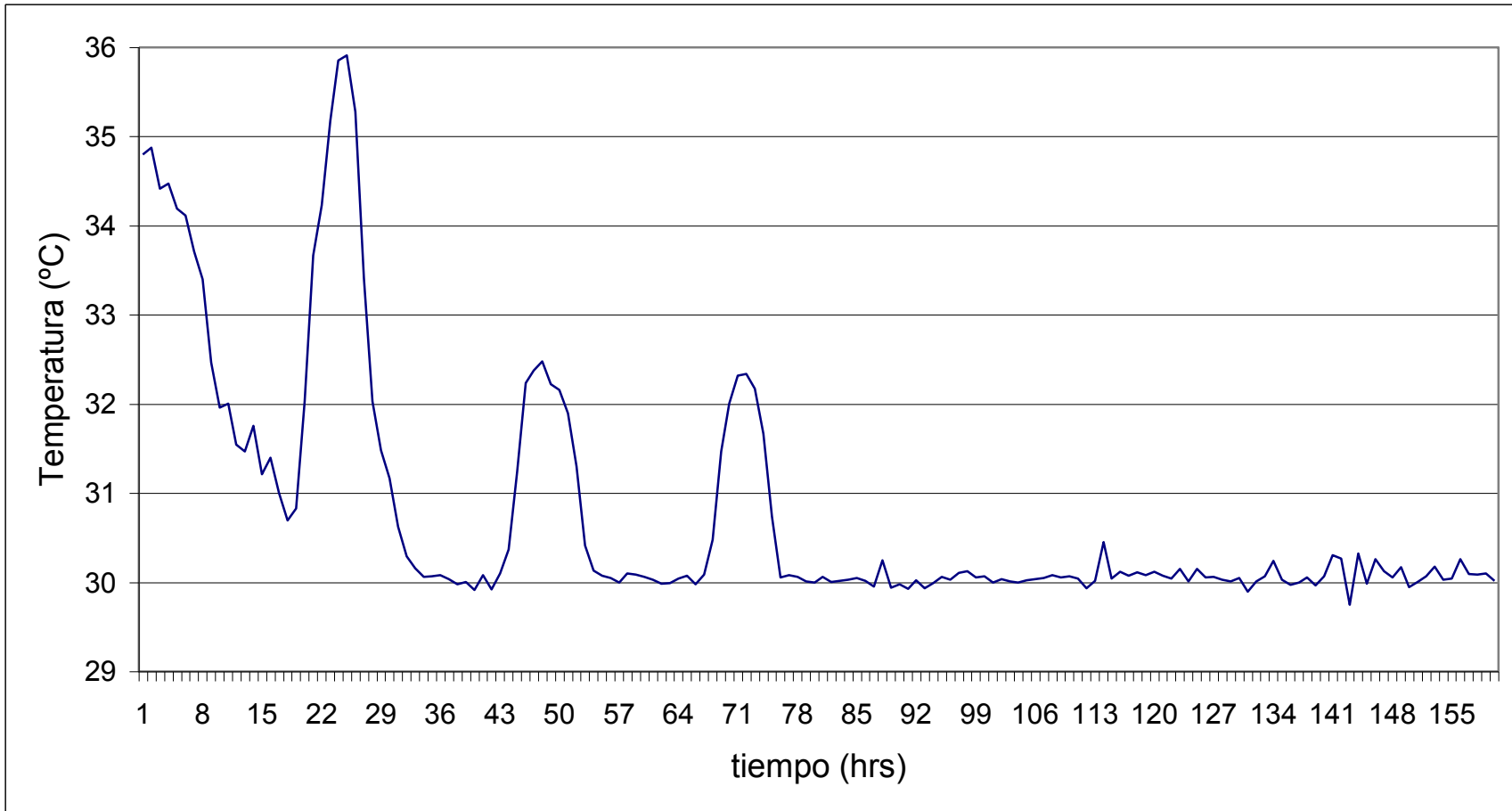


Figura 65. Control en la temperatura obtenido para el ensayo7, la temperatura se pretendía mantener en 30 °C

