



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS:

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA PRESENCIA DE LOS
COMPONENTES DEL MEDIO NUTRIENTE EN LA LIXIVIACIÓN DEL
MINERAL DE LA CARIDAD CON MICROORGANISMOS MESÓFILOS
AUTÓCTONOS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO**

PRESENTA:

GUSTAVO JACUINDE ROJAS



MÉXICO, D.F.

2014



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: Profesor: JOSÉ ANTONIO BARRERA GODÍNEZ

VOCAL: Profesor: ROSA ELVA RIVERA SANTILLÁN

SECRETARIO: Profesor: MARÍA DE LA PAZ ORTA PÉREZ

1er. SUPLENTE: Profesor: SILVIA CITLALLI GAMA GONZÁLEZ

2° SUPLENTE: Profesor: LUIS TONATIHUT SÁNCHEZ LINARES

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:

ROSA ELVA RIVERA SANTILLÁN

SUSTENTANTE:

GUSTAVO JACUINDE ROJAS



Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra, con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.



ÍNDICE

Resumen	7
1.- Introducción	8
2.- Objetivos	13
3.- Bases teóricas	14
4.- Desarrollo experimental	18
4.1- Equipo, material y reactivos	18
4.2.- Cultivos preliminares de adaptación	20
4.2.1.- Cultivos en diferentes medios	20
4.3.- Cultivos con pirita	22
4.3.1.- Curva de calibración para determinación de hierro	22
4.3.2.- Análisis de pirita	23
4.3.3.- Biolixiviación de pirita	24
4.4.- Cultivos con mineral 1410G	26
4.4.1.- Curva de calibración para determinación de cobre	26
4.4.2- Análisis de mineral 1410G	26
4.4.3.- Biolixiviación de mineral 1410G	27
5.- Resultados y discusión	30
5.1.- Estudios de adaptación preliminares	30
5.1.1.- Cultivos en diferentes medios enriquecidos	
con azufre	30
5.1.2.- Cultivos en medios MKM modificados enriquecidos	
con azufre	35

5.1.3.- Cultivos en diferentes medios enriquecidos	
con hierro	41
5.1.4.- Cultivos en medios MKM modificados enriquecidos	
con hierro	45
5.2.- Cultivos con minerales	49
5.2.1.- Biolixiviación de pirita	49
5.2.2.- Biolixiviación de mineral 1410G	54
6.- Conclusiones	64
Apéndice I	66
Apéndice II	70
Bibliografía	75

Resumen

Dado que en los minerales de baja ley la extracción de un metal de interés en muchos casos suele ser incosteable, buscar opciones para su obtención es de gran importancia. En el presente trabajo se estudió la actividad de las bacterias tipo *Acidithiobacillus thiooxidans* (*At. Thiooxidans*, que oxidan azufre) y *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*At. Ferrooxidans*, que oxidan hierro) en diferentes condiciones del medio, variando los componentes de cada sistema para maximizar la degradación de un mineral de baja ley y la liberación de cobre. Se inició con cultivos preliminares de adaptación y selección donde los sustratos eran azufre elemental para los cultivos con *At. thiooxidans* y sulfato ferroso heptahidratado para los cultivos con *At. ferrooxidans*. Se encontró que las mejores condiciones son el medio MKM y el medio 9K para cada bacteria, respectivamente. Se decidió trabajar con el medio MKM en sistemas posteriores para poder hacer comparaciones directas entre ambos tipos de bacterias (sin y con modificaciones en el medio). Al hacer modificaciones al medio MKM se encontró que para la *At. thiooxidans* el mejor medio fue el MKM que carecía de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, mientras que para la *At. ferrooxidans* el mejor fue el medio MKM completo. Se realizó el estudio de biolixiviación con piritita como sustrato. Se encontró que los mejores cultivos fueron los medios MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con *At. thiooxidans* y MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con la mezcla de ambos tipos de bacterias. Posteriormente se analizaron cultivos con mineral de cobre de baja ley de terrero 1410G de la planta "La Caridad" ubicada en Nacozari de García, Sonora. La mejor biolixiviación de dicho mineral se obtuvo en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con *At. thiooxidans* y en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con la mezcla de ambos tipos de bacterias.

1. Introducción

En la actualidad la búsqueda de procesos que mejoren los rendimientos de extracción de metales de interés y actúen sin dañar el medio ambiente se ha convertido en una prioridad, y para esto aquellos procesos que involucren microorganismos son de los más atractivos para dichos objetivos porque, en la mayoría de los casos, no generan subproductos dañinos además de que la actividad microbiana puede generar compuestos que, de otro modo, serían costosos y difíciles de sintetizar. Es por esto que se han hecho muchos estudios en cuanto a la actividad de diversas bacterias, encontrando para algunas, procesos ideales que actúan de manera amigable al ambiente y que ya se están utilizando. Para algunas de ellas ya se les ha encontrado un uso práctico relacionado con sus procesos específicos, mientras que a otras se les han hecho procesos de adaptación para lograr que trabajen en condiciones diferentes a las que normalmente se le encontraría. Cabe mencionar que no siempre es posible hacer estas adaptaciones debido a que algunas veces las bacterias no resisten ciertos cambios.

Las bacterias con capacidades oxidantes dan una buena oportunidad para los procesos mineros, en los que se requiere la obtención de metales de interés. En la actualidad existen procesos para extraer los metales de manera eficiente pero las condiciones de reacción son bastante severas, es por eso que las bacterias son una alternativa importante en el tratamiento de minerales para la extracción de dichos metales, en especial para casos en los que el contenido del metal deseado es muy poca y el proceso de extracción se vuelve incosteable. Además, es muy

útil cuando se tienen minerales refractarios que contienen metales de interés; con un tratamiento previo de biolixiviación, el mineral se vuelve no refractario, haciendo la extracción del metal de interés más fácil y menos costosa.

El término lixiviación se refiere a la solubilización de minerales por procesos físicos y químicos ^[1], de ahí se ha acuñado el término biolixiviación que se refiere al proceso lixivante con ayuda de microorganismos. Ciertas bacterias ayudan a la oxidación de algunos elementos, obteniendo de esta manera la energía que requieren para proliferar. El elemento en estado oxidado puede ser utilizado posteriormente para la degradación de otro (o el mismo) mineral del cual se extraerá un metal de interés.

Existen muchos tipos de bacterias en la naturaleza, por esto se han hecho clasificaciones diversas para éstas, por ejemplo, con respecto a su forma; *cocci*, cuando se trata de bacterias en forma de esfera, *bacilli* para la forma de varilla recta o *spirilli* cuando se tiene la forma de varilla curva. Otra clasificación es con respecto a la temperatura en la que subsisten: criófilas para las que soportan temperaturas de menos de 20 °C, mesófilas para las que soportan temperaturas entre 20 °C y 40 °C , las termófilas moderadas soportan temperaturas entre 40 °C y 55 °C y las termófilas extremas, que requieren temperaturas mayores a los 55 °C ^[2].

La *At. thiooxidans* y la *At. ferrooxidans* (usadas en el presente trabajo) son clasificadas como bacterias mesófilas, ya que las temperaturas en las que prosperan de manera óptima son entre 28 °C y 35 °C, sin embargo, llegan a

sobrevivir a temperaturas desde 2 °C a 40 °C. Sus dimensiones van de 0.3 μm a 0.5 μm de diámetro y de 1.0 μm a 1.7 μm de longitud (forma de varilla recta). El pH óptimo que la bacteria es capaz de tolerar está entre 2.0 y 2.5, sin embargo, pueden llegar a sobrevivir a pH desde 1.0 hasta 6.0, incluso menores a 1.0 en casos excepcionales ^[2,3].

En cuanto a la biolixiviación se refiere, se han dilucidado dos mecanismos generales por los cuáles se puede llevar a cabo la degradación de un mineral: el directo y el indirecto ^[4, 5]. En la forma directa, las bacterias se unen al mineral degradándolo poco a poco, es decir, no hay intermediarios presentes. Por ejemplo, para la pirita (FeS_2), el mineral se transformará en Fe(II) y SO_4^{2-} por la acción bacteriana, esto se ve en la figura 1 a continuación.

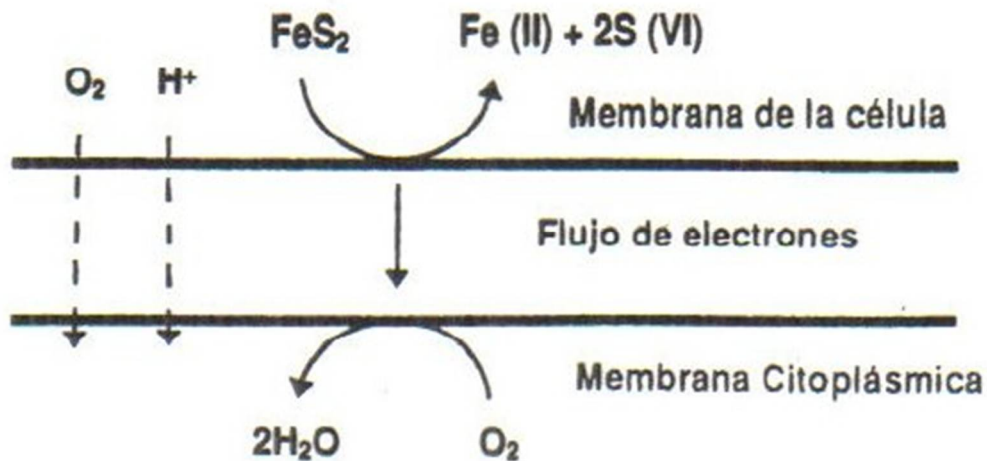
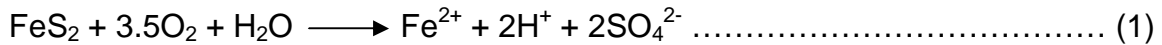


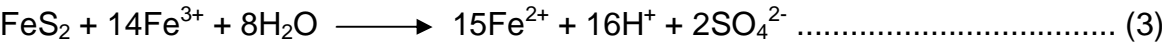
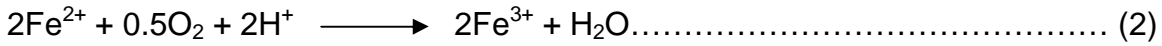
Figura 1.- Proceso de acción bacteriana directa sobre el mineral ^[2].

En el proceso indirecto, las bacterias actuarán sobre una especie intermediaria y no sobre el mineral de manera específica. Retomando el ejemplo de la pirita, en la forma indirecta la acción del Fe(III) es la que degrada poco a poco al mineral,

formando Fe(II), éste es el intermediario que será oxidado biológicamente a Fe(III), regenerándose de esta manera el Fe(II). Las reacciones resumidas de estos casos se presentan a continuación. La degradación directa se da por la siguiente reacción:



Mientras que la degradación indirecta es:



Cabe mencionar que en el mecanismo indirecto, el Fe(II) obtenido del mineral se transforma a Fe(III) por la actividad bacteriana, éste Fe(III) puede nuevamente degradar al mineral para seguir obteniendo Fe(II), lo cual hace que sea un proceso autosustentable.

Durante la práctica se ha encontrado que ambos métodos coexisten para la actividad bacteriana, siendo uno de ellos, generalmente, el predominante. Además, existe una tercera forma de biolixiviación, llamado mecanismo

cooperativo o mixto, que se da cuando se tienen más de un tipo de bacteria actuando de manera simultánea; mientras un tipo de bacteria actúa de manera directa, el otro u otros tipos de bacteria actúan de manera indirecta [5].

La *At. ferrooxidans* y la *At. thiooxidans*, en particular, han sido probadas en varios medios y con varios minerales como pirita [6], calcopirita [7, 8] o covelita [9], esto para estudiar sus mecanismos de acción y tener una mejor comprensión de su comportamiento. Sin embargo, en la actualidad aún se tienen diversas propuestas de ¿qué es lo que sucede? y ¿cómo sucede?, ya que es difícil determinar exactamente lo que ocurre en el medio de reacción dada la cantidad de especies y de procesos que se llevan a cabo [3].

En el presente trabajo se estudió el efecto que tiene el retirar nutrientes del medio en el proceso de biolixiviación, utilizando diferentes medios y bacterias *At. ferrooxidans* y *At. thiooxidans* tanto en medio líquido como en cultivos con minerales (pirita y mineral 1410G), buscando proponer mejoras al medio para incrementar la degradación de minerales y obtención de cobre.

2. Objetivos

Objetivo general:

Estudiar la biolixiviación de pirita y de un mineral de cobre de baja ley con bacterias tipo *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*, modificando los nutrientes de los medios para conocer los efectos resultantes y proponer alternativas para mejorar la degradación de dichos minerales y por tanto, la obtención de cobre del mineral de baja ley.

Objetivos particulares:

- Determinar para cada bacteria el efecto de la composición del medio.
- Determinar qué bacteria ofrece los mejores resultados de biooxidación en condiciones similares.
- Hacer propuestas para encontrar el mejor medio para la biolixiviación de pirita y de un mineral de cobre de baja ley, buscando una mayor degradación y por tanto mayor obtención de cobre.

3. Bases teóricas

La extracción de cobre en la actualidad se hace por lixiviación con ácido sulfúrico. Con el mineral extraído de la mina se forman terreros los cuales se riegan con una disolución de ácido sulfúrico diluido, la disolución resultante se trata con solventes orgánicos para ser llevada después a electrodeposición.

Las capacidades oxidantes de las bacterias tipo *At. thiooxidans* (que oxidan azufre) y las bacterias tipo *At. ferrooxidans* (que oxidan hierro) han sido estudiadas en los procesos de extracción ya que oxidando hierro y azufre, las bacterias pueden biolixiviar un mineral sulfurado, liberando metales de interés como el Cu^{2+} . Los principales parámetros que describen estos procesos son el pH, el potencial y la población de bacterias por su relación directa con los productos que se generan.

La oxidación de azufre elemental por acción bacteriana (*At. thiooxidans*) es la siguiente:

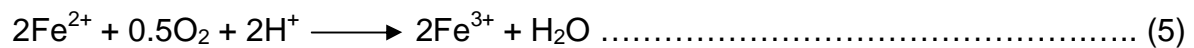


Por lo tanto, conforme avance el proceso, la cantidad de H^+ y SO_4^{2-} aumentará. De esta manera los valores de pH disminuirán, además de que al tener el par redox $\text{S}^0/\text{SO}_4^{2-}$ y estar generando SO_4^{2-} (la forma oxidada del azufre en el par) el potencial se hará más oxidante, es decir, el potencial aumentará. La población de bacterias también aumentará como resultado de su adaptación y reproducción, lo cual es típico en procesos de biolixiviación en general. Por otro lado, al aumentar tanto H^+ como SO_4^{2-} , la conductividad del sistema aumentará.

La bacteria *At. thiooxidans* se encarga de oxidar azufre elemental, transformándolo en diversas especies de azufre como el sulfito o tiosulfato, antes de terminar como ion sulfato. El proceso por el cual sucede esto aún no se ha explicado a cabalidad, sin embargo, se conocen dichos intermediarios por su identificación con métodos especializados [3].

Los electrones que la *At. thiooxidans* toma de la oxidación de azufre son llevados a la cadena respiratoria de la bacteria, otorgándole así la energía que requiere para subsistir.

Por otro lado, las *At. ferrooxidans* también son usadas en procesos de biolixiviación, éstas encargas de oxidar hierro. El proceso bacteriano general es el siguiente:



En este sistema, los valores de pH dan poca información acerca de la actividad bacteriana porque aunque se consumiendo los iones H^+ (lo cual aumentaría el valor de pH), se genera H_2O , lo cual hace que el pH se mantenga balanceado. El potencial, por otro lado, tiende a aumentar porque al tener el par redox $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ y estar oxidando Fe^{2+} a Fe^{3+} el potencial se hará más oxidante con el tiempo.

El proceso de biooxidación del hierro con *At. ferrooxidans* se lleva a cabo por medio de un citocromo, el cual toma los electrones del hierro de manera directa gracias a su localización en el exterior de la membrana. Estos electrones son transportados a la cadena respiratoria para obtener la energía necesaria para la subsistencia de la bacteria [3].

Se ha estudiado el proceso de lixiviación bacteriana en minerales como pirita o calcopirita y se ha encontrado que se realiza tanto por el mecanismo directo como por el indirecto ^[6]. El proceso directo se da por la reacción 1 (página 11), mientras que el proceso indirecto se da por las reacciones 2 y 3 (página 11). En general, se ha encontrado que ambos mecanismos coexisten ^[5].

A continuación se presenta un diagrama de pH contra potencial de pirita y sus productos de oxidación en la figura 2.

