



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS:

**Biolixiviación de sulfuros metálicos de alta
pureza contenidos en el material lixiviable de la
mina La Caridad en baja Ley**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO METALÚRGICO**

PRESENTA

RAFAEL ARREGUIN RUIZ



MÉXICO, D. F.

2009



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.

Jurado Asignado

Presidente: Profesor: ANTONIO HUERTA CERDÁN.

Vocal: Profesor: CARLOS GONZÁLEZ RIVERA.

Secretario: Profesor: ROSA ELVA RIVERA SANTILLÁN.

1er. Suplente: Profesor: JOSÉ ANTONIO BARRERA GODÍNEZ.

2do. Suplente: Profesor: JUAN MANUEL DE LA ROSA CANALES.

Sitio donde se desarrolló el tema:

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

Asesor: Dra. Rosa Elva Rivera Santillán.

Sustentante: Rafael Arreguin Ruiz.

El presente trabajo se realizó bajo el marco de los Proyectos de Investigación:

“Biolixiviación de terreros de sulfuros de cobre de baja ley. Incremento de la velocidad de oxidación y de la extracción de cobre, promoviendo la actividad bacteriana”, convenio 20505-1010-10-VIII-07 UNAM-Mexicana de Cobre (proyecto FQ579 Facultad de Química).

“Estudio de biolixiviación de sulfuros de cobre en columna y en reactores agitados”, DGAPA-UNAM, Proyecto IN 223306 Etapa 19.

Agradecimientos:

A mi hija Karime que es el regalo más grande que Dios me ha dado, eres todo para mí.

A mi esposa Josefina y a mi hijo Kilian por su apoyo y comprensión durante todo este tiempo, por los años ya compartidos y los que nos hacen falta.

A mi Padre por enseñarme a ser constante y a terminar todo lo que empiezo.

A mi Madre por enseñarme a ser responsable, por darme el carácter que ahora tengo y por su apoyo incondicional siempre.

A mis hermanos (Joel, Rogelio, Marilú y Carmen) por el apoyo que me han brindado siempre.

Los Amo.

A la Dra. Rosa Elva Rivera Santillán por su tiempo y sus conocimientos que compartió conmigo.

A mis suegros (Doña José y Don Toño) por soportarme en su casa todo este tiempo.

A mis compañeros de Universidad, no pongo nombres para no omitir a nadie.

A mis profesores en especial a los del edificio “D” de la Facultad de Química.

A el profesor Ciro Márquez y su laboratorio de Análisis Químico, a Guille y su MEB, a Ivan y su MEB y a Cecilia de Rayos X, por su valiosa ayuda de cada uno de ellos en el análisis de las muestras.

A la UNAM por darme la oportunidad de ser alguien en la vida.

A Mexicana de Cobre por las facilidades prestadas para la obtención de muestras, información, etc.

A DGAPA-UNAM por la beca otorgada en el proyecto IN 223306 Etapa 19, durante 2008.

A todos GRACIAS...

ÍNDICE

Biolixiviación de sulfuros metálicos de alta pureza contenidos en el material lixiviable de la mina La Caridad en baja ley.

Resumen.....	iv
Objetivos.....	v
1. Introducción.....	1
2. Fundamento de biolixiviación.....	5
2.1 Definición de biolixiviación.....	5
2.2 Microorganismos.....	5
2.2.1 Microorganismos biolixiviantes.....	7
2.3 Nutrientes.....	10
2.4 Mecanismos de biolixiviación.....	11
2.4.1 Mecanismo directo.....	12
2.4.2 Mecanismo indirecto.....	16
2.4.3 Mecanismo electroquímico de lixiviación de sulfuros.....	17
2.5 Factores que afectan la actividad bacteriana durante la biolixiviación.....	22
2.5.1 Tolerancia a los metales.....	23
2.5.2 pH y potencial.....	24
2.5.3 Nutrientes.....	25
2.5.4 Oxígeno y dióxido de carbono.....	26
2.5.5 Temperatura.....	27
2.5.6 Tamaño de partícula.....	29
2.6 Ventajas.....	31
2.7 Desventajas.....	32
2.8 Aplicaciones industriales.....	34
2.9 Perspectivas de la biolixiviación hacia el futuro.....	38
3. Desarrollo experimental.....	40
3.1 Minerales, reactivos, material y equipos.....	40
3.2 Preparación y caracterización de la muestra.....	41
3.3 Selección de cepas.....	41
3.4 Selección del medio de cultivo.....	42
3.5 Preparación y reactivación de cultivos.....	44
3.6 Seguimiento y control de parámetros.....	45
3.7 Estudios de biolixiviación en incubadora a 35°C.....	46
4. Resultados y Discusión.....	47
4.1 Caracterización de la muestra.....	47

4.2 Reactivación de bacterias de P11	51
4.3 Estudios de biolixiviación de minerales a 35°C. Adaptación de bacterias a los minerales 1er. pase.....	53
4.3.1 Biolixiviación de Pirita.....	54
4.3.2 Biolixiviación de Calcopirita.....	58
4.3.3 Biolixiviación de Calcosita.....	61
4.3.4 Biolixiviación de Molibdenita.....	64
4.4 Estudio de biolixiviación de minerales a 35°C. Adaptación de bacterias a los minerales, 2do pase.....	66
4.4.1 Biolixiviación de Pirita.....	67
4.4.2 Biolixiviación de Calcopirita.....	70
4.4.3 Biolixiviación de Calcosita.....	73
4.4.4 Biolixiviación de Molibdenita.....	76
4.5 Estudios de cinética de biolixiviación de minerales en incubadora a 35°C, 3er. pase.....	79
4.5.1 Biolixiviación de Pirita.....	80
4.5.2 Biolixiviación de Calcopirita.....	85
4.5.3 Biolixiviación de Calcosita.....	93
4.5.4 Estudio de la rapidez de extracción de Fe del mineral Pirita.....	100
4.5.5 Estudio de la rapidez de extracción de Cu y Fe del mineral Calcopirita.....	102
4.5.6 Estudio de la rapidez de extracción de Cu del mineral Calcosita.....	105
4.5.7 Análisis cualitativo de residuos de biolixiviación.....	107
5. Conclusiones.....	110
6. Bibliografía.....	112
Anexo I	
Difractogramas	
“Minerales puros y residuos de biolixiviación”.	

Resumen.**Biolixiviación de sulfuros metálicos de alta pureza contenidos en el material lixiviable de la mina La Caridad en baja ley.**

La creciente complejidad y empobrecimiento de los yacimientos minerales metálicos, así como la aplicación de legislaciones ambientales cada vez más rigurosas, obligan a la industria minera a la búsqueda de técnicas alternativas de tratamiento de minerales para la obtención de metales. Los métodos convencionales de tratamiento de concentrados minerales para la obtención de metales, pirometalúrgicos, emiten grandes cantidades de SO_2 a la atmósfera, provocando una gran contaminación ambiental. El tratamiento de minerales pobres, en grandes volúmenes, sólo es costeable por métodos hidrometalúrgicos de lixiviación en pilas o en terreros, en tiempos muy largos. En este contexto aparece la lixiviación asistida o catalizada por microorganismos ferrooxidantes y tiooxidantes, conocida como lixiviación bacteriana ó biolixiviación, cuya principal ventaja es la ausencia de emisiones contaminantes de SO_2 y cuya aplicación comercial más importante es la biolixiviación de cobre en terreros. En México, en la unidad Minero-Metalúrgica La Caridad en Nacozari de García, Sonora, se llevan a cabo operaciones de lixiviación de cobre en terreros, a la fecha se pretende implementar la biolixiviación de éstos materiales.

Dado que el mineral usado en la unidad Minero-Metalúrgica La Caridad contiene sulfuros metálicos en baja ley, en el presente trabajo se estudia la disolución de los sulfuros metálicos puros como Pirita, Calcopirita, Calcosita y Molibdenita contenidos en baja ley en el material lixiviable de la mina en terreros, en presencia de microorganismos autóctonos obtenidos a partir de la solución de riego de los terreros.

Objetivo general:

Estudiar la disolución de los sulfuros metálicos puros como Calcopirita, Calcosita, Molibdenita y Pirita, en el material lixiviable de terreros en baja ley de la mina La Caridad, con microorganismos autóctonos obtenidos a partir de la solución de riego de terreros, a 35 °C, en los medios nutrientes MKM (inoculado), ND (inoculado), solución de riego (inoculado), solución de riego con nutrientes del medio MKM (inoculado), solución de riego con nutrientes del medio ND (inoculado) y solución de riego (sola).

Objetivos particulares:

1.- Obtener cepas autóctonas de microorganismos mesófilos *ferrooxidantes* y *tiooxidantes* a partir de solución de riego, en los medios MKM y ND.

2.- Adaptar los microorganismos a los sulfuros minerales puros contenidos en el mineral de terreros, en los medios nutrientes MKM (inoculado), ND (inoculado), solución de riego (inoculado), solución de riego con nutrientes del medio MKM (inoculado), solución de riego con nutrientes del medio ND (inoculado) y solución de riego (sola).

3.- Realizar el estudio cinético de biolixiviación de sulfuros metálicos (Pirita, Calcopirita, Calcosita y Molibdenita), en los medios antes mencionados.

1. Introducción

La metalurgia extractiva ha evolucionado a la par del mismo hombre, dado que al incrementarse las necesidades de éste la demanda de minerales y por ende la de metales ha sido cada vez mayor. Por lo que el hombre hasta hoy en día sigue buscando cómo mejorar el costo del beneficio de minerales.

La demanda de metales durante el siglo pasado y el inicio de este siglo ha dado como resultado un gran avance en la industria minera, con el desarrollo de nuevos procesos, de nuevas técnicas y métodos minero-metalúrgicos, así como de nuevos materiales y equipos. En este último aspecto hay que destacar sobre todo el aumento del tamaño de los equipos (de carga y transporte, de trituración, de molienda, de flotación, etc.) para mejorar la producción.

Esta mayor producción y demanda de metales tuvo su máximo auge entre los años 1930-1950, se ha visto afectada posteriormente por varias circunstancias:

1. El agotamiento de los yacimientos relativamente ricos, superficiales o poco profundos y próximos a áreas desarrolladas, ha conducido al tratamiento de grandes tonelajes de minerales más pobres, con mayores costos de inversión y menores costos de producción en países vírgenes, favoreciendo un sobreabastecimiento procedente de países en vías de desarrollo.
2. La crisis energética motivada por la subida del petróleo, en parte superada hoy día por los países desarrollados, pero siempre latente, ha dejado como consecuencia el aumento del costo de la energía.

3. Un aumento de los costos de personal, que obligó a buscar grandes incrementos de la productividad por operario, mediante una fuerte mecanización.
4. Una presión social para el cumplimiento de las normas de no contaminación del medio ambiente, con la incidencia lógica en un mayor costo de producción.

Además, la corriente productiva de metales en años anteriores había traído un repunte en los metales, pero desde hace ya algunos meses, por la situación económica mundial (crisis), éstos han tenido una caída estrepitosa, se ha provocado una baja en las cotizaciones del mercado internacional. Por ejemplo el valor del Cu hace apenas 2 años oscilaba de 3.5 a 4.5 dólares la libra y de 1.2 a 1.5 dólares en marzo de 2009 y en estos momentos (Octubre de 2009) el precio de la libra de Cu es de 2.84 dólares⁽⁴³⁾.

Así, en el mundo industrializado la minería se encuentra hoy en día, en una situación de:

- a) Yacimientos más pobres, complejos o localizados a mayor profundidad y distancia.
- b) Mayores costos de energía, personal, de producción e inversión.

Los países en vías de desarrollo o poco desarrollados situados en América del Sur, África y Asia, cuentan con muy buenos yacimientos y costos más bajos, lo cual ha modificado la geografía minera mundial, apareciendo nuevos líderes como Chile, Brasil, Australia y algunos países de África del Sur. Por otra parte, la política normal de cualquier país de asegurar su abastecimiento o al menos tener una menor dependencia del mercado exterior, ha originado una fuerte innovación en la tecnología de la industria minera para

la explotación de los yacimientos más pobres o difíciles, a costos sensiblemente inferiores a los de una explotación convencional.

Entre estas técnicas innovadoras, destaca hoy la Minería por Disolución ó Lixiviación, técnica minera relativamente nueva que ha alcanzado un gran desarrollo durante las tres últimas décadas principalmente en los E.U.A, Canadá y Australia.

La propia naturaleza ha llevado a cabo el proceso de disolver algunas sustancias minerales, transportarlas y precipitarlas en depósitos de otro tipo. Una buena parte de los yacimientos sedimentarios han sufrido en mayor o menor grado un proceso químico de disolución y reprecipitación en su génesis. Cabe por tanto pensar, que el hombre en su búsqueda y aprovechamiento de sustancias minerales, haya imitado a la propia naturaleza para la extracción de aquellas sustancias solubles que necesitaba. Por ello, la más antigua minería química podría ser la extracción de sal común a partir del agua del mar, por un enriquecimiento natural a base de evaporación y una precipitación a través de desecación por energía solar. Así mismo los antiguos mineros imitaban a la propia naturaleza para recuperar de sus ríos el cobre y los sulfatos de sus enriquecidos caudales de agua, e incluso para disolver algunos vertederos o explotaciones antiguas. No había más que comprobar cuál era el agente precipitante.

Aunque durante la revolución industrial del siglo XIX el método de lixiviación pudo sufrir un menor desarrollo que otras técnicas mineras, no puede olvidarse su fuerte contribución en la producción de sales de cobre.

A finales del siglo XIX y comienzos del XX nuevas técnicas de disolución revolucionan el mundo minero, como el desarrollo del proceso de cianuración

para la recuperación del oro y plata, la extracción del azufre por disolución a través del proceso Frasch, y la producción de aluminio a partir de la bauxita por el proceso Bayer. Además de que en este siglo XXI la caída del precio de muchos metales y las bajas leyes de los minerales, hacen necesaria la imperiosa búsqueda por nuevas técnicas de extracción minera.

Entre estas nuevas técnicas se sitúa la biolixiviación, técnica que es asistida por bacterias para la disolución de minerales de baja ley ó jales provenientes de la flotación. Durante los últimos años, han surgido una serie de procesos que han propiciado que la biolixiviación se haya extendido al campo de los minerales refractarios de oro, en donde los microorganismos cumplen un papel de preparación, por oxidación del mineral, antes de su tratamiento químico convencional. Un hecho que apoya el desarrollo y eficacia de esta nueva aplicación es la implementación, desde 1987, de casi una decena de nuevas plantas piloto.

En definitiva, la breve historia de la biolixiviación nos ha enseñado que para que un proceso de lixiviación bacteriana sea rentable, debe utilizar equipos simples, reactivos baratos y fácilmente adquiribles, ser operable con el mínimo consumo energético y, por último, transcurrir con la suficiente velocidad como para que puedan obtenerse grandes cantidades de metal en un tiempo razonable y con una economía aceptable.

2.1 Definición de Biolixiviación.⁽⁴¹⁾

La Biolixiviación (o lixiviación bacteriana) se entiende como el ataque y solubilización de un mineral a través de la acción directa o indirecta de distintos microorganismos.

El proceso está provocado por la catálisis que ciertos microorganismos ejercen durante la disolución de ciertas menas minerales. Los microorganismos utilizan al mineral como combustible, tomando electrones para su supervivencia. Realizan un trabajo útil, liberando metales y calor, sin necesitar aplicación externa de energía al proceso. En este tipo de procesos, no son necesarias energías de activación altas; las reacciones transcurren a baja presión y baja temperatura. Los microorganismos que participan en dichas reacciones pueden convertir el 50% de la energía liberada en trabajo o en unidades químicas reciclables.

2.2 Microorganismos.⁽¹⁶⁾

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

El núcleo de una bacteria está compuesto de dos cadenas de DNA formando una especie de bucle largo y continuo. Este núcleo no tiene membrana, siendo

ésta una de las características distintivas de las bacterias unicelulares. Por ello, se les denomina procariontes. En formas más evolucionadas de vida, tales como levaduras, hongos, plantas y animales, las células tienen membrana nuclear por lo tanto se denominan eucariontes.

Rodeando al núcleo aparece un material viscoso claro que contiene enzimas solubles, nutrientes y precursores para la síntesis de proteínas, RNA y DNA. Este material se denomina citoplasma y está rodeado por un saco membranoso denominado membrana citoplasmática. Ésta, está formada por un complejo lipo-proteínico que da lugar a una barrera selectiva y semipermeable que controla la entrada y salida de metabolitos hacia y desde la célula, respectivamente. En la parte externa de la membrana citoplasmática está la pared celular. Las bacterias se dividen en dos grupos basándose en la estructura y composición química de esta pared celular, lo cual se refleja en sus características durante su tinción. El primer grupo son los organismos Gram negativos, que tienen la membrana citoplasmática rodeada por una capa de un péptido (pared celular), la cual, a su vez, está rodeada por una membrana externa. El segundo grupo está formado por las bacterias Gram positivas, las cuales no tienen membrana externa y la pared celular está formada por sustancias complejas.

Las paredes celulares tienen generalmente un espesor de 10-25 nm. Estas paredes suministran una cierta rigidez estructural y, en menor grado, una permeabilidad selectiva, puesto que la entrada de nutrientes y la excreción de residuos son, en cierta medida, controlados por el diámetro molecular del material. La pared es resistente a la mayoría de los reactivos químicos excepto a ácidos inorgánicos y a álcalis fuertes.

Desde el gránulo basal, en la membrana citoplasmática, nacen los flagelos, que son utilizados por algunas bacterias para moverse. El número de flagelos y su localización sobre la superficie de la célula, se utilizan como parámetros básicos para la identificación de las bacterias.

Otra estructura que puede observarse sobre la superficie externa de las bacterias Gram negativas son pequeños apéndices, parecidos a cabellos, que se denominan pillis. Su función en la biolixiviación puede ser muy importante, pues ayudan a la bacteria a adherirse a la superficie de los minerales.

2.2.1 Microorganismos biolixiviantes.⁽¹⁶⁾

Para conseguir comprender por completo el fenómeno de la oxidación bacteriana, es necesario familiarizarse con términos tales como quimiolitautótrofos obligados y autótrofos facultativos, en combinación con el sistema que clasifica a las bacterias en mesófilas, termófilas moderadas y termófilas extremas. Sin embargo, es suficiente conocer que algunos organismos obtienen su energía mediante la oxidación de materiales inorgánicos tales como minerales (quimilitótrofos) y algunos utilizan el bióxido de carbono del aire como única fuente de carbono (los autótrofos). En efecto, algunos organismos, los quimiolitautótrofos, solamente pueden vivir de este modo. En contraparte, las bacterias heterotróficas utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono. Hay aun otras bacterias que aunque pueden obtener su carbono por metabolización de compuestos orgánicos, tienen la facultad de ser autotróficas en determinadas condiciones (autótrofas facultativas).

Hay especies de bacterias que se desarrollan mejor en determinados intervalos característicos de temperatura. Las crisófilas, en frío (menos de 20°C) las mesófilas, en caliente (20° - 40°C); otras (las mesófilas moderadas) en un medio más caliente (40° -50°C) y algunas más (las termófilas extremas) necesitan un ambiente muy caliente (más de 55°C).

Los microorganismos importantes en biohidrometalurgia pueden clasificarse en cuatro grupos:

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

El *Acidithiobacillus ferroxidans*, microorganismo que durante años, se pensó que era el único organismo importante en la lixiviación de minerales, fue aislado, por primera vez, de las aguas de una mina de carbón y su descubrimiento fue dado a conocer por Colmer y Hinkle en 1947.

Fisiológicamente, se trata de una bacteria Gram negativa, acidófila, mesófila y quimioautotrofa. Las células son cortas y forman una especie de cilindros de aproximadamente 1-2 um de largo y 0.5 um de diámetro. Algunas cepas poseen flagelos y/o pillis. Este microorganismo, como otros *Acidithiobacillus*, satisface sus requerimientos biosintéticos de carbono utilizando el anhídrido carbónico a través del ciclo de Calvin-Benson y, también, por la carboxilación de distintas sustancias orgánicas, más o menos complejas.

Sus necesidades energéticas se obtienen de la oxidación del ion ferroso o de especies reducidas del azufre. Esta energía se utiliza en la fijación del CO₂ y

en otras funciones intermedias del metabolismo. Esta bacteria oxida prácticamente todos los minerales sulfurados conocidos. Crece en un intervalo de pH de 1.0 a 6.0 siendo el pH óptimo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento entre 2.0 y 2.5. De modo análogo, sobrevive en un intervalo de temperatura de 2 a 40°C, pero el más favorable es el intervalo de 28°C a 35°C. El sistema de oxidación del ion ferroso está asociado, en esta bacteria, con la membrana celular. La enzima más importante, durante la oxidación del hierro, es la Fe^{2+} -citocromo c oxidoreductasa; los citocromos a y Q también están asociados con el proceso. El mecanismo de reacción ha sido estudiado utilizando enzimas purificadas y sustratos solubles de hierro. Últimamente, se ha identificado una proteína que contiene cobre, la rusticianina, habiéndosele asignado el papel de aceptor electrónico inicial en la oxidación de Fe^{2+} , sin embargo, la relación entre esta proteína y el Fe^{2+} -citocromo c no se conoce en profundidad.

Otro aspecto interesante a considerar es su resistencia a metales en solución. En general, se puede decir que los mecanismos de oxidación del hierro y el azufre son insensibles a altas concentraciones de aniones y de cationes metálicos. La oxidación del ion ferroso es posible en presencia de altas concentraciones de zinc, níquel, cobre, cobalto, manganeso, y aluminio, mientras que el uranio y los aniones del arsénico, selenio y telurio son inhibidores a concentraciones de 0.8-3.0 mM. El molibdato inhibe la oxidación del hierro por encima de 0.05 mM, y el mercurio y la plata son tóxicos a concentraciones del orden de 0.5 mM. También, determinadas concentraciones de iones Fe^{2+} y Fe^{3+} inhiben la oxidación del propio hierro y la asimilación del CO_2 .

El microorganismo *Acidithiobacillus thiooxidans*, aparece junto con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en los procesos de lixiviación naturales, son indistinguibles morfológicamente. La principal diferencia fisiológica entre ellos es la imposibilidad del *Acidithiobacillus thiooxidans* para oxidar el Fe^{2+} . Este organismo, entonces, oxida especies reducidas del azufre a ácido sulfúrico y puede tolerar concentraciones de ácido que dan lugar a valores de pH por debajo de 1.

2.3 Nutrientes.⁽⁴¹⁾

Todos los sistemas biológicos, desde los organismos unicelulares hasta el propio hombre necesitan nutrientes (alimentos) para su crecimiento y funciones celulares normales. Los nutrientes son sustancias extracelulares que, entrando en la célula después de pasar a través de la membrana, pueden ser utilizadas por aquella para construir su material celular u obtener energía.

Casi cualquiera de las sustancias y materiales conocidas pueden servir de nutriente para un microorganismo u otro. La lista de estos materiales incluye desde las sustancias normales para el crecimiento (proteínas, azúcares y aminos), hasta los más inusuales (goma, papel, petróleo, monóxido de carbono, hierro o azufre). No todos los organismos son capaces de utilizar todos los nutrientes, y algunos nutrientes pueden ser utilizados por un limitado número de especies.

Las funciones principales de la membrana celular son la selección y transporte de los nutrientes a la célula, y la eliminación de los productos residuales procedentes del metabolismo. Algunos compuestos entran en la célula, por

difusión, pero en la mayoría de los casos lo hacen por transporte activo. Este transporte consiste en la capacidad de los organismos para acumular sustancias dentro de la célula, en concentraciones bastante elevadas, a partir de un medio externo en el cuál esas sustancias se encuentran en baja concentración.

De todos los elementos de la tabla periódica, entre treinta y cinco y cuarenta de ellos son nutrientes esenciales para las bacterias. Aunque la mayoría son metales, seis son no metales (C, O, H, N, P y S) y dos metales (K y Mg) constituyen el 95% del peso seco de estos microorganismos. Estos ocho elementos son denominados macronutrientes, pues se necesita tenerlos en el medio de crecimiento. Todos los demás elementos se denominan micronutrientes o elementos traza.

2.4 Mecanismos de Biolixiviación.⁽⁴¹⁾

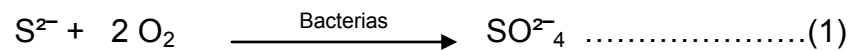
Siempre ha existido una gran controversia en cuanto al verdadero papel jugado por los microorganismos en la biolixiviación. Muchos investigadores sostienen la idea de que la bacteria sólo participa de una forma indirecta en la oxidación de sulfuros minerales a través de la formación del oxidante, es decir, el Fe^{3+} . Otros sugieren que las bacterias implicadas en el proceso de una manera mucho mas directa. También es cierto, que los estudios que se han realizado para aclarar esta cuestión han tropezado con la enorme dificultad que supone la observación de las bacterias quimiolitotróficas.

La mayoría de la información se obtiene por el consumo de oxígeno durante la oxidación del hierro y por el control del metal que pasa a solución. Sólo en los

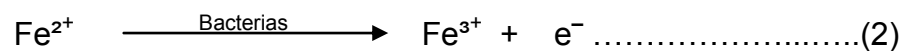
últimos años, los investigadores han observado directamente la superficie de los minerales y han tratado de conocer si las bacterias se fijan al sólido o no.

2.4.1 Mecanismo Directo

Concretamente, la bacteria. *Acidithiobacillus Ferroxidans* oxida a los sulfuros inorgánicos, y a otros compuestos de azufre con valencia reducida, a sulfato, siendo además capaz de oxidar, como sabemos, al hierro ferroso a férrico. Es posible escribir que:



En general, los sulfuros metálicos son insolubles en los medios lixiviantes ácidos convencionales, mientras que los respectivos sulfatos son, casi todos, solubles. La oxidación del sulfato ferroso se presenta a través de la siguiente reacción:



La energía disponible a partir de las reacciones anteriores la utiliza la bacteria para cubrir, a su vez, todas sus necesidades energéticas.

Cuando estas oxidaciones se producen a través de interacciones bacteria/substrato en las que toman parte distintas enzimas, entonces se dice que existe un mecanismo directo de actuación del microorganismo.

En cualquier caso e independientemente de que se produzca esa interacción, los investigadores no se ponen de acuerdo en cuanto a que sea un contacto físico directo entre el sólido y el organismo vivo.

En este sentido, hay quién piensa que el substrato debe ser solubilizado de alguna manera antes de que se produzca la oxidación metabólica. En el caso de substratos sólidos como sulfuros metálicos, su concentración es sinónimo

de tamaño de partícula y de área superficial, puesto que el sólido está sólo disponible en la superficie. El interior del sólido no estará expuesto a la acción bacteriana hasta que el material más externo haya sido disuelto. Por ej., se encontró que en el caso de utilizar sulfuros puros de Cd, Co, Cu⁺, Cu²⁺, Ni y Zn, la velocidad de disolución del metal era proporcional al producto de solubilidad del respectivo sulfuro. Esta relación directa sugiere que la bacteria debe permanecer cercana a la superficie del sólido, pues en este lugar se produce la siguiente disociación:



De esta manera, el ión S²⁻ liberado del sulfuro metálico, es capturado por el sistema enzimático de la bacteria y oxidado a sulfato según la reacción (1). Como consecuencia de esta oxidación metabólica del sulfuro, la reacción (3) se desplaza hacia la derecha, favoreciéndose la descomposición del sulfuro sólido. Este proceso de oxidación podría continuar hasta que todo el substrato se hubiese convertido en producto. Sin embargo, en sistemas discontinuos la acumulación de productos de reacción alcanza tal nivel que se crea un medio tóxico para el microorganismo, de tal manera que no es posible alcanzar una conversión total del sólido inicial.

Este esquema explica porqué los microorganismos prefieren estar muy próximos a la superficie del mineral, tal como muchos investigadores han publicado al observar la fijación de la bacteria a dicha superficie.

La proximidad física a la superficie del mineral, asegura el acceso inmediato del microorganismo al substrato solubilizado, tan pronto como está disponible a través del proceso de disociación.

En resumen, la disociación del sólido, mejor que la fijación de la bacteria al mineral, parece ser el prerrequisito necesario para la oxidación de los sulfuros metálicos insolubles.

Parece claro, que las bacterias oxidantes de hierro y del azufre lo hacen actuando a través de sistemas enzimáticos. Sin embargo, lo que no está tan claro es el mecanismo del metabolismo de estos substratos, pues existen opiniones muy distintas en relación a los conceptos básicos relacionados con los caminos bioquímicos de dichas oxidaciones. En cualquier caso, en lo que sí parece debe haber acuerdo es en que se debe producir la disociación que antes se comentó y en que, al mismo tiempo, tienen que estar disponibles, en el ambiente cercano a la superficie del sólido, los nutrientes necesarios.

Desde el punto de vista del mecanismo directo de actuación, un hecho que ha merecido una gran atención ha sido el estudio de la fijación de los microorganismos a la superficie de los substratos sólidos: ¿se produce o no?, y si la respuesta es positiva, ¿de qué forma? En este sentido, los progresos de los últimos años en la microscopía de barrido y de transmisión han facilitado, de una manera notable, la respuesta a las anteriores cuestiones. Aunque estos estudios, en un principio, se realizaron con un interés científico, en la actualidad ese problema se contempla más desde un punto de vista económico, pues un conocimiento más profundo de estas interacciones puede llevar a métodos más eficaces para la disolución biológica de minerales.

Un ej. De estas investigaciones es el trabajo de Murr y Berry⁽⁴¹⁻²⁵⁾, sobre la fijación de microorganismos termófilos del género *Sulfolobus* a calcopirita, la cual fue preparada, puliéndola a partir de muestras masivas. De los resultados de este estudio, los autores obtuvieron las siguientes conclusiones:

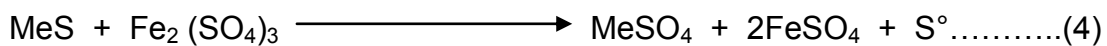
- 1) Las observaciones microscópicas avalan un mecanismo de contacto directo para la lixiviación bacteriana.
- 2) Hay evidencias de una fijación preferencial de las bacterias a las fases que contienen hierro y azufre reducido.
- 3) La fijación se corresponde con la disolución de hierro y cobre.
- 4) El área superficial es importante en la fijación bacteriana, puesto que un incremento en la superficie de exposición da lugar a una mayor área para dicha fijación.
- 5) Hay evidencias de la producción de biomasa en los lugares de fijación.

La cuestión de una fijación preferencial a las fases minerales es muy interesante, pero muy difícil de comprobar y demostrar. Los autores anteriores utilizan la frase "fijación selectiva", la cual implica que los organismos son atraídos sólo hacia las fases minerales que contienen sustancias oxidables. En cualquier caso, defienden que, en un principio, los organismos se pueden fijar de una manera indiscriminada sobre el sólido, pero, al final, acaban muriendo aquellas bacterias que se encuentran sobre un medio sólido no oxidable.

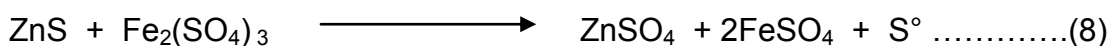
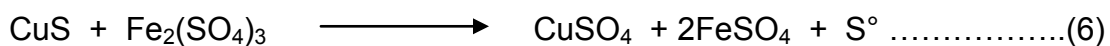
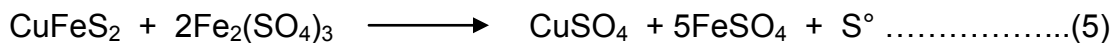
La otra cuestión que se planteaba es ¿de qué forma se produce esta fijación?. Por seguir con el ejemplo de los Sulfolobus, hemos seleccionado los resultados de las observaciones de Weiss⁽⁴¹⁻²⁶⁾ al estudiar la fijación de estos termófilos sobre azufre elemental. La conclusión es que la bacteria se fija al sólido a través de pilis que son adhesivos, estables a los ácidos y al calor y con formas irregulares.

2.4.2 Mecanismo Indirecto

La acción indirecta de solubilización biológica de metales tiene lugar por la interacción del mineral con productos intermedios o finales del metabolismo de los microorganismos. No hay por tanto, reacciones enzimáticas y el agente de lixiviación es únicamente producido o regenerado por los microorganismos. Por ejemplo, los sulfuros metálicos pueden oxidarse químicamente a sulfatos por medio del sulfato férrico sin participación alguna de las bacterias:

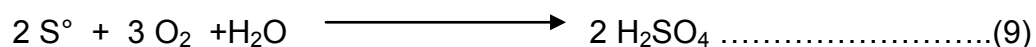


Ejemplos que ilustran la reacción general anterior son:



Estas reacciones tienen lugar en la naturaleza bajo condiciones normales de lixiviación. El sulfato ferroso puede ser reoxidado por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, para que nuevamente el hierro férrico pueda actuar como un agente oxidante. En los procesos de lixiviación indirecta, la acción del organismo se limita, entonces, a la catálisis de oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} , que, por otra parte, es una reacción tremendamente lenta en ausencia de estas bacterias.

El azufre elemental, que se forma por reacciones similares a la (4), es oxidado a ácido sulfúrico por la misma *Acidithiobacillus ferrooxidans* y más rápidamente todavía por *Acidithiobacillus thiooxidans*:



La rápida producción de ácido por *Acidithiobacillus thiooxidans* bajara el pH durante la lixiviación y acelerara el proceso, mejorando, además, las condiciones ambientales de vida de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Adicionalmente los compuestos metálicos solubles en ácido son extraídos como sulfatos.

2.4.3 Mecanismo Electroquímico de Lixiviación de Sulfuros.

Papel de los Microorganismos.

El ataque de un mineral puede ser catalogado como físico, químico o electroquímico, jugando siempre un papel importante la naturaleza cristalina del sólido, su estado de división, sus defectos estructurales y otros muchos factores.

Según Habashi⁽⁴¹⁻²⁷⁾, el mecanismo electroquímico difiere del físico y del químico en los siguientes puntos:

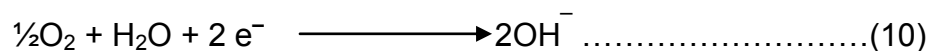
- 1) El sólido es un conductor o un semiconductor, como en el caso de sulfuros.
- 2) Hay una transferencia de electrones desde la fase sólida hasta las especies reaccionantes, es decir, el proceso transcurre a través de un par redox, en el cuál los iones o moléculas en solución se difunden hasta la superficie del sólido donde interaccionan con los electrones.
- 3) Los sólidos se disuelven en ciertos puntos localizados, mientras que la transferencia electrónica tiene lugar en otros puntos distintos y separados de los primeros.

