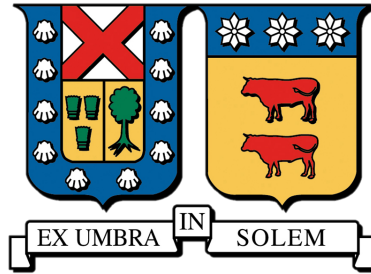


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y DE MATERIALES



MODELACIÓN MATEMÁTICA DE ADHERENCIA DE  
*ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS* A PIRITA EN  
PROCESOS MINEROS

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA  
METALÚRGICA

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL DE MINAS

BRYAN ARTURO ROJAS MATHEUS

PROFESORA GUÍA: FRANCISCA SAN MARTÍN ROBBIANO

PROFESOR CO-GUÍA: CHRISTOPHER COOPER VILLAGRÁN

DICIEMBRE DE 2024

## Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres, Ernesto y Maribel, por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida, por estar presentes en los momentos buenos y malos, por motivarme a seguir adelante con mis estudios, por preocuparse y notar cuando algo no estaba bien. Por todo eso y más, les dedico el término de esta etapa universitaria.

A mi hermana Kaori, gracias por tu compañía, las risas y hasta los enojos que han hecho, y seguirán haciendo, mi vida más entretenida.

A mis abuelas, abuelo, tíos, tías y primos, tanto a los que están en Chile como a los que están a la distancia desde Perú: gracias por todas esas conversaciones y momentos de risas.

Agradezco también a mis profesores, principalmente a Francisca y Christopher, por confiar en mí al asignarme este tema de investigación, por su apoyo constante y por responder todas mis dudas sin importar cuáles fueran. Gracias también a mis profesores Belisario, Jorge y Juan Patricio, por devolverme el gusto por las ciencias y la minería.

A mis amigos, tanto del liceo como los que hice en la universidad, gracias por su apoyo, sus risas y su compañía en tantos momentos de estrés. A mis gymbros y gymsis, que hicieron mucho más entretenidos mis entrenamientos, un reconocimiento especial a Manuel, JP, Diego y Felipe, mis amistades más antiguas de los periodos mencionados. Y, por supuesto, no puedo olvidar a Javiceta, mi amiga del alma y médica de confianza, quien llegó más tarde a mi vida, pero se ha convertido en una persona muy importante. Gracias por todo.

Finalmente, a mi perro Loki, gracias por tu eterna compañía durante la pandemia y los últimos años de carrera. Sin ti, este viaje habría sido mucho más solitario.

## Resumen

Debido a la disminución de yacimientos de óxidos de cobre, el procesamiento de sulfuros de cobre evoluciona a alternativas más sustentables, tales como el uso de bacterias para los procesos de lixiviación y flotación. En los depósitos de sulfuros de cobre es usual encontrar cantidades importantes de pirita ( $\text{FeS}_2$ ), y la adherencia de bacterias a su superficie es importante tanto para lixiviar cobre mediante oxidación de ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) a férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), como para su depresión en el proceso de flotación. El presente trabajo tiene como objetivo general modelar la energía libre que afecta la adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* a la pirita mediante la proteína externa citocromo C Cys2.

Para ello, se desarrollaron herramientas computacionales que permiten calcular energías libres de interacción basadas en la teoría DLVO extendida (XDLVO) y modelos de grano fino para capturar los efectos moleculares y de distribución de cargas en la adherencia bacteriana.

Se estudiaron variables como el pH, la fuerza iónica del medio, la distancia de separación entre la proteína y la pirita, y el grado de oxidación del mineral.

Los resultados muestran que la interacción de van der Waals es siempre favorable, mientras que las interacciones electrostáticas y ácido-base dependen significativamente de las condiciones del medio y la química superficial de las partículas involucradas. A pH neutro-básico y mineral oxidado y a pH ácido y mineral reducido la adherencia es máxima, destacando el potencial de los sistemas bacterianos en flotación y lixiviación de minerales.

# Abstract

Due to the decline in copper oxide deposits, the processing of copper sulfides is evolving towards more sustainable alternatives, such as the use of bacteria in leaching and flotation processes. Copper sulfide deposits commonly contain significant amounts of pyrite ( $\text{FeS}_2$ ), and the adherence of bacteria to its surface is important both for copper leaching through the oxidation of ferrous iron ( $\text{Fe}^{2+}$ ) to ferric iron ( $\text{Fe}^{3+}$ ), and for its depression in the flotation process. The present work aims to model the free energy affecting the adhesion of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to pyrite through the external protein Cytochrome C Cyc2.

To achieve this, computational tools were developed to calculate interaction free energies based on the extended DLVO theory (XDLVO) and fine-grained models to capture molecular effects and charge distribution in bacterial adhesion.

Variables such as pH, ionic strength of the medium, separation distance between the protein and pyrite, and the oxidation degree of the mineral were studied.

The results show that van der Waals interactions are always favorable, while electrostatic and acid-base interactions significantly depend on the medium's conditions and the surface chemistry of the particles involved.

Maximum adhesion occurs at neutral-basic pH with oxidized minerals and acidic pH with reduced minerals, highlighting the potential of bacterial systems in flotation and mineral leaching.

# Índice

|          |                                                                       |           |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>Introducción</b>                                                   | <b>11</b> |
| 1.1      | Objetivo general . . . . .                                            | 12        |
| 1.2      | Objetivos específicos . . . . .                                       | 12        |
| <b>2</b> | <b>Marco Teórico</b>                                                  | <b>13</b> |
| 2.1      | Procesamiento de minerales . . . . .                                  | 13        |
| 2.1.1    | Flotación . . . . .                                                   | 14        |
| 2.1.2    | Problemáticas en flotación . . . . .                                  | 15        |
| 2.1.3    | Lixiviación . . . . .                                                 | 17        |
| 2.1.4    | Problemáticas en lixiviación . . . . .                                | 18        |
| 2.2      | Bioprocesamiento de minerales . . . . .                               | 18        |
| 2.2.1    | <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> . . . . .                       | 19        |
| 2.2.2    | Propiedades de adherencia . . . . .                                   | 20        |
| 2.2.3    | Propiedades acidófilas . . . . .                                      | 21        |
| 2.3      | Modelo de adherencia: Teoría DLVO extendida (XDLVO) . . . . .         | 22        |
| 2.3.1    | Interacciones electrostáticas . . . . .                               | 23        |
| 2.3.2    | Interacciones de Lifshitz-van der Waals . . . . .                     | 25        |
| 2.3.3    | Interacciones ácido-base . . . . .                                    | 26        |
| 2.4      | Estudios de adherencia . . . . .                                      | 28        |
| 2.4.1    | Adherencia experimental . . . . .                                     | 28        |
| 2.4.2    | Adherencia mediante teoría XDLVO . . . . .                            | 32        |
| 2.4.3    | Adherencia mediante modelo de grano fino . . . . .                    | 34        |
| 2.5      | Modelo de solvente implícito . . . . .                                | 36        |
| 2.5.1    | Modelo de Poisson-Boltzmann . . . . .                                 | 37        |
| <b>3</b> | <b>Metodología</b>                                                    | <b>40</b> |
| 3.1      | Interacción electrostática . . . . .                                  | 40        |
| 3.2      | Interacción de van der Waals . . . . .                                | 41        |
| 3.3      | Interacción ácido-base . . . . .                                      | 43        |
| 3.4      | Modelos de proteínas: ModelArchive . . . . .                          | 44        |
| 3.5      | Modelado de campos de fuerza de proteínas: PDB2PQR . . . . .          | 45        |
| 3.6      | Diseño de mallas: NanoShaper y PyGamer . . . . .                      | 46        |
| 3.7      | Solución ecuación de Poisson-Boltzmann: PyGBe . . . . .               | 48        |
| 3.7.1    | Estructura de la información en el archivo de configuración . . . . . | 48        |

|          |                                                                                                                                  |           |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4</b> | <b>Resultados y discusión</b>                                                                                                    | <b>50</b> |
| 4.1      | Carga y potencial del citocromo C Cyc2 a distintos pH . . . . .                                                                  | 50        |
| 4.2      | Energía libre de adherencia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) . . . . .                                    | 52        |
| 4.3      | Energía libre de adherencia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ) . . . . .                                    | 54        |
| 4.4      | Energía libre de adherencia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita . . . . . | 57        |
| 4.5      | Energía libre de adherencia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita . . . . . | 59        |
| 4.6      | Electrostática local . . . . .                                                                                                   | 61        |
| <b>5</b> | <b>Conclusiones</b>                                                                                                              | <b>64</b> |
| <b>6</b> | <b>Trabajo futuro</b>                                                                                                            | <b>65</b> |
| <b>7</b> | <b>Bibliografía</b>                                                                                                              | <b>66</b> |
| <b>8</b> | <b>Anexos</b>                                                                                                                    | <b>71</b> |

# Índice de figuras

|    |                                                                                                                                                                                 |    |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | Secuencia típica de minerales en los yacimientos de cobre (Sillitoe, 2010). . . . .                                                                                             | 13 |
| 2  | Proceso de flotación de minerales (Wills y Finch, 2016). . . . .                                                                                                                | 14 |
| 3  | Consumo de cal en función del pH para flotación con agua dulce y agua de mar (Castro, 2012). . . . .                                                                            | 16 |
| 4  | Recuperación de Molibdeno en función del pH para flotación con agua dulce y agua de mar (Castro, 2012). . . . .                                                                 | 17 |
| 5  | Proceso de lixiviación en pilas. . . . .                                                                                                                                        | 18 |
| 6  | Sistema de oxidación de <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> (Jiang et al., 2021). . . . .                                                                                     | 20 |
| 7  | Interacción de adherencia de <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> y pirita (Jerez, 2009). . .                                                                                  | 20 |
| 8  | Cadena de transporte de electrones de <i>A. ferrooxidans</i> (Jiang et al., 2021). . . . .                                                                                      | 21 |
| 9  | Distribución de cargas en el modelo de la doble capa eléctrica (de Vargas, 2004). . .                                                                                           | 24 |
| 10 | Interacciones de Van der Waals: a) Keesom, b) Debye y c) London. . . . .                                                                                                        | 25 |
| 11 | Reemplazo de iones metálicos por iones de hidrógeno en un sistema de dos superficies de mica (Pashley, 1981). . . . .                                                           | 28 |
| 12 | Resultados de cinética de adherencia de <i>A. ferrooxidans</i> a pirita y resultados de potencial de flujo en agua de mar a distintos pH (San Martín et al., 2020). . . . .     | 29 |
| 13 | Resultados de cinética de adherencia de <i>A. ferrooxidans</i> a pirita en agua fresca y salada a pH 4 (San Martín y Aguilar, 2019). . . . .                                    | 30 |
| 14 | Potencial de flujo de <i>A. ferrooxidans</i> y pirita en agua fresca (izquierda) y salada (derecha) a distintos pH (San Martín y Aguilar, 2019). . . . .                        | 30 |
| 15 | Resultados de cinética de adherencia de <i>A. ferrooxidans</i> a pirita en agua dulce a distintos pH y concentración de bacterias de $10^8$ bacterias/mL (González, 2023). . .  | 31 |
| 16 | Resultados de cinética de adherencia de <i>A. ferrooxidans</i> a pirita en agua de mar a distintos pH y concentración de bacterias de $10^8$ bacterias/mL (González, 2023). . . | 31 |
| 17 | Resultados de potencial Zeta para pirita, calcopirita y <i>A. ferrooxidans</i> (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009). . . . .                                                       | 32 |
| 18 | Interacción total de adherencia de <i>A. ferrooxidans</i> a pirita bajo distintas fuerzas iónicas (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009). . . . .                                    | 33 |
| 19 | Interacción total de adherencia de <i>A. ferrooxidans</i> a pirita bajo distintos pH (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009). . . . .                                                 | 34 |
| 20 | Modelado de la proteína Cyc2 (Jiang et al., 2021). . . . .                                                                                                                      | 35 |
| 21 | Resultados de potencial electrostático en la proteína Cyc 2: A) Vista lateral, B) Vista superior y C) Vista Inferior (Jiang et al., 2021). . . . .                              | 35 |

|    |                                                                                                                                                                                      |    |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 22 | Representación de los tipos de superficie en el modelo de solvente implícito (Cooper, 2015). . . . .                                                                                 | 37 |
| 23 | Representación del modelo de Poisson-Boltzmann (Cooper, 2015). . . . .                                                                                                               | 38 |
| 24 | Representación del modelo de Poisson-Boltzmann para el sistema proteína-mineral .                                                                                                    | 40 |
| 25 | Representación del modelo discretizado de van der Waals. . . . .                                                                                                                     | 42 |
| 26 | Efectos de la reactividad de pirita sobre su potencial Zeta. . . . .                                                                                                                 | 43 |
| 27 | Visualización de archivo de citocromo C Cyc2 almacenado en ModelArchive. . . . .                                                                                                     | 45 |
| 28 | Visualización de archivo PQR de citocromo C Cyc2. . . . .                                                                                                                            | 46 |
| 29 | Visualización de mallado generado por NanoShaper. . . . .                                                                                                                            | 47 |
| 30 | Modelado de superficie de proteína a 2 Å de distancia de la superficie de pirita. . . . .                                                                                            | 47 |
| 31 | Archivo de configuración de PyGBe. . . . .                                                                                                                                           | 48 |
| 32 | Vista frontal (izquierda) y vista lateral (derecha) de la distribución de potencial electrostático generado por el estado de protonación de la proteína aislada a pH ácido.          | 51 |
| 33 | Vista frontal (izquierda) y vista lateral (derecha) de la distribución de potencial electrostático generado por el estado de protonación de la proteína aislada a pH básico. . . . . | 51 |
| 34 | Energía vs distancia a pH ácido y baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .                                                                                     | 52 |
| 35 | Energía vs distancia a pH básico y baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .                                                                                    | 53 |
| 36 | Energía total vs distancia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .                                                                                          | 53 |
| 37 | Energía vs distancia a pH ácido y alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .                                                                                     | 55 |
| 38 | Energía vs distancia a pH básico y alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .                                                                                    | 55 |
| 39 | Energía total vs distancia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .                                                                                          | 56 |
| 40 | Energía vs distancia a pH ácido, baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita. . . . .                                                   | 57 |
| 41 | Energía vs distancia a pH básico, baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita. . . . .                                                  | 58 |
| 42 | Energía total vs distancia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita. . . . .                                                       | 58 |
| 43 | Energía vs distancia a pH ácido, alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita. . . . .                                                   | 60 |
| 44 | Energía total vs distancia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita. . . . .                                                       | 60 |
| 45 | Energía vs distancia a pH básico, alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita. . . . .                                                  | 61 |
| 46 | Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del mejor caso de potencial electrostático del Citocromo C Cyc2 a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .       | 62 |

|    |                                                                                                                                                                               |    |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 47 | Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del peor caso de potencial electrostático de Citocromo C Cyc2 a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .  | 62 |
| 48 | Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del mejor caso de potencial electrostático de Citocromo C Cyc2 a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . . | 62 |
| 49 | Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del peor caso de potencial electrostático de Citocromo C Cyc2 a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ). . . . .  | 63 |
| 50 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 71 |
| 51 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,225 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 71 |
| 52 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,325 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 72 |
| 53 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,425 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 72 |
| 54 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,525 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 73 |
| 55 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,625 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 73 |
| 56 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,725 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 74 |
| 57 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,825 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 74 |
| 58 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 0,925 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 75 |
| 59 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 1,025 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 75 |
| 60 | Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ . . . . .                               | 76 |

## Índice de cuadros

|   |                                                                                                      |    |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Constantes de Hamaker y energía libre de adhesión ácido-base para sistemas mineral-bacteria. . . . . | 33 |
| 2 | Constante de Hamaker para el sistema mineral-proteína. . . . .                                       | 43 |
| 3 | Propiedades y parámetros utilizados en el estudio. . . . .                                           | 49 |
| 4 | Cantidad de átomos y carga en función del pH. . . . .                                                | 50 |

# 1. Introducción

El procesamiento de minerales es una actividad esencial para la extracción de metales de interés, siendo el cobre uno de los más relevantes para Chile. Sin embargo, los métodos tradicionales como la flotación y la lixiviación enfrentan desafíos significativos, como el uso intensivo de agua, la disminución de leyes minerales y la necesidad de mayor selectividad en ambientes complejos, como el uso de agua de mar en flotación.

En este contexto, los bioprocesos, como la biooxidación y la biodepresión mediadas por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, han surgido como alternativas prometedoras. Esta bacteria es conocida por su capacidad de adherirse a minerales como la pirita, facilitando su oxidación y depresión selectiva en procesos mineros.

Uno de los factores determinantes para la eficiencia de estos bioprocesos es la adherencia de *A. ferrooxidans* a las superficies minerales, un fenómeno que depende de múltiples variables físico-químicas y biológicas. La teoría DLVO extendida (XDLVO) proporciona un marco teórico para describir estas interacciones, incorporando fuerzas electrostáticas, de van der Waals y ácido-base. Además, los avances en modelado molecular permiten estudiar con mayor detalle las propiedades específicas de las proteínas involucradas en la interacción bacteriana, como el citocromo C Cys2.

Este trabajo propone un enfoque combinado que integra modelos teóricos y simulaciones computacionales para caracterizar la adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita, evaluando el efecto de variables clave como pH, fuerza iónica y estado de oxidación del mineral. Se espera que los resultados obtenidos contribuyan al diseño de estrategias más eficientes y sostenibles en el ámbito del bioprocesamiento de minerales.

## 1.1. Objetivo general

Estudiar el efecto del pH, distancia, fuerza iónica y grado de oxidación de la pirita en la adherencia de la proteína externa citocromo C C<sub>yc2</sub>.

## 1.2. Objetivos específicos

- Modelar la energía libre que afecta a la adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* a pirita mediante la proteína externa citocromo C C<sub>yc2</sub>.
- Elaborar código que permita calcular las energías libres para la adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* a pirita.
- Optimizar las variables para obtener la mayor adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* a pirita en bioprocesos mineros usando el modelo propuesto.

## 2. Marco Teórico

### 2.1. Procesamiento de minerales

En los yacimientos de cobre se distinguen normalmente cuatro zonas, desde la superficie hacia la profundidad: estériles, minerales oxidados, sulfuros secundarios y sulfuros primarios (Sillitoe, 2010). Estas zonas están ilustradas en la Figura 1.

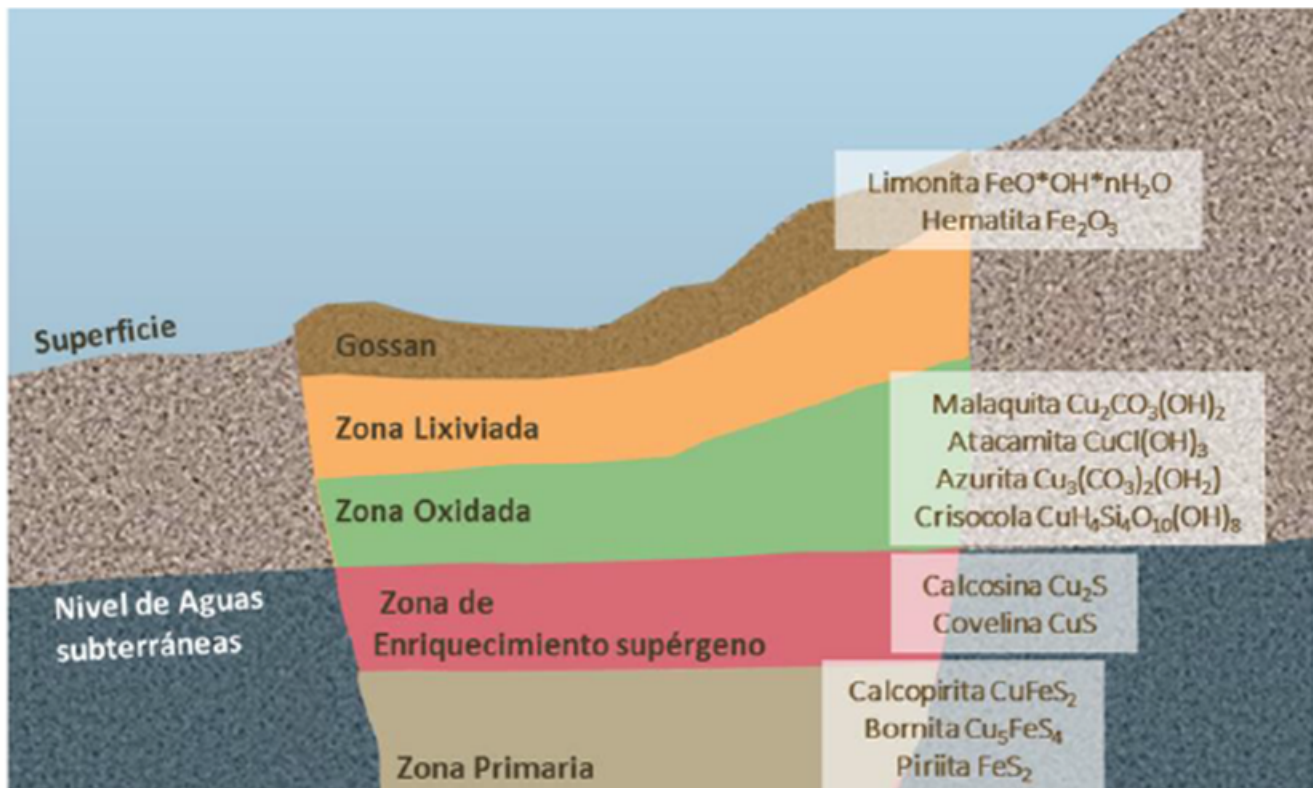


Figura 1: Secuencia típica de minerales en los yacimientos de cobre (Sillitoe, 2010).

Según la mineralogía se selecciona el proceso para extraer el cobre, es así como en Chile se identifican dos líneas de producción de cobre de acuerdo con el mineral procesado. Primero, el procesamiento de minerales sulfurados primarios sigue una línea de producción mediante flotación. Segundo, el procesamiento de minerales oxidados sigue una línea de producción mediante lixiviación. Por último, el procesamiento de minerales de la zona de transición entre estas mineralogías, corresponde a sulfuros secundarios o de baja ley, puede seguir líneas de producción bajo cualquiera de los dos procesos (Cochilco, 2023).

### 2.1.1. Flotación

La flotación se define como un proceso fisicoquímico de tensión superficial que separa minerales valiosos de los no valiosos.

Durante este proceso, el mineral molido se adhiere superficialmente a burbujas de aire previamente insufladas, lo que determina la separación del mineral de interés.

La adhesión del mineral a estas burbujas de aire dependerá de las propiedades hidrofílicas (afinidad con el agua) e hidrofóbicas (repulsión con el agua) de cada especie mineral.

Este proceso se lleva a cabo en celdas de flotación hasta dónde llega la pulpa proveniente de la molienda. Esta pulpa es agitada y aireada mecánicamente para llevar a cabo la flotación.

Las partículas hidrofóbicas (minerales valiosos) se adhieren a las burbujas y son conducidas a la superficie donde se forma una espuma que luego es removida constituyendo el concentrado. Las partículas hidrofílicas permanecen en la pulpa constituyendo el relave. Este proceso está ilustrado en la Figura 2 (Wang y Scanlon, 1983; Wills y Finch, 2016).

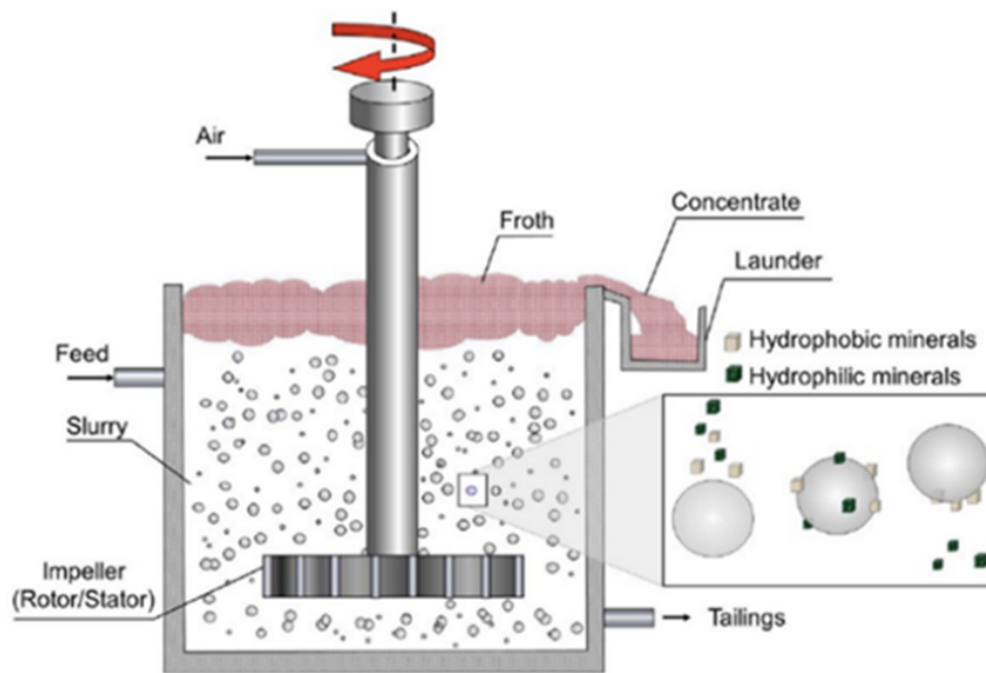


Figura 2: Proceso de flotación de minerales (Wills y Finch, 2016).