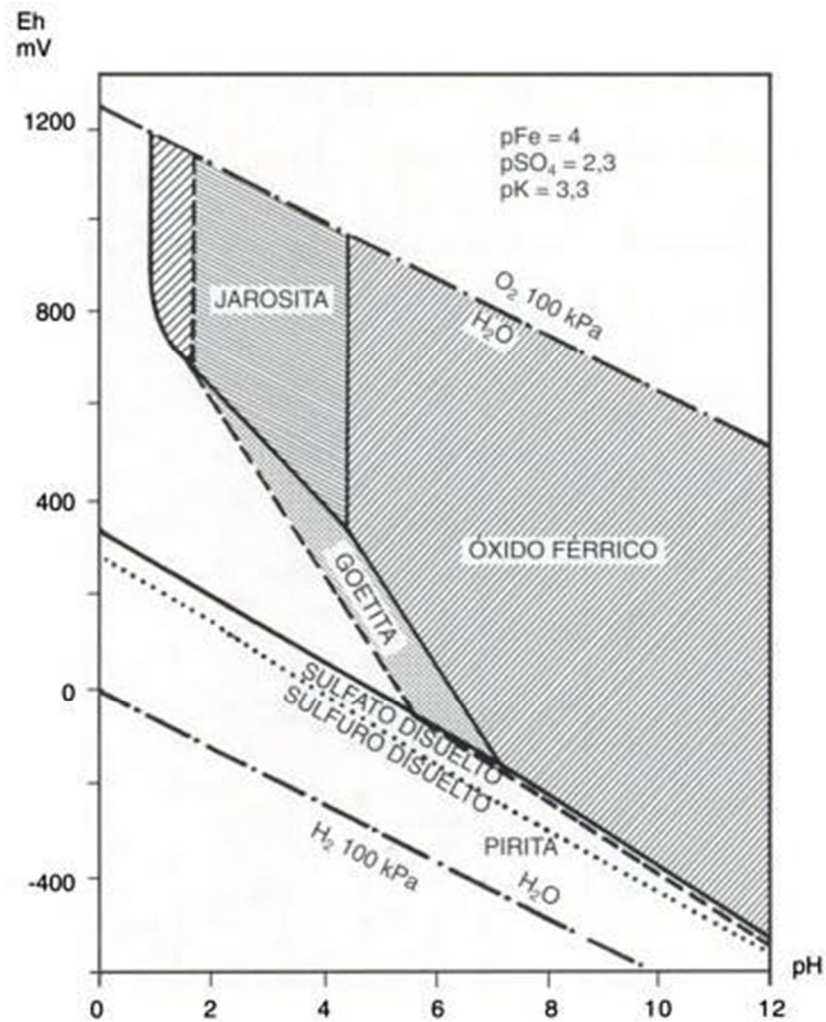


Figura 2.- Diagrama de pH contra E_h para el sistema pirita, jarosita, goetita y óxido férrico.

Dependiendo del potencial y del pH que alcance en el sistema, predominarán diversas especies de acuerdo a la figura 2.

4. Desarrollo experimental

4.1 Equipos, material y reactivos

Para cultivar las bacterias en medio acuoso, se usaron matraces Erlenmeyer de 250 mL marca Kimax, con tapones de gasa y algodón para evitar cualquier contaminación. El equipo utilizado fue:

- Incubadora marca Barnstead max-Q 4000 clase-E.
- Balanza analítica Mettler 240A.
- Balanza de precisión Sartorius BP 310P.
- Microscopio Leica DME con sistema de contraste de fases.
- Celda Neubauer para conteo celular.
- Potenciómetro Beckman I45.
- Electrodo combinados para medir pH con electrodo de referencia de Ag/AgCl.
- Electrodo combinados para medir potencial con electrodo de trabajo de platino y electrodo de referencia de Ag/AgCl.
- Electrodo de ion selectivo a cobre.
- Electrodo de referencia de calomel saturado.
- Conductímetro Tacussel CDRV62 con celda de medición TE100.
- Espectrofotómetro de UV-visible Cintra 5 GBC.

Además de material diverso para el tratamiento de las muestras, como pipetas, buretas, vasos de precipitados, matraces aforados, matraces Erlenmeyer, etc., en su mayoría marca Pyrex y Kimax.

Los reactivos usados (todos ellos grado reactivo analítico y en su mayoría marca Merck y Mallinckrodt) fueron:

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sulfato ferroso heptahidratado) (101.4 %).
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de cobre pentahidratado) (98.5 – 100.5 %).
- S (azufre elemental).
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de amonio).
- K_2HPO_4 (fosfato ácido de potasio).
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de magnesio heptahidratado).
- KCl (cloruro de potasio).
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (nitrato de calcio).
- H_2SO_4 (ácido sulfúrico).
- $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (clorhidrato de ortofenantrolina monohidratado).
- $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (citrato de sodio dihidratado).
- $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (clorhidrato de hidroxilamina).
- $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (etanol).

- Agua destilada.

Se usó pirita de 42 % de pureza y mineral de baja ley de sulfuro de cobre (0.18% Cu), traído de la unidad minera “La Caridad” ubicada en Nacozari de García, Sonora.

Se usaron, también, bacterias *At. ferrooxidans* y *At. thiooxidans* obtenidas de la disolución del bombeo 11 de la misma planta. La disolución tomada fue puesta en refrigeración hasta el momento de inocular los cultivos para los estudios preliminares.

4.2 Cultivos preliminares de adaptación

4.2.1 Cultivos en diferentes medios

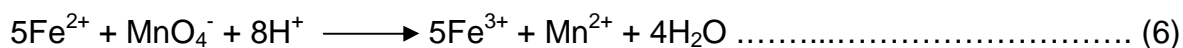
La tabla 1 presenta los medios acuosos preparados para los cultivos preliminares de adaptación.

Nutriente [g/L]	Medios			
	9k	Norris Normal	Norris Diluido	MKM
(NH ₄) ₂ SO ₄	3.0	0.4	0.2	0.4
K ₂ HPO ₄	0.5	0.2	0.1	0.04
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	0.5	0.4	0.4
KCl	0.1	0.1	0.1	-
Ca(NO ₃) ₂	0.01	-	-	-
*FeSO ₄ ·7H ₂ O	44.2	44.2	44.2	44.2
*S	10	10	10	10
pH (H ₂ SO ₄)	1.8 – 2.0	1.5	1.5	2
*Se agrega dependiendo de si es enriquecido con Fe o con S.				

Tabla 1.- Composición de medios acuosos.

Se prepararon 8 cultivos en total, 4 medios enriquecidos con azufre (9k, Norris normal, Norris diluído y MKM) y 4 enriquecidos con hierro (9k, Norris normal, Norris diluído y MKM) y se colocaron en la incubadora a una temperatura de 30 °C y a 180 rpm, inoculando en todos los casos al 1% v/v. Se realizaron monitoreos periódicos a todos los cultivos (pH, potencial, cantidad de bacterias y concentración de Fe²⁺ o conductividad según sea al caso).

Para los cultivos con hierro se procedió a titular el Fe²⁺ residual con una disolución de permanganato de potasio en medio ácido. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:



Para los cultivos con azufre elemental se procedió a medir la conductividad.

El monitoreo de bacterias se hizo por conteo directo en una celda Neubauer colocando una alícuota de la muestra y contando las bacterias por campo.

Posteriormente, se prepararon cultivos con el medio MKM modificado, obteniéndose tres medios nuevos, MKM sin sulfato de amonio, MKM sin fosfato ácido de potasio y MKM sin sulfato de magnesio heptahidratado. Para su monitoreo se procedió de manera similar.

4.3 Cultivos con pirita

4.3.1 Curva de calibración para determinación de hierro

En los cultivos con mineral de pirita y mineral de cobre de baja ley se utilizó espectrofotometría UV–visible para la determinación de hierro en esos minerales (en forma de FeS_2 y $\text{FeS}_2\text{-CuFeS}_2$). Para esto se realizó una curva de calibración, tomando de una disolución madre de 50 mg/L de Fe^{2+} , 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 y 4 mL y se colocándolos en diferentes matraces aforados de 25 mL. A cada uno se le agregó clorhidrato de hidroxilamina al 10%, citrato de sodio al 10% y o-fenantrolina al 0.1%, llevando al aforo en cada caso con agua destilada. A cada estándar se le midió la absorbancia a una longitud de onda de 480 nm y se procedió a graficar los resultados (ver apéndice I, figura 17).

Para cuantificar las muestras de biolixiviación se tomó 1 mL del cultivo.

4.3.2 Análisis de pirita

Antes de preparar los cultivos con pirita, se analizó dicho mineral para determinar la cantidad de hierro que contenía. Para esto se realizó un ataque ácido al mineral y se analizó por espectrofotometría UV-visible usando la curva de calibración obtenida anteriormente (ver apéndice I, figura 17).

4.3.3 Biolixiviación de pirita

Se prepararon 6 cultivos con mineral de pirita: dos testigos, dos sistemas con solo un tipo de bacteria y dos más con ambos tipos de bacterias (*At. ferrooxidans* y *At. thiooxidans*).

Los dos sistemas testigo se prepararon con pirita en los medios MKM y MKM sin sulfato de magnesio heptahidratado al 1% p/v sin inocular bacterias.

Los dos cultivos con un solo tipo de bacteria se prepararon, uno con *At. ferrooxidans* en medio MKM al 1% p/v de sólidos e inoculando al 10% v/v y otro con *At. thiooxidans* en medio MKM sin sulfato de magnesio heptahidratado al 1% p/v de sólidos e inoculando al 10% v/v.

Para los dos cultivos restantes se usaron los medios MKM y MKM sin sulfato de magnesio heptahidratado, inoculando con ambas bacterias en cada cultivo al 5% v/v de cada una. Se trabajó al 1% p/v de sólidos en cada cultivo. La tabla 2 resume los cultivos preparados con pirita.

Medio	Medio	Inóculo	Tipo de bacteria	Pirita
MKM	+	-	-	+
MKM sin MgSO ₄ ·7H ₂ O	+	-	-	+
MKM	+	+	Feox	+
MKM sin MgSO ₄ ·7H ₂ O	+	+	Sox	+
MKM	+	+	Feox y Sox	+
MKM sin MgSO ₄ ·7H ₂ O	+	+	Feox y Sox	+

Tabla 2.- Cultivos preparados con pirita. Feox: *A. ferrooxidans*, Sox: *A.*

thiooxidans.

4.4 Cultivos con mineral 1410G

4.4.1 Curva de calibración para determinación de cobre

Únicamente en los cultivos con mineral 1410G se procedió a cuantificar el cobre en disolución. Para esto se realizó una curva de calibración preparando una disolución estándar de cobre de 100 mg/L. De aquí se tomaron diferentes volúmenes (2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL,...) que fueron colocados en diferentes matraces aforados de 25 mL. Se llevó al aforo con agua destilada en todos los casos. Se procedió a determinar el potencial de cada disolución con un electrodo de ion selectivo a cobre (Cu^{2+}) usando un electrodo de calomel saturado como referencia. Se calculó el logaritmo de la concentración de cobre en cada caso y éstos valores se graficaron contra los valores de potencial (ver apéndice I, figura 18).

Para cuantificar las muestras de biolixiviación del mineral se tomó 1 mL del cultivo.

4.4.2 Análisis de mineral 1410G

Una muestra del mineral de cobre de baja ley se analizó por difracción de rayos X (DRX) en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación en la Facultad de Química para conocer su composición mineralógica. El análisis químico del mineral se hizo por medio de fluorescencia de rayos X en la planta “La Caridad” en Nacozari de García, Sonora.

4.4.3 Biolixiviación de mineral 1410G

Se procedió de la misma manera que con los cultivos con mineral de pirita, utilizando en este caso 5% p/v de mineral de cobre de baja ley en cada cultivo. La tabla 3 resume los cultivos preparados con mineral 1410G.

Medio	Medio	Inóculo	Tipo de bacteria	Mineral
MKM	+	-	-	+
MKM sin $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	+	-	-	+
MKM	+	+	Feox	+
MKM sin $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	+	+	Sox	+
MKM	+	+	Feox y Sox	+
MKM sin $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	+	+	Feox y Sox	+

Tabla 3.- Cultivos preparados con mineral 1410G. Feox: *A. ferrooxidans*, Sox: *A.*

thiooxidans.

El monitoreo de pH, potencial y población de bacterias se llevó a cabo de la misma forma.

En estos cultivos se procedió a cuantificar el cobre y el hierro en disolución. Para esto se tomaron muestras de 1 mL de disolución sobrenadante del cultivo y fueron analizadas por espectrofotometría UV-visible para cuantificar hierro y con potenciometría para cuantificar cobre. Para hierro se usó el mismo método que en los cultivos con mineral de pirita, mientras que para cuantificar cobre se usaron un electrodo de ion selectivo a cobre y un electrodo saturado de calomel como referencia para medir el potencial.

En todos los cultivos se realizan pases, esto es, tomar 10 mL del cultivo inicial y agregarlos a 90 mL del mismo medio, pero libre de bacterias. Estos pases se

realizan para evitar que las bacterias se queden sin nutrientes y mueran, además aseguran que la adaptación bacteriana continúe. Los pases se realizan cuando las bacterias estén, de preferencia, en crecimiento exponencial para propiciar que continúen creciendo de manera óptima en el nuevo medio al que serán llevadas,.

El conteo bacteriano, en todos los casos, se reportó como bacterias por campo, aunque algunos autores suelen reportarlo como bacterias por mililitro. Ese dato se puede obtener considerando el volumen contenido en la celda de conteo (0.0025 mm² de área por 0.1 mm de profundidad).

Todos los datos de potencial reportados tienen como referencia un electrodo de Ag/AgCl a excepción del potencial medido para cuantificar cobre en el mineral 1410G, en dicho caso se tiene como referencia un electrodo de calomel saturado.

5. Resultados y discusión

5.1 Estudios de adaptación preliminares

5.1.1 Cultivos en diferentes medios enriquecidos con azufre

Los resultados del pase cero se presentan en la figura 3.

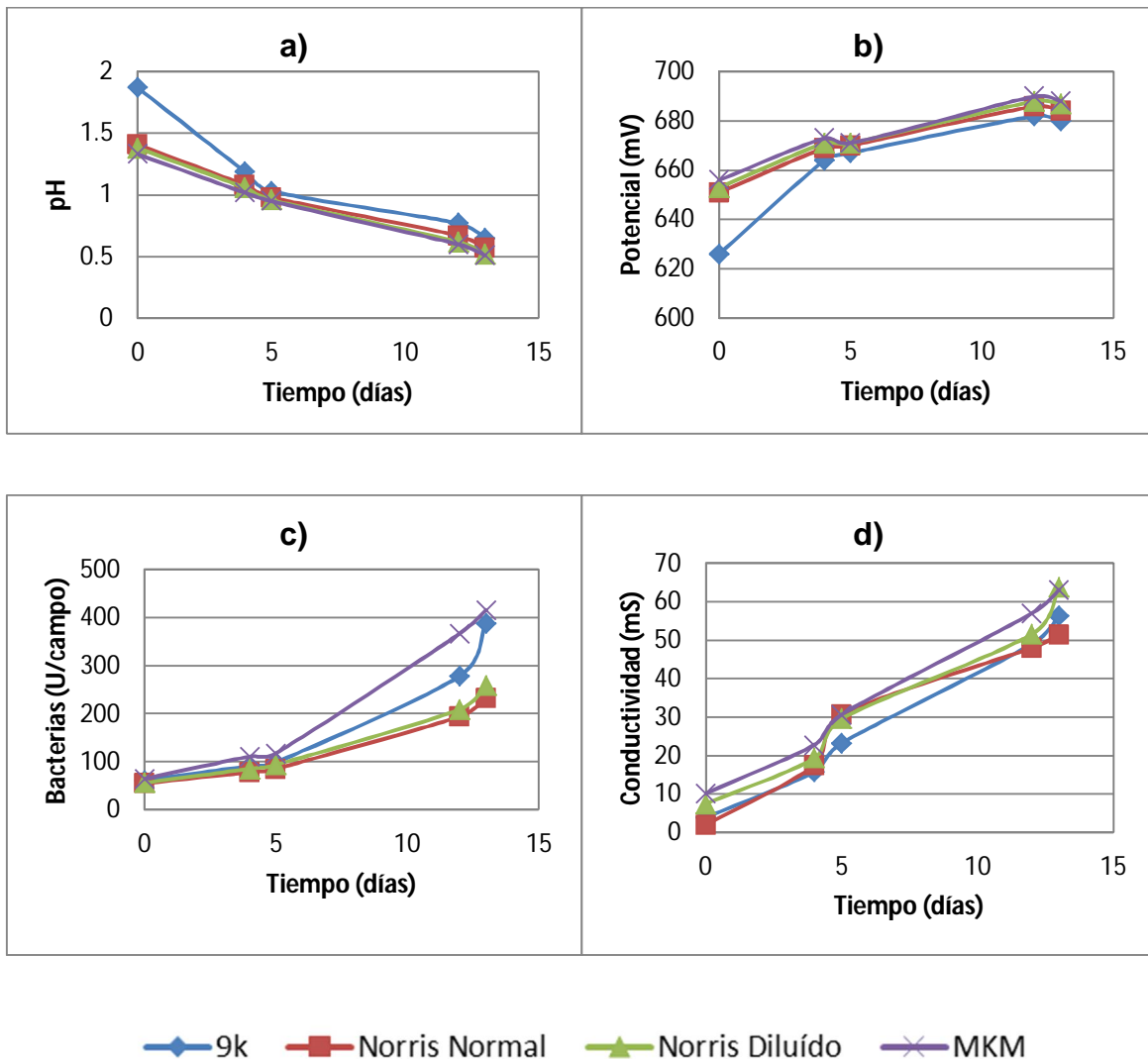


Figura 3.- Parámetros para cultivos en diferentes medios enriquecidos con azufre en pase cero. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) conductividad.

