

---

## 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 5.4. Proceso de adaptación

De acuerdo con Tuovinen *et al.*, (1971) la tolerancia que adquieren microorganismos como *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* a los iones metálicos pesados se logra durante su fase *lag* de crecimiento y ésta se ve favorecida a medida que se incrementa la concentración de éstos iones. Los resultados de este trabajo sugieren que luego de una etapa de adaptación prolongada en medios de cultivo T&K, ricos en arsénico, debido a la disolución de la arsenopirita y en menor medida a la disolución de del contenido de arsénico en la pirita, se incrementó la tolerancia de los microorganismos empleados a éstos iones pero las cinéticas de crecimiento se vieron afectadas debido a la disminución gradual de una fuente de energía de fácil acceso, como el sulfato ferroso y el azufre elemental, lo que se ve representado en las caídas de potencial y en la dispersión de los datos de pH durante todas las etapas de adaptación (Brahmaprakash *et al.*, 1988; Natarajan *et al.*, 1994; Das *et al.*, 1997; Third *et al.*, 2000; Mason & Rice, 2002; Deveci *et al.*, 2004; Sampson *et al.*, 2005; Shi & Fang, 2005; Zhen Shi *et al.*, 2006; Mousavi *et al.*, 2006a,b; *et al.*, 2009).

### 5.5. Dinámica del proceso de oxidación de la arsenopirita y pirita

Luego del proceso de adaptación y durante el proceso de biooxidación de los sustratos seleccionados, se pudo ver, para todas las condiciones evaluadas, evidencias de la biooxidación de los sulfuros presentes y lixiviación de los elementos principales, arsénico, hierro y azufre, así como la presencia de fases secundarias típicas de estos procesos, siendo el proceso de biooxidación/biolixiviación más eficiente para ciertas condiciones y encontrándose algunas diferencias importantes.

En cuanto a la eficiencia en el sistema, desde el punto de vista de la biooxidación de arsenopirita y pirita, se pudo ver que la mejor condición fue aquella dada para el sustrato pasante malla Tyler 200 utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans* y fue indiferente para el caso de la pirita, pero presentando un comportamiento mejor definido la malla Tyler 325, pues en estas condiciones se alcanzaron los mayores porcentajes de biooxidación para ambos minerales durante los treinta días de proceso.

Cuando se empleo el cultivo mixto, para ambos sustratos, se pudo observar que los dos tipos de sustrato tuvieron comportamientos marcadamente diferentes en la evolución del pH. Al igual que para la condición anterior, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, el sistema en presencia de pirita, como sustrato, alcanzó niveles de acidez mucho mayores en relación al sustrato de arsenopirita, además, el pH se mantuvo por mucho más tiempo en valores alrededor ~1, lo cual, contrariamente a lo que ha sido reportado por varios autores acerca de la influencia negativamente en la acción de las bacterias, prolongando su fase *lag* o de latencia, no afectó de manera significativa las curvas de crecimiento celular, por lo menos de la población no adherida (Hayward *et al.*, 1997; Das *et al.*, 1999; Ossa, 2004; Gómez & Cantero, 2005; Daoud & Karamanev, 2006).

Pese a que el comportamiento entre el cultivo mixto y *A. ferrooxidans* no fue exactamente idéntico, como se esperaba ya que a los medios de crecimiento no se les adiciono ni sulfato ferroso y/o azufre elemental como fuentes de energía, el resultado fue similar referente a la mineralogía del proceso; ya que, *Acidithiobacillus thiooxidans* no mostró ser apto para oxidar ninguno de los sustratos él solo, y el comportamiento del cultivo finalmente termino por parecerse al de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Una posible causa de esto es la inhibición de *A. thiooxidans* en los medios de crecimiento. Para confirmar esto, de las muestras que se tomaron periódicamente se sembró en medio fresco con azufre elemental y *A. thiooxidans* mostró actividad metabólica.

Aunque el uso de mezcla de microorganismos en procesos de biooxidación ha reportado mejores eficiencias globales (Dopson *et al.*, 2001; 1999; Ossa, 2004), los resultados aquí obtenidos para la mezcla *A. ferrooxidans* + *A. thiooxidans*, mostraron una eficiencia, igual o menor, en la oxidación

---

comparada con *A. ferrooxidans*, evidenciada por todas las técnicas empleadas en éste trabajo. Las diferencias con los trabajos literarios son posiblemente debidas a las metodologías empleadas, ya que, la suspensión de fuentes energéticas favorables a los microorganismos, como sulfato ferroso y azufre elemental, es una causante en la disminución de las cinéticas de oxidación mineral (Meruane & Vargas, 2003).

Aunque *A. thiooxidans* no posea la capacidad de oxidar iones de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ , principal agente oxidante en este tipo de sistemas, su capacidad de oxidar los compuestos de azufre, disminuyendo el pH del medio, unido a la capacidad de *A. ferrooxidans* en la generación de  $\text{Fe}^{3+}$  podrían promover una mejor eficiencia en el proceso, si se les suministra una fuente de energía de mayor accesibilidad como lo es el azufre elemental. Por lo tanto, es evidente que para los cultivos mezcla, el sistema fue menos activo, o en el mejor de los casos igual, y el tiempo para alcanzar un mayor grado de oxidación hubiese sido mayor, pese a que las bacterias compatibles con *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* utilizadas en estos ensayos, pasaron por un proceso de varios meses de adaptación previa, con un aumento gradual en el porcentaje de sustrato (Brahmaprakash *et al.*, 1988; Natarajan *et al.*, 1994; Das *et al.*, 1997; Third *et al.*, 2000; Mason & Rice, 2002; Deveci *et al.*, 2004; Sampson *et al.*, 2005; Shi & Fang, 2005; Mousavi *et al.*, 2006a,b; Shi *et al.*, 2006; Zhen *et al.*, 2009).

Para ambas distribuciones de tamaño de partícula y ambas condiciones bacterianas evaluadas, se dio un aumento inicial del pH, una caída inicial y posterior aumento progresivo en los valores de Eh, así como de Fe y As en solución. Este tipo de comportamiento es típico, reflejando, de una manera indirecta, las fases típicas de crecimiento microbiano, fase *lag* o de adaptación, fase de crecimiento exponencial y fase de estabilidad (Ossa, 2004; Makita *et al.*, 2004).

Es bien sabido que, minerales como los carbonatos o algunas fases silicatadas en contacto con la solución lixiviante, pueden causar consumo de ácido inicial (Ahonen & Tuovinen, 1994); sin embargo, para las condiciones utilizadas en los ensayos, los carbonatos no afectaron de forma importante el proceso, ya que por las técnicas de caracterización inicial de los concentrados minerales no fueron detectados. Por lo tanto, el aumento inicial en los valores de pH puede ser atribuido, en gran medida, tanto al consumo inicial de  $\text{H}^+$  propio de la actividad metabólica de las bacterias, como al consumo de  $\text{H}^+$  durante la reacción de oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  (Tributsch & Benett, 1981a,b; Schippers & Sand, 1999; Sand *et al.*, 2001).

El hecho de que la arsenopirita y pirita sean disueltas, en mayor o menor grado, por el ataque inicial de protones puede verse también reflejado en las curvas de concentración de arsénico y hierro, en donde se observa un aumento gradual en la concentración de cada elemento desde el inicio del proceso sin que, necesariamente, haya un incremento marcado en la concentración celular de los microorganismos empleados o el potencial de oxidación (Tuovinen *et al.*, 1995; Crundwell, 1996; Fowler *et al.*, 2001).

Una vez es satisfecho el consumo de protones, tanto por los microorganismo como por el  $\text{Fe}^{2+}$ , la continua disminución del pH es el resultado del balance entre el consumo simultaneo de protones en la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  y la liberación de protones relacionada con la hidrólisis y precipitación del hierro férrico generado, sumado a la generación de ácido producto de la oxidación de compuestos reducidos de azufre (Bhatti *et al.*, 2001; Meruane & Vargas, 2003). Otra reacción que puede contribuir al decline gradual del pH es la oxidación de la pirita, ya que, es bien sabido que durante las reacciones de oxidación del mineral, son generadas cantidades importantes de ácido sulfúrico, como se ve en las curvas de pH para éste sustrato (Schippers *et al.*, 1999).

Para el sustrato de arsenopirita, pasante malla Tyler 325, que por su proceso de obtención presentó una menor proporción de pirita como fase acompañante, se observó una menor eficiencia durante el proceso de biooxidación, un máximo de 7%, en comparación con el sustrato de arsenopirita, pasante malla Tyler 200, (18%); éste hecho también es reflejado en las curvas de potencial redox donde se observa una disminución de los valores en comparación con la malla Tyler 200. Este comportamiento puede ser explicado como que la pirita favorece el proceso de disolución de los sulfuros acompañantes,

---

favoreciendo la disminución del pH y aumentando el potencial redox mediante pares galvánicos. Para el caso de la pirita como sustrato, durante todo el proceso y en ambas distribuciones de tamaño de partícula evaluadas, el Eh alcanzó valores relativamente altos (~550mV), característicos de sistemas oxidativamente activos (Rossi, 1990; Kodali *et al.*, 2004) pero solo se logró el 8% de disolución del mineral, lo que implica profundas diferencias con lo presentado por éstos autores, debidas, posiblemente a la metodología empleada.

Otra área de controversia en la literatura concierne a la velocidad de oxidación de los constituyentes elementales de los sustratos de interés, hierro, arsénico y azufre. Para el caso de la arsenopirita, las velocidades de disolución para hierro y arsénico fueron: Para *A. ferrooxidans*,  $Fe_{200} = 247,4mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $Fe_{325} = 43,5mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $As_{200} = 236,9mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $As_{325} = 39,68mgL^{-1}diá^{-1}$ ; y para el cultivo mixto fue de:  $Fe_{200} = 241,5mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $Fe_{325} = 47,3mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $As_{200} = 231,9mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $As_{325} = 43,68mgL^{-1}diá^{-1}$ ; sugiriendo una razón de salida de Fe/As ~1.

Para el caso de la pirita, las velocidades de oxidación para hierro y azufre fueron: para *A. ferrooxidans*,  $Fe_{200} = 90,74mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $Fe_{325} = 83,9mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $S_{200} = 182,56mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $S_{325} = 165,34mgL^{-1}diá^{-1}$ ; y para el cultivo mixto fue de:  $Fe_{200} = 87,08mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $Fe_{325} = 86,12mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $S_{200} = 176,07mgL^{-1}diá^{-1}$ ;  $S_{325} = 171,68mgL^{-1}diá^{-1}$ ; sugiriendo una razón de salida de S/Fe ~2. La mayoría de las investigaciones no hacen comentarios sobre este hecho, pero, algunos investigadores si sugieren diferencias marcadas para la velocidad de oxidación para cada componente de cada sustrato. Nesbitt *et al.*, (1995) sugiere que durante la oxidación del arsénico, en aire y en agua, es más rápida que la del hierro y éste, a su vez, oxida más rápido que el azufre. Nesbitt & Muir, (1998) y Costa *et al.*, (2002) sugieren que en medio ácido, el arsénico y el hierro oxidan más rápido que el azufre. McKibben *et al.*, (2008) propone que el hierro oxida más rápidamente que el arsénico y el azufre. En contraste, Corkhill *et al.*, (2008) reporta que la oxidación del arsénico es más rápida comparada con el hierro y el azufre y estos dos últimos tienen la misma velocidad de oxidación en ambientes ácidos; y ante la presencia de bacterias, como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la reactividad decrece como  $As > S > Fe$ . Los resultados obtenidos en éste trabajo están en desacuerdo con lo observado por la literatura, pero las discrepancias pueden ser debidas, posiblemente, a que películas formadas, sobre los granos de arsenopirita, contienen hasta 30% de arsénico en su estructura, lo que aumentaría la cantidad de lixiviación de este metal y variaría la relación hasta relaciones anteriormente reportadas; también, a la precipitación de compuestos de hierro como jarositas o simplemente a discrepancias metodológicas.

Cuando se compara las velocidades de oxidación de los componentes implicados en éste trabajo se observa dependencia de los diferentes medios en los que están inmersos, Durante el desarrollo de todos los experimentos se garantizó la saturación del medio con  $O_2$  y el medio T&K no fue suplementado con sulfato ferroso lo que puede ser una discrepancia metodológica a la hora de comparar las velocidades de oxidación de los componentes elementales. Nesbitt *et al.*, (1995) y Schaufuss *et al.*, (2000) sugieren que, en aire, el arsénico es rápidamente oxidado debido a los gradientes de concentración causados por la presencia de  $O_2$  sobre la superficie de los sustratos; mientras en agua, el arsénico no es acumulado de la misma manera debido a la habilidad del agua para transportar reactivos y productos hacia y desde la superficie. Corkhill *et al.*, (2008) sugieren que la, relativamente, alta velocidad de oxidación del azufre en el medio T&K comparada con agua se debe a las diferencias en el medio de reacción, en este trabajo la velocidad de oxidación del azufre fue dos veces mayor que la del hierro y la del arsénico.

## 5.6. Cambios morfológicos y texturales en la arsenopirita y pirita

Mediante las imágenes de SEM, fue evidente que en el caso del sustrato de arsenopirita, desde el día 5, se empezaron a observar precipitados, principalmente de jarosita, sobre la superficie del mineral y en forma de agregados individuales; mientras que para el sustrato de pirita, éstos sólo empezaron a observarse a partir del día 15, y solo como agregados individuales.

---

Para el sustrato de arsenopirita hubo un mayor volumen de precipitados, evidenciados por las imágenes de SEM y por el crecimiento de las bandas de FTIR, en comparación con el sustrato de pirita, hecho que está directamente relacionado con una mayor oxidación del sustrato, y, de forma muy marcada, la principal diferencia se dio en el sentido de la velocidad a la cual se dio éste proceso. Es este sentido, esto se explica debido a que el ion sulfato, en la pirita, permaneció más tiempo en solución y no fue precipitado tempranamente, mientras que en el sustrato de arsenopirita, los valores de pH alcanzados en las etapas tempranas del proceso y, durante todo el proceso, llevaron a la precipitación temprana de los sulfatos junto con el  $\text{Fe}^{3+}$  hidrolizado, conduciendo a la formación de jarosita (Suzuki & Werkman, 1958; Schippers & Sand, 1999; Rawlings, 2005).

Otro tipo de análisis que puede hacerse, se basa en el principio de abastecimiento y demanda, como lo menciona Peterson & Dixon (2005) para explicar la biolixiviación competitiva en un sistema mezclado de pirita y calcopirita. En comparación con la arsenopirita, la pirita es un sulfuro más resistente a la oxidación, por lo cual, la demanda del agente oxidante, en este caso  $\text{Fe}^{3+}$ , será mayor para el sustrato de pirita; sin embargo, la generación de Fe no fue mayor para este sistema como pudo verse en las gráficas de Fe en solución. Este desbalance entre generación del agente oxidante y consumo en la oxidación llevó a menores porcentajes de extracción para dicho sistema. Como menciona Peterson y Dixon (2005), este tipo de análisis ha sido utilizado solamente en el contexto de un sistema de biooxidación mono-mineral y con una sola cepa y ha ayudado, por ejemplo, a explicar la razón por la cual *Leptospirillum ferrooxidans* prevalece sobre *Acidithiobacillus ferrooxidans* en la biooxidación de pirita (Rawlings *et al.*, 1999). No obstante, en principio, este mismo análisis de abastecimiento y demanda puede ser aplicado en un contexto poli-mineral con diversas cepas, en donde biolixiviación competitiva puede ocurrir.