- 4) Las reacciones de oxidación y reducción tienen lugar simultáneamente, pero cada una tiene sus propias características en cuanto al mecanismo cinético de control (químico o difusional).
- 5) La velocidad de disolución es una función compleja de la concentración de los reactantes.
- 6) La cinética de estas reacciones está influenciada por la propia estructura cristalina del sólido y por la presencia de defectos en la red. En este sentido, son importantes las impurezas en solución sólida (que modifican la conductividad del sólido), la presencia de distintas fases minerales (que provocan la formación de pares galvánicos) y la presencia de distintos iones en solución (que modifican, al fijarse superficialmente en el sólido, su comportamiento electroquímico).

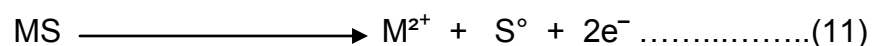
En cualquier caso, los sulfuros son, en la mayoría de los casos, sólidos semiconductores y pueden ser lixiviados en presencia de un oxidante como el oxígeno disuelto en agua.

En el mecanismo electroquímico de lixiviación de sulfuros tiene los siguientes pasos:

- 1) El oxígeno es absorbido sobre la superficie del sulfuro, en donde tiene lugar la transferencia electrónica a través de la siguiente semireacción catódica:



- 2) Al mismo tiempo, el sólido se oxida anódicamente a través de la siguiente semireacción:



Con ello, el azufre sulfuro pasa a estado elemental, aunque la oxidación puede llevar hasta el ion sulfato:



Por tanto, la reacción global será:



Un hecho importante, a tener en cuenta es, que la cinética de estos procesos, depende de la transferencia electrónica entre las zonas anódicas y catódicas, sobre el sólido y a través del mismo. De esta manera, cualquier acción que consiga modificar la conductividad del sulfuro, puede influir decisivamente en la cinética del proceso. Este es el caso de la presencia de impurezas en los sulfuros metálicos que al incorporarse a los mismos, en solución sólida, pueden modificar de forma importante su conductividad.

Además cada sulfuro mineral posee un determinado potencial de reposo, el cual se define como el potencial asumido por un electrodo, de un determinado sulfuro, en contacto con una solución acuosa, frente a un electrodo de referencia, sin que haya paso de corriente por el circuito. De esta manera, cada sulfuro en contacto con un determinado medio acuoso tiene un determinado potencial de reposo.

Entonces se ha demostrado que cuando dos o más sulfuros minerales se encuentran en contacto, el que tiene un potencial de reposo más alto puede actuar catódicamente, mientras que el que tiene el más bajo actuará anódicamente. El resultado final es que, por ej., cuando el sulfuro de Zinc (potencial de reposo de -0.24 V) se encuentra en contacto con sulfuro de Cobre (potencial de reposo de + 0.44V), en presencia de una solución con 100g/l de HS_2O_4 , el primero se disolverá más rápidamente que cuando el segundo está

ausente. De una forma parecida, se ha demostrado que la pirita facilita la oxidación de los sulfuros minerales como: PbS , ZnS , y CuFeS_2 , mientras que los mismos minerales retardan la disolución de la pirita.

Esto explica, también, el que minerales de diferentes lugares pueden comportarse de forma tan distinta, aunque su composición química sea parecida, ya que su composición mineralógica influye decisivamente en el proceso de lixiviación.

En cualquier caso, muchas de las reacciones oxidantes de disolución de sulfuros que se vienen comentando, transcurren con cinéticas muy lentas, pudiendo ser aceleradas apreciablemente por la adición de la solución de los iones catalizadores adecuados, como fue sugerido hace ya bastantes años por Björling⁽⁴¹⁻²⁹⁾. El hecho claro es que tales iones pueden ejercer una importante acción sobre las velocidades de las reacciones de oxidación-reducción, tanto homogéneas, como heterogéneas, que ocurren durante la lixiviación, sobre todo, de sulfuros, y que afectan tanto a la velocidad de la reacción, como a la naturaleza de los productos de la misma.

La actuación de los iones catalizantes del proceso apunta en dos direcciones distintas:

- 1) Los cristales del sulfuro mineral deben ser activados por la incorporación de los iones catalizadores, en lugar del metal formador del sulfuro, en las capas superficiales de la red de éste.
- 2) El catalizador debe ser capaz de formar un par redox que participe en alguna de las reacciones químicas entre el sulfuro y el oxidante.

De esta manera, se incide nuevamente en el mecanismo electroquímico con el fin de modificarlo para favorecer la disolución del sólido.

Las tres posibles acciones a ensayar para mejorar el ataque del sulfuro, es decir, influencia de impurezas en solución sólida, formación de pares galvánicos y presencia de iones catalizadores en solución, han sido, aunque no muy ampliamente, desarrolladas en sistemas acuosos, pero en ausencia de bacterias. Sólo existen unos cuantos trabajos en presencia de microorganismos tanto mesófilos, como termófilos. Se trata pues de un campo sobre el que todavía se desconocen bastantes aspectos y que es necesario abordar por la importancia que tiene para el futuro de la biolixiviación.

La información de que se dispone está restringida al final de los años 70 y a los 80 y a sólo tres o cuatro grupos de trabajo que siguen hasta este momento. Tanto en presencia como en ausencia de bacterias, el conocer los mecanismos del proceso es bastante complejo, debido a las limitaciones de las técnicas experimentales que permiten la investigación de celdas galvánicas en puntos concretos del sólido. En cualquier caso, estas dificultades son mucho más importantes en un medio inoculado, por el factor adicional de complejidad que introduce el medio biológico.

Los distintos investigadores que han trabajado teniendo en cuenta, simultáneamente, el efecto de pares galvánicos y de las bacterias, coinciden en aceptar lo que ya en 1978 indicaba Berry^(41-31,32) en el sentido de que éstas últimas aceleran, a través de mecanismos indirectos, la conversión galvánica de los sulfuros con un potencial de reposo menor, pues, por ej., oxidan el ion ferroso a férrico (con lo que se regenera el lixiviante) o solubilizan el azufre elemental formado sobre los sólidos (con lo que se mejora la cinética del proceso). En un reciente e interesante trabajo, Natarajan y col.⁽⁴¹⁻³³⁾ resumen

las interacciones entre la bacteria y el mineral, en la biolixiviación de sulfuros complejos, abundando en el mecanismo mencionado anteriormente.

Natarajan, ha publicado, junto con otros investigadores, otros trabajos en relación a las interacciones galvánicas entre ZnS y CuS⁽⁴¹⁻³⁴⁾ y a las interacciones en un sistema más complejo de sulfuros de cobre, de hierro, y de níquel⁽⁴¹⁻³⁵⁾, destacando siempre la importancia de los pares galvánicos y de las bacterias en los rendimientos y en la velocidades de la lixiviación.

Murr y Mehta^(41-36,37,38,39) han publicado, diversos trabajos relacionados con estos temas. Siempre han trabajado en presencia de bacterias y con pares binarios y ternarios formados por algunos o varios de los siguientes sulfuros: esfalerita, calcopirita y pirita. Los resultados experimentales, con sólidos molidos, fueron comprobados atacando muestras masivas, que posteriormente eran observadas al microscopio electrónico.

2.5 Factores que Afectan la Actividad Bacteriana Durante la Biolixiviación

Se conoce bastante, aunque no lo suficiente, sobre los mecanismos de actuación de bacterias y también se ha avanzado mucho en las investigaciones sobre la posibilidad de utilizar microorganismos de una manera intensiva y a escala industrial. En este sentido, son muy importantes los factores, tanto de tipo físico como químico, que influyen la actuación de las bacterias. A continuación veremos los más importantes.

2.5.1 Tolerancia a los Metales⁽⁴¹⁾.

Las bacterias oxidantes del hierro, como la *Acidithiobacillus ferroxidans*, tienen una tolerancia notablemente alta a los metales en comparación con la mayoría de los otros microorganismos. Se debe mencionar aquí, que esa tolerancia depende claramente de cada cepa, aunque estos datos poco conocidos y escasos.

Acidithiobacillus ferroxidans tolera concentraciones del siguiente orden: 0.37 M de Al; 0.15 M de Zn; 0.17 M de Co; 0.17 M de Ni; 0.18 M de Mn y 0.16 M (10 g/l) de Cu. Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, la Ag y aniones de metales como el Se, Te y As son inhibidores a concentraciones entre 50 y 100 mg/l. El mercurio (Hg^{2+}) es tóxico a concentraciones superiores a 5×10^{-4} mM, aunque en algunos ensayos en los que se ha utilizado como esterilizador del medio de lixiviación, a concentraciones, del orden de 0.5 mM y al cabo de unos días, el metal desaparece de la solución quedando fijado sobre el sólido a lixiviar y perdiendo así su carácter tóxico.

Otro hecho significativo es que en presencia de metales, *Acidithiobacillus ferroxidans* tiene un periodo de adaptación ("lag period") previo a su actividad normal. Este periodo se ha interpretado como un tiempo en el cual se produce una selección entre los organismos, actuando finalmente sólo las células que son capaces de sobrevivir.

Otros estudios sobre *Acidithiobacillus ferroxidans* en presencia de Cu, Ni e ion uranilo en concentraciones de hasta 1 M, han demostrado que estos metales inhiben tanto la oxidación del hierro, como la fijación del CO_2 , llegándose a la conclusión de que dichos metales pueden afectar las enzimas y/o la producción

de ATP. Normalmente, la toxicidad suele disminuir conforme el pH disminuye al alterarse los sistemas de interacción microorganismo/metal.

2.5.2 pH y potencial⁽⁴¹⁾.

La oxidación biológica del ion ferroso y de los sulfuros metálicos depende de movimientos de protones y de electrones, por tanto, pH y Eh tienen un efecto definitivo sobre su metabolismo.

Las bacterias oxidantes del hierro, como el *Acidithiobacillus ferrooxidans* no crecen sobre Fe^{2+} a pH mayor de 3, aunque una vez que el crecimiento se ha iniciado, el pH puede incrementarse a 5, más o menos, sin que se inhiba el crecimiento de la bacteria. Algunos autores sugieren que valores más altos pueden afectar la fijación de la bacteria al sólido por alteración superficial de la célula. Los valores óptimos de pH dependen de la fuente de energía, pero para el caso de los sulfuros más comunes y del Fe^{2+} queda entre 2 y 1.5. a estos valores, el periodo inicial de acomodación suele ser mínimo, las velocidades de oxidación del substrato más rápidas y la extracción de metales mayor.

Considerando el pH, la bacteria *Acidithiobacillus thiooxidans* es más resistente que la *Acidithiobacillus ferrooxidans* pudiendo vivir a pH de 0.5.

En cuanto al potencial, Eh, las bacterias quimioautótrofas están restringidas a un ámbito de vida con unas condiciones óxido-reductoras intermedias.

2.5.3 Nutrientes⁽⁴¹⁾.

El nitrógeno amoniacal, el fósforo, el azufre y el magnesio son esenciales para el crecimiento de *T. ferroxidans*. El Mg es necesario para la fijación de CO₂, y el fósforo se requiere para el metabolismo energético y para las primeras etapas de la oxidación del hierro. El azufre sulfato es importante al ser un componente de algunos aminoácidos necesarios para estas bacteria. El nitrógeno es el nutriente más importante para los *Acidithiobacillus* y es posible que los heterótrofos que habitan con el en los medios naturales puedan suministrarle, total o parcialmente, este nitrógeno.

Algunos investigadores han establecido una relación mutua entre *Beijerinckia lactiogenes* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, en donde la segunda suministra el carbono orgánico a la primera, y ésta, simultáneamente suministra nitrógeno a aquella. Lo que ha quedado demostrado es que cultivos mixtos de ambas bacterias consiguen mejores extracciones metálicas, en el tratamiento de minerales sulfurados de Cu y Ni, que los cultivos puros de *Ac idithiobacillus*. Un aspecto importante de estas asociaciones es que podrían evitar la precipitación de compuestos sólidos como las jarositas amoniacas, al no tener que introducir en el sistema, nutrientes nitrogenados, pues este nitrógeno sería suministrado por un organismo a otro.

Otro aspecto a considerar es la posibilidad de que los componentes del medio nutriente puedan oxidar por sí mismos al substrato sólido. La experiencia en relación a este punto indica, sin embargo, que al tratarse de medios salinos, generalmente diluidos, no existe un efecto apreciable en relación al punto que se comenta. De todas formas, algunos estudios sobre un

mineral de blenda han demostrado que las sales fosfatadas pueden controlar la velocidad de extracción del zinc.

Junto a los elementos ya referidos (N, P, Mg, y S), el microorganismo necesita otros minoritarios, como K y Ca, que son vitales para su crecimiento, aunque se requieren en una cantidad tan pequeña, que las propias menas minerales los suministran o incluso aparecen como impurezas en las sales fundamentales que incorporan los cuatro elementos nombrados en primer lugar.

2.5.4 Oxígeno y Dióxido de Carbono.

La disponibilidad de oxígeno en los montones de lixiviación es, indudablemente, un factor que controla la extracción bacteriana de metales. No obstante, estudios recientes han demostrado que *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Sulfolobus* pueden utilizar como oxidante al ion férrico, y concretamente los *Sulfolobus* pueden también utilizar al ion molibdato como aceptor final de electrones. Además, está muy bien determinado en qué extensión pueden utilizar, en los medios naturales de lixiviación, a otros oxidantes distintos del oxígeno.

En el medio ácido donde tiene lugar la lixiviación de sulfuros, la solubilidad de O₂ y CO₂ es baja y entonces es necesaria una velocidad de transferencia de materia máxima, para que este factor no sea controlante en el crecimiento de los microorganismos.

La solubilidad de oxígeno es sólo de 7ppm a 35°C. Este dato avala las operaciones de biolixiviación en tanques agitados frente a sistemas de lixiviación estática. Por tanto, para aprovechar al máximo las ventajas de los procesos de lixiviación bacteriana es necesaria una información lo más

completa posible sobre la transferencia de oxígeno a la solución. En la mayoría de los casos, el oxígeno es suministrado al sistema haciendo burbujear aire en la solución o en el medio nutriente.

En relación al anhídrido carbónico, se debe comentar que su solubilidad es baja en soluciones ácidas y, por tanto, puede ser un factor limitante del crecimiento. En situaciones naturales, el crecimiento de los heterótrofos es simultáneo al de las bacterias quimioautótrofas y probablemente proporcionan algo de CO₂. Las gangas carbonatadas se encuentran normalmente en los minerales y también pueden provocar el necesario dióxido de carbono.

La fijación del anhídrido carbónico por las bacterias litotróficas es un proceso de reducción que necesita energía. Por tanto, sería termodinámicamente imposible sin la asimilación simultánea de energía metabólica.

Existen distintos estudios que ilustran la importancia del CO₂ en la oxidación bacteriana. Así, se ha observado que la velocidad de oxidación de la pirita por *T. ferrooxidans* decrece conforme se retira este gas de la corriente gaseosa. Otros ensayos indican que un aumento de CO₂ en el aire, incrementa la capacidad de oxidación de Fe²⁺ por parte de *T. ferrooxidans*. Los mejores resultados se obtuvieron, en este caso, con un 2% de CO₂.

2.5.5 Temperatura⁽⁴¹⁾

El rango de temperatura en que mejor transcurre la biolixiviación es limitado. Hay dos factores, en este sentido, que entran en competencia: el aumento lógico en la velocidad de reacción cuando aumenta la temperatura (activación) y, al mismo tiempo, un incremento en la muerte de los microorganismos (inactivación) debido a la desnaturalización de las proteínas.

Esta reacción de desnaturalización lleva un deterioro de los procesos metabólicos biológicos, de tal forma que conforme la temperatura aumenta, el fenómeno se vuelve más rápido que la oxidación del sulfuro, hasta que, finalmente, se llega a un nivel en que las bacterias mueren.

Para la oxidación del hierro ferroso por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, los valores óptimos están comprendidos entre 28 °C y 35 °C, y para la lixiviación de sulfuros metálicos este óptimo se establece en 35 °C.

En cuanto a la temperatura mínima de crecimiento, en el caso del *Acidithiobacillus ferrooxidans* no se ha establecido claramente un nivel, pero se acepta, generalmente, que la actividad cesa en el momento en que se solidifica, por congelación, el medio nutriente.

Sobre la base de que la temperatura óptima de crecimiento de *T. ferrooxidans* es de 35 °C, se le ha clasificado como una bacteria mesófila, incluso teniendo su origen en el suelo, ya que los organismos que viven y se desarrollan en suelos son, normalmente, psicrófilos.

Sin embargo, las temperaturas de crecimiento de los microorganismos, en general, manteniendo sus funciones biológicas, van desde -18 a 104 °C. Estos límites exceden los del agua pura, en estado líquido, a 1 atmósfera de presión, pero no exceden los del campo de estabilidad del agua impura, a presión variable.

Ya comentamos las características de los organismos con capacidad para oxidar especies reducidas de azufre y el Fe^{2+} , a temperatura de hasta 70 °C o más, como en el caso de los termófilos (*Sulfolobus*). Desde el punto de vista de la biolixiviación, estas bacterias presentan nuevas y prometedoras

posibilidades, puesto que a temperaturas más altas aumenta la velocidad de extracción química de los metales.

En el caso de la lixiviación en montones, se sabe que en el mineral existen áreas con temperaturas por encima de la ambiente. Esto se atribuye a las reacciones exotérmicas de disolución de los sulfuros contenidos, que provocan un aumento apreciable de la temperatura en el interior del montón. Hay quién defiende que *Acidithiobacillus ferroxidans* participa inicialmente en el aumento de temperatura, aunque no hay evidencias claras que apoyen esta suposición. Estas altas temperaturas limitan el desarrollo de los microorganismos mesófilos, pero, sin embargo, propician el desarrollo de termófilos, sobre todo moderados, que cooperan de manera eficiente en el proceso de lixiviación cuando la temperatura sobrepasa los 40 °C.

2.5.6 Tamaño de Partícula⁽⁴¹⁾.

Aunque se conoce muy bien que los sulfuros metálicos pueden ser oxidados por distintas bacterias, la química de superficies que toma parte en estos procesos esta todavía bastante lejos de ser conocida. El tamaño de las partículas que van a ser lixiviadas es crítico y, por ej. En la lixiviación en montones pueden necesitarse varios años antes de que sean lixiviadas aquellas fases minerales que se encuentran en el interior de trozos grandes de rocas.

En las suspensiones acuosas de partículas sólidas, los iones que van a ser oxidados son suministrados por la superficie del mineral. La concentración de estos iones está controlada por muchos factores como, por ej., el producto de solubilidad, las reacciones de hidrólisis, la presencia de electrolitos inertes, la

tensión superficial, el potencial redox y, por supuesto, el tamaño de partícula o el área superficial del sólido. Como consecuencia, cuanto mejor sea el conocimiento del efecto de estos factores y de la interacción entre ellos y el microorganismo, más fácil será obtener el máximo rendimiento de los procesos de biolixiviación.

Uno de los principales requerimientos para la oxidación de minerales por bacterias es la disponibilidad de sustrato. La situación ideal se produce cuando dicho sustrato es soluble, como en el caso del sulfato ferroso. Con sustratos insolubles, otra necesidad es el disponer del adecuado desarrollo superficial en el sólido.

En relación al efecto del tamaño de partícula existen muchos datos en la bibliografía, y en general todos confirman que los mejores resultados se obtienen con las fracciones de sólido que tienen un tamaño de partícula más pequeño, haciendo hincapié, todos ellos, en la importancia, tan enorme, de esta variable en la actividad bacteriana.

En el caso de sustratos sólidos, las bacterias no los pueden atacar en su interior hasta que todo el material externo se ha disuelto. Por tanto, la concentración de sustrato está relacionada con las expresiones del tamaño de partícula, del área superficial específica y del área superficial total. Una disminución del tamaño de las partículas significa un aumento del área superficial específica y del área superficial total por unidad de volumen del medio de lixiviación. Sin incrementar la masa de las partículas. Por otro lado, un aumento de la densidad de pulpa, es decir, de la concentración del sustrato, significa, nuevamente, un incremento en el área superficial total por

unidad de volumen, pero esta vez a costa de un aumento en la masa de partículas.

Cuando se lixivian minerales pobres, las anteriores consideraciones no pueden ser aplicadas en todos los casos, pues una disminución en el tamaño de partícula no sólo produce más superficie de mineral, sino también una, relativamente, mayor superficie de la roca que forma ganga. En este caso, una disminución en el tamaño de partícula es sinónimo de dilución en cuanto a la mena mineral.

En la práctica, el tamaño de partícula óptimo tiene que ser determinado para cada clase de mineral. Este tamaño vendrá dado por un óptimo económico que considere dos aspectos alternativos: la mejora que se consigue en la extracción metálica disminuyendo el tamaño de partícula y los costos de molienda.

2.6 Ventajas.

La experiencia a escala de laboratorio, y sobre todo, la poca o mucha a escala industrial, ha puesto de manifiesto varias ventajas claras de este tipo de procesos, las cuáles, se resumen a continuación:

1. Necesidades energéticas reducidas. Las menas no necesitan secarse como en los procesos pirometalúrgicos y, además, las temperaturas máximas pueden reducirse desde los 1500 °C a menos de 100 °C.
2. Ausencia de polución por gases sulfurosos. Las emisiones de SO₂ que se producen en algunas operaciones pirometalúrgicas son eliminadas totalmente por este tipo de procesos.

3. Consumos reducidos de ácido. La capacidad de producción de ácido de las bacterias reduce de una forma apreciable las necesidades de este reactivo en el ataque de los minerales.
4. Costo de operación reducido.
5. Flexibilidad de las instalaciones, que hace que, incluso las más reducidas, sean rentables fácilmente.
6. Tratamiento de minerales y productos residuales pobres. Los metales pueden obtenerse a partir de las menas que técnica y económicamente son imposibles de tratar a través de los procesos hidrometalúrgicos y, por supuesto, pirometalúrgicos convencionales.
7. Fácil separación de los subproductos del proceso. La acción de las bacterias permite la separación sin problemas, de metales como el hierro, que aparecen, normalmente, en gran cantidad en las materias primas naturales. En el caso de la biolixiviación, el hierro aparece como jarositas, las cuáles son separadas con gran facilidad al formar partículas sólidas de una gran cristalinidad y tamaño, que se filtran sin dificultad.

2.7 Desventajas.

Por otro lado, es lógico pensar que la lixiviación bacteriana también tiene desventajas, que, en muchos casos, han impedido su comercialización a escala industrial. Así por ej., podemos señalar las siguientes:

1. Velocidades de reacción lentas. A pesar de las bacterias catalizan, apreciablemente, distintas reacciones de oxidación, los procesos son todavía muy largos, del orden de días. Sin embargo, los precios actuales

de los metales y la situación de la Metalurgia Extractiva sólo hacen rentables las operaciones que tratan, con mínimo, 10,000 t/día y que trabajan en escalas de horas, a menos que se acepte que los costos de proceso sean excesivos. Esta cinética tan lenta de la biolixiviación es su desventaja más importante y la que más está limitando las posibilidades del proceso de cara a un futuro inmediato.

2. Inmovilismo de las plantas extractivas actuales. La industria extractiva metálica está deprimida y con problemas importantes de capital, por lo que dispone, por tanto, de muy poco margen de maniobra para la reindustrialización y la adopción de nuevos procesos.
3. Obtención de soluciones demasiado diluidas como para obtener directamente el metal a partir de ellas. En el laboratorio ha sido posible llegar a obtener soluciones de hasta 50 g/l. Sin embargo, las disoluciones que se obtienen a nivel comercial sólo suelen tener entre 0.5 y 3.0 g/l, lo cual supone que estas disoluciones deben ser concentradas antes de mandarlas, por ej., a una planta de electrólisis. Otra solución sería su cementación directa, pero después la cascarilla de la operación debe ser tratada por vía seca.

En cualquier caso, las disoluciones muy concentradas pueden tener la dificultad de ser tóxicas para las bacterias e inhibir, por tanto, su actividad.

4. Las aguas ácidas que se generan en estos procesos deben ser tratadas antes de ser vertidas a la naturaleza.

2.8 Aplicaciones Industriales.

La biolixiviación ha sido y es practicada a escala industrial en forma de lixiviación, in-situ o en montones, sobre minerales sulfurados de cobre pobres (más o menos 0.5% de metal) y sobre minerales o marginales de uranio.

La biolixiviación de concentrados de minerales en un reactor agitado, no ha sido practicada a escala industrial hasta hace muy pocos años. Ya hemos comentado que se ha aplicado a minerales refractarios de oro, considerándose a esta nueva posibilidad de la biolixiviación como un proceso no clásico dentro de las utilidades de los microorganismos para oxidar minerales. Sin embargo, la biolixiviación en reactores agitados ha sido ensayada a escala de laboratorio o piloto en muchas ocasiones, siendo en algunos casos interesante desde el punto de vista económico. Sin embargo, en el caso concreto del cobre, la biolixiviación de los concentrados todavía no se ha podido hacer competitiva contra los procesos convencionales, debido sobre todo, a su lenta cinética.

En el caso concreto de los minerales de oro, la pirita y la arsenopirita, en donde el metal se distribuye, muchas veces, a nivel submicroscópico, son atacadas por el tipo de bacterias que venimos describiendo y especialmente por las *Acidithiobacillus ferrooxidans*. En el proceso, el oro no es recuperado directamente, pero sí la matriz sulfurada que lo contiene. Debido a esto, el oro así liberado, es disuelto en una etapa posterior de cianuración.

Volviendo al caso de la lixiviación estática de minerales de cobre y de uranio, las operaciones tienen lugar, normalmente, de una forma

incontrolada, de tal manera que la flora microbiana asociada a el ambiente natural en que transcurre el fenómeno es estimulada a crecer y a realizar la lixiviación pero sin ningún seguimiento, microbiológico o químico, adecuado.

La forma de estimular el montón es, por ej.,:

- 1) Regando el mineral
- 2) Asegurando unas determinadas condiciones ácidas (algunas veces se suministra ácido externamente)
- 3) Asegurando un contenido adecuado de nutrientes, especialmente con respecto al nitrógeno.
- 4) Asegurando una aireación adecuada del proceso.

En general, se puede decir que no se ejerce un control especial sobre la actividad bacteriana, con el fin de separar la acción directa del organismo sobre el mineral, de la acción química indirecta provocada por los metabolitos, como, por ej., el sulfato férrico. Generalmente, se trabaja de manera cíclica, recirculando las soluciones una vez que se han recuperado los metales valiosos. Tampoco se suelen hacer esfuerzos especiales para asegurar un desarrollo óptimo de la flora bacteriana que toma parte en el proceso, y en este sentido no es normal practicar una inoculación sistemática con cultivos especiales y adaptados al medio. En cualquier caso, este es un hecho muy delicado en el sentido de que, probablemente, los organismos especialmente seleccionados no serían capaces de competir con la población nativa, pudiendo ser, finalmente, eliminados por ésta de una forma natural.

En los montones pasa, generalmente, bastante tiempo antes de que pueda comenzar una recuperación apreciable de los metales contenidos, y en algunos casos hasta años antes de que la producción tenga lugar a una

velocidad y rendimiento máximo. Ya se ha comentado, que la única razón que hace explotable estos minerales pobres es la poca energía que se consume y los bajos costos de capital y de mano de obra. Sin embargo, y a pesar de todo, sería deseable aumentar la velocidad de extracción y reducir considerablemente los periodos iniciales de estabilización del sistema, antes de obtener recuperaciones efectivas y rápidas.

La caracterización física de los montones indica que hay magnitudes, como la disponibilidad de O₂ y CO₂ y los perfiles de temperatura y pH dentro del mismo, que son muy variables tanto espacial como temporalmente. Dichas magnitudes influyen apreciablemente el tipo de microorganismos que pueden desarrollarse en el sistema, y cómo pueden cambiar su actividad con el tiempo. Por ej., hay microorganismos termófilos moderados que crecen a 50-60 °C y que pueden ser recuperados del interior del montón; y con casi toda seguridad existirán microorganismos anaerobios y microaerobios (con necesidades reducidas de oxígeno), en las partes profundas en donde el oxígeno esté limitado o incluso ausente. En contraste, cerca de la superficie dominarán los mesófilos aerobios.

De cualquier forma, no todos los microorganismos presentes en el montón participan en los procesos de biolixiviación. Es probable que una fracción importante de ellos viva de la materia orgánica y pueda competir con las bacterias solubilizantes de minerales por los nutrientes, reduciendo entonces la capacidad de ataque del sistema.

Todavía es necesario avanzar mucho en este campo para así poder evaluar el papel de cada organismo en la oxidación mineral. Por desgracia, este es un campo muy difícil, con problemas importantes como ausencia de

datos genéticos que permitan diferenciar especies entre sí, como la posibilidad de crecer algunos de estos microorganismos en medios sólidos. Por otro lado, los tiempos de crecimiento son, también, muy largos.

Una cuestión básica, antes apuntada, es la capacidad de supervivencia de estos organismos, cultivados en el laboratorio, en el ambiente natural de un montón. Como estos ambientes pueden ser esterilizados, cualquier organismo crecido puro en el laboratorio va a tener que competir con la flora y fauna nativas.

Entonces surgen preguntas como: ¿sobrevivirá la cepa de laboratorio?; ¿se distribuirá adecuadamente por todo el montón?; ¿retendrá su capacidad para favorecer una extracción mejorada del metal interesante?; etc.

Está claro, entonces, que un montón necesita una consideración especial desde el punto de vista de los microorganismos. Una operación de este tipo se realiza sobre un substrato no uniforme, físicamente variable en función del lugar y del tiempo, y soportando una población compleja de organismos vivos, también, variables en el espacio y en el tiempo. Se sabe muy poco sobre las especies de microorganismos presentes, sobre sus funciones relativas, sobre como interaccionan unos con otros o sobre como la velocidad y extensión de la biolixiviación se modifica por los parámetros físicos de la operación. La complejidad del sistema imposibilita el modelado matemático efectivo y hace que el cambio de escala desde el laboratorio sea, muchas veces, arriesgado.

Por todo ello, en un futuro inmediato, se debe tender hacia mejoras en el diseño del montón que permitan un control efectivo de la lixiviación bacteriana, antes que a mejoras genéticas que modifiquen los microorganismos.

2.9 Perspectivas de la biolixiviación hacia el futuro.

Para terminar es necesario observar hacia el futuro y señalar lo que a un corto, mediano y largo plazo debe de verse y hacerse para que la biolixiviación sea verdaderamente una realidad.

A continuación veremos las recomendaciones generales más relevantes en un informe de Ehrlich y col⁽⁴¹⁾.

1. Se conoce de un número relativamente grande de microorganismos capaces de extraer metales a partir de distintos minerales, pero, sin embargo, se sabe muy poco sobre la cinética, la bioquímica y la fisiología de estos procesos. Por tanto, su posible aplicabilidad a escala industrial, en un futuro inmediato, debe pasar por realizar esfuerzos importantes a nivel de investigación y, además, cuanto antes.
2. Para que estos procesos de biolixiviación sean rentables económicamente, deben ser lo más simples posible. Por lo tanto, su diseño debe utilizar equipos simples y baratos, reactivos sencillos, poca energía y deben transcurrir a una velocidad que permita recuperar el metal en tiempos razonables.
3. Para mejorar la velocidad y producción de los procesos microbianos, se debe diseñar y utilizar la Ingeniería Genética, la cual debe buscar mejorar: la capacidad de lixiviación de cepas naturales, la resistencia hacia la toxicidad por metales y la competitividad por el medio natural en presencia de otros microorganismos.

Desde el punto de vista de los esfuerzos necesarios para desarrollar comercialmente nuevos procesos, las recomendaciones son:

1. Actualmente, las aplicaciones de la lixiviación bacteriana están restringidas al campo de los minerales pobres, pero, sin embargo, el futuro de esta tecnología descansa en el ataque de concentrados.
2. los esfuerzos industriales deben ser centrados sobre los minerales que contengan sulfuros, óxidos y carbonatos metálicos, los cuales son especialmente aptos para la biolixiviación. Además, no deben olvidarse productos secundarios como residuos minerales, escorias, lodos., etc., con contenidos elevados de metales pesados, algunos, incluso, muy tóxicos. Los microbios pueden ser utilizados sobre distintas menas ricas, lo cual se recomienda sea abordado con rapidez.
3. Cuando se considere el uso de organismos mejorados genéticamente, los esfuerzos iniciales deben dirigirse hacia el tratamiento de concentrados.

En cuanto a las oportunidades de nuevos negocios en este campo, la recomendación principal es:

1. Es especialmente atractiva la posibilidad de biolixiviación de metales preciosos o estratégicos a corto plazo. Cuando haya necesidades de seleccionar entre distintas combinaciones metal/organismo, los criterios se deben basar en si puede lixiviarse más de un metal a partir de la materia prima y en si el metal tiene un valor alto o si el metal tiene un valor estratégico.

3 Desarrollo experimental.

3.1 Minerales, reactivos, material, equipo.

-Minerales

Fe_2S Pirita.

CuFe_2S Calcopirita.

Cu_2S Calcosita.

Mo_2S Molibdenita.

-Reactivos

H_2SO_4 (Ácido sulfúrico).

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de amonio).

K_2HPO_4 (Fosfato monoácido de potasio).

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de magnesio).

KCl (Cloruro de potasio).

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato ferroso).

S^0 (Azufre).

-Material

Matraces erlenmeyer de 250 ml.

Material común de laboratorio.

-Equipo

Incubadora con agitación orbital.

Potenciómetro.

Microscopio óptico con sistema de contraste de fases.

Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

Difractómetro de R-X.

Espectrómetro de Absorción Atómica.

Espectrómetro Óptico de Emisión Atómica con plasma inductivamente acoplado.

3.2. Preparación y caracterización de la muestra.

La caracterización de la muestra consistió en el análisis químico cuantitativo por vía húmeda, para determinar la concentración de Cu, Fe ó Mo en el mineral. La determinación se realizó por la técnica de Absorción Atómica, previa digestión ácida del mineral. Se realizaron también análisis por Difracción de Rayos X y Microscopía Electrónica de barrido para cada uno de los minerales.