Para llevar a cabo el proceso de flotación, es necesario añadir ciertos reactivos que permitan que el proceso sea selectivo. Estos reactivos (colectores, agentes espumantes, activadores y depresores) se describen a continuación.

- Colectores: Favorecen la condición hidrofóbica y aerofílica de las partículas de sulfuros de los

metales que se quiere recuperar, separándolas del agua y adhiriéndolas a las burbujas de aire. Deben utilizarse seleccionando el mineral de interés para impedir la recuperación de otros minerales. En la flotación de minerales de sulfuros, los colectores más importantes son los xantatos, siendo los más utilizados los xantato de etilo, isopropilo, isobutilo, amilo y hexilo (Bulatovic et al., 1998). Los xantatos son selectivos para minerales sulfurados ya que forman precipitados insolubles con metales básicos como Cu y Fe, pero no con elementos como Si, Ca y Mg (Chaudhari y Tare, 1996), reduciendo la oxidación de estos minerales (Valdivieso et al., 2005).

- Espumantes: Alteran la tensión superficial de líquidos. Su estructura les permite agruparse hasta formar otra fase distinta del resto del fluido, formando una espuma que separa el mineral valioso de la ganga. Su objetivo es producir burbujas resistentes, de modo que se adhiera el mineral de interés (Wills y Finch, 2016).
- Activadores: Alteran la naturaleza química de la superficie de los minerales para que puedan reaccionar con el colector. Los activadores son generalmente sales solubles que se ionizan en solución y luego son los iones los que reaccionan con la superficie mineral (Wills y Finch, 2016).
- Depresores: Se utilizan para provocar el efecto inverso al de los reactivos colectores, esto es, para evitar la recolección de otras especies minerales no deseadas en el producto que se quiere concentrar y que no son sulfuros (Wills y Finch, 2016). En la flotación de minerales de sulfuro de cobre, la cal es el depresor más comúnmente utilizado para deprimir la pirita y la arsenopirita. La pirita se deprime con cal debido a la reacción del grupo hidroxilo y los iones de calcio con la superficie del mineral. La formación de hidróxidos de hierro y compuestos de calcio en la superficie de pirita reduce la adsorción de xantato, haciendo que el mineral no sea flotable (la cal no tiene ese efecto en los sulfuros de cobre). Además, la cal aumenta el pH, lo que dificulta la adsorción del colector. La depresión ocurre en diferentes valores de pH para cada sulfuro, lo que proporciona una ventana de pH que permite la flotación selectiva (Napier-Munn y Wills, 2006; Wills y Finch, 2016).

### 2.1.2. Problemáticas en flotación

- Alto consumo de cal en agua de mar: El consumo de agua de mar en flotación impulsado por la escasez de agua dulce en regiones mineras, ha generado desafíos significativos debido a sus propiedades químicas. El agua de mar contiene sistemas tampón naturales, principalmente carbonatos/bicarbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$ ) y boratos ( $\text{B(OH)}_3/\text{B(OH)}_4^-$ ), que estabilizan su pH natural entre 7,8 y 8,2. Este efecto buffer dificulta el ajuste al rango óptimo de flotación

(pH 10-12). Para superar esta resistencia al cambio de pH, se requieren dosis de cal significativamente más altas que en el caso del agua dulce. En muchos casos, el uso de agua de mar puede aumentar el consumo de cal hasta diez veces. Esto se puede observar en la Figura 3 (Castro, 2012).

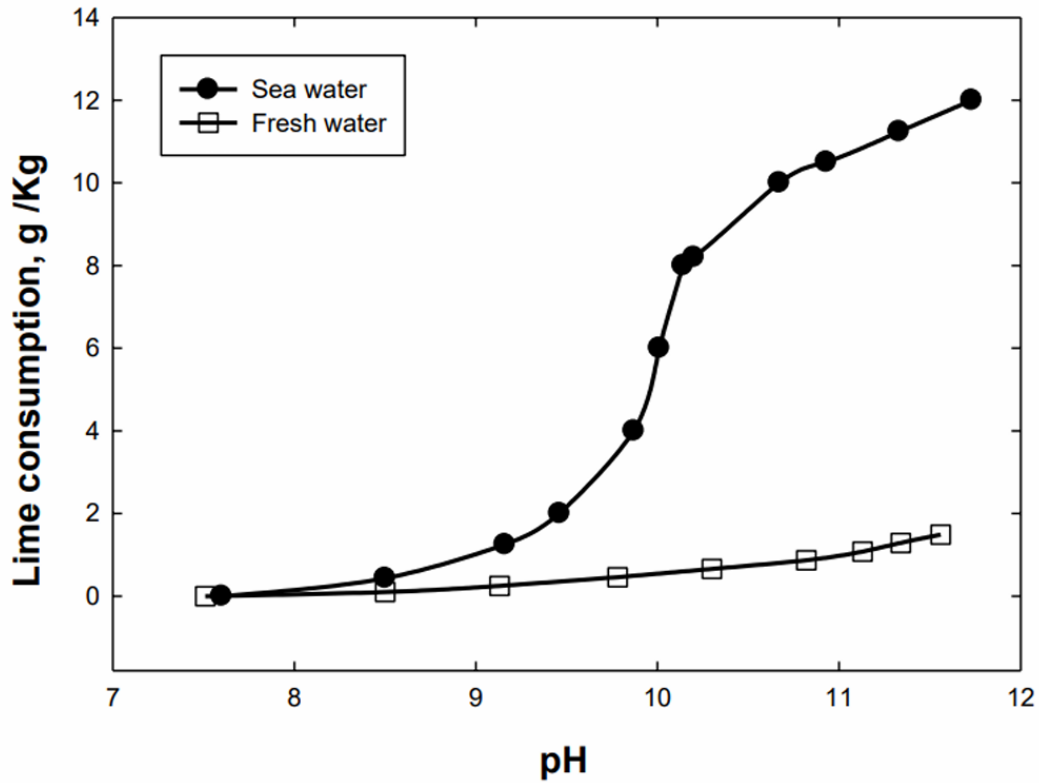


Figura 3: Consumo de cal en función del pH para flotación con agua dulce y agua de mar (Castro, 2012).

- Depresión de Molibdeno en agua de mar: A pH superiores a 9,5, la flotabilidad de la molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ) disminuye significativamente en agua de mar. Esto ocurre debido a la interacción de iones secundarios, como calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), que forman precipitados coloidales en la superficie del mineral, inhibiendo su capacidad de adherirse a las burbujas de aire. Esto se puede observar en la Figura 4 (Castro, 2012).

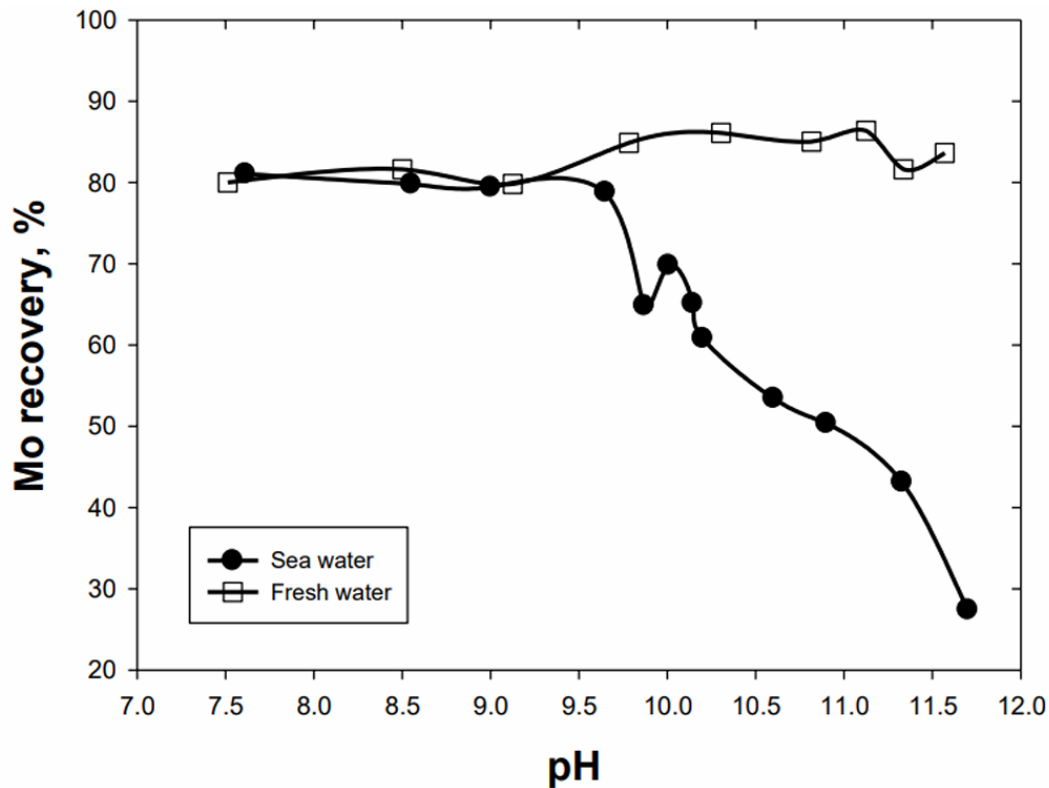


Figura 4: Recuperación de Molibdeno en función del pH para flotación con agua dulce y agua de mar (Castro, 2012).

### 2.1.3. Lixiviación

La lixiviación de cobre es un proceso fisicoquímico utilizado para extraer este metal desde minerales mediante su disolución en una solución química.

Durante este proceso, el mineral previamente triturado y apilado, entra en contacto con una solución lixivante, generalmente compuesta por ácido sulfúrico diluido, que actúa como agente químico para disolver el cobre.

La eficiencia de la lixiviación depende de varios factores, como la mineralogía, la granulometría, el pH, el potencial redox, la temperatura y la concentración de la solución lixivante. Además, la distribución de la solución en la pila se realiza mediante sistemas de riego por goteo o aspersión, asegurando un contacto uniforme con el mineral apilado.

Este proceso se lleva a cabo principalmente en pilas de lixiviación, donde la solución lixivante percola a través de la pila, disolviendo el cobre y formando una solución conocida como PLS, esta solución es recolectada en sistemas de drenaje y enviada a etapas posteriores de procesamiento.

El cobre disuelto en el PLS es recuperado mediante procesos como la extracción por solventes y la electroobtención (SX-EW), donde se obtiene cobre metálico de alta pureza. Los residuos

sólidos, denominados ripios, se manejan adecuadamente para minimizar su impacto ambiental. Este proceso está ilustrado en la Figura 5 (Codelco, 2018).

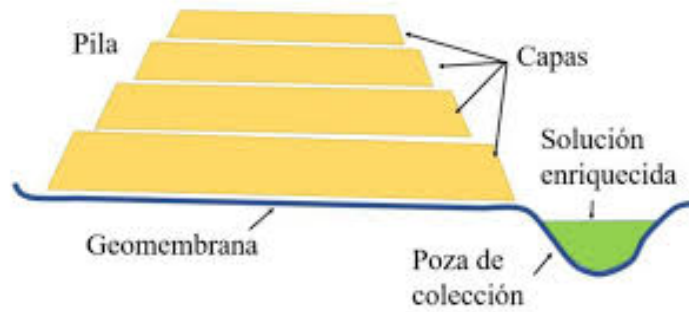


Figura 5: Proceso de lixiviación en pilas.

#### 2.1.4. Problemáticas en lixiviación

- Agotamiento de recursos: Los minerales oxidados y secundarios, están agotándose en las principales operaciones mineras. Esto ha reducido significativamente la producción de cátodos mediante procesos SX/EW, pasando de representar el 40 % de la producción en 2009 a apenas un 24 % en 2022, y se proyecta que caerá al 6.3 % en 2034.
- Minerales refractarios: Los sulfuros primarios tienden a formar capas pasivantes de compuestos de azufre, que inhiben su lixiviación al bloquear el acceso de las soluciones lixiviantes a la superficie activa del mineral. A pesar de décadas de investigación, no se ha logrado desarrollar un proceso hidrometalúrgico competitivo para tratar sulfuros primarios a escala industrial.
- Impactos económicos: La lixiviación de sulfuros requiere reactivos químicos especializados, como soluciones cloruradas o agentes oxidantes, lo que incrementa los costos operativos (Cochilco, 2023).

## 2.2. Bioprocesamiento de minerales

El bioprocesamiento de minerales consiste en un conjunto de reacciones químicas mediante las cuales microorganismos disuelven u oxidan los minerales al obtener energía de sustancias inorgánicas, liberando metales como el cobre de forma más eficiente que los métodos convencionales (Rossi, 1990). Este proceso, aplicado a minerales como los sulfuros metálicos, se basa fundamentalmente en su oxidación mediante un ataque químico mediado por iones  $\text{Fe}^{3+}$ .

Los procesos están directamente relacionados con los microorganismos presentes en el ambiente, ya que estos poseen la capacidad de regenerar tanto los iones  $\text{Fe}^{3+}$  como el  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . En este contexto, el contacto directo o indirecto de los microorganismos con el mineral y la vía de reacción (ataque químico) que ocurre durante el ataque químico de los sulfuros metálicos son factores determinantes en la eficiencia del proceso.

La disolución de los sulfuros metálicos debido a la actividad microbiana puede ocurrir a través de dos mecanismos: “por contacto” y “sin contacto”. En la vía sin contacto, los microorganismos oxidan iones  $\text{Fe}^{2+}$  y reducen compuestos de azufre, como el tiosulfato, presentes en el medio. Esto genera iones  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , que luego atacan químicamente a los sulfuros metálicos del mineral (Sand y Gehrke, 2006).

Por otro lado, en la vía por contacto, los microorganismos se adhieren a la superficie del mineral mediante interacciones electrostáticas. Esta adhesión ocurre entre las células, cargadas positivamente por la presencia de sustancias poliméricas extracelulares que contienen iones  $\text{Fe}^{3+}$ , y el mineral, que presenta una carga negativa. En este mecanismo, los iones  $\text{Fe}^{3+}$  desempeñan dos funciones principales: primero, facilitar la adherencia de las células a la superficie mineral, y segundo, promover la disolución oxidativa de los sulfuros metálicos (Sand et al., 2001; Rawlings, 2002; Rohwerder et al., 2003). Este mecanismo es más eficiente que el sin contacto, debido a la proximidad entre las células y el mineral.

### 2.2.1. *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Es una bacteria acidófila que puede tolerar condiciones extremas de acidez, con un rango de pH óptimo entre 1.5 y 2.5. Su adaptación a estos ambientes ácidos se atribuye a mecanismos de protección y regulación del pH interno, como la producción de proteínas y la regulación de bombas de protones. Esta habilidad de *Acidithiobacillus ferrooxidans* para sobrevivir y crecer en ambientes ácidos permite la oxidación de los compuestos sulfurosos presentes en los minerales (Donati et al., 2007).

También se ha demostrado que esta bacteria puede depresar selectivamente la pirita en flotación y se sugiere que la biodepresión puede ser posible incluso en condiciones tóxicas, por ejemplo, a una alta concentración de NaCl y pH en torno a 8, como en el agua de mar (San Martín et al., 2018).

*Acidithiobacillus ferrooxidans* es capaz de oxidar compuestos sulfurosos, como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), a través de la acción de enzimas específicas. Durante este proceso representado en la Figura 6, la bacteria libera iones férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

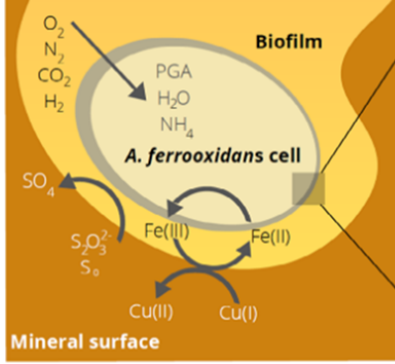


Figura 6: Sistema de oxidación de *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Jiang et al., 2021).

### 2.2.2. Propiedades de adherencia

Además de su capacidad para oxidar minerales sulfurados, *Acidithiobacillus ferrooxidans* se caracteriza por su habilidad para adherirse a las superficies de los minerales, poseen un quimio-sensor que les permite detectar gradientes de sustratos oxidables que se extraen de los minerales, tales como: iones  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  y tiosulfatos. Luego de esta primera adherencia se generan sustancias poliméricas extracelulares (EPS), estos EPS son productos metabólicos de las bacterias que rodean la célula e influyen en sus propiedades superficiales y promueven la adherencia de más bacterias. Este proceso se puede ver en la Figura 7 (Jerez, 2009).

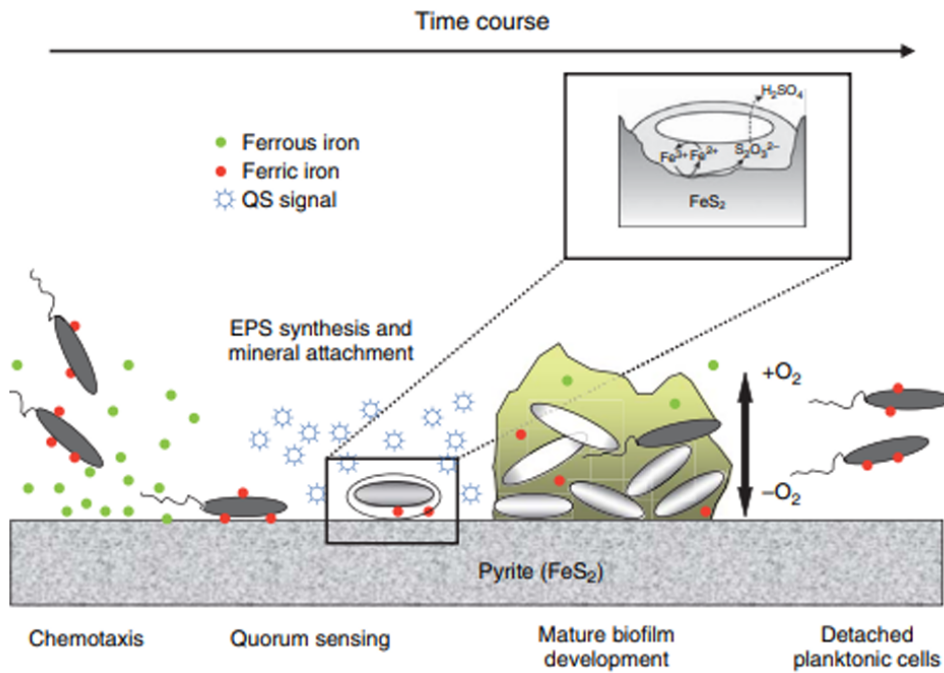


Figura 7: Interacción de adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y pirita (Jerez, 2009).

### 2.2.3. Propiedades acidófilas

Los microorganismos que oxidan compuestos de hierro y azufre necesitan un pH ácido para llevar a cabo el ciclo del hierro y para la biosíntesis a partir del  $\text{CO}_2$ . A pH neutro o básico, el  $\text{Fe}^{2+}$  se oxida espontáneamente a  $\text{Fe}^{3+}$  y eventualmente forma complejos insolubles. En ese caso, el  $\text{Fe}^{2+}$  no está disponible para las reacciones de biooxidación. A pH ácido, el  $\text{Fe}^{2+}$  se oxida de manera controlada por la acción catalítica de los microorganismos, lo que permite el desarrollo del ciclo del hierro. En el ciclo del hierro, el mineral es oxidado por  $\text{Fe}^{3+}$ , que se reduce a  $\text{Fe}^{2+}$  y luego se oxida nuevamente por los microorganismos. Por lo tanto, es importante mantener los iones  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$  disponibles en solución para que las bacterias puedan llevar a cabo su metabolismo. El aceptor final de electrones es el  $\text{O}_2$ , sin embargo, cuando la concentración de  $\text{O}_2$  disminuye, el  $\text{Fe}^{3+}$  actúa como aceptor alternativo de electrones y el azufre actúa como donador de electrones. Así, el  $\text{Fe}^{2+}$  sirve como donador de electrones en condiciones aeróbicas y el  $\text{Fe}^{3+}$  como aceptor de electrones alternativo energéticamente favorable si la concentración de oxígeno disminuye (Rawlings, 2005).

La Figura 8 muestra un modelo de la cadena de transporte de electrones de oxidación de hierro de *A. ferrooxidans*.

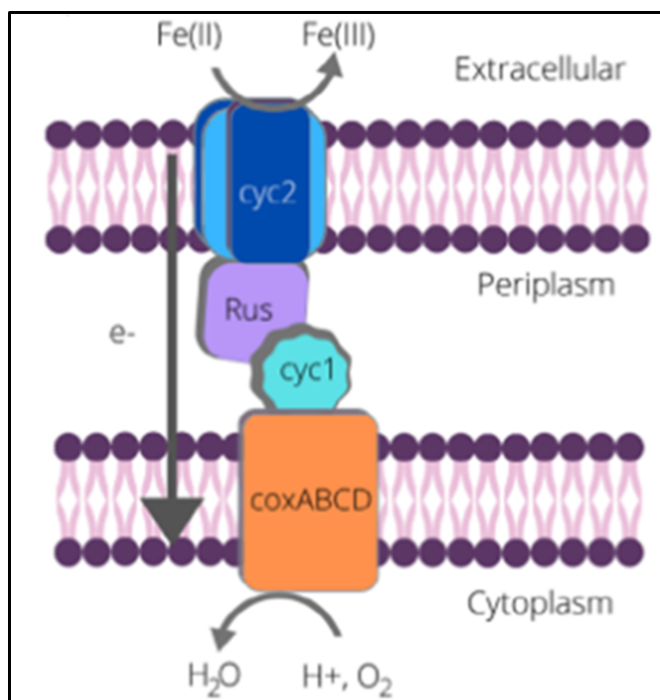


Figura 8: Cadena de transporte de electrones de *A. ferrooxidans* (Jiang et al., 2021).

Los electrones se transfieren desde el  $\text{Fe}^{2+}$  hacia el citocromo C *Cyc2* ubicado en la membrana externa y luego a la rusticianina. Después de eso, los electrones se transfieren a lo largo de una de las dos rutas: la ruta cuesta abajo (para la generación de ATP) o la ruta cuesta arriba (para la

biosíntesis). La rusticianina sirve como un tampón redox que asegura que el aceptor de electrones del citocromo C Cys2 en la membrana externa permanezca en un estado completamente oxidado, listo para recibir electrones del  $\text{Fe}^{2+}$ , incluso en presencia de fluctuaciones de oxígeno a corto plazo (Rawlings, 2005; Quatrini et al., 2009).

### 2.3. Modelo de adherencia: Teoría DLVO extendida (XDLVO)

Dadas sus dimensiones, las células bacterianas en solución pueden describirse como partículas coloidales (generalmente en un rango de tamaños de 1 nm a 1  $\mu\text{m}$ ), y por lo tanto, el proceso de adhesión microbiana puede explicarse mediante la teoría de estabilidad coloidal de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) (Derjaguin, 1934; Verwey y Overbeek, 1948).

La teoría DLVO estima las fuerzas de interacción entre dos superficies como la suma de las fuerzas de Lifshitz-van der Waals (LW) y las interacciones electrostáticas de doble capa entre ellas. Las fuerzas LW, siempre están presentes y no son muy sensibles a la fuerza iónica de la solución. El parámetro más importante que determina la interacción LW es la constante de Hamaker, que es una propiedad del material y cuyo valor en muchos casos es bastante incierto (Norde, 2003). Para superficies bacterianas, a menudo se estima a partir de mediciones del ángulo de contacto en biopelículas bacterianas (Abu-Lail y Camesano, 2006).

Las fuerzas electrostáticas, son muy sensibles a la fuerza iónica y la composición de la solución líquida en la que se realizan las mediciones. El cálculo de estas interacciones requiere conocer el potencial superficial electrostático de las superficies interaccionantes, que normalmente se aproxima mediante el potencial zeta.

La teoría DLVO asume que las superficies interaccionantes son perfectamente lisas, sin asperezas ni estructuras superficiales (Takano et al., 1999). Sin embargo, los organismos vivos, como las células microbianas, pueden formar estructuras extracelulares específicas, y sus paredes celulares son más complejas desde el punto de vista estructural y químico en comparación con las superficies de partículas coloidales sintéticas (Dufrêne, 2000).

Dado que la teoría DLVO ha tenido un éxito limitado en la descripción de sistemas biológicos (Van Oss, 1993), se han considerado otras fuerzas, como las interacciones ácido-base para explicar las discrepancias entre las mediciones experimentales y la teoría (Van Loosdrecht y Zehnder, 1990; Meinders et al., 1995).

Van Oss et al. (1987) extendieron el modelo DLVO para incluir interacciones ácido-base, que determinan la hidrofobicidad (o hidrofiliidad) de las superficies involucradas (Van Oss, 1993). Este enfoque, conocido generalmente como el modelo DLVO extendido (XDLVO), ha tenido éxito en predecir las interacciones entre entidades coloidales mayoritariamente no cargadas en medios acuosos. Las interacciones ácido-base pueden ser atractivas o repulsivas (Meinders et al., 1995). Sin embargo, en muchos casos, el modelo XDLVO extendido no pudo describir la adhesión bacteriana

(Abu-Lail et al., 2007). Las discrepancias entre los resultados de los experimentos de adhesión y las interacciones XDLVO calculadas se han atribuido a interacciones entre polímeros superficiales bacterianos y superficies sólidas, que interfieren con las interacciones XDLVO extendidas (Jucker et al., 1998).