De otro lado, aunque se ha demostrado que en una mezcla de sulfuros formando pares galvánicos las bacterias oxidarán preferencialmente aquellos con menor potencial de electrodo (EP), siendo en el caso de la mezcla pirita-arsenopirita este último quien presenta un potencial de electrodo (EP) menor ( $\sim 0,3\text{V}$ , siendo para la pirita  $\sim 0,6\text{V}$ ) (Karavaiko *et al.*, 1988; Mikhlin *et al.*, 2006), también es sabido que la contribución del mecanismo galvánico en los procesos de biolixiviación puede variar significativamente, dependiendo de muchos factores, estando entre los más importantes, el grado de diferencia entre los potenciales, el área superficial relativa entre cátodo y ánodo, la naturaleza y la duración del contacto, propiedades del medio tales como pH, sales disueltas, oxígeno y Eh. Karavaiko *et al.*, (1988), señaló que altas concentraciones del mineral catódico (pirita) en presencia de menores proporciones del mineral anódico (arsenopirita) llevan a un aumento en la disolución anódica, por lo que podría pensarse que la pirita presente en mayor proporción en la malla Tyler 200, en la arsenopirita, favoreció el proceso de disolución del mineral; y la usencia de pirita en la malla Tyler 325 no favoreció el proceso.

### **5.7. Mineralogía del proceso**

Adicionalmente, para todos los sustratos evaluados, mediante espectros de FTIR se evidenció la formación y crecimiento de bandas asociadas a la amoniojarosita. En este tipo de sistemas la presencia de este tipo de jarosita ha sido frecuentemente referenciada (Márquez, 1999; Sasaki & Konno, 2000; Ossa, 2004); sin embargo, hasta qué punto la precipitación de este compuesto, adicionado como nutriente para las bacterias, afecte la actividad de ellas y por ende la eficiencia del procesos, no ha sido reportado.

Mediante FTIR también fueron evidenciadas bandas asociadas a la amoniojarosita para los cultivos mixtos, sin embargo, en comparación con la condición utilizando *A. ferrooxidans* sus intensidades fueron menores. Aunque la amoniojarosita es una fase que normalmente ha sido reportada en este tipo de procesos (Daoud & Karamanev, 2005; Márquez, 2006), y aunque directamente no se le haya atribuido una influencia negativa en cuanto a la actividad de los microorganismos, la inhibición de

---

éstos por la disminución en las concentraciones de nitrógeno es un fenómeno bien conocido y ha sido demostrada la disminución en la velocidad de oxidación de  $\text{Fe}^{2+}$  a medida que dichas concentraciones disminuyen (Tuovinen *et al.*, 1979), por lo tanto, aunque la amoniojarosita no fue detectada en grandes cantidades, éste puede ser un factor que influye en la eficiencia del proceso.

Con respecto a las nuevas fases formadas a raíz del proceso de biooxidación de ambos sustratos, fueron encontrados básicamente, para el caso de la arsenopirita: sulfatos de hierro y amonio capaces de incorporar arsénico en su estructura (Márquez, 1999), principalmente amoniojarosita y, adicionalmente, un sulfo-arsenato férrico de baja cristalinidad comúnmente generad en estos sistemas donde la arsenopirita es el principal sulfuro presente (Langmuir *et al.*, 2006; Paktunc *et al.*, 2008); para el sustrato de pirita: también se encontró amoniojarosita e indicios de un óxido de hierro nanoparticulado, posiblemente goetita. Por otro lado, cambios morfológicos y texturales tanto en el mineral como en las nuevas fases formadas fueron evidenciados.

Se observo también que los surcos de corrosión se iniciaban desde los bordes de los granos hacia su interior, surcos cuyo espesor no sobrepasó  $2\mu\text{m}$ , para ninguna de las condiciones evaluadas.

Una posible interpretación, pero errada por principio, para la presencia de patrones de oxidación en los sustratos, en forma de surcos, canales o caminos, es que, éstos, son el producto de reacciones que ocurren entre las células adheridas a la superficie del sulfuro. Algunos estudios sobre formación de *pits* o patrones de oxidación inducidos biológicamente han sido investigados básicamente sobre pirita, mientras que para la arsenopirita, resultados en este sentido no han sido reportados. Patrones de corrosión sobre pirita, de formas y dimensiones celulares, han sido identificados en diferentes estados de desarrollo y han sido correlacionados con la actividad bacteriana, en donde una sustancia polimérica extracelular alrededor de la bacteria, en contacto con la superficie del sulfuro, facilita el aumento de las reacciones de oxidación en dicha interface, generando los *pits* observados (Sand *et al.*, 1995; Tributsch & Rojas-Chapana, 2004). Además, es sabido que el aumento en la disolución del sulfuro en proximidades a las células adheridas, ocurre ya sea vía un mecanismo directo o indirecto (Rawlings *et al.*, 1999) y, en este sentido, las interacciones entre este tipo de microorganismos, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, y la superficie de los sulfuros, juega un papel importante en los procesos de disolución oxidativa (Katrina *et al.*, 2001).

Las estructuras de corrosión en forma de canales observadas en los sustratos, se asemejan a aquellas reportadas por Bennet & Tributsch (1978) sobre cristales sintéticos de pirita oxidados en presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* adaptados a este mineral durante un periodo de dos años. Tal y como lo explican estos autores, con base en las mediciones de los diferentes estados de desarrollo de los *pits*, dichos surcos o canales inician con la formación de cadenas conformadas por pequeños *pits* en forma de bastones y los canales son el producto de una oxidación posterior, intensificada químicamente a lo largo de las cadenas. Algunos de los surcos de oxidación presentes pueden coincidir con planos de clivaje en el mineral, lo que sería el resultado de la oxidación a lo largo de zonas que son potencialmente más favorables, siendo químicamente más reactivas, al tener una energía superficial más elevada y por lo tanto, son más fácilmente oxidadas.

De otro lado, como Bennet y Tributsch (1978) señalaron, *Acidithiobacillus ferrooxidans* puede tener la capacidad de discernir las regiones más favorables de la superficie del mineral para obtener su fuente de energía y seleccionar el sitio de ataque en función de la mayor disponibilidad de defectos superficiales y por ende mayor cantidad de electrones disponibles.

El hecho de observar que dichos surcos presentan anchos que en general no superan las  $2\mu\text{m}$  y que sus contornos son suaves, es lo que ha llevado a muchos investigadores a pensar, erróneamente, en que el ataque directo por las bacterias está jugando un papel importante para esta etapa. Sin embargo, los resultados obtenidos por Katrina *et al.* (2001) mostraron que, aun en controles abióticos y en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$ , se dio la formación de *pits* de disolución con formas de bastones y de medidas similares a las células de *Acidithiobacillus ferrooxidans* utilizadas sobre las piritas de Bennet y Tributsch (1978),

---

concluyendo que la formación de estos *pits* se debe a características intrínsecas o heredadas del mineral y no necesariamente está relacionado con la actividad de las células adheridas, lo que concuerda con lo observado en este trabajo, ya que en algunos granos de los controles estériles se observó la formación insipiente de *pits* de corrosión.

Debido a las diferencias marcadas en las velocidades de oxidación de los componentes primarios en los sustratos el proceso responde con la formación de películas sobre la superficie del mineral. En la literatura, películas de azufre elemental se han observado como capas superficiales y no hay consenso en que ésta sea una barrera química a la oxidación de los minerales. Otras capas observadas incluyen sulfatos férricos incorporando arsenatos en su estructura (Fernández *et al.*, 1996b; Cruz *et al.*, 1997; Márquez 1999) y oxihidroxidos de hierro tipo goetita (Nesbitt *et al.*, 1995). Todos estos compuestos fueron detectados como productos principales de oxidación del principal.

Sobre la ubicación y composición de éstas películas, Nesbitt *et al.*, (1995), usando perfiles en profundidad mediante AUGER, identificaron una zona de 90Å de profundidad rica en oxígeno; entre 90 y 220Å una zona deficiente en oxígeno y entre estas dos una zona deficiente en azufre. Schaufuss *et al.*, (2000) modela la superficie de la arsenopirita como una serie de capas entre las que se encontraban  $Fe_xAs_yO$  y  $FeOOH$  como monocapas. Y se acuñó el término azufre-deficiente y hierro-deficiente como un término común en varios estudios espectroscópicos para la oxidación de la arsenopirita. En este sentido, Nesbitt *et al.*, (1995) reportaron una película enriquecida en arsénico y hierro y empobrecidas en azufre; mientras que Costa *et al.*, (2002) identificó una superficie enriquecida en azufre y deficiente en hierro. Es importante anotar sobre la importancia en la detección de éstas películas, la mayoría observadas en este trabajo y, también, que las películas observadas son llamadas azufre-deficientes y no azufre elemental-deficientes, enmarcando el punto de quiebre sobre la presencia, o no, de películas de azufre elemental sobre el mineral (Nesbitt *et al.*, 1995; Mikhlin *et al.*, 2006).

El principal producto de oxidación formado durante el proceso de biooxidación, para ambos sustratos, fue jarosita, identificada mediante SEM/EDS, DRX, FTIR y Mössbauer. Con base en los espectros de FTIR de los productos de oxidación, las bandas correspondientes al componente amónico de la jarosita fueron identificadas, por lo que la formación de amoniojarosita en el proceso de biooxidación fue confirmada, además, para la arsenopirita, se observaron bandas correspondientes al ion  $AsO_4^{-3}$  interpretadas como la fase amoniojarosita incorporando arsénico en su estructura (Márquez 1999) comportamiento que implica la pasivación de iones As(III) y As(IV) ayudando a controlar el alto riesgo a la salud que se puede generar por la explotación minera de oro en donde la arsenopirita es uno de los minerales más importantes (Bottomley *et al.*, 2004). La amoniojarosita es una fase que, comúnmente, ha sido reportada durante los procesos de biooxidación (Lazaroff *et al.*, 1982; Sasaki & Konno, 2000; Daoud & Karamanev, 2006).

La amoniojarosita formada durante el proceso fue observada tanto en forma de granos o aglomerados aislados, así como envolviendo los granos de arsenopirita restantes en ambas mallas, también se observó precipitación por pulsos y diferentes tonalidades, lo que ha sido interpretado como diferentes contenidos de arsénico en la estructura de los materiales precipitados (Márquez, 1999), sin embargo, como se pudo ver mediante SEM, al interior de estos aglomerados los granos de arsenopirita siguen mostrando rasgos texturales de oxidación (como bordes corroídos), los cuales se acentúan más a medida que se desarrolla el proceso, es decir, sigue habiendo una oxidación en el sistema, sin que estos precipitados se constituyan en un factor inhibitorio para el proceso de biooxidación al constituirse en barreras de difusión posiblemente porosas. Para el caso de la pirita, la amoniojarosita se observó como aglomerados aislados y en ningún caso recubriendo núcleos remanentes del mineral. Los espectros Mössbauer, para la pirita, sugieren la presencia de un óxido de hierro férrico nano-particulado, posiblemente goetita. Los difractogramas de rayos-X, de la arsenopirita, sugieren la formación de un sulfo-arsenato férrico de baja cristalinidad; ésta interpretación está de acuerdo con lo observado por Paktun *et al.*, (2008).

---

La literatura está dividida respecto al hecho de la presencia de especies de azufre, sobre la superficie del mineral, durante el proceso de oxidación y la posible barrera química, debido a la acumulación preferencial, que ésta puede generar al proceso de disolución del mineral.

McGuire *et al.*, (2001a) sugiere que es el uso de ciertas técnicas lo que ha generado una imposibilidad para observar las películas de azufre sobre la superficie del mineral. Los autores concluyen que ésta película es altamente volátil y que los procedimientos experimentales, cámaras de vacío entre otros, y que el procedimiento correcto de detección implica el congelamiento de la muestra. También sugieren que procedimientos electroquímicos pueden favorecer la acumulación de azufre elemental y su posible detección mejoraría.

Para algunos autores, la presencia de azufre elemental sobre la superficie del mineral es la clave fundamental para entender el mecanismo de disolución, ésta película no fue posible observarla mediante las técnicas empleadas durante la ejecución de este trabajo; pero, Fernández *et al.*, (1996a,b) si observaron una película de azufre elemental sobre la superficie de la piritita después de un proceso de oxidación electroquímica en medio ácido. McGuire *et al.*, (2001b) también confirmó la presencia de azufre elemental, como producto de oxidación, sobre la superficie del mineral usando espectroscopía Raman. Ellos observaron que, aunque el mecanismo exacto para la formación de azufre elemental no es conocido, éste procede, probablemente, como primer producto en la vía de la formación de sulfato como producto final del proceso de disolución. Y sobre la formación de ésta película algunos autores han sugerido que la acumulación de ella, forma películas pasivantes, resultando en una disminución de la velocidad de oxidación del mineral (Fernández *et al.*, 1996a; Cruz *et al.*, 1997), mientras que otros sugieren que, debido a la no uniformidad y/o a la porosidad de la misma, los iones de la solución pueden difundir y el proceso de disolución puede continuar (McGuire *et al.*, 2001b; Mikhlin *et al.*, 2006).

Es por esto que la presencia de películas de azufre elemental, y su actividad inhibitoria del proceso, continúa siendo un tema aun no aclarado. Varios autores han observado la presencia de películas de azufre elemental y otros no. Pero el acuerdo es general cuando se trata del proceso de formación de oxianiones de azufre como los iones sulfito y sulfato (Nesbitt *et al.*, 1995; Nesbitt & Muir, 1998; Schaufuss *et al.*, 2000; Corkhill *et al.*, 2008).

La presencia de éstos iones es mayor en solución comparada con la fase sólida, superficie del mineral, la cual se ha observado ser deficiente en azufre (Corkhill *et al.*, 2008). Cuando se ha encontrado  $-\text{SO}_4^{2-}$  sobre la superficie del mineral, el hierro, en la estructura de éste compuesto, ocurre como Fe(III) (Nesbitt & Muir, 1998; Corkhill *et al.*, 2008), el corrimiento que sufren los espectros Mössbauer a través del proceso de biooxidación sugiere la presencia de una estructura de Fe(III) en coordinación tetraedral.

La mayoría de los trabajos publicados no han presentado, cuando proponen mecanismos de reacción para el mineral, la composición y la estequiometría de las películas que se forman sobre la superficie del mineral después del proceso de disolución oxidativa. Nesbitt *et al.*, (1995) y Klauber (2003) estudiando la calcopirita y la loellingita sometidas a modelación por reconstrucción superficial; observaron diferentes estequiometrías a las esperadas en el trabajo. Lo mismo se ha observado para la arsenopirita. Buckley & Walker (1988) concluyeron que son las primeras capas superficiales del mineral las que toman un papel fundamental para la reacción del mineral por el  $\text{O}_2$ . Esto resulta en una desestimación de la concentración de hierro. Nesbitt *et al.*, (1995), Nesbitt & Muir (1998) y Schaufuss *et al.*, (2000) agregaron que el arsénico es preferencialmente enriquecido en la superficie del mineral; lo que ha generado un cálculo estequiométrico de 1:12:1 para el hierro, arsénico y azufre después de periodos prolongados de oxidación.

Mikhlin *et al.*, (2006) postulo que la falta de estequiometría de las películas que aparecían recubriendo los granos del mineral se debía a vacancias en el sitio catiónico de la estructura cristalina, generando una estructura más desordenada o perdida de cristalinidad del mismo. Nesbitt *et al.*, (1995) argumento

---

que el hierro, el arsénico y el azufre, durante el proceso de oxidación del mineral, muestran más de un estado de oxidación, de la siguiente manera: el hierro como Fe(II) y Fe(III); el arsénico como As(0) y As(I); el azufre como monosulfuro, polisulfuro y disulfuro; lo que genera una transferencia de carga considerable entre las especies próximas a la superficie del mineral. Los autores propusieron que la sustitución del Fe(III) por Fe(II) puede ocurrir, generando una vacancia por cada dos iones de Fe(III) y para mantener la estabilidad de carga superficial se genera una disminución en la estequiometría de los compuestos superficiales.

McIntyre *et al.*, (1996) observaron que, para sulfuros binarios, clivadas bajo atmosferas ricas en N<sub>2</sub>, la razón producida, de la región espectral, S2p / Metal3p es considerablemente mucho más alta de lo esperado según su estequiometría. La presencia de pequeñas cantidades de moléculas como O<sub>2</sub> y agua pueden ser responsables por la ausencia de estequiometría de las películas generadas. Por ejemplo, para la galena (PbS) clivada en aire y en vacío, en vacío el clivaje resulta en una superficie con una composición cercana a la estequiométrica comparada con la superficie clivada en aire.