Las muestras no sufrieron ningún proceso de preconcentración, las muestras minerales fueron trituradas y separadas manualmente con espátula y después molidas en mortero de porcelana. Una vez molidos los minerales fueron tamizados hasta un número de malla de #150, seleccionando la fracción del pan obtenido del tamizado.

La composición de los metales en las muestras fue determinada en las soluciones resultantes de la digestión acida de cada muestra por Absorción Atómica, utilizando el método de curva de calibración.

3.3 Selección de cepas.

Para realizar el presente trabajo se utilizaron 4 cepas diferentes, 2 de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y 2 más de *Acidithiobacillus Thiooxidans*,

proporcionadas por el Grupo de trabajo en Biolixiviación del L-212 del Depto. de Ingeniería Metalúrgica de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Estas cepas fueron obtenidas de la solución de riego de los terreros de la mina La Caridad (llamada P11) .

3.4 Selección del medio de cultivo.

Para la preparación y reactivación de los cultivos se utilizaron 2 medios salinos de nombre Medio Kelly Modificado (MKM) y Medio Norris Diluido (ND), enriquecidos con Fe (II) y con S^o (4 cultivos). Para preparar los medios enriquecidos con Fe (II), los nutrientes (tablas 1 y 2) se disolvieron en 600ml de agua destilada, ajustándose el pH a un valor de 2.0 para el medio MKM y 1.5 para el medio ND. Por otro lado el FeSO₄.7H₂O se disolvió en 200 ml de agua destilada, ajustándose también el valor de pH a 2.0/1.5. Una vez preparadas las dos soluciones, la de nutrientes y la de Fe (II), se mezclaron y se completó el volumen a casi 1L con agua destilada ajustándose nuevamente el pH al valor ya indicado y aforando a 1L. Para preparar los medios MKM y ND enriquecidos con Azufre (S^o), los nutrientes se disolvieron en 600 ml de agua destilada, ajustándose el pH a un valor de 2.0/1.5. Una vez disueltos los nutrientes se agregó 1g/L de Azufre (S^o) a la solución y se completó el volumen a casi 1L con agua destilada ajustándose nuevamente el pH al valor ya indicado y aforando a 1L.

A continuación se presenta la composición de los medios utilizados en la reactivación de los microorganismos:

Medio Kelly Modificado (MKM) enriquecido con Fe (II).		Medio Kelly Modificado (MKM) enriquecido con S ⁰ .	
Composición	g/L	Composición	g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.4	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.4
K ₂ HPO ₄	0.04	K ₂ HPO ₄	0.04
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4
KCl	---	KCl	---
Ca(NO ₃) ₂	---	Ca(NO ₃) ₂	---
FeSO ₄ .7H ₂ O	44.22	FeSO ₄ .7H ₂ O	---
S ⁰	---	S ⁰	1
pH(H ₂ SO ₄)	2.0	pH(H ₂ SO ₄)	2.0

Tabla 1. Composición química del medio MKM enriquecido con Fe (II) y S⁰.

Medio Norris Diluido (ND) enriquecido con Fe (II)		Medio Norris Diluido (ND) enriquecido con S ⁰ .	
Composición	g/L	Composición	g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.2	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.2
K ₂ HPO ₄	0.1	K ₂ HPO ₄	0.1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4
KCl	0.1	KCl	0.1
Ca(NO ₃) ₂	---	Ca(NO ₃) ₂	---
FeSO ₄ .7H ₂ O	44.22	FeSO ₄ .7H ₂ O	---
S ⁰	---	S ⁰	1
pH(H ₂ SO ₄)	1.5	pH(H ₂ SO ₄)	1.5

Tabla 2. Composición química del medio ND enriquecido con Fe (II) y S⁰.

Para la adaptación de los microorganismos a la muestra de mineral y para los ensayos de biolixiviación se utilizaron los medios salinos basales MKM y ND libres de Fe(II) y (S°):

Medio Kelly Modificado (MKM) No enriquecido.		Medio Norris Diluido (ND) No enriquecido.	
Composición	g/L	Composición	g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.4	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.2
K ₂ HPO ₄	0.04	K ₂ HPO ₄	0.1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4
KCl	---	KCl	0.1
Ca(NO ₃) ₂	---	Ca(NO ₃) ₂	---
FeSO ₄ .7H ₂ O	---	FeSO ₄ .7H ₂ O	---
S°	---	S°	---
pH(H ₂ SO ₄)	2.0	pH(H ₂ SO ₄)	1.5

Tabla 3. Composición química de los medios MKM y ND no enriquecidos.

3.5 Preparación y reactivación de cultivos.

Las cepas anteriormente mencionadas obtenidas de agua de riego de los terreros de la mina La Caridad (llamada P11), se conservan en stock a 4 °C por lo que fue necesario reactivarlas.

Los cultivos de reactivación se prepararon en matraz Erlenmeyer de 250ml, inoculando al 10% V/V al medio nutriente basal con muestra líquida de la cepa correspondiente.

Una vez preparados los cultivos, los reactores se colocaron dentro de una incubadora con agitación orbital de la marca Lab-line modelo 3527-5 a una temperatura de 35 °C y 160 rpm durante todo el experimento. Para evitar la

evaporación y contaminación de los cultivos, los matraces se cubrieron con torundas de algodón, cuidando que éstas permitieran la entrada de aire. Las cepas fueron reactivadas durante un periodo de veinte días, para poderlas utilizar en los estudios de biolixiviación del mineral.

3.6 Seguimiento y control de parámetros.

Una vez que estuvieron preparados los cultivos y a la temperatura de trabajo, en cada sistema se realizaron las siguientes determinaciones:

- i).- pH.
- ii).- Potencial de óxido-reducción.
- iii).- Conteo del número de bacterias.
- iv).- Inspección visual de la apariencia de las muestras.

La lectura del pH se hizo con un potenciómetro de la marca Cole-Parmer modelo 05669-20 utilizando un electrodo combinado para medir pH con referencia interna de Ag/AgCl, ajustando el valor a 2.0 con solución diluida 1: 3 de H₂SO₄, sólo en el caso de que éste fuera mayor.

La lectura del potencial de óxido reducción se realizó con el mismo equipo, utilizando un electrodo de Ag/AgCl como referencia y un electrodo de platino como electrodo de trabajo.

El seguimiento del crecimiento de las bacterias de todas las muestras se realizó en una cámara Neubauer de 1/400 mm² y 0.1 mm de profundidad, cuantificando la concentración de células directamente sobre muestras de los licores de biolixiviación de los sistemas, por conteo directo en un microscopio óptico con sistema de contraste de fases marca Leica modelo DME.

Aunado a lo anterior, se observó diariamente la apariencia de los cultivos para detectar los cambios en la coloración y en la turbidez, así como la posible formación de precipitados en la solución. Estas observaciones indican la actividad bacteriana y por tanto el crecimiento de bacterias.

3.7 Estudios de biolixiviación en incubadora a 35°C.

Una vez que las bacterias fueron reactivadas y adaptadas a las variables del sistema (agitación orbital, medio de cultivo, temperatura y pH) se pusieron en contacto con el mineral de trabajo para adaptarlas a éste y obtener resultados de la cinética de disolución del mineral en presencia de las bacterias.

Los cultivos fueron preparados en 100mL, inoculados al 10% V/V, con 0.2g de cada mineral en su respectivo matraz y en su medio nutriente correspondiente.

Además de los parámetros monitoreados mencionados anteriormente se determinó la concentración de metales, para obtener los resultados correspondientes del 1ero. y 2do. pase de adaptación, así como los resultados del estudio de la cinética de biolixiviación.

4. Resultados y discusión.

4.1 Caracterización de la muestra.

Los minerales (Pirita, Calcopirita, Calcosita, y Molibdenita) (Figura 1) fueron proporcionados por la Compañía minera Grupo México, y obtenidos de su mina La Caridad, ubicada en Nacozari de García, Sonora, México.



a)



b)



c)



d)

Figura 1. Muestras minerales obtenidas de la mina la Caridad a)Pirita, b)Calcopirita, c)Calcosita, d)Molibdenita.

Los resultados obtenidos del análisis químico de las muestras minerales se reportan en la tabla No. 4.

Elemento	S (%)	Cu (%)	Fe (%)	Mo (%)
Pirita	---	---	46.6	---
Calcopirita	---	17.3	16.4	---
Calcosita	---	42.9	---	---
Molibdenita	---	---	---	22.09

Tabla No. 4 Composición química de los minerales, por vía húmeda y AA.

Con la técnica de Difracción de Rayos X se determinaron las especies minerales existentes en cada uno de los minerales en estudio. En la tabla No.5 se muestran los resultados obtenidos en los difractogramas correspondientes (ANEXO I).

Muestras Minerales	Especies encontradas
Pirita	Pirita, Cuarzo
Calcopirita	Calcopirita, Cuarzo
Calcosita	Calcosita, Pirita
Molibdenita	Molibdenita, Cuarzo,

Tabla No.5. Composición mineralógica, por Difracción de rayos X.

Se analizaron también los minerales con el Microscopio Electrónico de Barrido, obteniéndose el análisis semi-cuantitativo, cualitativo e imágenes de los cuatro minerales que se utilizaron en este trabajo.

En la tala No.6 se muestran los resultados del microanálisis en el Microscopio Electrónico de Barrido.

Muestras Minerales	Especies encontradas	Composición (Microanálisis)
Pirita	S, Fe.	S 63.99%, Fe 36.01%
Calcopirita	O, Al, Si, S, K, Fe, Cu.	O 24.41%, Al 1.71%, Si 27.07%, S 14.65%, Fe 15.76%, Cu 15.41%
Calcosita	O, Al, Si, S, Fe, Cu.	O 23.16%, Al 4.67%, Si 4.18%, S 24.58%, Fe 7.97%, Cu 35.44%
Molibdenita	O, Si, S, Mo.	O 34.06%, Si 3.23%, S 39.46%, Mo 23.25%

Tabla No.6 Microanálisis, por EDS al Microscopio Electrónico de Barrido.

A continuación se muestran en la figura.2, las micrograffías obtenidas en el MEB de las muestras de los minerales en estudio.

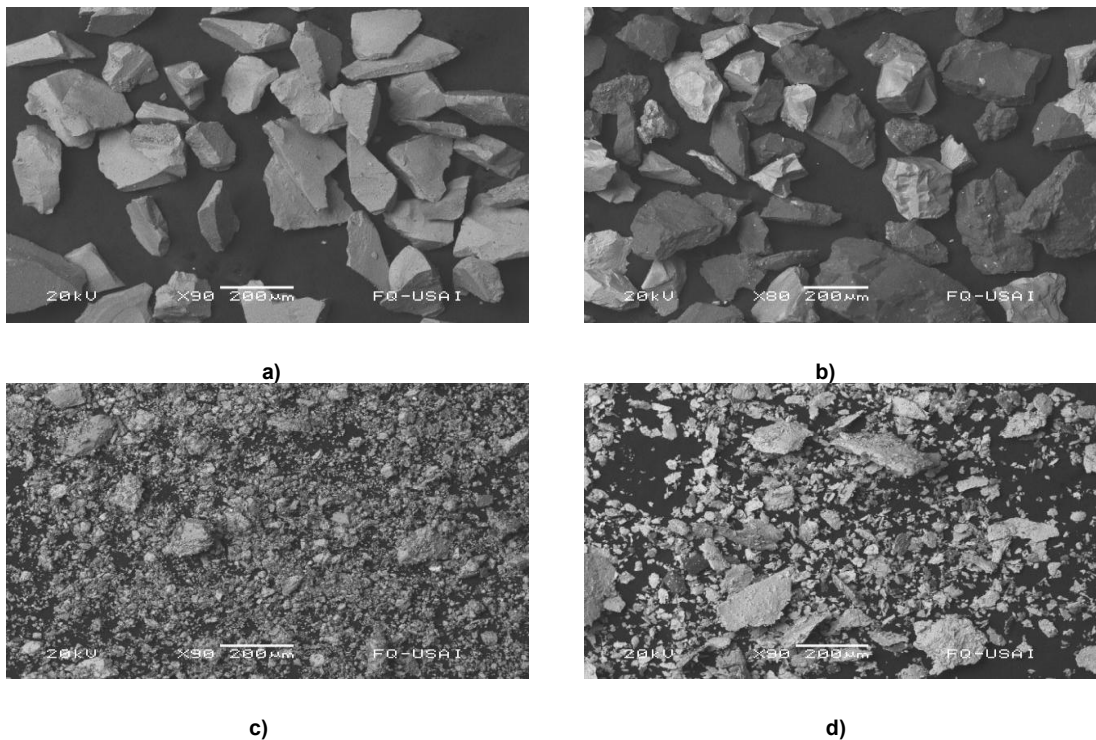


Figura 2. Micrograffías de los minerales obtenidas en el MEB a 90X. a)Pirita, b)Calcopirita c)Calcosita, d)Molibdenita.

Al observar los tres métodos para determinar las especies existentes en cada uno de los minerales estudiados (análisis químico por vía húmeda, Difracción de rayos X y Microscopía Electrónica de Barrido) podemos observar que en el caso de la Pirita y la Molibdenita hay una mayor pureza ya que en los casos de la Calcopirita y la Calcosita se observan otros elementos químicos asociados a los minerales en estudio.

Además la composición química fue similar teniendo alguna disparidad en algunos elementos entre el análisis por vía húmeda y el MEB. Esto puede ser debido a que el análisis en el Microscopio Electrónico de Barrido es de tipo localizado o puntual (en un grano) y en la vía húmeda se involucra toda la muestra utilizada.

La difracción de rayos X nos muestra las especies existentes en mayor proporción en cada una de las muestras minerales estudiadas.

Las imágenes de la figura 2 a)Pirita, b)Calcopirita, c)Calcosita y d)Molibdenita) fueron obtenidas en el MEB, estas imágenes muestran alta pureza en los cuatro minerales que se utilizaron para realizar los experimentos de adaptación de bacterias al mineral y posteriormente realizar los estudios de biolixiviación.

4.2 Reactivación de bacterias de P11.

Los resultados de los parámetros de biolixiviación de la reactivación de las cepas *ferrooxidante* y *thiooxidante* en los medios nutrientes MKM y ND se muestran en la figura 3.

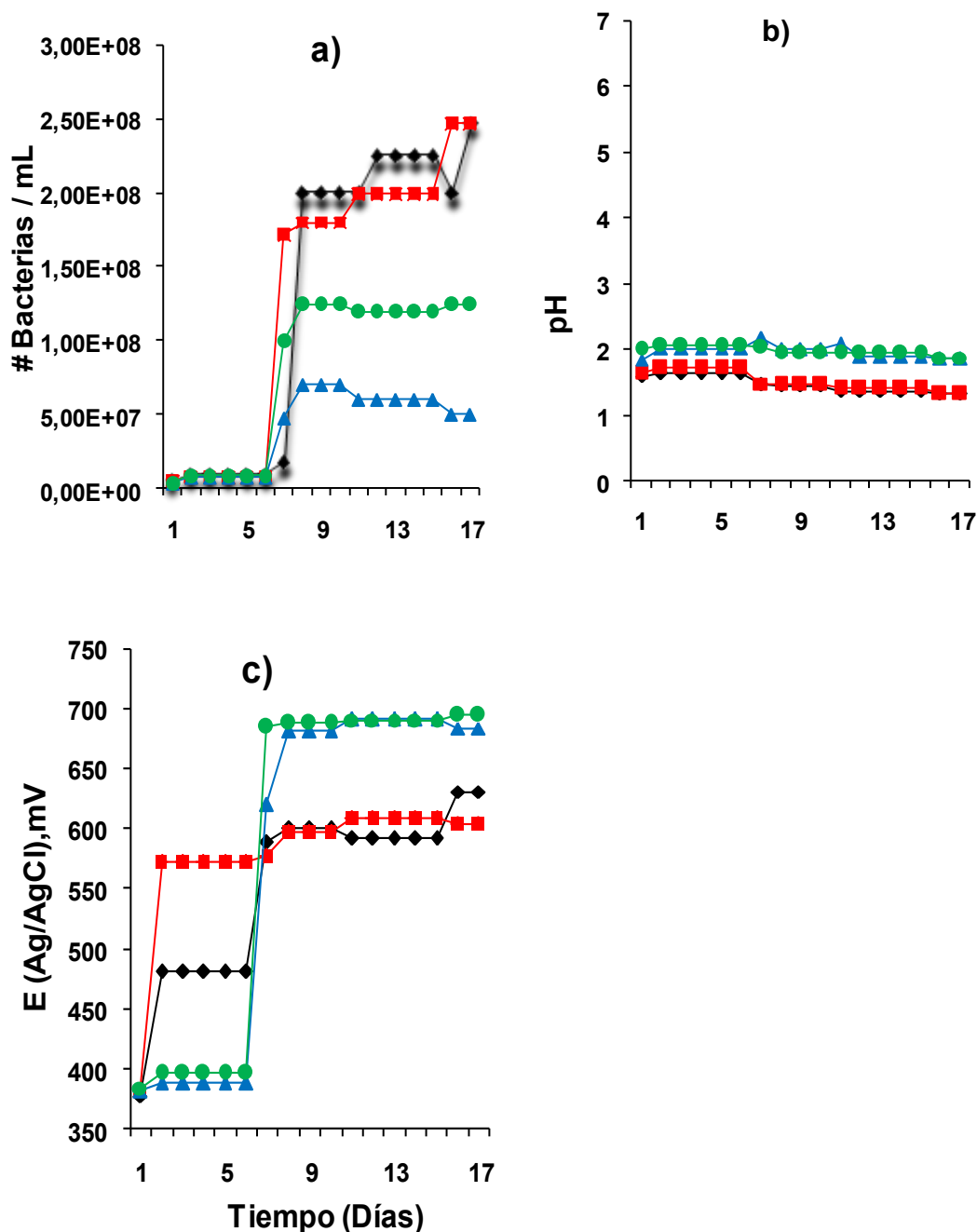
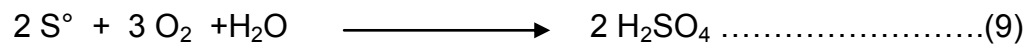


Figura 3. Evolución de los parámetros de biolixiviación durante la reactivación a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial. Simbología: ▲ Medio MKM-Fe, ● Medio ND-Fe, ◆ Medio MKM-S, ■ Medio ND-S.

La gráfica “a” de la figura 3 muestra el crecimiento de las bacterias provenientes del agua de riego, denominada P11, en los cuatro medios que se utilizaron para la reactivación de las mismas (MKM-Fe, ND-Fe, MKM-S⁰, ND-S⁰). Observando dicha gráfica podemos darnos cuenta que a los matraces a los que se les adicionó azufre elemental, el crecimiento de bacterias fue mucho mayor (alcanzando una población de 2.50 E+08). Esto puede ser debido a que el azufre es tomado directamente por las bacterias y transformado en ácido sulfúrico de acuerdo con la reacción número 9 anteriormente ya citada:



Además siendo el azufre un sólido las bacterias pueden adherirse a éste y transformarlo con mayor facilidad. En los otros 2 medios donde se adicionó Fe II la población fue mucho menor (1.30 E+08).

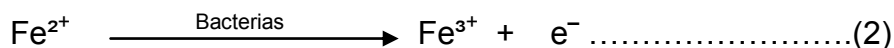
Hay que resaltar que en los cuatro medios el crecimiento de las bacterias comenzó entre los días 7 y 8 cómo lo muestra la gráfica “a”, es decir en este periodo de tiempo comienza la reactivación de las bacterias.

En el mismo lapso de tiempo se observa en la gráfica “b” un descenso en el pH, ésto como consecuencia de la producción de ácido sulfúrico, de acuerdo a la reacción (9) anteriormente descrita, indicativo de la aparición de actividad bacteriana.

Al inicio del proceso de reactivación de los 4 cultivos con los diferentes medios, éstos presentaron una coloración amarillenta, pero después del décimo día se observaron cambios en la apariencia de los reactores, los medios conteniendo Fe(II) presentaron una coloración amarilla y ámbar, debido a la cantidad de biomasa presente y a la transformación de Fe(II) a Fe(III); y los

reactores con S⁰ comenzaron a tornarse blanquizcos, esto es debido a la cantidad de biomasa generada en los sistema y a la presencia del SO₄²⁻, debido a la transformación de S⁰ a SO₄²⁻. Estas coloraciones fueron tornándose más intensas conforme pasaba el tiempo.

La gráfica “c” muestra que simultáneamente al crecimiento de bacterias y al descenso de pH, el potencial en cada uno de los medios de cultivo se incrementó y al alcanzar un máximo el potencial se mantiene constante, debido a las reacciones de oxido-reducción, que genera el par redox Fe²⁺/Fe³⁺ elevando el potencial, debido a la reacción (2) antes ya citada:



4.3 Estudios de Biolixiviación de minerales a 35°C. Adaptación de bacterias a los minerales 1er. Pase.

Tomando en cuenta el número de bacterias durante el crecimiento en cada uno de los medios, la estabilidad del pH y el máximo valor de potencial alcanzado por cada medio (entre 650 y 700mV), se procedió a realizar el 1er. pase ó el primer paso de adaptación, de las bacterias *Acidithiobacillus Ferrooxidans* y *Acidithiobacillus Thiooxidans* tanto a los medios nutrientes (MKM, MKM + P11, ND, ND + P11, P11 +Inoc. y P11), como a los minerales (Pirita, Calcopirita, Calcosita y Molibdenita). Recordando que los 5 primeros medios fueron inoculados con bacterias de la reactivación de *Acidithiobacillus Ferrooxidans* y *Acidithiobacillus Thiooxidans* y el 6to. medio constituido solo por solución de P11.

4.3.1 Biolixiviación de Pirita.

Los resultados de los parámetros de biolixiviación del 1er. pase de adaptación de las bacterias *Acidithiobacillus ferroxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* a los medios y al mineral Pirita se muestran en la figura 4.

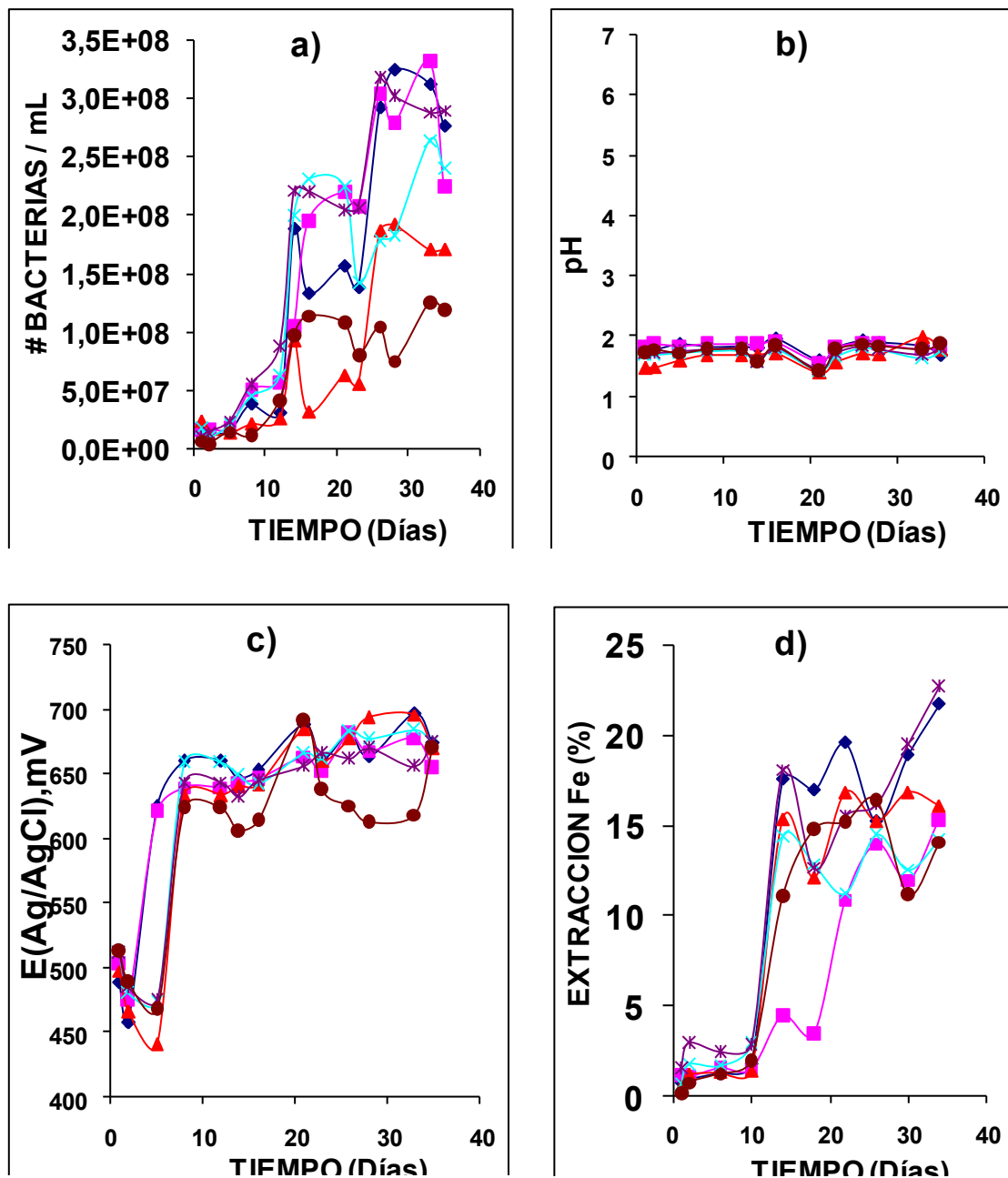


Figura 4. Adaptación de las bacterias al mineral de Pirita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora.

a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Fe. Simbología: ♦ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◀ Medio ND, x Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

La figura 4 muestra las gráficas del 1er. pase del proceso de adaptación de las bacterias *Acidithiobacillus Ferroxidans* y *Acidithiobacillus Thiooxidans* al mineral Pirita. En la gráfica “a” se puede observar que el crecimiento de las bacterias en los primeros días es lento, pero a partir de los días 12 y 13 en la mayoría de los medios de cultivo el crecimiento es sumamente rápido, alcanza un máximo, se estabiliza por 4 ó 5 días, en el caso de los medios MKM, MKM + P11 y P11 + Inoc. vuelve a incrementarse rápidamente. En el caso del medio ND + P11 la curva es semejante y en los medios ND y P11 sin inóculo, el crecimiento es mínimo.

Esto puede explicarse considerando que en los primeros días, las bacterias comienzan a adaptarse a los nutrientes de cada medio y al mineral (Pirita), habiendo solo una disolución química, descrita por la siguiente reacción:



pero al paso del tiempo las bacterias comienzan a interactuar de una forma directa tomando sus nutrientes del mineral o de una forma indirecta ayudando a catalizar las reacciones en la solución.

La grafica “b” nos muestra que en el proceso de adaptación el pH tiende a mantenerse entre 1.5 y 2 en todos los medios de trabajo, debido a la producción de ácido sulfúrico dado que en presencia de bacterias el azufre elemental formado por la reacción entre los sulfuros y el sulfato férrico, se transforma en ácido sulfúrico a través de la reacción (9), ya mencionada.

En la gráfica “c” podemos observar que el potencial de todos los medios se incrementa rápidamente a partir de los días 7 y 8 esto debido a que el mineral comienza a ser disuelto y por lo cual el potencial comienza a cambiar

por las reacciones de oxido-reducción, además en este mismo periodo de tiempo la población bacteriana también comienzan a crecer y con esto el ataque de las bacterias al mineral es mucho más rápido generándose una mayor disolución del mineral y por ende una mayor extracción del metal. La mayor extracción del metal induce la reacción de oxido-reducción de Fe^{2+} a Fe^{3+} lo cual hace que se incremente el potencial, de acuerdo con la ecuación de Nerst:

$$E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} = E^{\circ} - 0.059 \frac{\log[\text{Fe}^{3+}]}{\log[\text{Fe}^{2+}]}$$

donde la relación de de concentración del par redox $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ es la responsable del aumento del potencial.

Podemos observar que al llegar a un máximo en todos los casos el potencial se estabiliza entre 650 y 700mV. En el caso de la P11 que es agua de riego de terreros, se tiene una mayor variación, esto puede ser debido a que en esta solución haya alguna traza de otro mineral o metal que nos pueda estar generando un par galvánico y afectando con esto el potencial.

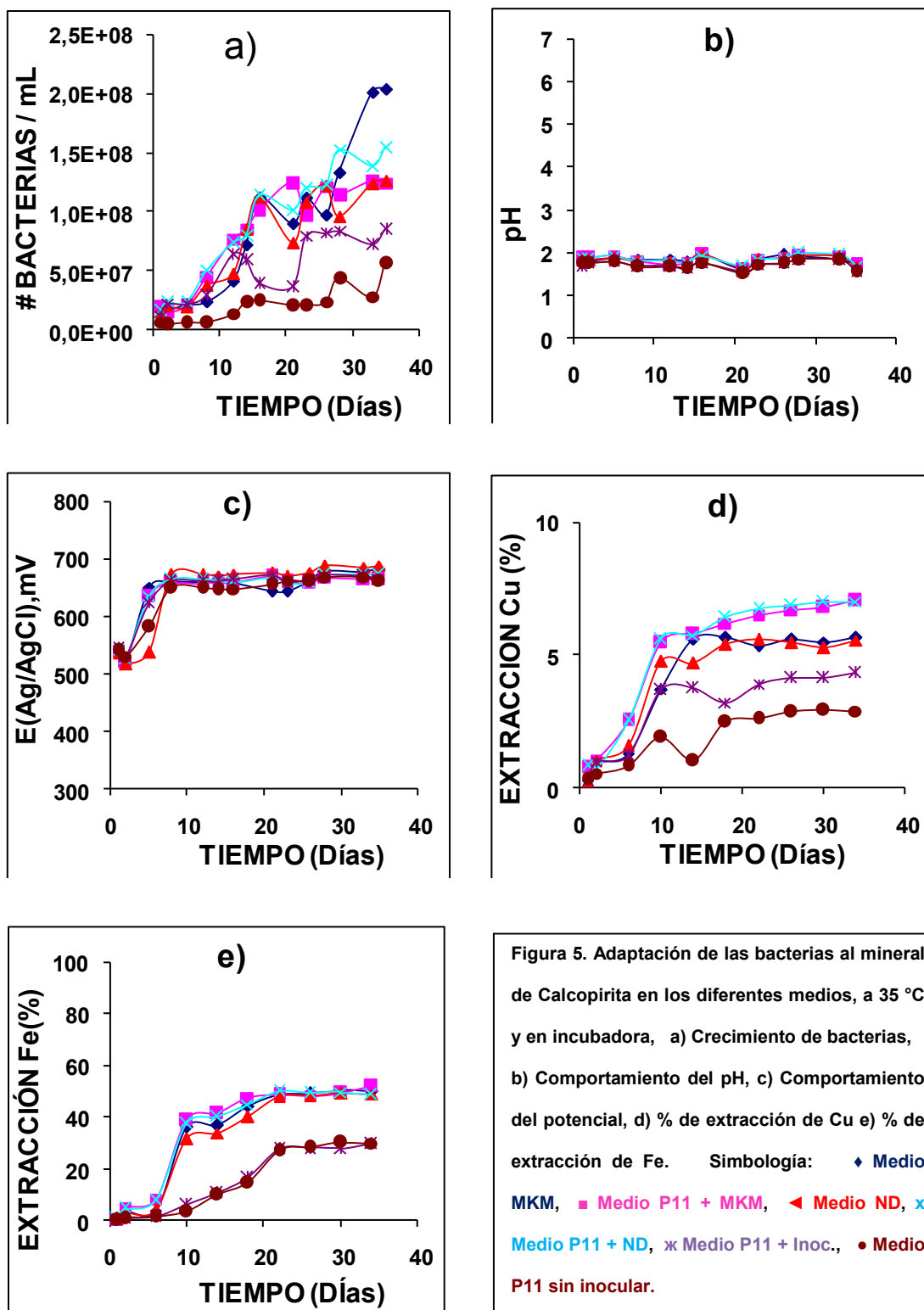
En estos reactores no hubo coloración al iniciarse el proceso de adaptación, pero conforme pasó el tiempo el reactor con el medio MKM comenzó a tomar una coloración ligeramente amarilla, seguida del reactor con P11+ Inoc. y después las restantes, pero al final estos 2 medios fueron los que presentaron una coloración más fuerte, aunque ligeramente amarilla.

La gráfica “d” nos muestra el % de extracción del metal o disolución del mineral durante el proceso, en los primeros días casi no hubo extracción, esto puede ser explicado mencionando que en este lapso sólo hubo disolución química mientras las bacterias se adaptaban al sistema, pero después del día

10 aumentó la rapidez de disolución, siendo indicativo de que las bacterias comienzan a adaptarse al medio y al mineral (Pirita). Podemos ver que entre los días 20 y 25 los medios MKM y P11+ Inoc. nuevamente tuvieron un aumento en la extracción del metal (Fe) de la pirita, siendo éstos los medios donde en el 1er. pase fue mucho mejor la extracción del metal. Aunque en términos generales la extracción no fue buena debido a que sólo se trató de la adaptación de las bacterias (*Acidithiobacillus Ferroxidans* y *Acidithiobacillus Thiooxidans*).

4.3.2 Biolixiviación de Calcopirita.

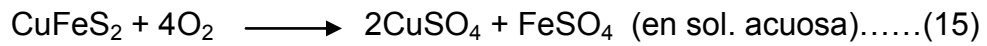
Los resultados de los parámetros de biolixiviación del 1er. pase de adaptación de las bacterias a cada uno de los medios y al mineral de Calcopirita se muestran en la figura 5.



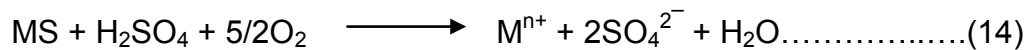
La figura 5 nos muestra 5 gráficas de diferentes variables del mineral de Calcopirita, la gráfica “a” describe el comportamiento del crecimiento y adaptación de las bacterias en el mineral de Calcopirita, se puede observar que los primeros 7 u 8 días el crecimiento es lento siendo éste el tiempo de adaptación de las bacterias al medio y al mineral, después de estos días comienza un crecimiento acelerado sobre todo en los medios MKM, ND, MKM + P11, ND + P11 esto debido a una mejor adaptación de las bacterias a los medios por los nutrientes que estas soluciones tienen y al mineral de Calcopirita. Se observa que el medio P11 + Inoc. al inicio presenta una velocidad de crecimiento igual que la de los demás medios pero después del día 15 este crecimiento decae manteniéndose por debajo del crecimiento de los demás medios. Por último en la P11 sin inoculo el crecimiento fue mínimo y siempre estuvo por debajo de los otros medios, aquí podemos concluir que los nutrientes de los medios utilizados MKM y ND, ayudan en la adaptación y crecimiento de las bacterias.

