

2
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

"LIXIVIACION BACTERIOLOGICA DE UN
MINERAL SULFURADO DE COBRE".

TESIS DE LICENCIATURA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO QUIMICO METALURGICO
P R E S E N T A :
ALFONSO LOPEZ JUAREZ



MEXICO, D. F.

280956

1960

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Prof. GENESCÁ LLONGUERAS JUAN.

Vocal: Prof. HUERTA CERDÁN ANTONIO.

Secretario: Prof. RIVERA SANTILLÁN ROSA ELVA.

1er. Suplente: Prof. JUÁREZ SÁNCHEZ FAUSTINO.

2do. Suplente: Prof. GONZÁLEZ SÁNCHEZ JORGE ANTONIO.

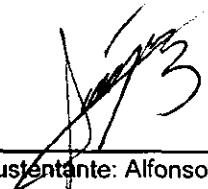
Sitio donde se desarrolló el tema:

Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad de Química.
Edificio D.
Departamento de Ingeniería Metalúrgica
Laboratorio de Metalurgia Extractiva.

Consejo de Recursos Minerales.
Centro de Experimentación del Noreste
Chihuahua, Chihuahua.
Laboratorio de Control Químico.



Asesor: Dra. Rosa Elva Rivera Santillán.



Sustentante: Alfonso López Juárez.

AGRADECIMIENTOS.

A mi familia por haber confiado en mi durante todo este tiempo y por permitirme llegar hasta donde ahora.

En especial al Sr. Gilberto López M., y a la Sra. Ma. Epifania Juárez L., que son lo más importante en mi vida.

A todos y cada uno de mis hermanos por el apoyo incondicional y gran confianza depositada en mi.

A la Dra. Rosa Elva Rivera S., por la paciencia mostrada durante la realización de este trabajo y por los valiosos consejos proporcionados.

Al jurado asignado por el tiempo que dedicaron en la supervisión del presente trabajo.

A todos y cada uno de los amigos incondicionales que he conocido en el transcurso de la carrera.

Agradecimiento especial merece el IQM. José Trinidad Pérez Q., por la gran ayuda que me brindo para la realización de este trabajo.

A la Lic. Emma Martínez R., por la colaboración a este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de formar parte de ella.

Finalmente, a la F. Q., especialmente al Departamento de Ingeniería Metalúrgica por permitirme ser parte de su gran familia.

ÍNDICE GENERAL.

Prefacio.....	i
Objetivos.....	ii
Resumen.....	iii
Capítulo 1.	
Fundamentos teóricos.	
Introducción.....	1
1.1 Bacterias acidofilicas y su actividad en la oxidación de minerales sulfurados.....	3
1.1.1 Mesófilos.....	5
1.1.2 Termófilos moderados.....	6
1.1.3 Termófilos extremos.....	7
1.2 Microbiología de la oxidación bacteriana.....	8
1.2.1 Oxidación del hierro.....	9
1.2.2 Oxidación del azufre.....	10
1.2.3 Fijación de bióxido de carbono.....	11
1.3 <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	11
1.4 Fundamentos del proceso de lixiviación mineral.....	15
1.4.1 Nutrientes en la lixiviación biológica.....	15
1.4.2 Aspectos químicos de la lixiviación biológica en soluciones ácidas.....	19
1.4.2.1 Lixiviación bacteriana de sulfuros de Fe.....	21
1.4.2.2 Acción catalítica de la plata.....	24
1.4.2.3 Oxidación anaeróbica con <i>Tf</i>	26
1.5 Aspectos electroquímicos de la biolixiviación de minerales sulfurados complejos.....	26

1.5.1 Electroquímica de los minerales sulfurados complejos.....	27
1.5.2 E_{ox} y pH.....	29
1.5.3 Mecanismos.....	30
1.5.4 El efecto galvánico en la disolución de sulfuros.....	32
1.6 Aplicación industrial de la biolixiviación.....	33
1.6.1 Instalaciones con reactor de agitación.....	34
1.6.2 Lixiviación en pila.....	37
Capítulo 2.	
Experimentación.	
Antecedentes.....	40
2.1 Preparación del mineral.....	40
2.1.1 Muestreo y análisis de la muestra.....	40
2.1.2 Preparación de la muestra.....	41
2.2 Preparación de las cepas.....	42
2.2.1 Medios de cultivo.....	43
2.2.2 Inoculación de los cultivos.....	43
2.2.3 Monitoreo de los parámetros.....	44
2.3 Adaptación de la bacteria al mineral.....	46
Capítulo 3.	
Resultados.	
Tablas.....	47
Gráficos.....	53
Capítulo 4.	
Análisis de resultados.....	61

PREFACIO.

Algunos microbios han demostrado ser capaces de extraer valores metálicos de sus minerales a escala industrial por medio de la solubilización del metal.

Aunque la lixiviación bacteriana de minerales de cobre de bajo contenido metálico y considerados como estériles para el proceso de concentración por flotación, ha sido practicada durante mucho tiempo y funciona desde, por lo menos, 1700 y posiblemente desde los tiempos de civilizaciones de la antigüedad, la función de los microbios en esta lixiviación no fue demostrada hasta los años 50's del presente siglo.

En esencia durante la biolixiviación, ciertas bacterias catalizan la oxidación de elementos tales como el ion ferroso o el azufre reducido. Actuando así obtienen energía que utilizan para el mantenimiento y proliferación de sus células. El efecto sobre el mineral (por ejemplo, calcopirita o pirita), es hacer que éste se desintegre, generando, a través de una compleja serie de pasos químicos intermedios, compuestos de Fe(III) solubles o ácido sulfúrico, los cuales pueden reaccionar con otros minerales presentes que no contienen hierro ferroso ni azufre reducido. De este modo puede ampliarse el número y variedad de minerales susceptibles de tratamiento por oxidación bacteriana.

El biobeneficio de minerales es una tecnología relativamente reciente, ésta involucra la remoción, por acción microbiana, de los componentes del mineral que interfieren con el beneficio de los valores metálicos a partir de su mineral. En la actualidad, esta tecnología ha tomado gran importancia en el procesamiento de algunos minerales de oro¹.

Objetivo general.

1.- Implementar la técnica de biolixiviación de minerales como una nueva área de investigación en el Departamento de Ingeniería Metalúrgica.

Objetivos particulares.

1.1.- Obtener cultivos de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans (Tf)*, a partir de las cepas puras proporcionadas por el Consejo de Recursos minerales, (CRM).

1.1.1.- Conocer y manejar los principales parámetros involucrados en el sistema de cultivo de la bacteria para posteriormente aplicarlos en el proceso de biolixiviación.

1.2.- Someter un mineral al proceso de biolixiviación con la finalidad de obtener información sobre la acción bacteriana en el mineral sulfurado.

1.2.1.- Obtener información que ayude a comprender las interacciones entre el mineral y la bacteria utilizados.

1.3.- Determinar los parámetros de operación óptimos del sistema lixivante para obtener una mayor disolución de valores.

1.4.- Conocer la influencia del tamaño de partícula en la disolución de valores.

1.5.- Con base en los resultados obtenidos comprobar o refutar la utilización de este proceso como una alternativa para el beneficio de minerales sulfurados.

RESUMEN.

La oxidación bacteriana como medio para extraer metales de yacimientos sulfurados se ha utilizado durante cientos de años. Este método fue empleado, de hecho, por los romanos, si bien no se daban cuenta de lo que estaban haciendo. En efecto hasta 1947 no se comprobó que en las aguas ácidas de mina hay bacterias presentes, y que desempeñan un papel fundamental en el proceso de oxidación del mineral.

En este trabajo se estudió el caso de un mineral en particular el cual fue sometido al tratamiento de lixiviación microbiana.

En la primera etapa de trabajo, se realizaron cultivos de diferentes cepas de la bacteria de interés, *Thiobacillus ferrooxidans*, para poner a punto todas las mediciones y manejo de las variables que se involucran en este tipo de sistemas. A partir de los resultados obtenidos en esta etapa se decidió emplear a la bacteria de la cepa conocida con el nombre de Nochebuena.

En la segunda etapa del trabajo se procedió a adaptar la bacteria al mineral, es decir, a la lixiviación de éste. Dicho mineral fue proporcionado por la Cía Minera Mexicana de Avino S.A de C.V., ubicada en el estado de Durango.

Los resultados obtenidos en esta última parte muestran los alcances que puede tener la aplicación de este proceso como un método alternativo para el beneficio de minerales y muy en particular para los minerales sulfurados.

En el primer capítulo se examinan los aspectos básicos de la lixiviación bacteriana, biológicos, electroquímicos, etc., haciendo mención de algunas de las ventajas de este proceso. Finalmente se mencionan algunos procesos a escala industrial que aplican esta nueva tecnología.

En los capítulos 2 y 3 se describen la metodología empleada y los resultados obtenidos, respectivamente. En el capítulo 4 se analizan los resultados y finalmente en el capítulo 5 se mencionan algunas conclusiones a las que se llegó después de haber trabajado ésta técnica. Para complementar el trabajo en el capítulo 6 se enlista la bibliografía consultada.

FUNDAMENTOS TEORICOS.

Debido al agotamiento de minerales de alto grado y a medida que se acaban las reservas de minerales oxidados, irá creciendo la utilización de las técnicas biológicas. La aplicación de estrictas leyes anti-contaminantes, aunado a lo anterior, hace pensar que la popularidad de las técnicas pirometalúrgicas para el tratamiento de minerales sulfurados tenderá a desaparecer⁽²⁾.

La oxidación bacteriológica de minerales es un término aplicado a la solubilización microbiológica de los constituyentes del mineral, ya sea para extraer los valores metálicos (biolixiviación) o para remover los constituyentes del mineral que interfieren con la extracción de los valores metálicos, por algún método convencional (biooxidación)⁽³⁾.

Una variedad de bacterias acidofílicas puede participar en la oxidación de minerales sulfurados con la consecuente solubilización de algunos metales. La bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* (*Tf*), es el primer organismo implicado en la lixiviación de diversos sulfuros tales como pirita, calcopirita y esfalerita. Es la más activa en la degradación de un amplio rango de minerales dado que oxida tanto al Fe ferroso como al azufre. Su potencial comercial en la lixiviación de minerales de bajo grado y refractarios, en la desulfurización de carbón y en el beneficio de minerales ha sido bien establecido⁽⁴⁾. En adición a lo mencionado anteriormente, el bioprocesamiento ha sido también encontrado como un método promisorio en la lixiviación de concentrados de cobre, zinc y pirita⁽⁵⁾ la cual puede ser llevada a cabo utilizando un reactor adecuado para este fin. Sin embargo, en muchos casos la lentitud de las reacciones de biooxidación y las dificultades prácticas asociadas con la formación de suficiente biomasa de estos microorganismos han limitado la extensión y ampliación del uso a escala comercial de esta biotecnología. La actividad bacteriana, así como la biomasa de células son dos parámetros importantes que influyen en la velocidad

de biolixiviación. Por otra parte, varios factores como microbiológicos, fisicoquímicos, electroquímicos, así como también factores mineralógicos influyen en las reacciones de biooxidación. Por ejemplo, el potencial de óxido-reducción del mineral y el medio, el tipo de estructura cristalina y la conductividad de los minerales, la acidez del medio, la concentración de iones ferroso y férrico y otros aniones y cationes solubles, la temperatura, la disponibilidad de O_2 y CO_2 , la solubilidad de los productos de oxidación, el tamaño de partícula y la densidad de pulpa del sistema de lixiviación son todos parámetros que deben ser controlados.

La biolixiviación puede involucrar (1) un ataque enzimático directo del mineral por una o más bacterias activas. (2) un ataque indirecto del mineral por uno o más productos formados por el metabolismo de dichas bacterias; o (3) una combinación de ambos, es decir, un ataque directo e indirecto al mineral por uno o más microbios activos⁽⁶⁾.

La biolixiviación por ataque directo envuelve una oxidación o reducción de algún constituyente del mineral, dependiendo de si el producto de la reacción es soluble. El cómo la bacteria puede atacar la red cristalina del mineral para producir una oxidación o reducción de algún constituyente del mineral aun no es conocida, sin embargo el contacto entre la bacteria y el mineral es necesario.

La biolixiviación por ataque indirecto puede involucrar (1) oxidación o reducción química por productos del metabolismo del(los) microbio(s) activo(s); (2) disolución del mineral por los ácidos orgánicos producidos metabólicamente por los microorganismos (cítrico y oxálico), o por ácidos inorgánicos (ácido nítrico y sulfúrico), o (3) reacción con ligantes formados con la bacteria. En este caso el contacto entre la bacteria y el mineral no es necesario.

La biolixiviación de minerales, en particular, de sulfuros de cobre ha sido practicada en escala industrial sólo desde finales de los años 50s, cuando Kennecott Copper Corp., patentó el proceso⁽⁷⁾. Esta fue practicada empíricamente por lo menos desde la época de los fenicios y los romanos⁽⁸⁾, pero las bases microbiológicas no fueron claramente conocidas hasta los estudios que realizaron Bryner, Beck, y colaboradores^{(9), (10), (11)}.

En la actualidad, la biolixiviación para recuperar valores metálicos en la industria es practicada para Cu y U aunque a últimas fechas ha tomado gran importancia el tratamiento de menas sulfuradas con contenidos de valores preciosos (Au y Ag), que son refractarias a los procesos convencionales de beneficio y en el tratamiento de concentrados minerales.

1.1 Bacterias acidofilicas y su actividad en la oxidación de minerales sulfurados.

Los seres humanos, las lombrices de tierra, los caracoles y los hongos tienen mucho en común ya que animales, plantas y organismos más elementales (hongos, levaduras y algas verdes), están todos formados por células eucariontes cuyo núcleo contiene, entre otras cosas, el DNA que determina su constitución genética. En cambio las bacterias son diferentes⁽¹²⁾.

Las bacterias junto con las cianobacterias (algas verde azuladas), son protistas unicelulares inferiores conocidos como procariontes. Las células procarióticas no tienen un núcleo verdadero, sino que el DNA de la bacteria está presente como una molécula simple en el interior de la célula. La forma y estructura de los procariontes son relativamente limitadas: las bacterias pueden ser esferas (cocos), varillas rectas (bacilos), o varillas curvas (espirales). Sin embargo, la falta de variedad de forma está más que compensada, por la inmensa diversidad de características metabólicas y por su

adaptabilidad. En la figura 1 se muestran los principales componentes de la célula procariontica

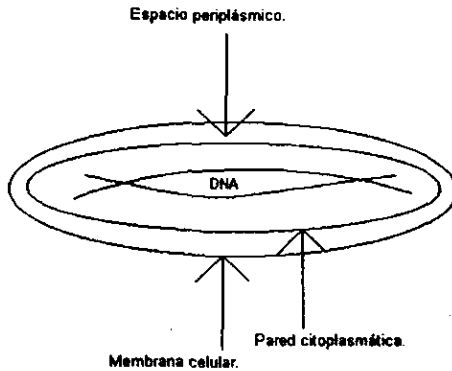


Figura 1. Célula procariontica.

Para poder comprender por completo el fenómeno de oxidación bacteriana, es necesario familiarizarse con términos tales como quimiolitautotróficos obligados y autótrofos facultativos, en combinación con el sistema que clasifica a las bacterias en mesófilas, termófilas moderadas y termófilas extremas. Sin embargo, para fines más prácticos es suficiente conocer que algunos organismos obtienen su energía mediante la oxidación de materiales inorgánicos tales como minerales (los quimiolitótrofos) y algunos utilizan el bióxido de carbono del aire como única fuente de carbono (los autótrofos). En efecto, algunos organismos, los quimiolitautotróficos, obtiene su energía de materiales inorgánicos y utilizan CO_2 como fuente de carbono (están obligados a hacerlo así). Por otra parte, las bacterias heterotróficas utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono. Hay aún otras bacterias que aunque pueden obtener su carbono por metabolización de

compuestos orgánicos, tienen la facultad de ser autotróficas en determinadas condiciones (autótrofas facultativas).

Hay especies de bacterias que se desarrollan mejor en determinados intervalos característicos de temperatura. Algunas, las crisófilas, en frío (menos de 20°C). Las mesófilas, en caliente (20°C - 40°C); otras, las termófilas moderadas, en un medio más caliente (40°C - 55°C) y algunas, las termófilas extremas, necesitan un ambiente muy caliente (más de 55°C). Ninguna de las bacterias criófilas participa en la oxidación de minerales⁽¹³⁾.

Los microorganismos importantes en biohidrometalurgia pueden clasificarse en tres grupos:

- Mesófilos de los géneros *Thiobacillus* y *Leptospirillum*.
- Termófilos moderados del género *Sulfobacillus*.
- Termófilos extremos de los géneros *Sulfolobus*, *Acidanus*, *Metallosphaera* y *Sulfurococcus*.

1.1.1 Mesófilos:

Thiobacillus ferrooxidans. Esta bacteria es el microorganismo dominante en la oxidación de minerales sulfurados y es la que se desarrolla en el medio más ácido. Tiene una forma de bastoncillo con un tamaño de célula de 0.3 a 0.5 μm de diámetro y de 1.0 a 1.7 μm de longitud. Sus fuentes de energía son el Fe^{2+} y el azufre reducido; oxida prácticamente todos los minerales sulfurados conocidos. Crece en un intervalo de pH de 1.0 a 6.0, siendo el pH óptimo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento entre 2.0 y 2.5. Sobrevive en un intervalo de temperatura de 2°C a 40°C, pero el más favorable es de 28°C a 35°C. El *Tf* prolifera en cuestión de horas, dividiéndose en dos bastoncillos

idénticos. Estos, a su vez, aumentan de tamaño y vuelven a dividirse y así continúa la proliferación en forma exponencial. Normalmente, en un sistema en actividad, las poblaciones bacterianas alcanzan cifras de 10^9 a 10^{10} células por ml de pulpa. Sin embargo, incluso con esta elevada densidad no hay pruebas de su presencia a simple vista.

Generalmente estas bacterias trabajan en ambientes de calor y acidez tan hostiles que no se produce contaminación por otros microorganismos.

Leptospirillum ferrooxidans. Estas células tienen forma de espiral de diferentes longitudes⁽¹⁴⁾, son fácilmente identificables de la *Tf*; son ligeramente más delgadas y tienen un movimiento mucho más frecuente realizado con un largo flagelo polar. Su fuente de energía es el Fe^{2+} .

Esta bacteria crece en medios donde hay pirita, pero la carencia de la capacidad de oxidar al azufre restringe su crecimiento en algunos otros minerales sulfurados, incluyendo a los concentrados de calcopirita.

Thiobacillus Thiooxidans. Se parece a la *Tf* por el medio ácido en el que se desarrolla y en su morfología, aunque en ésta los bastoncillos usualmente poseen un flagelo polar dando una movilidad mayor en comparación con la *Tf*; su crecimiento óptimo es a una temperatura cercana a los 30° C.

