



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

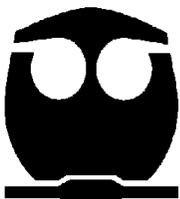
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“PRUEBAS DE INTEMPERISMO ACELERADO EN
COLUMNAS (CELDAS HÚMEDAS) DE JALES DE
MINERA TIZAPA CON MICROORGANISMOS
MESÓFILOS TIPO *ACIDITHIOBACILLUS
FERROOXIDANS*.”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO METALÚRGICO
PRESENTA:
JOSÉ FERNANDO FLORES ALVAREZ**





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: Dr. José Antonio Barrera Godínez

VOCAL: M. en C. Antonio Huerta Cerdán

SECRETARIO: Dra. Rosa Elva Rivera Santillán

1er. SUPLENTE: I.Q.M. Marco Antonio Talavera Rosales

2do. SUPLENTE: M. en I. Ventura Becerril Reyes

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE QUÍMICA.

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA METALÚRGICA.

LABORATORIO DE METALURGIA EXTRACTIVA EDIFICIO D.

ASESOR DEL TEMA: Dra. Rosa Elva Rivera Santillán.

Firma

SUPERVISOR TÉCNICO: M. en I. Ventura Becerril Reyes.

Firma

SUSTENTANTE: José Fernando Flores Alvarez.

Firma

DEDICATORIAS

Esté trabajo esta dedicado a las personas que me han apoyado en toda mi vida.

A mis padres:

A la Sra. Rosario Alvarez Robles y al Sr. José Guadalupe Flores Frausto por haberme dado la vida y por permitirme ser parte de esta maravillosa familia, por toda una vida de sacrificios y desvelos, por que jamás encontrare la forma de agradecerles el cariño, comprensión y apoyo brindado en todos estos años en los momentos de derrota y de triunfo obtenidos, haciendo esté, un logro mas suyo que mío.

Con todo mi amor.

A mis hermanos:

Jorge Alberto, Esmeralda, Salvador, Juan Carlos, Gustavo, que me brindaron su apoyo, consejos y en los momentos mas difíciles me alentaron a seguir adelante, por haber creído en mí, por soportar mi forma de ser, pero sobre todo por estar cuando más los he necesitado, los quiero mucho.

A mis sobrinos:

A tres personitas que le dieron vida y alegría a nuestra casa, Evelyn, Betzabe y Sergio David su llegada nos ha llenado de felicidad, esté trabajo se los dedico a ustedes.

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formar parte de la comunidad universitaria a través del Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Naucalpan, y de la Facultad de Química, permitiéndome desenvolverme en un ambiente de responsabilidad y conocimiento con un solo objetivo formarme como una mejor persona que sea útil a la sociedad y poder contribuir día con día a engrandecer el nombre de nuestra máxima casa de estudios.

A mi asesora la Dra. Rosa Elva Rivera Santillán por brindarme la oportunidad de ser parte de su grupo de investigación y por el apoyo, la paciencia, los consejos y el tiempo dedicado a lo largo de la tesis.

A mi supervisor técnico M. en I. Ventura Becerril Reyes por la paciencia y esmero que mostró para guiarme durante la realización de este trabajo, por ser un gran profesor, una gran persona, pero sobre todo por ser un gran amigo, sin tu ayuda esto no hubiera sido posible.

Al Dr. José Antonio Barrera Godínez por el tiempo dedicado a la revisión y corrección de este trabajo, así como los comentarios aportados para mejorar este proyecto.

Al M. en C. Antonio Huerta Cerdán por el tiempo dedicado a la revisión y las observaciones realizadas para mejorar este trabajo.

Al Ing. Carlos Lara por las facilidades prestadas para la obtención de las muestras utilizadas en la realización de este trabajo.

Agradezco a la DGAPA-UNAM por el financiamiento recibido para el proyecto PAPIIT-IN223306: "Estudio de biolixiviación de minerales de cobre en columnas y en reactores agitados", así como, por la beca recibida durante la etapa 17 de este proyecto.

De igual forma agradezco a los técnicos: I.Q. Iván Puente Lee (MEB, USAI), Q. Cecilia Salcedo (DRX, USAI) y al M. en C. Ciro Márquez (EAA, EAICP del Departamento de Ingeniería Química Metalúrgica) por el apoyo recibido durante el desarrollo experimental de este trabajo.

A mis amigos que tomaron otro camino, en especial a Carlos Arriaga, Jorge David Torres, Josue Baeza, Mario Alberto Castro, Arturo Nava que a pesar de la distancia y el tiempo han estado conmigo en los buenos y malos momentos.

A mis amigos de generación: Andrea Flores, Fabián Hernández, Guillermo Uribe, Ernesto Cedillo, Francisco Reyes, Gustavo Herrera, Gabby Pineda, Alejandro Palacios, Ricardo Martínez (Chispa), Alfredo Chanocua, Mauricio, Alejandro Gallegos, Dulce, Antonio (Barnes), por esos momentos que pasamos en la perrera, por que sin ustedes mi estancia en la Universidad no hubiera sido la misma.

A los compañeros del laboratorio de Metalurgia Extractiva: Yanet, Mauricio, Hugo, Leo, Ventura, Luis Soto, Isidro, gracias por hacer mas amena mi estancia en el laboratorio.

A mis amigos de la carrera: Yanet, Memo (3-marzo), Oscar Emilio, Saúl, Cesar Alamo (Nucita), Pepe, Adair (Oax), Atahualpa, Leo Equihua, Leo Luna, Hugo Martell, Emerson, Israel Orta, Juan Manuel (Compa), José G (Guapo), Gabriela Saksida, Vicente (Chente), Sergio Galicia, Erica, Juan Ramón (Charmín), Daniel Zúñiga (Pachís), Juan Manuel (Capullo), Mauricio, José Luis (Pepeluche), Walter, Osvaldo, Ernesto, Jaime, Jonathan (Jhony), Daniel Mojica, Javier Martínez, Héctor Vergara (Padrino), Edgar Onofre, Rafa, Sergio Téllez, Benjamín, Gerardo Charcas, por los buenos y malos momentos que compartimos, por los ratos de esparcimiento y los incansables viernes de futbol.

ÍNDICE

Prefacio	i
Objetivo general	iii
Objetivos particulares	iii
CAPITULO 1	1
1.- Bases teóricas	2
1.1.- Introducción	2
1.1.1.- Reseña Histórica	2
1.2.- Características de los residuos mineros (jales).	3
1.2.1.- Definición de DAM	4
1.2.2.- Impactos y efectos del DAM sobre el medio ambiente	5
1.3.- Reacciones Químicas.	7
1.3.1.- Oxidación.	7
1.4.- Microorganismos lixivadores de minerales.	8
1.4.1.- Bacterias.	8
1.4.2.- Reproducción y crecimiento.	9
1.4.3.- Microorganismos lixivadores participantes en la generación de DAM.	11
1.5.- Mecanismos de acción bacteriana.	13
1.5.1.- Mecanismo indirecto.	13
1.5.2.- Mecanismo directo.	14
1.6.- Fuentes de DAM.	15
1.7.- Predicción del DAM.	16
1.8.- Pruebas para determinar el DAM.	17
1.8.1.- Pruebas estáticas.	17
1.8.1.1.- Pruebas de PA.	18
1.8.1.2.- Potencial de neutralización.	19
1.8.2.- Pruebas cinéticas.	20
1.8.2.1.- Pruebas en celdas húmedas.	21
1.9.- Medidas de control y prevención del DAM	23

1.10.- Normatividad de DAM en México.	25
1.11.- Complejo minero Tizapa.	26
1.11.1.- Localización.	26
CAPITULO 2	27
2.- Desarrollo experimental.	28
2.1.- Reactivos, muestras, material y equipo.	28
2.2.- Toma de muestra (jales).	29
2.3.- Pruebas de orientación.	29
2.4.- Caracterización química y mineralógica de los jales.	29
2.4.1.- Digestión.	30
2.4.1.1.- Análisis por absorción atómica.	30
2.4.1.2.- Análisis por espectroscopía por plasma.	30
2.4.1.3.- Análisis por difracción de rayos X.	30
2.4.1.4.- Análisis por microscopía electrónica de barrido.	31
2.5.- Estudio de cinética de biooxidación con bacterias mesófilas a 35 ° C.	31
2.5.1.- Medios de cultivo.	31
2.5.2.- Preparación y reactivación de cepas.	31
2.5.3.- Seguimiento y control de parámetros.	32
2.5.3.1.- Medición y control de pH y potencial de oxido-reducción (ORP) del sistema.	33
2.5.3.2.- Medición y control de conductividad y resistencia del sistema.	33
2.5.3.3.- Monitoreo del crecimiento bacteriano (conteo).	33
2.5.3.4.- Inspección visual de los medios de cultivo.	33
2.5.3.5.- Cuantificación de la concentración del ion ferroso (Fe ²⁺) y férrico (Fe ³⁺).	34
2.6.- Estudio de la cinética de biooxidación de los jales con bacterias ET06 y Cananea a 35 ° C.	34
2.6.1.- Sistemas estériles (testigo).	35
2.6.2.- Caracterización de los residuos del estudio de biooxidación con microorganismos ET06 y Cananea a 35 ° C.	35
2.7.- Pruebas estáticas.	36

2.8.- Pruebas cinéticas o de intemperismo acelerado.	36
2.8.1.- Caracterización de los residuos de las pruebas de intemperismo acelerado.	38
2.9.- Diagrama de flujo del diseño experimental.	39
CAPITULO 3	40
3.- Resultados y discusión.	41
3.1.- Resultados de pruebas de orientación.	41
3.1.1.- Evaluación de los jales iniciales	41
3.1.2.- Absorción atómica.	41
3.1.3.- Estudio de difracción de rayos X (DRX).	41
3.1.4.- Análisis al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).	43
3.2.- Adaptación de cepas.	44
3.2.1.- Reactivación de cepas.	44
3.2.2.- Adaptación de los sistemas en reactores agitados.	45
3.2.2.1.- Comportamiento del pH.	45
3.2.2.2.- Comportamiento del potencial durante la adaptación de las bacterias.	47
3.2.2.3.- Crecimiento bacteriano durante el periodo de adaptación.	49
3.3.- Cinética del 3er pase para los medio 9K y Norris con los sistemas ET06 y Cananea	51
3.4.- Oxidación de Fe²⁺ a Fe³⁺ en reactores agitados.	53
3.5.- Análisis de la concentración de metales libres en solución en incubador orbital.	55
3.6.- Microscopía electrónica de los residuos de biooxidación.	59
3.7.- Resultados de pruebas estáticas.	61
3.8.- Resultados de las pruebas cinéticas con bacterias mesófilas en celdas húmedas.	62
3.8.1.- Resultados de medición de los parámetros en celdas húmedas.	62
3.8.1.1.- Evolución del pH en las celdas húmedas.	62
3.8.1.2.- Comportamiento del potencial de oxido reducción en las pruebas de celdas húmedas.	63
3.8.1.3.- Comportamiento de la conductividad y resistencia en las pruebas de celdas húmedas.	64
3.8.1.4.- Crecimiento de microorganismos en las pruebas de celdas húmedas.	66

3.8.1.5.- Comportamiento de la concentración de Fe ²⁺ y Fe ³⁺ en solución en las pruebas de celdas húmedas.	67
3.8.1.6.- Análisis de la concentración de metales pesados en solución en las pruebas de celdas húmedas.	68
3.8.1.7.- Microscopía electrónica de barrido de los residuos de biooxidación en las pruebas de celdas húmedas.	69
CAPITULO 4	70
4.- Conclusiones.	71
CAPITULO 5	73
5.-Bibliografía.	74
Anexo I.	76

Prefacio

La minería como cualquier proceso industrial genera problemas sobre el ambiente y la salud, y esto está relacionado con la composición del mineral, el tipo de explotación, el proceso de beneficio, la escala de las operaciones y las características del entorno. De manera específica, la composición de los residuos puede variar de acuerdo con las condiciones particulares de cada mina.

Los menores impactos se observan en los procesos de flotación natural, pero aumentan en los de flotación con reactivos y son mayores en los procesos de lixiviación. Los elementos potencialmente tóxicos más comunes derivados de estos procesos, en el caso de México, son plomo, cadmio, zinc, arsénico, selenio y mercurio.

A medida que avanza la explotación del yacimiento, la composición del mineral puede cambiar, generándose residuos más o menos peligrosos que no existían en etapas anteriores. Es por ello que los escenarios que resultan de relacionar a las especies minerales con su proceso de beneficio y con el ambiente específico donde se ubica cada mina, obligan a estudiar cada situación de manera particular y específica. Sin embargo, hay impactos muy representativos que se observan en casi todas las minas.

Durante la explotación de las minas a cielo abierto, se produce la destrucción de la vegetación, la pérdida de suelos y la formación de terrenos inestables que aportan sedimentos a las cuencas locales, alterando la topografía regional. Lo cual afecta la circulación general del agua subterránea ya que, por ejemplo, se produce el hundimiento de los mantos freáticos en climas áridos o semiáridos, y aumenta el nivel de oxidación de los sulfuros, lo que produce el drenaje ácido de mina (**DAM**).

El drenaje ácido de mina es un fenómeno químico muy conocido en las minas, en el que los sulfuros de los minerales se transforman en ácido sulfúrico y sulfatos metálicos, arrastrando elementos tóxicos. Este problema, se puede presentar en los túneles (socavones) de las minas subterráneas o en minas a cielo abierto, es un factor de riesgo ambiental muy importante de considerar, especialmente cuando termina la vida útil del yacimiento. La información internacional acerca de este fenómeno es limitada y solamente se sabe que los factores más importantes a considerar es la cantidad de rocas básicas, la concentración de sulfuros de hierro y la cantidad de aire presente en contacto con el material (oxígeno).

El trabajo que se presenta es un estudio del efecto de algunos microorganismos del tipo *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre jales provenientes del Complejo Minero Tizapa en el desarrollo del fenómeno llamado drenaje ácido de mina, para éste se emplearon cuatro cepas almacenadas en el Laboratorio 212 de Metalurgia Extractiva (Candameña, Cananea, ET06 y Tayahua).

Éste trabajo se presenta en varios capítulos. En el capítulo 1 de éste trabajo contiene las bases teóricas del fenómeno de drenaje ácido de mina, mientras que en el capítulo 2 se describe el procedimiento experimental desarrollado. El capítulo 3 presenta los resultados obtenidos y su análisis. En el capítulo 4 se presentan las conclusiones obtenidas, y finalmente se enumeran las referencias bibliográficas utilizadas para el desarrollo de este trabajo.

En el Anexo I se muestran los diferentes difractogramas de la muestra y de los residuos obtenidos en los estudios de cinética de biooxidación y de las pruebas en celdas húmedas.

Objetivo General.

- Determinar el efecto de los microorganismos del tipo *Acidithiobacillus ferrooxidans* en los jales del Complejo Minero Tizapa, para establecer su capacidad de generar drenaje ácido.

Objetivos Particulares.

1. Obtener cultivos de cepas mesófilas activas (a 35 °C) a partir de 4 cepas que se encuentran almacenadas en el Laboratorio de Metalurgia Extractiva.
2. Comparar las 4 cepas, para determinar sus condiciones de adaptación y potencial para la biooxidación.
3. Observar el efecto de los microorganismos (del tipo *Acidithiobacillus ferrooxidans*) utilizados en la disolución de metales pesados contenidos en los jales.
4. Determinar el efecto de las variables que controlan el crecimiento de los microorganismos mesófilos por medio de reactores agitados.
5. Realizar pruebas estáticas para determinar si estos jales pueden ser generadores de drenaje ácido.
6. Determinar la viabilidad de las cepas para su uso en pruebas de intemperismo acelerado.

CAPÍTULO 1

BASES TEÓRICAS

1.- Bases teóricas.

1.1.- Introducción.

Durante los últimos años la industria minera se ha enfrentado a problemas cada vez más importantes. Los más significativos se concretan en: (a) el incremento continuo del costo de minería y de los procesos de extracción, (b) en los precios inestables y bajos del mercado internacional y (c) en la creciente preocupación social en relación con la contaminación producida por las plantas de tratamiento de materias primas; sobretodo de sulfuros y carbones con demasiado azufre. Esta situación se agrava al considerar otros factores como el alza de los costos de amortización, de energía, la cada vez más baja ley de las menas y sobre todo el agotamiento de las reservas minerales [1, 2].

El surgimiento económico de países como China e India, que concentran una tercera parte de la población del planeta ha disparado la demanda de casi todas las materias primas minerales, provocando que las cotizaciones internacionales de los metales alcancen máximos históricos.

El continuo aumento de la población mundial y el empeño de las naciones por mejorar el nivel de vida de sus ciudadanos permite pronosticar en el mediano plazo: una reducción en el consumo global de sus recursos minerales. Actualmente, el mundo está experimentando una demanda sin precedente de materias primas minerales, y se espera que se mantenga al menos durante las próximas décadas [3].

La industria metalúrgica está haciendo esfuerzos cada vez más importantes para reducir los costos y recobrar la rentabilidad, así como cumplir cada vez más las estrictas normas ambientales. Es por eso que el desarrollo de métodos que utilicen microorganismos podría ser uno de los factores que influyan para poder modificar la situación actual de la Metalurgia Extractiva [1, 2].

1.1.1.- Reseña Histórica.

La minería es una actividad económica que siempre ha estado presente en el proceso histórico de México. Su importancia socio-económica requiere de la identificación de los factores que la regulan y de los problemas que la aquejan; por ello se hace necesario conocer su historia, su geografía y sus técnicas de explotación [4].

México tiene una larga historia dentro de la minería, pues aún antes de la época prehispánica ya se realizaban actividades mineras y metalúrgicas en lo que hoy es Taxco, Guerrero, en las Sierras de Querétaro, Oaxaca y Chiapas, así como en la Cuenca del Río Balsas.

Durante el Siglo XVI, esta actividad cobró auge constituyéndose en polo de desarrollo y dando lugar a la creación de ciudades como Chihuahua, Durango, Guanajuato, Saltillo, San Luís Potosí y Zacatecas.

En la actualidad, la actividad minera es aún una fuente importante de divisas, a pesar de la caída internacional de los precios de los metales conserva una participación ascendente en la economía nacional, una notable contribución a la producción mundial, y es una fuente destacada de empleos para cerca de un millón de trabajadores. Entre las entidades que tienen mayor volumen de producción, se encuentran Baja California Sur, Coahuila, Colima, Michoacán y Zacatecas; la producción de alrededor de 10 minerales metálicos y no metálicos representa cerca del 90 por ciento del valor de la producción nacional; a la vez, unos 18 minerales como Plata (Ag), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Plomo (Pb), Oro (Au), Molibdeno (Mo), Hierro (Fe), y Manganeso (Mg), por mencionar algunos, ocupan una posición relevante entre los que se producen en mayor volumen a nivel mundial.

1.2.- Características de los residuos mineros (jales).

A medida que avanza la explotación del yacimiento, la composición de la mena cambia, generándose residuos más o menos peligrosos que no existían en etapas anteriores. Es por ello que los escenarios que resultan de relacionar a las especies minerales con el proceso de beneficio y con el ambiente específico donde se ubica cada mina, obligan a estudiar cada situación de manera particular y específica. Sin embargo, hay impactos muy representativos que se observan en casi todas las minas.

Los residuos mineros conocidos como **colas**, relaves o jales (tailings), generalmente se encuentran en forma de lodos; estos son generados durante los procesos de recuperación de metales a partir de sus minerales [5].

La composición de los jales depende del contenido de especies tóxicas presentes en los yacimientos y de los reactivos que se emplean para extraerlos. En general, durante el beneficio no hay cambios notables en su composición química, por lo que los metales pesados están en forma insoluble, pero contienen muchas sales que pueden ser básicas o ácidas y contener

vestigios solubles de ciertos elementos derivados de la oxidación de los jales, como arsénico o selenio entre otros.

El tipo y la cantidad de vegetación presente en las presas de jales puede ser indicador de su peligrosidad, pues a veces son fértiles y otras veces tóxicos. Muchos de los impactos no se deben a los metales pesados sino a las sales insolubles y partículas suspendidas que afectan a los suelos cuando se riegan zonas agrícolas con aguas de la presa de jales o a los cuerpos de agua receptores, especialmente los ríos [6].

1.2.1.- Definición de DAM.

El drenaje ácido es el escurrimiento de soluciones acuosas ácidas sulfatadas, frecuentemente con un contenido significativo de metales disueltos, resultado de la oxidación química y biológica de minerales sulfurados y de la lixiviación de metales pesados asociados. Las reacciones de oxidación ocurren en forma natural, y se aceleran por el aumento de exposición de la roca al oxígeno, al agua y por la acción catalizadora de algunas bacterias.



Foto 1.1 Drenaje ácido de mina. Note la fuerte coloración rojiza, dada por especies oxidadas de hierro. En Río Tinto (Huelva) [6].

El término DAM se refiere al agua de drenaje que contiene niveles de cualquier elemento o contaminante que no se encuentre dentro de los límites reglamentarios que se extienden de 50 a 300 mg Fe/L, 20 a 30 mg Mn/L, 20 a 2000 mg $(\text{SO}_4)^{2-}$ /L, y un pH de 3.0 a 5.5 para el agua que drena de un asiento minero, y que podría ocasionar un impacto ambiental adverso. El desarrollo del DAM es un proceso dependiente del tiempo y que involucra procesos de oxidación tanto química como biológica y fenómenos físico-químicos asociados, incluyendo la precipitación y el encapsulamiento.

Generalmente el DAM se caracteriza por:

- valores de pH por debajo de 7 y hasta 1.5.
- alcalinidad decreciente y acidez creciente.
- concentraciones elevadas de sulfato (2.0 mg/L).
- concentraciones elevadas de metales (disueltos o totales).
- concentraciones elevadas de sólidos (disueltos o totales) [7].

1.2.2.- Impactos y efectos del DAM sobre el medio ambiente.

El agua ácida generada en las faenas mineras, acompañada generalmente de metales pesados disueltos, ha provocado históricamente en el mundo casos de acidificación de suelos, ríos y lagos y con ello un sin número de efectos ecológicos, en gran medida desconocidos.

Entre ellos se le incluyen alteraciones en la tasa de lixiviación de los nutrientes del suelo, cambios en las relaciones predador-presa, eliminación física de especies vegetales y animales, etc.

La preocupación fundamental en cuanto al drenaje ácido se debe a su potencial impacto adverso sobre la flora y la fauna del ambiente receptor y, además, a los posibles riesgos indirectos para la salud humana. Los peces y otros organismos acuáticos son más sensibles que los seres humanos a los niveles elevados de la mayoría de los metales pesados. Pero, es importante destacar que si los metales se encuentran en el agua, generalmente son asimilados por los organismos vivos, se acumulan en los sedimentos y de esta manera pueden ingresar a la cadena alimenticia.

Los posibles impactos sobre el medio ambiente pueden ser:

- Afecta ecosistemas acuáticos, como resultado de la acidez y de los metales disueltos en las aguas.
- Inhibe el crecimiento de comunidades vegetales aledañas a los canales de drenaje, debido a que la acumulación de hierro y de sulfuros en la superficie de los suelos dificulta la penetración de las raíces. También, el ácido sulfúrico afecta la tasa de crecimiento de plantas.
- Afecta la calidad de las aguas superficiales y subterráneas (acuíferos poco profundos), lo cual podría afectar a la comunidad por limitar o impedir utilizar las aguas para algunos usos como riego o recreación.

El agua ácida puede producir también efectos sobre la operación minera:

- El alto contenido de sulfatos en las aguas ácidas, puede deteriorar la calidad del agua de mina, limitando su uso en el proceso y creando problemas de corrosión en las instalaciones y equipos de faenas mineras.
- Dificultar procesos de revegetación y estabilización de los residuos mineros, ya que la generación de ácido obstaculiza el establecimiento de una capa vegetal.

Es importante reconocer que la acidez es uno de los factores más críticos en relación al drenaje ácido, sin embargo, la preocupación fundamental la constituyen los elevados niveles de metales disueltos. Es así como el drenaje ácido que proviene de la oxidación de minerales sulfurados de una roca que además contiene carbonatos puede ser casi neutro, pero puede contener niveles elevados de metales solubles en pH neutro o alcalino, tales como el Zn, As, o el Mo, cuya solubilidad no disminuye a pH menores a 1.2; y puede precipitar a los iones solubles de hierro férrico (Fe^{3+}), produciendo hidróxido férrico ($Fe(OH)_3$) como precipitado [7].

Es de gran importancia identificar cada una de las fuentes potenciales de DAM, tanto en el diseño como en la operación de cada planta minera. También es importante que al desarrollar las pruebas de predicción, se consideren las diferencias entre los controles físicos y químicos del DAM para cada una de estas fuentes.

Es importante establecer tanto las posibilidades de formación del fenómeno del DAM como la prevención del mismo. Para ello se emplean predicciones teóricas más o menos complejas, y pruebas experimentales, que pueden ser estáticas o cinéticas.

Las predicciones teóricas aplicadas se basan en los fundamentos de la mineralización en lo que se refiere a:

- Presencia de sulfuros: qué tipo de sulfuros, y en qué proporciones relativas. Por ejemplo, en ausencia de pirita los procesos de lixiviación son poco importantes.
- Presencia de minerales con potencial neutralizador: fundamentalmente los carbonatos, como ya se ha mencionado: tipo de carbonato(s), proporción y distribución.
- Granulometría del material susceptible de producir el proceso. Por ejemplo, un lecho de finos presenta en general una baja permeabilidad, lo que dificulta el transporte de los componentes como el oxígeno a los niveles inferiores y limita las reacciones de oxidación.

- Consideraciones climáticas. Por ejemplo, un clima frío alenta las reacciones, uno cálido las acelera. Lluvias muy abundantes diluyen las soluciones, la ausencia casi total de lluvias impide la existencia de éstas soluciones.
- Presencia de bacterias que puedan favorecer el desarrollo del proceso de generación de DAM [8].

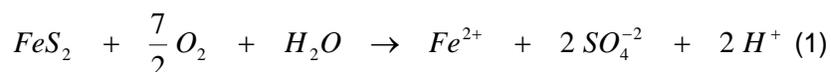
1.3.- Reacciones Químicas.

1.3.1.- Oxidación.

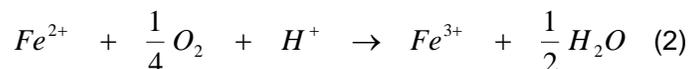
La generación y el consumo de ácido son el resultado de una serie de reacciones químicas interrelacionadas. Los factores que controlan la velocidad y la magnitud de la generación de ácido, y la consiguiente calidad de agua de drenaje, sólo han sido estudiados en detalle los últimos años. La comprensión de estos factores, así como de los procesos químicos y de los reactantes involucrados, constituyen la clave para la predicción del potencial de generación de ácido en una muestra de roca; y son fundamentales para identificar la tecnología apropiada, que sirva para prevenir o controlar el drenaje ácido. Los componentes principales para la generación de ácido son: minerales sulfurosos reactivos, agua o atmósfera húmeda y un oxidante, especialmente el oxígeno, de la atmósfera o de otra fuente.

Además la velocidad y la magnitud de la generación de ácido son afectadas por los siguientes factores secundarios: bacterias (*Acidithiobacillus ferrooxidans*), pH, temperatura.

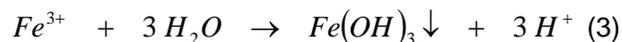
El fenómeno se produce por la oxidación e hidrólisis de los sulfuros, en especial de la pirita, la cual desencadena una serie de reacciones complejas:



A su vez, los iones ferrosos (Fe^{2+}) se oxidarán de la siguiente manera:

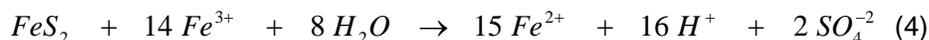


Los iones férricos producidos se hidrolizan para formar hidróxido férrico:



Este hidróxido es el precursor de una serie de minerales típicos del ambiente oxidante de menas sulfuradas, y otorgan a las escombreras y arroyos un típico color amarillento-rojizo, debido a la presencia de jarosita.

