



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

**MINERALOGÍA DEL PROCESO DE LIXIVIAIÓN BACTERIANA DE CALCOPIRITA
(CuFeS₂), ESFALERITA (ZnS) Y GALENA (PbS)**

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

Por

Erica Mejía Restrepo

Ingeniera de Materiales
Universidad de Antioquia

DIRECTOR

Marco Antonio Márquez Godoy

PhD. Mineralogía, UNALMED

CO-DIRECTOR

Álvaro Luís Morales Aramburo

PhD. Física, UdeA

Grupo de Mineralogía Aplicada y Bio-procesos “GMAB”

“Si una persona es perseverante, aunque sea dura de entendimiento, se hará inteligente; y aunque sea débil se transformará en fuerte”

Leonardo Da Vinci

AGRADECIMIENTOS

El autor quiere expresar sus agradecimientos a:

Las personas que durante el desarrollo de ésta tesis no permitieron que desistiera y me dieron fuerzas para continuar con esta ardua tarea, mi familia, mis amigos y muy especialmente a esa persona que siempre me ayudo a no desmoronarme y me enseñó a ser cada día mejor persona, a la cual amo profundamente.

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

Isabel Cristina Cardona, de la Universidad de *West Virginia*, USA, por su valioso apoyo en el desarrollo de éste trabajo.

Los profesores Álvaro Morales Aramburo y Marco Antonio Márquez, por su colaboración, orientación, y conocimientos aportados a este trabajo.

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

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

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

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

El laboratorio de Optoelectrónica de la Universidad del Quindío.

El laboratorio de Mineralurgia de la Universidad de Antioquia por facilitar sus espacios.

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

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

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

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

Al laboratorio de Física aplicada de la universidad EAFIT.

A todos los empleados y compañeros del bloque M1 y parque de la minería (Ingeominas), los cuales se convirtieron en mi segundo hogar, especialmente a: Martha Salazar, doña Gloria, Gloria, Oscar Jaramillo, Ángela, Don Aurelio, Don Eucario, Don Álvaro, Alex, Don Mauricio y a Luna y Simón, compañeros de juego.

TRABAJOS PRESENTADOS DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TESIS

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

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

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

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

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

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

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

E.R. Mejía, J.D. Ospina, M.A. Márquez and A.L. Morales. Oxidation of chalcopyrite (CuFeS_2) by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* like bacterium in shake flask. Advanced Materials Research. Vol. 71-73 p.p. 385-388. 2009.

II conferencia internacional de espectroscopia, *Spectra* 2009 Lima, Perú. Duración: 9-13 de marzo de 2009. Poster: Oxidation of chalcopyrite (cufes_2) by *Acidithiobacillus ferrooxidans* like and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans*-like and *Acidithiobacillus thiooxidans*-like bacterium in shake flasks.

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

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

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

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

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iii
TRABAJOS PRESENTADOS DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TESIS.....	iv
CONTENIDO.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	2
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. Biohidrometalúrgia	3
3.2. Biolixiviación de sulfuros	4
3.3. Bacterias involucradas en el proceso de biolixiviación	4
3.3.1. <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	4
3.3.2. <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	5
3.4. Factores que afectan el proceso de biolixiviación	5
3.4.1. Temperatura	5
3.4.2. pH	6
3.4.3. Potencial de redox	6
3.4.4. Concentración de iones metálicos	6
3.4.5. Nutrientes	7
3.4.6. Actividad de los microorganismos y concentración bacteriana	7
3.4.7. Tamaño de partícula	8
3.4.8. Interacción galvánica	8
3.5. Sulfuros: Características generales	9
3.5.1. Calcopirita (CuFeS ₂)	9
3.5.2. Galena (PbS)	10

3.5.3. Esfalerita (ZnS)	11
3.6. Precipitados formados en el proceso de biolixiviación	12
3.7. Mecanismos implicados	14
3.7.1. Mecanismo directo	14
3.7.2. Mecanismo indirecto	15
3.7.2.1. Vía polisulfuro	15
3.7.2.2. Vía tiosulfato	15
3.8. Técnicas analíticas: generalidades	16
3.8.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	16
3.8.2. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	16
3.8.3. Espectroscopía Mössbauer	16
3.8.4. Microscopía de fuerza atómica	17
3.7.5. Difracción de rayos X (DRX)	17
4. METODOLOGÍA.....	18
5. RESULTADOS.....	22
5.1. Caracterización mineralógica inicial	22
5.1.1. Calcopirita (CuFeS₂)	22
5.1.2. Galena (PbS)	24
5.1.3. Esfalerita (ZnS)	26
5.1.4. Proceso de concentración	28
5.2. Artículo I: Adaptación de <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> sobre concentrados de calcopirita (CuFeS₂), esfalerita (ZnS) y galena (PbS)	32
5.3. Artículo II: Caracterización mineralógica por microscopia electrónica de barrido y difracción de rayos X de los productos de biolixiviación de calcopirita (CuFeS₂), esfalerita (ZnS) y galena (PbS).	47
5.4. Artículo III: Caracterización mineralógica por Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier de calcopirita (CuFeS₂), esfalerita (ZnS) y galena (PbS)	66