Esta bacteria se diferencia también de la *Tf* porque no presenta la capacidad para oxidar al hierro.

1.1.2 Termófilos moderados:

Entre los cultivos de bacterias que presentan la capacidad de oxidar fierro y minerales sulfurados alrededor de los 50°C existen distintos géneros. Todas ellas presentan una tinción Gram positiva, y también tienen en común una versatilidad de nutrientes mucho

más amplia que las autotróficas obligadas, *Thiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum Ferrooxidans*, que presentan una tinción Gram negativa.

Sulfobacillus Thermosulfidooxidans. Estas bacterias han sido aisladas de medios geotérmicos, menas de minerales sulfurados, sobre los depósitos de carbón en el este de Europa⁽¹⁵⁾. Su forma ha sido descrita como esporas sin movilidad. Estas especies de bacterias pueden tener una variedad de formas, con tamaños de 0.8 a 6 µm. Las bacterias son generalmente más pequeñas cuando crecen autotróficamente en Fe²⁺, en ausencia de extractos de levaduras.

La temperatura óptima de crecimiento de estas bacterias asociada con la oxidación de Fe²⁺ está generalmente entre los 45°C y 50°C, aunque están activas dentro de un amplio rango de temperaturas.

1.1.3 Termófilos extremos:

Las morfologías similares de las termófilas extremas, esféricas aproximadamente, y la oxidación de hierro y/o azufre que ha sido estudiado encubre una diversidad de tipos en términos de sus taxonomías y de su actividad en la oxidación bacterial. Los cultivos que oxidan S⁰ fueron clasificados como *Sulfolobus Acidocaldarius*⁽¹⁶⁾.

Sulfolobus Acidocaldarius. Su morfología es de forma esférica, extremadamente termofílica y oxida al hierro y/o al azufre. Su temperatura óptima de crecimiento en medio rico en Fe²⁺ es de alrededor de 70°C.

A partir de esta bacteria se adaptaron algunos cultivos para que su crecimiento sólo fuera heterotrófico y para que no pudiera oxidar al fierro o al azufre. Para el crecimiento de la bacteria *Sulfolobus acidocaldarius* en un medio que contenga azufre, la temperatura óptima es de 65°C a 80°C.

Sulfolobus brierleyi. Para el crecimiento de esta bacteria se requiere la presencia de extractos de levadura en medios que contengan minerales piritosos y/o Fe^{2+} en la solución. La oxidación de minerales es más lenta que cuando se está en contacto con la especie anterior. La capacidad de crecimiento autotrófico de esta bacteria ha sido desarrollada adaptándola en un medio que contenga azufre, pero se ha llegado a encontrar que la agitación en el sistema inhibe su crecimiento bacterial.

1.2 Microbiología de la oxidación bacteriana.

Las velocidades de crecimiento celular asociadas con la oxidación de hierro por diferentes bacterias en minerales son más lentas, algunas veces limitadas por la disponibilidad de Fe^{2+} en los substratos sólidos.

La siguiente discusión comprende las características que influyen en el crecimiento bacterial en un mineral sulfurado, en el contexto de un cultivo puro, seguido de la descripción de los tres tipos principales de metabolismo involucrado en el crecimiento de las bacterias en un mineral: la oxidación de hierro, la de azufre y la fijación de bióxido de carbono.

La bacteria *Tf* puede crecer dos veces más rápido que la *Lf* en un sistema que contenga iones ferrosos, pero la velocidad de degradación del mineral es igual a que si estuviera el crecimiento bacteriano a una velocidad normal. Similarmente, las termófilas moderadas no crecen más rápidamente de manera autotrófica en presencia de iones ferrosos que la *Tf*, pero su velocidad de oxidación del mineral durante el crecimiento bacteriano autotrófico a 50°C es claramente más rápida que por medio de las mesófilas a $30^{\circ}\text{C}^{(17)}$, gracias a la temperatura a la cual se encuentra el sistema lixivante. La eficiencia de la lixiviación mineral con bacterias de actividad similar puede diferir por consiguiente debido

a la capacidad de alguna de esas bacterias a permanecer activas bajo condiciones diferentes, las cuales alteran la velocidad de disolución del mineral. El incremento en la temperatura de lixiviación puede ayudar en la disminución de la velocidad de formación de la película de precipitados que se crea en la superficie del mineral, lo que permite continuar el proceso de disolución de dicho mineral o también puede ayudar en la formación de una capa más porosa, la cual puede permitir una lixiviación más extensiva en el caso de las termófilas extremas.

1.2.1 Oxidación del hierro.

La oxidación de hierro proporciona la energía para el crecimiento de bacterias acidofílicas. Esta puede ser descrita primero como un proceso superficial en la bacteria en el cual la velocidad se ve afectada por factores tales como la temperatura del sistema y la variación de la concentración de Fe(II)/Fe(III) y segundo, como el mecanismo o mecanismos de oxidación dentro de la bacteria.

Mecanismos.

Los iones ferrosos son oxidados en la superficie de la bacteria por la transferencia de su electrón a la terminal citocromooxidasa en la membrana citoplasmática. Desde hace más de 30 años⁽¹⁸⁾, propusieron una reacción que involucra a la red del hierro, a los iones sulfato y a una oxidasa de hierro en la envoltura de la *Tf*. Más recientemente, ha sido sugerida la posible transferencia de electrones a través de la capa polinuclear al periplasma⁽¹⁹⁾. En la figura inferior se puede observar el mecanismo de la oxidación del hierro.

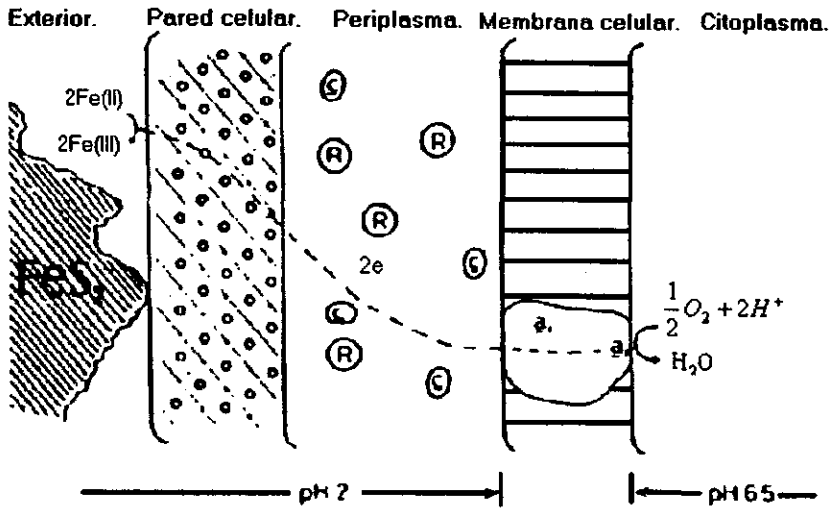


Figura 2.-Mecanismos de oxidación del hierro.

1.2.2 Oxidación del azufre.

Los estudios de mecanismos de oxidación de azufre por la acción bacteriana han sido centrados en el metabolismo de sustratos solubles, más que en el de la oxidación de azufre elemental o de los minerales sulfurados.

Mecanismos.

En el caso de la bacteria *Tf*, el azufre elemental puede ser un intermedio en la oxidación de tiosales⁽²⁰⁾, así como también el primer producto de la oxidación del azufre de los minerales sulfurados a través de la acción de la enzima sulfuro-oxidasa o químicamente por el ion férrico. La ruta de oxidación del azufre elemental intermedio o sustrato primario no está completamente resuelta. Se ha observado acumulación de azufre en la pared de la célula, en el periplasma y en la membrana citoplásmica⁽²¹⁾, posiblemente facilitada por asociación con fosfolípidos de la bacteria. Se ha sugerido una interacción

semejante con los glóbulos de azufre elemental formada por *Tf* a partir de tetrionato; una capa de cadenas largas de politionatos sobre núcleos hidrófobos de moléculas $S_8^{(22)}$, oxidadas por la acción de la enzima en forma de una glutiatona polisulfurada⁽²³⁾. La oxidación de sulfito a sulfato en la bacteria *Tf* puede ocurrir siguiendo la ruta de adenosina fosfosulfato (APS) o a través de la enzima sulfito-citocromo c óxido-reductasa. Se ha descrito también a la enzima sulfito-oxidasa de la bacteria *Tf*. El acompañamiento de oxidación de sulfito y azufre a la reducción del ion férrico ha sido propuesto como una ruta alternativa de oxidación de S^0 en la bacteria *Tf* con el crecimiento dependiente en la oxidación de los iones ferrosos resultantes⁽²⁴⁾.

1.2.3 Fijación de bióxido de carbono.

El CO_2 es asimilado por la bacteria *Tf*, como en muchas otras eubacterias autotróficas, primeramente, a través de la ruta reductiva de Calvin de la pentosa fosfato.

Mecanismos.

La enzima catalizadora de la fijación de CO_2 es la ribulosa 1,3-bifosfato carboxilasa/oxigenasa⁽²⁵⁾. En la figura 3 se observa la coexistencia de los mecanismos mencionados anteriormente durante el metabolismo de *Tf*.

1.3 *Thiobacillus ferrooxidans*.

Por ser el microorganismo que tiene una mayor aplicación comercial dentro del ámbito minero para la lixiviación de minerales sulfurados además de que es la bacteria utilizada en la presente propuesta experimental se hace una descripción más profunda de ésta en las siguientes líneas.

Forma: bacilos cortos, con terminaciones redondeadas, individuales o en pares.

Tamaño: $0.5 \times 1.0 \mu m$.

Movilidad: móvil.

Colonias: pequeñas (0.5 - 1.0 mm).

Temperatura óptima: 30° - 35°C; mesófila. Rango de crecimiento: 10° - 37°C.

pH óptimo: 2.5; acidófila. Rango de crecimiento: 1.3 - 4.5.

Tinción Gram: negativa.

% mol G + C del DNA: 58 - 59.

Nutrición: quimiolitotrófica obligada. Autótrofa (consume Fe^{2+} y S^0).

Respiración: aeróbica estricta.

Reproducción: fisión binaria = división transversal. Asexual.

Distribución: Amplia. Con sulfuros minerales y azufre, en las aguas ácidas de minas de sulfuros y en las aguas de las minas de carbón.

Para tener una mejor idea de las características antes mencionadas se presenta el significado de algunas de ellas. Es un organismo autotrófico porque obtiene por si mismo sus requerimientos de energía y ciclos reproductivos de materiales inorgánicos. Se trata de una bacteria aeróbica porque necesita oxígeno para llevar a cabo las reacciones metalúrgicas de interés. Estas bacterias se desplazan por la acción de las prolongaciones celulares en forma de látigos llamados flagelos.

Su reproducción se lleva a cabo por fisión binaria a una velocidad máxima promedio de casi 20 minutos, a esta velocidad, si no hubiera factores adversos, una sola bacteria puede dar origen a 250,000 en seis horas. Sin embargo, éstas no pueden seguir ese ritmo de reproducción durante mucho tiempo, pues pronto les falta el alimento o son inhibidas por acumulación de productos de desecho.

En estudios de laboratorio, cuando la bacteria se inocula a un medio de cultivo, se observan los siguientes períodos de crecimiento⁽²⁶⁾:

1.- Fase inicial estacionaria o fase lag.

En esta fase, se presenta muy poca actividad bacterial, debido a que las bacterias están en un período de adaptación al medio antes de presentarse la división celular.

2.- Fase logarítmica.

Aquí, las bacterias se están reproduciendo a su velocidad máxima incrementándose por progresión geométrica como resultado de la reproducción por fisión. En este período, si se grafica el logaritmo del número de bacterias presentes contra el tiempo, se tendrá una línea recta.

3.- Fase estacionaria.

En esta fase, las bacterias están muriendo a la misma velocidad a la que se están formando.

4.- Fase de muerte.

Generalmente, después de 48 a 72 horas, la proporción logarítmica de células viables de reproducción a las no viables, es menor cada vez debido a diferentes factores como la terminación de los nutrientes, falta de oxígeno, acumulación de los productos tóxicos y la falta de espacio.

La habilidad de estos microorganismos de crecer y realizar su función específica, está enteramente limitada por la disponibilidad de alimento para sus requerimientos energéticos y los cambios en su medio, para esto, se utiliza el llamado medio 9-K, el cual contiene los nutrientes necesarios para la realización de la actividad bacterial. En la figura 4 se presentan las distintas fases durante el crecimiento celular de *Tf*.

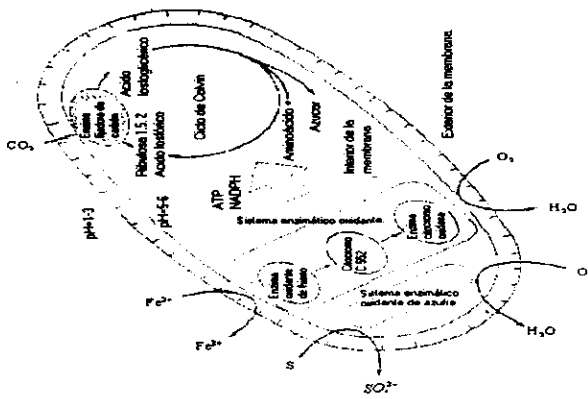
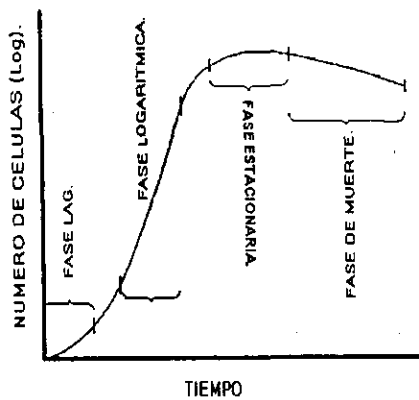


Figura 3.- Diagrama esquemático de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. (En Shiratori, 1992⁽²⁷⁾).



CURVA DE CRECIMIENTO

Figura 4.- Ciclo de vida de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. (En Shiratori, 1992⁽²⁸⁾).

1.4 Fundamentos del proceso de lixiviación mineral.

La lixiviación microbiológica de metales a partir de sus minerales ha empezado recientemente a ser practicada en depósitos de cobre y uranio, como lo planearon McCready y Gould⁽²⁹⁾ para menas de uranio en el área del Lago Elliot en Ontario Canadá, y Ralph⁽³⁰⁾ para lixiviación de menas de cobre en diferentes regiones del mundo. Esto ha mostrado también ser atractivo económicamente para la comercialización de tratamientos biológicos de minerales que contienen metales preciosos⁽³¹⁾.

Los procesos de lixiviación biológica han sido evaluados en una escala menor con numerosas muestras de diferentes mineralizaciones sulfuradas de muchas regiones geográficas. Dos minerales no son idénticos, y dentro de cada depósito mineral la composición mineralógica y la concentración de metales exhiben una heterogeneidad. Esas variaciones necesitan una evaluación experimental de múltiples muestras siempre de un mismo cuerpo mineral porque las características mineralógicas y geoquímicas tienen una mayor influencia en la lixiviación microbiológica del material. Los perfiles de lixiviación biológica de muestras minerales para cada mineralización son únicos porque existe variación en inclusiones y composición mineralógica, características de acidez, y concentración de metales así como también en los productos intermedios de la disolución oxidante.

1.4.1 Nutrientes en la lixiviación biológica.

Los elementos esenciales en la formación y crecimiento de la biomasa son carbón, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, fósforo y azufre. La asimilación de carbón en las bacterias *thiobacilli acidophilis* está basado en la fijación reductiva del CO_2 ⁽³²⁾. En principio, no es necesario para mejorar los sistemas de lixiviación biológica una fuente de carbón orgánico

como una alternativa al CO₂. El carbón orgánico puede tener algún beneficio para las bacterias si éstas están presentes en un medio que contenga metales tóxicos. Concentraciones bajas de materiales complejos de carbón (ú orgánicos), como extractos de levadura, alivian la toxicidad del ion Ag⁺(³³). El uso de agentes quelantes disminuye la toxicidad de metales divalentes(³⁴), desechos orgánicos como lodos de aguas negras estimulan la lixiviación biológica de minerales sulfurados multi-metálicos(³⁵), los azúcares y componentes orgánicos de bajo peso molecular inhiben la fijación de CO₂ aunado a cierta incapacidad para metabolizar el carbón orgánico. Algunos ácidos orgánicos pueden acumularse en el citoplasma de la bacteria, cambiando el pH intracelular, lo cual causa finalmente la inhibición(³⁶).

El oxígeno en los componentes celulares se deriva del oxígeno elemental contenido en varios metabolitos intermediarios, involucrados en rutas biosintéticas asociadas con la asimilación de carbono y nitrógeno y los oxianiones de azufre y fósforo. Las enzimas del tipo oxigenasa incorporan oxígeno molecular dentro de las moléculas aceptoras sólo para la oxidación de azufre elemental en bacterias *Thiobacillus ferrooxidans*(³⁷), (³⁸) y en *Sulfolobus Sp*(³⁹). Sin embargo, las bacterias aquí descritas, *Tf*, requieren oxígeno como un aceptor terminal de electrones en disposición para unir la energía del metabolismo con el crecimiento bacteriano.

El hidrógeno es requerido como un agente reductor para NAD(P)⁺ en muchas rutas de asimilación y biosintéticas, y es también necesario en la reducción terminal de oxígeno en el transporte en cadena de electrones generados por las medias reacciones anódicas escritas en la tabla No 1. En suma, el movimiento del hidrógeno y los electrones a través de la membrana es esencial para el establecimiento de la fuerza motriz del protón en las bacterias acidofilicas(⁴⁰).

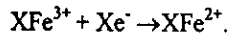
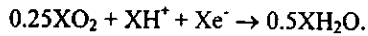
Aunque el amonio es la fuente preferida de nitrógeno, algunos cultivos de Tf pueden fijar también dinitrógeno⁽⁴¹⁾. La importancia de la fijación de nitrógeno en los sistemas de lixiviación biológica no es bien sabida.

Las condiciones de crecimiento en un sistema pobre en sulfatos o fosfatos, causan serios problemas metabólicos y un crecimiento restringido porque ambos nutrientes son requeridos para el desarrollo celular. El fosfato produce complejos insolubles con el Fe(III)⁽⁴²⁾, estos pueden recolectar el fosfato de la solución lixivante y dejar al fósforo en cantidad limitada, dependiendo de la concentración de éste en el mineral. El ion sulfato es requerido también en la oxidación de Fe(II) por la bacteria *Tf*⁽⁴³⁾. El sulfato existe en exceso en los procesos de biolixiviación, dado que éste es el mayor producto de la lixiviación oxidante.

