

00522
A 19



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“BIOLIXIVIACIÓN DE CONCENTRADOS
SULFURADOS DE COBRE DE LA
PLANTA SAN MARTÍN, ZACATECAS,
MÉXICO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO-QUÍMICO-METALÚRGICO

P R E S E N T A:

ROBERTO VENCES HERNÁNDEZ



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO D.F.

2003





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

PAGINACION DISCONTINUA

B

Jurado asignado:

Presidente : M. en C. Jorge Ornelas Tabares

Vocal: M. en C. Antonio Huerta Cerdán

Secretario: Dra. Rosa Elva Rivera Santillán

1er. Suplente: M. en C. Faustino Juárez Sánchez

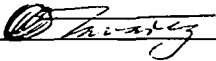
2do. Suplente: M. en C. Alfonso López Juárez

Sitio donde se desarrollo el tema:

**Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química**

**En el Laboratorio de Microbiología Experimental del
Departamento de Microbiología de la F.Q. U.N.A.M.
En el Laboratorio de Procesamiento de Minerales del
Departamento de Metalurgia Extractiva de la F.Q. U.N.A.M.**

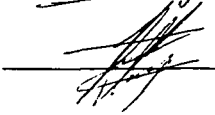
Asesor: M. en C. Jorge Ornelas Tabares



Supervisora: Técnica M. en C. Guadalupe Tsuzuki Reyes



Sustentante: Roberto Vences Hernández



A mis padres

**Roberto Vences Méndez
Dolores Hernández Rincón**

Por haberme dado la vida y darme su cariño, a ustedes que los quiero tanto les dedico este que es uno de sus más grandes anhelos así como el mío. A ustedes que me otorgaron el mejor regalo de la vida, el ser su hijo.

A mis hermanas

**Gisela Vences Hernández
y
Nadia Vences Hernández**

Por convertirse en cómplices, en mis cómplices desde la infancia, de todas las travesuras y locuras que hemos hecho juntos como lo que somos y nunca dejaremos de ser hermanos.

A mis tíos

Celia, Gloria y Fernando.

Por todos los momentos que hemos convivido como familia

A mis primos

Heidi, Nancy, Elizabeth, Fernando y Eduardo

Por todas las veces que nos hemos divertido juntos

A mis abuelos

Por los recuerdos bonitos que tengo de ellos

Agradecimientos

**A la Máxima Casa de Estudios
Universidad Nacional Autónoma de México**

**A la Escuela que me permitió convertirme en un profesionalista
Facultad de Química**

Al M. en C. **Jorge Ornelas Tabares** por todo el apoyo que me brindo y haber tenido confianza en este proyecto que sin su ayuda, consejos y recomendaciones no habría sido posible.

A la M. en C. **Guadalupe Tsuzuki Reyes** por todo el apoyo y la confianza que me ha brindado en todo momento desde que se convirtió en mi asesora de tesis.

A los miembros del **Jurado** por tener la paciencia y el tiempo de aconsejarme y corregir este trabajo de tesis.

A la doctora **Rosa Ma. Ramírez Gama** por aceptarme y permitirme ser uno de los alumnos que conforman su gran grupo de investigación en el Laboratorio de Microbiología Experimental, en la F.Q. de la UNAM.

A la doctora **Rosa Elva Rivera Santillán** por los consejos aportados y corrección de este trabajo.

Al M. en C. **Ciro Márquez** por el apoyo otorgado en los análisis químicos que fueron base de este trabajo.

A la **Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación (U.S.A.I.)** por los estudios complementarios que realizaron para consumir y apoyar este trabajo.

A todos **mis profesores** que fueron parte fundamental de mi educación y de mi carrera, que gracias a ellos he llegado a concluir una de mis más anheladas metas en la vida.

A mis amigos:

Al Ing. Francisco Javier Arce Soto y Familia, que durante tantos años me han brindado la confianza de ser su amigo y considerarme como de la familia.

Al Lic. Pablo Vite Cruz y Familia por la confianza y la amistad que nos une a través de tantos años.

Al I.Q.M. Francisco Gutiérrez Pérez por haberme ayudado y hacer equipo para lograr llegar al final de esta carrera y ver lo que la vida no es tan difícil solo cuesta un poco de dedicación y que todo es posible cuando uno quiere.

A mis amigos de la Universidad con todo cariño:

A Susana Herrera y Marcela Olivares por haber compartido conmigo su confianza y una verdadera amistad en todo momento y que espero dure toda la vida.

A Isaac (el gordo), Felipe (el gringo), José (el Chaparro), Uriel (el John), Miguel Angel (Borito), Rubén (Drácula), Saúl (Nepo), Alejandro (Franco) y al grupo 14 por todas aquellas correrías que pasamos juntos y que me permitieron disfrutar mi etapa de universitario.

A María Elvira Elguera García quién fue una de las personas más importantes en mi vida y de no ser por ella no hubiera recibido una de las más grandes lecciones de la vida, el crecer como persona y con ello el saber que tome el rumbo correcto.

A todos mis amigos que han estado en diferentes etapas de mi vida:

Karina, Karla, Ana Laura, Andrés, que en estos momentos están conmigo y aquel 3D que tanta lata dimos a muchos profesores.

Jorge B. (Tío), Omar García (Chester), Raúl (Bolillo), Alberto B. (beto) que aprehendimos que el deporte puede ser un vicio muy sano.

A todos aquellos que restan solo una cosa:

¡¡¡¡Gracias por todo!!!!

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

<i>Tema</i>	<i>Página</i>
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
I.1 Antecedentes del cobre	2
I.2 Metalurgia extractiva del cobre	4
I.3 Procesos pirometalúrgicos de cobre	7
I.4 Procesos hidrometalúrgicos de cobre	10
I.5 Métodos de Lixiviación de concentrados de sulfuros de cobre	11
I.6 Aspectos termodinámicos de la lixiviación de sulfuros de cobre	14
I.7 Aspectos cinéticos de la lixiviación de sulfuros de cobre	16
CAPÍTULO II: BIOLIXIVIACIÓN	20
II.1 Biometalurgia aspecto internacional	21
II.2 Tipos de bacterias utilizadas en la lixiviación	23
II.3 Morfología de los principales microorganismos utilizados en biolixiviación.	27
II.4 Equipos de lixiviación utilizando bacterias	30
II.5 Modelos del mecanismo de lixiviación por medio de bacterias	31
CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL	34
III.1 Caracterización del mineral de adaptación y concentrado de sulfuros	35
III.2 Toma de muestra	36
III.3 Fase de Adaptación	37
<i>III.3.1 Caracterización de los microorganismos</i>	37
<i>III.3.2 Metodología experimental para la fase de adaptación</i>	37
<i>III.3.2.1 Medios de cultivo</i>	37
<i>III.3.2.2 Condiciones experimentales y equipo para la fase de adaptación</i>	38
<i>III.3.2.3 Efecto del ion Ag (I) en el desarrollo bacteriano</i>	39
III.4 Proceso de biolixiviación	40
<i>III.4.1. Elección del cultivo base</i>	40
<i>III.4.2 Desarrollo experimental</i>	40
<i>III.4.2.1 Condiciones experimentales</i>	41
<i>III.4.3 Parámetros de estudio</i>	41
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
IV.1 Resultados de caracterización de mineral y concentrado	44
IV.2 Muestreo	50
IV.3 Resultados de los estudios de la fase de Adaptación	53
<i>IV.3.1 Caracterización de los microorganismos</i>	53
<i>IV.3.2 Desarrollo en los diferentes medios de cultivo</i>	55
<i>IV.3.3 Efecto del ion Ag(I)</i>	58

IV.4 Resultados del proceso de biolixiviación	59
<i>IV.4.1 Adaptación de los microorganismos en el proceso de biolixiviación</i>	59
<i>IV.4.2 Capacidad biolixivante de los microorganismos a distintos porcentajes de sólidos</i>	60
<i>IV.4.3.1 Variación del pH en función del tiempo</i>	63
<i>IV.4.3.2 Variación del potencial de óxido-reducción en función del tiempo</i>	64
<i>IV.4.3.3 Análisis de los residuos de biolixiviación</i>	66
<i>IV.4.3.4 Análisis de los resultados con ayuda del diagrama de Pourbaix</i>	76
<i>IV.4.3.5 Influencia del Bi^{3+} en la biolixiviación (Efecto catalítico)</i>	82
<i>IV.4.3.6 Efecto de la concentración de los iones férrico y ferroso en la biolixiviación</i>	84
IV.5 Resumen de los resultados obtenidos	91
CONCLUSIONES	92
APENDICES	94
Apéndice I “Técnica de Tinción de Gram.”	95
Apéndice II “Técnica de conteo para cámara de NewBauer”	97
BIBLIOGRAFÍA	98

Índice de Figuras

- Fig. 1. Metalurgia extractiva del cobre por vía pirometalúrgica e hidrometalúrgica.
Fig. 2. Celda de flotación.
Fig. 3. Etapas de los procesos pirometalúrgicos.
Fig. 4. Esquema de lixiviación por tanques (VAT).
Fig. 5. Tanque para lixiviación agitada.
Fig. 6. Diagrama de Pourbaix.
Fig. 7. Esquema de una partícula durante el proceso de lixiviación.
Fig. 8. Morfología de *Sulfolobus acidocaldarius*.
Fig. 9. Tanques de biolixiviación en Codelco (Chile).
Fig.10. Reactores de Biolixiviación en Sao Bento Brasil y un reactor biolixiviación de columna ascendente.
Fig. 11. Esquema de los mecanismos de Biolixiviación.
Fig. 12. Localización de la zona geotérmica.
Fig. 13. Difractograma del concentrado de cobre.
Fig. 14. Difractograma de la pirita.
Fig. 15. Lagunas Geotérmicas de la Comisión Federal de Electricidad.
Fig. 16. Pozos, lagunas geotérmicas e infraestructura de Pozos de Comisión Federal de Electricidad.
Fig. 17. Ecosistema al inicio del proyecto Mayo 2000.
Fig. 18. Ecosistema erosionado Marzo 2002.
Fig. 19. Morfología del cultivo a las 12 hr de incubación visto a 400x.
Fig. 20. Incubadora empleada para la fase de adaptación y equipo de trabajo.
Fig. 21a. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 21b. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 21c. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 21d. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 21e. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 21f. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 21g. Difractograma de los residuos de lixiviación.
Fig. 22. Diagrama de Pourbaix del sistema Cu-Fe-S-H₂O a 70°C.
Fig. 23. Diagrama de Pourbaix del sistema Fe-Cu -S -H₂O a 70°C.
Fig. 24. Diagrama de Pourbaix del sistema S -H₂O a 70°C.
Fig. 24. Diagrama de Pourbaix del sistema S -Cu-Fe-H₂O a 70°C.
Fig. 25. Diagrama de Pourbaix del sistema S -Cu-Fe-H₂O a 70°C.
Fig. 26. Diagrama de Pourbaix del Sistema Bi-O-H₂O a 25°C del Atlas de Pourbaix
Fig. 27. Muestras con 1% sólidos después 3 y 15 días de proceso respectivamente.
Fig. 28. A la derecha muestras con porcentajes de sólidos mayores a 1%, a la izq. filtración de licores
Fig. 29. Arriba oxidación de iones ferrosos. Abajo izq. Formación de jarositas, a la derecha formación de azufre elemental.

Índice de Tablas

- Tabla 1. Características de algunos microorganismos biolixiviantes.**
- Tabla 2. Resultados del análisis Difracción de Rayos X del concentrado sulfurado de cobre.**
- Tabla 3. Resultados del análisis de Difracción de Rayos X del mineral de pirita.**
- Tabla 4. Resultados del análisis de Fluorescencia de Rayos X del concentrado.**
- Tabla 5. Resultados del análisis de Fluorescencia de Rayos X del mineral de Pirita.**
- Tabla 6. Resultados del análisis granulométrico del concentrado.**
- Tabla 7. Características del cultivo.**
- Tabla 8. Porcentajes de recuperación de cobre.**
- Tabla 9. Resultados del análisis de Fluorescencia de Rayos X de los residuos de biolixiviación.**
- Tabla 10. Resultados del análisis de Difracción de Rayos X de los residuos de biolixiviación.**
- Tabla 11. Máximas concentraciones de Fe total alcanzadas en las muestras**
- Tabla 12. Recuperación de Fe^{3+} en solución.**

Índice de Gráficas

- Gráfica 1. Porcentaje de acumulado negativo vs tamaño de partícula.**
- Gráfica 2. Crecimiento bacteriano en diferentes medios de cultivo.**
- Gráfica 3. Adaptación de las primeras horas de incubación y biolixiviación.**
- Gráfica 4. Recuperación de cobre a distintos porcentajes de sólidos.**
- Gráfica 5. Variación del pH con respecto al tiempo.**
- Gráfica 6. Variación del potencial de óxido-reducción con respecto al tiempo.**
- Gráfica 7. Efecto de Bi^{3+} en la recuperación de Cu.**
- Gráfica 8. Variación de Fe Total en solución.**
- Gráfica 9. Desarrollo en el consumo de Fe^{3+} en la biolixiviación**

RESUMEN

La biolixiviación de concentrados con microorganismos termófilos extremos en tanques agitados, constituye hoy en día, una ruta tecnológica innovadora que posibilita los tratamientos hidrometalúrgicos de concentrados sulfurados de cobre como la calcopirita, otorgando ventajas económicas y ambientales con respecto a la ruta pirometalúrgica convencional.

El estudio y localización de microorganismos termófilos extremos en la zona de "Los Azufres" en el Estado de Michoacán, dio la posibilidad de investigar la capacidad de adaptabilidad y biolixivante de estos microorganismos que; en diversas investigaciones se ha demostrado pueden lixiviar sulfuros utilizando al azufre como fuente energética para su metabolismo.

Ante una discrepancia en diversas publicaciones sobre cual es el papel que desempeñan las bacterias en los diversos mecanismos de la lixiviación (químico, biológico, directo, indirecto, etc.), se determinó trabajar con una cepa nativa para estudiar y tratar de aproximar el tipo que mecanismo o equilibrio de disolución que se lleva a cabo en un proceso de biolixiviación en un concentrado de calcopirita en muestras con 1, 3 y 5% de sólidos.

Con una rápida adaptación de termófilos extremos nativos a condiciones de laboratorio y muestras de biolixiviación, estos microorganismos demostraron ser capaces de biolixiviar calcopirita, recuperando una cantidad de cobre en solución del 88.5% en un



período de 15 a 20 días. Las condiciones para las fases de incubación y de biolixiviación correspondieron a intervalos de temperaturas de $70^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$ y $\text{pH} = 2.0$.

Adicionalmente, se verificaron algunos factores como el efecto tóxico de la adición de Ag (I) en la fase de adaptación para comprobar la toxicidad en el desarrollo bacteriano.

En el proceso de biolixiviación se estudio el equilibrio de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ así como la adición de Bi (III) en la extracción de cobre que provocan la formación de precipitados de hidróxidos de hierro o jarositas que limitan el proceso de disolución.

Se llegó a conclusiones en donde se observa el desempeño y la capacidad biolixivante de las bacterias, la cuál esta determinada por cada uno de los factores (pH , temperatura, Eh , concentración de Fe^{2+} , Fe^{3+} , etc.) que favorecen o impiden llevar a cabo el proceso de biolixiviación.

La precipitación de jarositas, elevación en los potenciales de óxido-reducción lo cual dio lugar a estudios complementarios basándose en diagramas de Pourbaix que muestran los equilibrios entre diversas especies químicas presentes.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Estudio de la lixiviación de un concentrado sulfurado de cobre con bacterias termófilas extremas.

Objetivos particulares

- Localizar y demostrar la capacidad biolixivante de una bacteria termófila extrema nativa.
- Determinar los mejores parámetros de adaptación bacteriana para un proceso de biolixiviación.
- Determinar las condiciones óptimas para la mejor recuperación de Cu.
- Verificar el efecto negativo de Ag (I) en la fase de adaptación y el efecto catalítico de la adición de Bi (III) en el proceso de biolixiviación.
- Estudiar la variación del equilibrio de Fe^{2+} y Fe^{3+} en el proceso de extracción de cobre.
- Utilizar el Diagrama de Pourbaix para complementar el estudio de un proceso de biolixiviación.

M

Hipótesis de trabajo

La lixiviación en presencia de bacterias termófilas extremas depende del equilibrio entre los mecanismos de disolución química y de disolución biológica afectando de manera directa los porcentajes de recuperación de cobre.

El estudio de la biolixiviación con base en los diagramas de Pourbaix puede generar una mejor ilustración y explicación de los fenómenos que ocurren en la lixiviación.

Cualquier factor (iones, pH, temperatura, agitación, etc.) que altere el equilibrio entre los mecanismos de disolución afecta la disolución de cobre en un proceso de biolixiviación.

Capítulo I

Revisión Bibliográfica

I.1 Antecedentes del cobre

Hacia el año 3000 AC, los egipcios ya utilizaban el cobre en una variedad muy amplia de objetos creados para satisfacer las necesidades de la vida cotidiana. Asimismo, perfeccionaron los procedimientos de aleación del cobre y estaño, de los cuales se obtiene bronce. El cobre tomó como símbolo, el mismo que representa para los egipcios la vida eterna. Se ha podido comprobar que en el año 2,700 AC los tubos de cobre ya eran usados en Egipto para transportar agua para beber y efluentes sanitarios. Como enclave geográfico a medio camino de la ruta comercial entre Egipto y Grecia, la isla de Chipre constituyó un lugar de paso por la que transitaban numerosos objetos de cobre egipcio destinados a embellecer los hogares helénicos.

Al conocer este noble y bello material, los chipriotas comenzaron a explotar sus propias minas y resultaron ser tan ricas, que la isla daría nombre al metal que nos ocupa, cyprum: cobre. En la época del Imperio Romano se utilizaron tubos de cobre para el transporte de agua. Una prueba de ello son las tuberías encontradas en excelente estado de conservación en las excavaciones llevadas a cabo en Pompeya.

Sin embargo, las piezas de cobre y bronce que desde épocas remotas gozaron del más alto grado de excelencia fueron originadas por la cultura china que, además de crear objetos con propósitos utilitarios (en primera instancia) y ceremoniales (más tarde) lograron darle al cobre un uso tecnológico.

Según la historia, el hombre domina cada vez más el mundo que lo rodea. En cuanto al cobre, en la actualidad se han desarrollado técnicas para la extracción de cobre y otros metales a partir de su estado mineral, no dependiendo más del metal nativo.

El cobre además de tener diversos usos cotidianos, actualmente se utiliza en la tecnología aeroespacial; por ejemplo, el revestimiento interior de la cámara de combustión de los grupos propulsores del Ariane 5 consiste en una aleación de cobre, plata y circonio.

La estructura misma de un trasbordador espacial es una aleación de aluminio que contiene cobre. El sistema eléctrico del trasbordador espacial de la NASA utiliza cobre recubierto de níquel y plata. Las aleaciones de cobre constituyen materiales estándar en las estructuras portantes de los satélites. Las células solares que se colocan en las paletas colectoras de energía solar incluyen, entre otros materiales, también cobre.

Las nuevas tecnologías de procesadores para computadoras incluyen chips de cobre. La empresa IBM en su modelo de computadora RS/6000 SP incluye 8100 procesadores de cobre capaces de procesar 12,300 cálculos por segundo, lo que supone una velocidad 30 veces mayor a la de una computadora personal.

La industria química sabe valorar la sobresaliente resistencia a la corrosión y a la conductividad térmica de este material. Por estas mismas razones y por las rigurosas exigencias de higiene, las industrias de alimentación y bebidas recurren cada vez más a utilizar cobre, como es el caso en recipientes de fermentación.¹

¹ http://procobrevenezuela.org/historia_cobre_antigua.htm

I.2 Metalurgia extractiva del cobre

La metalurgia extractiva del cobre se basa en todos aquellos pasos por los cuales es posible obtener cobre metálico a partir de sus orígenes minerales, en donde pueden participar procesos tanto físicos como químicos. Los procesos físicos se encargan principalmente de reducir el tamaño del mineral y aumentar la concentración de los valores deseados o menas. Los procesos químicos se encargan de enriquecer aún más los concentrados².

La principal fuente de cobre en el mundo son vetas de minerales sulfurados los cuales pueden encontrarse en forma de calcopirita (CuFeS_2), bornita (Cu_5FeS_4), calcocita (Cu_2S), covelita (CuS), etc; aunque también se encuentran formando minerales oxidados. Los sulfuros son tratados principalmente por vías pirometalúrgicas, mientras que los minerales oxidados son procesados por la ruta hidrometalúrgica mediante la lixiviación³ (Fig. 1).

En la actualidad la recuperación de cobre proveniente de sulfuros se realiza cada vez más por vía hidrometalúrgica, debido a que las vetas de minerales oxidados van agotándose y el procesamiento pirometalúrgico genera elevados costos por consumo de energéticos, mantenimiento, plantas de recuperación de ácido sulfúrico, tratamiento de residuos y emisión de contaminantes (SO_2).

Los pasos iniciales para el tratamiento de cualquier mineral implican procesos de trituración y molienda, con el fin de obtener un material que pueda ser procesado fácilmente. Se aprovecha comúnmente la diferencia en propiedades físicas o fisicoquímicas entre el material de interés y la ganga para lograr su separación.

² T. L. Brown. (1987). Química "La Ciencia Central". Prentice Hall, México. pág. 726.

³ A.K. Biswas. (1980). Extractive Metallurgy of Copper. Pergamon Press. USA. pág. 257.