La gráfica “b” muestra el comportamiento del pH de los 6 diferentes medios, se observa que el pH para todos los sistemas tiene un comportamiento similar y una tendencia a disminuir ligeramente, este comportamiento es el esperado dada la reacción “9” ya descrita.

La gráfica “c” nos muestra que el potencial de cada uno de los medios es similar, comienzan con un potencial entre los 500 y 550mV y en los primeros 7 u 8 días tienen un aumento importante manteniéndose entre los 650 y 700mV. Esto se debe a la disolución del mineral, es decir a la extracción de los metales en este caso Fe y Cu presentes en el mineral de Calcopirita y que se describe con la reacción siguiente:



Las gráficas “d” y “e” nos muestran la extracción de los metales Cu y Fe. En la grafica “d” donde se muestra el % de extracción del Cu, al inicio no hay una gran recuperación o extracción sino que ésta es mínima siendo lo más probable es que solo haya una disolución química o ataque protónico, como lo hace ver la reacción (14):



pero después del día 7 comienza una extracción más acelerada, en este momento podemos decir que las bacterias comienzan a adaptarse atacando al mineral, siendo los medios MKM +P11 y ND + P11 los que muestran una mejor recuperación. También podemos observar en la gráfica “e” que la recuperación o extracción de Fe es similar a la de Cu, siendo los mismos medios los que alcanzan una mejor extracción, obteniéndose un mejor rendimiento para Fe que para Cu.

4.3.3 Biolixiviación de Calcosita.

Los resultados de los parámetros de biolixiviación del 1er. pase de adaptación de las bacterias a cada uno de los medios y al mineral Calcosita se muestran en la figura 6.

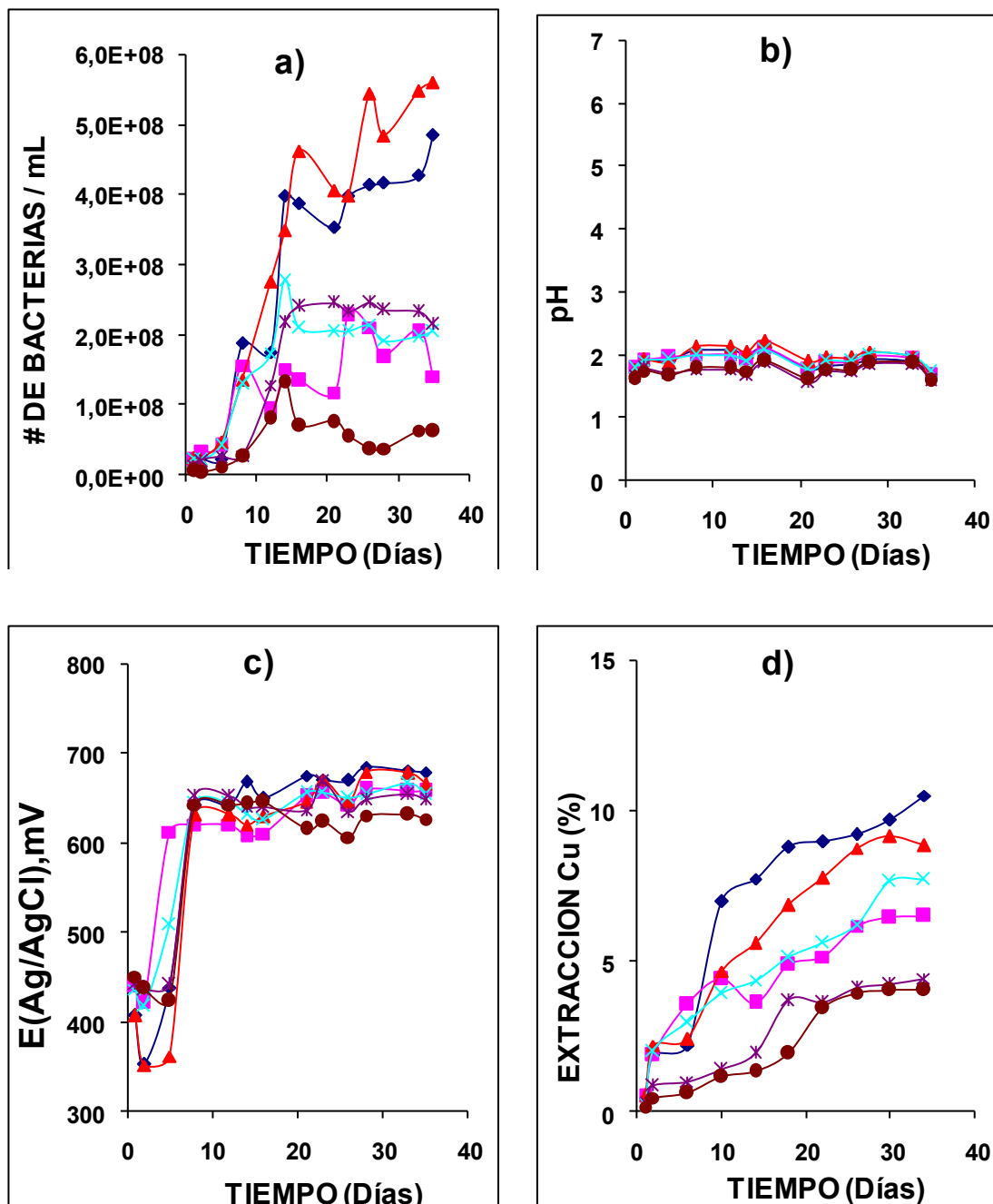
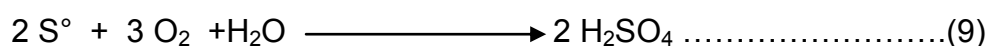


Figura 6. Adaptación de las bacterias al mineral de Calcosita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Cu. Simbología: ◆ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◄ Medio ND, x Medio P11 + ND, ⋈ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

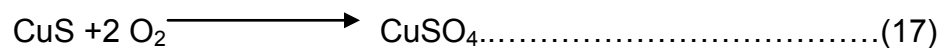
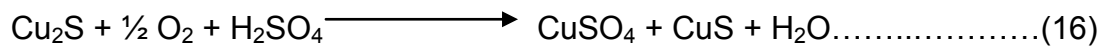
En la figura 6, la gráfica “a” muestra el crecimiento de las bacterias en la adaptación a cada uno de los diferentes medios con el mineral Calcosita, podemos observar como en los primeros 5 días no hay un crecimiento de bacterias, pero después de estos días se alcanza un crecimiento acelerado en dos medios (MKM y el ND) dado que son los medios donde realmente hay muy buena adaptación de las bacterias al medio nutriente y al mineral (Calcosita). En los otros medios tales como el MKM + P11, ND + P11 sin inoculo y el P11 + Inoc., el crecimiento no fue el mejor pero si hubo un buen crecimiento, y el medio que no respondió fue la P11, esto puede ser debido a que como este medio no tiene nutrientes, los cuales se pueden obtener del subsuelo, las bacterias se adaptan con dificultad.

La gráfica “b” nos muestra el comportamiento del pH de la solución durante el proceso de adaptación de las bacterias, se ve claramente como todos los medios se mantienen en un pH entre 1.5 y 2, debido al igual que los demás minerales a la producción de ácido sulfúrico con la reacción “9” ya descrita:



El potencial de dicho sistema se muestra en la gráfica “c” de la figura 6 y en esta gráfica podemos observar que el potencial vuelve a estabilizarse por 5 días, después del 5to o 6to. día el potencial crece súbitamente para después mantenerse entre los 650 y 700mV, esto como ya lo hemos dicho, es dado por la extracción del metal ó la disolución del mineral en un mayor grado una vez que las bacterias ya se han reproducido y se han adaptado al medio y al mineral.

En la gráfica “d” podemos observar como las bacterias se han ido adaptado a cada uno de los medios. Es muy notorio como los medios MKM y ND solos presentan una mejor extracción del metal o disolución del mineral, los otros dos medios que dan una mejor respuesta son los medios combinados P11 con los nutrientes del medio MKM y de nuevo ND (MKM + P11, y ND + P11) por debajo de los primeros y P11 + Inoc. y la P11 sola no tienen una buena recuperación o extracción del metal. Después de 35 días podemos decir que la mejor adaptación de las bacterias fue en los medios MKM y ND solos. Esta extracción está dada por las siguientes reacciones:



La coloración de cada uno de los reactores al inicio de la adaptación fue despreciable prácticamente no hubo coloración pero después de los primeros 15 días los medios MKM y ND solos comenzaron a adquirir una tenue coloración azul turquesa pero conforme fue pasando el tiempo ésta se hizo más intensa. En los medios combinados P11 con nutrientes (MKM + P11 y ND + P11) la coloración se notó hasta después de 20 días y fue muy tenue al final. El medio P11 + Inoc. no tuvo cambio alguno, así como la P11 sola, además estos medios tomaron su propia coloración por la P11 la cual tiene una coloración amarilla verdosa.

4.3.4 Biolixiviación de Molibdenita.

Los resultados de los parámetros de biolixiviación del 1er. pase de adaptación de las bacterias a cada uno de los medios y al mineral de Molibdenita se muestran en la figura 7.

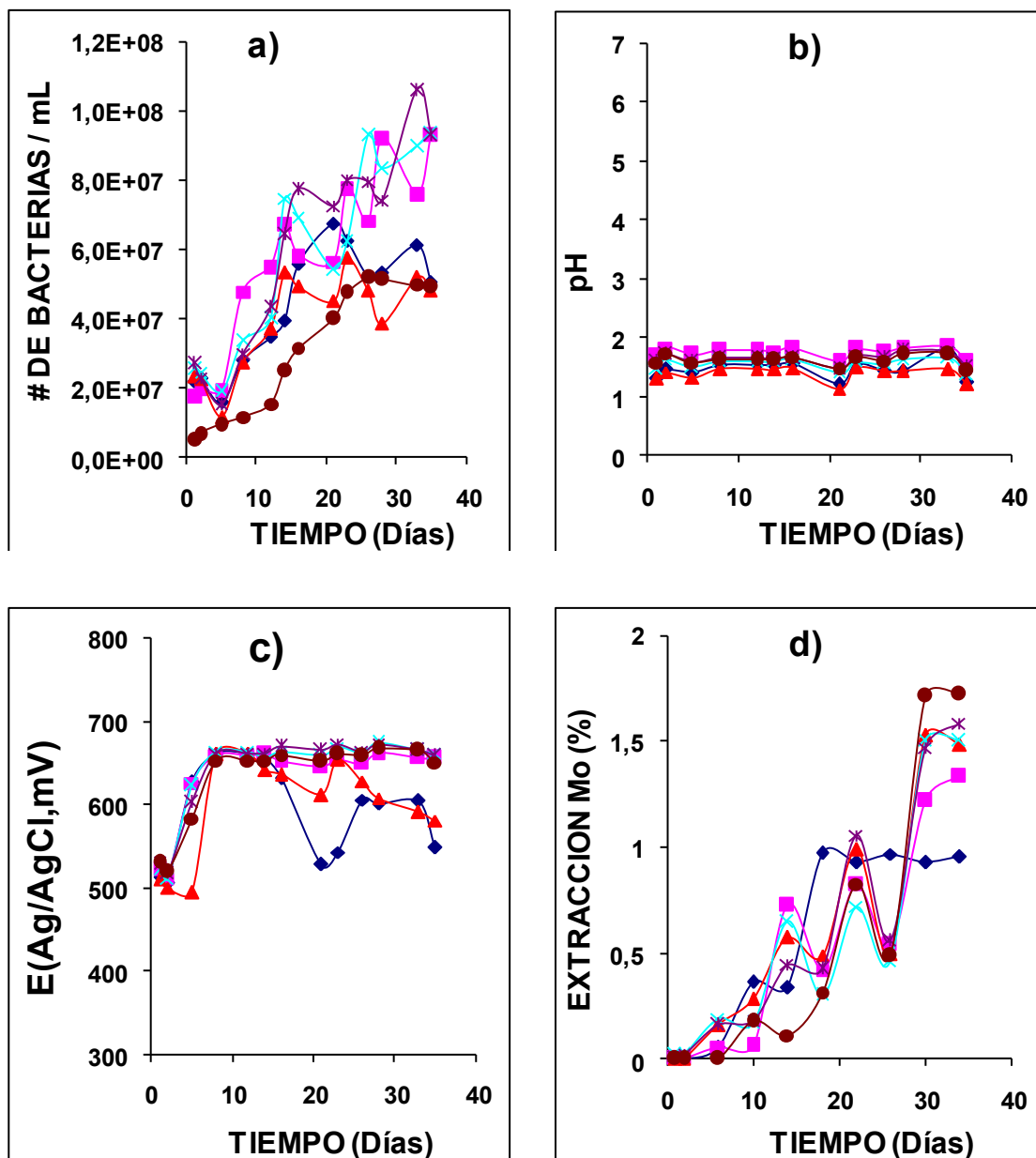


Figura 7. Adaptación de las bacterias al mineral de Molibdenita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Mo. Simbología: ◆ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◀ Medio ND, × Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

La figura 7 nos muestra la gráfica “a” que nos da la información del crecimiento de bacterias en la adaptación de las mismas a cada medio y al mineral Molibdenita. En la gráfica se observa en primer lugar que no fue el crecimiento acelerado como con los 3 minerales anteriores, es decir el crecimiento fue pobre pero suficiente para continuar la adaptación de las bacterias a la Molibdenita con el siguiente pase. Regresando a la gráfica “a” podemos observar que los medios donde más se adaptaron las bacterias fueron el MKM + P11, ND + P11 y P11 + Inoc., ya que al final del proceso hubo un número mayor de bacterias y los medios en los que el crecimiento fue mucho menor son MKM, ND, pero el crecimiento que realmente fue pobre fue el de la P11 esto debido a que las bacterias al final no pudieron adaptarse de la mejor manera por la falta de nutrientes en este medio.

La gráfica “b” de la figura 7 nos muestra el comportamiento del pH de los 6 diferentes medios con el mineral Molibdenita, en este comportamiento es notorio que todos los medios mantienen su pH entre 1.5 y 2, esto como ya lo hemos mencionado es debido a la producción de ácido sulfúrico debido a la reacción 5 y a la reacción 1 ya mencionada:



La gráfica “c” nos muestra el potencial obtenido durante el proceso de adaptación de las bacterias en todos los medios, se puede observar que al inicio el potencial se detectó entre los 500 y 520mV y después de los 3 primeros días el potencial comenzó a subir en casi todos los medios, aunque el medio ND fue el que tardó en alcanzar ese incremento en el potencial. El medio MKM después de 15 días sufrió una caída importante, esto debido a una muy baja disolución del metal, este comportamiento es seguido por el del medio ND.

Este comportamiento puede deberse notablemente a que la Molibdenita es hidrófoba y las bacterias no pueden adherirse al mineral para realizar el trabajo necesario, es decir las reacciones para disolver el mineral.

La gráfica “d” nos muestra la extracción de Mo en cada uno de los medios, se puede ver que la extracción es mínima en todos los casos, pero es más notorio en el medio MKM donde al alcanzar el 1% de extracción a los 18 días éste se mantuvo en 1% con un mínimo crecimiento, esto como ya se mencionó se debió a que las bacterias no pudieron tener contacto con el mineral y realizar sus reacciones. Con este mineral (Molibdenita) se puede decir que la adaptación fue mínima debido al pobre crecimiento de las bacterias y a la poca extracción de metal

Es preciso decir que para el mineral Molibdenita no se pudo observar un cambio de coloración en los reactores debido a que este mineral generó una gran turbidez grisácea dentro de la solución, aunado a que este mineral es hidrófobo.

4.4 Estudios de Biolixiviación de minerales a 35°C. Adaptación de bacterias a los minerales, 2do pase.

Una vez observados los parámetros de adaptación de las bacterias a cada uno de los minerales en los diferentes medios se realizó una segunda etapa de adaptación de las bacterias, para poder tener un mejor resultado en el proceso de la cinética de biolixiviación. Cabe mencionar que en el caso de la Molibdenita las condiciones de pH y el crecimiento de bacterias aunque mínimas fueron las óptimas, para realizar un segundo pase.

4.4.1 Biolixiviación de Pirita.

Los resultados de los parámetros de la segunda etapa de adaptación de las bacterias al mineral Pirita y a cada uno de los medios nutrientes son mostrados en la figura 8.

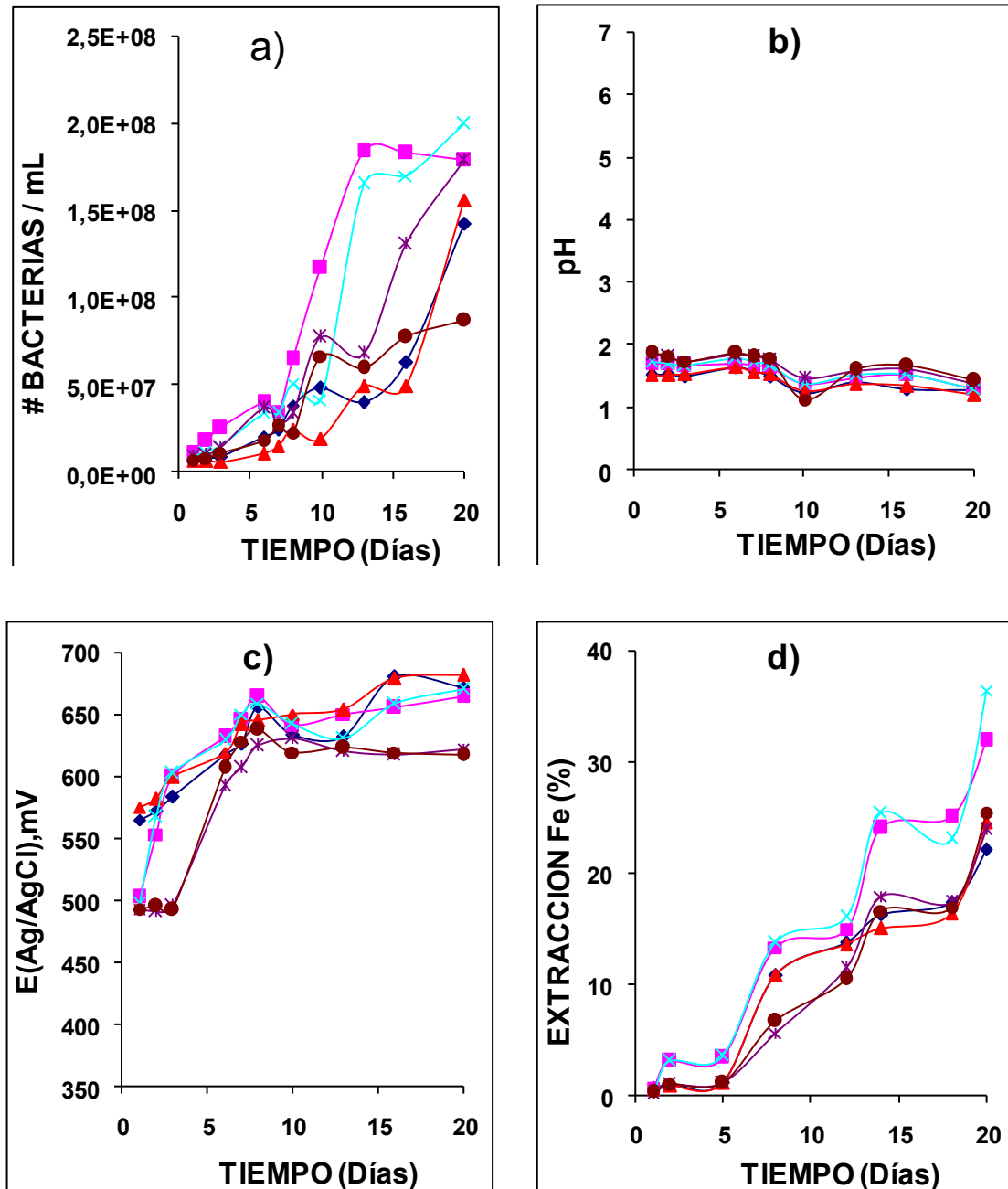


Figura 8. Adaptación (2da. pase) de las bacterias al mineral de Pirita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Fe. Simbología: ♦ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◀ Medio ND, x Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

La figura 8 muestra las gráficas de las cuatro variables del 2do. pase del proceso de Biolixiviación del mineral Pirita. Al observar las cuatro gráficas (crecimiento de bacterias, pH, potencial y % de extracción) podemos mencionar que el tiempo que las bacterias tardan para comenzar a catalizar las reacciones de disolución del mineral o extracción de metal, se redujeron notablemente (más específicamente el crecimiento de bacterias y la extracción) comparado con el 1er. pase dado que en éste las bacterias tardaron en adaptarse alrededor de 18 días y en el 2do. pase solo 10 u 11 días aproximadamente, ésto debido a que las bacterias ya habían estado en contacto con cada uno de los medios y con el mineral por lo que ya había cierta adaptación en el 1er. pase dando una mejor adaptación de las bacterias tanto a los diferentes medios como al mismo mineral Pirita. También podemos observar que los mejores medios para el proceso son los que están combinados es decir MKM + P11 y ND + P11, dado que éstos generaron el mayor número de bacterias y tuvieron las mejores extracciones las cuales alcanzaron entre un 30 y 40%.

La gráfica “b” de pH nos muestra un comportamiento normal para los seis medios manteniéndose entre 1.5 y 2, esto dado por la producción de ácido sulfúrico.

En la gráfica “c” de potencial es notorio como los medios MKM + P11, ND + P11 inician por debajo de 500mV, pero inmediatamente comienzan a aumentar. Los medios P11sin inoc. y P11+ Inoc., comienzan también por debajo de los 500mV pero éstos se mantienen por 4 días y comienza a subir su potencial aunque este disminuye levemente y se mantiene.

En los reactores comienza a notarse una coloración amarilla tenue en los medios MKM+ P11, ND + P11, a los 8 días y a los 11 días los medios MKM

y ND, presentaron el mismo comportamiento aunque los primeros terminaron con una coloración amarilla más fuerte. En P11 sin inoc. y la P11 + Inoc. no se visualizó algún cambio de color debido a la coloración amarillo verdosa de la solución P11.

4.4.2 Biolixiviación de Calcopirita.

Los resultados de los parámetros de la segunda etapa de adaptación de las bacterias al mineral Calcopirita y a cada uno de los medios nutrientes son mostrados en la figura 9.

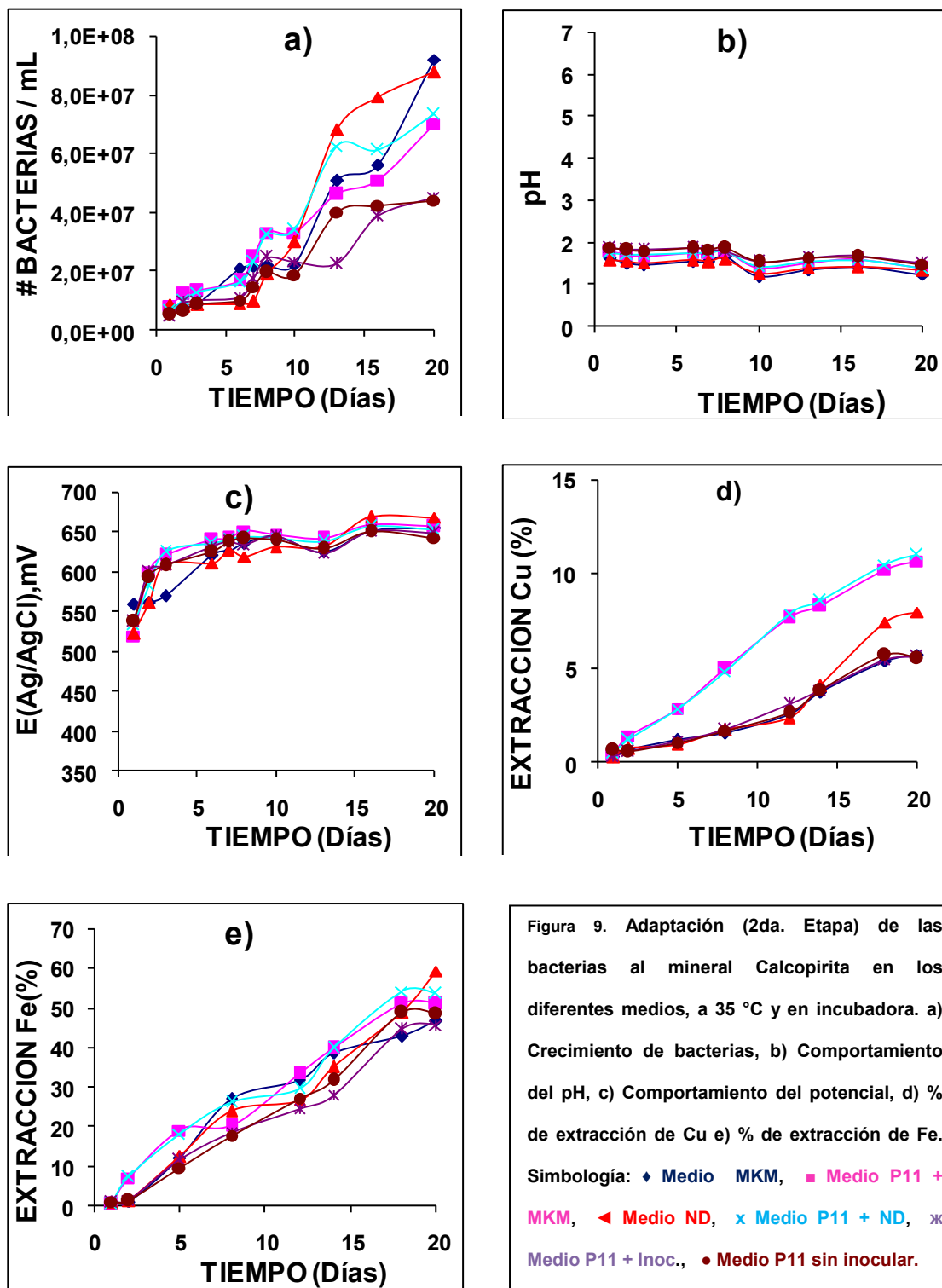


Figura 9. Adaptación (2da. Etapa) de las bacterias al mineral Calcopirita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Cu e) % de extracción de Fe. Simbología: ◆ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ▲ Medio ND, x Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

La figura 9 nos muestra las 5 diferentes gráficas de las variables del 2do. pase, podemos observar en la gráfica “a” que el crecimiento se da desde el primer momento aunque un poco lento, después se denota un crecimiento importante a los 8 días en los 4 medios (MKM, ND, MKM + P11, ND + P11), en los otros dos medios (P11 + Inoc. y P11 sola), hubo un crecimiento alto pero menor al anterior, es decir nuevamente los 4 primeros sistemas mencionados tuvieron una mejor adaptación a cada uno de sus distintos medios en este 2do. pase, este resultado fue muy parecido al 1er. pase. Esto debido a los nutrientes existentes en estos sistemas (MKM, ND, MKM + P11, ND + P11) ya que los otros dos medios (P11 + Inoc. y P11 sola) no contienen ningún nutriente a excepción del que se encuentra en el subsuelo.

En la gráfica “b” podemos observar que el comportamiento del pH en esta parte del proceso no cambió y siguió con la tendencia de mantenerse entre 1.5 y 2, resultado esperado dado que al haber ya una adaptación anterior de las bacterias esto propicia un aumento en la velocidad de producción de ácido sulfúrico.

En la gráfica “c” se denota que en todos los medios el potencial crece rápidamente, esto nos indica que en todos los medios hay disolución del mineral, también podemos observar que al llegar a un máximo en el 3er. ó 4to. día el crecimiento del potencial fue paulatinamente lento.

Las gráficas “d” y “e” nos muestran el % de extracción de los dos metales tanto Cu, como Fe, podemos observar en la gráfica “d” que muestra el % de extracción del Cu, que hay dos medios en los que realmente las bacterias se adaptan al mineral siendo éstos el MKM + P11 y el ND + P11. En la gráfica “a” de esta misma figura nos muestra que son 4 los medios donde se han

adaptado mejor las bacterias lo que no significa que están contribuyendo para la disolución del mineral. Sin embargo, si podemos decir que las bacterias están ayudando a catalizar las reacciones de disolución de este mineral para la extracción de Cu. También podemos observar que en este 2do. pase hubo una mayor recuperación de este metal (Cu). Al observar la gráfica “e” podemos darnos cuenta que en casi todos los medios hay una buena recuperación de Fe y que los medios que se encuentran siempre arriba en la extracción, son los mismos que en la extracción de Cu, también podemos ver que al igual que el Cu en este segundo pase hay una mayor recuperación de Fe.

Las coloraciones de los diferentes reactores comenzaron más rápido que las del 1er pase, en este 2do pase en los medios MKM +P11 y ND +P11 la coloración fue amarilla tenue y fue subiendo de tono conforme fue pasando el tiempo, en los medios MKM y ND éste cambió, se retardó 2 días más para poder darse la tonalidad amarilla, la tonalidad fue subiendo pero fue muy ligera.

Al igual que con el mineral de Pirita, teniendo toda la información recopilada de los dos pases y sabiendo que en algunos de los medios no hubo una buena adaptación de las bacterias, se decidió seguir con los seis medios para un 3er. pase con Calcopirita y así obtener la cinética de lixiviación, corroborar lo ya obtenido en los dos pases anteriores y observar modificaciones.

4.4.3 Biolixiviación de Calcosita.

Los resultados de los parámetros de la segunda etapa de adaptación de las bacterias al mineral Calcosita y a cada uno de los medios nutrientes es mostrado en la figura 10.

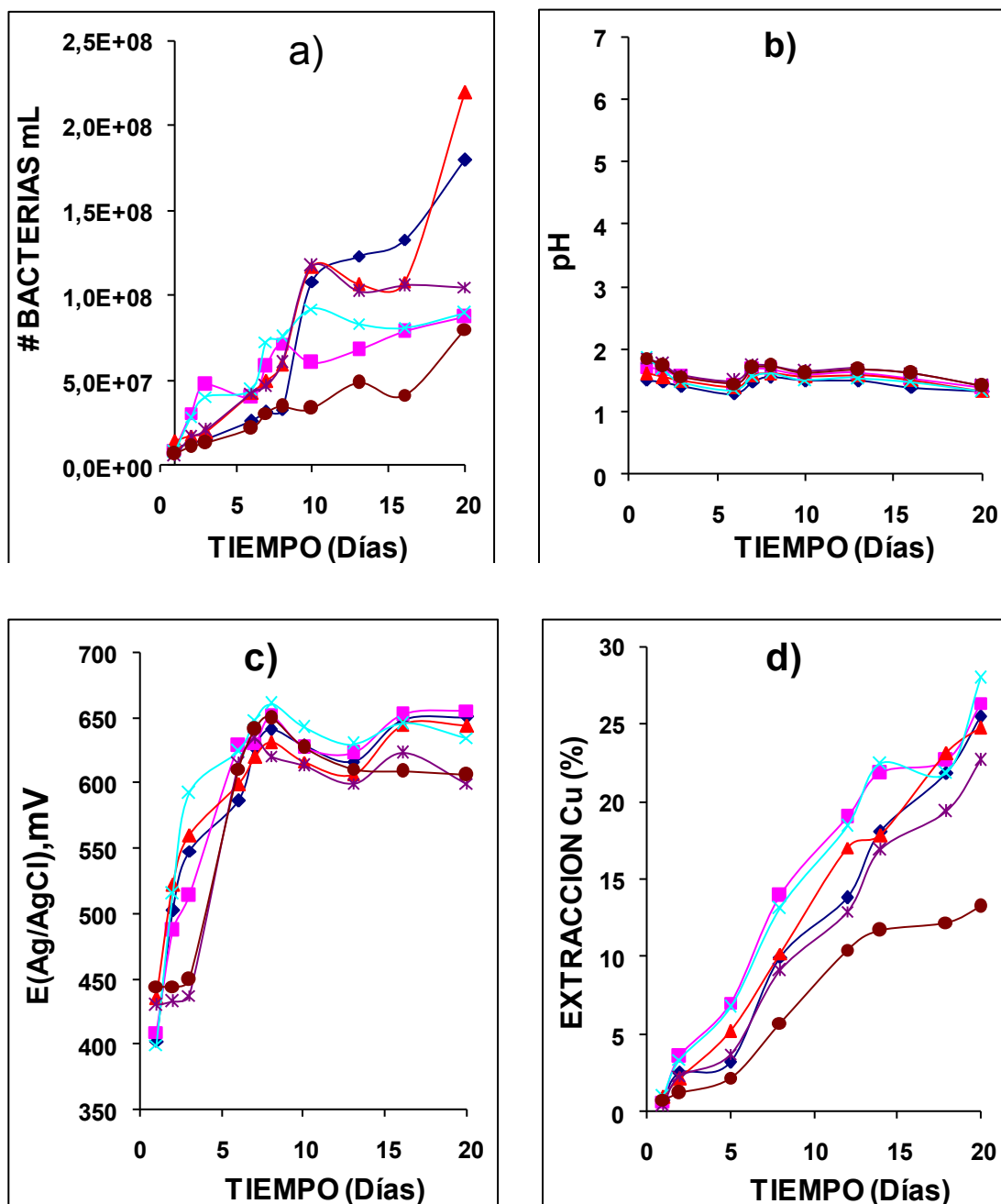
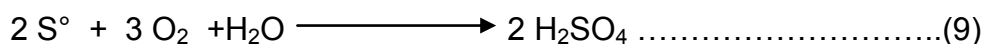


Figura 10. Adaptación (2da. Etapa) de las bacterias al mineral Calcosita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Cu. Simbología: ♦ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ▲ Medio ND, x Medio P11 + ND, * Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

La figura 10 muestra las gráficas de las variables que se midieron durante el 2do pase de la biolixiviación del mineral de Calcosita, aquí podemos observar en la grafica “a” el crecimiento y adaptación de las bacterias a los diferentes medios, se ve que hay un crecimiento paulatino en los primeros días, pero después del 8vo. día hay tres medios que se disparan en este crecimiento (MKM, ND y P11+ Inoc.), quedando por debajo los medios MKM + P11, ND + P11 y la P11 sin inoculo, hay que entender que no porque en un cultivo hay un mayor número de bacterias debe haber una mayor extracción, porque en muchas ocasiones las bacterias se adaptan muy bien al medio con los nutrientes que éste lleva pero al final no se adaptan lo mejor posible a el mineral al que queremos que ayuden a disolver. Si observamos la gráfica de extracción de Cu ésta denota una ligera mejoría en la extracción por los medios MKM +P11 y ND + P11, es decir que las bacterias aparte de adaptarse al medio nutriente también se adapta y ayuda a una mejor disolución del mineral correspondiente (Calcosita) y aunque los medios MKM y ND tienen un mayor crecimiento y una cierta disolución del mineral ésta no es la mejor.