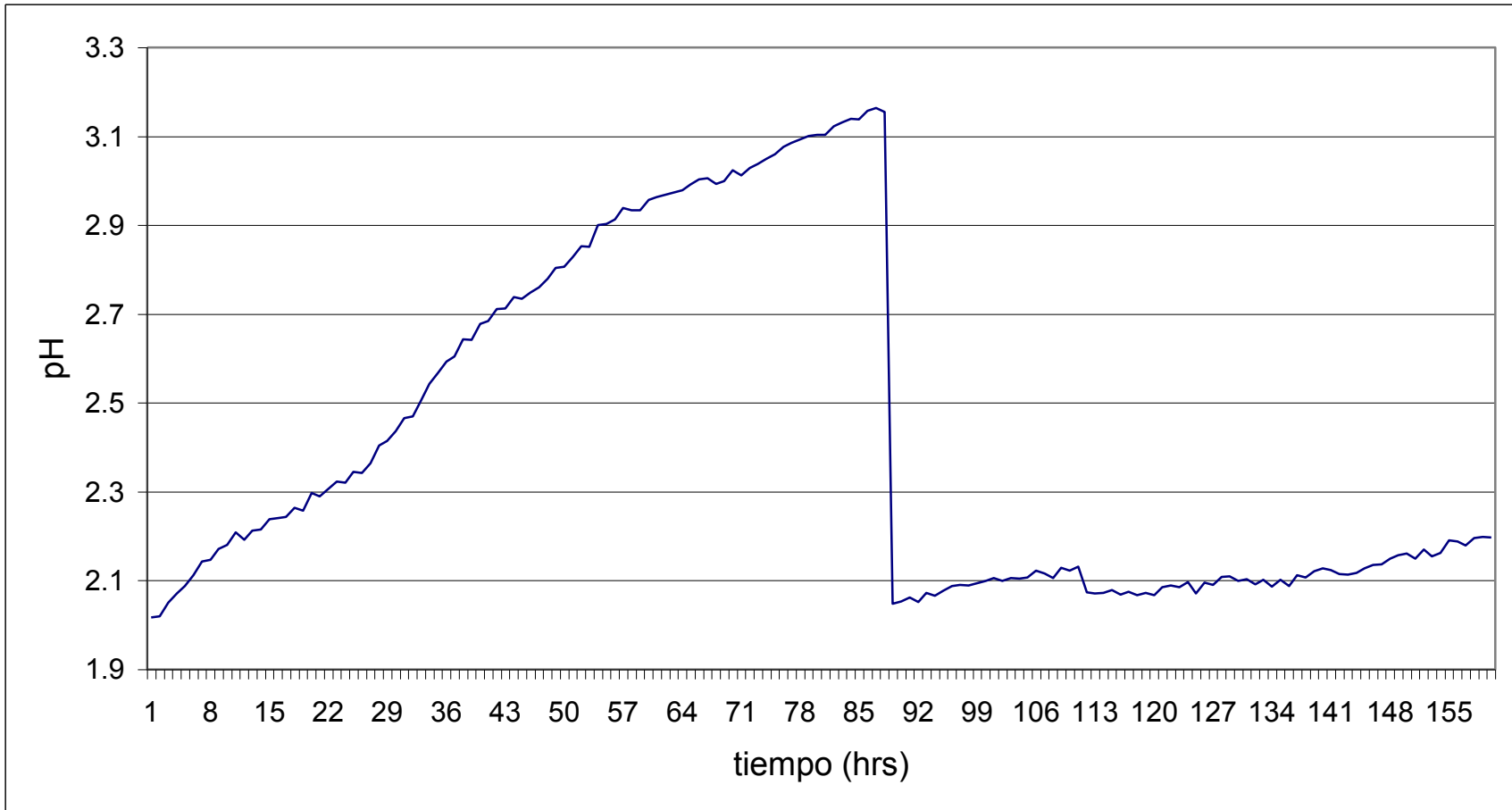


Figura 66. Control obtenido en el pH del ensayo 7



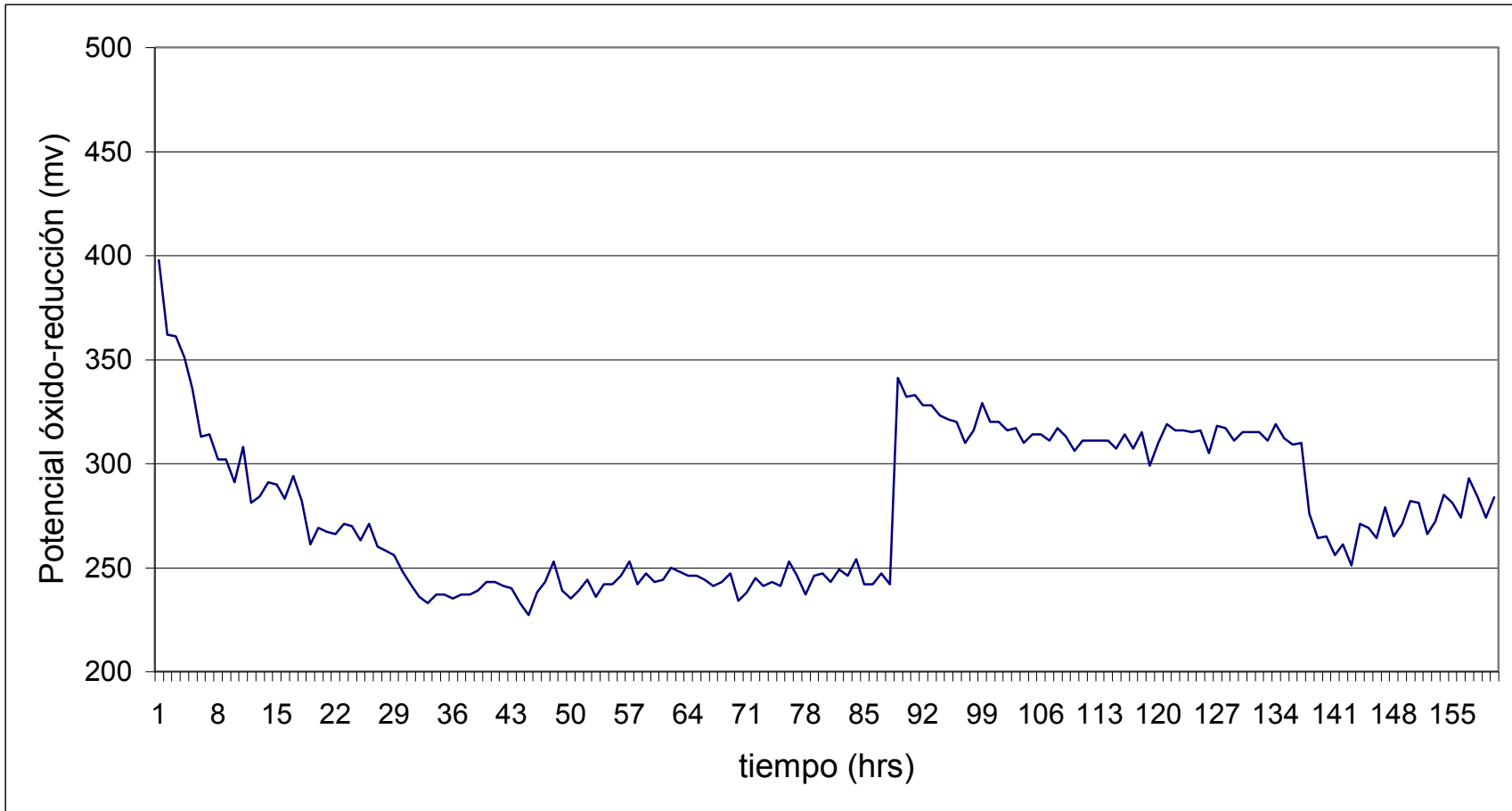


Figura 67. Resultado obtenido para el Potencial óxido-reducción en el ensayo 7