Tabla No 1. Ejemplos de reacciones anódicas de media celda asociadas con la lixiviación de minerales sulfurados.

Mineral	Reacción anódica *
Arsenopirita	$4\text{FeAsS} + 6\text{H}_2\text{O} + 13\text{O}_2 \rightarrow 4\text{H}_3\text{AsO}_4 + 4\text{FeSO}_4$.
Calcopirita	$2\text{CuFeS}_2 \rightarrow \text{Cu}^+ + \text{Fe}^{2+} + 2\text{S}^0 + \text{CuFeS}_2 + 3\text{e}^-$ $\text{CuFeS}_2 \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{Fe}^{2+} + 2\text{S}^0 + 4\text{e}^-$ $\text{CuFeS}_2 + 8\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{Fe}^{2+} + 2\text{SO}_4^{2-} + 16\text{H}^+ + 16\text{e}^-$ $\text{CuFeS}_2 + 8\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{Fe}^{3+} + 2\text{SO}_4^{2-} + 16\text{H}^+ + 17\text{e}^-$.
Azufre elemental	$\text{S}^0 + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 8\text{H}^+ + 6\text{e}^-$.
Ion ferroso	$\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{e}^-$.
Pirita	$\text{FeS}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + 2\text{S}^0 + 2\text{e}^-$ $\text{FeS}_2 + 8\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + 2\text{SO}_4^{2-} + 16\text{H}^+ + 14\text{e}^-$ $\text{FeS}_2 + 8\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + 2\text{SO}_4^{2-} + 16\text{H}^+ + 15\text{e}^-$.
Uranita	$\text{UO}_2 \rightarrow \text{UO}_2^{2+} + 2\text{e}^-$.
Pirrotita	$\text{Fe}_{0.95}\text{S} \rightarrow 0.95\text{Fe}^{2+} + \text{S}^0 + 1.9\text{e}^-$.

* La reacción catódica puede ser representada por la siguiente ecuación, teniendo como aceptor del electrón transferido al oxígeno o al ion férrico:



donde X es el número de electrones transferidos desde la respectiva reacción de media celda.

Algunos metales traza y otros nutrientes, requeridos por esta bacteria (*Tf*), no han sido caracterizados cuantitativamente. Es sabido que esta bacteria tiene distintos requerimientos catiónicos (Cu^{2+} para la rusticianina; Fe^{2+} para los citocromos, etc.), pero su medición se dificulta porque los substratos utilizados comúnmente, especialmente $FeSO_4$ y varios minerales sulfurados, son conocidos por contener impurezas metálicas y una separación o cuantificación de dichos metales es muy difícil.

La toxicidad de algunos metales en estos microorganismos ha sido evaluada usando soluciones sintéticas de sales y minerales. La plata y el molibdeno son metales particularmente tóxicos, sin embargo, las concentraciones tóxicas en sistemas de biolixiviación no han sido establecidas. Esto se dificulta debido a que las bacterias pueden adaptarse gradualmente a la concentración de especies tóxicas y porque la formación de complejos, tanto solubles, como insolubles minimizan la inhibición. La resistencia al mercurio en este tipo de bacterias está confinada a la enzima mercúrica-reductasa, similar a otras bacterias de tinción Gram negativa⁽⁴⁴⁾. La toxicidad del arsénico y una resistencia a éste son áreas en las que se investiga constantemente⁽⁴⁵⁾, porque las especies de As solubles

pueden limitar potencialmente la aplicación de la lixiviación biológica para la recuperación de metales preciosos a partir de minerales como la arsenopirita.

La toxicidad está basada en el arsenato que compite con el fosfato en la asimilación e incorporación. Fue reportada sólo la resistencia al As al llegar a niveles tan altos como 10 a 20 g/L⁽⁴⁶⁾, pero, si la oxidación es química o posiblemente microbiológica permanece aún como una incógnita. Orrantia et al⁽⁴⁷⁾, reportaron recientemente la obtención de cepas resistentes al As, bajo presión selectiva añadiendo a los cultivos bacterianos, en medio 9K-Fe(II), cantidades crecientes de m-arsenito de sodio(m-NaAsO₂), en etapas sucesivas de 20µg/L hasta lograr crecimientos bacterianos en concentraciones mayores a 1800µg/L⁽⁴⁸⁾.

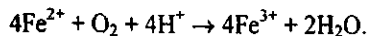
1.4.2 Aspectos químicos de la lixiviación biológica en soluciones ácidas.

La pareja Fe^{2+}/Fe^{3+} es un par importante en la óxido-reducción porque el ion férrico actúa como un aceptor de electrones para los minerales sulfurados y minerales de uranio, y el ion ferroso producido de ésta forma puede ser subsecuentemente re-oxidado a Fe(III) por la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. Así, un pre-requisito para la lixiviación ácida es la regeneración de iones férricos en solución, lo cual puede ser efectuado por medios químicos con varios oxidantes no recuperables (por ejemplo KMnO₄, MnO₂, H₂O₂) o por la ruta microbiológica por la oxidación bacteriana del Fe(II) en medios que contengan iones sulfato. En ausencia de agentes oxidantes químicos, un alto valor en la relación Fe(III)/Fe(II) es un indicativo de actividad bacteriana. En ausencia de agentes oxidantes tanto químicos como biológicos, la velocidad de oxidación del ion ferroso a los valores de pH que prevalecen en las condiciones normales de lixiviación de sulfuros, es tan lenta que prácticamente no contribuye con la regeneración del ion férrico. El par redox

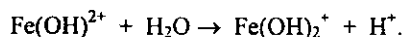
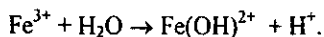
férrico/ferroso es el componente más importante en soluciones de lixiviación, y su potencial refleja sensiblemente la actividad biológica de la oxidación del hierro.

Aunque los cocientes Fe^{2+}/Fe^{3+} para la oxidación bacterial de Fe(II) pueden ser altos, estos valores contrastan con la producción relativamente baja de biomasa en un medio de sulfato ferroso. La producción de la biomasa depende fuertemente del número de electrones disponibles de la oxidación del sustrato, variando de un electrón para la oxidación del ion ferroso a 15 electrones para la oxidación completa de la pirita ($FeS_2 + 8H_2O \rightarrow Fe^{3+} + 2SO_4^{2-} + 16H^+ + 15e^-$). Consecuentemente, con relación al Fe(II), la producción de la biomasa es mayor en sustratos tales como el tiosulfato y el tetrationato⁽⁴⁹⁾, o pirita⁽⁵⁰⁾, u otros minerales sulfurados que pueden donar muchos electrones para el sistema de transporte de éstos.

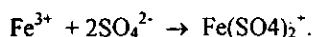
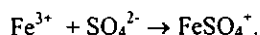
El ion ferroso es un producto ubicuo en las soluciones en los procesos de lixiviación biológica de minerales. Este se deriva de la solubilización de minerales ferrosos (p. ej., pirita, calcopirita, pirrotita) y es regenerado por la oxidación bacterial de Fe.



En soluciones ácidas el ion férrico se hidroliza produciendo hidroxicomplejos hexaacuocoordinados⁽⁵¹⁾, simplificados como $Fe(OH)^{2+}$ y $Fe(OH)_2^+$. Las reacciones hidrolíticas o reacciones ácidas que se producen son:

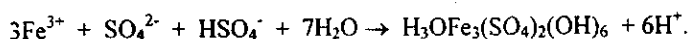


También se presentó al principal complejo para soluciones ácidas $\text{Fe}^{3+} / \text{SO}_4^{2-}$



El principal producto sólido formado en el sistema férrico - sulfato puede incluir fosfatos, oxihidróxidos de Fe(III) y jarositas. Como productos secundarios se encuentran minerales ordenados de Fe(II). En los sistemas de oxidación bacteriana de Fe, las jarositas, $\text{XFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ (donde $\text{X}=\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+, \text{o } \text{H}_3\text{O}^+$), han sido observadas a valores de pH tan bajos como 1.5⁽⁵²⁾.

Las reacciones netas de la formación de jarosita generan ácido y pueden tener una fuerte influencia en las características del pH del sistema de lixiviación, como se presenta para la jarosita del H_3O a $\text{pH}=1.9$:



1.4.2.1 Lixiviación bacteriana de sulfuros de Fe.

En la fig., No 5 se presentan esquemáticamente tres tipos de mecanismos de lixiviación bacteriana para el sistema pirita - calcopirita. Las reacciones de media celda de estos sulfuros se presentaron en la tabla 1. La pirita es el mineral más abundante y está asociado en distintas cantidades con otros minerales de uranio (p. ej., uranita, uranotorita). La pirita y la arsenopirita pueden existir también en la misma mineralización.

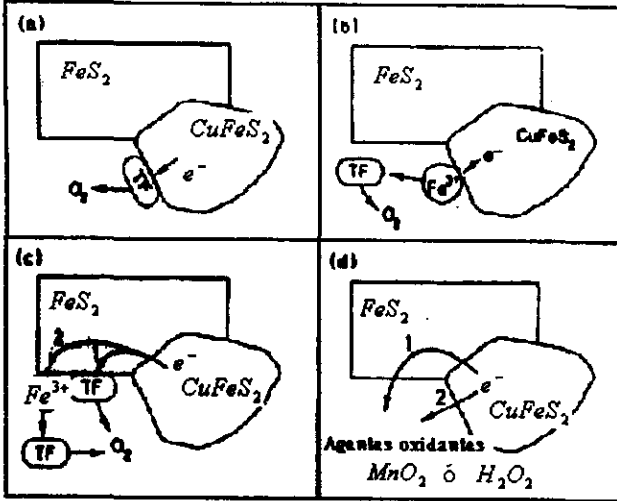
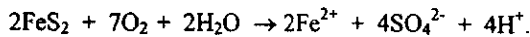
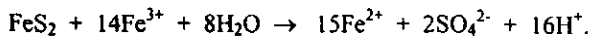


Figura 5. Representación esquemática de los tres tipos de lixiviación bacteriana de pirita (FeS₂) y calcopirita (CuFeS₂).

La oxidación de la pirita produce ácido sulfúrico el cual ayuda a neutralizar la demanda de ácido causada por la disolución de varios minerales sulfurados y no sulfurados:

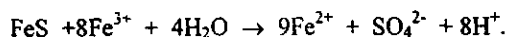
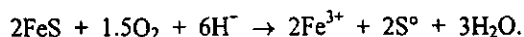
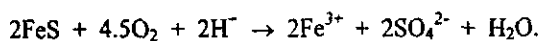


El Fe(III) producido de la reacción anterior puede actuar como conductor de carga en la reacción de óxido-reducción para acelerar la lixiviación química de la pirita:

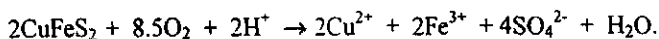


La existencia de pirita en minerales tiene, muy a menudo, inclusiones de otros sulfuros, y por lo tanto la oxidación parcial de la pirita es un pre-requisito para el contacto de la bacteria y la solución lixivante con las inclusiones.

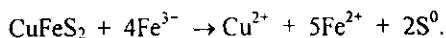
La pirrotita es otro sulfuro de hierro común en las mineralizaciones sulfuradas, aunque no ha sido bien caracterizada la oxidación química y microbiológica de ésta, se ha reportado que la oxidación de la pirrotita es relativamente más rápida que la de la pirita⁽⁵³⁾. La oxidación de pirrotita es una reacción exigente de ácido que produce también grandes cantidades de azufre elemental como un subproducto. El ion Fe(III) puede actuar otra vez como oxidante químico y es regenerado por la oxidación bacterial:



La lixiviación microbiológica de calcopirita es una reacción relativamente lenta comparada con las velocidades de lixiviación biológica de minerales sulfurados secundarios de cobre. La oxidación completa de la calcopirita puede ser representada por la siguiente ecuación:



La oxidación de la calcopirita con el ion férrico en soluciones ácidas produce azufre elemental, el cual tiende a cubrir las partículas del mineral y de este modo puede interferir con el transporte de electrones y el flujo de reactantes y productos entre la fase sólida y la solución:



La capa de azufre es un producto no deseado porque resulta ser una barrera para la difusión en la superficie del mineral.

La oxidación parcial del azufre reducido a azufre elemental requiere menos O_2 (aireación) si se compara con la oxidación completa hasta formar el sulfato. La oxidación de calcopirita puede, eventualmente, convertirse en la limitante de la difusión debido a la formación de la capa de azufre, quien a causa de su pobre conductividad, también impide el transporte de electrones en la superficie del mineral.

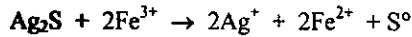
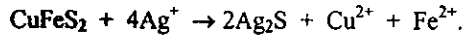
La formación de la capa de S^0 es un problema en la lixiviación, tanto química (por acción del $Fe(III)$) como biológica (por acción de la bacteria Tf), de calcopirita. La oxidación del azufre por la acción bacteriana tiene un efecto benéfico en la velocidad de lixiviación por la oxidación de la capa de azufre a productos solubles (p. ej., sulfatos).

1.4.2.2 Acción catalítica de la plata.

Aunque no ha sido posible evitar o reducir la formación del azufre elemental intermediario u oxidar más rápidamente a éste a través de la inoculación de bacterias Tf seleccionadas apropiadamente, se han hecho muchos intentos para prevenir, remover o modificar el recubrimiento de azufre de la superficie de la calcopirita. Estos incluyen: (1) molienda por fricción a partículas más pequeñas; (2) remolienda de los residuos de lixiviación para volver a exponer la superficie de calcopirita a la solución y por ende a las bacterias; y (3) el uso de agentes catalíticos para alterar la química del azufre elemental. Los primeros dos métodos físicos han tenido éxito pero tiene aplicaciones limitadas por el alto costo asociado con la disminución del tamaño de la partícula.

Una ruta de oxidación catalizada por Ag^+ parece acelerar la velocidad de lixiviación de la calcopirita considerablemente⁽⁵⁴⁾, sugiriendo que ésta puede disminuir el problema de difusión debido a las zonas formadas de S^0 sobre la superficie del mineral.

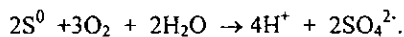
La adición de sales de Ag^+ presenta un efecto acelerador en la lixiviación química de la calcopirita^{(55), (56)} y también en la lixiviación biológica⁽⁵⁷⁾. El mecanismo exacto no está bien claro. Se ha propuesto que el efecto de la plata está fundamentado en la formación transitoria de Ag_2S , el cual es oxidado a Ag^+ y S^0 por exceso de Fe^{3+} :



El azufre elemental, producto de estas reacciones, forma una capa en la superficie del mineral que es menos tenaz y causa una resistencia difusional menor que la capa de S^0 formado sin el sulfuro de plata intermedio.

Un exceso en la adición de plata, puede incluir Ag^0 y sulfato de plata en el precipitado Ag_2S no deseables porque contribuye a la pérdida de Ag^+ sin la debilitación de la barrera de azufre en la superficie de la calcopirita.

El efecto de la plata es ampliado en presencia de las bacterias oxidantes de Fe debido a la relación $\text{Fe(III)}/\text{Fe(II)}$. En ausencia de *Tf*, el papel de la plata tiene un efecto limitado porque la velocidad de la oxidación química de Fe(II) a bajos valores de pH es despreciable y por lo tanto no puede mantener una relación favorable de especies oxidadas a especies reducidas. La velocidad de oxidación química del S^0 es también insignificante bajo esas condiciones, y por lo tanto el papel de la bacteria *Tf* se vuelve importante en la oxidación del azufre:



1.4.2.3 Oxidación anaeróbica con *Tf*.

Aunque esta demostrado que la bacteria *Tf* es un microorganismo aeróbico, utilizando al O_2 como un aceptor terminal de electrones para la oxidación de sustratos inorgánicos, ésta bacteria tiene la capacidad de oxidar al azufre bajo condiciones anaerobias, considerando al Fe(III) como el aceptor de electrones^{(58), (59)}.

1.5 Aspectos electroquímicos de la biolixiviación de minerales sulfurados complejos.

Los mecanismos involucrados en la biolixiviación de minerales polisulfuros son bastantes complejos. Cuando interactúan organismos vivientes con sustratos minerales en un medio ácido, tienen lugar un sinnúmero de procesos tanto complementarios, como divergentes. Un estudio de las interacciones bacteria/mineral podría por consiguiente dar un conocimiento que trate de los factores químicos, bioquímicos y electroquímicos, los cuales influyen en la velocidad de la disolución del mineral. El papel de las interacciones galvánicas en la lixiviación de minerales sulfurados múltiples ha sido bien definido. Sin embargo, la forma en la cual la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* acelera el proceso de disolución galvánica no es bien conocido.

Las interacciones electroquímicas en la biolixiviación de minerales sulfurados complejos podrían tener la ventaja de lograr una disolución selectiva del mineral deseado. El ataque preferencial de la bacteria sobre sustratos de minerales puede catalizar los procesos de disolución. En esta parte son examinados varios principios electroquímicos que gobiernan la lixiviación biológica de minerales sulfurados complejos. Se ilustra la utilidad de datos electroquímicos basados en las mediciones de potenciales de reposo (potencial

mixto, E_0), la combinación de los potenciales de las distintas especies minerales involucradas en la interpretación del comportamiento de la disolución del mineral y la actividad bacteriana.

Se proponen modelos electroquímicos para la biooxidación de tales minerales. Se discuten los factores que afectan las interacciones galvánicas en los sistemas de minerales polisulfuros con respecto al incremento de la disolución selectiva del mineral deseado.

1.5.1 Electroquímica de los minerales sulfurados complejos.

Muchos minerales son buenos conductores o semiconductores por naturaleza. Estos se comportan como electrodos en la presencia de un medio lixiviante. En sistemas de lixiviación que contienen más de un mineral, se llevan a cabo interacciones galvánicas. Los minerales sulfurados pueden arreglarse en una serie galvánica de acuerdo a su actividad electroquímica. (Tabla No 2). Dependiendo de la naturaleza, tipo y cantidad de impurezas presentes en el mineral, el E_0 puede variar de muestra a muestra, y de esta forma uno puede esperar cambios en la posición para un mineral dado en la serie galvánica. Por ejemplo, el E_0 de la esfalerita es influenciado por el contenido de Fe de la muestra⁽⁶⁰⁾.

Tabla No 2. Serie galvánica de algunos minerales sulfurados en un medio de biolixiviación.

Pirita	Noble
Calcopirita	↑
Pendlantita	
Galena	
Pirrotita	↓
Esfalerita	Activo

La pirita y la calcopirita como son los minerales más nobles en esta serie, son muy difíciles de oxidar en un medio ácido. Por otro lado, la esfalerita y la pirrotita son minerales muy activos y por consiguiente pueden ser oxidados fácilmente. Cuando dos minerales

sulfurados establecen contacto en un medio lixivante, se origina una celda galvánica; el mineral más activo en el par redox será sometido a corrosión mientras que el más noble (menos activo) estará protegido catódicamente.