La definición matemática del modelo XDLVO contempla la suma de la energía libre de las interacciones mencionadas.

1. Interacciones electrostáticas ( $\Delta G^{EL}$ ).
2. Interacciones de Lifshitz-van der Waals ( $\Delta G^{LW}$ ).
3. Interacciones ácido-base ( $\Delta G^{AB}$ ).

$$\Delta G^{XDLVO} = \Delta G^{EL} + \Delta G^{LW} + \Delta G^{AB} \quad (1)$$

Donde la adherencia se ve favorecida a energía libre total negativa.

### 2.3.1. Interacciones electrostáticas

En sistemas acuosos, las cargas desempeñan un papel crucial, ya que influyen en la adhesión entre las partículas coloidales. Las partículas con cargas opuestas tienden a atraerse entre sí, mientras que las partículas con la misma carga tienden a separarse.

El sistema que permite comprender cómo se distribuyen las carga de los coloides en un líquido es la doble capa eléctrica. Cuando la partícula presenta cierta carga, afecta la distribución de los iones cercanos, generando una capa de iones de carga contraria alrededor de la partícula coloidal conocida como capa de Stern. Además, se forma una segunda capa que rodea a la capa Stern, constituida por iones débilmente atraídos hacia la partícula, la cual se denomina capa difusa. Ambas capas conforman la doble capa eléctrica.

Este modelo incluye tres potenciales relevantes, los cuales se pueden ver en la Figura 9 (de Vargas, 2004):

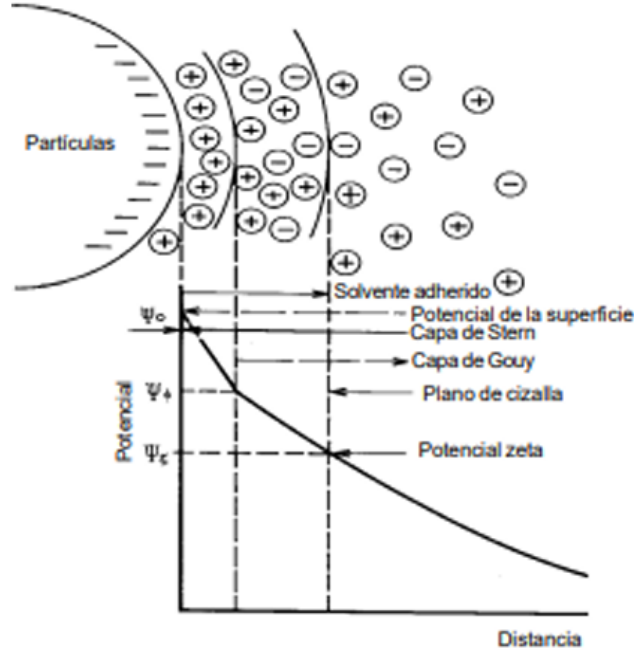


Figura 9: Distribución de cargas en el modelo de la doble capa eléctrica (de Vargas, 2004).

- Potencial de superficie: Corresponde al potencial que se encuentra entre la partícula coloidal y la capa Stern.
- Potencial Stern: Es el potencial ubicado entre la capa Stern y la capa difusa.
- Potencial Zeta: Se encuentra en el plano de cizallamiento de la capa difusa.

De estos, el único potencial que se puede medir directamente es el potencial zeta. Es importante mencionar que el pH del medio influye en su valor. El pH al que el potencial zeta es igual a cero se denomina punto isoelectrico.

Cuando dos superficies cargadas se acercan entre sí en una solución electrolítica, sus dobles capas difusas se solapan, dando lugar a la interacción electrostática. Suponiendo un potencial superficial constante en los sustratos, se utiliza la conocida expresión de Hogg, Healy y Fuerstenau (Hogg et al., 1965) para ajustar los datos de la energía libre electrostática en geometrías simples:

- Caso de esfera de radio  $a$  separada a una distancia  $d$  de un plano semi-infinito:

$$\Delta G^{EL}(d) = \pi \epsilon a (\zeta_1^2 + \zeta_2^2) \left[ \frac{2\zeta_1\zeta_2}{\zeta_1^2 + \zeta_2^2} \ln \left( \frac{1 + \exp(-\kappa d)}{1 - \exp(-\kappa d)} \right) + \ln \{1 - \exp(-2\kappa d)\} \right] \quad (2)$$

- Caso de dos esferas de radio  $a_1$  y radio  $a_2$  separadas a una distancia  $d$ :

$$\Delta G^{EL}(d) = \frac{\pi \epsilon a_2 (\zeta_1^2 + \zeta_2^2)}{(a_1 + a_2)} \left[ \frac{2\zeta_1\zeta_2}{\zeta_1^2 + \zeta_2^2} \ln \left( \frac{1 + \exp(-\kappa d)}{1 - \exp(-\kappa d)} \right) + \ln (1 - \exp(-2\kappa d)) \right] \quad (3)$$

Donde:

- $a_i$ : Radio de la esfera.
- $d$ : Distancia entre las superficies.
- $\zeta_1, \zeta_2$ : Potenciales zeta de las superficies en interacción.
- $\kappa$ : Inverso de la longitud de Debye.
- $\varepsilon$ : Permitividad del medio.

### 2.3.2. Interacciones de Lifshitz-van der Waals

Las fuerzas intermoleculares atractivas que propuso van der Waals, resultan de tres efectos diferentes llamados de orientación (Keesom), de inducción (Debye) y de dispersión (London), las cuales se pueden observar en la Figura 10 (Hunter, 2001).

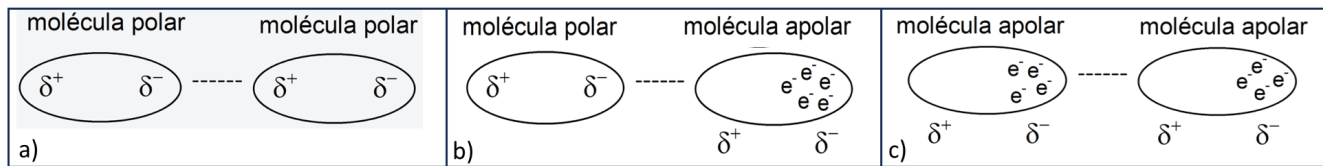


Figura 10: Interacciones de Van der Waals: a) Keesom, b) Debye y c) London.

- Fuerzas de Keesom (interacciones dipolo-dipolo): Estas fuerzas ocurren entre moléculas polares que poseen dipolos permanentes, es decir, una separación constante de carga positiva y negativa dentro de la molécula. Las fuerzas de Keesom son atractivas cuando los dipolos se alinean de manera favorable y repulsivas cuando se alinean de forma desfavorable.
- Fuerzas de Debye (interacciones dipolo-dipolo inducido): Estas fuerzas se generan cuando un dipolo permanente induce un dipolo en una molécula no polar al distorsionar su nube electrónica. La fuerza de atracción resulta de esta polarización inducida temporalmente.
- Fuerzas de London (dispersión): Estas son las más universales y están presentes en todas las moléculas, sean polares o no. Surgen debido a fluctuaciones temporales en la distribución de electrones que crean dipolos instantáneos. Estos dipolos temporales inducen dipolos en moléculas vecinas, generando una atracción mutua.

Estas fuerzas tienen la misma dependencia con respecto a la distancia entre moléculas ( $1/r^6$ ), por lo cual Lifshitz concluyó que podía extrapolar estas fuerzas a una escala mayor a la molecular, ponderando el efecto de las tres fuerzas a escala macroscópica a través de la constante de Hamaker.

Considerando lo anterior la energía libre de van der Waals esta dada por:

$$\Delta G^{LW} = -\frac{A}{\pi^2} \int_{\Omega_2} d\Omega_2 \int_{\Omega_1} d\Omega_1 \frac{1}{r^6} \quad (4)$$

Donde:

- $\Omega_i$ : Volumen de la superficie.
- $r$ : Distancia entre las fracciones de volúmenes del sistema.
- $A$ : Constante de Hamaker para el sistema de dos superficies sumergidas en un solvente.

Hamaker resolvió la ecuación (4) para geometrías simples (Hamaker, 1937):

- Caso de esfera de radio  $a$  separada a una distancia  $d$  de un plano semi-infinito:

$$\Delta G^{LW}(d) = -\frac{A}{6} \left[ \frac{a}{d} + \frac{a}{d+2a} + \ln \left( \frac{d}{d+2a} \right) \right] \quad (5)$$

- Caso de dos esferas de radio  $a_1$  y radio  $a_2$  separadas a una distancia  $d$ :

$$\Delta G^{LW}(d) = -\frac{A(a_1 a_2)}{6d(a_1 + a_2)} \quad (6)$$

Donde:

- $a_i$ : Radio de la esfera.
- $d$ : Distancia entre las superficies.
- $A$ : Constante de Hamaker para el sistema.

### 2.3.3. Interacciones ácido-base

Desde hace mucho tiempo se ha supuesto que fuerzas físicas diferentes de las atracciones de van der Waals y las repulsiones electrostáticas pueden desempeñar un papel importante en las interacciones coloidales. Una de las más importantes entre estas es frecuentemente referida como interacción ácido-base (Franks, 1975), un efecto que ha resistido una definición experimental cuantitativa y precisa hasta tiempos relativamente recientes (van Oss et al., 1987).

Denominadas también como interacciones electrón-donador-electrón-aceptor, no encajan estrictamente como interacciones dipolares en sentido estricto (Fowkes, 1983), su fuerte componente

electrostático y su notable asimetría (van Oss et al., 1987) justifican que se designen como interacciones ácido-base.

van Oss definió expresiones para esta interacción en geometrías simples (van Oss, 1987):

- Caso de esfera de radio  $a$  separada a una distancia  $d$  de un plano semi-infinito:

$$\Delta G^{AB}(d) = 2\pi a \lambda \Delta G_{adh}^{AB} \exp \left[ \frac{(d_0 - d)}{\lambda} \right] \quad (7)$$

- Caso de dos esferas de radio  $a_1$  y radio  $a_2$  separadas a una distancia  $d$ :

$$\Delta G^{AB}(d) = 2\pi \frac{a_1 a_2}{(a_1 + a_2)} \lambda \Delta G_{adh}^{AB} \exp \left[ \frac{(d_0 - d)}{\lambda} \right] \quad (8)$$

Donde:

- $a_i$ : Radio de la esfera.
- $d$ : Distancia entre las superficies.
- $\Delta G_{adh}^{AB}$ : Energía libre de las superficies en contacto.
- $\lambda$ : Longitud de correlación.
- $d_0$ : Longitud mínima de separación de las superficies en el solvente.

Otros autores asocian estas interacciones de forma más directa con el potencial electrostático de las superficies inmersas en una solución, ya que en estos sistemas las superficies reaccionan con los iones disueltos, generando variaciones de carga por efectos de hidratación, las reacciones químicas que ocurren son las siguientes:



Donde  $S^-$  representa los sitios disponibles de la red cristalina y  $M^+$  denota los iones metálicos.

En la Figura 11 se muestra una representación del reemplazo de iones metálicos por iones de hidrógeno a causa de las reacciones que ocurren en una superficie de mica, lo que indicaría que la adherencia es posible por efecto de iones comunes (Pashley, 1981).

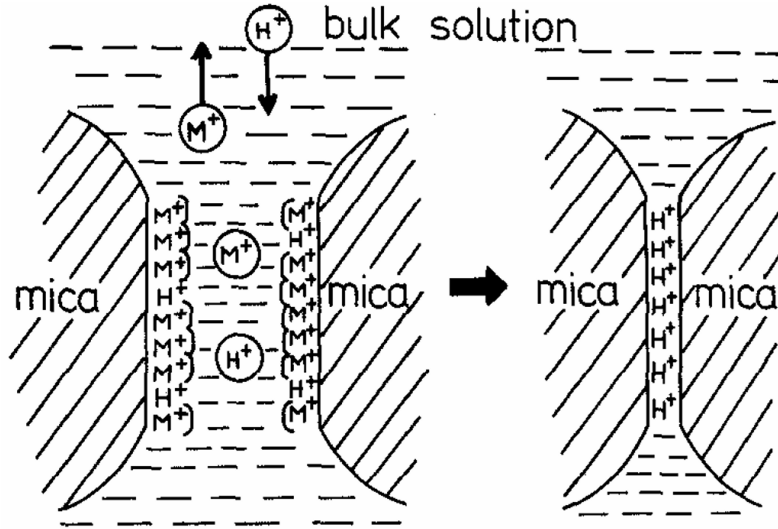


Figura 11: Reemplazo de iones metálicos por iones de hidrógeno en un sistema de dos superficies de mica (Pashley, 1981).

## 2.4. Estudios de adherencia

Para mejorar la eficiencia de los bioprocesos, resulta interesante estudiar la adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita, tanto para depresarla en flotación o para lixiviarla generando iones  $\text{Fe}^{3+}$  que oxiden los sulfuros de cobre.

En la presente sección se muestran estudios de adherencia experimentales, mediante teoría XDLVO (considerando geometría esférica) y mediante modelos matemáticos de grano fino (considerando la disposición atómica).

### 2.4.1. Adherencia experimental

San Martín et al. (2020) realizaron una campaña experimental a nivel exploratorio para entender los mecanismos involucrados en la adherencia y efecto depresante de *A. ferrooxidans* sobre pirita en soluciones nitrogenadas.

Los resultados de los experimentos de cinética de adhesión y potencial de flujo se muestran en la Figura 12 (San Martín et al., 2020).

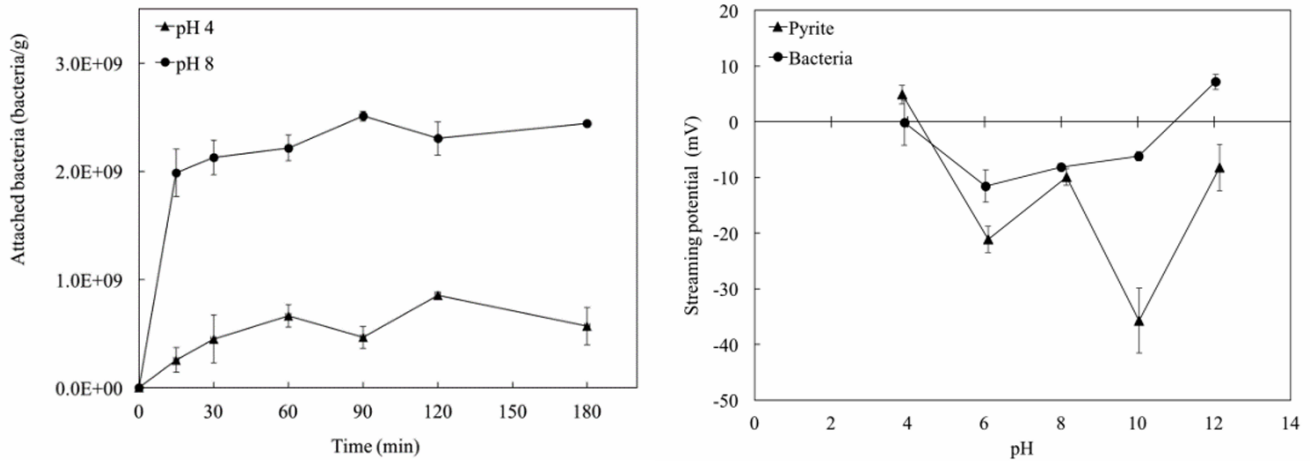


Figura 12: Resultados de cinética de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita y resultados de potencial de flujo en agua de mar a distintos pH (San Martín et al., 2020).

Se puede ver que las cargas tienen el mismo signo a pH 8 y existe mayor adherencia en comparación a cuando las cargas tienen signos opuestos a pH 4. Al analizar las cargas uno esperaría la situación contraria, es decir, que haya mayor adherencia cuando las cargas tienen cargas opuestas, debido a esto se concluye de este trabajo que las interacciones electrostáticas no son el mecanismo gobernante en la adherencia de *A. ferrooxidans*. Sin embargo, hay que considerar que las mediciones de potencial zeta o potencial de flujo, consideran los potenciales totales de la superficie, y al ser las interacciones electrostáticas sensibles a la distancia de separación, se podrían generar interacciones favorables en las zonas de adherencia y desfavorables en el resto de la superficie bacteriana.

Un estudio de las fuerzas electrostáticas como mecanismo de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en agua fresca y agua salada a 35 g/L de NaCl fue realizado por San Martín y Aguilar (2019), cuyos resultados se indican en la Figura 13 y en la Figura 14.

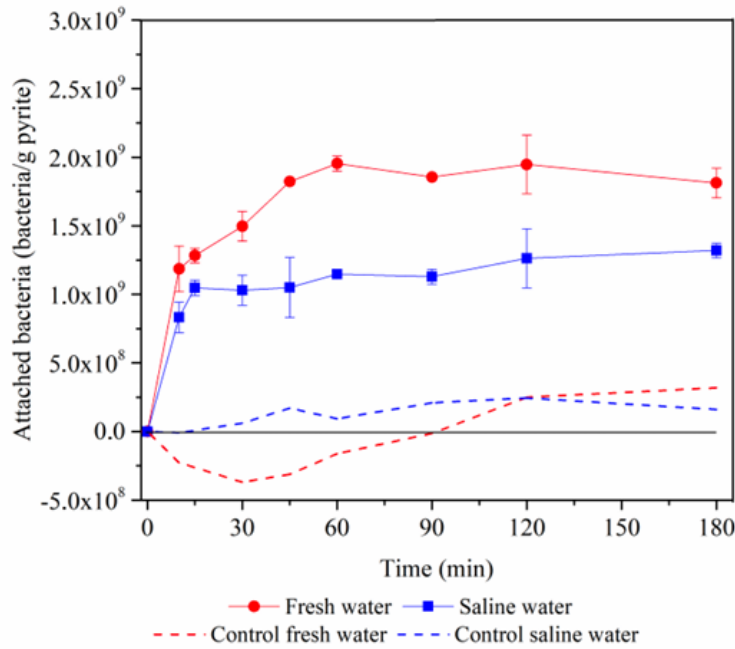


Figura 13: Resultados de cinética de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en agua fresca y salada a pH 4 (San Martín y Aguilar, 2019).

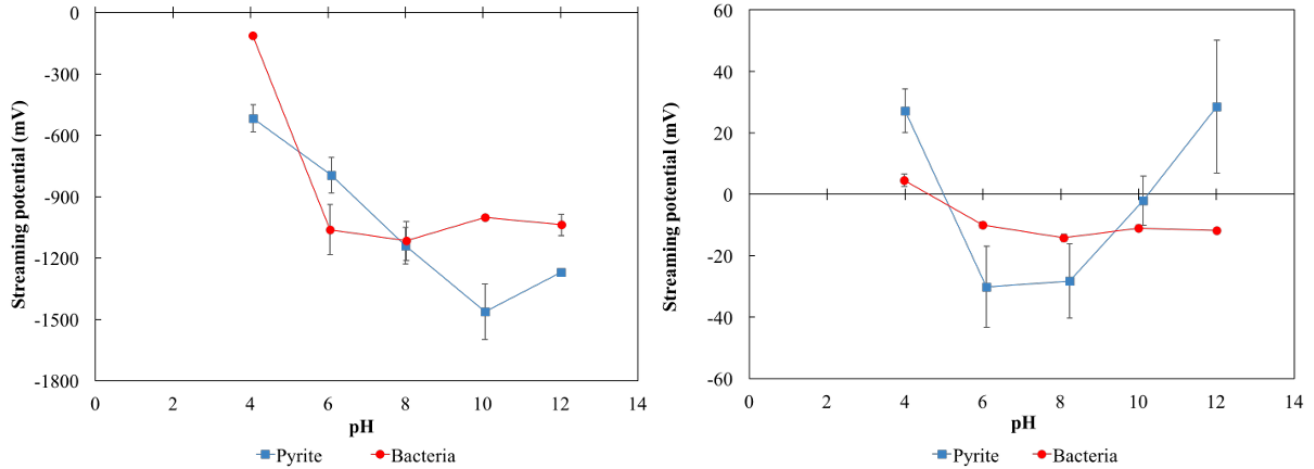


Figura 14: Potencial de flujo de *A. ferrooxidans* y pirita en agua fresca (izquierda) y salada (derecha) a distintos pH (San Martín y Aguilar, 2019).

En la Figura 13 se observa que la adherencia es menor en agua salada a pH 4, esto es acorde a la interacción electrostática que es dependiente de la fuerza iónica del medio, es decir, a mayor salinidad, menor será la interacción electrostática entre las superficies.

En la Figura 14 se indica que el potencial de flujo en agua salada tiende a tener menor valor absoluto que el potencial de flujo en agua fresca, donde el potencial en agua fresca se mantiene

en los valores negativos para todo rango de pH en las dos superficies, los resultados de adherencia para pH 4 concuerdan con los resultados observados en la Figura 12 (San Martín et al., 2020).

Siguiendo con la misma línea de investigación, en la Figura 15 y en la Figura 16 se presentan estudios de cinética de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en agua dulce y agua de mar a distintos pH (González, 2023).

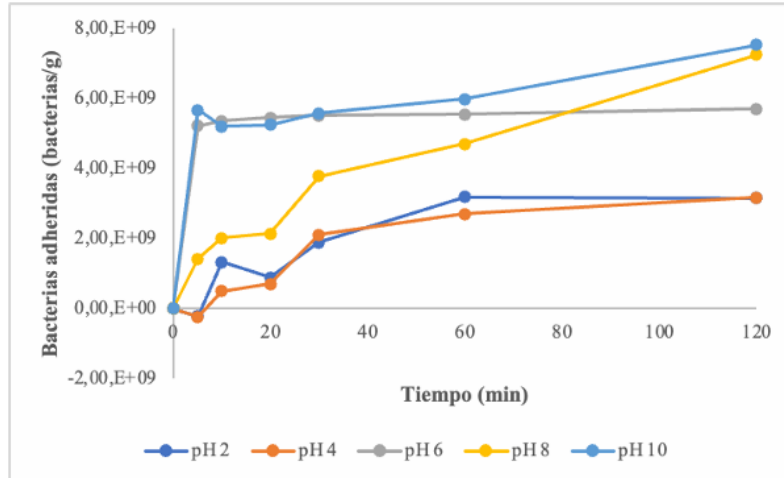


Figura 15: Resultados de cinética de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en agua dulce a distintos pH y concentración de bacterias de  $10^8$  bacterias/mL (González, 2023).

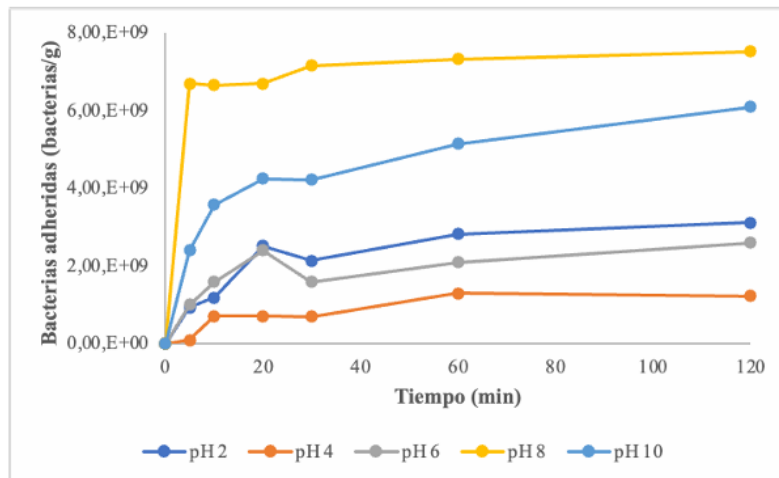


Figura 16: Resultados de cinética de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en agua de mar a distintos pH y concentración de bacterias de  $10^8$  bacterias/mL (González, 2023).

Se observa que los resultados obtenidos para la cinética de adherencia en agua dulce de la Figura 15 muestran que a pH 2 y 4 la adherencia es menor que a los demás pH, siendo mayor a pH 6 y 10. Se observa que los resultados obtenidos para la cinética de adherencia en agua dulce de la Figura 16 muestran que a pH 2, 4 y 6 la adherencia es menor que a los demás pH, siendo mayor

a pH 8. Considerando que estos estudios indican que a mayor tiempo se mejora la adherencia, podría indicar que la formación de EPS o de capa microbiana afecta la distancia de adherencia, lo que reduciría los efectos negativos de las interacciones electrostáticas, ya que esta decae con la distancia.

#### 2.4.2. Adherencia mediante teoría XDLVO

Vilinska y Hanumantha Rao (2009) estudiaron la adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita y calcopirita usando la teoría XDLVO descrita anteriormente.

Obtuvieron experimentalmente los parámetros necesarios para aplicar el modelo, es decir, el potencial Zeta de las superficies para la interacción electrostática, la constante de Hamaker para la interacción de Lifshitz-van der Waals y la energía libre de adherencia al contacto para las interacciones ácido-base. Luego calcularon las interacciones según el modelo XDLVO considerando dos esferas de radio  $1\ \mu\text{m}$  a distintas fuerzas iónicas y pH.