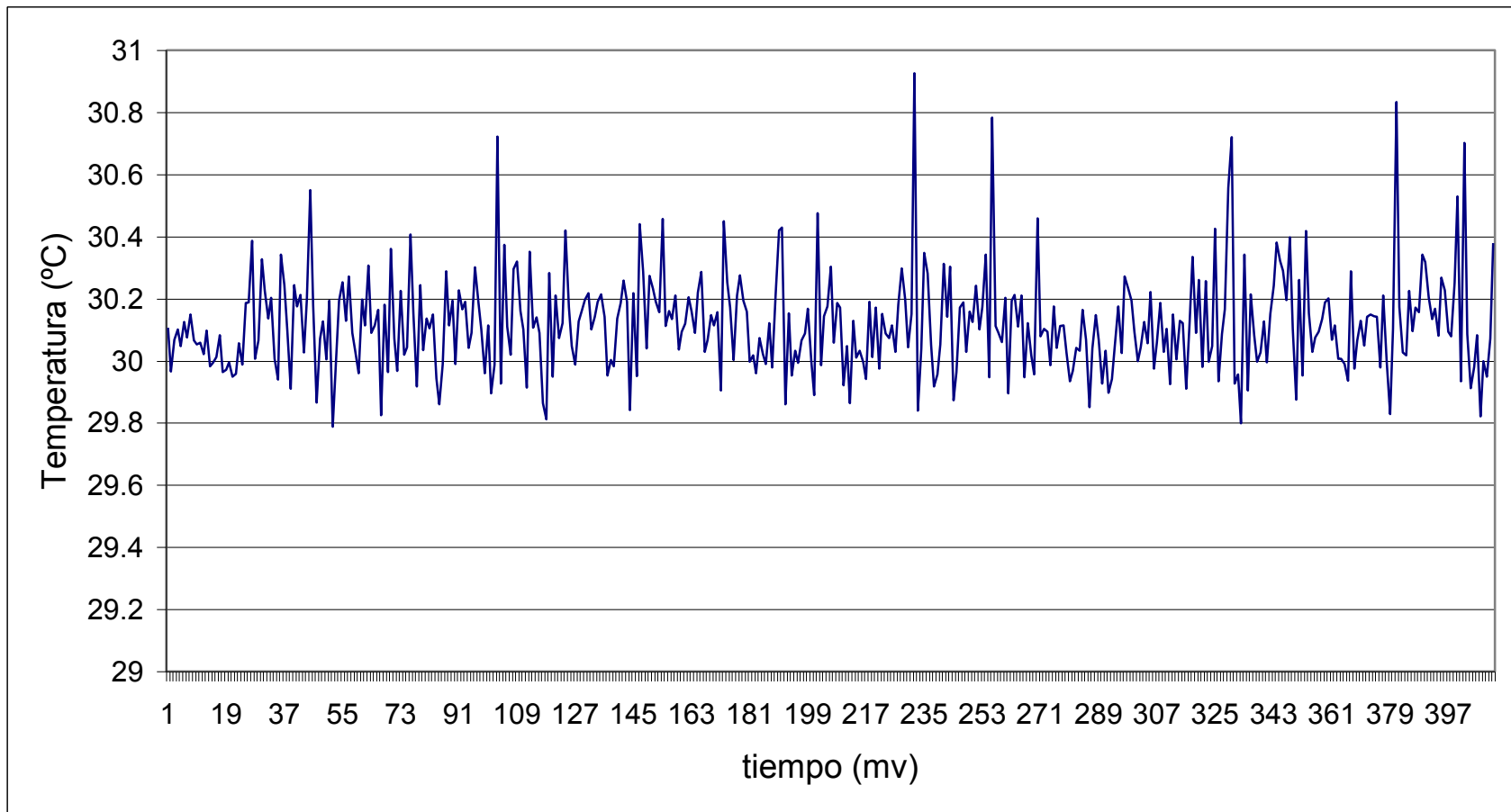


Figura 68. Temperatura en el ensayo 8

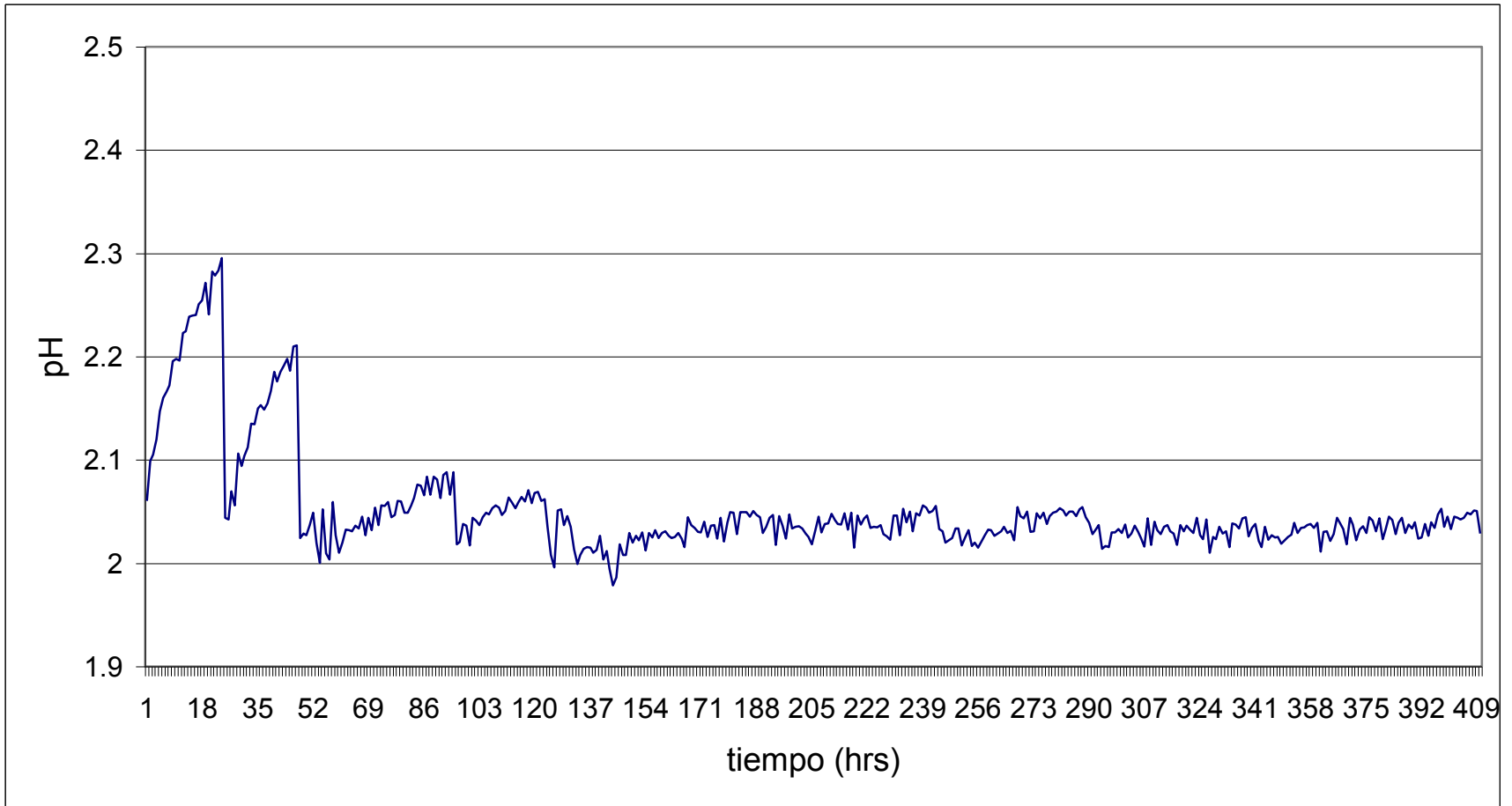


Figura 69. pH obtenido en el ensayo 8.