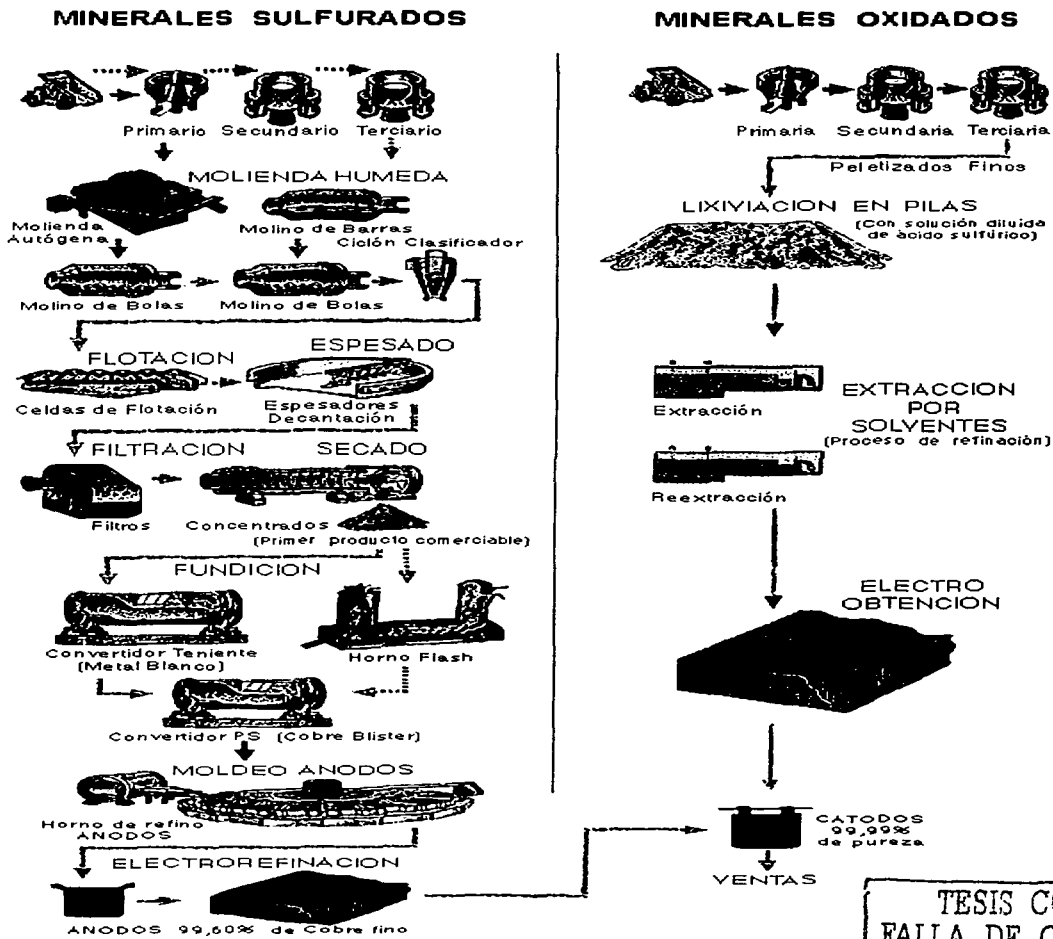


Figura 1. Metalurgia extractiva del cobre por vía pirometalúrgica e hidrometalúrgica

La flotación es un método muy importante para la concentración de minerales sulfurados. Una suspensión en agua del mineral molido se va agitando en tanto se le hace pasar aire a través de la mezcla tal como se muestra en la Fig. 2. Aquí se agregan sustancias químicas de tal manera que se forman espumas o burbujas. Las partículas del mineral que se desea (menas), quedan adheridas a las burbujas de aire quedando posteriormente flotando con la espuma, la cual se separa en la superficie. Al mismo tiempo la ganga va sedimentándose hacia el fondo del tanque. Los métodos de flotación dependen de hecho, de que la superficie de las partículas del mineral deseado sean hidrofóbicas (no se mojan con el agua, esto puede lograrse añadiendo un agente de flotación). Generalmente se agregan sustancias químicas que selectivamente se adsorben sobre la superficie de las partículas de mena para reducir su humectación por agua⁴.

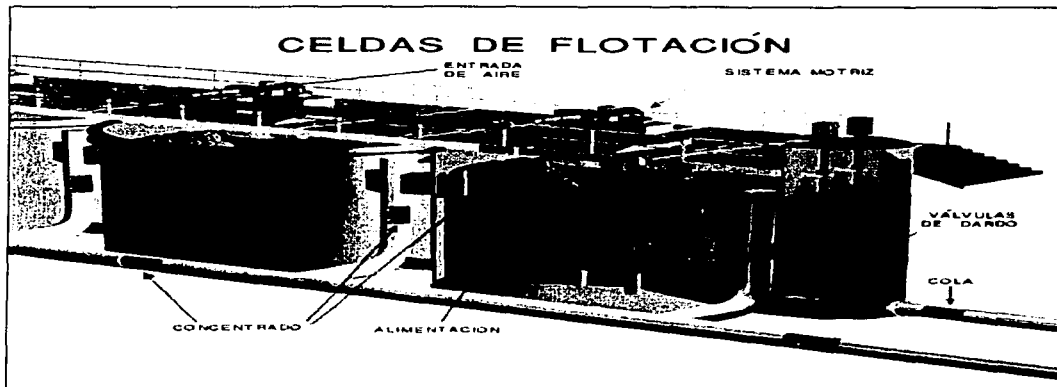


Figura 2. Celda de flotación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

⁴ Brown, op. cit., pág.727.

El extremo negativo de la molécula de un colector se une a la superficie de un mineral sulfuroso como la Cu_2S , mientras que el extremo orgánico no polar de la molécula se extiende más allá de la superficie para inhibir la aproximación de las moléculas de agua⁵. De esta forma la flotación es un proceso que concentra de 0.3% hasta 30% de cobre.

I.3 Procesos pirometalúrgicos del cobre

La pirometalurgia implica la utilización del calor para convertir un mineral o concentrado de una composición química a otra de mayor ley y eventualmente en un metal puro, a través de la oxidación del Fe a FeO y la oxidación de S en forma de SO_2 .

La tostación consiste en la oxidación parcial de los sulfuros de los concentrados de flotación en donde se elimina parcialmente el azufre en forma de SO_2 que puede ser utilizado para la producción de ácido sulfúrico⁶. Las reacciones que se llevan a cabo en la tostación son las siguientes:



La fusión del producto de tostación es el siguiente proceso en el cual se aprovecha la energía del calor sensible de estos productos para su fusión en hornos de reverbero o eléctricos ($1150^\circ\text{-}1250^\circ\text{C}$). El objetivo principal es producir dos fases líquidas separables (inmiscibles), una que contendrá la

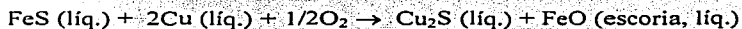
⁵ idem.

⁶ Biswas, op. cit., pág. 65.

mayor parte del cobre de la carga (mata 35-65% Cu) como Cu_2S y FeS , la segunda en menor proporción contendrá a las impurezas existentes Fe (como FeO , Fe_3O_4), SiO_2 , Al_2O_3 y CaO .

El ajuste de azufre en la fundición consiste en obtener la relación molar $\text{Cu}_2\text{S}:\text{FeS}$. La eliminación del azufre es para tener una composición de 60-40% $\text{Cu}_2\text{S}-\text{FeS}$ en el eutéctico para la menor temperatura de fusión 940°C .

La conversión de la mata se lleva a cabo en un convertidor Pierce-Smith en donde la mata que contiene cobre, hierro y azufre en su mayoría se convertirá en cobre blister. El propósito de la conversión es eliminar el hierro y el azufre y otras impurezas de la mata para producir un cobre metálico líquido que alcance una pureza de 98.5-99.5%. La combinación de reacciones que se llevan a cabo en el convertidor son las siguientes:



Posteriormente el cobre puede pasar a una etapa de pirorrefinación para convertirse en ánodos de cobre que serán utilizados en el refinamiento electrolítico (Fig. 3).

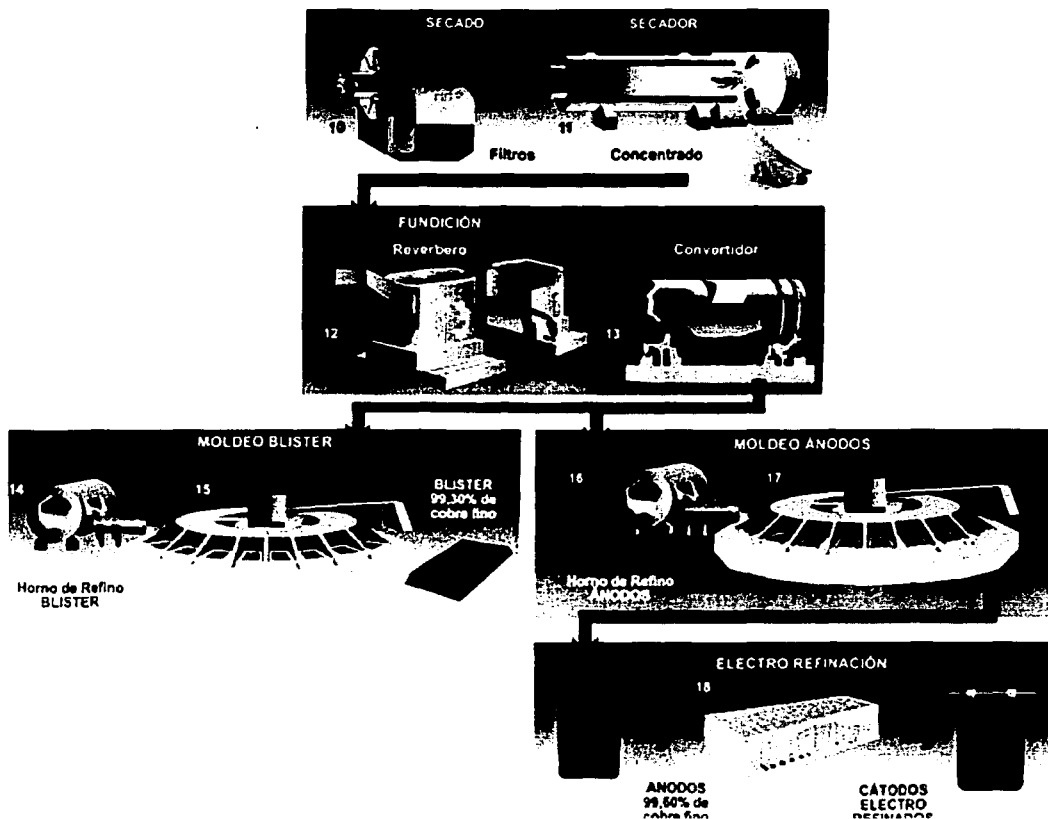


Figura 3. Etapas de los procesos pirometalúrgicos ⁷

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

⁷ Fuente: http://www.codelco.com/cu_zonacobre/fr_zona.html

I.4 Procesos hidrometalúrgicos del cobre

En la hidrometalurgia de cobre se utilizan regularmente minerales oxidados, sulfuros de baja ley además de concentrados de flotación. La lixiviación se basa en disolver a los minerales o concentrados mediante un agente lixivante que normalmente se encuentra en solución acuosa; este puede ser ácido sulfúrico, amoníaco o ácido clorhídrico, donde estos dos últimos se utilizan en casos donde existen sulfuros de Cu-Ni.

El agente lixivante se encarga de disolver los valores metálicos deseados y pasarlos a solución acuosa. Posteriormente los licores de lixiviación pasan a un segundo proceso denominado Extracción por Solventes (ES), que consiste fundamentalmente en dos operaciones secuenciales:

Extracción.- La solución acuosa, es una solución rica de lixiviación, es la fase portadora del metal, se le denomina PLS (*pregnant leaching solution*), se pone en contacto con la fase orgánica conformada por un reactivo extractante disuelto en un diluyente orgánico. Como ambas fases son inmiscibles la mezcla se realiza por acción mecánica, ocurriendo una transferencia de la especie metálica disuelta en la fase acuosa a la fase orgánica donde se asocia químicamente con el reactivo extractante. La fase acuosa residual puede retornar al proceso de lixiviación o someterse a otro proceso de neutralización y descarte.⁸

Despojo (Stripping).- En esta etapa se recupera la especie metálica de la fase orgánica cargada, posteriormente con la regeneración de las capacidades extractivas de la fase orgánica se logra utilizar nuevamente en las etapas de extracción.

⁸ Ornelas Tabares J. "Preparación y tratamiento electrolítico de Cu para su reducción en la hidrometalurgia del cobre". Facultad de Ingeniería. U.N.A.M. México.pág. 1-10.

Finalmente el producto del despojo pasa por procesos de electrobeneficio y electrorefinado en celdas electrolíticas para la obtención de cátodos de cobre con una pureza de 99.99% de Cu.⁹

1.5 Métodos de lixiviación de concentrados de sulfuros de cobre

In situ. Es aquella donde la mena no es transportada del lugar en que se formó geológicamente y el elemento valioso se disuelve a partir de la solución lixivante, siempre que la roca encajonante.¹⁰ La lixiviación *in situ* se subdivide en:

Disolución por sondeos. Esta requiere que los yacimientos posean características geológicas que permitan la circulación controlada de fluidos. El esquema general de explotación por sondas consiste en la existencia de 2 conjuntos de sondeos, uno que inyecta y otro de producción por los que circula un líquido que se ve enriquecido en la sustancia del metal buscado.

Por fracturación de la roca. Esta tiene por objetivo incrementar la permeabilidad natural a base de crear nuevas grietas o fisuras que sirvan de paso a la circulación del fluido.

Para este procedimiento se utiliza la fractura hidráulica o la fractura por voladura. La fractura hidráulica se caracteriza por la utilización de un barreno lleno con un líquido que está siendo presurizado por bombeo desde la superficie hasta alcanzar tensiones superiores a la resistencia a la compresión de la roca que rodea al barreno. La fractura por voladura, utiliza explosiones que generan grietas y fracturas iniciales que permiten la exposición del mineral para ser atacado por el líquido que circula a través de él.¹¹

⁹ <http://www.codelco.com>

¹⁰ Biswas, op. cit., pág.261.

¹¹ <http://www.procobremexico.com/aplica/indus.html#ind>

Lixiviación por Terreros (Heap y Dump). Ambos tipos de lixiviación son semejantes, ambos difieren solamente en la cantidad de material y en la preparación del mineral. En Heap se coloca una lona que permite recolectar los licores percolados. La lixiviación Dump utiliza material de despojo de mina, en donde la cantidad de mineral a lixiviar es del orden de millones de toneladas. El material apilado es lixiviado mediante un agente lixiviante durante largos periodos de tiempo, los licores de lixiviación son recogidos mediante sistemas de drenaje diseñados y colocados en la base donde se apila el mineral. El tiempo de lixiviación para el método Heap es de sólo algunos meses, mientras que el método Dump puede llevarse de 2 años en adelante. En Río Tinto, España se utilizan estos métodos para la extracción de cobre y zinc de menas sulfuradas.¹²

Lixiviación en tanques (Vat). En este tipo de lixiviación el material se deposita en cubas o tinajas provistas de un fondo falso con un medio filtrante, el agente lixiviante se introduce por la superficie inferior del tanque y la lixiviación se lleva a cabo por inundación. La capacidad de los tanques varían desde los 3500 hasta los 12000 toneladas, los cuales están contruidos de concreto o acero y recubiertos de plomo o material plástico (Fig. 4). Estos tanques se colocan en series de 6 ó 7 operando a contracorriente en donde en el último tanque se carga de material nuevo y en el primero se coloca agente lixiviante fresco y licor enriquecido, mientras que en los tanques centrales se realiza la extracción del metal. Los minerales a lixiviar por este método deben tener una ley de cabezas menor a 0.35% de Cu, debido a que a mayor ley se concentra por flotación¹³.

¹² Habashi, F. (1970), Principles of extractive metallurgy, Gordon & Brech Press Inc. Vol. II, USA, pp.7-23.

¹³ Habashi, Op cit. pág. 67-71

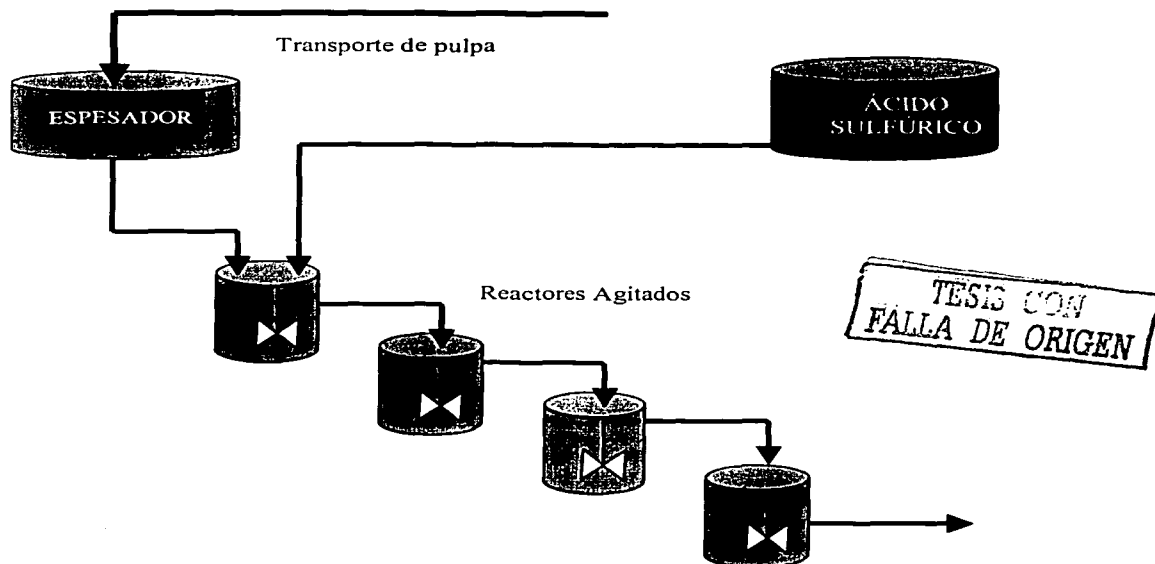


Fig. 4. Esquema de lixiviación por tanques (VAT)

Lixiviación Agitada. Este tipo de lixiviación se lleva a cabo en tanques con agitación mecánica (tanques con propelas) como se observa en la Fig. 5 ó mediante agitación neumática (tanques Pachuca) ambos para concentrados con tamaño de partícula fino (menores a 20 mallas). La lixiviación en autoclaves o tanques Pachuca puede realizarse a elevadas presiones para favorecer la disolución del concentrado a temperaturas que oscilan entre los 100-300° C según el diseño de la autoclave o tanque en cuestión. El tiempo de lixiviación es de 2 a 10 horas de proceso en donde el único inconveniente es la posible pasivación del concentrado durante la operación. Se puede utilizar este método para concentrados con leyes de 20 a 40% de Cu.

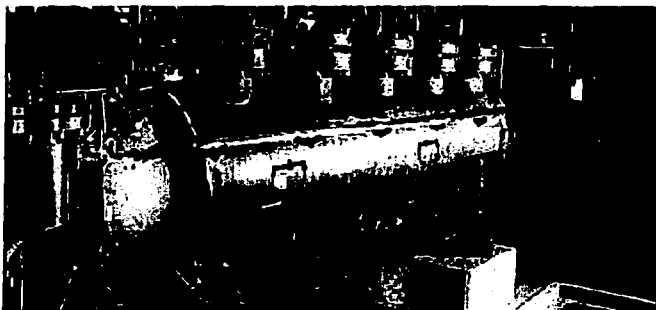


Fig. 5. Tanque para lixiviación agitada.¹⁴

I.6 Aspectos termodinámicos de la lixiviación de sulfuros de cobre

Con ayuda de la termodinámica es posible predecir el resultado de algunas reacciones químicas, y gracias a estos aspectos termodinámicos se puede determinar si un proceso de lixiviación puede llevarse a cabo o no, pero no puede predecir con que velocidad se llevará a cabo esta reacción.

La forma más sencilla de conjuntar los aspectos termodinámicos es elaborando un diagrama de Pourbaix ó potencial vs pH.¹⁵ Este tipo de diagramas muestran los equilibrios termodinámicos posibles entre las especies químicas¹⁶, así como las zonas de estabilidad con sus iones en solución acuosa.¹⁷

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

¹⁴ www.codelco.com

¹⁵ Tejeda Zúñiga C.J. (1993). Estudio de caracterización y cinética de lixiviación para un mineral oxidado de cobre. Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico Metalúrgico. Facultad de Química. U.N.A.M. México. pp. 25.

¹⁶ Garrels M. Robert. Solutions, (1965). Minerals and Equilibria. Ed. Freeman, Cooper & Company. USA. Pág. 172.

¹⁷ Ávila J., Genescá Joan. (1987). Mas allá de la herrumbre, Editorial Fondo de cultura económica, Colección La ciencia desde México no. 9. México. Pág. 61.

Para un sistema Cu-Fe-S-H₂O se puede construir un diagrama Eh vs pH en el cual se pueden visualizar las zonas de estabilidad de las fases químicas a 70° C como se observa en la Fig. 6, en donde la zona de estabilidad del cobre en forma de diversos sulfuros coexisten la calcopirita, covelita y calcocita ocupando una área con potenciales menores a 250 mV los cuales pueden ser oxidados por especies con potenciales con valores más elevados.¹⁸

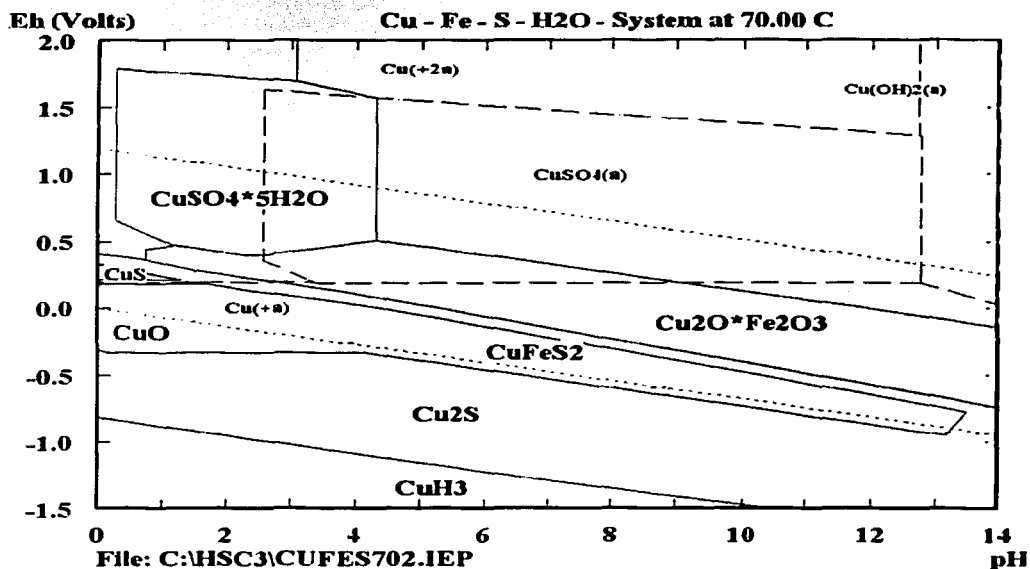


Fig. 6. Diagrama de Pourbaix

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

¹⁸ Garrels M.R. (1965). "Solutions, Minerals and Equilibria". Ed. Freeman, Cooper & Company. USA. Pág 213-219.

En la zona de pH ácido del diagrama se observa que existe Cu^{2+} a partir de los sulfuros complejos, si se logran condiciones oxidantes (elevados valores de potencial de electrodo) y condiciones ácidas (bajos valores de pH) se habrán logrado condiciones donde puede llevarse a cabo un proceso de biolixiviación.

Este tipo de diagrama se construye de acuerdo a las especies químicas presentes y sus posibles reacciones, eligiéndose solo una condición de oxidación o reducción (Fig. 6). Las líneas de estabilidad que representan los equilibrios pueden desplazarse al variar la temperatura de las reacciones.

1.7 Aspectos cinéticos de la lixiviación de sulfuros de cobre

La termodinámica proporciona información, si una determinada reacción puede llevarse a cabo o no y con ello establecer si un proceso de lixiviación es capaz de disolver un mineral. La velocidad con la que la lixiviación se lleva a cabo determinará la viabilidad de este proceso.¹⁹

Para la transformación en términos de tiempo y volumen de la masa (sólido) en las operaciones de lixiviación y precipitación, éstas pueden ser ya sea en reacciones heterogéneas en la interfase sólido/líquido o reacciones homogéneas en solución²⁰; los siguientes pasos pueden ser determinados por la velocidad:

- Transporte del solvente a la interfase sólido/líquido.
- Reacción sobre la superficie del sólido.
- Transporte del producto a la solución.