5.5. Artículo IV: Biolixiviación de esfalerita (ZnS)	77
5.6. Artículo V: Chalcopyrite (CuFeS ₂) bioleaching	93
5.7. Artículo VI: Galena(PbS) bioleaching	109
6. ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER	125
6.1. Introducción	125
6.2. Metodología	125
6.3. Resultados	125
6.4. Discusión y conclusiones	128
7. MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA (AFM)	130
7.1. Introducción	130
7.2. Metodología	130
7.3. Resultados	131
7.4. Discusión y conclusiones	134
8. MODELOS MINERALÓGICOS PROPUESTOS.....	137
8.1 Modelo esquemático del mecanismo de biolixiviación de la calcopirita	137
8.2 Modelo esquemático del mecanismo de biolixiviación de la esfalerita	140
8.3 Modelo cualitativo del mecanismo de biolixiviación de la galena	143
9. FLOTACIÓN DIFERENCIAL EN CELDA TIPO HALLIMOND.....	145
9.1. Introducción	145
9.2. Metodología	147
9.3. Resultados	148
9.4. Discusión y conclusiones	155
10. BIBLIOGRAFÍA.....	156
11. ANEXOS.....	164

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Interacción galvánica entre galena y pirita. Modificado de Holmes y Crundwell, 1995.
- Figura 2.** Estructura cristalina de la calcopirita. Tomado de Sand *et al.*, (2000).
- Figura 3.** Izquierda, estructura cristalina de la galena, foto de un trozo de mineral masivo de galena. Danna, (2001).
- Figura 4.** Disolución oxidante esquemática de la galena con Fe^{3+} y O_2 como oxidantes primarios.
- Figura 5.** Estructura cristalina de la esfalerita. Danna 2001
- Figura 6.** Estructura cristalina de la jarosita donde A es K, H_3O . (a) Vista en dirección del eje c; (b) vista en dirección del eje a. Tomada de Gasharova *et al.*, 2005.
- Figura 7.** Mecanismo directo e indirecto de biolixiviación, según Rodríguez 2001.
- Figura 8.** Mecanismos indirectos en la biolixiviación de sulfuros según Sand *et al.*, (2000). Af = *A. ferrooxidans*; Lf = *L. ferrooxidans*; At = *A. thiooxidans*.
- Figura 9.** Imágenes MOLP. a) Pirita (amarillo claro), covelita (tonalidad azulosa relleno de fracturas) y mineral de la ganga (gris oscuro) en matriz de calcopirita. b) Centro, Calcopirita (amarillo) con grano de ganga (gris) y c) gran cantidad de ganga (gris) incluida en Calcopirita. Donde CPy: calcopirita, Py: pirita, Cv: covelita y Qz: minerales de la ganga.
- Figura 10.** Imágenes MOLP. a) Molibdenita (gris clara) incluida en la ganga. b) Centro, Granos de molibdenita (gris) en incluidos en Calcopirita (amarilla) y c), Pequeñas inclusiones de Esfalerita (gris). Donde CPy: calcopirita, Py: pirita, Mo: molibdenita y Qz: minerales de la ganga.
- Figura 11.** Imágenes MOLP. Covelita relleno de fracturas en la matriz de calcopirita. CPy: calcopirita, Cv: covelita y Qz: minerales de la ganga.
- Figura 12.** a) Covelita, la cual proviene de la oxidación de la calcopirita, b) centro, covelita relleno de fracturas en la muestra de calcopirita y c), grano de calcopirita con inclusión de molibdenita. Donde CPy: calcopirita, Cv: Covelita y Mo: Molibdenita. EDS de granos de: a) calcopirita, b) covelita y c) molibdenita
- Figura 13.** a) Grano de molibdenita liberado y b) Grano de esfalerita con alto contenido de cadmio incluido en calcopirita. Donde CPy: calcopirita, Cv: Covelita, SPy: esfalerita y Mo: Molibdenita. EDS de grano de esfalerita.
- Figura 14.** a) sulfosales de Cu, Se, Ag y Te, b) centro, sulfosal de Bi, Pb, Ag, Fe y Cu y c), telurio de Ag y Cu incluido en la muestra de calcopirita.
- Figura 15.** a) Inclusión de galena (Gn) en grano de calcopirita y sulfosal presente en el borde de grano de la calcopirita, b) centro, grano eudral de sulfuro de cadmio, intercedida con un pequeño grano de una sulfosal de Ag, Pb, Bi, Cu y Fe. Y c) óxido de titanio intercedido con grano eudral de cuarzo.
- Figura 16.** Imágenes MOLP. Pirita (amarillo claro) y mineral de la ganga (gris oscuro) en matriz de galena. Donde Gn: Galena, Py: Pirita y Qz: Cuarzo.
- Figura 17.** Imágenes MOLP. a) matriz de galena (gris claro), con inclusiones de pirita (amarillo claro) y esfalerita (gris azulado). b) Grano de galena con *pits* característicos de clivaje.
- Figura 18.** Imágenes de SEM para galena. a) galena con gran presencia de *pits* de clivaje, intercedida con esfalerita (gris oscuro). b) galena intercedida con pirita eudral y esfalerita. c) esfalerita con grano de galena intercedida. Donde Gn: galena, SPy: esfalerita, Py es pirita. Análisis de EDX a) galena, b) pirita y c) esfalerita.
- Figura 19.** Análisis microquímico EDS sobre telurio de plata incluido en pirita.
- Figura 20.** Imágenes MOLP. a) Pirita (amarillo claro) intercedida con esfalerita desease (gris oscuro con puntos amarillos correspondientes a calcopirita), la pirita presenta un pequeña inclusión de galena