La gráfica “b” de pH, nos muestra que la producción de ácido sulfúrico aumentó para poder llevar al pH alrededor de 1.3, por la reacción (9) ya mencionada:



En la gráfica de potencial (gráfica “c”) podemos observar cómo el potencial de cada uno de los diferentes medios va aumentando desde un principio dejando ver que hubo disolución del mineral, es notorio que en la mayoría de los medios se llega a un máximo en 8 días y de ahí tiene una

pequeña caída y después vuelve a ascender, el comportamiento de los seis diferentes medios es muy similar, exceptuando el de la P11 que en general siempre permanece por debajo.

En este 2do pase los reactores con el mineral Calcosita al inicio no mostraron alguna coloración pero después de los primeros 3 días mostraron una coloración azul turquesa en los reactores donde se encontraban los medios MKM + P11 y ND + P11 esta coloración fue subiendo de tonalidad con el tiempo, aunque no llegó a ser fuerte la coloración, algo similar ocurrió con los reactores de los medios MKM y ND siendo la coloración más tenue en todo momento.

Se toma la decisión de seguir con el 3er. pase, para obtener la cinética de biolixiviación con todos los medios y para observar algún cambio con respecto al 2do. pase.

4.4.4 Biolixiviación de Molibdenita.

Los resultados de los parámetros de la 2da etapa de adaptación de las bacterias a los medios y al mineral de Molibdenita se presentan a continuación en la figura 11.

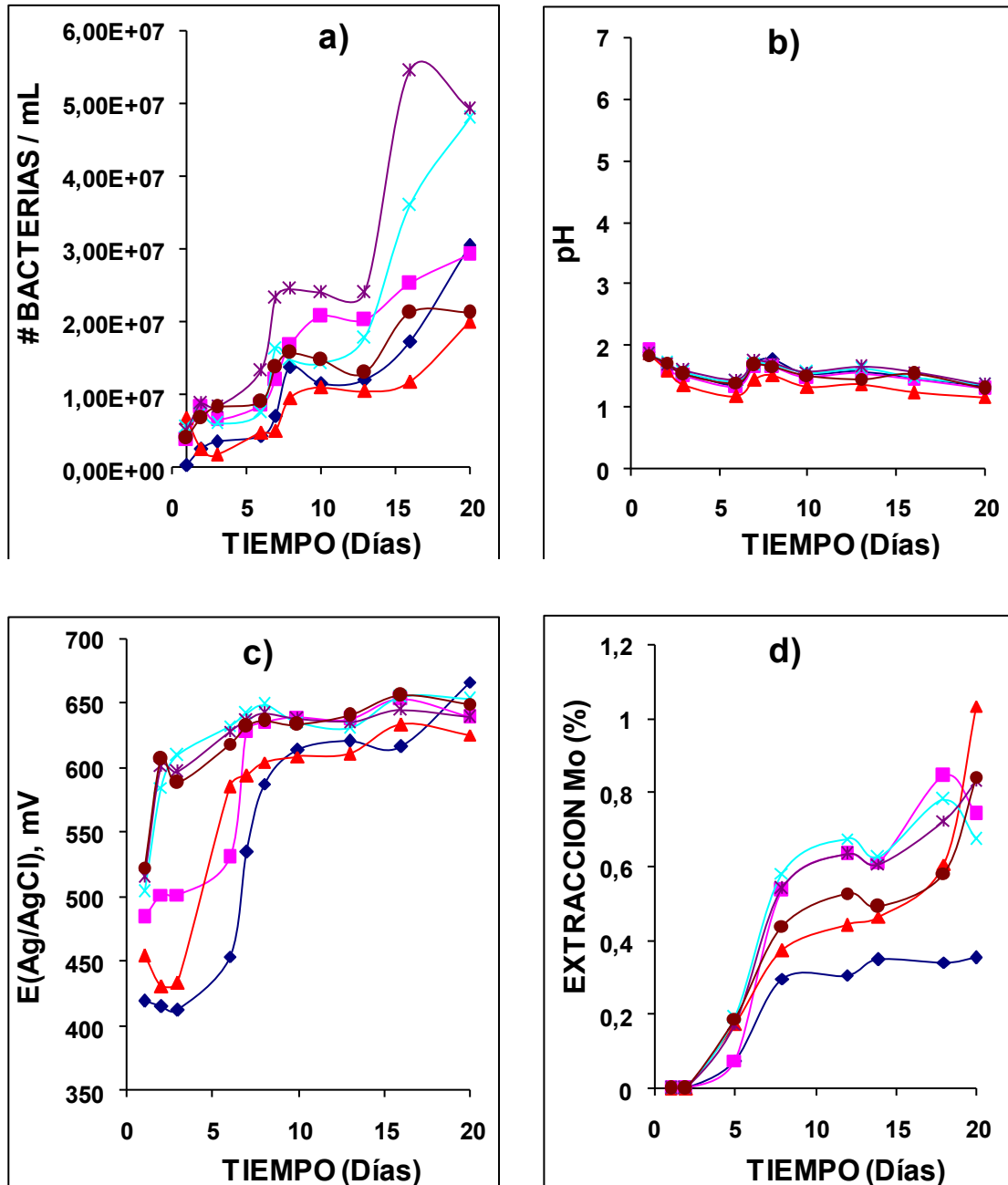
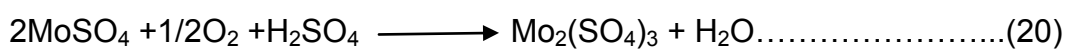


Figura 11. Adaptación (2da. Etapa) de las bacterias al mineral Molibdenita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Mo. Simbología: ♦ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◀ Medio ND, x Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

La figura 11 nos muestra las gráficas de las variables que se midieron durante el 2do. pase del mineral de Molibdenita. La gráfica “a” nos muestra que el crecimiento de bacterias en comparación con el 1er pase, fue similar es decir el crecimiento en general es pobre, hay tal vez una adaptación al medio nutriente dado el crecimiento mínimo, pero una adaptación al mineral difícilmente lo hubo, dado que si vemos la gráfica “d” que es la de la extracción del metal no hay una gran disolución. Los mejores medios donde hubo un crecimiento mayor fueron los de P11 + Inoc. y el de ND + P11.

Si observamos las gráficas de potencial y pH es decir las gráficas “b” y “c” nos damos cuenta que en primer lugar el potencial no alcanzó más de 600 y 630mV y siendo el esperado de 650 a 700mV, la respuesta al ¿Por qué llegó el potencial hasta 630mV? Puesto que no deja de haber disolución del mineral nada más que este es sólo un ataque químico y en ningún momento hay un ataque bioquímico o una catálisis de alguna reacción, es decir el proceso es descrito con las reacciones (17) ya mencionada y la siguiente:



Las bacterias al no actuar en estas reacciones como catalizador las mismas son muy lentas, la siguiente reacción se da pero esta es aun más lenta:



La reacción (1) es rápida pero dado que el reactivo limitante es el azufre, el poco azufre es rápidamente transformado a ácido sulfúrico.

En la figura 12 se muestran micrografías obtenidas del MEB de la superficie de mineral Molibdenita en dos diferentes medios (MKM + P11 y P11 sin inoc.), después del 2do. Pase de adaptación (Biolixiviación).

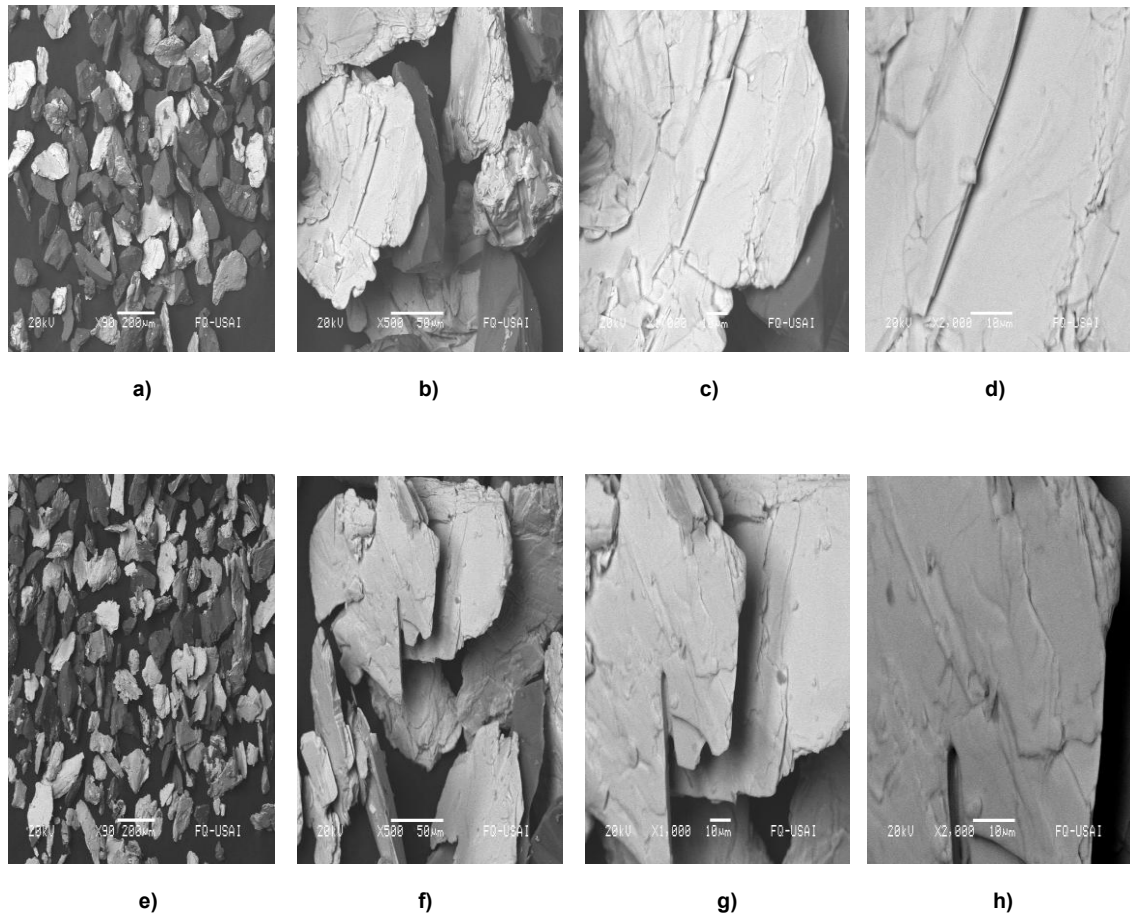


Figura 12. Micrografías del Microscopio Electrónico de Barrido. Molibdenita con ataque Químico en medio P11 a) 90X, b) 500X, c) 1000X, d) 2000X. Molibdenita con muy poco ataque biológico en medio MKM + P11, e) 90X, f) 500X, g) 1000X, h) 2000X.

Para poder sustentar aun más todo lo dicho se tomaron muestras de dos minerales atacados de Molibdenita en diferentes medios. Es pertinente aclarar que solo se analizaron muestras del 2do. Pase de molibdenita dado que los resultados nos conducían a concluir que no había biolixiviación en este mineral.

La figura 12 nos muestra dos secuencias de 4 imágenes, la primera secuencia es del mineral de Molibdenita en el medio P11, en estas imágenes nos damos cuenta como las diferentes superficies del mineral están totalmente lisas, por lo cual no se observa ataque biológico directo, y tampoco hay un ataque biológico indirecto, debido a que no hay puntos de ataque sobre la

superficie del mineral, por el contrario lo único que se puede denotar es un ataque químico común que se da en cualquier tipo de mineral sulfurado, esto ya que el ácido ha atacado toda el área superficial pero no la parte interna del mineral. Todo esto es consecuencia debida a que el mineral de Molibdenita es hidrófobo es decir no se moja tan fácilmente su superficie y al no mojarse, las bacterias no se pueden adherir directamente al mineral y hacer la función de catalizador de las reacciones químicas existentes.

Por todo lo descrito anteriormente se tomó la decisión de no seguir con el 3er pase de la biolixiviación de este mineral, dado que no hay una contribución importante a la disolución del mineral y extracción del metal en cuestión (Molibdeno) vía microbiológica, en las condiciones estudiadas.

4.5 Estudios de cinética de biolixiviación de minerales en incubadora a 35°C. 3er. pase.

Una vez obtenidos los resultados óptimos de los parámetros de los dos pases de adaptación de las bacterias *Acidithiobacillus Ferrooxidans* y *Acidithiobacillus Thiooxidans* a los minerales (Pirita, Calcopirita, Calcosita) y a los 6 medios, se decide realizar el 3er. pase para estudios de biolixiviación y así obtener resultados sobre la cinética de biolixiviación de los minerales en los diferentes medios, excepto con el mineral de Molibdenita donde los resultados obtenidos no fueron satisfactorios en las dos etapas de adaptación y por lo cual se toma la decisión de no seguir con el estudio de biolixiviación.

4.5.1 Biolixiviación de Pirita.

A continuación se presentan en la figura 13 los resultados de los parámetros del estudio de la cinética de biolixiviación (3er. pase) del mineral Pirita en cada uno de los seis medios de trabajo.

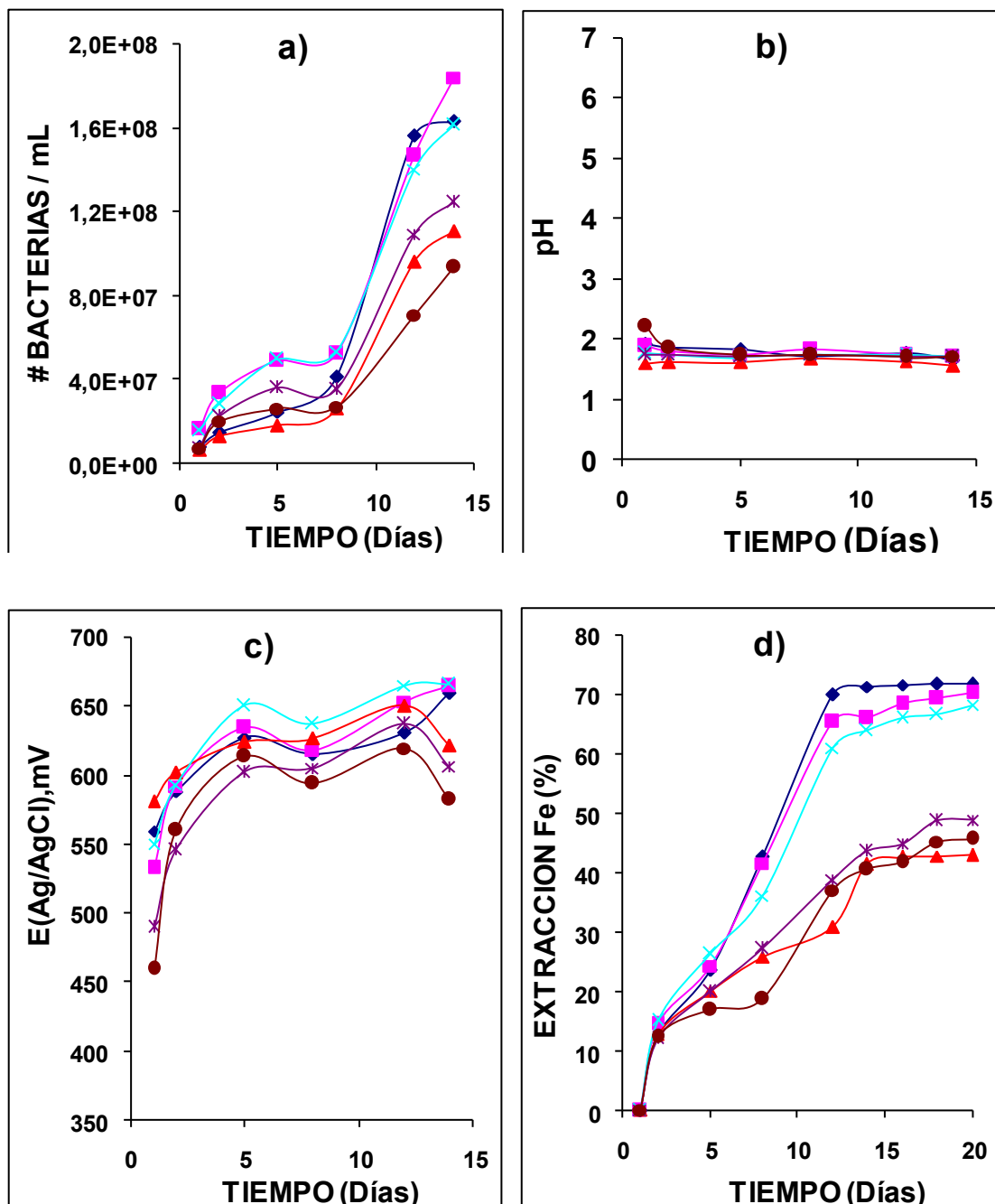


Figura 13. Cinética de biolixiviación de las bacterias en el mineral Pirita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Fe. Simbología: ◆ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◄ Medio ND, × Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

El objetivo de este 3er. pase ya no es la adaptación de las bacterias, sino ahora es necesario ver la cinética de la biolixiviación, para determinar cuál de todos los medios fue o fueron el más efectivo para el propósito de la biolixiviación.

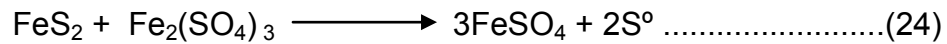
La figura 13 nos muestra las gráficas de las variables a seguir durante la biolixiviación de Pirita. En la gráfica "a" se observa cómo desde el inicio del proceso se da el crecimiento de las bacterias (*AF* y *AT*) en los seis medios, pero desde un principio se observa como los medios ND + P11 y MKM + P11 tienen una velocidad de crecimiento bacteriano mayor durante todo el proceso. Se observa en la gráfica como después de los primeros 8 días el crecimiento alcanza una gran velocidad, es decir se necesitó mucho menos tiempo para este efecto que en los pases anteriores. Consecuentemente esta velocidad de reacción es alcanzada gracias a la adaptación de las bacterias tanto a los medios ya mencionados que tuvieron los nutrientes necesarios para la reproducción de las bacterias así como a la adaptación de las mismas al mineral en cuestión (Pirita) para obtener de él el nutriente complementario para su metabolismo. Si observamos detenidamente la gráfica "a" junto con la gráfica "d" podemos darnos cuenta que mientras más bacterias hay una mayor extracción del metal en cuestión (Fe).

En la gráfica "b" que en todos los medios se siguió produciendo el ácido sulfúrico necesario para el metabolismo de las bacterias, dado que ninguno de los sistemas se salió del rango de 1.5 a 2, de hecho no hubo grandes oscilaciones dentro de este parámetro o variable.

Las reacciones implicadas durante el proceso de biolixiviación del mineral Pirita para la producción de ácido sulfúrico y posteriormente la disolución del mineral o extracción del metal, son las siguientes:



Estas dos reacciones son aceleradas enormemente por el papel catalítico de las bacterias (*Tf* y *Tt*). La primera de estas dos reacciones puede ser suplementada por la siguiente reacción:



Aparte de esta última reacción, para la producción de azufre las bacterias mantienen una acción indirecta a través de la producción de Fe^{3+} , además una vez obtenido el azufre elemental se produce el ácido sulfúrico de la ya citada reacción (9), de esta forma se completa todo el ciclo de biolixiviación de la Pirita para la extracción de Fe.

La gráfica “c” nos muestra un comportamiento parecido en el potencial al de la gráfica de pH dado que una vez que ha llegado a un máximo se mantiene, teniendo una pequeña oscilación y es exactamente en el mismo tiempo en que comienzan a aumentar el número de bacterias y el % de extracción.

Las coloraciones de los reactores fueron muy similares después de los 4 primeros días esta fue una coloración amarilla tenue en los mismos medios donde hubo mayor extracción y conforme paso el tiempo esta coloración se hizo más intensa. La coloración del medio ND comenzó hasta los 6 días del proceso. En la P11 sin inoc. y la P11 + Inoc. no se observó algún cambio en la coloración dado que estas adquirieron la coloración amarillo verdosa de la P11.

A continuación se muestran fotografías de los reactores, en la figura 14.

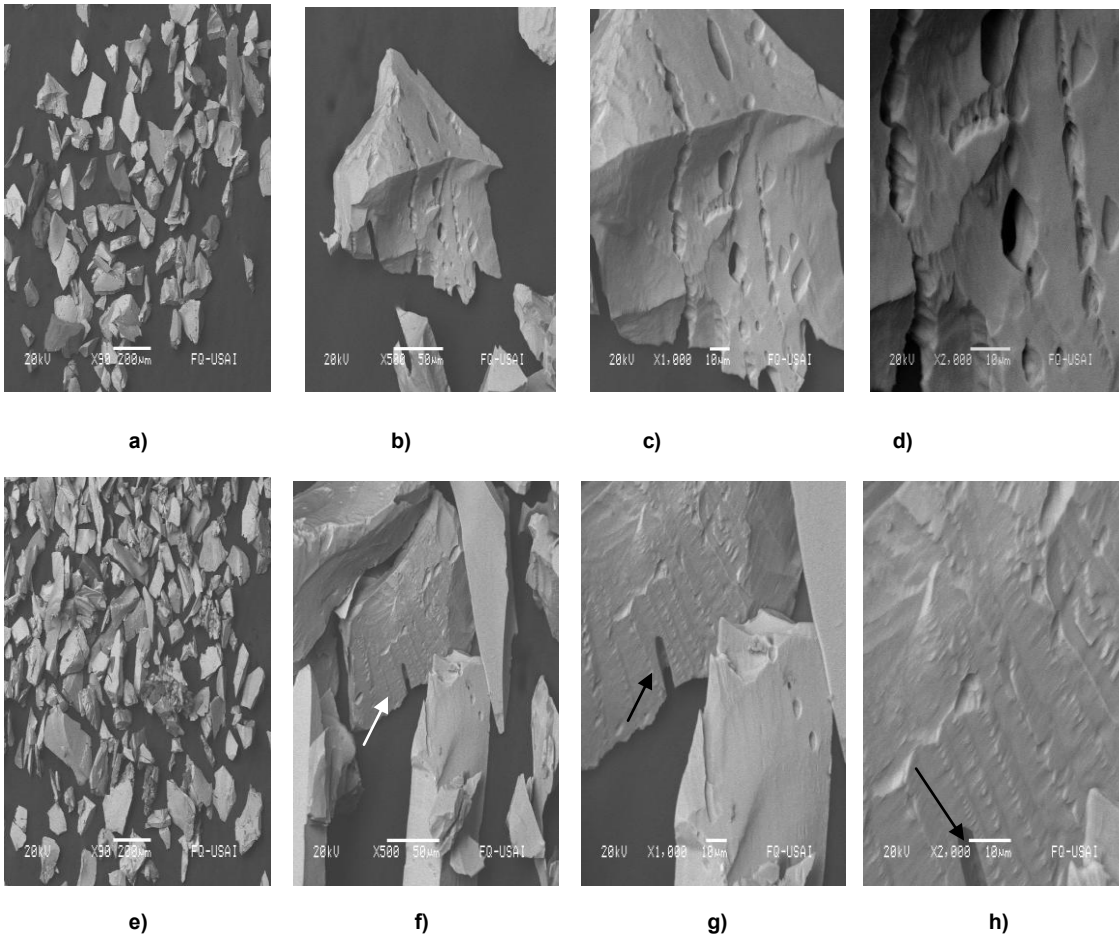


a)

b)

Figura 14. a) Reactores con Pirita en diferentes medios, b) Diferentes reactores.

A continuación se presentan micrografías obtenidas del MEB de Pirita atacada en dos medios diferentes después de la biolixiviación, en la figura 15.



a)

b)

c)

d)

e)

f)

g)

h)

Figura 15. Micrografías de Pirita con ataque Biológico en medio MKM a) a 90X, b) a 500X, c) a 1000X, d) a 2000X. Pirita con poco ataque Biológico en medio P11 sola, e) a 90X, f) a 500X, g) a 1000X, h) a 2000X.

La figura 15 muestra dos secuencias de imágenes obtenidas del MEB, de residuos de biolixiviación de Pirita, éstas muestran un ataque directo de las bacterias sobre el mineral. La primera secuencia de fotografías (a, b, c, d.) demuestran el poder efectivo de las bacterias sobre este tipo de mineral, al participar no solo indirectamente catalizando reacciones sino ya directamente sobre la superficie de las partículas. Con estas imágenes podemos decir que los dos mecanismos de lixiviación con bacterias convergen, el Directo y el Indirecto, es decir directamente la bacteria se adhiere a la partícula mineral produciendo Fe^{2+} y SO_4^{2-} e indirectamente las bacterias *Acidithiobacillus Ferroxidans* transforman al Fe^{2+} a Fe^{3+} .

En la segunda secuencia de micrografías (e, f, g, h) de la figura 15, podemos observar cómo al no haber bacterias reactivadas, ni nutrientes en el medio (P11), difícilmente se obtuvo una lixiviación asistida por bacterias, la superficie del mineral se observa lisa sin porosidad, probablemente las pocas bacterias contenidas en la P11 ayudaron de un modo indirecto a la disolución química, pero no hubo una relación directa masiva de las bacterias con la Pirita.

Por último podemos decir que para el mineral de Pirita hay tres medios que pueden biolixiviarlo de una mejor manera y estos son los medios MKM solo, el MKM + P11 y el medio ND + P11 dada la mejor extracción de metal o lixiviación del mineral.

4.5.2 Biolixiviación de Calcopirita.

En la figura 16 se muestran los resultados de los parámetros de la biolixiviación de Calcopirita (3er. pase) en los seis diferentes medios de trabajo.

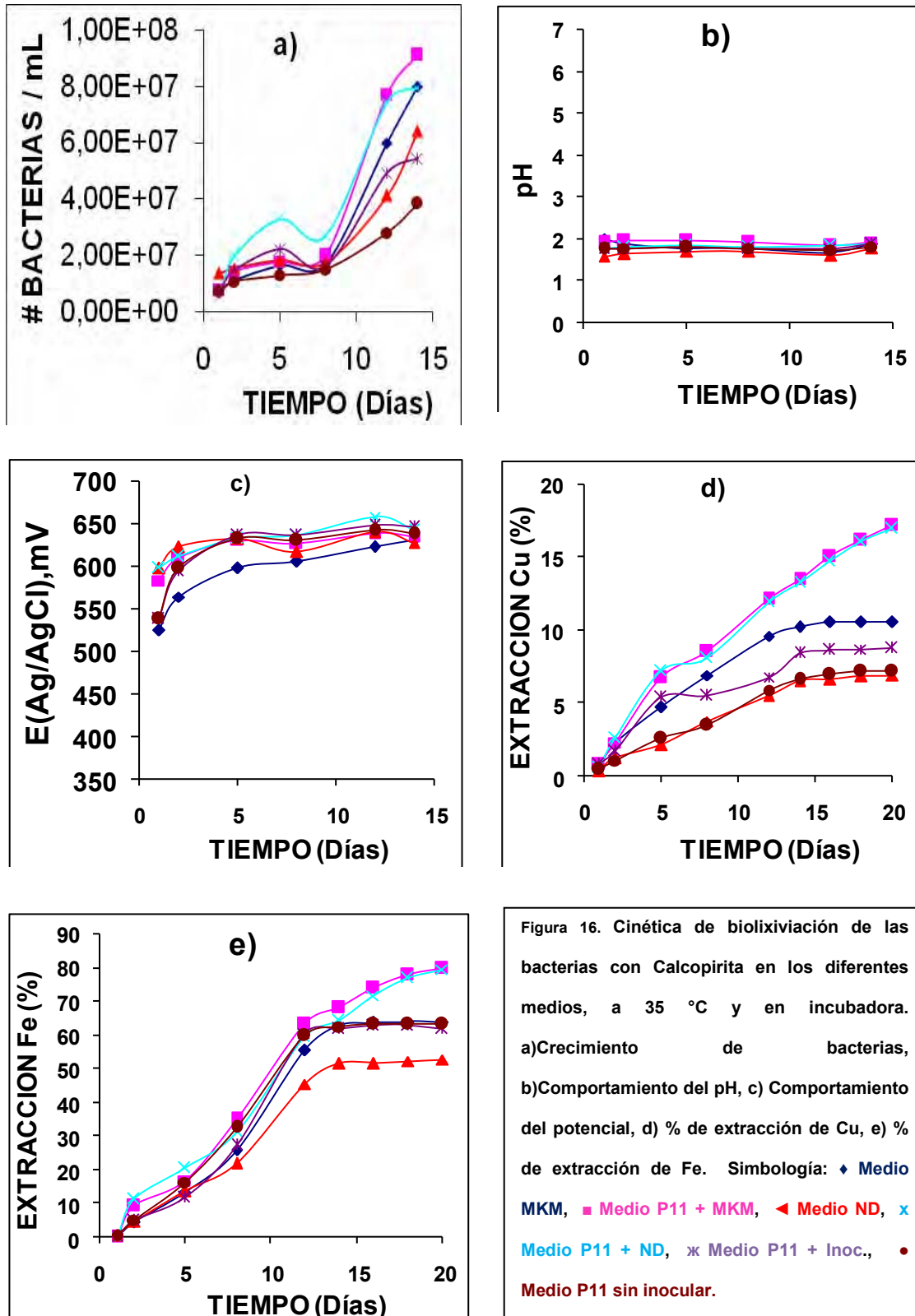


Figura 16. Cinética de biolixiviación de las bacterias con Calcopirita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a)Crecimiento de bacterias, b)Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Cu, e) % de extracción de Fe. Simbología: ◆ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◀ Medio ND, × Medio P11 + ND, ✱ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

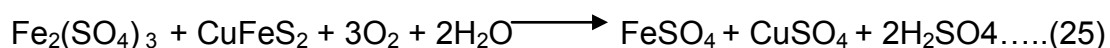
En el proceso de Biolixiviación del mineral calcopirita se midieron 5 variables durante el proceso y éstas se muestran en la figura 16. Revisando la gráfica “a” de crecimiento de bacterias en seis diferentes medios y con mineral de Calcopirita, esta gráfica nos muestra que hay un crecimiento de bacterias paulatino hasta el 8vo. día pero después de éste las bacterias crecieron con una velocidad muy alta, siendo nuevamente los medios MKM, MKM + P11 y ND + P11 igual que con el mineral pirita, los que al final tuvieron el mayor crecimiento. Esto es debido a la reactivación, a las etapas de adaptación de las bacterias a los medios nutrientes (ya que los tres medios con una velocidad de crecimiento mayor son medios que contienen nutrientes) y por la mejor adaptación de las bacterias al mineral. Si observamos esta gráfica en conjunto con las dos gráficas de extracción (“d” y “e”) podemos ver que estos 3 medios tuvieron también un buen porcentaje en la extracción de Cu y en el caso de la extracción de Fe tuvieron la mejor extracción sólo dos medios.

Al observar la gráfica “b” de la variable de pH se denota que dentro del proceso todos los medios estuvieron produciendo ácido sulfúrico, dado que de un pH inicial muy cercano a 2 en el mismo proceso en los seis diferentes medios lo bajó hasta alrededor de 1.7 ó 1.6, esto debido a la producción de ácido sulfúrico de la ya citada reacción (9).

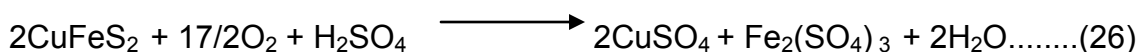
La variable del potencial descrita en la gráfica “c” indica que aunque todos los medios comenzaron con un potencial alto (alrededor de 550mV), el proceso en los diferentes medios estuvo disolviendo el mineral, el grado de la disolución del mineral se darán en las graficas “d” y “e”. Pero es realmente notorio como el potencial en todos los medios aumenta poco a poco.

Al observar las dos gráficas de extracción de los dos metales Cu y Fe, vemos que el Fe es el primero en extraerse ya que se observa una mayor cantidad de Fe extraído que de Cu, esto puede explicarse de la siguiente manera. Los iones ferrosos pasan a la solución por la acción química del ácido sulfúrico y el oxígeno sobre los minerales de sulfuro de hierro, con la reacción (14) ya mencionada.

La bacteria *Thiobacillus Ferrooxidans* ataca químicamente los iones ferrosos para formar iones férricos de la reacción (19) ya citada, los iones férricos actúan como un lixivante para los minerales, como se muestra en la siguiente reacción:



Esto puede explicar que al final del proceso tenemos mayor extracción de Fe y que de Cu. Aunque también las bacterias pueden catalizar la oxidación de sulfuros como la Calcopirita, siendo esto más difícil, la reacción es:



En el proceso de biolixiviación de la Calcopirita los reactores dieron una coloración amarilla tenue, en los medios MKM, MKM + P11, ND +P11, a partir del 5to día y conforme fue pasando el tiempo la coloración se fue haciendo más fuerte.

La coloración en todos los reactores con los diferentes medios y el mineral de calcopirita la no fue tan fuerte debido en primer lugar a la biolixiviación lenta (comparada con la de Pirita y Calcosita) y por la densidad de pulpa baja para este proyecto. Aun así se dieron coloraciones leves que se pudieron percibir como la coloración amarilla transparente que aunque muy leve en los medios MKM y ND se dieron que con el paso de la biolixiviación se

fueron acentuando un poco más, hay que mencionar que los medios MKM + P11 y ND + P11 se pudo ver un pequeño cambio en la coloración a un amarillo verdoso aunque leve y donde no se pudo observar realmente ningún tipo de cambio fue en los reactores con los medios P11 + Inoc. y P11 sola ahí por la naturaleza del agua de riego siendo esta de una coloración verdosa espesa no se pudo ver algún cambio de coloración.