Como pudo verse en los resultados obtenidos mediante DRX, una de las fases comúnmente identificada fue la amoniojarosita, sin embargo, según estudios realizados en este tipo de compuestos (Dutrizac & Jambor, 2000) se ha demostrado que la identificación de este tipo de jarosita es complicado debido a la similitud de los patrones de DRX con aquellos pertenecientes a la K-jarosita o Na-jarosita.

Así, muchos minerales clasificados como jarosita sobre la base de sus espectros de DRX han sido reevaluados y reclasificados mediante el uso de técnicas más sensibles como microsonda electrónica (Dutrizac y Jambor, 2000). De otro lado, debido a la mayor estabilidad de la jarosita rica en álcalis en relación con la hidroniojarosita, ésta podría formarse a partir de soluciones en las que tales elementos (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) estén en concentraciones muy bajas y, como ha podido ser evidenciado en este trabajo, muchos de los análisis realizados en los precipitados formados, capítulos de FTIR, han revelado la presencia de amonio y potasio en concentraciones importantes. Otro tipo de elemento que podría estar entrando en la estructura de la jarosita es el P ya que el sitio del anión (SO<sub>4</sub>)<sup>2-</sup> puede ser ocupado por PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, formando series de solución sólida (Scott, 1987) y por lo tanto, modificando su estructura cristalina y parámetros de celda, induciendo así corrimientos en los picos de DRX.

Con base en los espectros de FTIR de los productos de oxidación, las bandas correspondientes al componente amónico de la jarosita fueron identificadas, por lo que la formación de amoniojarosita en el proceso de biooxidación fue confirmada. La amoniojarosita es una fase que, comúnmente, ha sido reportada durante los procesos de biooxidación (Daoud & Karamanev, 2006; Sasaki & Konno, 2000; Lazaroff *et al.*, 1982).

La preferencia del K<sup>+</sup> por el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y de éstos sobre el Na<sup>+</sup> o H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> en la formación de la jarosita, ha sido reportada previamente (Grishin *et al.*, 1988; Dutrizac & Jambor, 2000), siendo la estabilidad de la K-jarosita mucho mayor en relación con la amoniojarosita y la de esta última sólo ligeramente superior a la de la natrojarosita (Dutrizac & Jambor, 2000). Por lo que se podría pensar que para este caso, la formación de amoniojarosita en el sistema se da posterior a la formación de la K-jarosita, una vez las concentraciones de K<sup>+</sup> en solución hayan sido agotadas al precipitarse, dando paso a la incorporación de las cantidades de amonio en los sulfatos básicos de hierro.

La fuente de K para la formación de este tipo de jarosita proviene, principalmente, de las sales basales del medio de cultivo y de la disolución de minerales como los feldespatos, fases minerales acompañantes de los sustratos. Aunque, aun después de algunos días de iniciado el proceso se encuentran todavía proporciones considerables de estos minerales, se ha demostrado que aún con concentraciones de 0.02mM de K en solución se empieza a favorecer su precipitación en medios de sulfato de hierro (Dutrizac & Jambor, 2000).

Mediante los análisis realizados por SEM/EDX se pudo ver que los precipitados correspondientes a K-jarosita generalmente mostraban presencia de Si y Al. Las variaciones en las tonalidades de grises al interior de estos precipitados pueden sugerir, en principio, que la presencia de Al y Si esté relacionada



---

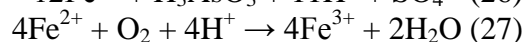
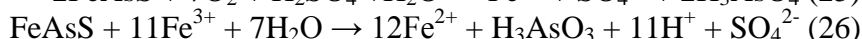
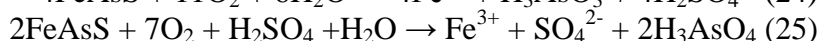
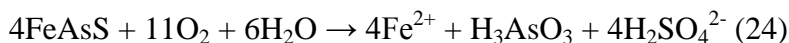
con fases separadas, más que de una incorporación de Al o Si en la jarosita. Aunque la incorporación de Al en la jarosita puede ocurrir, se ha demostrado que a  $\text{pH} < 2$  (como los obtenidos durante todos los experimentos) y para proporciones  $\text{Al/Fe} < 0,75$ ; la formación de jarosita libre de Al es dominante (Dutrizac & Jambor, 2000). La precipitación de este tipo de compuestos, principalmente sílice amorfa, ha sido evidenciada en procesos de biooxidación en donde las fases ricas en Si como el cuarzo o aluminosilicatos (fases presentes en este estudio) pueden estar siendo lixiviados en este tipo de ambientes ácidos (Ossa, 2004; Márquez, 1999). Adicionalmente, según Dutrizac (1984) la sílice, en sistemas ácidos, está presente principalmente como grandes complejos aniónicos que no entran en la estructura de la jarosita, pero que pueden llevar a la formación de sílice amorfa en forma de gel y, aunque teóricamente es posible que el anión  $\text{SiO}_4^{4-}$  pueda ser incorporado parcialmente dentro de la estructura de la jarosita, esta especie prevalece sólo en medios muy básicos, donde la precipitación de la jarosita no ocurre.

---

## 6. MODELOS MINERALÓGICOS PROPUESTOS

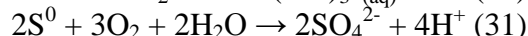
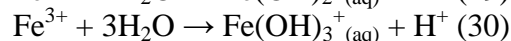
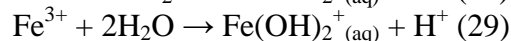
### 6.1. Arsenopirita (FeAsS)

Dentro de un modelo netamente cualitativo de oxidación, en ambientes ricos en O<sub>2</sub> y Fe<sup>3+</sup>, se puede concluir que la biooxidación del sistema fue un proceso electroquímico que inicialmente consumió ácido, concurrente con una disminución inicial del potencial redox. El consumo de H<sup>+</sup>, por la protonación superficial del mineral, es un mecanismo combinado entre las reacciones de oxidación del Fe<sup>2+</sup>, reacción acelerada en la presencia de *A. ferrooxidans*, y la disolución del sustrato en presencia de H<sup>+</sup>.

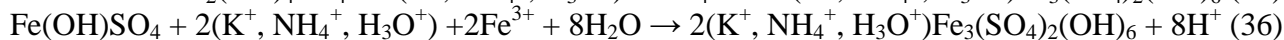
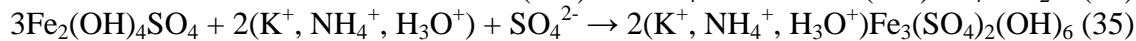
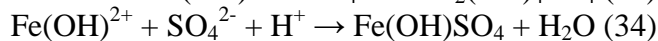
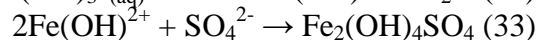
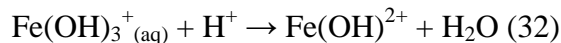


Estas reacciones indican que el hierro ferroso no es oxidado mientras que el arsénico y el azufre sí, generando sitios activos sobre la superficie del mineral. Lo que sugiere que la velocidad de oxidación de la arsenopirita depende de la concentración de oxígeno disuelto y de la concentración de Fe<sup>3+</sup>; por lo tanto, el paso determinante del proceso es la transferencia electrónica desde la superficie del mineral hasta el agente oxidante.

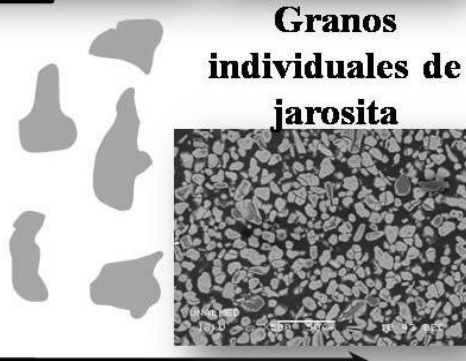
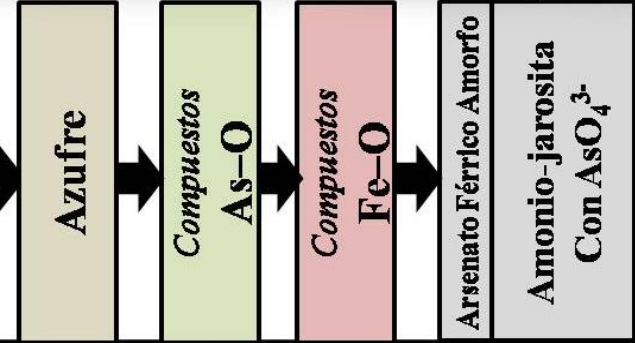
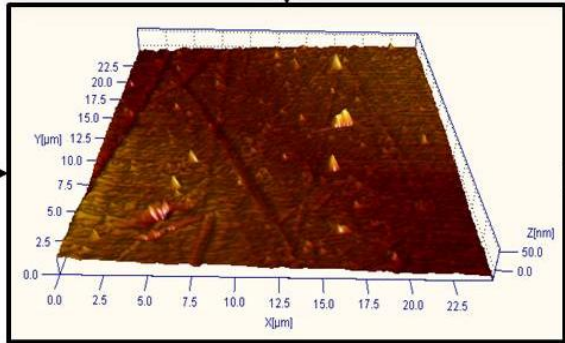
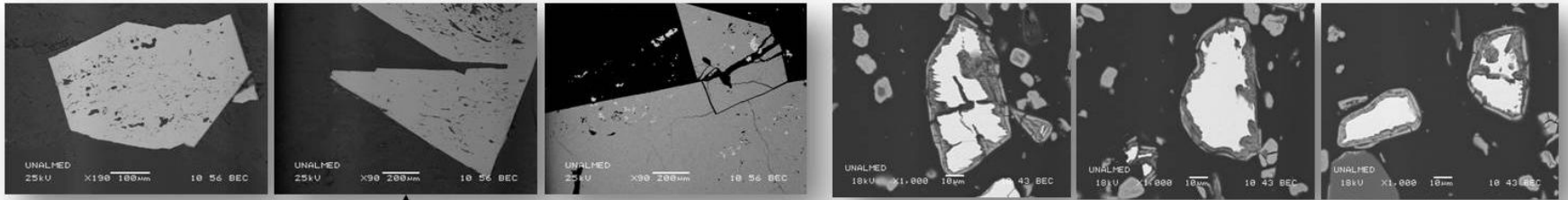
El decline gradual del pH inicia tanto por la hidrólisis del Fe<sup>3+</sup> como por la oxidación del S<sup>0</sup>, mediada por las bacterias, convirtiéndolo a sulfato.



Adicionalmente hay otras reacciones en competencia con la reacción de hidrólisis del hierro, en las cuales se forman sulfatos básicos de hierro (precursores de la jarosita) como Fe<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> ó Fe(OH)SO<sub>4</sub>, los cuales, en presencia de cationes afines como K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> reaccionan para formar jarosita, de acuerdo a las siguientes reacciones (Sasaki, 2000):



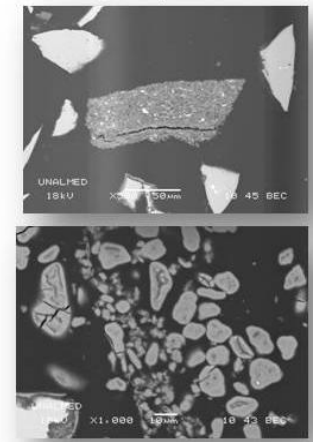
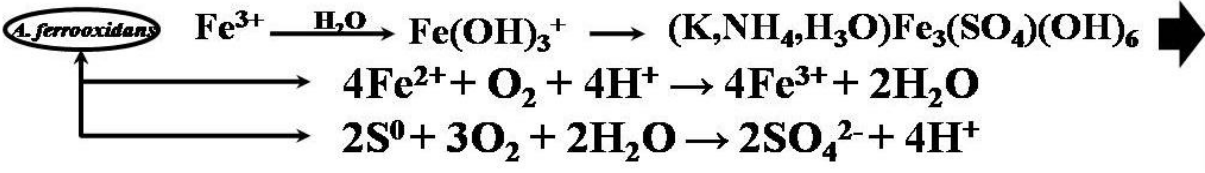
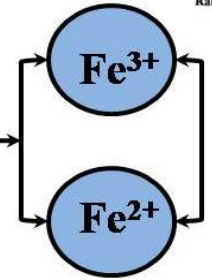
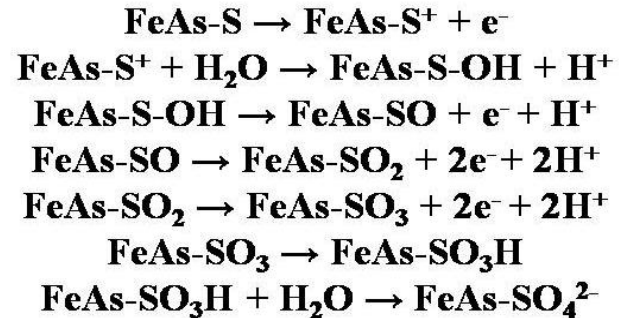
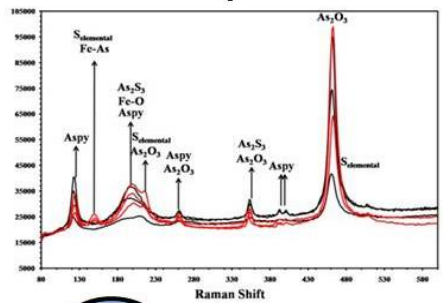
Fue constatado mediante los análisis de EDS, DRX y FTIR que prácticamente todos los sulfatos de hierro incorporaban cantidades importantes de arsénico en su estructura, posiblemente, como una adsorción de AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup> en los granos de jarosita o en algunas fases amorfas formadas.



Superficie del Mineral

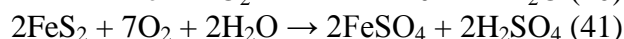
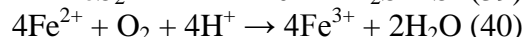
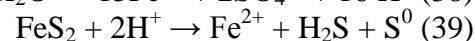
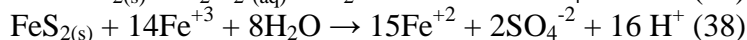
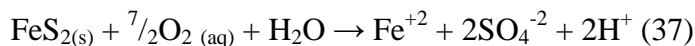
Película superficial

(Si<sup>4+</sup>) (Al<sup>3+</sup>) (Mg<sup>2+</sup>) (P<sup>5+</sup>)  
Precipitación  
Fases Amorfas de Si y Al

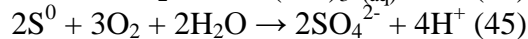
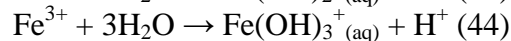
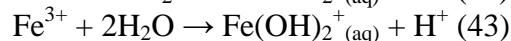


## 6.2. Pirita (FeS<sub>2</sub>)

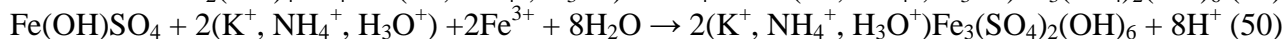
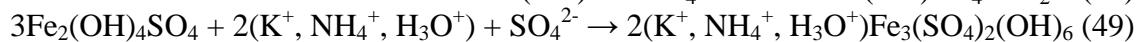
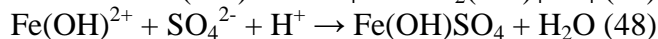
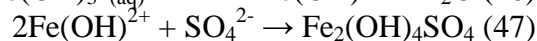
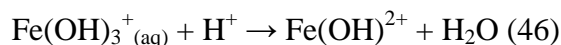
Dentro de un modelo netamente cualitativo de oxidación, en ambientes ricos en O<sub>2</sub> y Fe<sup>3+</sup>, se puede concluir que la biooxidación del sistema fue un proceso electroquímico para el que no es necesario el consumo de ácido, protonación superficial, para iniciar el proceso de disolución. Debido a la rápida disolución inicial el potencial redox es muy alto durante periodos prolongados de oxidación. El mecanismo de disolución del mineral es un potente generador de acidez en los sistemas de oxidación y, debido a la presencia de microorganismos como *A. ferrooxidans*, los potenciales redox generados son lo suficientemente grandes para disolver los materiales acompañantes del mineral.