A medida que se desarrolla la generación de ácido y se consume la alcalinidad disponible, el ion férrico (Fe^{3+}), sirve como oxidante y puede promover la oxidación química de los minerales sulfurosos. En el caso de la pirita, la reacción que ocurre es la siguiente:



La oxidación química de la pirita mostrada con la reacción 1 es una reacción relativamente rápida a valores de pH mayores que 4.5 pero mucho más lenta a niveles de pH más ácidos. La velocidad del suministro de oxígeno es el factor que controla principalmente la velocidad de la oxidación química. A niveles de pH inferiores a 4.5, la oxidación por el ion férrico se convierte en el proceso de oxidación dominante. La velocidad de producción de ion férrico a partir del ion ferroso reacción 2, se convierte en la etapa controlante del proceso total de oxidación. Sin embargo, por catálisis biológica, esta reacción es relativamente rápida. Por lo general, se reconoce que ciertas bacterias pueden acelerar la velocidad con la cual ocurren algunas de las reacciones anteriormente mencionadas, incrementando con ello la velocidad de generación de ácido. La bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* es capaz de oxidar compuestos de azufre reducidos, así como oxidar el ion ferroso a férrico (el cual puede actuar como oxidante). Otras bacterias conocidas como participantes o que catalizan la oxidación de los minerales sulfurosos son *Acidithiobacillus Thiooxidans* y *Sulfolobus*. [9]

1.4.- Microorganismos lixiviantes de minerales.

1.4.1.- Bacterias.

Son seres generalmente unicelulares que pertenecen al grupo de los protistas inferiores. Son células de tamaño variable cuyo límite inferior está en las $0.2 \mu m$ y el superior en las $50 \mu m$; sus dimensiones medias oscilan entre 0.5 y $1 \mu m$. Las bacterias tienen una estructura menos compleja que la de las células de los organismos superiores: son células procariontas (su núcleo está formado por un único cromosoma y carecen de membrana nuclear). Igualmente son muy diferentes a los virus, que no pueden desarrollarse dentro de las células y que sólo contienen un ácido nucleico.

Van Leeuwenhoek describió por primera vez lo que se interpretó como una bacteria en una infusión de granos de pimienta examinada con un microscopio, poco sospecho o pocos sospecharon que existían otras diminutas criaturas a las que él había observado y que eran capaces de extraer metales de menas de minerales.

Las bacterias no fueron reconocidas como un grupo único de organismos hasta que en 1875 Ferdinand Cohn las clasificó como plantas, pero no fue si no hasta la década de los sesenta que se les asignó un grupo especial de organismos, distintos del de las plantas y de los animales, los *procariontas*, basándose en su organización unicelular.

Sin embargo fue hasta 1977 cuando Carl Woese estableció que las *bacterias procariontas* podían dividirse en dos grupos, las *eubacterias* y las *arqueobacterias*. Ambas contienen miembros de gran importancia en la hidrometalurgia [10].

Hablando en términos biológicos una característica que define a la mayoría de los microorganismos *procariontos* es su alta resistencia para evolucionar en ambientes extremos con condiciones de vida muy agresivas, esto es debido a su ritmo de crecimiento, a su división celular y a su diversidad metabólica. Estos ambientes pueden diferenciarse entre sí en función de su temperatura, nutrientes o pH, sin embargo, un hecho común en todos ellos es su alto contenido en metales pesados y en compuestos de estos metales.

El área mas importante dentro del proceso biotecnológico de metales es la oxidación de sulfuros metálicos por medio de microorganismos. Estos seres viven asociados normalmente a ambientes acuosos característicos de las explotaciones de mineras, con un pH bajo, concentraciones de metales pesados altas, temperaturas elevadas, lo cual resulta sorprendente, pues en estas circunstancias viven y crecen con gran facilidad. La energía que utilizan para poder desarrollarse la obtienen de la oxidación de las distintas formas reducidas de azufre y de diferentes metales. El resultado es que a consecuencia de su actividad metabólica, se solubilizan distintos metales contenidos en los sólidos de las minas [11].

1.4.2.- Reproducción y crecimiento.

Además de los elementos indispensables para la síntesis de sus constituyentes y de una fuente de energía, ciertas bacterias precisan de unas sustancias específicas: los factores de crecimiento. Estos son elementos indispensables para el crecimiento de un organismo incapaz de llevar a cabo su síntesis.

Las bacterias que precisan de factores de crecimiento se llaman *autótrofas*. Las que pueden sintetizar todos sus metabolitos se llaman *protótrofas*. Ciertos factores son específicos, tal como la nicotinamida (vitamina B).

Según André Lwoff, se pueden distinguir verdaderos factores de crecimiento, absolutamente indispensables, factores de partida, necesarios al principio del crecimiento y factores estimulantes. El crecimiento bacteriano es proporcional a la concentración de los factores de crecimiento. Así, las vitaminas, que constituyen factores de crecimiento para ciertas bacterias, pueden ser dosificadas por métodos microbiológicos (B12 y *Lactobacillus lactis*).

Se puede medir el crecimiento de las bacterias siguiendo la evolución a lo largo del tiempo del número de bacterias por unidad de volumen. Se utilizan métodos directos como pueden ser el conteo de gérmenes mediante el microscopio o el conteo de colonias presentes después de un cultivo de una dilución de una muestra dada en un intervalo de tiempo determinado. Igualmente se utilizan métodos indirectos (densidad óptica).

En estudios de laboratorio, cuando la bacteria se inocula en un medio de cultivo, se observan las siguientes fases en la curva de crecimiento (figura 1):

1).- Fase Lag o de adaptación: Cuando una población microbiana es inoculada, el crecimiento generalmente no principia de inmediato sino después de un cierto tiempo, llamado fase Lag que puede ser breve o largo, dependiendo de las condiciones ambientales (abundancia de nutrientes) antes de presentarse la división celular.

2).- Fase Logarítmica: Durante esta fase la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo. Esto es una consecuencia del hecho de que cada célula se divide para formar dos células más y así sucesivamente, ya que las bacterias consumen los nutrientes del medio a velocidad máxima. Las condiciones ambientales, la temperatura, composición del medio de cultivo, afectan a la velocidad de crecimiento exponencial así como las características del microorganismo.

3).- Fase Estacionaria: En esta fase el crecimiento exponencial se detiene, los nutrientes indispensables se agotan, no hay incremento o decremento en la masa y en el número de células, ya que éstas desarrollan un metabolismo diferente al de la fase exponencial y durante ella se produce una acumulación de sustancias tóxicas que impiden que se reproduzcan.

4).- Fase de Muerte: Usualmente entre un periodo de 18 a 24 horas, la producción logarítmica de células viables de reproducción a las no viables es cada vez menor, esto como consecuencia del agotamiento de uno o varios factores de crecimiento, de la acumulación de sustancia nocivas, falta de oxígeno, o de la evolución hacia un pH desfavorable [12, 13].

La capacidad con la que cuentan estos microorganismos para crecer y realizar su función específica está limitada por la disponibilidad del alimento para cubrir sus requerimientos energéticos y los cambios en el medio. El medio nutriente utilizado debe contener los nutrientes necesarios para la realización de la actividad bacterial [14].

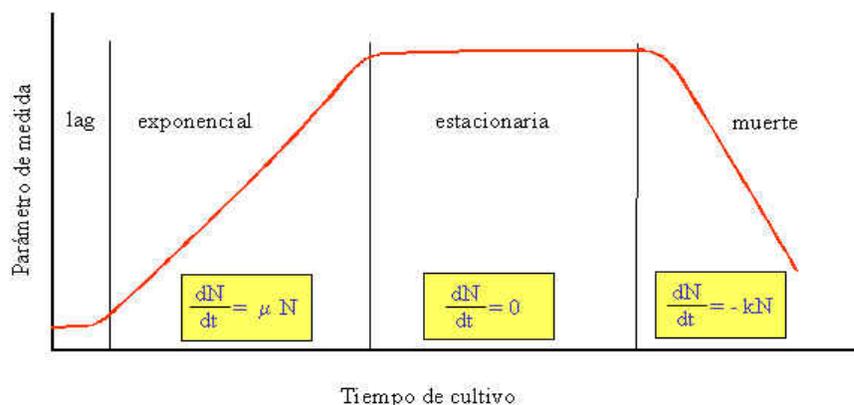


Figura 1.1 Ciclo de vida de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

1.4.3.-Microorganismos lixividores participantes en la generación de DAM.

En los procesos más comunes de biolixiviación se encuentran los siguientes microorganismos:

Acidithiobacillus Ferrooxidans.

Es sin duda el más estudiado de todos los microorganismos, puede ser aislado invariablemente donde hay hierro y materiales oxidados. Seguramente también estará en otro tipo de ambientes, teniendo en cuenta que crece de manera óptima en temperaturas que van de los 10 a los 30 ° C, y la máxima temperatura que tolera es de 37 ° C.

Leptospirillum Ferrooxidans.

Este microorganismo debería ser llamado mejor: "Ferroviario". El primero fue aislado en Armenia, es normal verlo en numerosas ocasiones en procesos de lixiviación. Puede crecer a una temperatura de 40 ° C y un pH de 1.2, en la pirita aparece para oxidar al hierro.

Acidithiobacillus Thiooxidans, A. acidophilus y A. organoparus.

Estos acidófilos sólo oxidan azufre o sus compuestos, y atacan el azufre de la pirita en cooperación con el *L. ferrooxidans*. Pueden alcanzar un pH de oxidación de 0.65, con sulfuros de plomo, cadmio o níquel.

Termófilos moderados.

Son una variedad que va en aumento, en ella se pueden encontrar las bacterias que oxidan el hierro, cobre, azufre, que encuentran su crecimiento óptimo a temperaturas cercanas a los 50 ° C, cada vez están siendo descubiertas más de este tipo. Se puede incluir también en este grupo a heterótrofos facultativos, quimioheterótrofos y autótrofos.

Acidófilos extremos.

El género mejor conocido de todos es el *Sulfolobus*, donde todas las especies oxidan azufre, e incluso algunas son capaces de oxidar hierro y calcopirita. Estos organismos toleran temperaturas mayores a 85 ° C y son principalmente aislados de fuentes de aguas termales. Recientemente se han aislado organismos del tipo *Sulfolobus* en drenajes de minas de carbón, que pertenecen a las *Archaeobacteriaceae*, que son una distinción de un grupo perteneciente al tercer reino.

Todas estas bacterias lixiviadoras participan en los procesos de disolución de metales de varias maneras. Estos métodos se han determinado como directos o indirectos. Las oxidaciones catalizadas de manera directa por el microorganismo incluyen la oxidación del hierro y la del azufre, algunos minerales son oxidados directamente por las bacterias, como es el caso de la pirita [15].

ORGANISMO	TEMPERATURA	FUENTE DE CARBONO	SUSTRATO
<i>Acidithiobacillus Ferrooxidans</i>	20 a 37 °C mesófilo	CO ₂	Fe ²⁺ , S ⁰ , Sulfuros
<i>Lepstospirillum Ferrooxidans</i>	20 a 35 °C mesófilo	CO ₂	Fe ²⁺
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	20 a 35 °C mesófilo	CO ₂	S ⁰ , Sulfuros
Género <i>Sulfolobus</i>	60 a 80 °C termófilo	CO ₂ C orgánico	Fe ²⁺ , S ⁰ , Sulfuros

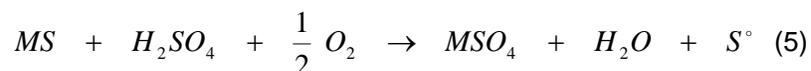
Tabla 1.1 Bacterias de mayor desarrollo en condiciones de circuitos de lixiviación.

1.5.- Mecanismo de acción bacteriana.

La Biolixiviación abarca a todos aquellos procesos donde se lleva a cabo la solubilización de minerales debido a la acción de microorganismos.

Como se sabe la Biolixiviación es un proceso en el cual ciertos microorganismos, como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, catalizan tanto la oxidación de sulfuros metálicos como de otros compuestos reducidos del azufre, así como la de los iones férrico y ferroso.

Al poner en contacto una solución de ácido sulfúrico de pH 2 a 3 con un mineral sulfurado metálico en presencia de oxígeno, se verifica un aumento de pH de la solución producto de la oxidación del azufre con la consiguiente liberación del catión metálico [16]. Esta se puede verificar de acuerdo a una reacción de la forma:



Donde M es un catión metálico bivalente.

Por otro lado, en presencia de sulfato férrico, la lixiviación ocurre por la acción oxidante del ion férrico sobre el azufre del sulfuro metálico.

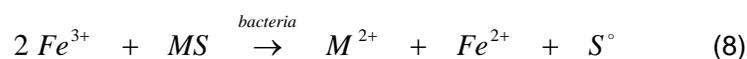
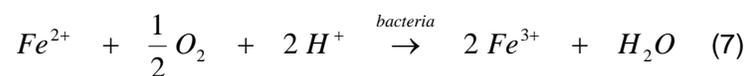


La presencia en el sistema de la bacteria del género *A. Thiobacillus* altera el mecanismo de la reacción, catalizando la liberación del metal, y contribuyendo a catalizar un conjunto de reacciones de oxidación tanto de azufre como de hierro. Formalmente, se puede dividir la acción bacteriana, según si ella afecta directamente la lixiviación del sulfuro, o lo hace en forma indirecta al producir otras reacciones colaterales de importancia.

1.5.1.- Mecanismo Indirecto.

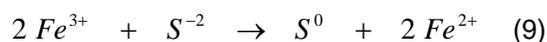
Se relaciona con la reacción de lixiviación del sulfuro mediada por la acción oxidativa del ion férrico (Fe^{3+}), la bacteria actúa regenerando el ion férrico consumido en la lixiviación. En este caso no es necesario un contacto físico entre la bacteria y el sustrato sólido. La reacción de oxidación química puede ser completa, en cuyo caso se producen Fe^{2+} y iones sulfato [17].

Se resume según:



Donde la reacción (7), es acelerada críticamente por la bacteria, y ocurriendo la reacción (8) en forma consecuyente.

La reacción de oxidación puede ser también incompleta, en este caso se producen Fe^{2+} y S^0 . El equilibrio se representa según la siguiente ecuación:



1.5.2.- Mecanismo Directo.

Se considera que es el que se da por medio de un contacto más íntimo entre la bacteria y la superficie del sustrato sólido y que conduce el sulfuro es biológicamente oxidado. Sin embargo, el mecanismo específico, enzimático o electroquímico, por el cual ocurre esta oxidación no ha sido totalmente develado.

Se considera para la ocurrencia de éste mecanismo como un prerrequisito indispensable al contacto entre la bacteria y la superficie mineral.

En el caso de los sulfuros metálicos, éstos son oxidados a sulfatos en varias etapas intermedias catalizadas por la acción de las bacterias presentes, el proceso se puede resumir según las reacciones:

Oxidación directa del sulfuro:



Oxidación de azufre residual:



Ambas reacciones catalizadas por la bacteria.

Donde el proceso está controlado por el siguiente equilibrio:



Previo a la acción bacteriana, el equilibrio (8) produce iones en solución, y la acción bacteriana se produce en las inmediaciones de la superficie del sólido a medida que los iones S^{2-} son liberados, los productos de solubilidad de distintos sulfuros metálicos tienen una relación directa con las velocidades de oxidación en presencia de bacterias. Ello equivale a decir que en la medida en que el sistema estuviera suficientemente agitado para asegurar una difusión rápida de los iones, la mayor o menor adherencia de las bacterias sobre el sulfuro metálico no debería tener influencia en el proceso.

La reacción (8) se encuentra desplazada hacia la izquierda, por ello a medida que las bacterias oxidan sulfuros a sulfatos, la reacción anterior se desplaza hacia la derecha según el principio de LeChatelier.

Además de los factores que influyen en la lixiviación ácida, las condiciones que afectan la cinética de la lixiviación bacteriana son:

- Aireación: La acción bacteriana, en cuanto a las reacciones de lixiviación de sulfuros, requiere de la presencia de una concentración máxima de oxígeno. Además por corresponder a un organismo autótrofo, requiere dióxido de carbono como fuente de carbono para su metabolismo.
- Nutrientes: Para mantener la viabilidad de estos microorganismos, ellos necesitan energía y fuentes de elementos tales como: nitrógeno, fósforo, magnesio, azufre, hierro, etc.
- Temperatura: El rango de temperaturas de crecimiento de estos microorganismos va desde 2 hasta 40 ° C, siendo óptimo del orden de 28 a 35 ° C dependiendo de la cepa bacteriana.
- pH: El rango de pH de crecimiento de estos microorganismos va desde 1.5 hasta 3.5, siendo el óptimo del orden de 2.3.
- Área superficial del mineral sulfuroso expuesto [18].

1.6.- Fuentes de DAM.

Los minerales sulfurosos más comunes, considerados como fuentes de DAM, son los minerales de hierro pirita (FeS_2), pirrotita (FeS), marcasita (FeS_2).

Dependiendo de la forma y de la estructura cristalina del mineral se oxidaran más rápido como en el caso que de la pirita y pirrotita framboidal.

Los minerales con un grano grueso se oxidan más lentamente, todo mineral sulfuroso tiene el potencial de oxidarse y lixiviar metales. La oxidación y lixiviación de los minerales dan generalmente como resultado la generación de ácido a partir de los minerales de sulfuro de hierro asociados, los cuales pueden dar como resultado la liberación de acidez y metales disueltos en el agua de drenaje (como Pb, Zn, Cu, As, Cd, etc.)

Los minerales sulfurosos se encuentran en todas partes en el ambiente geológico, pero principalmente en rocas que yacen debajo de una capa de suelo y una capa freática. Bajo condiciones naturales, el suelo recibe la roca y el agua subterránea minimizan el contacto con el oxígeno permitiendo así que la generación de ácido continúe a una velocidad muy baja que el efecto sobre la calidad de agua sea insignificante. La exposición de la roca sulfurosa reactiva al aire y el agua, esto como resultado de la explotación minera y actividades tales como la construcción de carreteras, puede acelerar la velocidad de la generación de ácidos ocasionando un impacto al ambiente.

Entre las principales fuentes de DAM se encuentra:

- pilas de lixiviación
- labores mineras subterráneas
- minas de tajo abierto
- la roca de construcción (relleno, represas, carreteras) [10].

1.7.- Predicción del DAM.

La base del concepto de predicción es tratar de utilizar la información recopilada en la actualidad para predecir no sólo lo que ocurrirá dentro de 1 año, ni dentro de 10, sino de los próximos 100 años. La identificación prematura de los materiales potencialmente generadores de ácido, mediante métodos confiables y exactos, puede reducir considerablemente los problemas ambientales de largo plazo y los costos de las medidas correctivas.

Cabe destacar que a través de la predicción del DAM, se intenta determinar el comportamiento de sistemas complejos y naturales, que varían de faena en faena y hasta de tipo de roca a tipo de roca dentro de una misma faena minera. Por lo tanto, no existe un único conjunto de pruebas, o número de muestras, que garanticen una predicción absoluta del DAM. No obstante, con una comprensión cabal de los factores físicos y químicos que controlan el DAM, y con aplicación práctica y científica de las técnicas que se van a discutir mas adelante, se podrá

identificar el potencial de generación de ácido y estimar la calidad de agua del drenaje, a corto y largo plazo.

Los objetivos específicos de un programa de pruebas de predicción dependen principalmente del tipo de mina y de su etapa de operación y son:

1. La caracterización geoquímica de la roca, para identificar el potencial de generación de ácido y/o de lixiviación; y
2. La predicción de la calidad y características del agua de drenaje.
3. La predicción puede ser realizada a una gran variedad de materiales y a través de distintos métodos, tales como estudios mineralógicos detallados, comparaciones con otros sitios, monitoreo del drenaje, pruebas de laboratorio estáticas, pruebas de laboratorio cinéticas y pruebas de campo en el sitio minero [8].

1.8.- Pruebas para determinar el DAM.

Existen tres tipos principales de pruebas que se utilizan para la predicción; y son:

- Pruebas estáticas para determinar las propiedades geoquímicas del material.
- Pruebas de extracción de lixiviado para determinar el total de componentes solubles; y
- Pruebas cinéticas para determinar el comportamiento geoquímico del material a través del tiempo.

1.8.1.- Pruebas Estáticas.

El objetivo de las pruebas estáticas es caracterizar el potencial de generación de ácido de una muestra. Es el primer paso que se lleva a cabo para determinar el potencial DAM, son pruebas que se conducen de manera sencilla, rápida y de bajo costo.

Muchas de estas pruebas pueden utilizarse para caracterizar el material y a partir de ello, seleccionar muestras que servirán para las pruebas cinéticas posteriores.

Una prueba estática define el balance entre los minerales potencialmente generadores de ácido y aquellos potencialmente consumidores de ácido en una muestra. Los minerales que

consumen ácido son principalmente carbonatos, si bien los hidróxidos, silicatos y arcillas también pueden proporcionar potencial de neutralización. En teoría, una muestra será generadora neta de ácido sólo si su potencial para la generación de ácido excede a su potencial de neutralización.

Se han desarrollado muchos procedimientos de pruebas estáticas para determinar las proporciones de los minerales generadores de ácido y de aquellos neutralizadores. Los procedimientos a los que se hace referencia son mencionados a continuación:

- Pruebas de Balance Ácido-Base (método Sobek o EPA).
- Pruebas Modificada de Balance Ácido-Base.

Cada uno de ellos determina los minerales potencialmente generadores de ácido (expresado como potencial de acidez máxima, PA) y los minerales potencialmente consumidores de ácido (expresados como potencial de neutralización, PN) [10].

1.8.1.1.- Pruebas de PA.

Las pruebas estáticas se realizan bajo la Norma Oficial Mexicana **NOM-141-SEMARNAT-2003**, que establece el método para caracterizar los jales. En esta norma se encuentra cómo calcular el potencial de neutralización (PN), y hace referencia a las **Normas Mexicanas NMX-B-021** para la determinación de la cantidad total de azufre en forma de sulfatos, presentes en la muestra y la norma **NMX-B-400** para determinar la cantidad de azufre total presente en la muestra que en conjunto sirven para calcular el potencial de acidez (PA).

El contenido de azufre de la muestra indica la acidez potencial total. Usualmente, se expresa como el (PA) potencial de ácido y se calcula por:

$$PA = \% S^{-2} * 31.25$$

Donde:

PA = Potencial de acidez

$\% S^{-2}$ = Porcentaje de azufre en los sulfatos

El porcentaje de S^{-2} se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\% S^{-2} = (\% S \text{ total} - \% S \text{ sulfatos})$$

Donde:

% S total = Porcentaje de azufre total de la muestra (jales).

% S sulfatos = Porcentaje de azufre en forma de sulfuros en la muestra (jales).

El factor 31.25 se basa en la acidez generada, se deriva por estequiometría química, para la oxidación completa de la piritita y la subsiguiente hidrólisis del Fe^{3+} generado. Por lo que, este factor relaciona la acidez total producida con la alcalinidad equivalente como CaCO_3 requerida para la neutralización.

En estas pruebas el PA se indica como unidades de masa de H_2SO_4 por 1000 unidades de masa de la muestra (Kg por tonelada), en tanto que el resultado se expresa en términos de equivalentes en Kg de CaCO_3 por tonelada de muestra, para los procedimientos, Sobek y modificado, de pruebas de balance de ácido-base.

Sin embargo, es importante reconocer que el análisis de azufre total incluye todas las especies sulfurosas, comprendiendo los sulfatos. El cálculo de la acidez a partir del contenido total de azufre puede sobreestimar la cantidad que realmente es generadora de ácido, ya que el azufre presente en la forma de sulfato, no contribuirá a la generación de ácido. Si el contenido de azufre es mayor a 0.05%, puede determinarse la especie sulfurosa o el contenido de sulfuro reactivo; el contenido de sulfuro puede usarse para estimar la acidez potencial. Generalmente, se determina la especie de azufre.

1.8.1.2.- Potencial de Neutralización.

El potencial de neutralización (PN) se mide por titulación de la muestra y se calcula a partir de la masa de la muestra y el volumen y normalidad del ácido y la base añadidos.

Para determinar el potencial de neutralización se emplea la siguiente ecuación:

$$PN = \frac{(Vf \text{ en ml de HCl}) - (0.1 * Vf \text{ en ml de NaOH})}{\text{Peso de la muestra}}$$

Donde:

PN = Potencial de Neutralización.

Vf HCl = Vol. Total Final de HCl adicionado.

Vf NaOH = Vol. Total de NaOH adicionado.

El PN se expresa en términos del equivalente en Kg de CaCO₃ por tonelada de muestra.

El potencial de neutralización neta (PNN) de una muestra está dado por:

$$PNN = PN - PA$$

Además, la proporción entre las especies que consumen ácido y aquellas que lo generan se calcula por:

$$\frac{PN}{PA}$$

Así, una muestra será generadora neta de ácido sólo si su potencial para la generación de ácido (PA) excede a su potencial de neutralización (PN).

La norma menciona anteriormente establece que si la relación entre el potencial de neutralización (PN) y el potencial de acidez (PA) expresados ambos como Kg de CaCO₃ por toneladas de jales, permite evaluar si los jales contiene la cantidad suficiente de CaCO₃ para llevar a cabo la neutralización de los sulfuros (potenciales generadores de ácido).

A través de la interpretación de resultados de las pruebas estáticas, estas permiten categorizar los materiales en tres grupos:

- Bajo a nulo potencial de generación de ácido: si el valor del PNN es mayor que 20 kg /ton de CaCO₃ y la relación PN/PA es mayor que 3.
- Potencial marginal de generación de ácido: si el valor del PNN es menor que 20 kg /ton de CaCO₃ y la relación PN/PA se encuentra entre 1 y 3.
- Alto potencial de generación de ácido: si el valor del PNN es negativo y la relación PN/PA es menor que 1 [19, 20].

1.8.2.- Pruebas Cinéticas.

El objetivo de estas pruebas es confirmar el potencial de generación de ácido y predecir la calidad de agua de drenaje, a corto y largo plazo, en el campo. Las pruebas cinéticas geoquímicas consisten en someter a intemperismo a las muestras, bajo condiciones controladas de laboratorio o en el asiento minero, con el fin de confirmar el potencial para generar acidez, determinar las velocidades de generación de ácido, oxidación de sulfuros,

neutralización y agotamiento de metales y, además, con el fin de probar las técnicas de control-tratamiento.

Las pruebas cinéticas geoquímicas constituyen la tercera etapa de un programa de predicción o de evaluación del asiento minero. Después de que se hayan clasificado la geología y el desarrollo y la producción de desechos, y luego de la conclusión de las pruebas estáticas, se pueden seleccionar las muestras para las pruebas cinéticas. Mientras que las pruebas estáticas proporcionan información sobre las características de la roca y el potencial total para la generación de ácido, independientemente del tiempo; las pruebas cinéticas definen explícitamente las velocidades de reacción tanto para la disolución de metales, como para la generación de ácido y lixiviación, a través del tiempo y bajo condiciones específicas.

Existen varias técnicas que se utilizan en las pruebas cinéticas:

- Prueba de confirmación de Investigación;
- Prueba de intemperismo en frasco de agitación;
- Pruebas de extracción soxhlet;
- Pruebas de celda húmeda;
- Pruebas de columna de humedad;
- Pruebas de lixiviación de columna.

Las últimas cuatro pruebas son las más utilizadas en las pruebas cinéticas. Las diferencias entre ellas están dadas por el tamaño de la prueba y la velocidad y cantidad de agua utilizada para el acarreo. Cada una tiende a ser utilizada para un tipo diferente de predicción [10].

1.8.2.1.- Prueba en Celda Húmeda.