A continuación se presentes dos diferentes fotografías de los reactores conteniendo mineral de calcopirita con diferentes medios en el proceso de biolixiviación.



a)



b)

Figura 17. Reactores con mineral de Calcopirita en los diferentes medios. a) Cuatro diferentes medios, MKM, MKM + P11, ND y ND + P11. b) Dos diferentes medios MKM, MKM + P11.

Las imágenes obtenidas en el MEB de las muestras de mineral Calcopirita atacado, en cada uno de los seis medios, se muestran en las figuras 18 y 19.

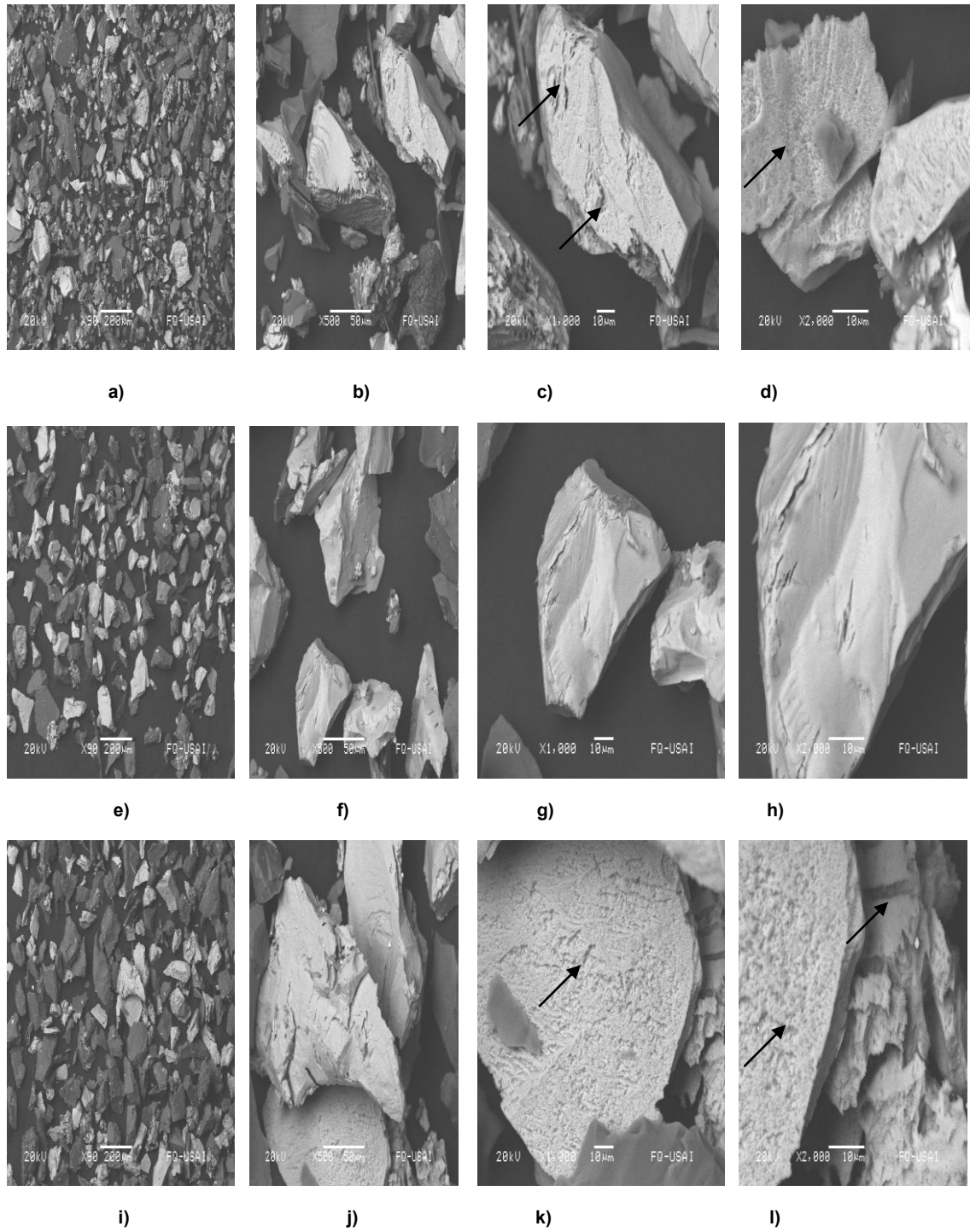


Figura 18. Micrografías de Calcopirita con ataque Biológico en medio MKM a) 90X, b) 500X, c) 1000X, d) a 2000X. Calcopirita sin ataque Biológico en medio ND e) 90X, f) 500X, g) 1000X, h) 2000X. Calcopirita con ataque Biológico en medio MKM + P11 i) 90X, j) 500X, k) 1000X, l) 2000X.

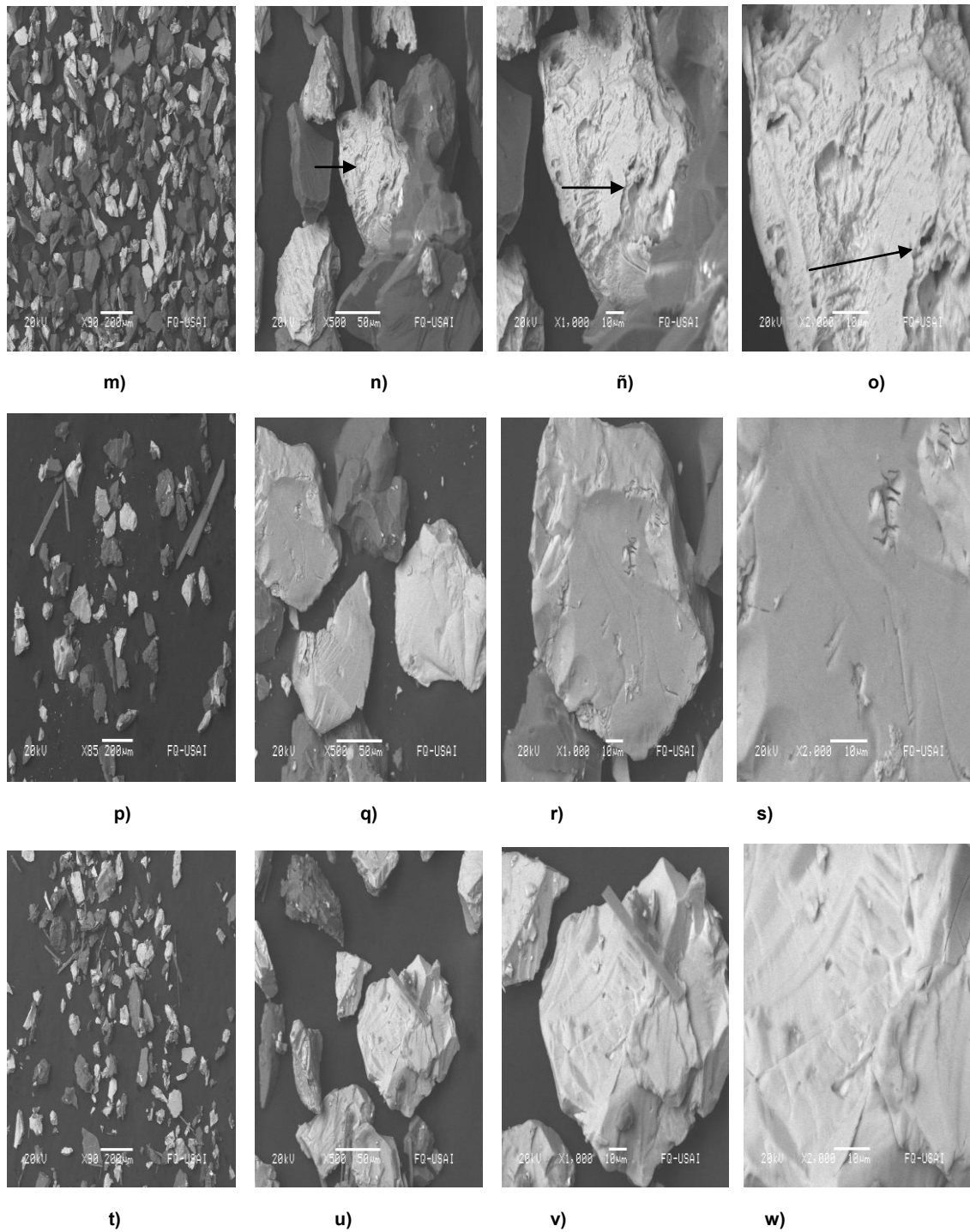


Figura 19. Micrografías Calcopirita con ataque Bioquímico en medio ND + P11 m) 90X, n) 500X, ñ) 1000X, o) 2000X. Calcopirita con ataque Químico en P11 + Inoc., p) 90X, q) 500X, r) 1000X, s) 2000X. Calcopirita con ataque Químico en P11 sola t) 90X, u) 500X, v) 1000X, w) 2000X.

Al observar la primera secuencia de imágenes de la figura 18 (a, b, c, d) podemos ver porosidad en la superficie del mineral, porosidad que solo es debida al ataque directo de las bacterias sobre la superficie del mineral, este ataque produce Fe^{2+} y SO_4^{2-} debido a una adaptación de las bacterias *Acidithiobacillus Ferrooxidans* (AF) al mineral, este mismo Fe^{2+} es tomado por (Tf) y es transformado a Fe^{3+} y el cual es utilizado químicamente para producir S^0 y Fe^{2+} , este azufre elemental será necesario para *Acidithiobacillus Tiooxidans* en la producción de SO_4^{2-} , por lo cual es posible que estén convergiendo tanto el mecanismo directo como el indirecto en un mecanismo mixto cooperativo, en el medio MKM con este mineral. Si comparamos las gráficas de extracción de Cu y Fe en el medio MKM con las imágenes (a, b, c, d) de la figura 18 podemos mencionar que no porque estén actuando los dos mecanismos debe haber la mejor recuperación dado que en la extracción este (medio MKM) fue el tercero en este rubro, lo más probable es que no hubo una adaptación total de la población de bacterias a el medio para facilitar la catálisis de las reacciones químicas.

En la segunda secuencia de imágenes (e, f, g, h) podemos observar que la superficie del mineral Calcopirita se encuentra lisa, no se ve porosidad en dicha superficie y observando que la extracción de Cu fue la más pobre, podemos decir que en esta muestra del mineral Calcopirita en el medio nutriente ND hubo una disolución química del mineral asistida en un grado menor por las bacterias en la catálisis de las reacciones químicas (mecanismo indirecto), pero aparentemente en ningún momento existió el mecanismo directo de las bacterias.

Al observar la tercer secuencia de la figura 18 (i, j, k, l) podemos ver una gran porosidad en la superficie de esta muestra, es innegable la presencia del mecanismo directo de participación de las bacterias en un alto grado, y por lo explicado anteriormente podemos mencionar que existió un mecanismo cooperativo de actuación de las bacterias, aunque probablemente el mecanismo indirecto se dió en una proporción mucho menor. Al ver las gráficas de extracción podemos ubicar a este medio como uno de los más altos en recuperación tanto de Cu como de Fe.

En la primera secuencia de imágenes de la figura 19 (m, n, ñ, o) es posible ver una porosidad muy alta en la superficie de la muestra del mineral Calcopirita, existiendo sin duda el mecanismo de actuación directo de las bacterias y observando las gráficas de extracción es posible mencionar que el mecanismo de actuación indirecto debió de haber ayudado en la disolución del mineral, pero no en la medida que lo hizo el mecanismo directo.

En las siguientes dos secuencias de la figura 19 (p, q, r, s) y (t, u, v, w) se observa claramente que las superficies de las muestras del mineral están totalmente lisas, es decir no hay un ataque biológico por parte de las bacterias, aunque lo más probable es que las bacterias debieron haber catalizado las reacciones mediante el mecanismo indirecto y así a ayudar a la disolución del mineral, más sin embargo la velocidad de extracción de los metales fue en cada uno de estos medios (P11 + Inoc. y P11 sin Inoc.) el más bajo en todo el proceso de biolixiviación (3er. pase).

4.5.3 Biolixiviación de Calcosita.

A continuación se presentan en la figura 20 los resultados de los parámetros de biolixiviación (3er. pase) del mineral Calcosita en cada uno de los seis medios de trabajo.

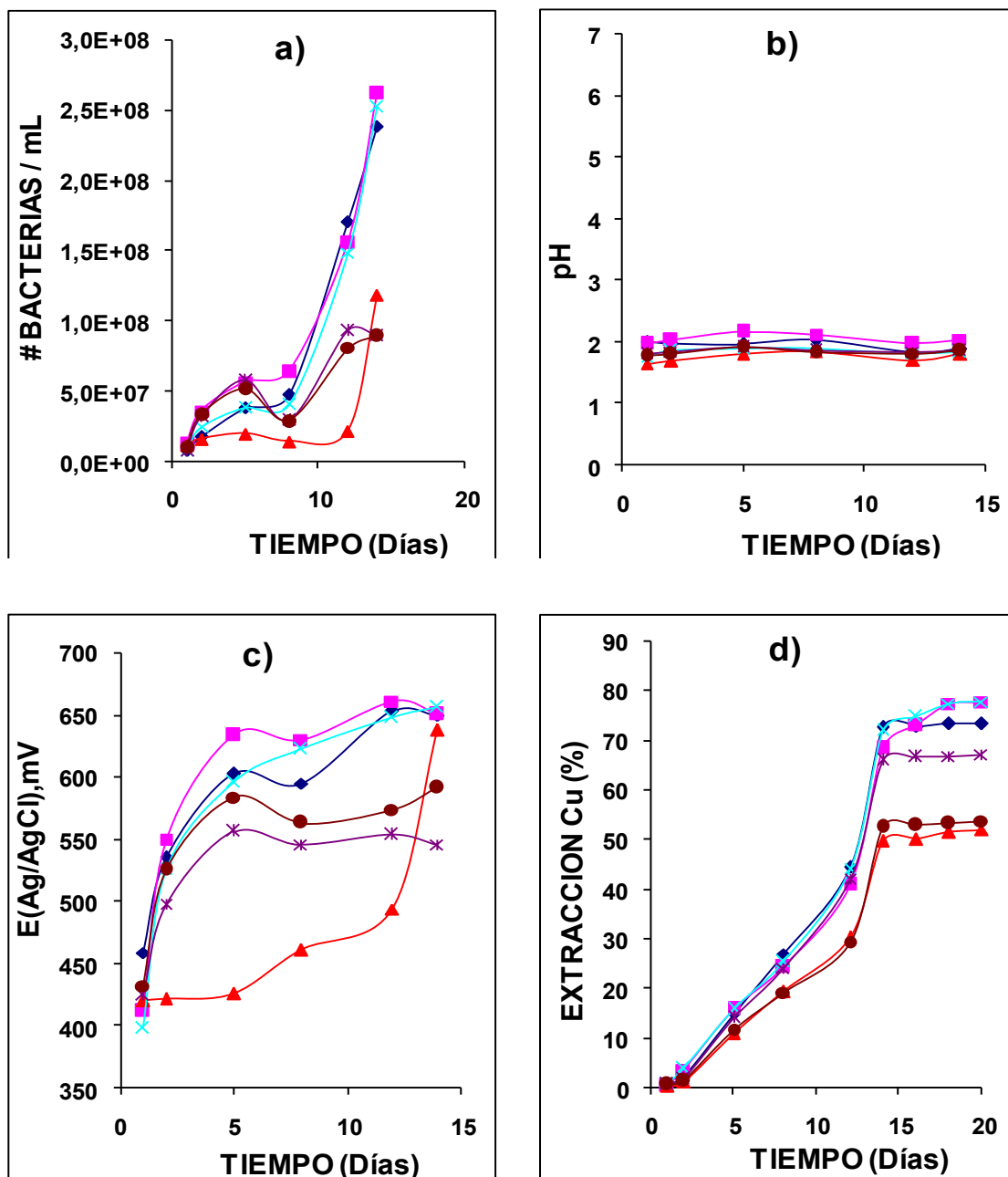


Figura 20. Cinética de biolixiviación de las bacterias con Calcosita en los diferentes medios, a 35 °C y en incubadora. a) Crecimiento de bacterias, b) Comportamiento del pH, c) Comportamiento del potencial, d) % de extracción de Cu. Simbología: ♦ Medio MKM, ■ Medio P11 + MKM, ◀ Medio ND, x Medio P11 + ND, ✕ Medio P11 + Inoc., ● Medio P11 sin inocular.

En la figura 20 la grafica “a” muestra como se dió el crecimiento de bacterias dentro de cada medio nutriente de trabajo, al inicio del proceso se percibe un crecimiento si bien no acelerado si importante para casi todos los medios, se observa que después de los 8 primeros días el crecimiento realmente es acelerado para los medios nutrientes (MKM, MKM + P11 y ND + P11). Llama la atención como el medio nutriente ND no presenta un crecimiento de bacterias por más de 11 días y después se incrementa, esto puede ser debido a que las bacterias tomaron este tiempo para una mejor adaptación y una vez adaptadas comenzaron a biolixiviar a una velocidad mayor.

Observando la gráfica “c” vemos cómo en el medio ND las reacciones de oxido reducción transcurren en bajo grado, como si sólo hubiese la disolución o ataque químico y que durante un buen lapso del proceso las bacterias de este medio nutriente no están catalizando las reacciones. En lo que se refiere a los medios P11 sin inoc. y P11 + Inoc. es notorio que se necesitan compuestos que den a las bacterias los nutrientes necesarios para tener una mejor adaptación y con ello un mejor desempeño en la biolixiviación. El oxígeno es necesario para el metabolismo de las bacterias, en las pruebas de biolixiviación el paso de oxígeno se favoreció colocando tapones de algodón permeables a los reactores.

Observando la gráfica “b” nos podemos dar cuenta que todos los medios producen ácido sulfúrico, probablemente el medio ND si estaba procesando un mínimo de ácido sulfúrico necesario para mantener la solución por debajo de un pH de 2 y este ácido era usado para disolver el mineral, dado que si vemos la gráfica “c” el potencial del medio ND su crecimiento fue lento, es decir si

hubo extracción ó dilución del mineral ó hubo reacciones de óxido reducción no catalizadas por las bacterias por lo que probablemente fue sólo un ataque químico.

La gráfica “d” muestra la extracción del metal en cada medio, podemos ver que los medios con mayor extracción son el medio P11+MKM y el medio P11+ND, seguidos por el medio MKM, estos tres medios contienen nutrientes externos que muy probablemente ayudaron a la adaptación de las bacterias a cada sistema en el que se desarrollaron.

En la biolixiviación de este mineral, se observó un cambio de color desde los primeros días, en los reactores con los medios MKM y ND se observó una coloración azul turquesa clara aunque en el medio MKM la coloración fue más intensa, en los medios MKM + P11 y ND + P11 debido a que estos medios tenían agua de riego su coloración desde un principio fue verdosa clara aunque poco a poco fue tornándose en verde azulado tenue y los reactores con los medios P11 + Inoc. y P11 sola su coloración siguió siendo verde pero ya no tan fuerte sino un poco más clara, como se ve en figura 21.



a)



b)

Figura 21. Reactores de biolixiviación de mineral Calcosita en diferentes medios.

a) Biolixiviación de mineral Calcosita al 3er. día en los medios MKM, MKM + P11, ND y ND + P11. b) Biolixiviación del mineral Calcosita al 8vo. día en los medios MKM, MKM + P11, ND, ND + P11 y P11 + Inoc.

A continuación se presentan en la figura 22, micrografías del mineral Calcosita en tres diferentes medios, con diferentes grados de ataque microbiológico.

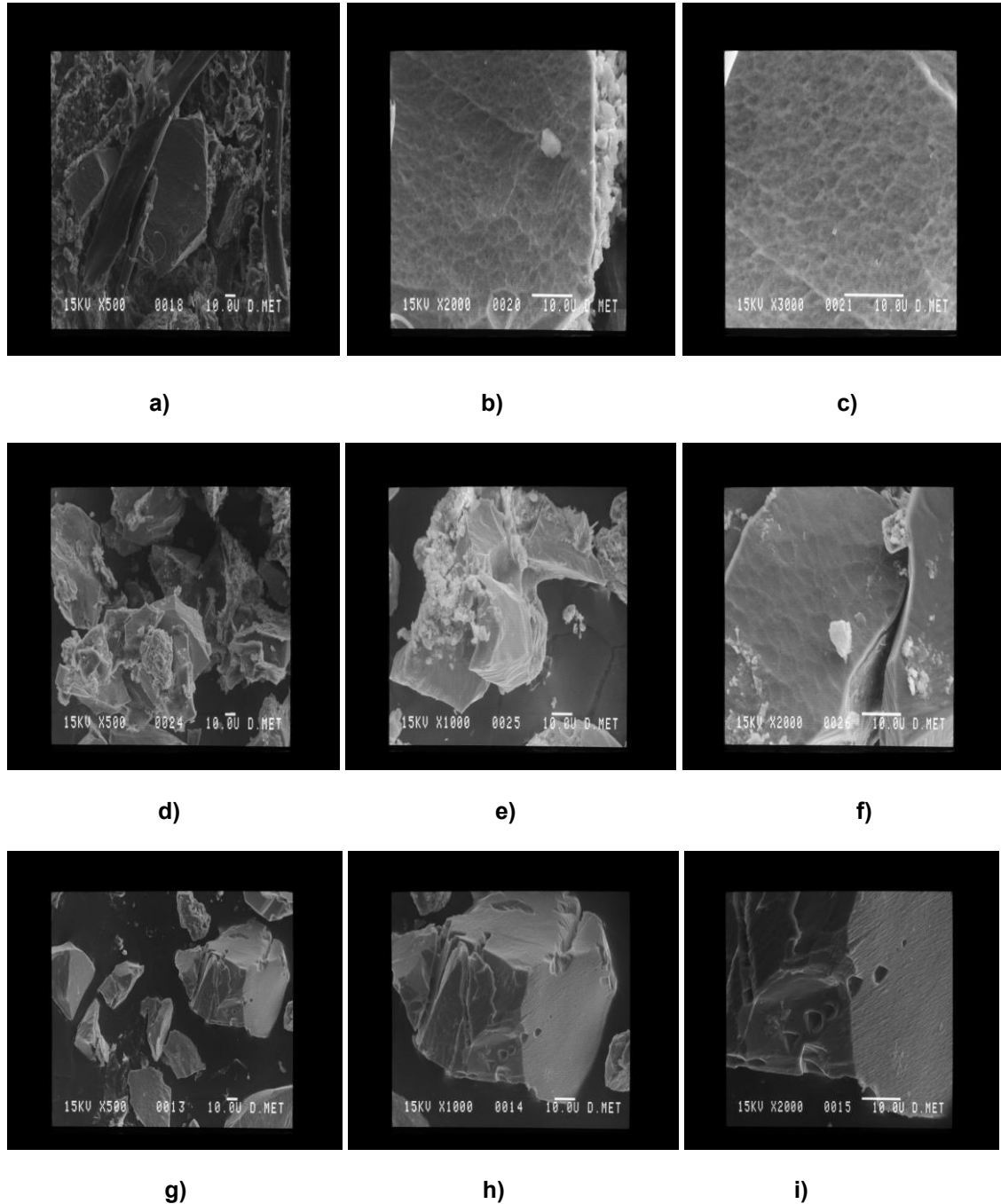


Figura 22. Micrografías del mineral Calcosita en tres diferentes medios en el proceso de biolixiviación. Medio MKM a) 500X, b) 2000X y c) 3000X. Medio ND d) 500X, e) 1000X, f) 2000X. Medio MKM +P11 g) 500, h) 1000 X y i) 2000X.

A continuación se presentan en la figura 23, micrografías del mineral Calcosita en dos diferentes medios, con diferentes grados de ataque microbiológico.

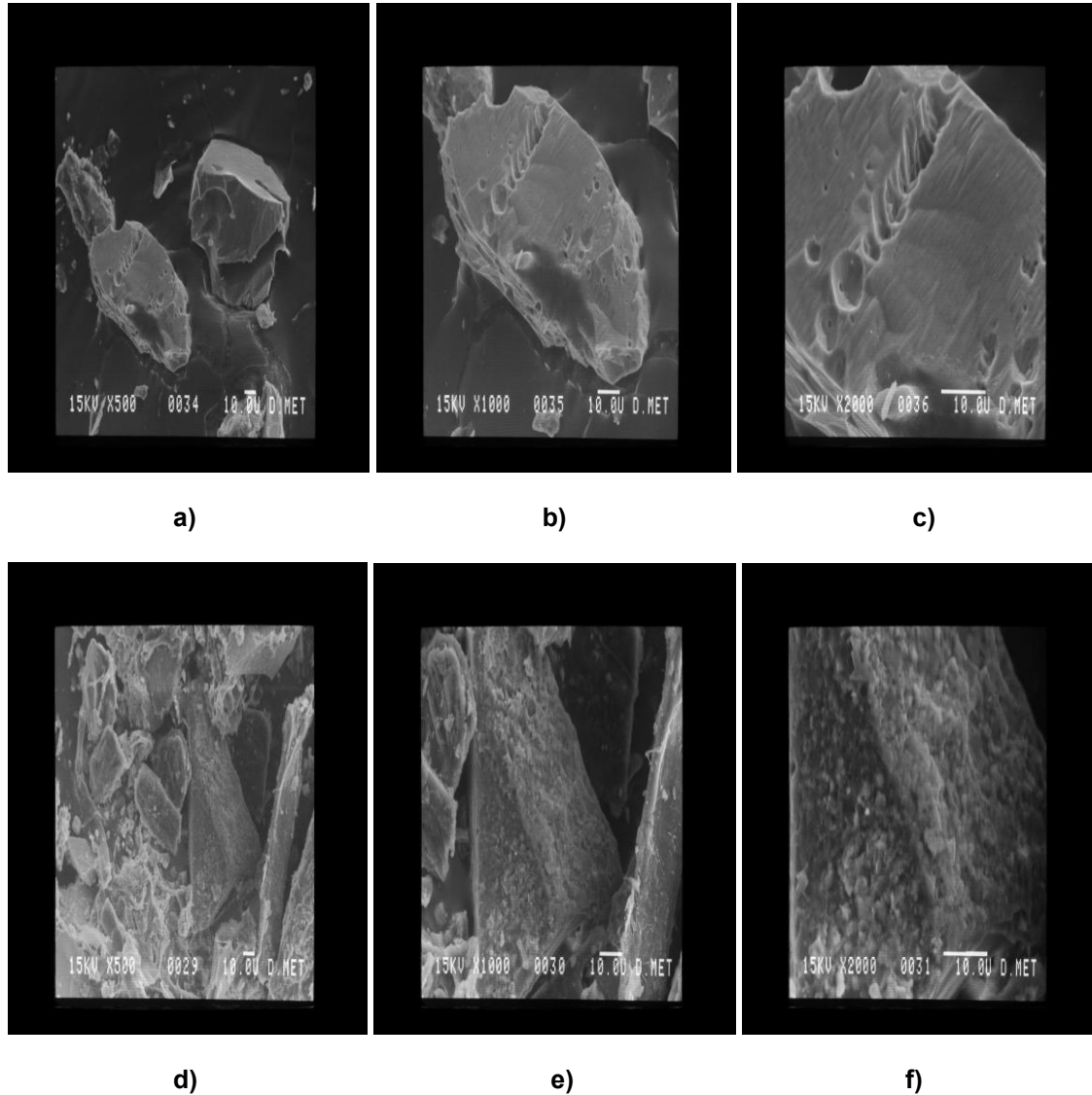


Figura 23. Micrografías del mineral Calcosita en dos diferentes medios en el proceso de biolixiviación. Medio ND + P11 a) 500X, b) 2000X y c) 3000X. Medio P11 + Inoc. d) 500X, e) 1000X, f) 2000X.

En la figura 22 se muestran tres secuencias de micrografías obtenidas en el MEB, la primera secuencia (a, b, c) muestran partículas de mineral Calcosita con ataque biológico en medio MKM, observando la gráfica de extracción de Cu podemos ver que este medio fue uno de los que tuvo mayor

extracción de metal arriba del 80% y observando las micrografías se ven relieves en el cristal en forma porosa en toda una cara, es decir no está liza esta cara como debería estarlo por lo cual podemos mencionar que en este medio se encontraban las bacterias actuando con el mecanismo directo, además del mecanismo químico y por ende el mecanismo indirecto que ayuda a catalizar las reacciones químicas. En la segunda secuencia (d, e, f,) podemos observar ligera porosidad en los cristales de Calcosita, mineral que se encontraba en medio ND, este medio junto con la P11 sola fueron los que tuvieron la menor extracción de metal, es decir se tuvo mínima participación de las bacterias directamente en los cristales del mineral por lo cual fue menor la extracción del metal apenas arriba del 50%, probablemente el mecanismo predominante fue el indirecto en conjunto con el mecanismo químico. En la tercera secuencia (g, h, i) es mucho más obvia la presencia del mecanismo directo en el mineral Calcosita en el medio MKM + P11, en el cristal que se presenta en la micrografía se observa los poros donde las bacterias se posaron para lixiviar el mineral, dejando literalmente huecos en el mineral, al observar la gráfica de extracción podemos darnos cuenta uno de los medios que tuvieron mejores resultados fue el MKM + P11, con esto podemos decir que el mecanismo dominante en este medio es el directo dado que influye de manera importante en la extracción del metal, aunque también coexisten el mecanismo químico y el indirecto el cuál ayuda a catalizar las reacciones químicas.

En la figura 23 se muestran dos secuencias de cristales de mineral Calcosita con ciertos grados de ataque en dos diferentes medios. La primera secuencia (a, b, c) nos muestra el alto grado de ataque de las bacterias al mineral Calcosita y nos deja ver los diferentes poros después del ataque

biológico en el medio ND + P11, este medio junto con el MKM + P11 fueron los dos medios que tuvieron mayor extracción del metal y fueron los dos medios que mostraron a través de las micrografías que tuvieron un ataque biológico y por lo cual podemos mencionar que fue el mecanismo directo el que tuvo una relevancia mayor en estos medios. En la siguiente secuencia de la figura 23 (d, e, f) las micrografías nos muestran el mineral Calcosita en el medio P11 + Inoc. atacado biológicamente en un menor grado, su porosidad no es uniforme o puntualizada, siendo este medio uno de los que tuvo una buena extracción llegando hasta los 68% aproximadamente y las micrografías indican que aunque sí estuvo presente el mecanismo directo este no fue el mecanismo controlante en este medio sino que fue el mecanismo indirecto ayudando a catalizar las reacciones químicas para la disolución del mineral.

Comparando la extracción de metal de este mineral con la extracción de Calcopirita y Pirita podemos observar que en Calcosita fue mucho mejor en todos los medios y esto puede ser debido a que el tamaño de la partícula de este mineral es sumamente más pequeña en comparación con la de los otros minerales y por esto se generó una área de contacto mucho mayor propiciando una gran ayuda para la lixiviación química y biológica, dado que al tener mayor área de contacto se adherirán un mayor número de bacterias a los cristales del mineral, ayudando a catalizar un mayor número de reacciones y por lo tanto se tendrá una mayor disolución química.

4.5.4 Estudio de la rapidez de extracción de Fe del mineral Pirita.

A continuación se presentan en la figura 24 seis gráficas donde se compara la extracción de Fe del mineral Pirita en los tres pases de biolixiviación en cada uno de los medios de trabajo.

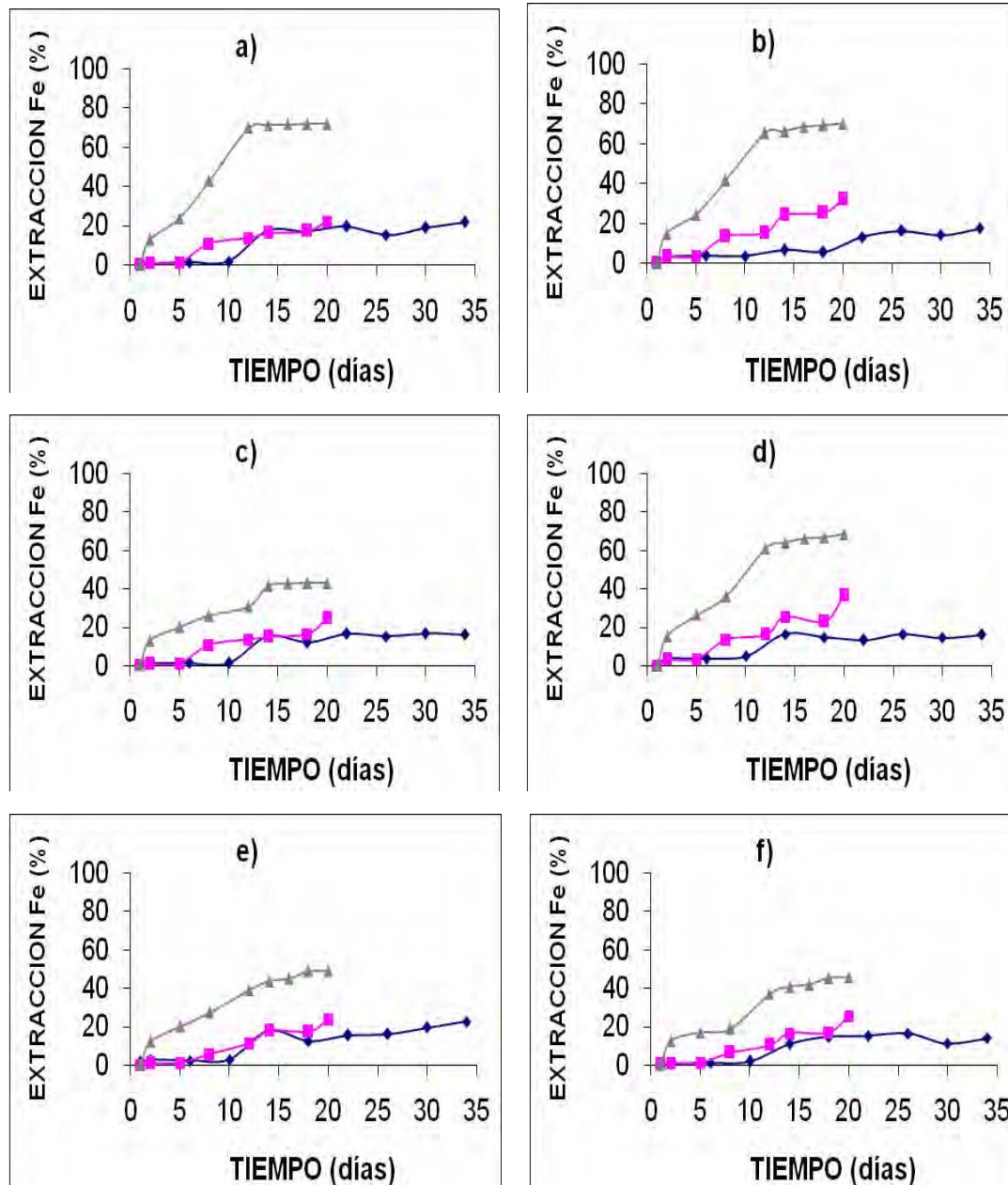


Figura 24. Comparativo de la rapidez de extracción de Fe del mineral Pirita, a 35 °C y en incubadora durante los 3 pases de adaptación. a) En medio MKM, b) En medio P11 + MKM, c) En medio ND, d) En medio P11 + ND, e) En medio P11 + Inoc. f) En medio P11 Sin Inoc. Simbología: ● 1er. pase de biolixiviación, ■ 2do. pase de biolixiviación, ▲ 3er. pase de biolixiviación.