(gris claro). b) Calcopirita en forma de lamelas y como gotículas incluida en esfalerita intercedida con pirita. Donde SPy: esfalerita, CPy: calcopirita, Py: pirita, Gn galena y Qz: cuarzo.

Figura 21. Imágenes MOLP. a) Pirita (amarillo claro) intercedida con esfalerita *disease* (gris oscuro con puntos amarillos correspondientes a calcopirita). b) Granos euedrales de pirita intercedida en mineral de la ganga y esfalerita, la calcopirita se presenta en forma de lamelas y como gotículas. Donde SPy: esfalerita, Py: pirita, Gn galena y Qz: cuarzo.

Figura 22. Imágenes MOLP. Esfalerita con pequeñas inclusiones de calcopirita, y lamelas de exsolución orientadas en forma paralela entre sí.

Figura 23. Imágenes de SEM. a) Granos euedrales de pirita intercedidos con esfalerita *disease*, además se observa la presencia de pequeñas inclusiones de galena. b) Matriz de esfalerita con finas inclusiones de calcopirita en forma de gotículas, además de galena rellenando fractura. Donde SPy: esfalerita, CPy: calcopirita, Py: pirita, Gn galena y Qz: cuarzo

Figura 24. Imágenes de SEM. a) Grano individual de pirita con pequeñas inclusiones de esfalerita, incluido en matriz de esfalerita. b) Intercrecimiento de esfalerita *disease* cuarzo, calcita y galena. Donde SPy: esfalerita, CPy: calcopirita, Py: pirita, Gn galena, Ca: calcita y Qz: cuarzo.

Figura 25. Imágenes de SEM. a) Granos euedrales de pirita con pequeñas inclusiones de calcopirita, intercedido con esfalerita y calcita. b) Calcita con inclusión de galena. Donde SPy: esfalerita, CPy: calcopirita, Py: pirita, Gn galena y Ca: calcita.

Figura 26. De izquierda a derecha: Esquema de una trituradora de mandíbulas, esquema de una trituradora de rodillos y proceso de tamizado.

Figura 27. a) Molino orbital con cuerpos molidores de zirconio estabilizados con itrio y b) Mesa wilfley para concentración gravimétrica.

Figura 28. Difractogramas de rayos X (DRX) para las muestras de calcopirita (CuFeS_2) sin tratamiento pasante malla 200 (a) y 325(b). Donde Cl: Clorita, W: Wollastonita, Coy: Calcopirita, CuS: covelita, Mo: Molibdenita y Qz: cuarzo.

Figura 29. Difractogramas de rayos X (DRX) para las muestras de galena (PbS) sin tratamiento pasante malla 200 (a) y 325 (b). Donde: Gn: galena, Qz: cuarzo, SPy: esfalerita y Arg: aragonito.

Figura 30. Difractogramas de rayos X (DRX) para las muestras de esfalerita (ZnS) sin tratamiento pasante malla 200 (a) y 325 (b). Donde Qz: cuarzo, SPy: esfalerita, CPy: calcopirita, y Ca: calcita.