La fuerza motriz para el proceso de disolución galvánica es la diferencia de potencial (ΔE) existente en el par, mientras que la velocidad de oxidación anódica es la que proporciona la corriente que fluye en el circuito. Basados en la serie galvánica, es posible predecir el comportamiento de la disolución selectiva de un mineral sulfurado en una combinación binaria o múltiple. Por ejemplo, en un sistema pirita/calcopirita, se esperaría que la calcopirita sea lixiviada selectivamente en preferencia sobre la pirita debido a que se comporta anódicamente. Sin embargo la predicción del comportamiento electroquímico de minerales sulfurados en combinaciones múltiples es más difícil.

- 1.-Un electrodo con el potencial más negativo siempre será anódico; y el más positivo, siempre, será catódico.
- 2.-Si los electrodos intermedios son colocados cerca del ánodo principal, su tendencia a convertirse en cátodos se incrementará; si se colocan cerca del cátodo principal, su tendencia a ser ánodos prevalecerá.

Así, en todas las combinaciones posibles, binarias, ternarias, o cuaternarias que involucran a los minerales sulfurados anteriormente enlistados, la pirita presentará siempre un comportamiento catódico y la esfalerita anódica, donde la pirita es el más noble y la esfalerita el más activo. Sin embargo, el comportamiento electroquímico de la disolución de los minerales sulfurados teniendo valores de E_0 intermedios, tales como calcopirita, galena, etc., depende de la actividad relativa del mineral con el cual éstos están más cercanos. De

esta manera, mientras la calcopirita se comporta anódicamente frente a la pirita, actúa como cátodo si se coloca en la vecindad de la galena, pirrotita o esfalerita.

Los siguientes factores influyen en la velocidad de interacciones galvánicas entre los minerales sulfurados en un sistema de biolixiviación:

- 1.-Diferencia en los E_0 , así como también la corriente galvánica existente entre las combinaciones.
- 2.-Las áreas superficiales relativas entre ánodo y cátodo (un ánodo más pequeño en contacto con un cátodo más grande facilita el incremento en la disolución anódica). Efecto de área.
- 3.-Distancia entre electrodos. Efecto de distancia.
- 4.-Naturaleza y duración del contacto.
- 5.-Conductividades de los electrodos y el electrolito.
- 6.-Propiedades del electrolito como pH, sales disueltas, presencia o ausencia de O_2 , otros pares redox, etc.
- 7.-Presencia o ausencia de otros microorganismos.

1.5.2 E_{ox} y pH.

Además del potencial de reposo, E_0 , del mineral sulfurado, el potencial de oxidación (E_{ox}) del sistema lixiviante es igualmente importante. Una diferencia grande entre E_{ox} y E_0 del mineral de mayor presencia incrementa la disolución del mineral. Los dos parámetros más importantes que gobiernan una reacción de biolixiviación son el E_{ox} y el pH, puesto que estos también influyen en la actividad de la bacteria. La energía que aprovecha la bacteria está en forma de electrones. Durante el crecimiento de la bacteria *Tf*, el E_{ox} va desde 700 hasta 800 mV (ESC) y depende del valor del pH; presión de O_2 y de la concentración de las especies del sistema redox, (Fe(II)/Fe(III)).

La presencia de la bacteria *Tf* promueve el incremento del E_{ox} del sistema que contiene iones $Fe(II)$ y $Fe(III)$. El criterio electroquímico importante para eficientar la lixiviación será por consiguiente el establecimiento de un valor óptimo de E_{ox} tanto para la actividad bacteriana como para la oxidación del mineral deseado.

Los diagramas de pH - potencial pueden ser fácilmente contruidos para representar la estabilidad y la actividad óptima limitante de *Tf*^{(61), (62)}. Los límites de estabilidad para las especies importantes involucradas en los sistemas de biolixiviación de calcopirita están representados en un diagrama simplificado en la fig. 6. La región de actividad de la *Tf* está confinado en el cuadro marcado en el diagrama dentro de un intervalo de E_{ox} de 400 a 800 mV y una región de 1.5 a 3.0 en el valor de pH, en el cual los iones $Cu(II)$, $Fe(II)$ y SO_4^{2-} son estables en las regiones de lixiviación de la calcopirita.

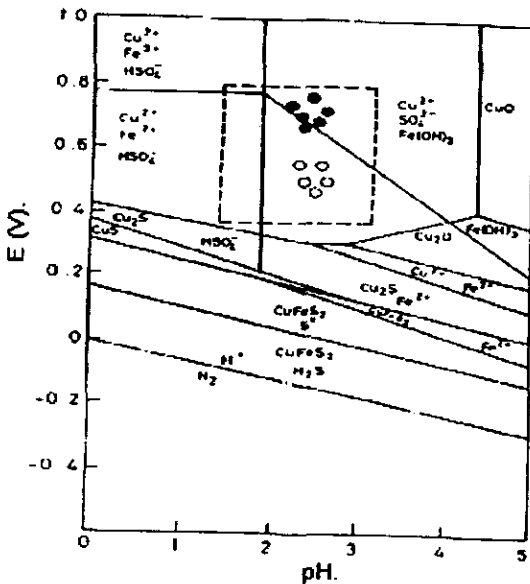
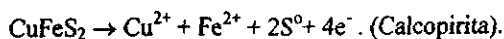
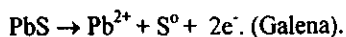
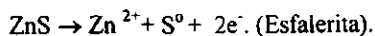


Figura 6.- Diagrama de estabilidad para especies disueltas

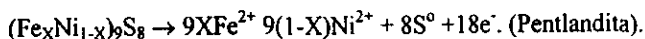
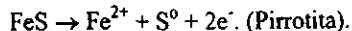
1.5.3 Mecanismos.

Las reacciones probables involucradas en la biolixiviación de minerales sulfurados se pueden dividir como:

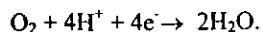
1.- Sulfuros de Cu-Pb-Zn.



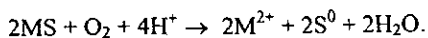
2.- Sulfuros de Cu-Ni-Fe.



En ambos casos la reacción catódica es la reducción del O_2 y se lleva a cabo en la superficie de los minerales más nobles:



Las reacciones anteriores pueden ser generalizadas como:



El azufre elemental, producto de la oxidación anódica puede acumularse en la superficie lixiviada, y si no es removido, puede actuar como una barrera para la lixiviación adicional.

En presencia de la bacteria *Tf*, tanto el ion ferroso como el S^0 son oxidados a ion férrico y a ion sulfato, conduciendo a la formación de sulfato férrico ácido. La presencia de bacterias en el sistema ayuda a la eficiente remoción de la capa de azufre elemental de la superficie del mineral que ha sido lixiviada, exponiendo de esta forma al mineral sin lixiviar para continuar la oxidación bio y electroquímica. Las bacterias ayudan a tener un alto potencial en el sistema a través de la oxidación del ion ferroso.

1.5.4 El efecto galvánico en la disolución de sulfuros.

La influencia del efecto galvánico en la disolución de minerales sulfurados está bien documentada. La velocidad de oxidación de ciertos sulfuros es ampliamente incrementada por la presencia de marcasita y piritita⁽⁶⁴⁾. Se encontró que la velocidad de la disolución de la calcopirita es acelerada en la presencia de la piritita, molibdenita y estibnita, pero es retardada por la presencia de la galena⁽⁶⁵⁾. En un estudio de interacciones galvánicas entre Cu y calcopirita, Hiskey y Wadsworth⁽⁶⁶⁾ demostraron la rápida conversión de calcopirita a calcocita. Efectos similares fueron observados durante la reducción de calcopirita por Fe, Cu y Pb en soluciones ácidas⁽⁶⁷⁾.

La interacción galvánica entre el par piritita/calcopirita causa la disolución de la calcopirita más rápidamente que la piritita, y la presencia de *Tf* cataliza esta reacción⁽⁶⁸⁾. Con la presencia de piritita y bacterias del tipo *Tf*, la velocidad de disolución de la molibdenita es incrementada alrededor del 35%. La oxidación bacteriana de esfalerita en contacto con piritita se incrementa considerablemente⁽⁶⁹⁾. La arsenopiritita es considerada más

activa que la calcopirita y fue lixiviada selectivamente utilizando $Tf^{(70)}$. A continuación se representa un modelo esquemático ilustrando la combinación de la oxidación galvánica/bacteriana de un mineral (figura 7).

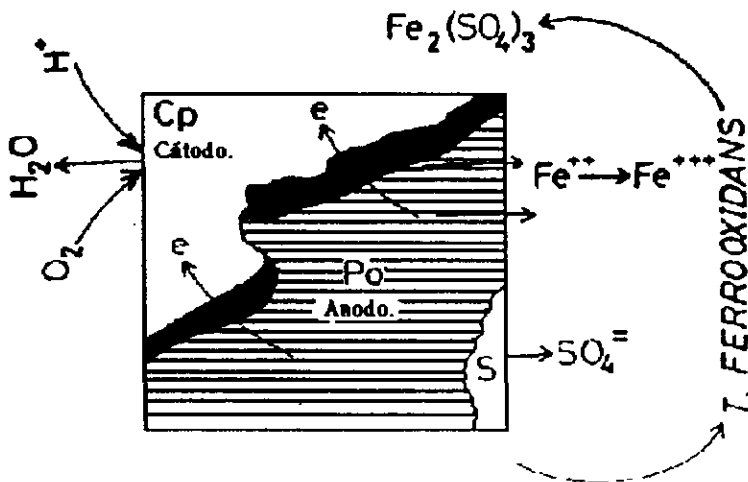


Figura 7.- Modelo bioelectroquímico de oxidación galvánica y bacteriana calcopirita(Cp)-pirrotita(Po).

1.6 Aplicación industrial de la biolixiviación.

Para llevar a cabo la oxidación bacteriana a escala industrial hay cinco métodos generales que son los siguientes: (i) lixiviación en tanque con agitación (o reactor agitado); (ii) lixiviación en pila; (iii) lixiviación en cuba; (iv) lixiviación en escombrera; y (v) lixiviación in-situ⁽⁷¹⁾.

En el primero de ellos, la pulpa que contiene los minerales útiles se agita dentro de un tanque resistente al ácido. Este es el procedimiento más costoso de todos, por lo que en la práctica se ha utilizado para el tratamiento de minerales que contengan oro en estado nativo a fin de extraer éste, y en la actualidad se aplica a la biolixiviación de concentrados minerales.

En la lixiviación en pila, se somete a tratamiento una pila de diseño especial, generalmente formada por minerales de baja ley o rechazos de flotación. Este método puede aplicarse a menas de metales cuyos precios unitarios sean relativamente bajos, y se emplea con éxito en la extracción de cobre.

En la lixiviación en cuba, la solución lixivante se deja percolar hacia arriba a través de materiales sólidos colocados en una cuba mientras que ésta se va llenando de agua. La lixiviación en cuba se aplica en escala menor que la lixiviación en pila y hasta la fecha sólo se ha llevado a cabo para la extracción de cobre; el método se viene empleando, por ejemplo, en Chuquicamata desde 1915⁽⁷²⁾.

La lixiviación en escombrera es similar a la lixiviación en pila, con la diferencia que el montón de mineral no se ha preparado expresamente para la lixiviación. Normalmente se tratan por este procedimiento las pilas de mineral de baja ley o antiguas escombreras de mina. Las reacciones bacterianas pueden producirse espontáneamente, siendo los efluentes resultantes análogos a los desagües ácidos de mina.

La lixiviación in-situ se utiliza para explotar el mineral presente en grietas naturales del terreno o en grietas producidas por voladuras. Se ha empleado a escala industrial con éxito para la extracción de cobre y uranio.

A continuación se describen los dos primeros métodos: lixiviación en reactor de agitación y lixiviación en pila.

1.6.1 Instalaciones con reactor de agitación.

(1) El proceso BIOX[®].

El proceso de oxidación bacteriana promovido industrialmente por Gencor y conocido como Proceso BIOX[®], es, en comparación con la tostación o con la lixiviación a presión, relativamente sencillo y requiere un grado de capacitación de personal menor. Se utiliza para minerales sulfurados que presentan una baja recuperación de oro y plata por métodos convencionales.

El proceso comprende una serie de pasos. En primer lugar se tritura y se muele la mena para liberar los minerales sulfurados de la ganga. Estos se flotan después, obteniéndose un concentrado que contiene aproximadamente el 90 % de oro en un volumen del 10 al 15 % de la masa original. Este concentrado normalmente vuelve a molerse y después pasa a una serie de tanques de pulpa con agitación por burbujeo de aire que contienen las bacterias, configurados para proporcionar los coeficientes óptimos de reproducción de aquéllas. Las variables principales objeto de regulación son el potencial de óxido-reducción (ORP), la temperatura, la concentración de oxígeno disuelto, el pH, y la velocidad de alimentación, mientras que la concentración de iones férrico y ferroso resultantes de la oxidación del hierro pirítico y de otros iones ferrosos indican el progreso realizado. El tiempo medio de permanencia de la pulpa es de cuatro a cinco días.

(2) El proceso BacTech.

El proceso BacTech para la liberación de oro encapsulado en menas refractarias, desarrollado por Bac Tech (Australia) Ltd, y aplicado a escala industrial en la mina Youanmi, de Gold Mines of Australia Ltd.

Este método utiliza cepas bacterianas termofílicas encontradas por primera vez en Australia Occidental, el cultivo es distinto del que se utiliza en el proceso anterior, idóneo para operar a las temperaturas que se encuentran normalmente en el desierto australiano; (aunque la óptima para es 46°C puede sobrevivir durante tres días a 55°C). Así pues, ofrece la gran ventaja económica de que no necesita refrigeración. Otra ventaja más de esta cepa sobre el *Thiobacillus ferrooxidans* es que puede tolerar el agua de elevada salinidad que se suministra allí.

(3) El proceso MINBACTM.

El proceso MINBACTM de oxidación bacteriana se ha desarrollado y probado a lo largo de los últimos diez años, durante los cuales se han estudiado y establecido los fundamentos del proceso, las ventajas del tratamiento previo y los procedimientos para ensayar la susceptibilidad de las menas de oro y plata a la oxidación bacteriana.

El proceso ha sido promovido activamente por tres prestigiosas entidades mineras internacionales que han unido sus fuerzas para promover, diseñar, construir y poner en operación instalaciones de oxidación bacteriana para minerales de oro. Son las siguientes:

- ◆ Mintek, organización de investigación y desarrollo que cuenta con más de sesenta años de experiencia en el desarrollo de tecnologías de tratamiento de minerales.
- ◆ Corporación Anglo-Americana de Sudafrica, el mayor grupo de minería de oro en el mundo.
- ◆ Bateman Projet Holdings Ltd. (BATEPRO), compañía mundial de ingeniería de procesos y gestión de proyectos, con experiencia en el diseño de instalaciones de tratamiento de oro, que lleva construidas cerca de 50 plantas de elución, lixiviación en pila y tostación de menas de oro, en todo el mundo.

Se han construido dos unidades MINBACTM: una es una instalación de 1ton/día situada en la sede de Mintek, que presta servicio de evaluación de minerales a sus clientes, y la segunda es una instalación de 20 ton/día, construida en Val Reefs, que es una mina de Anglo American. La explotación de estas unidades, utilizando un cultivo de *Thiobacillus Ferrooxidans*, ha hecho posible crear una extensa base de datos sobre la cinética del proceso y sobre los factores y condiciones de extrapolación que han de establecerse para la mezcla, aireación y enfriamiento.

1.6.2 Lixiviación en pila.

(1) Biolixiviación en Newmont.

En marzo de 1994, Newmont Gold informaba de que sus ensayos de campo habían confirmado la viabilidad comercial de un proceso de lixiviación patentado para extraer oro de material sulfurado de baja ley que anteriormente no podía considerarse como mena de explotación rentable.

La construcción de las instalaciones se llevó a cabo durante 1994 y el mineral se empezó a inocular con bacterias en las que predominaba el *Thiobacillus Ferrooxidans* con algo de *Leptospirillum Ferrooxidans*. En el proceso de inoculación empleando las bacterias se añaden al mineral con una pulverización sobre éste mientras es conducido por transportador a la pila de biooxidación. El objeto de ello es asegurar que se distribuye una población activa de bacterias a través de toda la masa de la pila para que se inicie rápidamente el proceso de biooxidación y se consiga una oxidación homogénea de los sulfuros. La adición de un cultivo bacteriano ácido al mineral favorece también el proceso mediante un cierto grado de aglomeración de las partículas finas de mineral presentes.

Se están ensayando diversos tipos de mineral. Algunos son sencillamente sulfuros, mientras que otros contienen partículas de carbón natural que perturban la marcha normal de la lixiviación con cianuro.

(2)Proceso de lixiviación en pila Mt. Leyshon.

En la mina de oro de Mt. Leyshon, situada 24 kms al sur de Charters Towers, en Australia, se está utilizando, desde agosto de 1992, un proceso de lixiviación en pila de dos fases, para tratar una mena de cobre y oro. En la primera fase se aplica la lixiviación bacteriana en una pila para separar el cobre antes de la neutralización del mineral y en la segunda fase se efectúa la extracción del oro por lixiviación en pila utilizando cianuro.

La operación de lixiviación en pila a razón de 1 millón ton/año de mineral oxidado comenzó a principios de 1987, aplicándose posteriormente hasta 5 millón ton/año para producir del orden de 200,000 onzas/año de oro. Cuando se estaba explotando la formación de óxidos original, se encontró entre el óxido y la zona primaria un mineral "supergénico" de transición, cuyo tratamiento resultaba anti-económico debido a su elevado consumo de cianuro. Por lo tanto se procedió a apilar este mineral en espera de nuevos trabajos de ensayo y a finales de 1990 se había acumulado una pila de 1,4 millón ton con leyes de 1,9 g/t de oro y 0,15 % de cobre soluble en cianuro.

La observación de esta pila puso de manifiesto que se estaba produciendo una rápida oxidación del mineral, detectándose la presencia de una disolución de sulfato de cobre en la base de la pila cuando había fuertes lluvias. El examen confirmó que había gran cantidad de *Thiobacillus ferrooxidans* presentes.

Finalmente, se ideó un ciclo de lixiviación en dos fases. Se construyeron lechos de lixiviación reutilizables, que medían 120 m por 80 m, empleando un revestimiento especial para contener los taludes. Se creó una superficie porosa transitable tendiendo un lecho de

grava de 800 mm hecha con rechazos de lavadero, sobre el forro de plástico. Para mantener la permeabilidad, las pilas se construyen de solo 2 m de altura, efectuándose el basculeo del mineral y colocación del mismo mediante excavadora. El riego de las pilas se hace mediante aspersión oscilante.