El pase cero (figura 3) no revela gran información acerca de las diferencias entre los medios 9k, Norris normal, Norris diluído y MKM en cuanto a la adaptación bacteriana se refiere, ya que los valores y las tendencias de los parámetros medidos (pH, potencial, cantidad de bacterias y conductividad) son muy similares. Esto es coherente, pensando que las bacterias proceden directamente de la disolución del bombeo 11 y recién se están adaptando al nuevo medio al que han sido transferidas, además de que como han sido mantenidas en refrigeración, su metabolismo se ha hecho lento.

Los resultados del pase uno se muestran en la figura 4.

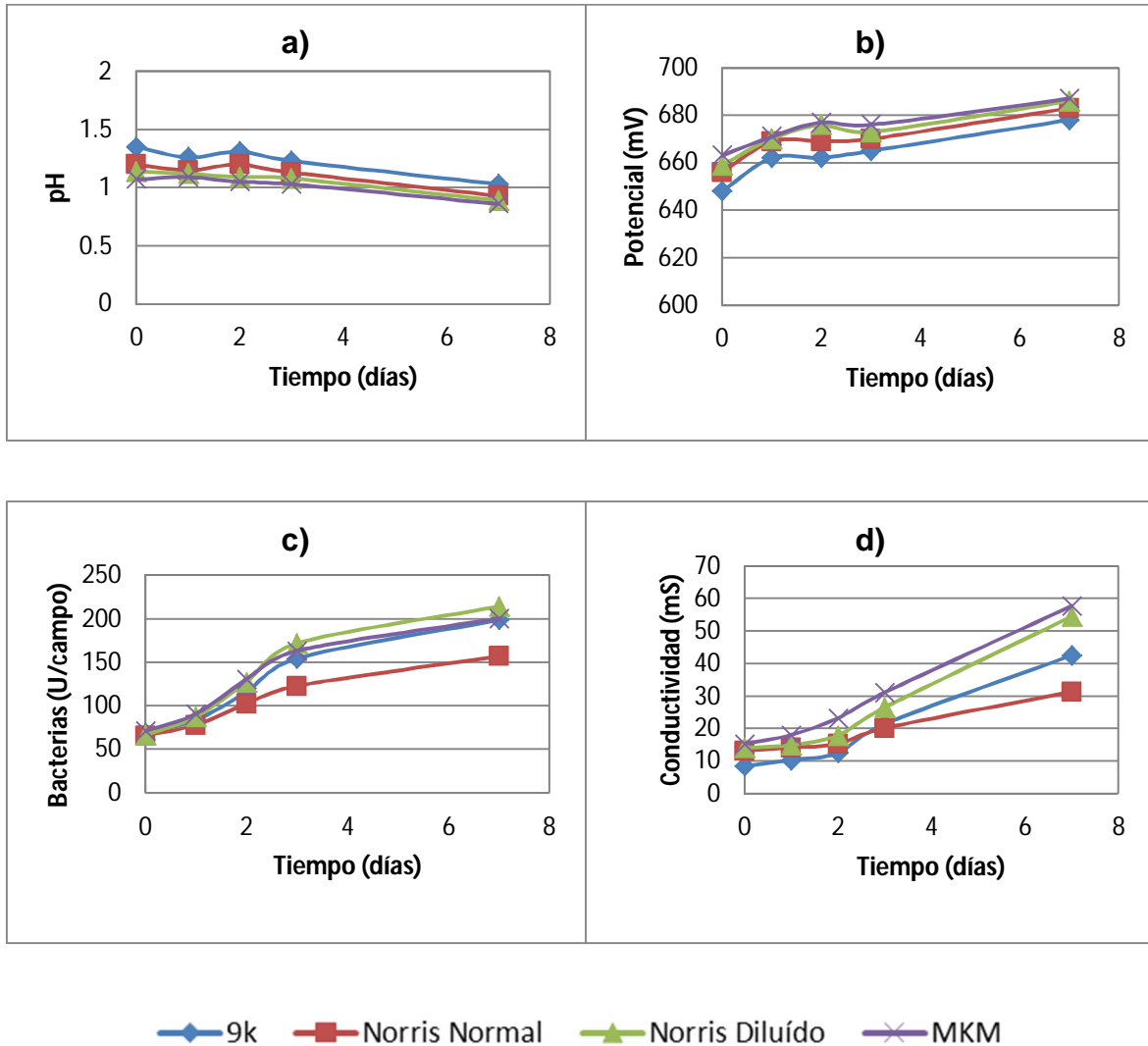


Figura 4.- Parámetros para cultivos en diferentes medios enriquecidos con azufre en pase uno. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) conductividad.

El pH da información acerca de la actividad bacteriana, ya que entre más avance el proceso, más H^+ será generado (ver bases teóricas, página 13) y entre más H^+ haya en la disolución el pH tomará valores más bajos. El medio MKM y el medio

Norris diluido muestran tener el menor pH de entre los demás medios (gráfica “a” de la figura 4) lo cual indica que el fenómeno bacteriano es más activo en dichos medios (MKM y Norris diluido), sin embargo, es el medio MKM el que sobresale por tener un valor más alto de conductividad que el medio Norris diluido (gráfico “d” de la figura 4). La conductividad se puede tomar como referencia del avance del proceso; entre mayor sea la transformación de azufre elemental en SO_4^{2-} , la conductividad será mayor porque se está pasando de una especie que no contribuye a la conductividad y que incluso no se encuentra en disolución a un ion que si se encuentra en disolución y que por lo tanto, si contribuye al valor de la conductividad.

La población de bacterias es muy similar para los medios 9k, Norris diluido y MKM (gráfico “c”, figura 4), pero por la disminución del pH y el aumento en la conductividad se decide que el medio MKM es en el que se tiene la mejor adaptación bacteriana. En el caso de la conductividad se observa que no solo el valor es más alto en este medio, sino que los valores, a lo largo del tiempo, se mantienen siempre por encima de los otros cultivos.

Este comportamiento puede ser explicado por los iones presentes en este medio (MKM). Dichos iones son los que contribuyen, principalmente, a la formación de proteínas, aminoácidos y otros compuestos de gran importancia al interior de la bacteria [3]: SO_4^{2-} para la formación de cisteína y compuestos sulfurados, NH_4^+ para la formación de glutamina y PO_4^{3-} para la formación de ATP (trifosfato de adenosina), por lo que es coherente que los medios que los contienen sean buenos para la subsistencia de las bacterias. Además, al parecer la cantidad de

nutrientes en el medio MKM se adapta mejor a la actividad bacteriana, ya que aunque los otros medios también los contienen (9k, Norris normal y Norris diluído), los resultados anteriores (figura 4) muestran que se ha generado una cantidad mayor de H^+ y SO_4^{2-} en dicho medio (MKM).

Dado que el medio MKM es en el que se tienen los valores más altos de conductividad y los valores más bajos de pH, se hicieron modificaciones a ese medio eliminando uno a uno los componentes del mismo para observar el comportamiento bacteriano. Los resultados para dichos medios se presentan a continuación.

5.1.2 Cultivos con medios MKM modificados enriquecidos con azufre

La figura 5 muestra los parámetros medidos para los medios modificados del medio MKM, enriquecidos con azufre en pase cero.

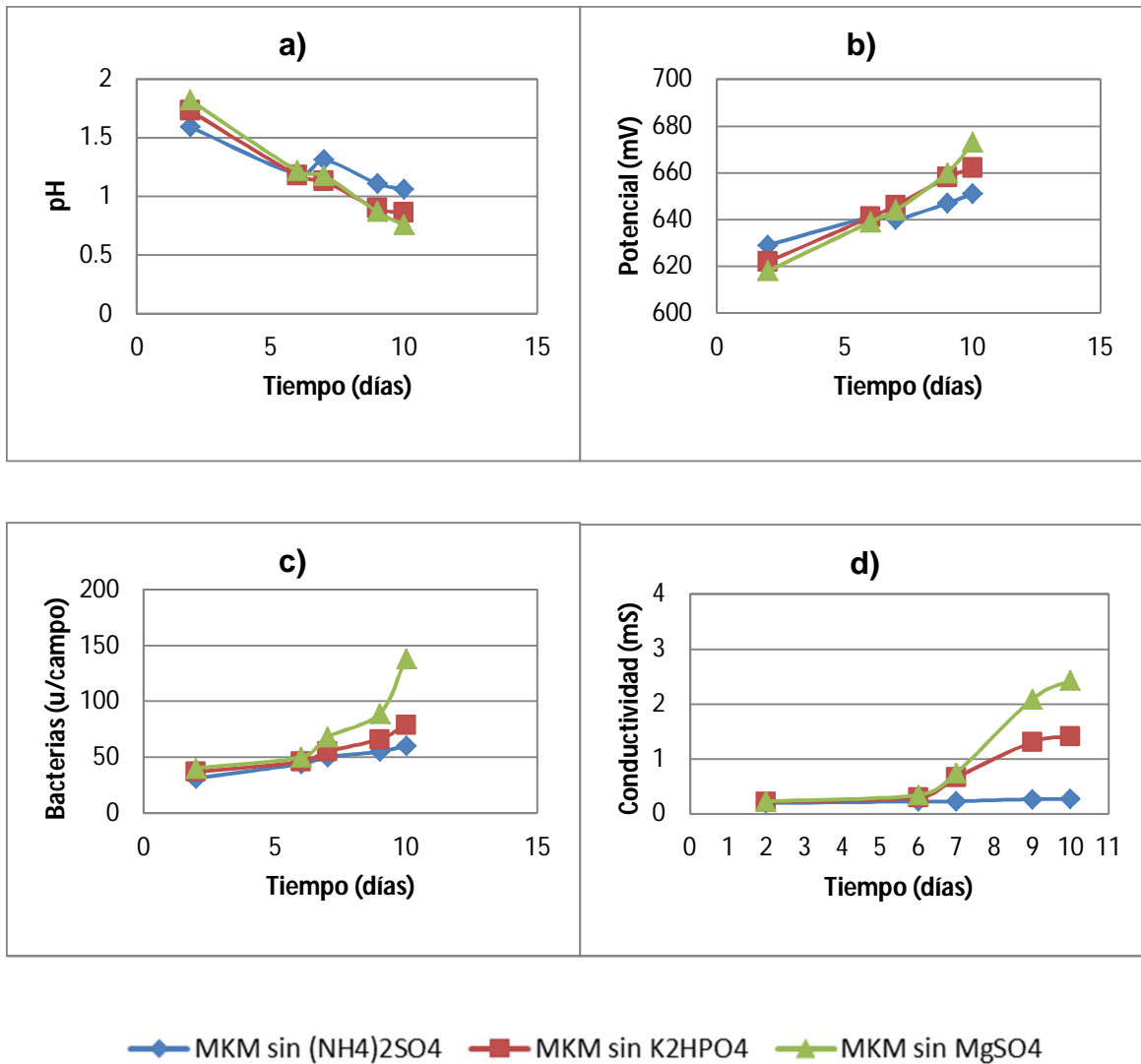
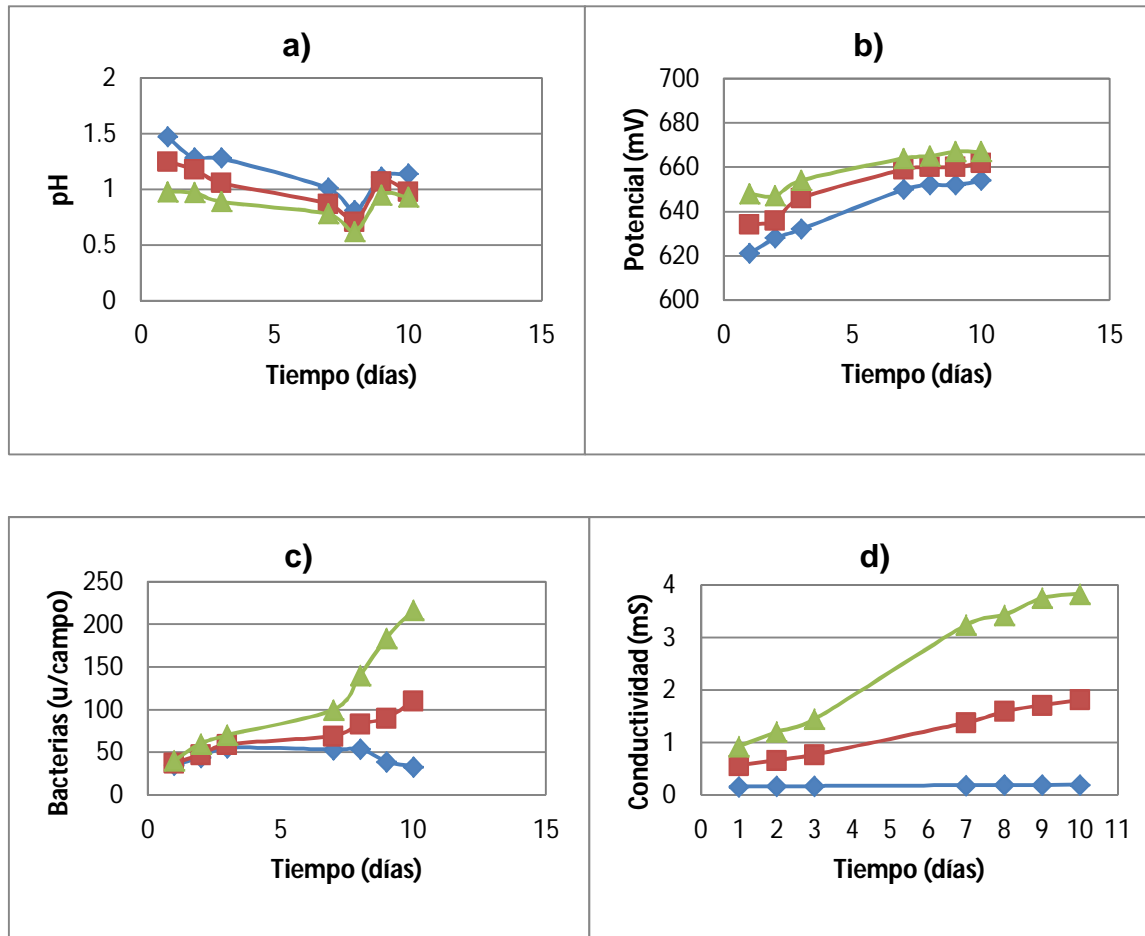


Figura 5.- Parámetros para cultivos en medios MKM modificados enriquecidos con azufre en pase cero. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) conductividad.

A partir de aquí los valores medidos de la conductividad se vuelven menores (grafico "d" de la figura 5) debido a que se trabajó con una dilución obtenida de una muestra de los cultivos, en lugar de medir la conductividad directamente de los mismos.

Desde el día 6 del pase cero las tendencias en los gráficos se empiezan a hacer evidentes (figura 5). Usando el pH y la conductividad como indicadores de la actividad bacteriana, se observa una notable actividad en el medio MKM que carece de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, mientras que para el medio MKM sin $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ el proceso prácticamente no avanza.

En el pase dos de la adaptación bacteriana, presentado en la figura 6 a continuación se observa de manera mucho más clara este fenómeno.



—◆— MKM sin (NH₄)₂SO₄ —■— MKM sin K₂HPO₄ —▲— MKM sin MgSO₄

Figura 6.- Parámetros para cultivos en medios MKM modificados enriquecidos con azufre en pase dos. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) conductividad.