Las pruebas convencionales de celda húmeda son pruebas de laboratorio de pequeña escala, diseñadas para simular los procesos de intemperismo geoquímico para una muestra específica de roca, bajo condiciones de oxidación óptimas, aunque no necesariamente representativas de las condiciones de campo. La prueba es conducida en un aparato especial en la que se pueden controlar las siguientes variables; temperatura, flujo de aire y humedad. Los productos de oxidación son periódicamente lavados y sometidos a análisis. Los resultados de las pruebas de celda húmeda pueden utilizarse para evaluar la velocidad relativa de liberación de los productos de oxidación, el grado potencial del intemperismo y para estimar el tiempo que debe pasar para la generación de ácido.

La muestra se coloca en una cámara cerrada, de tubos de PVC de aproximadamente 20 cm, de diámetro o bien en un recipiente plástico rectangular. La muestra puede permanecer en el fondo de la celda o colocarse en una criba, suspendida del fondo de la celda, para permitir el flujo de aire hacia arriba a través de la muestra.



Foto 1.2 Dispositivo de celdas húmedas.

El procedimiento de ésta prueba se basa en ciclos semanales en los cuales la muestra se somete a ciclos alternados de aire seco y húmedo (tres días cada uno) y un día de lavado con agua y evaluación del lixiviado. Existe cierto número de variaciones de esta técnica que pueden realizarse inoculando un cultivo bacteriano activo (*A. ferrooxidans*), dirigiendo aire húmedo ascendente a través de la celda y modificando los respectivos volúmenes relativos de sólido, agua de lavado y frecuencia del muestreo. Los parámetros típicos que se controlan son el pH, potencial redox, acidez, alcalinidad, sulfatos, conductividad y metales disueltos.

El tiempo de duración de la prueba varía según los resultados del lavado con agua semanal y el objetivo de la prueba; se considera que el tiempo mínimo de prueba es de 20 semanas, dependiendo del intervalo de retardación pero, con frecuencia, se requieren periodos de 30 semanas o más para definir la composición química del agua.

El intervalo de retardación hasta que se evidencie la producción de ácido, dependerá del potencial de neutralización neta de la muestra, del tamaño de partícula y de la disponibilidad de los carbonatos y minerales sulfurosos. Inicialmente, la velocidad de liberación de sulfatos (de la oxidación de los sulfuros) y la liberación de alcalinidad y acidez proporcionan una

indicación de la etapa de desarrollo del DAM y, por tanto, el tiempo de demora hasta el establecimiento de la oxidación biológica, rápida, y la generación de ácido.

A medida que el pH disminuye por debajo de 5.5., los cambios en otros parámetros se harán más rápidos; la conductividad y el potencial redox generalmente aumentan y se hacen más evidentes los niveles elevados de acidez y de metales disueltos [10, 21].

1.9.- Medidas de control y prevención del DAM.

Parece que la estrategia más adecuada para el control del DAM es actuar directamente contra el agente causante. Desde hace tiempo se sabe que bacterias del tipo *Acidithiobacillus ferrooxidans* son sensibles a la presencia de ácidos orgánicos. Esto fue el principio para buscar agentes químicos que pudiesen inhibir selectivamente a las bacterias generadoras de ácido, sin afectar al resto de la flora bacteriana o al medio ambiente. Se descubrió que lauril sulfato de sodio y otros tensoactivos aniónicos cumplen con las condiciones necesarias para ser usados como bactericidas para el *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Esto permitió el desarrollo de tratamientos consistentes en una pulverización de la zona afectada para lograr un efecto inmediato, pero esto debe de ir acompañando de la adición de estos biocidas en forma de un producto granulado de liberación lenta. Esto último permite mantener una concentración activa del biocida en el tiempo a pesar de la biodegradación y el lavado que se produce por acción del agua [22].

El tratamiento se inicia con la adición del biocida, provocando una rápida disminución de la actividad de las bacterias *ferrooxidantes* sobre la pirita y, por lo tanto, una disminución de la generación de ácido *in situ*. Al no generarse productos altamente oxidantes, disminuye la disolución o lixiviación de los metales. Todo esto logra el aumento de la actividad de las bacterias *heterotróficas* propias del suelo, regenerándose la capacidad de fijación de nitrógeno.

Estos cambios logran un aumento de la capacidad del suelo para retener humedad, esto es importante, ya que en condiciones avanzadas de recuperación del terreno, se detiene la generación de drenajes.

El uso de bactericidas en el control del drenaje ácido de mina a dado grandes resultados en diferentes localidades de países como Estados Unidos, Australia e India, en todos los casos se ha demostrado que:

- Previenen la formación de ácido y la lixiviación de metales,
- Se disminuye drásticamente la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, incrementando paralelamente el desarrollo de bacterias *heterotróficas*, que son beneficiosa para el suelo, y
- Ayuda a la reforestación de los suelos.

Con esto se ha demostrado que el uso de la inhibición directa del agente causante es el método mas eficaz para controlar el DAM, por lo que, parece prudente que esta medida sea tomada por nuestro país, para evaluar su acción mediante pruebas de terreno, científicamente controladas, que permitan comparar sus ventajas (o desventajas) con respecto a las prácticas tradicionales de manejo de relaves y su posterior reforestación [22].

En cuanto a la prevención, ésta pasa fundamentalmente por el control de la emisión de lixiviados. Este es un factor al que en general se ha prestado muy poca atención, y al que en muchos países se sigue sin prestársela. En concreto, el principal problema lo plantea la acción de la intemperie sobre las escombreras, lo que lleva a la infiltración en las mismas del agua de lluvia y el desencadenamiento de fenómenos de acidificación y disolución de componentes indeseables. Estos contaminan posteriormente tanto las aguas superficiales como las subterráneas a través de fenómenos de infiltración.

En la actualidad este problema se conoce bien y se intenta minimizar mediante técnicas tales como:

1. La disposición de escombreras sobre cubiertas impermeables, lo que permitan controlar las aguas que se infiltran en las mismas; o
2. La rápida restauración de los terrenos afectados, de tal forma que la escombrera quede recubierta cuanto antes, evitando su contacto directo con la atmósfera y las aguas superficiales.
3. Se ha empleado por décadas la adición de cal o caliza u otras formas de neutralización, pero para lograr este objetivo, se requiere aplicar grandes cantidades de cal, por lo tanto es caro, se producen grandes cantidades de desechos y no siempre los resultados son satisfactorios.

4. Recientemente, se han probado la aplicación de bacterias reductoras de sulfato, que en condiciones anaerobias son capaces de reducir el sulfato, generando sulfuros insolubles de los diferentes metales presentes en la solución y produciendo con ello un significativo aumento de pH [8].

1.10.- Normatividad de DAM en México.

La minería en México es una de las industrias que tienen un gran impacto ambiental en comparación con otras industrias, y esto no es nuevo ya que desde la época prehispánica se han presentado casos como los de sulfuro de mercurio en la sierra gorda, los jales en Hidalgo, Pachuca, Zacatecas, Guanajuato, etcétera, sólo por mencionar algunos, pero no es sino hasta nuestros días, que se pone en evidencia el daño ambiental, esto debido al aumento de la población y de la explotación sin control sobre los recursos naturales, por lo que se requiere tener un control sobre éstos.

Los procesos de beneficio de minerales en México son realizados por medianas y grandes empresas de renombre, por lo que se supone que todas las minas cuentan con una presa de jales, pero puede haber casos en los que no cuenten con ella y los desechos son evacuados en los cuerpos de agua más cercanos de la mina. En otros casos las presas de jales con las que cuentan algunas minas no están en condiciones de manejar grandes volúmenes, eventos sísmicos o torrenciales de lluvias. Por lo que la industria minera se ha propuesto mejorar las condiciones en las que se encuentran sus presas de jales, conforme a la normatividad que regula el diseño, construcción, operación, todo esto en base a la topografía del terreno, la región sísmica en la que se encuentra y la hidrológica con la que cuenta la zona [6].

Como se menciona anteriormente los principales desechos tóxicos que se obtienen de la minería son:

Elemento	Límite máximo (mg/L)
Arsénico	1
Cadmio	0.5
Zinc	20
Cobre	10
Cromo (VI)	0.5
Estaño	10
Níquel	10
Mercurio	0.1
Plomo	0.5
Selenio	0.1

Tabla 1.2 Límites de vertido máximo para iones metálicos pesados (mg/L).

De acuerdo a la normatividad que se encuentra vigente, se consideran residuos peligrosos a los jales, pero no a los DAM que se desprenden de éstos. Por lo que su peligrosidad está relacionada con la toxicidad, la cuál se debe principalmente a los elementos dañinos que contienen, que en su mayoría son metales pesados o elementos no metálicos.

Por su composición química y su toxicidad, los jales mineros son considerados un riesgo para el equilibrio ecológico y la salud de la población en general, por lo que es necesario establecer procedimientos adecuados para su manejo y control.

Actualmente las especificaciones para la caracterización de jales están dadas por la **Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMANART-2003**, la cual señala las especificaciones y criterios que se deben tomar en cuenta para la preparación del sitio, proyecto, construcción, operación y postoperación de presas de jales, tomando en cuenta los daños ecológicos que se puedan provocar [20].

1.11.- Complejo Minero Tizapa.

1.11.1.- Localización.

El Complejo Minero Tizapa S. A. de C. V., se localiza en Zacazonapan, Estado de México y esta situado en la zona geográfica sur de la entidad, las coordenadas geográficas son entre los paralelos 19 ° 00 ´ 17 " y 19 ° 16 ´ 17 " de latitud norte y del meridiano 100 ° 12 ´ 55 " al meridiano 100 ° 18 ´ 13 " de longitud oeste. Se ubica a una altura media de 1,470 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con el municipio de Otzoloapan, al sur con la municipalidad de Tejupilco; al este con los municipios de Temascaltepec y Valle de Bravo y al oeste con Otzoloapan. El Complejo Minero Tizapa forma parte de grupo Peñoles-Dowa Mining-Sumitomo Corp, la cual fue fundada en 1887, es un grupo minero con operaciones integradas en la fundición y afinación de metales no ferrosos y en la elaboración de productos químicos, además de que es el mayor productor mundial de plata afinada, bismuto metálico y sulfato de sodio, líder latinoamericano en la producción de oro, plomo y zinc afinados, tiene una capacidad de molienda de 540, 000 toneladas por año, las cuales son proveídas por una mina subterránea de sulfuros masivos [23].

CAPÍTULO 2

DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.- Desarrollo experimental.

2.1.- Reactivos, muestras, material y equipo.

Reactivos.

- KMnO_4 (Permanganato de Potasio)
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de Amonio)
- K_2HPO_4 (Fosfato monoácido de Potasio)
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de Magnesio)
- KCl (Cloruro de Potasio)
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Nitrato de Calcio)
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato ferroso)
- $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Acetato Sódico)
- CH_3COOH (Ácido acético glacial)
- $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Clorhidrato de ortofenantrolina)
- NaF (Fluoruro de Sodio)
- $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (Clorhidrato de hidroxilamina)
- H_2SO_4 (Ácido sulfúrico)
- Disolución patrón de 1 g/L de Fe
- Soluciones Buffer (4, 7)

NOTA: Todos los reactivos utilizados fueron grado reactivo analítico.

Muestra.

- Jales (Desechos del Complejo Minero Tizapa)
- Cepas (ET06, Cananea, Candameña y Tayahua)

Material.

- Matraces erlenmeyer de 250 ml
- Matraces aforados de 100 ml
- Vasos de precipitados de 500 ml
- Electrodo combinado para medir pH con referencia interna de Ag/AgCl
- Electrodo combinado de Pt para medir potencial redox con referencia *interna* de Ag/AgCl
- Celda para medir conductividad y resistencia
- Celdas espectrofotométricas de acrílico para mediciones en el visible
- Material común de laboratorio.

Equipo.

- Incubadora con agitación orbital marca Labline modelo MaxQ 4000
- Microscopio marca Leica modelo DME con contraste de fases
- Espectrofotómetro UV-visible doble haz marca GBC modelo Cintra 5
- Espectrómetro de absorción atómica marca Pelkin-Elmer modelo 3100
- Balanza Analítica marca Mettler-Toledo modelo AE 240.
- pH metro marca Beckman modelo Φ 45
- Conductímetro marca Tacussel modelo CDRV 62
- Bombas marca Heidolph POMPDRIVE 5001
- Bombas marca Master-Flex L/S modelo 7014-20 Cole-Palmer
- Calentador Radiador eléctrico de aceite marca De Longhi, modelo EW0507, Tipo H050715P.
- Rop Tap

2.2.- Toma de muestra (jales).

Las muestras utilizadas para el desarrollo de este proyecto fueron proporcionadas por el Complejo Minero Tizapa S. A. de C. V., ubicado en el municipio de Zacazonapan Estado de México.

Los jales, provenientes de la explotación de yacimientos de sulfuros metálicos, fueron tomados de la zona de descarga para evitar modificaciones. Los jales llegaron en cuatro cajas de 25 Kg cada una y con especificaciones de traslado, estos jales contenían alta humedad por lo que se dejaron secar durante una semana a temperatura ambiente y posteriormente se homogenizaron y se les realizó un cuarteo para obtener una muestra representativa.

2.3.- Pruebas de orientación.

Una vez realizado el cuarteo a las muestras de jales se les realizaron pruebas de orientación para determinar si contaban con bacterias autóctonas, además de determinar el valor inicial de los parámetros tales como: pH, potencial redox, conductividad y número de bacterias.

2.4.- Caracterización química y mineralógica de los jales.

Posteriormente se realizó la caracterización de los jales utilizando varias técnicas analíticas las cuales son descritas a continuación.

2.4.1.- Digestión.

Los jales mineros analizados fueron sometidos a un tratamiento previo de digestión, para llevar a cabo esto fue necesario pesar aproximadamente 5 g, de muestra (jales) a los cuales se les añadieron 10 ml de HNO₃ concentrado y se dejó por 10 minutos con el fin de que reaccionara. Posteriormente se calentó la muestra hasta ebullición en una parrilla de calentamiento, dejando evaporar el 50% del volumen total del líquido, se dejó enfriar, y se le agregaron 3 ml de HCl concentrado continuando el calentamiento hasta sequedad.

Una vez enfriado el recipiente se lavaron las paredes con agua destilada y nuevamente se llevó a ebullición hasta sequedad.

El residuo sólido resultante se dejó enfriar y se humedeció con 2 ml de HCl concentrado añadiendo agua destilada, una vez hecho esto se filtró, para separar y analizar las fases.

2.4.1.1.- Análisis por absorción atómica.

La solución resultante filtrada fue aforada a 100 ml con agua destilada y enviada a analizar para determinar los elementos metálicos mayoritarios (Cu, Fe, Ni, Pb, Zn, etc.) en un espectrómetro de absorción atómica marca Pelkin-Elmer modelo 3100.

2.4.1.2.- Análisis por espectroscopía por plasma.

Además de la determinación por absorción atómica, la solución fue sometida a un análisis por ICP bajo las normas EPA 7420, 7210, 7950 con la finalidad de determinar la concentración de metales pesados presentes en la muestra como: As, Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, y Zn. El espectrómetro de emisión óptica utilizado es marca Pelkin-Elmer modelo Optima 4300 DV.

2.4.1.3.- Análisis por difracción de rayos X.

De igual manera, se envió una muestra de jales a difracción de rayos X (**DRX**) para identificar las fases cristalinas presentes en los jales, utilizando un difractómetro marca Siemens modelo D5000 con un tubo de Cu λ 1.5406 y filtro de níquel.

2.4.1.4.- Análisis por microscopía electrónica de barrido.

Utilizando el microscopio electrónico de barrido (**MEB**), se realizó un análisis a la muestra, ésta se tomó por duplicado, para identificar las especies minerales presentes, así como su morfología, de los residuos de biooxidación y de las celdas húmedas. Además se determinó la composición por la técnica de microanálisis por electrones secundarios retro-disparados, EDS. El microscopio electrónico de barrido utilizado es marca JEOL modelo JSM-6400.

2.5.- Estudio de cinética de biooxidación con bacterias mesófilas a 35 °C.

Se llevaron a cabo utilizando 4 diferentes cepas; Cananea, Candameña, ET06, y Tayahua, las cuales se tienen almacenadas en el Laboratorio 212 de Metalurgia Extractiva de la Facultad de Química.

2.5.1.- Medios de cultivo.

Para llevar a cabo el estudio de reactivación de las cepas antes mencionadas se utilizaron dos medios de cultivo, el medio salino basal de nombre 10-fold-9K, que comúnmente es conocido como 9K, y el medio Norris diluido cuya composición se presenta en la tabla 2.1. Los nutrientes fueron disueltos en 1000 mL de agua destilada, ajustándose su pH a un valor de 2.0 en ambos casos con H₂SO₄ al 10%, ya que en estos medios las bacterias *Acidithiobacillus ferrooxidans* metabolizan al hierro y azufre.

Composición (g/L)	Medio 9K (g/L)	Medio Norris Diluido (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	3.0	0.2
K ₂ HPO ₄	0.5	0.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	0.4
KCl	0.1	0
Ca(NO ₃) ₂	0.01	0

Tabla 2.1 Composición química del medio 9K y Norris Diluido.

2.5.2.- Preparación y reactivación de cepas.

Dado que las cepas se mantienen almacenadas a 4 °C, es necesario reactivarlas para que retomen su actividad. La activación de las cepas (Cananea, Candameña, ET06 y Tayahua) se realizó inoculando al 10% cada una de las muestras en los medios de cultivo 9K y Norris diluido preparando una pulpa mineral con al 5% en sólidos con el medio de cultivo correspondiente.

Una vez preparados los cultivos de cada una de las cepas de bacterias *ferrooxidantes* en los dos medios diferentes, estos fueron mantenidos en un incubador con agitación orbital marca Labline modelo MaxQ 4000 con condiciones óptimas para el crecimiento de bacterias mesófilas (35 °C y 150 rpm).

Para evitar que los cultivos fueran contaminados, éstos fueron protegidos con torundas de algodón y gasa, cuidando que la entrada de aire requerido por los microorganismos fuera adecuada. Los parámetros monitoreados periódicamente en cada uno de los cultivos fueron los siguientes: pH, potencial redox, y número de bacterias por mL del medio de cultivo líquido.

Las cepas fueron consideradas activas y aptas para el contacto con minerales después de haberse llevado a cabo dos pases sucesivos inoculados con 10% del cultivo anterior en los medios de cultivo 9K y Norris Diluido.

Una vez transcurrido el segundo pase de adaptación a cada uno de los medios de cultivo, se inoculó con 10% de este cultivo anterior una pulpa de muestra de jales al 5% masa/volumen.

De igual forma que en la etapa anterior de adaptación de las muestras al medio, se hicieron tres pases sucesivos bajo las mismas condiciones de pH, temperatura y agitación, representando el tercer pase la cinética de biooxidación.

2.5.3.- Seguimiento y control de parámetros.

Para poder entender la evolución y adaptación de los microorganismos del mineral y del medio, se prepararon los cultivos y se dejaron acondicionar por un periodo de 3 horas en las condiciones antes mencionadas y posteriormente se llevaron a cabo en cada sistema las siguientes determinaciones:

- pH
- Potencial de oxido-reducción (ORP)
- Conteo celular por mililitro de cultivo
- Inspección visual de la apariencia de los cultivos
- Cuantificación de la concentración del ion ferroso
- Cuantificación de la concentración del ion férrico

Una vez hecha la primera medición de los parámetros anteriores las siguientes lecturas se realizaron cada 24 horas durante 5 días, y después cada tercer día.

2.5.3.1.- Medición y control de pH y potencial de oxido-reducción (ORP) del sistema.

Para determinar el pH en cada uno de los sistemas se utilizó un potenciómetro marca Beckman modelo Φ 45 y un electrodo combinado con referencia interna de Ag/AgCl, marca Phenix, si el valor de pH en el sistema era mayor a 2 éste se ajustaba con una solución de H₂SO₄ al 10% en volumen. La lectura de potencial de oxido-reducción para cada uno de los sistemas, se llevó a cabo utilizando el mismo equipo y utilizando un electrodo combinado para medir ORP con referencia interna de Ag/AgCl marca Cole Parmer.

2.5.3.2.- Medición y control de conductividad y resistencia del sistema.

La medición de la conductividad y resistencia para cada uno de los sistemas, se realizó empleando una celda con placas de platino y un Conductímetro marca Tacussel.

2.5.3.3.- Monitoreo del crecimiento bacteriano (conteo).

Para determinar el número de bacterias sobre una muestra de cultivo, se empleó una cámara Newbauer (1/400 mm² * 0.1 mm de profundidad). Los resultados obtenidos por el conteo del número de bacterias por campo de la cámara permiten conocer la concentración de éstas por mL de licor lixiviado. El conteo fue realizado en un microscopio marca Leica, modelo DME el cual cuenta con un sistema de contraste de fases.

2.5.3.4.- Inspección visual de los medios de cultivo.

Esto se realizó observando diariamente la apariencia de los cultivos, con el fin de detectar los cambios de coloración en los cultivos, la turbidez que presentaban y la posible formación de precipitados en cada una de las soluciones. Estas observaciones son indicativas de la actividad bacteriana y de alguna forma del crecimiento de éstas.

2.5.3.5.- Cuantificación de la concentración del ion ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}).

Para determinar la concentración del ion ferroso (Fe^{2+}) en la solución, se empleó la técnica de espectrofotometría, utilizando ortofenantrolina en medio acético como reactivo colorimétrico midiendo a 510 nanómetros la absorbancia del complejo formado entre ion ferroso (Fe^{2+}) y la ornofenantrolina, en un espectrómetro UV-visible marca GBC modelo Cintra 5. La concentración de ion férrico (Fe^{3+}) fue calculada por diferencia entre la concentración de hierro total determinada por absorción atómica y la concentración del ion ferroso la cual se determinó por espectrofotometría.

2.6.- Estudio de la cinética de biooxidación de los Jales con bacterias ET06 y Cananea a 35 °C.

Una vez que las poblaciones de microorganismos se han adaptado a cada una de las variables del sistema (temperatura, pH, agitación, etc.) se llevó a cabo el estudio de cinética de biooxidación bacteriana, con las cepas (Cananea y ET06) preparando los cultivos en matraces Erlenmeyer de 250 mL, inoculando al 10% en volumen con las muestras previamente adaptadas una pulpa mineral (jales) en medio 9K o Norris al 5% en sólidos. Como se trata de microorganismos mesófilos los sistemas fueron mantenidos a 35 °C y 150 rpm, ya que en estas condiciones los microorganismos tienden a reproducirse, quedando los arreglos como se muestra en la tabla 2.2.

Muestra	Medio	Temperatura
Cananea	9K	35 °C
ET06	9K	35 °C
Cananea	Norris	35 °C
ET06	Norris	35 °C

Tabla 2.2 Cultivos realizados con diferentes medios a 35 °C.

El monitoreo y control de los parámetros como; pH, potencial de oxido-reducción, conteo celular, cuantificación de la concentración de Fe^{2+} y Fe^{3+} , así como la inspección visual se llevó a cabo de la misma forma descrita en el punto anterior.

La adaptación de los microorganismos mesófilos a los jales, se llevó mediante la técnica convencional de pases sucesivos de adaptación. El primer pase tuvo una duración de 33 días y el último, de 32 días. Este último considerado como estudio de biooxidación para obtener los datos de la cinética de biooxidación.

2.6.1.- Sistemas Estériles (Testigo).

Simultáneamente con las muestras para el estudio de la cinética de biooxidación se prepararon los sistemas estériles en el medio 9K y Norris. Los reactores utilizados fueron preparados bajo condiciones estériles con el fin de evitar el desarrollo cualquier tipo de microorganismo, utilizando una autoclave marca Presto a 120 °C y 1.10 Kg/cm² durante 15 minutos.

Los sistemas fueron preparados, al igual que los cultivos de trabajo sin adición de microorganismos. Todo el material utilizado fue esterilizado previamente. Para mantener el sistema estéril se le agregaron 0.5 mL de solución comercial de Merthiolate.

El monitoreo y control de los parámetros se llevó a cabo de manera similar como la descrita en el punto (2.5.3), utilizando para los sistemas estériles electrodos nuevos manipulando éstos bajo condiciones estériles para evitar cualquier contaminación. En este caso se llevó a cabo un pase con una duración de 32 días el cual fue considerado como estudio de oxidación química.

Las condiciones de los cultivos testigo se reportan en la tabla 2.3.

Muestra	Medio	Temperatura
1	9K + Bactericida	35 °C
2	Norris + Bactericida	35 °C

Tabla 2.3 Cultivos realizados en condiciones estériles a 35 °C.

Una vez realizadas las pruebas de cinética de biooxidación en cada uno de los sistemas, se tomó la decisión de utilizar el medio nutritivo 9K para llevar a cabo las pruebas de intemperismo acelerado en celdas húmedas, ya que en este medio los microorganismos presentaron una mejor adaptación.

2.6.2.- Caracterización de los residuos de las pruebas de biooxidación con microorganismos ET06 y Cananea a 35 °C.

Una vez concluida esta etapa se tomó una muestra de mineral que contenía cada uno de los reactores agitados para observar si las partículas habían sido atacadas por los microorganismos que se encontraban en los medios 9K y Norris diluido, esto fue posible mediante un análisis en el microscopio electrónico de barrido (**MEB**).

Esto con el fin de observar las diferencias en los residuos, además de hacer una comparación con el análisis de la muestra de llegada (jales) y el de los reactores agitados.

2.7.- Pruebas estáticas.

Para determinar si los jales eran potencialmente generadores de drenaje ácido de mina (DAM), se realizaron pruebas estáticas bajo la Norma Oficial Mexicana **NOM-141-SEMARNAT-2003**, que establece el método para caracterizar los jales. En esta norma se encuentra cómo calcular el potencial de neutralización (PN), y hace referencia a las Normas Mexicanas NMX-B-021 para la determinación de la cantidad total de azufre en forma de sulfatos presentes en la muestra y la norma NMX-B-400 para determinar la cantidad de azufre total presente en la muestra que en conjunto sirven para calcular el potencial de acidez (PA).

Estas pruebas se realizaron por triplicado, para tres muestras a diferente tamaño de partícula, los tamaños empleados fueron: malla 100, malla 200 y malla 325.

2.8.- Pruebas cinéticas o de Intemperismo Acelerado.

Para realizar las pruebas de intemperismo acelerado (celdas húmedas) fue necesario diseñar los reactores, en los cuales se llevarían a cabo las pruebas, estas celdas fueron diseñadas bajo la norma **ASTM D5744 (Estándar Test method for accelerated weathering of solid materials using a modified humidity cell)**.

Las celdas húmedas fueron construidas con material de acrílico transparente de 0.5 cm de espesor, este material fue elegido por su bajo costo, su resistencia y por su facilidad de maquinar. La celda o reactor diseñados cuenta con las siguientes dimensiones: base 15 cm de largo * 10 cm de ancho, altura: 25 cm. y finalmente con un volumen = 1080 cm³.

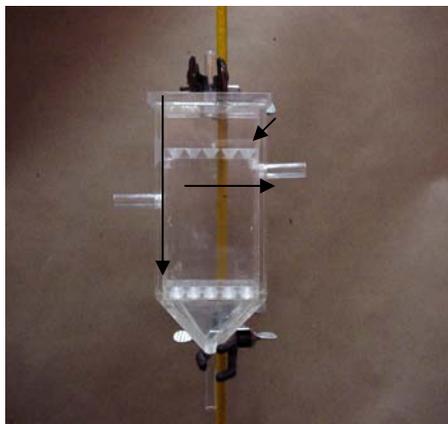


Foto 2.1 Forma de la celda húmeda para realizar pruebas de intemperismo acelerado.

Para llevar a cabo las pruebas de intemperismo acelerado fue necesario mantener aislado con una cortina de plástico el equipo del ambiente exterior y mantener en el interior una temperatura de 35 °C, con un calentador Radiador eléctrico marca Delonghi, Modelo EW0507, Tipo H050715P. Para sostener los reactores se diseñó un soporte para conectar en serie las celdas.



Foto 2.2 Sistema de experimentación.