La figura 24 muestra seis gráficas (una de cada medio) donde se compara en cada gráfica la rapidez de extracción de Fe entre los pases de biolixiviación realizados al mineral Pirita. Al observar las 6 gráficas es notorio como el tercer pase es el que tuvo una mejor extracción del metal (Fe) es decir las bacterias ya están adaptadas al medio y al mineral, catalizando la extracción. También es notorio que los dos primeros pases de la biolixiviación que sirvieron para la adaptación de las bacterias en cada sistema son muy similares, es decir, al no estar totalmente adaptadas las bacterias al sistema y al mineral, la recuperación o extracción del metal es mucho más lenta. La principal diferencia entre los primeros y los segundos pases son la pendiente ascendente que siempre mantienen los segundos pases dado que el primer pase tarda en tener la extracción y después se mantiene constante, lo contrario a los segundos pases que en el momento en que empezaron a ascender este crecimiento no decayó ni se mantuvo constante. En todas las gráficas de esta figura 24 podemos ver como en el tercer pase a diferencia con los otros dos la extracción de metal aumenta desde los primeros días del proceso, la cinética aumenta y la extracción también.

Comparando los seis sistemas podemos ver que los medios que tuvieron una mayor rapidez en el proceso de extracción con el mineral Pirita con respecto al tiempo, fueron el medio MKM, el medio P11 + MKM y el medio P11 + ND, esto es debido a los nutrientes que en los medios MKM y ND ayudaron al mejor desarrollo de las bacterias y a tener una mejor adaptación al sistema y al mineral.

4.5.5 Estudio de la rapidez de extracción de Cu y Fe del mineral Calcopirita.

A continuación en la figura 25 se presentan seis gráficas donde se compara la extracción de Cu del mineral Calcopirita en los tres pases de biolixiviación en cada uno de los seis medios de trabajo.

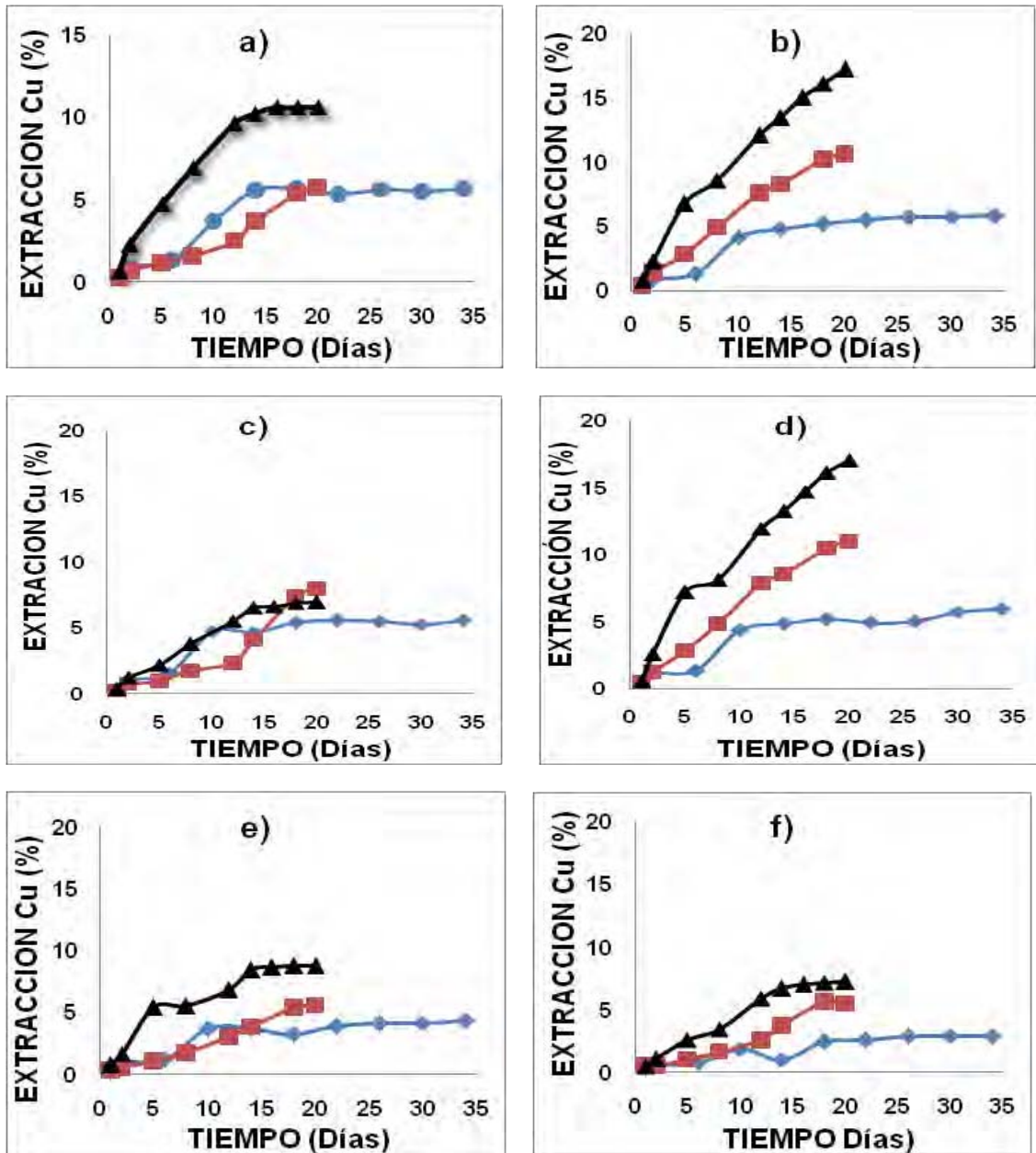


Figura 25. Comparativo de la rapidez de extracción de Cu del mineral Calcopirita, a 35 °C y en incubadora.

a) En medio MKM, b) En medio P11 + MKM, c) En medio ND, d) En medio P11 + ND, e) En medio P11 + Inoc.

f) En medio P11 Sin Inoc. Simbología: ● 1er. pase de biolixiviación, ■ 2do. pase de biolixiviación, ▲ 3er. pase de Biolixiviación.

A continuación en la figura 26 se presentan seis gráficas donde se compara la extracción de Fe del mineral Calcopirita en los tres pases de biolixiviación en cada uno de los seis medios de trabajo.

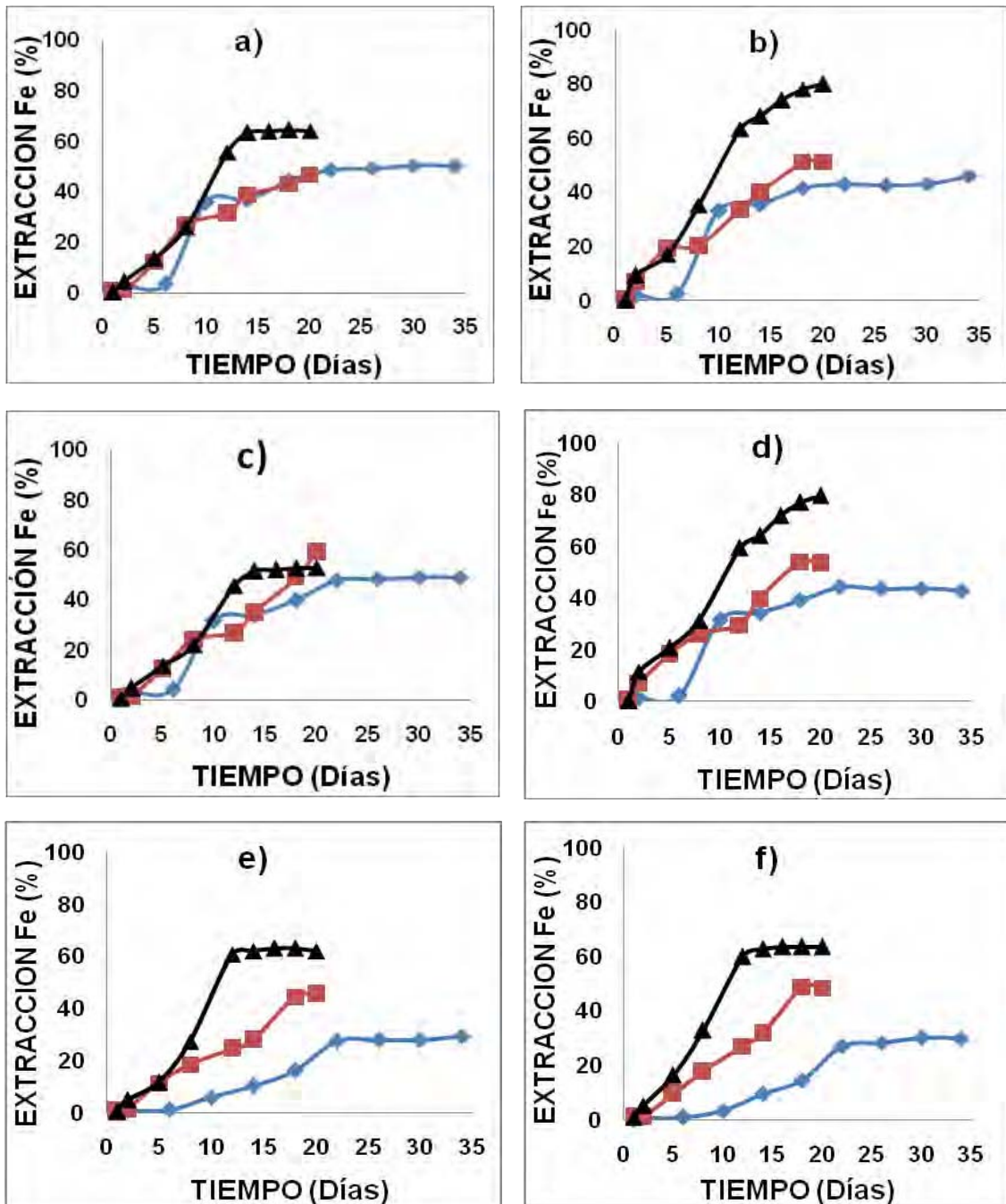


Figura 26. Comparativo de la rapidez de extracción de Fe del mineral Calcopirita, a 35 °C y en incubadora.

a) En medio MKM, b) En medio P11 + MKM, c) En medio ND, d) En medio P11 + ND, e) En medio P11 + Inoc.

f) En medio P11 Sin Inoc. Simbología: ● 1er. pase de biolixiviación, ■ 2do. pase de biolixiviación, ▲ 3er. pase de Biolixiviación.

Las figuras 25 y 26 muestran la extracción de Cu y Fe en el mismo mineral de Calcopirita comparando los tres diferentes pases en cada uno de los medios de trabajo, las gráficas de Cu y Fe son muy similares en su tendencia aunque no en la extracción. En casi todas las gráficas se puede ver que el tercer pase es el que tiene una mayor extracción de estos metales excepto en el medio ND en estas gráficas es notorio que el tercer pase no es el de mayor extracción y puede ser debido a la no adaptación de las bacterias a el mineral y sólo se hayan adaptado al medio nutriente.

Se puede observar en cada una de las gráficas como el primer pase (de adaptación) tarda en extraer metal, una vez que aumenta la extracción del metal ésta llega a un punto donde se mantiene constante, en el segundo pase (de adaptación) comienza a aumentar la extracción mucho más rápido y la tendencia a aumentar es consecuencia de la primera etapa de adaptación que ayuda a que las bacterias se vayan familiarizando con el metal para que gracias a estos metales puedan realizar su metabolismo.

Comparando cada uno de los medios existentes en el proceso podemos decir que tanto para el Cu como para el Fe los mejores sistemas donde se pudo extraer un porcentaje mayor de metal son el medio MKM que de Fe extrajo alrededor de un 70% y de Cu alrededor de un 12%, el medio MKM + P11 que de Fe extrajo alrededor de un 80% y de Cu alrededor de un 20% y por último el medio ND + P11 que tuvo casi los mismos porcentajes que el medio MKM + P11, 80% y 20% respectivamente, esto por la mejor adaptación de las bacterias a los medios nutrientes y al mineral en cuestión (Calcopirita).

4.5.6 Estudio de la rapidez de extracción de Cu del mineral Calcosita.

A continuación en la figura 27 se presentan seis gráficas donde se compara la extracción de Cu del mineral Calcosita en los tres pases de biolixiviación en cada uno de los seis medios de trabajo.

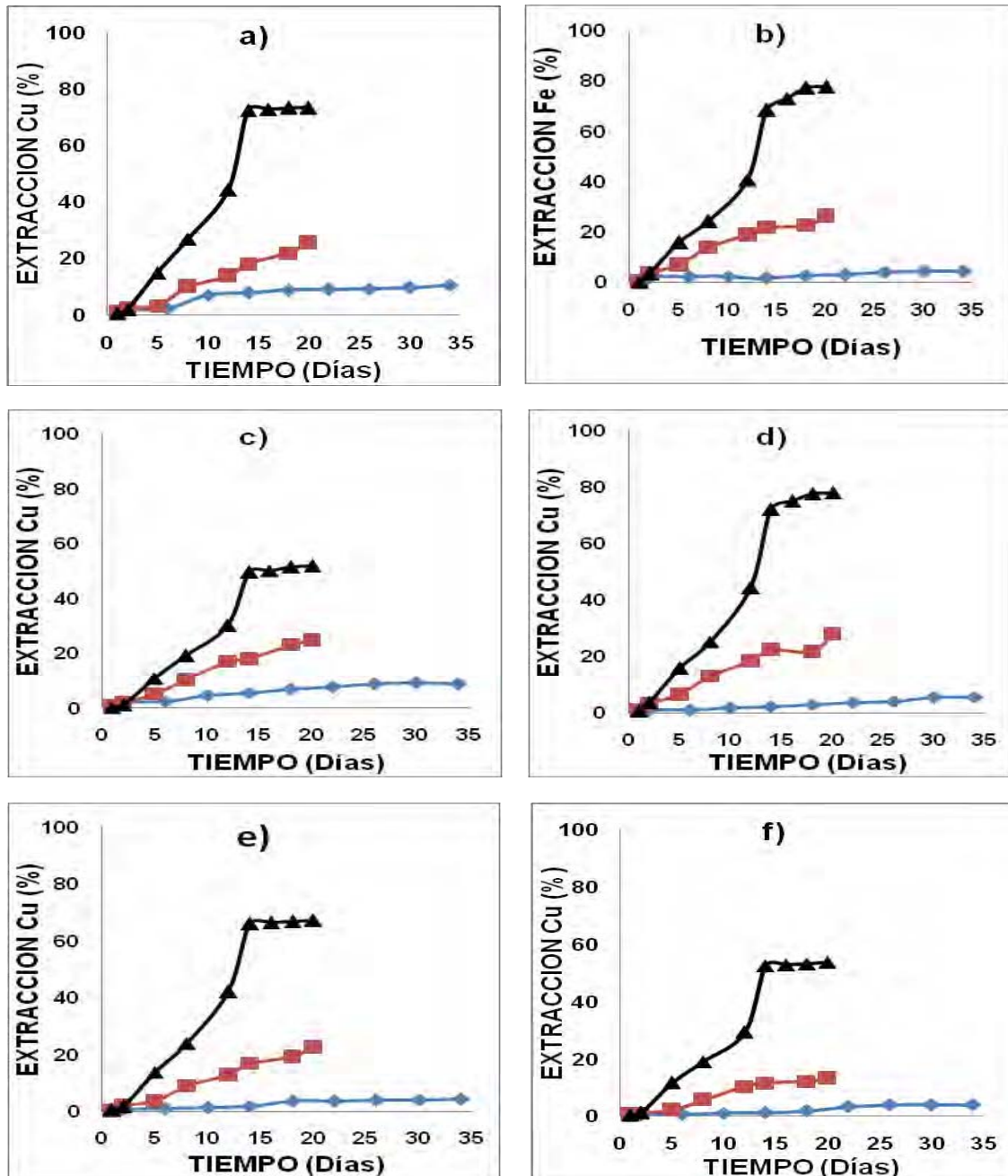


Figura 27. Comparativo de la rapidez de extracción de Cu del mineral Calcosita, a 35 °C y en incubadora.

a) En medio MKM, b) En medio P11 + MKM, c) En medio ND, d) En medio P11 + ND, e) En medio P11 + Inoc.

f) En medio P11 Sin Inoc. Simbología: ● 1er. pase de biolixiviación, ■ 2do. pase de biolixiviación, ▲ 3er. pase de Biolixiviación.

La figura 27 nos muestra seis diferentes gráficas de extracción de Cu del mineral Calcosita, observamos que en todas estas gráficas es aun más notorio que la rapidez de extracción del metal aumenta conforme aumenta el pase, es decir el tercer pase tiene una mucho mejor extracción del metal debida a la adaptación de las bacterias quienes aceleran pase a pase las reacciones de extracción. Es notorio como en los seis medios el primer pase no logra crecer ni un 10% aun cuando el tiempo del proceso fue de más de 30 días, ya en el segundo pase llega a aumentar la extracción del metal hasta un 20% o un poco más exceptuando el medio que contiene la P11 Sin Inoc.

Podemos observar que los medios en los que hubo una mayor rapidez de extracción fueron los medios MKM con alrededor de un 80%, el medio P11 + MKM con alrededor de un 82% y el medio ND con alrededor de un 83% de extracción de metal, la P11 + Inoculo tuvo un 70% y el medio ND y la P11 sin Inoculo alrededor del 50%.

En recuperación de metal estas fueron una de las mejores extracciones, así como las obtenidas en Pirita (Fe), esto debido a que la Calcosita es un sulfuro secundario y al parecer las bacterias pueden obtener sus nutrientes más fácilmente de los minerales sulfurados de cobre secundarios que de los primarios como lo es la Calcopirita.

4.5.7 Análisis cualitativo de residuos de Biolixiviación.

En la tabla No.7 se resumen los resultados cualitativos de los residuos del estudio de biolixiviación de los diferentes minerales, obtenidos en Difracción de Rayos X . (ANEXO I).

Mineral	Medio	Resultados
Calcopirita	P11 sin Inoc.	SiO ₂ , FeO(OH), KAl ₂ Si ₃ AlO ₁₀ (OH) ₂ , CuFeS ₂
Calcopirita	P11 + Inic.	SiO ₂ , FeO(OH), KMg ₃ (Si ₃ Al)O ₁₀ (OH) ₂ , CuFeS ₂
Calcopirita	MKM	SiO ₂ , CuFeS ₂ , (K,Na)(AlMgFe) ₂ (Si _{3.1} Al _{0.9})O ₁₀ (OH) ₂
Calcopirita	ND	SiO ₂ , CuFeS ₂
Calcopirita	ND + P11	SiO ₂ , CuFeS ₂
Molibdenita	P11	SiO ₂ , KAl ₂ Si ₃ AlO ₁₀ (OH,F) ₂ , MoS ₂
Molibdenita	MKM	SiO ₂ , MoS ₂

Tabla No.7 Resultados del análisis por difracción de RX de los residuos de biolixiviación de los diferentes minerales. Biolixiviación durante 15 días.

A continuación se presenta el resultado del microanálisis semi-cualitativo de residuos de biolixiviación en el MEB, en la tabla No.8.

Mineral	Medio	Resultados
Pirita	P11 + Inoc.	O 18.55%, Si 3.11%, S 39.32%, Fe 39.02%
Pirita	P11 Sola	Si 0.98%, S 62.41%, Fe 36.17%
Calcopirita	MKM	O 20.48%, Al 3.25%, S 23.07%, S 15.84%, K 1.79%, Fe 17.40%, Cu 18.17%.
Calcopirita	MKM + P11	O 25.63%, Al 1.88%, Si 22.78%, S 15.55%, K 0.61%, Fe 17.41%, Cu 16.15%.
Calcopirita	ND	O 24.18%, Al 2.07%, Si 29.94%, S 13.56%, K 1.11%, Fe 14.60%, Cu 14.54%.
Calcopirita	ND + P11	O 40.74%, Al 1.78%, Si 28.14%, S 13.41%, K 0.58%, Fe 8.08%, Cu 7.27%.
Calcopirita	P11 + Inoc.	O 55.96%, Al 1.02%, Si 16.29%, S 9.48%, Fe 7.92%, Cu 9.33%.
Calcopirita	P11 sola.	O 31.41%, Al 2.83%, Si 16.16%, S 15.09%, K 1.72%, Ca 1.02%, Fe 16.09%, Cu 15.66%.
Molibdenita	P11 sola	O 35.86%, Al 0.95%, Si 21.39%, S 14.72%, Mo 27.07%.
Molibdenita	MKM	O 25.17%, Al 2.29%, Si 11.67%, S 22.33%, K 1.64%, Fe 0.96%, Mo 35.93%.

Tabla No.8 Resultados del microanálisis de residuos en MEB.

Las tablas No.7 y 8 nos muestran los resultados del análisis de los residuos del proceso de biolixiviación en los diferentes minerales (dicho análisis no se pudieron realizar a los residuos de Calcosita, porque la cantidad de residuos obtenidos fue mínima y no se pudieron realizar difractogramas. Varios de los residuos muestran presencia de aluminosilicatos ya sea de potasio, Magnesio o Calcio, esto se acentúa debido a la poca cantidad de mineral que quedó después de la biolixiviación y dado que lo que se atacó por parte de las bacterias fue el mineral en cuestión (Pirita, Calcopirita, Calcosita y Molibdenita) todo lo que no era mineral y todo lo que se transformó por el proceso de la biolixiviación se quedó como residuo siendo por esto la gran cantidad de residuos obtenidos en los resultados de estos análisis. Podemos observar también que debido al ataque sufrido por los minerales, la proporción de cuarzo aumenta. También podemos observar que en los difractogramas de la Calcopirita con la P11 sola y en la P11 + Inoculo se genera un ferrohídrido como producto de la biolixiviación esto debido a las reacciones que propicia el metabolismo de las bacterias es decir al descomponerse el agua y al reaccionar con el Fe³⁺ existente por la biolixiviación de la Calcopirita y el ya existente en la P11 puede llegar a formarse el ferrohídrido ya antes mencionado de la siguiente forma:



La suma de estas dos reacciones nos genera el ferrohídrido. También puede llegar a transformarse la jarosita, aunque en nuestros procesos no la obtuvimos debido a la poca cantidad de mineral utilizado en la biolixiviación, la jarosita es un producto común en la lixiviación de minerales de Cobre.

5. Conclusiones.

La reactivación de las cepas de *Acidithiobacillus Ferroxidans* y *Acidithiobacillus Thiooxidans* provenientes de solución de riego (P11) de la Caridad requiere de al menos 5 días para dicha reactivación.

La biolixiviación de minerales requiere de 3 pases de adaptación de los microorganismos a los medios y al mineral.

La extracción y la rapidez de extracción del metal aumentan con los pases de adaptación.

En los tres minerales (Pirita, Calcopirita, y Calcosita) en los cuales se realizó un tercer pase (biolixiviación) los medios nutrientes MKM, MKM + P11 y ND + P11 resultaron ser los mejores medios para realizar una biolixiviación.

En el 3er. pase de biolixiviación (cinética de biolixiviación) con los medios conteniendo nutrientes y solución de P11, se extrajo 70% de Fe en el caso de a) Pirita, 15% de Cu y 80% de Fe en el caso de b) Calcopirita y 75% de Cu en el caso de Calcosita.

En el mineral de Molibdenita no hubo una adaptación adecuada de las bacterias al mineral en ninguno de los medios.

En los medios de mayor extracción se constató la presencia del ataque directo de los microorganismos al mineral mediante el MEB.

En todos los medios nutrientes de los 3 diferentes minerales que se sometieron al 3er. pase (biolixiviación) se presentó el mecanismo indirecto, esto es que las bacterias ayudan a catalizar indirectamente las reacciones químicas de lixiviación.

En los medios donde hubo una mayor extracción de metal estuvo presente un mecanismo cooperativo entre el mecanismo indirecto, el mecanismo directo y el mecanismo químico (reacciones químicas).

La aplicación industrial de la biolixiviación de sulfuros de cobre requiere de la adición de nutrientes de los medios ND o MKM para mejorar la extracción del metal. Esto sin considerar las repercusiones que puede tener el hecho de que el material lixiviable es una mezcla de minerales por lo que puede haber pares galvánicos u otras variables que ayuden o perjudiquen la extracción.

1. N. Jyothi, K.N. Sudha y K.A. Natarajan. Aspectos electroquímicos selectivos de biolixiviación de sulfuros mixtos de esfalerita y Calcopirita. Departamento de Metalurgia, Instituto de Ciencias de la India, Bangalore (India). (3 de mayo de 1988).
2. V.K. Berry, L.E. Murr, J. y B. Hiskey. Interacción galvánica entre calcopirita y pirita durante la lixiviación bacteriana en residuos de bajo grado. Departamento de Ingeniería Metalúrgica y de Materiales, Instituto de Tecnología en Minerales, Socorro, Nuevo México, 87801 (EE.UU.). (31 de enero de 1978).
3. D. Bevilaqua, A.L.L.C. Leite, O. Garcia, O.H. Tuovinen. Oxidación de calcopirita a partir de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* en reactores agitados. Departamento de Bioquímica y Tecnología Química, Instituto de Química, Universidad del Estado de Sao Paulo, PO 355, Araraquara, SP 14801-970, Brasil. Departamento de Microbiología, Ohio State University, 484 W. 12 Avenue, Columbus, Ohio 43210-1292, EE.UU. (2 de mayo de 2002).
4. J. Vilcaez, K. Suto, C. Inoue. Respuesta simultanea de microorganismos thermophiles a la adición de ión férrico y azufre para mejorar la biolixiviación de calcopirita. Escuela Superior de Estudios Ambientales, Universidad de Tohoku, Aoba 6-6-20, Aramaki, Aobaku, Sendai, Japón. (Fecha 22 de mayo de 2007).
5. Partha Patra, K.A. Natarajan. Floculación y flotación microbiana inducidas para la separación del cuarzo y calcita de la calcopirita. Departamento de

- Metalurgia, Instituto de ciencias de la India, Bangalore 560 012, La India (16 de agosto de 2003).
6. Partha Patra, K.A. Natarajan. Papel de proteínas bacterianas en floculación selectiva y flotación en minerales específicos. Departamento de Ingeniería de los Materiales, Instituto de Ciencia de la India, Bangalore - 560 012, India.
 7. Juan Manuel Sánchez-Yáñez. Biolixiviación. Laboratorio de Microbiología Ambiental. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Ed B-1, CU. CP 58030, Morelia, Michoacán, México.
 8. A. K. Biswas y W. G. Davenport. El Cobre Metalurgia Extractiva.
 9. A. Ballester, F. González y M. Velázquez. Biolixiviación de menas naturales posibilidades actuales de utilización. Rev. Metal. Madrid., 24 [2], 91-102 (1988).
 10. R. F. Decker. Met. Trans., 17A, 5-30 (1986).
 11. G. J. Olson y R. M. Kelly. Biotec. Prog., 2 [1], 1-15 (1986).
 12. L. C. Cancho Rodríguez. Biolixiviación con microorganismos Termofilos moderados en presencia de plata. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid (1999).
 13. A. E. Torma. Adv. Biochem. Eng., 6, 1-37 (1977).
 14. A. E. Torma y K. Bosecker. Prog. Ind. Microbiol., 16, 77-118 (1982).
 15. K. Bosecker. Stud. Inorg. Chem., 5, 331-348 (1984).
 16. T. Brewis. Extracción de metales por oxidación bacteriana. Mining, Abril.,35-46 (1996).

17. E. Flores, H. Pérez, M. Rentería, A. Gámiz, C. Correa, M. R. León, R. Dávila, E. Álvarez, H. Medrano. Eliminación biológica de sulfuro de arsénico en concentrados de mineral de plomo y zinc. Instituto Tecnológico de Durango, Departamento de Química y Bioquímica, Unidad de Biotecnología Industrial. Durango, Dgo.
18. J. A. Brierly. Thermophilic iron oxidizing bacteria found in copper leaching dump. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 523-525 (1978).
19. F. Acevedo. and J. C. Gentina. Process engineering aspects of the bioleaching of copper ores. *Bioprocess Engineering.*, 4, 223-229 (1989).
20. R. Guay, and M. Silver. Uranium biohydrometallurgy. *Process Biochemistry.*, 5, 8-11 (1981).
21. K. Imai, H. Sakaguchi, T. Sogio and T. Tano. On the mechanism of chalcocite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Ferment. Technol.*, 51 [12], 865-870 (1973).
22. D. Lundgren, and T. Tano. Structure-function relationships of *Thiobacillus* relative to ferrous iron and sulfide oxidations. *Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*. In: L. E. Murr, A.E. Torma, J. E. Brierly, (Eds). Academic Press, New York., 151-166 (1978).
23. E. E. Malouf. The role of microorganisms in Chemical mining. *Mining Eng.*, 23, 43-46. (1971).
24. A.E. Torma, and R. Guay. Effect of particle size on the biodegradation of a spheralite concentrate. *Naturaliste Can.*, 103, 133-138 (1976).
25. C. C. Mwaba. Biohydrometallurgy: An extraction technology for the 1990's. *Mining Magazine*, September, 7, 135-140 (1991).

26. H. Sakaguchi, M. Silver, A. E. Torma. Microbiological Leaching of a chalcopyrite concentrates by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnol. and Bioen.*, 18, 1091-1101 (1976).
27. A. Bruynesteyn. Bacterial leaching. Its potential impact upon the Canadian Non-Ferrous Metal Industry. CIM Conference, Winnipeg, Manitoba, Canada, 1983.
28. W. J. Ingledew. *Biotechnol. Bioeng.* En prensa.
29. A. P. Harrison, *J. Ann. Rev. Microbiol.*, 338, 265 (1984).
30. S. Porro, J. L. Boiardi y P. H. Tedesco, *Biolixiviación de minerales Argentinos de Cobre.*, *Rev. Metal. Madrid* 24 [5], 297-302 (1998).
31. L. E. Murr. *Miner. Sci. Enq.* 12 [3], 121-189 (1980).
32. H. G. Ebner. Metal recovery and environmental Protection by bacterial leaching of inorganic waste materials. Metallurgical application of bacterial leaching and related microbiological phenomena. In: L. E. Murr, A. E. Torma, J. A. Brierli. (Eds) Academic Press, New York., 151-166 (1978).
33. T. Imaizumi. Some industrial applications of inorganic microbial oxidation in Japan. Workshop on Biotechnology for the mining, Metal-refining and fossil fuel processing Industries. H. L. Ehrlich y D. S. Holmes (Eds.). John Wiley and sons. New York., 363-371 (1985).
34. R. Manchee. *TIBS.*, 77-80 (abril 1979).
35. P. Viscca, P. Valenti y N. Orsi. Studies on *Thiobacillus ferrooxidans*. Recent Progress in Biohidrometallurgy. G. Rossi y A. E. Torma (Eds) Associazione Mineraria. Iglesias. Italia, 97-110 (1983).