En la Figura 17 se observan los potenciales Zeta obtenidos para *A. ferrooxidans*, pirita y calcopirita (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

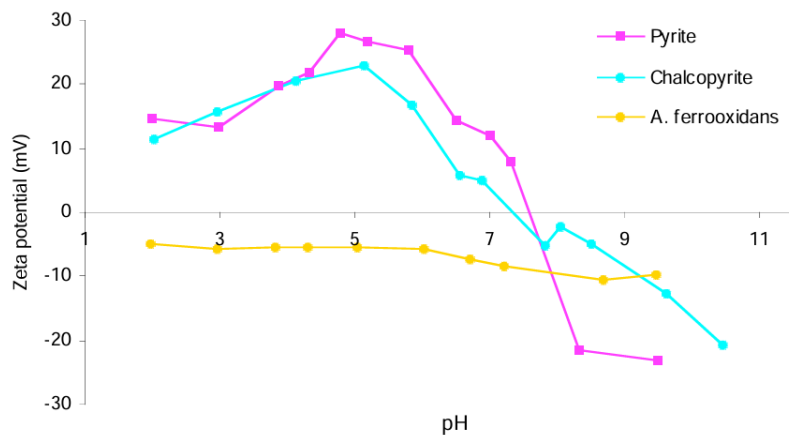


Figura 17: Resultados de potencial Zeta para pirita, calcopirita y *A. ferrooxidans* (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

Se observa que el comportamiento del potencial Zeta de pirita y calcopirita es similar para todos los pH, difiriendo con los signos de potencial de flujo mostrados en las Figuras 12 y 14, esto se explica debido a que al contactar las superficies minerales con oxígeno disuelto en solución, estos compuestos reaccionan formando hidróxido de hierro, de carga positiva, sobre dichas superficies (Raichur et al., 2001; Wang et al., 1991). Los estudios presentados en la sección anterior fueron realizados en soluciones nitrogenadas, lo que favorece un potencial Zeta negativo al disminuir la concentración de oxígeno en soluciones.

El potencial Zeta de *A. ferrooxidans* se mantiene negativo en todos los rangos de pH, mostrando una tendencia a disminuir conforme aumenta el pH, estos valores son acordes a los mostrados en las Figuras 12 y 14, lo que indica que las reacciones con otros compuestos del solvente solo afectan a la carga superficial de los minerales.

En la Tabla 1 se indica la constante de Hamaker usada para calcular la energía de Lifshitz-van der Waals y la energía libre inicial ácido-base de los sistemas pirita-*A. ferrooxidans* y calcopirita-*A. ferrooxidans* (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

**Tabla 1.** Constantes de Hamaker y energía libre de adhesión ácido-base para sistemas mineral-bacteria.

| Sistema Mineral-Bacteria             | Constante de Hamaker<br>$A [10^{-21} \text{ J}]$ | Energía Libre de ácido-base<br>$\Delta G_{adh}^{AB} [\text{mJ/m}^2]$ |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Pirita y <i>A. ferrooxidans</i>      | 4,32                                             | -10,29                                                               |
| Calcopirita y <i>A. ferrooxidans</i> | 2,74                                             | -8,1                                                                 |

Estos valores indican que la adherencia mediante los mecanismos de Lifshitz-van der Waals y ácido-base favorecen la adherencia en el sistema pirita y *A. ferrooxidans* lo cual explicaría la selectividad de la bacteria por dicho mineral. En la Figura 18 se observa la interacción total de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en soluciones con distintas fuerzas iónicas (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

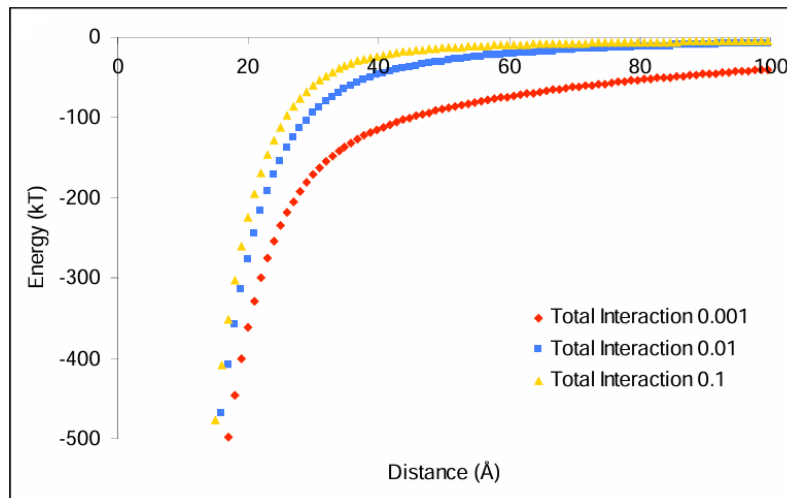


Figura 18: Interacción total de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita bajo distintas fuerzas iónicas (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

Los valores obtenidos indican que la adherencia se ve afectada al aumentar la fuerza iónica, recordando que sólo la interacción electrostática es sensible a este parámetro, y considerando que la fuerza iónica está relacionada a la cantidad de iones disueltos, permite explicar la disminución absoluta de potencial Zeta de pirita en agua salada (San Martín et al., 2020).

En la Figura 19 se observa la interacción total de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita en soluciones a distintos pH (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

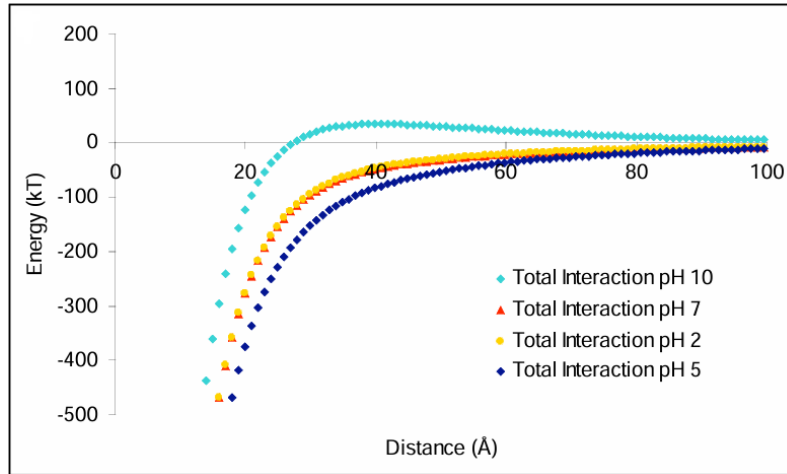


Figura 19: Interacción total de adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita bajo distintos pH (Vilinska y Hanumantha Rao, 2009).

Los valores obtenidos indican que la adherencia es más favorable a pH 5 y menos favorable a pH 10, al analizar los potenciales Zeta vistos en la Figura 17 se aprecia que la bacteria presenta potencial negativo en todos los pH, a pH 5 el potencial de pirita es máximo y a pH 10 el potencial es mínimo, lo que explica los resultados obtenidos.

### 2.4.3. Adherencia mediante modelo de grano fino

Jiang et al. (2021) estudiaron el mecanismo de transporte de electrones involucrado en la oxidación de hierro por parte de *A. ferrooxidans*, como se mencionó anteriormente, el citocromo C Cyc2 es la proteína clave en la membrana externa de la bacteria que permite la transferencia de electrones entre el hierro extracelular y el metabolismo intracelular, donde el sitio de oxidación de hierro se localiza en la sección más externa de la bacteria (Ingledew et al., 1977).

En la Figura 20 se observa el modelo de grano fino para la proteína citocromo C Cyc2 incrustada en la membrana celular (Jiang et al., 2021).

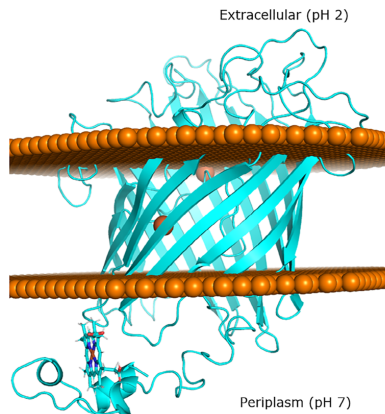


Figura 20: Modelado de la proteína Cyc2 (Jiang et al., 2021).

Estos modelos se basan en la disposición atómica de los elementos, por eso se definen como de grano fino.

Los posibles sitios de unión transitoria de  $\text{Fe}^{2+}$  se identificaron utilizando regiones de potencial negativo calculadas mediante la ecuación de Poisson-Boltzmann. En la Figura 21 se muestran los resultados de potencial electrostático para la proteína Cyc2 (Jiang et al., 2021).

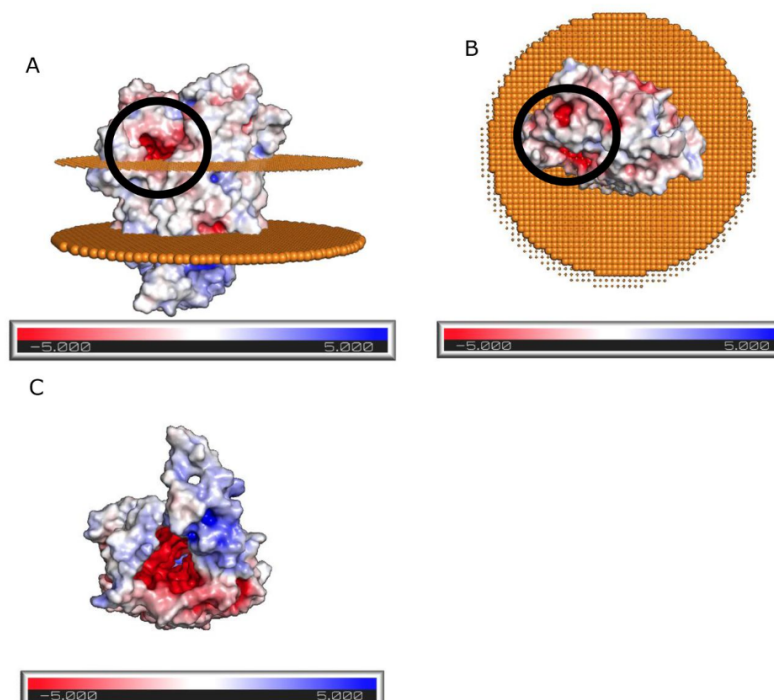


Figura 21: Resultados de potencial electrostático en la proteína Cyc 2: A) Vista lateral, B) Vista superior y C) Vista Inferior (Jiang et al., 2021).

Se observa que la zona de la proteína expuesta al solvente que tiene un potencial de Poisson-Boltzmann altamente negativo. Esto es consistente al considerar que se buscan zonas que permitan

la adherencia selectiva para cationes de hierro, por lo tanto, el potencial negativo del poro sugiere que Cyc2 presenta zonas de unión con  $\text{Fe}^{2+}$ . Con lo anterior se observa que el modelo de interacción electrostática de la teoría XDLVO no es confiable, ya que al considerar potenciales constantes y geometrías simples subestima los efectos electrostáticos, los cuales podrían tener zonas con potenciales muy variables los cuales no se ven representados en dicho modelo.

## 2.5. Modelo de solvente implícito

Como se ha visto en secciones anteriores, resulta interesante analizar las interacciones de adherencia en medios de grano fino, con el fin de analizar las interacciones a mayor nivel de detalle al considerar geometrías realistas y cargas no homogéneas.

Para conseguirlo se pueden aplicar modelos de solventes, estos se utilizan para hacer simulaciones y cálculos termodinámicos de reacciones y procesos que ocurren en solución, estos modelos pueden ser explícitos o implícitos.

En el primer caso, cada molécula del disolvente se trata explícitamente, teniendo en cuenta la posición y los grados de libertad de cada uno. Por otro lado, los modelos implícitos tratan al solvente como un medio continuo que rodea el soluto. Los modelos explícitos son capaces reproducir algunos fenómenos que no son posibles con modelos implícitos, sin embargo, requieren muchos más recursos computacionales. Considerando lo anterior, este trabajo usará el modelo de solvente implícito.

La interfaz entre los dominios de soluto y solvente en el modelo de solvente implícito se puede definir de diferentes maneras:

- Superficie de Van der Waals (SvW), que considera que la región del soluto abarca todo lo que se encuentra dentro del radio de Van der Waals de cada átomo.
- Superficie accesible al solvente (SAS), que se forma trazando el centro de una sonda esférica del tamaño de una molécula de agua ( $1.4 \text{ \AA}$ ) a medida que rueda alrededor del soluto definido por la superficie de Van der Waals.
- Superficie excluida al solvente (SES), que representa la distancia más cercana que una molécula de agua puede acercarse al soluto, esta se forma trazando el borde interno de la misma sonda esférica utilizada para formar la SAS.

La Figura 22 muestra una representación de las diferentes superficies (Cooper, 2015).

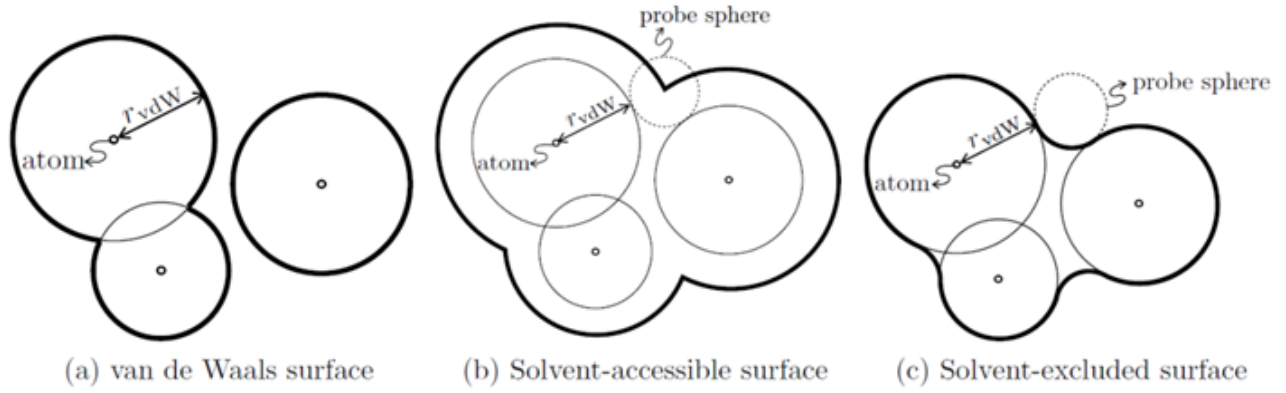


Figura 22: Representación de los tipos de superficie en el modelo de solvente implícito (Cooper, 2015).

El modelo utilizado en este trabajo consideró la SES como la frontera entre los dominios.

### 2.5.1. Modelo de Poisson-Boltzmann

Un modelo de solvente implícito bien conocido y ampliamente utilizado en sistemas biomoleculares es el modelo de Poisson-Boltzmann, donde el soluto es representado por una distribución de cargas puntuales y el solvente es representado por un medio continuo.

En el caso del soluto, el potencial electrostático puede describirse mediante la ecuación de Poisson.

$$\nabla^2 \phi = -\frac{\rho}{\epsilon} \quad (10)$$

Donde  $\phi$  es el potencial electrostático,  $\rho$  es la distribución de densidad de carga y  $\epsilon$  es la permitividad del soluto. Como el soluto se representa mediante una distribución de cargas puntuales, la distribución de densidad de carga se puede describir de la siguiente manera:

$$\rho = q\delta(r') = \sum_k^N q_k \delta(r, r_k) \quad (11)$$

donde  $N$  es el número total de átomos,  $q_k$  es la carga asociada al átomo  $k$ ,  $\delta$  es la función delta de Dirac,  $r$  es la posición a evaluar y  $r_k$  es la posición del átomo  $k$ . Reemplazando esto en la ecuación (10), obtenemos:

$$\nabla^2 \phi = -\sum_k^N \frac{q_k}{\epsilon} \delta(r, r_k) \quad (12)$$

En el caso del solvente, este consiste en agua e iones disueltos que contribuyen al campo eléctrico y que son libres de moverse. Cuando se aplica un campo eléctrico, la distribución espacial de los

iones cambiará, lo que significa que la distribución de densidad de carga dependerá del potencial electrostático ( $\rho = \rho(\phi)$ ).

Se han realizado análisis previos de este tipo de sistema (Hill, 1960), suponiendo que los iones son esferas y que el solvente no tiene un comportamiento molecular por ser definido de forma implícita, podemos describir la distribución de iones utilizando la función de distribución radial. Sustituyendo la distribución de densidad de carga en la ecuación (10), obtenemos:

$$\nabla^2 \phi = -\frac{\rho}{\epsilon} = -\frac{1}{\epsilon} \sum_k^{N_s} q_i c_i(r) = -\frac{1}{\epsilon} \sum_k^{N_s} q_i c_{0i} (e^{\frac{-\phi q_i}{k_B T}} + e^{\frac{\phi q_i}{k_B T}}) \quad (13)$$

Donde  $N_s$  es el número de especies de iones,  $q_i$  y  $c_{0i}$  son la carga y la densidad numérica promedio de la especie  $i$  de iones,  $k_B$  es la constante de Boltzmann y  $T$  es la temperatura absoluta del solvente. Suponiendo dos iones monovalentes de cargas opuestas  $e^-$  y  $e^+$ , la ecuación (13) queda definida por:

$$\nabla^2 \phi = \frac{\phi}{\epsilon k_B T} \sum_i^{N_s} n_{0i} q_i = \kappa^2 \phi \quad (14)$$

Esto se conoce como la ecuación de Poisson-Boltzmann linealizada. Aquí,  $\kappa$  es el inverso de la longitud de Debye, que, en función de la fuerza iónica  $I$ , corresponde a:

$$\kappa^2 = \frac{2e^2}{\epsilon k_B T} I \quad (15)$$

La Figura 23 muestra una proteína disuelta, con la región del soluto ( $\Omega_1$ ) y la región del solvente ( $\Omega_2$ ) separadas por la superficie del soluto ( $\Gamma$ ).

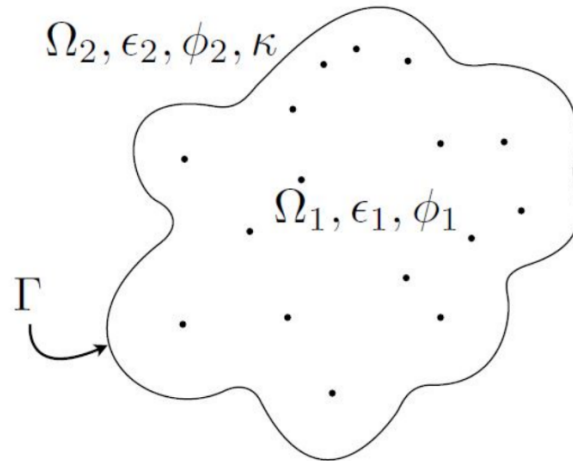


Figura 23: Representación del modelo de Poisson-Boltzmann (Cooper, 2015).

Los puntos en la región de la proteína representan las cargas puntuales en la ubicación de los

átomos. El dominio del soluto tiene una permitividad de  $\epsilon_1$  y el potencial electrostático se representa por  $\phi_1$ . Mientras tanto, la región del solvente tiene una permitividad de  $\epsilon_2$ , una longitud de Debye inversa de  $\kappa$  y el potencial electrostático se representa por  $\phi_2$ .

En la interfaz entre los dos dominios se deben aplicar condiciones de contorno adecuadas. Sabemos por la teoría electrostática que tanto el potencial electrostático ( $\phi$ ) como sus derivadas direccionales deben ser continuos a través del límite, considerando las ecuaciones para el soluto y el solvente, además de agregar estas condiciones de contorno, se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \nabla^2 \phi_1 = - \sum_k \frac{q_k}{\epsilon_1} \delta(r, r_k), & \text{en } \Omega_1, \\ \nabla^2 \phi_2 = \kappa^2 \phi_2, & \text{en } \Omega_2, \\ \phi_1 = \phi_2, & \text{en } \Gamma, \\ \epsilon_1 \frac{\partial \phi_1}{\partial n} = \epsilon_2 \frac{\partial \phi_2}{\partial n}, & \text{en } \Gamma. \end{array} \right. \quad (16)$$

El acople de estas ecuaciones (16) es de mucho interés en la comunidad de biofísica y existen muchos paquetes de software ampliamente utilizados disponibles para realizar cálculos. El sistema de ecuaciones (16), se puede resolver numéricamente utilizando métodos volumétricos, o considerando métodos superficiales, que también se han utilizado con éxito para esta aplicación, como se muestra en los trabajos de Yoon y Lenhoff (1990) y también de Juffer y colaboradores (1991).

Este trabajo utilizará una estrategia mixta, considerando métodos volumétricos para la interacción de van der Waals, métodos superficiales para la interacción electrostática, la interacción ácido-base se considerará en la interacción electrostática ya que se trabajará como una parametrización de los potenciales superficiales en función del pH.

### 3. Metodología

#### 3.1. Interacción electrostática

Para estudiar los efectos de forma y distribución de cargas de *A. ferrooxidans* mediante la energía libre de adherencia electrostática del citocromo C Cyc2 a pirita, se usará el modelo de solvente implícito de Poisson-Boltzmann visto el sistema de ecuaciones (16), variando la distancia de separación, el potencial superficial de pirita y la fuerza iónica del medio, razón por la cual el modelo anterior requiere una modificación para considerar la superficie del mineral. La Figura 24 muestra la proteína y pirita inmersas en agua, con la región de la proteína ( $\Omega_1$ ) y la región del solvente ( $\Omega_2$ ), separadas por la superficie del soluto ( $\Gamma_1$ ) y la región de la pirita ( $\Gamma_2$ ) (Cooper y Barba, 2016).

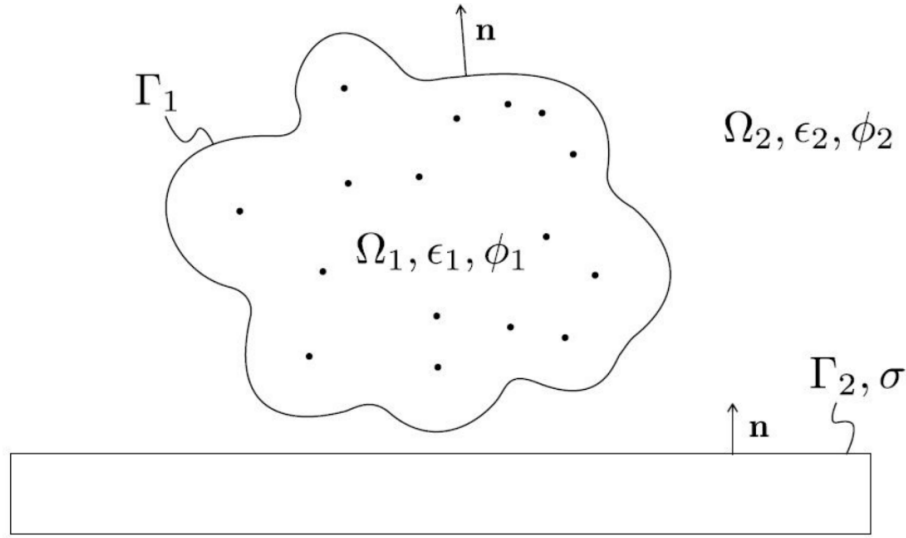


Figura 24: Representación del modelo de Poisson-Boltzmann para el sistema proteína-mineral .

Las ecuaciones que caracterizan este modelo corresponden a:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \nabla^2 \phi_1 = - \sum_k \frac{q_k}{\varepsilon_1} \delta(r, r_k), & \text{en } \Omega_1, \\ \nabla^2 \phi_2 = \kappa^2 \phi_2, & \text{en } \Omega_2, \\ \phi_1 = \phi_2, & \text{en } \Gamma_1, \\ \varepsilon_1 \frac{\partial \phi_1}{\partial n} = \varepsilon_2 \frac{\partial \phi_2}{\partial n}, & \text{en } \Gamma_1, \\ \phi_2 = \phi_0 \quad \text{o} \quad -\varepsilon_2 \frac{\partial \phi_2}{\partial n} = \sigma_0, & \text{en } \Gamma_2. \end{array} \right. \quad (17)$$

Para resolver este sistema de ecuaciones (17) se usará el método de elementos de borde, con-

virtiendo las ecuaciones de volumen (en las regiones  $\Omega$ ) a ecuaciones superficiales (en las regiones  $\Gamma$ ) mediante la ley de Gauss, para luego parametrizarlas como una suma de triángulos, el cálculo algebraico es extenso y se ha desarrollado en otras fuentes, por lo que el sistema de ecuaciones mediante este método queda definido por (Cooper y Barba, 2016):

$$\begin{bmatrix} \frac{1}{2} + K_{L\Gamma_1}^{\Gamma_1} & -V_{L\Gamma_1}^{\Gamma_1} & 0 \\ \frac{1}{2} - K_{Y\Gamma_1}^{\Gamma_1} & \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} V_{Y\Gamma_1}^{\Gamma_1} & V_{Y\Gamma_2}^{\Gamma_1} \\ -K_{Y\Gamma_1}^{\Gamma_2} & \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} V_{Y\Gamma_1}^{\Gamma_2} & V_{Y\Gamma_2}^{\Gamma_2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \phi_1(r_{\Gamma_1}) \\ \frac{\partial}{\partial n} \phi_1(r_{\Gamma_1}) \\ \frac{\partial}{\partial n} \phi_2(r_{\Gamma_2}) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{1}{\varepsilon_1} \sum_k^{N_c} \frac{q_k}{4\pi|\mathbf{r}_{\Gamma_1} - \mathbf{r}_k|} \\ K_{Y\Gamma_2}^{\Gamma_1} \phi_0 \\ (K_{Y\Gamma_2}^{\Gamma_2} - \frac{1}{2}) \phi_0 \end{bmatrix}$$

$$\begin{aligned}
 V_{L/Y\Gamma_j}^{\Gamma_i} &= \int_{\Gamma_j} G_{L/Y}(r_{\Gamma_i}, r'_{\Gamma_j}) d\Gamma' \\
 K_{L/Y\Gamma_j}^{\Gamma_i} &= \int_{\Gamma_j} \frac{\partial}{\partial n} G_{L/Y}(r_{\Gamma_i}, r'_{\Gamma_j}) d\Gamma'
 \end{aligned} \tag{18}$$

$$G_L = \frac{1}{4\pi|r - r'|}$$

$$G_Y = \frac{\exp(-\kappa|r - r'|)}{4\pi|r - r'|}$$

Sin embargo, al resolver este sistema de ecuaciones obtendremos los potenciales electrostáticos para el soluto y solvente, que nos sirven para conocer los efectos de la distribución de carga pero no para obtener la energía libre de adherencia acorde a la ecuación (1). Cooper y Barba (2016) definieron la siguiente ecuación para calcular la energía libre electrostática:

$$\Delta G^{EL} = \sum_{k=0}^{N_q} q_k \phi_{\text{react}}(\mathbf{r}_k) \tag{19}$$

Donde se debe calcular el potencial de reacción para cada átomo interior de la proteína, este potencial se define por la siguiente ecuación:

$$\phi_{\text{react}, r_k} = -K_{L\Gamma_1}^{r_k} \phi_1(r_{\Gamma_1}) + V_{L\Gamma_1}^{r_k} \frac{\partial}{\partial n} \phi_1(r_{\Gamma_1}) \tag{20}$$

Todo este desarrollo esta contemplado en el código de PygBe.