Una vez realizado esto se colocó 1 Kg de muestra (jales) en la celda húmeda, y se hicieron pasar ciclos alternos. Un periodo de aire seco por tres días a través de la celda para reducir el contenido de humedad en la muestra (jales), seguido de un periodo húmedo por tres días consistente en una irrigación con un licor de inóculo en medio 9K que contenía una gran cantidad de bacterias, esto con el fin de garantizar que hubiera suficiente humedad para la

reacción. La irrigación de las muestras se llevó a cabo utilizando bombas peristálticas marca Heidolph modelo POMPDRIVE 5001. Al séptimo día, se realizó un lavado con 600 mL de agua destilada, este enjuague tiene como fin arrastrar todos los productos acumulados en la celda durante los periodos de irrigación y aire seco. El licor recuperado del enjuague fue colectado para monitorear los siguientes parámetros; pH, potencial oxido-reducción, número de bacterias, conductividad, resistencia, concentración de ion ferroso [Fe^{2+}], concentración de ion férrico [Fe^{3+}] y aspecto visual. Se tomó una muestra para analizar la concentración de metales pesados disueltos mediante la técnica de absorción atómica e ICP.



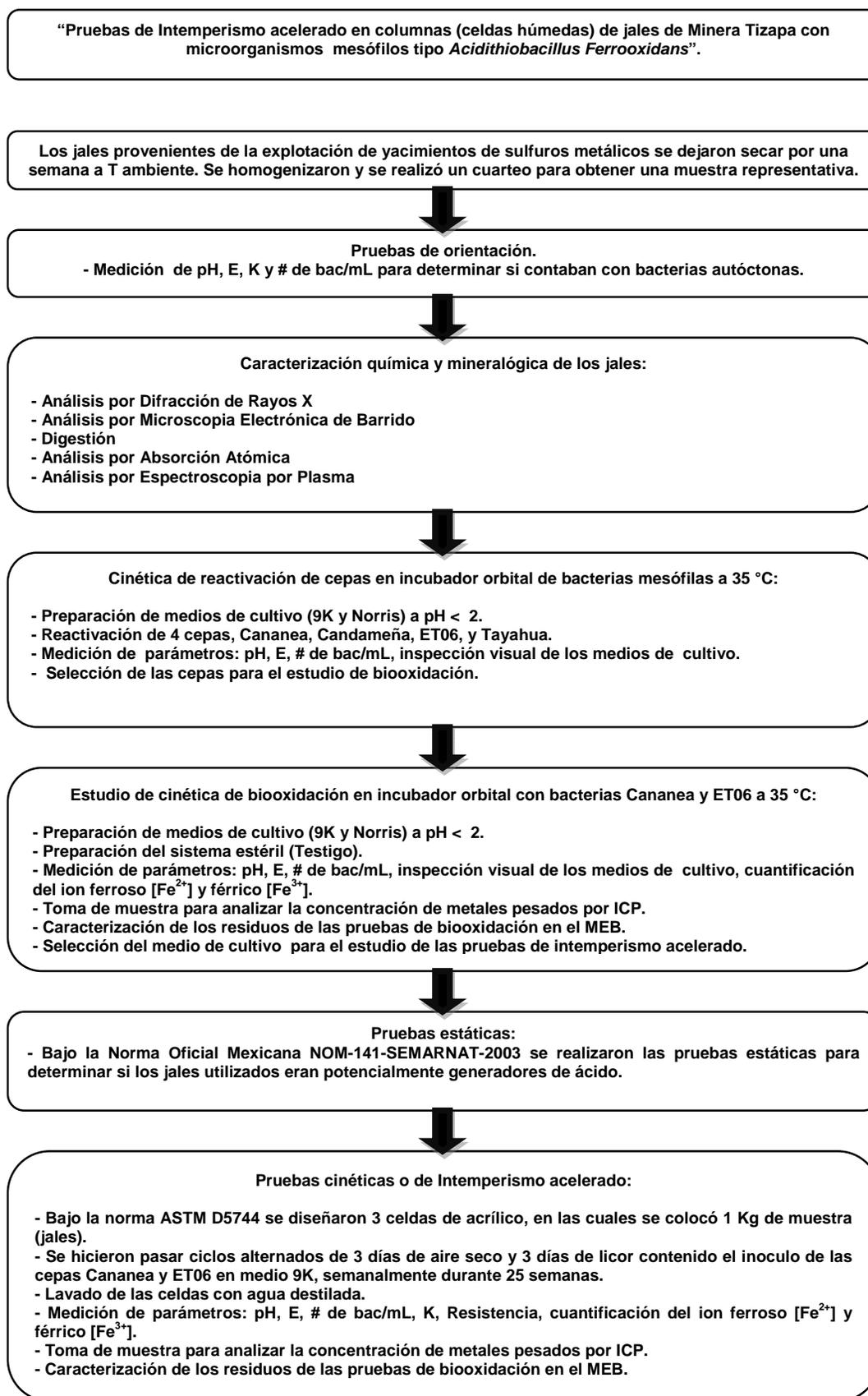
Foto 2.3 Dispositivo montado para las Celdas Húmedas.

2.8.1.- Caracterización de los residuos de las pruebas de intemperismo acelerado.

El mineral residual contenido en cada una de las celdas fue analizado para observar si las partículas habían sido atacadas por los microorganismos que se encontraban en los licores con los que se irrigaba semanalmente, esto fue posible mediante un análisis en el microscopio electrónico de barrido (**MEB**). Esto con el fin de observar las diferencias en los residuos, además de hacer una comparación con el análisis de la muestra de llegada (jales) con los residuos de las celdas húmedas.

También se realizó un análisis de difracción de rayos X (**DRX**) para identificar las especies minerales y los productos presentes en cada una de las muestras.

2.9.- Diagrama de flujo del diseño experimental.



CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.- Resultados y discusión.

3.1.- Resultados de pruebas de orientación.

3.1.1.- Evaluación de los jales iniciales.

A su llegada la muestra presentaba una coloración café esto debido a la humedad que contenía, una vez que se dejó secar durante una semana mostró un tono grisáceo. Se realizó un cuarteo a toda la muestra, de ésta se tomó una pequeña cantidad para medir los siguientes parámetros pH, potencial redox y conductividad iniciales.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante las pruebas de orientación, pH = 5.8, E = 312 mV y K = 2.30 ms/cm, se puede establecer que no se han llevado a cabo reacciones de oxidación al interior de los jales, y no se ha generado el Drenaje Ácido de Mina (**DAM**), por lo que los jales están inactivos y que las condiciones que presentan los jales son adecuadas para que las bacterias mesófilas puedan desarrollarse.

3.1.2.- Absorción atómica.

El análisis por absorción atómica de la solución resultante de la digestión ácida de la muestra por duplicado, dio como resultado la siguiente composición química.

Elemento	Zn (mg/L)	As (mg/L)	Pb (mg/L)	Cu (mg/L)	Fe (mg/L)	Ni (mg/L)
M-1	6495	5902	2458	1379	30200	230
M-2	5969	5243	2890	978	29306	190

Tabla 3.1. Resultados de análisis químico.

Como se observa los elementos que se encuentran en mayor cantidad en ambas muestras son Fe y Zn y los elementos tóxicos como As y Pb, y en menor contenido Cu y Ni, los cuáles al ser lixiviados provocan la contaminación de mantos acuíferos y la generación del DAM.

3.1.3.- Estudio de difracción de rayos X (DRX).

El análisis de (**DRX**) de la muestra se realizó por duplicado, (M-1) y (M-2) con el fin de identificar las especies cristalinas presentes en la muestra (elementos y especies minerales), las especies identificadas mediante esta técnica se muestran a continuación en la tabla 3.2 y los difractogramas correspondientes en las figuras 3.1 y 3.2..

Muestra	Especies cristalinas mayoritarias
M-1	Pirita(FeS_2); Cuarzo(SiO_2); Yeso($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); Caloinitha($(\text{Mg}, \text{Fe}, \text{Al})_6(\text{Si}, \text{Al})(\text{OH})$); Muscovita($(\text{Ba}, \text{K})\text{Al}_2(\text{Si}_3\text{Al})(\text{OH})_2$); Oxo-Hidróxido de hierro ($\text{FeO}(\text{OH})$)
M-2	Pirita(FeS_2); Yeso($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); Caloinitha($(\text{Mg}, \text{Fe}, \text{Al})_6(\text{Si}, \text{Al})(\text{OH})$); Muscovita($(\text{Ba}, \text{K})\text{Al}_2(\text{Si}_3\text{Al})(\text{OH})_2$); Oxo-Hidróxido de hierro ($\text{FeO}(\text{OH})$)

Tabla 3.2 Resultados de Difracción de rayos X.

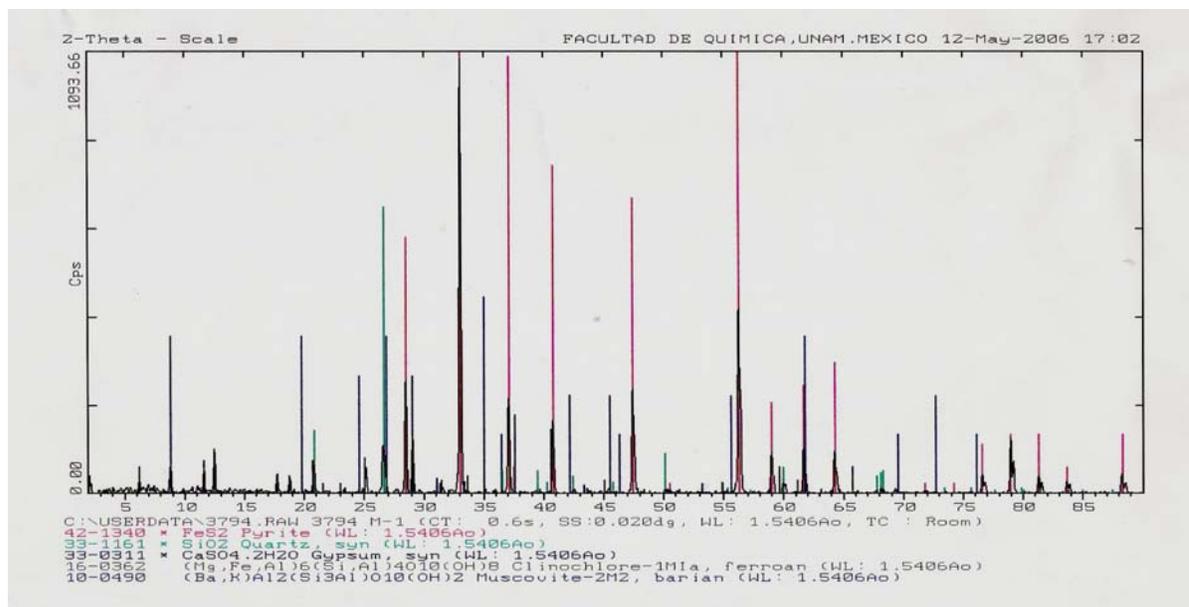


Figura 3.1 Difractograma M-1.

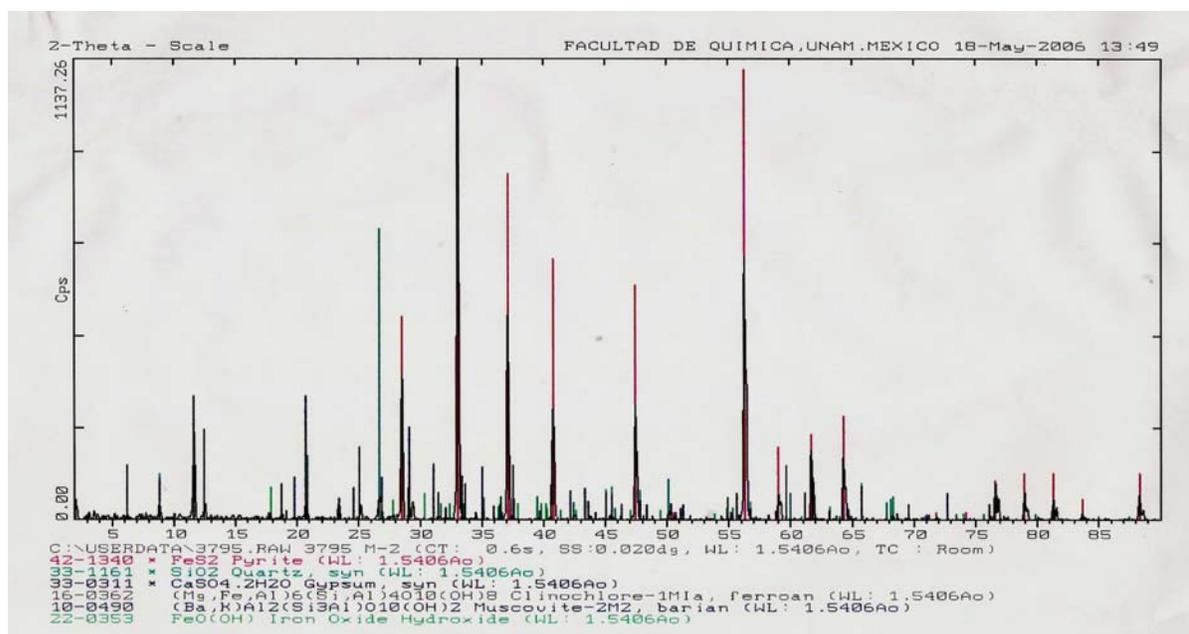


Figura 3.2 Difractograma M-2.

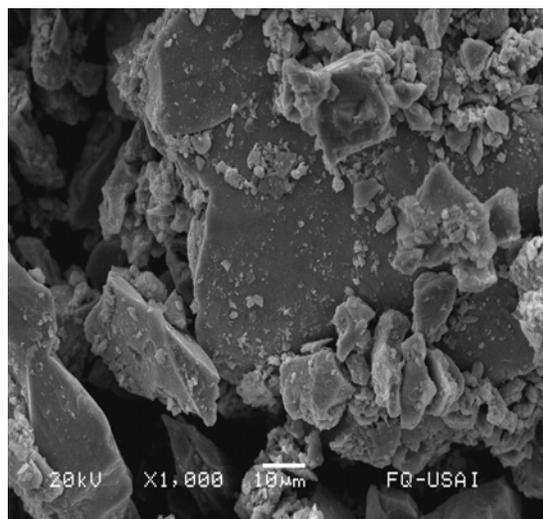
3.1.4.- Análisis al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

Este análisis se llevó a cabo con el fin de determinar los elementos presentes en los jales utilizados, en la (tabla 3.3), se muestran que elementos como el Fe y S son los que se encuentran en mayor proporción, en forma de Pirita la cual al ser oxidada da origen al fenómeno conocido como Drenaje Ácido de Mina (**DAM**).

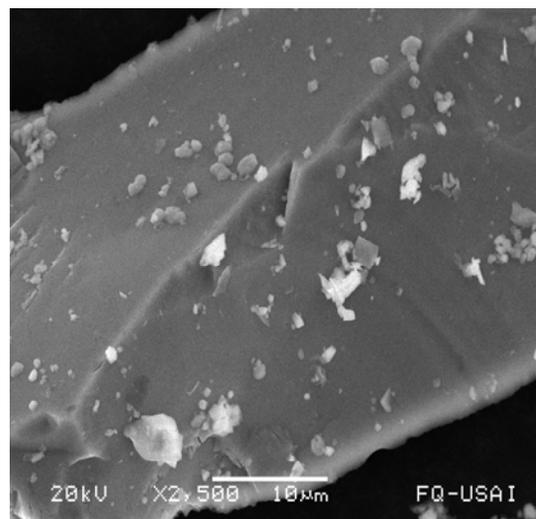
%Al	%Si	%S	%Fe
0.42	0.32	52.39	46.81

Tabla 3.3. % de elementos presentes en la muestra.

También mediante esta técnica se tomaron micrografías de las muestras de llegada, con el fin de observar el estado de la superficie de las partículas de mineral (pirita), en las micrografías (a) y (b) de la figura 3.3 se observa que no existe un deterioro en la superficie de la muestra por lo que se puede aseverar que ésta no ha sido expuesta a un ataque microbiológico.



(a)



(b)

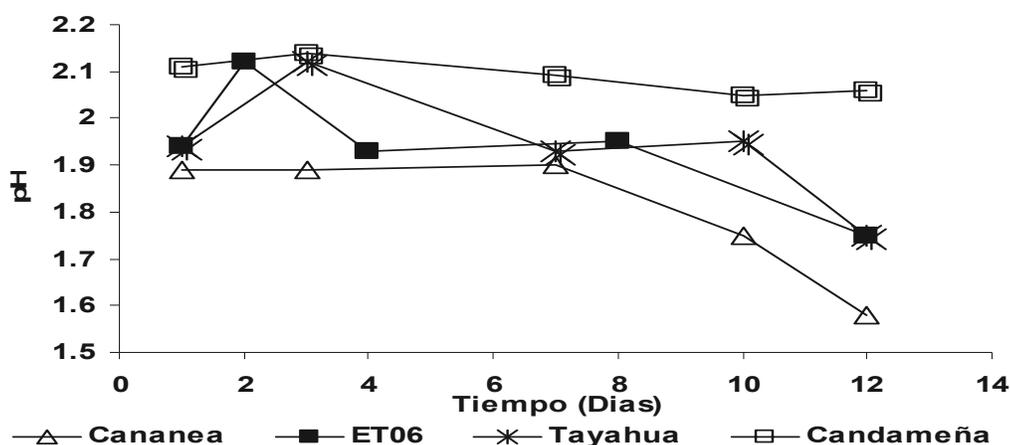
Figura 3.3 Micrografía electrónica, (a) de la muestra de llegada a 1000X y (b) de una partícula de pirita a 2500X, antes de la Biooxidación.

3.2.- Adaptación de Cepas.

3.2.1.- Reactivación de Cepas.

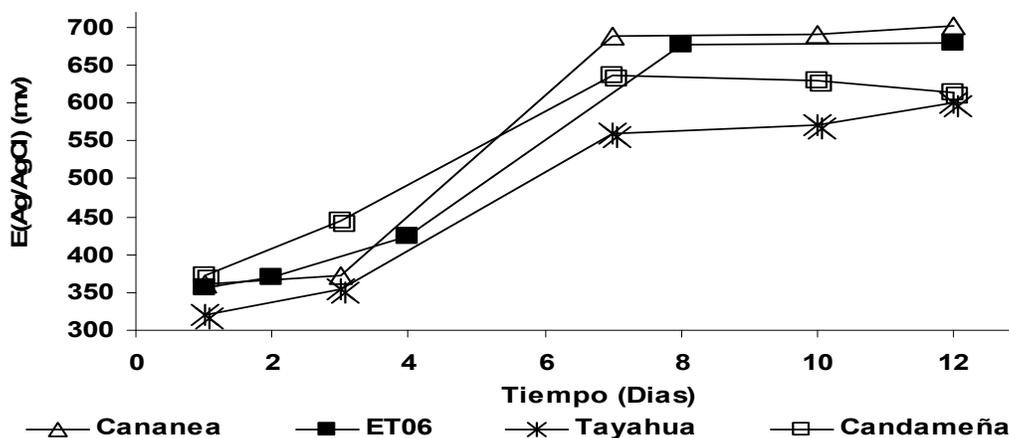
Los resultados de pH, potencial de oxido-reducción y de bacterias/mL, obtenidos para la primera etapa de reactivación se presentan a continuación en la gráfica 1, para esta etapa se utilizaron 4 Sistemas diferentes; Cananea, Candameña, ET06 y Tayahua.

Los sistemas ET06 y Cananea mantuvieron el pH por debajo de un valor de 2, gráfica 1, indicativo de actividad bacteriana, mientras que, en los sistemas Candameña y Tayahua el pH tuvo un valor por arriba de 2, condiciones menos favorables para el crecimiento de los microorganismos.



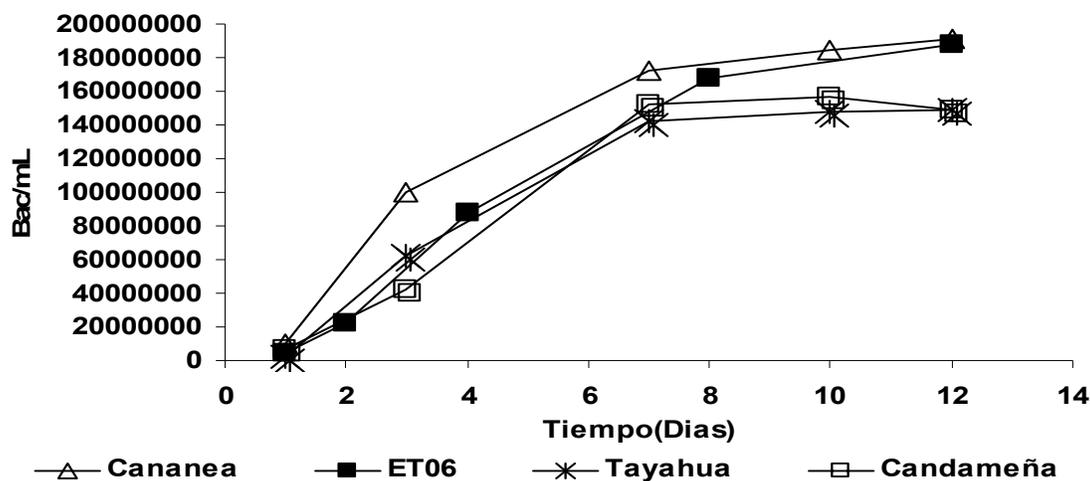
Gráfica 1. pH, de los cuatro sistemas en reactivación en medio 9K pase 2.

En cuanto al potencial los sistemas ET06 y Cananea alcanzaron los mayores potenciales cercanos a los 700 mV, gráfica 2.



Gráfica 2. Potencial (Ag/AgCl), en los cuatro sistemas en reactivación en medio 9K pase 2.

En lo que se refiere al crecimiento celular, gráfica 3, también se puede apreciar que los sistemas antes mencionados son las que muestran la mayor población de bacterias, por lo que fueron seleccionados para realizar la segunda etapa de la experimentación.



Gráfica 3. # de Bacterias de los cuatro sistemas en la reactivación en medio 9K fase 2.

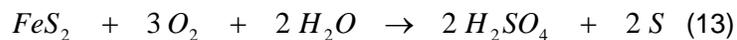
3.2.2.- Adaptación de los sistemas en reactores agitados.

3.2.2.1.- Comportamiento del pH.

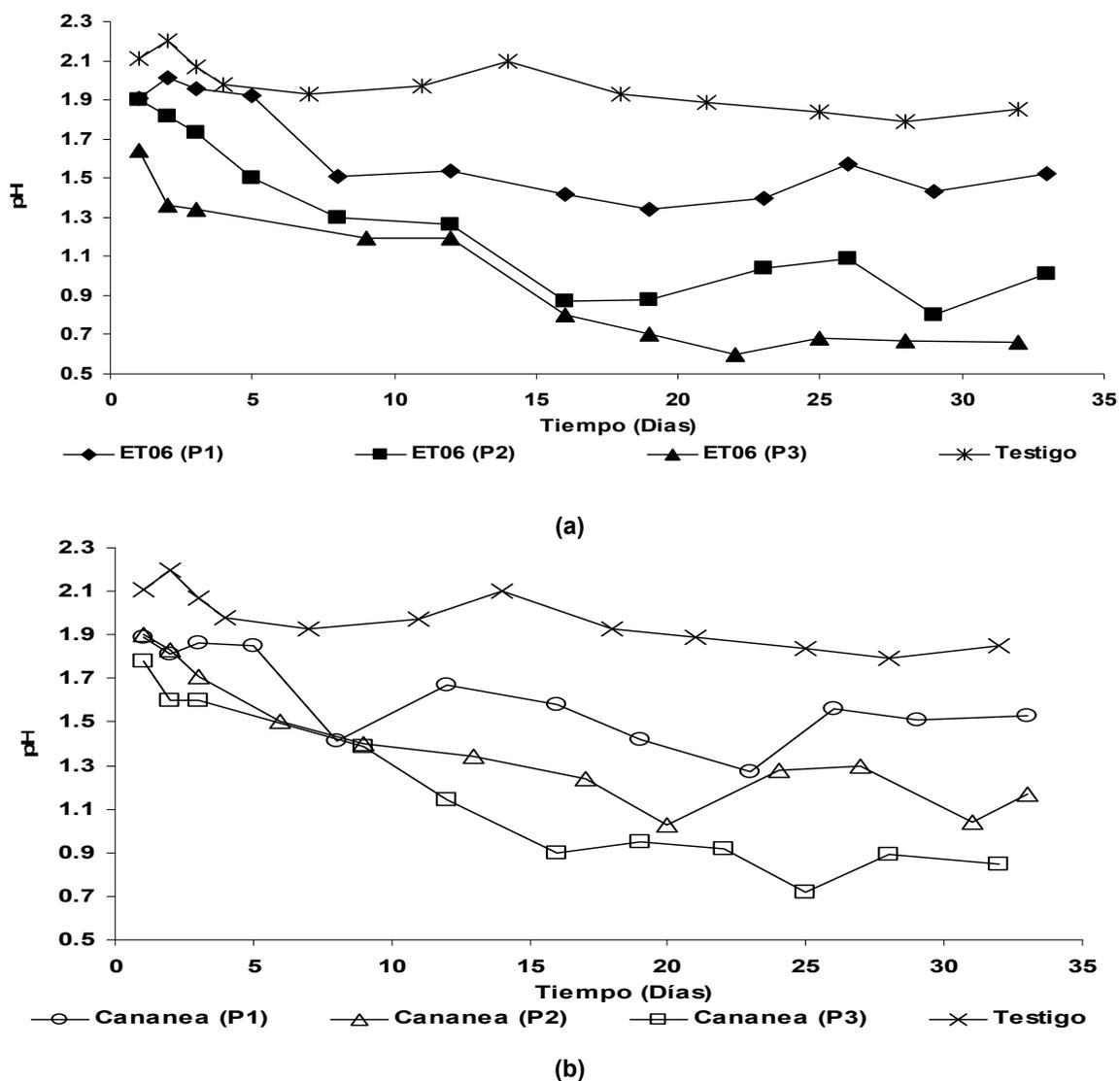
El pH indica la acidez o la alcalinidad de una sustancia, las bacterias *Acidithiobacillus Ferrooxidans* se desarrollan en ambientes con pH ácidos, por tal motivo en esta etapa de experimentación los sistemas de cultivo se mantuvieron al inicio, a un pH igual o menor a 2 en cada uno de los medios (9K y Norris), con el fin de proporcionar condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos.

La variación de pH que presentaron al inicio los cultivos, mayor a 2, fue compensada ajustando a pH 2 regularmente con una solución de H_2SO_4 al 10 % en los primeros días de desarrollo de los cultivos. Estos cambios de acidez obedecen a las fases de crecimiento de los microorganismos.

La variación inicial de pH en los medios de cultivo se representa en la fase lag en la curva de crecimiento, en la cual los microorganismos empiezan a adaptarse a las condiciones a que son sometidos, pero la variación del pH no se debe a la actividad de los microorganismos, sino al equilibrio que existe entre el mineral y la solución; una vez que los microorganismos se han adaptado a las condiciones, éstos empiezan a producir su propio ácido para fijar el pH por sí mismos, por medio de las siguientes reacciones:



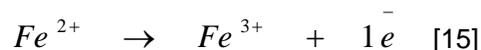
Esto sucede durante la fase de crecimiento llamada fase lag y se refleja en los sistemas cuando ya no es necesario agregarles H_2SO_4 para ajustar el pH. Como se observa en la gráfica 4, (a) y (b), al inicio de cada uno de los pases 1 y 2 así como del sistema testigo, se aprecia que presentan valores de pH mayores a 2, pero después del quinto día éstos disminuyen de pH 2.1 hasta 0.7, mientras que en el pase 3 se observa desde un inicio una adaptación de los microorganismos los cuales generan su propia acidez para mantener su pH por debajo de 2 de acuerdo a la reacción 13. Este comportamiento es similar en los dos medios utilizados con los diferentes sistemas (ET06 y Cananea).