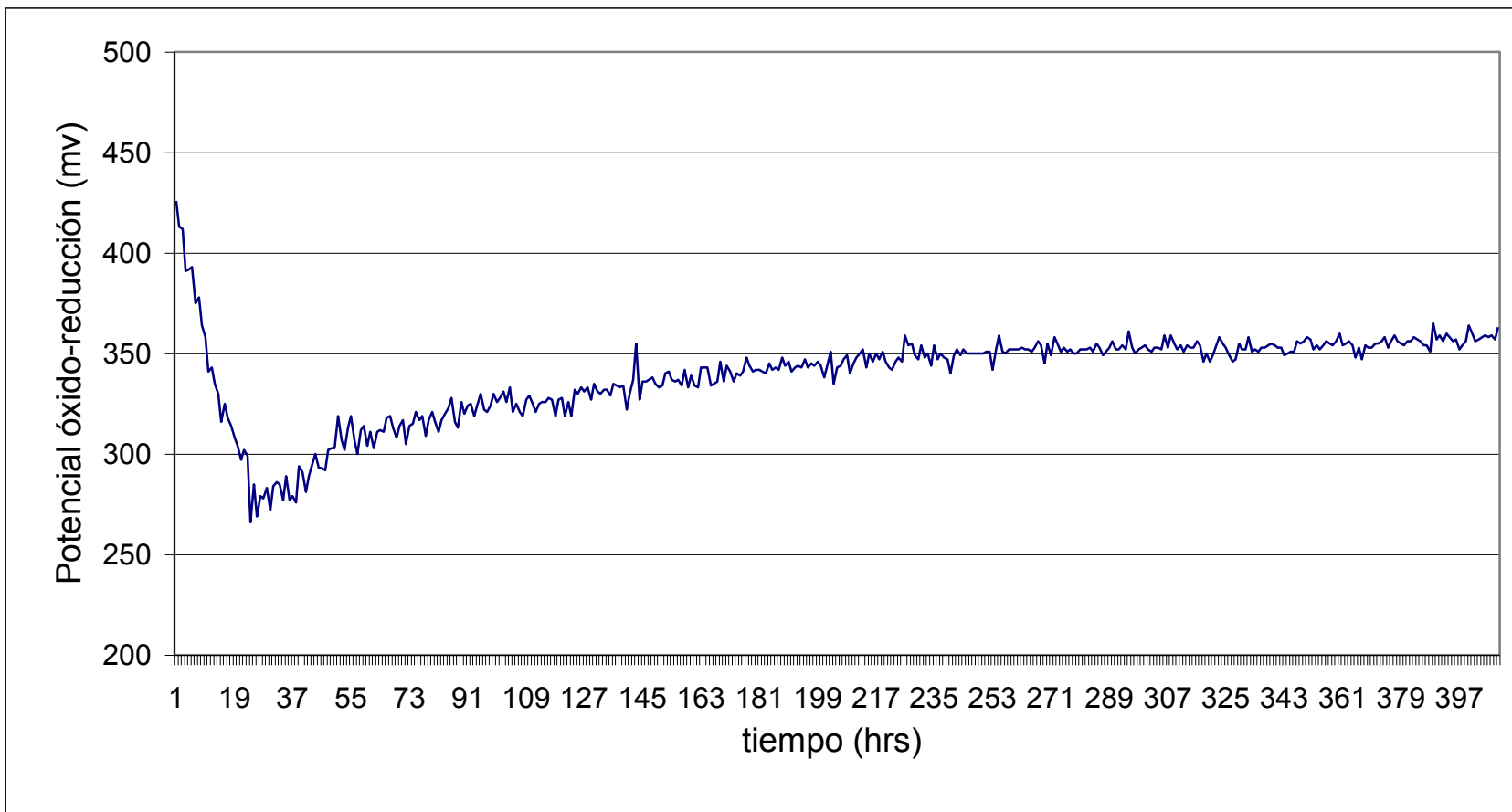


Figura 70. Potencial óxido -reducción obtenido en el ensayo 8

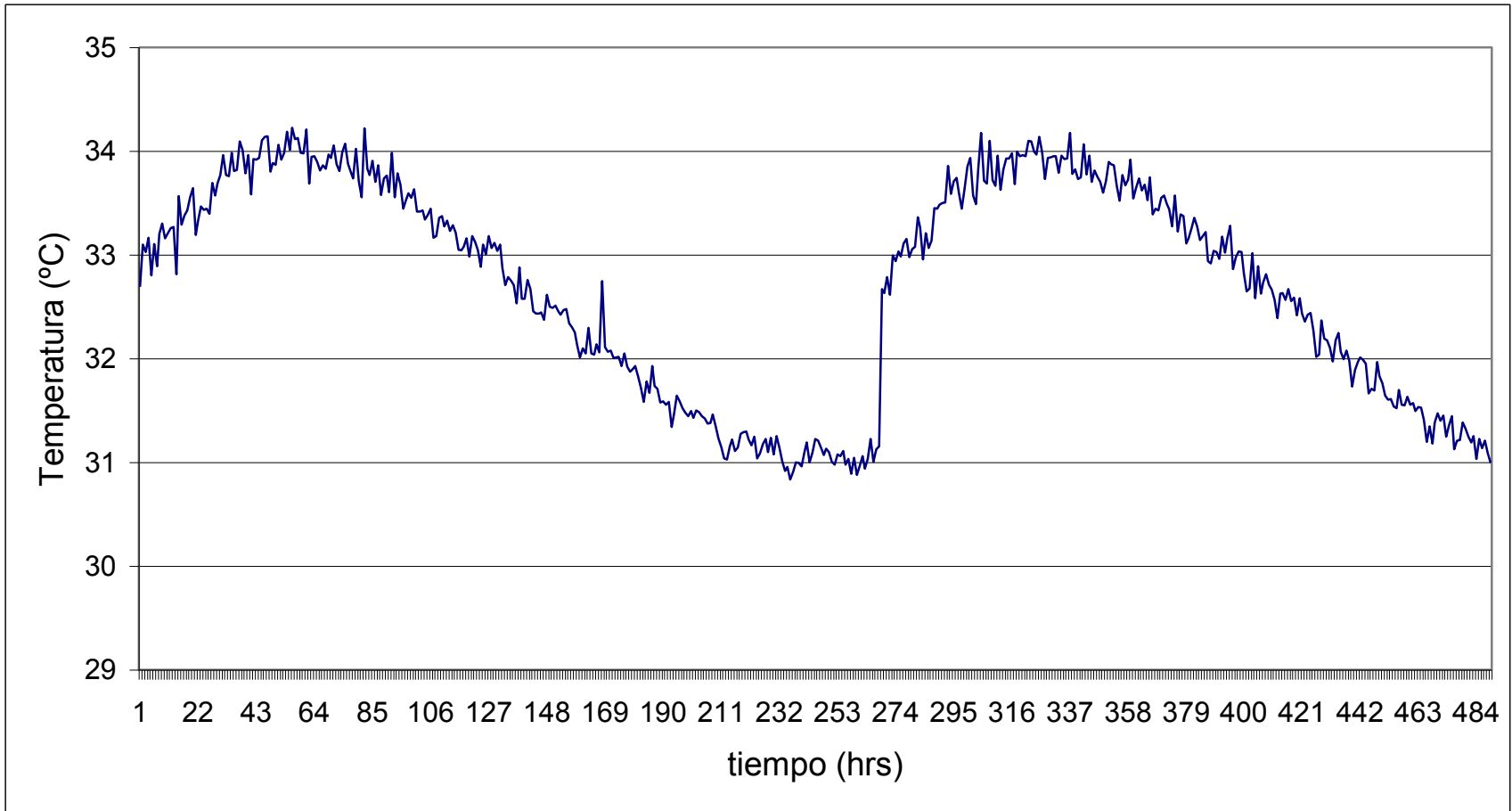