La actividad bacteriana en el medio MKM sin MgSO₄·7H₂O aumentó con respecto a los otros medios MKM modificados trabajados, mientras que para el medio MKM sin (NH₄)₂SO₄ el proceso se detiene completamente.

Dado que las bacterias *At. thiooxidans*, en el proceso de transformación de azufre, necesitan iones SO_4^{2-} para subsistir y también los liberan como parte de la oxidación de azufre elemental, es de esperarse que al retirar dicho ion de los medios, la actividad bacteriana se vea afectada, lo cual se observa en la figura 6.

Las bacterias obtienen SO_4^{2-} del $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y del $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para transformarlo en cisteína, un aminoácido fundamental para la reproducción bacteriana [3]. La carencia del ion SO_4^{2-} en el medio hace que las bacterias trabajen con mayor eficacia porque el ion SO_4^{2-} es generado y liberado al medio por las bacterias en el proceso de transformación de azufre elemental, por lo que a falta de él en el medio, las bacterias se ven obligadas a generarlo con más rapidez para satisfacer sus necesidades de SO_4^{2-} .

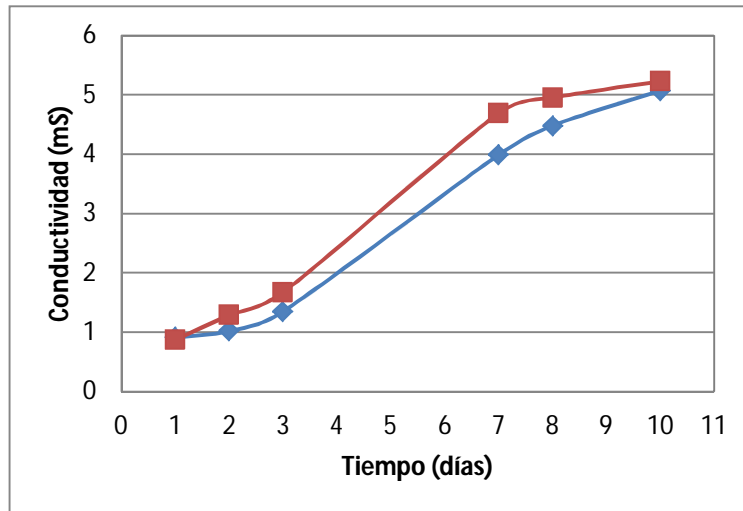
En el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ se observa una mejoría en el proceso debido a esto y a que la falta del ion Mg^{2+} también tiene un impacto. Se ha estudiado la toxicidad del Mg^{2+} en bacterias de este tipo y se ha encontrado que a mayor cantidad, el proceso de biolixiviación suele decaer. A pesar de que las concentraciones consideradas tóxicas (de 15.5 g/L a 20.5 g/L) [12] son mayores que las concentraciones utilizadas (menos de 1 g/L), la falta de ion Mg^{2+} ayudó a la mejoría del proceso en general.

Por el contrario, para el medio MKM sin $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ la actividad se ve suprimida totalmente porque no solo el ion SO_4^{2-} falta en el medio, sino que también el ion amonio (NH_4^+) no está presente. El NH_4^+ es fundamental para las bacterias, ya que sin él las bacterias no se pueden reproducir, como se observa en los

resultados (gráfico “c” de la figura 6), porque su metabolización termina en la formación de glutamina, otro aminoácido fundamental para la reproducción bacteriana. A pesar de que las bacterias son capaces de asimilar nitrógeno atmosférico (en menores cantidades), éste no es procesado con la misma eficacia con que se procesa el ion NH_4^+ [3] por lo que su carencia en el medio tiene un gran impacto en el proceso general.

Para el medio MKM sin K_2HPO_4 , la actividad se redujo de manera considerable y esto se debe a que las bacterias pueden obtener, de este nutriente (K_2HPO_4), el ion PO_4^{3-} , el cual es importante para la formación de ATP [3]. A pesar de esto, se observa (figura 6) que la actividad no se suprimió definitivamente como en el caso del medio MKM sin $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

En la figura 7, a continuación, se hace la comparación de la conductividad para el medio MKM y el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en pases avanzados.



—◆— MKM (pase 4) —■— MKM Sin MgSO4.7H2O (pase 1)

Figura 7.- Comparación de la conductividad para los medios MKM y MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ enriquecidos con azufre, en pases avanzados.

En este gráfico (figura 7) se observa que los comportamientos son similares, sólo que las conductividades para el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ son mayores lo cual se debe a lo explicado con anterioridad; al no haber SO_4^{2-} en el medio, las bacterias trabajan con mayor eficacia generando más SO_4^{2-} y también más H^+ , iones que aumentan de manera importante la conductividad. De este gráfico se decide que el medio al que mejor se adaptan las bacterias *At. thiooxidans* es el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

5.1.3 Cultivos en diferentes medios enriquecidos con hierro

Se hicieron estudios con los 4 medios diferentes (9k, Norris normal, Norris diluído y MKM) enriqueciendo los medios con hierro ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y agregando bacterias provenientes de la disolución tomada del bombeo 11 puesta en refrigeración. Los resultados del pase cero de estos cultivos se presentan en la figura 8.

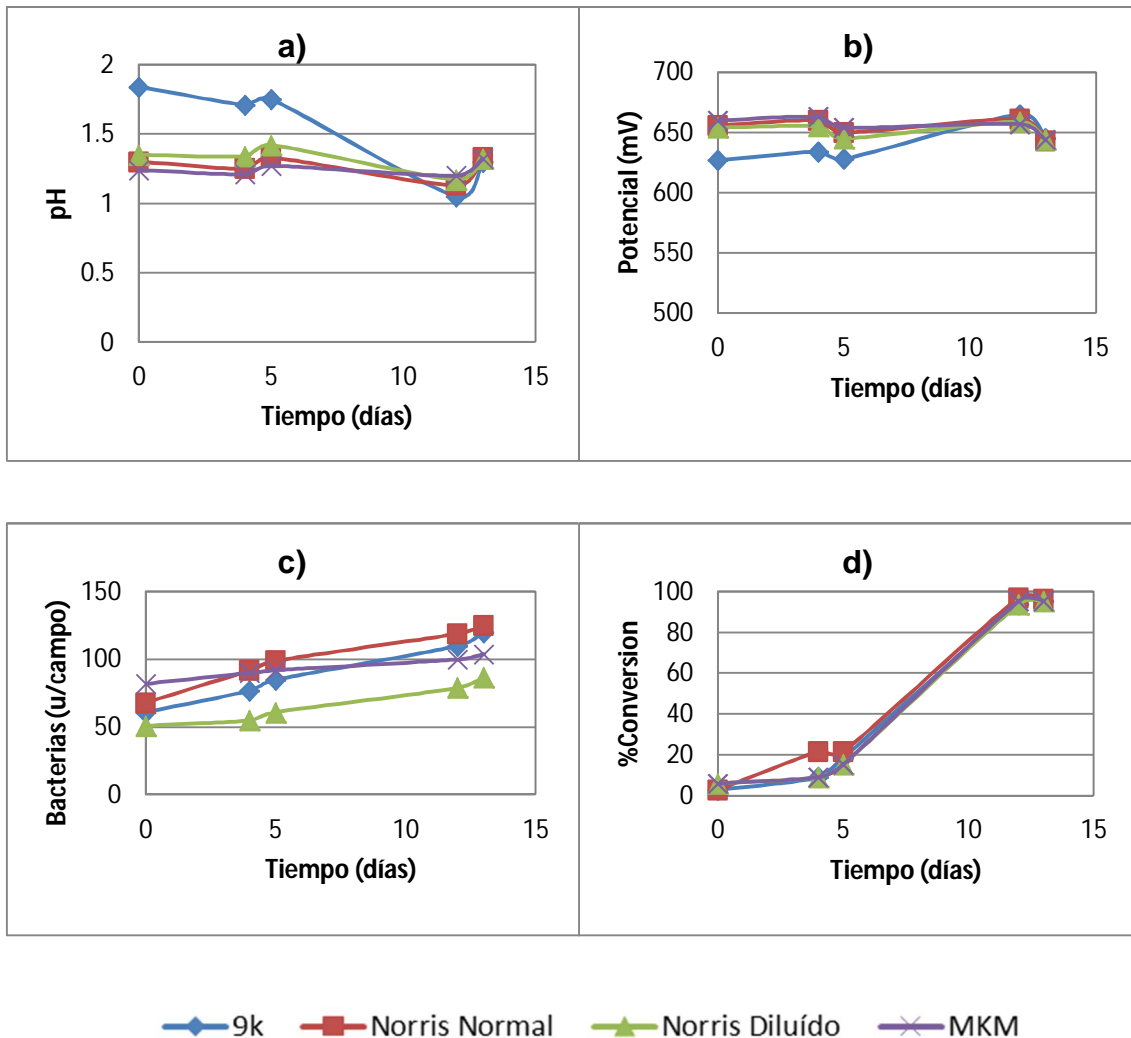


Figura 8.- Parámetros para cultivos en diferentes medios enriquecidos con hierro en pase cero. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) porcentaje de conversión de Fe^{2+} a Fe^{3+} .

La conversión de Fe^{2+} es muy similar en todos los casos (gráfico “d” de la figura 8) pero se observa que en la cantidad de bacterias (gráfico “c” de la figura 8), los medios 9k y Norris normal alcanzan un mayor número que en los otros medios.

Estas similitudes se deben a que las bacterias recién se están adaptando a los medios a los que han sido transferidas, además de que como la disolución que se obtuvo del bombeo 11 fue puesta en refrigeración, el metabolismo bacteriano se hizo lento. A pesar de esto, el gráfico “c” de la figura 8 muestra pequeñas diferencias en la cantidad de bacterias que se tienen en los cultivos, lo cual indica que la adaptación bacteriana se está llevando a cabo.

Estas diferencias se hacen más notorias en los resultados del pase uno presentados en la figura 9.

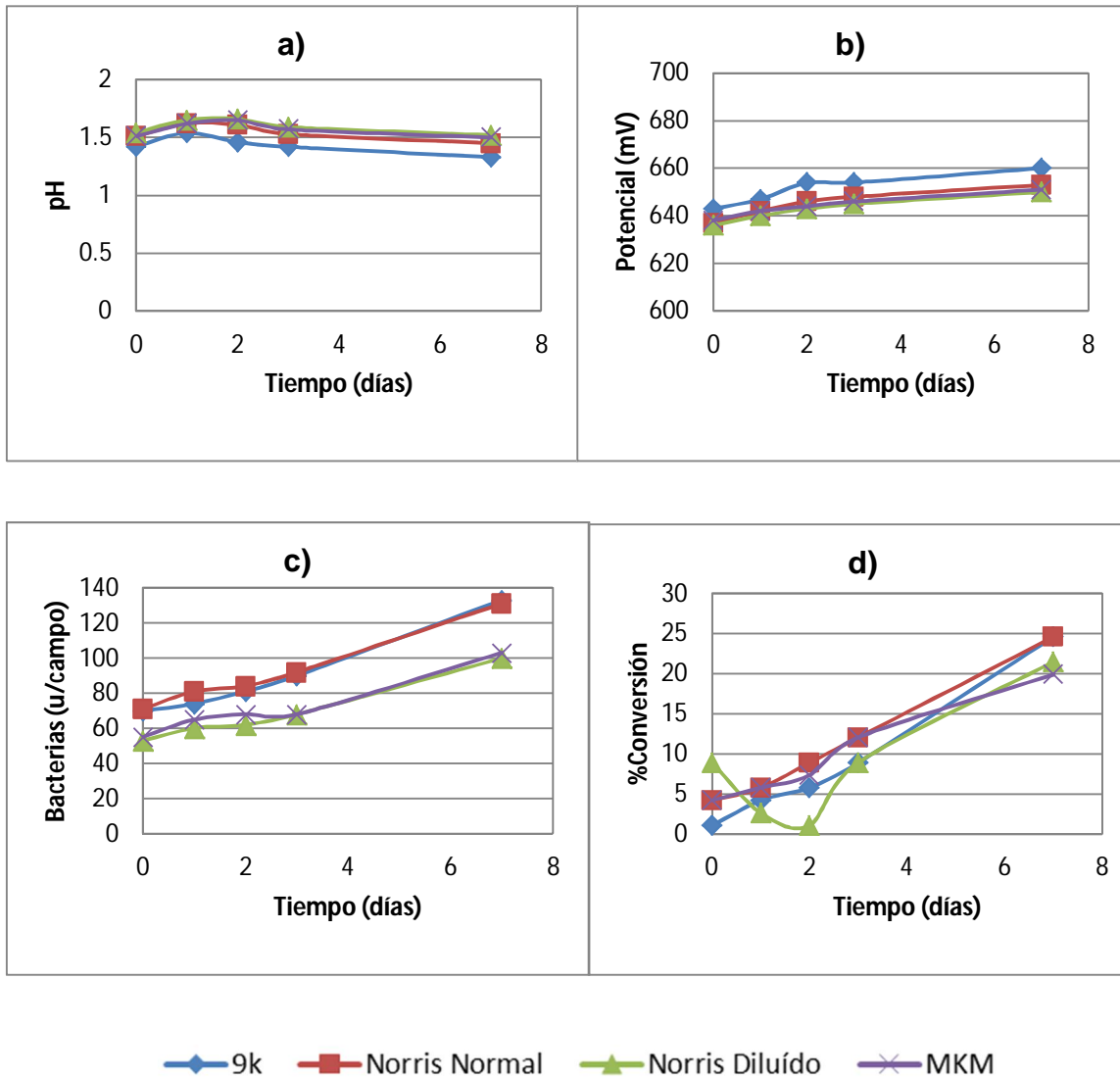


Figura 9.- Parámetros para cultivos en diferentes medios enriquecidos con hierro en pase uno. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) porcentaje de conversión de Fe^{2+} a Fe^{3+} .

En estos resultados (figura 9), la cantidad de bacterias, el potencial y el porcentaje de conversión para los medios 9k y Norris normal tienen los valores más altos.

En estos medios (9k y Norris normal) se tiene la mayor cantidad de nutrientes y el que presenten una mayor actividad bacteriana responde a la necesidad de las *At. ferrooxidans* por dichos nutrientes. Al haber casi 4 g de Fe^{2+} en disolución por cada 100 mL de medio, las bacterias requieren mayor cantidad de nutrientes para transformar todo ese hierro, además de que al encontrarse el Fe^{2+} en disolución, está más disponible para ser transformado.

Aunque los medios 9k y Norris normal tuvieron los valores de cantidad de bacterias más altos (gráfico “c” de la figura 9), se trabajó con el medio MKM para hacer comparaciones directas con las *At. thiooxidans*.

5.1.4 Cultivos con medios MKM modificados enriquecidos con hierro

Los resultados de los cultivos para medios MKM modificados enriquecidos con hierro en pase cero se presentan a continuación en la figura 10.