Ha tenido ya lugar una oxidación considerable en la pila y una vez que se inicia el proceso se produce más oxidación en la pila del mineral triturado antes de formarse la pila de lixiviación. A esto se ayuda con la introducción de bacterias, aire y humedad. Las pilas se riegan con agua potable utilizando un ciclo de 12 horas sí y 12 horas no. Esto se ha comprobado que ayuda a mantener las leyes de cobre en la instalación de recuperación de cobre siempre que no se añada durante todo el tiempo del ciclo de lixiviación ácida, actualmente, 45 días. No se añade ácido sulfúrico al mineral, sino que los metales se solubilizan con el ácido producido por la oxidación del mineral sulfurado. El cobre metálico se extrae de la disolución de lixiviación ácida mediante cementación sobre chatarra.

Una vez completo el ciclo de riego con agua, se dejan a las pilas que drenen durante cuatro días antes de remodelarlas con una máquina de neutralización construida expresamente para ello. Esta máquina trata al mineral con una dosis de cal viva. Después se construye una nueva pila de 2 m de altura con el mineral neutralizado, para el ciclo de extracción del oro. Después de haber sido remodelada la pila por completo, comienza el riego con cianuro. El líquido aurífero comienza a fluir al cabo de dos o tres días.

EXPERIMENTACION.

Los cultivos de la bacteria utilizada en esta propuesta experimental fueron aislados originalmente en el Centro de Experimentación del Noreste (CEN) del Consejo de Recursos Minerales (CRM) ubicado en la Ciudad de Chihuahua.

Estos cultivos se lograron obtener a partir de aguas ácidas de las minas. Las cepas que presentaron un mejor acondicionamiento al medio son las de la mina Nochebuena que se encuentra ubicada en el estado de Zacatecas y los cultivos aislados de los licores de lixiviación de la Cía. Minera Mexicana de Cananea ubicada en el estado de Sonora.

El desarrollo experimental de este trabajo está dividido básicamente en dos partes. En la primera parte del trabajo se procedió a preparar cepas con las bacterias proporcionadas por el CRM a partir de datos reportados en la bibliografía y los que se trabajan en el laboratorio de control químico del CEN. Para la segunda parte de esta propuesta se realizó la lixiviación del mineral en condiciones ácidas y en presencia de bacterias y en todos los casos se trabajó con un sistema testigo (no inoculado) que sirvió como punto de comparación para el análisis de los resultados.

2.1 Preparación del mineral.

2.1.1 Muestreo y análisis de la muestra.

La muestra mineral la proporcionó la Cía. Minera Mexicana de Avino que está localizada en la parte noreste del estado de Durango. Dicho mineral se tomó de la descarga de la trituradora primaria de una manera aleatoria. Se trata de un mineral sulfurado de cobre (calcopirita, en general), obtenido de la explotación subterránea de la mencionada mina.

Posteriormente se preparó al mineral en el laboratorio de la planta hasta un tamaño de $\pm 1/2$ " para evitar la oxidación de la superficie del mismo y de esta manera poder trasladarlo al laboratorio de la Facultad de Química.

El análisis de la muestra se realizó también en las instalaciones de la planta de beneficio y consistió de dos tipos de análisis:

- Vía húmeda: El análisis por vía húmeda se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 1100B.
- Vía seca: Se realizó el análisis por copelación a los metales preciosos.

El análisis completo de los valores metálicos es el siguiente:

Au (g/ton)	Ag (g/ton)	Cu (%)	Fe (%)
1.45	130	3.4	10.1

2.1.2 Preparación de la muestra.

La preparación del mineral consistió en la conminución de éste, utilizando el equipo disponible en el laboratorio de preparación de minerales del edificio "D" de la Facultad y que consta de la trituración primaria para la reducción de tamaño del mineral, el molino de bolas para la molienda final y se utilizó un equipo Rop Tap para la clasificación del producto obtenido en la molienda.

La conminución a la que fue sometido el mineral se realizó para estudiar la influencia del tamaño de partículas en la disolución de los valores de interés económico durante la biolixiviación de éste.

El análisis granulométrico realizado al mineral molido arrojó los siguientes resultados:

Malla	Peso (g)
-70 +100.....	109.6
-100 +140.....	126.4
-140 +200.....	95.50
-200 +325.....	110.3
-325 +400.....	41.50
-400.....	200.6

2.2 Preparación de las cepas.

En esta etapa se comprende la obtención de varias cepas de la bacteria *Tf* a partir de los cultivos proporcionados por el CRM. Una parte de este trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Experimentación del Noreste en la ciudad de Chihuahua dentro del proyecto de "Tecnología de operación de planta de beneficio de minerales en los Estados Unidos Mexicanos" en el que se impulsa la formación de recursos humanos altamente calificados para la minería nacional.

Para generar una mayor cantidad de población de la bacteria *Tf* se realizaron varios cultivos de la cepa original mismos que sirvieron para poner a punto el monitoreo de los distintos parámetros de evolución del proceso, dado que el tema de este trabajo es nuevo en la Facultad de Química.

2.2.1 Medios de cultivo.

El medio de cultivo utilizado para la preparación de los sistemas es el conocido científicamente con el nombre de 10-fold-9K o comúnmente llamado 9K, y el nutriente una solución rica en Fe(II)⁽⁷³⁾.

Medio líquido 10-fold-9K

(NH ₄) ₂ SO ₄	3.0 g.
K ₂ HPO ₄	0.5 g.
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.5 g.
KCl.....	0.1 g.
Ca(NO ₃) ₂	0.1 g.

Diluidos en 700 ml de agua destilada.

Solución nutritiva rica en Fe(II)

FeSO ₄ .7H ₂ O.....	44.22 g.
-------------------------------------------	----------

Diluido en 300 ml de agua destilada.

Una vez preparadas las soluciones se mezclaron y se les ajustó el pH a un valor fijo de 2.00 y se procedió a inocular los sistemas con las diferentes cepas.

2.2.2 Inoculación de los cultivos.

Los reactores utilizados fueron matraces Erlenmeyer de 250 ml conteniendo aproximadamente 90% de la solución 9K-Fe(II) y en todos los casos con un 10% de inóculo (en volumen). Puesto que, como se mencionó anteriormente, este trabajo experimental es el primero que se desarrolla dentro del departamento, no se cuenta con el equipo necesario para trabajar por lo que se utilizó una tina de acero inoxidable llena de agua y una resistencia con termostato para controlar la temperatura y una placa sumergible para proporcionar la agitación magnética a los reactores.

Después de haber inoculado las bacterias en los matraces se colocaron los reactores en el baño térmico para mantener la temperatura controlada de los sistemas durante todo el

tiempo que duró el experimento. En el baño se colocó agua suficiente para mantener los reactores sumergidos en ésta y la temperatura fue controlada por el termostato a un valor de $30^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Para evitar la evaporación de la fase acuosa y una posible contaminación se sellaron los reactores con un tapón de algodón (torunda), para que a su vez éste tuviese la función de dejar pasar O_2 y CO_2 del medio hacia el interior del matraz.

2.2.3 Control y seguimiento de los parámetros.

Una hora después de haber "sembrado" las bacterias se procedió a monitorear en cada sistema los parámetros que a continuación se mencionan.

(i) Medición de pH; (ii) Medición de potencial de óxido-reducción; (iii) Medición de la concentración de iones ferrosos, (iv) Inspección visual de la apariencia de los sistemas.

Control y seguimiento de pH.

Una vez colocadas las bacterias en el medio de cultivo se dejó que el pH del sistema fuera controlado por la acción bacteriana y se midió con un potenciómetro *Cole Parmer modelo 05669-20* utilizando un electrodo combinado para medir pH (con referencia interna Ag/AgCl).

Control y seguimiento de potencial de óxido-reducción.

El ORP del sistema también se empezó a monitorear una hora después de colocadas la bacteria y hasta el término del experimento utilizando el mismo equipo usado para la medición del pH con un electrodo de referencia de Ag/AgCl y con un electrodo de platino.

Control y seguimiento de Fe^{2+} .

La determinación de los iones ferrosos en la solución se realizó por la técnica de permanganimetría que consiste en la titulación con KMnO_4 de una alícuota de solución.

Aunado a lo anterior, se observó diariamente la apariencia de las soluciones para detectar posibles cambios físicos en la coloración y en la turbidez de éstas y la posible formación de precipitados.

El monitoreo de los parámetros (pH, potencial redox y $[Fe^{2+}]$) fue realizado cada 24 horas hasta el consumo total de los iones Fe(II).

En la parte inferior se presenta una figura esquemática de los reactores utilizados en la realización de la presente propuesta experimental.

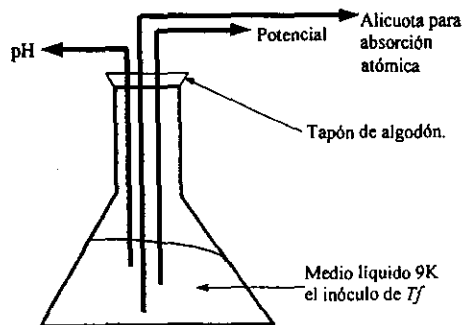


Figura 8. Representación esquemática de un reactor de biolixiviación.

2.3 Adaptación de la bacteria al mineral.

La biolixiviación se realizó con algunas de las fracciones granulométricas que se mencionaron al principio de la parte experimental. Se realizaron cuatro corridas cada una con su respectiva muestra testigo (sistema no inoculado), para tener un punto de comparación al analizar los resultados.

Dado que la cepa que mostró una mejor actividad bacteriana en la primera parte fue la cepa Nochebuena se decidió utilizar ésta como inóculo para los estudios de biolixiviación.

En esta etapa se trabajó con el mismo medio de cultivo que en la primera parte, es decir, el medio 9K y el nutriente en este fue el Fe(II) del mineral.

Como se mencionó anteriormente, se realizó una serie de pruebas a distintos tamaños de partícula con el objeto de observar la influencia de la granulometría en la disolución de los valores metálicos.

Las granulometrías que se trabajaron fueron:

100% a -100 mallas.

100% a -200 mallas.

100% a -325 mallas.

100% a -400 mallas.

En todos los casos se trabajó con un 10% de inóculo y un 10% de sólidos en la pulpa. Se mantuvo la temperatura constante a un valor de 30°C y el mismo inóculo de Nochebuena para observar únicamente la influencia del tamaño de partícula.

En esta parte del trabajo además de los parámetros mencionados en la primera parte de la propuesta experimental (pH, E, [Fe²⁺]), se analizaron también los valores metálicos en solución.

Los valores metálicos que se monitorearon en la solución fueron el Cu²⁺ y el Fe_{tot}. Su determinación se realizó por análisis de vía húmeda con un espectrofotómetro de absorción atómica y se realizó dicho análisis diariamente.

RESULTADOS.

En la siguiente sección se presentan los resultados obtenidos en ambas partes del trabajo, esto es, en la preparación de las cepas y en la adaptación de las bacterias al mineral.

De acuerdo con la metodología empleada se realizó la presentación de los resultados. Por una parte se muestran los resultados obtenidos en lo que se refiere a la preparación de las distintas cepas, tanto a las realizadas en la ciudad de Chihuahua, como a las que se trabajaron en el laboratorio del edificio "D". Por otro lado se muestran los resultados obtenidos en lo que se refiere a la adaptación de la bacteria al mineral, es decir, a lo que es la lixiviación en sí.

La manera en que se expresan los resultados es en forma de tablas y posteriormente se hace una representación gráfica de éstos para cada una de las cepas y de las granulometrías trabajadas para tener una mejor comprensión de dichos resultados.

Volumen de precultivo: 20ml. No 1.

Volumen total: 200ml

Precultivo: Cananea.

Tiempo(días)	g/L de Fe(II).	pH	ORP (mV).
0	6.9	2.03	361
1	6.9	2.08	369
2	6.47	2.18	384
3	4.42	2.37	421
4	4.31	2.24	428
5	0.107	2.2	582

Tabla No 1.

Volumen de precultivo: 20ml. No 2.
Volumen total: 200ml.
Precultivo: Socorro.

Tiempo(días)	g/L de Fe(II).	pH	ORP (mV).
0	7.12	2.02	370
1	6.25	2.13	392
2	3.67	2.32	422
3	2.26	2.22	561
4	0.54	2.2	583
5	0.32	2.14	584

Tabla No 2.

Volumen de precultivo: 20ml. No 3.
Volumen total: 200ml.
Precultivo: Nochebuena.

Tiempo(días)	g/L de Fe(II).	pH	ORP (mV).
0	8.93	1.97	388
1	6.56	2.23	421
2	4.47	2.43	442
3	2.02	2.29	472
4	0.14	2.29	605

Tabla No 3.

Volumen de precultivo: ---- No 4.
Volumen total: 200 ml
Precultivo: Testigo.

Tiempo(días)	g/L de Fe(II).	pH	ORP (mV).
0	10.63	1.92	345
1	10.11	1.83	355
2	9.08	1.92	397
3	8.98	1.91	397
4	8.76	1.96	405
5	8.35	2.06	412
6	8.35	2.1	417

Tabla No 4.

Control de cultivo: I
Molienda: 100% a -100 mallas.
% de sólidos: 10.
% de inóculo: 10.

Mineral: Calcopirita.
Precultivo: Nochebuena.
Medio líquido: 9K.
Alicuota tit: 1 ml.
Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	20.8	186	244.3	66.6
1	20.8	272	288.4	246.3
2	2.16	301	326.1	282.2
3	2.15	326	342.8	311.8
4	2.14	338	376.3	365.3
5	2.11	339	400.4	410.5
6	2.09	342	353.8	436.7
7	2.07	345	421.2	478.4
8	2.04	355	471.8	494.5
9	2.01	396	546.3	571.4

Tabla No 5.

Control de cultivo: II.
Molienda: 100% a -100 mallas.
% de sólidos: 10.
% de inóculo: 10.

Mineral: Calcopirita.
Precultivo: Muestra testigo.
Medio líquido: 9K.
Alicuota tit: 1 ml.
Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	1.96	168	0.28	0.51
1	2.11	260	6.16	6.01
2	2.17	285	15.59	20.24
3	2.19	298	13.37	27.97
4	2	290	10.71	39.42
5	2.08	280	17.55	45.03
6	2.08	286	13.91	53.6
7	2.08	265	11.3	60.89
8	2	280	16.1	63.3
9	2.02	269	14.61	121.1

Tabla No 6.

Control de cultivo: III:
Molienda: 100% a -200 mallas.
% de sólidos: 10.
% de inóculo: 10.

Mineral: Calcopirita.
Precultivo: Nochebuena.
Medio líquido: 9K.
Alicuota tit: 1 ml.
Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	2.14	417	73	4.81
1	2.21	264	155	4.89
2	2.23	328	204	5.38
3	2.18	318	236	13.55
4	2.16	328	256	30
5	2.13	356	201	32.04
6	2.12	420	193	38.28
7	2.07	507	162	54.41
8	1.99	517	172	62.15
9	1.93	521	191	76.04

Tabla No 7.

Control de cultivo: IV.
Molienda: 100% a -200 mallas.
% de sólidos: 10.
% de inóculo: 10.

Mineral: Calcopirita.
Precultivo: Muestra testigo.
Medio líquido: 9K.
Alicuota tit: 1 ml.
Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	2	222	183	0.51
1	2.2	338	120	2.49
2	2.22	315	171	7.44
3	2.28	323	193	18.46
4	2.24	328	208	24.35
5	2.26	328	237	34.2
6	2.27	329	260	35.3
7	2.2	338	281	37.56
8	2.18	344	298	42.04
9	2.12	334	301	42

Tabla No 8.

Control de cultivo: V

Molienda: 100% a -325 mallas.

% de sólidos: 10.

% de inoculo: 10.

Mineral: Calcopirita.

Precultivo: Nochebuena.

Medio líquido: 9K.

Alicuota tit: 1 ml.

Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	2.11	284	83	6.79
1	2.2	294	165	6.12
2	2.2	320	216	14.22
3	2.16	327	235	25.49
4	2.1	357	257	36.18
5	2.05	396	242	44.22
6	2.01	422	224	54.39
7	1.95	508	188	65.35
8	1.89	517	216	76.15
9	1.88	522	211	98.01

Tabla No 9.

Control de cultivo: VI.

Molienda: 100% a -325 mallas.

% de sólidos: 10.

% de inoculo: 10.

Mineral: Calcopirita.

Precultivo: Muestra testigo.

Medio líquido: 9K.

Alicuota tit: 1 ml

Alicuota A.A: 1 ml

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	2.01	216	15.1	0.78
1	2.22	309	97.3	3.44
2	2.25	299	124	6.88
3	2.28	310	132	17.26
4	2.27	302	153	24.57
5	2.25	316	168	31.78
6	2.24	326	173	35.31
7	2.13	332	191	35.75
8	2.08	327	249	34.93
9	2.08	329	229	37.37

Tabla No 10

Control de cultivo: VII.
Molienda: 100% a -400 mallas.
% de sólidos: 10.
% de inóculo: 10.

Mineral: Calcopirita.
Precultivo: Nochebuena.
Medio líquido: 9K.
Alicuota tit: 1 ml.
Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	2.12	217	0.75	183
1	2.09	291	26.13	262.2
2	2.17	306	33.57	273.1
3	2.13	330	40.93	300.1
4	2.11	484	96	426.1
5	2.09	500	115	384
6	2.08	516	134.9	383.8
7	2.04	530	153.2	395.9
8	2.03	526	175.9	424
9	1.99	510	345.4	252.8

Tabla No 11.

Control de cultivo: VIII.
Molienda: 100% a -400 mallas.
% de sólidos: 10.
% de inóculo: 10.

Mineral: Calcopirita.
Precultivo: Muestra testigo.
Medio líquido: 9K.
Alicuota tit: 1 ml.
Alicuota A.A: 1 ml.

Tiempo (días)	pH	ORP (mV).	ppm de Fe _T	ppm de Cu.
0	1.96	154	0.12	275
1	2.1	283	12.92	303.9
2	2.14	304	17.37	333.5
3	2.2	298	19.99	341.8
4	2.16	316	17.6	151.6
5	2.09	348	40.44	169.5
6	2.1	370	48.31	207.7
7	1.99	363	56.82	220.7
8	1.93	372	81.1	248.9
9	1.99	385	169.2	345.4

Tabla No 12.

Gráfico 1a.