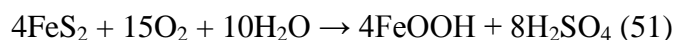
El decline gradual del pH inicia tanto por la hidrólisis del Fe<sup>3+</sup> como por la oxidación del S<sup>0</sup>, mediada por las bacterias, convirtiéndolo a sulfato.

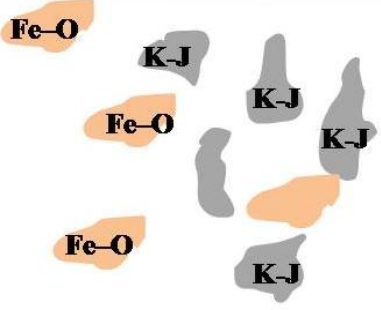
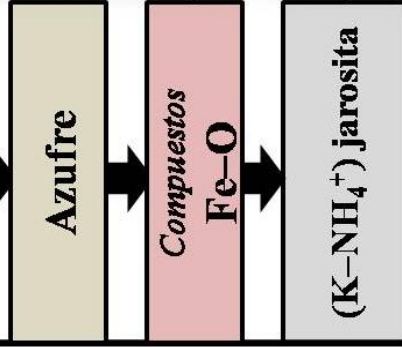
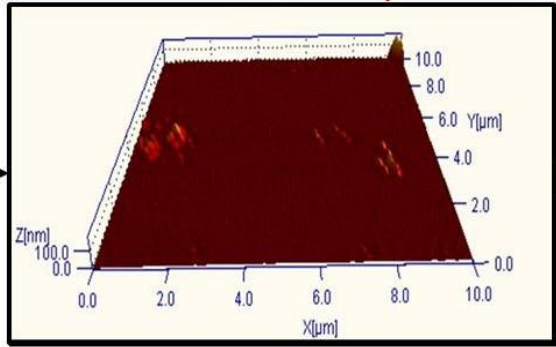
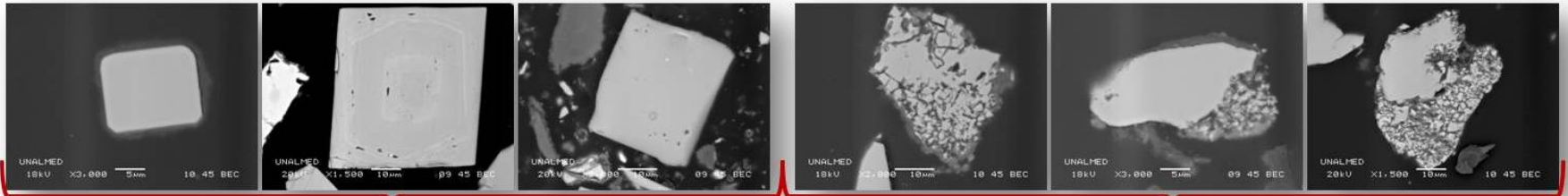


La hidrólisis y precipitación de los oxihidróxidos producidos durante la oxidación del mineral aparecen cuando las especies solubles de Fe<sup>2+</sup> son oxidadas hasta Fe<sup>3+</sup>, adicionalmente hay otras reacciones en competencia con la reacción de hidrólisis del hierro, en las cuales se forman sulfatos básicos de hierro (precursores de la jarosita) como Fe<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> ó Fe(OH)SO<sub>4</sub>, los cuales, en presencia de cationes afines como K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> reaccionan para formar jarosita, de acuerdo a las siguientes reacciones (Sasaki, 2000):



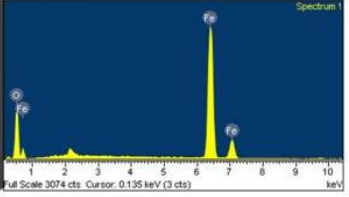
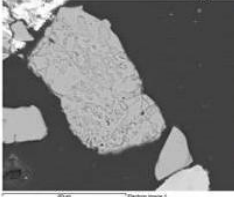
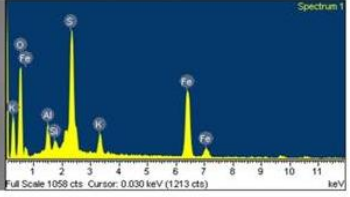
En la presencia de O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O y a intervalos de pH ~2, el Fe<sup>2+</sup> que sale a la solución es rápidamente oxidado a Fe<sup>3+</sup> ya sea por el sistema o por la acción de microorganismos hierro-oxidantes como *A. ferrooxidans*, y éste ion a su vez puede ser rápidamente hidrolizado hasta la forma de óxidos e hidróxidos férricos. Y Fue constatado mediante los análisis de EDS, DRX y FTIR una cantidad importante de goetita formada como uno de los productos principales de la oxidación de la pirita.





Superficie del Mineral

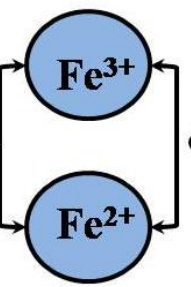
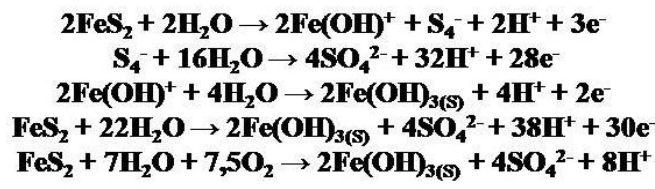
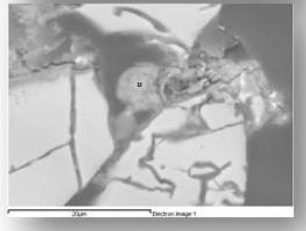
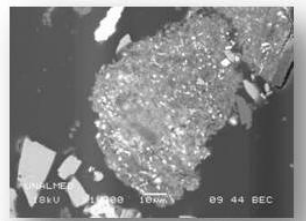
Película superficial



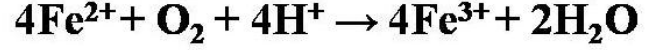
(Si<sup>4+</sup>) (Al<sup>3+</sup>) (Mg<sup>2+</sup>) (P<sup>5+</sup>)

Precipitación Fases Amorfas de

Si y Al



*A. ferrooxidans*



---

## 7. FLOTACIÓN DIFERENCIAL EN CELDA TIPO HALLIMOND

### 7.1. Introducción

Uno de los microorganismos ampliamente usados en el bio-procesamiento de minerales es *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. ferrooxidans*) de carácter autótrofo, acidófilo, mesófilo, cuya fuente de energía, para el desarrollo de sus procesos metabólicos, es el ion ferroso o compuestos reducidos de azufre. Son gram negativas, con formas bacilares promediando 0,5  $\mu\text{m}$  de grosor y 1,0  $\mu\text{m}$  de longitud; por lo general, se encuentran en pares sobre la superficie de los minerales (Rawlings, 2001, 2002, 2005; Ehrlich & Newman, 2009).

Varios estudios han mostrado el uso potencial de microorganismos, como agentes colectores o bio-modulares superficiales, en procesos de flotación. Por ejemplo, se ha estudiado la depresión selectiva de pirita proveniente del carbón usando *A. ferrooxidans* (Dogan *et al.*, 1985, 1986; Harada & Kuniyoshi, 1985; Townsley *et al.*, 1987). El efecto del medio de crecimiento de *A. ferrooxidans* sobre la flotabilidad de piritas y galenas fue estudiado por Misra & Chen (1995). Ellos observaron que la pirita era, significativamente, depresada empleando una combinación de agentes colectores, como el xantato, previo a un proceso de biomodulación superficial con *A. ferrooxidans*.

El mecanismo de depresión de la pirita ha sido atribuido a la oxidación de azufre elemental, hasta sulfato, sobre la superficie del mineral generando una superficie hidrofóbica (Misra & Chen, 1995; Misra *et al.*, 1996). Yelloji *et al.*, (1992a,b; 1997) Estudiaron el efecto del pre-tratamiento bio-oxidante, con *A. ferrooxidans*, sobre la flotabilidad de la galena y la esfalerita.

Nagaoka *et al.*, (1999), estudio la flotabilidad de cinco sulfuros, pirita, calcocita, molibdenita, millerita y galena, en la presencia de *A. ferrooxidans*. Ellos observaron que la pirita era significativamente depresada por las bacterias mientras que la flotabilidad de los otros sulfuros no fue afectada. Se postulo que la supresión de la flotabilidad de la pirita era causada por la adherencia de los microorganismos a la superficie del mineral.

Kolahdoozan *et al.*, (2004) y Hosseini *et al.*, (2005) trabajando con bioflotación de minerales de refractarios de cobre mediante la interacción de *A. ferrooxidans* encontraron que la pirita fue depresada, en cerca del 50%, mientras que la calcopirita y los demás sulfuros acompañantes no se afectaron superficialmente. Yuce *et al.*, (2006) investigó el efecto del pre-acondicionamiento bacterial sobre la flotación de minerales de cobre usando *A. ferrooxidans*. Los resultados indican que, después del tratamiento con bacterias, la pirita fue depresada y se incremento la recuperación de calcopirita en 22%. Sharma *et al.*, (1999) estudio la bio-flotación selectiva de calcopirita y pirita usando *A. ferrooxidans*. El crecimiento celular, en medios de cultivo con el mineral, mostró una alta hidrofobicidad en comparación con las células crecidas en medio 9K.

Chandraprabha *et al.*, (2004a, 2004b, 2005) estudiaron la depresión selectiva de la pirita, proveniente de la calcopirita y la arsenopirita, mediante biomodulación por *A. ferrooxidans*. Ellos observaron que después de la interacción con células bacterianas la pirita seguía siendo depresada, aun en la presencia de xantato como colector. El acondicionamiento inicial del concentrado mineral con colector, tipo xantato, seguido de un tratamiento con bacterias resulto en una mejor selectividad.

Es por esto que en la bioflotación selectiva, algunos microorganismos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Amini *et al.* 2009; Hosseini *et al.* 2005; Kolahdoozan *et al.*, 2004), *Lepstospirillum ferrooxidans* (Vilinska y Hanumantha, 2008) y menos comúnmente especies como *Staphylococcus carnosus*, *Bacillus firmus* y *Bacillus subtilis* (Langwaldt y Kalapudas, 2007) y *Bacillus polymyxa* (Subramanian *et al.* 2003), han sido estudiados con el fin de ser usados para cambiar (modular) las propiedades superficiales de los minerales de interés, ya sea mediante su adhesión selectiva a los



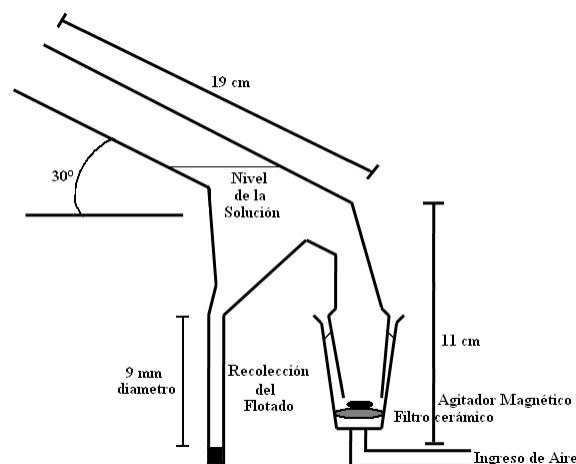
sulfuros o modificando químicamente su superficie, en búsqueda de nuevas opciones que reemplacen los compuestos químicos (de reconocida capacidad contaminante), usados comúnmente en la flotación comercial como floculantes, colectores o depresantes (cianuros, dicromatos, polisulfuros, etc.) (Santhiya *et al.*, 2006, Misra *et al.*, 1996; Chandraprabha y Natarajan, 2006; Chandraprabha *et al.*, 2004, 2005; Hosseini *et al.*, 2005).

Esta interacción mineral-bacteria resulta en varias consecuencias importantes y relevantes en la bioflotación (biomodulación) de minerales (Deo y Natarajan, 1998; Sharma, 2001): (i) la adhesión de microorganismos a la superficie de minerales, por un periodo de tiempo prolongado, la cual resulta en la formación de biopelículas, con características fisicoquímicas diferentes a las del mineral precursor; (ii) reacciones de reducción y oxidación biocatalizada, lo que ocurre cuando este tipo de microorganismos interactúan con las superficies minerales que sirven de sustratos, generando cambios a nivel químico, físico o una combinación de los dos a nivel de los últimos nanómetros de la superficie de éste, modulando su superficie con relación al mineral precursor; (iii) la quimisorción de productos metabólicos que resulta en la modificación superficial debido a la disolución de constituyentes del mineral. Todos estos aspectos, en principio, podrían sobrellevar el problema de la semejanza en comportamiento hidrofóbico de los diferentes minerales específicos, permitiendo procesos de separabilidad por flotación más eficientes, sobre la hipótesis de superficies específicas más disímiles.

## 8.2. Metodología

Los ensayos de flotación diferencial fueron llevados a cabo en una celda de flotación, tipo *Hallimond*, figura 72, empleando un gramo de mineral, como una mezcla artificial de pirita y arsenopirita 51,8 y 44,9%, respectivamente. Las muestras fueron, primero, pre-oxidadas con *Acidithiobacillus ferrooxidans* en 100 ml de medio T&K a pH 2 y una población de  $10^7$  bacterias  $\text{ml}^{-1}$ . 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  $120 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$  durante todo el proceso de flotación. Algunos ensayos se desarrollaron en ausencia de microorganismos, como modificadores superficiales, pero con la presencia de colector.

Para el análisis mineralógico final, mediante el uso de microscopio óptico de luz plana polarizada (MOLPP), se elaboraron secciones pulidas del material flotado y se hizo conteo de puntos, para identificar las fases minerales producto del proceso de flotación, según norma ASTM D2799.



**Figura 72.** Diagrama esquemático de la celda *Hallimond*, modificada, empleada para todos los ensayos de bio-flotación

Del concentrado mineral obtenido se tomó una muestra para realizar un montaje de granos en resina epóxica, el cual fue desbastado utilizando carburo de silicio, malla 200, 400, 600, 1000, 1200 y 1500

para finalmente ser pulido utilizando alúmina de granulometría 3µm, 1µm y 0.05µm. La sección pulida fue analizada 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, con el fin de determinar las fases minerales presentes. El método empleado para esto fue conteo de puntos, según la norma ASTM D2799 del 2009. Los resultados obtenidos fueron confirmados mediante difracción de rayos X (DRX).

### 8.3. Resultados

En la figura 73, se puede apreciar un difractograma de rayos-X caracterizando la mezcla artificial de arsenopirita-pirita para ser sometida a acción bacteriana. En el espectro se observan las reflexiones características de ambos minerales, además, la presencia de cuarzo y un polimorfo de la pirita, pirrotita, como minerales acompañantes del proceso.

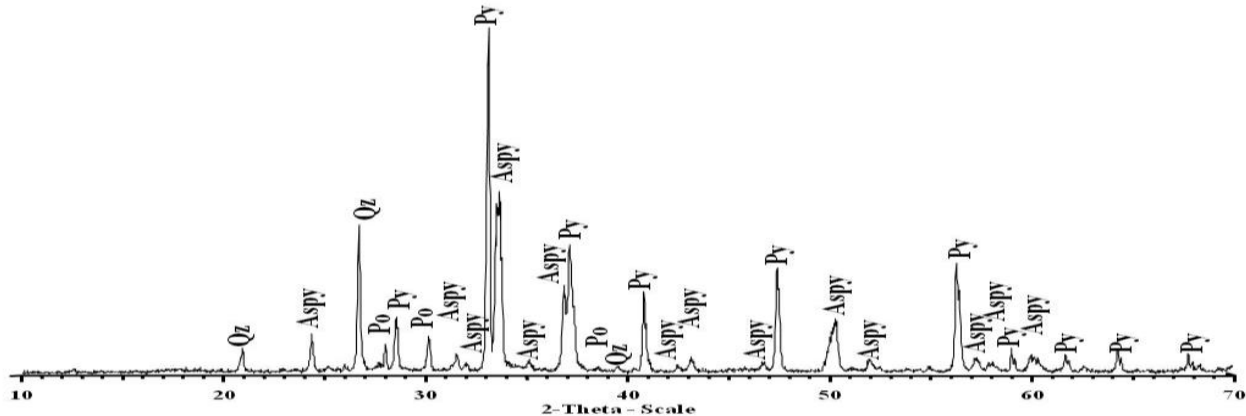


Figura 73. Difracción de rayos-X para la mezcla pirita-arsenopirita a ser sometida por oxidación bacteriana. Símbolos: pirita (Py), arsenopirita (Aspy), cuarzo (Qz) y pirrotita (Po).

