



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, SEDE MEDELLÍN**  
**FACULTAD DE MINAS**  
**POSGRADO EN INGENIERÍA DE MATERIALES Y PROCESOS**  
**MEDELLÍN**  
**2010**

**MINERALOGÍA DEL PROCESO DE OXIDACIÓN BACTERIANA DE ARSENOPIRITA  
(FeAsS) Y PIRITA (FeS<sub>2</sub>)**

Tesis presentada a la Facultad de Minas como requisito parcial para optar al título de Magíster en  
Ingeniería – Materiales y Procesos

**Por**

**Juan David Ospina Correa**

Ingeniero de Materiales  
Universidad de Antioquia

**DIRECTOR**

**Marco Antonio Márquez Godoy**

PhD. Mineralogía, UNALMED

**CO-DIRECTOR**

**Álvaro Luís Morales Aramburo**

PhD. Física, UdeA

**Grupo de Mineralogía Aplicada y Bio-procesos**  
**GMAB**

---

*“Los únicos interesados en cambiar el mundo  
son los pesimistas, porque los optimistas  
están encantados con lo que hay”*

**José Saramago**  
(1922 – 2010)

---

# AGRADECIMIENTOS

A las personas que durante la consecución de ésta tesis no permitieron que me desmoronara y abandonara esta ardua tarea, mi gran amor Erica, mis grandes amigos el Negro, Laura y Lucho y en especial a mi familia.

A Isabel Cristina Cardona, de la Universidad de *West Virginia*, USA, por sus comentarios y sugerencias sobre el desarrollo de éste trabajo.

A los integrantes del Grupo de Mineralogía Aplicada y Bio-procesos (GMAB) por su valiosa colaboración y compañía.

A los profesores Álvaro Morales Aramburo y Marco Antonio Márquez Godoy por su diligente, paciente y siempre oportuna colaboración, orientación, y conocimientos aportados a este trabajo.

Al profesor Mauricio Arroyave Franco, Laboratorio de Física Aplicada, departamento de Ciencias Básicas, Universidad EAFIT por su invaluable colaboración en las medidas de AFM-NC.

A el programa Nacional de biotecnología de Colciencias por el apoyo económico.

Al DIME por el apoyo en la gestión administrativa del proyecto.

A Ingeominas y el Cimex por la realización de los análisis químicos por espectrofotometría de absorción atómica (AAS).

A los laboratorios de preparación de rocas, microscopía electrónica y carbones de la Universidad Nacional de Colombia.

A el laboratorio de Optoelectrónica de la Universidad del Quindío.

Al profesor Vijayendra K. Garg, del instituto de física, de la Universidad de Brasilia, por la realización de los espectros Mössbauer.

Al grupo de Física de Estado Sólido, de la Universidad de Antioquia, por los espectros Mössbauer.

A el laboratorio de Mineralurgia de la Universidad de Antioquia por facilitar sus espacios.

A el Laboratorio de Bio-mineralogía por proporcionar el espacio y los equipos necesarios para el desarrollo de este trabajo.

A la empresa *CLARIANT* por facilitar insumos para la flotación de sulfuros metálicos

Al profesor Oswaldo Bustamante por su asesoría y valiosos aportes durante la consecución de este trabajo.

A la empresa Centricol por el soporte técnico dado durante el transcurso de este estudio.

Y muy especialmente a mí segunda familia, empleados y compañeros del bloque M1 y parque de la minería (Ingeominas), especialmente a las siguientes personas a las cuales les tengo un inmenso cariño: Martha Salazar, doña Gloria, Gloria, Oscar Jaramillo, Angelita, Aurelio, don Eucario, don Álvaro, Alex, don Mauricio y a mis queridos Luna y Simón.

---

# TRABAJOS PRESENTADOS DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TESIS

V Congreso Latinoamericano de Física y Química Ambiental y VI jornadas Chilenas de Física y Química Ambiental. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Arica. Duración 14 al 17 de Octubre de 2009. Poster: Bio-oxidación de la galena.

V Congreso Latinoamericano de Física y Química Ambiental y VI jornadas Chilenas de Física y Química Ambiental. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Arica. Duración 14 al 17 de Octubre de 2009. Poster: Mineralogía del proceso de oxidación bacteriana de la arsenopirita: Implicaciones ambientales.

III Latinometalurgia. Universidad Nacional de San Antonio de Abad del Cusco, Perú. Duración 14 al 16 de Octubre de 2009. Ponencia: Bio-oxidación de pirita.

III Latinometalurgia. Universidad Nacional de San Antonio de Abad del Cusco, Perú. Duración 14 al 16 de Octubre de 2009. Ponencia: Bio-lixiviación de esfalerita *desease*.

IV Simposio sobre Bio-fábricas. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Duración: 4 al 6 de agosto de 2009. Ponencia: Mineralogía del proceso de oxidación de la arsenopirita (FeAsS) por *Acidithiobacillus ferrooxidans* en erlenmeyers agitados.

IV Simposio sobre Bio-fábricas. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Duración: 4 al 6 de agosto de 2009. Ponencia: Oxidación de esfalerita (ZnS) por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y cultivos mixtos de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* a escala de laboratorio.

IV Simposio sobre Bio-fábricas. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Duración: 4 al 6 de agosto de 2009. Ponencia: La biotecnología: diversas aplicaciones como una opción más limpia para la minería.

XIX Encuentro nacional de estudiantes de ingeniería química y de procesos. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Duración: 20 a 25 de julio de 2009. Ponencia: *Bacterias: ¿Ingenieras de Superficies?*

E.R. Mejía, J.D. Ospina, M.A. Márquez and A.L. Morales. Oxidation of chalcopyrite ( $\text{CuFeS}_2$ ) by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* like bacterium in shake flask. *Advanced Materials Research*. Vol. 71-73 p.p. 385-388. 2009.

II conferencia internacional de espectroscopia, *Spectra* 2009 Lima, Perú. Duración: 9-13 de marzo de 2009. Poster: Oxidation of chalcopyrite ( $\text{CuFeS}_2$ ) by *Acidithiobacillus ferrooxidans* like and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans*-like and *Acidithiobacillus thiooxidans*-like bacterium in shake flasks.

VIII Conferencias Internacionales sobre Tecnologías Limpias para la Industria Minera 2008 (VIII CTWMI 2008. Congreso CTWMI 2008). Santiago de Chile. Duración: 13-16 de abril de 2008. Ponencia: PROCESS MINERALOGY OF GALENA SAMPLES OXIDATION BY *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

E.R. Mejía, J.D. Ospina and M.A. Márquez. Mineralogía del proceso de oxidación bacteriana de la galena (PbS) por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, mediante análisis de microscopia electrónica de barrido, FTIR Y DRX. *Scientia et Technica*. Vol. 36. 2007.

IV congreso internacional de materiales. Universidad tecnológica de Pereira. Duración 10-14 de septiembre de 2007. Ponencia: Mineralogía del proceso de oxidación bacteriana de la galena (PbS) por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, mediante análisis de microscopia electrónica de barrido, FTIR Y DRX.

III Simposio sobre Bio-fábricas. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Duración: 15 al 17 de agosto de 2007. Ponencia: Influencia del tamaño de grano en la oxidación bacteriana de la galena (PbS) por medio *Acidithiobacillus ferrooxidans* mediante Análisis de microscopia electrónica de barrido y FTIR.

---

# TABLA DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>iii</b>
<b>TRABAJOS PRESENTADOS DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TESIS.....</b>	<b>iv</b>
<b>CONTENIDO.....</b>	<b>v</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>xvi</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
<b>3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
<b>3.1. Arsenopirita (FeAsS)</b>	<b>5</b>
<b>3.2. Pirita (FeS<sub>2</sub>)</b>	<b>18</b>
<b>3.3. Microorganismos</b>	<b>24</b>
<b>4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>27</b>
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
<b>5.1. Caracterización inicial del mineral</b>	<b>31</b>
<b>5.1.1. Arsenopirita (FeAsS)</b>	<b>31</b>
<b>5.1.2. Pirita (FeS<sub>2</sub>)</b>	<b>33</b>
<b>5.2. Purificación y adaptación de microorganismos acidófilos</b>	<b>35</b>
<b>5.2.1. Arsenopirita</b>	<b>37</b>
<b>5.2.1.1. Adaptación de concentrados sobre malla Tyler 200</b>	<b>37</b>
<b>5.2.1.2. Adaptación de concentrados sobre malla Tyler 325</b>	<b>37</b>
<b>5.2.2. Pirita</b>	<b>38</b>
<b>5.2.2.1. Adaptación de concentrados sobre malla Tyler 200</b>	<b>38</b>
<b>5.2.2.2. Adaptación de concentrados sobre malla Tyler 325</b>	<b>38</b>
<b>5.3. Arsenopirita (FeAsS)</b>	<b>39</b>
<b>5.3.1. Seguimiento de la dinámica del proceso</b>	<b>39</b>

---

5.3.2. Microscopía electrónica de barrido con analizador de estados sólido (SEM/EDS)	44
5.3.3. Difracción de rayos-X (DRX)	51
5.3.4. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	55
5.3.5. Microscopía de fuerza atómica (AFM)	58
5.4. Pirita (FeS <sub>2</sub> )	60
5.4.1. Seguimiento de la dinámica del proceso	60
5.4.2. Microscopía electrónica de barrido con analizador de estados sólido (SEM/EDS)	64
5.4.3. Difracción de rayos-X (DRX)	71
5.4.4. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	74
5.4.5. Espectroscopía de adsorción Mössbauer	77
5.4.6. Microscopía de fuerza atómica (AFM)	82
<b>6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....</b>	<b>84</b>
<b>7. MODELOS MINERALÓGICOS PROPUESTOS.....</b>	<b>93</b>
7.1. Arsenopirita (FeAsS)	93
7.2. Pirita (FeS <sub>2</sub> )	95
<b>8. FLOTACIÓN DIFERENCIAL EN CELDA TIPO <i>HALLIMOND</i>.....</b>	<b>97</b>
8.1. Introducción	97
8.2. Metodología	98
8.3. Resultados	99
<b>10. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>101</b>

---

## RESUMEN

Se realizó la caracterización mineralógica del proceso de oxidación bacteriana de la arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) y pirita ( $\text{FeS}_2$ ) por microorganismos, acidófilos, compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, sin adicionar al medio de crecimiento sulfato ferroso o azufre elemental como fuentes principales de energía, obligando a los microorganismos, mediante un proceso de adaptación en etapas sucesivas, a oxidar el mineral y crecer a expensas del fenómeno electroquímico generado.

La arsenopirita, pasante malla Tyler 200, fue casi totalmente oxidada durante el proceso por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Cuando se empleo cultivos mixtos, de 50% *A. ferrooxidans* y 50% *A. thiooxidans*, la arsenopirita presento el mismo comportamiento, la oxidación del mineral fue igual a cuando se empleo *A. ferrooxidans*. Para los cultivos de solo *A. thiooxidans* la arsenopirita no se oxido. La malla Tyler 325 presento el mismo comportamiento con todos los sistemas microbianos evaluados, baja oxidación y un ambiente más agreste para el crecimiento bacteriano, pero la velocidad de disolución fue mucho menor que la presentada por la malla Tyler 200.

La pirita presento una velocidad de disolución muy baja durante los treinta días de proceso, solo 5% de disolución, para todos los ensayos y las dos distribuciones de tamaños de partícula evaluadas, pero genero durante todos los experimentos de oxidación potenciales redox y niveles de acidez muy altos, ~650 mV y pH ~1,5, favoreciendo la disolución de los sulfuros acompañantes.

El principal producto de la oxidación de ambos minerales fue un sulfato férrico hidratado básico, tipo jarosita. En el caso de la arsenopirita, ésta jarosita se encontró en diferentes morfologías, como agregados individuales, películas recubriendo núcleos remanentes y deposición por pulsos sobre restos de cristallitos. En todos los casos incorporó grandes cantidades de arsénico. La disolución oxidativa de la pirita no mostró la formación de películas y la jarosita presente solo se encontró en forma de agregados individuales y pequeños depósitos sobre surcos de corrosión. También se observó la formación de un óxido de hierro en pequeñas cantidades para ambos minerales, en la arsenopirita, éste oxido concuerda con schwertmannita y en la pirita con goetita. En los análisis realizados se evidenció la formación de películas de azufre elemental, aunque para el final del proceso esta formación no fue contundente, posiblemente por la disolución de ésta y su transformación hasta ácido sulfúrico.

Por DRX fueron observadas cantidades importantes de hidroxisulfato férrico ( $\text{Fe}(\text{OH})(\text{SO}_4)$ ). Hematita y goetita ocurren en cantidades menores. La química de los sulfatos de hierro indica que la amoniojarosita, en la oxidación de la arsenopirita, y la hidroniojarosita, en el proceso de oxidación de la pirita, para cada ambiente genera jarositas con alto y bajo contenido de arsénico. La amoniojarosita pobre en arsénico contiene en proporción hasta un 10% de  $\text{As}_2\text{O}_5$  y la rica contiene hasta 20%  $\text{As}_2\text{O}_5$ . La hidroniojarosita pobre en arsénico contiene en proporción hasta un 2%  $\text{As}_2\text{O}_5$  y la rica contiene hasta un 28%  $\text{As}_2\text{O}_5$ . Lo que sugiere una relación de sustitución 1:1 entre el ion  $\text{S}^{2-}_n$  y el ion  $\text{As}^{3+}$ , lo que sugiere una solución sólida en dirección a una “As jarosita”.

Finalmente, se propone un modelo de oxidación por capas para ambos minerales. Para el caso de la arsenopirita, el modelo de oxidación muestra la formación de cinco capas denominadas de la siguiente manera: una película de azufre elemental, una película de óxidos de arsénico, una película de óxidos de hierro férrico, una película de sulfo-arsenatos de hierro férrico y en la superficie más externa amoniojarosita. En el caso de la pirita, se tiene: una película de azufre elemental, una película de óxidos de hierro férrico y en la superficie más externa hidroniojarosita.

Con estas cinéticas de oxidación definidas se procedió a hacer una flotación diferencial en celda tipo Hallimond, encontrando una separación entre la pirita y la arsenopirita de hasta el 80% con solo 48 horas de pretratamiento biooxidante.

---

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagramas de Pourbaix, 25°C, 1 atm, para el sistema Fe-As-S-O, para dos concentraciones diferentes, donde se muestra los campos de estabilidad de la arsenopirita. El área encerrada por el rectángulo punteado indica condiciones típicas cercanas a la superficie del mineral. 5
- Figura 2.** Diagramas de Pourbaix, 25°C, 1 atm, para los sistemas Fe-S-H<sub>2</sub>O y Fe-As-S-H<sub>2</sub>O. 6
- Figura 3.** Espectros de XPS para la región Fe2p<sub>(3/2)</sub> en la arsenopirita: (A) clivada a 10<sup>-9</sup> torr; (B) clivada a 10<sup>-8</sup> Pa (espectro a) y clivada en aire (espectro b); (C) luego de una exposición durante 25 horas en aire; y (D) luego de expuesta por cuatro semanas en medios de cultivo bacterial, a pH 2 y en ausencia de microorganismos. 7
- Figura 4.** Diagramas esquemáticos para las películas formadas durante la oxidación de la arsenopirita. De izquierda a derecha: izquierda, oxidación por O<sub>2</sub>. Centro, oxidación en aire y derecha, oxidación por exposición en aire durante 25 días, medidas hechas perfiles AES. 12
- Figura 5.** Diagrama para la formación de películas de azufre elemental durante el proceso de oxidación de la arsenopirita. 13
- Figura 6.** Diagrama para la oxidación de la arsenopirita. 15
- Figura 7.** Mecanismos de oxidación bacteriana propuestos por Silverman (1967). a) Mecanismo indirecto. b) Mecanismo de contacto indirecto. c) Mecanismo de contacto directo. 16
- Figura 8.** Imágenes de microscopía óptica de luz plana polarizada, modo luz reflejada (MOLPP/LR), para granos individuales de arsenopirita (Aspy) con pequeñas inclusiones y fases acompañantes. (A) cristal euhedral de arsenopirita con pequeñas inclusiones de pirita (Py) y una textura porosa. (B) cristal subedral de arsenopirita con inclusiones de pirrotita (Po) al borde del grano. (C) cristal anedral de arsenopirita, con una textura fracturada y algo porosa y pequeñas inclusiones de minerales de la ganga. (D) cristal de arsenopirita euedral de forma romboedral y pequeñas inclusiones de pirita en forma de gotículas. (E) cristal euedral de arsenopirita con inclusiones de pirita ~ 80µm. (F) cristal subedral de arsenopirita muy fracturado. 31
- Figura 9.** Imágenes de SEM/EDS, modo de electrones retro proyectados (BEC) para granos individuales de arsenopirita (Aspy) con pequeñas inclusiones y fases acompañantes. (A) cristal euhedral de Aspy, acompañado de su análisis microquímico, donde se observa una textura porosa, bordes definidos y perfilados. (B) cristal subedral de Aspy, donde se observa su topografía accidentada (fracturas y poros a través de todo el grano). (C) cristal de Aspy, con pequeñas inclusiones de pirrotita y monacita (Moc) (en análisis microquímico de esta imagen es realizado sobre el grano de monacita). (D) cristal de Aspy euedral con pequeñas inclusiones de pirita en forma de gotículas (el análisis microquímico es para el grano de pirita). (E) cristal euedral de arsenopirita con níquel y cobalto, como se observa en el espectro de EDS, en solución sólida. (F) cristales de Aspy muy fracturado y más inclusiones de monacita. 32
- Figura 10.** Difractogramas de rayos-X para las muestras de arsenopiritas molidas. A) malla Tyler -200 y B) malla Tyler -325. Arsenopirita (Aspy) y cuarzo (Qz) con pequeñas cantidades de pirita (Py) y moscovita (Msc). 33
- Figura 11.** Imágenes de microscopía óptica de luz plana polarizada, modo luz reflejada (MOLPP/LR), para granos individuales de pirita (Py) con pequeñas inclusiones y fases acompañantes. (A) cristal anedral de pirita con pequeñas inclusiones de calcopirita (Cpy) y material de la ganga (material gris) y una textura porosa y fracturada. (B) cristal anedral de pirita con inclusiones de esfalerita (Sph) al borde del grano y granos de la ganga intercrecidos con los cristales de pirita. (C) cristales euedrales de pirita con una textura muy poco fracturada y casi sin porosa; se observan cristales de pirita crecidos dentro de material de la ganga. 33