¹⁹ Tejeda Zúñiga C.J. op cit pág. 30.

²⁰ Ornelas Tabares J. Preparación y tratamiento electrolítico de Cu para su reducción en la hidrometalurgia del cobre. Facultad de Ingeniería. U.N.A.M. México. pág. 1-10.

De acuerdo a la primera ley de Fick la velocidad de difusión es proporcional a la velocidad de disolución dependiendo de:

- Coeficiente de difusión (función de la temperatura)
- Superficie de reacción libre
- Capa límite de difusión
- Gradiente de concentración en la interfase y la solución

La ley de Fick se escribe de la siguiente manera²¹:

$$-(\delta c / \delta t) = -D_B A (\delta C_B / \delta X)$$

en donde :

n = Número de moles de la sustancia B fluyendo a través del área A en un tiempo t ;

D_B = Es el coeficiente de difusión.

C_B = Es la concentración de B.

Retomando lo anterior, los parámetros que mejoran la velocidad de disolución son:

- Aumento en la superficie de reacción (ya que la velocidad de reacción es proporcional al tamaño de grano)
- Por agitación de la solución, la capa límite de difusión disminuye
- A mayores temperaturas y agitación el gradiente de concentración y la fuerza impulsora se incrementan.

²¹ Tejeda C.J. op cit. pág. 31.

Una forma simple de entender los mecanismos de cinética heterogénea es utilizando el modelo de núcleo no reaccionado. Este modelo descrito en los textos de ingeniería química²², asume que al avanzar la reacción a través de una partícula esférica ésta conserva su forma y tamaño al mantenerse la capa de mineral reaccionado. De esta forma, antes de que ocurra la reacción es necesaria la difusión de los reactivos a través de la capa de material reaccionado (Fig. 7), y se asume que luego se produce una reacción de primer orden en la superficie del núcleo no reaccionado de la partícula.

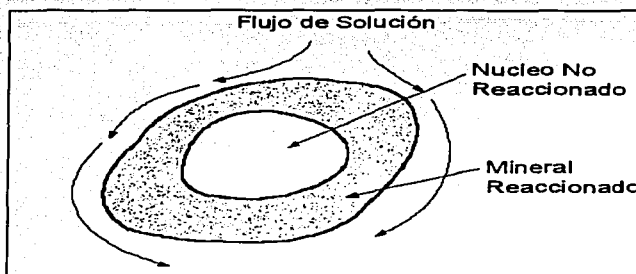


Fig. 7. Esquema de una partícula durante el proceso de lixiviación.

El modelo está basado en suponer que el concentrado es isotrópico y que tanto los reactivos como los productos son transportados por la solución que llena completamente los poros de la partícula. Además se supone que la solución es suficiente para cubrir completamente y circular por la superficie externa de la partícula de mineral.²³

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

²² Levenspiel O., (1981). "Ingeniería de las Reacciones Químicas". 2ª ed., Reverte S.A., Barcelona, España, pág. 385-415.

²³ Meruane Naranjo Gabriel E. (1999). "Criterios de diseño del circuito de soluciones en la lixiviación bacteriana de sulfuros de cobre en pilas". Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Químico, Universidad de Chile. pág. 16

En el caso de minerales de cobre es común el uso de este modelo, considerando como agente lixivante el ácido en el caso de minerales oxidados^{24, 25} y el ión férrico para lixiviación de sulfuros. Del mismo modo entonces, es posible suponer que la cinética de consumo de ácido por parte de la ganga mineral responderá a una cinética de núcleo sin reaccionar.

Al poner en contacto una solución ácida con un mineral de cobre, tanto las especies mineralizadas (especialmente óxidos), como la ganga portadora de ellas reaccionarán de acuerdo con la velocidad característica de cada uno, y definiendo en conjunto el consumo de ácido por parte del mineral.

²⁴ Roman R.J., B.R. Benner and G.W. Becker, (1974). "Diffusion Model for Heap Leaching and its Applications to Scale-Up". Trans. Soc. Min. Engrs. AIME, Vol. 256, pág. 247-252.

²⁵ Shafer J.L., M.L. White and C.L. Caenepeel, (1979), "Application of the Shrinking Core Model for Copper Oxide Leaching". Min. Eng. Vol 31(2), pág. 165-171.

Capítulo II

Biolixiviación

II.1 Biometalurgia aspecto internacional

En la actualidad existen muchos retos que están afrontando las compañías mineras en forma particular. Una de las preocupaciones más grandes, es el desarrollo e implementación de las más eficientes tecnologías en el procesamiento de minado y proceso. La tecnología más eficiente no siempre significa la más avanzada, cuando menos desde el punto de vista estrictamente de recuperación. La carrera en los más recientes requerimientos ambientales, ha sido el punto de referencia a la mejor tecnología aplicada.

La aplicación de una operación de tostación podría satisfacer los requerimientos de recuperación para un proceso de cobre, pero cuando se toma en consideración, la emisión de gases, polvos, planta de ácido, etc., la tostación no necesariamente es la mejor tecnología disponible.

Tal es el caso cuando una compañía minera se enfrenta a vetas donde las reservas de mineral oxidado se han agotado y sólo se localizan minerales refractarios, como en el caso de la calcopirita. En lugar de abandonar el depósito o veta las compañías están viendo las opciones disponibles. La atención a este tipo de minerales refractarios continúa creciendo más y más, al grado que ahora las industrias están en una carrera de procesamiento de minerales refractarios de varias leyes.²⁶

Las nuevas opciones para este tipo de minerales comprenden:

- Lixiviación en autoclaves (Presión)
- Biolixiviación

²⁶ Memorias Semana de la Metalurgia y Materiales.(2000). ESQUIE. I.P.N., México. pp. 1-3.

Siendo la biolixiviación la mejor tecnología aplicada para implementarla a las operaciones de lixiviación en montones (Heap leaching).

La oxidación bacteriológica es un proceso que tiene aplicación en la Metalurgia Extractiva para el tratamiento de minerales producto de una flotación típica de sulfuros, con el propósito principal de liberar metales preciosos, otros metales no susceptibles de disolución y disolviendo (lixiviación) los metales básicos de la matriz del mineral sulfurado para producir una solución de sulfatos metálicos.²⁷

La biolixiviación utiliza bacterias que existen en forma natural en la superficie de lagunas térmicas, manteniéndose en soluciones ácidas con contenido de sulfuros en intervalos de pH 1-3 a diferentes intervalos de temperatura. Lo anterior dependerá del tipo de cultivo de bacteria que se utilice durante la biolixiviación. La bacteria ataca al azufre de los minerales sulfurados y libera el metal o los metales de valor o de interés del proceso de recuperación al que se está aplicando.

La investigación sobre este tipo de biotecnología ha sido patrocinada en gran parte por muchas compañías como: Mintek, Bac Tech, Bateman Brown and Root y Peñoles que están desarrollando programas para creación de plantas piloto y desarrollando nuevas patentes en el campo de biolixiviación²⁸.

²⁷ idem

²⁸ Miller P.C & Winby et al., (1999), Commercialization of bioleaching for base-metal extraction, Biotechnology Special Issue, Minerals & Metallurgical Processing, Vol 16, No. 4 Canada, pp 42-50.

II.2 Tipos de bacterias utilizadas en la Biolixiviación

Comúnmente las bacterias son consideradas como un enemigo, pero pueden llegar a convertirse en pieza clave del procesamiento de minerales después de muchos años de investigación. Hay mucho que descubrir de estos microorganismos a los cuales se les ha clasificado de la siguiente manera:

Bacterias termófilas extremas. Las arqueas son un grupo de antiguas bacterias que crecen en condiciones de temperatura entre 42° y más de 100° C. La clasificación filogenética de este dominio (Archaea) es: Euryarchaeota, Krenarchaeota y Korarchaeota. Según criterios metabólicos y de hábitats²⁹ se establece otra clasificación más funcional:

- ✓ Metanobacterias.
- ✓ Halobacterias.
- ✓ Arqueas termófilas dependientes del azufre.

Las formas de este último grupo van de esféricas como *Sulfolobus* o *Desulforococcus* a bacilares como los géneros *Thermoproteus* y *Thermoillum*.

Los hábitats de estas bacterias son áreas volcánicas terrestres o zonas geotermales submarinas. Ambos presentan temperaturas más altas a las de superficie, e incluso en las profundidades marinas se superan los 100° C sin llegar al punto de ebullición, por la elevada presión de agua.

La característica básica de este grupo es su afinidad por estos medios, lo que condiciona su modo de obtención de energía, crecimiento y fisiología.

²⁹ <http://www.biologia.edu.ar/bacterias/arqueobacterias.htm>

También son consideradas las primeras formas de vida del planeta, pues a dichas temperaturas, pHs alcalinos, neutros y condiciones anóxicas asemejan algunas etapas iniciales de la superficie terrestre primitiva.

Para que sea posible la vida se debe asegurar la termoestabilidad de los metabolitos y estructuras de las células, por lo que presentan adaptaciones características que las diferencian de otros grupos. Tales son:

- La membrana plasmática está formada por isoprenoides de cadena larga constituidos por unidades de fitano, y no por cadenas de ácidos grasos como en eubacterias, así como no presentan enlaces ésteres sino éteres. Las cadenas isoprenoides son de 20 ó 40 carbonos, presentando las primeras gliceroldiéter y las segundas digliceroltetraéter, y formando respectivamente bicapas y monocapas. Ambas tienen superficies internas y externas hidrofílicas e interior hidrofóbico. En conjunto son extremadamente resistentes al calor.
- Las proteínas están condensadas debido a la profusión de puentes iónicos y son altamente hidrofóbicas en el interior para soportar mejor el calor sin desnaturalizarse.
- Existe una alta concentración de solutos citoplasmáticos que se traduce en un incremento del punto de fusión de las moléculas del DNA.

Debido a las altas temperaturas de los medios en los que viven estas bacterias utilizan en su metabolismo S^0 como dador o aceptor final de electrones si no existe oxígeno como aceptor final, pues la solubilidad de este a temperaturas de 90° ó 100° C es casi nula. Esto tiene dos consecuencias

directas: metabolismo anaerobio o aerobio facultativo y necesidad de un aceptor final de electrones distinto al oxígeno.

La fisiología y la bioquímica de las arqueas se divide en:

- Quimiolitoautótrofos. Utilizan CO_2 como fuente de carbono y su energía de la oxidación de azufre o sulfuros.
- Quimioorganótrofos. Utilizan fuentes de carbono reducido, para obtener tanto carbono como energía.

Cuando los medios poseen sustratos de carbono complejos, el azufre suele ser el aceptor final de electrones si las condiciones finales son anaerobias, en tanto que si el medio es aerobio, el aceptor es el oxígeno. Cuando dichos compuestos orgánicos no están presentes el dador de electrones suele ser el hidrógeno. Por tanto, y resumiendo, anaeróbicamente el S^0 se reduce a H_2S usando electrones derivados de la oxidación de compuestos orgánicos o de hidrógeno, con el consiguiente establecimiento de una fuerza protón-motriz encaminada a la síntesis de ATP por las ATP sintetasas.

De las rutas metabólicas no se sabe mucho, aunque se conoce en el género *Sulfolobus* y en una especie de *Thermoplasma*, el catabolismo de la glucosa por vía Enter-Doudoroff, con la excepción de que no se fosforila la glucosa. La glucogenogénesis en las arqueas es un proceso inverso al de la ruta Embden-Meyerhof. El Ciclo de Krebs se puede dar en condiciones aerobias o anaerobias en autótrofos o heterótrofos.

Algunos géneros de arqueas de zonas volcánicas terrestres son:

- *Sulfolobus*. Es un aerobio estricto y la excepción a lo dicho antes, oxida S^0 a H_2SO_4 y fija CO_2 como fuente de carbono. Sus células se adhieren a cristales de azufre pues el S^0 es muy insoluble y se utiliza como donador externo de electrones.

➤ ***Thermoproteus* y *Thermofilum*.** Son anaerobios estrictos con respiración basada en el azufre y extrema sensibilidad al oxígeno. *Thermoproteus* es quimiolitotrófico dependiente o quimioorganotrófico dependiente de sustratos complejos de carbono.

Algunos géneros de arqueas de áreas volcánicas submarinas son:³⁰

- ***Pyrodictium*.** Crece por encima del punto de ebullición del agua, a 105° C como temperatura óptima. Tiene forma de disco. Es un anaerobio estricto y crece quimiolitotróficamente en condiciones de acidez con S⁰ como aceptor de electrones.
- ***Thermodiscus*, *Thermococcus* y *Pyrococcus*.** Crecen sobre mezclas orgánicas complejas con S⁰ como aceptor de electrones y a temperaturas entre 75° a 98° C, aunque el óptimo de *Pyrococcus* es 100° C.
- ***Archaeoglobus*.** Es el único capaz de utilizar el sulfato como aceptor de electrones. Acopla a la oxidación el uso de H₂ y compuestos orgánicos a la reducción de sulfato a sulfuro. No es, por tanto, una auténtica arquea dependiente del azufre (si del sulfato).

Sulfolobus reduce Fe³⁺ a Fe²⁺ y la reacción inversa (oxidación) anaeróticamente, por lo que se ha empleado la lixiviación a altas temperaturas de minerales de hierro y cobre. Las enzimas de otras arqueas sulfodependientes se pueden aplicar para producir metano y recuperación de metales.

Bacterias acidófilas. Otros de los microorganismos más importantes en la lixiviación de minerales sulfurados son las bacterias termófilas moderadas como: *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum*, las cuales crecen a una temperatura óptima de 30° C e

³⁰ http://danival.org/archaea/archaea_22_clasif_fisio.html o <http://danival.org/presenta.html>

intervalos de pH de 1 a 6 estos microorganismos son quimiolitótrofos, o sea que obtienen su energía a partir de reacciones químicas de compuestos inorgánicos (Oxidación de sulfuros o azufre).

Estas bacterias se localizan regularmente en terreros o aguas de minas y parecen ser menos eficaces que las especies de termófilas, porque el incremento de la temperatura en la lixiviación de terreros ocurre a través de la oxidación de sulfuros, la cual es una reacción exotérmica la que se ha observado alcanza temperaturas de 50° a 80° C.³¹

Es probable que tales temperaturas elevadas inhiban el crecimiento y actividad de estas especies, sin embargo al ser trasladadas a contenedores o tanques con condiciones óptimas estas se desarrollan de manera favorable convirtiéndose en una buena opción de lixiviación en tanques.

II.3 Morfología de los principales microorganismos utilizados en biolixiviación

El acercamiento a una clasificación aproximada de cada microorganismo lixivante dentro de cada especie proviene de los resultados arrojados por un análisis morfológico del cultivo con ayuda del microscopio de contraste de fases, que permite observar la forma que presentan este tipo de microorganismos y las características de respuesta a la tinción de Gram. El resultado de dicha tinción indica que tipo de Gram o característica morfológica presenta el cultivo reduciendo las posibilidades dentro del árbol de cada especie.

Esta tinción se denominada así por el bacteriólogo danés Christian Gram, quien la desarrolló en 1844. Sobre la base de su reacción a la tinción de Gram, las bacterias pueden dividirse en dos grupos,

³¹ Konishi Yasuhiro. Et al. (1999). Bioleaching of sulfide mineral by acidophilic Thermophile *Aciditans brierleyi*. Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of 21st century. Elsevier. pág. 485.

gram positivas y gram negativas (en este caso, los términos positivo y negativo no tiene nada que ver con carga eléctrico, sino simplemente designan dos grupos morfológicos distintos de bacterias).

La tinción de Gram es uno de los métodos de tinción más importantes en el laboratorio bacteriológico y con el que el estudiante debe estar perfectamente familiarizado. Su utilidad práctica es indiscutible; las referencias a la morfología celular bacteriana (cocos, bacilos, positivos, negativos, etc.) se basan justamente en la tinción de Gram.

Cabe mencionar que se pueden presentar similitudes en la morfología dentro de microorganismos de la misma especie o género. La morfología puede variar entre especies como cocos, bacilos, etc.,. Un ejemplo de las características morfológicas se observa a continuación en donde las formas de cocos lobulados e irregulares corresponden a características de una especie de arquea llamada *Sulfolobus* (Figura 8).

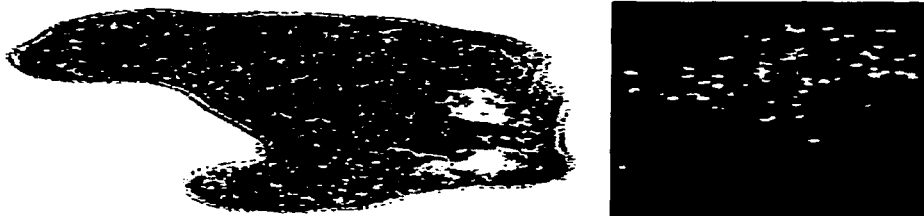


Figura 8 . Morfología de *Sulfolobus acidocaldarius*.³²

En la Tabla.1 se observa la morfología de los cultivos utilizados principalmente en biolixiviación y algunas de sus características morfológicas.

³² www.bact.wisc.edu/Bact303/MajorGroupoh Procarvotcs

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1. Diferencias en las características de algunos microorganismos biolixiviantes³³

Tipo de bacteria	Morfología	Tipo de crecimiento	Diámetro (µm)	pH	Temperatura °C	Gram
Termófilos extremos <i>Sulfolobus</i>	Cocos lobulados irregulares	Quimiolitotrofo Aerobio	1-2	1.5-4	70-95	negativo
Termófilos moderados <i>Sulfobacillus thermooxidans</i>	Bacilos o bastones	Endoesporas Aerobio-estricto Quimiolitotrofo-facultativo Con crecimiento en grupos	Diámetro 0.6-0.8 Longitud 1.0-3.0	1.1-5 óptimo 2	50	positivo

³³ Fuente: Bergey's Manual of determinative bacteriology, (1994), Editorial Williams & Wilkins, 9Ed. USA, págs. 447.750

II.4 Equipos de Biolixiviación

En la actualidad existen diferentes mecanismos y equipos para llevar a cabo una lixiviación bacteriana. Este proceso puede llevarse a cabo desde la mina directamente hasta la utilización de complejos con tecnología altamente especializada para el desarrollo de bacterias y diversos tanques o reactores de biolixiviación de diferentes tipos.

A continuación podemos ver parte de los equipos, reactores, tanques y complejos industriales que actualmente son utilizados en la biolixiviación a nivel industrial (Fig. 7 y 8). Aunque la complejidad de cada equipo puede variar desde simples piletas o cubas hasta reactores o tanques de flujo ascendente.

A nivel laboratorio se pueden utilizar matraces Erlenmeyer con medio de cultivo en incubadoras para cuestiones de investigación de procesos de biolixiviación.



Figura 9. Tanques de biolixiviación en Codelco (Chile)³⁴

³⁴ <http://www.codelco.com>

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 10. A la izquierda reactores de Biolixiviación en Sao Bento Brasil, a la derecha un reactor biolixiviación de columna ascendente³⁵

II.5 Modelos del mecanismo de lixiviación por medio de bacterias

En la actualidad existe una gran diversidad de opiniones sobre el papel que desempeñan las bacterias en el proceso de biolixiviación. Muchos investigadores han publicado los posibles mecanismos de biolixiviación en donde las bacterias ocupan un papel directo así como uno secundario o indirecto, en donde la reacción química de oxidación total o parcial de azufre, el posicionamiento de la bacteria sobre el mineral, la regeneración de ácido sulfúrico y iones Fe^{3+} con ayuda de la bacteria son los principales puntos de controversia en los mecanismos publicados^{36,37,38,39,40}.

³⁵ <http://investigadores.uncoma.edu.ar/Biolixiviación.html>

³⁶ Konishi, op. cit. 490.

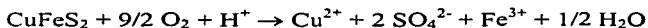
³⁷ Donati S. et al. (1990). Influencia de la superficie en la biocatálisis de la oxidación de sulfuros metálicos. Revista de metalurgia # 26 Madrid, España, pág. 368.

³⁸ Isamu Suzuki. (2001). Microbial leaching of metals from sulfide minerals. Elsevier, Biotechnology Advances 19. pág. 121-123.

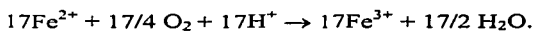
³⁹ Guerrero Rojas José J. (1998). Biotecnología en la disolución y recuperación de metales, Primer Congreso Peruano de Biotecnología y Bioingeniería. Trujillo, Perú. e-mail: esoigue@hotmail.com
<http://www.mobot.org/jwecross/phytoremediation/Biotecnologia.htm>

Algunas de las reacciones que caracterizan los diferentes tipos de mecanismos en la biolixiviación son las siguientes:⁴¹

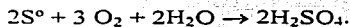
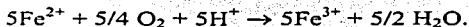
Mecanismo Directo



Mecanismo indirecto completo



Mecanismo indirecto incompleto



⁴⁰ Boon M. (2001). The mechanism of 'direct' and 'indirect' bacterial oxidation of sulphide minerals. Hydrometallurgy. Pág. 67-70.

⁴¹ <http://depa.pquim.unam.mx/~relva/Mecanismos.html>

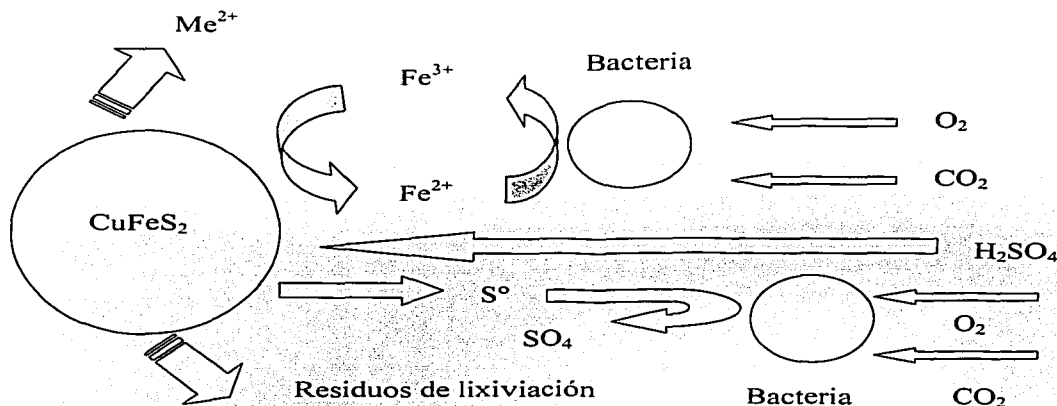


Figura 11. Esquema de los mecanismos de Biolixiviación

En la Fig. 9 se puede apreciar de una forma más práctica lo que sucede en el proceso de biolixiviación, esta basada la descripción que se realizó en una tesis para obtener un grado de maestría.⁴² En el esquema se muestra el papel que desempeñan las bacterias en el proceso de biolixiviación transformando los iones Fe^{2+} a Fe^{3+} favoreciendo de esta manera la reacción química, y ayudando a la formación de iones SO_4^{2-} para la regeneración de ácido sulfúrico y formación de sulfatos de hierro, cobre y azufre elemental.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

⁴² López Juárez Alfonso. (2001). Efecto del Ion Ag (+) sobre la lixiviación de calcopirita con microorganismos mesófilos y termófilos moderados. Tesis para obtener el grado de Maestría en Metalurgia, Facultad de Química, U.N.A.M, pág. 14.