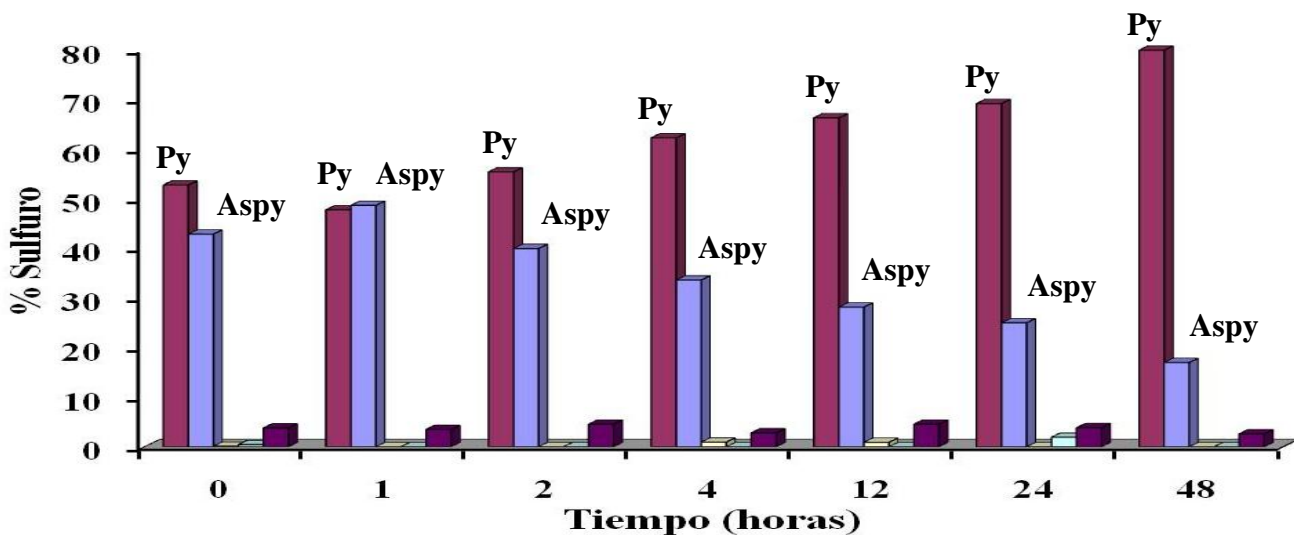


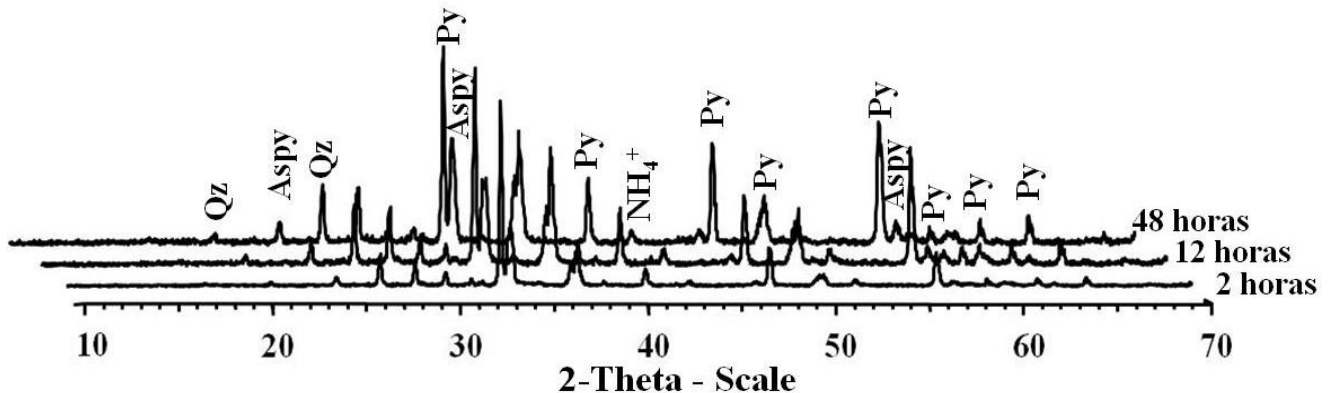
Figura 74. Gráfico de barras para el proceso de flotación diferencial en celda *Hallimond* modificada de la mezcla artificial de pirita-arsenopirita. Donde se identifica: 0 horas, mezcla original. 1 hora, mezcla flotada sin tratamiento bacteriano. 2 horas, mezcla flotada después de dos horas de pre-tratamiento 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.

La respuesta de la mezcla de sulfuros a la flotación, después de la interacción con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y una población celular de  $10^8$  células  $\times$   $\text{ml}^{-1}$ , se puede observar en la figura 74. En la presencia de  $10^{-5}$  M de di-isobutil-ditiofosfinato de sodio, se logro una recuperación de pirita de 80% y la arsenopirita fue depresada en 83%, después de 48 horas de pre-tratamiento oxidante, figura 74.



Cuando no se empleo un pre-tratamiento oxidante con microorganismo la recuperación de pirita fue de 47,8% y la arsenopirita solo se logro depresar en 48,7%, ambos ante la presencia de colector.

Mediante difracción de rayos-X se siguió el proceso de flotación diferencial, monitoreando en cada toma de muestras el crecimiento en intensidad de las principales bandas de los sulfuros flotados. La figura 75 muestra el comportamiento de las bandas de la pirita a través del proceso. Se observa un crecimiento paulatino de las principales bandas de éste mineral sugiriendo un crecimiento relativo proporcional a la disminución de la arsenopirita presente en el concentrado.



**Figura 75.** 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.

El pre-tratamiento oxidante con *Acidithiobacillus ferrooxidans* antes de la adición del colector y el espumante, genera grandes cambios en la reduce la flotabilidad de la pirita, incrementándola considerablemente, durante el proceso flotación. Ésto indica que, la interacción mineral-bacteria generó cambios en la superficie de los minerales, como formación de películas con características fisicoquímicas diferentes a las del sulfuro original (Márquez *et al.*, 2009). Esto no se pudo constatar mediante los análisis de difracción de rayos-X, debido, posiblemente, al espesor de la película que para el tiempo de tratamiento debería estar por debajo de las micras según muestran los análisis de SEM realizados anteriormente.

Se puede decir, entonces, que este ensayo preliminar arrojó resultados muy alentadores que podrían subsanar el problema de semejanza en el comportamiento entre estos sulfuros, ya que se logró aumentar la eficiencia en el proceso de separación al generar superficies disímiles. Cabe anotar que este es un ensayo preliminar y se hace necesario una investigación más detallada sobre, la concentración adecuada de colector y espumante, la influencia del pH, realizar medidas de ángulo de contacto y potencial Z, las cuales permitirían aclarar el panorama.

---

## 8. BIBLIOGRÁFIA

- Abraitis, P.K., Pattrick, R.A.D., Vaughan, D.J.**, 2004. Variations in the compositional, textural and electrical properties of natural pyrite: a review. *International Journal of Mineral Processing* 74, 41–59.
- Acevedo, F., Gentina, J.**, 1993. Bioleaching of minerals-a valide alternative for developing countries. *Journal of Biotechnology*. 31, 115-123.
- Addler, H.H., Kerr, P.F.**, 1965. Variations in infrared spectra, molecular symmetry of sulfate minerals. *The American Mineralogist*. 50, 132-147.
- Ahonen, L., Tuovinen, O.**, 1993. Alterations in surfaces and textures of minerals during the bacterial leaching of a complex sulfide ore. *Geomicrobiology Journal*, Vol. 10:207-217.
- Ahonen, L., Tuovinen, O.**, 1994. Solid-phase alteration and iron transformation in column bioleaching of a complex sulfide ore. In: *Environmental Geochemistry of sulfide oxidation*. ACS Symposium Series 550. American Chemical Society, Washington.
- Akcil, A., Ciftci, H., Devenci, H.**, 2007. Role and contribution of pure and mixed cultures of mesophiles in bioleaching of a pyritic chalcopyrite concentrate. *Minerals Engineering*. Vol 20. Pp 310–318.
- Alpers, C.N., Blowes, D.W.**, 1994. *Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation*. ACS Symp. Ser. 550. American Chemical Society, Washington, DC.
- Amini, E., Oliazadeh, M., Kolahdoozan, M.**, 2009. Kinetic comparison of biological and conventional flotation of coal. *Minerals Engineering*, 22, 4, 344-347.
- Banks, D., Younger, P.L., Arnesen, R.T., Iversen, E.R., Banks, S.B.**, 1997. Mine-water chemistry: The good, the bad and the ugly. *Environ. Geol.* 32, 157–173.
- Baron, D., Palmer, C.D.**, 1996. Solubility of jarosite at 4-35°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 60, 185-195.
- Barrett, J., Ewart, D.K., Hughes, M.N. & Poole, R.K.**, 1993. Chemical and biological pathways in the bacterial oxidation of arsenopyrite. *FEMS Microbiol Rev.* Vol 11. Pp 57-62.
- Basolo, F., Pearson, R.G.**, 1967. Oxidation-reduction reactions. In *Mechanisms of Inorganic Reactions: A Study of Metal Complexes in Solution*, 454–525. John Wiley, New York.
- Beattie, M.J.V., Poling, G.W.**, 1987. A study of the surface oxidation of arsenopyrite using cyclic voltammetry. *Int. J. Miner. Process.* 20, 87–108.
- Becker, U., Rosso, K.M., Hochella, M.F.**, 2001. The proximity effect on semiconducting mineral surfaces: A new aspect of mineral surface reactivity and surface complexation theory?. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 65, 2641–2649.
- Bennett, J.C., Tributsch, H.**, 1978. Bacterial leaching patterns on pyrite crystal surfaces. *J. Bacteriol.* 134, 310-317.
- Bevilaqua, D.**, 2003. Estudo da interação do *Acidithiobacillus ferrooxidans* com calcopirita (CuFeS<sub>2</sub>) e bornita (Cu<sub>5</sub>FeS<sub>4</sub>). Tesis PhD. Universidade Estadual do Sao Paulo.
- Bhatti, T.M., Bigham, J.M., Tuovinen, O.H.**, 2001. Bacterial and chemical oxidation of marcasite and pyrite. *Process Metallurgy*. 11B, 617–625.
- Blight, K., Ralph, D.E., Thurgate, S.**, 2000. Pyrite surfaces after bio-leaching: a mechanism for bio-oxidation. *Hydrometallurgy*. 58, 227–237.
- Borda, M.J., Strongin, D.R., Schoonen, M.A.**, 2003. A vibrational spectroscopic study of the oxidation of pyrite by ferric iron. *American Mineralogist*. 88, 1318–1323.
- Borda, M.J., Strongin, D.R., Schoonen, M.A.**, 2004. A vibrational spectroscopic study of the oxidation of pyrite by molecular oxygen. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 68, 1807–1813.

- 
- Bosecker, K.**, 2001. Microbial leaching in environmental clean-up programmes. *Hydrometallurgy*. 59, 245–248.
- Bottomley, D.J., Can, J.**, 1984. Origins of some arseniferous groundwater in Nova Scotia and New Brunswick. *Hydrol.* 69, 223–257. En Yunmei, Y., Yongxuan, Z., Williams-Jones, A.E., Zhenmin, G., Dexian, L. 2004. A kinetic study of the oxidation of arsenopyrite in acidic solutions: implications for the environment. *Applied Geochemistry*. 19, 435–444.
- Braddock, J.F., Luong, H.V. & Brown, E.J.**, 1984. Growth kinetics of *Thiobacillus ferrooxidans* isolated from arsenic mine drainage. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 48. Pp 48-55.
- Brahmaprakash, G.P., Devasia, P., Jagadish, K.S., Natarajan, K.A., Rao, G.R.**, 1988. Development of *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 19859 strains tolerant to copper and zinc. *Bulletin of Materials Science*. Vol 10. Pp 461–465.
- Breed, A.W., Harrison, G.S., Hansford, G.S.**, 1997. A preliminary investigation of the ferric leaching of a pyrite/arsenopyrite flotation concentrates. *Miner. Eng.* 10, 1279–1290.
- Brierley, J., Brierley, C.L.**, 2001. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy* 59, 233–239.
- Brierley, J.A., Luinstra, L.**, 1993. Biooxidation-heap concept for pretreatment of refractory gold ore. En: *Biohydrometallurgical Technologies*, A.E. Torma, J.E. Wey & V.L. Lakshmanan Eds., The Minerals, Metals & Materials Society, 437-448.
- Brown, A.D., Jurinak, J.J.**, 1989. Mechanism of pyrite oxidation in aqueous mixtures. *J. Environ. Qual.* 18, 545–550.
- Bruynesteyn, A.**, 1989. Mineral Biotechnology-Minireview. *Journal of Biotechnology*. 11, 1-10.
- Bryner, L.C., Beck, J.V., Davis, D.B., Wilson, D.G.**, 1954. Microorganisms in leaching sulfide minerals. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 281–287.
- Bryner, L.C., Jameson, A.K.**, 1958. Microorganisms in leaching sulfide minerals. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 6. Issue 4. 281–287.
- Buckley, A.N., Riley, K.W.**, 1991. Self-induced floatability of sulphide minerals: Examination of recent evidence for elemental sulphur as the hydrophobic entity. *Surf. Interface Anal.* 17, 655–659.
- Buckley, A.N., Walker, G.W.**, 1988. The surface composition of arsenopyrite exposed to oxidizing environments. *Appl. Surf. Sci.* 35, 227–240.
- Buckley, A.N., Woods, R.**, 1987. The surface oxidation of metallic sulfides. *Appl. Surf. Sci.* 27, 437–452.
- Butcher, B.G., Deane, S.M., Rawlings, D.E.**, 2000. The chromosomal arsenic resistance genes of *Thiobacillus ferrooxidans* have unusual arrangement and confer increased arsenic and antimony resistance to *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1826–1833.
- Cardona I.C.** 2008. Mineralogía del proceso de biodesulfurización de carbones provenientes de la zona río guachinte – río asnazú (valle del cauca y cauca). Tesis de Maestría, Materiales y Procesos. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.
- Cardona I.C., Márques, M.A.**, 2009. Biodesulfurization of two Colombian coals with native microorganisms. *Fuel Processing Technology*. Vol 90. Pp 1099–1106.
- Carlson, L., Lindstrom, E.B., Hallberg, K.B., Tuovinen, O.H.**, 1992. Solid-phase products of bacterial oxidation of arsenopyrite. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1046–1049.
- Caruccio, F.T.**, 1975. Estimating the acid potential of coal mine refuse. In Rimstidt, J.D., Vaughan, D.J., 2003. Pyrite oxidation: a state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67, 873–880.
- Chandraprabha, M.N., Natarajan, K.A.**, 2006. Surface chemical and flotation behaviour of chalcopyrite and pyrite in the presence of *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Hydrometallurgy* 83, 146–152.
- Chandraprabha, M.N., Natarajan, K.A., Modak, J.M.**, 2004a. Selective separation of pyrite and chalcopyrite by biomodulation. *Coll Surf B.* 37, 93-100.

---

**Chandrababha, M.N., Natarajan, K.A., Somasundaran, P., 2004b.** Selective separation of arsenopyrite from pyrite by biomodulation in the presence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *J Colloid Interface Sci.* 276, 323-332.