Gráfica 4. Comportamiento del pH durante los tres pases de adaptación (P1, P2, P3) de los sistemas (a) ET06 en medio 9K y (b) Cananea en medio Norris (30 días).

3.2.2.2.- Comportamiento del potencial durante la adaptación de las bacterias.

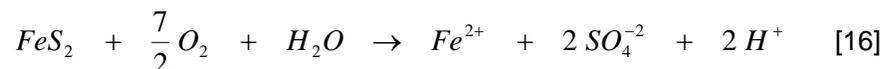
El potencial de oxidación reducción de los sistemas en referencia al electrodo de (Ag/AgCl), es la variable de más interés, el valor que se alcanza es un indicativo de la actividad bacteriana debido a que los microorganismos presentes catalizan en gran medida la siguiente reacción:



Y dado que el $E_{(Ag/AgCl)}$ de cada uno de los sistemas depende de la concentración del cociente de la relación $[Fe^{3+}] / [Fe^{2+}]$.

El potencial del sistema se verá incrementado con un aumento de iones férricos $[Fe^{3+}]$, debido a una disminución de iones ferrosos $[Fe^{2+}]$ los cuales están siendo oxidados por los microorganismos;

La actividad de las bacterias en el proceso de biooxidación se puede explicar considerando las diferentes reacciones de oxidación que toman lugar durante el proceso de biooxidación como son: la biooxidación del mineral, la oxidación del ión Fe (II) y la oxidación química del mineral.



En la gráfica 5 se muestra el progreso del potencial de los dos sistemas, ET06 (a) y Cananea (b), al inicio de cada uno de los pases tiene un potencial bajo, esto es debido a que las bacterias todavía se encuentran en su etapa de adaptación y conforme pasa el tiempo el potencial se va incrementando, debido a que las bacterias se han adaptado y empiezan a catalizar las reacciones de oxidación.

El potencial del primer pase está muy por debajo del de los pases 2 y 3, lo cual es normal ya que por ser el primer pase las bacterias se empiezan a adaptar a las condiciones a las que son sometidas, y la población no es muy grande por lo que las reacciones en este pase son más lentas.

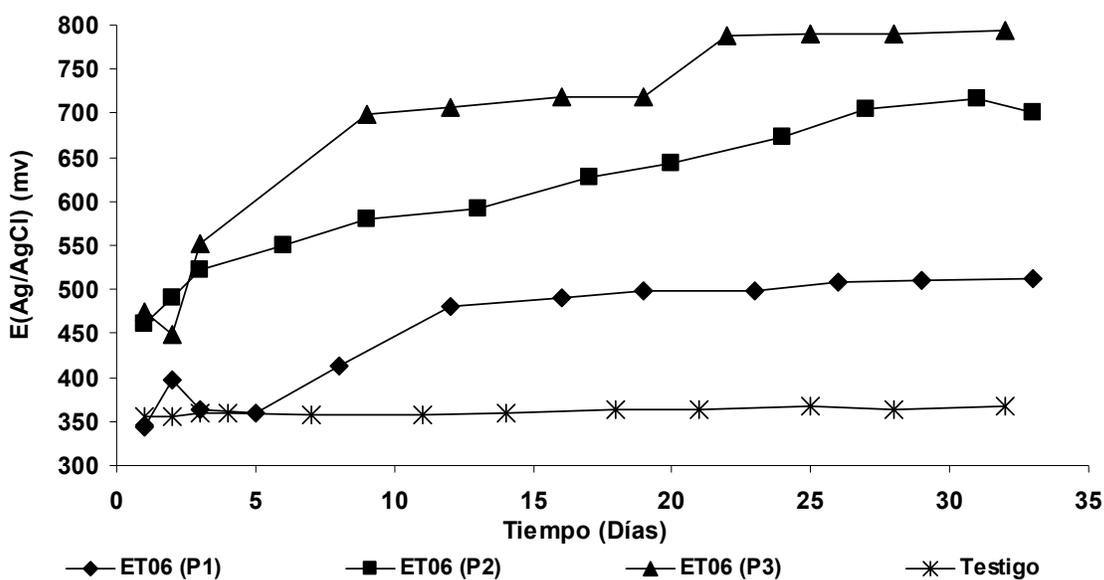
En los pases 2 y 3 la diferencia entre los potenciales es menor debido a que las bacterias ya están adaptadas al medio y las reacciones se llevan a cabo más rápido y alcanzando un estado de equilibrio en cada uno de los sistemas.

Se observa también que el potencial en el pase 3 ya no aumenta debido a que alcanza la fase estacionaria en la que las bacterias ya no tienen nutrientes para continuar su metabolismo, o que los productos del metabolismo son muchos produciendo una acumulación de sustancias tóxicas que impiden su labor de catalizar las reacciones de oxidación y empiezan a disminuir el número de bacterias.

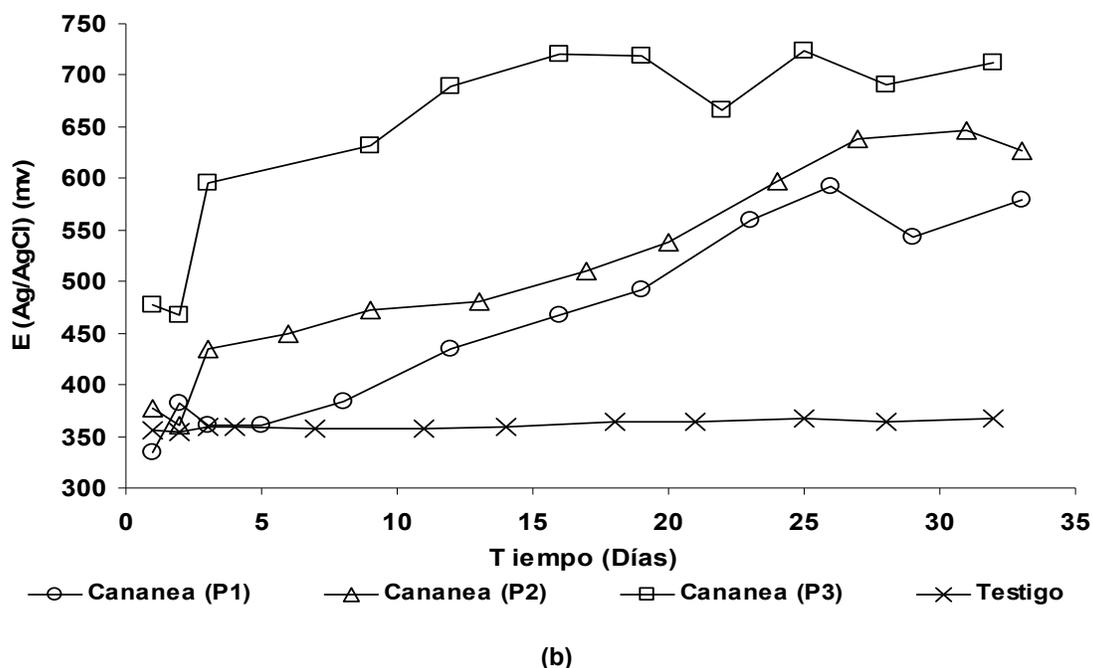
Sin embargo, en este pase se alcanza un potencial alto lo cual se puede deber a que las bacterias se han adaptado en su totalidad al medio. Al observar el sistema testigo y compararlo con los pases se ve que su potencial está muy por debajo que los tres pases de los sistemas inoculados esto debido posiblemente a que no tenía bacterias que catalizaran reacciones.

Al observar la gráfica 5 se ve con claridad que el último pase presenta un potencial elevado, esto debido a que las bacterias han alcanzado una mejor adaptación, por lo que hay una mayor cantidad de bacterias (como se verá más adelante) y éstas han catalizado las reacciones de oxidación del mineral cuando hay un aumento en el potencial.

Con una mejor adaptación de las bacterias y un mayor crecimiento de éstas, se obtendrá un potencial más alto, el cual tiende a estabilizarse en valores cercanos a los 700 mv.



(a)



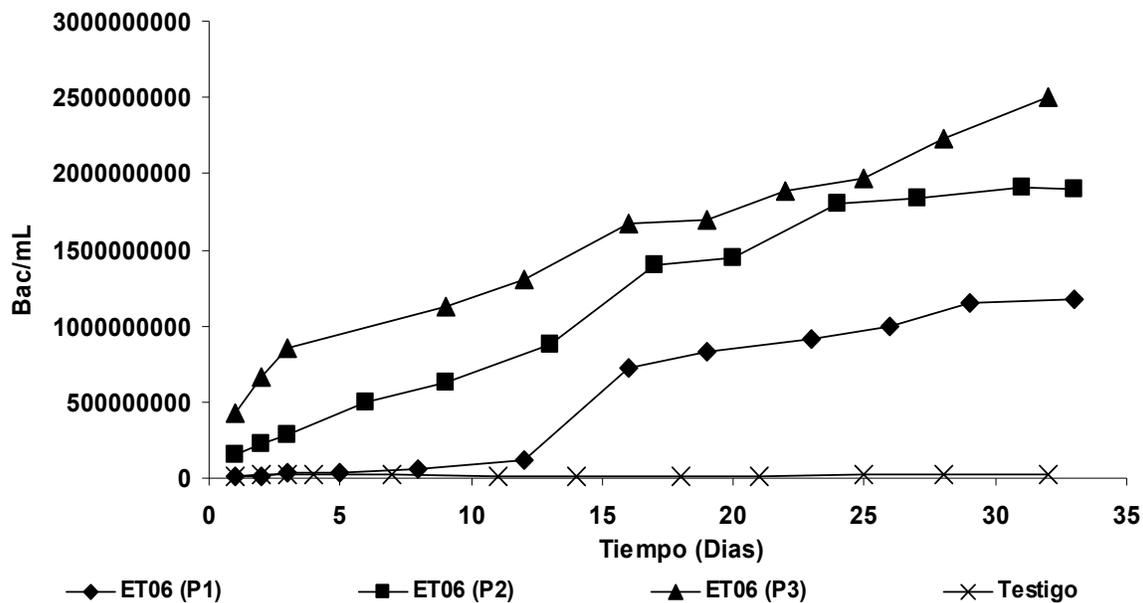
Gráfica 5. Comportamiento del Potencial durante los tres pases de adaptación en los sistemas (a) ET06 en medio 9K y (b) Cananea en medio Norris (30 días).

3.2.2.3.- Crecimiento bacteriano durante el periodo de adaptación.

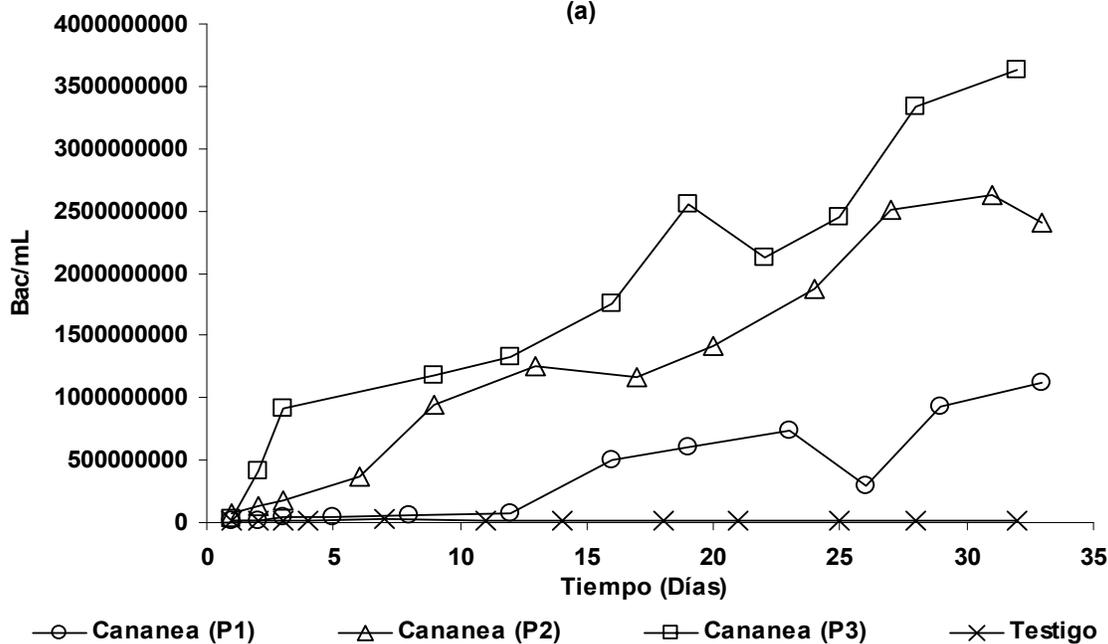
En referencia al crecimiento de microorganismos en los diferentes medios de cultivo, se pueden apreciar las diferentes fases de la curva de crecimiento, en un gráfico de “No. Bacterias/mL en función del Tiempo”, el cuál permite conocer cómo se desarrolla un cultivo en específico. En los dos sistemas se pudieron observar las distintas fases de crecimiento, durante los primeros días se puede ver la fase lag, a partir del tercer día y hasta el séptimo se aprecia la fase logarítmica, por lo que la última parte corresponde a la fase estacionaria, con un periodo de 32 días como máximo y como puede verse la duración de las dos primeras fases disminuye con los pases de adaptación.

En la gráfica 6 (a) y (b), se presentan los resultados del crecimiento de la población de bacterias para los dos sistemas en los distintos medios, los resultados de los tres pases son comparados con el sistema testigo, en las curvas se observa el desarrollo en los pases de adaptación, las bacterias se adaptan mejor a las condiciones de cada uno de los sistemas y tienen un incremento en su población, por lo que en el último pase el número de bacterias es mayor que en el primero siendo su adaptación al sistema mayor.

El comportamiento antes descrito se observa para los dos sistemas (ET06 y Cananea) y en los medios de cultivos empleados. Las curvas muestran un rápido incremento en la cantidad de bacterias de un pase a otro, lo cual confirma que las bacterias han tenido una mejor adaptación en cada uno de los pases realizados.



(a)



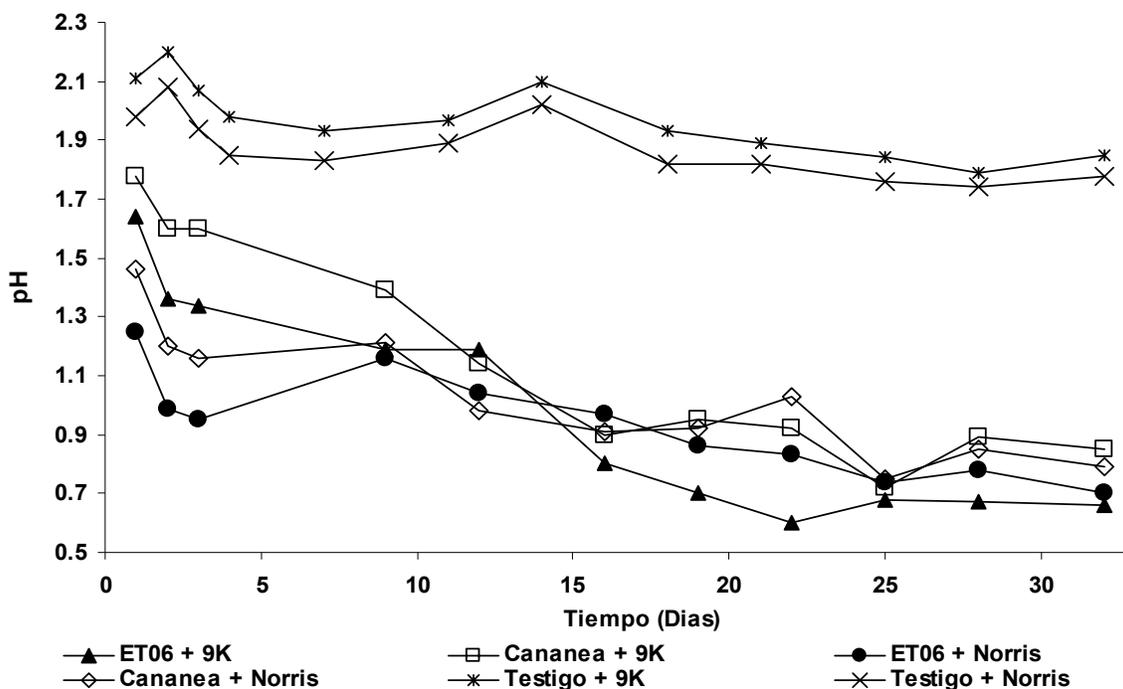
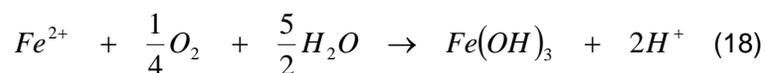
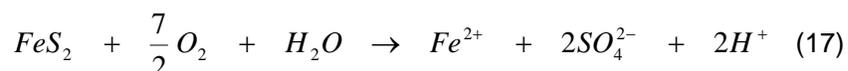
(b)

Gráfica 6. Crecimiento de bacterias durante los tres pases de adaptación en los sistemas (a) ET06 en medio 9K y (b) Cananea en medio Norris (30 días).

3.3.- Cinética del 3er pase para los medio 9K y Norris con los sistemas ET06 y Cananea.

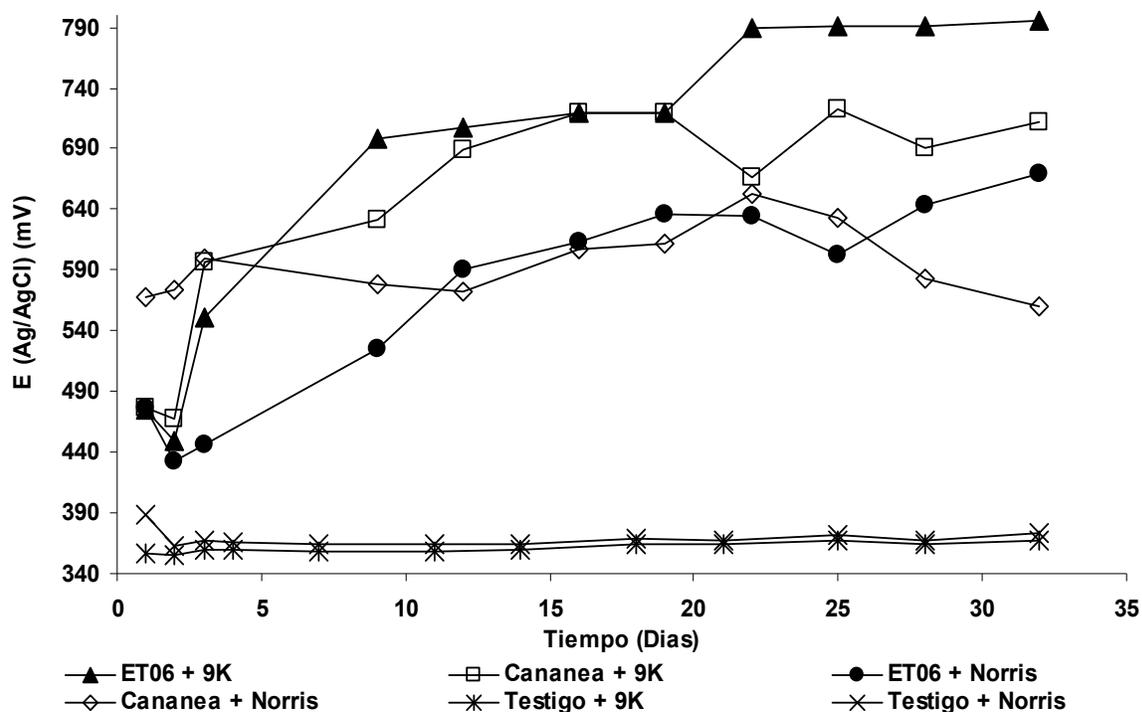
En la gráfica 7, se compara el comportamiento del pH en los diferentes medios, se aprecia que ambas tienen a disminuir su pH, pero se observa que el pH del sistema ET06 + 9K está muy por debajo de los otros, esto se debe a que las bacterias tuvieron una mejor adaptación y un mayor control sobre las reacciones de oxidación que se llevan a cabo para mantener un pH por debajo de 2, ya que estas al catalizar las reacciones generan especies ácidas que mantienen un pH bajo, no siendo así en los sistemas testigos los cuales mantuvieron un pH por arriba de 1.9.

Esto se puede ver mediante la oxidación de la pirita en donde 1 mol de pirita produce 4 moles de acidez (equivalentes de H^+) a partir de las siguientes reacciones:



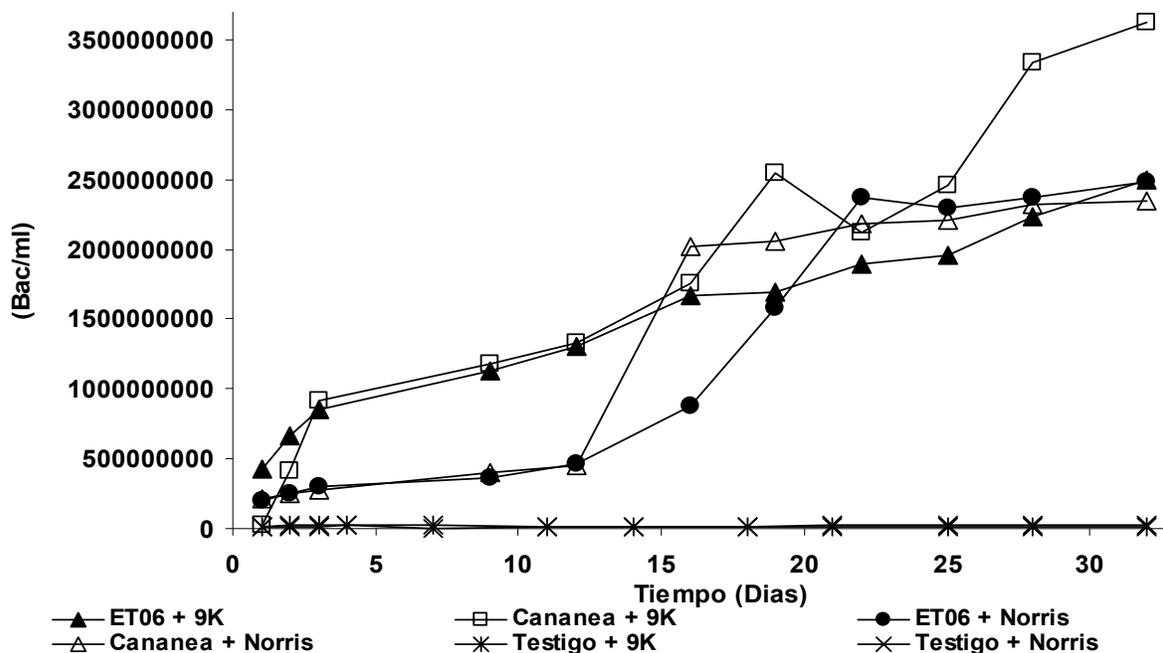
Gráfica 7. Comportamiento del pH, durante los tres pases de adaptación en los sistemas ET06 en medio 9K y Cananea en medio Norris (30 días).

Con lo que se refiere al potencial gráfica 8, se aprecia que los sistemas alcanzaron valores por encima de los 700 mv, esto es porque en el último pase de adaptación la población de bacterias es mayor y por tal motivo aceleran las reacciones de oxidación Fe^{2+} a Fe^{3+} con el aumento de éste último hay un incremento del potencial en cada sistema, los mayores potenciales los registran los sistemas ET06 + 9K y la Cananea + 9K, mientras que estas mismos sistemas en el medio Norris diluido alcanzan valores cercanos a los 650 mv, mientras que el sistema testigo como se esperaba no muestra incremento en su potencial debido a que la población de bacterias no cambia.



Gráfica 8. Comportamiento del potencial, durante los tres pases de adaptación en los sistemas ET06 en medio 9K y Cananea en medio Norris (30 días).

Por otra parte el crecimiento de microorganismos gráfica 9, en ambos casos muestran una tendencia creciente, lo cual permite ver que en el tercer pase las bacterias en cuentan las mejores condiciones de crecimiento y adaptación, ya que todas se encuentran en un valor cercano a $2.00 \cdot 10^9$ de bacterias/mL en los primeros 15 días en el medio Norris, excepto el sistema Cananea que presenta valores de $3.5 \cdot 10^9$ de bacterias/mL, con lo que se demuestra que para tener una población de bacterias mesófilas de esta magnitud, se debe de tener valores de pH bajos (1.5 a 2) y potenciales altos (600-700 mv).



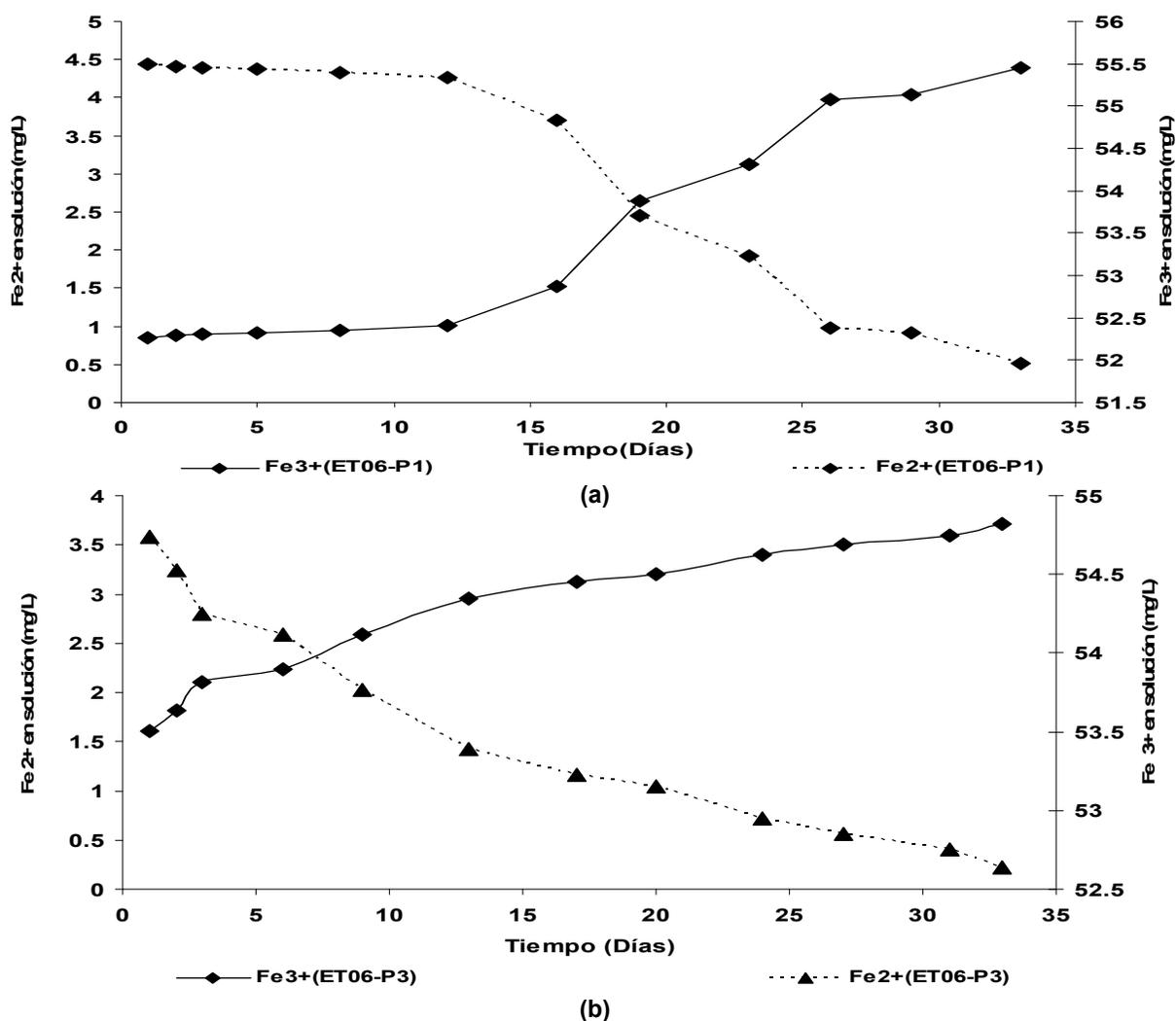
Gráfica 9. Comportamiento del crecimiento de bacterias durante los tres pases de adaptación en los sistemas ET06 en medio 9K y Cananea en medio Norris.