- Figura 12.** Imágenes de SEM/EDS, modo de electrones retro proyectados (BEC) para granos individuales de pirita (Py) con pequeñas inclusiones y fases acompañantes. (A) cristales euhedral, subedrales y anedrales de Py, acompañado de pequeñas inclusiones de esfalerita (Sph), donde se observa una textura porosa, bordes definidos y perfilados. (B) cristales subedral de Py, donde se observa su intercrecimiento en una matriz de ganga, principalmente cuarzo. (C) cristal de Py crecido en una fractura de esfalerita e intercrecido con un cristal hexagonal de sílice. (D) cristal de Py anedral, muy fracturado y con intercrecimientos de esfalerita al interior del grano y al borde del mismo. (E) cristales euedrales y subedrales de Py en una matriz de ganga (F) cristales de Py con intercrecimiento de galena y esfalerita inmersos en una matriz de cuarzo. **34**
- Figura 13.** Izquierda. Imagen de SEM de un cristal de pirita, modo de electrones retro proyectados (BEC). Derecha, Mapa composicional del cristal donde se observa la zonación causada por la entrada de arsénico en solución sólida. **34**
- Figura 14.** Difractogramas de rayos-X para las muestras molidas de pirita. A) malla Tyler 200. B) malla Tyler 325. Símbolos: Pirita (Py) cuarzo (Qz) y arsenopirita (Aspy) con pequeñas cantidades de galena (Gn). **35**
- Figura 15.** De izquierda a derecha: Recubrimiento de “Caparrosa” en las paredes de la mina. Zona de toma de muestra sólida con oxidación intensa y formación de hidróxidos de hierro, cruzada principal 500mt. Zona de toma de de lixiviado en poza pequeña con alta acumulación de óxidos, la colmena guía 200mt (Tomado de Ossa 2004). **36**
- Figura 16.** Crecimiento de colonias individuales de *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre agar. **36**
- Figura 17.** De izquierda a derecha: Izquierda. Enriquecimiento de bacterias, acidófilas, en medio líquido, donde los tres primeros erlenmeyers, con coloración amarillosa, son para *A. thiooxidans* y los dos erlenmeyers siguientes, con coloración rojiza, son para *A. ferrooxidans* y el erlenmeyer final con tonalidad verdosa es un cultivo inicial para *A. ferrooxidans*. Derecha. Pruebas bioquímicas positivas para sulfato ferroso de los microorganismos compatibles con *A. ferrooxidans*. **36**
- Figura 18.** Izquierda, medidas de potencial redox. Derecha, medidas de pH. Para *A. ferrooxidans* crecidas en concentrados de arsenopirita. Símbolos ◆ 2,5% de sólidos y 100% de Fe<sup>2+</sup>. ■ 5,0% de sólidos y 75% de Fe<sup>2+</sup>. ▲ 7,0% de sólidos y 50% de Fe<sup>2+</sup>. ● 9,0% de sólidos y 25% de Fe<sup>2+</sup> y □ 10,0% de sólidos y 0,0% de Fe<sup>2+</sup>. **37**
- Figura 19.** Izquierda, medidas de potencial redox. Derecha, medidas de pH. Para *A. ferrooxidans* crecidas en concentrados de arsenopirita. Símbolos ◆ 2,5% de sólidos y 100% de Fe<sup>2+</sup>. ■ 5,0% de sólidos y 75% de Fe<sup>2+</sup>. ▲ 7,0% de sólidos y 50% de Fe<sup>2+</sup>. ● 9,0% de sólidos y 25% de Fe<sup>2+</sup> y □ 10,0% de sólidos y 0,0% de Fe<sup>2+</sup>. **38**
- Figura 20.** Izquierda, medidas de potencial redox. Derecha, medidas de pH. Para *A. ferrooxidans* crecidas en concentrados de arsenopirita. Símbolos ◆ 2,5% de sólidos y 100% de Fe<sup>2+</sup>. ■ 5,0% de sólidos y 75% de Fe<sup>2+</sup>. ▲ 7,0% de sólidos y 50% de Fe<sup>2+</sup>. ● 9,0% de sólidos y 25% de Fe<sup>2+</sup> y □ 10,0% de sólidos y 0,0% de Fe<sup>2+</sup>. **38**
- Figura 21.** Izquierda, medidas de potencial redox. Derecha, medidas de pH. Para *A. ferrooxidans* crecidas en concentrados de arsenopirita. Símbolos ◆ 2,5% de sólidos y 100% de Fe<sup>2+</sup>. ■ 5,0% de sólidos y 75% de Fe<sup>2+</sup>. ▲ 7,0% de sólidos y 50% de Fe<sup>2+</sup>. ● 9,0% de sólidos y 25% de Fe<sup>2+</sup> y □ 10,0% de sólidos y 0,0% de Fe<sup>2+</sup>. **39**
- Figura 22.** (A) Cambios en el potencial redox y (B) Cambios en el pH durante el proceso de disolución oxidativa de la arsenopirita en la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. **39**
- Figura 23.** (A) Cambios en el potencial redox y (B) Cambios en el pH durante el proceso de disolución oxidativa de la arsenopirita en la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y **40**

- Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente.
- Figura 24.** Concentración de arsénico (gráfico externo) y curva de concentración celular (gráfico interno) para *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 41
- Figura 25.** Concentración de arsénico (gráfico externo) y curva de concentración celular (gráfico interno) para *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 41
- Figura 26.** Cambios en la concentración de hierro total para el ensayo con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 42
- Figura 27.** Cambios en la concentración de hierro ferroso (A) y hierro férrico (B) para el ensayo con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 42
- Figura 28.** Cambios en la concentración de hierro total para el ensayo con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 43
- Figura 29.** Cambios en la concentración de hierro ferroso (A) y hierro férrico (B) para el ensayo con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 43
- Figura 30.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC). Malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de cinco días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano de Aspy con golfos y pits de corrosión, algunas fracturas y la aparición de una película que recubre el grano, los EDS realizados a ésta película (imagen a su derecha) sugieren ser una jarosita con arsénico en solución sólida o pequeñas partículas de arsenato dentro de la película (Márquez 1999). (B) Cristal anedral de Aspy muy fracturado. También se sugiere la formación de una película. Se observan cristalitas de cuarzo sin disolución y agregados individuales de jarositas con arsénico (fase JAs). El EDS es realizado sobre la película. (C) Cristal de Aspy subedral con las misma topografía observada en los cristales anteriores pero la película que recubre este grano no se forma por uno de los lados del cristal lo que se puede deber a un proceso de precipitación y no a la formación *in situ* de la capa. (D) Cristal anedral de Aspy con surcos y fracturas profundas y un golfo de corrosión en el que se deposita material precipitado. El EDS sugiere la formación de la fase JAs con calcio en solución posiblemente debida a la disolución de carbonatos de calcio, responsables por el incremento del pH en las etapas tempranas del proceso. (E) Cristal anedral de Aspy con surcos de corrosión muy marcados y rectos, posiblemente a través de planos de clivaje. (F) Cristal anedral de Aspy recubierto totalmente por una película, el EDS muestra la misma composición química de la fase JAs. 44
- Figura 31.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC). Malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de cinco días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano de Aspy, euedral, con la aparición de algunos surcos y pits de corrosión, los EDS realizados a la película sobre el cristal de cuarzo (imagen a su derecha) sugieren ser una jarosita con arsénico en solución sólida o pequeñas partículas de arsenato dentro de la película (Márquez 1999). (B) Cristal subedral de Aspy con fracturas y surcos de corrosión. Se observan agregados individuales de jarositas con arsénico (fase JAs). El EDS es realizado sobre la película. (C) Cristal de Aspy subedral con las misma topografía observada en los cristales anteriores sin la presencia definida de películas recubriendo el grano. (D) Cristal subedral de Aspy con un golfo 45

de corrosión muy marcado en el que se deposita material precipitado. El EDS sugiere la formación de la fase JAs. (E) Cristal subedral de Aspy con surcos de corrosión. (F) Cristal anedral de Aspy con pequeñas cantidades de precipitados sobre él.

**Figura 32.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC). Malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de quince días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano de Aspy en la que los EDS realizados a ésta película (imagen a su derecha) sugieren ser una jarosita con arsénico en solución sólida o pequeñas partículas de arsenato dentro de la película (Márquez 1999). También se sugiere la precipitación por capas durante el desarrollo del proceso. (B) Cristal anedral de Aspy en el que la precipitación por pulsos es más evidente y la composición del material interno a la capa de color gris brillante se ajusta a la de un sulfo-arsenato férrico (C) Cristal de Aspy anedral con la misma topografía observada en los cristales anteriores, se conservan los golfos de corrosión lo que da injerencia en que el proceso de disolución continua a pesar de la formación de esta película. (D) panorama general de la cantidad de precipitados aislados, de formas circulares, formados durante el proceso de disolución oxidativa del mineral. (E) Cristal anedral de Aspy donde se reflejan dos películas, la película A es un material con mayor contenido de arsénico y la película B presenta menor cantidad de arsénico y su composición es similar a la de un sulfo-arsenato férrico. (F) Cristal subedral de cuarzo con pequeños indicios de disolución debido a la geometría irregular mostrada.

46

**Figura 33.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC). Malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de quince días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano subedral de Aspy con algunos surcos de oxidación, rodeado de pequeños agregados de material precipitado, los EDS realizados sobre este material (imagen a su derecha) sugieren ser la fase JAs antes descrita. (B) Cristal subedral de Aspy en el que se manifiestan surcos de corrosión a través de todo el grano. (C) Cristal anedral de Aspy con la misma topografía observada en los cristales anteriores, pero se aprecia mejor la cantidad de la fase JAs precipitada alrededor del grano. (D) Grano subedral de Aspy en el que se puede observar cómo se van disolviendo algunos bordes del material, círculo rojo. (E) Cristal anedral de Aspy donde sobre una de sus borde empieza a depositarse una película de la fase JAs, también se manifiesta el proceso de disolución en la generación de surcos prolongados de corrosión. (F) Cristal subedral de Aspy donde se manifiesta el desarrollo del proceso de disolución localizada en forma de surcos y algunos pits de corrosión.

47

**Figura 34.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC). Malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de treinta días de iniciado el proceso. (A) Grano de Aspy, completamente anedral, con golfos y pits de corrosión muy marcados, sin fracturas y película que recubre el grano, los EDS realizados a ésta película sugieren ser la fase JAs antes mencionada. (B) Cristal anedral de Aspy. Se observa el desarrollo de una película gruesa de jarosita  $\sim 30\mu\text{m}$ . (C) Cristal de Aspy anedral con la misma topografía observada en los cristales anteriores pero la película que recubre este grano cambia de tonalidad en la parte más externa, sugiriendo una composición química diferente. (D) Cristales anedrales de Aspy recubiertos por películas gruesas de jarosita. (E) Cristal anedral de Aspy donde se evidencia la formación de dos películas de composición química similar, solo varía el contenido de arsénico. La presencia de estas dos capas sugiere la precipitación por pulsos de este material. (F) Cristal anedral de Aspy recubierto totalmente por una película, el EDS muestra la misma composición química de la fase JAs y algunos precipitados de aluminio dentro de esta capa.

47

**Figura 35.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC). Malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de treinta días de iniciado el proceso. (A) Grano de Aspy, anedral, con golfos y pits de corrosión muy marcados, los EDS realizados a éste material no sugieren cambios significativos. (B) Cristal anedral de Aspy. Se observa el

48

desarrollo de una película discontinua de la fase JAs  $\sim 0,45\mu\text{m}$ . (C) Cristal de Aspy anedral con las misma topografía observada en los cristales anteriores pero las fracturas y surcos de corrosión son más pronunciados. (D) Cristal anedral de Aspy recubiertos por una pequeña película de JAs. (E) Cristal anedral de Aspy donde se evidencia la precipitación de JAs sobre cristales de la ganga. (F) Cristales anedrales de Aspy donde se observa la precipitación preferencial sobre los granos.

**Figura 36.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC), malla Tyler 200, para los controles estériles después de 30 días de proceso. 49

**Figura 37.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC), malla Tyler 325, para los controles estériles después de 30 días de proceso. 49

**Figura 38.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200 durante la evolución del proceso de oxidación. Donde se desglosa el primer conjunto de seis imágenes para los cinco primeros días del proceso. el segundo conjunto de seis imágenes muestra los patrones de oxidación para el día 15 del proceso y el tercer grupo de seis imágenes muestra la evolución del proceso para el día 30 del proceso. 50

**Figura 39.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325 durante la evolución del proceso de oxidación. Donde se desglosa el primer conjunto de seis imágenes para los cinco primeros días del proceso. El segundo conjunto de seis imágenes muestra los patrones de oxidación para el día 15 del proceso y el tercer grupo de seis imágenes muestra la evolución del proceso para el día 30 del proceso. 51

**Figura 40.** Espectros de FTIR para las muestras provenientes del proceso de biooxidación. A y B: ensayos con *Acidithiobacillus ferrooxidans* para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. C y D: ensayos con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 56

**Figura 41.** Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de arsenopirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K sin bacterias. El área de medida fue de  $576\mu\text{m}^2$ , imagen superior, y de  $25\mu\text{m}^2$  imagen inferior. 58

**Figura 42.** Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de arsenopirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K inoculado. El área de medida fue de  $(12 \times 12)\mu\text{m}^2$ . 59

**Figura 43.** Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de arsenopirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K inoculado. El área de medida fue de  $(3 \times 3)\mu\text{m}^2$ , imagen superior, y de  $(2 \times 2)\mu\text{m}^2$ , imagen inferior. 59

**Figura 44.** Cambios en el potencial redox (gráfico izquierdo) y en el pH (gráfico derecho) durante el proceso de disolución oxidativa de la piritita en la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos:  $\blacklozenge$  and  $\blacktriangle$  piritita malla Tyler 200 y 325 respectivamente.  $\diamond$  y  $\triangle$  controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 60

**Figura 45.** Cambios en el potencial redox (gráfico izquierdo) y en el pH (gráfico derecho) durante el proceso de disolución oxidativa de la piritita en la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos:  $\blacklozenge$  and  $\blacktriangle$  piritita malla Tyler 200 y 325 respectivamente.  $\diamond$  y  $\triangle$  controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 61

**Figura 46.** Concentración de hierro total (gráfico externo) y curva de concentración celular (gráfico interno) para *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos:  $\blacklozenge$  and  $\blacktriangle$  arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente.  $\diamond$  y  $\triangle$  controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 61

**Figura 47.** Concentración de hierro total (gráfico externo) y curva de concentración celular (gráfico interno) para *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos:  $\blacklozenge$  and  $\blacktriangle$  arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente.  $\diamond$  y  $\triangle$  controles estériles las 62

mallas Tyler 200 y 325 respectivamente.

**Figura 48.** Concentración de hierro ferroso (gráfico izquierdo) y concentración de hierro férrico (gráfico derecho) para el proceso de disolución de la pirita por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ pirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 63

**Figura 49.** Concentración de hierro ferroso (gráfico izquierdo) y concentración de hierro férrico (gráfico derecho) para el proceso de disolución de la pirita por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Símbolos: ◆ and ▲ pirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ◇ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. 63

**Figura 50.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de cinco días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano de pirita (Py) fracturado, con algunos golfos de corrosión, los EDS no muestran la formación de películas superficiales. (B) imagen donde se muestra un efecto galvánico entre un cristal de Py y un cristal de galena (Gn), donde el mineral disuelto es la galena;. (C) Cristal de Py subedral con una amplia gama de pits y surcos de corrosión. (D) Cristales euedrales de pirita sin signos marcados de corrosión. (E) cristal subedral de pirita en donde se manifiesta la formación de una película de óxido de hierro. (F) cristal de Py donde se inicia la formación de golfos de corrosión. 65

**Figura 51.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de cinco días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano anedral de pirita recubierto de una película. Los EDS sugieren una composición similar a la de una jarosita; (B) Cristales subedrales de Py que presentaron fracturas y algunos pits de corrosión; (C) Cristal anedral de Py en avanzado estado de deterioro acompañado por un óxido de hierro; (D) panorama general de los estados de corrosión presentes en las muestras donde se sugiere que el proceso de disolución inicia por lo granos más pequeños; (E) cristal subedral de pirita en donde se manifiesta la corrosión por *pits* que sufre las cristales durante el proceso de disolución; (F) cristal subedral de Py donde se inicia la formación de golfos de corrosión y películas de sulfatos. También es evidente el proceso de disolución de los sulfuros acompañantes. 65

**Figura 52.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de quince días de iniciado el proceso. (A) cristal subedral de pirita (Py) con algunos surcos corrosión. Aún no es muy evidente la formación de películas y precipitados de jarosita en formas individuales; (B) cristales subedrales de Py sin evidencias notorias de oxidación y un cristalito de galena mu oxidado recubierto por una película de anglesita; (C) cristal de Py anedral con una amplia gama de pits y surcos de corrosión y una película recubriendo el cristal remanente; (D) cristales euedrales y subedrales de pirita en diferentes estados de corrosión; (E) agregado de jarosita con inclusiones de aluminio y silicio y restos de cristalitos de galena disueltos; (F) cristal de galena sin oxidación al interior de un cristal de pirita. 66

**Figura 53.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de quince días de iniciado el proceso. (A) Granos de pirita, el más pequeños recubierto de una película de jarosita y en el más grande se observa la formación de una película discontinua de jarosita y un óxido de hierro recubriendo la parte superior del grano. (B) imagen donde se muestra un cristal subedral de Py con formación de *pits* de corrosión (C) Cristal de Py en avanzado estado de deterioro con película de jarosita recubriéndolo. (D) Cristales euedrales de pirita con evidencia de surcos. (E) cristal euedral de pirita en donde se manifiesta la formación de una película difusa de óxido de hierro. (F) cristal de Py donde se observa la formación de una película de jarosita. 66

- Figura 54.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de treinta días de iniciado el proceso; (A) cristal eudral de Py con un golfo de corrosión muy pronunciado en el que se deposita una capa de un óxido de hierro; (B) agregado de jarosita (fase J) donde se observan restos de cristales de Py y galena (Gn); (C) cristal de Py donde se marca la iniciación de los surcos de corrosión, el diámetro de los surcos no sobrepasa las 0,5µm; (D) cristal de Py con surcos de corrosión muy marcados y con restos de Gn depositada sobre uno de sus bordes; (E) cristal subedral de pirita en donde se manifiesta la formación de una película de óxido de hierro. (F) cristal de Py subedral donde se marca como los surcos se van transformado en golfos de corrosión. 67
- Figura 55.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de treinta días de iniciado el proceso. (A) cristal eudral de Py al lado de un agregado de jarosita; (B) cristales subedrales con pocas señales de oxidación;(C) agregado de jarosita ricos en aluminio y silicio; (D) cristal subedral de pirita en estado avanzado de corrosión. (E) cristal de Py subedral con la misma topografía observada durante todo el proceso para ambas distribuciones de tamaños de partícula empleadas; (F) grano anedral de Py de granulometría muy pequeña en un estado muy avanzado de corrosión. 67
- Figura 56.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC), malla Tyler 200, para los controles estériles después de 30 días de proceso. 68
- Figura 57.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC), malla Tyler 325, para los controles estériles después de 30 días de proceso. 68
- Figura 58.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200 durante la evolución del proceso de oxidación. Donde se desglosa el primer conjunto de seis imágenes para los cinco primeros días del proceso. El segundo conjunto de seis imágenes muestra los patrones de oxidación para el día 15 del proceso y el tercer grupo de seis imágenes muestra la evolución del proceso para el día 30 del proceso. 69
- Figura 59.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325 durante la evolución del proceso de oxidación. Donde se desglosa el primer conjunto de seis imágenes para los cinco primeros días del proceso. el segundo conjunto de seis imágenes muestra los patrones de oxidación para el día 15 del proceso y el tercer grupo de seis imágenes muestra la evolución del proceso para el día 30 del proceso. 70
- Figura 60.** Espectros de FTIR para las muestras provenientes del proceso de biooxidación. A y B: ensayos con *Acidithiobacillus ferrooxidans* para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. C y D: ensayos con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. Símbolos:  $\text{SO}_4^{2-}$ : Jarosita.  $\text{NH}_4^+$ : Amonio-jarosita.  $\text{CH}_3 \leftrightarrow \text{CH}_2$ : Grupos alifáticos. Py: Pirita. Fe-O: Goetita. 75
- Figura 61.** Muestra de pirita, con un tamaño de partícula entre 75–45 µm, sin oxidación bacteriana. 78
- Figura 62.** Muestra de pirita, con un tamaño de partícula entre 75–45 µm, sometida a oxidación bacteriana durante 15 días. 78
- Figura 63.** Muestra de pirita, con un tamaño de partícula entre 75–45 µm, sometida a oxidación bacteriana durante 30 días. 79
- Figura 64.** Comparación de las muestras de pirita, con un tamaño de partícula entre 75–45 µm, sometidas a oxidación bacteriana, durante 15 y 30 días, y sin oxidación. Símbolos: ■ Malla Tyler 200 sin oxidación. ◆ Malla Tyler 200 oxidada 15 días y ● Malla Tyler 200 oxidada 30 días. 79
- Figura 65.** Muestra de pirita, con un tamaño de partícula entre 45–15 µm, sin oxidación bacteriana. 80

<b>Figura 66.</b> Muestra de pirita, con un tamaño de partícula entre 45–15 $\mu\text{m}$ , sometida a oxidación bacteriana durante 15 días.	<b>80</b>
<b>Figura 67.</b> Muestra de pirita, con un tamaño de partícula entre 45–15 $\mu\text{m}$ , sometida a oxidación bacteriana durante 30 días.	<b>81</b>
<b>Figura 68.</b> Comparación de las muestras de pirita, con un tamaño de partícula entre 45–15 $\mu\text{m}$ , sometidas a oxidación bacteriana, durante 15 y 30 días, y sin oxidación. Símbolos: ■ Malla Tyler 325 sin oxidación. ◆ Malla Tyler 325 oxidada 15 días y ● Malla Tyler 325 oxidada 30 días.	<b>81</b>
<b>Figura 69.</b> Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de arsenopirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K sin bacterias. El área de medida fue de 10 x 10 $\mu\text{m}^2$ .	<b>82</b>
<b>Figura 70.</b> Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de pirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K inoculado. El área de medida fue de (10 x 10) $\mu\text{m}^2$ , imagen superior; y (5 x5) $\mu\text{m}^2$ , imagen inferior.	<b>83</b>
<b>Figura 71.</b> Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de pirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K inoculado. El área de medida fue de (5 x 5) $\mu\text{m}^2$ , imagen superior; y (3 x3) $\mu\text{m}^2$ , imagen inferior.	<b>83</b>
<b>Figura 72.</b> Diagrama esquemático de la celda Hallimond, modificada, empleada para todos los ensayos de bio-flotación.	<b>98</b>
<b>Figura 73.</b> Difracción de rayos-X para la mezcla pirita-arsenopirita a ser sometida por oxidación bacteriana. Símbolos: pirita (Py), arsenopirita (Aspy), cuarzo (Qz) y pirrotita (Po).	<b>99</b>
<b>Figura 74.</b> Gráfico de barras para el proceso de flotación diferencial en celda Hallimond modificada de la mezcla artificial de pirita-arsenopirita. Donde se identifica: 0 horas, mezcla original. 1 hora, mezcla flotada sin tratamiento bacteriano. 2 horas, mezcla flotada después de dos horas de pre-tratamiento bio-oxidante. 4, 12, 24 y 48 horas, mezcla flotada después de 4, 12, 24 y 48 horas de pre-tratamiento bio-oxidante. Colores: vinotinto: pirita y morado: arsenopirita.	<b>99</b>
<b>Figura 75.</b> Gráfico de barras para el proceso de flotación diferencial en celda Hallimond modificada de la mezcla artificial de pirita-arsenopirita. Donde se identifica: 0 horas, mezcla original. 1 hora, mezcla flotada sin tratamiento bacteriano. 2 horas, mezcla flotada después de dos horas de pre-tratamiento bio-oxidante. 4, 12, 24 y 48 horas, mezcla flotada después de 4, 12, 24 y 48 horas de pre-tratamiento bio-oxidante.	<b>100</b>

---

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la arsenopirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, pasante malla Tyler 200, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 51
- Tabla 2.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la arsenopirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, pasante malla Tyler 325, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 52
- Tabla 3.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la arsenopirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, pasante malla Tyler 200, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 53
- Tabla 4.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la arsenopirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, pasante malla Tyler 325, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 54
- Tabla 5.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la pirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, pasante malla Tyler 200, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 72
- Tabla 6.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la pirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, pasante malla Tyler 325, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 73
- Tabla 7.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la arsenopirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, pasante malla Tyler 200, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; (\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente. 73
- Tabla 8.** Minerales identificados durante el proceso de disolución de la arsenopirita, con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, pasante malla Tyler 325, y sus abundancias relativas. Intensidades de los picos: (\*\*\*\*\*) muy alta; (\*\*\*\*) alta; (\*\*\*) media; 74



---

(\*\*) media - baja; (\*) baja; (t) trazas, (nd) no detectado. El día 0 significa el mineral original, el día 5 significa el mineral después de ser sometido a oxidación con bacterias durante cinco días y así sucesivamente.