Capítulo III

Desarrollo

Experimental

III.1 Caracterización del mineral de adaptación y concentrado de sulfuros

Una muestra de pirita (FeS_2) a utilizar en la fase de adaptación se analizará con el fin de conocer solamente el grado de pureza del mineral y el grado de transformación que pueda alcanzar en la fase de adaptación debido a la acción bacteriana.

El concentrado de cobre para biolixiviación se trata de calcopirita (CuFeS_2) proveniente de la planta San Martín localizada en el Estado de Zacatecas, México. Los análisis a los que se someterá la muestra serán:

Análisis granulométrico del concentrado previamente cuarteado para conocer la distribución de partículas utilizando un equipo Rop Tap con 5 mallas (números 100 a 400) durante 15 minutos.⁴³

Determinación de Cu y Fe total por medio de Espectrofotometría de Absorción Atómica con un equipo Perkin-Elmer modelo 3100.

Determinación de las especies químicas en el concentrado de cobre por medio de Difracción de Rayos X, con un equipo Siemens D5000 $\text{K}\alpha$ Cu $\lambda=15.406$ nm con filtro de Ni. $2<2\theta<80$.

Análisis semi-cuantitativo (delimitación de muestras patrón) por Fluorescencia de Rayos X para conocer información del porcentaje de elementos presentes en concentrados y residuos de biolixiviación.

⁴³ Wills B. A. (1987). Tecnología del tratamiento de minerales "Tratamiento de menas y recuperación de minerales". Ed. Limusa. México. Pág. 87.

III.2 Toma de muestra

Se procedió a localizar en la República Mexicana las zonas con manantiales o lagos geotérmicos azufrados para la probable ubicación de microorganismos termófilos extremos que tienen como hábitats naturales este tipo de regiones. De esta forma se eligió la zona conocida como "Los Azufres" en el Estado de Michoacán para tomar muestras e investigar la presencia de este tipo de bacterias.

El muestreo se realizó con previa autorización, en pozos geotérmicos de la Comisión Federal de Electricidad en la zona de "Los Azufres" en Laguna Larga, aproximadamente a 15 km. de Ciudad Hidalgo en el Estado de Michoacán (Fig. 12).

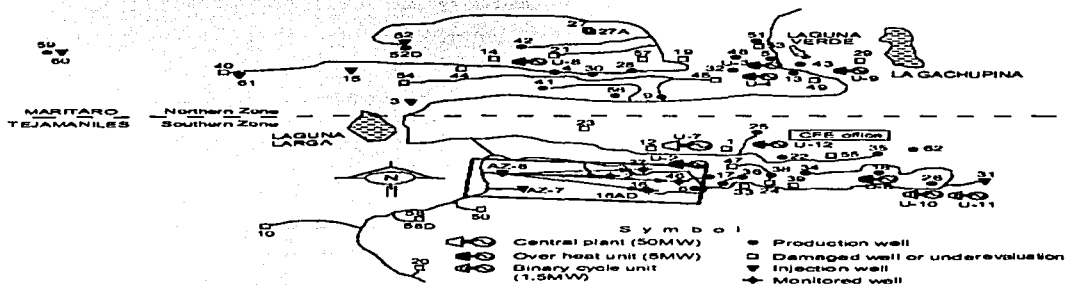


Fig. 12 Localización de la zona geotérmica

Las temperaturas varían entre los 40° C y 95° C y tienen pH de 4 a 6.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El traslado de cada muestra se realizó en contenedores adiabáticos o termos de 1 litro para mantener la temperatura. La pérdida de calor registrada durante cada traslado fue de 10° C en 5 horas de viaje con una temperatura inicial de muestra de 92° C.

III.3 Fase de adaptación

III.3.1 Caracterización de los microorganismos

Se realizaron pruebas para verificar el tipo de respuestas a la tinción de Gram⁴⁴ (Ver Apéndice I) para complementar un análisis morfológico de los microorganismos y tratar de realizar una aproximación a la clasificación del tipo de bacteria, tomando como base el hecho de que fueron muestreados en condiciones de hábitat para termófilos extremos.

III.3.2 Metodología experimental para la fase de adaptación

III.3.2.1 Medios de cultivo

Cada uno de los medios de cultivo fue seleccionado a partir de diferentes fuentes bibliográficas donde se encontraron a estos medios como favorables para el desarrollo de microorganismos termófilos extremos, sea como medio característico para el cultivo o como medio para la oxidación de sulfuros (Biolixiviación).

⁴⁴ Ramirez R.M. et al.(2001). Manual de Prácticas de Microbiología General. Ed. R.M. Ramirez Gama, Laboratorio de Microbiología Experimental. Facultad de Química.U.N.A.M. México. D.F.

Los reactivos utilizados para preparar cada medio de cultivo poseen un grado de pureza de reactivo analítico, a excepción de la pirita.

Medios de cultivo para la fase adaptación de termófilos extremos:

➤ **Medio 1:** $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.4 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5g/L), KH_2PO_4 (0.2g/L), pirita (FeS_2 , 5g/L), H_2O .⁴⁵

➤ **Medio 2:** K_2SO_4 (6.0 g/L), NaH_2PO_4 (1.0 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.6g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2g/L), H_2O .

➤ **Medio 3 (DSMZ-88):** $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1.3 g/L), KH_2PO_4 (0.28g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.25g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.07g/L), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.02 g/L), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1.8 mg/L), $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (4.5mg/L), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.22mg/L), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.05mg/L), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.63mg/L), Extracto de levadura (DIFCO) (1g), H_2O .

Los medios se esterilizaron en autoclave previamente y se ajustaron a un valor de pH = 2.0 con H_2SO_4 (0.1M).

III.3.2.2 Condiciones experimentales y equipo para la fase de adaptación

Cada medio de cultivo se colocó en volúmenes de 150 mL en matraces Erlenmeyer de 250 mL y se inoculó con 20 mL de agua termal de cada pozo muestreado. La incubación se llevó a cabo en una Incubadora Modelo G24, marca New Brunswick Scientific, con las siguientes condiciones:

⁴⁵ Escobar Blanca, Casas Jesús, Madani Jorge and Badilla-Ohlbaum. (1993). Bioleaching of a copper concentrate with *Sulfolobus BC*, Biohydrometallurgical Technologies, Volume 1. Chile. pág. 196.

- Temperatura 70° C, \pm 4° C.
- Agitación de 120 r.p.m.

El monitoreo del crecimiento microbiano se realizó cada 24 h mediante cuantificación de células en una cámara de Neubauer en un microscopio óptico Zeiss con set de grabación en video.

El medio con el mejor crecimiento microbiano obtenido se seleccionará para manejarse como base para mantener viable al cultivo. La compensación del volumen de medio de cultivo perdido por evaporación se repuso adicionando agua destilada y/o medio previamente precalentado a temperatura de incubación.

III.3.2.3 Efecto del ión Ag(I) en el desarrollo bacteriano

Una vez seleccionado el medio de cultivo base se realizaron pruebas al adicionando 10mg de Ag_2SO_4 para verificar el efecto tóxico que puede tener la plata en el desarrollo bacteriano⁴⁶.

La plata es común encontrarla como producto secundario en las vetas de cobre en forma de sulfuros o sulfatos y de aquí la importancia de verificar si existe un efecto negativo en el desarrollo bacteriano, ya que diversas especies químicas de la plata (Ag^+ y/o plata coloidal) son consideradas como agentes bactericidas en microbiología.

⁴⁶ Gómez E, Ballester A, Gonzalez and M.L. Blázquez,(1999). "Leaching capacity of a new extremely thermophilic microorganism, *Sulfolobus rivotincti*". Hydrometallurgy 52. Págs. 349-366.

III.4 Proceso de biolixiviación

III.4.1 Elección del cultivo base para el proceso de biolixiviación

Como se mencionó el medio de cultivo que contenga el mejor desarrollo microbiano se seleccionó para mantener viable al cultivo y también como base para el proceso de biolixiviación.

III.4.2 Desarrollo Experimental

Para evaluar el proceso de biolixiviación se utilizó un tratamiento identificándose por la siguiente nomenclatura:

- **Muestras Testigo.** Matraces Erlenmeyer de 250 mL con porcentajes de sólidos de 1, 3 y 5% de calcopirita (CuFeS_2) con volúmenes de 150 mL de agua acidificada a con ácido sulfúrico.
- **Muestras Proceso.** Matraces Erlenmeyer de 250 mL con porcentajes de sólidos en 1, 3 y 5% de calcopirita (CuFeS_2) con volúmenes de 150 mL medio de cultivo e inoculados con 20 mL de cultivo base.
- **Muestras para efecto catalítico.** Matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo porcentajes de sólidos de 1, 3 y 5% de Calcopirita (CuFeS_2), con volúmenes de 150 mL de agua destilada, e inoculados con 20 mL de medio de cultivo base. Además de 1g de catión de Bi^{3+} /kg concentrado para determinar el efecto catalítico en el proceso⁴⁷.

⁴⁷ Ballester A. (1994). Effect of silver and bismuth on bioleaching of copper sulphide concentrates with thermophilic microorganisms. Memorias. Hydrometallurgy Symposium, Inglaterra, págs. 371-383.

III.4.2.1 Condiciones Experimentales

Las condiciones experimentales seleccionadas para evaluar el proceso de biolixiviación y aplicadas a cada una de las muestras fueron:

- Temperatura de proceso $68^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C.
- pH = 2.
- Agitación de 120 r.p.m.

El monitoreo de los parámetros fue llevado a cabo con un equipo Oakton pH/mV/°C meter Modelo 31488, que posee electrodo de calomel.

III.4.3 Parámetros de estudio

- **Velocidad de desarrollo de los microorganismos.** Evaluación de la cantidad de microorganismos mediante conteo con cámara de NewBauer.⁴⁸
- **Capacidad biolixivante.** Búsqueda de evidencia de biolixiviación en muestras de proceso comparándolas con muestras testigo para evaluar la densidad de pulpa óptima mediante la medición de la concentración de cobre total en solución por espectrofotometría de absorción atómica.

⁴⁸Ramírez R.M. et al.(2001). Manual de Prácticas de Microbiología General. Ed. R.M. Ramírez Gama, Laboratorio de Microbiología Experimental. Facultad de Química.U.N.A.M. México. D.F.

- **Tiempo máximo de proceso.** En caso de existencia de un proceso de biolixiviación se realizó evaluación del tiempo total o parcial de proceso mediante la cuantificación de la cantidad de cobre y hierro en solución por espectrofotometría de absorción atómica.
- **Variación del pH en función del tiempo.**
- **Variación del potencial de electrodo en función del tiempo.**
- **Análisis de los residuos de biolixiviación.**
- **Análisis de los residuos de biolixiviación con ayuda de los diagramas de Pourbaix.**
- **Efecto catalítico del ión Bi (III) en la extracción de cobre.**
- **Influencia de la concentración de los iones férrico y ferroso en la recuperación del cobre mediante pruebas de Permanganimetría⁴⁹ y Colorimetría.⁵⁰**

III.5. Resumen y revisión final de resultados obtenidos

Recapitulación de los resultados para el planteamiento de las conclusiones.

⁴⁹ Orozco D. Fernando.(1970). "Análisis Químico Cuantitativo", Editorial Porrúa, 7ª. Edición, México, Capítulo 22, Págs. 307-323.

⁵⁰ Melvin K. Muir and Terrell N. Andersen, (1977). "Determination of Ferrous Iron in Copper Process Metallurgical Solutions by O-Phenanthroline, Metallurgical Transactions B, September, USA. Págs. 517-518.

Capítulo IV

Resultados y Análisis

IV.1 Resultados de caracterización de mineral y concentrado

Los resultados del análisis químico cuantitativo por espectrofotometría de absorción atómica muestran que el concentrado posee una ley de cobre de 20% y 30% de hierro.

Los resultados del análisis Difracción de Rayos X (Fig. 13 y 14.) muestran que los compuestos contenidos en el mineral de pirita así como en el concentrado de flotación son los siguientes:

Tabla 2. Resultados del análisis por Difracción de Rayos X del mineral de pirita.

Pirita	FeS_2
Kyanite	Al_2SO_5

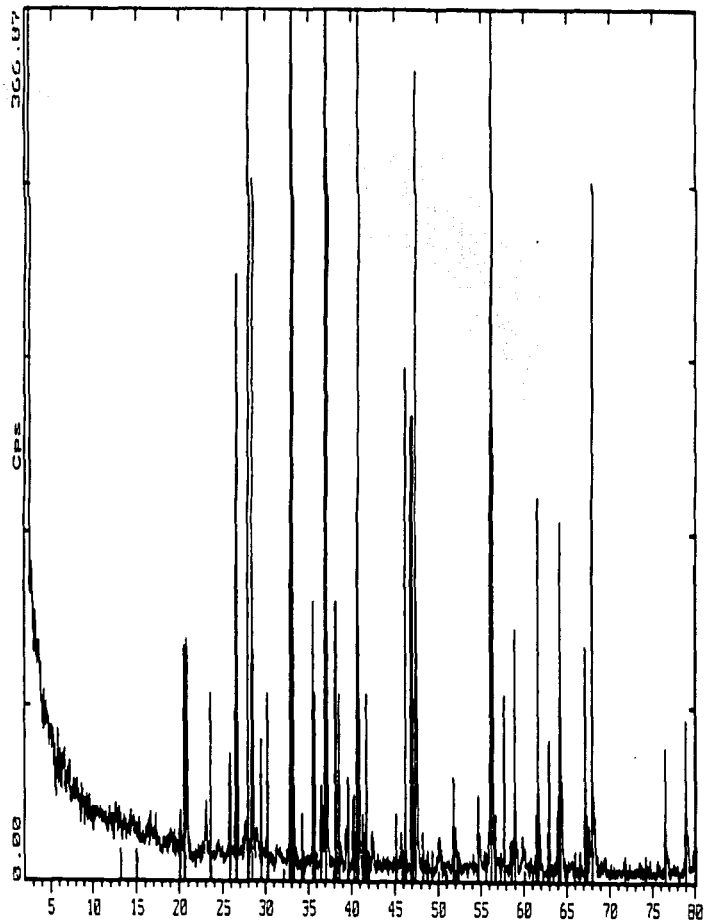
Tabla 3. Resultados del análisis por Difracción de Rayos X del concentrado de cobre

Calcopirita	$CuFeS_2$
Pirita	FeS_2
Pirrotita	FeS
Cuarzo	SiO_2

TESIS CON
FALTA DE COPIAR

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 22-Apr-2002 14:57

Z-Theta - Scale



C:\USER\DATAN\PIR-LIX.RPA PIR-LIX (CT: 0.6s, SS 0.020dg, WL 1.5406Ao, TC Fcom)
42-1340 • FeS2 Pyrite (WL 1.5406Ao)
11-0046 | Al2SiO5 Kyanite (WL: 1.5406Ao)

Figura 13. Difractograma de la Pirita

2-Theta - Scale

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 24-Apr-2002 11:35

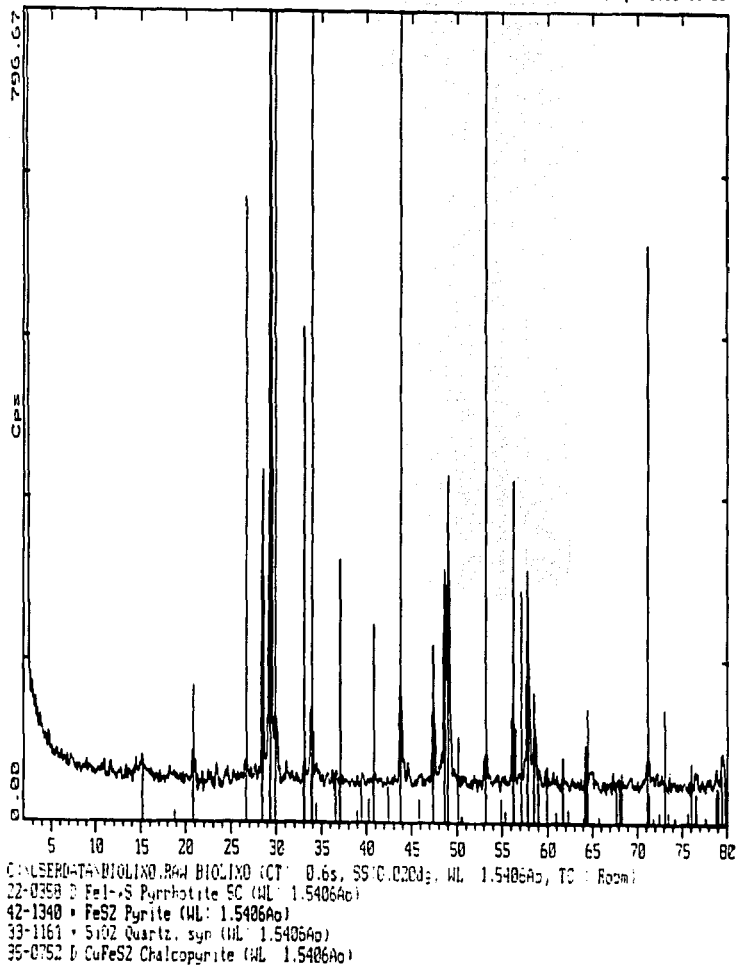


Figura 14. Difractograma del concentrado

Para los análisis de Fluorescencia de Rayos X se realizó una prueba semi-cuantitativa debido a delimitación de muestras patrón.

Tabla 4. Resultados del análisis por Fluorescencia de Rayos X de la pirita.

PORCENTAJES DE LAS ESPECIES QUIMICAS			
Fe	35.2	%	Cl 0.053 %
S	48.1	%	
PbO ₂	0.560	%	
SiO ₂	13.3	%	
CaO	1.97	%	
Al ₂ O ₃	0.711	%	
K ₂ O	0.142	%	Error St. 3 %

Tabla 5. Resultados del análisis por Fluorescencia de Rayos X del concentrado

PORCENTAJES DE LAS ESPECIES QUIMICAS			
Cu	26.8	%	Ti Traza ppm
Fe	25.0	%	
S	42.7	%	
PbO ₂	2.0	%	
SiO ₂	1.96	%	
CaO	1.03	%	
Al ₂ O ₃	0.450	%	
K ₂ O	0.147	%	Error St. 3 %

Debido a que la prueba fue semicuantitativa y el equipo mostró un error de 3%, de ahí que no coincidan con los datos de análisis por espectrofotometría de absorción atómica.

Análisis granulométrico

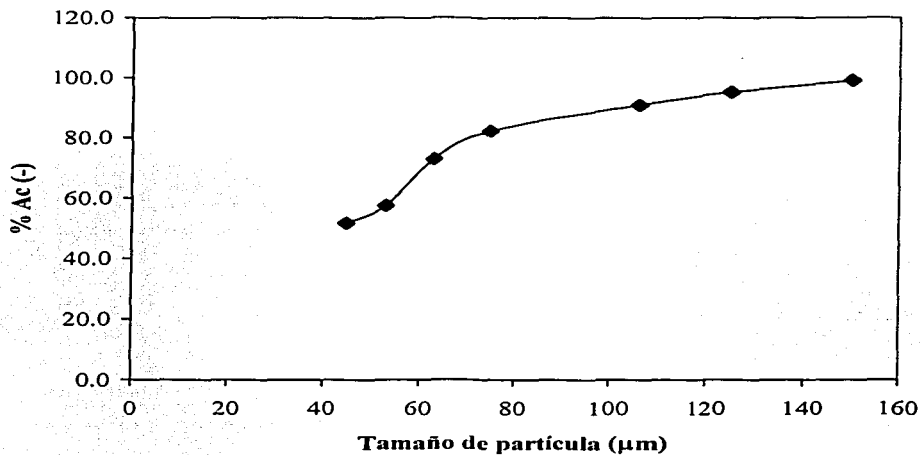
Solamente se realizó análisis granulométrico del concentrado de sulfuros ya que el mineral de pirita no se usó en el proceso de biolixiviación y motivo por el cual no posee relevancia.

La distribución del tamaño de partícula se muestra en la Tabla 6 donde se observa que el tamaño de partícula promedio esta por debajo de las -140 mallas, en las cuales se alcanza el 82.3% del acumulado negativo, o sea, que el 80% de las partículas del concentrado tienen un diámetro menor a 75 μ m.

Tabla 6. Resultados del análisis granulométrico del concentrado.

Intervalo de Mallas	# Malla	Tamaño de Partícula μm	Peso (g)	% Retenido	% Ac (+)	% Ac (-)
+100	100.0	150.0	1.5	1.1	1.1	98.9
-100+120	120.0	125.0	5.3	3.8	4.9	95.1
-120+140	140.0	106.0	5.9	4.2	9.1	90.9
-140+200	200.0	75.0	12.1	8.6	17.7	82.3
-200+250	250.0	63.0	13.2	9.4	27.1	72.9
-250+350	350.0	53.0	21.5	15.3	42.4	57.6
-300+400	400.0	45.0	8.1	5.8	48.2	51.8
-400	-400.0	38.0	72.6	51.8	100.0	0.0
Total			140.2			

En la gráfica 1 se muestra la distribución total de acuerdo al porcentaje de acumulado negativo.



Gráfica 1. Porcentaje de acumulado negativo vs tamaño de partícula

Es importante conocer el tamaño de partícula ya que éste indica la calidad del proceso de molienda, o sea, si el tamaño de liberación de valores de mena en el mineral es el ideal o se ha llegado a la sobre molienda.

La adecuada liberación de metálicos en la lixiviación aumenta conforme existe un tamaño de partícula pequeño y una reducida cantidad de ganga en el mineral, ya que la presencia de ésta pudiera implicar un gasto de ácido en la disolución de otras especies. Con base en lo anterior el tamaño de partícula alcanzado es ideal para el proceso además de tener una cantidad reducida de ganga (Tabla 4).

IV.2 Muestreo

La zona de "Los Azufres" es un área de alteración hidrotermal formada en su mayor parte por calcosilicatos. Esta zona sobresale por manifestaciones hidrotermales superficiales (géiser y lagos geotérmicos). La evolución de las alteraciones hidrotermales en "Los Azufres", pudiera ser un modelo de comportamiento hidrotermal en ciertos depósitos de menas sulfurosas que se dan por ebullición y oxidación de los fluidos hidrotermales en zonas donde se aproximan a mantos magmáticos.

Los pozos elegidos para muestreo fueron los pozos A-5, A-17, A-3, A-2, A-19 (Fig. 15). El muestreo se realizó con ayuda de un brazo. Se hizo un muestreo en la parte superficial para obtener microorganismos aerobios y seleccionar de esta manera termófilos extremos, ya que estos se desarrollan bajo este tipo de condiciones. La temperatura de los pozos se aproximan a los 93° C.