Figura 31. Muestra de esfalerita, con un tamaño de partícula entre 75–45 μm , sin tratamiento previo con bacterias.

Figura 32. Muestra de esfalerita, con un tamaño de partícula entre 75–45 μm , sometido a oxidación bacteriana por 15 días.

Figura 33. Muestra de esfalerita, con un tamaño de partícula entre 75–45 μm , sometido a oxidación bacteriana por 30 días.

Figura 34. Muestra de esfalerita, con un tamaño de partícula entre 45–15 μm , sin oxidación bacteriana.

Figura 35. Muestra de esfalerita, con un tamaño de partícula entre 45–15 μm , sometido a oxidación bacteriana por 15 días

Figura 36. Muestra de esfalerita, con un tamaño de partícula entre 45–15 μm , sometida a oxidación bacteriana durante 30 días.

Figura 37. Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de galena luego de 12 horas de interacción *Acidithiobacillus ferrooxidans*. El área de medida fue de $(12 \times 12) \mu\text{m}^2$, imagen superior, y de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$ imagen inferior. Las flechas indican zonas típicas de corrosión.

Figura 38. Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de galena luego de 12 horas de interacción con medio T&K sin bacterias. El área de medida fue de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$. El círculo rojo señala zona característica de corrosión

Figura 39. Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de calcopirita luego de 12 horas de interacción con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. El área de medida fue de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$,

imagen superior, y de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$ imagen inferior. Donde el círculo rojo indica la presencia de terrazas ó películas superpuestas y el círculo amarillos indica formación de precipitados.

Figura 40. Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de calcopirita luego de 12 horas de interacción con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. El área de medida fue de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, imagen superior, y de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$ imagen inferior. Donde el círculo rojo indica formación de terrazas o películas superpuestas y el círculo amarillos formación de precipitados.

Figura 41. Imágenes de microscopía de fuerza atómica (AFM) para la superficie de calcopirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K sin bacterias. El área de medida fue de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, imagen superior, y de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$ imagen inferior. El círculo indica la presencia de precipitados.

Figura 42. Zoom sobre la imagen de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de calcopirita luego de 12 horas de interacción con medio T&K sin bacterias. El área de medida fue de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$.

Figura 43. Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de esfalerita luego de 12 horas de interacción con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. El área de medida fue de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, imagen superior, y de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$ imagen inferior. Las flechas indican la formación de terrazas superpuestas.

Figura 44. Imágenes de microscopía de fuera atómica (AFM) para la superficie de esfalerita luego de 12 horas de interacción con medio T&K sin bacterias. El área de medida fue de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, imagen superior, y de $(5 \times 5) \mu\text{m}^2$ imagen inferior. El círculo señala la presencia de terrazas superpuestas.

Figura 45. Modelo esquemático del mecanismo de biolixiviación de la calcopirita El color está asociado a las reacciones mostradas.

Figura 46. Modelo esquemático del mecanismo de biolixiviación de esfalerita. El color está asociado a las reacciones mostradas.

Fig 47. Modelo esquemático del mecanismo de biolixiviación de galena. El color está asociado a las reacciones mostradas.

Fig 48. Esquema del principio de separación por flotación

Fig 49. Difracción de rayos X para la mezcla pirita-galena, Donde: Py: Pirita, Gn: Galena, Qz: cuarzo, y W: wollastonita.

Figura 50. Difracción de rayos X para la mezcla pirita-calcopirita, Donde: Py: Pirita, Cl: colorita, Qz: cuarzo, Cu: covelita, CPy: calcopirita y Mo: molibdenita.

Figura 51. Difracción de rayos X para la mezcla pirita-esfalerita, Donde: Py: Pirita, Gn: Galena, Qz: cuarzo, y SPy: esfalerita

Figura 52. Porcentaje del sulfuros para la mezcla pirita-galena. Donde 0 es la mezcla original, 1: mezcla flotada sin tratamiento de bacterias, 2: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 2 horas, 4: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 4 horas, 12: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 12 horas, 24: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 24 horas, 48: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 48 horas. Py: Pirita, Gn: Galena, Qz: cuarzo, SPy: esfalerita y CPy: Calcopirita.

Figura 53. Difracción de rayos X para la mezcla pirita-galena, flotada sin tratamiento con bacterias y con tratamiento 48 Horas (4hF). Donde: Py: Pirita, Gn: Galena, Qz: cuarzo, y Ang: Anglesita.

Figura 54. . Imágenes de abundancia relativa para los picos de piriya y galena obtenidos por DRX, para las muestras sometidas al proceso de flotación luego de la interacción bacteriana. Donde 0 es la mezcla original, 1: mezcla flotada sin tratamiento de bacterias, 2: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 2 horas, 4: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 4 horas, 12: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 12 horas, 24: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 24 horas, 48: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 48 horas. Py: Pirita y Gn: Galena.