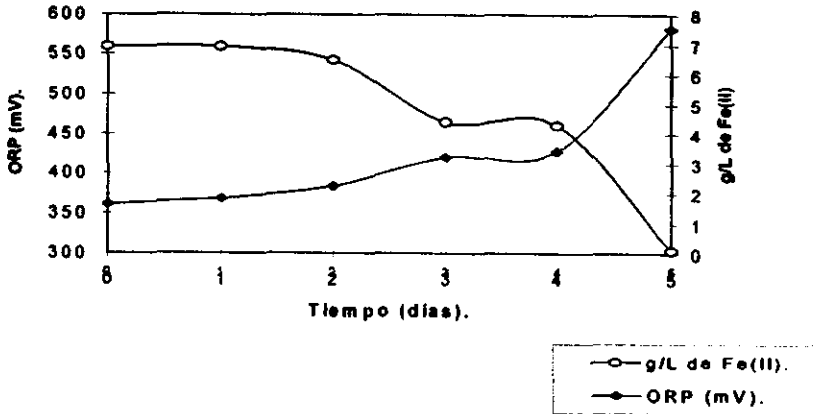
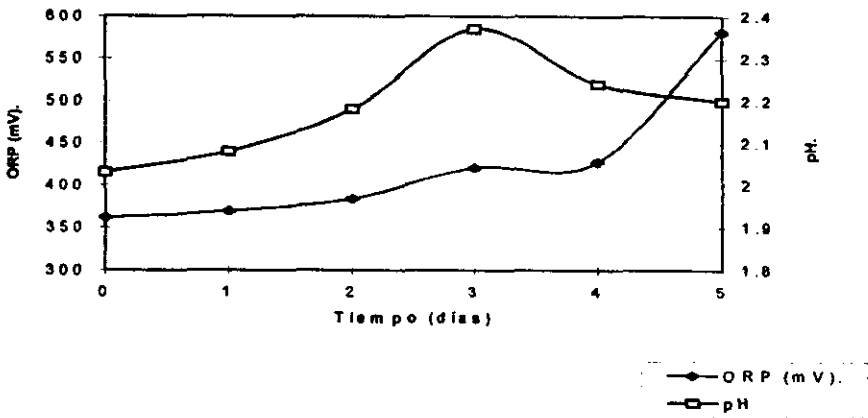


Gráfico 1b.



Gráficos 1 a y b. (Tabla No 1).

Gráfico 2 a.

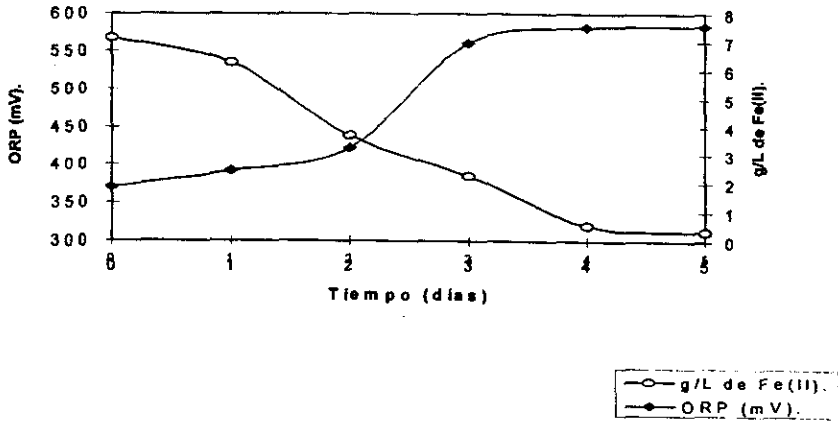


Gráfico 2 b

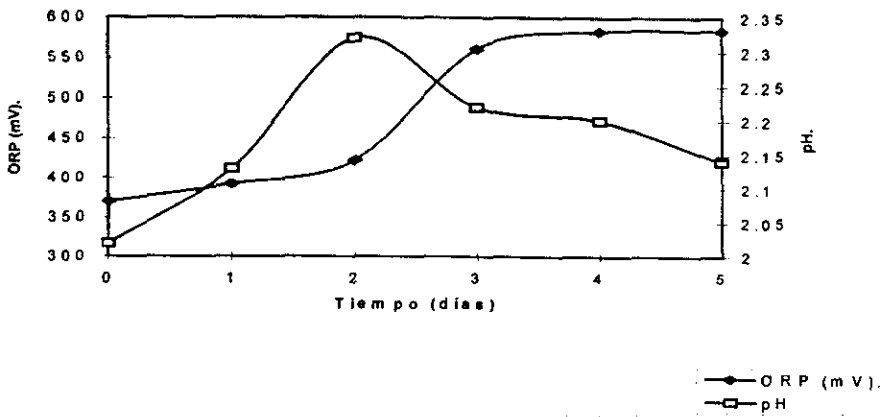


Gráfico 2 a y b. (Tabla No 2).

Gráfico 3 a.

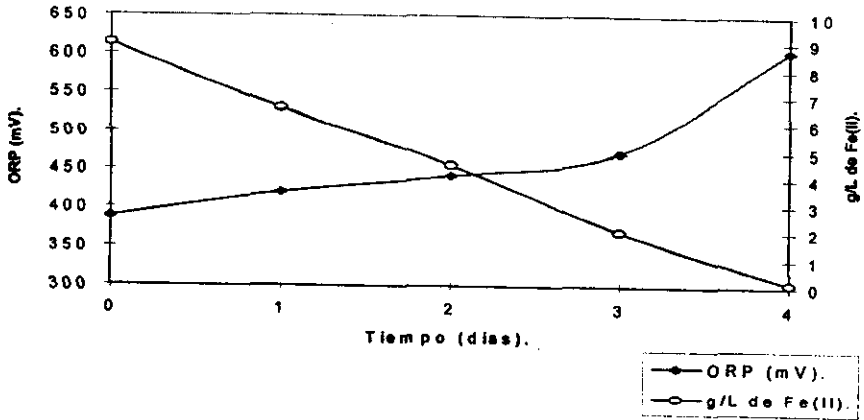


Gráfico 3 b.

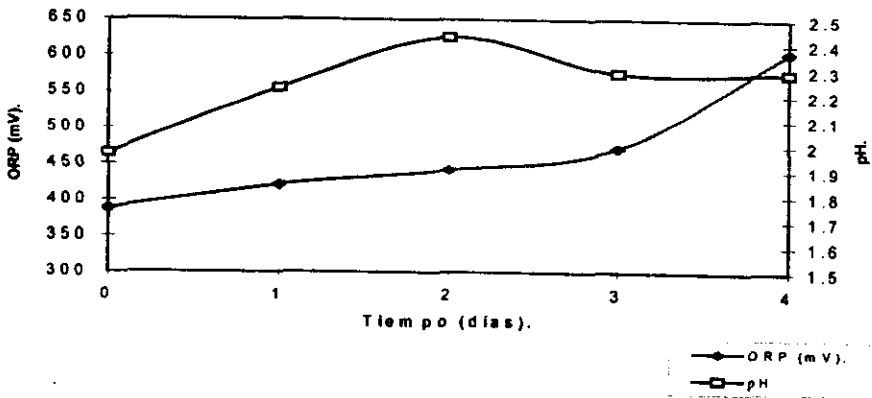
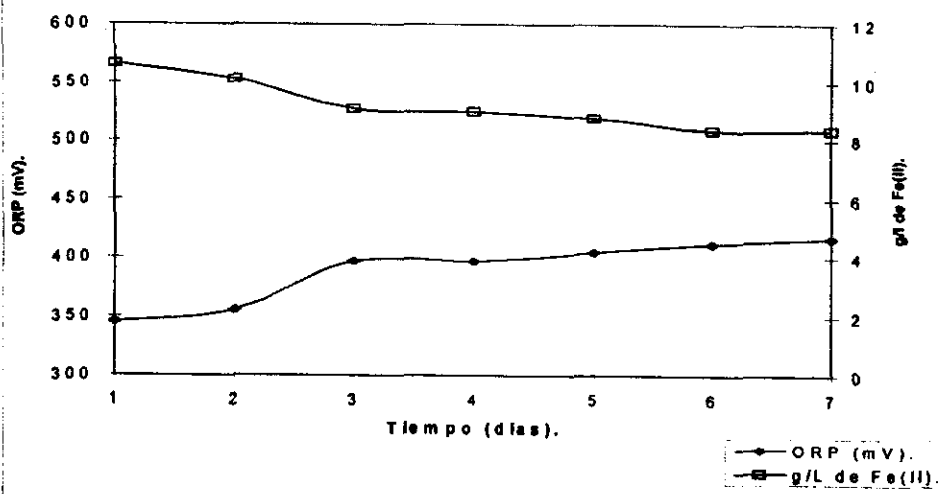


Gráfico 3 a y b. (Tabla No 3).

G ráf i c o 4 a .



G ráf i c o 4 b .

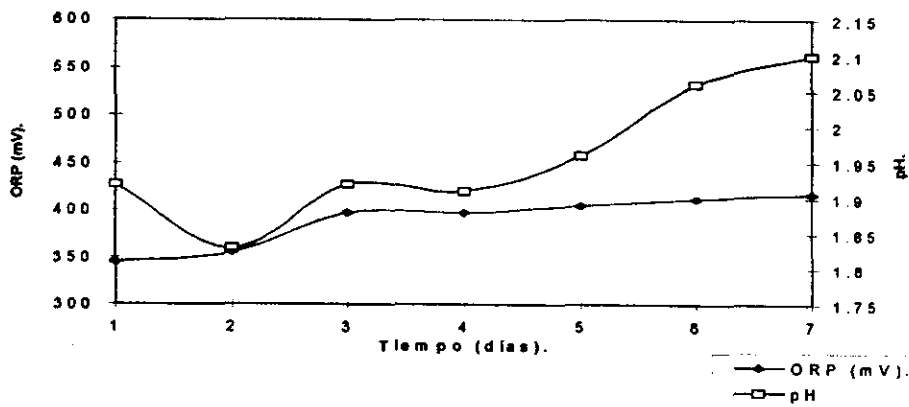


Gráfico 4 a y b. (tabla No 4).

Capítulo 3.
Resultados.

Gráfico 5a.

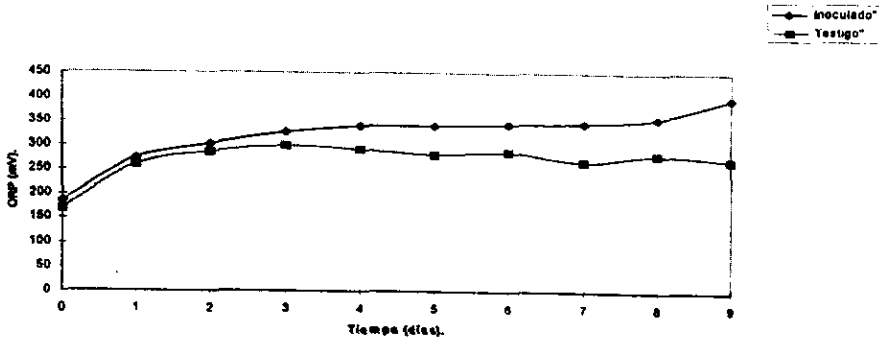


Gráfico 5b.

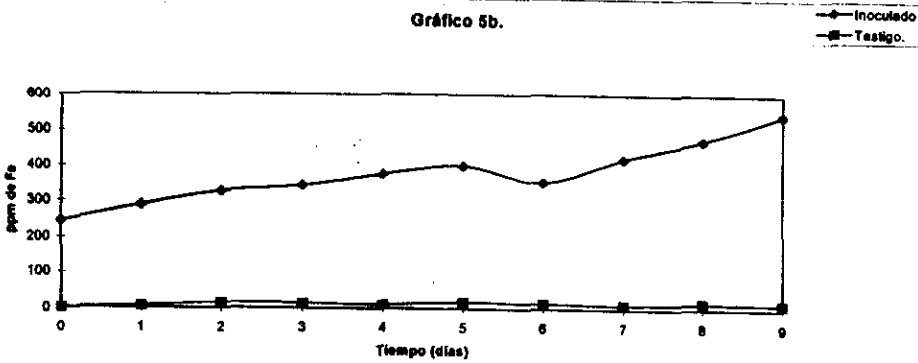


Gráfico 5c.

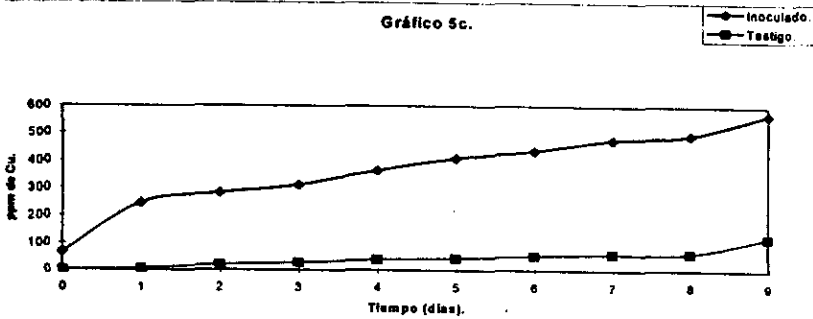


Gráfico 5 a, b y c. (Tablas 5 y 6)

Capítulo 3.
Resultados.

Gráfico 6a.

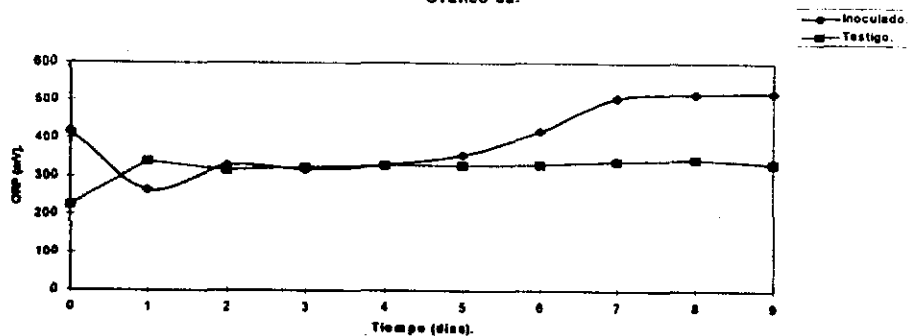


Gráfico 6b.

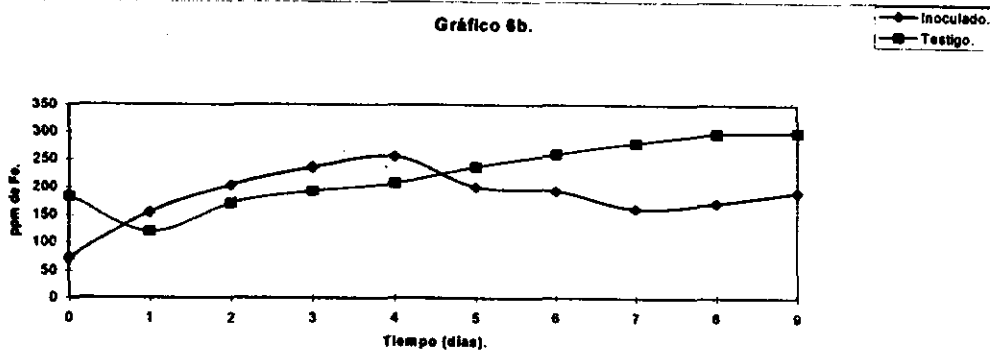


Gráfico 6c.

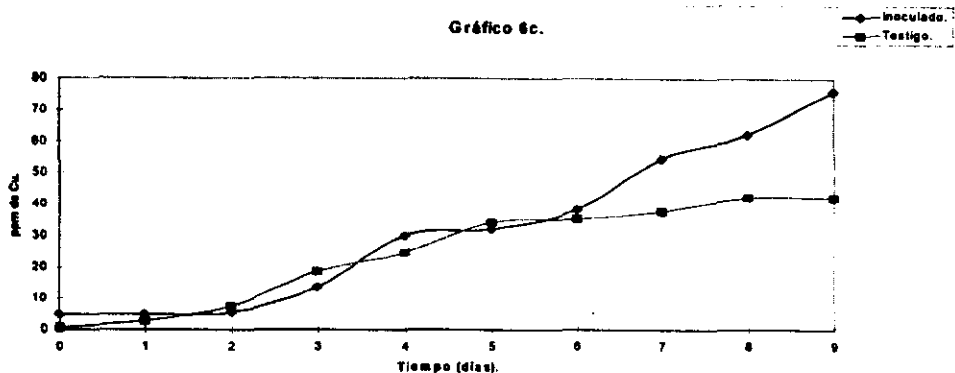


Gráfico 6 a, b y c. (Tablas 7 y 8).

Capítulo 3.
Resultados.

Gráfico 7a.

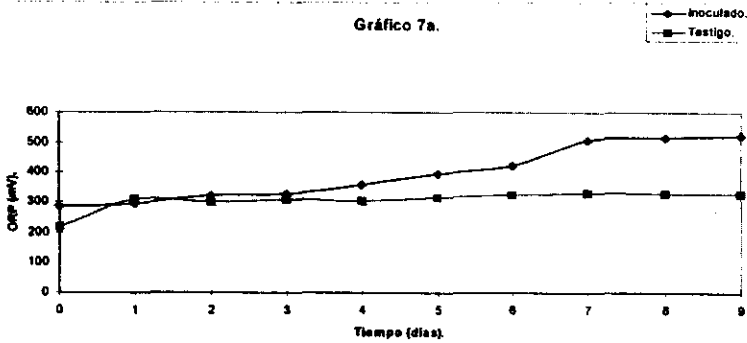


Gráfico 7b.

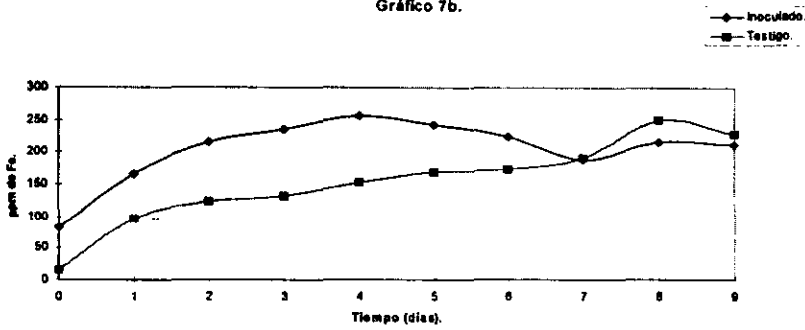


Gráfico 7c.

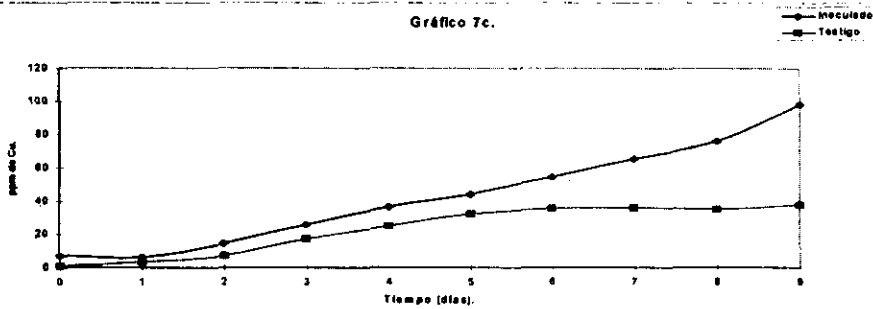


Gráfico 7 a, b y c. (Tablas 9 y 10).