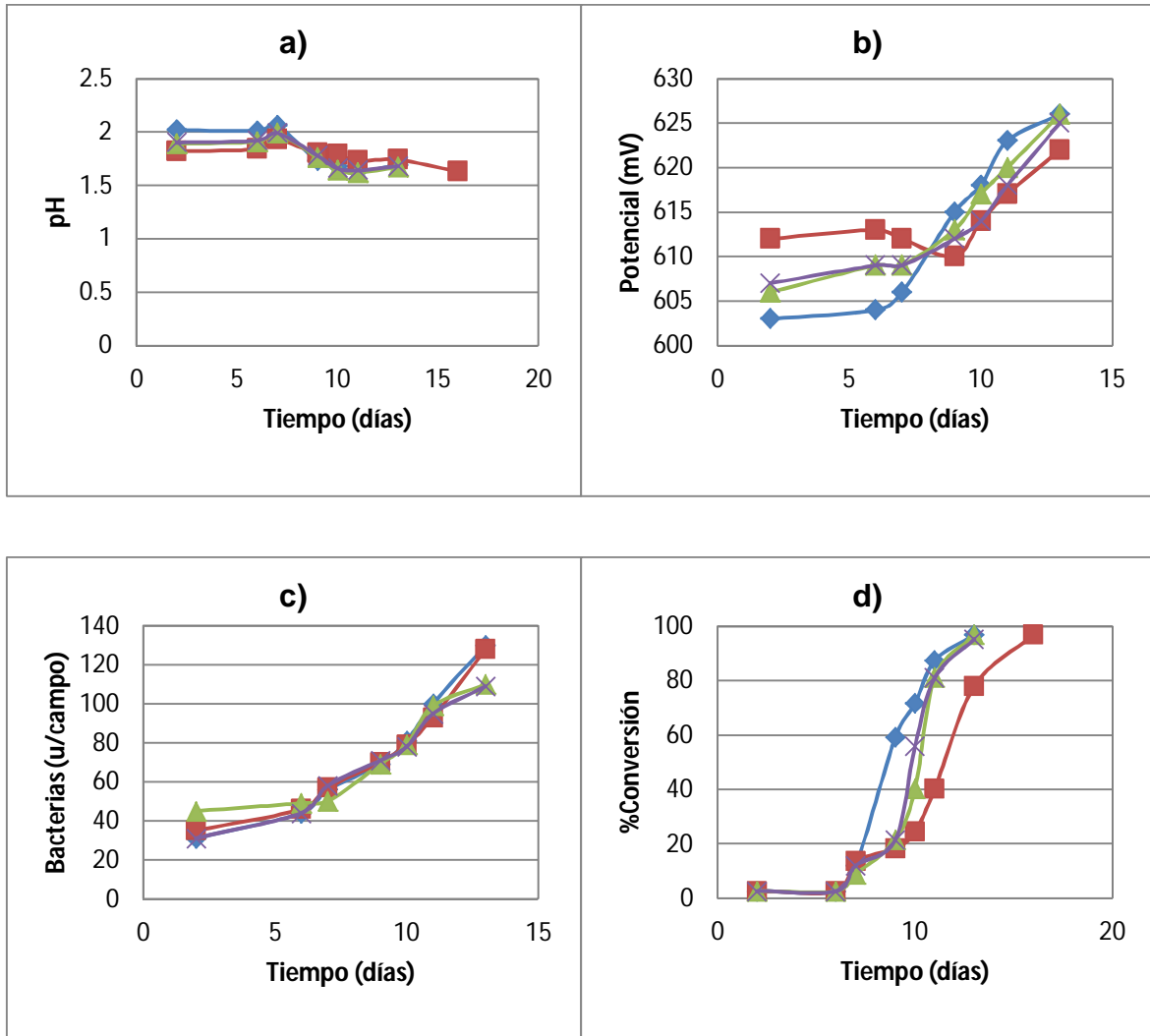


Figura 10.- Parámetros para cultivos en medios MKM modificados enriquecidos con hierro en pase cero. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) porcentaje de conversión de Fe²⁺ a Fe³⁺.

Como en todos los demás casos, el pase cero muestra valores y tendencias muy similares en todos los parámetros medidos (figura 10), sin embargo, se observa que toma más tiempo transformar el Fe^{2+} en el cultivo con el medio MKM sin $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (gráfico “d” de la figura 10), además de que se obtiene el menor valor de potencial a los 13 días en dicho medio (gráfico “b” de la figura 10).

Los resultados del pase dos se presentan en la figura 11.

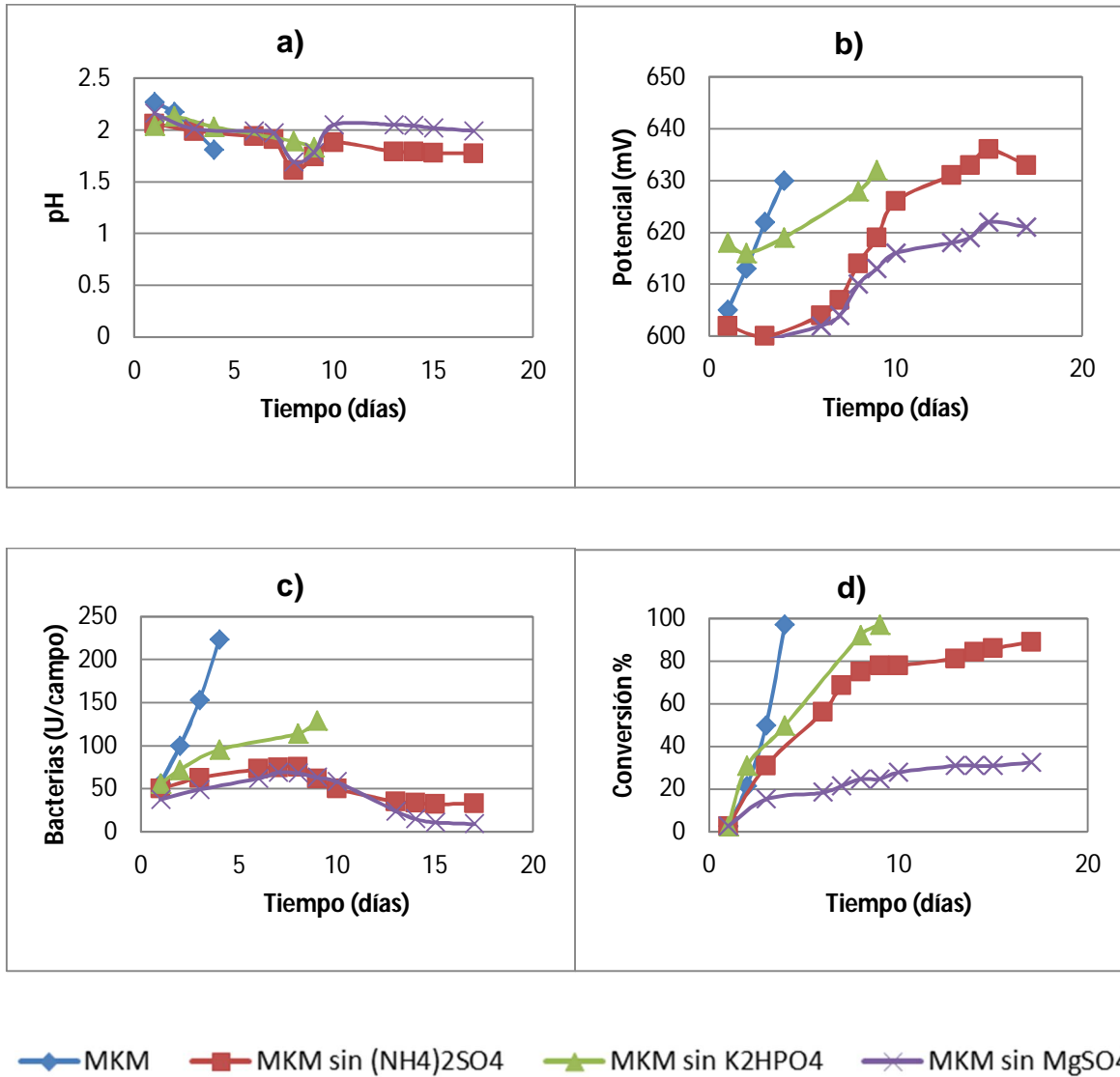


Figura 11.- Parámetros para cultivos en medios MKM modificados enriquecidos con hierro en pase dos. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) porcentaje de conversión de Fe²⁺ a Fe³⁺.

En el pase dos (figura 11) se observa que los valores de cantidad de bacterias por campo son mayores en el medio MKM que en los demás medios (MKM sin

(NH_4) $_2$ SO_4 , MKM sin K_2HPO_4 , y MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) lo cual indica que las bacterias se adaptaron mejor al medio MKM.

Los valores de potencial y de porcentaje de conversión (gráficos “b” y “d” respectivamente de la figura 11) reflejan la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} al paso del tiempo. En el medio MKM se obtuvieron valores altos en estos rubros al cuarto día, mientras que para los medios MKM sin (NH_4) $_2$ SO_4 y MKM sin K_2HPO_4 tomó más tiempo obtener valores similares. Esto se puede explicar pensando en que el medio MKM tiene todos los nutrientes. La *At. ferrooxidans* no genera iones como subproductos de su actividad, además del Fe^{3+} , es por eso que requiere que los iones necesarios para subsistir ya se encuentren presentes en el medio.

En todos los medios que carecen de algún nutriente se observa que el crecimiento bacteriano se ve reducido (gráfico “c” de la figura 11), sin embargo, la conversión de Fe^{2+} , en algunos de estos medios llega casi al 100%, lo cual pone de manifiesto que aunque haya carencia de algunos nutrientes fundamentales se pueden tener conversiones altas de Fe^{2+} a Fe^{3+} a periodos de tiempo más largos, aunque a periodos mucho más largos de tiempo y debido a dicha carencia de nutrientes, las bacterias inevitablemente morirán. Es por esto que la *At. ferrooxidans* es más frágil a los cambios en los nutrientes del medio que la *At. thiooxidans*. De estos resultados (figura 11) se deduce que las bacterias *At. ferrooxidans* se adaptan mejor al medio MKM completo.

5.2 Cultivos con minerales

5.2.1 Biolixiviación de pirita

Los resultados del análisis de hierro en la pirita, antes de la biolixiviación, se muestran en la tabla 4 (la curva de calibración se presenta en el apéndice I).

Absorbancia		%Fe en mineral		%Fe promedio
1	2	1	2	
0.4849	0.4785	42.3	41.8	42.05 ± 0.25

Tabla 4.- Resultados del análisis del mineral de pirita.

De esta manera se puede decir que el mineral de pirita usado contiene un 42.05 % de hierro.

En los cultivos con pirita, como en los cultivos con mineral 1410G, se usaron sistemas testigo para poner de manifiesto la actividad bacteriana.

En estos cultivos, con las *At. thiooxidans* se dará con mayor preferencia el mecanismo directo ya que, al ser la pirita la única fuente de azufre, es lógico pensar que las *At. thiooxidans* actuarán de manera directa sobre el azufre de la pirita para transformarlo. Con las *At. ferrooxidans* se darán ambos mecanismos (directo e indirecto); transformarán el hierro contenido en la pirita adhiriéndose de manera directa y también oxidarán el Fe^{2+} que se haya liberado a la disolución a Fe^{3+} , el cual posteriormente atacará al mineral ^[5, 6].

Dado que el pase inicial no da mucha información acerca de las diferencias entre los medios, solo se presentarán los pases en donde las diferencias sean notorias para los cultivos con minerales.

Los resultados del pase uno para los cultivos con pirita se presentan en la figura 12.

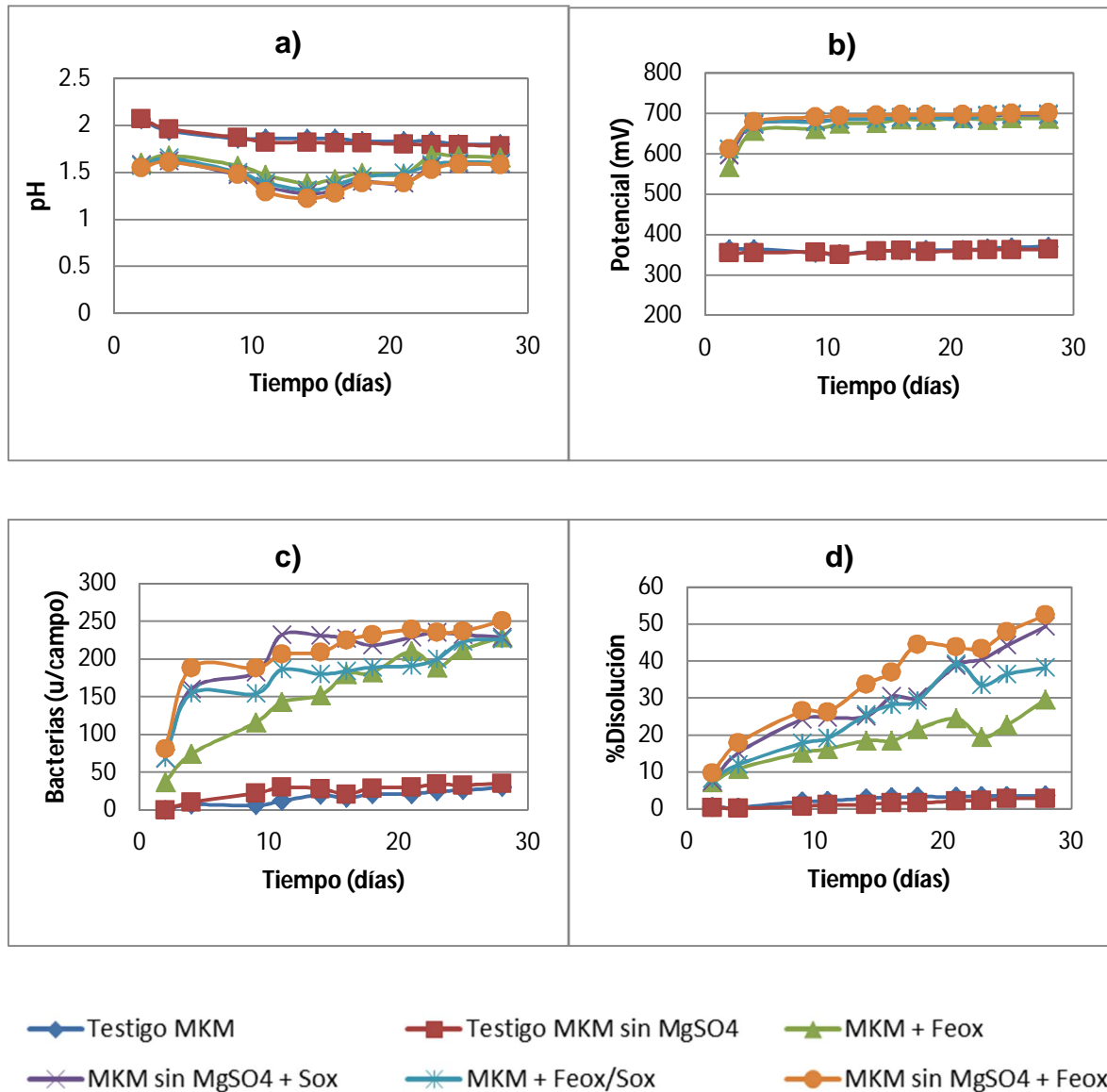


Figura 12.- Parámetros para cultivos con mineral de pirita en pase uno. (a) pH, (b) potencial, (c) cantidad de bacterias por campo y (d) porcentaje de disolución de hierro. Donde “Feox” indica bacterias *At. ferrooxidans*, “Sox” indica bacterias *At. thiooxidans* y “Feox/Sox” indica ambos tipos de bacterias.

Como no hay hierro en los medios iniciales (MKM y MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), todo el hierro cuantificado en disolución proviene de la pirita, es decir, entre más hierro haya en disolución significa que la pirita ha liberado más hierro. De esta manera se deduce que cuanto mayor sea la cantidad de hierro en disolución, la degradación del mineral de pirita será mayor.

Los valores obtenidos de pH y de potencial (gráficos “a” y “b” de la figura 12) son similares para todos los cultivos con bacterias (MKM y MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). A pesar de esto, se observa que los valores de cantidad de bacterias y de porcentaje de disolución (gráficos “c” y “d” respectivamente de la figura 12) son diferentes y muestran tendencias diferentes a lo largo del tiempo.

En los resultados de cantidad de bacterias (gráfico “c” de la figura 12) se observa que, a pesar de que pasados 30 días las bacterias alcanzan una población similar, en el medio MKM con *At. ferrooxidans* las bacterias tardan más en proliferar, es decir, los demás medios obtienen su número máximo de bacterias aproximadamente al día 10, manteniéndose relativamente constantes a partir de ahí, mientras que en el medio MKM con *At. ferrooxidans* las bacterias no alcanzan dicho valor hasta el día 20 aproximadamente. Esto nos dice que en el medio MKM sólo con *At. ferrooxidans* no se logra una buena adaptación con respecto a los demás medios con pirita. Esto se confirma observando los resultados de porcentaje de disolución (gráfico “d” de la figura 12).

En el gráfico “d” de la figura 12 se muestra que el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con ambos tipos de bacterias es en el que se obtiene mayor cantidad de hierro en

disolución pasados 30 días, mientras que el medio MKM sólo con *At. ferrooxidans* es en el que se obtiene la menor cantidad.

Como hay carencia de iones SO_4^{2-} en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, las bacterias *At. thiooxidans* se ven obligadas a transformar el azufre en la pirita con mayor rapidez para satisfacer sus necesidades, sin embargo, las bacterias *At. ferrooxidans* también requieren SO_4^{2-} para subsistir, por lo que la carga de trabajo sobre las primeras se incrementa al existir esta competencia por el ion, incrementando también la rapidez con la que las *At. thiooxidans* degradan la pirita. El ion Mg^{2+} se encuentra ausente en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ lo cual también ayudó a la adaptación bacteriana. A todo esto se le añade que las *At. ferrooxidans* están actuando a la par oxidando Fe^{2+} a Fe^{3+} , y éste a su vez atacando químicamente a la pirita, lo cual incrementa la degradación que sufre el mineral liberando más hierro al medio. Es por estas razones que la degradación total de la pirita se ve ampliamente favorecida en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con la mezcla de bacterias con respecto a los otros cultivos.