Figura 55. Porcentaje del sulfuros, fracción flotada, para la mezcla pirita-calcopirita. Donde 0 es la mezcla original, 1: mezcla flotada sin tratamiento de bacterias, 2: mezcla flotada luego del tratamiento

con bacterias 2 horas, 4: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 4 horas, 12: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 12 horas, 24: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 24 horas, 48: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 48 horas. Py: Pirita, Gn: Galena, G: ganga, SPy: esfalerita y CPy: Calcopirita.

Figura 56. Difracción de rayos X para la mezcla pirita-calcopirita, flotada sin tratamiento con bacterias y con tratamiento 48 Horas (4hF). Donde: Py: Pirita, Gn: Galena, Qz: cuarzo, y Ang: Anglesita.

Figura 57. Imágenes de abundancia relativa para los picos de pirita y calcopirita obtenidos por DRX, para las muestras sometidas al proceso de flotación luego de la interacción bacteriana. Donde 0 es la mezcla original, 1: mezcla flotada sin tratamiento de bacterias, 2: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 2 horas, 4: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 4 horas, 12: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 12 horas, 24: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 24 horas, 48: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 48 horas. Py: Pirita y CPy: calcopirita.

Fig. 58. Porcentaje del sulfuros para la mezcla pirita-esfalerita. Donde 0 es la mezcla original, 1: mezcla flotada sin tratamiento de bacterias, 2: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 2 horas, 4: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 4 horas, 12: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 12 horas, 24: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 24 horas, 48: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 48 horas. Py: Pirita, Gn: Galena, G: ganga, SPy: esfalerita y CPy: Calcopirita.

Fig. 59. Difracción de rayos X para la mezcla pirita-esfalerita, flotada sin tratamiento con bacterias y con tratamiento 48 Horas (4hF). Donde: Py: Pirita, Gn: Galena, Qz: cuarzo, y Ang: Anglesita.

Fig. 60. Imágenes de abundancia relativa para los picos de pirita y esfalerita obtenidos por DRX, para las muestras sometidas al proceso de flotación luego de la interacción bacteriana. Donde 0 es la mezcla original, 1: mezcla flotada sin tratamiento de bacterias, 2: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 2 horas, 4: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 4 horas, 12: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 12 horas, 24: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 24 horas, 48: mezcla flotada luego del tratamiento con bacterias 48 horas. Py: Pirita y SPy: calcopirita.

Fig. 61. Gráfica de crecimiento bacteriano para los ensayos realizados con calcopirita (CuFeS_2) en células por mililitro, en donde F: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, FT: *cultivos mixtos*.

Fig. 62. Gráfica de crecimiento bacteriano para los ensayos realizados con esfalerita (ZnS) en células por mililitro, en donde F: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, FT: *cultivos mixtos*.

Fig. 63. Gráfica de crecimiento bacteriano para los ensayos realizados con galena (PbS) en células por mililitro, en donde F: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, FT: *cultivos mixtos*.

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Avances en el desarrollo de la Biohidrometalúrgia. Modificada de Brierley 2008.
- Tabla 2.** Temperatura y pH óptimos para el crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Tomada de Daoud & Karamanev (2006).
- Tabla 3.** Niveles de toxicidad de cationes y aniones para el *A. ferrooxidans* (Acevedo & Gentina, 2005).
- Tabla 4.** Relación del tamaño del tamiz con el número de malla.
- Tabla 5.** Composición mineralógica de los concentrados.
- Tabla 6.** Composición mineralógica de las mezclas.

RESUMEN

En este trabajo se realizó una caracterización mineralógica del proceso de biolixiviación bacteriana de calcopirita (CuFeS_2), esfalerita (ZnS) y galena (PbS), usando microorganismos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y dos tamaños de partícula malla -200 y -325, según la serie de tamices Tyler. La biolixiviación fue realizada a escala de laboratorio en agitadores orbitales, sin adicionar al medio de cultivo sulfato ferroso y azufre elemental como fuente principal de energía, obligando a los microorganismos, mediante un proceso de adaptación en etapas sucesivas, a lixiviar el mineral. Las técnicas mineralógicas empleadas para elaborar la caracterización mineralógica del proceso fueron: microscopía electrónica de barrido con analizador de estado sólido (SEM/EDX), difracción de rayos X (DRX), espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), microscopía óptica de luz plana polarizada (MOLPP) y microscopía de barrido por sonda (modo AFM). Además se realizaron análisis químicos a las muestras líquidas obtenidas del proceso de biolixiviación.