Figura 71. Temperatura obtenida en el ensayo 9

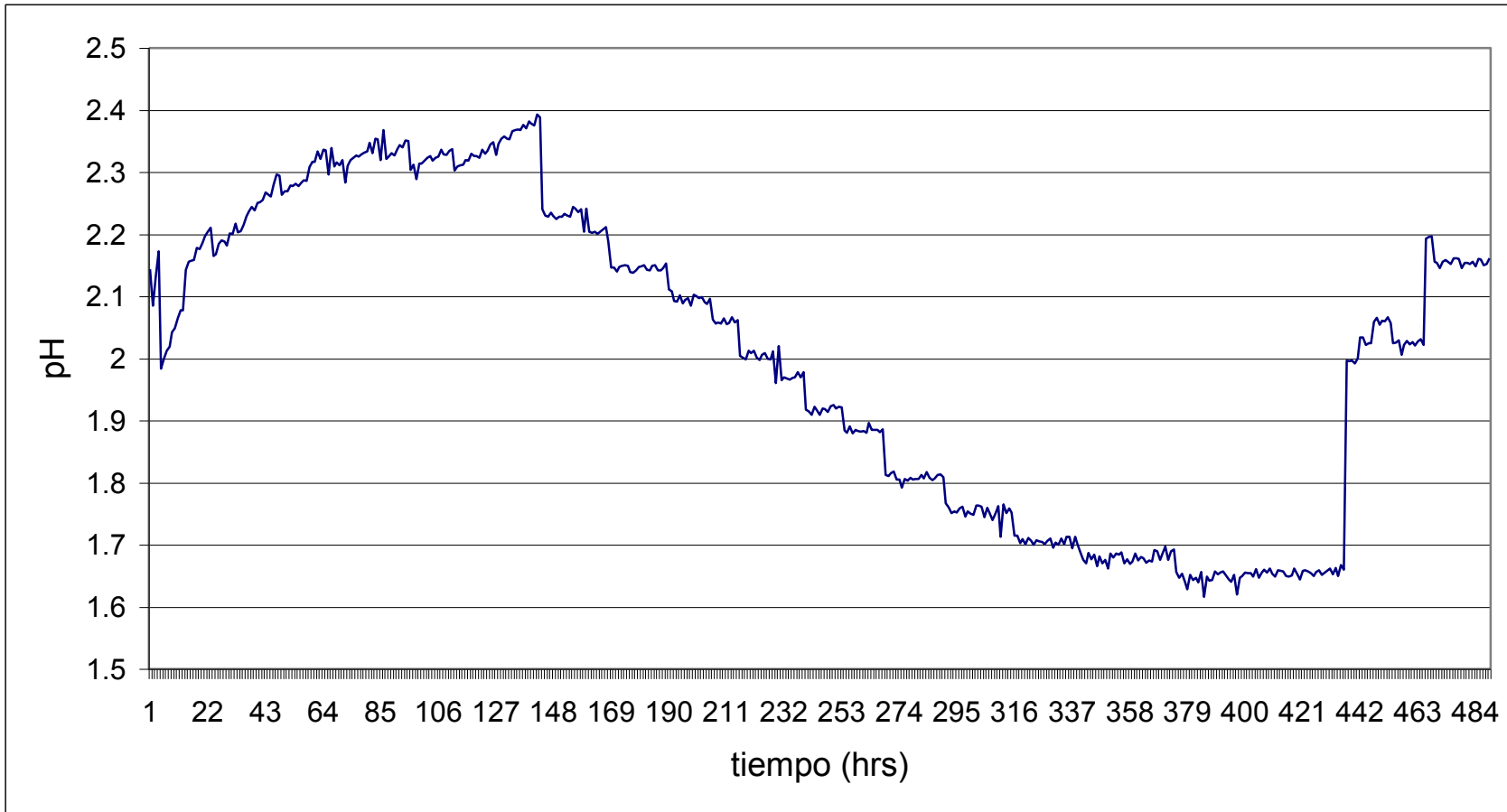