**Chandrababha, M.N., Natarajan, K.A., Somasundaran, P., 2005.** Selective separation of pyrite from chalcopyrite and arsenopyrite by biomodulation using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Int J Miner Process* 75: 113-122.

**Chang, K.T., Yoon, R.H., Richardson, P., 1994.** Electrochemical behaviour and flotation characteristics of arsenopyrite. *Han'guk Chawon Konghak Hoechi* 31, 1-8.

**Chernyshova, I.V., 2003.** An in situ FTIR study of galena and pyrite oxidation in aqueous solution *Proceedings - Electrochemical Society.* 18, 166-180.

**Clark, D.A., Norris, P.R., 1996.** Oxidation of mineral sulphides by thermophilic organisms. *Miner. Eng.* 9, 1119-1125.

**Collinet, M.N., Morin, D., 1990.** Characterization of arsenopyrite oxidizing *Thiobacillus*. Tolerance to arsenite, arsenate, ferrous and ferric iron. *Antonie van Leeuwenhoek.* Vol 57. Pp 237-244.

**Colmer, A.R., Hinkle, M.E., 1947.** The Role of Microorganisms in Acid Mine Drainage: Preliminary Report. Agricultural and Engineering Experiment Stations, West Virginia University.

**Çopur, M., 2001.** Solubility of ZnS Concentrate Containing pyrite and chalcopyrite in HNO<sub>3</sub> solutions. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 15, 181-184.

**Corkhill, C.L., Vaughan, D.J., 2009.** Arsenopyrite oxidation – A review. *Applied Geochemistry.* doi:10.1016/j.apgeochem.2009.09.008.

**Corkhill, C.L., Wincott, P.L., Lloyd, J.R., Vaughan, D.J., 2008.** The oxidative dissolution of arsenopyrite (FeAsS) and enargite (Cu<sub>3</sub>AsS<sub>4</sub>) by *Leptospirillum ferrooxidans*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 5616-5633.

**Costa, M.C., Botelho do Rogo, A.M., Abrantes, L.M., 2002.** Characterization of a natural and an electro-oxidised arsenopyrite: a study on electrochemical and X-ray photoelectron spectroscopy. *Int. J. Miner. Process.* 65, 83-108.

**Craw, D., Falconer, D., Youngson, J.H., 2003.** Environmental arsenopyrite stability and dissolution: theory, experiment and field observations. *Chemical Geology.* 199, 71-82.

**Crundwell, F., 1996.** The formation of biofilms of iron-oxidising bacteria on pyrite. *Minerals Engineering.* 9, 91081-1089.

**Cruz, R., Lazaro, I., Gonzalez, I., Monroy, M., 2005.** Acid dissolution influences bacterial attachment and oxidation of arsenopyrite. *Miner. Eng.* 18, 1024-1031.

**Cruz, R., Lazaro, I., Rodriguez, J.M., Monroy, M., Gonzalez, I., 1997.** Surface characterization of arsenopyrite in acidic medium by triangular scan voltammetry on carbon paste electrodes. *Hydrometallurgy* 46, 303-319.

**Da Silva, G., 2004.** Kinetics and mechanism of the bacterial and ferric sulphate oxidation of galena. *Hydrometallurgy.*

**Das, A., Modak, J.M., Natarajan, K.A., 1997.** Studies on multi-metal ion tolerance of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Minerals Engineering.* Vol 10. Pp 743-749.

**Das, A., Modak, J.M., Natarajan, K.A., 1998.** Surface chemical studies of *Thiobacillus ferrooxidans* with reference to copper tolerance. *Antonie van Leeuwenhoek* Vol 73. Pp 215-222.

**Deo, N., Natarajan, K.A., 1998.** Studies on interaction of *Paenibacillus polymyxa* with iron ore minerals in relation to beneficiation. *International Journal of Mineral Processing.* 55, 41.

**Devasia, P., Natarajan, K.A., 2004.** Bacterial Leaching: Biotechnology in the Mining Industry.

**Deveci, H., Akcil, A., Alp, I., 2004.** Bioleaching of complex zinc sulphides using mesophilic and thermophilic bacteria: comparative importance of pH and iron. *Hydrometallurgy.* Vol 73. Pp 293-303.

---

**Dogan, Z.M., Ozbayoglu, G., Hicyilmaz, C., Sarikaya, M., Ozcengiz, G.,** 1985. Bacterial leaching versus bacterial conditioning and flotation in desulfurization of coal. In: Proceedings of the XV Int Miner Process Congr. Cannes, France, Vol 2, 304-313.

**Dogan, Z.M., Ozbayoglu, G., Hicyilmaz, C., Sarikaya, M., Ozcengiz, G.,** 1986. Bacterial leaching versus bacterial conditioning and flotation in desulfurization three different coals. In: Lawrence RW, Branion RMR, Ebner HG, eds. Fundamental and Applied Biohydrometallurgy. Elsevier, New York, 165-170.

**Dopson, M., Lindstrom, E.B., Hallberg, K.B.,** 2001. Chromosomally encoded arsenical resistance of the moderately thermophilic acidophile *Acidithiobacillus caldus*. *Extremeophiles* 5, 247–255.

**Doyle, F.M. Mirza, A.H.,** 1996. Electrochemical oxidation of pyrite samples with known composition and electrical properties. *Electrochem. Proc.* 96, 203–214.

**Druschel, G., Borda, M.,** 2006. Pyrite dissolution in acidic media. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 70, 5246–5250.

**Druschel, G.K., Baker, B.J., Gihring, T.M., Banfield, J.F.,** 2004. Acid mine drainage biogeochemistry at Iron Mountain. California. *Geochem. Trans.* 5, 13–32.

**Duque, B., Noguera, H.,** 2001. Estudio de prefactibilidad técnica y financiera del proceso de biolixiviación para el mineral de la mina el silencio (Segovia, Antioquia). Tesis Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.

**Edwards, K.J., Bond, P.L., Banfield, J.F.,** 2000. Characteristics of attachment and growth of *Thiobacillus caldus* on sulphide minerals: a chemotactic response to sulphur minerals? *Environ. Microbiol.* 2, 324–332.

**Edwards, K.J., Hu, B., Hamers, R.J., Banfield, J.F.,** 2001. A new look at microbial leaching patterns on sulfide minerals. *FEMS Microbiol. Ecol.* 34, 197–206.

**Ehrlich, H.L., Newman, D.K., (Eds),** 2009. Geomicrobiology, Fifth Edition. Taylor & Francis Group, LLC.

**Eligwe, C.,** 1988. Microbial desulphurization of coal. *Fuel.* 67, 451-458.

**Elsetinow, A.R., Schoonen, M.A.A., Strongin, D.R.,** 2001. Aqueous geochemical and surface science investigation on the effect of phosphate on pyrite oxidation. *Environmental Science and Technology.* 35, 2252–2257.

**Elzaky, M., Attia, Y.A.,** 1995. Effect of bacterial adaptation on kinetics and mechanisms of bioleaching ferrous sulfides. *Chemical Engineering Journal.* Vol 56. Pp 115–124.

**England, K.E.R., Charnock, J.M., Pattrick, R.A.D., Vaughan, D.J.,** 1999. Surface oxidation studies of chalcopyrite and pyrite by glancing-angle x-ray absorption spectroscopy (REFLEXAFS). *Mineralogical Magazine.* 63, 559–566.

**Evangelou, V.P., Zhang, Y.L.,** 1995. A review: Pyrite oxidation mechanisms and acid mine drainage prevention. *Crit. Rev. Environ. Sci. Tech.* 25, 141–199.

**Evangelou, V.P., Zhang, Y.L.,** 1995. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 25, 141–199.

**Fernandez, P.G., Linge, H.G., Wadsley, M.W.,** 1996a. Oxidation of arsenopyrite (FeAsS) in acid part I: reactivity of arsenopyrite. *J. Appl. Electrochem.* 26, 575–583.

**Fernandez, P.G., Linge, H.G., Willing, M.J.,** 1996b. Oxidation of arsenopyrite (FeAsS) in acid part II: Stoichiometry and reaction scheme. *J. Appl. Electrochem.* 26, 585–591.

**Foucher, S., Battaglia-Brunet, F., d’Hugues, P., Clarens, M., Godon, J. J. Morin D.,** 2003. Evolution of the bacteria population during the batch bioleaching of a cobaltiferous pyrite in a suspended-solids bubble column and comparison with a mechanically agitated reactor. *Hydrometallurgy.* Vol 71. 5–12.

---

**Fowler T.A., Holmes P.R., Crundwell F.K.,** 1999 Mechanism of pyrite dissolution in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. Applied And Environmental Microbiology. Vol 65. N°7. Pp 2987-2993.

**Fowler, T.A., Holmes, P.R., Crundwell, F.K.,** 2001. On the kinetics and mechanism of the dissolution of pyrite in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* Hydrometallurgy. 59, 257–270.

**Francisco, Jr., W.,** 2006. Estudo da oxidação de covelita (CuS) e molibdenita (MoS<sub>2</sub>) sintéticas por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Tesis M.Sc. Universidade Estadual do Sao Paulo.

**García, Jr., O., Urenha, L.,** 2001. Lixiviação bacteriana de minérios. En: Biotecnologia Industrial. Vol 3. Procesos fermentativos e enzimáticos. Ed. Urgel de Almeida. Eugenio Aguarone, Walter Borzani, Willibaldo Schmidell. 8 Ed. Brazil.

**Ghuri, M.A., Okibe, N., Johnson, D.B.,** 2007. Attachment of acidophilic bacteria to solid surfaces: The significance of species and strain variations. Hydrometallurgy. 85, 72–80.

**Goldhaber, M.B.,** 1983. Experimental study of metastable sulfur oxyanion formation during pyrite oxidation at pH 6-9 and 30°C. Am. J. Sci. 283, 193–217.

**Gomez, C., Blazquez, M.L., Ballester, A.,** 1999. Bioleaching of a Spanish complex sulphide ore bulk concentrate. Minerals Engineering. Vol 12. Pp 93–106.

**Gray, N.F.,** 1996. Field assessment of acid mine drainage contamination in surface and ground water. Environ. Geol. 27, 358–361.

**Groot, P., Deane, S.M., Rawlings, D.E.,** 2003. A transposon-located arsenic resistance mechanism from a strain of *Acidithiobacillus caldus* isolated from commercial, arsenopyrite biooxidation tanks. Biohydrometall. Fundam. Technol. Sustain. Dev. 71, 115–123.

**Guevremont, J.M., Strongin, D.R., Schoonen, M.A.A.,** 1997. Effects of surface imperfections on the binding of CH<sub>3</sub>OH and H<sub>2</sub>O on FeS<sub>2</sub> (100): using adsorbed Xe as a probe of mineral surface structure. Surface Science. 391, 109–124.

**Guevremont, J.M., Strongin, D.R., Schoonen, M.A.A.,** 1998. Thermal chemistry of H<sub>2</sub>S and D<sub>2</sub>O on the (100) plane of pyrite: Unique reactivity of defect sites. American Mineralogist. 83, 1246–1255.

**Gupta, R.P., Sen, S.K.,** 1974. Calculation of multiplet structure of core p-vacancy levels. Phys. Rev. B 10, 71–79.

**Gupta, R.P., Sen, S.K.,** 1975. Calculation of multiplet structure of core p-vacancy levels II. Phys. Rev. B 12, 15–19.

**Hacquard, E., Bessiere, J., Alnot, M., Ehrhardt, J.J.,** 1999. Surface spectroscopic study of the adsorption of Ni(II) on pyrite and arsenopyrite at pH 10. Surf. Interface Anal. 27, 849–860.

**Hallberg, K.B., Sehlin, H.M., Lindstrom, E.B.,** 1996. Toxicity of arsenic during high temperature bioleaching of gold-bearing arsenical pyrite. Appl. Microbiol. Biotechnol. 45, 212–216.

**Harada, T., Kuniyoshi N.,** 1985. Effects of bacterial oxidation on the floatability of pyrite, J Inst Min Metal Inst Japan. 101, 719-724.

**Harmer, S.L., Nesbitt, H.W.,** 2004. Stabilization of pyrite (FeS<sub>2</sub>), marcasite (FeS<sub>2</sub>), arsenopyrite (FeAsS) and loellingite (FeAs<sub>2</sub>) surfaces by polymerization and auto-redox reactions. Surf. Sci. 564, 38–52.

**Harneit, K., Goeksel, A., Kock, D., Klock, J.H., Gehrke, T., Sand, W.,** 2006. Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*. Hydrometallurgy. 83, 245–254.

**Harvey P.I. & Crundwell F.K.,** 1996. The effect of As (III) on the growth of *thiobacillus ferrooxidans* in an electrolytic cell under controlled redox potentials. Minerals Engineering. Vol. 9, No. 10. Pp. 1059-1068.

---

**Holmes, P.R., Crundwell, F.K., 2000.** The kinetics of the oxidation of pyrite by ferric ions and dissolved oxygen: an electrochemical study - Experimental oxidation of pyrite. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 64, 263–274.

**Hosseini, T.R., Kolahdoozan, M., Tabatabaei, Y.S.M., Oliazadeh, M., Noaparast, M., Eslami, A., Manafi, Z., Alfantazi, A., 2005.** Bioflotation of Sarcheshmeh copper ore using *Thiobacillus ferrooxidans* bacteria. *Miner Eng.* 18, 371-374.

**Ilyaletdinov, A.N., Abdrashitova, S.A., 1981.** Autotrophic oxidation of arsenic by a culture of *Pseudomonas arsenitoxidans*. *Mikrobiologie* 50, 197–204.

**Ivarson, K.C., 1973.** Microbiological formation of basic ferric sulfates. *Canadian Journal of Soil Science.* 53, 315-323.

**Jambor, J.L., Blowes, D.W., 1994.** Environmental Geochemistry of Sulfide Minewastes. Mineralogical Association of Canada Short Course 22.

**Jambor, J.L., Blowes, D.W., 1998.** Theory and applications of mineralogy in environmental studies of sulfide bearing mine wastes. In *Modern Approaches to Ore and Environmental Mineralogy.* (eds. L. J. Cabri and D. J. Vaughan). Mineralogical Association of Canada Short Course 27.

**Jones, R.A., Koval, S.F., Nesbitt, H.W., 2003.** Surface alteration of arsenopyrite (FeAsS) by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67, 955–965.

**Karavaiko, G., Rossi, G., Agate, A.D., Groudev, S.N., Avakyan, Z., 1988.** Biogeotechnology of metals. Manual. Centre for international projects. Moscow.

**Keith, C N., Vaughan, D.J., 2000.** Mechanisms and rates of sulphide oxidation in relation to the problems of acid rock. (mine) drainage. In *Environmental Mineralogy: Microbial Interactions, Anthropogenic Influences, Contaminated Land and Waste Management.* Mineralogical Society Special Publication.

**Kelly, D.P., Wood, A.P., 2000.** Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus ferrooxidans gen. nov.*, *Halothiobacillus gen. nov.* and *Thermithiobacillus gen. nov.* *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* Vol 50. Pp. 511–516.

**Kelsall, G.H., Yin, Q., Vaughan, D.J., England, K.E.R, Brandon, N.P., 1999.** Electrochemical oxidation of pyrite (FeS<sub>2</sub>) in aqueous electrolytes. *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 471, 116–125.

**Kendelewicz, T., Doyle, C.S., Bostick, B.C., Brown Jr. G.E., 2004.** Oxidation of fractured surfaces of FeS<sub>2</sub> (100) by molecular oxygen, water vapor, and air. *Surface Science.* 558. 80–88.

**Klauber, C., 2003.** Fracture-induced reconstruction of a chalcopyrite (CuFeS<sub>2</sub>) surface. *Surf. Interface Anal.* 35, 415–428.

**Kleinmann, R.L.P., Hedin, R.S., 1993.** Treat mine water using passive methods. *Pollution Engineering* 25, 20–22.

**Knipe, S.W., Mycroft, J.R., Pratt, A.R., Nesbitt, H.W., Bancroft, G.M., 1995.** X-ray photoelectron spectroscopic study of water adsorption on iron sulphide minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 59, 1079–1090.