La calcopirita presentó una lixiviación de cobre alrededor del 50% para la malla -200 Tyler y 40% para la malla -325 Tyler. La biolixiviación de calcopirita fue un proceso atípico ya que la disolución de cobre fue mayor a bajos potenciales de óxido reducción, mientras que a altos potenciales de óxido reducción la lixiviación fue inhibida. Altas concentraciones de Fe^{3+} generaron una inestabilidad química en el proceso, favoreciendo la formación y precipitación de sulfatos de hierro, jarosita, detectada como principal producto del proceso. Esta precipitó en forma de películas discontinuas sobre la superficie del mineral y como cementante en aglomerados de otras partículas minerales. A pesar de que, la biolixiviación no fue un proceso típico, se considera que los microorganismos desempeñaron un papel fundamental, ya que los controles abióticos solo muestran una disolución del 5%.

La esfalerita mostró una lixiviación de zinc alrededor del 60% para todos los ensayos y de menos del 6% en los controles no inoculados. Los resultados sugieren que la disolución de la esfalerita tiene una relación directa con la tasa de disolución de hierro férrico y la concentración de H^+ del medio. La formación de jarosita fue evidenciada mediante SEM en forma de pequeños agregados aislados. La ausencia de películas de azufre elemental da indicios sobre la capacidad de los microorganismos de oxidarlo formando ácido sulfúrico, además se considera que, la poca formación de jarositas fue debida a las bajas concentraciones de hierro en solución, lo cual no favoreció la hidrólisis y precipitación del mismo. La disolución de zinc se vio reflejada en la formación de golfos y *pits* de corrosión. A pesar que la caracterización mineralógica inicial mostró la presencia de carbonatos en los concentrados, estos no inhibieron el proceso, ya que fueron neutralizados por la acción conjunta del medio y los microorganismos, transformándose en yeso, como se evidencio por todas las técnicas mineralógicas empleadas.

Para el caso de la galena, se observó, para todos los ensayos, un porcentaje de lixiviación del 57% y menos del 5% para los ensayos no inoculados. Se evidenció la formación de una película de sulfato de plomo, anglesita, sobre la superficie del mineral, la cual puede inhibir el proceso de biolixiviación. La oxidación incipiente observada en los controles no inoculados puede explicarse ya que en medio ácido la galena se disuelve como resultado de la protonación de la superficie del mineral.

Por otra parte, en los ensayos realizados se observó la presencia de pares galvánicos pirita-galena y esfalerita-calcopirita, donde se favoreció la disolución del mineral con más bajo potencial de reposo.

Los resultados obtenidos para ambos tipos de cultivo con todos los sulfuros, indican la pasivación de *Acidithiobacillus thiooxidans*, indicando que este tipo de microorganismo es incapaz de obtener la fuente de energía necesaria para su crecimiento de los sulfuros empelados en este ensayo.

1. INTRODUCCIÓN

El hombre se ha aprovechado de la capacidad natural que tienen ciertos microorganismos para descomponer una gran variedad de minerales, hecho que se remonta a la época de los romanos, en el siglo I AC. Los mineros usaban la actividad microbiana para la recuperación del cobre sin ser conscientes de ésta, sin embargo, a pesar de que esta actividad ha sido desarrollada por siglos, en los últimos años se ha producido un fuerte interés en la industria biotecnológica como una alternativa de procesamiento más amigable con el medio ambiente (Brierley 2001; Rawlings, 2002).

Desde hace algunas décadas se implementa en la industria minera, a nivel internacional, el empleo de cierto tipo de microorganismos para facilitar la extracción o el beneficio de metales base, tales como el cobre, zinc, uranio, entre otros, a partir de sulfuros. Esta práctica es denominada biominería, término general acuñado para describir como algunos microorganismos solubilizan estos metales; base de la economía y desarrollo de los sectores mineros, mediante la combinación de procesos químicos y microbiológicos (Rawlings, 2004).

El interés que se ha mostrado en el uso de microorganismos se debe a que los métodos convencionales para la recuperación de metales, como la pirometalurgia son actualmente económicamente menos viables; por lo tanto, las empresas mineras se han visto obligadas a buscar nuevos procesos para beneficiar minerales de bajo tenor, así como colas de procesos anteriores (Rawlings *et al.*, 2003, Rawlings, 2004). La oxidación y lixiviación bacteriana se muestra como una alternativa debido a sus bajos costos de capital y operación, además de su versatilidad en cuanto adaptación a diferentes procesos (Brierley & Luinstra, 1993; Waltling, 2006) y diversos tipos de menas, mostrando grandes ventajas desde el punto de vista ambiental, ya que éste proceso no requiere el uso de grandes cantidades de energía y no se producen emisiones gaseosas (Marsden & House, 1992).