3.4.- Oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} en reactores agitados.

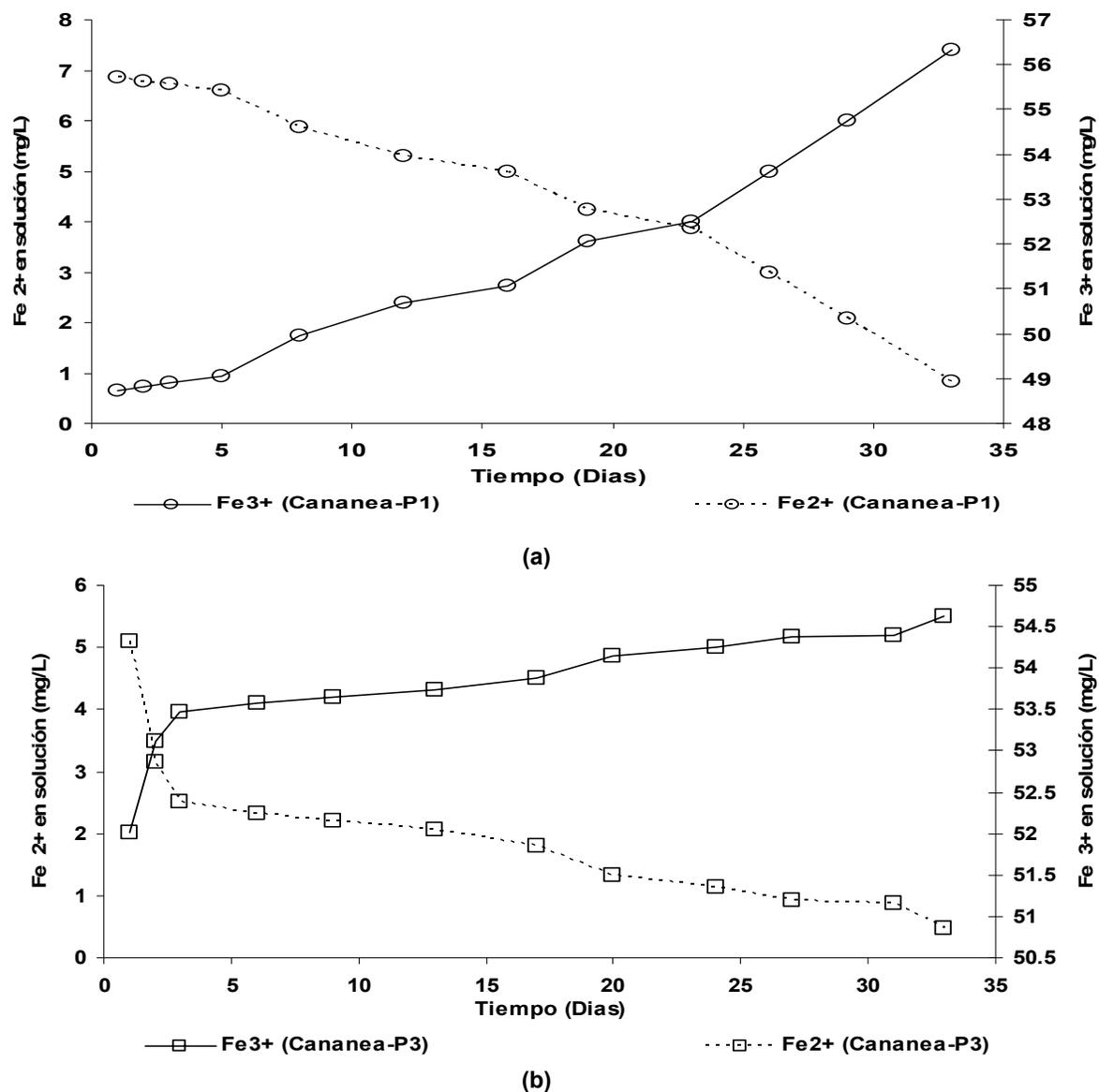
En la gráfica 10 se presentan los resultados de oxidación de hierro de los dos sistemas utilizados (ET06 y Cananea). Para que esto sea posible es necesario que se lleve a cabo la reacción de oxidación del ion ferroso al ion férrico.

Se reconoce que ciertas bacterias como *Acidithiobacillus ferrooxidans* pueden acelerar la velocidad con que se lleva a cabo esta reacción, por lo que la producción del ion férrico a partir del ion ferroso se convierte en la etapa controlante del proceso de oxidación.

Analizando las gráficas 10 y 11 se observa que, la concentración de iones Fe^{2+} disminuye con el tiempo, lo cual indica que la población de microorganismos aumenta y por tal motivo el requerimiento de Fe^{2+} por parte de las bacterias para su crecimiento es cada vez mayor produciendo Fe^{3+} , la concentración de éste último aumenta también con el tiempo como se muestra en las gráficas 10 y 11. Una vez realizada la etapa de biooxidación que es de aproximadamente 20 días en el primer pase, las dos curvas se vuelven constantes, lo cual podría ser debido a que entran en una fase estacionaria en la cual no se consume ni se producen Fe^{2+} a Fe^{3+} . Este periodo de oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} se acorta en cada uno de los pases, lo cual demuestra que un incremento en la población de bacterias, aumenta la actividad bacteriana y favorece el incremento de iones Fe^{3+} y consecuentemente la disminución de iones Fe^{2+} .



Gráfica 10. Comportamiento de la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} durante la etapa de adaptación en el sistema ET06 (a) y (b) en medio 9K (30 días).



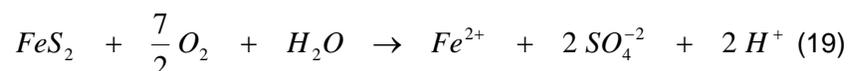
Gráfica 11. Comportamiento de la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} durante la etapa de adaptación en el sistema Cananea (a) y (b) en medio Norris.

3.5.- Análisis de la concentración de metales libres en solución en incubador orbital.

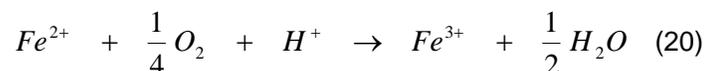
El aumento de la cantidad de metales libres en solución analizados está relacionado con la cinética de biooxidación de cada uno de los pases realizados y ésta es mayor que la encontrada en el sistema testigo, debido a la presencia de los microorganismos y a la adaptación de estos en cada uno de los pases y esto se puede ver en la cantidad de metales presentes en la solución de cada uno de los medios utilizados.

Esto se debe a que después del día 7 los sistemas mantienen un valor de pH ácido de 1.5 aproximadamente. La generación y el consumo de ácido son resultado de una serie de reacciones químicas que generalmente son de la oxidación de la pirita que es uno de los minerales sulfurosos más comunes presentes en los jales de mina.

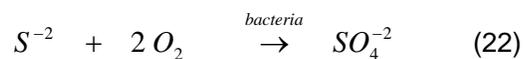
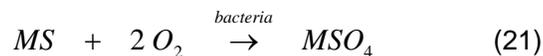
Inicialmente los sulfuros reaccionan con el oxígeno y el agua para formar sulfatos (SO_4^{2-}), hierro ferroso (Fe^{2+}) e iones de hidrogeno (H^+). Esta reacción de generación de ácido, en la que pirita se oxida con el oxígeno se muestra en la siguiente reacción (19):



Y a su vez, los iones ferrosos (Fe^{2+}) se oxidarán para formar iones férricos aumentando la acidez de la siguiente manera:



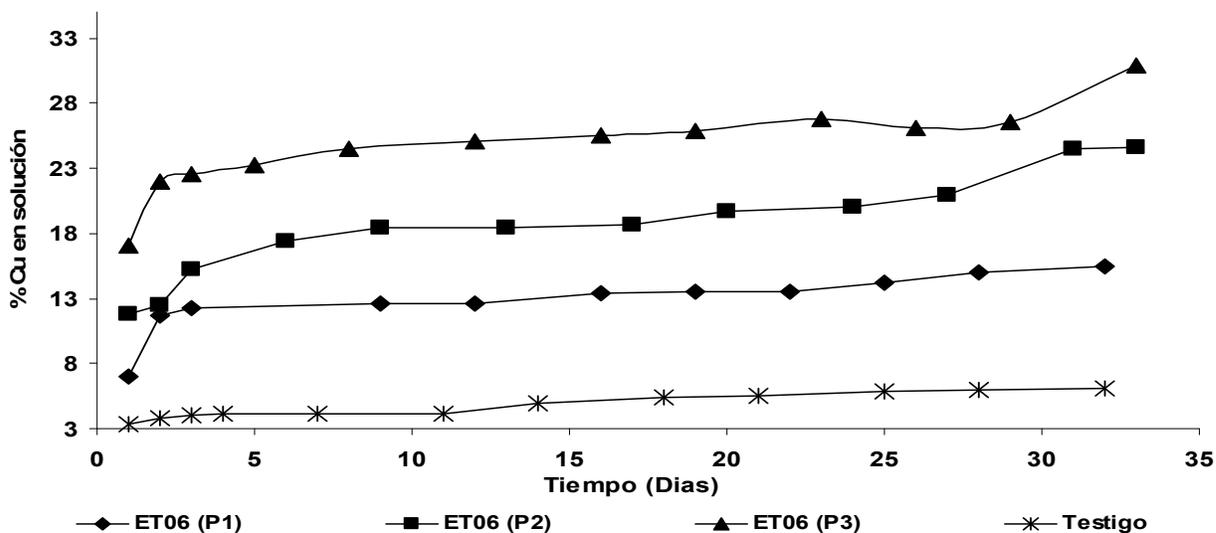
El aumento en la acidez la biooxidación y la liberación de metales pesados a partir de los sulfuros metálicos presentes en los jales, se da, de tal manera que los compuestos de azufre son oxidados a sulfatos en varias etapas que son catalizadas por los microorganismos. Por lo que a mayor acidez mayor será la cantidad de metales pesados liberados como se muestra en las siguientes reacciones:



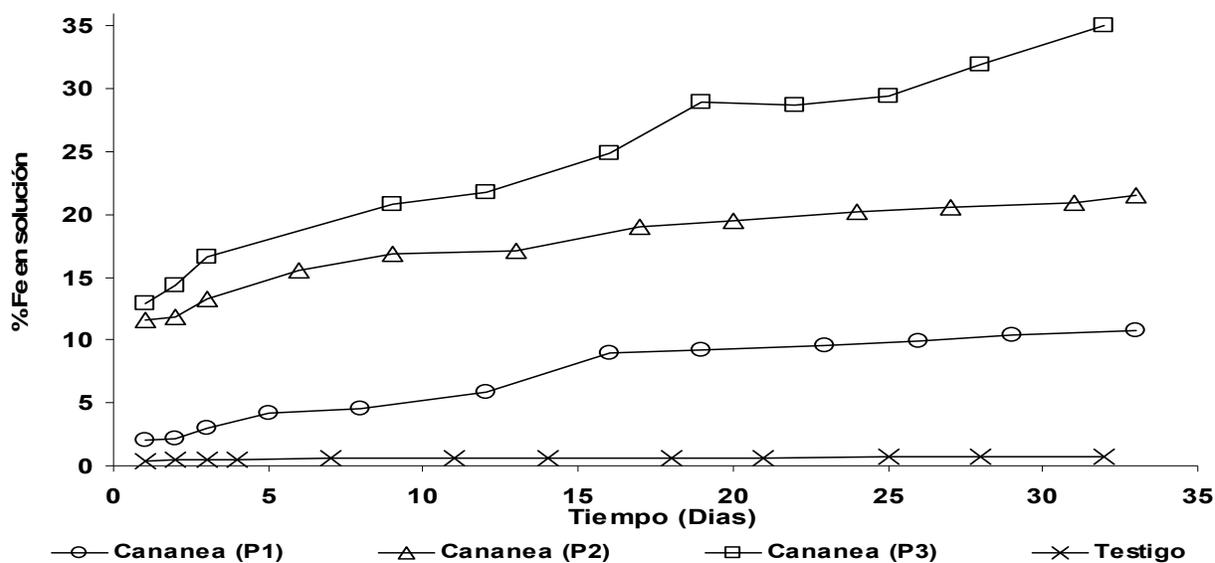
La oxidación del ion ferroso a ion férrico además de ayudar a que la acidez del sistema se mantenga constante, es un indicativo de que las bacterias se han adaptado y creciendo de manera favorable en el sistema.

En el caso del sistema testigo, la liberación de metales solubles en la solución se debe solo a una oxidación química, debido a la ausencia de microorganismos.

La gráfica 12 muestra que el primer pase de adaptación presenta una menor cantidad de elementos en la solución como (Cu, Fe), pero su porcentaje aumenta en el segundo pase, y en el tercer pase de adaptación donde tienen una mayor cantidad de estos elementos en solución, por ejemplo el Cu alcanza un porcentaje inicial del 14%, mientras que en el segundo pase obtiene un valor 23%, y finalmente un 30% en el tercer pase, mientras que el Fe al inicio obtiene un 12%, en el segundo pase alcanza un valor del 20% y finalmente un 35% en el último pase.



(a)

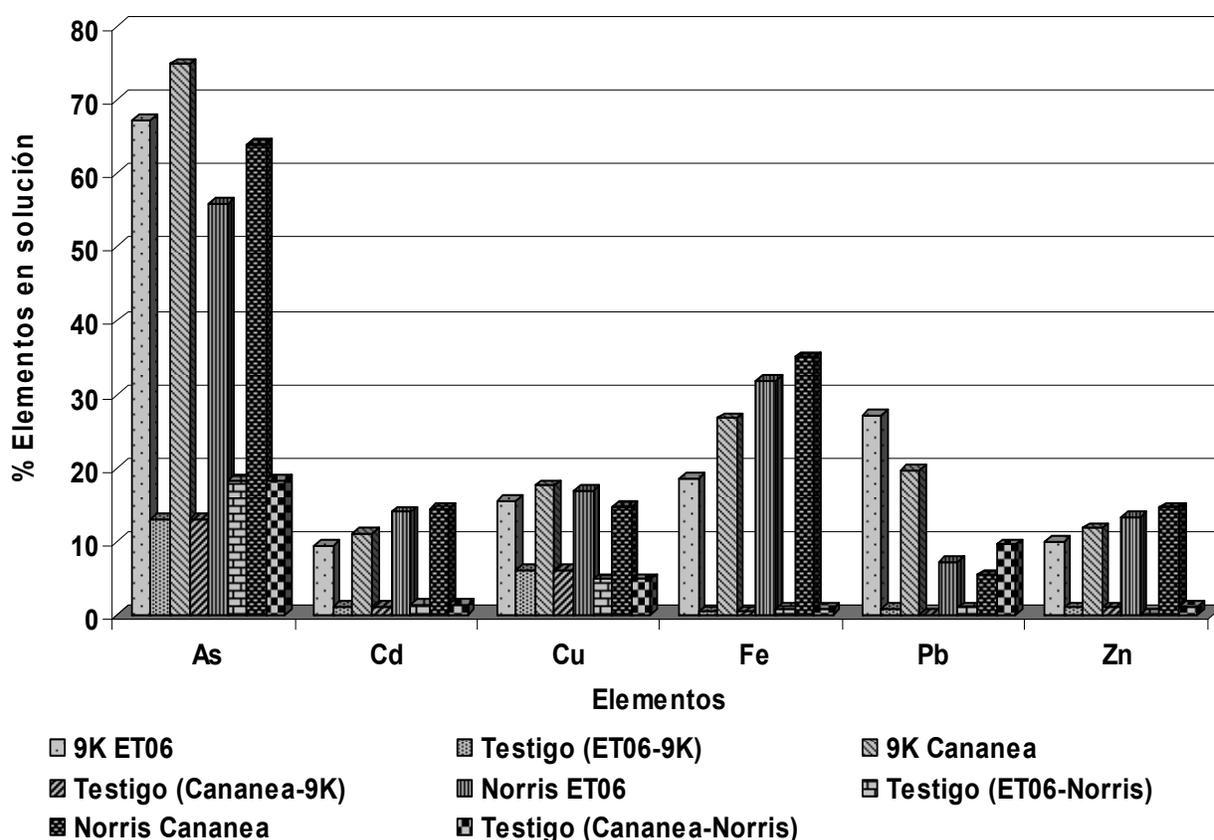


(b)

Gráfica 12. Comportamiento de la cantidad de Cu y de Fe durante los tres pases de adaptación en los sistemas (a) ET06 en medio 9K y (b) Cananea en medio Norris (30 días).

Se ha mencionado con anterioridad que las bacterias una vez adaptadas a las condiciones de cada sistema (pH, E, T, rpm), logran crecer e incrementar su población exponencialmente, lo cual se ve reflejado en la velocidad con la que se llevan a cabo las reacciones químicas de generación de ácido y de liberación de metales, estas reacciones como ya se mencionó anteriormente son catalizadas por los microorganismos una vez que éstos se han adaptado en su totalidad al sistema manteniendo un pH ácido por debajo de 2, la biooxidación de algunos metales pesados presentes en el mineral (As, Cd, Cu, Fe, Pb, Zn) aumenta.

En la gráfica 13 se observan los diferentes porcentajes de liberación de los elementos presentes en las muestras obtenidos en los diferentes medios de cultivo empleados, se ve como la cantidad de elementos aumenta en los sistemas inoculados, debido a la presencia de microorganismos, no así en los sistemas testigos en donde la liberación es menor, ya que sólo se lleva a cabo una oxidación química.



Gráfica 13. Porcentaje de concentración de metales en solución en los sistemas ET06 y Cananea en los medios 9K y Norris al final de la biooxidación (30 días).

3.6.- Microscopía electrónica de los residuos de biooxidación.

Una vez concluida la etapa de biooxidación se tomó una muestra del residuo obtenido con cada una de los sistemas utilizados para observar el grado de ataque por parte de las bacterias, esto se llevó a cabo en el Microscopio Electrónico de Barrido (**MEB**). En las figuras (3.4) y (3.5) se observa la superficie de la partícula antes del ataque y después de ser sometida al ataque de los microorganismos del sistema Cananea en medio 9K. Como se ve en las micrografías, a la llegada de la muestra la superficie de las partículas de pirita se encuentra totalmente lisa, mientras que al final de la etapa de biooxidación se ve muy rugosa como si fuese sido barrenada, muy probablemente por el ataque de los microorganismos. También utilizando el **MEB** se determinaron las especies presentes en las muestras utilizadas en cada uno de los medios.

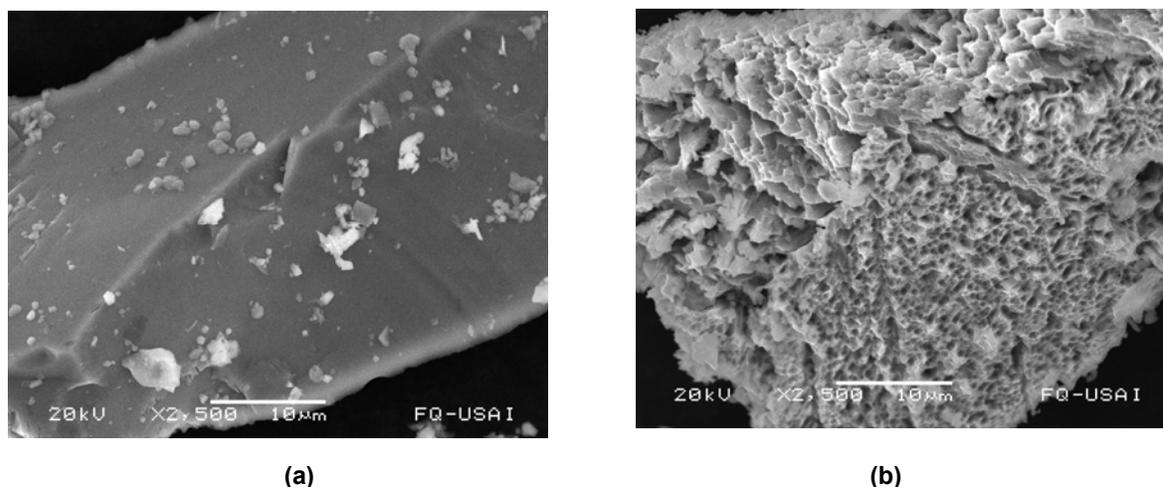


Figura 3.4 y 3.5 Micrografía electrónica del tercer pase de adaptación del sistema Cananea en medio 9K observada al MEB a: (a) 2500X inicio y (b) 2500X después de la cinética de Biooxidación (30 días).

La tabla 3.4 muestra los elementos presentes en los jales utilizados después del proceso de biooxidación y se ve que contienen una gran cantidad de Fe y S los cuales son generadores de DAM.

Elemento / Sistema	% O ₂	% Mg	% Al	% Si	% S	% Fe	% Zn
Cananea-9K	26.29	0.91	5.13	8.45	23.90	30.30	1.26
ET06-Norris	10.58	0.30	2.19	7.88	39.42	37.77	1.86

Tabla 3.4. Resultados del Microanálisis al MEB de residuos de Biooxidación (30 días).

Los difractogramas de los residuos de biooxidación de los sistemas ET06 en medio 9K y Cananea en medio 9K muestran la presencia de jarosita ($KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) como principal producto.

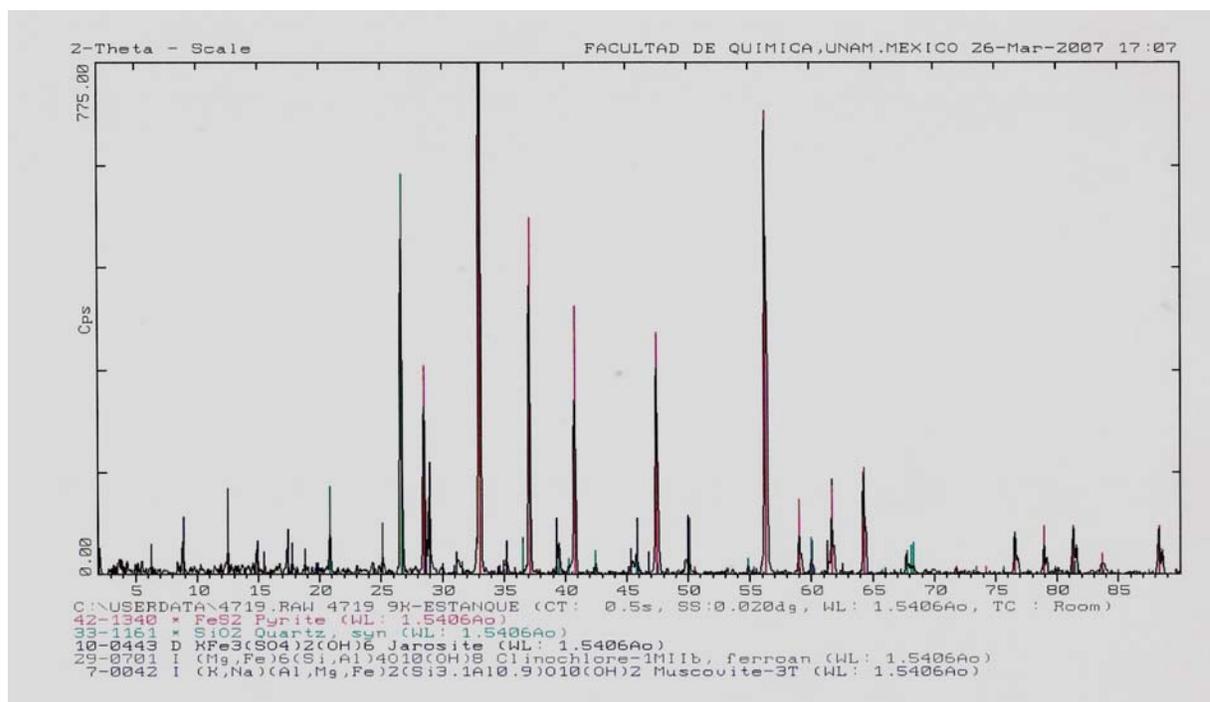


Figura 3.5 Difractograma del sistema ET06 en medio 9K después de la biooxidación (30 días).

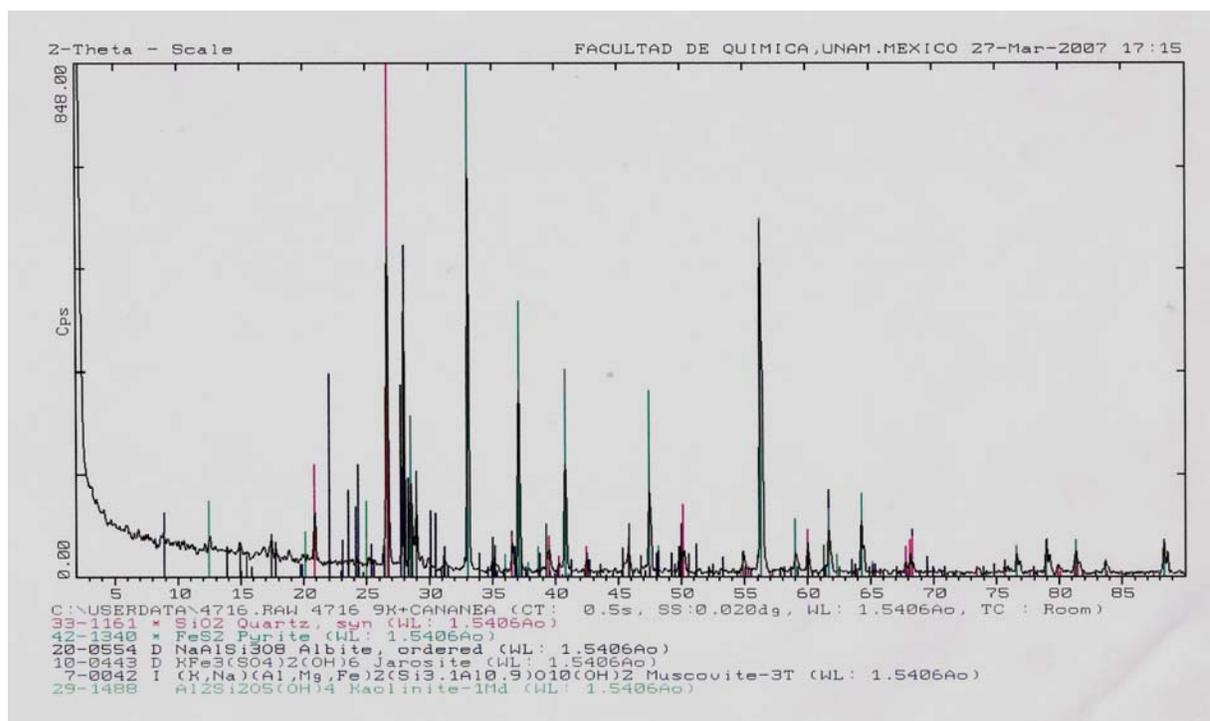


Figura 3.6 Difractograma del sistema Cananea en medio 9K después de la biooxidación (30 días).

3.7.- Resultados de Pruebas Estáticas.

Estas pruebas se llevaron a cabo para determinar si los jales utilizados eran potencialmente generadores de drenaje ácido de mina (**DAM**), de acuerdo a la **Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMANART-2003**.

Como se mencionó en el punto (2.6), las pruebas se realizaron por triplicado para tres distintos tamaños de partícula, los resultados son expresados en Kg de Carbonato de calcio por tonelada de jales, con lo cual se determina si contienen la suficiente cantidad de carbonato de calcio para neutralizar los sulfuros contenidos en la muestra.

Los resultados son presentados en la tabla 3.5.