Figura 15. Lagunas Geotérmicas de la Comisión Federal de Electricidad

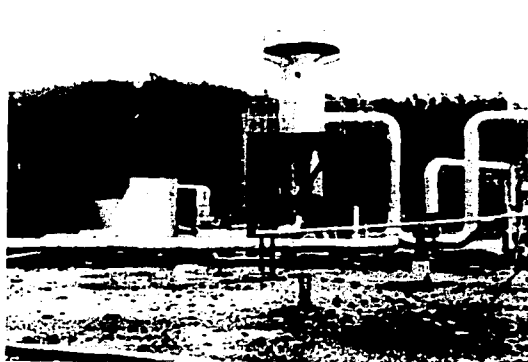
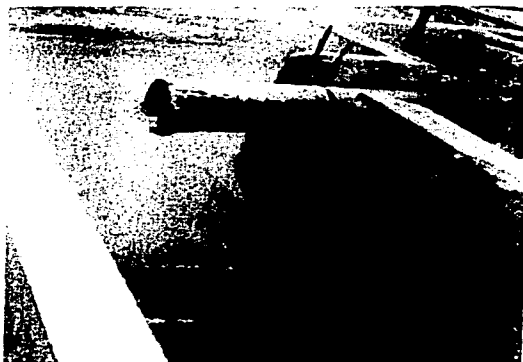
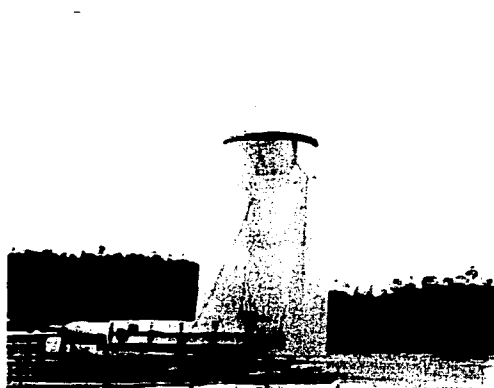


Figura 16. Pozos, lagunas geotérmicas e infraestructura de Pozos de Comisión Federal de Electricidad



Figura 17. Ecosistema al inicio del proyecto Mayo 2000



Figura 18. Ecosistema erosionado Marzo 2002

Es muy importante observar las Fig.16, 17 y 18 ya que en tan solo 2 años la modificación del ecosistema sufrió considerables cambios, a medida que la zona geotérmica ha sido sobre explotada por parte de C.F.E.

IV.3 Resultados de la fase de adaptación

IV.3.1 Caracterización de los microorganismos

El primer acercamiento para la clasificación de estos microorganismos dentro del dominio Arquea se basa en su localización en hábitats de condiciones extremas (altas temperaturas) aproximándose a las condiciones de desarrollo de los microorganismos termófilos y termófilos extremos.

El segundo acercamiento a una clasificación aproximada son los resultados arrojados por un análisis morfológico del cultivo con ayuda del microscopio óptico, que permite observar la forma que presentan este tipo de microorganismos y las características de respuesta a la tinción de Gram. El resultado de dicha tinción indicó que el tipo de Gram del cultivo es negativo, lo cual reduce las posibilidades dentro del árbol de las arqueobacterias.

Cabe mencionar que se observó un solo tipo de morfología del cultivo obtenido originalmente durante el muestreo. La morfología corresponde a cocos lobulados e irregulares, los cuales son similares a especie de arquea llamada *Sulfolobus*.

En la Figura 19 se puede observar la morfología del cultivo en donde se aprecia cierta semejanza con las imágenes de la Fig. 8 (Ver Sec. II.3). La forma del cultivo es de esferas coccas con un tamaño aproximado de 2 μm y de Gram negativo y con la capacidad de desarrollarse en condiciones de laboratorio, en la Tabla 7 se muestran las características de los microorganismos estudiados.

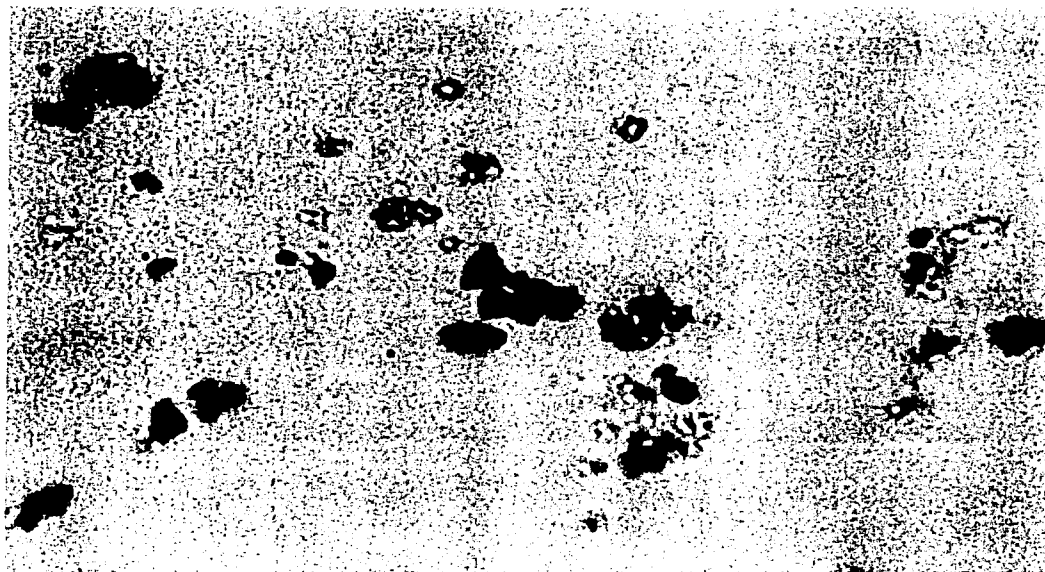


Figura 19. Morfología del cultivo a las 12 hr de incubación visto a 400x.

Tabla 7. Características del cultivo

Origen	Morfología	Tipo de crecimiento	Diámetro (µm)	pH	Temperatura °C	Gram
Muestra bacteriana de los Azufres	Cocos lobulados irregulares	Quimiolitotótrofo aerobio	2	1.5-4	92	negativo

Las condiciones necesarias para el desarrollo del género *Sulfolobus* son condiciones de pH ácido, presencia de sulfuros para su oxidación y utilización como fuente de energía, temperatura de 70° C aproximadamente y oxígeno necesario para su metabolismo. Además del hecho que estos microorganismos se han reportado como capaz de realizar oxidación de sulfuros y liberación de valores metálicos (Biolixiviación).⁵¹

Con base en las características antes mencionadas, las condiciones para la fase de adaptación del cultivo experimental son fueron establecidas a partir del conocimiento de que los termófilos extremos pueden desarrollarse a estas condiciones.

IV.3.2 Desarrollo en los diferentes medios de cultivo

El método desarrollado para la fase de adaptación (Fig.20) permitió una óptima manipulación de los cultivos teniendo en cuenta lo siguiente:

- Adición de medio base para compensar la pérdida por evaporación en el sistema.
- Análisis visual de los matraces en donde se lleva a cabo cada tratamiento
- Traslados para la medición de pH y potencial.
- Manejo de un número máximo de muestras de 16

⁵¹ Gould & Corry (1980). "Microbial growth and survival in extremes of environments". Academic Press. USA. Pág.42.

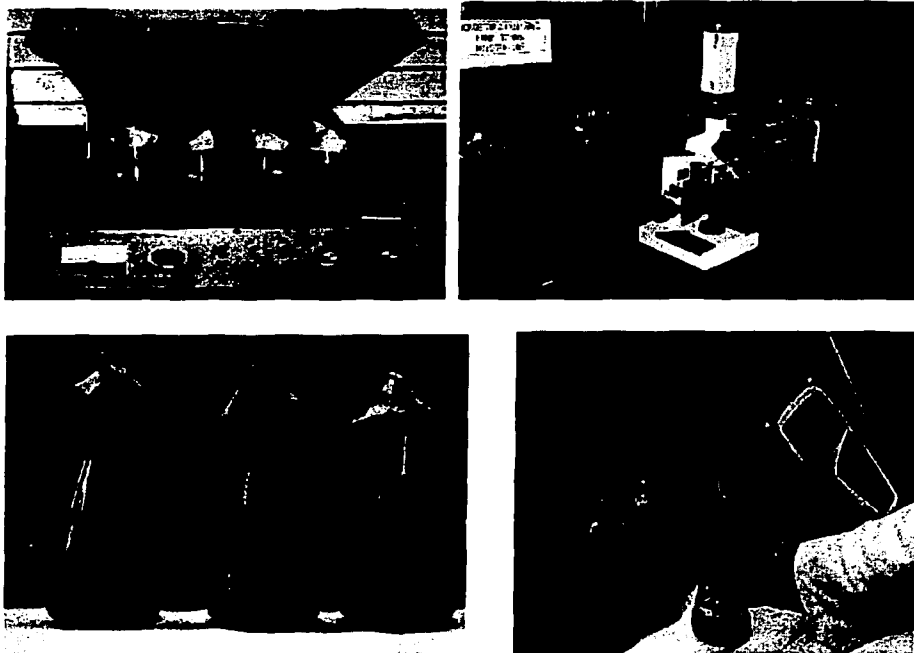
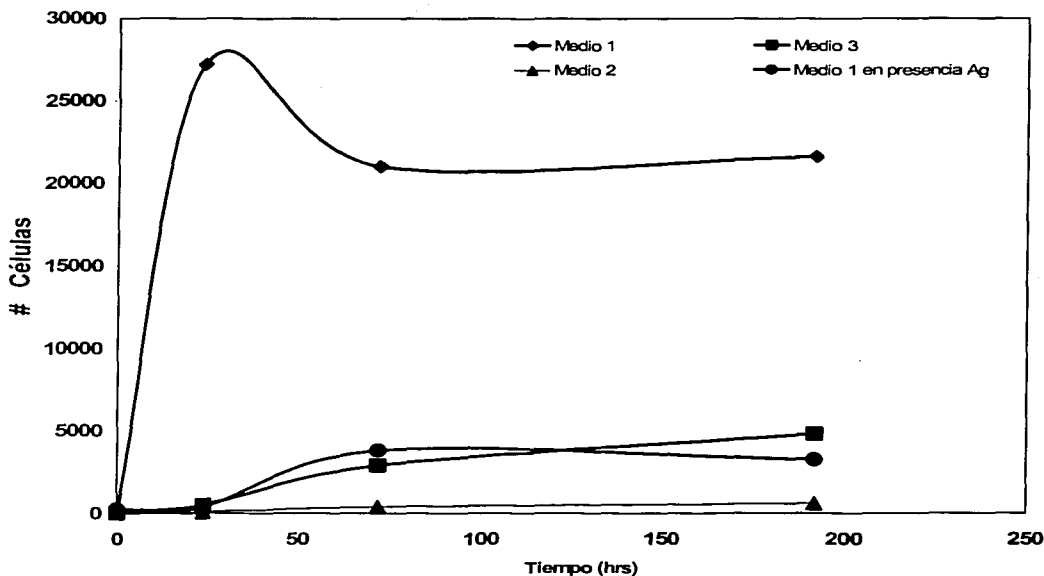


Figura 20. Incubadora empleada para la fase de adaptación y equipo de trabajo

Al realizar las mediciones de pH o adición de medio de cultivo estas se realizaron cerca de un mechero para trabajar dentro de una zona aséptica, para evitar algún tipo de contaminación del medio, es difícil que otro tipo de microorganismos llegaran a desarrollarse en el medio, bajo esas condiciones.

Los resultados de la fase de adaptación de los microorganismos se muestran a continuación indicando el grado de adaptabilidad del cultivo nativo a condiciones de laboratorio.

En la Gráfica 2 se observa que el desarrollo bacteriano más propicio durante la fase de adaptación corresponde al Medio 1 que es un medio que contiene pirita y se asemeja la geología de los pozos de donde fueron muestreados los microorganismos. Los medios 2 y 3 no alcanzaron un crecimiento favorable para ser seleccionados como medio base.



Gráfica 2. Crecimiento bacteriano en diferentes medios de cultivo

La reducción en el número de células alrededor de las 48 hrs. en el Medio 1 se debe a que muchas células empiezan a adherirse a las partículas del mineral. Como se observa el sistema se estabiliza después de ese período de tiempo.

El Medio 2 es recomendado en la literatura como el medio favorable para el desarrollo de microorganismos termófilos extremos, pero este no contiene una fuente de nitrógeno y ninguna fuente energética (requerimiento de sulfuros).

El Medio 3 posee una fuente de carbono el cual también se reporta como una alternativa para este tipo de bacterias. Ambos medios 2 y 3 alcanzan un pobre desarrollo del cultivo, el tiempo en que se alcanza el máximo crecimiento corresponde a las 72 hrs.

IV.3.3 Efecto del ion Ag(I)

La adición de sulfato de plata a medios que contenían pirita indica que esta es altamente tóxica (Gráfica 2) para el desarrollo propicio de termófilos extremos, ya que su población no alcanza más allá de las 4000 células por matraz reduciendo en siete veces la población con respecto a una muestra de adaptación del medio 1. El objetivo de adicionar plata y verificar su toxicidad se estableció debido a que en algunas vetas de calcopirita la plata viene asociada a este mineral y en un proceso de biolixiviación esta puede llegar a afectar el proceso.

Aunque la forma más común de encontrar la plata en las vetas de cobre es en forma de sulfuro (Ag_2S), se utilizó sulfato de plata por contener el mismo ión Ag(I) y ser más soluble en solución acuosa que el sulfuro.

IV.4 Resultados del proceso de biolixiviación

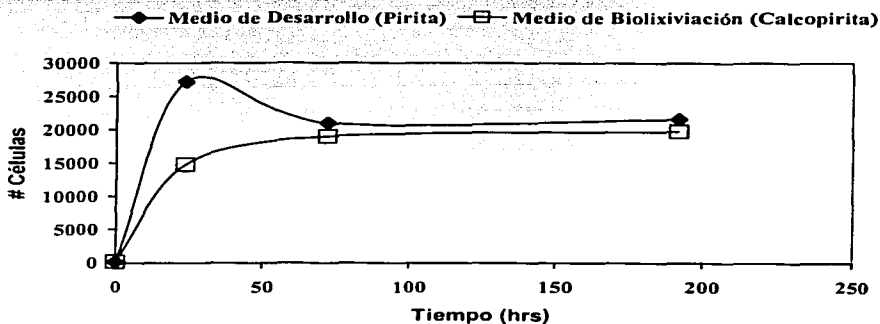
IV.4.1 Adaptación de los microorganismos en proceso de biolixiviación

Una vez adaptados los microorganismos en el medio 1 y después de 3 ciclos se iniciaron traslados a matraces de biolixiviación donde se encontraron los siguientes resultados:

Los microorganismos tienen una cinética de desarrollo muy rápida en el proceso de biolixiviación, ya que al igual que en el medio 1 no varían mucho las condiciones con respecto a su hábitat natural.

En la Gráfica 4 se muestra que en un lapso de 24 hrs. se presentan elevados números de células indicando rápido crecimiento bacteriano e inicio del proceso de biolixiviación.

Es posible que debido a que la calcopirita es un compuesto termodinámicamente más estable que la pirita, las bacterias ya que obtendrían su energía más fácilmente de la descomposición de pirita que de la calcopirita.



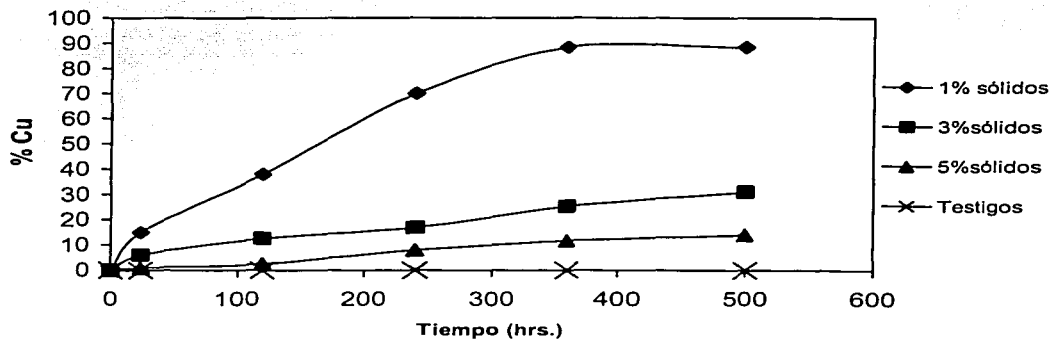
Gráfica 3. Adaptación de las primeras horas de incubación y biolixiviación

En la Gráfica 3 se puede observar que en ambas curvas de desarrollo de los microorganismos alcanzan un equilibrio en la población alrededor de 20 000 células.

Este equilibrio no se ve alterado a menos que la modificación de uno de los factores principales (temperatura ó pH) cambie las condiciones del proceso.

IV.4.2 Capacidad biolixivante de los microorganismos a distintos porcentajes de sólidos

Los matraces de proceso de biolixiviación presentan en un lapso de 24hrs. una coloración verde, correspondiente a las sales o iones de hierro y cobre presentes en el concentrado que empiezan a pasar rápidamente a solución. Esta afirmación se realiza tomando como base los datos obtenidos de los resultados de los análisis de absorción atómica para cuantificar la cantidad de hierro y cobre que pasan a solución.



Gráfica 4. Recuperación de cobre a distintos porcentajes de sólidos

Como se observa en la Gráfica 4 los porcentajes de recuperación de cobre en solución muestran resultados a las pocas horas de proceso, pero, solamente los matraces con porcentajes de sólidos de 1% logran llevar a cabo una lixiviación con altas recuperaciones de cobre. Las muestras con porcentajes de sólidos de 3 y 5% alcanzan a lixiviar el 30% y 15% de Cu respectivamente (Tabla 8).

Tabla 8. Porcentajes de recuperación de cobre

% Cu	Matraces	Matraces	Matraces	Matraces
Tiempo (hrs.)	Testigos	1% sólidos	3% sólidos	5% sólidos
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24.0	0.0	15.0	6.0	1.0
120.0	0.0	38.0	12.6	2.7
240.0	0.0	70.0	17.0	8.0
360.0	0.0	88.5	25.3	11.7
500.0	0.0	88.5	31.0	14.0

En el transcurso de 4 días se generan algunos compuestos como las jarositas o azufre elemental sobre la superficie del concentrado evitando así una interacción entre mineral-bacteria-disolvente y es probablemente debido a esto, que en los matraces de 3 y 5% de sólidos donde existe una alta cantidad de hierro en solución el proceso lixivante se detenga o genere muy poca recuperación de cobre en solución comparados con los matraces de 1%.

Los matraces testigo no muestran indicios de lixiviación por ataque de ácido o por ataque de Fe(III) que se haya lixiviado. Lo que indica el papel fundamental de los microorganismos en el inicio de la biolixiviación.

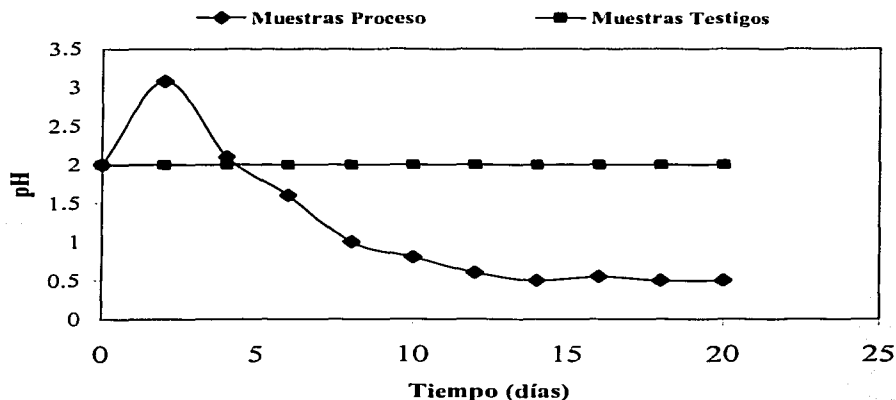
De la tabla anterior se puede afirmar que en esta lixiviación no se pueden alcanzar valores mayores al 30% de recuperación de cobre si se incrementa el porcentaje de sólidos más allá del 3%, aunque en publicaciones internacionales como la de Gómez-Ballester⁵² se alcanzan recuperaciones de 80% Cu con cantidades de arriba del 10% sólidos, con un microorganismo termófilo extremo denominado *Sulfolobus rivotincti*.

La mayoría de las investigaciones revisadas reportan muy pequeñas cantidades de sólidos para utilizarse en biolixiviación para evitar bajas recuperaciones de cobre. Algunos autores publican el mismo efecto al utilizar porcentajes de sólidos de más del 3%, pero atribuyen la reducida recuperación de cobre debido a inhibición bacteriana cuando existen más 2000 ppm de Fe³⁺ o potenciales de electrodo mayores a 400 mV⁵³.

⁵² Gómez E, Ballester A, Gonzalez and M.L. Blázquez, (1999), Leaching capacity of a new extremely thermophilic microorganism, *Sulfolobus rivotincti*, Hydrometallurgy 52. Págs. 349-366.

⁵³ Escobar B, Casas J, Mamani J, Badilla-Ohlbaum R, (1993), Bioleaching of a copper concentrate with *Sulfolobus BC*, Biohidrometallurgical Technologies, Volume I.

IV.4.3.1 Variación del pH en función del tiempo



Gráfica 5. Variación del pH con respecto al tiempo.

El pH en el proceso de biolixiviación presentó el siguiente perfil:

- Valor inicial pH = 2.
- Incremento hasta pH = 3 en un periodo de 2 días.
- Durante este periodo se reporta: a) Incremento en la población bacteriana, b) liberación de iones de Cu y Fe en solución, c) Incremento en el potencial de óxido-reducción.
- Al pasar el tercer día de proceso el pH comienza a disminuir.
- La población bacteriana alcanza su máximo desarrollo.
- Existe un cambio de pendiente en el perfil de recuperación de cobre.

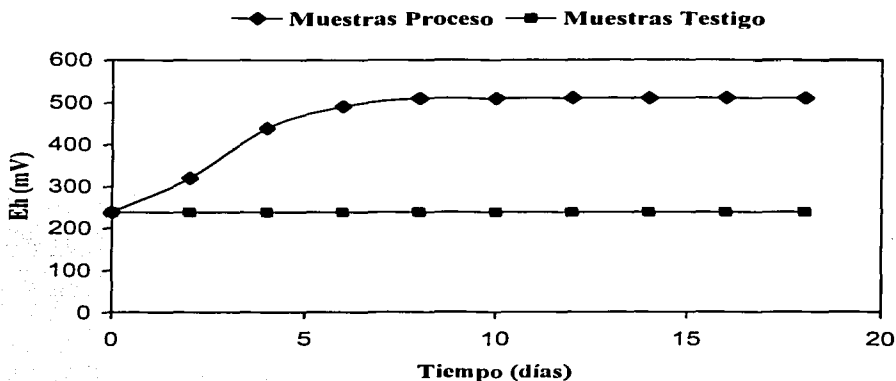
- Aumenta el perfil de recuperación de Fe predominando una mayor concentración de iones férricos que de iones ferrosos.
- El pH permanece constante a partir del décimo día con un valor de 0.5.
- Durante el transcurso de este periodo se alcanzan las máximas recuperaciones de cobre y de hierro.
- El pH permanece constante en las muestras testigo.