---

# 1. INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de microorganismos han participado en la generación de depósitos minerales y solubilización de metales en la corteza terrestre desde tiempos geológicos antiguos y su mayor actividad se ha relacionado con los ciclos del hierro y el azufre (Rawlings, 2002). En general, procesos tales como alteración de rocas y minerales, movilización de metales, generación de depósitos minerales y formación de sedimentos, están relacionados con la acción de microorganismos y sus productos metabólicos (McIntosh *et al.*, 1997; Ehrlich & Newman, 2009). Pero, sólo fue hasta 1947, donde los geoquímicos, que pensaban que en la naturaleza la movilización de metales a partir de sulfuros era un proceso abiótico, se dieron cuenta, con los trabajos de Colmer & Hinkle (1947), que la oxidación de hierro asociada a la formación de drenajes ácidos era un proceso que involucraba ciertos microorganismos, los cuales aumentaban la oxidación y solubilización de los sulfuros presentes en las zonas mineras de *West Virginia*, USA. Grandes esfuerzos en la caracterización de la flora microbiana de estos efluentes de mina dieron sus resultados cuando finalmente se logró aislar un grupo de microorganismos semejantes, pero no idénticos, a los ya conocidos como *Thiobacillus thiooxidans* (Colmer & Hinkle, 1947; Temple & Colmer, 1950). Este nuevo grupo de microorganismos tenía la capacidad de aumentar la velocidad de oxidación de las inclusiones de pirita en el carbón y, entre 1950 y 1951, Colmer, Temple y colaboradores de la Universidad de *West Virginia* aislaron a partir de drenajes ácidos de una mina de carbón, en las cercanías de la ciudad de Pittsburgh, bacterias quimiolitotróficas, que son microorganismos con la habilidad de derivar energía, necesaria para la producción de ATP, de la catálisis oxidativa de compuestos inorgánicos, además de fijar el carbono necesario para su metabolismo a partir del CO<sub>2</sub> atmosférico, las cuales fueron consideradas como los microorganismos responsables de la oxidación del ion Fe<sup>2+</sup> hasta el ion Fe<sup>3+</sup>, para lo cual ellos propusieron el nombre de *Thiobacillus ferrooxidans sp.* (Colmer & Hinkle, 1947; Temple & Colmer, 1950). En adelante, y debido al gran interés económico y a la relevancia en diversas áreas de la actividad humana, muchas investigaciones han sido enfocadas sobre el papel de los microorganismos en la oxidación y lixiviación de sulfuros (Vanselow, 1976; Bruynesteyn, 1989; Acevedo & Gentina, 1993; Ahonen & Tuovinen, 1993, 1994; Brierley & Brierley, 2001, Rohwerder *et al.*, 2003; Olson *et al.*, 2003; Da Silva, 2004; Francisco, 2006).

En las últimas décadas, los procesos biotecnológicos en minería se han convertido en una tecnología comercialmente viable para la extracción de metales base y preciosos, enmarcándose dentro de una gran área conocida como la biohidrometalurgia, la cual se encarga del estudio y la aplicación del potencial económico que puede obtenerse de la interacción entre los microorganismos y los minerales y en la cual están involucradas áreas que, directa o indirectamente, están comprometidas con la explotación de recursos minerales y protección ambiental, como la biogeoquímica, geomicrobiología y por supuesto, la hidrometalurgia, donde podemos encontrar sus áreas de apoyo como la geología, geología económica, ingeniería de minas, metalurgia e ingeniería química y de materiales (Rossi, 1990).

Adicionalmente, la biohidrometalurgia es bien conocida por su utilización en el tratamiento de drenajes ácidos o bio-remediación, para la remoción de metales pesados presentes en áreas mineras, suelos y sedimentos contaminados o residuos industriales como cenizas de incineración (Bosecker, 2001); también en la degradación de cianuro (Akciil *et al.*, 2007), adecuación de concentrados para separación por flotación (Patra & Natarajan, 2003), biodesulfurización de carbones (Eligwe, 1988; Rossi, 1990), entre otras.

En la industria minera, el procesamiento de minerales utilizando microorganismos viene siendo utilizado principalmente para la extracción de oro, cobre, uranio y cobalto (Ehrlich & Newman, 2009), ganando gran atención a nivel internacional. En el caso del cobre en Chile, dentro de las siete plantas

---

de biolixiviación que operan comercialmente, se procesan alrededor de ochenta cuatro mil toneladas al día de concentrado (Brierley & Brierley, 2001), y, actualmente, del 10 al 15% de la producción mundial de cobre es obtenida mediante biolixiviación de minerales de cobre de bajo tenor (Bevilaqua, 2003).

Los procesos alternativos como la biohidrometalurgia presentan ventajas que otros procesos tradicionales no pueden proveer, como por ejemplo, bajos costos de operación y capital de inversión, los cuales pueden llegar a ser significativamente menores, hasta un 50% en insumos económicos, y bajos requerimientos de energía, (Acevedo & Gentina, 1993; García & Urenha, 2001). Otras ventajas incluyen la simplicidad en la puesta en marcha de los sistemas de operación (Brierley & Brierley, 2001), la versatilidad en cuanto a la adaptación a los diferentes tipos de proceso (Brierley & Luinstra, 1993) y, desde el punto de vista ambiental, la no producción de gases nocivos, en comparación con otros métodos usados rutinariamente en el beneficio de minerales, como por ejemplo la tostación (Çopur, 2001) y la generación de desechos ambientalmente más amigables o químicamente más estables (Rawlings, 2002, Devacia & Natarajan, 2004).

En el mundo una alta cantidad de sulfuros provenientes de la explotación minera, sulfuros con características refractarias y/o con iones en su estructura cristalina nocivos al medioambiente y a la salud humana, han sido acumulados en el tiempo; con contenidos de oro relevantes en la mayoría de los casos, el tratamiento de éstos materiales no es factible por métodos convencionales, lo que incrementa el costo de la recuperación de los valores metálicos presentes (Rodríguez *et al.*, 2003; Marsden & House, 1992).

El problema de la refractariedad ha situado a la pirita como uno de los más importantes sulfuros que encapsulan en su matriz elementos valiosos como oro, sea en la forma de pequeñas inclusiones (Márquez 1999) o como oro invisible (Márquez & Gaspar 1996), lo cual hace que la mayoría de las veces la cianuración de estos minerales requiera largos periodos de exposición, obteniéndose de este modo un material de mayor costo y una ganancias menores (Suzuki, 2001).

Los cambios fisicoquímicos que tienen lugar sobre la superficie de la pirita y arsenopirita durante los procesos de biooxidación son importantes, ya que la formación de minerales secundarios sobre éstos puede generar la inhibición de la difusión de oxidantes hacia la superficie y, en consecuencia, reducen la velocidad de disolución. Por ejemplo, la formación de especies intermedias, tales como azufre elemental y compuestos reducidos de azufre, pueden jugar un papel importante en la cinética de las reacciones. La segregación de productos intermedios en la superficie y la cinética de su producción son cruciales para entender cómo ellos y las comunidades bacterianas, que con ellos interactúan, impactan o afectan en conjunto la velocidad de disolución de los sulfuros (Edwards *et al.*, 2000).

La caracterización mineralógica ha venido siendo utilizada desde hace varias décadas como herramienta para el entendimiento de diversos procesos, tanto naturales como artificiales, donde se dan cambios de fase (Buckley & Woods 1987; Buckley *et al.*, 1988; Ahonen & Tuovinen 1993; Breed *et al.*, 1997; Becker *et al.*, 2001; Borda *et al.*, 2003; Abraitis *et al.*, 2004) además, día a día ésta presenta mayores alcances debido al creciente desarrollo, tanto a nivel de nuevos y mejores equipos, como de software más completos y amigables. Las múltiples técnicas que pueden ser utilizadas brindan gran cantidad de información que, adecuadamente interpretada, convierten la caracterización mineralógica en una herramienta muy eficaz para el entendimiento de los procesos y sus transformaciones, no sólo de minerales, sino de materiales en general.

En el campo de las transformaciones de minerales, que se dan en los procesos que contemplan la acción de microorganismos, la identificación de los productos de oxidación es comúnmente complicada, debido a que las fases formadas normalmente presentan baja cristalinidad, niveles complejos y variados de solución sólida, además de partículas muy finas (Murphy & Strongin 2009); sin embargo, existe una amplia variedad de técnicas mediante las cuales se hace posible monitorear, desde diversos ámbitos y niveles, los tipos de transformaciones.

---

Para el sector minero es importante, tanto desde el punto de vista económico como ambiental, el conocimiento de los mecanismos que gobiernan la biooxidación de sulfuros y las velocidades de disolución de éstos, ya que se podría mejorar en gran parte el diseño y operación de plantas de biolixiviación (Rawlings, 2002).

De otro lado, aunque las investigaciones y publicaciones a nivel internacional en el área de la biolixiviación y biooxidación han venido incrementándose en los últimos tiempos (una amplia revisión ha sido realizada por Olson *et al.*, 2003 y Rawlings, 2005), en Colombia desafortunadamente existen pocos trabajos publicados en esta área (Pérez & Velásquez, 1998; Duque & Noguera, 2001; Muñoz, 2002; Ossa, 2004; Ossa *et al.*, 2005; Cardona & Márquez 2009) y más aún en el área de caracterización de la mineralogía de procesos que contribuyan a un entendimiento de los mecanismos de biooxidación (Zapata *et al.*, 2005; Márquez *et al.*, 2006; Cardona & Márquez, 2009), lo que ha contribuido a que en nuestro país la implementación a escala comercial de éstos procesos presente dificultades concernientes al entendimiento de nuestros propios recursos minerales y de nuestra microbiota, generando un impedimento adicional al investigador para proponer nuevos esquemas de trabajo.

Así, esta tesis pretende continuar profundizando en la línea de investigación en mineralogía de procesos y bio-mineralogía, especialmente relacionada con biooxidación de pirita y arsenopirita. Por medio de la caracterización de los productos que resultan del proceso de biooxidación se espera generar información que de luces sobre el mecanismo de oxidación de pirita y arsenopirita en diferentes etapas, así como identificar los parámetros que controlan la precipitación de nuevas fases y cómo afectan el proceso de disolución.

---

## 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### HIPÓTESIS

Mediante la utilización, combinada, de técnicas analíticas tales como microscopía óptica de luz plana polarizada, modo luz reflejada (MOLPP/LR), difracción de rayos-X (DRX), microscopía electrónica de barrido con analizador de estado sólido tipo EDX (SEM/EDX), espectroscopía Mössbauer, espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) y microscopía de barrido por sonda (SPM) en su modo de fuerza atómica (AFM) y su interpretación a la luz de la mineralogía, se puede definir los mecanismos globales de biooxidación, en el tiempo, de la pirita y la arsenopirita, sulfuros asociados a la minería del oro en Colombia, con el fin de dar soporte para el entendimiento de la transformación de éstos en procesos naturales o industriales, con impactos importantes en el ámbito ambiental y económico a nivel local y mundial.

### OBJETIVOS OBJETIVO GENERAL.

Identificar el mecanismo global de biooxidación de la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y la arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), sulfuros asociados a la minería del oro.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Evaluar la competencia de microorganismos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* para la biooxidación de la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y la arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ).

Identificar las transformaciones morfológicas que, a nivel micro y nanométrico, se dan en la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y la arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), debido a la acción de los microorganismos.

Identificar las transformaciones de fase, producto del proceso de biooxidación de la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y la arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ).

### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

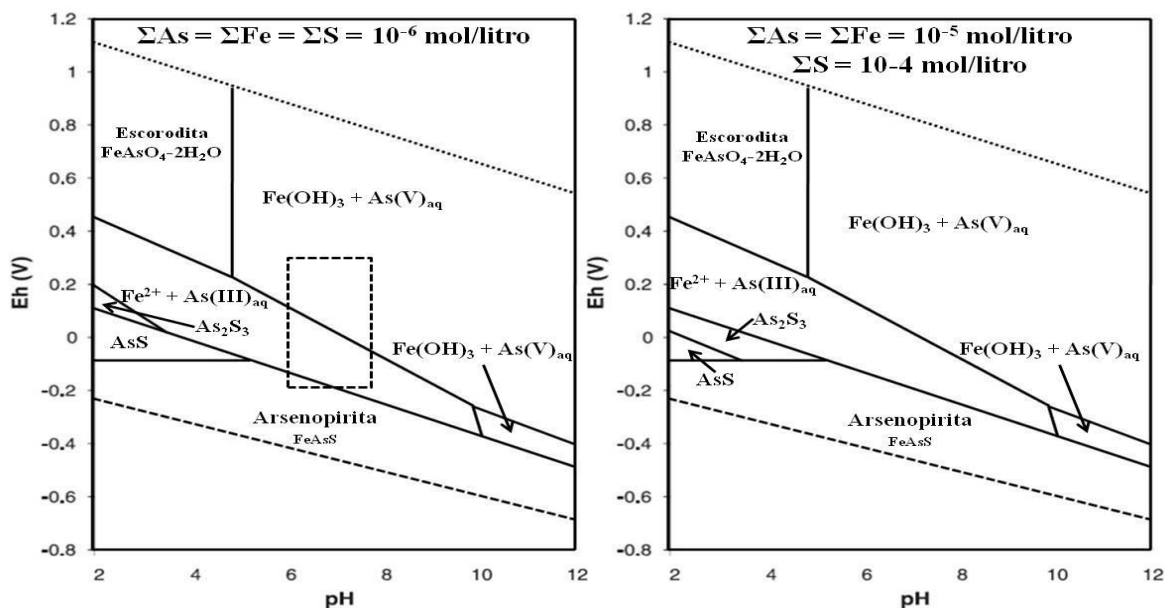
#### 3.1. Arsenopirita (FeAsS)

La arsenopirita es la fuente mineral de arsénico más común en la superficie terrestre. Se puede encontrar en una variedad de sistemas tales como depósitos magmáticos, hidrotermales y pórfidos, entre otros. Es por esto que la arsenopirita es comúnmente asociada a la aparición de oro, generando su amplia explotación y posterior descarga como desechos sólidos en los procesos mineros (Corkhill & Vaughan, 2009).

Es un mineral estable bajo condiciones reductoras, pero es oxidado durante condiciones de intemperismo, liberando durante este proceso  $H_2SO_4$ ,  $H_3AsO_3$  y  $H_3AsO_4$  (Nesbitt *et al.*, 1995).

Las figuras 1 y 2 son diagramas de Pourbaix donde se muestran los campos de estabilidad de los sistemas Fe-As-S-O, Fe-S-H<sub>2</sub>O y Fe-As-S-H<sub>2</sub>O.

Es por esto que el estudio y comprensión de la salida de arsénico, debido a la oxidación de la arsenopirita, es de gran importancia para entender los impactos generados por la explotación minera a la salud humana y al medio ambiente (Craw *et al.*, 2003; Yunmei *et al.*, 2004; Walker *et al.*, 2006; Ehrlich & Newman, 2009).



**Figura 1.** Diagramas de Pourbaix, 25°C, 1 atm, para el sistema Fe-As-S-O, para dos concentraciones diferentes, donde se muestra los campos de estabilidad de la arsenopirita. El área encerrada por el rectángulo punteado indica condiciones típicas cercanas a la superficie del mineral (Modificado de Craw *et al.*, 2003).

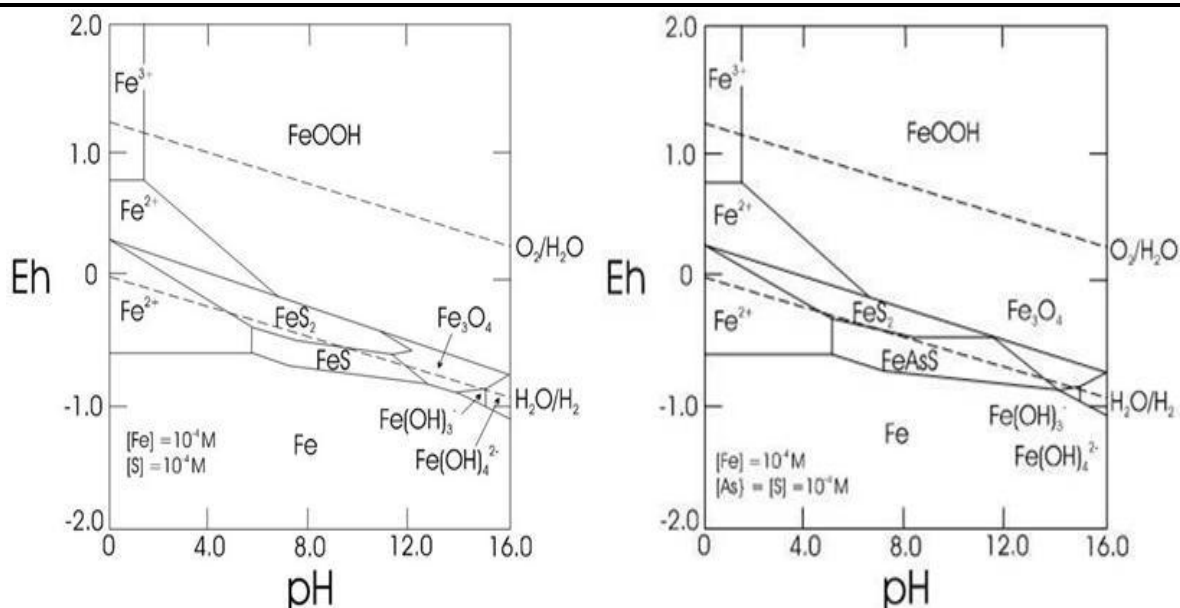


Figura 2. Diagramas de Pourbaix, 25°C, 1 atm, para los sistemas Fe-S-H<sub>2</sub>O y Fe-As-S-H<sub>2</sub>O (Modificado de Marsden & House, 1992).

### 3.1.1. Oxidación superficial

Diversas técnicas espectroscópicas han sido ampliamente usadas para interpretar los resultados de la oxidación de la arsenopirita. De éstos estudios espectroscópicos se han obtenido interpretaciones diferentes de las regiones espectrales Fe2p<sub>(3/2)</sub>, S2p y As3d y una gran variedad de productos de oxidación y sus estados químicos han sido reportados. McIntyre & Zetaruk (1977) emplearon un método conocido como “estados superficiales múltiples” para ajustar las regiones Fe2p<sub>(3/2)</sub> en óxidos de hierro, usando un *set* de bandas con intensidad y separación determinados. Esta aproximación la utilizaron para ajustar cuatro picos, referentes al Fe(III), muy próximos entre sí, los cuales estaban separados por 1 eV.