Figura 72. pH de control en el ensayo 9

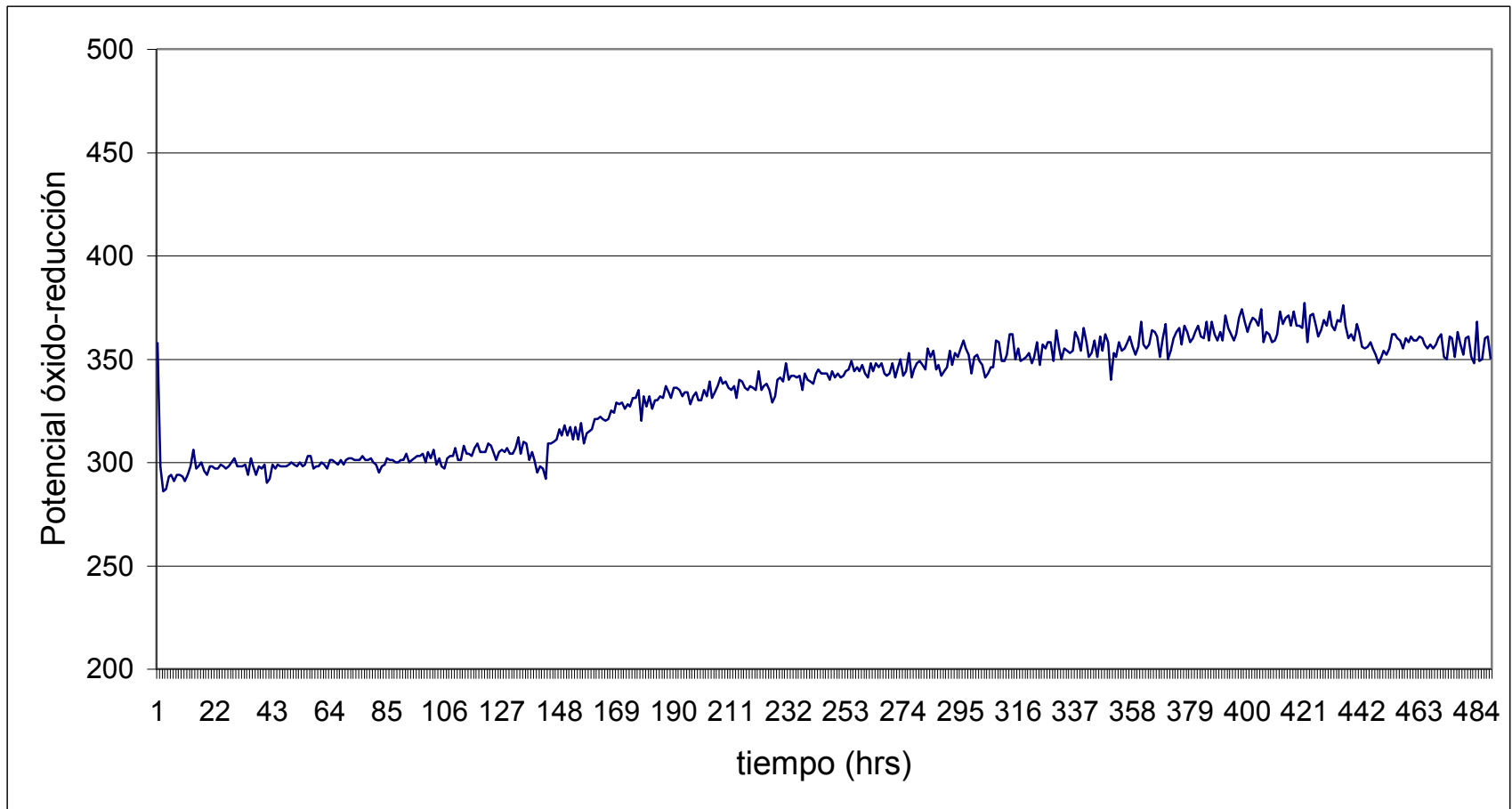


Figura 73. Potencial óxido-reducción obtenido en el ensayo 9.