Actualmente se conocen muy bien los microorganismos implicados en el proceso (Rawlings 2001, Dopson & Lindstron 2001, Edwards *et al.*, 2001); además se ha demostrado que el proceso es útil en la recuperación de minerales de baja ley (Domic 2007). Sin embargo, los procesos de biolixiviación son complejos, existe poco conocimiento de las transformaciones que sufren los minerales en el tiempo, así como las variaciones que presenta la solución que contiene el mineral. Por lo tanto, un estudio detallado del proceso permitiría la optimizar la extracción de metales base como Cu, Zn, Pb, entre otros. En concordancia, en los pasados 20 años se han creado diez plantas de biolixiviación en pilas, siete plantas de biolixiviación en reactores para sulfuros y se han creado plantas a escala piloto alrededor del mundo (Gómez *et al.*, 1999; Rodríguez *et al.*, 2001).

La caracterización mineralógica se ha tornado, desde hace varias décadas, en una herramienta poderosa para el entendimiento de diversos procesos naturales y artificiales en los que se dan cambios de fase. Gracias al creciente desarrollo a nivel de nuevos equipos y software más completos y amigables, se presentan mayores alcances en la caracterización de las transformaciones de minerales que se dan en los procesos que contemplan la acción de microorganismos. Varias técnicas importantes monitorean desde diversos ámbitos y niveles este tipo de transformaciones. Dentro de las más usadas se encuentra difracción de rayos X (DRX), espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de barrido con analizador microquímicos (SEM/EDX), espectroscopía Mössbauer y microscopía de barrido por sonda (modo AFM).

Mediante el entendimiento de la mineralogía del proceso de biolixiviación se pretende dar soporte en las implicaciones de las transformaciones de éstos en la optimización de procesos ya mencionados y el mejoramiento en la extracción. Por último, es importante destacar el hecho de que en el país han sido realizados pocos estudios que involucran la investigación sobre minerales de menas nacionales y microorganismos no nativos, por lo que este trabajo se considera de gran relevancia para la optimización de los procesos en la industria minera y la implementación de los mismos en nuestro país.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS

La hipótesis planteada en este proyecto de investigación consiste en que mediante la utilización combinada de técnicas analíticas, tales como microscopía óptica de luz plana polarizada, modo de luz reflejada (MOLPP/LR), difracción de rayos X, (DRX), microscopía electrónica de barrido con analizador de estado sólido tipo EDX (SEM/EDX), espectroscopía Mössbauer y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), y su interpretación a la luz de la mineralogía, se pueden definir los mecanismos globales de biolixiviación, en el tiempo, de sulfuros como la calcopirita, esfalerita y galena, con el fin de dar soporte para el entendimiento de la transformación de éstos en procesos naturales o industriales, con impactos importantes en el ámbito ambiental y económico a nivel mundial y local.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar el mecanismo global de biolixiviación de calcopirita (CuFeS_2), esfalerita (ZnS) y galena (PbS), debido a las transformaciones de fase y la mineralogía del proceso.

2.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar la competencia de microorganismos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* en la biolixiviación de calcopirita (CuFeS_2), esfalerita (ZnS) y galena (PbS).

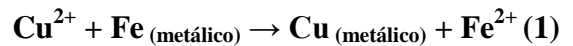
Definir las fases mineralógicas producto de las transformaciones generadas durante el proceso de biolixiviación.

Estudiar los cambios químicos y morfológicos que tienen lugar en los minerales durante el proceso de biolixiviación.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. BIOHIDROMETALÚRGIA

La biohidrometalúrgia tiene sus raíces en la hidrometalurgia, ciencia antigua que se remonta 177–122 AC (Rossi, 1990). La hidrometalurgia nace con el proceso de cementación del cobre, el cual tiene como objetivo la recuperación del ion Cu^{2+} a partir de soluciones ácidas de sulfato de cobre, mediante el tratamiento con iones metálicos como el hierro (Ehrlich, 1998). Esta transformación es representada mediante la siguiente ecuación (Habashi 2005):



Sin embargo, el advenimiento de la biohidrometalúrgia inicia con el descubrimiento de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, a mediados de los años 40 (Temple *et al.*, 1951, Acevedo, 2002) y un conocimiento incipiente de papel de las bacterias en la lixiviación del cobre en los años 60 (Habashi, 2005, Brierley, 2008). Las investigaciones iniciales mostraron que las bacterias eran eficaces en la biooxidación de la pirita y la biolixiviación de sulfuros de cobre como la calcopirita, enargita y covelina (Brierley, 2008). La biohidrometalúrgia ha sido utilizada para la biolixiviación de minerales de bajo grado, los cuales no pueden ser, desde un punto de vista económico, procesados por métodos convencionales (Brierley 2001).