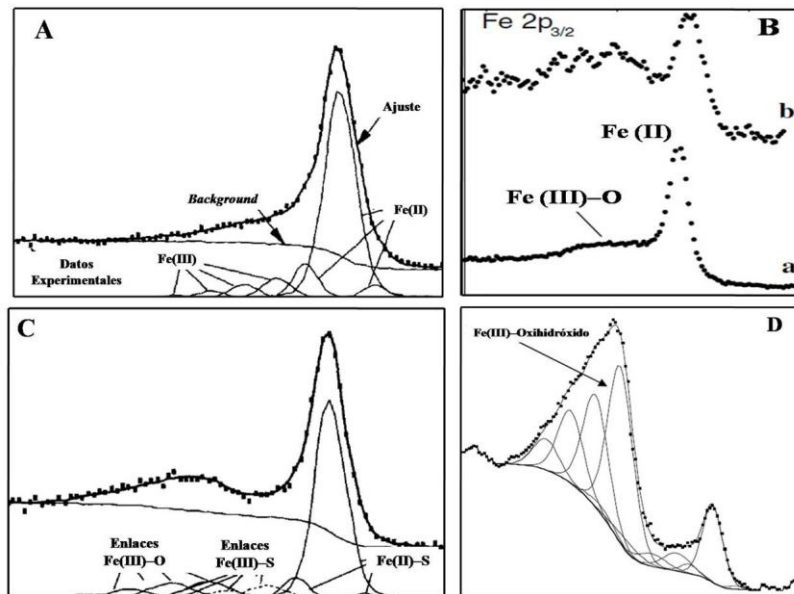
Cuando se aplicó esta teoría a sulfuros de hierro, Pratt *et al.*, (1994) trabajando con pirrotitas (Fe<sub>1-x</sub>S) determina la posición espectral para el Fe(II) en aproximadamente 707.5 eV.

Estos procedimientos de ajuste espectral fueron acuciosamente aplicados por Nesbitt *et al.*, (1995) y por Harmer & Nesbitt (2004) quienes en sus investigaciones sobre arsenopirita, empleando la teoría de “estados superficiales múltiples” obtenidos mediante el uso de XPS (*X-ray photoelectron spectroscopy*) y SRXPS (*Synchrotron radiation X-ray excited photoelectron spectroscopy*) observaron que la superficie de la arsenopirita está compuesta por Fe(II) y Fe(III). Ellos sugirieron que la alta asimetría en el Fe2p<sub>(3/2)</sub> se producía debido al cambio de coordinación del Fe(II) en el volumen del mineral. Como resultado de esto, una disminución en la energía de estabilización del campo cristalino ocurre cuando los electrones de la superficie de los átomos de hierro son transferidos a los orbitales Fe-eg produciendo pares de valencias electrónicas no apareadas, las cuales cuando interactúan con los fotoelectrones producen un riso dando lugar a un estado superficial múltiple, con separaciones de 1 eV y una intensidad que disminuye progresivamente con la disminución en la energía del enlace, lo que está de acuerdo con McIntyre & Zetaruk (1977), quienes se basaron en los trabajos de Gupta & Sen (1974, 1975).

Otra contribución al respecto es la presencia de Fe(III) en la superficie del mineral, posiblemente como resultado de las reacciones redox superficiales, las cuales ocurren cuando S<sup>-1</sup> proveniente de los enlaces rotos As-S reacciona con Fe(II) proveniente de los enlaces rotos Fe-S, creando el ion S<sup>-2</sup>, más estable y Fe(III) en la superficie, siendo la superficie del mineral estabilizada por ésta reacción (Corkhill & Vaughan, 2009).

Los ajustes espectrales empleando la teoría de estados superficiales múltiples es una de las formas comúnmente empleadas para interpretar los datos de  $\text{Fe}2p_{(3/2)}$  provenientes de la oxidación de sulfuros metálicos y, en comparación con otros métodos, proporciona más detalles sobre los estados superficiales del  $\text{Fe(II)}$  y  $\text{Fe(III)}$  (Costa *et al.*, 2002; Mikhlin *et al.*, 2006). Es por esto que el uso de diferentes métodos en la interpretación espectral de los estados de oxidación de los diferentes componentes durante la oxidación de la arsenopirita, ha resultado en discrepancias sobre los mecanismos de oxidación del mineral.

El primer y más elaborado estudio sobre la oxidación superficial de la arsenopirita fue desarrollado por Nesbitt *et al.*, (1995). Para ello se empleó una superficie del mineral completamente libre de oxidación, producida por clivaje bajo condiciones controladas de presión. *In situ*, el clivaje de la arsenopirita y posterior análisis espectral mediante XPS revelaron una superficie no afectada por el  $\text{O}_2$ , con señales provenientes del  $\text{Fe}$ ,  $\text{As}$  y  $\text{S}$ , figura 3.



**Figura 3.** Espectros de XPS para la región  $\text{Fe}2p_{(3/2)}$  en la arsenopirita: (A) clivada a  $10^{-9}$  torr (modificado de Nesbitt *et al.*, 1995); (B) clivada a  $10^{-8}$  Pa (espectro a) y clivada en aire (espectro b) (modificado de Mikhlin *et al.*, 2006); (C) luego de una exposición durante 25 horas en aire (modificado de Nesbitt *et al.*, 1995); y (D) luego de expuesta por cuatro semanas en medios de cultivo bacterial, a pH 2 y en ausencia de microorganismos (modificado de Corkhill *et al.*, 2008).

Los resultados sugieren la presencia de  $\text{Fe(II)-(As-S)}$  que comprende el 74% atómico de  $\text{Fe}$  sobre la superficie del mineral y la presencia de  $\text{Fe(III)-(As-S)}$ , para un aporte de  $\text{Fe(III)}$  a la superficie del mineral de 16% atómico. Los análisis para la región espectral  $\text{S}2p$  sugieren la presencia del ion disulfuro ( $\text{S}_2^{2-}$ ) en 78% atómico, monosulfuro ( $\text{S}^{2-}$ ) en 15% atómico y polisulfuros ( $\text{S}_n^{2-}$ ) en 7% atómico, mientras que para la región espectral  $\text{As}3d$  los resultados sugieren la presencia de  $\text{As(I)}$  en 85% atómico y  $\text{As(0)}$  en 15% atómico.

Corkhill *et al.*, (2008), en sus estudios sobre la oxidación de arsenopirita con *Leptospirillum ferrooxidans* compara una superficie clivada en una atmósfera rica en  $\text{N}_2$  con una superficie oxidada con bacterias. Ellos encontraron que sus espectros se ajustaban con las mismas especies químicas que encontró Nesbitt *et al.*, (1995) y, además, encontraron tiosulfato ( $\text{SO}_3$ )<sup>-2</sup> y especies de arsénico  $\text{As(I)}$  y  $\text{As(III)}$ .

Schaufuss *et al.* (2000), utilizando radiación sincrotrón pudo describir los resultados de la oxidación de la arsenopirita discriminando los datos como superficiales o volumétricos. Encontraron que la señal volumétrica proveniente de la región espectral  $\text{S}2p$  hacía referencia a la densidad electrónica del compuesto  $\text{As-S}_2$ , desplazada hacia el átomo de azufre y que el enlace existente entre el arsénico y el



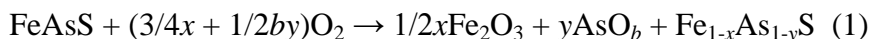
azufre, en la arsenopirita, es polar. Ésta misma región espectral les presentó una dificultad en su interpretación debió, probablemente, a la presencia de dos diferentes sitios superficiales del azufre, uno causado por la ruptura del enlace Fe–S y otro debido a la ruptura del enlace As–S. Ellos postularon que el azufre es más electronegativo que el hierro y que el arsénico, lo que conlleva a que cuando hay rompimiento de enlaces entre Fe–A y As–S éste es asimétrico, así cuando se rompen enlaces Fe–S los átomos de azufre se coordinan con dos átomos de hierro y un átomo de arsénico, y cuando el rompimiento es de los enlaces As–S los átomos de azufre son coordinados por tres átomos de hierro.

Hacquard *et al.*, (1999) y Mikhlin *et al.*, (2006) empleando un procedimiento simplificado para ajustar la región espectral Fe2p<sub>(3/2)</sub> describieron la superficie de una arsenopirita, sin alteración superficial y una oxidada en celda electroquímica. Hacquard *et al.*, (1999) después de bombardear la superficie del mineral, con iones Ar<sup>+</sup>, obtuvo una superficie limpia constituida, principalmente, por Fe(II) y Fe(III), algunas especies de arsénico que no definieron y especies del tipo S<sub>2</sub><sup>2-</sup>. En el trabajo de Mikhlin *et al.*, (2006) se encontró la presencia de óxidos de Fe(II) y Fe(III), algunas especies de arsénico tales como As(0), As(I), As(III) y As(V), también algunas especies de arsénico no identificadas a 41.5 eV y compuestos de azufre incluyendo As–S<sup>2-</sup>.

El primer trabajo sobre la oxidación de la arsenopirita empleando XANES (*X-ray absorption near-edge structure spectroscopy*) y EXAFS (*Extended X-ray absorption fine structure*) fue desarrollado por Mosselmans *et al.*, (1995). Los análisis espectrales se enfocaron en el FeK, SK, FeL y AsL, y establecieron para la relación Fe L<sub>3</sub>/L<sub>2</sub>, Fe(II) de alto spin. Resultados que coinciden con lo reportado con Mikhlin & Tomashevich (2005) quienes empleando XANES estudiaron la estructura electrónica de la arsenopirita por comparación de espectros de alta resolución de los niveles SL y FeL.

### 3.1.2. Oxidación superficial por Aire y N<sub>2</sub>

Los trabajos desarrollados por Buckley & Walker (1988) sobre superficies de arsenopiritas oxidadas en aire, clivadas bajo condiciones controladas de presión, en atmósferas de N<sub>2</sub>, sugieren un mecanismo de reacción para la oxidación del mineral, ecuación 1, donde las velocidades de oxidación para las fracciones molares de Fe, As y S son iguales. En la expresión y>x; b≤1,5.



Los productos de éste proceso de oxidación incluyen: As(I), As(II) y As(III) enlazados al oxígeno, Fe(II) en solución sólida con sulfoarseniuros, Fe(III) enlazados con oxígenos y disulfuros. En éste trabajo no se observó la presencia de productos de la oxidación del compuesto S–O.

Richardson & Vaughan (1989) sugirieron que la oxidación de la arsenopirita, expuesta en aire, a 150°C, produce las siguientes especies químicas: As(III), S, Fe(III) y Fe(II). Ellos sugirieron, debido a las altas concentraciones de Fe(II) en comparación con Fe(III), la presencia de wustita (Fe<sub>1-x</sub>O) y magnetita (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

Nesbitt *et al.*, (1995) caracterizaron la superficie de una arsenopirita luego de oxidada durante 25 horas en aire. Las especies químicas observadas incluyen la presencia de O<sub>2</sub>, grupos hidroxilos y agua superficial. Se identificaron oxihidróxidos de hierro con energías similares a las de la goetita (FeOOH), también especies químicas como As(I), As(III) y As(V).

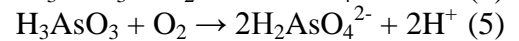
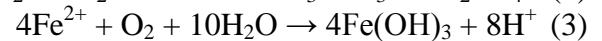
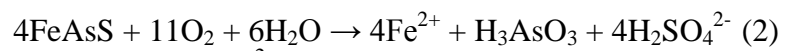
Schaufuss *et al.* (2000), identificaron principalmente Fe(II) y pequeñas cantidades de Fe(III), en las muestras de arsenopirita oxidada en presencia de O<sub>2</sub> bajo condiciones controladas de presión, en forma de oxihidróxidos de hierro y algunos compuestos químicos como Fe–As.

### 3.1.3. Oxidación superficial por oxígeno disuelto

Walker *et al.*, (2006) observaron la oxidación de la arsenopirita bajo diferentes condiciones de oxígeno disuelto y a pH neutros. Las velocidades de disolución del mineral fueron determinadas a partir de

medidas, en estado estacionario, de la salida de As, S y Fe. Ellos encontraron que a altas concentraciones de oxígeno disuelto la concentración en solución de As(V) se incrementaba. Sorprendentemente, los autores sugieren que la oxidación de la arsenopirita no depende de la concentración de oxígeno disuelto. Ellos explican esto en términos de un modelo de oxidación en tres pasos consecutivos (Williamson & Rimstidt, 1994; Rimstidt & Vaughan, 2003) y de los cuales cualquiera podría ser el paso limitante. El primero paso es la donación de electrones desde el sitio catódico hacia el agente oxidante. Luego de esto se da la transferencia electrónica desde el sitio anódico. Esto es controlado por la resistividad del mineral. Luego la adhesión del oxígeno disuelto, proveniente del agua, a las especies de arsénico y hierro.

De éstos pasos Walker *et al.*, (2006) sugiere que el primer paso no es probable ya que la oxidación es independiente de la concentración del oxígeno disuelto, el segundo es poco probable ya que la resistividad de la arsenopirita es similar a la de la pirita y éste paso no es el limitante para ese mineral. Por lo tanto es el tercer paso el determinante en el proceso de oxidación de la arsenopirita. Los autores también proponen una serie de reacciones para la oxidación de la arsenopirita a pH cercano a 7.



A través de ésta serie de reacciones, Walker *et al.*, (2006) sugieren que la oxidación del hierro y del arsénico no es completa y da una velocidad constante de  $10^{-10}$  (mol)(m<sup>-2</sup>)(s<sup>-1</sup>) en un intervalo de pH de 6,3–6,7. Esto es significativamente más lento que lo propuesto por McKibben *et al.*, (2008) quienes en su estudio sobre el efecto del oxígeno disuelto sobre la velocidad de disolución de la arsenopirita obtienen una velocidad de  $10^{-6}$  (mol)(m<sup>-2</sup>)(s<sup>-1</sup>) en un intervalo de pH de 2–4,5.

Yunmei *et al.*, (2007) investigó el mecanismo y la velocidad de disolución de la arsenopirita por el oxígeno disuelto en un amplio rango de pH, temperatura y oxígeno disuelto. La velocidad de oxidación fue medida usando la velocidad de conversión de As(III) a As(V). La velocidad de salida de arsénico se incrementa con el incremento de la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura y fue similar a pH inferiores a 7 y superiores a 10. También observaron que la velocidad de oxidación pasa por un mínimo en valores de pH cercanos a 7,5. Esto se puede explicar como un cambio en la concentración de las principales especies oxidantes.

### 3.1.4. Oxidación superficial en ambientes ácidos

Buckley & Walter (1988) analizaron la superficie de la arsenopirita después de varias horas de reaccionar en ácido acético a un pH de 2,9. Los resultados mostraron que, bajo éstas condiciones, la superficie de la arsenopirita es empobrecida en hierro y arsénico generando una reconfiguración estructural manifestada en la formación de una pirrotita. Luego de un calentamiento, la superficie del mineral se enriqueció en azufre. Mikhlín *et al.*, (2006) también observó en la superficie del mineral una disminución en la concentración de hierro y arsénico después de someter a un tratamiento ácido a la arsenopirita.

Costa *et al.*, (2002) observaron que cuando la arsenopirita reaccionaba en medios ácidos, en la composición química superficial predominaba la presencia de As(III) y As(V), en la forma de arsenatos y arsenitos férricos, también azufre elemental. Richardson & Vaughan (1989) encontraron que la superficie del mineral estaba enriquecida hierro y arsénico después de la reaccionar con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nesbitt & Muir (1998) trabajando con drenajes ácidos de minería sobre la superficie de la arsenopirita no observaron la presencia de azufre. Corkhill *et al.*, (2008) reportó la presencia de Fe(III)–OH, en 69% atómico en relación al hierro, As(III)–O y As(V)–O, que combinados están en 78% atómico en relación

---

al arsénico, también encontraron tiosulfatos y sulfatos, en 68,6% atómico, para una arsenopirita que se oxida en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Igual resultado arrojó la oxidación del mineral en agua (Nesbitt & Muir 1998) lo que está en desacuerdo con varios autores (Buckley & Walker, 1988; Costa *et al.*, 2002; Mikhlin *et al.*, 2006). Corkhill *et al.* (2008) sugirió que el arsénico es un elemento que oxida rápidamente bajo condiciones ácidas y que el hierro y el azufre oxidan a la misma velocidad. Los resultados de éste estudio mostraron que luego de 32 días de reacción bajo condiciones ácidas se liberaron al medio 1340 ppm de hierro y 886 ppm de arsénico.

Mikhlin & Tomashevich (2005) confirmaron la presencia de películas delgadas ricas en arsénico, azufre y hierro crecidas sobre la superficie de la arsenopirita. Ellos encontraron que el hierro conservaba en gran medida una configuración de bajo *spin* ( $t_{2g}$ )<sup>6</sup> y el contenido de Fe<sup>2+</sup> de alto *spin* se incrementaba. El alto *spin* del Fe<sup>2+</sup> se atribuyó a la formación, aumento en el grosor de la película, de las capas de arsenito y arsenato férrico.

### 3.1.5. Oxidación superficial en ambientes alcalinos

Buckley & Walker (1988) investigaron la oxidación de la arsenopirita en soluciones alcalinas, pH aproximados a 11 con NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, usando XPS. Los resultados no evidenciaron la presencia de sulfatos en la superficie del mineral. Se observó una proporción significativa de O<sub>2</sub> en la forma de óxidos y no como hidróxidos, también se observaron la presencia de As(III). La concentración de las especies de hierro y de arsénico fue más alta en soluciones oxidantes alcalinas comparadas con la oxidación en aire. Estos datos están de acuerdo con los resultados de Richardson & Vaughan (1989) quienes observaron que la arsenopirita, oxidada en una solución de NH<sub>4</sub>OH 10M, oxidaba más rápido que el mismo mineral expuesto al aire. As(III), Fe(III), Fe(II) y S fueron los productos de oxidación bajo estas condiciones de trabajo. La velocidad de oxidación del mineral también se vio favorecida en condiciones ácidas, en medios con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3M, bajo estas condiciones se cuantificó 21% atómico de As(III) comparado con 0% bajo condiciones alcalinas.

Hacquard *et al.*, (1999) trabajando sobre la adsorción de Ni(II) sobre la superficie de la arsenopirita demostró que la superficie del mineral era fuertemente oxidada, debido a la catálisis del Ni(II), y que casi todo el Fe(II) fue oxidado, el As(-I) paso a As(V). El azufre fue descrito para varios estados de oxidación entre los que se encontraron disulfuros, polisulfuros y sulfatos. También encontraron la presencia de una película, producto del proceso oxidativo, compuesta principalmente de arsenato y arsenito férrico, sulfato férrico y agua molecular y un grosor de aproximadamente 2,5nm.

### 3.1.6. Oxidación superficial en ambientes bióticos

Por otra parte, grandes esfuerzos en la caracterización de la flora microbiana de efluentes ácidos de minería dieron sus resultados cuando finalmente se logró aislar un grupo de microorganismos semejantes, pero no idénticos, a los ya conocidos como *Thiobacillus thiooxidans* (Colmer & Hinkle 1947; Temple & Colmer 1951), este nuevo grupo de microorganismos tenía la capacidad de aumentar la velocidad de oxidación de las inclusiones de pirita en el carbón y entre 1950 y 1951 Colmer, Temple y colaboradores de la Universidad de *West Virginia* aislaron a partir de drenajes ácidos de una mina de carbón, en las cercanías de la ciudad de Pittsburgh, bacterias quimiolitotróficas, que son microorganismos con la habilidad de derivar energía, necesaria para la producción de ATP, de la catálisis oxidativa de compuestos inorgánicos además de fijar el carbono necesario para su metabolismo a partir del CO<sub>2</sub> atmosférico, las cuales fueron consideradas como los principales microorganismos responsables de la oxidación del ion Fe<sup>2+</sup>, para lo cual ellos propusieron el nombre de *Thiobacillus ferrooxidans sp.* (Colmer & Hinkle, 1947; Temple & Colmer 1951).

La particular habilidad de *Thiobacillus ferrooxidans*, microorganismos reclasificados en el 2000 como *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Kelly & Wood, 2000), para oxidar tanto compuestos reducidos de azufre, S<sup>-2</sup>, así como el ion Fe<sup>2+</sup>, condujeron investigaciones hacia la posibilidad de oxidar, para luego

---

solubilizar metales de interés, sulfuros metálicos tales como calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), covelita ( $\text{CuS}$ ), bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) y algunos otros minerales (Rossi, 1990). Bryner *et al.*, (1954) y Bryner & Anderson (1957), en trabajos pioneros sobre la biolixiviación de sulfuros metálicos, marcaron el inicio de una intensa actividad investigativa en el tema, para finalmente producir en 1961 una lista con 19 sulfuros metálicos, para la que investigadores de diferentes partes del mundo aseguraban que sus velocidades de oxidación se veían aceleradas ante la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Bryner *et al.*, 1954; Bryner & Anderson, 1957; Silverman *et al.*, 1961).