Es interesante ver, en los resultados de porcentaje de disolución (gráfico “d” de la figura 12), que los dos cultivos con los valores más altos son aquellos con el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Al parecer la falta de iones SO_4^{2-} y Mg^{2+} es un factor que incrementa la degradación de manera considerable, incluso llegando a valores más altos de hierro en disolución que el cultivo con ambos tipos de bacteria en medio MKM completo.

De esta manera se puede decir que el mejor medio para la degradación de mineral de pirita es el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con ambos tipos de bacteria o únicamente con la *At. thiooxidans*.

5.2.2 Biolixiviación de mineral 1410G

El resultado de difracción de rayos X de la muestra de mineral 1410G, antes de la biolixiviación, se presenta en la figura 13.

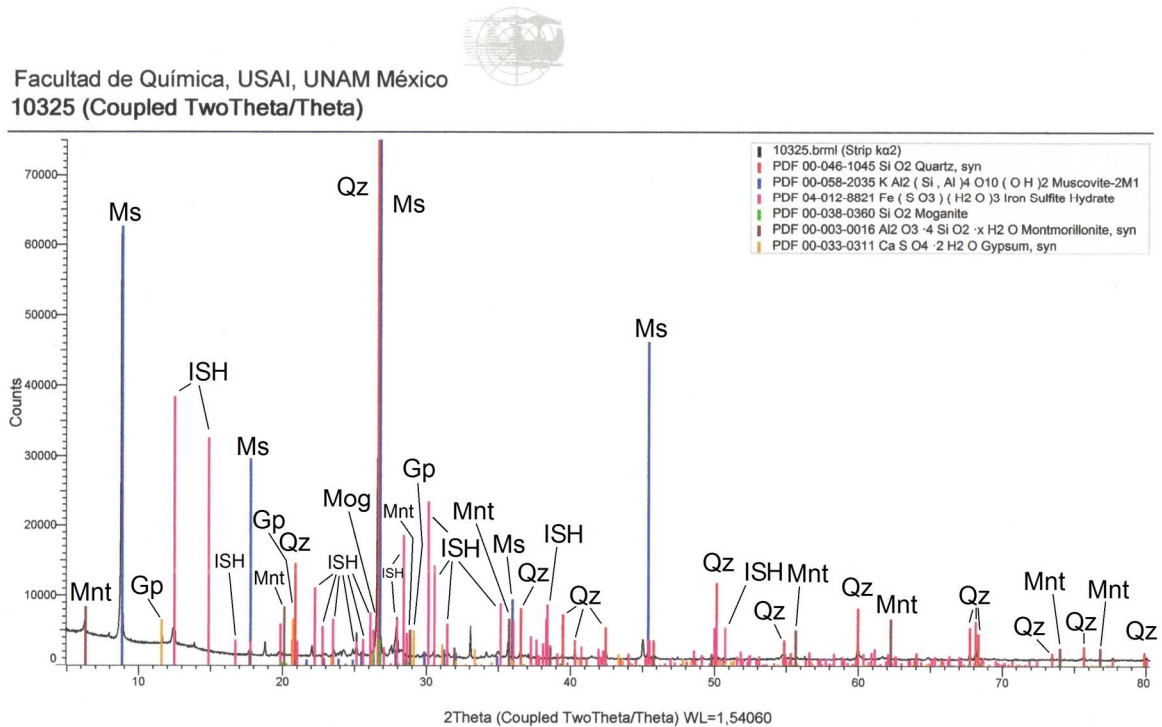


Figura 13.- Difractograma del mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; ISH: Sulfito de hierro trihidratado; Mog: Moganita; Mnt: Montmorillonita; Gp: yeso.

Las especies presentes son: Cuarzo (SiO_2), Moscovita ($\text{KAl}_2(\text{SiAl})_4 \text{O}_{10}(\text{OH})_2$), Sulfito de hierro trihidratado ($\text{FeSO}_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_3$), Moganita (SiO_2), Montmorillonita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) y Yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Se observa que los resultados de difracción de rayos X (figura 13) muestran los minerales contenidos en la muestra 1410G, sin embargo, no muestran especies con cobre. Esto se debe a que la cantidad de cobre presente en el mineral es muy baja, por lo que, para conocer el porcentaje de cobre contenido en el mineral, se tomaron los resultados de un análisis que se hizo en la planta “La Caridad”, de donde proviene el mineral 1410G. Los resultados corresponden a la técnica de fluorescencia de rayos X y se presentan en la tabla 5.

Mineral de baja ley de cobre 1410G										
Mayores (%)	SiO₂	TiO₂	Al₂O₃	Fe₂O₃	MnO	MgO	CaO	Na₂O	K₂O	P₂O₅
	66.41	0.69	17.55	7.08	0.24	2.47	0.51	0.90	3.58	0.20
Menores (mg/kg)	Rb	Sr	Ba	Y	Zr	Nb	V	Cr	Co	Ni
	337	164	605	54	205	7	111	59	23	19
	Cu	Zn	Th	Pb						
	1809	316	23	43						

Tabla 5.- Resultados del análisis de fluorescencia de rayos x del mineral 1410G

De estos resultados se toma el valor de 1809 mg/L de cobre, lo cual implica un 0.18% de cobre en el mineral. 0.18% corresponde a un mineral de baja ley.

Los resultados de pH, potencial y cantidad de bacterias se presentan en la figura

14.

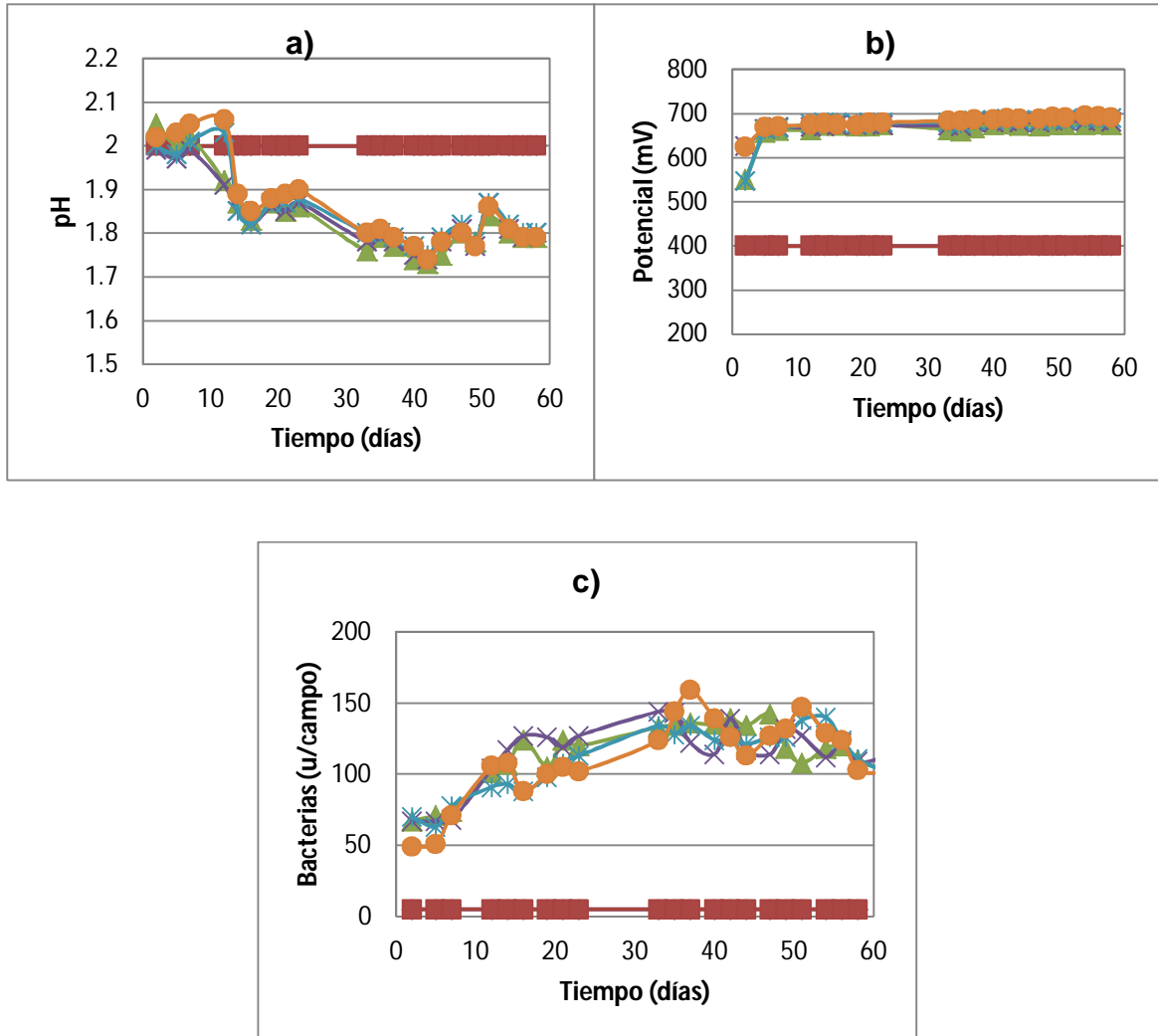
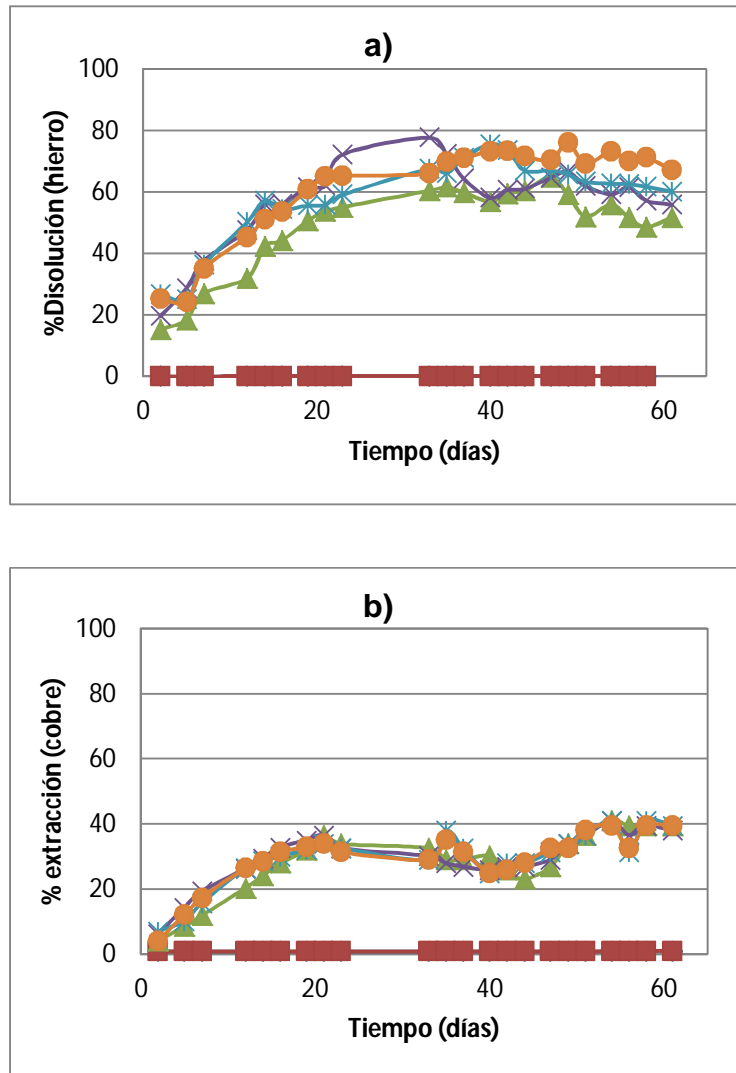


Figura 14.- Parámetros para cultivos con mineral 1410G de la panta “La Caridad” como sustrato. (a) pH, (b) potencial y (c) cantidad de bacterias por campo. Donde “Feox” indica bacterias *At. ferrooxidans*, “Sox” indica bacterias *At. thiooxidans* y “Feox/Sox” indica la ambos tipos de bacteria.

En estos minerales el conteo de bacterias se dificultó mucho por las características del cultivo. Al observar por el microscopio a las bacterias para su conteo, también se podía observar una gran cantidad de sólido (mineral). Esto dificultó el conteo lo que, como se observa en el gráfico “c” de la figura 14, provocó tener resultados muy variantes.

Como se puede ver en la figura 14, los valores de pH, potencial y cantidad de bacterias son muy similares para todos los medios con bacterias y se observan las tendencias esperadas. Es decir, la disminución del pH por la formación de H^+ , el aumento del potencial por la generación de Fe^{3+} que, por cierto, se incrementa los primeros días y después se mantiene alrededor de 700 mV (comportamiento típico en la lixiviación de minerales de baja ley ^[13]) y el aumento gradual de la población de bacterias.

Los resultados de porcentaje de extracción de cobre y de porcentaje de disolución de hierro se presentan en la figura 15.



◆ Testigo MKM ■ Testigo MKM sin MgSO4 ▲ MKM + Feox
 ✕ MKM sin MgSO4 + Sox ✱ MKM + Feox/Sox ● MKM sin MgSO4 + Feox/Sox

Figura 15.- Porcentajes de extracción para cultivos con mineral 1410G de la planta “La Caridad” como sustrato. (a) Porcentaje de disolución de hierro y (b) porcentaje de extracción de cobre. Donde “Feox” indica bacterias *At. ferrooxidans*, “Sox” indica bacterias *At. thiooxidans* y “Feox/Sox” indica ambos tipos de bacterias.

En este caso, el porcentaje de extracción de cobre y de hierro son parámetros de gran importancia (figura 15) porque al haber mayor degradación de mineral, tanto el hierro como el cobre pasarán a la disolución. Además de que al ser liberado el Fe^{2+} a la disolución, será oxidado microbiológicamente a Fe^{3+} . El Fe^{3+} continuará una degradación química del mineral, lo cual lo hace un ion importante para favorecer el proceso de lixiviación.

Los porcentajes de extracción y disolución (figura 15) son los que dan la pauta para decir en qué medio de cultivo se logró una mejor adaptación bacteriana para el proceso de biolixiviación.

En el gráfico “b” de la figura 15 se observa que la extracción de cobre es similar en todos los casos aunque presenta ciertas irregularidades. En la primera tendencia de dicho gráfico se observa un aumento en la cantidad de cobre en disolución, sin embargo, después se ve una disminución de la cantidad de cobre hasta el día 45, la cual posteriormente aumenta. En el gráfico “a” de la figura 15 se encuentra otra irregularidad similar: para el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con *At. thiooxidans* se observa una disminución en la cantidad de hierro en disolución alrededor del día 35. Al analizar esto junto con otra irregularidad en el gráfico “a” de la figura 14, en donde el pH aumenta cerca del final, se observa que dichas irregularidades se dan alrededor del día 40 (del día 30 al 45 aproximadamente). Si se observan las condiciones de los medios en estos días se descubre que, dichas condiciones (pH de 1,7 y potencial de 700 mV) marcan, en un diagrama de fases con las especies pertinentes, que la jarosita es predominante (Ver bases teóricas, figura 2).

Además, se ha observado en otros estudios que las condiciones para la formación de jarosita son similares ^[14, 15].

Los resultados de difracción de rayos X del residuo sólido del cultivo en medio MKM con *At. ferrooxidans* se presenta en la figura 16.