El pH comienza a aumentar probablemente debido al consumo de H^+ utilizado por la bacteria para llevar cabo la biolixiviación, ya que de no ser así, se podría pensar en una lixiviación química (en ausencia de bacterias) en donde el ataque al concentrado por parte del ácido provocaría un gasto al atacar a las especies químicas de la calcopirita, lo cual no ocurrió ya que el pH no cambia en los muestras testigo y no se presentó una liberación de valores metálicos.

El decremento en el pH se puede justificar verificando que existe un aumento en la concentración de iones férricos en solución lo cual permite según los mecanismos de biolixiviación el regenerar el ácido sulfúrico.

IV.4.3.2 Variación del potencial de óxido-reducción en función del tiempo

En la Gráfica 6 se observa que a partir de un potencial inicial de 250mV este se incrementa y se mantiene constante a partir del quinto día de proceso. Este potencial no cambia aun cuando existe una transformación de las especies químicas durante la biolixiviación.



Gráfica 6. Variación del potencial de óxido-reducción con respecto al tiempo.

Natarajan⁵⁴, Palencia⁵⁵ y J.V. Wiertz⁵⁶ proponen que la formación de pares galvánicos debido a la existencia de diversas fases minerales, generan potenciales altamente negativos que son preferibles en la lixiviación, ya que a partir de estos en presencia de un fuerte oxidante es posible disolver los valores metálicos de la calcopirita.

La modificación de los valores de potencial de electrodo sucede principalmente debido a diferentes equilibrios termodinámicos en el sistema y/o a fenómenos galvánicos como se mencionó. Las diversas especies químicas en el concentrado se encuentran en proporciones muy reducidas pero posiblemente estas pueden ser capaces de generar estos fenómenos.

⁵⁴ Natarajan K.A. (1992). "Electrobiorecovery of base metal sulfides", Metallurgical Transactions B, No. 23. Págs. 5-11.

⁵⁵ Palencia L., Won P.Y. and Miller J.D. (1991). "The electrochemical behavior of semi conducting natural pyrite in presence of bacteria", Metallurgical Transactions B, No. 22. Págs. 765-774.

⁵⁶ J.V. Wiertz, Inez Godoy, Blanca Escobar, (1994). "Dissolved iron equilibrium in bacterial leaching systems", Hydrometallurgy 94 Symposium, Ed. Chapman & Hall. Págs. 385-393.

IV.4.3.3 Análisis de los residuos de biolixiviación

Conocidos los porcentajes de recuperación de cobre, se realizaron estudios complementarios de análisis de Difracción de rayos X y Fluorescencia de rayos X a los residuos de biolixiviación, con el objetivo de conocer las especies presentes en la biolixiviación necesarias para un estudio completo del sistema.

De los diagramas de la Fig.21a –Fig.21g. puede resumirse lo siguiente:

- El difractograma 21a. corresponde a la pirita utilizada en la fase de adaptación y se observa la transformación que sufrió el componente inicial de pirita (Fig. 14) al transformarse en goetita.
- Los difractogramas 21b a 21g corresponden a diferentes residuos de biolixiviación, estos muestran repetitividad de algunas especies químicas al final de proceso:

21b → Cp, Py, J, Go, S

21c → Cp, CuS₂, S, J

21d → S, J, Cu₂S,

21e → S, J, Cp

21f → S, J, Cp

21g → Cp, Go, Cu₂S

donde: Cp= calcopirita, Py = pirita, J= jarosita, S= azufre elemental, CuS₂=sulfuro de cobre, Cu₂S= calcocita, Go= goetita

- Los difractogramas 21b. al 21g. poseen residuos de calcopirita lo cual indica que no se llevo a cabo una lixiviación al 100%.

- La presencia de azufre elemental indica que existe una oxidación parcial del sulfuro antes de pasar a SO_4^{2-} .
- Las jarositas que se observan en los análisis de difracción confirman la hipótesis de varios investigadores que en procesos de lixiviación en ambientes ácidos es posible se generen éstas.
- No existe presencia en los residuos de otros elementos como silicio, aluminio o plomo, lo que indica que pasaron a solución o no fueron detectados por el equipo.
- El potasio y calcio pasan a formar parte de las jarositas.

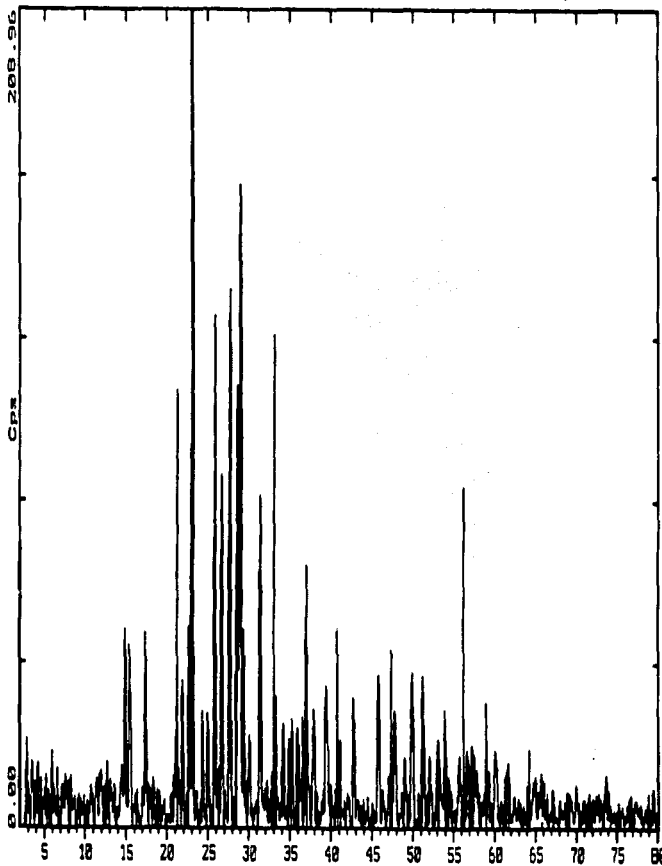
Aunque el hierro y el cobre pueden observarse en diversos compuestos la concentración de cada uno de estos elementos se ha reducido considerablemente en los residuos.

En las Tablas 9 y 10 se muestra una comparación entre la concentración de los elementos de una muestra con porcentaje de sólidos de 1% analizado por Fluorescencia de Rayos X y su respectivo difractograma.

Cabe mencionar que el porcentaje de elementos presentes en los residuos a mayores porcentajes de sólidos no se indican debido a errores de calibración del equipo.

2-Theta - Scale

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM, MÉXICO 24-Apr-2002 13:23



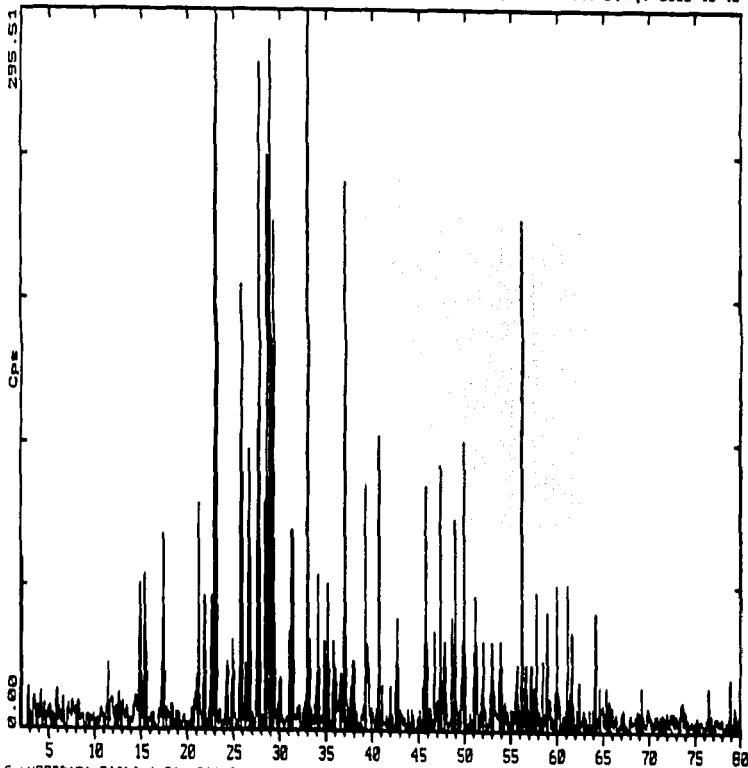
C:\USER\DATA\BIOL\X1.RAW BIOL\X1 (CT: 0.6s, 59°0.020dq, WL: 1.5405Ao, TC: Room)
42-1340 * FeS2 Pyrite (WL: 1.5405Ao)
17-0536 0 Fe(OH) Goethite (WL: 1.5405Ao)

Figura 21a. Residuos de la biotitxiviación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2-Theta - Scale

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 24-Apr-2002 12:45



C:\USER\DATA\BIOLIX1.RAW BIOLIX1 (CT: 0.6s, SS:0.020dg, WL: 1.5406Ao, TC : Room)
 35-0752 D CuFeS2 Chalcopyrite (WL: 1.5406Ao)
 42-1348 • FeS2 Pyrite (WL: 1.5406Ao)
 10-0443 D KFe3(SO4)2(OH)6 Jarosite (WL: 1.5406Ao)
 17-0536 D FeO(OH) Goethite (WL: 1.5406Ao)
 8-0247 I S -Sulfur, syn (WL: 1.5406Ao)

Fig. 21b. Residuos de biolixiviación.

TESIS CON
 FALTA DE ORDEN

Z-Theta - Scale

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 22-Apr-2002 14:54

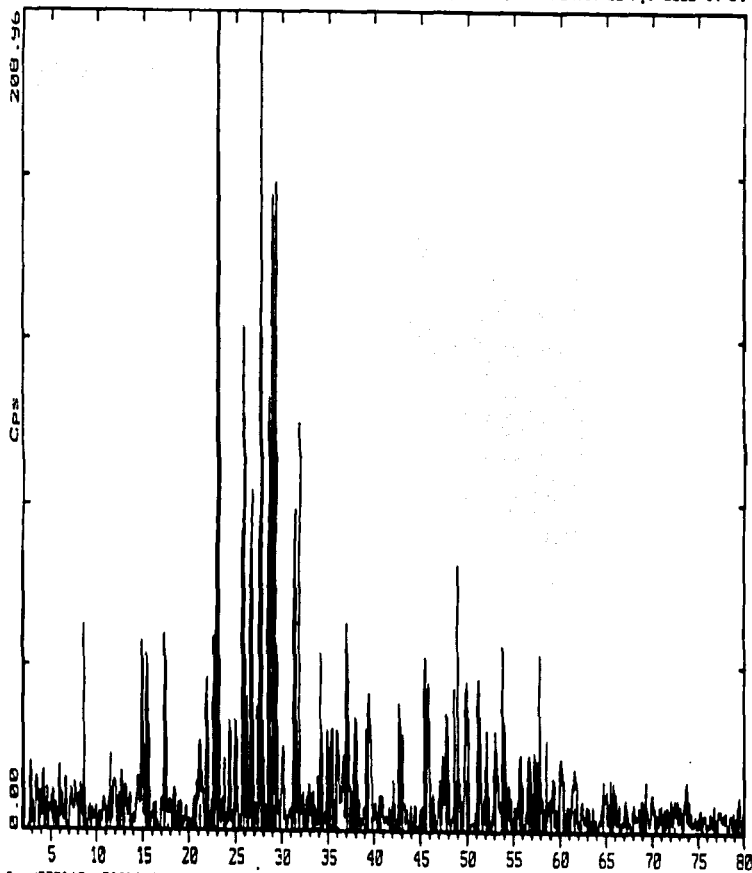


Figura 21c. Residuos de biolixiviación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C:\USER\OTAN\BIOLIXI\RAW\BIOLIXI (CT 0.6s, SS:0.020d, WL: 1.5406Ao, TC : Room)

35-0752 0 CuFeS₂ Chalcopyrite (WL: 1.5406Ao)

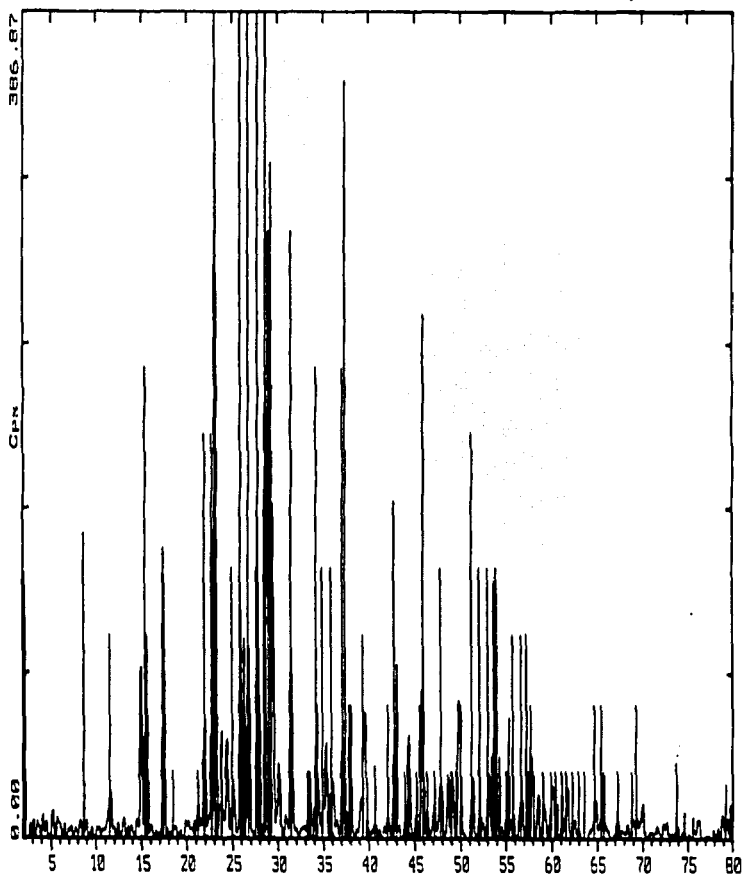
33-0492 0 CuS₂ Copper Sulfide (WL: 1.5406Ao)

8-0247 1 S -Sulfur, syn (WL: 1.5406Ao)

35-0561 1 CaCu₄(SO₄)₂(OH)₆.3H₂O Devilline (WL 1.5406Ao)

Z-Theta - Scale

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 22-Apr-2022 14:56



C:\USERDATA\BIOLIX-2\RAW\BIOLIX-2 (CT: 0.6s, 95°C, 0.020g, WL: 1.5406Ao, TC: Room)
8-0247 1 S -Sulfur, syn (WL: 1.5406Ao)
35-0561 1 CaCu₄(SO₄)₂(OH)₆·3H₂O Devilline (WL: 1.5406Ao)
24-0857 D Cu₂S Chalcocite, high (WL: 1.5406Ao)

Figura 21d. Residuos de biolixiviación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

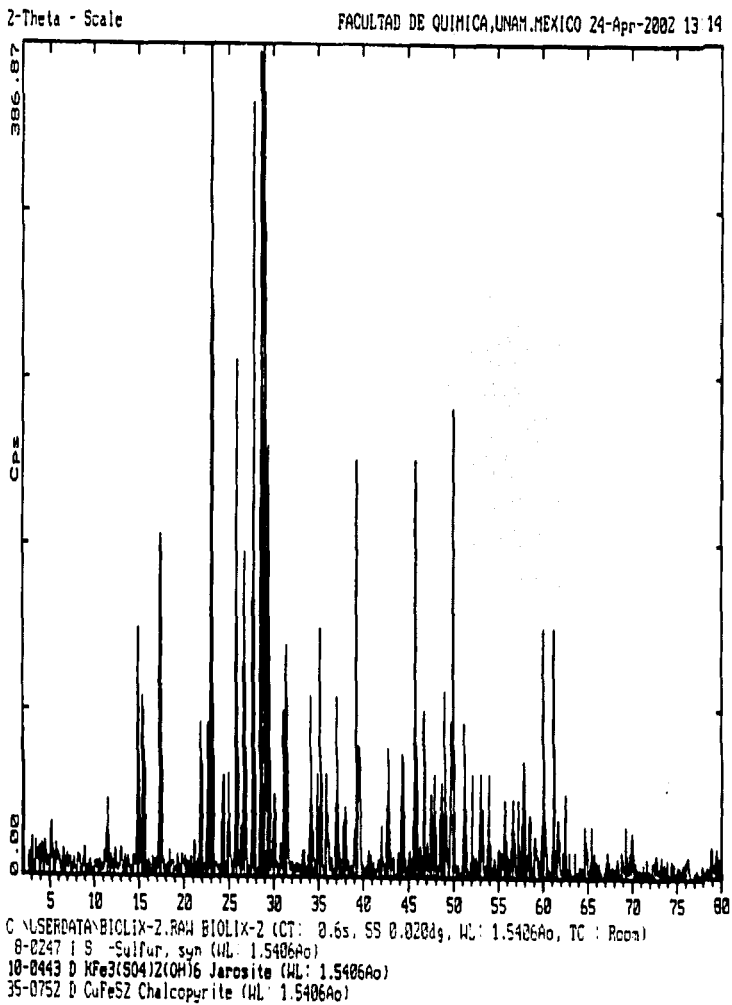
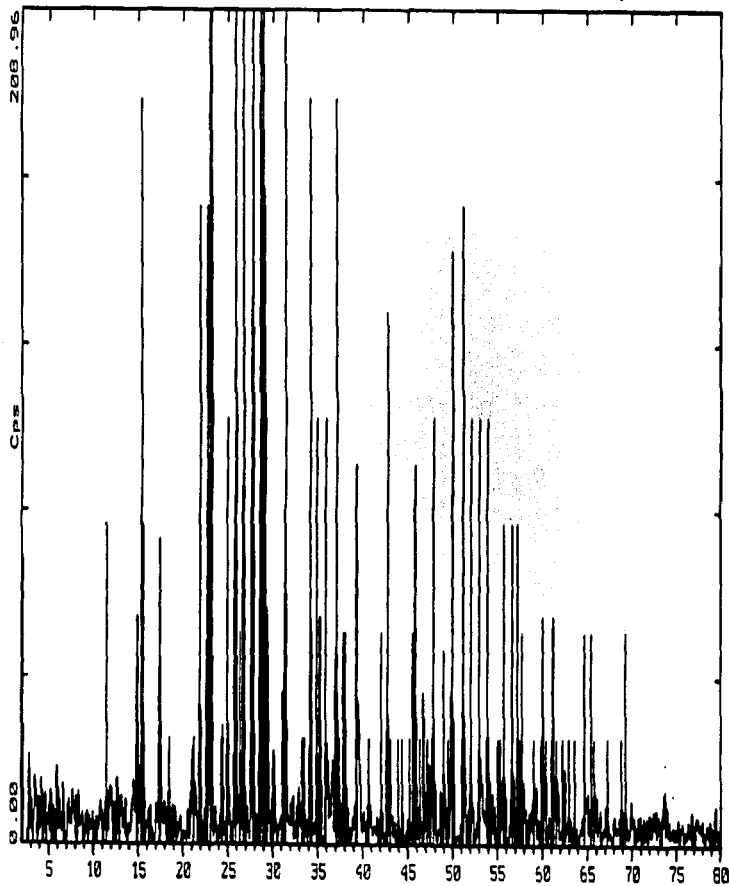


Figura 21c. Residuos de biolixiviación.

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

2-Theta - Scale

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 24-Apr-2002 13:22



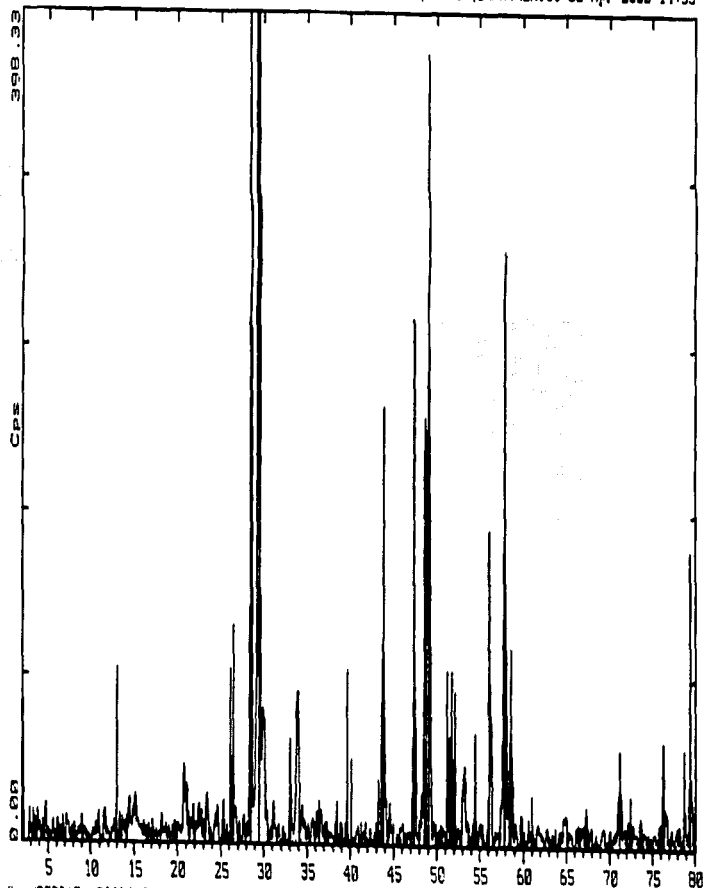
C:\USERGAT\BIO\IX1.FAQ\BIOLIX1 (CT: 0.6s, SS:0.020deg, WL: 1.5406Ao, TC: Room)
 6-0247 1 S -Sulfur, syn (WL: 1.5406Ao)
 10-0443 0 KFe3(SO4)2(OH)6 Jarosite (WL: 1.5406Ao)
 35-0752 0 CuFeS2 Chalcopyrite (WL: 1.5406Ao)

Figura 21f. Residuos de biolixiviación.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

2-Theta - Scale

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM, MEXICO 22-Apr-2002 14:53



CONSERVATARIO BLOQUE RAH BLOQUE (CT 0.6s, SS:0.023s, WL 1.5406Ao, TC : Pcom)
 9-2423 0 CuFeS2 Chalcopyrite (WL: 1.5406Ao)
 33-0491 Cu8S5 Geerite (WL: 1.5406Ao)
 27-1131 1 Cu2Se -Copper Selenide (WL: 1.5406Ao)

Figura 21g. Residuos de biotixivación.

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN

Tabla 9. Resultados del Análisis por Fluorescencia de Rayos X de los residuos de biolixiviación

PORCENTAJES DE LAS ESPECIES QUIMICAS			
Cu	0.29	%	Ti 0.015 %
Fe	10.6	%	
S	84.4	%	
PbO ₂	2.32	%	
SiO ₂	1.09	%	
CaO	0.208	%	
Al ₂ O ₃	0.936	%	
K ₂ O	0.359	%	Error St. 3 %

Tabla 10. Resultados del Análisis por Difracción de Rayos X de los residuos de biolixiviación

Calcopirita	CuFeS ₂
Pirita	FeS ₂
Goetita	FeO(OH)
Covelita	CuS
Calcocita	Cu ₂ S
Jarosita de calcio	CaCu ₄ (SO ₄) ₂ (OH) ₆
Jarosita de potasio	KFe ₃ (SO ₄) ₂ (OH) ₆
Azufre elemental	S

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las especies químicas predominantes en los residuos como se observa son el azufre y el hierro (Tabla 9), que se presenta en la forma de sulfuros o jarositas según los resultados por difracción de rayos X. El cobre de sulfuros primarios se ve reducido a pequeñas cantidades, lo que indica que la biolixiviación logró disolver la mayor parte de éste.