Jones *et al.*, (2003) investigó los cambios físicos y químicos en la superficie de la arsenopirita ante la presencia de *Thiobacillus ferrooxidans* microorganismos comúnmente encontrados en drenajes ácidos de minería. Los perfiles composicionales tomados mediante XPS a los controles abióticos, revelaron una superficie altamente enriquecida en azufre y empobrecida en arsénico y hierro. Por debajo de ésta capa superficial, aproximadamente 1,3 a 1,7 nm, la estequiometría coincide con la arsenopirita. Para las muestras que se oxidaron ante la presencia de bacterias, el deterioro superficial se extendía 2 o 3 órdenes de magnitud en relación a los controles abióticos.

Corkhill *et al.*, (2008) investigó el proceso de disolución oxidativa de la arsenopirita ante la presencia de *Leptospirillum ferrooxidans*. Sus resultados mostraron que luego de cuatro semanas de oxidación la superficie del mineral mostró una completa disolución con 89% atómico de especies S-O, 95% atómico de especies As-O, 64% atómico de especies Fe-O y adicionalmente se observó 14% atómico de especies Fe(III)- $\text{SO}_4^{2-}$ . Estos resultados confirman que la arsenopirita oxida más rápidamente y a una mayor profundidad en la presencia de bacterias.

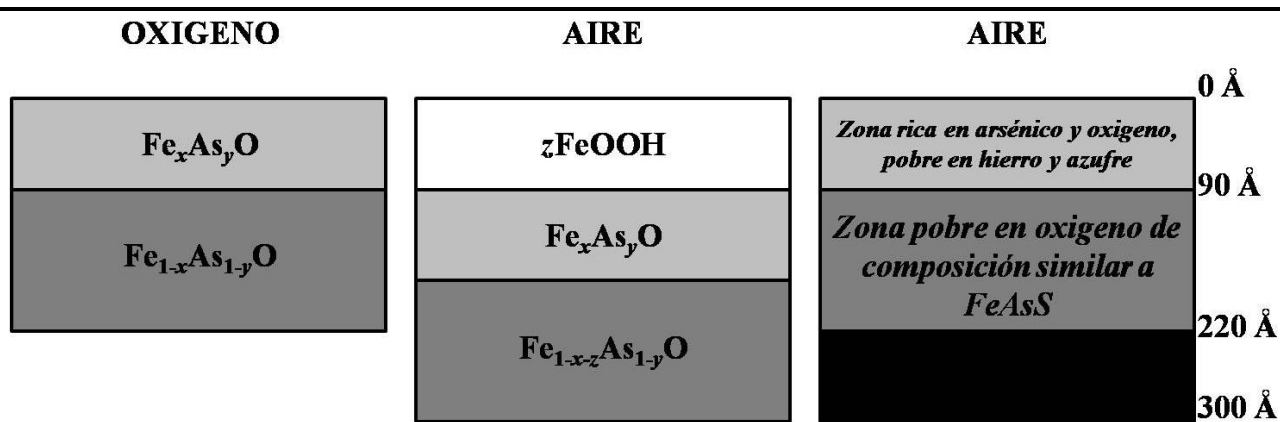
### 3.1.7. Cinética de disolución del arsénico

El mecanismo de oxidación del arsénico ha sido de mucho interés. Nesbitt *et al.*, (1995) observó que, en aire, la oxidación del arsénico, en la arsenopirita, en sus formas reducidas As(-I) y As(0) procede vía varios intermediarios dentro de los que se incluye As(I), As(III) y As(V).

Richardson & Vaughan (1989) observaron que la oxidación superficial producida en la arsenopirita debido al contacto con el aire producía menor cantidad de óxidos de arsénico en comparación con la arsenopirita que reaccionaba en agua. Nesbitt *et al.*, (1995) encontró en sus experimentos las mismas especies químicas, pero las proporciones eran mayores para los óxidos en presencia de agua y también encontró sulfatos. Los autores sugieren que esto es debido, probablemente, a la lixiviación de oxianiones de arsénico desde la superficie del mineral hacia el seno de la solución, dejando con ello una superficie enriquecida en  $\text{SO}_4^{2-}$ . Datos similares de la región espectral O1S para una arsenopirita oxidada en aire y agua se obtuvieron en el trabajo de Nesbitt *et al.*, (1995) sugiriendo que, aunque la oxidación de la arsenopirita en agua es más rápida que en aire, los mecanismos de oxidación para éste mineral son los mismos.

### 3.1.8. Cinética de disolución de la arsenopirita

Algunos autores han discutido sobre las cinéticas de disolución de la arsenopirita, Buckley & Walker (1988) sugirieron que todos los componentes eran oxidados a la misma velocidad. Nesbitt *et al.*, (1995) reportó que para cada uno de los componentes de la arsenopirita hay una cinética de disolución diferente, así, As(I) oxida más rápido que Fe(II) y éste a su vez oxida más rápido que  $\text{S}^{2-}$ . Nesbitt & Muir (1998) describieron, como, después de 14 días de oxidación la mitad del hierro y el arsénico se habían transformado a óxidos y menos del 20% atómico del azufre había sido oxidado a tiosulfato o sulfato, indicando que el hierro y el arsénico oxidan más rápido que el azufre. Costa *et al.*, (2002) también reportaron diferentes velocidades de oxidación para el Fe(II) y el As(I) bajo condiciones de oxidación en aire.



**Figura 4.** Diagramas esquemáticos para las películas formadas durante la oxidación de la arsenopirita. De izquierda a derecha: izquierda, oxidación por  $O_2$  (Modificado de Schaufuss *et al.*, 2000). Centro, oxidación en aire (modificado de Schaufuss *et al.*, 2000) y derecha, oxidación por exposición en aire durante 25 días, medidas hechas perfiles AES (modificado de Nesbitt *et al.*, 1995).

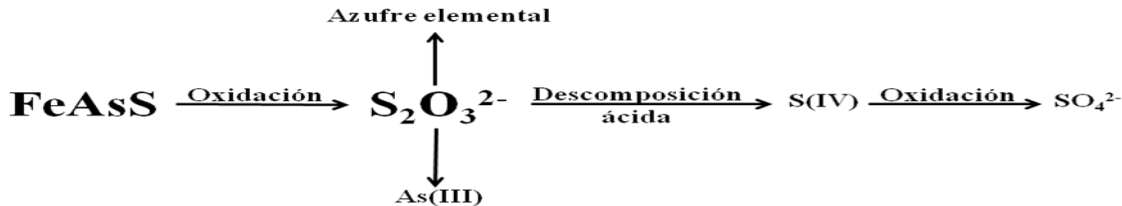
Las diferencias en las velocidades de oxidación observadas se han atribuido a los elementos en solución sólida del mineral y a la formación de películas que recubren el mineral y disminuyen los procesos de transferencia de masa. Nesbitt *et al.*, (1995) fue el primero en identificar, químicamente, una película desarrollada sobre la superficie del mineral empleando AES (*Auger electron spectroscopy*) y XPS. La composición de la capa coincide con la de un óxido de hierro rico en arsénico, figura 4. Nesbitt & Muir (1998) sugirieron que la película estaba compuesta por un sulfato de hierro férrico, un arsenato de hierro férrico y una goetita. Al medir ésta película, los resultados arrojaron un grosor inferior a los 90Å. Schaufuss *et al.* (2000), también observaron la presencia de una película compuesta por  $Fe_xAs_yO$  cuando trabajaron bajo atmósfera ricas en  $O_2$ , bajo atmósferas ricas en aire se presentaba la misma composición pero aparecía una película, encima de la anterior, de  $FeOOH$ . El modelo propuesto se presenta en la figura 4. Empleando un argumento similar al de Nesbitt *et al.*, (1995), Schaufuss *et al.* (2000) propuso un mecanismo para la formación de la película en la cual los procesos difusivos de arsénico y hierro continúan, a pesar de la formación de la capa, debido a un gradiente de concentración. Buckley & Walker (1988) reportan que la velocidad de oxidación del mineral disminuye luego de la formación de éstas películas.

### 3.1.9. Oxidación electroquímica superficial de la arsenopirita

El pre-tratamiento oxidante de arsenopiritas auríferas, previo a una lixiviación química para la obtención de oro, es una práctica fundamental en la industria minera. Y la oxidación electro-química es un tratamiento que ha arrojado buenos resultados. Varios autores han estudiado la oxidación de la arsenopirita, en diferentes electrolitos, usando voltametría cíclica y el mineral como electrodo de trabajo.

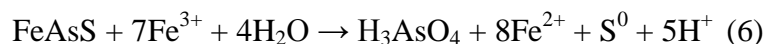
Kostina & Chernyak (1976) comparó la oxidación electro-química de la arsenopirita en electrolitos alcalinos y ácidos y concluyeron que la reacción de oxidación es más pronunciada en soluciones alcalinas que en ácidas. Usando XPS Mikhlin *et al.*, (2006) notaron que la concentración de las especies oxidadas de arsénico y hierro incrementan después de un barrido de potencial positivo, y observaron que las especies  $As(III)-O$  fueron el mayor producto de oxidación. Fernández *et al.*, (1996a) notó que un incremento en la temperatura, entre 50 y 75 °C, un alto potencial de oxidación y un pH bajo, fueron las variables primarias que condujeron la reacción de oxidación electro-química. Fernández *et al.*, (1996b) indicaron que el mecanismo de reacción de la arsenopirita es estequiométrico en una relación de uno a uno con cada uno de los componentes de la arsenopirita. Existe un amplio consenso en que la oxidación electro-química resulta en la presencia de azufre elemental sobre la superficie del mineral. Sisenov *et al.*, (1988) observó una capa de azufre elemental, pasivante del proceso, sobre la superficie del mineral y Fernández *et al.*, (1996a,b) postularon la formación de ésta

capa como parte de un esquema de reacción donde el  $S_2O_3^{2-}$  es el precursor inicial para la formación de ésta película, según el siguiente esquema:



**Figura 5.** Diagrama para la formación de películas de azufre elemental durante el proceso de oxidación de la arsenopirita (modificado de Fernández *et al.*, (1996a,b)).

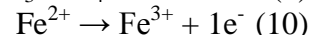
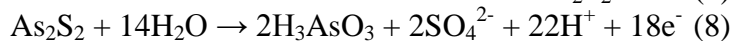
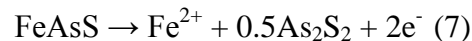
Aunque ésta capa de azufre elemental es sugerida por los autores, en el trabajo no hubo evidencia experimental directa para su presencia. Costa *et al.*, (2002) confirmó la presencia de azufre elemental empleando espectroscopía RAMAN sobre la superficie de una arsenopirita oxidada en ambientes ácidos, con HCl y NaCl, durante una hora a 800 mV. La superficie del mineral fue totalmente transformada a azufre elemental. Cruz *et al.*, (1997) sugirió que la película pasivante de azufre elemental formada durante su experimento, en medio ácido, es formada de acuerdo con la siguiente expresión:



Los resultados de éste estudio implican que la formación de películas de azufre elemental inhiben la oxidación del mineral, y para que el proceso de oxidación continúe ésta película debe ser disuelta. Fernández *et al.*, (1996a) también sugiere que la oxidación solo puede ocurrir cuando los iones logran difundir a través de la capa. Mikhlin *et al.*, (2006) observó que ésta capa se disuelve bajo la aplicación de altos potenciales que corresponden a una oxidación acelerada del mineral.

Algunos autores han observado la presencia de precipitados de arsénico y hierro sobre la superficie de la arsenopirita en los procesos de oxidación electro-química. Cruz *et al.*, (1997) empleando FTIR identificó arsenatos férricos hidratados sobre la superficie del mineral. Mientras que Fernández *et al.*, (1996b) observaron la formación de Fe(II), As(III) y As(V) y Almeida & Giannetti (2003) reportaron la formación especies de arsenatos a altos potenciales. Costa *et al.*, (2002) observó la presencia de óxidos de hierro y arsénico y sugirió que la oxidación electro-química de la superficie de la arsenopirita produce una rápida transformación en profundidad. Ellos observaron que la oxidación del hierro, arsénico y el azufre no ocurre a la misma velocidad lo que está de acuerdo con los estudios de Nesbitt *et al.*, (1995); Nesbitt & Muir (1998); Schaufuss *et al.*, (2000) y Corkhill *et al.*, (2008).

Cruz *et al.*, (1997) propuso que la oxidación electro-química de la arsenopirita ocurre vía dos mecanismos, el primero en el que la arsenopirita es rápidamente oxidada a rejalgá (As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>) y Fe(II) en medio ácido y el Fe(II) es oxidado a Fe(III), según las siguientes ecuaciones:



Almeida & Giannetti (2003) propusieron una secuencia de reacciones para la disolución de la arsenopirita. Los autores propusieron que los grupos OH<sup>-</sup> eran formados a través de la interacción de las moléculas de agua con los orbitales 3d del hierro. Y son éstos grupos hidroxilos los que generan la hidrolización y subsecuente oxidación de las especies As-S y la salida de Fe(II) a la solución. Sin

---

embargo, Fernández *et al.*, (1996a) dijo que la hidrolización del hierro solo es posible si el seno de la solución es lo suficientemente ácido y más ácido que la superficie del mineral.

La velocidad de oxidación electro-química de la arsenopirita varía con los diferentes electrolitos. Cuando la inmersión se hace en soluciones ricas en  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{FeCl}_3$  y  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , Mikhlin *et al.*, (2006) concluyo que las velocidades de oxidación incrementaban como  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 > \text{FeCl}_3 > \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  mientras que para la formación de productos superficiales la relación es  $\text{FeCl}_3 < \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 < \text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ . Estas diferencias son influenciadas por la presencia de diferentes aniones sobre las velocidades de salida del hierro y del arsénico.

Beattie & Poling (1987) estudio la oxidación electro-química de la arsenopirita en soluciones alcalinas incrementando el pH. Observaron que a pH de 7 se formaba una película de hidróxido férrico sobre la superficie del mineral y ésta se ve favorecida con el incremento de la temperatura. Esta capa de hidróxido férrico también fue observada por Wang *et al.*, (1992) y por Chang *et al.*, (1994).

Nicol & Guresin (2003) describieron la formación de ésta capa y la formación de especies como As(III), Fe(III) y  $\text{SO}_4^{2-}$ . Ellos observaron que las capa de  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  se formaban por la oxidación anódica del mineral y sugirieron que en soluciones alcalinas la oxidación de la arsenopirita es un proceso que involucra la transferencia de  $14e^-$ . Wang *et al.*, (1992) también sugiere que el arsenato producido durante el proceso se adsorbe entre las capas de  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  y pasiva la oxidación del mineral.

### **3.1.10. Oxidación electroquímica superficial de la arsenopirita por Fe(III)**

Una variedad de estudios se han desarrollado en entender las cinéticas de la disolución oxidativa de la arsenopirita, el centro de estas investigaciones ha sido el papel interpretado por el hierro férrico, por el oxígeno disuelto y por microorganismos.

Ruitenbergh *et al.*, (1999) investigó la cinética de la oxidación de la arsenopirita empleando cambios en el potencial redox de la solución lixivante para calcular las velocidades de oxidación del mineral a diferentes pH y concentraciones de hierro férrico. Encontraron que la velocidad de oxidación está determinada por la concentración de Fe(III) y  $\text{H}^+$  en relación al área superficial del mineral. El pH mostró tener un fuerte efecto sobre las cinéticas de disolución y que altas concentraciones de Fe(III) y  $\text{H}^+$  impiden la lixiviación del mineral. Yunmei *et al.*, (2007) midieron la velocidad de oxidación empleando la velocidad de transformación del As(III) a As(V). Determinaron que la velocidad de oxidación de la arsenopirita incrementa exponencialmente con el incremento de la concentración del Fe(III) y la temperatura. El orden de la reacción lo encontraron ser constante, de 0,41; para valores de temperatura entre 15 y 35°C y para los experimentos conducidos a 45°C el orden de la reacción fue mayor, 0,64; indicando posiblemente diferentes mecanismos de reacción para diferentes temperaturas. McKibben *et al.*, (2008) usando la concentración total de hierro disuelto proporciono evidencia que el Fe(III) y el oxígeno disuelto son los agentes inorgánicos dominantes en el proceso de disolución del mineral y que la oxidación del mineral por parte del Fe(III) es más rápida, lo que está de acuerdo con Breed *et al.*, (1997) quienes notaron que en ausencia de Fe(III) no había salida de As(III) a la solución.

### **3.1.11. Investigaciones sobre la oxidación geomicrobiológica de la arsenopirita**

Una variedad de microorganismos, metabólicamente activos, se han encontrado en los drenajes ácidos de minería, y un número de microorganismos acidófilos aislados de éstos ambientes han sido aptos para oxidar el hierro y el azufre de sulfuros metálicos. Dentro de éstos ambientes son las bacterias, que incluyen numerosos organismos quimiolitotróficos, los microorganismos dominantes.

Una de las actividades claves de los microorganismos acidófilos es la oxidación del hierro ferroso a hierro férrico. El par  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  tiene un potencial estándar ( $E_o$ ) de 770 mV a un pH de 2 (Hallberg & Johnson, 2001). Éste par redox presenta un intercambio eléctrico lo suficientemente grande que solo el oxígeno molecular puede servir como aceptor de electrones en los procesos que involucran microorganismos acidófilos (Corkhill & Vaughan, 2009).

Las velocidades de disolución oxidativa de algunos sulfuros metálicos como la arsenopirita se ven incrementadas por la actividad metabólica de microorganismos acidófilos generando durante el proceso grandes cantidades de ácido y la salida de arsénico al medioambiente.

Éstos microorganismos no solo promueven la generación de drenajes ácidos de minería, sino que también son usados comercialmente para mejorar la recuperación de oro de minerales refractarios como la arsenopirita (Rawlings & Johnson, 2007).

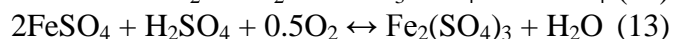
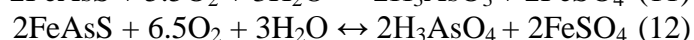
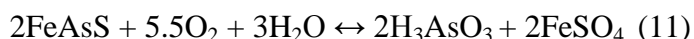
*Acidithiobacillus ferrooxidans* son los microorganismos acidófilos más estudiados. Ehrlich (1964) investigo la oxidación bacteriana de la arsenopirita a un pH de 3,5. Encontró que en la presencia de bacterias al seno de la solución ingresaba el doble de arsénico y el pH permanecía constante alrededor de 2,5.

*Acidithiobacillus ferrooxidans* fue considerado ser los más prevalecientes microorganismos en los ambientes de drenajes ácidos de minería, pero luego se demostró que *leptospirillum ferrooxidans* es el más prevaleciente (Schrenk *et al.*, 1998; Rawlings *et al.*, 1999; Druschel *et al.*, 2004; Harneit *et al.*, 2005; Corkhill *et al.*, 2008).

Otros microorganismos como *Pseudomonas arsenitooxidans* ha mostrado la habilidad para oxidar arsenopiritas (Ilyaletdinov & Abdrashitova, 1981) y *Sulfolobus sp.* (Ngubane & Baecker, 1990).

Consorcios de microorganismos han sido empleados para investigar la oxidación de la arsenopirita y han mostrado ser más eficientes comparados con cepas solas (Tuovinen *et al.*, 1994; Clark & Norris, 1996; McGuire *et al.*, 2001b).