Capítulo 3.
Resultados.

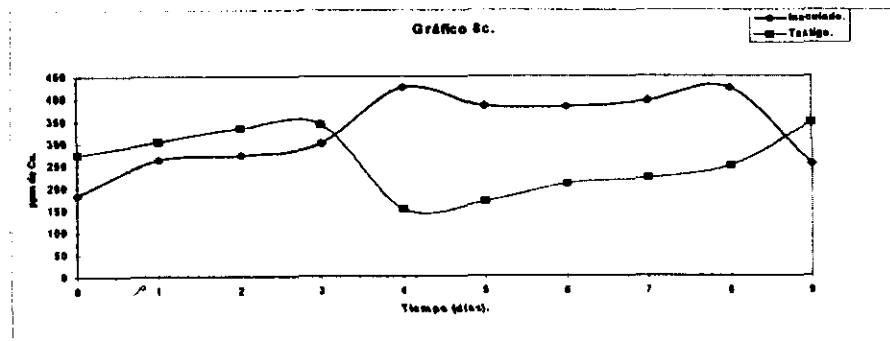
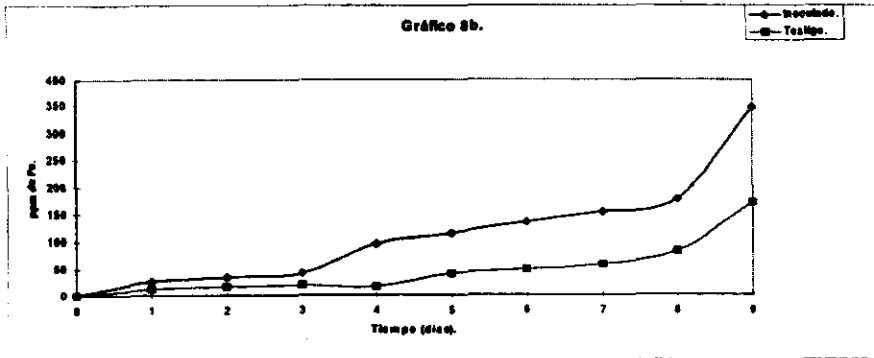
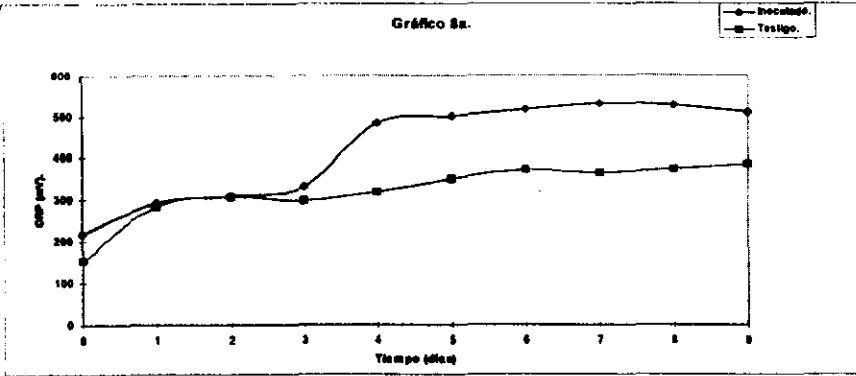


Gráfico 8 a, b y c. (Tablas 11 y 12).

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Como se ha mencionado anteriormente, el trabajo de esta propuesta experimental se dividió en dos partes por lo que en esta parte de los análisis lo haremos siguiendo la misma metodología, es decir, primero se discutirá la parte que corresponde a la preparación de las cepas y posteriormente se hará el análisis de los resultados obtenidos en la lixiviación del mineral.

Es necesario insistir en que, como se trata del primer trabajo que se realiza en esta área, no se cuenta con todo el equipo necesario para el monitoreo de los parámetros de evolución del proceso, principalmente en el conteo de las bacterias, por lo que, aunque en la parte que se trabajó en la Ciudad de Chihuahua si se realizó, no se reportan datos de número de bacterias en la solución. Por este motivo se tuvo la precaución de trabajar con un sistema testigo (no inoculado), en el que se dejó que la oxidación del ion ferroso se llevara a cabo únicamente por acción química para que fuese comparativo de los sistemas en los cuales se inoculó el microorganismo.

Como se puede observar en todos los cultivos (gráficos 1-3 a y b), el comportamiento tanto del potencial, ORP, como del pH y la concentración de iones ferrosos, es decir, la fuente de energía de las bacterias presentan la misma tendencia, y en todos los casos se nota una clara influencia de la bacteria que fue inoculada en cada sistema y al compararlos con el testigo (gráficos 4 a y b), se observa una disminución en la velocidad de la cinética en el proceso en general.

Para el caso del potencial de óxido-reducción que se estuvo monitoreando durante la evolución del sistema, se nota una tendencia a incrementarse, lo cual se le atribuye a la oxidación, catalizada por la acción bacteriana, del ion ferroso a ion férrico, es decir, la

razón Fe^{3+}/Fe^{2+} tiende a hacerse mayor. Evaluando esta evolución por medio de la ecuación de Nernst y considerando que la reacción de oxidación involucrada es:



tendremos que el potencial del sistema estará definido como:

$$E = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^0 + \frac{2.303RT}{nF} \log \left[\frac{Fe^{3+}}{Fe^{2+}} \right]$$

donde E^0 es el potencial estándar de la reducción del par Fe^{3+}/Fe^{2+} , n es el número de electrones intercambiados durante la reducción, F es la constante de Faraday, R se conoce como la constante de los gases y T es la temperatura del sistema y $[Fe^{3+}]$, $[Fe^{2+}]$ son las concentraciones de los iones férrico y ferrosos respectivamente. Sustituyendo valores a la ecuación anterior por los correspondientes obtenemos la forma de la ecuación como:

$$E = 0.77 + 0.059 \log \left[\frac{Fe^{3+}}{Fe^{2+}} \right]$$

Por lo que se ve claramente que el potencial del sistema es directamente proporcional a la razón Fe^{3+}/Fe^{2+} , y que al ir aumentando el valor del ion Fe(III), irá aumentando el potencial del sistema. Todo esto se refuerza con los resultados en todos y

cada uno de los sistemas en los cuales se muestra un comportamiento ascendente del potencial.

En la gráfica No 9 se presenta el comportamiento de los potenciales de cada uno sistemas trabajados y en los que se observa claramente el efecto catalítico de la bacteria en la oxidación del ion ferroso. En las cepas se alcanza un valor cercano a los 600mV/vs Ag/AgCl mientras que en el sistema testigo el máximo valor obtenido es cercano a los 400mV/vs Ag/AgCl, observándose el efecto catalítico de la bacteria en la cinética de oxidación del ion Fe(II).

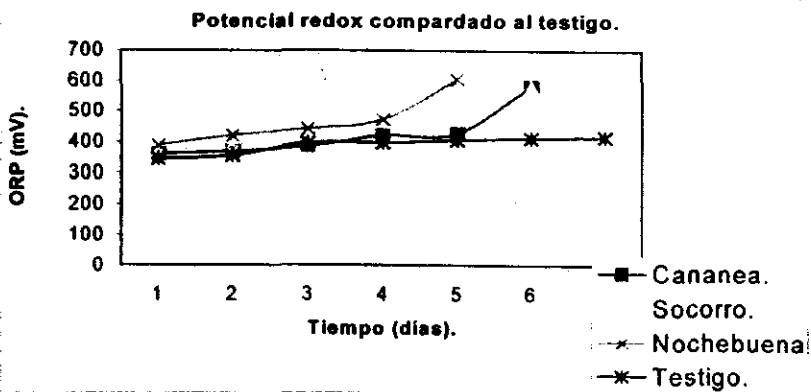


Gráfico 9. Comparación del potencial de óxido-reducción entre los ocho cultivos.

Como se mencionó en líneas anteriores, el consumo del ion ferroso se ve claramente influenciado por la presencia de la bacteria *Tf* que es la que oxida biológicamente a dicho ion por lo que otro de los parámetros claves a seguir en la evolución de los cultivos es la concentración de Fe(II) en la solución. Esta concentración que se determinó por técnicas

permanganométricas se realizó, como ya se mencionó, cada 24 horas por la titulación de una alícuota de 1 ml del cultivo.

En el gráfico No 10 se observa nuevamente una remarcada velocidad de consumo del ion Fe(II) en los cultivos en los que se tiene presente a la bacteria *Tf*. En el sistema testigo la cinética de la evolución es muy lenta. Esto obedece a que la transformación del ion ferroso a férrico es una de las principales fuentes de energía de la bacteria antes mencionada por lo que existe una gran demanda del Fe^{2+} conforme va aumentando el número de bacterias en la solución:

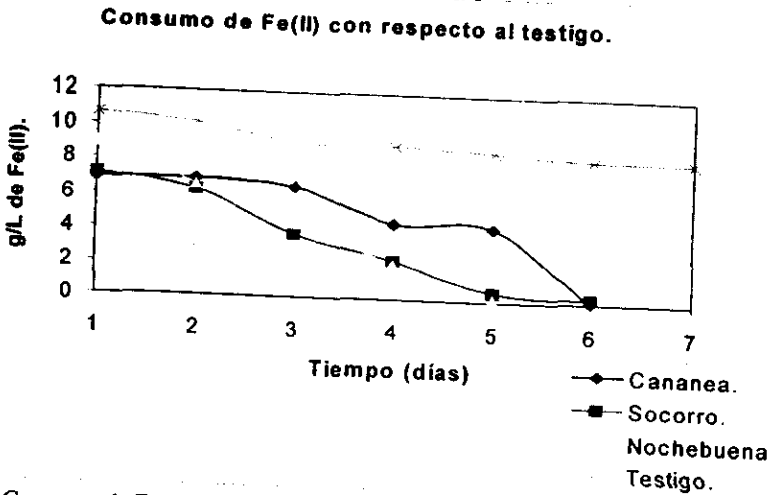


Gráfico 10. Consumo de Fe(II) de los sistemas inoculados y del testigo.

La curva de consumo del ion ferroso es también indicativa del número de bacterias con respecto al tiempo, es decir, conforme va aumentando la población bacteriana en la

solución, el consumo o la demanda de Fe(II) aumenta y la concentración del ion ferroso va haciéndose más pequeña.

Finalmente se presenta el caso del comportamiento del pH de cada uno de los sistemas que fueron estudiados y su comportamiento con respecto al tiempo. Si bien, para los resultados de este parámetro reportados en la bibliografía el pH muestra una tendencia general a disminuir, en nuestro estudio se obtuvieron resultados un poco distintos de éstos pero que en esencia son muy similares. Se puede observar en todas las curvas correspondientes a la evolución del pH un comportamiento generalizado que es el de aumentar en los primeros días de inoculación llegando a un máximo alrededor del segundo día y de allí se presenta una tendencia a disminuir rápidamente (gráfico No 11). Como se indico en el desarrollo experimental, el pH del medio nutritivo 9K se ajusto a un valor igual a 2, y en ese momento se realizó la inoculación de la bacteria *Tf* dejando que el pH fuese sólo influenciado por la acción bacteriana. La primera etapa que se presenta en la curva de pH-Tiempo se le atribuye a la adaptación de la bacteria al medio de cultivo y posteriormente se observa que la bacteria comienza a actuar por la disminución del pH que es indicativo de la generación de H_2SO_4 por las reacciones que se llevan a cabo en el metabolismo de la bacteria. Nuevamente se hace un comparativo entre los distintos cultivos realizados y el sistema que se utilizó como testigo y se puede apreciar como la adaptación bacteriana en todos los cultivos no fue más allá del tercer día y en el caso del testigo aún hasta el séptimo día no se observa ninguna disminución del valor del pH, debido a la falta de actividad bacteriana.

En el gráfica No 11 se pueden observar claramente los detalles anteriormente discutidos y en los cuales la línea que coresponde al sistema testigo es la que se ve más lenta de todas en la cinética del proceso.

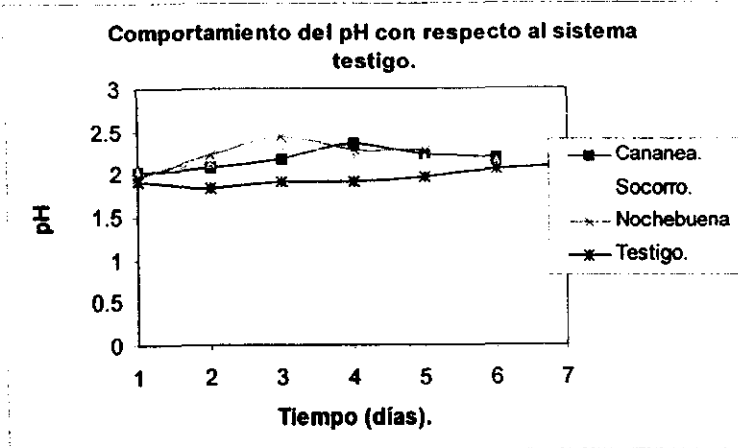


Gráfico No 11. Comportamiento del pH de todos los sistemas estudiados y comparados con el testigo que se trabajó.

Para la segunda parte del trabajo en donde se realizaron las lixiviaciones, el mineral se trató con diferentes granulometrías para observar la influencia de ésta en la velocidad de disolución de los valores de interés, que en este caso es el cobre. Todos los valores en solución se analizaron por el método de espectroscopia de absorción atómica, en donde se analizó una alícuota de la solución y se monitorearon también tanto el pH y ORP del sistema, así como la concentración de iones ferrosos en la solución. En los resultados no se reporta el valor de la concentración de Fe(II) en la solución porque al irse disolviendo el mineral, éste libera iones ferrosos que al contacto con la bacteria se oxidan a ion férrico, pero se da el caso de que algunas ocasiones la concentración de ferrosos en la solución aumenta o disminuye sin presentar una tendencia generalizada.

Para el caso del reactor con el tamaño de partícula más grande (100% a -100 mallas), al principio de la operación prácticamente no hay diferencia entre el sistema inoculado y el testigo en lo que respecta al ORP (gráfico 5a), pero conforme pasa el tiempo

de lixiviación se comienzan a separar las curvas. Esta divergencia refleja la acción catalítica de la bacteria en la oxidación del ion ferroso.

En cuanto a los valores tanto de cobre como de hierro se nota una diferencia considerable en la disolución de estos dos elementos respecto al control no inoculado (gráfico 5b y 5c), lo que hace notar claramente la influencia de la bacteria en la cinética de disolución de los componentes del mineral. En este caso, aparentemente no se presentan problemas de precipitación de hierro en forma de jarositas.

En lo que se refiere a la granulometría intermedia trabajada (100% a -200 mallas), se obtienen resultados similares a los del reactor anterior, sólo que en este caso la cinética del proceso es más lenta por lo que se tarda un poco más de tiempo en manifestarse la actividad bacteriana reflejada en el aumento de ORP (gráfico 6*). Esto tal vez es debido a que se tiene mayor área superficial de la partícula que está en contacto con el medio lixivante lo que ocasiona que la velocidad de oxidación del ferroso al principio fuese muy similar y conforme fue transcurriendo el tiempo y al entrar en actividad la bacteria comenzó a diferenciar el comportamiento del potencial.

Con lo que respecta a los valores disueltos que se monitorearon se ve una muy similar concentración en el caso del cobre hasta alrededor del sexto día y de allí se remarcó la influencia de la bacteria en la velocidad de disolución de este valor. En el caso de hierro, aunque se controló el pH del sistema a un valor máximo de 2.00, tratando de evitar con esto la precipitación de compuestos de Fe^{3+} por aumento del pH o por la elevada concentración del ion férrico, es muy probable la existencia de una precipitación parcial de hierro en forma de jarositas, ya que el valor de la concentración de Fe en solución en el caso del testigo, a partir del quinto día, es más alta que en el caso del reactor inoculado (gráficos 6b y 6c).

Para el tercer reactor que se trabajó (100% a -325 mallas), se observa nuevamente una tendencia como la que presentó el sistema anterior en el caso del potencial de óxido-reducción, es decir, se presenta una paridad en los valores de ORP hasta el tercer o cuarto día y en adelante se disparan los valores del sistema inoculado y los del testigo se mantiene más o menos constantes (gráfico 7a).

En este caso la disolución del cobre tampoco es tan alta como en el primer reactor aunque si se observa la influencia de la acción bacteriana en la velocidad de disolución de éste en un orden de dos a tres veces más del sistema inoculado respecto al testigo. En cuanto al Fe se presenta una vez más un comportamiento bastante raro de las curvas y finalmente el valor del testigo es mayor que del inoculado lo que hace pensar de nuevo en la precipitación de jarositas (gráficos 7b y 7c).

Finalmente, en el caso del reactor con las partículas más pequeñas (100% a -400 mallas), se ve un comportamiento semejante al de los sistemas anteriores en lo que concierne al ORP (gráfico 8a), pero para este sistema en particular se observa un ligero descenso en el valor de potencial del sistema en los últimos días que se mantuvo trabajando. Esto se le puede atribuir a la disminución de la acción de la bacteria sobre el mineral, debido a un menor contenido de valores puesto que también en el caso de la disolución de cobre se nota un marcado descenso.

Para el caso de los valores disueltos en el sistema lixiviante se ve en el gráfico que corresponde a los valores de hierro un comportamiento lógico de éste, esto es, a mayor tiempo de residencia en el reactor se presenta una mayor lixiviación del hierro (gráfico 8b), y aunque como en los dos casos anteriores (mallas -200 y -325), no se presentan valores tan altos de concentración de hierro en la solución como en el sistema con tamaño de partícula

más grande (-100 mallas) si se nota una cinética del proceso un poco más rápida, esto debido al área superficial del mineral expuesta a la acción bacteriana que es mayor en este caso. Los valores disueltos de cobre en la solución para este sistema también se ven influenciados por la presencia de la bacteria en el reactor, aunque al final del proceso se nota una gran disminución de tal concentración, esto como ya se mencionó, debido tal vez a que la bacteria entró en su etapa de muerte o quizá tal vez a la formación de ciertos precipitados que "arrastran", por así decirlo, a los iones de cobre disueltos.

Por último, y como se planteó el trabajo, se realizó una comparación de los valores disueltos del mineral como una función de la granulometría. Para este fin se construyeron los gráficos que comparan los valores disueltos de Cu y Fe para determinar como se vieron reflejados éstos por el tamaño de partícula.