Existe un ligero consumo de las especies minoritarias, ya que éstas ahora forman parte de los compuestos conocidos como jarositas.

Los resultados anteriores de los análisis de los residuos de lixiviación en todos los matraces muestran todas las especies químicas mencionadas, pero en análisis semicuantitativo de las especies sólo se tomó en cuenta a los matraces de 1% sólidos debido a que los resultados de los demás residuos (3% y 5% de sólidos) presentan errores de cuantificación.

IV.4.3.4 Análisis de los resultados con ayuda del diagrama de Pourbaix

Para conocer el efecto de los iones en el proceso de biolixiviación es esencial conocer los parámetros de trabajo en donde es posible encontrar ciertas especies químicas. El diagrama de Pourbaix, es una herramienta que permite ubicar las zonas de equilibrio en donde es posible encontrar a ciertos iones a determinados valores de pH y potencial de electrodo. Para conocer los equilibrios de las especies químicas obtenidas en la biolixiviación se elaboraron diagramas de Pourbaix con el software HSC3 Ω de Outokumpu basándose en los resultados del análisis de los residuos.

Los diagramas de Pourbaix fueron elaborados de acuerdo a un elemento matriz y tomando en cuenta cada especie química que tomó parte en el proceso de biolixiviación. Cada diagrama debe ser diseñado tomando en cuenta la temperatura del proceso, ya que ésta puede desplazar algunos equilibrios.

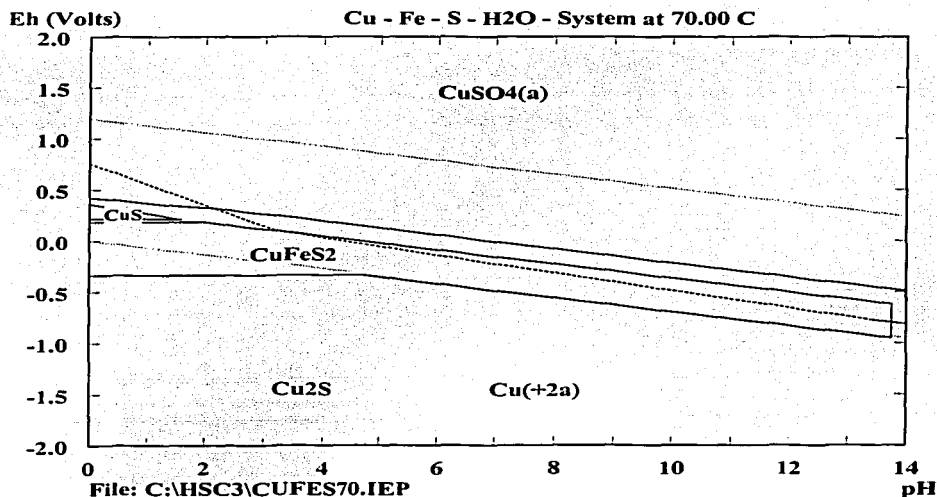


Figura 22. Diagrama de Pourbaix del sistema Cu-Fe-S-H₂O a 70°C.

El diagrama muestra (Fig. 22) las zonas de estabilidad de los compuestos sulfurados de cobre, así como también, la relación existente entre sus principales iones en solución acuosa.

Estos equilibrios son trazados con datos termodinámicos utilizando la ecuación de Nerst. Con base en lo anterior, se puede realizar una aproximación de los equilibrios entre las especies en proceso

y los residuos utilizando el diagrama para ajustarlos como un modelo para la predicción o justificación de los residuos de biolixiviación.

Del diagrama anterior puede observarse lo siguiente:

- Los potenciales obtenidos en el proceso de biolixiviación (no señalados en el diagrama) se localizan entre 240 mV y 500mV e intervalos de pH 0.5 a 2.0.
- La calcopirita presenta una zona de estabilidad a potenciales menores a 250mV (potencial inicial).
- Los residuos de biolixiviación calcocita (Cu_2S) y covelita (CuS) poseen potenciales menores a 400mV.
- Por arriba de los 750mV se encuentra la zona de estabilidad del sulfato de cobre en solución acuosa para este sistema $\text{Cu-Fe-S-H}_2\text{O}$ a 70°C.
- La zona de equilibrio para los sulfatos en los diagramas para los sistemas $\text{S-H}_2\text{O}$ a 70°C y $\text{S-Cu-Fe-H}_2\text{O}$ a 70°C de la Figuras 24 y 25 muestran como límite inferior 250mV.
- Zona de biolixiviación muy cercana al límite existente entre los equilibrios de sulfuros y sulfatos de cobre.

La utilización del software para trazo de diagramas debe ser usado solamente para poder describir un modelo de lo que se puede estar llevando a cabo en un proceso de biolixiviación, ya que como se mencionó los equilibrios pueden desplazarse y no existen especificaciones de software que indiquen en que casos se lleven a cabo estas modificaciones. Por lo que se recomienda usarlo solo para explicar teóricamente los resultados que puedan obtenerse del proceso.

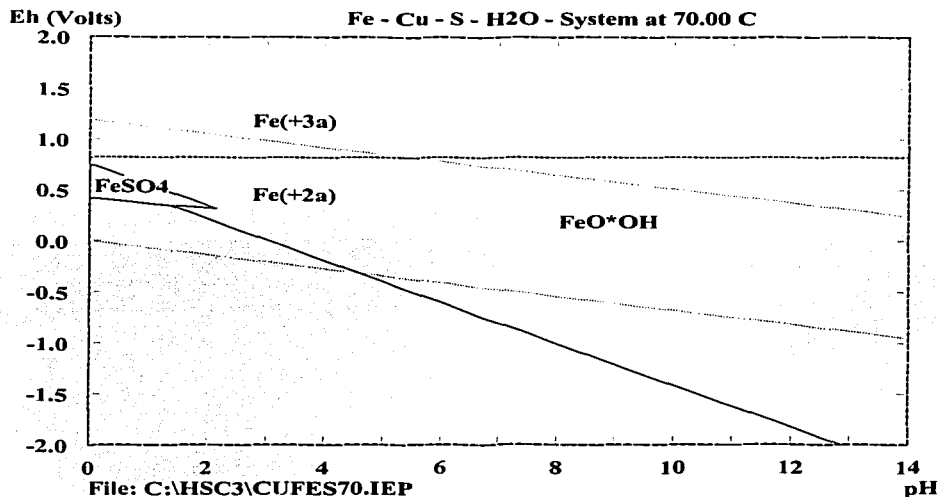


Figura 23. Diagrama de Pourbaix del sistema Fe-Cu -S-H₂O a 70°C.

El diagrama de Pourbaix muestra que el Fe^{3+} coexiste a potenciales mayores a 800mV, lo que indica que debe generarse un potencial de oxidación cercano a este valor para que los iones Fe^{2+} pasen a estado férrico y puedan llevar a cabo la disolución de las especies con potencial negativo.

Aunque en la figura anterior no se muestra la zona de estabilidad de los sulfuros, se observa que los iones férricos se encuentran a valores cercanos a los 800mV, por lo que podría pensarse que los datos o lecturas de potencial tomadas durante la biolixiviación pudieron alcanzar estas magnitudes.

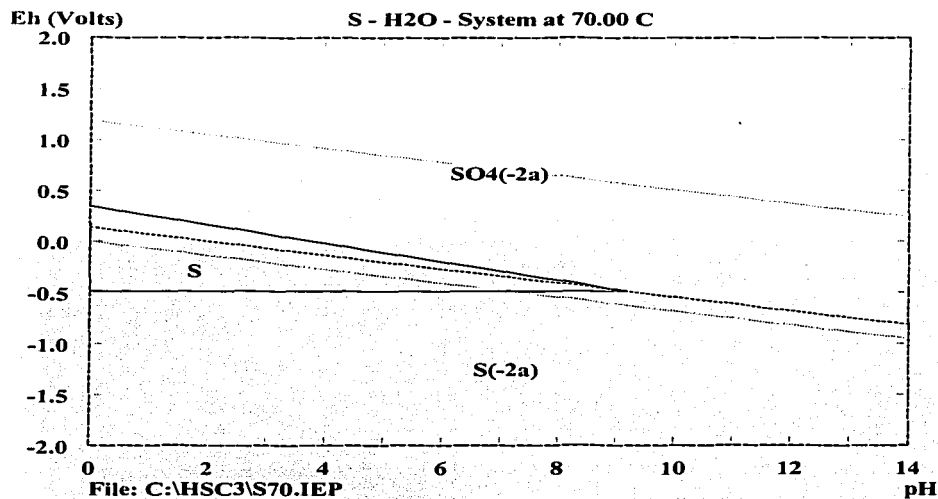


Figura 24. Diagrama de Pourbaix del sistema S-H₂O a 70°C.

Uno de los residuos de biolixiviación fue el azufre, por lo que es importante señalar el equilibrio al que puede coexistir con los sulfuros y los sulfatos.

Mecanismo de reacción indirecto (Secc. II.5)



La Fig. 30 y las reacciones anteriores muestran que el azufre aunque es un producto intermedio de la oxidación parcial de los sulfuros, lo cual justifica su presencia en los residuos de biolixiviación.

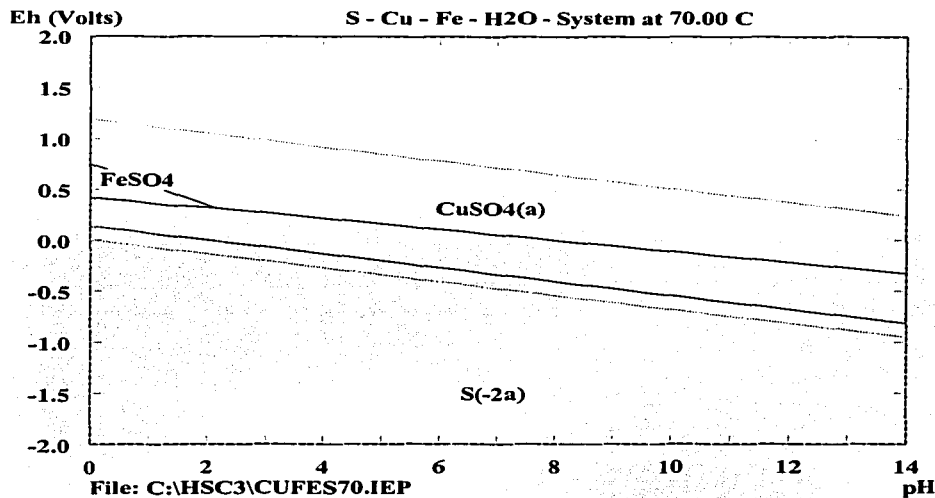


Figura 25. Diagrama de Pourbaix del sistema S -Cu-Fe-H₂O a 70°C.

En el diagrama anterior se muestra de una forma más ilustrativa el equilibrio que puede existir entre los sulfuros y los probables sulfatos que se forman en el proceso de biolixiviación.

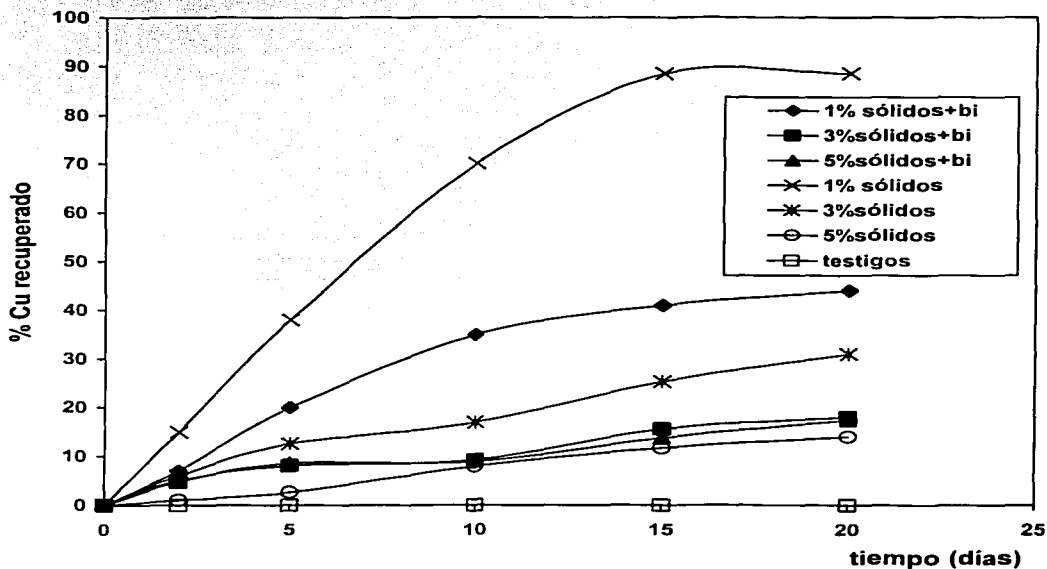
Como se observa todas en las Fig. 22, 23, 24 y 25 las especies químicas de los residuos fueron localizadas en los diagramas a excepción de las jarositas de potasio y calcio.

El diagrama de Pourbaix es utilizado normalmente en áreas donde se estudian los fenómenos de corrosión, pero ha quedado claro, que éste es una herramienta que permite ilustrar y trabajar de una manera más aproximada algunos de los resultados obtenidos en los procesos de biolixiviación.

IV.4.3.5 Influencia del Bi^{3+} en la biolixiviación (Efecto catalítico)

La adición de Bi^{3+} minimiza la extracción de iones metálicos reduciendo en un 50% la recuperación de cobre en muestras con 1% y 3% de sólidos, mientras que en muestras con 5% de sólidos aumenta su concentración en un 8% más de cobre recuperado (Grafica 7)..

El Bi^{3+} reduce también la disolución de hierro lo que puede considerarse como un factor que repercute en la recuperación del cobre.



Gráfica 7. Efecto de Bi^{3+} en la recuperación de Cu

Investigadores como Ballester,^{57,58,59} Escobar,⁶⁰ habían utilizado al Bi^{3+} como un agente catalizador de la reacción de lixiviación obteniendo resultados satisfactorios en donde el Bi^{3+} permite recuperar el 70% del cobre en 8 días oxidando el 100% de los iones ferrosos en solución a férricos en tan solo 20hrs en muestras con 10% de sólidos.

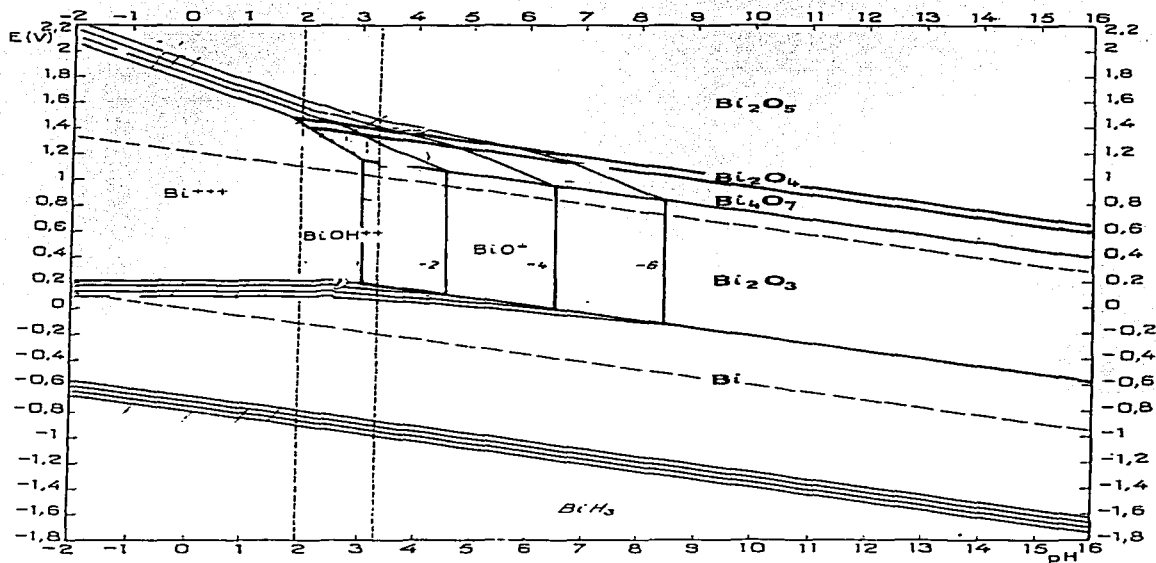


Figura 26. Diagrama de Pourbaix del Sistema Bi-O-H₂O a 25°C del Atlas de Pourbaix

⁵⁷ A. Ballester, F. González, M.L. Blázquez, C. Gómez and J.L. Mier. (1992). "The use of catalytic ions in bioleaching", Hydrometallurgy No. 29. Págs. 145-160.

⁵⁸ Ballester A, Mier J.L.Gómez C, González F, Blázquez M.L.(1994)."Effect of silver and bismuth on bioleaching of copper sulphide concentrates with thermophilic microorganisms". Hydrometallurgy Symposium. Págs. 371-383.

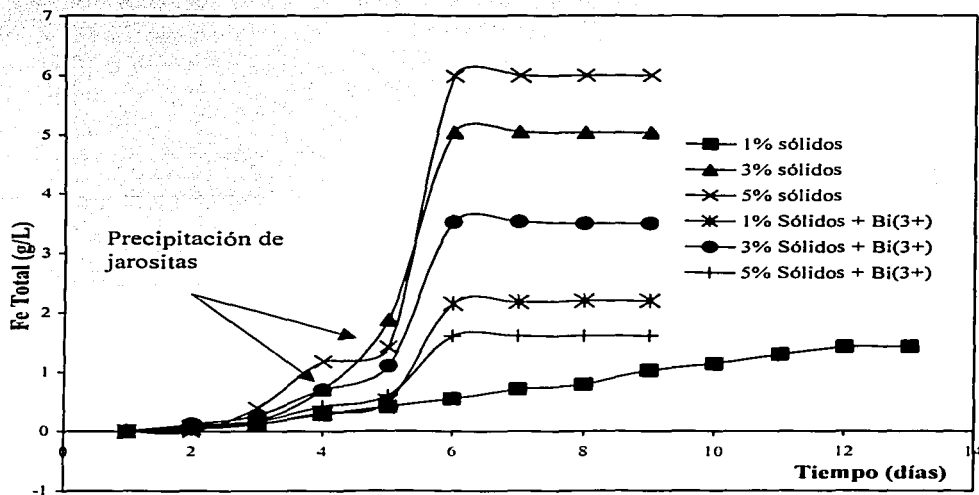
⁵⁹ Gómez E, Ballester A, Gonzalez and M.L. Blázquez, (1999), Leaching capacity of a new extremely thermophilic microorganism, *Sulfolobus rivotincti*, Hydrometallurgy 52. Págs. 349-366.

⁶⁰ Escobar Blanca, Casas Jesús, Madani Jorge and Badilla-Ohlbaum. (1993). "Bioleaching of a copper concentrate with *Sulfolobus BC*". Biohydrometallurgical Technologies, Volume 1. pág. 196.

En la Fig. 26 la zona o intervalo donde coexiste el equilibrio del ión Bi^{3+} se localiza bajo condiciones de acidez y potenciales mayores a 0.2V. lo que indica que este puede actuar como agente oxidante y/o favorecer las condiciones para elevar el potencial de óxido-reducción.

IV.4.3.6 Efecto de la concentración de los iones férrico y ferroso en la biolixiviación

Durante la biolixiviación la cantidad de hierro total en la solución va aumentando gradualmente. La máxima concentración de hierro total es directamente proporcional al porcentaje de sólidos en las muestras proceso, mientras que en los muestras de efecto catalítico se lleva a cabo de manera inversa excepto en las que contienen 1% de sólidos (Gráfica 8).



Gráfica 8. Variación de Fe Total en solución

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Entre el cuarto y quinto día de proceso existió un aumento significativo en la recuperación de hierro, resaltando el hecho de la precipitación de hidróxidos y jarositas (Ver Tabla 12).

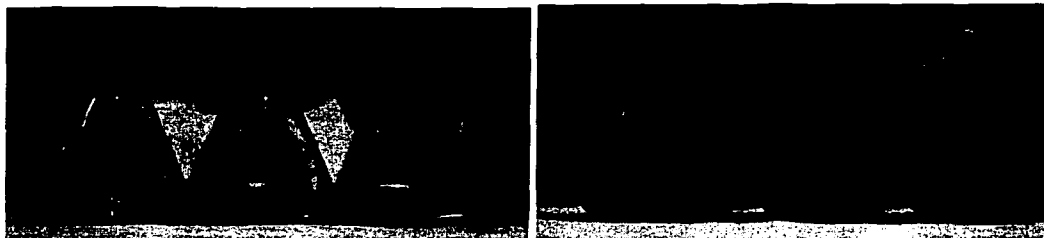


Fig. 27. Muestras con 1% sólidos después 3 y 15 días de proceso respectivamente.

En cada una de las ilustraciones (Fig. 27) se observan soluciones de color verde características de las sales o sulfatos de hierro en solución acuosa; las cuales son corroboradas por los análisis de espectrofotometría de absorción atómica que muestran un alto contenido de hierro en solución. Los contenidos de hierro superan a los del cobre en todo momento hasta un límite en que éstos se empiezan a precipitar como jarositas o hidróxidos de hierro.



Fig. 28. A la derecha muestras con porcentajes de sólidos mayores a 1%, a la izq. filtración de licores

En los matraces donde se presenta precipitación de compuestos de hierro se observa que al momento de filtrar los licores de lixiviación de los residuos, los licores presentan un color característico al sulfato de cobre en solución Fig. 28 y el color característico de los compuestos del hierro desaparece.

Tabla 11. Máximas concentraciones de Fe total alcanzadas en las muestras

1% sólidos g/L	3% sólidos g/L	5% sólidos g/L	1% Sólidos + Bi(3+) g/L	3% Sólidos + Bi(3+) g/L	5% Sólidos + Bi(3+) g/L
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.088	0.052	0.002	0.056	0.122	0.099
0.127	0.170	0.390	0.123	0.267	0.163
0.291	0.709	1.179	0.311	0.705	0.423
0.405	1.878	1.416	0.500	1.100	0.600
0.550	5.035	5.988	2.153	3.524	1.612
0.717	5.040	5.990	2.183	3.529	1.610
0.794	5.032	5.990	2.200	3.500	1.610
1.029	5.032	5.990	2.200	3.500	1.610

Como se observa en la tabla 11 se alcanzan elevadas concentraciones de hierro total pero no se especifica la composición entre los iones ferrosos y férricos presentes en la solución.