Las principales reacciones de disolución de la arsenopirita debido a la catálisis oxidativa de microorganismos acidófilos se discutió en los trabajos de Collinet & Morin (1990) cuyo principal resultado es la producción de  $H_3AsO_3$  y  $H_3AsO_4$  son:



Mandl *et al.*, (1992) discutió la migración del arsénico durante la oxidación bacteriana de la arsenopirita y propuso el siguiente esquema de reacción:

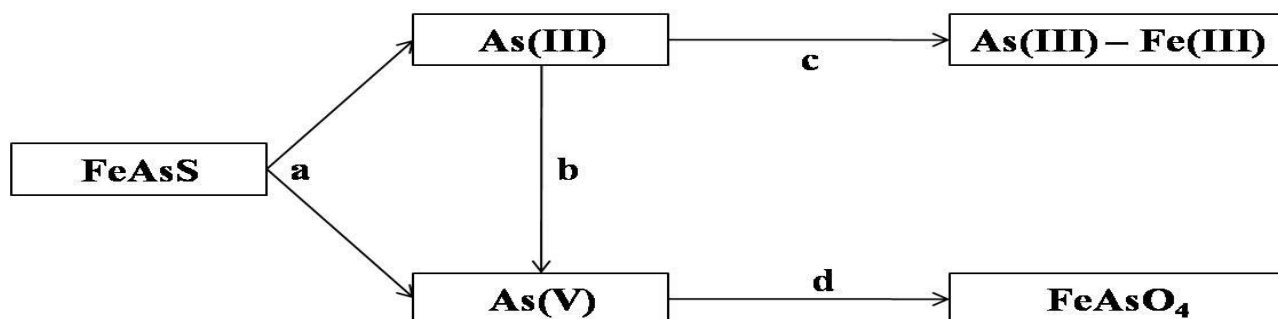


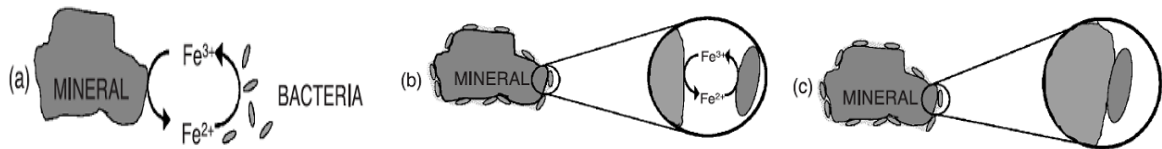
Figura 6. Diagrama para la oxidación de la arsenopirita (modificado de Mandl *et al.*, (1992)).

Donde (a) hace referencia a la lixiviación bacteriana, (b) hace referencia a la oxidación del arsénico por el Fe(III) en la presencia de bacterias, (c) hace referencia a la formación de precipitados de hierro y (d) hace referencia a la producción de arsenatos férricos.

Como uno de los desarrollos más notables en el estudio de los procesos de disolución de minerales, durante los últimos años, se encuentra los fundamentos bioquímicos de las reacciones de lixiviación, que en este contexto explican los mecanismos químicos detrás del comportamiento del azufre en estos procesos (Schippers & Sand 1999; Schippers *et al.*, 1996 y 1999).



Hoy por hoy, la comunidad científica internacional, en general, tienen consenso sobre que microorganismos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* no son capaces de oxidar directamente un mineral a través de la adherencia a la superficie de éste (Sand *et al.*, 1995; Jonson *et al.*, 2007), pero el acuerdo también es general referente a que éstos microorganismos son capaces de transformar los iones Fe(II) a Fe(III) y el rol de las bacterias es regenerar el ion Fe(III), nombrando esta ruta del proceso como mecanismo indirecto de oxidación y discriminándolo en dos submecanismos: de contacto indirecto y de no contacto, como se muestra en la figura 7 (Rawlings 2001; Sand *et al.*, 2001; Rawlings 2002; Foucher *et al.*, 2003; Vardanyan & Akopyan, 2003; Mignone & Donati, 2004; Rawlings, 2005).



**Figura 7.** Mecanismos de oxidación bacteriana propuestos por Silverman (1967). a) Mecanismo indirecto. b) Mecanismo de contacto indirecto. c) Mecanismo de contacto directo (modificado de Crundwell (2003)).

En el mecanismo indirecto, ó de no contacto, la función de las bacterias presentes en la solución es la de oxidar los iones Fe (II) a Fe (III), este ion resultante entra en contacto con la superficie del mineral donde es reducido a expensas de la salida de un nuevo ion Fe (II) y regenerar el ciclo de una forma exponencial (Sand *et al.*, 1995).

En el mecanismo de contacto indirecto la mayoría de los microorganismos están adheridos a la superficie del mineral, lo que implica que los procesos bioquímicos de transferencia electrónica, responsables de la disolución del mineral, toman lugar en la interface entre el mineral y la pared celular de la bacteria, en ambos mecanismos, contacto indirecto y directo, la contribución de la bacteria a la disolución del mineral es la regeneración del agente oxidante, el ion Fe (III) y la subsecuente oxidación de los compuestos resultantes de la disolución (Rohwerder & Sand. 2003).

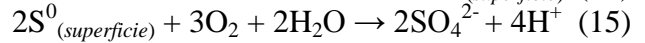
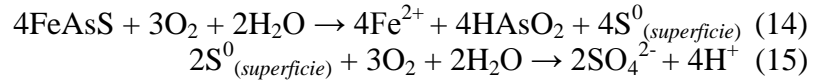
Varios autores han observado que la disolución de algunos minerales puede ser controlada por la estructura cristalográfica del mineral y ésta determinar la adherencia de los microorganismos a la superficie de la arsenopirita. Por ejemplo, Sampson *et al.*, (2000) observó que las células de *A. ferrooxidans* se adhieren a la superficie de arsenopiritas y loellingitas a lo largo de defectos cristalinos. Edwards *et al.*, (2000) investigó que la adherencia de *Acidithiobacillus caldus* en agregados masivos de arsenopirita y encontraron que la disolución ocurría en forma preferencial. Ellos sugirieron que esto podría deberse a que las células se adhieren a lo largo de *pits* y defectos en la estructura del material o en zonas ricas en azufre. Estos resultados están de acuerdo con McGuire *et al.*, (2001b) quienes sugirieron que la adherencia celular debería ser controlada por las zonas de acumulación de azufre sobre la superficie del mineral.

Edwards *et al.*, (2001) observó *pits* de disolución del tamaño de células bacterianas sobre la superficie oxidada de la arsenopirita en la presencia de *Ferroplasma acidarmanus* a 37°C. El tamaño de los *pits* fue asociado con el incremento en la velocidad de disolución del mineral.

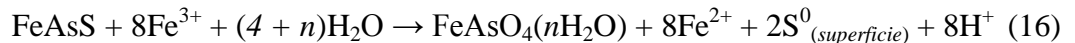
Harneit *et al.*, (2005) observaron la ubicación preferencial de *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre una superficie mineral con defectos visibles y atribuyeron éste comportamiento a una mayor viabilidad de azufre y de Fe(II). Células individuales fueron difíciles de detectar después de 120 horas de experimentación debido a la formación de *biofilms* sobre la superficie.

Se han realizado algunas investigaciones sobre la influencia de las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas en la adherencia de *A. ferrooxidans* sobre la superficie de la arsenopirita. Cruz *et al.*, (2005) observó que la adherencia de los microorganismos no ocurre inmediatamente, esto se puede deber a un proceso de disolución ácida que modifica la estructura superficial del mineral y promueve la lixiviación preferencial del Fe(II), una fuente energética más viable que la arsenopirita misma. Sampson & Blake (1999) investigaron la adherencia de *A. ferrooxidans* a concentrados de arsenopirita

y loellingitas. Encontraron que la adherencia de las células se debía, probablemente, a una unión proteica. Fernández *et al.*, (1995) sugirió un mecanismo de tres pasos para la biooxidación de la arsenopirita por *A. ferrooxidans*. Ellos propusieron que el mecanismo de oxidación es iniciado por el crecimiento de las bacterias sobre la superficie del mineral, lo que genera *pits* de corrosión y disolución preferencial de Fe(II), As(III), S(IV) y S(0), según las siguientes ecuaciones:



Las altas concentraciones de Fe(II) en la solución aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos. Luego la generación de Fe(III), promovida por bacterias, producido en la superficie del mineral. Éste proceso produce arsenatos férricos de baja cristalinidad, ecuación 16.



Fernández *et al.*, (1995) concluyeron que, a pesar de la evidencia de la biooxidación directa, un mecanismo de oxidación indirecta ocurre durante la disolución del mineral. Sampson *et al.*, (2000) argumenta que pese a la evidencia de la adherencia de los microorganismos a la superficie de la arsenopirita, el mecanismos de disolución del mineral es una mezcla de mecanismos indirectos y directos, y sugieren que el mecanismos de oxidación directa está presente en las etapas iniciales de la oxidación del mineral hasta el punto donde la concentración de Fe(II) es lo suficientemente alta. Lo que está de acuerdo con Corkhill *et al.*, (2008) quienes sugieren que la oxidación directa es poco probable. Carlson *et al.*, (1992) observaron la formación de jarositas ( $\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ ) y escoroditas ( $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) después de un proceso de biooxidación de de arsenopirita con *A. ferrooxidans*. Fernández *et al.*, (1995) reportaron la presencia de arsenatos férricos y azufre elemental sobre la superficie de la arsenopirita biooxidada por *A. ferrooxidans*. Tuovinen *et al.*, (1994) observó que la disolución de la arsenopirita producía jarositas, azufre elemental y arsenatos férricos cuando el mineral reaccionaba con *Acidithiobacillus caldus* a 45°C. Ellos sugirieron que la cantidad de precipitados formados es controlada por la cantidad de superficie oxidada del mineral, el pH y la composición iónica de la solución lixiviante. McGuire *et al.*, (2001b) también observó azufre elemental como producto de la oxidación del mineral. Sugirieron que, aunque se formo una película delgada sobre la superficie del mineral, la lixiviación del mineral por *A. caldus* no fue inhibida.

Varios estudios de la toxicidad del arsénico sobre bacterias y arqueas se han desarrollado (Stolz *et al.*, 2006). Los iones arsenitos ( $\text{AsO}_3^{3-}$ ) inhibe compuestos importantes, deshidrogenasas tales como pirubica y  $\alpha$ -ketoglutarato, en procesos bioquímicos y los iones arsenatos inhiben la formación de ATP por quimiosmosis (Stolz *et al.*, 2006). Sin embargo, también hay estudios que demuestran que cierto tipo de microorganismos son capaces de tolerar grandes cantidades de arsénico a través de un mecanismo de eliminación de éste. Collinet & Morin (1990) observaron que la concentración de As(III) tiene un fuerte efecto sobre el crecimiento de *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* en concentrados de pirita y arsenopirita. La disminución en la velocidad de crecimiento ocurre a concentración de As(III) de  $10 \text{ gL}^{-1}$  y éstas bacterias fueron capaces de crecer hasta concentraciones de As(V) de  $40 \text{ gL}^{-1}$ . Edwards *et al.*, (2000) trabajando con *A. caldus* sobre concentrados de arsenopirita observo que las curvas de crecimiento eran erráticas y atribuyeron esto a la toxicidad del As(III) y As(V). Hallberg *et al.*, (1996) también observaron que el As(III) reduce la viabilidad de *A. caldus*. Ellos observaron partículas de azufre extracelular indicando que la habilidad de *A. caldus* fue inhibida ante la presencia de los iones de arsénico. Estudios posteriores por Dopson *et al.*, (2001) y Groot *et al.*, (2003) identificaron un gen de resistencia al arsénico en *A. caldus*. Esto permite un mecanismo de eliminación de arsénico que se produce cuando la arsenato-reductasa (*arsC*) reduce el arsénico en el interior de la

---

célula y una bomba específica de salida de arsénico (*arsB*) saca éste ion, fuera de la célula, a través de la membrana citoplasmática. Un mecanismo similar fue identificado para *A. ferrooxidans* (Butcher *et al.*, 2000), para *L. ferriphilum* (Tuffin *et al.*, 2006) y para *L. ferrooxidans* (Corkhill *et al.*, 2008) quienes observaron, también, que *L. ferrooxidans* es capaz de soportar una concentración mucho mayor de arsénico en comparación con los demás microorganismos.

### **3.2. Pirita (FeS<sub>2</sub>)**

La oxidación de la pirita, el sulfuro metálico más abundante sobre la superficie terrestre, es un proceso dominante que genera la acidificación de aguas naturales (Singer & Stumm, 1970; Lowson, 1982; Nordstrom, 1982; Evangelou & Zhang, 1995; Marchand, 2003). Recientemente Rickard & Luther, (2007) estimaron que debido a la reducción biogénica del sulfato ferroso, alrededor de 5 millones de toneladas de mineral son producidas anualmente en los ambientes marinos.

Quizás uno de los ejemplos más sorprendentes de cómo la reactividad de la pirita puede afectar el medioambiente es la actividad antropogénica. La disolución oxidativa de la pirita, ya sea proveniente de las inclusiones en el carbón o de las actividades mineras, produce un tipo de deterioro ambiental conocido como drenajes ácidos de minería (AMD) (Jambor & Blowes 1994; Alpers & Blowes, 1994; Salomons, 1995; Evangelou, 1995; Evangelou & Zhang, 1995; Gray, 1996; Banks *et al.*, 1997; Jambor & Blowes, 1998; Nordstrom & Alpers, 1999; Keith & Vaughan, 2000).

Éste proceso, a través de la generación de ácido sulfúrico y oxihidroxidos de hierro, es el responsable de la contaminación de cerca de 10000 arroyos y ríos y alrededor de 18 quilómetros cuadrados de lagos y reservas, solo en los Estados Unidos (Tao *et al.*, 2000). La mitigación del daño generado por los drenajes ácidos de minería le cuesta a la industria minera carbonífera cerca de un millón de dólares por día (Kleinmann & Hedin, 1993). Además, la disolución ácida de la pirita libera al ambiente metales pesados como el arsénico, cobalto, plomo, níquel y cinc.

#### **3.2.1. Proceso electroquímico de disolución**

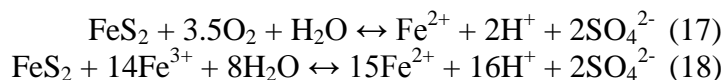
A pesar de muchas décadas de investigación, la clave que controla el mecanismo de oxidación del mineral y aumenta la velocidad de disolución continua siendo pobremente entendida (Rimstidt & Vaughan, 2002). Esto se ha debido en gran medida a que el proceso de oxidación del mineral conlleva una gran cantidad de reacciones elementales inherentes. Basolo & Pearson (1967) señalaron que los pasos elementales para las reacciones redox, por lo general, involucraban la transferencia de un electrón a la vez para la oxidación de esfalerita y galena, monosulfuros. La salida del ion sulfato requiere, al menos, la transferencia de ocho electrones, lo que significa ocho pasos elementales. La oxidación de disulfuros, como la pirita y la marcasita, requiere siete pasos elementales.

Ésto es un proceso complejo ya que los sulfuros metálicos son materiales semiconductores y la naturaleza de las reacciones redox es electroquímica. Lo que significa que para que los electrones se puedan mover de una parte del mineral hasta otra varias reacciones deben ocurrir en diferentes sitios del mineral (Rimstidt & Vaughan 2003). Además, las propiedades semiconductoras de los sulfuros metálicos, y en especial de la pirita, dependen de la composición particular de la muestra y ésta de la zona de origen del mineral. Lo que significa que sutiles diferencias en la estequiometría influyen fuertemente sus propiedades eléctricas y éstas a su vez influyen su reactividad (Rimstidt & Vaughan 2003).

#### **3.2.2. Mecanismos de reacción anódica y catódica**

Rimstidt & Vaughan (2003) proponen para la oxidación de la pirita un proceso electroquímico dividido en tres pasos: primero un mecanismo de reacción catódica, luego, un fenómeno de transporte de electrones y por último una reacción anódica. El mecanismo de reacción catódica involucra la presencia de especies en solución capaces de aceptar electrones desde el sitio del Fe(II) sobre la

superficie del mineral. En la naturaleza hay varios agentes oxidantes capaces de aceptar electrones provenientes del ion ferroso, dentro de los cuales están  $\text{NO}^{3-}$ ,  $\text{Cl}_2$ , y  $\text{H}_2\text{O}_2$ , pero los iones más importantes por su cinética de transformación y su potencial redox son el  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{O}_2$  (Schüring *et al.*, 1999). El mecanismo de reacción es el siguiente:

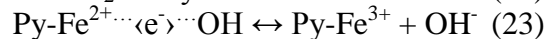
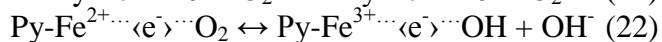
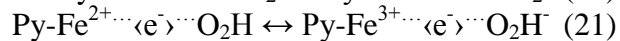
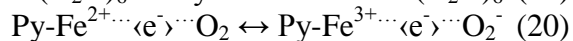
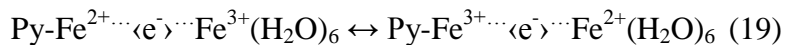


Este conjunto de ecuaciones muestran que el proceso de oxidación no tiene como objetivo oxidar el hierro, ya que el hierro dentro del mineral es Fe(II) y continua así cuando sale a la solución, sino más bien oxidar el azufre. Brown & Jurinak (1989) propusieron que durante el mecanismo de oxidación de sulfuros metálicos el paso limitante era la reacción catódica, debido a la producción de sulfatos como producto final. Williamson & Rimstidt (1994) observaron que la velocidad de oxidación de la pirita depende de la concentración de Fe(III) y  $\text{O}_2$ .

Estudios realizados por Rimstidt *et al.*, (1994) sobre la oxidación de galena, esfalerita, calcopirita y arsenopirita muestran que también en su proceso de oxidación la reacción catódica es el proceso determinante. Aun no hay reportes sobre la naturaleza exacta del sitio catódico y la estructura del complejo activado, pero hay evidencia de que los electrones son transferidos hasta el agente oxidante vía sitios metálicos sobre la superficie del mineral y no desde los sitios del azufre (Williamson & Rimstidt, 1994; Rimstidt *et al.*, 1994; Schüring *et al.*, 1999).

Rosso *et al.*, (1995) estudiaron la interacción de la superficie de la pirita con  $\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , en condiciones de alto vacío. Ellos observaron que cuando la superficie era expuesta al  $\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , al mismo tiempo, la superficie era más agresivamente oxidada que solo con  $\text{O}_2$ , también observaron algunos puntos discretos de oxidación donde reaccionaban los sitios del hierro superficial. De esta manera, para la pirita, el complejo activado podría involucrar la transferencia de un electrón hacia los Fe(III) absorbidos, en forma de hidratos, a partir de los Fe(II) en la solución. Éste Fe(II) es de nuevo lanzado a la solución y un electrón es transportado desde el sitio anódico. Asimismo, Lawson (1982) propuso un mecanismo para la reducción del oxígeno en la superficie de la pirita. Primero el  $\text{O}_2$  se absorbe en los sitios del Fe(II) y luego se da la transferencia de un electrón desde el sitio del hierro hasta el  $\text{O}_2$ . Luego, el hidrógeno reacciona con el oxígeno para producir  $\text{HO}_2$  para luego transportar un electrón desde el sitio anódico y reducir el Fe(III) hasta Fe(II). Los demás hidrógenos reaccionan con el grupo  $\text{HO}_2$  y de nuevo se da la reducción del ion Fe(III). La transferencia de este tercer electrón desde el Fe(II) hacia el peróxido transforma uno de los oxígenos a hidróxido liberándolo a la solución, el otro es transformado hasta OH.

El Fe(III) es reciclado hasta Fe(II) por la transferencia de un electrón más desde el sitio anódico y transportado hasta el radical OH y transformado hasta  $\text{OH}^-$  y liberado a la solución. Por último, un electrón se transporta desde el sitio anódico hasta la reducción del Fe(III) dejando el sitio anódico de la misma forma que al inicio del proceso, después de transferir 5 electrones a través de él, según las siguientes expresiones:



Es evidente que el transporte de electrones a través de la pirita, desde el sitio anódico hasta el sitio catódico, es un proceso muy importante para el mecanismo de disolución del mineral. La pirita, como

---

los demás sulfuros metálicos, es un material semi-conductor. La conductividad de éste material puede variar ampliamente entre  $0,02$  y  $562$  ( $\Omega\text{cm}$ )<sup>-1</sup> con un valor promedio de  $48$  ( $\Omega\text{cm}$ )<sup>-1</sup> (Pridmore & Shvey, 1976; Doyle & Mirza, 1996).

Abraitis *et al.*, (2004) revisó los tipos y concentraciones de impurezas presentes en piritas naturales. Ellos observaron que la pirita podía contener trazas de Ag, Au, Bi, Cd, Mo, Ni, Pd, Pb, Ru, Sb, Se, Te y Zn. Algunos elementos pueden estar en porcentajes aun mayores como As, Co y Cu. Dependiendo del tipo de impureza las piritas se comportaban como semiconductores tipo-*n* o tipo-*p*. Las piritas semiconductoras tipo-*p*, por lo general, presenta en su estructura cantidades significativas de arsénico mientras que las piritas tipo-*n*, por lo general, presenta una deficiencia en el sitio del azufre y son relativamente ricas en cobalto y níquel (Abraitis *et al.*, 2004).

La conductividad de una pirita tipo-*p* es mucho menor que una tipo-*n*, el promedio varía entre  $0,5$  y  $56$  ( $\Omega\text{cm}$ )<sup>-1</sup> respectivamente (Abraitis *et al.*, 2004). Es común que las piritas exhiban ambos comportamientos, semi-conducción tipo-*p* y tipo-*n*, incluso dentro de un mismo ejemplar se puede presentar ambas conductas (Abraitis *et al.*, 2004).