**Kodali, B., Rao, B., Narasu, L., Pogaku, R., 2004.** Effect of biochemical reactions in enhancement of rate of leaching. *Chemical Engineering Science* 59:5069 – 5073.

**Kolahdoozan, M., Tabatabaei, S.M., Yen, W.T., Hosseini, T.R., Shahverdi, A.R., Oliazadeh, M., Noaparast, M., Eslami, A., Manafi, Z., 2004.** Bioflotation of low grade Sarcheshmeh Copper sulfide. *Trans Indian Inst Met.* 57, 485-490.

**Kostina, G.M., Chernyak, A.S., 1976.** Electrochemical conditions for the oxidation of pyrite and arsenopyrite in alkaline and acid solution. *Zh. Prikl. Khim.* 49, 1534–1539.

---

**Langmuir D., Mahoney J., Rowson J., 2006.** Solubility products of amorphous ferric arsenate and crystalline scorodite (FeAsO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) and their application to arsenic behavior in buried mine tailings. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 70, 2942–2956.

**Langwaldt, J., Kalapudas, R., 2007.** Bio-beneficiation of multimetal black shale ore by flotation. *Physicochemical Problems of Mineral Processing (Fizykochemiczne Problemy Mineralurgii)*. 41, 291–299.

**Lazarov, N., Sigal, W., Wasserman, A., 1982.** Iron oxidation and precipitation of ferric hydroxysulfates by resting *Thiobacillus ferrooxidans* cells. *Applied Environmental Microbiology*. Apr, 924–938.

**Lefticariu, L., Schimmelmann, A., Pratt, L.M., Ripley, E.M., 2007.** Oxygen isotope fractionation during oxidation of pyrite by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and its dependence on temperature. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 71, 5072–5088.

**Lowson, R.T., 1982.** Aqueous oxidation of pyrite by molecular oxygen. *Chemical Reviews*. 82, 461–497.

**Luther III, G.W., 1987.** Pyrite oxidation and reduction: Molecular orbital theory considerations. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 51, 3193–3199.

**Makita, M., Esperón, M., Pereyra, B., López, A., Orrantia, E., 2004.** Reduction of arsenic content in a complex galena concentrate by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *BMC Biotechnology*, 4:1–22.

**Mangold, S., Harneit, K., Rohwerder, T., Claus, G., Sand, W., 2008.** Novel Combination of Atomic Force Microscopy and Epifluorescence Microscopy for Visualization of Leaching Bacteria on Pyrite. *Applied and Environmental Microbiology*. 74, 410–415.

**Mangold, S., Harneit, K., Sand, W., 2007.** Combined atomic force and fluorescence microscopy of biofilms formed by leaching bacteria on opaque substrata. *Advanced Materials Research*. 21, 371–374.

**Marchand, E.A., 2003.** Minerals and mine drainage. *Water Environment Research* 75, 975–1011.

**Marhual, N.P., Pradhan, N., Kar, R.N., Sukla, L.B., Mishra, B.K., 2008.** Differential bioleaching of copper by mesophilic and moderately thermophilic acidophilic consortium enriched from same copper mine water sample. *Bioresource Technology*. Vol 99. Pp 8331–8336. 2008.

**Márquez, M., 1995.** Caracterização mineralógica do minério, concentrado e rejeito da flotação da mina São Bento (MG). Brasília, 237p. Tesis de Maestría. Universidade de Brasília. Instituto de Ciências

**Márquez, M., 1999.** Mineralogia dos processos de oxidação sobre pressão e bacteriana do minério de ouro da mina São Bento, MG. Tese de doutorado. Universidad de Brasília.

**Márquez, M., Gaspar, J., Bessler, K. and Magela, G. 2006.** Process mineralogy of bacterial oxidized gold ore in São Bento Mine (Brasil). *Hydrometallurgy* 83:114–123.

**Marsden, J., House, I., 1992.** The chemistry of gold extraction. Ed. Ellis Horwood Limited, England.

**Mason, L.J., Rice, N.M., 2002.** The adaptation of *Thiobacillus ferrooxidans* for the treatment of nickel–iron sulphide concentrates. *Minerals Engineering*. Vol 15. Pp 795–808.

**McGuire, M.M., Edwards, K.J., Banfield, J.F., Hamers, R.J., 2001b.** Kinetics, surface chemistry, and structural evolution of microbially mediated sulfide mineral dissolution. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 1243–1258.

**McIntosh, J., Silver, M., Groat, L., 1997.** Bacteria and the breakdown of sulfide minerals. In: *Biological-mineralogical interactions*. Ed. McIntosh, J.M., Groat, L., Mineralogical association of Canada. Short course series. Vol 25. Ottawa.

**McIntyre, N.S., Davidson, R.D., Mycroft, J.R., 1996.** Quantitative XPS measurements of some oxides, sulphides and complex minerals. *Surf. Interface Anal.* 24, 591–596.



- 
- McIntyre, N.S., Zetaruk, D.G.,** 1977. X-ray photoelectron spectroscopic studies of iron oxides. *Anal. Chem.* 49, 1521–1529.
- McKibben, M.A., Tallant, B.A., del Angel, J.K.,** 2008. Kinetics of inorganic arsenopyrite oxidation in acidic aqueous solutions. *Appl. Geochem.* 23, 121–135.
- Meruane, G., & Vargas, T.,** 2003. Bacterial oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH range 2.5–7.0. *Hydrometallurgy.* 71, 149–158.
- Mignone, C.F., Donati, E.R.,** 2004. ATP requirements for growth and maintenance of iron-oxidizing bacteria. *Biochemical Engineering Journal.* Vol 18. 211–16.
- Mikhlin, Y., Tomashevich, Y.,** 2005. Pristine and reacted surfaces of pyrrhotite and arsenopyrite as studied by X-ray absorption near-edge structure spectroscopy. *Phys. Chem. Miner.* 32, 19–27.
- Mikhlin, Y.L., Romanchenko, A.S., Asanov, I.P.,** 2006. Oxidation of arsenopyrite and deposition of gold on the oxidised surfaces: A scanning probe microscopy, tunnelling spectroscopy and XPS study. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70, 4874–4888.
- Misra, M., Bukka, K., Chen, S.,** 1996. The effect of growth medium of *Thiobacillus ferrooxidans* on pyrite flotation. *Miner Eng.* 9, 157–168.
- Misra, M., Chen, S.,** 1995. The effect of growth medium of *Thiobacillus ferrooxidans* on pyrite and galena flotation. In: Holmes DS, Smith RW, eds. *Minerals Bioprocessing II*, The Minerals, Metals and Materials Society, Pennsylvania, 313–322.
- Moses, C.O., Nordstrom, D.K., Herman, J.S., Mills, A.L.,** 1987. Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen and ferric iron. *Geochim. Cosmochim. Acta* 51, 1561–1571.
- Mosselmans, J.F.W., Patrick, R.A.D., van der Laan, G., Charnock, J.M., Vaughan, D.J., Henderson, C.M.B., Garner, C.D.,** 1995. X-ray absorption near-edge spectra of transition metal disulfides FeS<sub>2</sub> (pyrite and marcasite), CoS<sub>2</sub>, NiS<sub>2</sub> and CuS<sub>2</sub>, and their isomorphs FeAsS and CoAsS. *Phys. Chem. Miner.* 22, 311–317.
- Mousavi, S.M., Jafari, A., Yaghmaei, S., Vossoughi, M., Roostaazad, R.,** 2006a. Bioleaching of low-grade sphalerite using a column reactor. *Hydrometallurgy.* Vol 82. Pp 75–82.
- Mousavi, S.M., Yaghmaei, S., Vossoughi, M., Jafari, A., Roostaazad, R., Turunen, I.,** 2007. Bacterial leaching of low-grade ZnS concentrate using indigenous mesophilic and thermophilic strains. *Hydrometallurgy.* Vol 85. Pp 59–65.
- Mousavi, S.M., Yaghmaei, S., Vossoughi, M., Jafari, A., Roostaazad, R.,** 2006b. Zinc extraction from Iranian low-grade complex zinc–lead ore by two native microorganisms: *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Sulfobacillus*. *International Journal of Mineral Processing.* Vol 80. Pp 238–243.
- Muñoz, A.,** 2002. Oxidación de concentrados de sulfuros metálicos provenientes de la mina La Maruja de Marmato, Caldas, mediante una cepa nativa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín.
- Murphy, R., Strongin, D.R.,** 2009. Surface reactivity of pyrite and related sulfides. *Surface Science Reports.* Vol 64. Pp 1–45.
- Music, S., Orehovec, Z., Popovic, S.,** 1994. Structural properties of precipitates formed by hydrolysis of Fe<sup>3+</sup> ions in Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> solutions. *Journal of Materials Science.* 29, 1991–1998.
- Nagaoka, T., Ohmura, N., Saiki, H.,** 1999. A Novel mineral flotation process using *Thiobacillus ferrooxidans*, *Appl Env Microbiol.* 65, 3588–3593.
- Nair, N.N., Schreiner, E., Marx, D.,** 2006. Glycine at the Pyrite–Water Interface: The Role of Surface Defects. *Journal of the American Chemical Society.* 128, 13815–13826.
- Natarajan, K.A., Das, A.,** 2003. Surface chemical studies on '*Acidithiobacillus*' group of bacteria with reference to mineral flotation. *International Journal of Mineral Processing.* 72, 189–198.
- Natarajan, K.A., Sudeesha, K., Rao, G.R.,** 1994. Stability of copper tolerance in *Thiobacillus ferrooxidans*. *Antonie van Leeuwenhoek.* Vol 66. Pp 303–306.

---

**Naumann, D., Helm, D.,** 1995. Identification of some bacterial cell components by FT-IR spectroscopy. *FEMS Microbiology Letters*. 126, 75-79.

**Nesbitt, H.W., Berlich, A.G., Harmer, S.L., Uhlig, I., Bancroft, G.M., Szargan, R.,** 2004. Identification of pyrite valence band contributions using synchrotron-excited X-ray photoelectron spectroscopy. *American Mineralogist* 89, 382–389.

**Nesbitt, H.W., Muir, I.J.,** 1994. X-ray photoelectron spectroscopic study of a pristine pyrite surface reacted with water vapour and air. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 58, 4667–4679.

**Nesbitt, H.W., Muir, I.J.,** 1998. Oxidation states and speciation of secondary products on pyrite and arsenopyrite reacted with mine waste waters and air. *Mineral. Petrol.* 62, 123–144.

**Nesbitt, H.W., Muir, I.J., Pratt, A.R.,** 1995. Oxidation of arsenopyrite by air and air-saturated, distilled water and implications for mechanisms of oxidation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 59, 1773–1786.

**Nesbitt, H.W., Uhlig, I., Bancroft, G.M., Szargan, R.,** 2003. Resonant XPS study of the pyrite valence band with implications for molecular orbital contributions. *American Mineralogist* 88, 1279–1286.

**Ngubane, W.T., Baecker, A.A.W.,** 1990. Oxidation of gold-bearing pyrite and arsenopyrite by *Sulfolobus acidocaldarius* and *Sulfolobus BC* in airlift bioreactors. *Biorecovery* 1, 255–269.

**Nicol, M.J., Guresin, N.,** 2003. Anodic behaviour of arsenopyrite and cathodic reaction of ferrate(VI) and oxygen in alkaline solutions. *J. Appl. Electrochem.* 33, 1017–1024.

**Nordstrom, D.K.,** 1982. Aqueous pyrite oxidation and the consequent formation of secondary iron minerals. *SSSA Special Publication* 10, 37–56.

**Nordstrom, D.K., Alpers, C.N.,** 1999. Geochemistry of acid mine waters. In *The Environmental Geochemistry of Mineral Deposits* (eds. G. S. Plumlee and M. J. Logsdon), pp. 133–160. Society of Economic Geologists, Littleton, CO.

**Okibe, N., Johnson, D.B.,** 2004. Biooxidation of pyrite by defined mixed cultures of moderately thermophilic acidophiles in pH-controlled bioreactors: Significance of microbial interactions. *Biotechnology and Bioengineering*. 87, 574–583.

**Olson, G., Brierley, J., Brierley, C.,** 2003. Bioleaching review part B: Progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. *Appl Microbiol Biotechnol.* 63, 249–257.

**Ossa, M.,** 2004. Biolixiviación de sulfuros (pirita-arsenopirita) utilizando cepas nativas de acidófilos como pretratamiento, para el beneficio de metales preciosos, mina El Zancudo, Titiribí, Antioquia. Tesis de Maestría, Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.

**Ossa, M., Márquez, M., Zapata, D.,** 2005. Ensayos de biolixiviación de esfalerita variedad marmatita. *Memorias XII Congreso Colombiano de Minería*. Medellín.

**Paktunc A.D., Dutrizac A.J., Valery G.,** 2008. Synthesis and phase transformations involving scorodite, ferric arsenate and arsenical ferrihydrite: Implications for arsenic mobility. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 72, 2649–2672.

**Paponetti B.A., Ubaldini S., Abbruzzese C., Toro L.,** 1991. Biometallurgy for the recovery of gold from arsenopyrite ores. Editado por Smith R.W., Misra M. Ed. TMS Nevada.

**Patra, P., Natarajan, K.,** 2003. Microbially-induced flocculation and flotation for pyrite separation from oxide gangue minerals. *Minerals Engineering*. 16, 965–973.

**Peiffer, S., Stubert, I.,** 1999. The oxidation of pyrite at pH 7 in the presence of reducing and nonreducing Fe(III)-chelators. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 63, 3171–3182.

**Pérez, J., Velásquez, J.,** 1998. Biolixiviación de un mineral refractario procedente de la mina el zancudo (Titiribí, Antioquia). Tesis Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.

- 
- Pesic, B., Kim, I.,** 1993. Electrochemistry of *Thiobacillus ferrooxidans* with pyrite, Metall. Trans. 24B, 717–727.
- Petersen, J., Dixon, D.,** 2005. Competitive bioleaching of pyrite and chalcopyrite. To be presented at IBS 2005 (International Symposium on Biohydrometallurgy), Cape Town, Sudafrica.
- Pratt, A.R., Muir, I.J., Nesbitt, H.W.,** 1994. X-ray photoelectron spectroscopic studies of pyrrhotite and mechanism of air oxidation. Geochimica et Cosmochimica Acta. 58, 827–841.
- Pridmore, D.F., Shuey, R.T.,** 1976. The electrical resistivity of galena, pyrite, and chalcopyrite. Am. Mineral. 61, 248–259.
- Rawlings, D.E.,** 2001. The molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* and other mesophilic, acidophilic, chemolithotrophic, iron or sulfur oxidizing bacteria. Hydrometallurgy. Vol 59. 187 – 201.
- Rawlings, D.E.,** 2002. Heavy metal mining using microbes. Annual Review Microbiology. Vol 56. Pp 65 – 91.
- Rawlings, D.E.,** 2005. Review. Characteristics and adaptability of iron – and sulfur – oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. Microbial Cell Factories.
- Rawlings, D.E., Johnson, B.D., (Eds),** 2007. Biomining. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Rawlings, D.E., Tributsch, H., Hansford, G.S.,** 1999. Reasons why '*Leptospirillum*'-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores. Microbiology. 145, 5–13.
- Reddy R.G.,** 1991. Thermodynamics of bacterial – mineral reactions. Editado por Smith R.W., Misra M. Ed. TMS Nevada.
- Richardson, S., Vaughan, D.J.,** 1989. Arsenopyrite: a spectroscopic investigation of altered surfaces. Mineral. Mag 53, 223–229.
- Rickard, D., Luther III, G.W.,** 2007. Chemistry of iron sulfides. Chemical Reviews. 107, 514–562.
- Rimstidt, J.D., Chermak, J.A., Gagen, P.M.,** 1994. Rates of reaction of galena, sphalerite, chalcopyrite, and arsenopyrite with Fe(III) in acidic solutions. In Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation, ACS Symp. Ser. 550 (eds. C. N. Alpers and D. W. Blowes), 1–13. American Chemical Society, Washington, DC.
- Rimstidt, J.D., Vaughan, D.J.,** 2003. Pyrite oxidation: a state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. Geochim. Cosmochim. Acta 67, 873–880.
- Robie, R.A., Hemmingway, B.S.,** 1995 Thermodynamic Properties of Minerals and Related Substances at 298.15 K and 1 Bar. (105 Pascals) Pressure and at Higher Temperatures. U.S. Geological Survey Bulletin 2131.
- Rodriguez, J.A., Abreu, I.A.,** 2005. Chemical activity of iron in [2Fe-2S]-protein centers and FeS<sub>2</sub>(100) surfaces. Journal of Physical Chemistry B. 109, 2754–2762.
- Rodriguez, Y., Ballester, A., Blazquez, M.L., Gonzalez, F., Munoz, J.A.,** 2003. Study of bacterial attachment during the bioleaching of pyrite, chalcopyrite and sphalerite. Geomicrobiology Journal. 20, 131–141.
- Rohwerder, T., Sand W.,** 2003. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium spp.* Microbiology. Vol 149. 1699–1709.
- Rojas-Chapana, J.A., Tributsch, H.,** 2001. Biochemistry of sulfur extraction in bio-corrosion of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. Hydrometallurgy, 59, 291–300.
- Rojas-Chapana, J.A., Tributsch, H.,** 2004. Interfacial activity and leaching patterns of *Leptospirillum ferrooxidans* on pyrite. FEMS Microbiology Ecology. 47, 19–29.
- Rossi, Giovani., (Eds),** 1990. Biohydrometallurgy. McGraw-Hill Book Company GmbH, Hamburg.