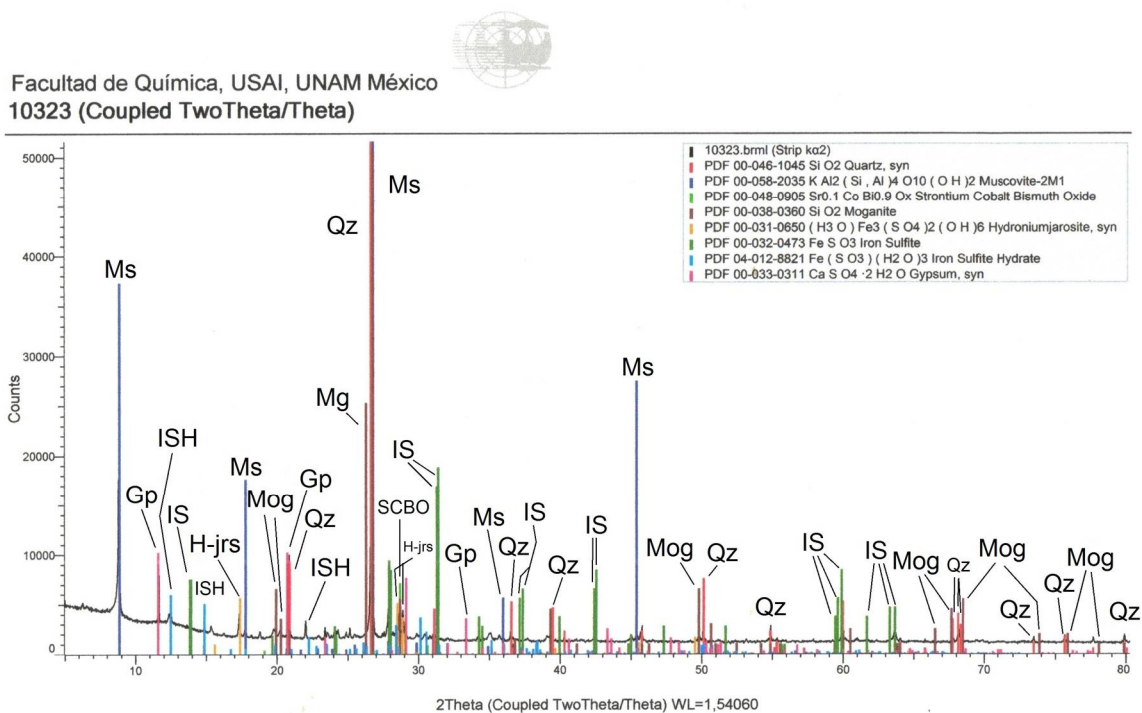


Figura 16.- Difractograma del residuo sólido en el medio MKM con bacterias *At. ferrooxidans* y mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; SCBO: Óxido de estroncio, cobalto y bismuto; Mog: Moganita; H-jrs: Jarosita de hidronio; IS: Sulfito de hierro; ISH: Sulfito de hierro trihidratado; Gp: yeso.

El difractograma de rayos x del residuo sólido en el medio MKM con bacterias *At. ferrooxidans* (figura 16) confirma la presencia de jarosita. Los difractogramas de

rayos X de los residuos sólidos en los todos cultivos, confirman la presencia de jarosita de hidronio $((H_3O)Fe_3^{3+}(SO_4)_2(OH)_6)$ en los cultivos con bacterias. Además, en los cultivos testigo en donde no se inoculó ningún tipo de bacteria, también está presente la jarosita, sin embargo, en forma de jarosita de potasio $(KFe_3^{3+}(SO_4)_2(OH)_6)$ (ver apéndice II).

Es precisamente la precipitación de jarosita de hidronio lo que causa todas las irregularidades observadas. Al experimentarse dicha precipitación, una parte del hierro pasó de estar en disolución a estar en el precipitado de jarosita $((H_3O)^+Fe_3^{3+}(SO_4)_2(OH)_6)$, lo cual explica la disminución en la cantidad de hierro en disolución (gráfico “a” de la figura 15). Recordemos que para hacer el análisis de extracción se cuantifica el hierro en disolución, por lo tanto, al disminuir la cantidad de hierro en disolución, el valor en el porcentaje de disolución disminuyó. En el gráfico de porcentaje de extracción de cobre, la pérdida de cobre se da, posiblemente, por coprecipitación. Es decir, algo del cobre que se encontraba en disolución quedó atrapado en el precipitado de jarosita haciendo que las mediciones en la extracción de cobre disminuyeran. La precipitación de jarosita ha sido estudiada como método para la eliminación de elementos tóxicos (como el plomo o el arsénico) en los residuos ácidos de mina por medio de coprecipitación [14], encontrando que incluso elementos como el cobre, el zinc o el cobalto son coprecipitados en menor medida. Ahora, la cantidad de jarosita precipitada es alta en comparación con la cantidad de cobre en disolución, lo bastante como para ser detectada por difracción de rayos X (ver apéndice II), es por eso que aunque la

coprecipitación haya sido poca, causó una disminución en el valor del porcentaje de cobre extraído (gráfico “b” de la figura 15).

Al parecer la precipitación de jarosita no es un resultado del proceso de biolixiviación, ya que también se encontró presente en los cultivos testigo (ver apéndice II). Esto indica que probablemente sean las condiciones de pH, potencial y nutrientes contenidos en los medios, así como las especies que contiene el mineral, las que favorecen la formación de jarosita.

A pesar de esta situación, se puede observar en el gráfico “a” de la figura 15 que nuevamente, como en el caso con mineral de pirita, el cultivo con el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con ambos tipos de bacteria es el que mejor adapta a las bacterias después de 60 días transcurridos, mostrando el mayor valor de disolución de hierro. Sin embargo en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ solamente con *At. thiooxidans* se observa que se alcanza dicho valor de disolución mucho antes que en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con ambos tipos de bacteria, pero dada la precipitación de jarosita, parte de ese hierro se precipitó, causando una disminución en el valor del porcentaje de disolución.

Como en el caso con mineral de pirita, otra vez el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ es el que muestra mejores resultados con la *At. thiooxidans* o con ambos tipos de bacterias. Esto sugiere de manera importante que la falta de iones SO_4^{2-} y Mg^{2+} en el medio (provenientes del $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) es una forma muy eficaz de incrementar los rendimientos en procesos de biolixiviación, particularmente para cuando se usa la *At. thiooxidans*. La razón se explicó con anterioridad; la falta de iones SO_4^{2-} en

el medio provoca que las *At. thiooxidans* actúen con más rapidez en la oxidación de azufre y la falta de Mg^{2+} ayuda al proceso porque al ser un ion tóxico para las bacterias, la carencia de éste mejora la adaptación de las bacterias al medio.

6.- Conclusiones

- La *At. thiooxidans* resultó ser la bacteria más resistente a los cambios en el medio en comparación con la *At. ferrooxidans* porque la *At. ferrooxidans* requiere todos los nutrientes para su reproducción desde el principio.
- La *At. ferrooxidans* requiere que todos los iones fundamentales para su reproducción estén ya presentes en el medio para obtener un rendimiento óptimo.
- Cuando se tiene un cultivo con *At. thiooxidans*, la falta de iones SO_4^{2-} y Mg^{2+} incrementa de manera importante el rendimiento del proceso de biolixiviación.
- La conductividad mostró ser un método aceptable para la descripción del proceso de biolixiviación en el caso de la *At. thiooxidans* en medios enriquecidos con azufre elemental.
- El medio que propició la mejor adaptación bacteriana para la biolixiviación de mineral de pirita y mineral 1410G es el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ya sea solo con *At. thiooxidans* o con ambas bacterias.
- La *At. ferrooxidans*, en condiciones apropiadas, muestra ser más rápida en el proceso de oxidación de hierro que la *At. thiooxidans* oxidando azufre.
- Usar ambos tipos de bacterias en la biolixiviación de mineral de pirita y mineral 1410G mostró aumentar el rendimiento del proceso en general.
- La precipitación de jarosita mostró ser un problema en el proceso de biolixiviación del mineral porque puede pasivar al mineral y hacer que las mediciones de iones en disolución se vean afectadas.

- La formación de jarosita está relacionada con los medios y con el mineral más que con el proceso de biolixiviación.

Apéndice I

Curvas de calibración

Curva de calibración para determinación de hierro

Para la cuantificación de hierro en disolución en los cultivos con minerales (mineral de pirita y mineral 1410G) se realizó la curva de calibración que se muestra en la figura 17.

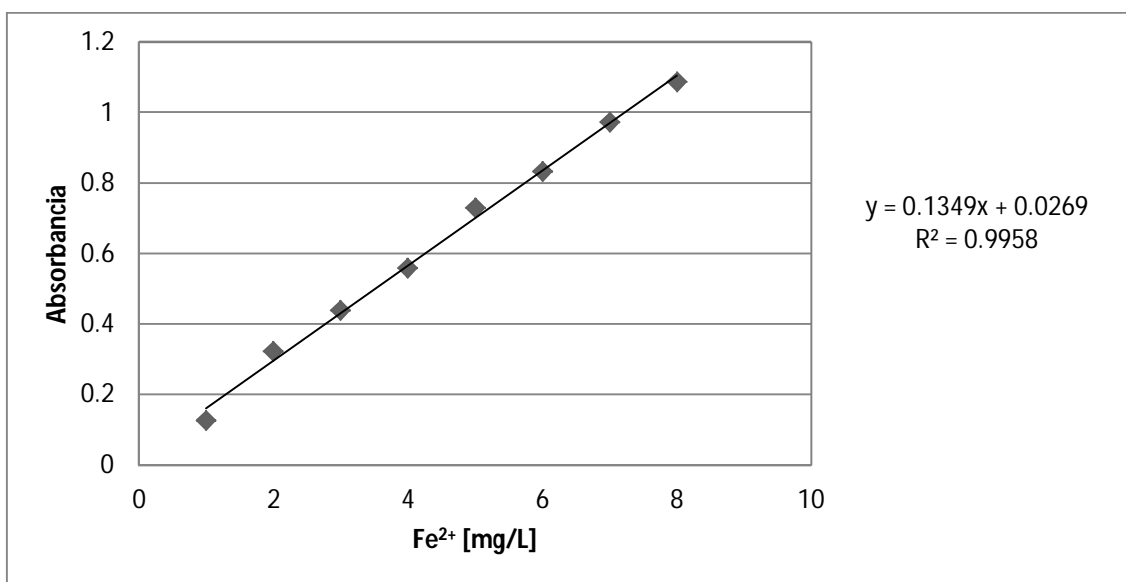


Figura 17.- Curva de calibración para Fe²⁺.

Se considera buena por el factor de correlación al cuadrado obtenido, aunque se puede mejorar en gran medida eliminando los puntos para las concentraciones de hierro 1 mg/L y 5 mg/L. Si se hace esto se obtiene un factor de correlación al cuadrado de 0.999, a pesar de esto, se trabajó con la curva de calibración completa para tener el mayor número de puntos.

El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) se calculan con las siguientes ecuaciones respectivamente ^[24]:

$$LOD = y_b + 3s_b \dots\dots\dots (1)$$

$$LOQ = y_b + 10s_b \dots\dots\dots (2)$$

En donde y_b es la señal del blanco y s_b es la desviación estándar del blanco. Sin embargo, James Miller y Jane Miller proponen las siguientes aproximaciones a las ecuaciones previas (ecuación 1 y ecuación 2) ^[24]:

$$LOD = b + 3s_{y/x} \dots\dots\dots (3)$$

$$LOQ = b + 10s_{y/x} \dots\dots\dots (4)$$

En donde b es la ordenada al origen de la curva de calibración y $s_{y/x}$ el estadístico que estima los errores aleatorios en la dirección y:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \dots\dots\dots (5)$$

Para la curva de calibración previa (figura 17) el límite de detección es de 0.52 mg/L y el límite de cuantificación es de 1.72 mg/L (ecuaciones 3 y 4).

Curva de calibración para determinación de cobre

Para la cuantificación de cobre en disolución (cultivos con mineral 1410G), se realizó la curva de calibración que se presenta en la figura 18.

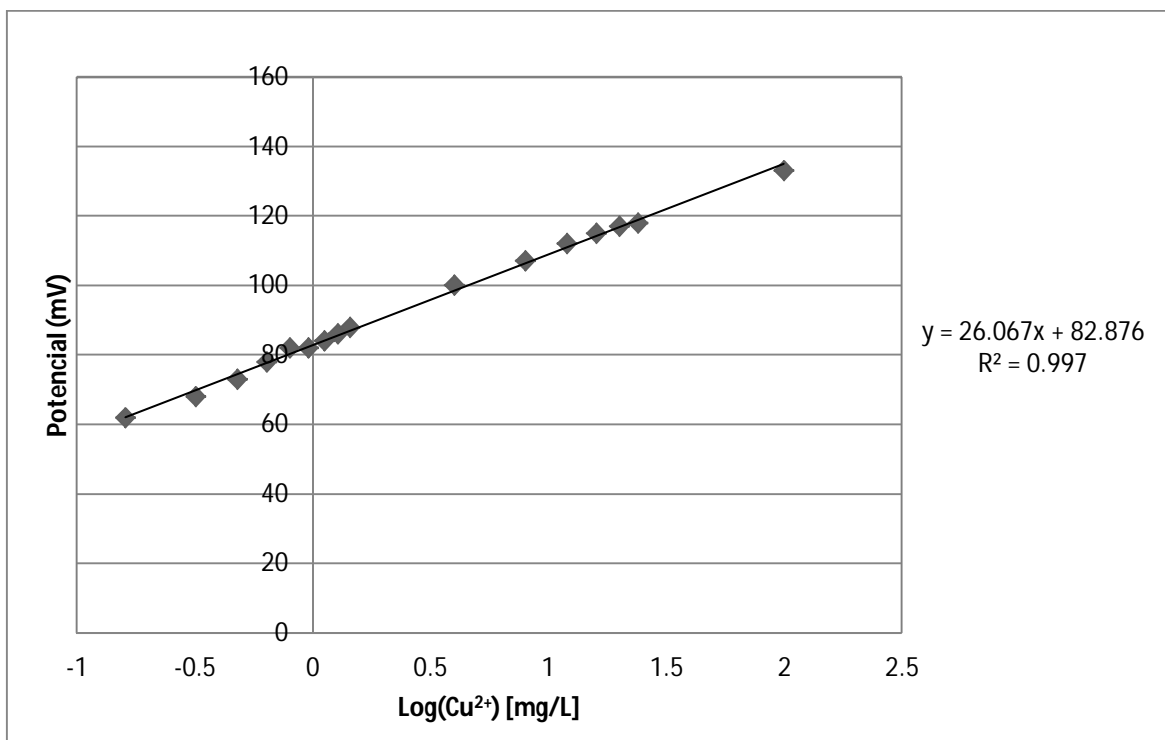


Figura 18.- Curva de calibración para cobre.

El valor del coeficiente de correlación lineal al cuadrado es cercano a uno, lo cual indica que es aceptable. A pesar de poder ser mejorada eliminando ciertos puntos que se salen de la tendencia como el segundo y el tercero (de izquierda a derecha), se decidió trabajar con la curva completa para tener la mayor cantidad de puntos. Para esta curva de calibración se midieron varios blancos, los resultados se presentan en la tabla 6:

Blanco	Potencial
1	33
2	34
3	33

Tabla 6.- Valores de potencial para los blancos medidos.

El límite de detección es de 0.160 mg/L y el límite de cuantificación es de 0.187 mg/L (ecuaciones 1 y 2).

Apéndice II

Difractogramas de rayos X de los residuos de biolixiviación en los cultivos con mineral 1410G

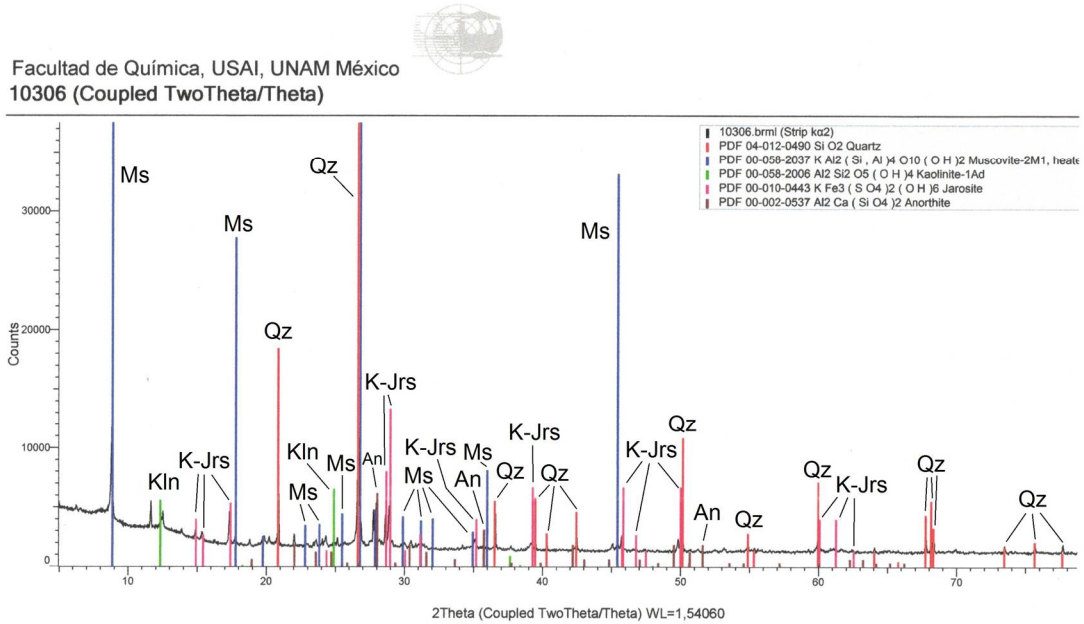


Figura 19.- Difractograma del residuo sólido del cultivo testigo en medio MKM con mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; Kln: Caolinita; K-Jrs: Jarosita de potasio; An: Anortita.

