

Mecanismo de selección de consorcios bacterianos compatibles con *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* en procesos de biodesulfurización de carbón

Selection procedures of consortia bacterial with *A. ferrooxidans* like bacteria and *A. thiooxidans* like bacteria in coal biodesulfurization process

Gerardo Andrés Caicedo*, Marco Antonio Márquez

Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos (GMAB) Universidad Nacional de Colombia. Cra. 80 N.º 65-223, Medellín, Colombia

(Recibido el 1 de febrero de 2009. Aceptado el 22 de octubre de 2009)

Resumen

A nivel de erlenmeyer, se evaluaron procesos de biodesulfurización de un carbón rico en azufre con un tamaño de partícula entre 0,24 cm – 0,06 cm, empleando consorcios bacterianos de cepas compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y compatibles con *Acidithiobacillus thiooxidans*. Se analizaron los principales factores fisicoquímicos que pueden influir, con monitoreos de pH, potencial redox en el líquido lixivante y sulfato en solución y precipitado, producido a partir de compuestos reducidos de azufre presentes en el carbón y en el medio. De acuerdo con los resultados obtenidos, se alcanzó 71,50% de sulfato producido con relación al máximo posible después de 16 días de proceso. Estos resultados son claves para la escogencia de cepa a la hora de trabajar procesos de biodesulfurización a escala mayor.

----- *Palabras clave:* Biodesulfurización, carbón, azufre inorgánico, consorcio bacteriano

Abstract

In a flask, biodesulfurization processes of a coal with high sulfur content were evaluated. The particle size of coal ranged between 0.24 cm – 0.06 cm. The processes used consortiums compounds by *Acidithiobacillus ferrooxidans* like bacteria + *Acidithiobacillus thiooxidans* like bacteria. In the biodesulfurization processes, the principal factors like pH, redox potential and sulfate in solution and precipitated, produced from sulfur compounds

* Autor de correspondencia: teléfono móvil: 315 802 37 60, correo electrónico: gacaiced@unalmed.edu.co (G. Caicedo)

reduced in the coal and medium were analyzed. According to the results a 71.50% of sulfate produced with respect to the maximum possible was obtained after 16 days of processing. These results are key to select cultures for biodesulfurization process in a larger scale.

----- **Keywords:** Biodesulfurization, coal, inorganic sulfur, bacterial consortium

Introducción

El carbón es la segunda fuente energética en importancia en el mundo después del petróleo y es el principal combustible empleado en la industria metalúrgica: cerca del 70% de la producción de acero depende del carbón [1]. Este recurso energético tiene tanto compuestos orgánicos como inorgánicos [2]; entre estos materiales se puede encontrar azufre tanto inorgánico (azufre pirítico principalmente) como orgánico [3], que juega un papel importante en casi todos los sistemas de utilización del carbón, en especial los utilizados en procesos de combustión, donde se generan compuestos volátiles sulfúricos en su mayoría SO_2 , que se encuentra dentro del grupo de sustancias más tóxicas que polucionan la atmósfera [4], siendo uno de los precursores en la formación del fenómeno conocido como lluvia ácida [5, 6, 7]. Se considera que el mejor método para limitar la cantidad de óxidos de azufre emitidos a la atmósfera, consiste en reducir la cantidad de azufre (orgánico e inorgánico) presente en el carbón, antes de su combustión [8].

Entre los procesos de desulfurización tradicionales, los métodos físicos son incapaces de remover completamente el azufre [9], por lo cual se han desarrollado muchos procesos de desulfurización químicos y físico-químicos; aunque con estos métodos se logran mayores tasas de reducción, sus costos son altos y por lo general implican la generación de residuos y efluentes contaminantes además de la disminución de algunas propiedades coquizantes del carbón [7].

En la búsqueda de nuevas tecnologías para eliminar el azufre del carbón, los métodos biológicos han despertado mayor interés, debido a su simplicidad de diseño y construcción, además de las múltiples ventajas que posee [3, 4, 10].

La biodesulfurización basada en mecanismos de biolixiviación, consiste en una oxidación de sulfuros metálicos insolubles catalizada por microorganismos acidófilos en un medio acuoso, para volverlos solubles en forma de sulfatos [11-13].

Se han estudiado y evaluado a nivel de laboratorio diferentes factores fisicoquímicos (pH, OD, temperatura, concentración de hierro en el lixiviado, etc.) y biológicos (tipo de inóculo de microorganismos y su perfeccionamiento), buscando una alternativa para su aplicación a nivel industrial [11], con el fin de avanzar en el conocimiento de lo que ocurre en los procesos biohidrometalúrgicos, aumentando posiblemente la eficiencia en dichos procesos y por ende la utilización y posible adopción de estas tecnologías como solución alternativa para uno de los principales problemas ambientales en la industria minera del carbón. Uno de los factores importantes que influye en la eficiencia de los procesos es la selección y adaptación de los microorganismos que mejor se desempeñen en un proceso sobre un carbón determinado. El enfoque de este trabajo es evaluar consorcios de microorganismos acidófilos, sobre un proceso de biodesulfurización. Se pretende obtener un mecanismo que permita seleccionar cultivos que brinden una alternativa biológica para la utilización de carbones ricos de azufre.

Experimentación

Caracterización del carbón

El carbón utilizado fue muestreado de mantos de la mina La Angostura ubicada en el municipio de Morales, Cauca. Este carbón se escogió por su alto contenido de azufre. Después de uno o varios cuarteos sucesivos, se redujo el tamaño de partícula mediante trituradora de mandíbula, con

el fin de preparar las muestras para el proceso de biolixiviación El rango de tamaños escogido está comprendido entre malla $\frac{3}{4}$ " (1,90 cm) y malla

30 (0,06 cm). Los análisis inmediatos, poder calorífico y formas de azufre son mostrados en la tabla 1.

Tabla 1 Análisis inmediatos, poder calorífico y formas de azufre del carbón muestreado mina La Angostura (base húmeda)

	Unidades		Método utilizado
Azufre total ^a	%	7,37	ASTM D 4239
Azufre pirítico ^b	%	4,63	ASTM D 2492-02
Azufre orgánico ^a	%	2,43	ASTM D 2492-02
Azufre sulfatos ^b	%	0,33	ASTM D 2492-02
Humedad residual ^c	%	2,60	ASTM D 3173
Cenizas ^d	%	16,50	ASTM D 3174
Materia volátil ^d	%	38,10	ISO 562
Carbono fijo ^d	%	42,80	ASTM D 3172
Poder calorífico base bruta ^e	cal/g	6341	ASTM D 5865

Los equipos utilizados para los análisis fueron: a. Determinador de azufre LECO SC-132, b. Espectrofotómetro GENESYS UV 10, c. Estufa de secado Preiser Scientific TMO-694, d. Mufla Terrígeno D8-Serie 381 y e. Calorimétrico automático IKA-Werke C5003.

Adaptación de microorganismos

Del cepario del Laboratorio de Biomineralogía de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, se tomaron 5 aislados nativos preseleccionados, provenientes del depósito de carbón de la mina "La Angostura", de los cuales 3 son compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, denominados F₁, F₂ y F₃ y 2 compatibles con *Acidithiobacillus thiooxidans*, denominados T₁ y T₂, las cuales se activaron metabólicamente en medio de cultivo líquido T&K y 9K respectivamente [14, 15], tomando 10% v/v de inóculo, con una concentración celular entre 10⁷-10⁸ células/ml, para un volumen de trabajo de 200 ml en cada caso. Las células fueron contadas en cámara de Neubauer. Para la adaptación de los microorganismos compatibles con *A. ferrooxidans*, se preparó la solución de medio T&K modificado, empleando 5% v/v de una solución de FeSO₄·7H₂O al 33,33% w/v. Para los microorganismos compatibles con *A. thiooxidans*, se preparó la solución de medio 9K con 1% w/v de azufre. En ambos casos fue empleado 10% inóculo con una concentración

media entre 10⁷-10⁸ células/ml y 5% w/v de carbón, con tamaño de partícula entre 1,90 cm - 0,96 cm. Se utilizó un volumen total de 200 ml, en erlenmeyers de 500 ml. Seguidamente se tomó 10% v/v de inóculo del anterior cultivo y se agregó a medio fresco, con 5% w/v de carbón, con tamaño de partícula entre 0,96 cm - 0,24 cm, incubándose igual que el primero. Este proceso se repitió para carbón con tamaño de partícula comprendido entre 0,24 cm - 0,06 cm. Una vez se llegó al tamaño de partícula más pequeño, se procedió a reducir la fuente de energía en cada medio de cultivo, agregando igual cantidad de carbón sin variar el tamaño de partícula.

Condiciones de biodesulfurización

Se evaluaron todas las combinaciones de microorganismos T_i + F_j posibles, por un periodo de 16 días. La preparación del consorcio fue hecha en un medio que contiene las sales basales del medio 9K, carbón con un tamaño de partícula entre 0,24 cm - 0,06 cm y las proporciones de sulfato ferroso y azufre de la última etapa de adaptación, para cada tipo de cepa. El inóculo se

preparó agregando 5% v/v de la cepa compatible con *A. ferrooxidans*, y 5% v/v de la compatible con *A. thiooxidans*. Fueron utilizadas las mismas condiciones de trabajo que en la fase de adaptación. Cada ensayo se realizó por duplicado y adicionalmente se preparó un control negativo con ausencia de bacterias.

Se realizaron monitoreos cada dos días de pH, potencial redox (Eh) mediante el uso de un equipo SCHOTT Handylab, con un electrodo de Eh de Ag/AgCl y un electrodo de pH con electrolito de KCl, cada 4 días sulfatos en solución, en un espectrofotómetro marca GENESYS UV 10, bajo la norma 4500 SO₄²⁻, por el método turbidimétrico [16], con un error analítico del 4,25%.

Al finalizar cada ensayo, el sólido remanente se trató con ácido clorhídrico 4 N, a fin de extraer los sulfatos precipitados y calcular la proporción de estos en el carbón. Fue calculada la cantidad de sulfato producido total disuelta en el medio al finalizar el proceso, a partir de la concentración de sulfato en solución menos la concentración de sulfato inicial. Finalmente, se sumaron los dos valores para obtener el total de sulfato producido.

Resultados y discusión

La figura 1 muestra el comportamiento del pH durante la biodesulfurización. Puede apreciarse un incremento en el pH durante los primeros dos días de operación, posiblemente debido a la acción de sales de carbonatos presentes en el carbón, que aportarían alcalinidad al medio [17], otra causa que puede contribuir a este aumento, con base en los mecanismos indirectos propuestos en la literatura, es el consumo de protones por parte de las bacterias, necesario para la generación de los iones férricos en la solución, sin embargo el hecho de que el pH disminuya con el tiempo es causado por la generación de ácido sulfúrico en la biooxidación de la pirita y oxidación del azufre elemental, como es de esperarse para este tipo de bioprocesos, [15, 18]. A lo largo del proceso el pH disminuye, hasta alcanzar valores alrededor de 1,5, favoreciendo una mejor lixiviación del azufre oxidado como sulfato [11]. Con el

potencial redox (figura 2), se observó lo contrario, aumentando hasta alcanzar valores por encima de 600 mV, indicando una buena actividad de la cepa bacteriana a las condiciones del sistema. Durante el proceso, el valor de potencial redox se mantuvo sobre 600 mV, indicando de nuevo una persistencia en la actividad de la cepa adaptada al proceso de biodesulfurización, acorde con lo reportado por otros autores en la literatura [17,19].

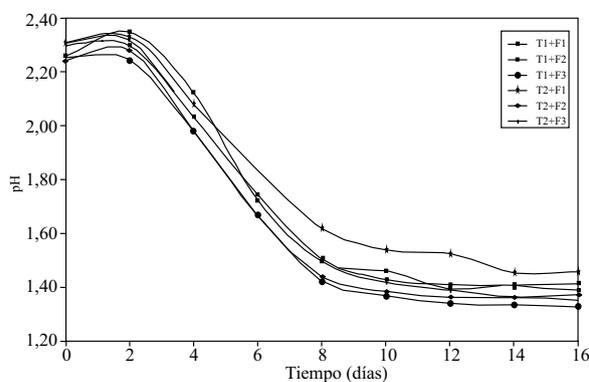


Figura 1 Comportamiento del pH vs. tiempo para cada ensayo durante el proceso de biodesulfurización de carbón

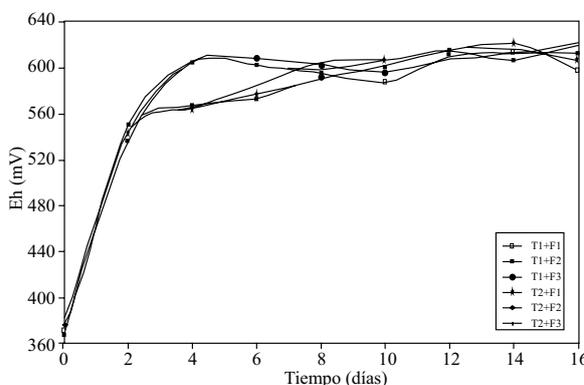


Figura 2 Comportamiento del Eh vs. tiempo para cada ensayo durante el proceso de biodesulfurización de carbón

Los resultados obtenidos mostraron que ambas cepas actuaron en el proceso. Reportes en la literatura anotan que, en un proceso de biooxidación empleando un consorcio similar,

valores altos de potencial redox se pueden deber a la presencia de *A. ferrooxidans* y la rápida disminución de pH a la presencia de *A. thiooxidans* [14]. En general, los consorcios presentaron un comportamiento similar entre ellos. A lo largo del proceso, en el control negativo los valores de Eh disminuyeron por debajo de 250 mV y el pH aumentó por encima de 4, indicando que no hubo indicios de actividad en ausencia bacteriana.

A diferencia de los reportes en la literatura, donde la oxidación de pirita se evalúa con base en la lixiviación de hierro, para este caso se optó por un método diferente, el cual se consideró más directo y rápido, a la hora de evaluar la capacidad oxidativa de las bacterias de los compuestos reducidos de azufre en el medio (pirita en el carbón y azufre elemental); consiste en calcular la cantidad de sulfato producido durante el proceso, en cada medio de cultivo, en relación a la cantidad máxima de sulfato que se puede producir a partir de compuestos inorgánicos reducidos de azufre y sulfato remanente en el carbón, como se muestra en la tabla 2. La base de cálculo fue 10 g de carbón y 500 mg de azufre elemental, las cantidades agregadas a cada ensayo.

Tabla 2 Cantidad de sulfato máximo que se puede producir en los cultivos, con base en los compuestos que contienen azufre inorgánico en el medio (base de cálculo= 10g)

Sulfato máximo S pirítico (g)	1,389
Sulfato máximo S sulfato (g)	0,099
Sulfato máximo S (g)	1,500
Sulfato máximo total (g)	2,988

La figura 3 muestra el comportamiento de la concentración de sulfato en solución menos la concentración de sulfato inicial (ΔSO_4^{2-}) con el tiempo. En general, durante los primeros 4 días del proceso se observó una precipitación de sulfatos del medio de cultivo, interpretada en relación al aumento de pH en esa etapa del proceso. Sin embargo, con el transcurso del

proceso la concentración subió, mostrando una clara actividad oxidativa de la pirita por parte de los microorganismos, ya que el control no mostró aumento en la concentración. Los bioensayos T_1+F_3 y T_2+F_2 , presentaron mayor producción de sulfato respecto a los demás.

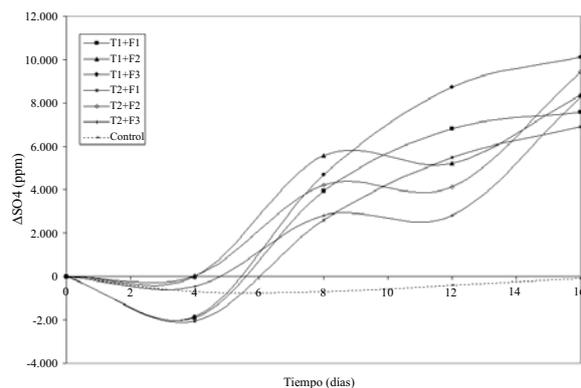


Figura 3 Comportamiento del sulfato producido vs. tiempo para cada ensayo durante el proceso de biodesulfurización de carbón

La tabla 3, muestra el porcentaje de sulfato producido para los diferentes ensayos respecto al máximo posible. Con relación a la cantidad de sulfato en el precipitado, se pudo ver que la cantidad precipitada es inferior al 6% del total para todos los casos. Esto concuerda con lo sugerido por otros autores para procesos de biodesulfurización de carbones, los cuales aseveran que en ambientes más ácidos, como es el caso de los consorcios en este trabajo, se disminuye la precipitación de sulfatos [7]. Los bioensayos con T_1+F_3 presentaron el mayor porcentaje de producción, con un 71,4993% en promedio. Además puede observarse que F_3 tuvo una mejor simbiosis con la cepa T_1 , con relación al consorcio T_2+F_3 , donde se obtuvo el 60,2510% en promedio de producción de sulfato.

Algunas investigaciones se ha deducido que, no se tiene evidencia directa de que *A. thiooxidans*, oxide pirita, ya que en la mayoría de ensayos se utiliza azufre elemental como sustrato y este se convierte en el principal aportante de ácido sulfúrico al medio [20]. Se piensa en *A. thiooxidans* como una “ayudante” de *A.*

ferrooxidans cuando se trabajan en consorcio, cuya labor consiste en mantener un pH bajo, que puede mejorar el proceso de biodesulfurización, al generar condiciones donde la precipitación de jarosita y otros sulfatos de hierro es en principio reducida [14].

Tabla 3 Sulfato producido lixiviado en cada ensayo con relación al máximo posible, al finalizar el proceso de biodesulfurización

Ensayo	%SO ₄ precipitado	%SO ₄ lixiviado	%SO ₄ producido
T ₁ +F ₁	5,5221%	50,7028%	56,2249%
T ₁ +F ₂	5,2711%	55,9036%	61,1747%
T ₁ +F ₃	3,8487%	67,6506%	71,4993%
T ₂ +F ₁	5,3213%	46,3387%	51,6600%
T ₂ +F ₂	4,9364%	63,1158%	68,0522%
T ₂ +F ₃	4,9531%	55,2979%	60,2510%

A partir del ensayo donde se obtuvo mayor producción de sulfatos, se quiso saber cuanto de ese compuesto venía del azufre pirítico. Se hizo un montaje con las mismas condiciones que los anteriores, pero sin adición de azufre elemental. Al finalizar el proceso, se encontró un equivalente de 67,7505% de pirita oxidada. Reportes en la literatura en procesos similares, muestran remociones de azufre entre 80% - 90% en ensayos a nivel de erlenmeyer [17, 19], sin embargo estos fueron desarrollados con tamaños de partícula más finos (menores a 45 mm), que los empleados en este estudio (0,24 cm – 0,06 cm). Es importante tener en cuenta que en procesos de biodesulfurización como los de lecho empacado, los tamaños de partícula son mayores a 0,05 cm [21], por eso los ensayos desarrollados permiten determinar el grado de remoción que se puede alcanzar en tamaños de partícula mayores, utilizando bacterias adaptadas a un tamaño de grano mayor.

Conclusiones

La etapa de selección y adaptación de microorganismos permitió evaluar las cepas que se acos-

tumbraron mejor a los ambientes donde se llevaron a cabo los procesos de biodesulfurización de carbón. El consorcio bacteriano *A. ferrooxidans* + *A. thiooxidans* favorece la reducción de jarositas y otros sulfatos precipitados al generarse un ambiente cooperativo entre ambos microorganismos, reflejando posibles interacciones sinérgicas entre las especies. Esta experiencia es un comienzo en la investigación de las condiciones que pueden alterar el proceso con relación al manejo de los microorganismos involucrados.

Agradecimientos

A la Subdirección de Energía y Minería de COLCIENCIAS, que financia el proyecto. Al Laboratorio de Biomineralogía de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, donde se lleva a cabo la investigación. Al señor Julio César Montenegro gerente de la mina La Angostura, quien nos facilitó el acceso a la zona de estudio y las muestras de carbón.

Referencias

1. Unidad de Planeación Minero Energética. *El Carbón Colombiano: Fuente de energía para el futuro*. Bogotá. 2005. pp. 13-22.
2. A. Demirbas. "Demineralization and desulfurization of coals via column froth flotation and different methods". *Energy Conversion & Management*. Vol. 43. 2002. pp. 885-895.
3. T. Bozdemir, T. Durusoy, E. Erincin, Y. Yürüm. "Biodesulfurization of Turkish lignites". *Fuel*. Vol. 75. 1996. pp. 1596-1600.
4. A. Juszczak, F. Domka, M. Kozlowsky, H. Wacowska. "Microbial desulfurization of coal with *Thiobacillus ferrooxidans* bacteria". *Fuel*. Vol. 75. 1995. pp. 725-728.
5. C. Acharya, R. Kar, L. Sukla. "Bacterial removal of sulphur from three different coals". *Fuel*. Vol. 80. 2001. pp. 2207-2216.
6. J. Cara, M. Vargas, A. Morán, E. Gómez, O. Martínez, F. García. "Biodesulphurization of a coal by packed-column leaching. Simultaneous thermogravimetric and mass spectrometric analyses". *Fuel*. Vol. 85. 2006. pp.1756-1762.

7. P. Prayuenyong. "Coal biodesulphurization processes". *Journal Science Technology*. Vol. 24. 2002. pp. 493-507.
8. H. Calkins. "The chemical forms of sulfur in coal: a review". *Fuel*. Vol. 73. 1994. pp. 475-484.
9. J. Cara, A. Morán, T. Carballo, F. Rozada, A. Áller. "The biodesulphurization of a semianthracite coal in a packed-bed system". *Fuel*. Vol. 82. 2003. pp. 2065-2068.
10. A. Áller, O. Martínez, J. De Linaje, R. Méndez, A. Moran. "Biodesulphurization of coal by microorganisms isolated from the coal itself". *Fuel Processing Technology*. Vol. 69. 2001. pp. 45-57.
11. J. Cara, M. Carballo, A. Morán, D. Bonilla, O. Escolano, F. García. "Biodesulphurization of high sulphur coal by heap leaching". *Fuel*. Vol. 84. 2005. pp. 1905-1910.
12. B. Kodali, B. Rao, L. Narasu, R. Pogakub. "Effect of biochemical reactions in enhancement of rate of leaching". *Chemical Engineering Science*. Vol. 59. 2004. pp. 5069-5073.
13. J. Petersen, D. Dixon. "Competitive bioleaching of pyrite and chalcopyrite". *Hydrometallurgy*. Vol. 83. 2006. pp. 40-49.
14. M. Ossa, M. Márquez. "Biooxidación de sulfuros mediante cepas nativas de acidófilos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, mina de oro el Zancudo, (Titiribí, Colombia)". *Revista Colombiana de biotecnología*. Vol. 7. 2005. pp. 55-66.
15. J. Gómez, D. Cantero. "Biooxidación del ion ferroso". *Fundamentos y perspectivas de las tecnologías mineras*. Ediciones Universitarias de Valparaíso. 2005. pp. 25-43.
16. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. 17ª ed. Ed. Díaz de Santos S. A. Madrid. 1992. pp. 4(188)-4(200).
17. C. Eligwe. "Microbial desulphurization of coal". *Fuel*. Vol. 67. 1988. pp. 451-458.
18. A. Ballester. "Mecanismo de la Biolixiviación". *Fundamentos y perspectivas de las tecnologías mineras*. Ediciones Universitarias de Valparaíso. 2005. pp. 09-24.
19. G. Rossi. "Biodepyritization of coal: achievements and problems". *Fuel*. Vol. 72. 1993. pp. 1581-1592.
20. O. Garcia, J. Bigham, O. Tuovinen. "Oxidation of isochemical FeS₂ (marcasite-pyrite) by *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*," *Minerals Engineering*. Vol. 20. 2007. pp. 98-101.
21. A. Morán, A. Áller, J. Cara, O. Martinez, E. Encinas, E. Gómez. "Microbiological desulfurization of column-packed coal". *Fuel Processing Technology*. Vol. 52. 1997. pp. 155-164.