Equilibrio entre Fe^{2+}/Fe^{3+}

La Fig. 29 muestra como se lleva a cabo la oxidación de iones de ferrosos a férricos en el proceso.

Al existir una enorme cantidad de hierro en solución como se mencionó anteriormente la biolixiviación se ve favorecida cuando los iones ferrosos son oxidados por la bacteria y estos se convierten en agentes oxidantes (Fe^{3+}) que disolverán más iones metálicos, pero que también al alcanzar elevadas concentraciones (Tabla 12) precipitarán como jarositas reduciendo la disolución de la calcopirita.

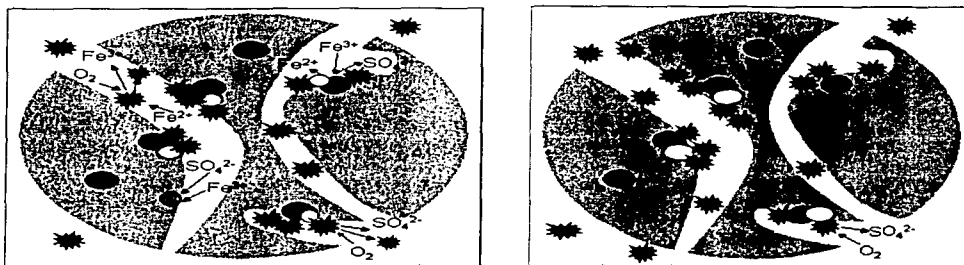
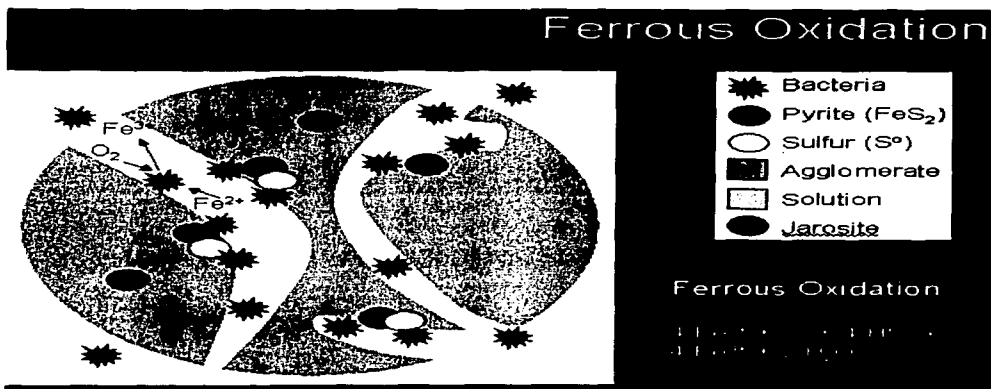


Fig. 29. Arriba oxidación de iones ferrosos. Abajo izq. Formación de jarositas, a la derecha formación de azufre elemental

La variación entre los porcentajes de Fe²⁺ y Fe³⁺ puede estar relacionada con la precipitación de jarositas e hidróxidos.

Las jarositas se forman de la siguiente forma:

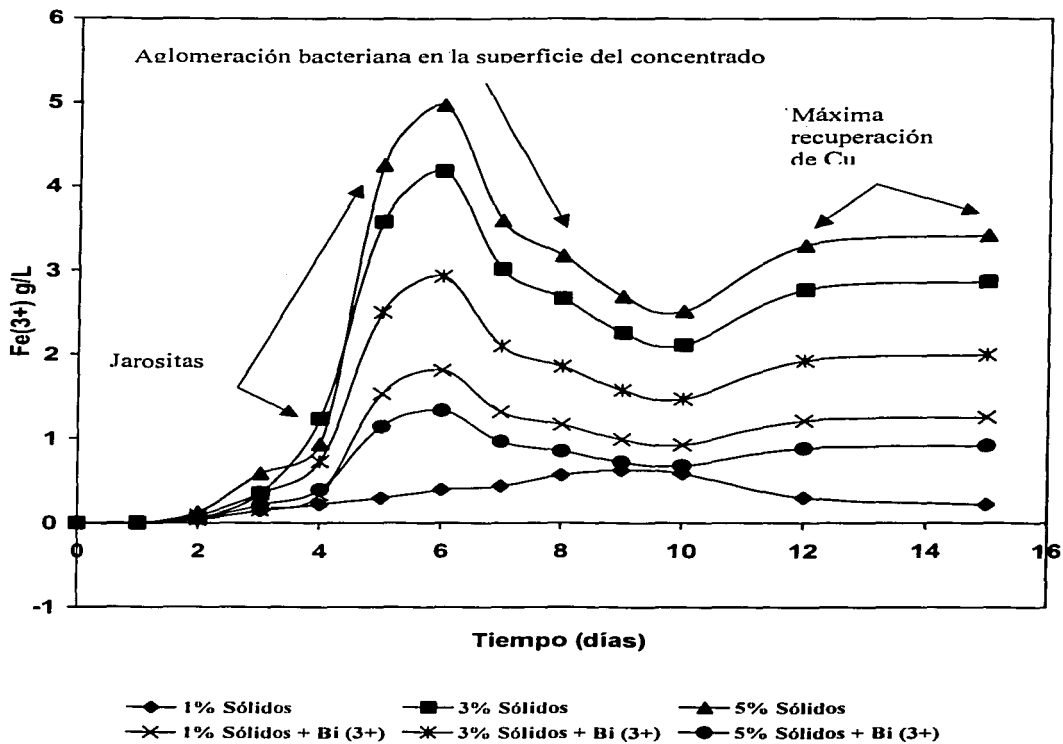


Como se observa en la Fig. 29 las jarositas y el azufre elemental son dos de los componentes que se hallan en los residuos de biolixiviación y se encargan de regenerar el ácido sulfúrico evitando que el pH aumente, pero consumen iones férricos durante el proceso.

Tabla 12. Recuperación de Fe^{3+} en solución

Tiempo (días)	1% sólidos (Fe^{3+} g/L)	3% sólidos (Fe^{3+} g/L)	5% sólidos (Fe^{3+} g/L)	1% Sólidos + Bi (3+) (Fe^{3+} g/L)	3% Sólidos + Bi (3+) (Fe^{3+} g/L)	5% Sólidos + Bi (3+) (Fe^{3+} mg/L)
0	0	0	0	0	0	0
1	0.0044	0.0026	0.0001	0.0028	0.0061	0.00495
2	0.0406	0.0544	0.1248	0.0393	0.08544	0.05216
3	0.1455	0.3545	0.5895	0.1555	0.3525	0.2115
4	0.2227	1.2394	0.9345	0.330	0.726	0.396
5	0.2970	3.5748	4.2514	1.5286	2.5020	1.1445
6	0.3943	4.1832	4.9717	1.81189	2.92907	1.3363
7	0.4367	3.0192	3.594	1.32	2.1	0.966
10	0.5850	2.1134	2.5158	0.924	1.47	0.6762
15	0.2143	2.8682	3.4143	1.254	1.995	0.9177

En la tabla anterior las celdas con fondo gris indican la concentración de Fe^{3+} a la cual inicia la formación de precipitados de hierro o jarositas.



Gráfica 9. Desarrollo en el consumo de Fe^{3+} en la biolixiviación

En la gráfica anterior se muestra el consumo de iones férricos durante la biolixiviación en donde los aspectos más importantes se mencionan a continuación en orden cronológico:

1. Durante los dos primeros días comienza la biolixiviación, aumenta la población bacteriana, disminuye el pH, aumenta el potencial y se presentan recuperaciones de cobre y hierro en reducidas cantidades (Ver secciones anteriores).
2. Al pasar el tercer día disminuye el pH y se estabilizan los valores de potencial, continua la biolixiviación y aumenta la cantidad de hierro en solución.
3. Entre el cuarto y quinto día comienzan a precipitar las jarositas en muestras con concentraciones cercanas al $1\text{ g Fe}^{3+}/\text{L}$.
4. Se alcanza la mayor concentración de iones férricos durante el sexto día y la población bacteriana alcanza su límite máximo desarrollo.
5. Al pasar el sexto día comienza un decremento en la concentración de iones férricos, aunque la biolixiviación continua de manera gradual.
6. Al octavo día se comienzan a observar aglomeraciones bacterianas en la superficie del concentrado y aparecen pequeños precipitados de color amarillo posiblemente azufre elemental (Ver análisis de residuos).
7. Al décimo día continúa la biolixiviación y comienza a aumentar nuevamente la concentración de iones férricos en solución.
8. Después del décimo segundo día se logra la mayor recuperación de cobre 88.5% deteniéndose el proceso, aunque las concentraciones de iones férricos permanecen constantes.

Para verificar cada uno de estos puntos ver las secciones IV.4.3.1 a la IV.4.3.5.

IV.5. Resumen de los resultados obtenidos

- Se localizaron bacterias termófilas extremas en zonas geotérmicas del Estado de Michoacán, México.
- Se logro con un tipo de microorganismo termófilo extremo biolixiviar un 88.5% de Cu de un concentrado de calcopirita.
- Los microorganismos presentan hasta ahora (desde hace 2 años) una buena adaptación en medios con contenidos de sulfuros
- Se identificaron parcialmente a los microorganismos nativos como bacterias termófilas extremas que presentan semejanza con la especie *Sulfolobus* de acuerdo a características morfológicas y de variables de operación (70° C y pH<2).
- Se logro extraer un porcentaje máximo de cobre de 88.5% en solución en un intervalo máximo de 15 a 21 días.
- La presencia de iones Ag^{1+} afectan el desarrollo de crecimiento de la bacteria de manera negativa durante la fase de adaptación y el efecto del Bi^{3+} acelera la disolución de valores pero disequilibra los mecanismos de lixiviación químico y biológico deteniendo el proceso.
- El exceso de iones de Fe^{3+} y/o Bi^{3+} provoca la formación de jarositas
- Al contrario de lo publicado en artículos sobre el efecto catalítico de los iones en la biolixiviación, estos tienen un efecto negativo en la recuperación de cobre.
- Las jarositas actúan como capa límite no porosa en el concentrado y evitan la posterior disolución de los sulfuros
- Los mecanismos de reacción que predominan en el proceso son la suma de reacciones químicas y biológicas.
- El Diagrama de Pourbaix sirve como herramienta básica para mejorar el estudio de los factores y análisis de resultados de los procesos de biolixiviación (pH, Eh, especies químicas residuales y sus equilibrios).
- La lixiviación en altos porcentajes de sólidos se ve disminuida por precipitación de jarositas.
- La presencia de azufre elemental en lodos residuales ejemplifica el carácter oxidativo de los microorganismos.

Conclusiones

1. Con base en los resultados de este trabajo, la biolixiviación depende entre otros factores de las reacciones químicas y la concentración de los iones ferrosos y férricos en solución.
2. La caracterización de los microorganismos indica que se trata de termófilos extremos capaces de recuperar el 88.5% de Cu de un concentrado en un período de 15 a 21 días.
3. La recuperación de cobre es inversamente proporcional al porcentaje de sólidos en solución.
4. Con este tipo de microorganismos la presencia de Ag(I) en solución presenta un efecto tóxico al reducir la población bacteriana en siete veces en el medio 1 con la adición 10mg $\text{Ag}_2\text{SO}_4/\text{L}$.
5. Una concentración de 1g Bi^{3+}/kg de calcopirita tiene un efecto negativo reduciendo la recuperación de cobre en más del 50%.
6. Al formarse jarositas existe un consumo de iones férricos reduciendo la recuperación de cobre.

Apéndices

APÉNDICE I

“TÉCNICA DE TINCIÓN DE GRAM”

Material:

- Microscopio.
- Portaobjetos.
- Asa de siembra / pipeta.
- Mechero.
- Gradilla.
- Reactivos para tinción de Gram: cristal violeta, lugol, alcohol, acetona y safranina.

Método:

1. Hacer un frote de cada una de las muestras de los microorganismos en estudio marcando su nombre o clave.
2. Cubrir la preparación fija con cristal violeta de Gram y dejarlo actuar durante un minuto, moviendo suavemente el portaobjetos para favorecer el contacto del colorante con las células. Al cabo de un minuto escurrir el exceso de colorante y lavar con agua.
3. Cubrir la preparación con lugol de Gram y dejarlo actuar durante un minuto, escurrir el exceso y lavar con agua.
4. Decolorar agregando mezcla de alcohol-acetona a la preparación, mientras se sostienen ligeramente inclinada para que el colorante resbale lentamente por ella. Tan pronto como las gotas de esta solución ya no arrastren color, lavar con agua para detener la acción del colorante.

5. Cubrir la preparación con safranina y dejarla actuar por un minuto, escurrir el exceso, lavar con agua y dejar secar al aire.
6. Observar la preparación al microscopio con el objetivo de 100X y describir los resultados detalladamente.

Preparación de los reactivos:

Cristal violeta:

Solución A:

- Cristal Violeta 2.0 g
- Etanol (95%) 20.0 mL

Solución B:

- Oxalato de amonio 0.8 g
- Agua 80.0 mL

Dejar la solución de oxalato de amonio en reposos durante una noche o calentar débilmente hasta solubilización total. Después mezclar con la solución de cristal violeta y filtrar.

Lugol:

- Yodo metálico 1.0 g
- Ioduro de potasio 2.0 g
- Agua destilada 300.0 mL

En un mortero mezclar el I_2 y el KI y molerlo finamente, agregara una pequeña cantidad de agua para lavar el material, aforar y agitar vigorosamente.

Alcohol-Acetona:

- Etanol (95%) 800.0 mL
- Acetona 200.0 mL

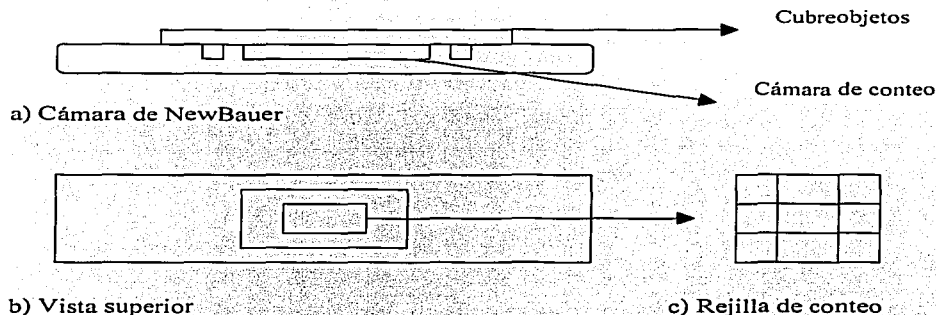
Safranina:

- Safranina 0.25 g
- Etanol (95%) 10.0 mL
- Agua 100.0 mL

Disolver la safranina en el alcohol, agregar el agua destilada y filtrar a través de un papel filtro.

APÉNDICE II

“TÉCNICA DE CONTEO PARA CAMARA DE NEWBAUER”



Metodología (Este método fue adaptado a partir de la técnica conteo de glóbulos rojos de la sangre)

- La rejilla se encuentra en el centro de un portaobjetos, en donde se coloca una muestra líquida.
- Se realiza un enfoque a 100X de la primer rejilla para ubicar la zona de conteo.
- Una vez seleccionada la región de conteo se enfoca a 400X.
- Se realiza el conteo en la rejilla contabilizando los microorganismos localizados entre los cuadros de localizados en las aristas (esquinas) de la rejilla y el cuadro central.
- Se contabilizan solo aquellos microorganismos que estén dentro de la zona y los que aparezcan entre las líneas izquierda e inferior (L).
- Una vez contabilizadas las células se multiplican por el área de conteo ($A=2.5 \times 10^{-4} \text{mm}^2$) y posteriormente por la profundidad de la rejilla para obtener el numero de bacterias por unidad de volumen ($P=0.1 \text{mm}$).

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

- Ballester, F. González, M.L. Blázquez, C. Gómez and J.L. Mier. (1992). "The use of catalytic ions in bioleaching", **Hydrometallurgy No. 29**. Págs. 145-160.
- Ballester A, Mier J.L, Gómez C, González F, Blázquez M.L.(1994). "Effect of silver and bismuth on bioleaching of copper sulphide concentrates with thermophilic microorganisms". Ed. Chapman & Hall. **Memorias. Hydrometallurgy Symposium**, England. págs. 371-383.
- "Bergey's Manual of determinative bacteriology". (1994). Editorial Williams & Wilkins, 9th. Edition. USA, págs. 447,750.
- Biswas A.K., Davenport W.G. (1980), "Extractive Metallurgy of Copper". Second Edition, Pergamon Press. Págs. 12,65,257,261.
- Boon M. (2001). "The mechanism of 'direct' and 'indirect' bacterial oxidation of sulphide minerals". **Hydrometallurgy**. Pág. 67-70.
- Brown T. L. (1987). "Química 'La Ciencia Central'". Prentice Hall, México.pág. 726.
- Corale L. Bierley and J. A. Brierley.(1980). "Metal-Tolerant Micro-organisms of Hot, Acid Enviroments". Ed Academic Press USA. Pág 42.
- Cook, Brock T.D, Petersen, S. & Mosser, J.L. (1976). "Biochemistry and bacteriology of ferrous iron oxidation in geothermal habitats". **Geochimica et Cosmochimica Acta 40**
- Demarthe J. M, (1976), "A new Hydrometallurgical process for copper". Ed. Yannoupolus J.C. **Memorias. International Symposium on Copper extraction & refining, Volume II**. TMS of AIME. Págs. 22-26
- Donati S. et al. (1990). "Influencia de la superficie en la biocatálisis de la oxidación de sulfuros metálicos". **Revista de metalurgia # 26** .Pág. 368.

- Escobar B. Casas J. Madani J. and Badilla-Ohlbaum. (1993), "Bioleaching of a copper concentrate with *Sulfolobus BC*". Biohydrometallurgical Technologies, Volume I. **The Mineral, Metals and Materials Society**, Jackson Hole Wy.USA Págs. 195-204.
- Garrels M.R. (1965). "Solutions, Minerals and Equilibria". Ed. Freeman, Cooper & Company. USA. Pág172-175.
- Gómez E, Ballester A, Gonzalez and M.L. Blázquez,(1999). "Leaching capacity of a new extremely thermophilic microorganism, *Sulfolobus rivotincti* ". **Hydrometallurgy 52**. Págs. 349-366.
- Guerrero Rojas José J. (1998). "Biotecnología en la disolución y recuperación de metales". Primer Congreso Peruano de Biotecnología y Bioingeniería, Trujillo, Perú. *e-mail: esojgue@hotmail.com*.
- Habashi, F. (1970). "Principles of extractive metallurgy". Gordon & Brech Press Inc. Vol. II, USA, pp.7-23.
- Hiroyoshi N., Nishida S. et al, (1997)."Enhancement in bacterial leaching of chalcopyrite by surfactant addition". **Proceedings of the XX IMPC Aachen**, 21-26 September, Vol. 4, pp. 547-555.
- Isamu S. (2001)."Microbial leaching of metals from sulfide minerals". **Biotechnology Advances 19**. Págs. 119-132.
- J.V. Wiertz, Inez Godoy, Blanca Escobar, (1994). "Dissolved iron equilibrium in bacterial leaching systems". Memorias. **Hydrometallurgy 94 Symposium**, Ed. Chapman & Hall. Págs. 385-393.

- Konishi Y., Satoru A, (1997), "Bioleaching of sulfide mineral by acidophilic Thermophile *acidianus brierly*". **Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of 21st century PTA**, volume 9. New York Págs. 367-376.
- Levenspiel O. (1981). "Ingeniería de las Reacciones Químicas". 2ª Ed. Reverte S.A., Barcelona, España, Págs. 385-415.
- López Juárez A. (2001). "Efecto del Ión Ag(+) sobre la lixiviación de calcopirita con microorganismos mesófilos y termófilos moderados". Tesis para obtener el grado de Maestría en Metalurgia, Facultad de Química, U.N.A.M
- Melvin K. Muir and Terrell N. Andersen, (1977), "Determination of Ferrous Iron in Copper Process Metallurgical Solutions by O-Phenanthroline, **Metallurgical Transactions B**, September, Págs. 517-518.
- Memorias. "**Semana de la Metalurgia y Materiales**". (2000). ESQUIE, I.P.N., México D.F. Págs. 1-3.
- Meruane Naranjo Gabriel E. (1999). "Criterios de diseño del circuito de soluciones en la lixiviación bacteriana de sulfuros de cobre en pilas". Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Químico. Universidad de Chile. Pág. 16.
- Miller, P.C., Rhodes, M. K., Winby, R. Pinches, A., van Staden, P.J. (1999). "Commercialization of bioleaching for base-metal extraction". **Minerals & Metallurgical Processing**. Vol 16. Págs. 42-50.
- Natarajan K.A. (1992). "Electrobiorecovery of base metal sulfides", **Metallurgical Transactions B**, No. 23. Págs. 5-11.

- Orozco D. Fernando.(1970). “Análisis Químico Cuantitativo”, Editorial Porrúa, 7ª. Edición, México, Capítulo 22, Págs. 307-323.
- Ornelas Tabares Jorge. “Preparación y tratamiento electrolítico de Cu para su reducción en la hidrometalurgia del cobre”. Facultad de Ingeniería. U.N.A.M. México.pág. 1-10.
- Palencia I., Won P. Y. and Miller J.D. (1991). “The electrochemical behavior of semi conducting natural pyrite in presence of bacteria”, **Metallurgical Transactions B**, No. 22. Págs. 765-774.
- Roman R.J., B.R. Benner and G.W. Becker, (1974).”Diffusion Model for Heap Leaching and its Applications to Scale-Up”. **Trans. Soc. Min. Engrs. AIME**, Vol. 256, pág. 247-252.
- Shafer J.L., M.L. White and C.L. Caenepeel, (1979).”Application of the Shrinking Core Model for Copper Oxide Leaching”. **Min. Eng.** Vol 31(2), pág. 165-171.
- Tejeda Zúñiga C.J. (1993).”Estudio de caracterización y cinética de lixiviación para un mineral oxidado de cobre”.Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico Metalúrgico. Facultad de Química. U.N.A.M. México- pp. 25.
- Wills B. A. 1987 “Tecnología del tratamiento de minerales ‘Tratamiento de menas y recuperación de minerales’”. Ed. Limusa. México. Pág. 97-103.

REFERENCIAS DE PAGINAS WEB

Páginas de investigadores, universidades u entidades educativas:

<http://depa.pquim.unam.mx/~relva/Mecanismos.html> Web master: Rosa Elva Rivera Santillán.

<http://www.mobot.org/jwvross/phytoremediation/Biotecnologia.htm> Web master: José J. Guerrero Rojas.

<http://www.biologia.edu.ar/bacterias/arqueobacterias.htm>

http://danival.org/archaea/archaea_22_clasif_fisio.html <http://danival.org/presenta.html>

<http://www.bact.wisc.edu/Bact303/MajorGroupofProkaryotes>

<http://fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/micro1.htm>

<http://investigadores.uncoma.edu.ar/BjoliXiviación.html>

Páginas de Industrias o Corporaciones Privadas o de Estado:

http://procobrevenezuela.org/historia_cobre_antigua.htm

http://www.codelco.com/cu_zonacobre/fr_zona.html

<http://www.codelco.com>

<http://www.procobremexico.com/aplica/indus.html#ind>