- 
- Rosso, K.M.**, 1998. The Electronic Structure and Reactivity of Sulfide Surfaces: Combining Atomic-Scale Observations with Theoretical Calculations. PhD Dissertation. Blacksburg, Virginia
- Rosso, K.M., Becker, U., Hochella, M.F.**, 1999. The interaction of pyrite {001} surfaces with O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O: Fundamental oxidation mechanisms. *Am. Mineral.* 84, 1549–1561.
- Rosso, K.M., Becker, U., Hochella, M.F.**, 2001. The proximity effect on semiconducting mineral surfaces: A new aspect of mineral surface reactivity and surface complexation theory?. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65, 2641–2649.
- Ruitenbergh, R., Hansford, G.S., Reuter, M.A., Breed, A.W.**, 1999. The ferric leaching kinetics of arsenopyrite. *Hydrometallurgy* 52, 37–53.
- Salomons, W.**, 1995. Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, prediction, prevention. *J. Geochem. Explor.* 52, 5–23.
- Sampson, M.I., Blake, R.C.**, 1999. The cell attachment and oxygen consumption of two strains of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Miner. Eng.* 12, 671–686.
- Sampson, M.I., Philips, C.V., Ball, A.S.**, 2000. Investigation of the attachment of *Thiobacillus ferrooxidans* to mineral surfaces using scanning electron microscopy analysis. *Miner. Eng.* 13, 643–656.
- Sampson, M.I., Van der Merwe, J.W., Harvey, T.J., Bath, M.D.**, 2005. Testing the ability of a low grade sphalerite concentrate to achieve autothermality during biooxidation heap leaching. *Minerals Engineering*. Vol 18. Pp 427–437.
- Sand, W., Gehrke, T.**, 2006. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria. *Research in Microbiology*. 157, 49–56.
- Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R., Jozsa, P.G., Schippers, A.**, 2001. (Bio)chemistry of bacterial leaching – direct vs. indirect bioleaching. *Hydrometallurgy*. Vol 59. 159–175.
- Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R., Schippers, A.**, 1995. Sulfur chemistry, and the (In)direct attack mechanism- a critical evaluation of bacterial leaching. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol 43. 961–966.
- Santhiya, D., Ting, Y.P.**, 2006. Use of adapted *Aspergillus niger* in the bioleaching of spent refinery processing catalyst. *Journal of Biotechnology*. 121, 62–74.
- Sasaki, K.**, 1997. Raman study of the microbially mediated dissolution of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. *The Canadian Mineralogist*. 35, 999–1008.
- Sasaki, K., Konno, H.**, 2000. Morphology Of Jarosite-Group Compounds Precipitated From Biologically and Chemically Oxidized Fe Ions. *The Canadian Mineralogist*. 38, 45–56.
- Sasaki, K., Tsunekawa, M., Ohtsuka, T., Konno, H.**, 1998. The role of sulfur-oxidizing bacteria, *Thiobacillus thiooxidans*, in pyrite weathering. *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 133, 269–278.
- Schaufuss, A.G., Nesbitt, H.W., Sciani, M.J., Hoecsht, H., Bancroft, M.G., Szargan, R.**, 2000. Reactivity of surface sites on fractured arsenopyrite (FeAsS) toward oxygen. *Am. Mineral.* 85, 1754–1766.
- Schippers, A., Jozsa, P.G., Sand, W.**, 1999. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 62. 3424–3431.
- Schippers, A., Sand, W.**, 1999. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanism via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. *Applied and environmental Microbiology*. Vol 65. 319–321.
- Schippers, A., Thore, R., Sand, W.**, 1999. Intermediary sulfur compounds in pyrite oxidation: Implications for bioleaching and biodepyritization of coal. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol 52. 104 – 110.

- 
- Schrenk, M.O., Edwards, K.J., Goodman, R.M., Hamers, R.J., Banfield, J.F.,** 1998. Distribution of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*: implications for generation of acid mine drainage. *Science* 279, 1519–1522.
- Schüring, J., Schulz, H.D., Fischer, W.R., Böttcher, J., Duijnisveld, W.H.M., (Eds.),** 1999. Redox: Fundamentals, Processes and Applications. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Shahverdi, A.R., Yazdi, M.T., Oliazadeh, M., Darebidi, M.H.,** 2001. Biooxidation of mouteh refractory gold-bearing concentrate by an adapted *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran* 12 (3), 209–212.
- Sharma, P.K., Das, A., Hanumantha, R.K., Forssberg, K.S.E.,** 1999. *Thiobacillus ferrooxidans* interaction with sulfide minerals and selective chalcopyrite flotation from pyrite. En: Parekh, B.K., Miller, J.D., eds. *Advances in Flotation Technology, SME/AIME*, 147-165.
- Sharma, P.K., Hanumantha, K.R.,** 2005. Surface characterization of bacterial cells relevant to mineral industry. *Miner. Metal. Process.* 22(1), 31-37.
- Sharma, Prashant, K.,** 2001. Surface Studies Relevant to Microbial Adhesion and Bioflotation of Sulphide Minerals. PhD thesis.
- Shi, S., Fang, Z.,** 2005. Bioleaching of marmatite flotation concentrate by adapted mixed mesoacidophilic cultures in an air-lift reactor. *International Journal of Mineral Processing*. Vol 76. Pp 3–12.
- Shi, S., Fang, Z., Ni, J.,** 2006. Comparative study on the bioleaching of zinc sulphides. *Process Biochemistry*. Vol 41. Pp 438–446.
- Shi, S.Y., Fang, Z.H.,** 2004. Bioleaching of marmatite flotation concentrate by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*. Vol 75. Pp 1–10.
- Singer, P.C., Stumm, W.,** 1970. Acid mine drainage: the rate limiting step. *Science*. 167, 1121–1123.
- Sisenov, G.K., Bogdanovskaya, V.A., Tarasevich, M.R.,** 1988. Redox reactions of arsenopyrite in aqueous electrolyte solutions. *Elektrokhimiya* 24, 788–793.
- Stirling, A., Bernasconi, M., Parrinello, M.,** 2003. Ab initio simulation of water interaction with the (100) surface of pyrite. *Journal of Chemical Physics*. 118, 8917–8926.
- Stolz, J.F., Basu, P., Santini, J.M., Oremland, R.S.,** 2006. Arsenic and selenium in microbial metabolism. *Ann. Rev. Microbiol.* 60, 107–130.
- Suzuki, I., Werkman, C.,** 1958. Glutathione and sulfur oxidation by *Thiobacillus thiooxidans*. *Microbiology*. 1, 239-244.
- Tao, D., Abdelkhalck, M., Chen, S., Parekh, B.K., Hepworth, M.T.,** 2000. Environmental issues and management of waste in energy and mineral production, in: *Proceedings of the International Conference on Environmental Issues and Management of Waste in Energy and Mineral Production*, 6th, Calgary, AB, Canada. 347–353.
- Temple, K.L., Colmer, A.R.,** 1951. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. Engineering Experiment Station, West Virginia University, Morgantown, West Virginia.
- Third, K.A., Cord-Ruwisch, R., Watling, H.R.,** 2000. The role of iron-oxidizing bacteria in stimulation or inhibition of chalcopyrite bioleaching. *Hydrometallurgy*. Vol 57. Pp 225–233
- Todd, E.C., Sherman, D.M., Purton, J.A.,** 2003. Surface oxidation of chalcopyrite (CuFeS<sub>2</sub>) under ambient atmospheric and aqueous (pH 2-10) conditions: Cu, Fe L- and O K-edge X-ray spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 67, 881–893.
- Toro, L., Paponetti, B., Cantalini, C.,** 1988. Precipitate formation in the oxidation of ferrous ions in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*. 20, 1–9.
- Townsley, C.C., Atkins, A.S., Davis, A.J.,** 1987. Suppression of pyrite sulfur during flotation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotech Bioeng.* 30, 1-8.

- 
- Tributsch, H., Bennett, J.**, 1981a. Semiconductor-Electrochemical aspects of bacterial leaching. I. Oxidation of metal sulfides with large energy gaps. *J. Chem. Tech. Bitech. 31:565-577.*
- Tributsch, H., Bennett, J.**, 1981b. Semiconductor-Electrochemical aspects of bacterial leaching. II. Survey of rate-controlling sulfide properties. *J. Chem. Tech. Bitech. 31:627-635.*
- Tributsch, H., Rojas-Chapana, J.A.**, 2004. Bio-leaching of pyrite accelerated by cysteine. *Electrochimica Acta. 45, 4705–4716.*
- Tuffin, I.M., Hector, S.B., Deane, S.M., Rawlings, D.E.**, 2006. Resistance determinants of a highly arsenic-resistant strain of *Leptospirillum ferriphilum* isolated from a commercial biooxidation tank. *Appl. Environ. Microbiol. 72, 2247–2253.*
- Tuovinen, O., Kelly, D.**, 1973. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Arch. Microbiol. Vol 88. Pp 285–298.*
- Tuovinen, O., Panda, F., Tsuchiya, M.**, 1979. Nitrogen Requirement of Iron-Oxidizing *Thiobacilli* for Acidic Ferric Sulfate Regeneration. *applied and environmental microbiology. 37, 954-958.*
- Tuovinen, O.H., Bhatti, T.M., Bigham, J.M., Garcia, O., Lindstrom, E.B.**, 1994. Oxidative dissolution of arsenopyrite by mesophilic and moderately thermophilic acidophiles. *Appl. Environ. Microbiol. 60, 3268–3274.*
- Tuovinen, O.H., Niemela, S.I. & Gyllenberg, H.G.**, 1971. Tolerance of *Thiobacillus ferrooxidans* to some metals. *Antonie van Leewenhoek. Vol 37. Pp 489-496.*
- Usher, C.R., Cleveland Jr., C.A., Strongin, D.R., Schoonen, M.A.**, 2004. Origin of oxygen in sulfate during pyrite oxidation with water and dissolved oxygen: an in situ total reflectance infrared spectroscopy isotope study. *Environmental Science and Technology. 38, 5604–5606.*
- Vandenberghe, R.E.**, 1991. Mossbauer spectroscopy and applications in geology. *International Training Centre for Post-Graduate Soil Scientists. 2<sup>nd</sup> edition.*
- Vanselow, D.**, 1976. Mechanisms of bacterial oxidation of the copper sulphide mineral, covellite. *Thesis B.Sc. Melbourne.*
- Vardanyan, N.S., Akopyan, V.P.**, 2003. *Leptospirillum*-Like bacteria and evaluation on their role in pyrite oxidation. *Microbiology. Vol 72. 438–442.*
- Vilinska, A., Hanumantha, R.K.**, 2008. *Leptospirillum ferrooxidans*-sulfide mineral interactions with reference to bioflotation and bioflocculation. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China. 18, 1403-1409.*
- Walker, F.P., Schreiber, M.E., Rimstidt, J.D.**, 2006. Kinetics of arsenopyrite oxidative dissolution by oxygen. *Geochimica et Cosmochimica Acta. 70, 1668–1676.*
- Wang, H., Bigham, J.M., Tuovinen, O.H.**, 2007. Oxidation of marcasite and pyrite by iron-oxidizing bacteria and archaea. *Hydrometallurgy. 88, 127–131.*
- Wang, X.H., Ahlberg, E., Forssberg, K.S.E.**, 1992. Electrochemical study of surface oxidation and collectorless flotation of arsenopyrite. *J. Appl. Electrochem. 22, 1095–1103.*
- Wiersma, C.L., Rimstidt, J.D.**, 1984. Rates of reaction of pyrite and marcasite with ferric iron at pH 2. *Geochem. Cosmochim. Acta 48, 85–92.*
- Williamson, M.A., Rimstidt, J.D.**, 1992. Correlation between structure and thermodynamic properties of aqueous sulfur species. *Geochim. Cosmochim. Acta 56, 3867–3880.*
- Williamson, M.A., Rimstidt, J.D.**, 1993. The rate of decomposition of the ferric-thiosulfate complex in acidic aqueous solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta 57, 3555–3561.*
- Williamson, M.A., Rimstidt, J.D.**, 1994. The kinetics and electrochemical rate determining step of aqueous pyrite oxidation. *Geochim. Cosmochim. Acta 58, 5443–5454.*
- Xia, L., Liu, J., Xiao, L., Zeng, J., Li, B., Geng, M., Qiu, G.**, 2008. Single and cooperative bioleaching of sphalerite by two kinds of bacteria—*Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China. 12, 190-195.*

---

**Xia, L., Liu, X., Zeng, J., Yin, C., Gao, J., Liu, J., Qiu, G.,** 2008. Mechanism of enhanced bioleaching efficiency of *Acidithiobacillus ferrooxidans* after adaptation with chalcopyrite. Hydrometallurgy. Vol 92. Pp 95–101.

**Yelloji, M.K., Natarajan K.A., Somasundaran, P.,** 1992b. Effect of biotreatment with *Thiobacillus ferrooxidans* on the floatability of sphalerite and galena. Miner Metall Process. 9, 95-100.

**Yelloji, M.K., Natarajan, K.A., Somasundaran, P.,** 1992a. Effect of bacterial conditioning of sphalerite and galena with *Thiobacillus ferrooxidans* on their floatability. In: Smith RW, Misra M, eds. Minerals Bioprocessing, TMS, Warrendale, 105-120.

**Yuce, A.E., Mustafa, T.H., Zeki, D.M.,** 2006. Effect of bacterial conditioning and the flotation of copper ore and concentrate. African J Biotechnol. 5, 448-452.

**Yunmei, Y., Yongxuan, Z., Zhenmin, G., Gammons, C.H., Dexian, L.,** 2007. Rates of arsenopyrite oxidation by oxygen and Fe(III) at pH 1.8–12.6 and 15–45°C. Environ. Sci. Technol. 41, 6460–6464.

**Yunmei, Yu., Yongxuan, Zhu., Williams-Jones, A.E., Zhenmin, Gao., Dexian, Li.,** 2004. A kinetic study of the oxidation of arsenopyrite in acidic solutions: implications for the environment. Applied Geochemistry. 19, 435–444.

**Zhang, X., Borda, M.J., Schoonen, M.A.A., Strongin, D.R.,** 2003. Adsorption of phospholipids on pyrite and their effect on surface oxidation. Langmuir. 19, 8787–8792.

**Zhen, S., Yan, Z., Zhang, Y., Wang, J., Campbell, M., Qin, W.,** 2009. Column bioleaching of a low grade nickel-bearing sulfide ore containing high magnesium as olivine, chlorite and antigorite. Hydrometallurgy. Vol 96. Pp 337–341.