### 3.2. Interacción de van der Waals

Para estudiar los efectos de forma de *A. ferrooxidans* mediante la energía libre de adherencia de van der Waals del citocromo C Cyc2 a piritita, se desarrollará la ecuación (4) parametrizando

los volúmenes como una suma de tetraedros.

$$\Delta G^{LW} = -\frac{A}{\pi^2} \sum_{\Omega_2} \Delta\Omega_2 \sum_{\Omega_1} \Delta\Omega_1 \frac{1}{r^6} \quad (21)$$

Considerando que  $\Delta\Omega_1$  y  $\Delta\Omega_2$  son tetraedros contenidos en los volúmenes  $\Omega_1$  y  $\Omega_2$  respectivamente tal como se indica en la Figura 25.

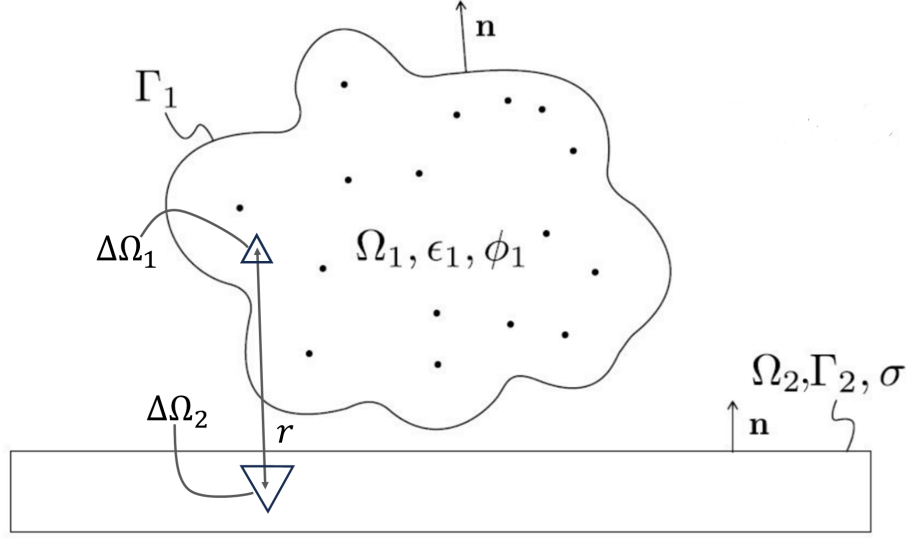


Figura 25: Representación del modelo discretizado de van der Waals.

Si definimos los vértices de un tetraedro contenido en  $\Omega_1$  como  $(u_1, u_2, u_3, u_4)$  y los de uno contenido en  $\Omega_2$  como  $(v_1, v_2, v_3, v_4)$ , podemos calcular el volumen  $\Delta\Omega_1$  y  $\Delta\Omega_2$  de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \Delta\Omega_1 &= (u_2 - u_1) \cdot ((u_3 - u_1) \times (u_4 - u_1)) \\ \Delta\Omega_2 &= (v_2 - v_1) \cdot ((v_3 - v_1) \times (v_4 - v_1)) \end{aligned} \quad (22)$$

Y la distancia  $r$  entre ellos se puede definir como:

$$r = \sqrt{\left(\frac{u_1 + u_2 + u_3 + u_4}{4}\right)^2 - \left(\frac{v_1 + v_2 + v_3 + v_4}{4}\right)^2} \quad (23)$$

Lo que falta por definir es la constante de Hamaker  $A$ , la cual está tabulada para el sistema  $A$ . *ferrooxidans*, pirita y agua (Vilinska y Hanumantha, 2009), al ser la interacción de van der Waals siempre positiva, se puede tomar el mismo valor de  $A$  para el Citocromo C Cyc2. La Tabla 2 indica el valor de la constante de Hamaker a utilizar.

**Tabla 2.** Constante de Hamaker para el sistema mineral-proteína.

| Sistema<br>Mineral-Proteína | Constante de Hamaker<br>$A [10^{-21} \text{ J}]$ |
|-----------------------------|--------------------------------------------------|
| Pirita y Citocromo C Cyc2   | 4,32                                             |

### 3.3. Interacción ácido-base

Para estudiar los efectos de distribución de cargas generadas por el solvente de *A. ferrooxidans* mediante la energía libre electrostática del citocromo C Cyc2 a pirita, se usará la ecuación (9) que trata las reacciones que ocurren entre las superficies y el solvente.

En los estudios analizados se ha observado que la pirita tiene variaciones de potencial dependiendo del nivel de oxígeno en el medio, observandose un potencial negativo para todo pH en ausencia de este elemento. Por otro lado el potencial de *A. ferrooxidans* se mantiene negativo a todo pH, lo que indica poca reactividad con el medio.

La Figura 26 indica la reactividad de la pirita al comparar los potenciales Zeta en una solución aireada y otra solución tratada con argón, condición considerada como la menos reactiva (Fornasiero et al., 1992), también considerar que el efecto de los colectores xantato reduce la oxidación de pirita (Valdivieso et al., 2005).

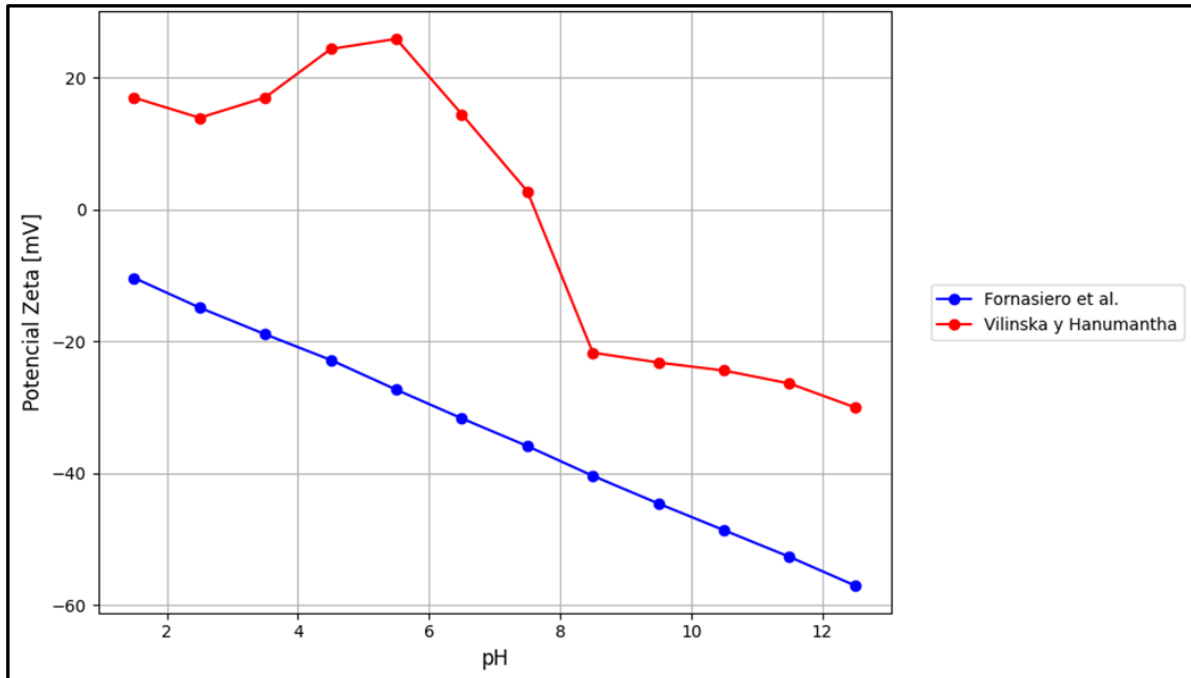


Figura 26: Efectos de la reactividad de pirita sobre su potencial Zeta.

Para este trabajo variará el potencial superficial de la pirita en función del pH según el estudio de Vilinska y Hanumantha (2009). Se considerará a la pirita como un medio semi-infinito y de

potencial uniforme debido a la capacidad de *A. ferrooxidans* de ubicar sitios oxidados tal como se observa en la Figura 7 (Jerez, 2009). Para estudiar los efectos de la reactividad, se invertirá el potencial en los pH extremos, para considerar medios poco reaccionantes a pH bajo y medios muy reaccionantes a pH alto, el potencial superficial de la proteína será calculado en base al modelo PropKa, el cual modifica las cargas de una superficie al considerar la hidratación generada por la ecuación (9). La estimación del potencial superficial a partir del potencial Zeta se hará con la siguiente ecuación (Alexov, 2004), la cual considera que el potencial Zeta es el potencial superficial a una distancia de  $1/\kappa$ :

$$\phi = \zeta e^{\kappa r} = \zeta e \quad (24)$$

### 3.4. Modelos de proteínas: ModelArchive

ModelArchive es una base de datos dedicada al almacenamiento y distribución de modelos estructurales de proteínas y otras moléculas orgánicas generados mediante métodos computacionales avanzados. Fundada con el propósito de proporcionar acceso abierto y estandarizado a estos modelos, permite a la comunidad científica compartir y reutilizar información estructural de manera eficiente.

A diferencia de otras bases de datos, como el Protein Data Bank (PDB), que se enfoca en estructuras experimentales obtenidas mediante técnicas como la cristalografía de rayos X y la resonancia magnética nuclear, modelArchive se especializa en modelos predictivos, generados mediante herramientas como modelado por homología, dinámica molecular y aprendizaje automático. Estos modelos son especialmente útiles cuando no es posible obtener datos experimentales.

La información almacenada en modelArchive incluye detalles sobre las interacciones internas de los modelos, como la disposición de los aminoácidos y sus posibles interacciones, en la Figura se muestra la proteína citocromo C Cyc2 en el formato de archivos de ModelArchive (Jiang et al., 2021), este citocromo C Cyc2 es una gran proteína, ya que está conformada por alrededor de 6700 átomos.

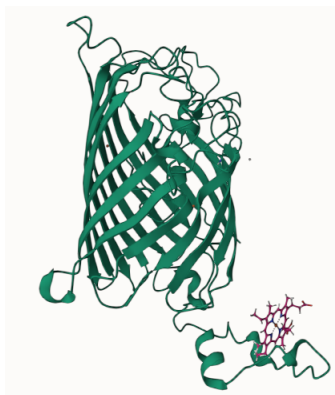


Figura 27: Visualización de archivo de citocromo C Cyc2 almacenado en ModelArchive.

Sin embargo, como sucede con otras plataformas, puede ser necesario recurrir a métodos adicionales o herramientas específicas para extraer datos personalizados o en formatos adecuados para estudios particulares, dependiendo de los requisitos del investigador o del enfoque del análisis.

### 3.5. Modelado de campos de fuerza de proteínas: PDB2PQR

Para utilizar el método en estudio, es fundamental conocer la carga y el radio atómico de cada uno de los átomos que constituyen la proteína citocromo C Cyc2. Esto requiere analizar cada átomo en su contexto específico y aplicar criterios que permitan determinar su estado de ionización y su influencia en el entorno.

Los métodos disponibles para calcular estos parámetros en cada átomo se denominan campos de fuerza, estos son una combinación de modelos teóricos y datos experimentales derivados de diversos estudios. Existe una amplia variedad de campos de fuerza, cuya elección depende del tipo de molécula y del contexto en que se encuentra. Para este trabajo, se utiliza un campo de fuerza conocido como AMBER (Salomon-Ferrer et al., 2013), que constituye una familia de parámetros diseñados para determinar las propiedades necesarias de cada átomo.

El cálculo tanto de las cargas como de los radios atómicos es realizado por un programa llamado PDB2PQR. Este software, como indica su nombre, toma como entrada un archivo en formato PDB y genera un archivo con extensión .pqr, que contiene las posiciones, cargas y radios de cada átomo, calculados según el campo de fuerza seleccionado, además tiene la opción de modificar las proteínas mediante el código PropKa (Sondergaard et al, 2011; Olson et al.,2011), que calcula el estado de hidratación de una proteína según el pH, la Figura 28 muestra la proteína citocromo C Cyc2 en el formato de archivos de PQR.

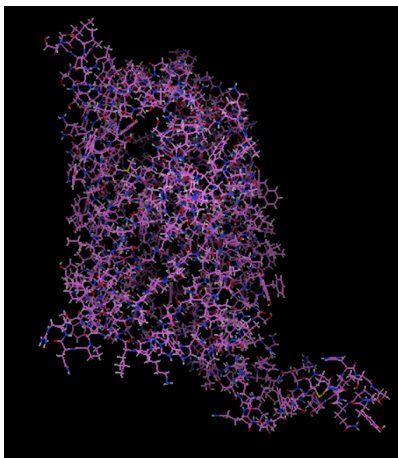


Figura 28: Visualización de archivo PQR de citocromo C Cyc2.

### 3.6. Diseño de mallas: NanoShaper y PyGamer

Como se mencionó previamente, la superficie de exclusión corresponde a la distancia mínima a la que una molécula de agua o iones de sal pueden acercarse a la molécula en estudio. Para generar dicha superficie, se emplean programas especializados NanoShaper (Decherchi y Rocchia, 2013).

Este programa utiliza un archivo en formato PQR. El método consiste en rodar una sonda con un cierto radio alrededor de la molécula, determinando así la distancia mínima de interacción. A través de este procedimiento, generan una malla de triángulos que describe con precisión la superficie excluida al solvente (SES) de la proteína.

Este programa permite controlar diversos parámetros relevantes para el cálculo. Uno de estos parámetros es el radio de exclusión, que generalmente corresponde al radio aproximado de una molécula de agua ( $1,4 \text{ \AA}$ ). Otro parámetro crucial es la densidad de malla, que se ajusta para refinar y obtener resultados más detallados sobre la distribución de carga en la superficie. La Figura 29 muestra el mallado triangular conseguido con NanoShaper.

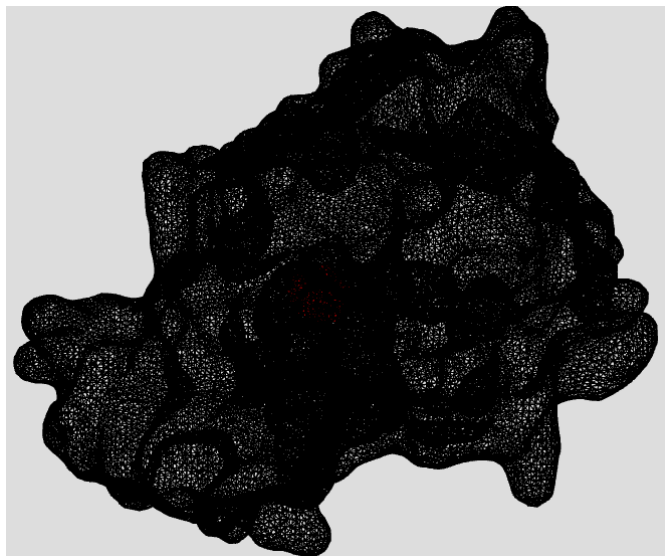


Figura 29: Visualización de mallado generado por NanoShaper.

En la Figura 30 se muestra el sistema a modelar.

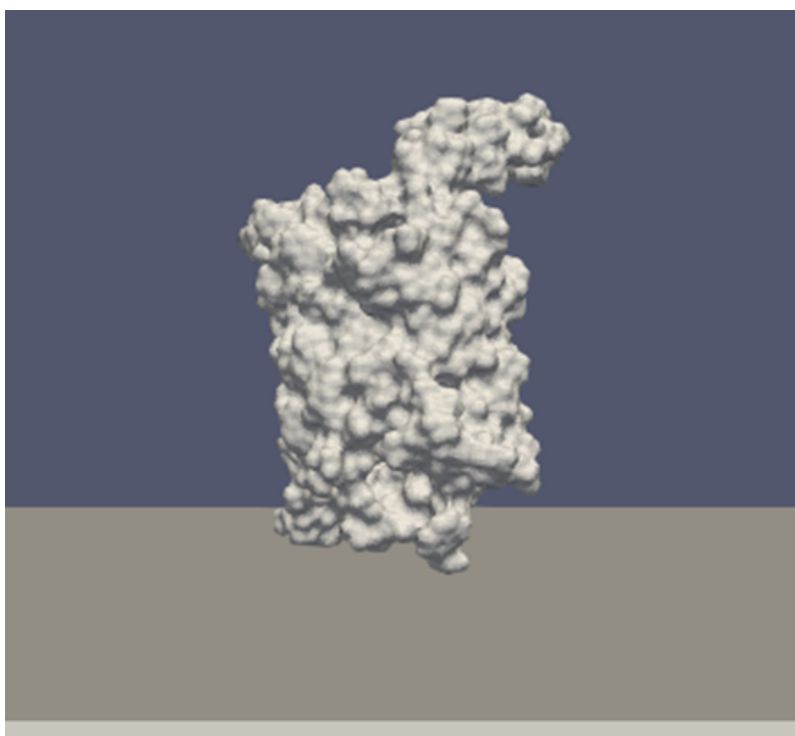


Figura 30: Modelado de superficie de proteína a  $2 \text{ \AA}$  de distancia de la superficie de pirita.

Para el mallado de la proteína se usaron 12 elementos por  $\text{\AA}^2$ . Con respecto al mallado de pirita, se consideró como un medio semi-infinito rectangular de dimensión aproximada de cinco veces la longitud de la proteína, para su mallado se usaron 0,9 elementos por  $\text{\AA}^2$ .

En complemento a NanoShaper su usa Pygamer, que permite modelar el volumen de la proteína a través del modelado superficial entregado por NanoShaper, creando tetraedros al interior de la malla superficial.

### 3.7. Solución ecuación de Poisson-Boltzmann: PyGBe

En los estudios realizados en este trabajo, para calcular la energía libre electrostática y ácido-base de una proteína con una superficie de pirita, se utiliza un código el cual implementa una formulación integral de las ecuaciones en cuestion, mediante el método de elementos de frontera BEM. Es así que el código utilizado es PyGBe (Python GPU Boundary Elements) (Cooper,2015). Este es un cdigo python libre que se encuentra disponible bajo una licencia MIT, y se encuentra escrito en mayor medida en C++ y CUDA, soportando unidades de procesamiento gráfico GPU, y ademas, los cálculos para lo cual fue diseñado son acelerados por medio del algoritmo TreeCode (Barnes y Hut, 1986). Para obtener la energía libre por medio de este código, se requiere una serie de archivos de inicialización los cuales contienen ciertos datos que utiliza para procesar e iniciar los cálculos pertinentes.

#### 3.7.1. Estructura de la información en el archivo de configuración

Dentro de la informacion de este archivo se encuentra la dirección de los archivos de mallas, de archivo de carga o potencial de una superficie con parametro prescrito, y del archivo pqr. Así tambien contempla la designación de las superficies que envuelven cada región, los valores de constantes dieléctricas y fuerza iónica del medio, la designación del tipo de ecuacion que gobierna en la región correspondiente (definiendo  $\mathbf{Y}$  para la ecuación de Poisson-Boltzmann o  $\mathbf{L}$  en caso de ser Laplace o Poisson). La Figura 31 muestra el tipo de configuración usada para este estudio:

```
FILE /home/bryanrojas/pygbe/TESIS/citocromo/pH2.5/geometry/citocromo25 dielectric_interface
FILE /home/bryanrojas/pygbe/TESIS/pirita/-2/pirita_300x300x60_d02 dirichlet_surface
/home/bryanrojas/pygbe/TESIS/citocromo/pH2.5/pirita_300x300x60_d02.phio
-----
PARAM LorY pot? Dielec kappa charges? coulomb? charge_file Nparent parent Nchild children
FIELD 2 0 80 0.125 0 0 NA 0 NA 2 0 1
FIELD 1 1 4 1e-12 1 1 /home/bryanrojas/pygbe/TESIS/citocromo/pH2.5/citocromo25.pqr 1 0
0 NA
FIELD NA 1 10 NA 0 0 NA 1 1 0 NA
```

Figura 31: Archivo de configuración de PyGBe.

En la Tabla 3 se indican los valores a usar para este estudio: Se uso la permitividad del agua de 80, para la proteína se uso una permitividad de 4; la distancia de separación se vario de 2 a 10 Å en saltos de 1 Å, lo que implica desarrollar 9 mallados para el sistema proteína-pirita; el  $\kappa$  se varió de 0,125 a 1,125 1/Å en aumentos de 0,1 1/Å, modelando la fuerza iónica del medio desde una solución como agua dulce hasta una solución PLS de lixiviación; el pH se varió de 1,5 a 12,5

**Tabla 3.** Propiedades y parámetros utilizados en el estudio.

| Propiedad                   | Valor       | Unidad |
|-----------------------------|-------------|--------|
| Permitividad del Solvente   | 80          | -      |
| Permitividad de la Proteína | 4           | -      |
| Permitividad de la Piritita | 10          | -      |
| Distancia de separación     | 2-10        | Å      |
| $\kappa$                    | 0,125-1,125 | 1/Å    |
| pH                          | 1,5-12,5    | -      |

en aumentos de 1, se consideró los pH bajos propios de lixiviación de cobre hasta pH altos propios de flotación, lo que genera una matriz de aproximadamente 1200 simulaciones.

## 4. Resultados y discusión

### 4.1. Carga y potencial del citocromo C Cyc2 a distintos pH

La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos mediante Propka para conocer la variación de carga en la proteína según el pH del medio:

**Tabla 4.** Cantidad de átomos y carga en función del pH.

| pH   | Átomos | Carga (e) |
|------|--------|-----------|
| 1,5  | 6748   | 25        |
| 2,5  | 6746   | 25        |
| 3,5  | 6742   | 19        |
| 4,5  | 6731   | 8         |
| 5,5  | 6723   | 0         |
| 6,5  | 6716   | -7        |
| 7,5  | 6712   | -11       |
| 8,5  | 6712   | -11       |
| 9,5  | 6712   | -11       |
| 10,5 | 6708   | -15       |
| 11,5 | 6706   | -17       |
| 12,5 | 6706   | -17       |

Se observa que la carga se hace más negativa y que la cantidad átomos disminuye conforme aumenta el pH, esto se explica ya que la proteína oxida  $\text{Fe}^{2+}$ , por lo cual reaccionaría con iones de carga positiva como el ión  $\text{H}^+$ , aumentando la cantidad de átomos en su superficie, caso contrario a pH alto, donde la proteína pierde átomos. Para tener claridad sobre los efectos sobre el potencial de la proteína generado por la distribución de cargas, podemos usar el software PyGBe para calcular los potenciales electrostáticos de la proteína aislada y considerando un  $\kappa = 0 \text{ 1/\AA}$  para simular agua desionizada. En la Figura 32 y en la Figura 33 se observan las vistas frontales y laterales de los potenciales superficiales de la proteína aislada para el rango de pH ácido y básico respectivamente.

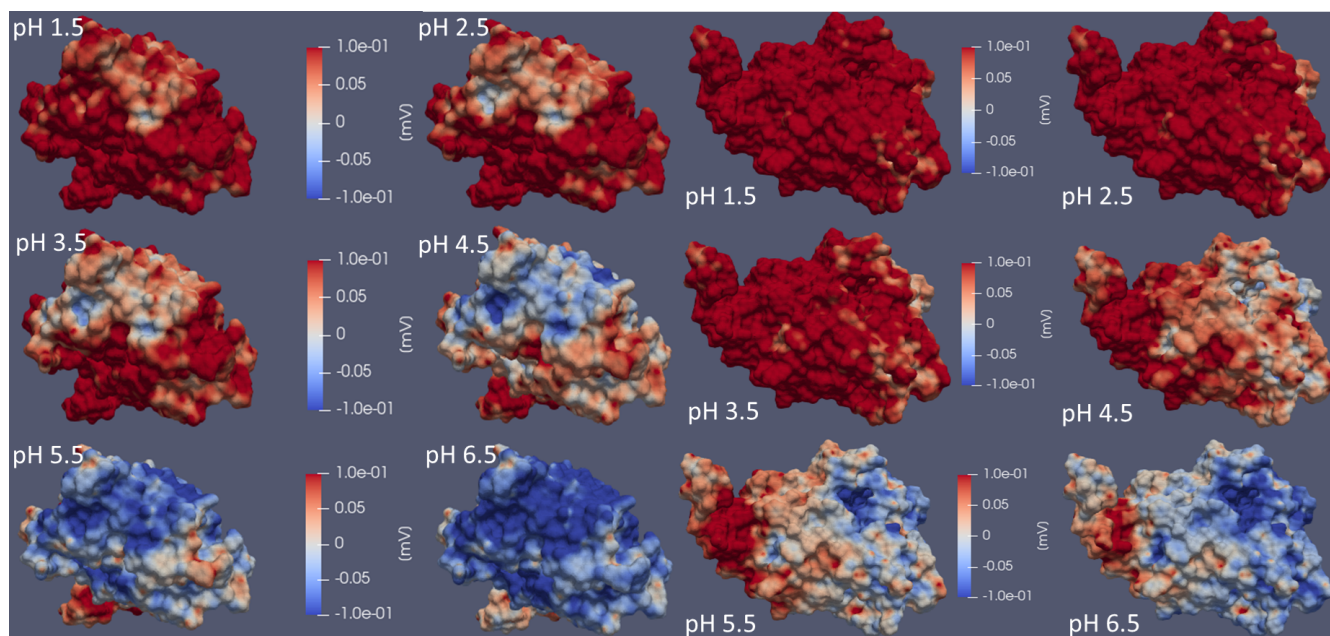


Figura 32: Vista frontal (izquierda) y vista lateral (derecha) de la distribución de potencial electrostático generado por el estado de protonación de la proteína aislada a pH ácido.