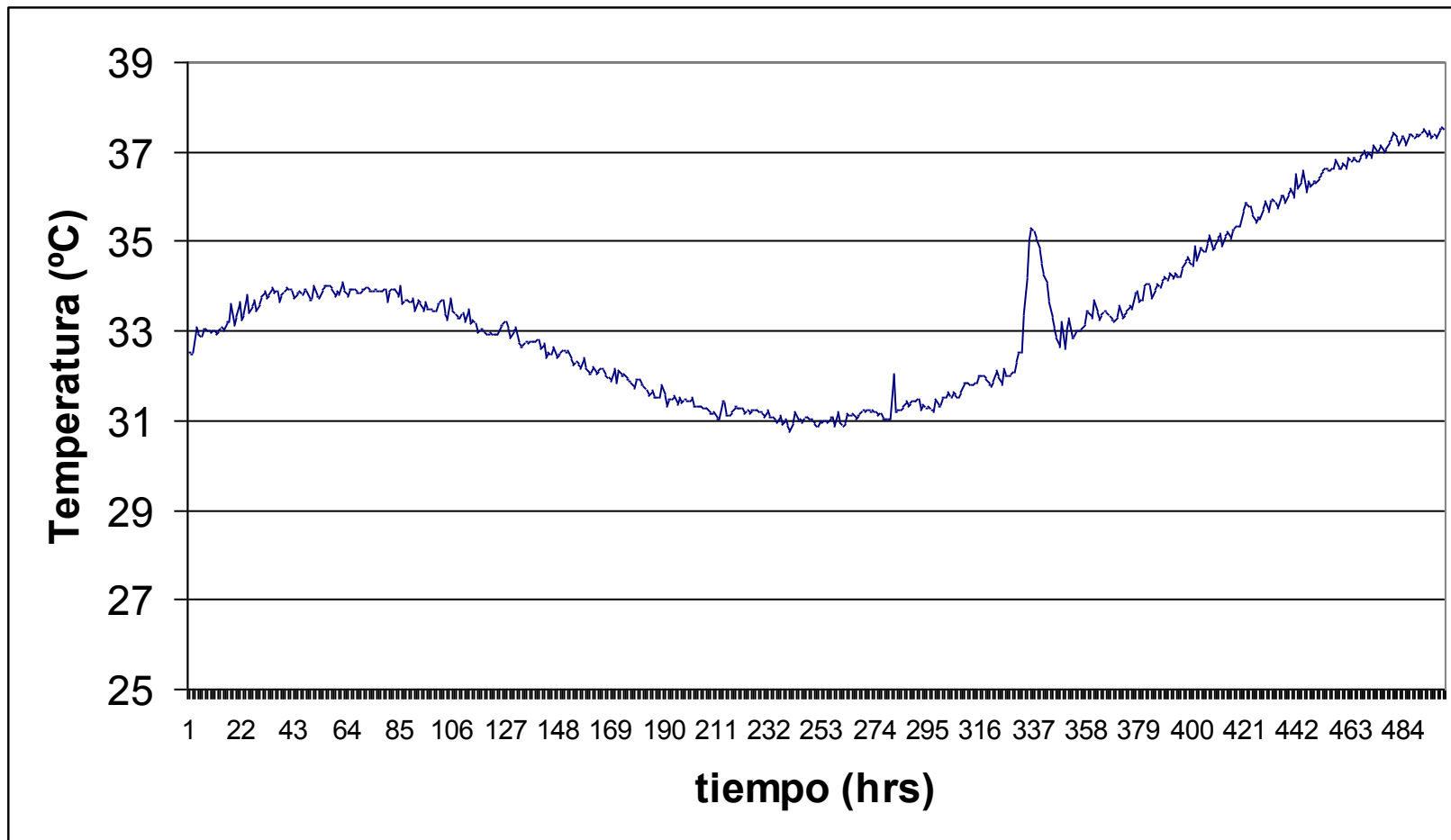


Figura 74. Temperatura obtenida para el ensayo 10.