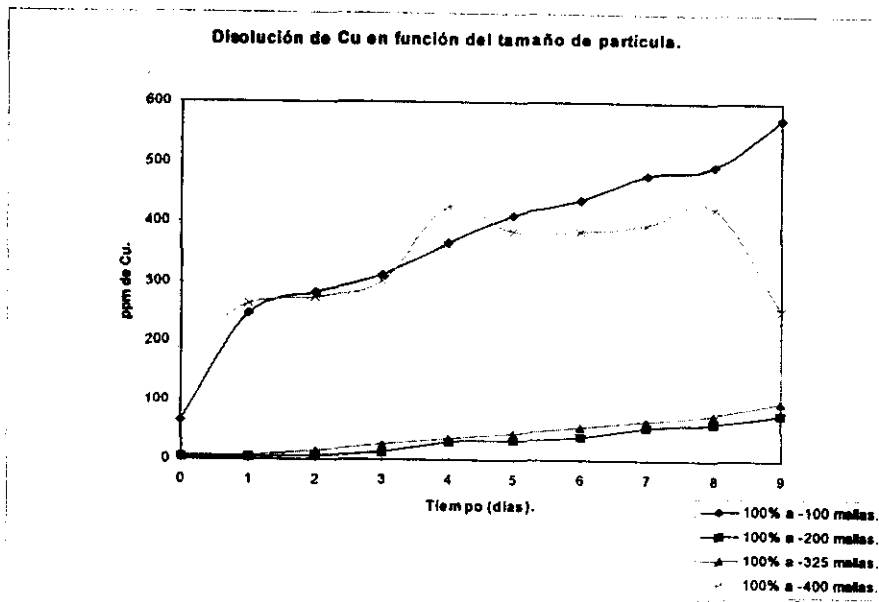


Gráfico 12. Disolución de cobre en los distintos reactores.

Se puede observar en el gráfico anterior como los valores de cobre que se disolvieron más fueron en los dos extremos de las granulometrías trabajadas, a -100 y -400 mallas. En este gráfico sólo se reportan las curvas de los sistemas lixiviantes inoculados pues como ya se analizó anteriormente, en todos los tamaños de partícula ensayados los testigos tuvieron una disolución menor de cobre. La disolución de cobre para el caso del reactor con tamaño de partícula de 100% a -100 mallas hace pensar en que gran parte de los valores iniciales de cobre se quedaron en esta malla por lo que en las siguientes pruebas sólo se lixivió el poco porcentaje de cobre que se fue a éstas. Para el caso de la malla -400 se puede considerar que por ser la partícula con mayor área superficial se presenta un mayor contacto entre la bacteria y el mineral por lo que se muestra también un gran valor en la concentración de iones cúpricos en la solución o que como se tiene una gran cantidad de pirita, se libera una mayor cantidad de Fe que es oxidado a Fe(III) por la bacteria y éste a su vez es un fuerte agente oxidante que se encarga de disolver una gran parte del mineral de cobre que haya en este tamaño de partícula.

El hierro que está disuelto en la solución corresponde a la suma de los iones ferrosos y los férricos por lo que es muy importante estar monitoreando esta concentración puesto que como ya se mencionó en repetidas ocasiones, el Fe(II) es el que proporciona la fuente energética de las bacterias y al disminuir éste, disminuirá la actividad bacteriana. Por otro lado, el ion férrico actúa también como un fuerte agente lixivante por lo que contribuye a la oxidación misma del mineral reduciéndose a ion ferroso y continuando así con el proceso. Sin embargo, es importante mencionar que se pueden presentar problemas por las concentraciones de férrico en la solución ya que al elevarse mucho la concentración de éste o al aumentar el valor del pH del sistema se pueden empezar a formar complejos con el ion

férrico que precipitan en la superficie del mineral en forma de una película pasivante ocasionando con esto que se haga más lento el procesos de lixiviación.

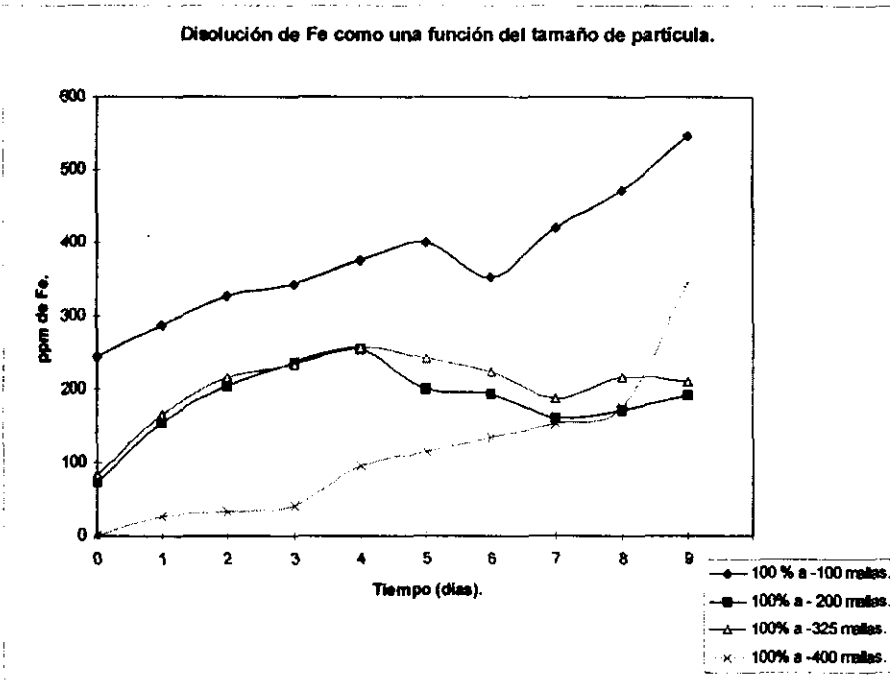


Gráfico 13. Disolución de hierro en los reactores.

Como se puede apreciar en el gráfico precedente la mayor disolución de hierro se obtuvo en el sistema con la malla -100 y esto refuerza la hipótesis de que la mayor cantidad de valores del mineral se encontraba en esta granulometría. Se podría argumentar también que, aunado a la acción bacteriana, la acción oxidante del ion férrico pudo haber ayudado a que la disolución de cobre fuera mayor (mecanismo indirecto de lixiviación), ya que como se recordara del gráfico No 12 los valores de cobre disueltos en esta malla son los más altos. Para el reactor con la malla -400 se observa una menor concentración de Fe_T en la

solución por que en este caso se puede pensar en que la lixiviación del mineral es sobre todo por la acción de la bacteria (mecanismo directo de lixiviación). Esto se puede corroborar con lo que reportan distintos autores donde lo que ellos proponen es que en la biolixiviación de la calcopirita se presentan los dos mecanismos de oxidación antes citados. Para terminar, se presenta el gráfico del comportamiento del potencial de óxido-reducción de los distintos reactores trabajados y en el cual se puede observar un comportamiento semejante en todos los casos y que se presentan valores de ORP de un orden similar.

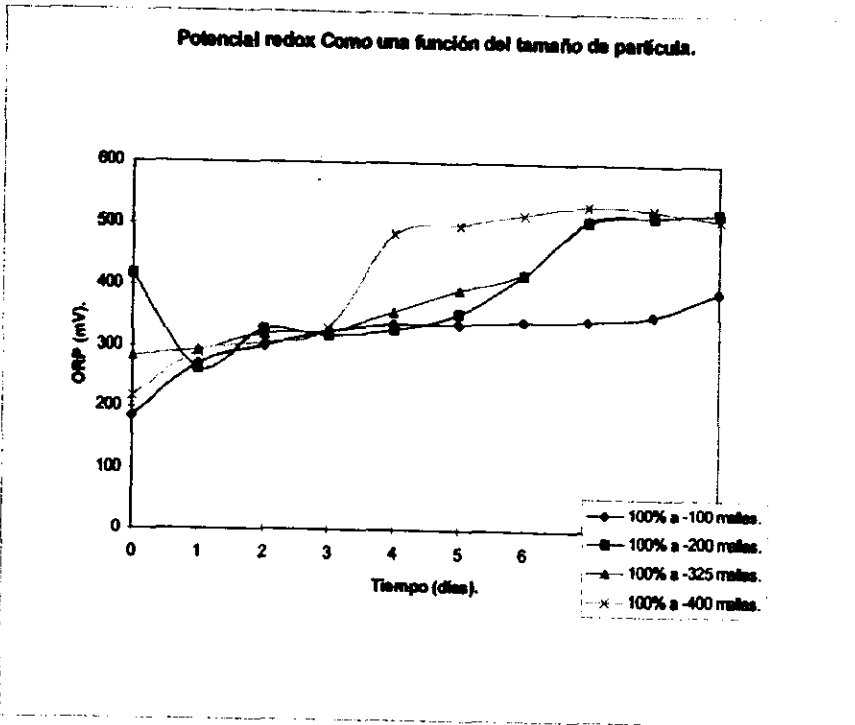


Gráfico 14. Comportamiento del potencial redox de los reactores trabajados.

No se presentan gráficos del comportamiento del pH de ningún sistema puesto que éste se estuvo manteniendo a un valor más o menos constante por la adición de H_2SO_4 0.1 N cuando era necesario.

También como ya se mencionó antes, en el caso del consumo del ion ferroso no sirve de indicativo de la evolución del sistema pues el mineral propio tiene Fe en su estructura, mismo que al irse disolviendo va generando mayor concentración tanto de iones ferrosos como férricos y esto obstruye al seguimiento de la disminución de Fe(II) en la solución.

Se puede observar en los gráficos anteriores que el tamaño de partícula mejor, para este mineral en particular, es el que corresponde a la malla -100 y como es sabido, puesto que la molienda es una de las operaciones unitarias más costosas dentro del beneficio de minerales, no es conveniente llevar el tamaño del mineral a un valor más pequeño, pues aparte de que se necesita un mayor consumo de energía y por ende un costo mayor, en mallas más pequeñas no se obtiene los mejores resultados de la disolución del metal de interés.

CONCLUSIONES.

Basándose en los resultados obtenidos se puede concluir que:

- 1.- La técnica de biolixiviación quedó formalmente implantada dentro del departamento de IQM.
- 2.- Se pueden obtener cepas de la bacteria *Tf* en un tiempo de 4 a 5 días.
- 3.- Los principales parámetros a seguir en la evolución del cultivo de la *Tf* son ORP, $[Fe^{2+}]$, pH.
- 4.- Para el caso de la biolixiviación se presentan otros parámetros que ayudan a seguir el proceso de solubilización de los valores de interés. Tal es el caso de los iones que se encuentran en solución. El ORP del sistema es un indicativo de la evolución de la oxidación por acción microbiana de los valores metálicos de un mineral.
- 5.- El tamaño de partícula óptimo para este caso de biolixiviación es el que se encuentra comprendido en la malla -100.
- 6.- La acción catalítica de la bacteria sobre la solubilización de los valores de interés económico en el proceso de oxidación del mineral estudiado es fundamental, siendo la biolixiviación una alternativa para el beneficio de minerales sulfurados.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.-A.E: Torma. "A review of gold biohydrometallurgy". 8th. Intern. Biotechnology Symp. Proceedings. Vol II. Ed G. Duran. L. Bobichon and J. Florent 1988. Pp 1158-1168.
- 2.- Tony Brewis. Extracción de metales por acción bacteriana. Mining en español. Pp 35-41. Abril 1996.
- 3.- H. L. Ehrlich. Recent advances in microbial leaching ores. Minerals and Metallurgical Processing. Pp 57. May 1988.
- 4.- G. I. Karavaiko, S. I. Kusnetsov and A. I. Golomzik. The bacterial leaching metals from ores. Technicopy Ltd., Stonehouse Glos. United Kingdom. 1997. Pp 1-183.
- 5.- V. Sanmugasundaram, R. M. R. Branion and D. W. Duncan. Fundamental and applied biohydrometallurgy. R. W. Lawrence, and H. G. Ebner, eds. Elsevier, Amsterdam. The Netherlands, 1986. Pp 263-275.
- 6 H. L. Ehrlich. Recent advances in microbial leaching ores. Minerals and Metallurgical Processing. Pp 57. May 1988., pp 58.
- 7.- S. R. Zimmerley, D.G. W. Wilson and J. D. Prater. pH adjusted, controlled-iron-content, cyclic leaching processes for copper-bearing rock materials. US Patent 3.330,650, july 1967.
- 8.- A. A. Nicolaides. Microbial mineral processing: the opportunities for genetic manipulation. Journal of chemical technology and biotechnology. Vol. 38. Pp 167-185.1985.
- 9.- L. C. Bryner, J. V. Beck, D. B. Davis and D. G. Wilson. Microorganisms in leaching sulfide mineral. Industrial and Engineering Chemistry. Vol. 46. Pp 2587-2592. 1954.
- 10.- L. C. Bryner and R. Anderson. Microorganisms in leaching sulfide mineral. Industrial and Engineering Chemistry. Vol. 49. Pp 1721-1724. 1957.

- 11.- L. C. Bryner and A. K. Jameson. Microorganisms in leaching sulfide mineral. *Industrial and Engineering Chemistry*. Vol. 6. Pp 281-287. 1958.
- 12.- A. P. Harrison. The acidophilic thiobacilli and other acidophilic bacteria that share their habitat. *Ann. Rev. Microbiol.* Vol 38. 1984. Pp 265-292.
- 13.- Tony Brewis. Extracción de metales por acción bacteriana. *Mining en español*. Pp 35-41. Abril 1996.
- 14.- T. A. Pivovarova, G. E. Markosyan, and G. L. Karavaiko, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 7.
- 15.- G. L. Karavaiko, R. S. Golovasheva, T. A. Pivovarova and I. A. Tzaplina, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 10
- 16.- T. D. Brock And J. Gustafson, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 12.
- 17.- R. M. Marsh and P. R. Norris, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 14.
- 18.- P. R. Dugan and D. G. Lundgren, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 16.
- 19.- W. J. Ingledew, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 16.
- 20.- W. Hazeu, R. Steudel, P. Bos and J. G. Kuenen, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 19.
- 21.- L. A. Gromova and G. I. Karavaiko, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 19.

- 22.- R. Steudel and G. Holdt, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 19.
- 23.- I. Suzuki, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 19.
- 24.- J. R. Vestal and D. G. Lundgren, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 20.
- 25.- L. Holuigue, L. Herrera and O. M. Phillips, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 20.
- 26.- Pedro Castillo C. La lixiviación bacteriológica como apoyo al tratamiento de minerales refractarios de oro. Memorias del seminario sobre avances tecnológicos en minería y metalurgia extractiva celebrado en la ciudad de Chihuahua, Chihuahua, México del 2 al 5 de octubre de 1995. Pp 65-95. CRM-JICA.
- 27.- MMAJ. The Project of the Research and Development on the Technology of Recovery of Precious Metals from Refractory Sulphide Ores Using Bacterial leaching. February 1993.
- 28.- Ibidem.
- 29.- R. G. L. McCready and W. D. Gould, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 55.
- 30.- B. J Ralph, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 55.
- 31.- R. W. Lawrence, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 55.
- 32.- L. Holuigue, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 58.

- 33.- O. H. Touvinen, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 58.
- 34.- S. S. R. Mahapatra and A. K. Mishra. citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 58.
- 35.- J. P. Puhakka and O. H. Touvinen, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 58.
- 36.- B. Alexander, S. Leach and W. J. Ingledew, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 58.
- 37.- A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 59.
- 38.- D. P. Kelly, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 59.
- 39.- T. Emmel, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 60.
- 40.- A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 60.
- 41.- C. J. Stevens, P. R. Dugan and O. H. Tuovinen, A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 60.
- 42.- M. R. Hoffmann, P. Hiltunen and O. H. Tuovinen, A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 61.
- 43.- W. J Ingledew, A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 61.

- 44.- J. E Booth and J. W. Williams, A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 62.
- 45.- G. I. Karavaiko, A. B. Hooper and A. A. DiSpirito, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 62.
- 46.- Ibidem, 63.
- 47.- Erasmo Orrantía, Sigifredo Arévalo y Benito Pereyra. Biooxidación de sulfuros con *Thiobacillus ferrooxidans* resistentes al arsénico. Ciencia UANL. Vol. II, No 1. Pp 34-39. Enero-marzo 1999.
- 48.- Rosa Elva Rivera Santillán, Maritza Cortés-Miranda. Estudio de tolerancia del *Thiobacillus ferrooxidans* al arsénico y a la plata. Memorias del VII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería y del II Simposio Internacional sobre Ingeniería de Bioprosesos, celebrados en Mazatlán, Sinaloa, México del 8 al 12 de septiembre de 1997.
- 49.- M. Eccleston and D. P. Kelly, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 63.
- 50.- A. Basaran and O. H. Tuovinen, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 63.
- 51.- M. Brown and D. R. Kester, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 64.
- 52.- S. I. Grishin, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 64.
- 53.- L. Ahonen, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 67.
- 54.- L. Ahonen and O. H. Tuovinen, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 69.

- 55.- J. D. Miller and H. Q. Portillo, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 69.
- 56.- J. D. Miller, H. Q. Portillo and P. J. McDonough, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 69.
- 57.- L. Ahonen and O. H. Tuovinen, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 71.
- 58.- T. Sugio, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 73.
- 59.- Ibidem, 74.
- 60.- J. E. Dutrizac and R. A. J. MacDonald, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 80.
- 61.- L. G. M. Baas Becking, I. R. Kaplan and D. Moore, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 83.
- 62.- K. A. Natajaran, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 83.
- 63.- L. G. M. Baas Becking, I. R. Kaplan and D. Moore, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 83.
- 64.- V. Gottschalk and H. Buehler, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 86.
- 65.- J. E. Dutrizac and R. A. J. MacDonald, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 86.
- 66.- J. B. Hiskey and M. E. Wadsworth, J. E. Dutrizac and R. A. J. MacDonald, citado en: microbial mineral recovery. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 86.

- 67.- M. J. Nicol, J. E. Dutrizac and R. A. J. MacDonald, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 86.
- 68.- V. K. Berry, J. E. Dutrizac and R. A. J. MacDonald, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 86.
- 69.- E. E. Malouf and J. D. Prater, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 82.
- 70.- S. I. Polkin, citado en: *microbial mineral recovery*. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (Eds). McGraw-Hill. USA; 1990. Pp 86.
- 71.- Tony Brewis. *Extracción de metales por acción bacteriana*. *Mining en español*. Pp 35-41. Abril 1996.
- 72.- *Ibidem*.
- 73.- *Ibidem*.
- 74.- A. P. Harrison. *The acidophilic thiobacilli and other acidophilic bacteria that share their habitat*. *Ann. Rev. Microbiol.* Vol 38. 1984. Pp 265-292.