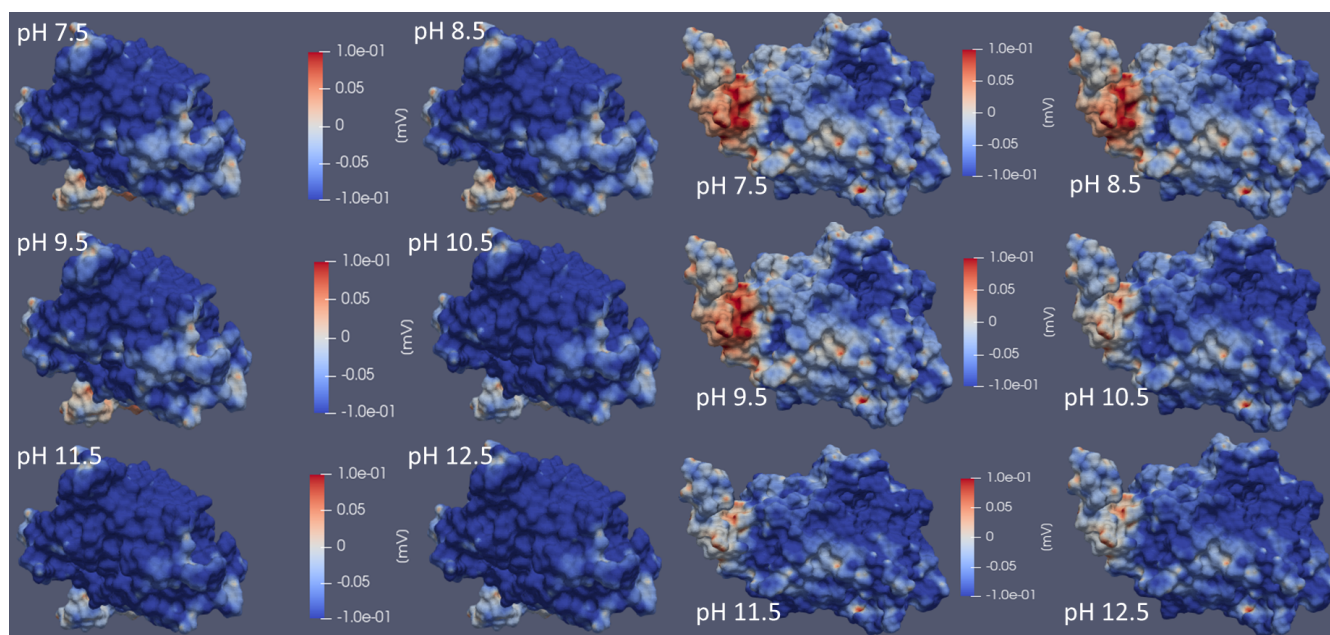


Figura 33: Vista frontal (izquierda) y vista lateral (derecha) de la distribución de potencial electrostático generado por el estado de protonación de la proteína aislada a pH básico.

Estos resultados que decaen con el aumento de pH son similares a lo visto en los estudios de San Martín y Aguilar (2019), así como también en el estudio de Vilinska y Hanumantha (2009), sin embargo, los estudios mencionados presentaban potencial negativo para todo rango de pH,

a excepción de los estudios en agua salada de San Martín y Aguilar (2019) que presentaban un potencial positivo por debajo de pH 4, resultado que también se aprecia en la Tabla 4. Estas diferencias se podrían explicar por el efecto global de la bacteria, ya que, además de los sitios de adhesión del citocromo C Cyc2, podría haber interacción con otros iones en la membrana externa o en los EPS de la bacteria.

## 4.2. Energía libre de adherencia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ )

Los cálculos de energía libre se separaron en función de su rango de pH para mejorar la visualización: pH ácido y pH básico.

En la Figura 34 y Figura 35 se muestra la energía libre de adherencia en función de la distancia para pH ácido y básico respectivamente.

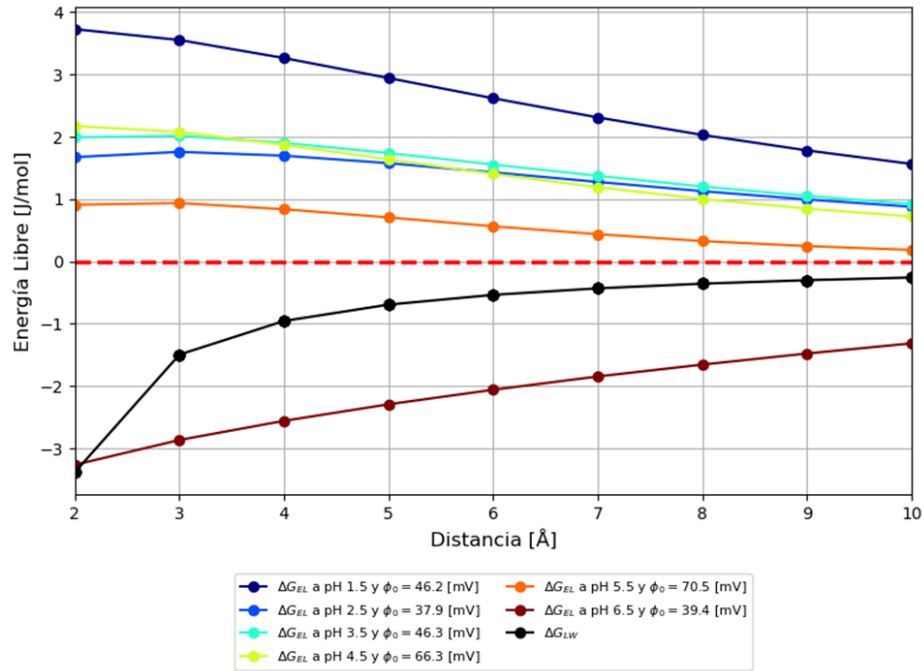


Figura 34: Energía vs distancia a pH ácido y baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ).

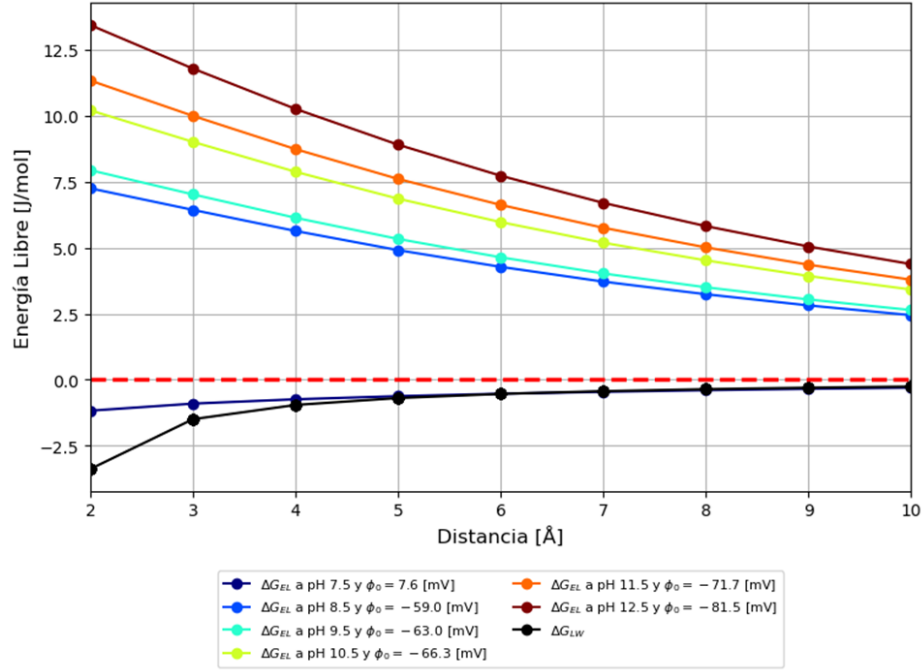


Figura 35: Energía vs distancia a pH básico y baja fuerza iónica ( $\kappa = 0, 125 \text{ 1/Å}$ ).

En la Figura 36 se muestra la energía libre total de adherencia en función de la distancia para todo pH.

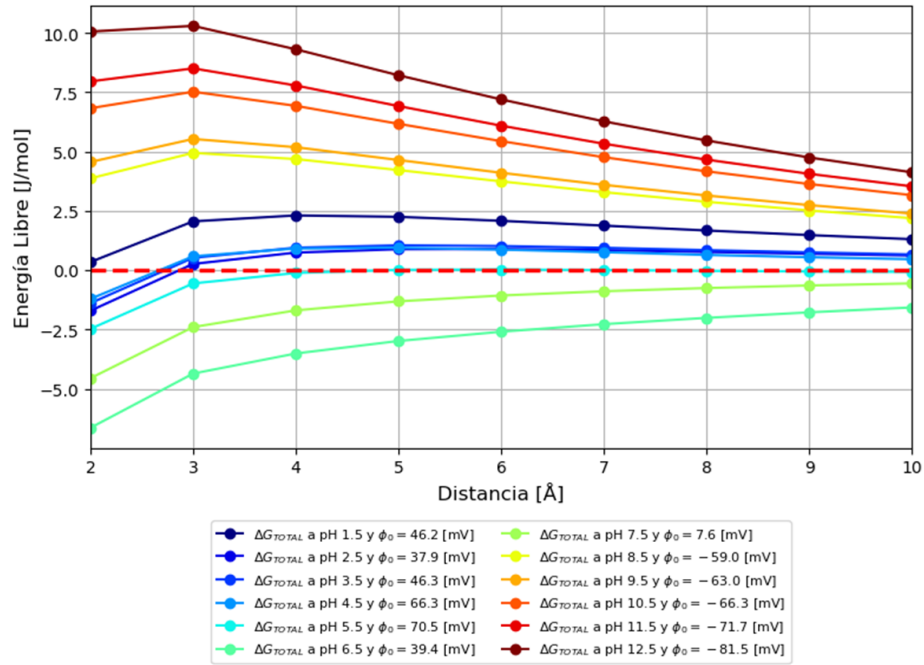


Figura 36: Energía total vs distancia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0, 125 \text{ 1/Å}$ ).

A pH ácido la proteína posee potencial principalmente positivo (Figura 32) y la pirita posee

potencial positivo (Figura 26), por lo que a este rango de pH parece dominar la electrostática global. Las energías libres electrostáticas son positivas, lo que indica que la adherencia es desfavorable e incluso puede no darse; por lo tanto, la interacción gobernante cuando la pirita está oxidada a pH ácido y baja fuerza iónica en el medio es la interacción de van der Waals.

A pH neutro (6,5 y 7,5) la proteína posee potencial principalmente negativo (Figura 32 y Figura 33) y la pirita posee potencial positivo (Figura 26), por lo que a este rango de pH parece dominar la electrostática global, ya que la energía libre de adherencia es menor a pH 7,5, condición en la cual la pirita tiene muy baja carga. Las energías libres electrostáticas son negativas, lo que indica que la adherencia es favorable y la interacción gobernante cuando la pirita está oxidada a pH neutro y baja fuerza iónica en el medio es la interacción electrostática.

A pH básico la proteína posee potencial principalmente negativo (Figura 33) y la pirita posee potencial negativo (Figura 26), por lo que a este rango de pH domina la electrostática global. Las energías libres electrostáticas son muy positivas, lo que indica que la adherencia no es posible cuando la pirita está reducida a pH básico y baja fuerza iónica en el medio.

Los resultados a pH ácido y neutro en baja salinidad concuerdan con los resultados de González (2023), donde a pH neutro se dio una alta adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita y a pH ácido se obtuvo una baja adherencia.

El efecto de la distancia en la reducción de la energía libre electrostática indica que se puede mejorar la adherencia en presencia de EPS, ya que las bacterias se adherirían más lejos de la superficie de pirita; incluso se podría mejorar a pH alto ya que los EPS ayudan en la oxidación de pirita.

### 4.3. Energía libre de adherencia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ )

Los cálculos de energía libre se separaron en función de su rango de pH para mejorar la visualización: pH ácido y pH básico.

En la Figura 37 y Figura 38 se muestra la energía libre de adherencia en función de la distancia para pH ácido y básico respectivamente.

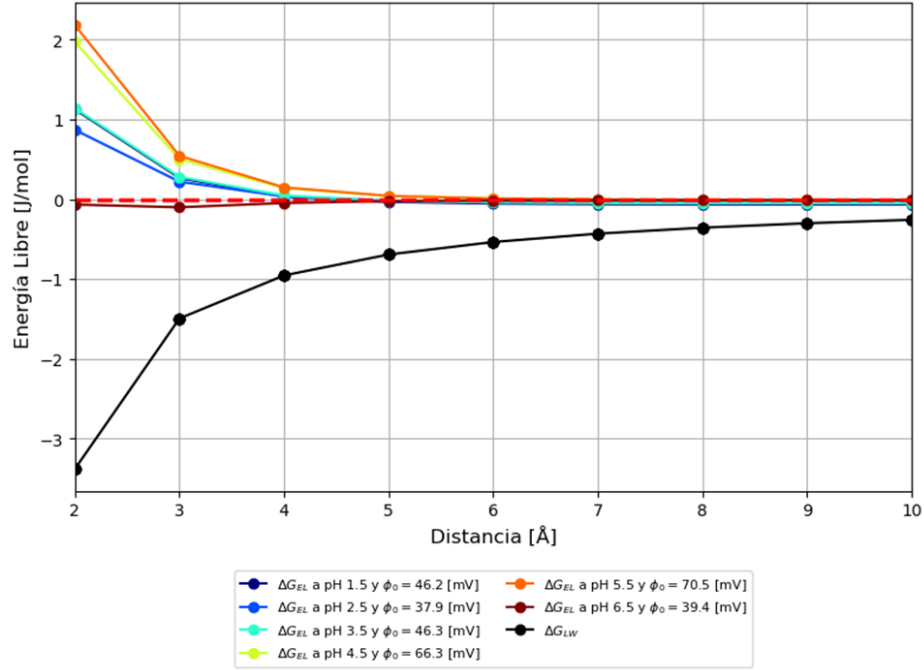


Figura 37: Energía vs distancia a pH ácido y alta fuerza iónica ( $\kappa = 1, 125 \text{ 1/Å}$ ).

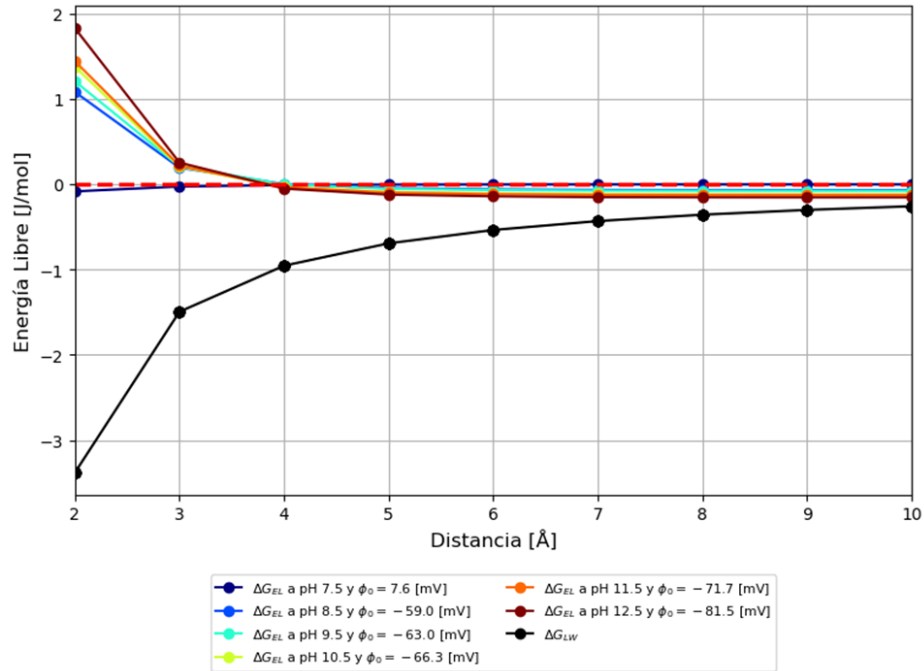


Figura 38: Energía vs distancia a pH básico y alta fuerza iónica ( $\kappa = 1, 125 \text{ 1/Å}$ ).

En la Figura 39 se muestra la energía libre total de adherencia en función de la distancia para todo pH.

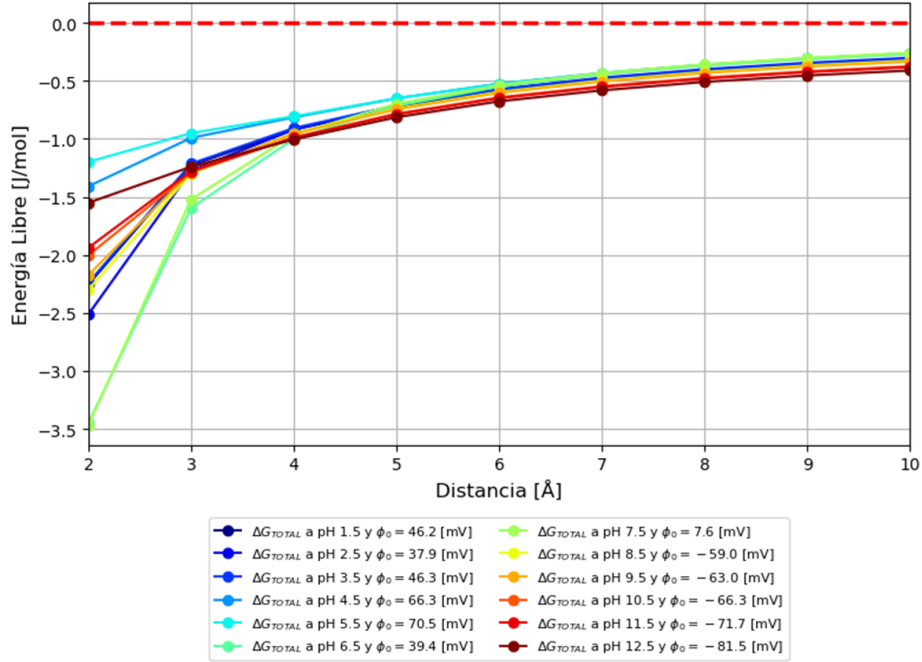


Figura 39: Energía total vs distancia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1, 125 \text{ 1/\AA}$ ).

A pH ácido la proteína posee potencial principalmente positivo (Figura 32) y la pirita posee potencial positivo (Figura 26), por lo que a este rango de pH parece dominar la electrostática global. Las energías libres electrostáticas son positivas, lo que indica que la adherencia es desfavorable; por lo tanto, la interacción gobernante cuando la pirita está oxidada a pH ácido y alta fuerza iónica en el medio es la interacción de van der Waals.

A pH neutro (6,5 y 7,5) la proteína posee potencial principalmente negativo (Figura 32 y Figura 33) y la pirita posee potencial positivo (Figura 26), sin embargo, la interacción electrostática es mínima, por lo tanto, la interacción gobernante cuando la pirita está oxidada a pH neutro y baja fuerza iónica en el medio es la interacción de van der Waals.

A pH básico la proteína posee potencial principalmente negativo (Figura 33) y la pirita posee potencial negativo (Figura 26), por lo que a este rango de pH domina la electrostática global. Las energías libres electrostáticas negativas, lo que indica que la interacción gobernante cuando la pirita está reducida a pH básico y baja fuerza iónica en el medio es la interacción de van der Waals.

Los resultados a alta salinidad concuerdan con los resultados de González (2023), donde a pH neutro se dio una alta adherencia de *A. ferrooxidans* a pirita y a pH ácido y básico se obtuvo una baja adherencia.

El efecto de la alta fuerza iónica en el medio disminuye la interacción electrostática, lo que favorece la adherencia ya que las fuerzas de van der Waals siempre son positivas y solo dependen de la distancia.

#### 4.4. Energía libre de adherencia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita

Los cálculos de energía libre se separaron en función de su rango de pH para mejorar la visualización: pH ácido y pH básico.

En la Figura 40 y Figura 41 se muestra la energía libre de adherencia en función de la distancia para pH ácido y básico respectivamente.

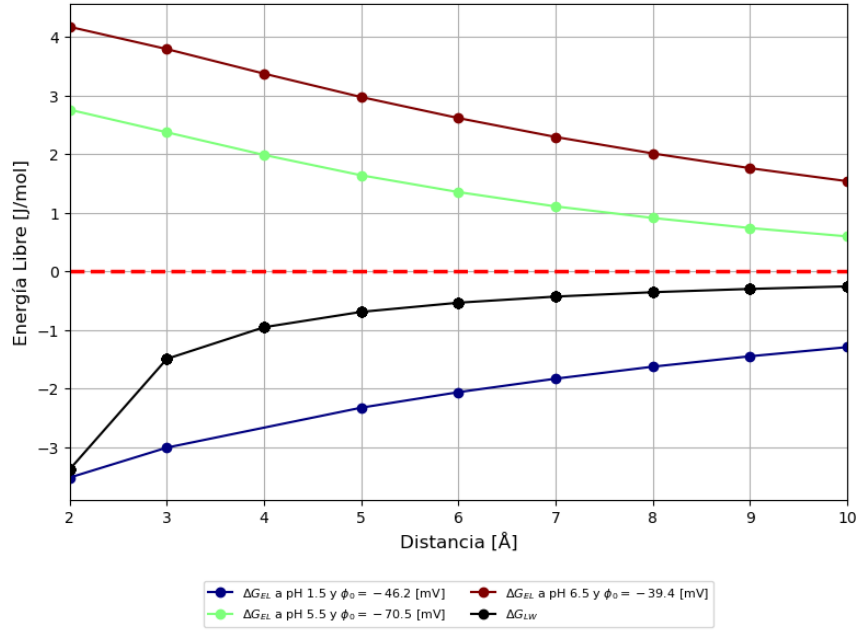


Figura 40: Energía vs distancia a pH ácido, baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita.

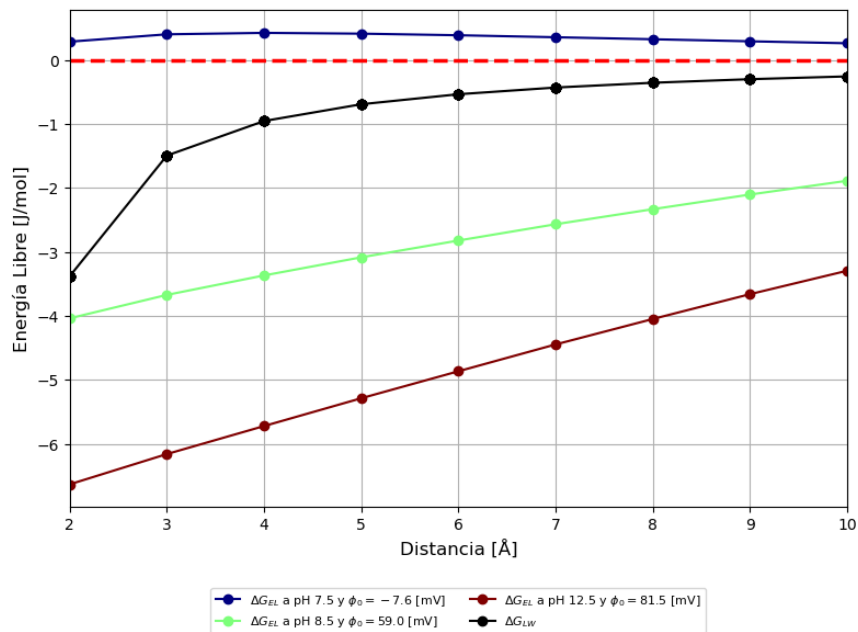


Figura 41: Energía vs distancia a pH básico, baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita.

En la Figura 42 se muestra la energía libre total de adherencia en función de la distancia para todo pH.