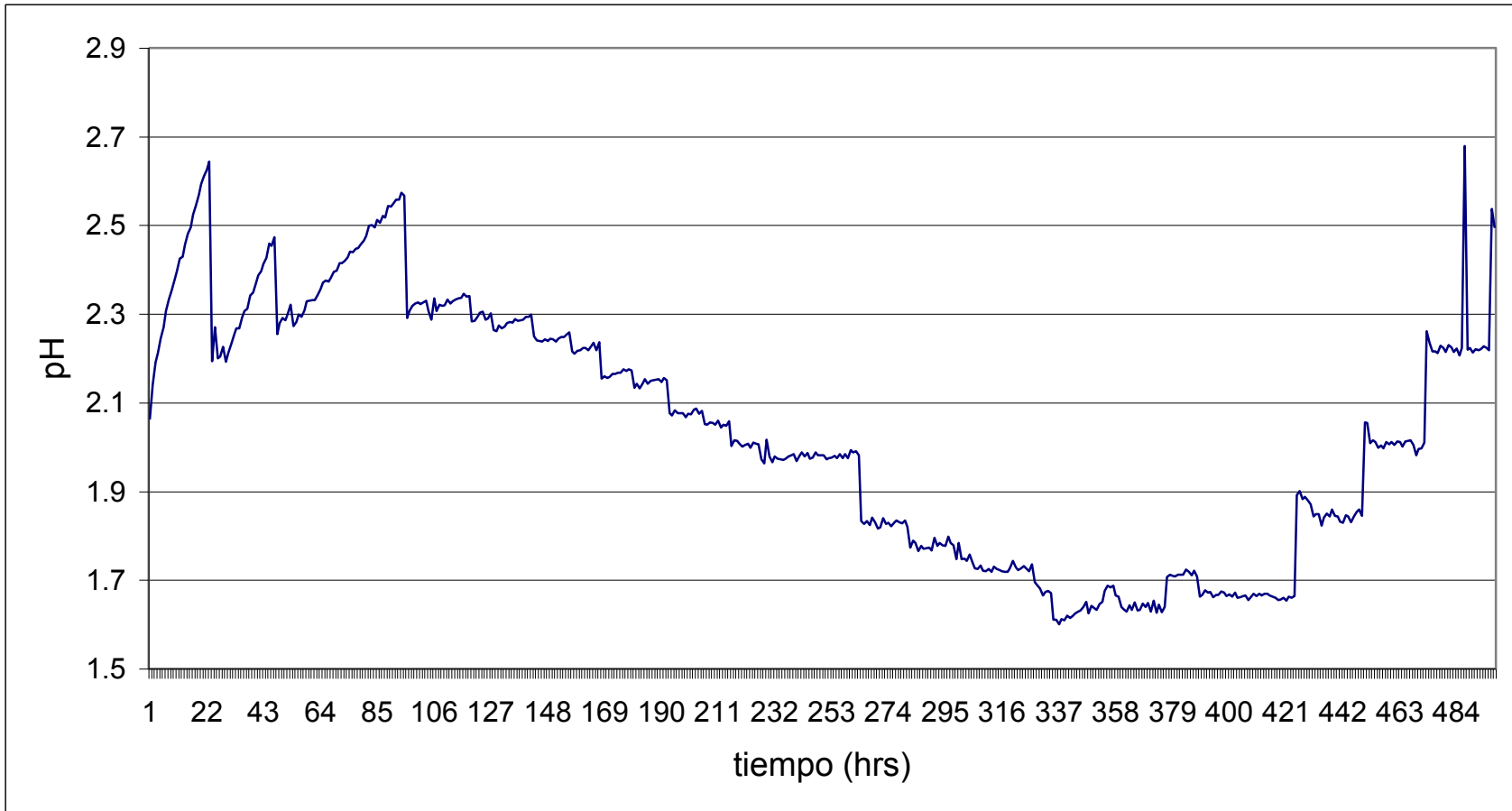


Figura 75. pH que se obtuvo en el ensayo 10

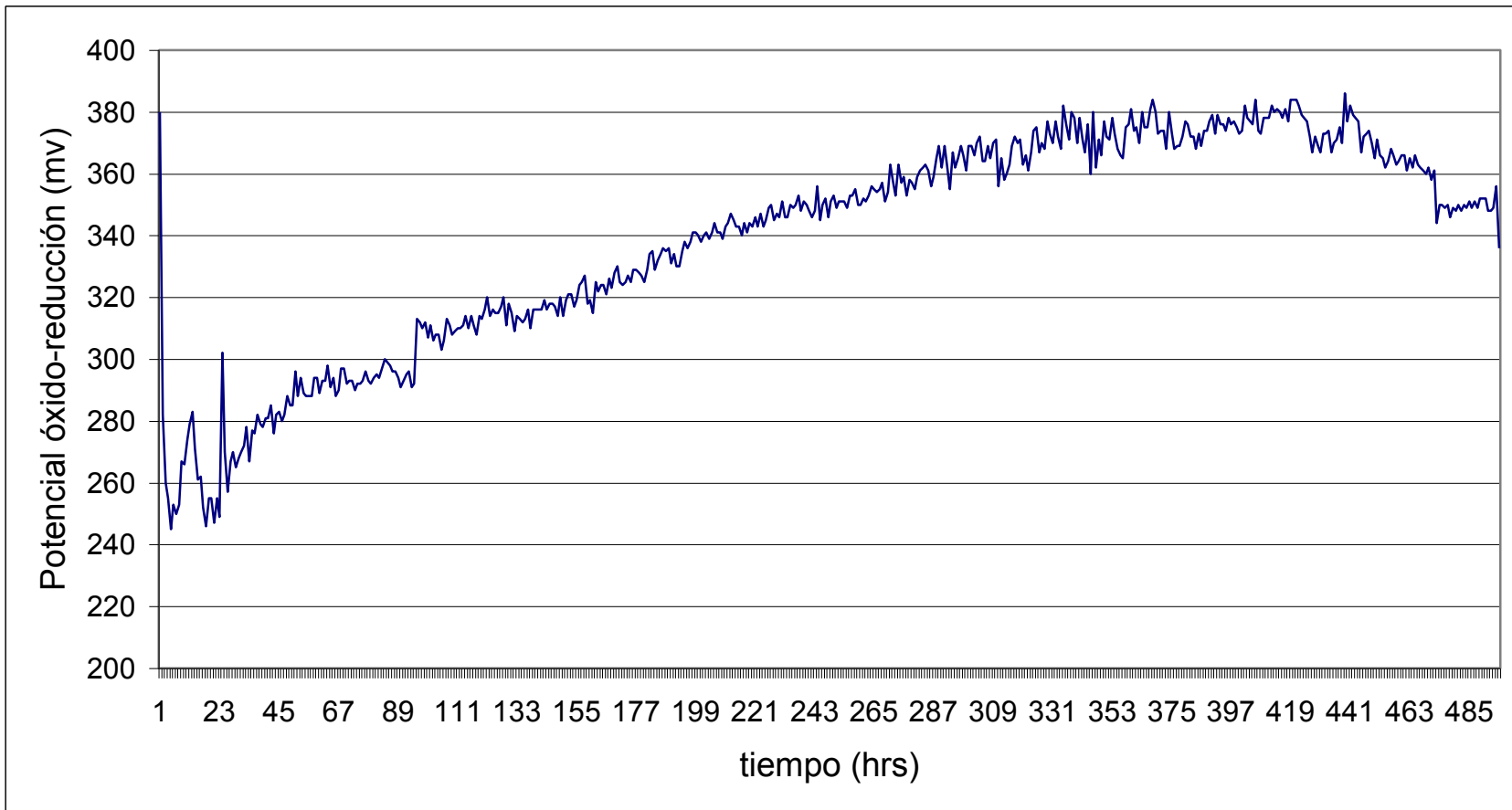


Figura 76. Potencial óxido-reducción en el ensayo 10

## RESUMEN CURRICULAR

Felipe Samuel Hernández Rodarte

Candidato para el Grado de Doctor en Ciencias con especialidad en Biotecnología

Tesis: MEJORAMIENTO DE LA BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES POR *Acidithiobacillus ferrooxidans* CON LA APLICACIÓN DE UN SISTEMA NEUROCONTROLADO

Campo de Estudio: Biotecnología

Datos Personales: Nacido en Durango, Durango el 9 de Abril de 1967, hijo de Alfonso C. Hernández Rodríguez y Emilia Rodarte Pérez

Educación: Egresado del Instituto Tecnológico de Durango, grado obtenido Ingeniero Bioquímico en 1996. Egresado del Instituto Tecnológico de Durango de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica