

INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INICIAL DE $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, EN UN PROCESO DE BIODESULFURIZACIÓN DE CARBONES EN SUSPENSIÓN

Héctor Alonso PELÁEZ MORALES*, María Consuelo PRADA FONSECA, Gerardo CAICEDO PINEDA, Claudia Ximena MORENO HERRERA y Marco Antonio MÁRQUEZ GODOY

Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín

*Autor responsable: hapelaez@unal.edu.co

(Recibido mayo 2011, aceptado febrero 2013)

Palabras clave: biolixiviación, bacterias acidófilas, azufre inorgánico, pirita

RESUMEN

En este estudio se evaluó la influencia de la relación inicial de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ en el proceso de biodesulfurización de una muestra de carbón. Se utilizó un medio de cultivo empleando una cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* con una concentración inicial de hierro total de 1200 mg/L, variando las proporción $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ entre 80:20, 50:50 y 20:80 respectivamente. Se utilizó un tamaño de partícula pasante de malla 60 ($\text{dp} < 246 \mu\text{m}$). Se analizaron los principales factores fisicoquímicos que pueden influir, con monitoreos de pH y potencial redox en el líquido lixivante y mediciones de concentración de hierro total, Fe^{3+} y Fe^{2+} en solución. De acuerdo con los resultados obtenidos, los experimentos 50:50 y 20:80 mostraron mayor eficiencia, presentando los mayores porcentajes de biolixiviación de hierro en solución, alcanzando 65% y 74% respectivamente de oxidación de pirita después de 14 días de proceso.

Key words: bioleaching, acidophilic bacteria, inorganic sulfur, pyrite

ABSTRACT

In this study there was evaluated the influence of the initial relation of $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ in a process of biodesulfurization of a coal sample. We used a culture medium and a strain of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, with an initial concentration of 1200 mg/L total iron, varying the $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ratio between 80:20, 50:50 and 20:80. It was used a particle size minus 60 mesh ($\text{dp} < 246 \mu\text{m}$). The process was monitored by periodic measures of pH, redox potential, concentration of total iron, Fe^{3+} and Fe^{2+} in solution. According to the obtained results, experiments using proportions $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ of 50:50 and 20:80 showed better efficiency, presenting the highest percentages of bioleaching of iron in solution, reaching respectively 65% and 74% of oxidation of pyrite, after 14 days of process.

INTRODUCCIÓN

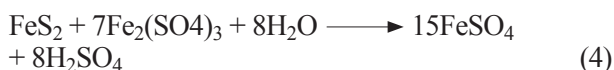
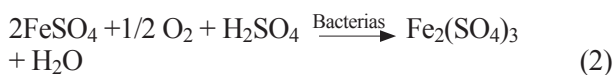
La primera crisis petrolera de los años 70 demostró que sigue siendo importante el carbón como fuente de energía. La reserva de este material es, sin duda, la más abundante de todos los combustibles sólidos y, aunque hay limitaciones ambientales cada vez más estrictas para su utilización, las previsiones apuntan a su consumo (Bauer 1986).

El principal problema asociado la combustión de carbón, bajo cualquier concepto, es la protección del ambiente, ya que se emiten gases contaminantes provenientes de la presencia de otros minerales asociados como la pirita (FeS_2) (Eligwe 1988). El dióxido de azufre es el gas emitido más importante y junto con los óxidos de nitrógeno son los principales responsables de la lluvia ácida. Es por esta razón que muchos de los proyectos de investigación actuales están dirigidos al desarrollo y mejora de métodos para remover el azufre del carbón por diferentes vías (físicas, químicas o biológicas) (Blázquez 1993).

El proceso de biodesulfurización es autorregenerador del catalizador, y con base en el mecanismo de reacción implícito en el proceso, también se genera el medio ácido necesario para que se lleve a cabo la reacción (Rawlings 2005, Sand y Gehrke 2006); además podría proporcionar rutas alternativas para el proceso de conversión y limpieza del carbón (desulfuración) (Malik *et al.* 2001).

El azufre en el carbón está presente en formas orgánicas e inorgánicas. Las formas orgánicas pueden ser alifáticas y aromáticas o heterocíclicas. El azufre inorgánico en el carbón está predominantemente en forma de sulfuros metálicos y sulfatos (SO_4^{2-}). La pirita (FeS_2) es generalmente la forma inorgánica de azufre más abundante en el carbón.

Los cristales de pirita están distribuidos al azar en toda la matriz del carbón (Malik *et al.* 2001) y se oxidan químicamente en soluciones acuosas cuando se expone al ión férrico (Ec. 1), al ácido y al oxígeno, que están presentes de manera natural en el medio y que son regenerados continuamente por las bacterias oxidantes de hierro/azufre (Ec. 2) (Ossa *et al.* 2005, Akcil *et al.* 2007).



Las bacterias acidófilas del género *Acidithiobacillus* como *A. ferrooxidans* crecen autotróficamente pues obtienen energía a partir de la oxidación del hierro ferroso o azufre elemental o compuestos de azufre reducidos (Kelly *et al.* 2000).

La oxidación biológica de la pirita ocurre directa o indirectamente. El mecanismo directo ocurre con la adhesión de células bacterianas a los granos de pirita, donde las células oxidan biológicamente el azufre o el hierro (Ec. 1). En el mecanismo indirecto las células oxidan el hierro ferroso soluble a hierro férrico (Ec. 2), que a su vez oxida químicamente a la pirita (Brock *et al.* 1998, Silverman *et al.* 2001). Yu *et al.* (2001) demostraron que el mecanismo directo domina durante el período de adaptación bacteriana (es decir, fase de latencia o lag). Sin embargo, en general se concluyó que el mecanismo indirecto es el más probable (Sand *et al.* 2001, Rohwerder *et al.* 2003). Sand *et al.* (2001) indicaron que aunque la oxidación microbiana de la pirita opera indirectamente a través de hierro férrico, las bacterias son realmente fijadas a las superficies minerales.

En el presente trabajo se hizo un estudio de biodesulfurización de carbones en suspensión, introduciendo cantidades de Fe^{2+} y Fe^{3+} iniciales, partiendo de la hipótesis de que los iones férricos o los protones son los únicos agentes (químicos) que disuelven al sulfuro. El papel de las bacterias es regenerar los iones férricos o los protones y concentrarlos en la interfase mineral/agua o mineral/célula bacteriana para favorecer y aumentar la degradación del mineral (Ballester 2005).

MATERIALES Y MÉTODOS

Minerales

El carbón utilizado fue muestreado del manto k de la mina La Guacamaya ubicada en el municipio de Puerto Libertador, en el departamento de Córdoba, Colombia. Después de varios cuarteos sucesivos, se redujo el tamaño de partícula mediante trituradora de mandíbula, el fin de preparar las muestras para el proceso de biolixiviación. El tamaño escogido es pasante de malla 60 de acuerdo con la serie Tyler de tamices ($\text{dp} < 246 \mu\text{m}$) (Caicedo *et al.* 2010).

Bacterias y medios de cultivo

Se eligió un cultivo *Acidithiobacillus ferrooxi-*

dans, conservada a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el cepario del Laboratorio de Biomineralogía de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, las cuales tuvieron una adaptación previa a un proceso de biodesulfurización de carbón, bajo un protocolo preestablecido (Caicedo 2008). Esta cepa se cultivó en medio de cloruros que contenía (g/L): $0.5\text{ NH}_4\text{Cl}$, 0.5 MgCl_2 , $0.5\text{ KH}_2\text{PO}_4$ y $0.01\text{ Ca(NO}_3)_2$.

Procedimientos experimentales

Las soluciones, el carbón y el sulfato férrico fueron esterilizados en autoclave a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 1.36 atm durante 20 minutos antes de la inoculación. El sulfato ferroso se esterilizó en filtro por vacío. El pH inicial del medio se ajustó a 1.4 con $\text{H}_2\text{SO}_4\text{ 1N}$ con el fin de reducir precipitaciones de hierro. Los frascos se incubaron en un agitador orbital a 180 rpm y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cada ensayo se realizó por duplicado y se preparó un control negativo en las pruebas con ausencia de bacterias con medio nutritivo en condiciones estériles.

Los experimentos de biolixiviación se llevaron a cabo en Erlenmeyer de 500 mL que contenían 170 mL del medio basal, 20 mL de inóculo y 10% m/v de carbón con un tamaño de partícula pasante de malla 60 ($\text{dp} < 246\text{ }\mu\text{m}$).

Los tres ensayos se hicieron con una concentración inicial de hierro total de 1200 mg/L con las siguientes relaciones $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, a partir de adición de sulfato férrico y ferroso respectivamente:

E1: 80:20

E2: 50:50

E3: 20:80

Procedimientos analíticos

Se realizaron monitoreos cada dos días de pH y 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 . El crecimiento de los cultivos bacterianos en solución se midió periódicamente mediante el recuento de células en cámara de Neubauer (profundidad de 0.100 mm y $1/0.0025\text{ mm}^2$ de área) y microscopio marca Olympus.

Cinco mL del sobrenadante fueron retirados periódicamente de los frascos y centrifugados a 3000 rpm durante 15 minutos para separar el material sólido y así determinar las concentraciones de iones en la solución. Las concentraciones de hierro se determinaron mediante espectrofotometría UV visible en un espectrofotómetro marca Genesys UV 10 bajo la norma estándar 3500-Fe B.

Al finalizar los ensayos se midieron las formas de azufre presentes en el carbón mediante los métodos ASTM D 4239 y ASTM D 2492-02.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Medidas de pH y Eh

La figura 1 muestra el comportamiento del pH durante el cultivo de la cepa de *A. ferrooxidans* con sus respectivas réplicas con una duración de 12 días. Cada ensayo empezó con un pH alrededor de 1.50 para reducir al mínimo los efectos perjudiciales de la precipitación del hierro, mostrando posteriormente una caída de valores hasta alrededor de 1.14, característico de este tipo de microorganismos, favoreciendo una mejor lixiviación del azufre oxidado como sulfato (Cara *et al.* 2005). Se observó una tendencia de disminución en el pH en presencia de bacterias en contraste con las pruebas testigo, aunque estos presentaron una pequeña disminución en el pH debido a la hidrólisis del ión Fe^{3+} (Daoud *et al.* 2006). El aumento de la acidez puede deberse a la oxidación de la pirita (Ec. 4) (Deveci *et al.* 2004).

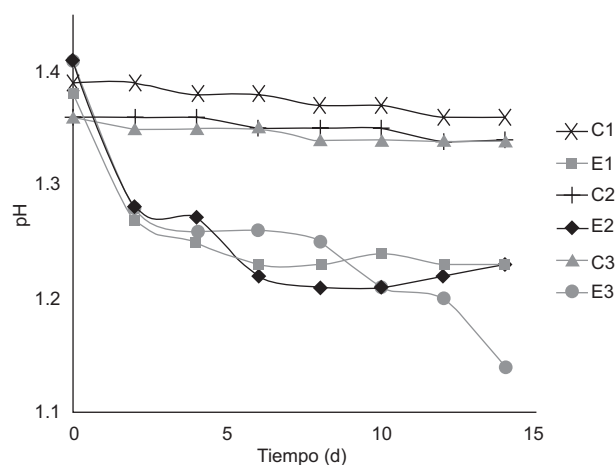


Fig. 1. Comportamiento del pH en función del tiempo para los diferentes ensayos de experimentación (relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$). C1: testigo de E1, E1: 80:20, C2: testigo de E2, E2: 50:50, C3: testigo de E3, E3: 20:80

Según los planteamientos de varios autores respecto al proceso de biooxidación (Prayuenyong 2002, Ballesster *et al.* 2005, Daoud *et al.* 2006,) se sugiere que en la oxidación de la pirita (Ecs. 3 y 4) se genera ácido, que compensa el consumo en la oxidación de hierro, mostrado en la disminución de este valor, en los días posteriores para los bioensayos y los testigos abióticos.

También se puede decir que las variaciones en los valores, específicamente el aumento en el pH (aunque no es tan marcado) en algunos días de proceso, posiblemente fuera debido a la oxidación de iones ferrosos a férricos por parte de la bacteria, que implica un consumo de ácido (Caicedo *et al.* 2010).

En la **figura 2** se muestra el comportamiento del potencial de oxido-reducción (Eh) con el tiempo para la cepa pura de *A. ferrooxidans*. En general se alcanzaron valores en el intervalo de 550 - 680 mV durante el proceso con tendencia a estabilizarse, en contraste con los valores de los testigos negativos que se mostraron por debajo de 450 mV, lo que indica que no hubo actividad oxidativa en ausencia de bacterias. Según Meruane (2002), el valor del Eh se encuentra definido por los pares de óxido-reducción que interactúan sobre el electrodo de platino.

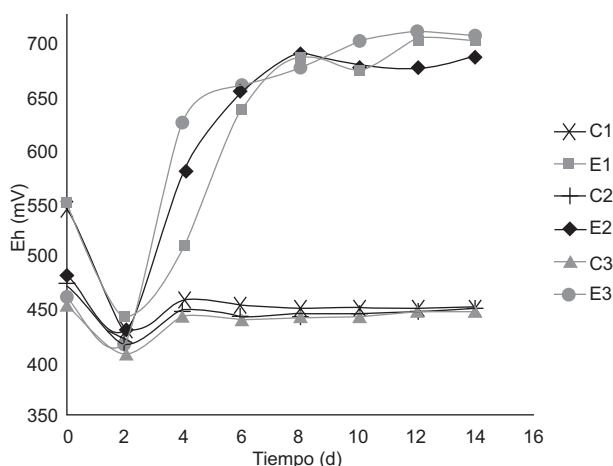


Fig. 2. Comportamiento del Eh en función del tiempo para los diferentes ensayos de experimentación (relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$). C1: testigo de E1, E1: 80:20, C2: testigo de E2, E2: 50:50, C3: testigo de E3, E3: 20:80

En el caso de los sistemas de biolixiviación, los pares de interés son: el par ferroso/férrico y el par oxígeno (disuelto)/agua. Sin embargo, la presencia de hierro en solución, hace que el efecto del oxígeno no sea considerable y para efectos prácticos se considera que el Eh está fundamentalmente definido por el cambio en la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (Meruane 2002). Esto explica por qué los ensayos 1 y 2 empezaron con valores mayores que los ensayos sin adición de estos iones (400 - 430 mV). Cuando esta relación aumenta en la solución, favorece a la oxidación de la pirita (Rossi 1993, Malik *et al.* 2001, Ackil *et al.* 2007, Cardona *et al.* 2009).

Se podría decir que estos valores indican que las bacterias presentaron una buena actividad oxidativa,

lo que es acorde con lo reportado por otros autores (Eligwe 1988, Rossi 1993).

Ossa y Márquez (2005) anotan que en un proceso de biooxidación los valores altos de potencial redox se pueden deber a la presencia de *A. ferrooxidans*.

La caída notoria del Eh en el día 2, especialmente en el ensayo 1, se debe a que inicialmente este valor empezó entre 450-550 mV por la adición de iones férricos al medio de cultivo, pero generalmente este valor empieza alrededor de 400-430 mV (Bauer 1986, Eligwe 1988, Ackil *et al.* 2007, Caicedo *et al.* 2010) para este tipo de procesos. En nuestro caso, después de la disminución este valor se empieza a incrementar a medida que las bacterias oxidan los iones ferrosos a iones férricos (Ackil *et al.* 2007, Cardona *et al.* 2009).

Concentración celular

También se evaluó el comportamiento de la concentración bacteriana en función del tiempo como se muestra en la **figura 3**. Se observó un crecimiento en la concentración a medida que avanzaban los procesos, tendiendo a estabilizarse a partir del día 6, lo que va a la par con en el desarrollo que tuvo el proceso.

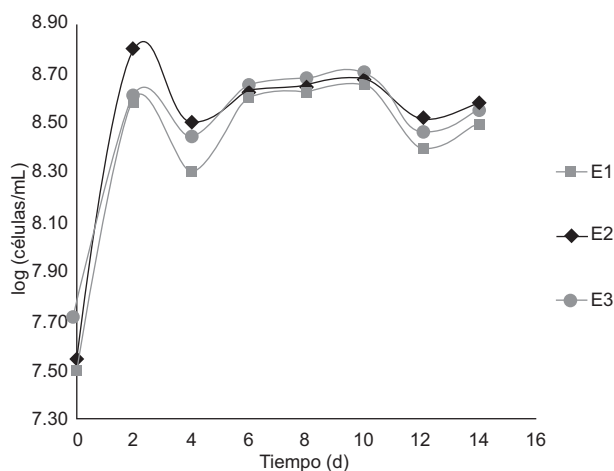


Fig. 3. Crecimiento de *A. ferrooxidans* en solución en función del tiempo para los diferentes ensayos de experimentación (relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$). E1: 80:20, E2: 50:50, E3: 20:80

Una hipótesis que surge a partir de estos resultados, es que una menor área de ataque disponible para que ocurra la oxidación incide en la disminución de la concentración bacteriana, al presentarse bajas cantidades de Fe^{2+} , necesario para el metabolismo de *A. ferrooxidans*, lo que ocasiona un descenso en la población en algunas etapas del proceso (días 4, 8 y 12) (Cardona *et al.* 2009). Esta disminución, observada durante los primeros cuatro días, también es debida a un atrapamiento o adhesión de las bacterias al mineral (Caicedo *et al.* 2011).

Concentración de Fe en solución y cambio de la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ durante la biolixiviación

La **figura 4** muestra el hierro lixiviado del carbón en función del tiempo. Para dos de los tres bioensayos (E2 y E3), aumentó significativamente la cantidad de hierro lixiviado, sin embargo para el primer bioensayo (E1), el valor disminuyó, indicando precipitación de hierro. De acuerdo con estudios realizados sobre oxidación del ión ferroso, altas concentraciones de hierro férrico en solución (relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$: 80:20), inciden en la disminución de la actividad bacteriana, al encontrarse baja concentración de ión ferroso, generándose sólo oxidación por acción férrica y presentando así precipitación de hierro (Meruane 2002).

Para los dos bioensayos que presentan lixiviación, se permite deducir oxidación de pirita. Se obtuvo una mayor lixiviación de hierro a los 14 días de proceso y el bioensayo que mostró mayor biolixiviación de hierro fue E2, mostrando mayor eficiencia en el proceso, como ya se mencionó.

Los controles abióticos no presentaron mayor cambio por lo tanto no se muestran en la **figura 4**.

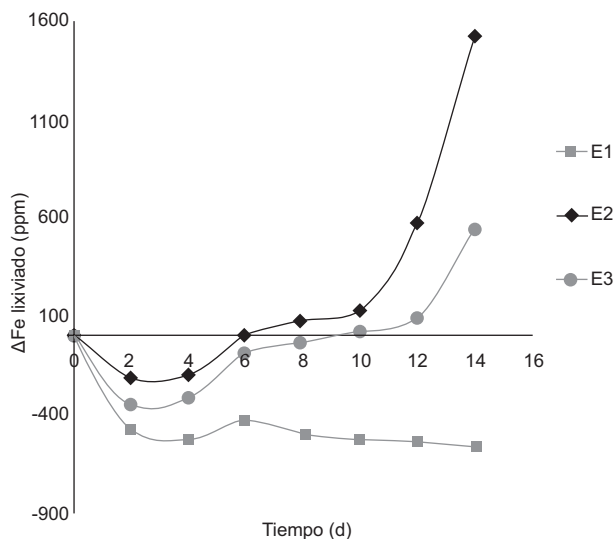


Fig. 4. Comportamiento del hierro lixiviado del carbón en función del tiempo para los diferentes ensayos de experimentación (relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$). E1: 80:20, E2: 50:50, E3: 20:80

La **figura 5** muestra la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, para los tres bioensayos realizados. En el bioensayo E3 puede observarse que la relación férrico/ferroso fue baja, con un valor al final del proceso de 318 mg $\text{Fe}^{3+}/\text{mg Fe}^{2+}$, debida a una concentración baja de iones férricos en solución, a pesar de que la concentración de hierro total aumentase; mientras que en los otros bioensayos, se alcanzaron valores de 537 mg $\text{Fe}^{3+}/\text{mg Fe}^{2+}$ y 419 mg $\text{Fe}^{3+}/\text{mg Fe}^{2+}$ para E2 y E1 res-

pectivamente, debido a que las concentraciones de hierro ferroso arrojaron valores por debajo de 200 ppm a partir de las mediciones realizadas en el día 8 de haber iniciado el proceso y la concentración de hierro total aumentase para E2.

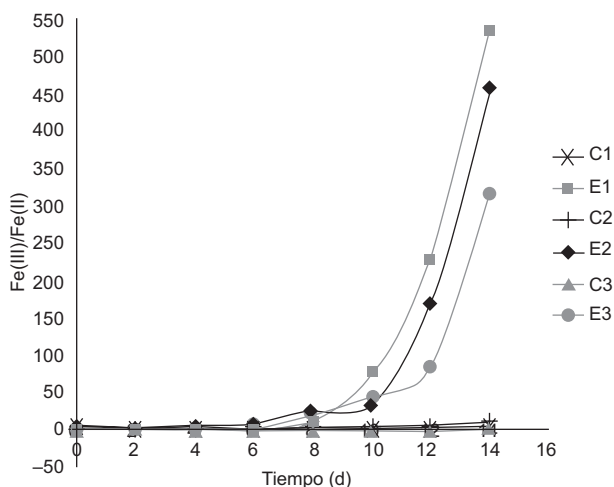


Fig. 5. Relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ en el líquido lixivante en función del tiempo para los diferentes ensayos de experimentación (relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$). E1: 80:20, E2: 50:50, E3: 20:80

En el caso de E1, la relación férrico/ferroso llegó a un valor máximo a los 14 días del proceso (537 mg $\text{Fe}^{3+}/\text{mg Fe}^{2+}$), producto de una disminución considerable en la concentración de hierro ferroso (<100 ppm) y el aumento en la concentración de hierro total. Esto es consistente con los valores altos de Eh para este ensayo (**fig. 2**), que indican mayor cambio en la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$.

Los testigos de cada bioensayo mostraron relaciones férrico/ferroso menores a 3.2, debido a que la concentración de hierro ferroso no disminuyó notoriamente, así como no hubo mayor aumento en el hierro total (**Fig. 5**), lo cual indica que no hay oxidación significativa en ausencia de bacterias.

Se puede observar también que a partir del día 8 la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ empieza a aumentar, como se ve en la **figura 4** donde también es evidente como se eleva la concentración de hierro lixiviado, lo que explica el aumento en esta relación.

Formas de azufre en el carbón después del proceso

Las mediciones de azufre total y las formas de azufre en el carbón original crudo y en los carbones después del proceso de biodesulfurización se muestran en el **cuadro I**.

Para las muestras inoculadas, hay una reducción en el contenido total de azufre importante en la eficiencia del proceso, como se reporta también en

CUADRO I. FORMAS DE AZUFRE PRESENTES EN EL CARBÓN DESPUÉS DE 14 DÍAS DEL PROCESO DE BIODESULFURIZACIÓN. E1: 80% SULFATO FÉRRICO, E2: 50% AMBOS SULFATOS, E3: 20% SULFATO FÉRRICO. S_{py}: AZUFRE PIRÍTICO. Ox. DE py: OXIDACIÓN DE PIRITA

S _{SO4} (%)	0.14	0.23	0.24	0.32	0.32	0.48	0.28
S _{py} (%)	1.06	0.56	0.43	0.63	0.38	0.67	0.28
S _{Org} (%)	1.10	1.10	1.10	1.01	1.10	0.96	1.11
S _{total} (%)	2.34	1.93	1.82	1.96	2.04	2.01	2
Ox. de py (%)	0	47.33	59.2	40.60	64.68	36.72	73.9

estudios realizados sobre procesos de biooxidación de pirita (Bauer 1986, Malik *et al.* 2001, Cara *et al.* 2005, Ackil *et al.* 2007).

Los bioensayos E2 y E3 presentan las mayores tasas de oxidación de azufre pirítico con un 65% y 74% respectivamente. Esta característica está relacionada con la forma de la pirita, ya que es bien sabido que la pirita framboidal (**Fig. 6**) es más susceptible a la oxidación que otras formas, porque la superficie expuesta es mayor (Chaudhuri *et al.* 1992, Tripathy *et al.* 1998).

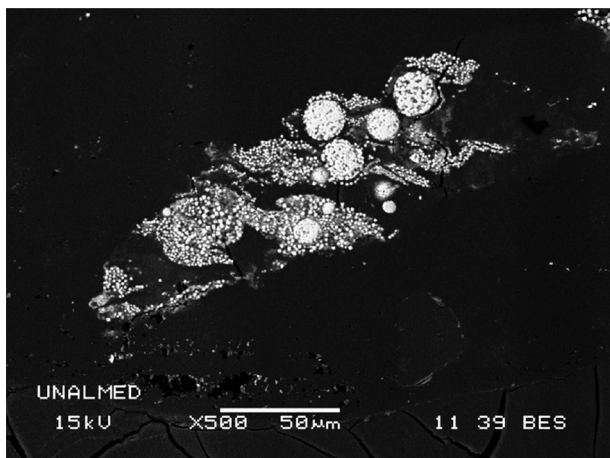


Fig. 6. Pirita en forma framboidal (Caicedo *et al.* 2011)

Puede verse en el **cuadro I** que el contenido de azufre orgánico no presenta cambios significativos para las muestras de carbón en bruto y biodesulfurizadas ya que los microorganismos se enfocan más en el azufre inorgánico. Esto significa que los microorganismos utilizados para el proceso no son capaces de interactuar con la fracción orgánica de los carbones como sí lo hacen cepas de *Rhodococcus rhodochrous* (Acharya *et al.* 2001, Gleisner *et al.* 2006).

Por último, la concentración de sulfatos para los carbones es sustancialmente mayor a la encontrada inicialmente con *A. ferrooxidans*, lo cual se debe principalmente a que se agregó iones de hierro al

medio de cultivo en forma de sulfatos. Así la concentración de sulfatos sería mayor en el medio, ya que las bacterias también lo producen y el carbón adsorbe estos sulfatos (Cardona *et al.* 2009).

CONCLUSIONES

Los ensayos E2 y E3 presentaron mayor eficiencia, ya que tuvieron los mayores porcentajes de biolixiviación de hierro en solución, alcanzando 65% y 74% respectivamente de oxidación de pirita después de 14 días de proceso. Esto quiere decir que la adición de sulfatos férrico y ferroso al medio en proporciones 50-50% y 20-80% respecto a la concentración inicial de hierro total mejora notablemente la oxidación de la pirita. Esto constituye la base principal de este estudio, y confirma que es una buena opción para la hora de implementar un proceso de este tipo.

No se recomienda utilizar en el proceso altas concentraciones de iones férricos, pues estos inciden en la disminución de la actividad bacteriana y disminuye la eficiencia del mismo, como se observó en el ensayo 1.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa Argos S.A y COLCIENCIAS, que financiaron el proyecto. Al Laboratorio de Carbones y al Laboratorio de Biomineralogía de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, donde se llevó a cabo la investigación.

REFERENCIAS

- Acharya C., Kar R. y Sukla L. (2001). Bacterial removal of sulphur from three different coals. *Fuel* 80, 2207-2216.
- Akcil A., Ciftci H. y Deveci H. (2007). Role and contribution of pure and mixed cultures of mesophiles in bioleaching of a pyritic chalcopyrite concentrate. *Mineral. Eng.* 20, 310-318.
- Aller A., Martínez O., de Linaje J., Méndez R. y Morán A. (2001). Biodesulphurization of coal by microorganisms isolated from de coal itself. *Fuel Process. Technol.* 69, 45-57.
- Arroyave D. (2008). Evaluación del proceso de biooxidación a escala de laboratorio del mineral aurífero de la Mina El Zancudo, Titiribí, Antioquia. Tesis de Maestría en Ingeniería. Materiales y procesos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín, Colombia, 90 pp.

- Ballester A. (2005). Mecanismo de la biolixiviación. En: *Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomíneras* (F. Acevedo B. y J.C. Gentina M., Eds). Ediciones Universitarias de Valparaíso pp. 9-24.
- Bauer J. L. (1986). Lixiviación bacteriana: Introducción a la parte microbiológica de la biohidro-metalurgia con sp. de *Thiobacillus*. Revista de la ANBIOP 3, 53-60.
- Bhatnagar A., Dastidar M. y Roychoudhury P. (1998). Integrated technique for pyritic sulphur reduction in Indian (Assam) coal. Energy convers. Mg. 39, 1121-1126.
- Blázquez A. (1993). Coal biodesulphurization, review. Biorecovery 2, 155-177.
- Brock T. y Madigan M. (1998). *Microbiología*. 8a. ed. Prentice Hall Hispanoamérica. México, 320 pp.
- Caicedo G. A. y Márquez M. (2010). Mecanismo de selección de consorcios bacterianos compatibles con *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* en procesos de biodesulfurización de carbón. Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia 52, 88-94.
- Caicedo G. A., Márquez M. y Moreno C. (2011). Influencia de la concentración de hierro y pH iniciales en un proceso de biodesulfurización de carbón – ensayos a nivel de laboratorio. Rev. Colomb. Biotec. 7, 199-209.
- Cara J., Carballo M., Morán A., Bonilla D., Escolano O. y García F. (2005). Biodesulphurization of high sulphur coal by heap leaching. Fuel 84, 1905-1910.
- Cardona I. C. y Márquez M. A. (2009). Biodesulfurization of two Colombian coals with native microorganisms. Fuel Process. Technol. 82, 95-105.
- Chaudhuri S., Ghose S. y Chandra D. (1992). Origin and mode of occurrence of pyrite in Assam coals. Fuel Sci. Techn. 1, 41-46.
- Daoud J. y Karamanev D. (2006). Formation of jarosite during Fe^{2+} oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Mineral. Eng. 19, 960-967.
- Deveci H., Akcil A. y Alp I. (2004). Bioleaching of complex zinc sulphides using mesophilic and thermophilic bacteria: comparative importance of pH and iron. Hydrometallurgy 73, 293-303.
- Eligwe C. (1988). Microbial desulphurization of coal. Fuel 67, 451-458.
- García O., Bigham J. y Tuovinen O. (2007). Oxidation of isochemical FeS_2 (marcasite-pyrite) by *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Mineral. Eng. 20, 98-101.
- Gleisner M., Herbert Jr. R. y Kockum P. (2006). Pyrite oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* at various concentrations of dissolved oxygen. Chem. Geol. 225, 16-29.
- Kelly D. y Wood A. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. Int. J. Syst. Evol. Micr. 50, 511-516.
- Malik A., Dastidar M. y Roychoudhury P. (2001). Biodesulphurization of coal: effect of pulse feeding and leachate recycle. Enzyme Microb. Tech. 28, 49-56.
- Meruane G. (2002). Oxidación bacteriana de sulfato ferroso con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Tesis de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería. Mención Química. Universidad de Chile. Chile, 102 pp.
- Ossa M. y Márquez M. (2005). Biooxidación de sulfuros mediante cepas nativas de acidófilos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, Mina de Oro el Zancudo, Titiribí, Colombia. Rev. Colomb. Biotec. 7, 55-66.
- Prayuenyong P. (2002). Coal biodesulphurization processes. J. Science Tech. 24, 493-507.
- Rawlings D. (2005). Characteristics and adaptability of iron- and sulfur- oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. Microb. Cell Fact. 89, 4-13.
- Rohwerder T., Gehrke T., Kinzler K. y Sand W. (2003). Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 63, 239-248.
- Rossi G. (1993). Biodepyritization of coal: achievements and problems. Fuel 72, 1581-1592.
- Sand W., Gehrke T., Jozsa P. y Schippers, A. (2001). Biochemistry of bacterial leaching - direct vs. indirect bioleaching. Hydrometallurgy 59, 159-175.
- Sand W. y Gehrke T. (2006). Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron (III) ions and acidophilic bacteria. Res. Microbiol. 157, 49-56.
- Silverman M., Rogoff M. y Wender I. (1961). Bacterial oxidation of pyritic materials in coal. Appl. Microbiol. 9, 491-496.
- Tripathy S., Kar R., Mishra S., Twardoska I. y Sukla L. (1998). Effect of chemical pretreatment on bacterial desulfurization of Assam coal. Fuel 77, 859-864.