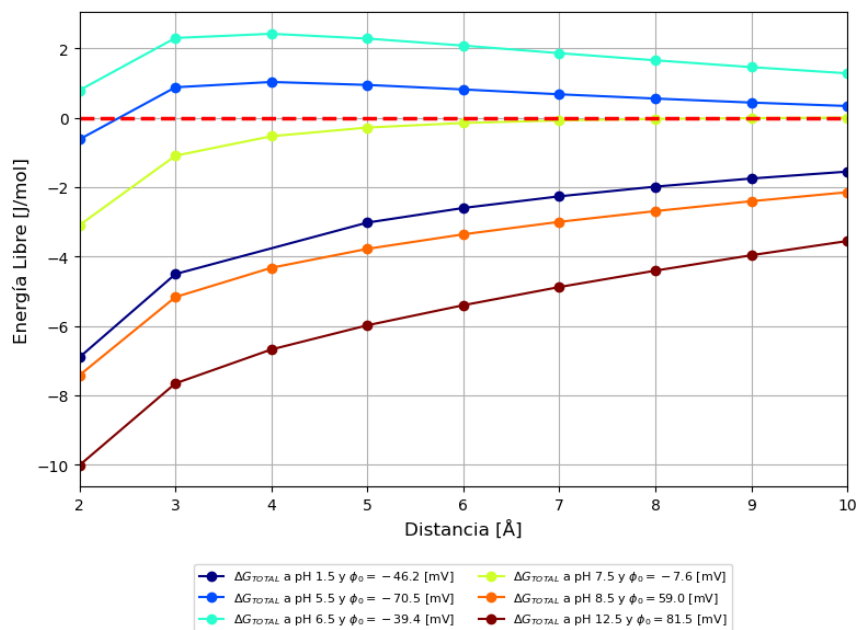


Figura 42: Energía total vs distancia a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita.

A pH ácido la proteína posee potencial principalmente positivo (Figura 32) y la pirita posee po-

tencial negativo (Figura 26), por lo que a este rango de pH no queda claro el mecanismo gobernante de adherencia cuando la pirita está reducida a pH ácido y baja fuerza iónica en el medio.

A pH neutro (6,5 y 7,5) la proteína posee potencial principalmente negativo (Figura 32 y Figura 33) y la pirita posee potencial negativo (Figura 26), por lo que a este rango de pH parece dominar la electrostática local, ya que la energía libre varía mucho, siendo que no existe una gran diferencia en los potenciales. Las energías libres electrostáticas son positivas, lo que indica que la adherencia es desfavorable y la interacción gobernante cuando la pirita está reducida a pH neutro y baja fuerza iónica en el medio es la interacción de van der Waals.

A pH básico la proteína posee potencial principalmente negativo (Figura 33) y la pirita posee potencial positivo (Figura 26), por lo que a este rango de pH domina la electrostática global. Las energías libres electrostáticas son muy positivas, lo que indica que el mecanismo gobernante de adherencia cuando la pirita está oxidada a pH básico y baja fuerza iónica en el medio es la interacción electrostática.

Resalta la mejora en la adherencia al oxidar la pirita en pH básico, podría analizarse el efecto de la adherencia en soluciones básicas si previamente se sobreoxida la pirita, con aireación enriquecida o incluso con el uso de reactivos como peróxido de hidrógeno.

#### **4.5. Energía libre de adherencia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita**

Los cálculos de energía libre se separaron en función de su rango de pH para mejorar la visualización: pH ácido y pH básico.

En la Figura 43 y Figura 44 se muestra la energía libre de adherencia en función de la distancia para pH ácido y básico respectivamente.

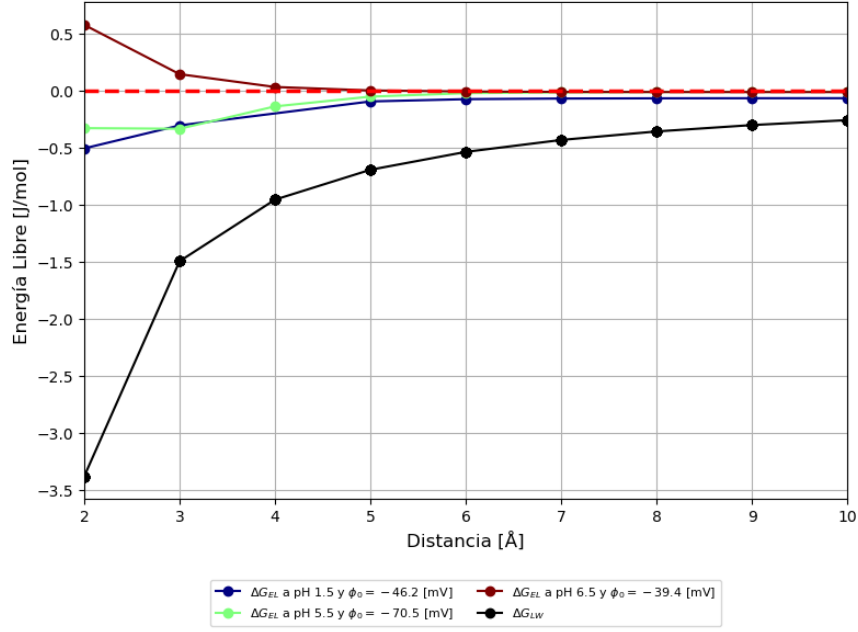


Figura 43: Energía vs distancia a pH ácido, alta fuerza iónica ( $\kappa = 1, 125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita.

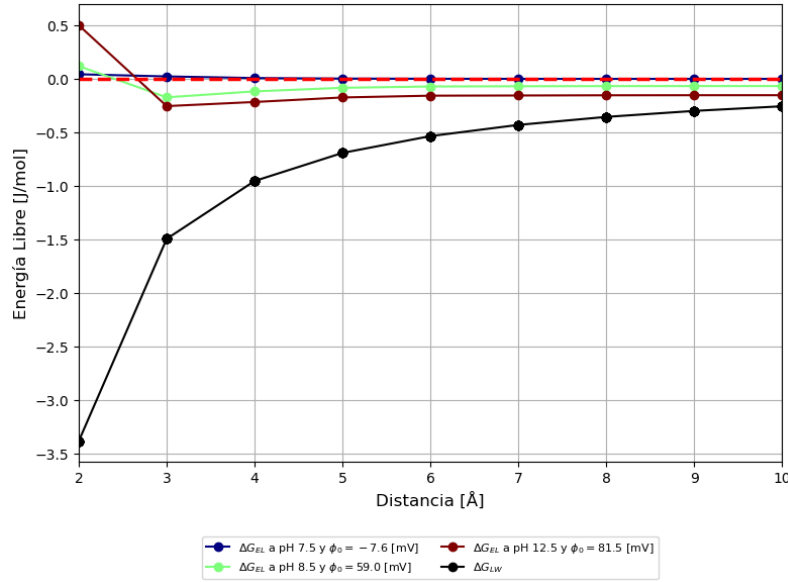


Figura 44: Energía total vs distancia a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1, 125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita.

En la Figura 45 se muestra la energía libre total de adherencia en función de la distancia para todo pH.

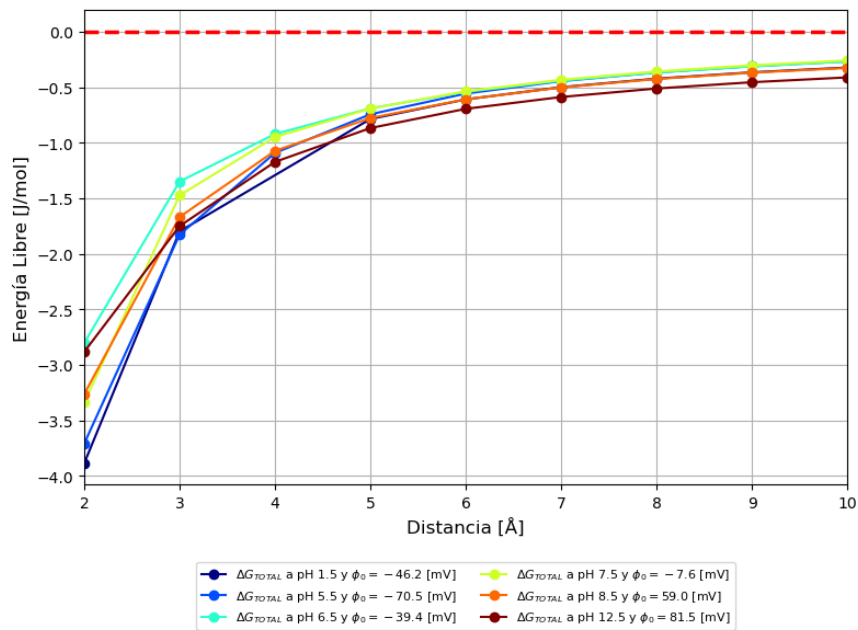


Figura 45: Energía vs distancia a pH básico, alta fuerza iónica ( $\kappa = 1, 125 \text{ 1/\AA}$ ) e inversión de potencial de pirita.

En todos los rango de pH, la energía libre electrostática tiene un valor mínimo, por lo cual la interacción dominante es la interacción de van der Waals.

A pesar de que la interacción electrostática no es un factor clave para estas condiciones, si se presentan mejoras al reducir la pirita en pH ácido y oxidarla en pH básico.

## 4.6. Electrostática local

Se presenta la visualización de potencial electrostático del citocromo C Cyc2 en diferentes condiciones.

La Figura 46 muestra el potencial para el mejor caso a baja fuerza iónica, el que se consigue a pH 6,5 con potencial de pirita positivo y potencial de la proteína principalmente negativa.

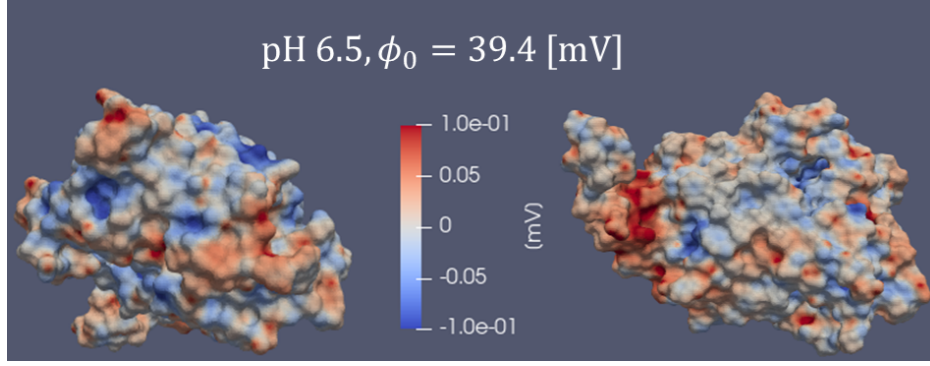


Figura 46: Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del mejor caso de potencial electrostático del Citocromo C Cyc2 a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ).

La Figura 47 muestra el potencial para el peor caso a baja fuerza iónica, el que se consigue a pH 12,5 con potencial de piritita negativo y potencial de la proteína principalmente negativa.

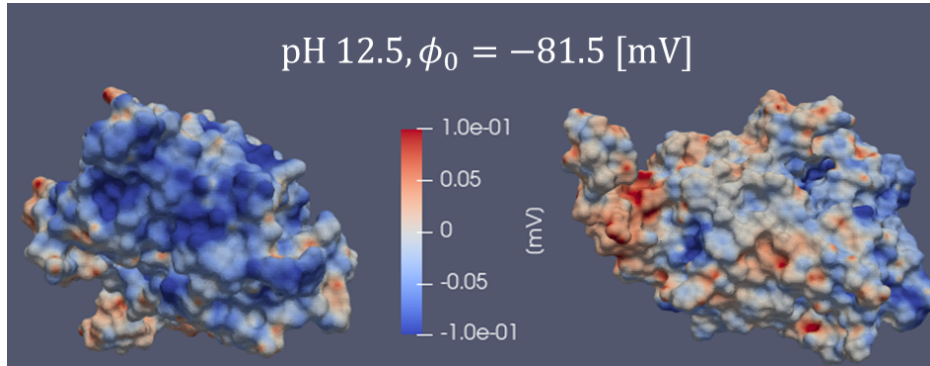


Figura 47: Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del peor caso de potencial electrostático de Citocromo C Cyc2 a baja fuerza iónica ( $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ ).

La Figura 48 muestra el potencial para el mejor caso a alta fuerza iónica, el que se consigue a pH 7,5 con potencial de piritita positivo y potencial de la proteína principalmente negativa.

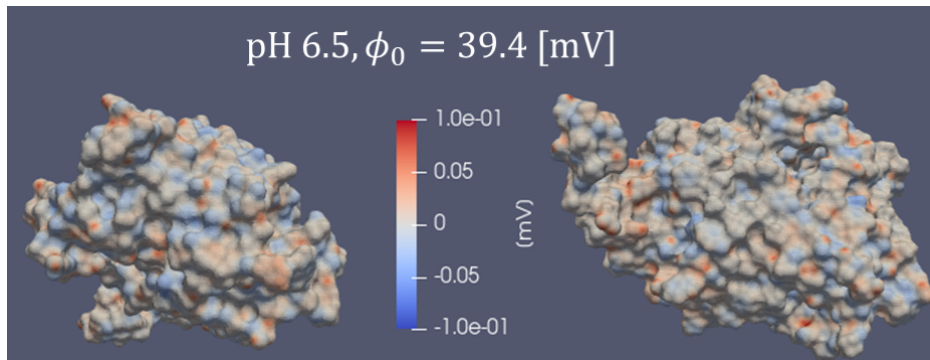


Figura 48: Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del mejor caso de potencial electrostático de Citocromo C Cyc2 a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ).

La Figura 49 muestra el potencial para el peor caso a alta fuerza iónica, el que se consigue a pH 5,5 con potencial de pirita positivo y potencial de la proteína neutral.

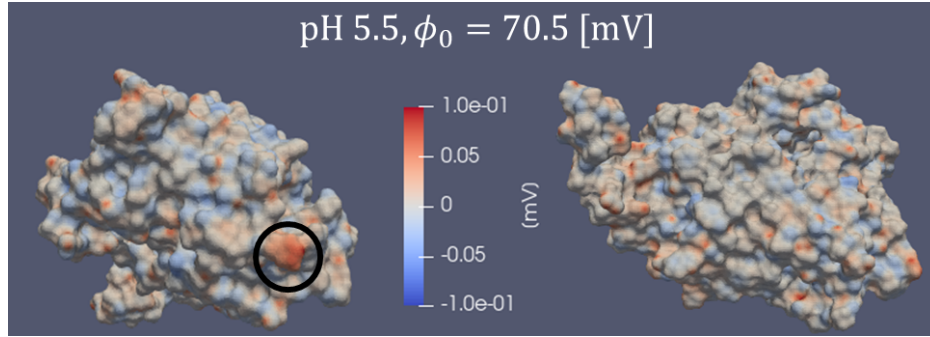


Figura 49: Vista frontal (izquierda) y lateral (derecha) del peor caso de potencial electrostático de Citocromo C Cyc2 a alta fuerza iónica ( $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ ).

A baja salinidad se aprecian los efectos de la distribución de potencial generada por el sistema completo, a pH 12,5 se obtuvo la mayor energía libre, sin embargo, se observa que hubo cambios de potencial a lo largo de la proteína (Figura 47), recordando que en agua desionizada la proteína presenta un potencial muy negativo (Figura 33); a pH 6,5 se observan zonas de potencial positivo en la zona de adherencia (Figura 46), recordando que a este pH en agua desionizada la proteína tenía un potencial muy negativo en la zona de adherencia (Figura 32), lo que indicaría que a baja salinidad, los efectos locales son dominantes para la adherencia. A alta salinidad se reducen los efectos del potencial electrostático, sin embargo, a pH 5,5 se observa una pequeña superficie de potencial más positivo en la zona de adherencia (Figura 49) lo que indicaría que los efectos locales también son importantes a este nivel de salinidad.

## 5. Conclusiones

Las conclusiones de esta investigación son las siguientes:

El modelado de las energías libres mediante la caracterización de grano fino de la proteína externa citocromo Cyc2 resulta viable para estudiar la adherencia del sistema *Acidithiobacillus ferrooxidans*-pirita, el modelo de Poisson-Boltzmann parece ser un modelo capaz de reproducir observaciones experimentales, a pesar de sus limitaciones en sistemas tan complejos como el procesamiento de minerales, resaltando sus resultados a baja salinidad y pH neutro, sin embargo, existe incongruencia a pH básico el cual experimentalmente ha dado mayores adherencias a las vistas en esta investigación.

La variación del pH juega un rol importante en las interacciones electrostáticas, notándose una tendencia de las energías totales con respecto al estado de protonación de la proteína en salinidad baja y con respecto al potencial superficial de pirita en salinidad alta.

La distancia puede afectar de forma positiva a la adherencia, ya que las interacciones electrostáticas decaen con la distancia y pueden ser repulsivas o adhesivas, en cambio, la interacción de van der Waals siempre es adhesiva a pesar de disminuir con la distancia.

La salinidad está directamente relacionada con las interacciones electrostáticas, ya que su aumento disminuye el rango de efecto electrostático, observándose adherencia en todos los pH a alta salinidad debido a que las interacciones de van der Waals no se ven afectadas, además, una gran cantidad de iones disueltos aumenta la probabilidad de reacción del mineral con el medio.

El grado de oxidación de la pirita en medios ácidos o básicos puede cambiar completamente el comportamiento de la adherencia del sistema estudiado, observándose que al invertir los potenciales de pirita mejora la adherencia en general, destacando la mejora en ambientes extremos.

Los mejores resultados de adherencia se dieron a pH neutro-básico y mineral oxidado, lo que favorecería la flotación con agua de mar si primero se oxida el mineral; se favorece la adherencia a pH ácido y mineral reducido por lo que las bacterias podrían usarse en lixiviación, controlando la concentración de  $\text{Fe}^{2+}$  para no sobreoxidar los minerales sulfurados ni pasivarlos.

## 6. Trabajo futuro

El trabajo a futuro relacionado a este trabajo comprende los siguientes puntos:

- Caracterización explícita de iones en solución.
- Caracterización fisicoquímica de la superficie de pirita.
- Caracterización de reacciones químicas en la superficie de pirita.
- Caracterización de superficie extracelular de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
- Caracterización de EPS en distintas condiciones.
- Modelado dinámico de adherencia.

## 7. Bibliografía

- Alexov, E. (2004). Numerical calculations of the pH of maximal protein stability: The effect of the sequence composition and three-dimensional structure. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 271(1), 179-185.
- Abu-Lail, N. I., Camesano, T. A. (2006). Role of ionic strength on the relationship of biopolymer conformation, DLVO interactions, and bioadhesion. *Langmuir*, 22(18), 7296–7301.
- Abu-Lail, L. I., Liu, Y., Atabek, A., Camesano, T. A. (2007). Quantifying the effects of ionic strength and temperature on adhesion forces between *Pseudomonas putida* KT2442 and surfaces. *Environmental Science Technology*, 41(23), 8031-8037.
- Barnes, J., Hut, P. (1986). A hierarchical  $O(N \log N)$  force-calculation algorithm. *Nature*, 324(6096), 446–449.
- Bulatovic, S., Wyslouzil, D., and Kant, C. (1998). Operating practices in the beneficiation of major porphyry copper/molybdenum plants from Chile: Innovated technology and opportunities, a review. *Minerals Engineering*, 11(4), 313–331.
- Castro, S. (2012). Challenges in Flotation of Cu-Mo Sulfide Ores in sea Water. *Water in Mineral Processing*, 29–40.
- Chaudhari, S., Tare, V. (1996). Analysis and evaluation of heavy metal uptake and release by insoluble starch xanthate in aqueous environment. *Water Science and Technology*, 34(10), 161–168.
- Cochilco (2023). Estado Actual de la Hidrometalurgia de Cobre en Chile.
- Codelco (2018). Lixiviación: “El riego”.
- Cooper, C. D. (2015). Biomolecular electrostatics with continuum models: A boundary integral implementation and applications to biosensors (PhD thesis). Boston University, Boston, MA, United States.
- Cooper, C. D., Barba, L. A. (2016). Poisson–Boltzmann model for protein–surface electrostatic

interactions and grid-convergence study using the PyGBe code. *Computer Physics Communications*, 202, 23–32.

Decherchi, S., Rocchia, W. (2013). A general and robust ray-casting-based algorithm for triangulating surfaces at the nanoscale. *PLoS ONE*, 8(4), e59744.

de Vargas, L. (2004). *Tratamiento de agua para consumo humano*, vol. 1. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente.

Derjaguin, B. (1934). Theory of stability of colloids and thin films. *Kolloid-Zeitschrift*, 69, 155–164.

Dufrêne, Y. F. (2000). Direct characterization of the physicochemical properties of fungal spores using functionalized AFM probes. *Biophysical Journal*, 78(6), 3286–3291.

Fornasiero, D., Eijt, V., Ralston, J. (1992). An electrokinetic study of pyrite oxidation. *Colloids and Surfaces*, 62, 63–73.

Franks, F. (1975). Water in Disperse Systems. In F. Franks (Ed.), *Water: A Comprehensive Treatise* (Vol. 5). Plenum Press.

Fowkes, F. M. (1983). Acid-base interactions in polymer adhesion. In D. J. Hourston D. R. Lloyd (Eds.), *Adhesion 7* (pp. 1–16). Elsevier Applied Science Publishers.

González, E. (2023). Hidrofobicidad como mecanismo de adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* a la pirita en distintos medios acuosos.

Hamaker, H. C. (1937). The London–van der Waals attraction between spherical particles. *Physica*, 4(10), 1058–1072.

Hill, T. L. (1960). *An introduction to statistical thermodynamics*. Addison-Wesley Publishing Company.

Hogg, R., Healy, T. W., Fuerstenau, D. W. (1965). *Trans. Faraday Soc.*, 62, 1638–1651.

Hunter, R. J. (2001). *Foundations of Colloid Science* (2nd ed.). Oxford University Press.

Ingledeu, W. J., Cox, J. C., Halling, P. J. (1977). A proposed mechanism for energy conservation during  $\text{Fe}^2$  oxidation by *Thiobacillus ferro-oxidans*: Chemiosmotic coupling to net H influx. *FEMS Microbiology Letters*, 2, 193–197.

Jerez, C. A. (2009). *Metal Extraction and Biomining*. Elsevier.

Jiang, V., Khare, S. D., Banta, S. (2021). Computational structure prediction provides a plausible mechanism for electron transfer by the outer membrane protein Cyc2 from *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Protein Science*, 30(8), 1640–1652.

Jucker, B. A., Harms, H., Zehnder, A. J. B. (1998). Polymer interactions between bacterial surfaces and solid substrates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 11(1-4), 33–45.

Meinders, J. M., van der Mei, H. C., Busscher, H. J. (1995). Deposition efficiency and reversibility of bacterial adhesion under flow. *Journal of Colloid and Interface Science*, 176(2), 329–341.

Napier-Munn, T., Wills, B. A. (2006). *Mineral processing technology: An introduction to the practical aspects of ore treatment and mineral recovery*. Elsevier.

Norde, W. (2003). *Colloids and Interfaces in Life Sciences*. Marcel Dekker.

Olsson, M. H. M., Sondergaard, C. R., Rostkowski, M., Jensen, J. H. (2011). PROPKA3: Consistent treatment of internal and surface residues in empirical pKa predictions. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 7(2), 525–537.

Pashley, R. (1981). DLVO and hydration forces between mica surfaces in  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , and  $\text{Cs}^+$  electrolyte solutions: A correlation of double-layer and hydration forces with surface cation exchange properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 83(2), 531–546.

Raichur, A., Wang, X., Parekh, B. (2001). Estimation of surface free energy of pyrites by contact angle measurements. *Minerals Engineering*, 14(1), 65–75.

Rawlings, D. E. (2002). Heavy metal mining using microbes. *Annual Review of Microbiology*, 56, 65–91.

Rohwerder, T., Gehrke, T., Kinzler, K., Sand, W. (2003). Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63, 239–248.

Rossi, G. (1990). *Biohydrometallurgy*. McGraw-Hill Publishing, New York.

Salomon-Ferrer, R., Case, D. A., Walker, R. C. (2013). An overview of the Amber biomolecular simulation package. *WIREs Computational Molecular Science*, 3(2), 198–210.

Sand, W., Gehrke, T. (2006). Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria. *Research in Microbiology*, 157(1), 49–56.

Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R., Schippers, A. (2001). Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism—a critical evaluation of bacterial leaching. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 238–245.

San Martín, F., Aguilar, C. (2019). Study of the adhesion mechanism of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to pyrite in fresh and saline water. *Minerals*, 9, 306.

San Martín, F., Kracht, W., Vargas, T., Rudolph, M. (2020a). Mechanisms of pyrite biodepression with *Acidithiobacillus ferrooxidans* in seawater flotation. *Minerals Engineering*, 145, 106067.

San Martín, F., Kracht, W., Vargas, T. (2020b). Attachment of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to pyrite in fresh and saline water and fitting to Langmuir and Freundlich isotherms. *Biotechnology Letters*, 42, 957–964.

Sillitoe, R. H. (2010). Porphyry Copper Systems. *Economic Geology*, 105, 3–41.

Sondergaard, C. R., Olsson, M. H. M., Rostkowski, M., Jensen, J. H. (2011). Improved treatment of ligands and coupling effects in empirical calculation and rationalization of pKa values. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 7(7), 2284–2295.

Takano, H., Kenseth, J. R., Wong, S. S., O'Brien, J. C., Porter, M. D. (1999). Chemical and struc-

tural analysis of surfaces modified with functionalized alkylthiol monolayers. *Chemical Reviews*, 99(10), 2845–2890.

Valdivieso, L., Sánchez, A. L., Song, S. (2005). On the cathodic reaction coupled with the oxidation of xanthates at the pyrite/aqueous solution interface. *International Journal of Mineral Processing*, 77(2), 154–164.