- 36.R. G. L McCready, V. Sanmugasunderam y W. D. Gould. Workshop on Basic microbiology for the mineral industry. Energy, Mines and Resources Canada. Ottawa. Noviembre 1986.
- 37.N. Iglesias, I. Palencia y F. Carranza. Eliminación de la refractariedad de una mena de oro en una matriz de arsenopirita mediante Sulfato férrico., Rev. Metal. Madrid., 28. [4], 251-257 (1992).
- 38.W. J. Guay. Proceedings From the 110th AIME meeting on gold and Silver leaching, recovery and economics., Vol. III. Chicago, 22-26 (1981).
- 39.E. Díaz, F. Carranza, R. Romero, Rev. Metal. Madrid, 24 (6), 391-401 (1988)
- 40.M. Pozo y J. A. Campa. Estudio comparativo de la lixiviación química y bacteriana del cobre en piritas masivas de Río Tinto (Huelva). Rev. Metal. Madrid., 19 [4], 223-230 (1983).
- 41.Ballester Antonio, Luis Felipe Verdeja, José Sancho. Metalurgia Extractiva Fundamentos. Madrid, síntesis, 2003. Referencias en la bibliografía del libro Metalurgia Extractiva fundamentos de Ballester Antonio. (2,3,21,25,26,27,29,31,32,33,34,35,36,37,38,39,41).
- 42.Ballester Antonio, Luis Felipe Verdeja, José Sancho. Procesos de Metalurgia Extractiva. Madrid, síntesis, 2003.
- 43.Página electrónica de la empresa Mexicana de Cobre, Grupo México.
<http://www.gmexico.com.mx/>

ANEXO I

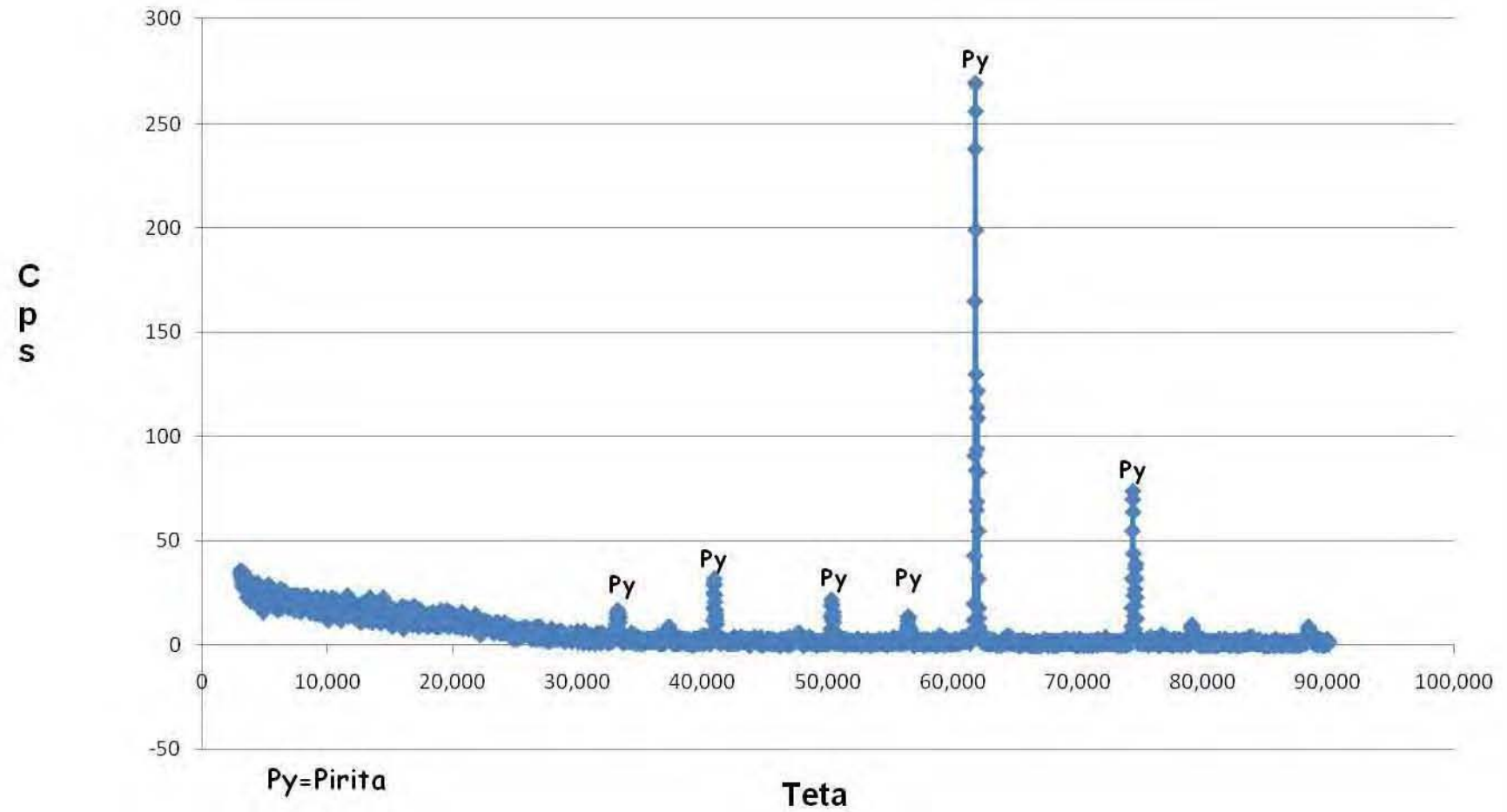
DIFRACTOGRAMAS

MINERALES PUROS

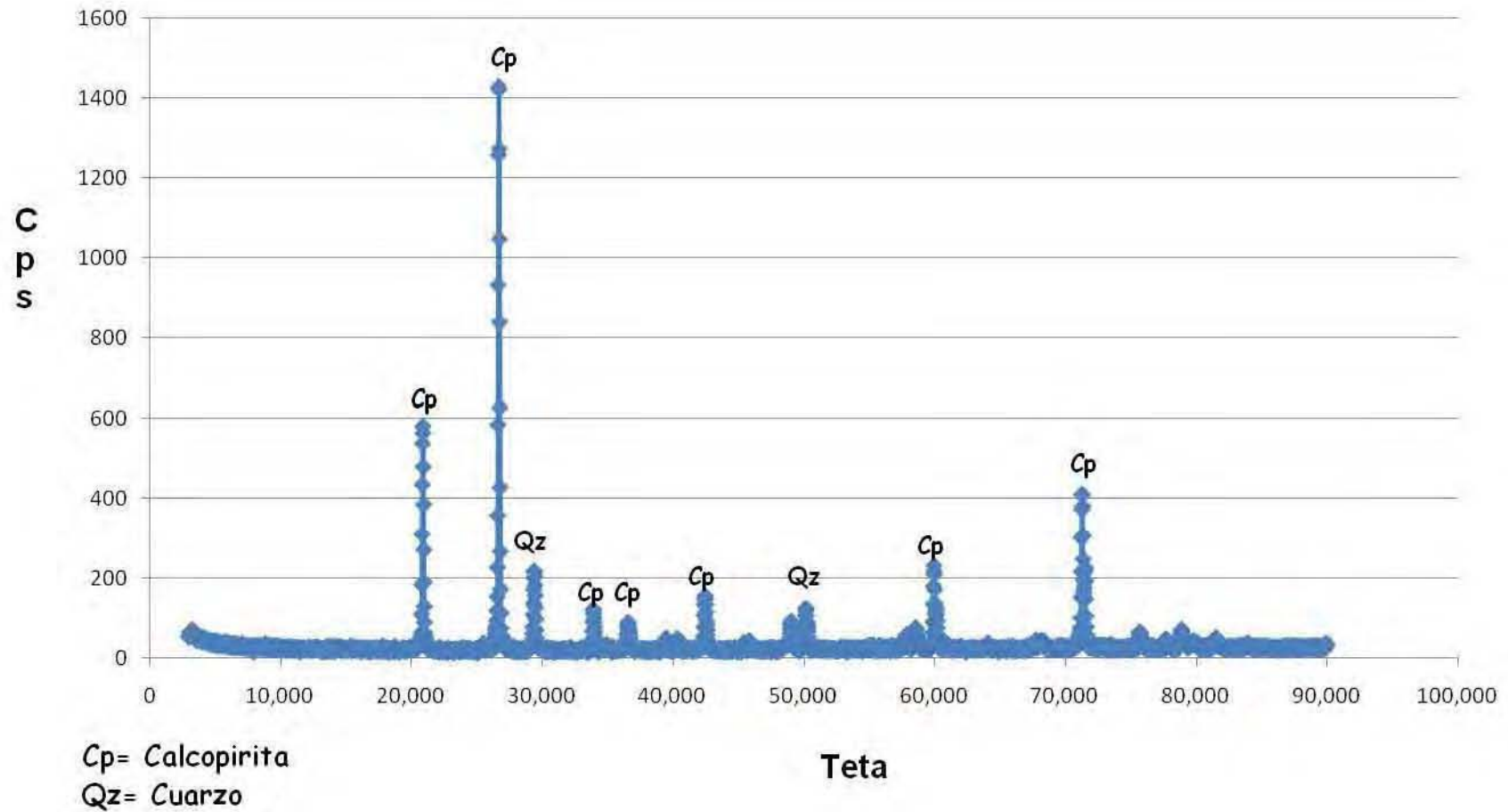
Y

RESIDUOS DE BIOLIXIVIACIÓN

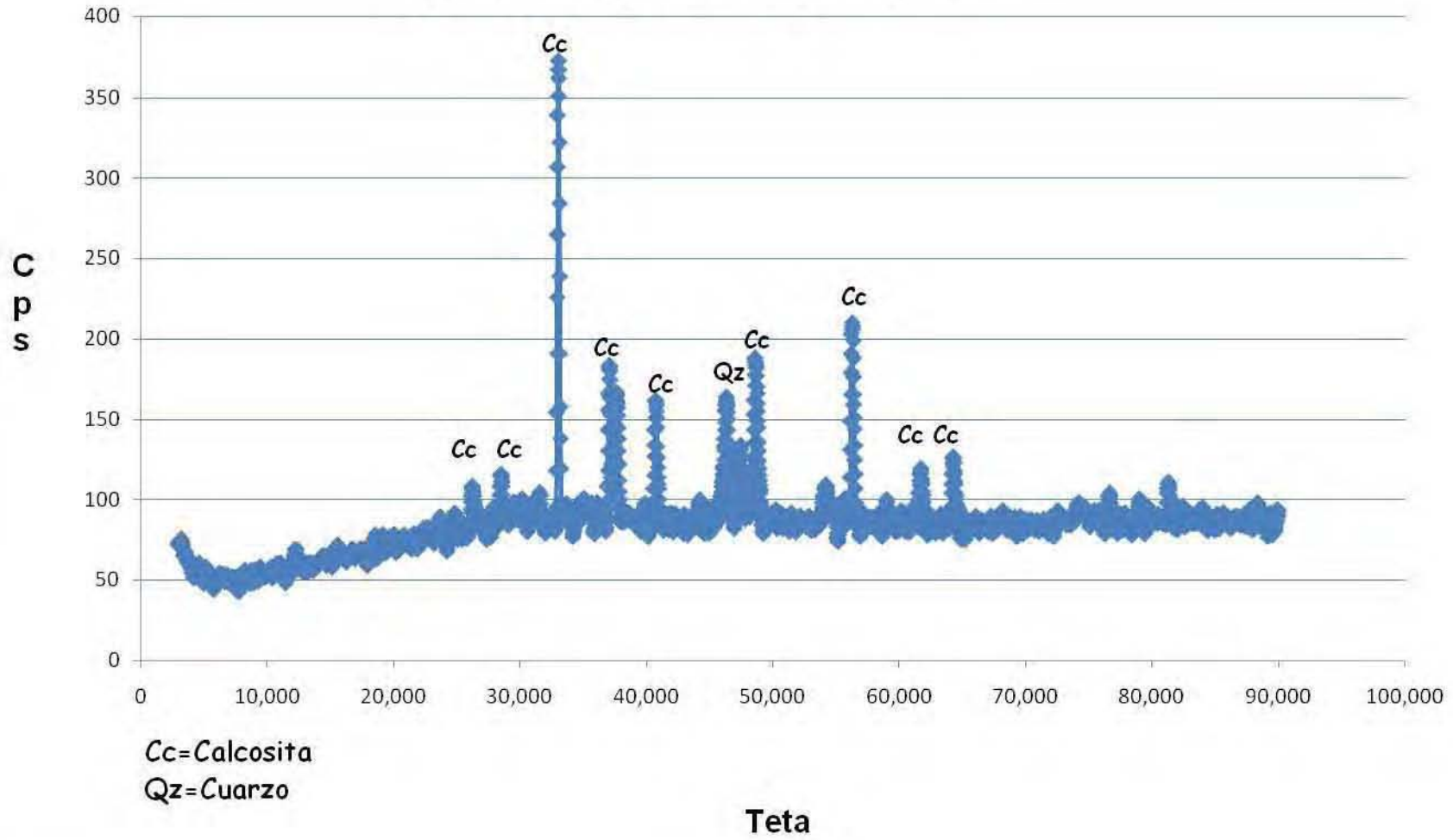
Difractograma de Mineral Pirita



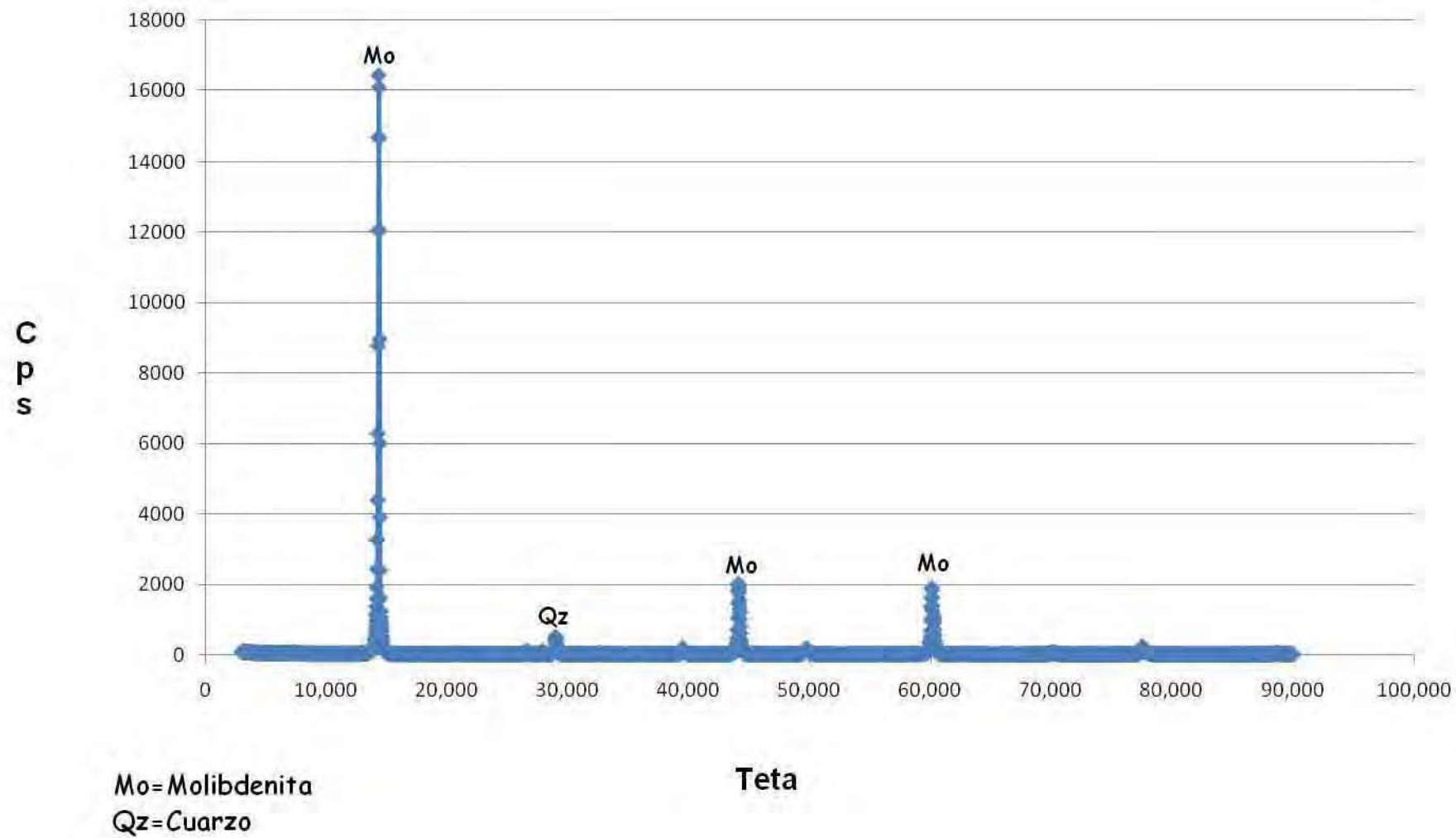
Difractograma de Mineral Calcopirita



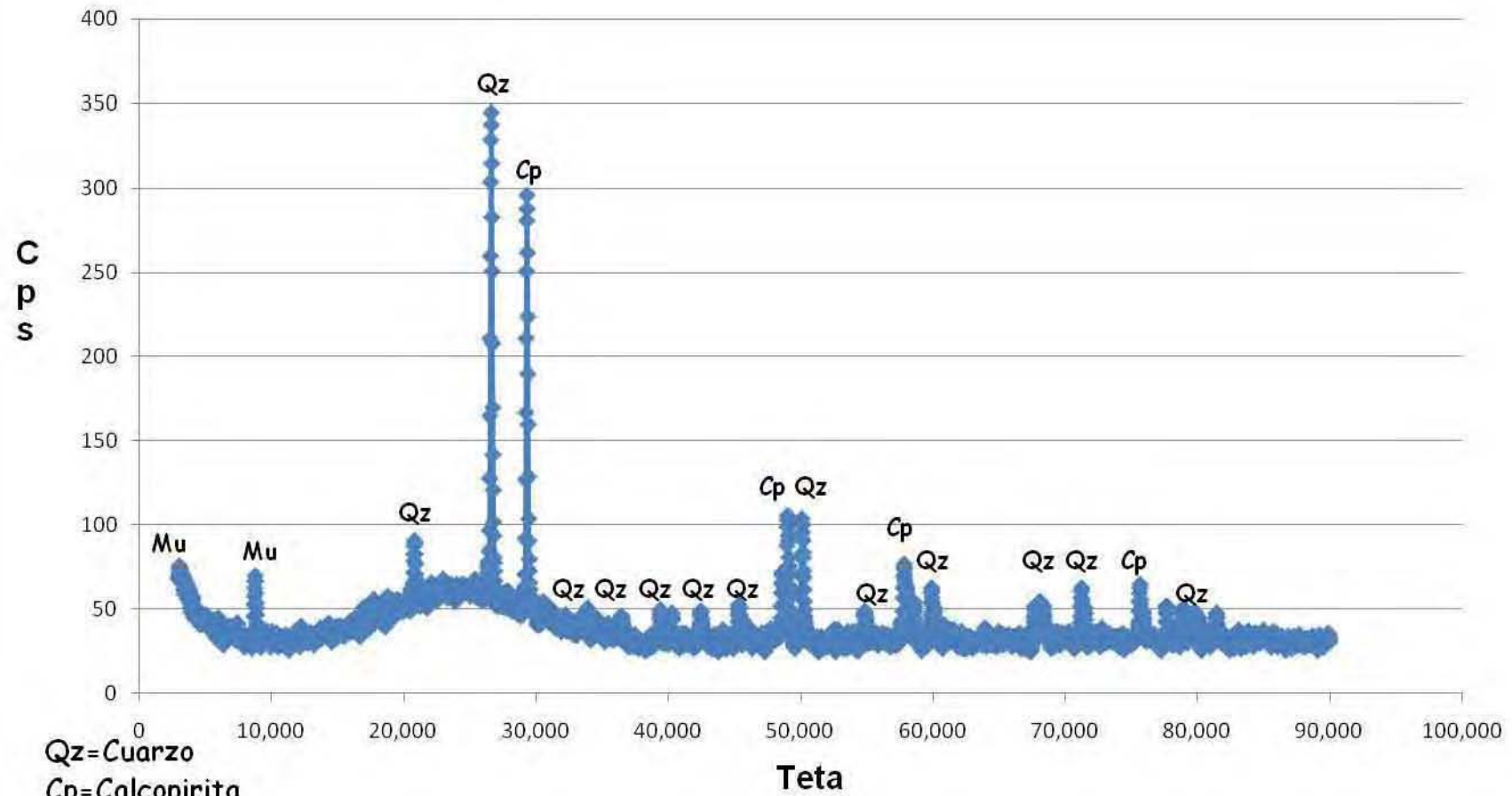
Difractograma de Mineral Calcosita



Difractograma de Mineral Molibdenita

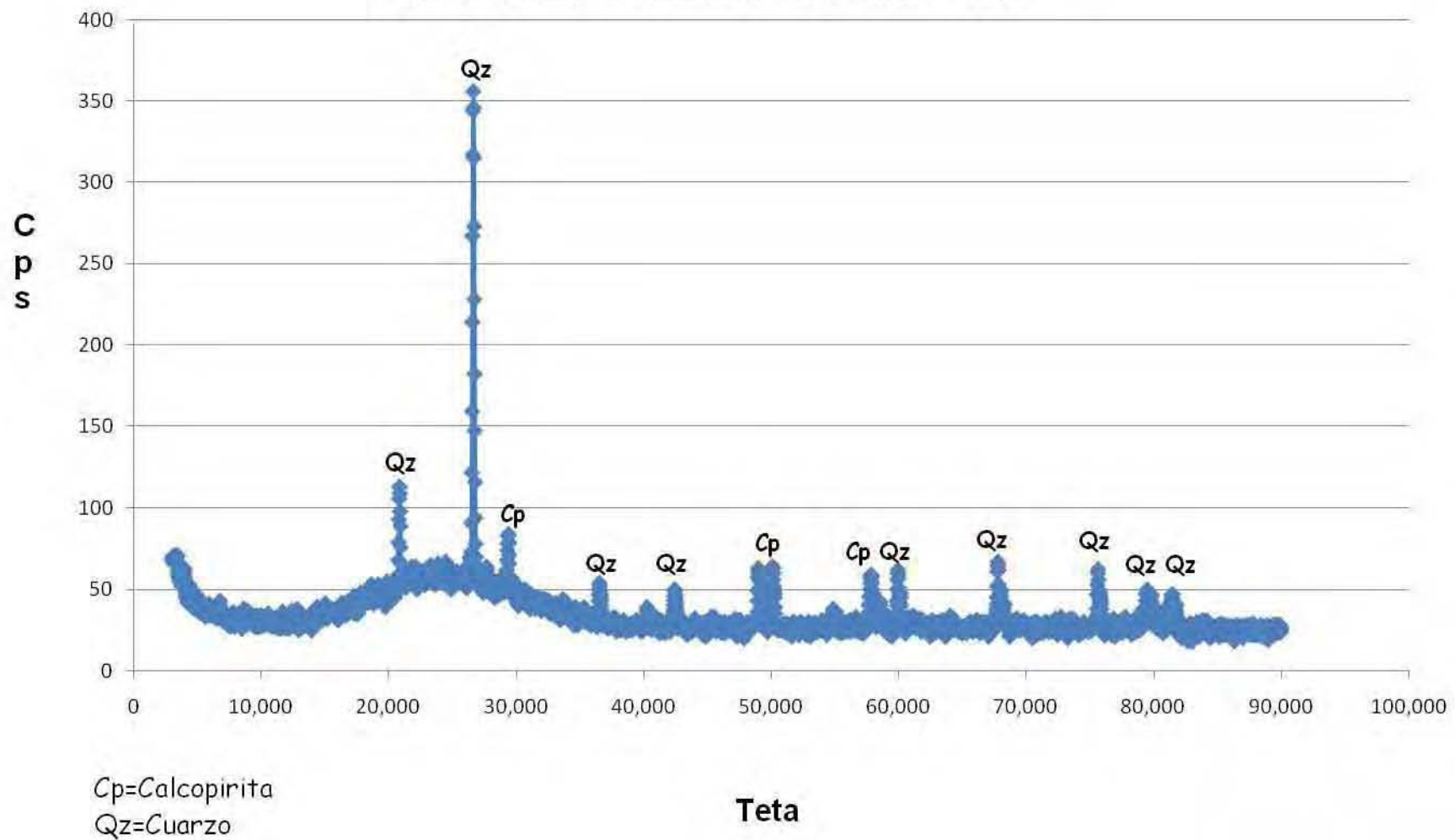


Difractograma de Mineral Calcopirita + MKM

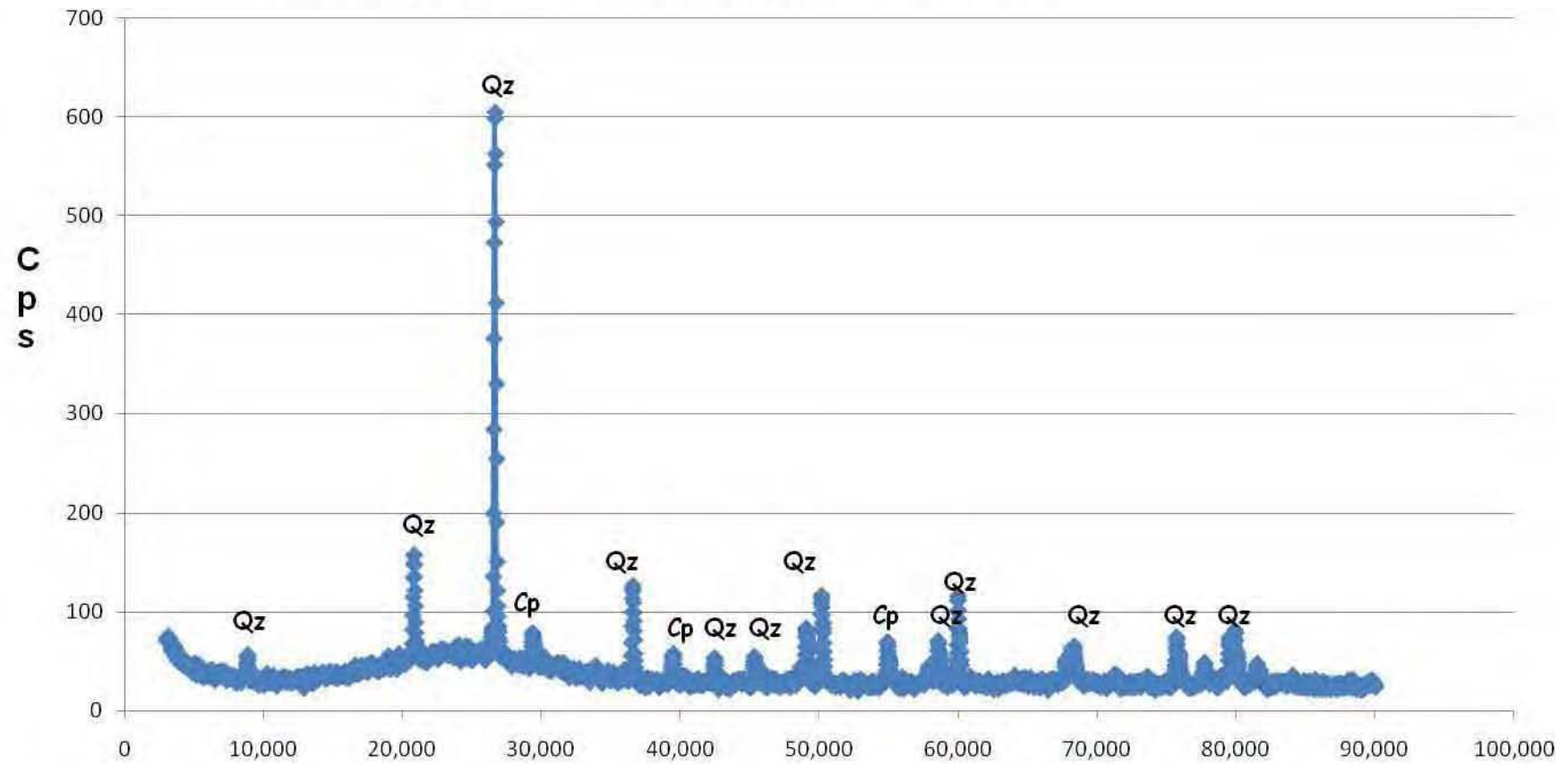


Qz=Cuarzo
Cp=Calcopirita
Mu=Moscuvita

Difractograma de Mineral Calcopirita + ND



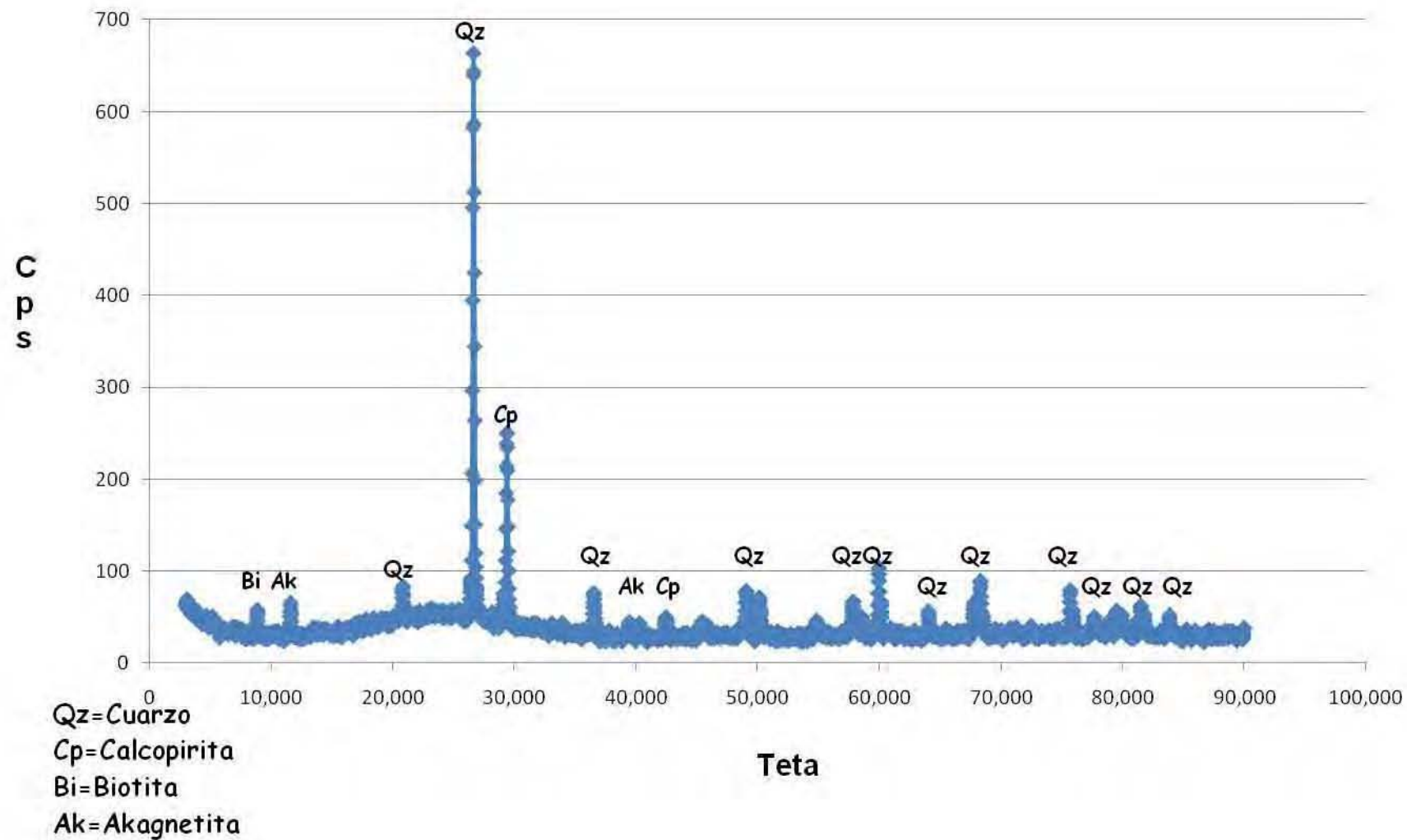
Difractograma de Mineral Calcopirita + ND + P11



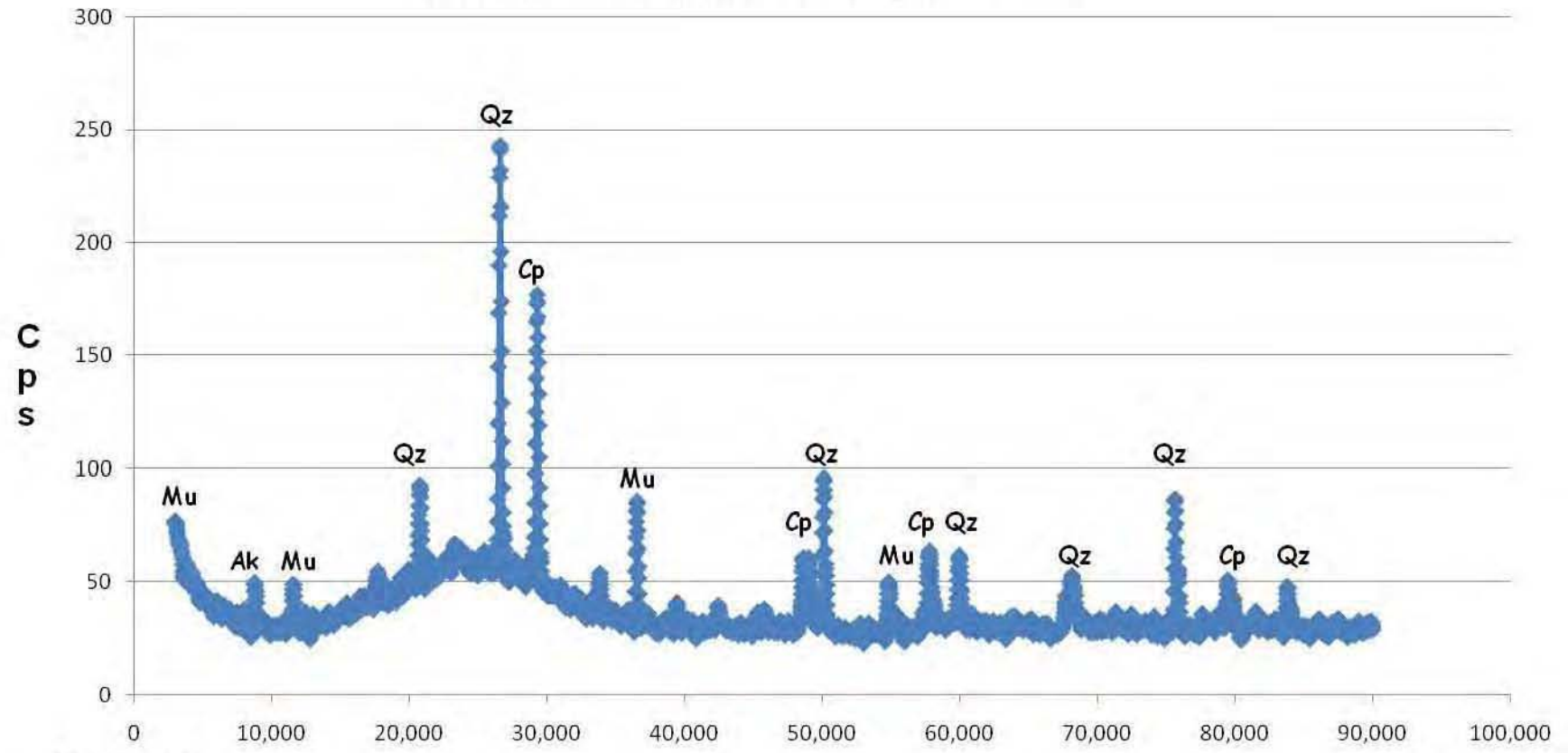
Cp=Calcopirita
Qz=Cuarzo

Teta

Difractograma de Mineral Calcopirita + Inoc.



Difractograma de Mineral Calcopirita + P11



Qz=Cuarzo
Cp=Calcopirita
Ak=Akagnetita
Mu=Muscovita

Teta

Difractograma de Mineral Molibdenita + MKM