La oxidación de sulfuros metálicos transfiere, al menos, siete electrones desde el ion  $-\text{S}_2^{2-}$  hasta el  $-\text{S}^0$  y, al menos, ocho electrones hasta el  $-\text{SO}_4^{2-}$ . Esto quiere decir que los átomos de azufre deben pasar a través de varias etapas de oxidación y que diferentes compuestos de azufre están involucrados en el proceso, algunos de ellos han sido identificados en el laboratorio (Moses *et al.*, 1987).

Hay evidencia que sugiere que son los iones de  $-\text{SO}_4^{2-}$  los predominantes en los drenajes ácidos de minería, donde el Fe(III) es el agente oxidante más importante y el pH es bajo, y no otros tipos de compuestos de azufre o que sus concentraciones son muy pequeñas (Rimstidt & Vaughan 2003; Abraitis *et al.*, 2004), por lo que los autores concluyen que es el ion  $-\text{SO}_4^{2-}$  el producto de oxidación predominante; aunque no el único posible. Algunos estudios han encontrado la presencia de tiosulfatos en sus experimentos (Goldhaber 1983; Moses *et al.*, 1987). Williamson & Rimstidt (1993) observaron que las formas de tiosulfato colorean, rápidamente, hasta púrpura en la presencia de Fe(III), y que éste complejo descompone hasta tetrationato y luego Fe(II). Los autores también sugieren que en soluciones ácidas, en ausencia de Fe(III), el tiosulfato reacciona hasta transformarse en sulfito y luego hasta politionato, lo que generó en sus precipitados una solución coloidal de color amarillento. Estos politionatos eventualmente se transformaron a azufre elemental. Ninguno de éstos compuestos se encontró en cantidades significativas asociados a la oxidación de la pirita, sugiriendo que estas especies de azufre no juegan un papel importante en la generación de drenajes ácidos, pero si encontraron cantidades significativas a valores de pH relativamente elevados.

Debido a que son varios electrones los que se deben remover desde cada átomo de azufre hasta transformarse a sulfato, el proceso de oxidación de los sulfuros metálicos es por lejos uno de los más complejos y difíciles de entender.

Debido a que es poco probable a que más de un electrón sea removido, al mismo tiempo, desde el azufre (Basolo & Pearson 1967) debe haber varias etapas en este proceso.

Williamson & Rimstidt (1992) investigaron la estabilidad termodinámica de las especies químicas en solución que podrían ser intermediarias durante el proceso de oxidación y observaron que para que la reacción ocurra, vía éstos intermediarios, el sistema no procede paso a paso. Éste es un argumento en favor de la idea que todos los compuestos de azufre permanecen sobre la superficie del mineral durante el proceso de oxidación. Buckley & Woods (1987) proporcionaron evidencia, para varios sulfuros metálicos, que durante su proceso de disolución el primer paso produce una película de azufre elemental sobre la superficie del mineral. Sin embargo, esto es difícil de probar experimentalmente ya que el azufre es una especie volátil, es fácil de perder antes de un análisis, particularmente cuando se emplea equipos de alto vacío (Rimstidt & Vaughan 2003).

La disolución oxidativa de la pirita produce una disminución en el sitio del catión y un enriquecimiento en el sitio del anión. Ésta disminución ocurre debido, posiblemente, a la movilidad que pueda tener el

---

cación en el mineral, éste fenómeno se ha observado en el caso de la pirrotita y los sulfuros de cobre (Buckley & Woods 1987), pero las velocidades de difusión catiónica, a través de la superficie, de los sulfuros metálicos es limitada, donde se producen los grupos  $-S_n^{2-}$  (Buckley & Riley 1991).

Rimstidt & Vaughan (2003) propusieron un esquema de reacción unificada basados en una extensiva investigación sobre la oxidación de la pirita. Ellos concluyeron que la oxidación del mineral debería ser descrita por un modelo electroquímico donde, los electrones son conducidos entre los sitios anódicos y los sitios catódicos a través de un material semiconductor. Las moléculas de agua reaccionan con los sitios de azufre deficientes en electrones hasta formar oxianiones de azufre y el oxígeno es reducido en el sitio catódico como etapa limitante del proceso. El proceso de oxidación del azufre hasta tiosulfato es similar a lo propuesto por Kelsall *et al.*, (1999).

Becker *et al.*, (2001) mediante ensayos teórico/experimentales introdujo la noción de un efecto de proximidad en semiconductores donde, por ejemplo, la oxidación de un sitio específico hace más factible el ataque oxidativo a sus vecinos.

### 3.2.3. Velocidades de disolución del mineral

La literatura reporta diferencias significativas entre las velocidades de oxidación de la pirita y su polimorfo la marcasita. Wiersma & Rimstidt (1984) hicieron una revisión bibliográfica y observaron que las diferencias entre las velocidades de oxidación de estos dos minerales era inferior a un orden de magnitud y además que las diferencias estaban dentro de la incertidumbre de la medida. Los autores concluyen que debido a la buena correlación entre los datos obtenidos en diferentes laboratorios y diferentes muestras de piritas y marcasitas las velocidades de oxidación varían muy poco de muestra a muestra.

Una forma de analizar esto está fundamentada en el consenso que hay en la literatura en que las velocidades de oxidación, para ambos minerales en el equilibrio, son rápidas. Robie & Hemmingway (1995) reportan que la energía libre de Gibbs para la oxidación de la pirita por el oxígeno es  $1180 \text{ KJmol}^{-1}$  y la diferencia en energía libre para la formación de pirita y marcasita es de  $1,7 \text{ KJmol}^{-1}$ , lo que implica una diferencia de solo 0,14% de la energía total. Debido a esto, la diferencia entre el potencial químico que genera la oxidación de ambos minerales es muy pequeña. Los autores concluyen que la diferencia en las velocidades de oxidación se debe principalmente al mecanismo de reacción o al área superficial del mineral.

Rosso *et al.*, (2001) reporta que el *band-gap* de la pirita es 0,95 eV mientras que para la marcasita es de 0,34 eV lo que nos indica que debería haber una mayor conductividad electrónica con la marcasita comparada con la pirita. Los autores sugieren que las variaciones en el *band-gap* de diferentes muestras pueden ser producidas por las impurezas presentes en los minerales. Sin embargo, también es posible que los elementos traza en el mineral participen de los sitios catódicos y éstos varíen como una función dependiente de los elementos traza.

### 3.2.4. Influencia del tamaño de partícula en la velocidad de disolución del mineral

Carucio (1975), observó que uno de los factores que más afectan la velocidad de producción de ácido en drenajes de minas de carbón es el tamaño de los granos de la pirita o el área superficial del mineral. Varios trabajos publicados han sido consistentes en mostrar que la velocidad de oxidación es directamente proporcional al área superficial expuesta (Kostina & Chernyak 1976; Lowson 1982; Brown *et al.*, 1989; Evangelou 1995; Evangelou & Zhang 1995; Doyle & Mirza, 1996; Keith & Vaughan 2000). Por lo tanto, no es sorpresa que en minerales que contienen piritas framboidales, de tamaño micrométrico o sub-micrométrico con áreas superficiales específicas muy grandes, la velocidad de producción de ácido es muy alta comparado con piritas o marcasitas de mayor tamaño.

### 3.2.5. Disolución del mineral en ambientes ácidos

---

Kelsall *et al.*, (1999) evaluó la alteración superficial de la pirita debida a la oxidación con HCl 1N. Los datos electroquímicos recogidos, evaluados en un rango de 0,4 – 0,6 V vs. SCE, sugieren pequeños cambios superficiales. Los autores atribuyeron esto a la adsorción–desorción reversible de agua y protones sobre la superficie. Guevremont *et al.*, (1998) investigó la interacción del H<sub>2</sub>S con una superficie de pirita. La mayoría de las moléculas adsorbidas de H<sub>2</sub>S desorbieron a 300K. Stirlin *et al.*, (2003) demostró la no favorable adsorción de H<sub>2</sub>S sobre la superficie de piritas. A diferencia de la adsorción de agua, los enlaces de hidrogeno no contribuyeron a la adsorción de las moléculas de H<sub>2</sub>S.

### 3.2.5. Disolución del mineral en agua y aire

Nesbitt & Muir (1994) y Knipe *et al.*, (1995), investigaron la adsorción de H<sub>2</sub>O y aire sobre superficies clivadas de pirita y encontraron una baja reactividad de las superficies clivadas hacia el agua. Los resultados mostraron que la exposición de la pirita al agua, 2000 litros a temperatura ambiente, no generó cambios en las regiones espectrales Fe 2p y S 2p, pero los análisis de la región espectral O 1s mostraron la existencia de grupos OH<sup>-</sup> y O<sub>2</sub><sup>-</sup> indicando agua adsorbida. Guevremont *et al.*, (1997 y 1998) investigaron la absorción de agua, a 80K y después de un calentamiento hasta 500K, sobre la familia de planos {100} en la pirita. Observaron un pico ancho relacionado con la desorción de agua entre 200 y 300K, y fue atribuido a la salida de agua de los defectos superficiales en el mineral. Los análisis de XPS, presentados por los autores, muestran que la mayoría del agua fue desorbida de la superficie de la pirita a temperatura ambiente, la poca agua superficial que quedó, se encontró asociada a defectos superficiales del mineral.

Kendelewicz *et al.*, (2004) también investigaron la adsorción de agua sobre la pirita. Los resultados no mostraron ningún producto de la oxidación del azufre, pero los análisis de la región espectral S 2p mostraron una disminución significativa de la intensidad del espectro asociada con el componente –S<sub>2</sub><sup>2-</sup> en la superficie de la pirita. Esta observación experimental llevó a la especulación que había una conversión del componente monosulfuro en disulfuro con la exposición al agua, pero un mecanismo para ésta conversión no se propuso. Rodríguez & Abreu (2005) calcularon en 44,7 KJmol<sup>-1</sup> la energía de enlace del agua sobre la superficie de la pirita. Stirling *et al.*, (2003) calculó en 54,4 KJmol<sup>-1</sup> la energía de adsorción del agua sobre la superficie de la pirita. Estos estudios encontraron que la quimisorción disociativa del agua fue no favorable energéticamente y que los enlaces con los hidrógenos resultaron en una estabilización significativa del agua molecular adsorbida. Las formas de agua encontradas presentaban enlaces covalentes con los átomos de hierro superficial. Nair *et al.*, (2006) investigó la adsorción molecular y disociativa de agua sobre defectos superficiales en la pirita. El agua molecular adsorbida incluye adsorción en sitios de hierro cercanos a vacancias de azufre.

Raikar *et al.*, (1991) investigó la interacción de O<sub>2</sub> sobre la superficie de piritas. Los resultados, empleando *Auger electron spectroscopy* (AES) y *electron energy loss spectroscopy* (EELS) observaron que la exposición de la pirita al O<sub>2</sub> generó una oxidación significativa de la superficie del mineral. Los trabajos de Rosso (1998) investigaron la reacción del O<sub>2</sub> sobre superficies de piritas. Los resultados mostraron la formación y evolución de los enlaces Fe–O. Kendelewicz *et al.*, (2004) observó que, mientras la exposición de la superficie de una pirita a H<sub>2</sub>O no generaba oxidación del azufre superficial del mineral, la exposición de la superficie del mineral a O<sub>2</sub> sí generó oxidación de éste componente, lo que se asoció, en parte, con la eliminación del componente monosulfuro. También observaron que los dímeros de azufre exhibieron una mayor estabilidad ante la presencia del O<sub>2</sub> y la exposición a vapores de H<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub> generó mayor oxidación comparado con uno solo de éstos gases.

En los trabajos de Guevremont *et al.*, (1998) sobre la adsorción de mezclas de gases H<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub> reportaron que la adsorción disociativa del agua sobre la superficie del mineral resultaba ser no favorable en ausencia de oxígeno pero favorable en la presencia de éste.

Elsetinow *et al.*, (2001) investigó el efecto de la adsorción superficial de fosfatos sobre la oxidación de piritas bajo ambientes ricos en O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O. Los autores observaron que la cantidad de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> adsorbidos

---

sobre la superficie del mineral era proporcional a la cantidad de Fe(III) superficial. La concentración de Fe(III), en el trabajo experimental, fue controlada mediante la exposición de la superficie del mineral a iones de baja energía de He<sup>+</sup>. La muestra de pirita fue expuesta a una solución rica en fosfatos y luego a un ambiente gaseoso oxidante. Los resultados sugieren que la superficie de la pirita, con fosfatos adsorbidos, presenta una disminución de la formación de óxidos de hierro y una disminución de sulfatos. Los autores sugieren que los iones PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> se enlazan en las regiones superficiales ricas en Fe(III) e inhibe la oxidación del mineral debido al bloqueo que le genera al O<sub>2</sub> o alterando la estructura electrónica de las regiones y limitando la transferencia electrónica desde el Fe(II) al O<sub>2</sub>. Zhang *et al.*, (2003) estudio la adsorción de una bicapa de lípidos, con iones de fosfato en su estructura, sobre la superficie de la pirita. Los resultados mostraron inhibición del sitio activo por el grupo funcional del fosfato y supresión de la oxidación del mineral.

### 3.2.6. Disolución del mineral por Fe(III)

Moses *et al.*, (1987) observaron que en soluciones saturadas de Fe<sup>3+</sup>, éste ion es el agente oxidante directo aun en la presencia de O<sub>2</sub>, observaciones que han sido corroboradas por otros trabajos (Holmes & Crundwell 2000). Los resultados experimentales obtenidos por Moses *et al.*, (1987) concuerdan con los trabajos teóricos realizados por Luther (1987) quien predijo, fundamentado en la teoría del orbital molecular, que el Fe<sup>3+</sup> debería ser un oxidante mucho más eficiente que el O<sub>2</sub> y que el proceso de oxidación de la pirita procedía vía generación de S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Moses *et al.*, (1987) extendieron su trabajo anterior y sugirieron que el par redox Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> en solución sobre la superficie de la pirita es la clave de la transferencia de electrones desde el Fe<sup>2+</sup> hasta el O<sub>2</sub>. Específicamente, el Fe<sup>2+</sup> adsorbido transfiere electrones al O<sub>2</sub> y la transferencia de electrones desde la pirita produce Fe<sup>3+</sup> adsorbidos.

Peiffer & Stubert (1999) observaron que los quelatos del Fe<sup>3+</sup> como el ácido ascórbico reducen el Fe<sup>3+</sup> en la superficie del mineral lo que podría generar una disminución en la velocidad de oxidación del mineral. Todd *et al.*, (2003) observó que la naturaleza del Fe<sup>3+</sup> es dependiente del pH, especialmente por debajo de valores de 4,0 el principal producto es un hidroxisulfato férrico mientras que a altos valores de pH el principal producto de oxidación es una mezcla de oxihidroxidos y hidroxisulfatos férricos.

England *et al.*, (1999) empleando *X-ray absorption spectroscopy* (XAS) observó que después de un proceso de oxidación superficial de una pirita, a pH 9, el principal producto de oxidación fue goetita. Usher *et al.*, (2004), trabajando con ATR-FTIR *in situ* sugirió que a un pH de 5 los productos presentes sobre la superficie de la pirita eran oxihidróxidos derivados del oxígeno disuelto y no del agua. Borda *et al.*, (2003 y 2004) investigaron la oxidación de la pirita en presencia de Fe<sup>3+</sup> y O<sub>2</sub>. En ambos casos observaron modos vibracionales que eran consistentes con SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y tiosulfatos. Lo que sugiere que éstas especies intermedias, formadas sobre la superficie del mineral durante la oxidación, son independientes del agente oxidante.

Lefticariu *et al.*, (2007) investigó la oxidación de la pirita en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Encontraron que a 298K el oxígeno derivado del agua era incorporado en la estructura de los sulfatos, vía oxidación por Fe<sup>3+</sup>, y del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> era incorporado en la estructura de los sulfatos vía radical hidroxilo.

Kelsall *et al.*, (1999) sugirió que los intermediarios superficiales probablemente incluían S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> fundamentados en estudios *in situ* FTIR. Los autores sugirieron que a potencial redox positivos los electrones podrían ser extraídos del -S<sub>2</sub><sup>2-</sup> y luego lanzar un protón a la solución. Un paso adicional, sugerido, es la formación de Fe-S-SO<sub>3</sub> y posterior salida de S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> a la solución. Chernyshova (2003) en un estudio electroquímico sobre la oxidación de pirita obtuvo espectros vibracionales en función del potencial aplicado. Los resultados sugieren que la oxidación de la pirita ocurre en dos etapas, en la primera, cercana a 0 V, aparecen bandas de adsorción entre 980 y 1390 cm<sup>-1</sup> interpretadas como la formación de hidróxidos férricos y polisulfuros. La segunda etapa de oxidación, superior a los 0,4 V, aparecen bandas de adsorción entre 900 y 1100 cm<sup>-1</sup> interpretadas como



---

hidróxidos férricos y oxianiones de azufre como  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  y politionatos. Los autores sugieren que los sitios deficientes en hierro sirven como sitios activos para el proceso catódico de disolución.

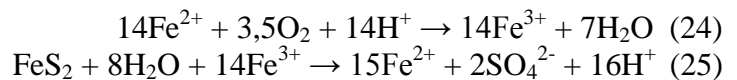
### 3.2.7. Disolución geomicrobiológica de la pirita

En la bibliografía internacional, es aceptado, generalmente, que la disolución oxidativa de la pirita es la principal responsable por la generación de drenajes ácidos de minería (AMD) y esto es acelerado por la actividad microbiana (Murphy & Strongin 2009).

Las comunidades microbianas existentes en los AMD son diversas y a menudo contribuyen de diferentes maneras con la oxidación de la pirita. Entre las especies microbianas más estudiadas, se encuentran *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Rojas-Chapana & Tributsch 2001; Wang *et al.*, 2001; Harneit *et al.*, 2006; Sand *et al.*, 2006; Ghauri *et al.*, 2007; Mangold *et al.*, 2007; Bhatti *et al.*, 2007; Mangold *et al.*, 2008), *Leptospirillum ferrooxidans* (Rawlings *et al.*, 1999; Tributsch & Rojas-Chapana 2000; Rodríguez *et al.*, 2003; Rojas-Chapana & Tributsch 2004; Okibe & Johnson 2004;) y *Acidithiobacillus thiooxidans* (Sasaki *et al.*, 1998; Schippers & Sand 1999; Natarajan & Das 2003; Harneit *et al.*, 2006; Chandraprabha & Natarajan 2006; Ghauri *et al.*, 2007).

En ambientes con, relativamente, bajos pH como los encontrados en los AMD la oxidación del Fe(II) es relativamente baja, comparado con ambientes en los que hay presencia de bacterias como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, estudios muestran que en la presencia de éste microorganismo la oxidación del Fe(II) a Fe(III) es acelerada por un factor de  $10^6$  comparado con circunstancias abióticas (Murphy & Strongin 2009).

El mecanismo por el cual se asume una acción directa por parte de las bacterias sobre el mineral se resume en las siguientes ecuaciones:



Donde la velocidad de oxidación del Fe(II) es acelerada en la presencia de bacterias y el Fe(III) es el responsable por la oxidación superficial de la pirita. Aquí, el papel de la bacteria es la regeneración del Fe(III), la velocidad de regeneración de éste ion es relativamente lenta a pH  $\sim 3$  o en ausencia de microorganismos (Murphy & Strongin 2009).

Uno de los mecanismos por el cual los microorganismos aceleran ésta transformación es la generación de sustancias poliméricas extracelulares que ayudan a la adherencia. Se ha postulado que es dentro de estas sustancias poliméricas extracelulares o EPS donde se genera la transformación del  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  (Sand *et al.*, 1995; Crundwell 1996).

Fowler *et al.*, (2001) observó que el orden de la reacción con respecto a los  $\text{Fe}^{3+}$  era el mismo aun en la ausencia de bacterias. Ellos anotaron que el orden de la reacción con respecto a  $\text{H}^+$  era 0,5 en ausencia de bacterias y 0,39 en la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Por lo tanto, se propuso que estos microorganismos al interior de sus EPS consumían protones y regeneraban el ciclo de transformación de ferroso a férrico, generando un aumento local del pH.

Sand & Gehrke (2006) investigaron la competencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y de *Leptospirillum ferrooxidans* sobre la oxidación de pirita. Observaron que la función de los EPS era mediar la adherencia al sustrato. Rojas-Chapana & Tributsch (2001) concluyeron que la presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  al interior de los EPS de *Leptospirillum ferrooxidans* acelera la velocidad de oxidación de la pirita.