Van Loosdrecht, M. C. M., Zehnder, A. J. B. (1990). Physicochemical description of biofilm adhesion. *Experientia*, 46(8), 817–822.

Van Oss, C. J. (1993). Acid-base interfacial interactions in aqueous media. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 78(1), 1–49.

van Oss, C. J., Chaudhury, M. K., Good, R. J. (1987). Monopolar surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 28, 35–64.

Verwey, E. J. W., Overbeek, J. T. G. (1948). *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*. Elsevier.

Vilinska, A., Hanumantha Rao, K. (2009). Surface thermodynamics and extended DLVO theory of *Acidithiobacillus ferrooxidans* cells adhesion on pyrite and chalcopyrite. *Open Colloid Science Journal*, 2(1), 1–14.

Wang, S. S., Scanlon, M. J. (1983). Froth flotation process. US Patent 4,394,257.

Wang, X., Forssberg, K. E. (1991). Mechanisms of pyrite flotation with xanthates. *International Journal of Mineral Processing*, 33(3–4), 275–290.

Williams, P., Barton, M., Johnson, D., Fontboté, L., De Haller, A., Mark, G., Marschik, R. (2005). Iron oxide copper-gold deposits: geology, space-time distribution, and possible modes of origin. *Economic Geology*, 371–405.

Wills, B. A., Finch, J. A. (2016). *Wills' Mineral Processing Technology: An Introduction to the Practical Aspects of Ore Treatment and Mineral Recovery* (8th ed.). Elsevier.

## 8. Anexos

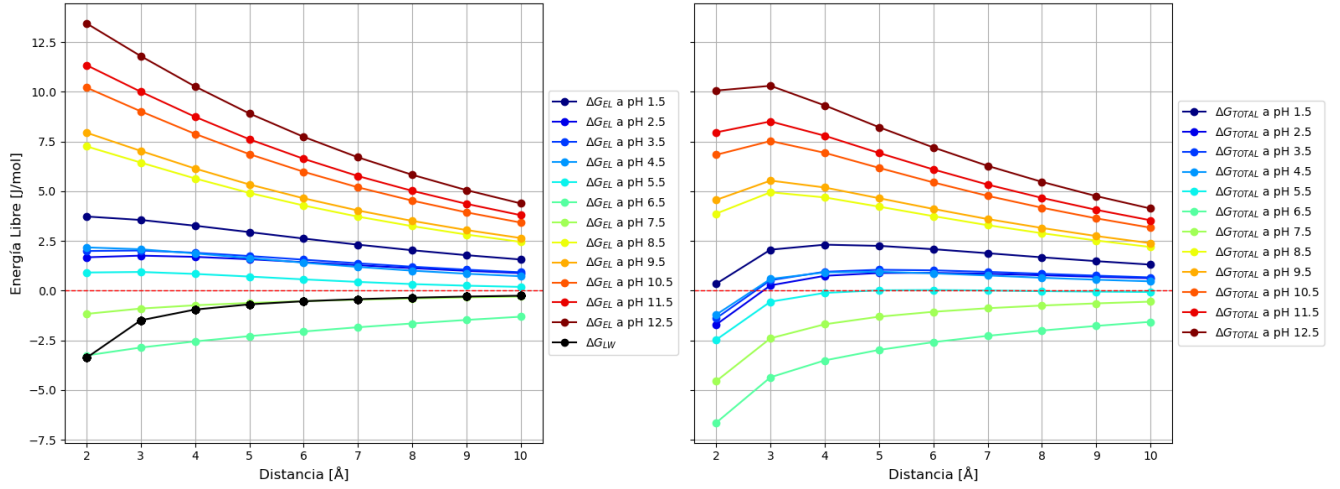


Figura 50: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,125 \text{ 1/\AA}$ .

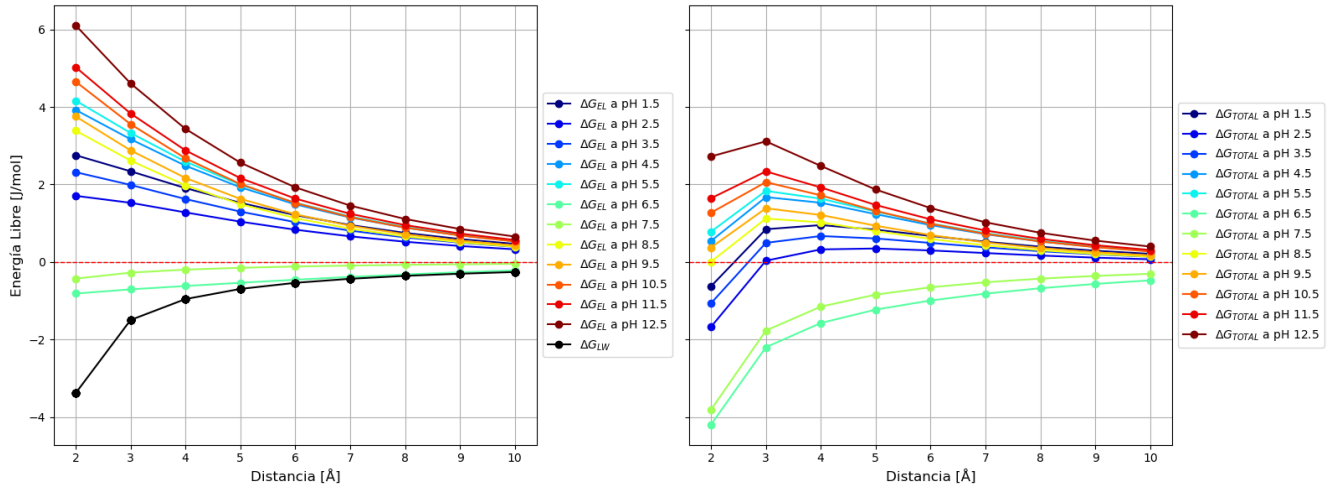


Figura 51: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,225 \text{ 1/\AA}$ .

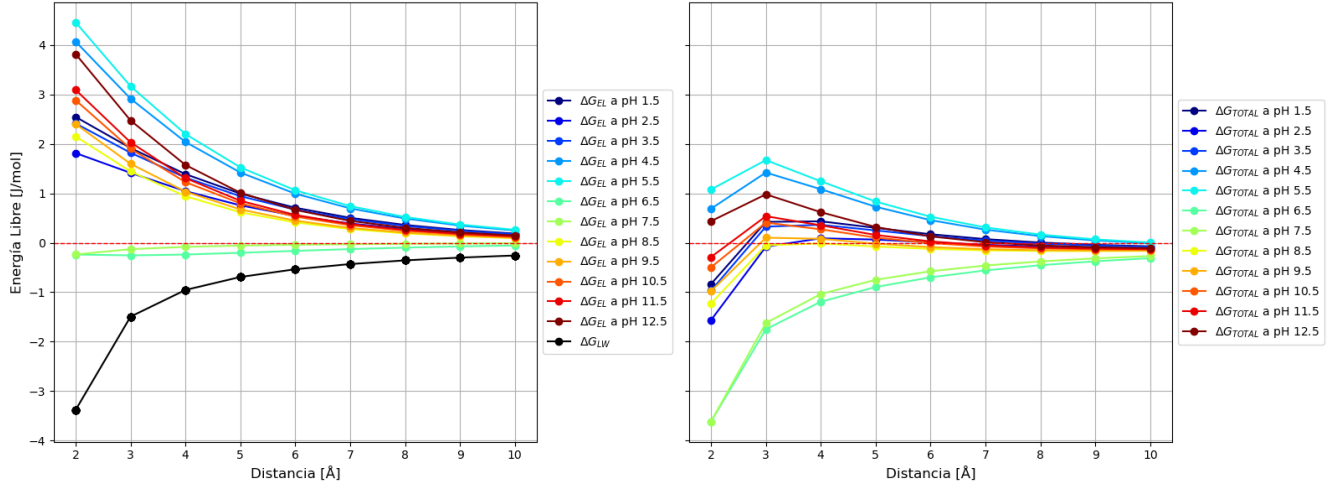


Figura 52: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,325 \text{ 1/\AA}$ .

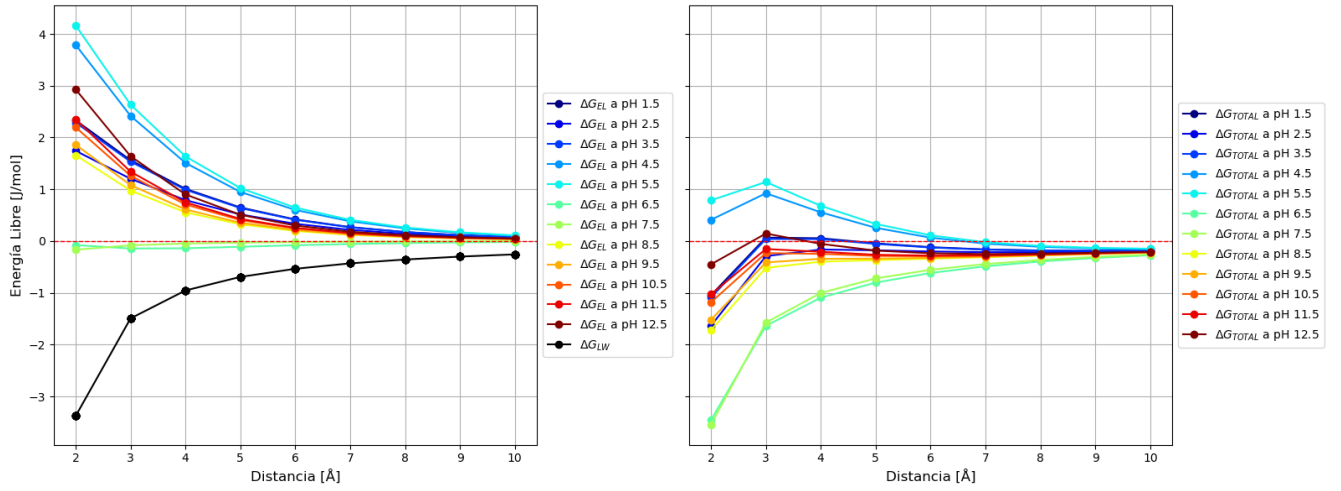


Figura 53: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,425 \text{ 1/\AA}$ .

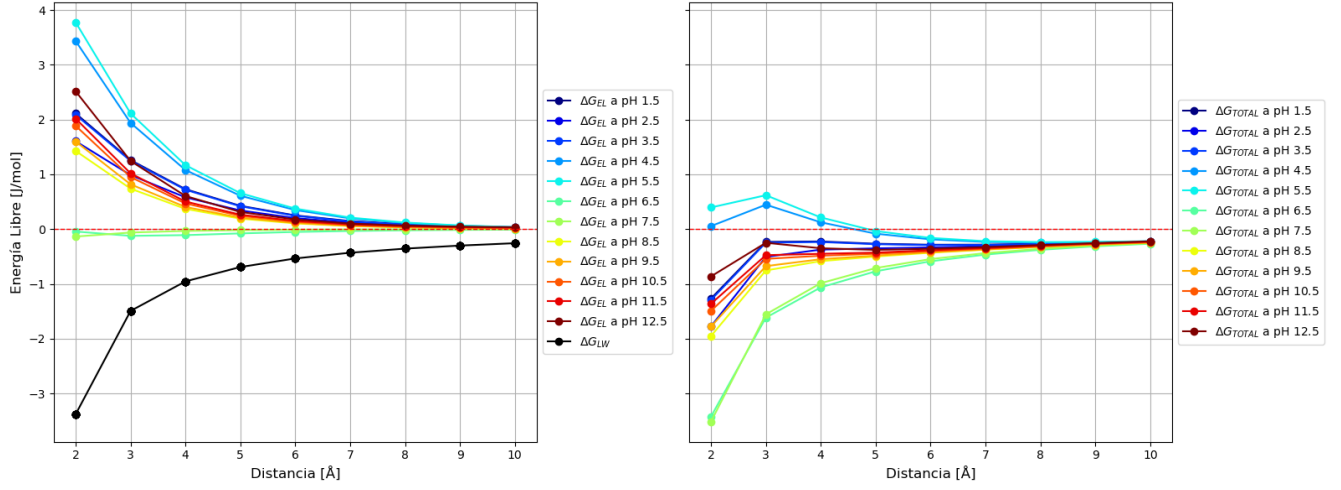


Figura 54: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,525 \text{ 1/Å}$ .

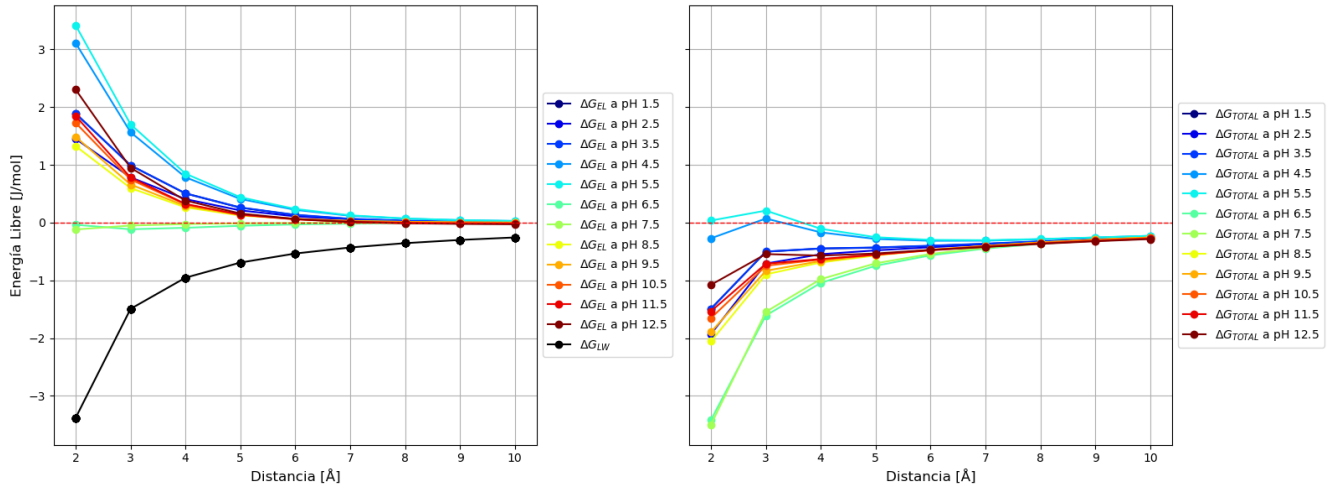


Figura 55: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,625 \text{ 1/Å}$ .

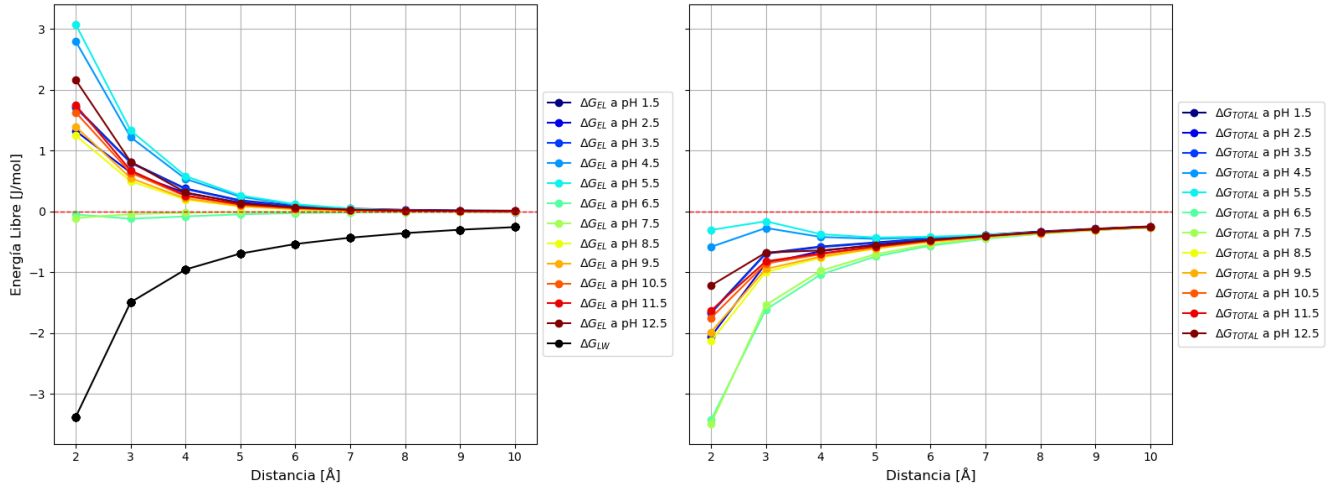


Figura 56: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,725 \text{ 1/Å}$ .

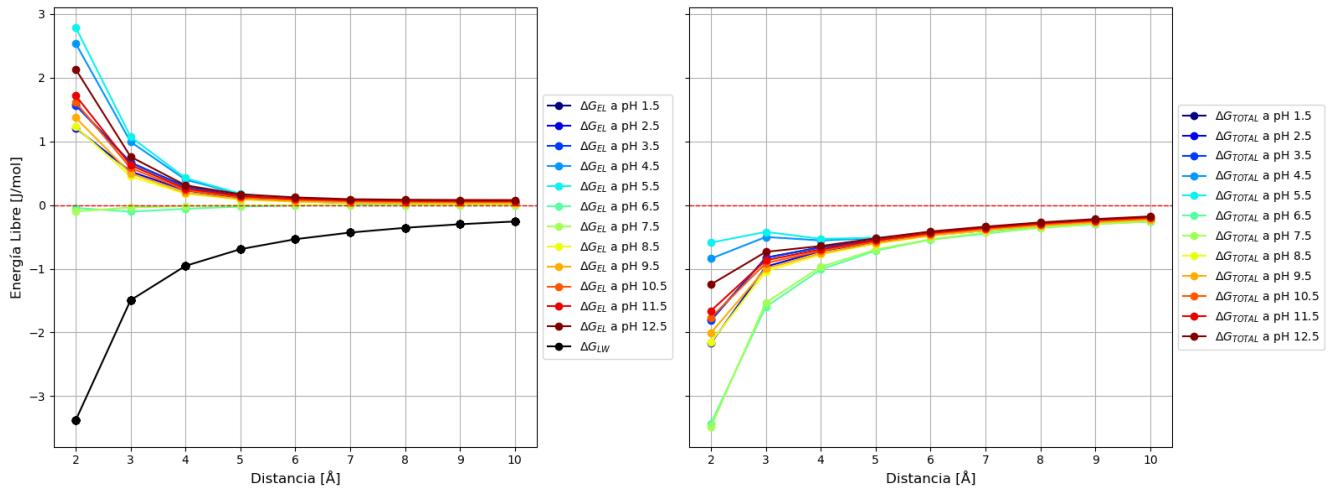


Figura 57: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,825 \text{ 1/Å}$ .

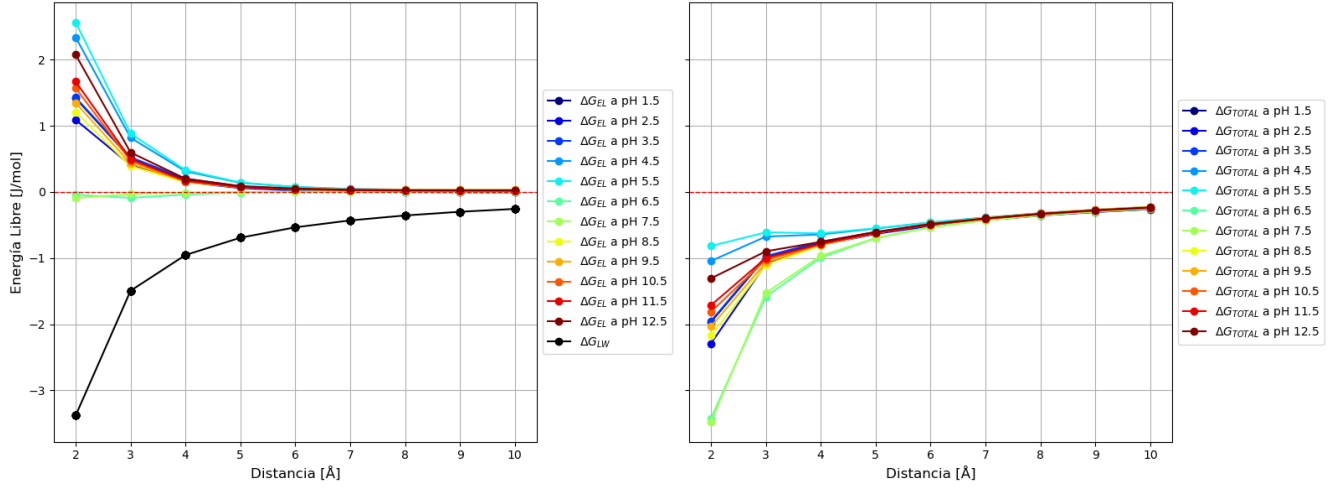


Figura 58: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 0,925 \text{ 1/Å}$ .

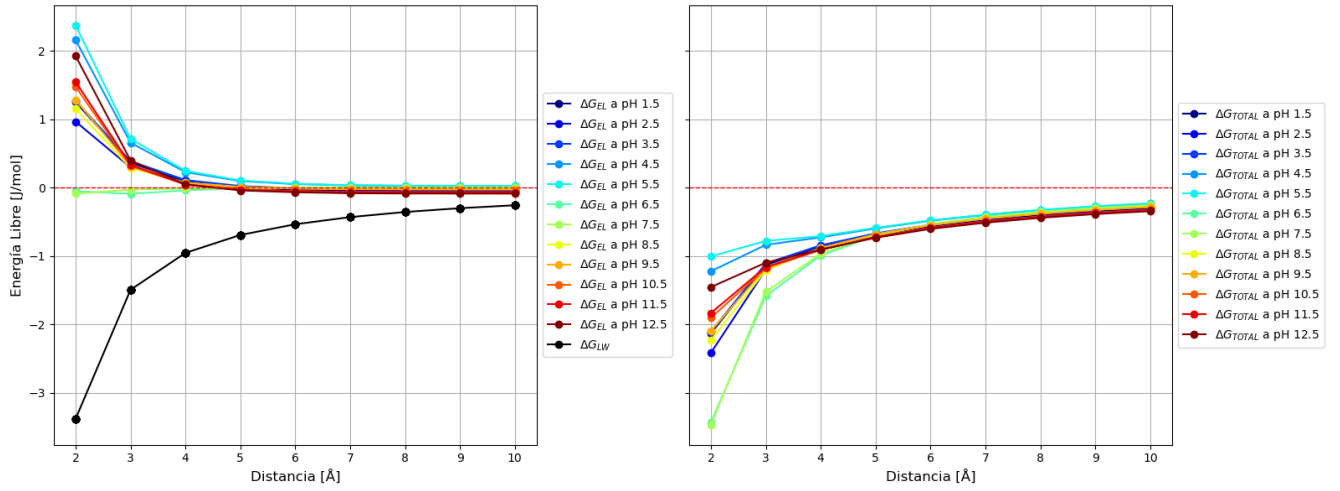


Figura 59: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 1,025 \text{ 1/Å}$ .

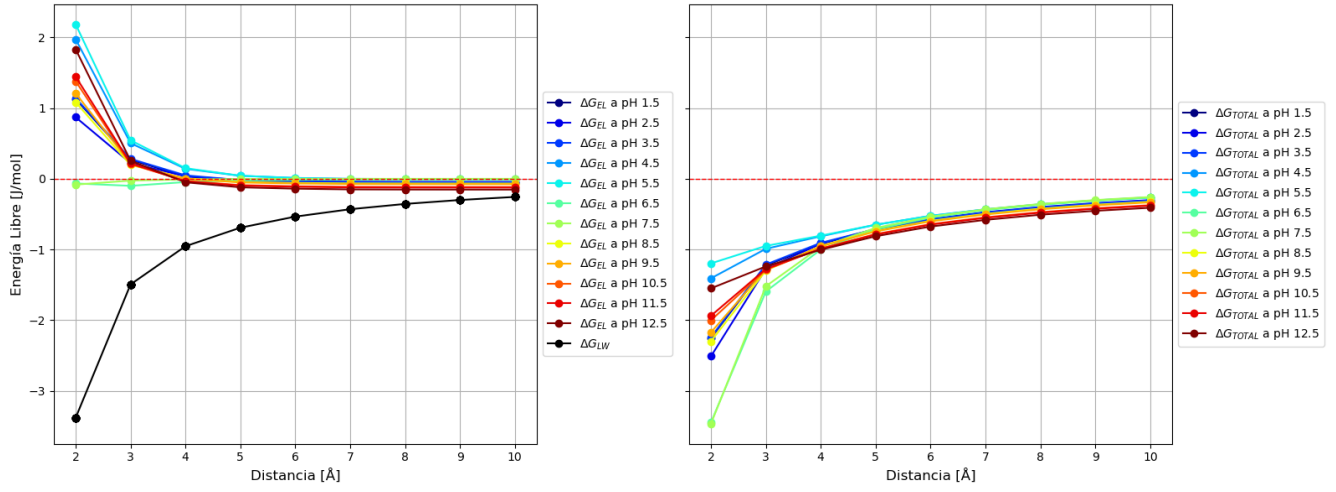


Figura 60: Energías libres de adherencia (izquierda) y energía libre total de adherencia (derecha) para todo pH a  $\kappa = 1,125 \text{ 1/\AA}$ .