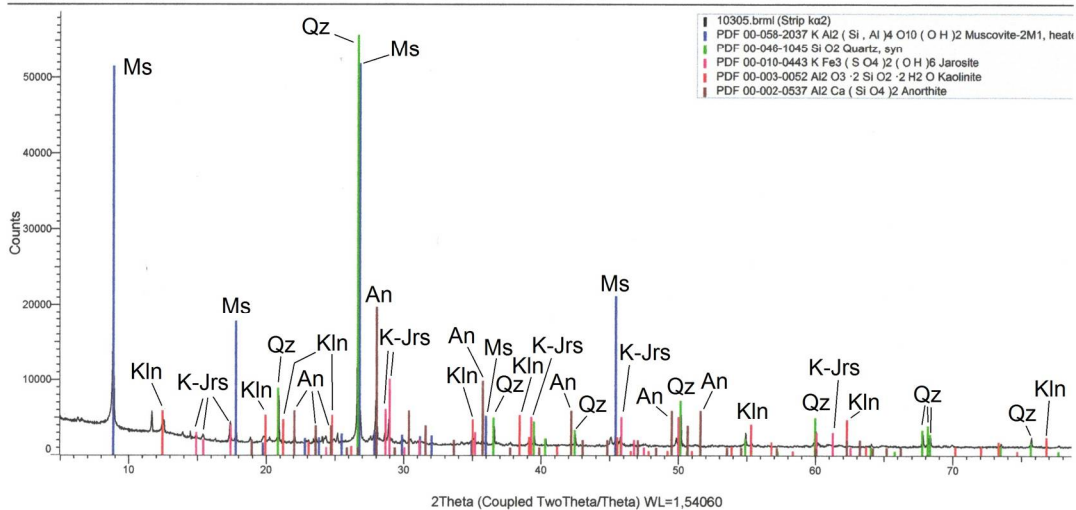


Figura 20.- Difractograma del residuo sólido del cultivo testigo en medio MKM sin $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ con mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; Kln: Caolinita; K-Jrs: Jarosita de potasio; An: Anortita.

Facultad de Química, USAI, UNAM México
10324 (Coupled TwoTheta/Theta)

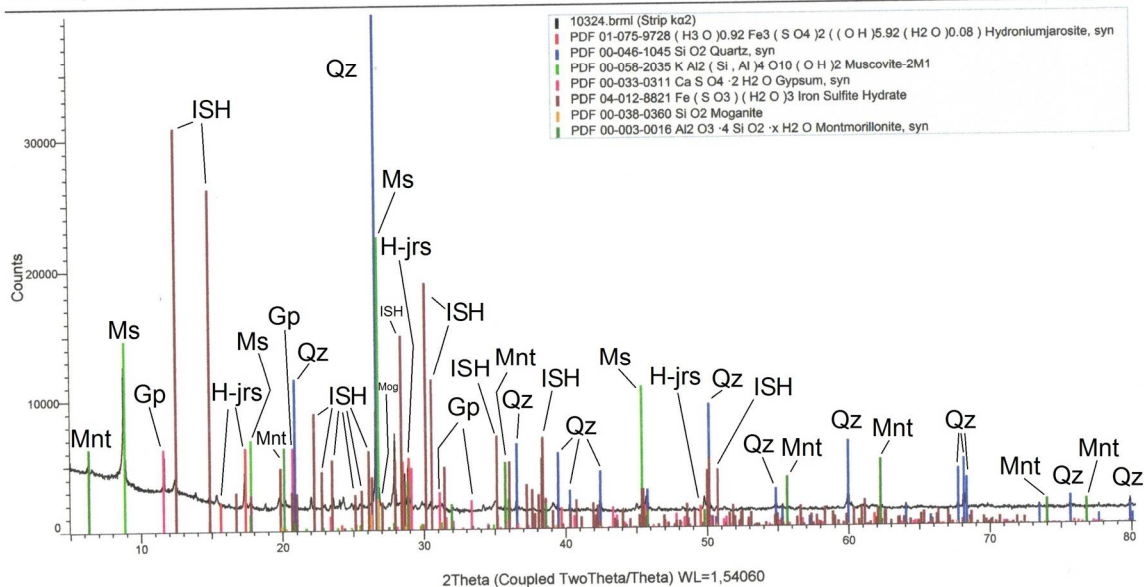


Figura 21.- Difractograma del residuo sólido en el medio MKM sin $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con bacterias *At. thiooxidans* y mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; Mog: Moganita; H-jrs: Jarosita de hidronio; ISH: Sulfito de hierro trihidratado; Mnt: Montmorillonita; Gp: yeso.

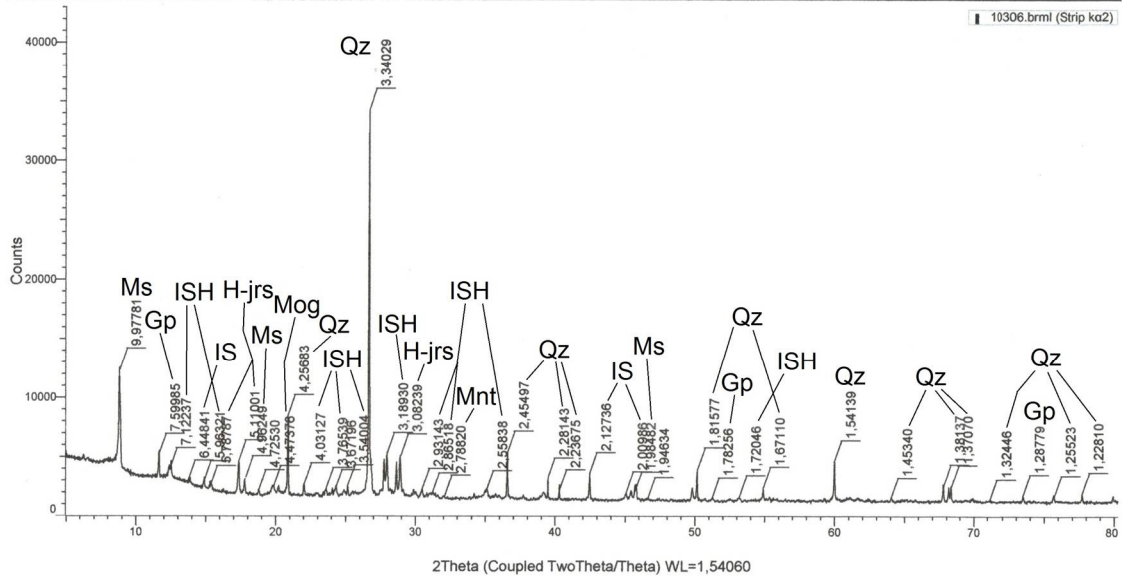


Figura 22.- Difractograma del residuo sólido en el medio MKM con *At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans* y mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; Mog: Moganita; H-jrs: Jarosita de hidronio; IS: Sulfito de hierro; ISH: Sulfito de hierro trihidratado; Mnt: Montmorillonita; Gp: yeso.

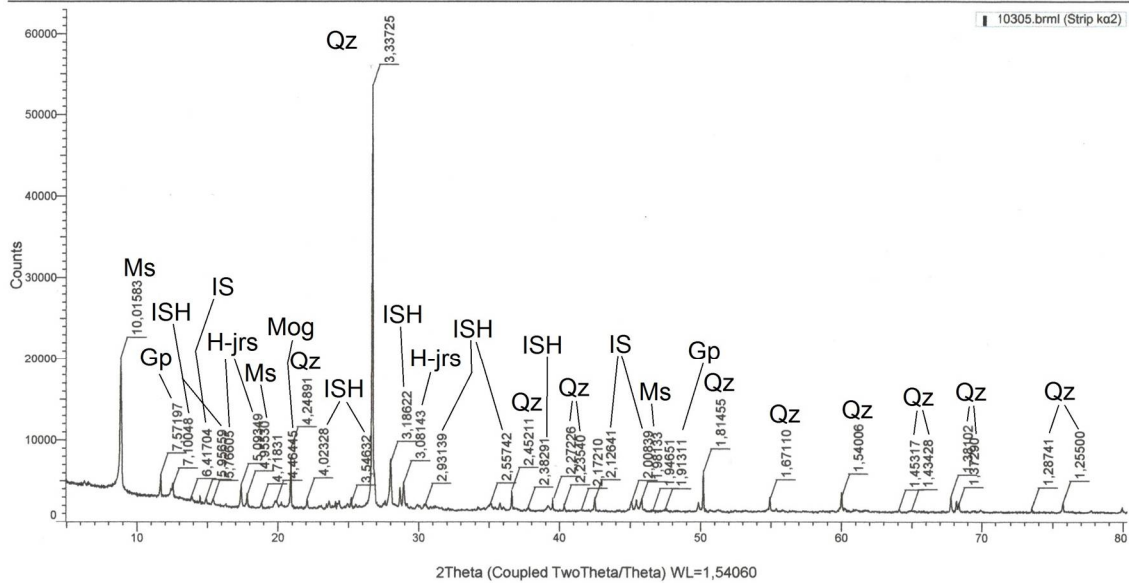


Figura 23.- Difractograma del residuo sólido en el medio MKM sin $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ con bacterias *At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans* y mineral 1410G. Qz: Cuarzo; Ms: Moscovita; Mog: Moganita; H-jrs: Jarosita de hidronio; IS: Sulfito de hierro; ISH: Sulfito de hierro trihidratado; Gp: yeso.

Bibliografía

Bibliografía consultada

- (1) Domic E., "Hidrometalurgia: fundamentos, procesos y aplicaciones", capítulo 7, 1^{ra} edición, Santiago de Chile, 2001.
- (2) Brewis, T. "Extracción de metales por oxidación bacteriana", mining, abril 1996.
- (3) Valdéz, J., Pedroso, I., Quatrini, R., Dodson, R. J., et. al. "Acidithiobacillus ferrooxidans metabolism: from genome sequence to industrial applications"
- (4) Sand, W., Gehrke, T., et. al. "(Bio) chemistry of bacterial leaching - direct vs. indirect bioleaching", Hydrometallurgy 59, Elsevier, 2001.
- (5) Tributsch, H., "Direct versus indirect bioleaching", Hydrometallurgy 59, Elsevier, 2001.
- (6) Rodriguez, Y., Ballester, A., et. al., "New information on the chalcopyrite bioleaching mechanism at low and high temperature", hydrometallurgy 71, Elsevier, 2003.
- (7) Johansson, C., Shader, V., et. al., "Use of the GEOCOAT process for the recovery of copper from chalcopyrite", Goebiotics, Madrid.
- (8) Bhattacharya, P., Sarkar, P., et. al. "Reaction kinetics model for chalcopyrite bioleaching using *thiobacillus ferrooxidans*", Enzyme Microb. Technol. vol. 12, Noviembre 1990.
- (9) Donati, E., Curutchet, G., et. al. "Bioleaching of covellite using pure and mixed cultures of *thiobacillus ferrooxidans* and *thiobacillus thiooxidans*", Process biochemistry, vol. 31, Elsevier, 1996.
- (10) "Determinación colorimétrica de hierro ferroso (Fe^{2+})", metodología desarrollada por el grupo de investigación en biotecnología de minerales del Dpto. de ingeniería química metalúrgica, Facultad de Química, UNAM.

(11) Application Bulletin, "Colorimetric determination of copper", Metallurgical industries, water-supply and effluent analysis laboratories.

(12) Li, H., Ke, J., "Influence of Cu^{2+} and Mg^{2+} on the growth and activity of Ni^{2+} adapted *Thiobacillus Ferrooxidans*", Minerals engineering, vol. 14, no. 1, 113-116, 2001.

(13) Arreguin, R., Tesis de licenciatura "Biolixiviación de sulfuros metálicos de alta pureza contenidos en el material lixiviable de la mina La Caridad en baja ley", Facultad de Química, UNAM, 2009.

(14) González, M., "Efectos sobre la precipitación de jarosita por adición de potasio en drenajes ácidos de mina", Universidad Internacional de Andalucía, 2012.

(15) Arslan, C., Arslan, F., "Thermochemical review of jarosite and goethite stability regions at 25 and 95°C", Turkish J. Eng. Env. Sci. 27 (2003), 45 – 52.

(16) Dreisinger, D., "Copper leaching from primary sulfides: options for biological and chemical extraction of copper", Hydrometallurgy 83, 2006.

(17) Lilova, K., Karamanev, D., "Direct oxidation of copper sulfide by a biofilm of *Acidithiobacillus Ferrooxidans*", Hydrometallurgy 80, 2005.

(18) Semenza, M., Curutchet, G., et. al. "Importancia de *thiobacillus caldus* en la lixiviación de sulfuros metálicos" IV coloquio latinoamericano de fractura y fatiga, Agosto 2000.

(19) Seidel, A., Zimmels, Y., Armon, R., "Mechanism of bioleaching of coal fly ash by *thiobacillus thiooxidans*", Chemical Engineering Journal 83, 2001.

(20) Chang, J. H., Hocheng, H., et. al. "Metal removal rate of *thiobacillus thiooxidans* without pre-secreted metabolite", Journal of Material Processing Technology, 201, 2008.

(21) Brombacher, C., Bachofen, R., Brandl, H., "Biohydrometallurgical processing of solids: a patent review", Appl. Microbiol. Biotechnol., 48, 1997.

(22) Centro de investigación minera y metalúrgica, "Biolixiviación, la nueva minería", Área de Innovación y Desarrollo Estratégico, Septiembre 2005.

(23) Apuntes de la clase "Biolixiviación de minerales", asignatura optativa, plan de estudios de ingeniería química metalúrgica, Facultad de Química, UNAM.

(24) Miller J. N., Miller J. C., "Estadística y quimiometría para química analítica", cuarta edición, Ed. Prentice Hall, 2002, pág. 125.

Bibliografía general

(1) Arámbula, H., Sierra-Martínez, E., et. al. "Frozen human epidermal allogeneic cultures promote rapid Healing of facial dermabrasion wounds", Departamento de biología celular, CINVESTAV-IPN, México, 1999.

(2) Kuri-Harcuch, W., "La epidermis humana cultivada *in Vitro* para el tratamiento de quemaduras", departamento de biología celular, CINVESTAV-IPN, México.

(3) Whitney, D., Evans, B., "Abbreviations for rock-forming minerals", American Mineralogist, Volume 95, páginas 185-187, 2010.

(4) Deveci, H., "Effect of particle size and shape of solids on the viability of acidophilic bacteria during mixing in stirred tank reactors", Hydrometallurgy 71, 2004.

(5) Malki, M., González-Toril, E., et. al., "Importance of the iron cycle in hydrometallurgy", Hydrometallurgy 83, 2006.

(6) Ehrlich, H., "Past, present and future of biohydrometallurgy", Hydrometallurgy 59, 2001.

(7) Brierley, J. A., Brierley, C. L., "Present and future commercial applications of biohydrometallurgy", Hydrometallurgy 59, 2001.

(8) Zhen, S., Qin, W., et. al., "Bioleaching of low grade nickel sulfide mineral in column reactor", Trans. Nonferrous met. Soc., 18, 2008, 1480 – 1484.

(9) Das, A., Modak, J. M., Natarajan, K. A., "Studies on multi-metal ion tolerance of *Thiobacillus Ferrooxidans*", Mineral Engineering, vol. 10, no. 7, 743-749, 1997.

(10) Leahy, M., Schwarz, M. P., "Modelling jarosite precipitation in isothermal chalcopyrite bioleaching columns", Hidrometallurgy 98, 181-191, 2009.

(11) Skoog D., West D., et. al., "Fundamentos de Química Analítica", octava edición, capítulo 5, pág. 94.

(12) Desviación media, http://www.vitutor.com/estadistica/descriptiva/a_14.html.

(13) Morales P., "Medidas descriptivas básicas de *tendencia central* y de *dispersión*", Facultad de Ciencias Humanas y Sociales, Universidad Pontificia Comillas, Madrid, 2007, pág. 6.

Patentes revisadas

(1) "Method for improving the heap biooxidation rate of refractory sulfide ore particles the are biooxidized using recycled bioleachate solution", número de patente 5,779,762.

(2) "Accelerated microbiological ore extraction process", número de patente 3,305,353.

(3) "Bioleaching apparatus and system", número de patente 4, 968, 008.

(4) "Selective bioleaching of zinc", número de patente 6,103, 204.

(5) "High temperature heap bioleaching process", número de patente 6, 110, 253.