### 3.3. Microorganismos

La arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) es la principal fuente de arsénico. Este mineral bajo condiciones oxidantes, como las que se presentan en ambientes mineros, inicia su proceso de disolución liberando arsénico,

---

hierro y azufre al ambiente, generando drenajes ácidos con altas concentraciones de arsénico (Corkhill & Vaughan, 2009). La pirita ( $\text{FeS}_2$ ) es el sulfuro de mayor abundancia sobre la superficie terrestre y su reactividad es de gran importancia para el entendimiento de procesos como drenajes ácidos de minería, desulfurización de carbones y recuperación de oro (Murphy & Strongin, 2009).

Los microorganismos comúnmente presentes en este tipo de ambientes son acidófilos, viven en ambientes cuya acidez puede bajar hasta  $\text{pH} < 1$ , mesófilos, se presentan en intervalos de temperatura entre los 20 y 30°C y quimiolitótrofos, los cuales derivan la energía para llevar a cabo sus procesos metabólicos de la oxidación de compuestos reducidos del azufre y/o del ion ferroso, como *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* (Daoud & Karamanev, 2005; Rawling *et al.*, 1999, Bozdemir *et al.*, 1996).

La exposición de este tipo de microorganismos a ambientes ricos en sulfuros metálicos resulta en la disminución o inhibición de la actividad de éstos, las razones para esto han sido diversas, reducción de la cantidad de oxígeno disuelto, daño a la pared celular como resultado de la fricción entre las partículas minerales y los microorganismos y al efecto nocivo de los iones metálicos como el  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{As}^{5+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , entre otros (Marhual *et al.*, 2008; Akcil *et al.*, 2007; Mousavi *et al.*, 2007; Gómez *et al.*, 1999). Sin embargo, microorganismos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* pueden ser adaptados para incrementar su tolerancia a estos ambientes y disminuir los efectos inhibitorios sobre los microorganismos (Xia *et al.*, 2008; Mason & Rice, 2002).

Uno de los factores principales a tener en cuenta en procesos de biooxidación son las altas concentraciones de arsénico provenientes de la disolución de la arsenopirita y, en menor cantidad, la pirita, responsables en gran medida de la disminución de la actividad bacteriana debido a la interferencia en el proceso de formación de ATP por la formación de un complejo ADP-arsénico inestable, generando la inhibición en la velocidad de crecimiento (Harvey & Crundwell, 1996).

Tuovinen *et al.*, (1971) encontraron que el arsénico es tóxico entre 50 y 100  $\text{mgL}^{-1}$  para *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Braddock *et al.*, (1984) determinaron que el  $\text{As}^{3+}$  no puede ser oxidado, por estas bacterias, hasta  $\text{As}^{5+}$  y en etapas sucesivas de crecimiento con concentraciones entre 1,33 y 2,67 mM de  $\text{As}^{3+}$  no se observó variaciones en las velocidades de crecimiento. Collinet & Morin (1990) determinaron que la velocidad de crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* se ve inhibida a concentraciones de 5  $\text{gL}^{-1}$  de  $\text{As}^{3+}$  y 40  $\text{gL}^{-1}$  de  $\text{As}^{5+}$ . Barret *et al.*, (1993) encontraron que concentraciones de  $\text{As}^{3+}$  cercanas a 30 mM limitaba el crecimiento de microorganismos mesófilos y concentraciones cercanas a 90 mM de  $\text{As}^{3+}$  resultaba ser nocivo.

Attia & Zeky (1989) trabajaron con minerales refractarios, principalmente pirita y arsenopirita, previa adaptación de *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre el mineral. Ellos encontraron que el proceso de adaptación, previo al proceso de biooxidación, aumenta la velocidad de lixiviación hasta cuatro órdenes de magnitud con relación a los microorganismos sin adaptación en el proceso de disolución. Shahverdi *et al.*, (2001) y Xia *et al.*, (2008) también reportaron que la eficiencia en el proceso de disolución de un concentrado pirítico por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, después de un proceso de adaptación, se ve favorecido. Datos reportados por Shi & Fang (2004) sobre *Acidithiobacillus ferrooxidans*, previa adaptación sobre un concentrado de marmatita, muestran como la velocidad de disolución del mineral se ve favorecida compara con los microorganismos sin adaptar.

Das *et al.*, (1998) en un proceso de adaptación permitieron que *Acidithiobacillus ferrooxidans* continuara utilizando energía del ciclo de oxidación del hierro ferroso a férrico mientras se incrementaba la concentración de iones metálicos pesados en solución. De esta manera, durante la fase lag encontrada en sus experimentos, los microorganismos se adaptaban a este ambiente.

La metodología comúnmente empleada en los procesos de adaptación, a la presencia de iones metálicos pesados, de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* consiste en una serie de cultivos sucesivos en los cuales los microorganismos son crecidos progresivamente, incrementándose

---

la concentración de iones metálicos pesados en el medio. El principal inconveniente de esta metodología es que no se sigue un protocolo determinado, siendo necesario periodos de adaptación de hasta años en algunos casos (Das *et al.*, 1997; Natarajan *et al.*, 1994; Brahmaaprakash *et al.*, 1988). Las densidades de pulpa, también juegan un papel importante en el proceso de adaptación de microorganismos, mesófilos, puros o en consorcios, aunque algunos investigadores no han testado este parámetro en sus experimentos (Mousavi *et al.*, 2006a,b; Sampson *et al.*, 2005; Third *et al.*, 2000). Los intervalos pueden variar desde 1 hasta 5% w/vol (Zhen *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2006; Shi & Fang, 2005; Deveci *et al.*, 2004; Mason & Rice, 2002).

Otro punto importante es determinar cuándo los microorganismos están adaptados a una determinada densidad de pulpa o concentración de iones metálicos pesados. En los trabajos antes mencionados el criterio empleado para esto fue la velocidad de oxidación del hierro ferroso, cuando éste alcanzaba valores aproximados a los obtenidos en medios de cultivo libres de iones metálicos pesados, se consideraba que los microorganismos estaban adaptados.

Algunos criterios diferentes empleados en los procesos de adaptación son los empleados por Xia *et al.*, (2008) para *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre un concentrado de calcopirita, el cual consistía en la medición de la concentración celular durante el proceso, considerando una buena población bacteriana una densidad de  $10^7$  células/mL. Astudillo & Acevedo (2008) para un proceso de biooxidación de un concentrado pirítico relacionaban la eficiencia en la adaptación y el proceso cuando la razón  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  era más baja que uno y Mason & Rice (2002) garantizaban una adecuada adaptación de *Acidithiobacillus ferrooxidans* midiendo la concentración de níquel disuelto durante dos procesos sucesivos de crecimiento bacteriano.

---

## 4. METODOLOGÍA

La metodología empleada para este estudio consistió de los siguientes pasos:

### 1. Revisión bibliográfica

### 2. Muestreo

Se escogieron depósitos de los cuales se pudo extraer la cantidad de muestras necesarias para llevar a cabo todas las pruebas de biooxidación. De esta forma se tomó los minerales, supeditado a la disponibilidad y/o accesibilidad de los depósitos, de la siguiente manera:

#### a. Pirita ( $\text{FeS}_2$ )

Se tomó del distrito minero de Marmato, Caldas, en la mina San Antonio, donde ésta fase es la principal acompañante del oro.

#### b. Arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ )

Se tomó de la mina El Violín, Anorí, Antioquia, donde la mineralización del oro está predominantemente asociada a ella.

### 3. Preparación del mineral

Fue necesario realizar todo el proceso de conminución y molienda con el objetivo de liberar el mineral de interés de la ganga, antes de las operaciones de concentración, incrementando la superficie específica de las partículas y poder para garantizar las dos distribuciones de tamaños de partícula: pasante malla Tyler 200 ( $\sim 75\mu\text{m}$ ) y 325 ( $\sim 45\mu\text{m}$ ). De ahora en adelante se emplearan las palabras malla Tyler 200 y malla Tyler 325 para referirse al mineral comprendido en esas dos distribuciones.

#### a. Trituración, molienda y concentración

La trituración primaria se llevo a cabo en una trituradora de mandíbulas tipo Blake y una velocidad de 250 rpm. Compuesta, esencialmente, de dos placas acanaladas de hierro (cámara de trituración) generando trozos entre 8 y 6 pulgadas. La trituración secundaria y terciaria se llevo a cabo en una trituradora de rodillos, obteniendo materiales con tamaños promedios entre 1,5 pulgadas y 0,4 pulgadas, respectivamente. La superficie de los rodillos estaba cubierta por forros cilíndricos de acero al manganeso, para evitar el excesivo desgaste localizado. La superficie era liza para trituración fina.

Con el fin de obtener un sustrato mineral rico en el sulfuro de interés, el mineral se sometió a un proceso de concentración gravimétrica en mesa Wilfley. Para realizar éste proceso, fue necesario garantizar que el sustrato se encontraba entre las mallas Tyler 100 y 200; por lo tanto, el mineral que no presentó estas características se sometió a un proceso de molienda en un molino orbital con cuerpos molidores de zirconio estabilizado con itrio. El sustrato se termino de concentrar mediante el uso de un estéreo, con el fin de realizar una separación manual de las impurezas que acompañaban a la muestra. Finalmente, el concentrado mineral se tamizó para garantizar dos distribuciones de tamaño de partícula pasante malla Tyler 200 retenido 325 y pasante malla Tyler 325 retenido 400.

#### b. Preparación de secciones pulidas del mineral

De los concentrados de mineral obtenidos se tomó una muestra para realizar montajes de granos y roca dura en resina epóxica, los cuales fueron desbastados utilizando carburo de silicio N° 200, 400, 600, 1000, 1200 y 1500 para finalmente ser pulidos utilizando alúmina de granulometría 3, 1 y  $0.05\mu\text{m}$  en un paño de pelo fino durante 15 minutos por cada distribución.

---

#### 4. Caracterización mineralógica Inicial

En esta etapa, se definió las características generales de la pirita y la arsenopirita, así como sus fases acompañantes.

##### a. Conteo de puntos

La caracterización mineralógica inicial fue hecha mediante la técnica de conteo de puntos mediante el uso de un microscopio óptico de luz plana polarizada, modo luz reflejada, marca Leitz Laborlux 11POL, con objetivos de aumento de 10X y 20X en aire y 32X y 50X de inmersión en aceite, según norma ASTM D 2799 de 2009. Determinando la concentración volumétrica de los componentes acompañantes del sustrato de interés.

##### b. Difracción de rayos X (DRX)

Los análisis se realizaron empleando un difractómetro marca Bruker D8ADVANCE con una velocidad de barrido de 2° por minuto, modo continuo y radiación Cu  $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ , radiación generada 35kV y 30mA. Los espectros se analizaron por medio del software Diffrac Plus Eva, haciendo uso de la base de datos PDF 2.0

##### c. Microscopía óptica de luz plana polarizada (MOLPP)

Las secciones pulidas fueron analizadas mediante microscopía óptica de luz plana polarizada, modo luz reflejada, utilizando un microscopio óptico marca Leitz Laborlux 11POL, con objetivos de aumento de 10X y 20X en aire y 32X y 50X de inmersión en aceite, con el fin de identificar las fases presentes, haciendo énfasis en las texturas y asociaciones determinando tipos de inclusiones y grado de liberación, de manera cualitativa.

##### d. Microscopía electrónica de barrido con analizador de estado sólido tipo EDX (SEM/EDX)

Las imágenes de SEM se tomaron en un equipo marca JEOL JSM 5910 LV, con detector de estado sólido tipo EDS marca OXFORD para los análisis microquímicos. Para el análisis con SEM/EDX las muestras fueron previamente metalizadas con oro y se utilizó un voltaje de aceleración de 18kV, con un tiempo de colecta de 120 segundos.

##### e. Espectroscopía Mössbauer

Para todas las medidas se utilizó un espectrómetro Mössbauer en modo de transmisión, 512 canales, con una fuente de  $^{57}\text{Co}$  en una matriz de Rh.

#### 5. Ensayos de biooxidación

##### 5.1. Preparación del inóculo bacteriano

Se determinó la población idónea de los microorganismos compatibles con el género *Acidithiobacillus* previamente adaptados y aclimatados a los minerales, los cuales fueron tomados del laboratorio de BIO-MINERALOGÍA, Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia.

##### 5.2. Realización de ensayos

Los ensayos fueron realizados a nivel de agitador orbital, usando erlenmeyers de 500ml, utilizando un volumen final de 200ml y un porcentaje de pulpa de 10% (w/v) (20g de concentrado de sustrato). Para los ensayos utilizando *A. ferrooxidans*, el medio de cultivo empleado fue el T&K con las siguientes proporciones de sales basales:  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ : 0.5g/L;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0.5g/L;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 0.5g/L, ajustando el pH a 1,8 con ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ); esta solución fue esterilizada en autoclave a 120°C por 20 minutos. Adicionalmente, se preparó una solución de sulfato ferroso (33.3g/L  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), para las etapas de adaptación de los microorganismos, la cual fue previamente esterilizada por filtración en membrana. Para los ensayos finales se utilizaron 180ml del medio T&K y 20ml (10% v/v) de inóculo. Todos los ensayos se hicieron por duplicado.

Para los ensayos utilizando una mezcla de *A. ferrooxidans* más *A. thiooxidans* se utilizó el mismo medio T&K pero con la adición de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 0.01g/L sin adición de azufre;

---

ajustando el pH a 1.8 con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Adicionalmente, se realizó un control (sin bacterias) bajo las mismas condiciones y para ambos sustratos evaluados. Todas las muestras fueron incubadas a 35°C en un agitador orbital a 180 ± 10rpm, durante 30 días.

### 5.3. Seguimiento químico del proceso

Se hizo un seguimiento del proceso de biooxidación mediante medidas de potencial redox, pH, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Fe<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup> en la solución, así como medidas de absorción atómica para la determinación de arsénico total en la solución, cada 5 días hasta el día 30. Las mediciones de pH y óxido-reducción (Eh) se hicieron mediante el uso de un equipo SCHOTT *Handylab*, con electrodo de referencia Ag<sup>o</sup>/AgCl y un electrodo de pH con electrolito de KCl. Las mediciones de hierro se hicieron en un espectrofotómetro marca GENESYS UV 10, bajo las normas estándar 3500-Fe B para determinación de hierro por el método colorimétrico o-fenantrolina y 4500 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-E para la determinación de sulfatos, por el método turbidimétrico.

## 6. Caracterización mineralógica final (Mineralogía del Proceso)

### 6.1. Difracción de rayos X (DRX)

Con el fin de monitorear el proceso de biooxidación y definir las fases minerales formadas durante cada período del proceso. Dadas las limitaciones de SEM/EDS, asociadas al tamaño fino de las posibles fases encontradas, el uso de DRX en este sentido podría permitir establecer diferencias más claras en cuanto a los tipos de fase presentes, siempre y cuando éstas se encuentren en proporciones relativamente altas. Para analizar los espectros, se utilizó el software Diffrac Plus EVA haciendo uso de la base de datos PDF 2.0. La cuantificación de las fases en cada una de las muestras fue realizada de manera cualitativa debido a inconvenientes para realizar análisis cuantitativo, como la falta de estequiometría comúnmente reportada para este tipo de compuestos, las amplias series de solución sólida entre fases, así como la entrada de diversos elementos en su estructura, además de la presencia de minerales amorfos.

Los espectros se tomaron un difractómetro marca Bruker D8ADVANCE con una velocidad de barrido de 2° por minuto, modo continuo y radiación Cu λ= 1.5406 Å, radiación generada 35kV y 30mA.

### 6.2. Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)

Se utilizó para detectar algunas fases minerales que, por su carácter amorfo o su baja cristalinidad, no fue posible identificar por medio de DRX. Con el fin de caracterizar las nuevas fases generadas durante el proceso de biooxidación se tomó muestra sólida la cual se retiró de los erlemeyer luego de 24 horas y posteriormente cada 5 días. Las muestras se caracterizaron usando espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier en un equipo marca Shimadzo Advantage 8400 empleando pastillas de KBr (modo transmitancia). Para esta técnica se tomaron 2mg de muestra en 200mg de KBr. El número total de *scans* fue 20, con resolución espectral de 4cm<sup>-1</sup>, en un rango de longitud de onda de 400-4000cm<sup>-1</sup> con corrección Happ-Henzel. Los espectros fueron tratados utilizando el software Shimadzu IR-solution 1,3 2005.

### 6.3. Microscopía electrónica de barrido con analizador de estado sólido tipo EDX (SEM/EDX)

Esta técnica se empleó con el fin de definir las relaciones texturales entre las fases presentes producto de la biooxidación. Las imágenes de SEM se tomaron en un equipo marca JEOL JSM 5910 LV, con detector de estado sólido tipo EDS marca OXFORD para los análisis microquímicos. Para el análisis con SEM/EDX las muestras fueron previamente metalizadas con oro y se utilizó un voltaje de aceleración de 18kV, con un tiempo de colecta de 120 segundos. Las muestras sólidas fueron montadas en resina epóxica y posteriormente pulidas con una serie de lijas de carburo de silicio y finalmente con alúmina de 3, 1 y 0.05µm con el

---

fin de obtener una superficie con acabado espejo, el procedimiento se realizó bajo la norma ASTM D2797 2009, luego fueron metalizadas con oro.

#### **6.4. Espectroscopía Mössbauer**

Los espectros Mössbauer fueron tomados de la siguiente manera: los espectros de arsenopirita fueron tomados por el profesor Álvaro Morales Aramburo en el laboratorio de física del estado sólido, Instituto de Física, Facultad de Ciencias exactas y Naturales de la Universidad de Antioquia. Los espectros de piritita fueron tomados por el profesor Vijayendra K. Garg, del instituto de física, de la Universidad de Brasilia. Las interpretaciones fueron realizadas por el autor con la orientación del profesor Aramburo. Los espectros fueron obtenidos a temperatura ambiente RT (*Room Temperature*) (297°K) y LNT (*Liquid Nitrogen Temperature*) (77°K), usando una fuente de <sup>57</sup>Co en una matriz de Rh. La radiación transmitida fue registrada por un contador proporcional y almacenada en un analizador multicanal con 256 canales. El espectro fue ajustado empleando análisis Lorentziano. El tratamiento de los datos se hizo con ayuda del software Mössbauer *Analysis Software for Windows* RECOIL 1,05 ken Lagarec® 2002.

### **7. Análisis de superficie de muestras biooxidadas**

#### **7.1. Ensayos de biooxidación**

Para los ensayos de biooxidación, las probetas con el mineral previamente preparadas se sometieron a oxidación con microorganismos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, previamente adaptados al mineral como principal fuente de energía, por diferentes periodos de tiempo.

#### **7.2. Microscopía de barrido por sonda, modo de fuerza atómica (SPM/AFM)**

Se tomaron cristales individuales de arsenopirita, los cuales fueron sometidos a pulido espejo con una serie de lijas de carburo de silicio con la siguiente serie: 300, 600, 1000, 1200 y 1500 y finalmente pulidas con alúmina de 3, 1 y 0,05 µm. Los cristales pulidos fueron limpiados por ultrasonido y finalmente sometidos a la acción bacteriana por un periodo de 12 horas, así mismo se realizó un control estéril con el fin de comparar el efecto de los microorganismos.

Las medidas que se presentan a continuación, fueron obtenidas con un microscopio de fuerza atómica, AFM – *Atomic Force Microscopy*; Nanosurf easyscan2, en modo de no contacto. El escáner es piezoeléctrico de PZT con área de barrido máxima de 60 x 60µm. Las sondas AFM son en silicio.

Se realizaron barridos a baja escala de magnificación, media y alta escala. Las medidas de rugosidad absoluta se hicieron sobre las imágenes de menor escala de magnificación y sobre las de mayor escala de magnificación, dado que el pulido de las probetas generaba dos rasgos morfológicos con parámetros distintos de rugosidad a bajas y a altas escalas de magnificación. Las imágenes fueron procesadas con un ajuste polinomial de 3<sup>er</sup> grado para corregir la planitud sobre el área de escaneo.

### **8. Ensayos de Biomodulación/Bioflotación**

Los ensayos de flotación diferencial fueron llevados a cabo en una celda de flotación, tipo Hallimond empleando un gramo de mineral, como una mezcla artificial de piritita y arsenopirita. Las muestras fueron, primero, pre-oxidadas con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en 100 ml de medio T&K a pH 2 y una población de 10<sup>7</sup> bacterias ml<sup>-1</sup> durante periodos de tiempo de 2, 4, 12, 24 y 48 horas y luego se empleo isopropil-xantato como colector, acondicionando la solución durante 5 minutos; la solución fue flotada durante un periodo de un minuto después de la introducción de MIC como agente espumante. La velocidad del flujo de aire fue de 120 cm<sup>3</sup>min<sup>-1</sup> durante todo el proceso de flotación. Algunos ensayos se desarrollaron en ausencia de microorganismos, como modificadores superficiales, pero ante la presencia de colector.