Tamaño de Malla	PN	PA	PN/PA
Malla 100	97.75	113.66	0.86
Malla 200	114	111.76	1.02
Malla 325	117	101.73	1.15

Tabla 3.5. Resultados de las pruebas estáticas.

Como se puede observar todos los valores son menores a 1.2 como lo exige la **Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMANART-2003**, por lo que los jales utilizados son potencialmente generadores de ácido.

Estos resultados de las pruebas estáticas, indican la necesidad de realizar las pruebas cinéticas en celdas húmedas.

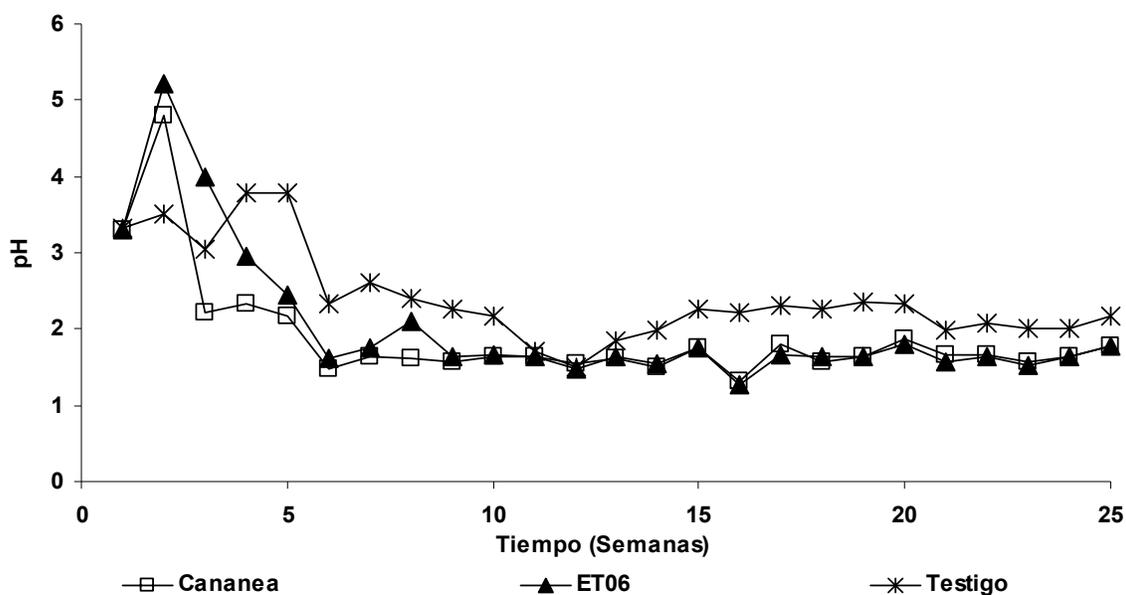
3.8.- Resultados de las pruebas cinéticas con bacterias mesófilas en celdas húmedas.

3.8.1.- Resultados de medición de los parámetros en celdas húmedas.

3.8.1.1.- Evolución del pH en las celdas húmedas.

En la gráfica 14 se presentan los valores de pH para los dos sistemas empleados en las celdas húmedas, se observa que durante los primeras 5 semanas el pH es elevado, esta variación se debe a que las bacterias irrigadas no estaban adaptadas a las condiciones de las celdas, pero estos cambios en el pH no son consecuencia de la actividad por parte de los microorganismos, sino al equilibrio químico que existe entre el mineral y la solución con la que son irrigadas. Además las bacterias que se encontraban en los jales se desarrollaron y empezaron a catalizar reacciones de oxidación comenzando la producción de especies acidas para mantener un pH menor a 2. El sistema testigo mantuvo un pH alto debido a que se irrigó con una solución con bactericida (merthiolate) para evitar el crecimiento de microorganismos, al haber una ausencia de éstos no se produjo la acidez necesaria para disminuir el pH.

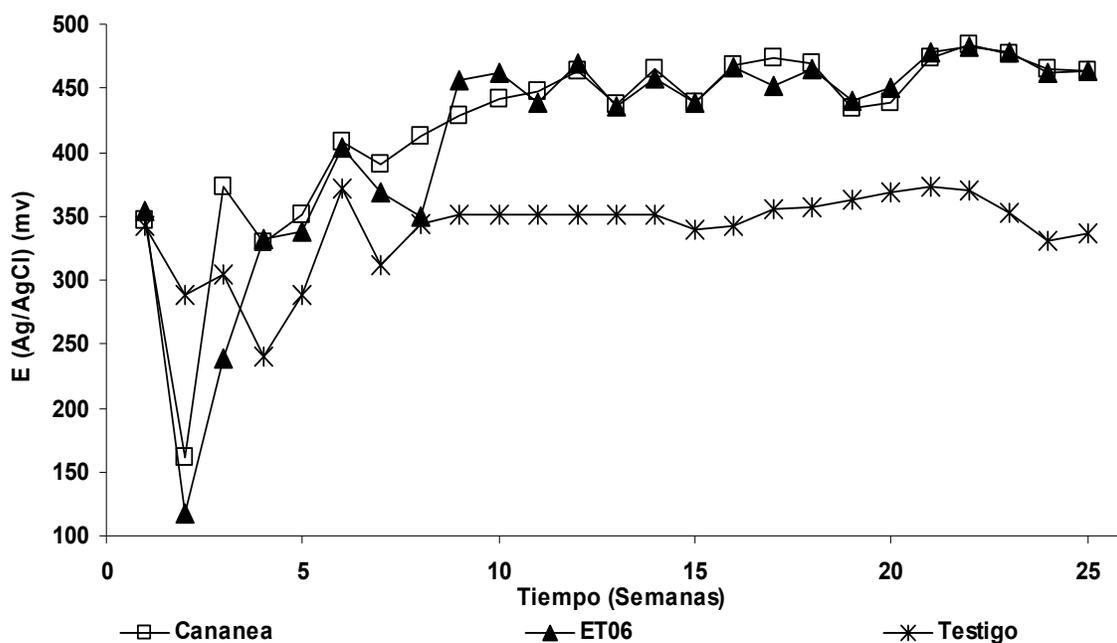
El comportamiento mostrado del pH en las celdas húmedas es similar al mostrado en los reactores agitados, ya que la reducción en su pH se da después de que las bacterias mesófilas se han adaptado y de que empiezan a llevar a cabo las reacciones de oxidación, mientras que el sistema testigo siempre mantiene un pH por encima de 2 debido a la ausencia de bacterias mesófilas.



Gráfica 14. Evolución del pH de los sistemas ET06, Cananea y Testigo en medio 9K en celdas húmedas (25 semanas).

3.8.1.2.- Comportamiento del potencial de oxido reducción en las pruebas de celdas húmedas.

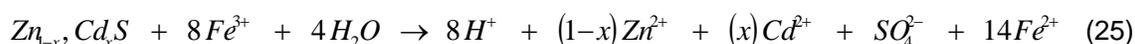
En la gráfica 15 se presentan los resultados obtenidos del potencial en los sistemas en celdas húmedas, en el cuál se aprecia como éste va aumentando con el paso de las semanas, esto debido a que la solución con las que se irrigaron contenía una gran cantidad de bacterias y éstas una vez adaptadas empezaron a lixiviar los sulfuros. Las celdas inoculadas alcanzaron potenciales de 460 mV respectivamente y al paso de las semanas éste no varió. Al comparar los potenciales obtenidos con los de los sistemas en incubador orbital, se observa que hay una similitud; dado que conforme transcurre el tiempo, el potencial aumenta. Aunque en los reactores agitados, los potenciales son mayores a 700 mv, esto puede ser consecuencia de que estos se encontraban a las condiciones ideales (T, pH, rpm) para que las bacterias crecieran con mayor rapidez. Debido a que las celdas húmedas eran irrigadas solo durante tres días y lavadas, las bacterias tenían menos contacto con el mineral, y así el número de bacterias disminuía por lo que el potencial de los sistemas no variaba ya que se llegaba a un equilibrio químico de las reacciones que se llevan a cabo, y en las que los microorganismos actúan como catalizadores. La tendencia mostrada en las celdas húmedas es muy parecida a la de reactores agitados por lo que si se dejan más tiempo alcanzarían potenciales muy similares.



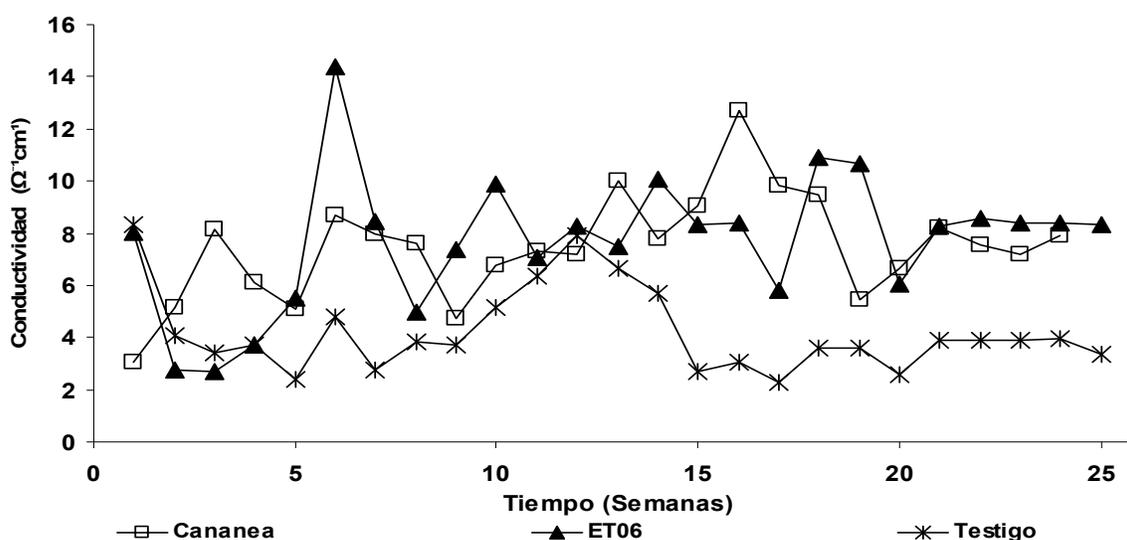
Gráfica 15. Comportamiento del potencial de los sistemas ET06, Cananea y Testigo en medio 9K en celdas húmedas (25 semanas).

3.8.1.3.- Comportamiento de la Conductividad y Resistencia en las pruebas de Celdas Húmedas.

Todo mineral sulfuroso tiene el potencial de oxidarse y liberan metales pesados de altísima peligrosidad tales como el plomo, presentes en la galena (PbS), el arsénico, presente en la arsenopirita o enargita (FeAsS, Cu₃FeS₄), o el cadmio presente en la esfalerita (ZnS) que al reaccionar con el oxígeno forman iones sulfatos, iones ferrosos, iones cadmio, iones zinc e iones hidrógeno como se muestra en las siguientes reacciones:

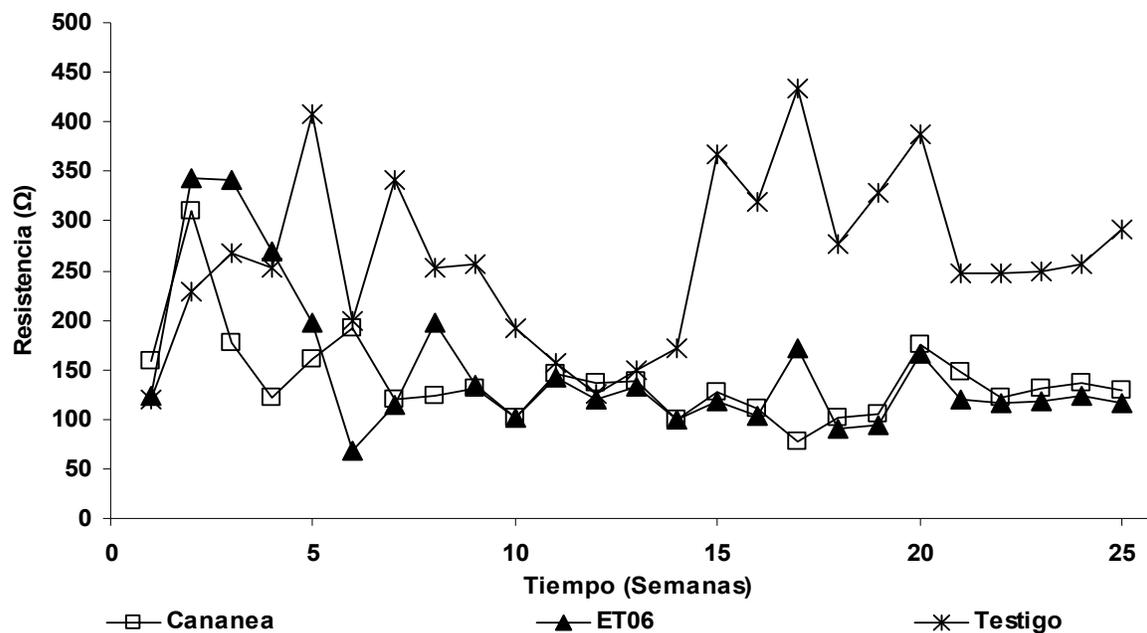


La cantidad de iones que se liberen de las reacciones antes mencionadas dará como resultado un incremento en la conductividad en solución. En la gráfica 16, se presenta la conductividad en cada una de las celdas. En esta misma gráfica se observa como durante las primeras 6 semanas la conductividad se mantiene por debajo de $8 \Omega^{-1} cm^{-1}$, y ésta aumenta con el tiempo hasta un valor cercano a los $12 \Omega^{-1} cm^{-1}$ siendo éste su máximo valor. Esto es consecuencia de que las bacterias catalizan reacciones que liberan especies ácidas, las cuales aumentan la liberación de iones, y al haber un incremento de iones libres en la solución, la conductividad aumenta, mientras que para el sistema testigo la conductividad se mantiene constante debido a la ausencia de especies libres que permitan el paso de la corriente.



Gráfica 16. Comportamiento de la Conductividad de los sistemas ET06, Cananea y Testigo en medio 9K en celdas húmedas (25 semanas).

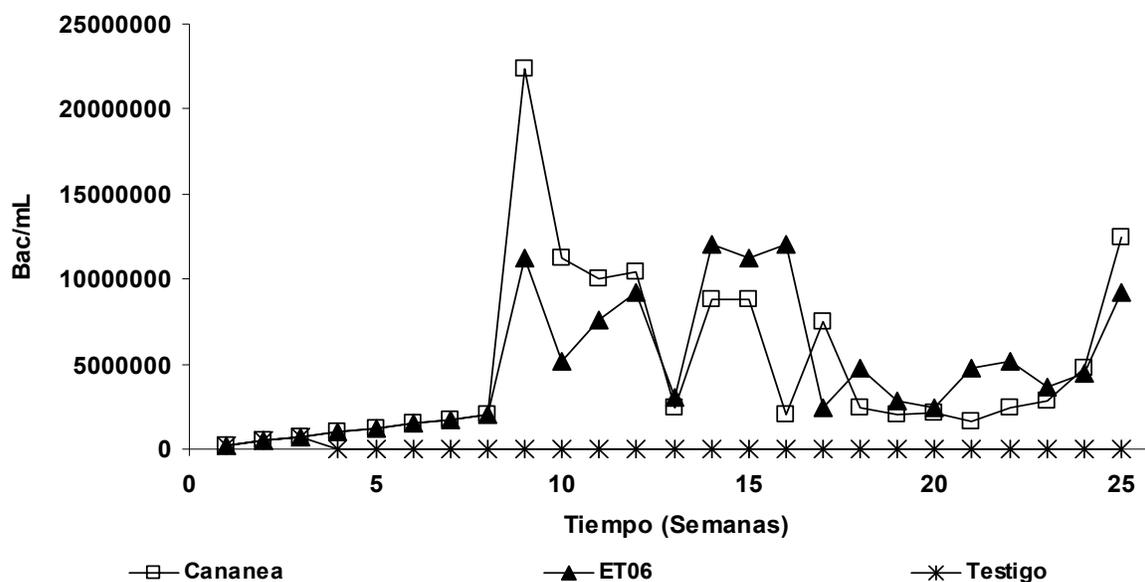
En la gráfica 17, se presenta los valores obtenidos de la resistencia, la cual es inversamente proporcional a la conductividad, es decir, a mayor conductividad menor resistencia, y esto se aprecia en la gráfica 16, al principio la resistencia tenía valores de $350\ \Omega$ y al paso de las semanas ésta fue disminuyendo hasta $110\ \Omega$, debido a la presencia de especies iónicas. Mientras que el sistema testigo al no contar con bacterias que catalizaran las reacciones, la liberación de iones fue mucho más lenta que en las celdas irrigadas, por lo que su conductividad fue baja y su resistencia alta.



Gráfica 17. Comportamiento de la Resistencia de los sistemas ET06, Cananea y Testigo en medio 9K en celdas húmedas (25 semanas).

3.8.1.4.- Crecimiento de microorganismos en las Pruebas de Celdas Húmedas.

En la gráfica 18 se presentan los resultados para el crecimiento de las bacterias en los sistemas empleados en las celdas húmedas durante las 25 semanas de experimentación. Se observa que las celdas irrigadas con la solución 9K y los sistemas en estudio (ET06 y Cananea), tuvieron un crecimiento en su población con el tiempo. Se aprecian algunas variaciones en las poblaciones, quizá consecuencia del lavado al que se sometía cada una de las celdas para recuperar los productos de oxidación. Cada lavado hacía que la cantidad de bacterias disminuya, y por tal razón varía. Esto puede ser también causado por un cambio en la temperatura, el pH de la solución o que las condiciones en las celdas húmedas también cambiaron, impidiendo que las bacterias se adaptaran en su totalidad y por eso la población de microorganismos varió durante toda la experimentación. Debido a que el sistema testigo era irrigado con una solución de merthiolate para evitar el crecimiento de los microorganismos, esta celda tuvo un comportamiento similar al sistema testigo en los reactores agitados.

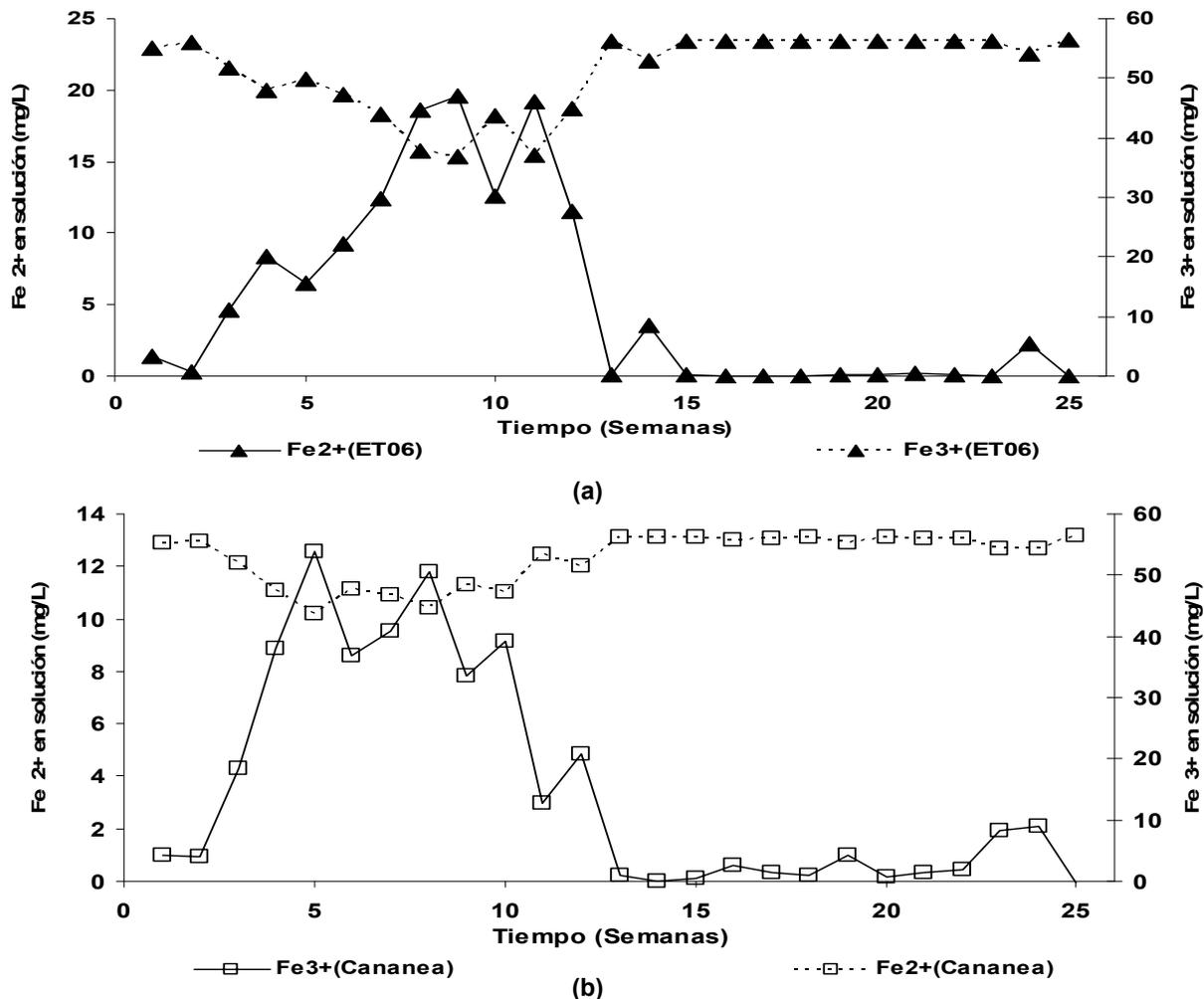


Gráfica 18. Comportamiento del crecimiento bacteriano de los sistemas Cananea, ET06 y Testigo en medio 9K en celdas húmedas (25 semanas).

3.8.1.5.- Comportamiento de la concentración de Fe^{2+} y Fe^{3+} en solución en las pruebas de celdas húmedas.

Para que se lleve a cabo la oxidación del hierro es necesario que existan las reacciones de oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} dentro del sistema en estudio, y esto ocurre cuando existen microorganismos que son reconocidos por lograrlo. En la gráfica 19 se muestra como la concentración de Fe^{2+} disminuye con el paso de las semanas y por ende la concentración de Fe^{3+} aumenta en ambos sistemas ET06 y Cananea, y esto sucede a partir de la 5 ó 6 semana.

Esto ocurre cuando las bacterias se han adaptado a las condiciones de las celdas húmedas. Los comportamientos mostrados en las gráficas 19 (a) y (b) para los sistemas ET06 y Cananea dentro de las celdas húmedas, son similares a los reportados en los reactores agitados.



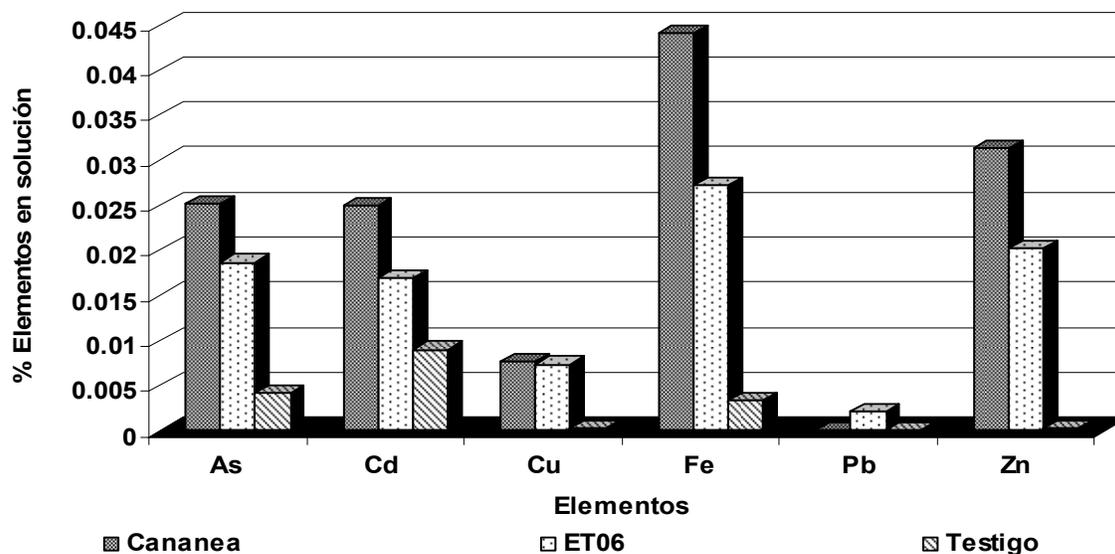
Gráfica 19. % de Liberación de Fe^{2+} a Fe^{3+} de los sistemas, (a) ET06 y (b) Cananea en medio 9K en celdas húmedas (25 semanas).

3.8.1.6.- Análisis de la concentración de metales pesados en solución en las pruebas de celdas húmedas.

Una vez adaptadas a las condiciones del sistema las bacterias logran reproducirse y aumentar su población con mayor rapidez, y esto se refleja en la velocidad con que catalizan las reacciones químicas para lixiviar metales y generar ácido.

En la gráfica 20 se observa en la cantidad de metales disueltos en cada una de las tres celdas, las inoculadas (ET06 y Cananea) y la testigo. Se ve como los sistemas irrigados presentan una mayor cantidad de elementos pesados (Cu, Fe, Zn), pero también la cantidad de metales tóxicos aumenta (As, Cd), en ambas celdas, no siendo así para el sistema testigo donde la concentración de metales es inferior a los sistemas inoculados debido a la ausencia de microorganismos que aceleren las reacciones de oxido-reducción, correspondiendo la liberación a un proceso químico. Los resultados de la concentración de elementos presentes en las celdas húmedas son muy inferiores a los obtenidos en reactores agitados debido a que éstos eran irrigados solo por tres días y la cantidad de microorganismos es menor que en los de incubadores orbitales, además de ser un sistema estático, en el que la superficie de contacto entre los jales y la solución es menor.

Debido a que los elementos presentes en la solución de lavado de las celdas son altamente tóxicos, se puede determinar si los jales utilizados tienden a generar Drenajes Ácidos de Mina (DAM), y así avalar los resultados obtenidos durante las pruebas estáticas (ver punto 3.7).



Gráfica 20. Concentración de metales en solución en los sistemas ET06, Cananea y Testigo en medio 9K al final de las pruebas de intemperismo acelerado (25 semanas).

3.8.1.7.- Microscopía electrónica de barrido de los residuos de biooxidación en las pruebas de celdas húmedas.

Al comparar la superficie de los jales de llegada de las muestras utilizadas (ET06, Cananea y Testigo), los utilizados en reactores agitados y en las celdas húmedas figura 3.8, se observa que los utilizados en los reactores sufrieron un mayor ataque. Esto probablemente es debido a que tienen un mayor contacto con la solución, mientras que los utilizados en las celdas se observan con ataque parcial, el cual es consecuencia de que el contacto con la solución era limitado a los días de irrigación y a la menor superficie de contacto. Incluso puede especularse que si se dejase por mucho más tiempo muy probablemente tendrían un ataque mucho más severo.

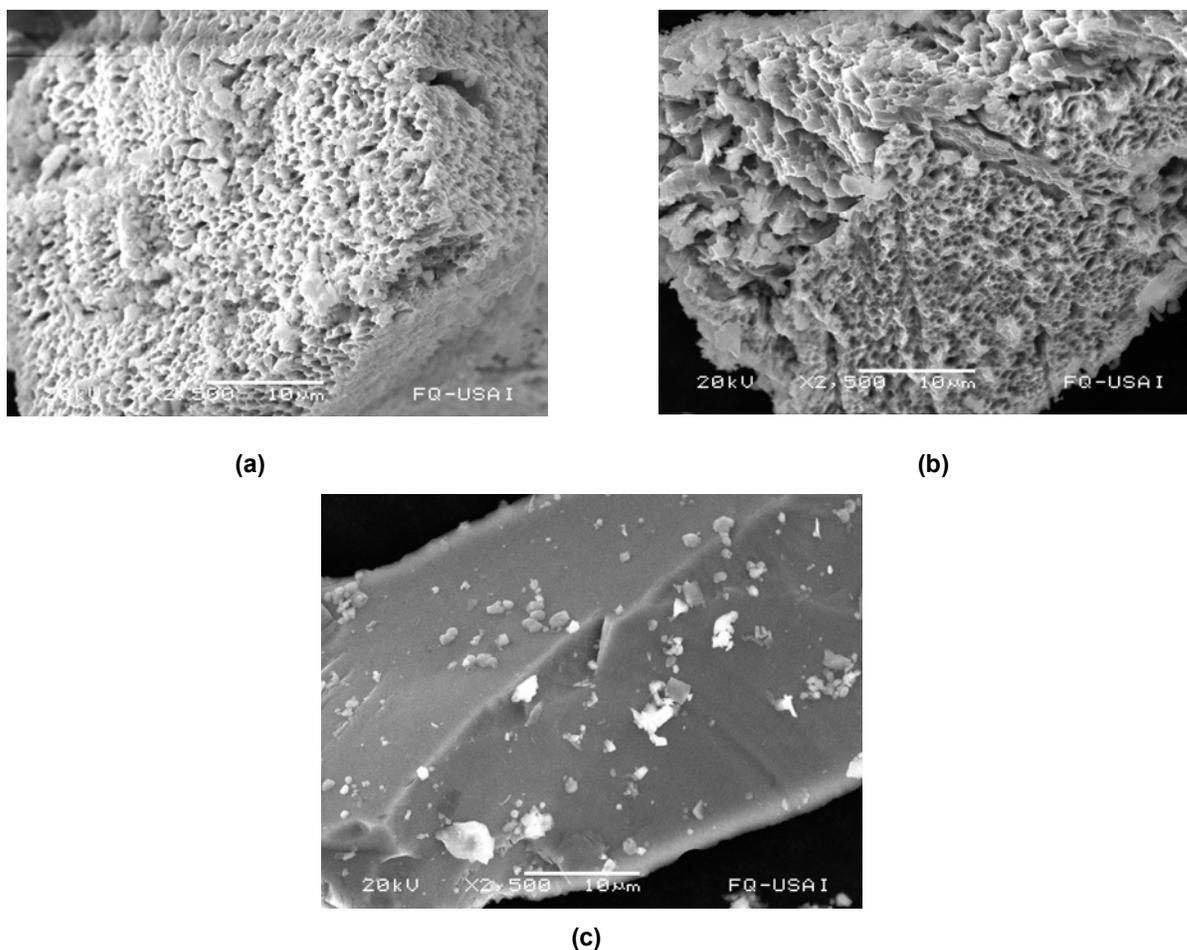


Figura 3.8 Micrografías electrónicas de los residuos en las celdas húmedas observada al MEB a 2500X, (a) sistema ET06, (b) sistema Cananea y (c) Testigo, en medio 9K al final de las pruebas de intemperismo acelerado (25 semanas).

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los parámetros o variables importantes para que se lleve a cabo la oxidación bacteriana son: temperatura, pH, nutrientes, mineral sulfuroso expuesto, y oxígeno, ya que estas variables determinan el crecimiento y adaptación de las bacterias mesófilas.
2. Las cepas ET06 y Cananea mostraron una mayor capacidad oxidante durante en el tercer pase de adaptación, y esto se sustenta en los valores obtenidos en los parámetros de biooxidación.
3. El medio nutriente 9K es el que permite una mayor adaptación para las cepas ET06 y Cananea durante toda la experimentación.
4. El merthiolate efectivamente es un bactericida, ya que en los sistemas testigos los parámetros de biooxidación presentan valores menores que los obtenidos en los sistemas inoculados.
5. La cinética de biooxidación es más rápida en las pruebas en incubador orbital, que en las celdas húmedas, debido a que existe una mayor concentración de microorganismos que encuentran condiciones favorables para su crecimiento y a la interacción entre los jales y la solución.
6. El ataque por parte de los microorganismos en los jales es más severo en las pruebas en incubador orbital, que en las celdas húmedas debido a que la concentración de bacterias es mayor que en las celdas húmedas y a al mayor tiempo de contacto que existe con la solución.
7. De acuerdo a los valores obtenidos en cada uno de los tamaños de partícula empleados y a la **Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMANART-2003** los jales del Complejo Minero Tizapa son potencialmente generadores de ácido.
8. La cantidad de metales pesados que se logran disolver en los jales por acción de los microorganismos es alta lo que puede ocasionar el fenómeno de drenaje ácido de mina.

9. El problema ambiental que puede derivarse de estos procesos no sólo radica en que aumente la acidez del agua, sino también en que el resto de los minerales sulfurados presentes en las muestras también se oxidan, liberando metales pesados de alta peligrosidad como el As, Cd y el Pb, los cuales si rebasan su límite máximo permitido, que es de 0.5 mg/L pueden contaminar los mantos acuíferos.

CAPÍTULO V

BIBLIOGRAFIA

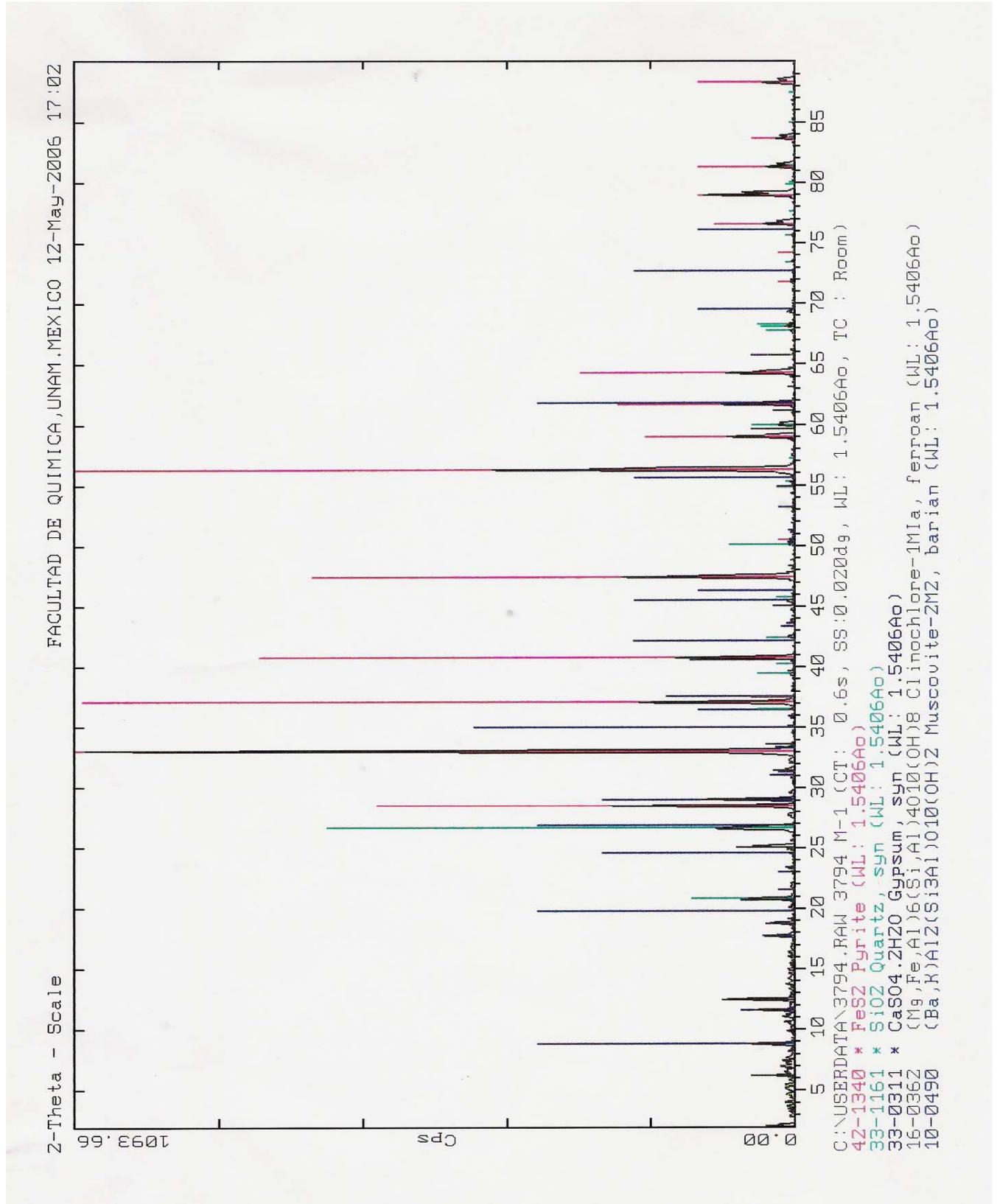
Bibliografía

- [1] A. Ballester, F. González y M. Blázquez. Biolixiviación de menas naturales. Posibilidades actuales de utilización. Rev. Metal. Madrid, Pág. 91-102. 24 (2) 1988.
- [2] F. Kargi. Trends Biotechnology. Pág. 293-297. 4 (11). 1986.
- [3] Reseña de Actividades Desarrolladas por la Cámara Minera de México. <http://www.camimex.org.mx/info/situacion>. 2005.
- [4] Joaquín Muñoz. La minería en México: Bosquejo Histórico. UNAM. Pág. 1. 1986.
- [5] Cristina Cortinas Nava. Manejo Ambiental de los relaves o jales mineros. Instituto Nacional de Ecología. http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/gaceta/155/cortinas.htm?id_pub=155 Pág. 1-8. 1996.
- [6] Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz. Minería. Instituto Tecnológico Autónomo de México. México, DF (en prensa). http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libro/35/los-residuos.html?id_pub=35 Pág. 8-12. 1997
- [7] Consejo Minero de Chile. Guía Metodológica sobre Drenaje ácido en la Industria Minera. Pág. 12-16. 2002.
- [8] Hill Price and John Errigton. Guía sobre la lixiviación y drenaje ácido de la minería en la Columbia Británica, 1997, MEI. VICTORIA
- [9] Guía Ambiental para el manejo de Drenaje ácido de Minas. http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/gaceta/155/cortinas.htm?id_pub=155. 1997.
- [10] Brimhall D.B, Wadsworth M. E. Oxygen Consumption in Dump Leaching Transaction. Vol. 254. Pág. 68-73, Soc. of Mining Engrs. AIME.
- [11] G. J. Olson and R. M. Nelly. Biotecnología. Programa. 2 [1]. Pág. 1-15. 1984.
- [12] [http://www. Geocities.com./Roberto Raúl/crecimiento.html](http://www.Geocities.com./RobertoRaúl/crecimiento.html).
- [13] http://www.qb.fcen.uba.ar/microinmuno/seminarios_medios.htm.
- [14] R. E. Gripps. The recovery of metals by microbial leaching. Biotechnology Letters, 2 (5), Pág. 255-262. 1980.

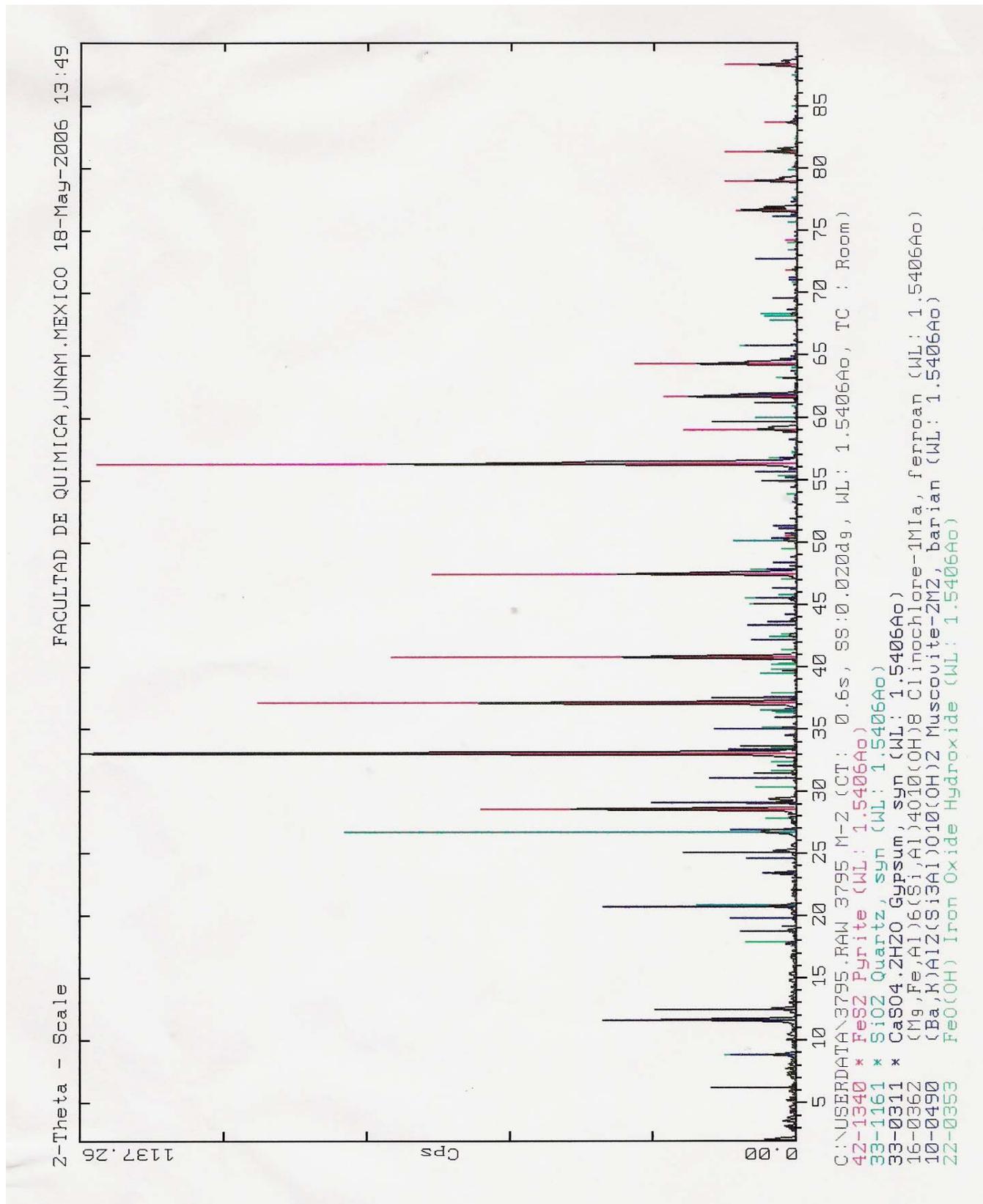
-
-
- [15] Antonio Serrano Peláez. Biolixiviación. <http://www.goto.com>. 1996.
- [16] Ahonen. L. Tuovinen. O. Environmental geochemistry of sulfide oxidation. Chapter 7. "Solid-phase alteration or iron transformation in column bioleaching of complex sulfide ore". American Chemical Society. 1994
- [17] K. Imai. H. Sakaguchi. T. Sogio and T. Tano. On the mechanisms of chalcocite oxidation by *Thiobacillus Ferrooxidans*. J. Ferment. Techno. 51 (2). Pág. 865-870. 1973
- [18] T. Brewis. Extracción de metales por oxidación bacteriana. Mining. Pág. 35-46. 1996.
- [19] Compañía Minera Antamina S.A. Anexo V: Estudio de Impacto Ambiental. Pág. 10-12. 1998.
- [20] Norma Oficial Mexicana NOM-141-SERMARNAT-2003. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Pág. 30-33. 2004.
- [21] Manhattan Sechura Compañía Minera S.A. Anexo A: Métodos Analíticos. Pág. 13-15. 1998.
- [22] Cotoras Davor. La Enfermedad de los relaves. Biohidrica. Induambiente. 20:26-7. 1996.
- [23] Minera Tizapa. Grupo Peñoles. Guía promocional/ publicitaria/sobrepenoles/minas. <http://penoles.com.mx/penoles/sobrepenoles/perfil/divisiones/minas/detail.php?mina7>. 1996.

ANEXO I

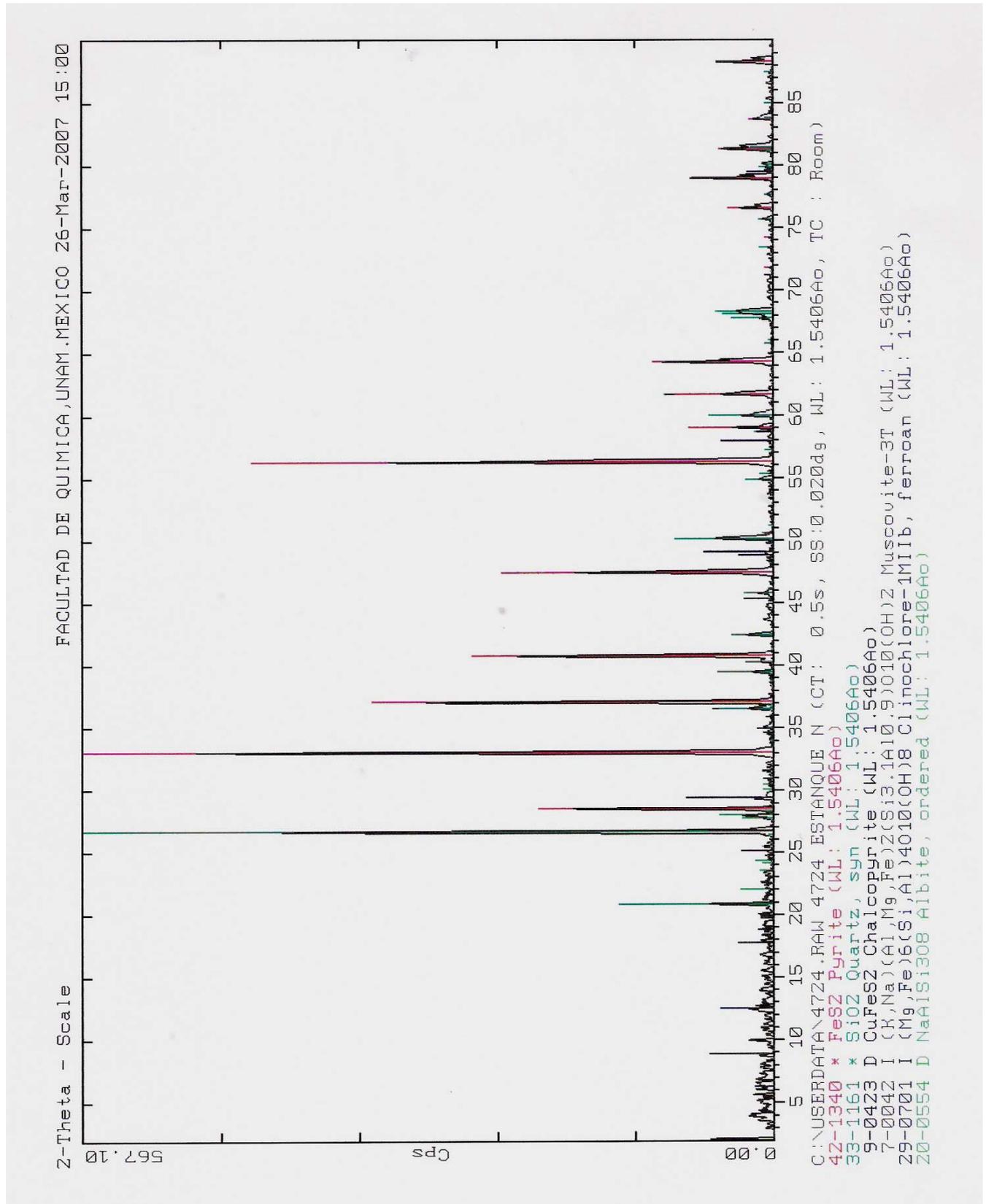
Difractograma I. Especies presentes en la muestra de llegada de los Jales del Complejo Minero Tizapa (M-1).



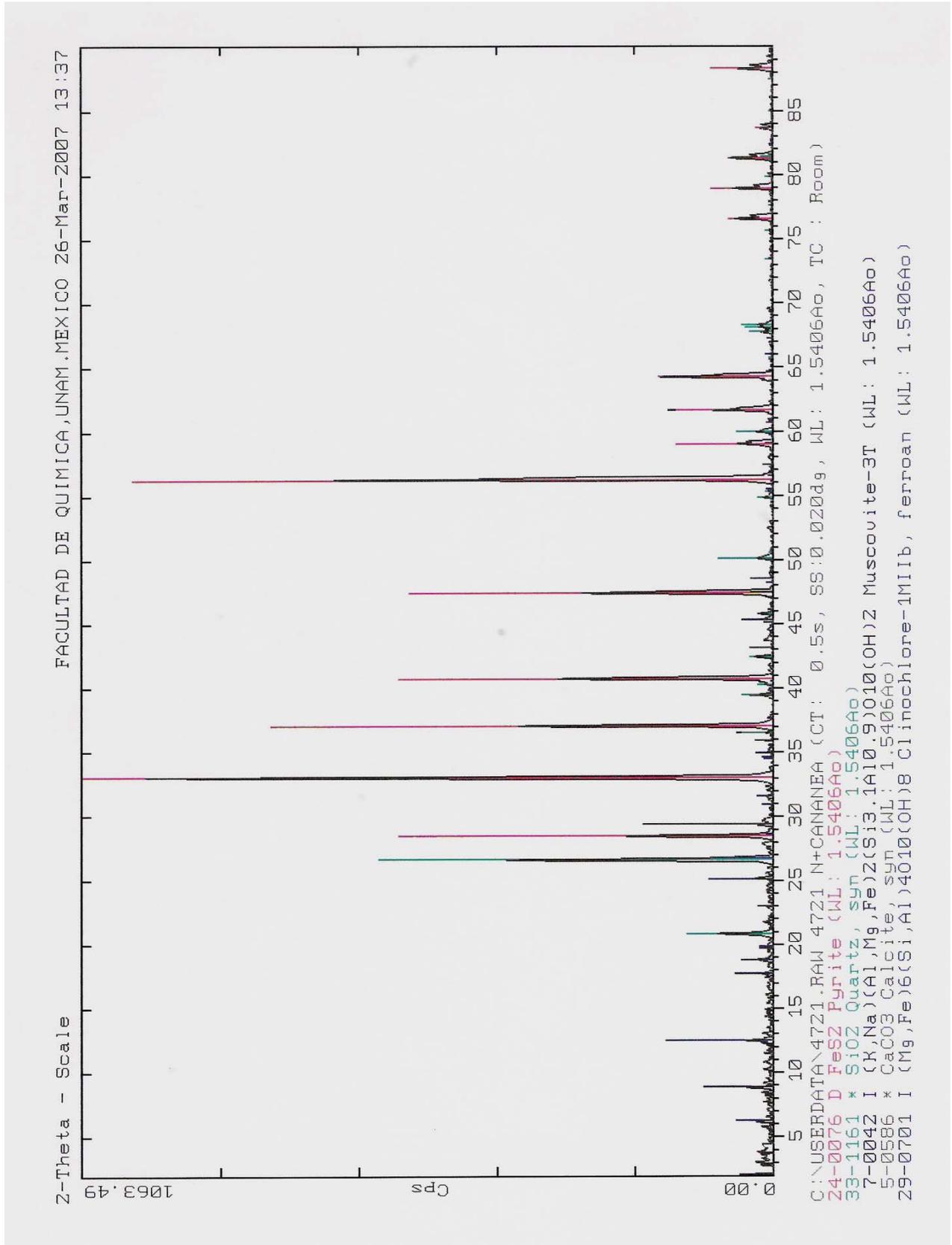
Difractograma II. Especies presentes en la muestra de llegada de los Jales del Complejo Minero Tizapa (M-2).



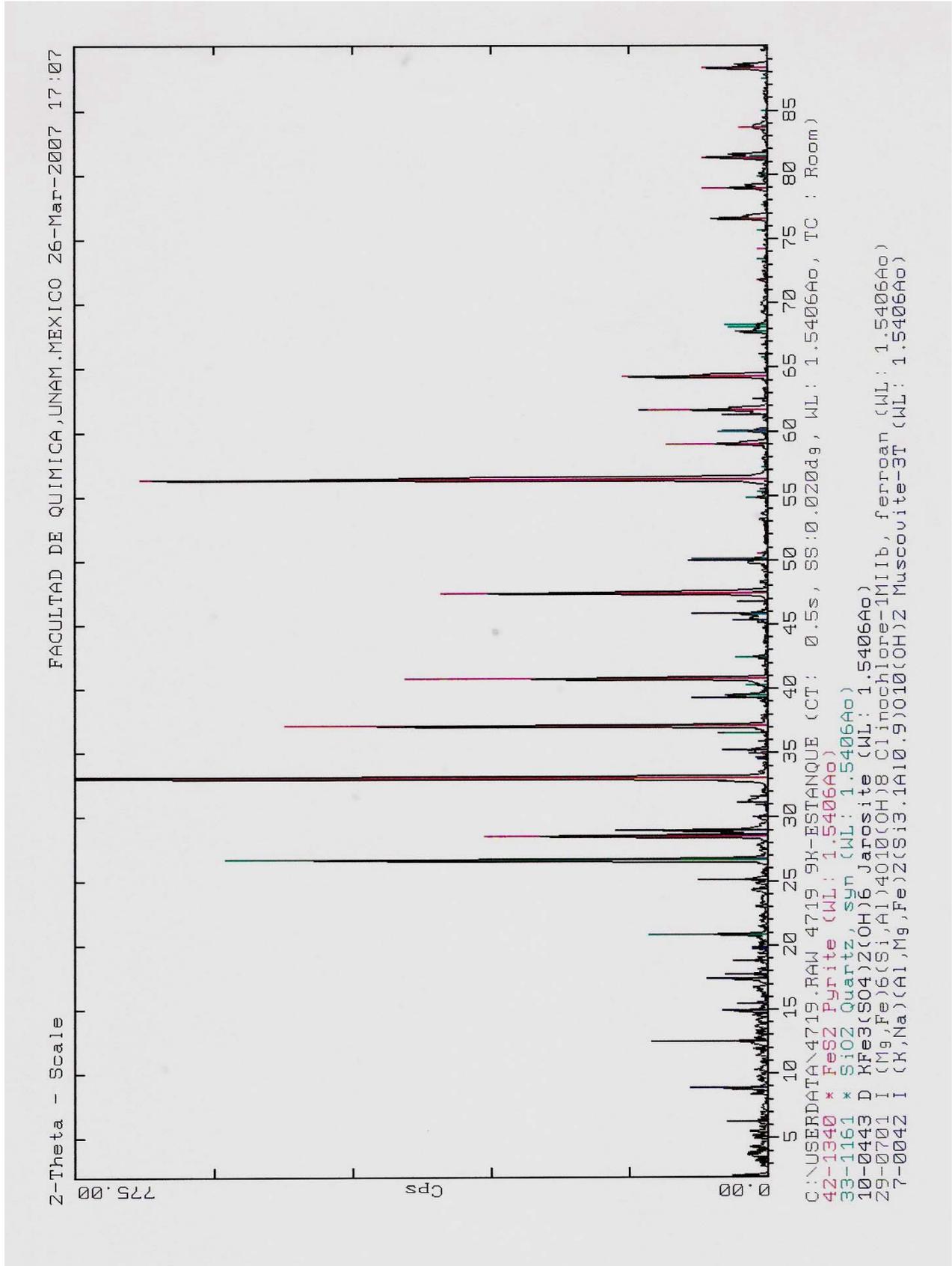
Difractograma III. Especies presentes en la muestra ET06 en medio Norris después del tratamiento de biooxidación.



Difractograma IV. Especies presentes en la muestra Cananea en medio Norris después del tratamiento de biooxidación.



Difractograma V. Especies presentes en la muestra ET06 en medio 9K después del tratamiento de biooxidación.



Difractograma VI. Especies presentes en la muestra Cananea en medio 9K después del tratamiento de biooxidación.