Se puede decir entonces que la biohidrometalúrgia descende de la unión inesperada de la biotecnología y la hidrometalurgia, donde el desarrollo de estos procesos se da como resultado de la interacción natural de los microorganismos y sulfuros (Morin *et al.*, 2006).

La biohidrometalúrgia se ha desarrollado con rapidez en la última década, lo que se puede observar en la tabla 1. Está biotecnología se puede dividir en dos ramas: La biolixiviación basada en la recuperación de metales base (como cobre, cobalto, níquel, zinc, uranio entre otros), donde la bacteria cataliza el proceso de disolución del metal, y la biooxidación en donde el fin de las bacterias es eliminar la interferencia del sulfuro que contiene ocluido el oro y/o plata, ya que los metales (hierro y arsénico entre otros) que acompañan al sulfuro no tienen valor comercial en este tipo de procesos (Rohweder *et al.*, 2003).

Tabla 1. Avances en el desarrollo de la Biohidrometalúrgia. Modificada de Brierly 2008.

Conocimiento	Ejemplo
Diversidad de microorganismos para la biolixiviación de minerales.	Mesófilos Moderadamente Termófilos Termófilos <i>Leptospirillus</i> , <i>Acidithiobacillus caldus</i> y ferroplasma
Mecanismos de biooxidación de sulfuros	Contacto y no contacto Alta controversia
Aplicaciones a escala comercial	BIOX™ en aplicación por 20 años Biolixiviación de cobalto Biolixiviación de cobre

3.2. BIOLIXIVIACIÓN DE SULFUROS

La lixiviación bacteriana, también conocida como biohidrometalurgia puede ser definida como un proceso natural de disolución que resulta de la acción de un grupo de bacterias con habilidad de oxidar sulfuros, permitiendo la liberación del metal contenido en el mineral (Akcil, 2004; Donati, 2006). La biolixiviación emplea bacterias específicas para lixiviar, disolver o extraer un metal de valor (cobre, uranio, zinc, níquel, cobalto, etc.) contenido en un mineral. El producto final de la biolixiviación es una solución ácida que contiene el metal en forma soluble (Dresher, 2004; Donati, 2006). Sin embargo, la biolixiviación se ha confundido con el término biooxidación el cual es usado cuando el elemento a recuperar no puede ser solubilizado por los microorganismos pero su presencia beneficia la recuperación del mismo, a través de la degradación de la matriz mineral en la que está ocluido el elemento de interés (Donati, 2006). La mayor aplicación de la biooxidación es para el mejoramiento de la extracción de oro, potencialmente es aplicable a la plata, cuando se encuentra nativa e incluso como sulfuro y posiblemente al molibdeno, cuando se encuentra bajo la forma de sulfuros como la molibdenita (Donati, 2006).

En los últimos años la biolixiviación ha sido ampliamente aplicada a escala industrial debido a los bajos costos y a que es una tecnología ambientalmente viable, conveniente para la explotación y beneficio de menas complejas de bajo tenor (Akcil, 2004). La biolixiviación de sulfuros ha sido aplicada en la extracción de cobre, zinc y cobalto. Además, algunas investigaciones indican que los minerales que contienen níquel, molibdeno y manganeso son metales potencialmente recuperables a través de la lixiviación bacteriana (Akcil, 2004).

Actualmente, se estima que la contribución de la biolixiviación es de aproximadamente el 15, 13 y 25% de la producción total del mundo de cobre, uranio y oro, respectivamente. (Akcil, 2004).

Además de la disolución de sulfuros metálicos, la habilidad de *Acidithiobacillus ferrooxidans* para oxidar el ion ferroso ha sido explotada en bioprocesos con relación al tratamiento de aguas, drenajes ácidos de mina, en procesos de biodesulfurización de carbones constituyendo una alternativa para remover el azufre presente en estos minerales con técnicas ambientalmente más amigables (Casas 2007; Cardona & Márquez 2009).

3.3. BACTERIAS INVOLUCRADAS EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

Los microorganismos que participan en procesos de biolixiviación son bacterias acidófilas, por su capacidad de generar ambientes ácidos (pH menores a 3) por la producción de ácido sulfúrico. Además, son capaces de oxidar compuestos inorgánicos como azufre y/o hierro ferroso, siendo esta una de las principales razones para que los minerales se conviertan en recursos energéticos para ellas (Rohweder *et al.*, 2003). Las bacterias comúnmente usadas pertenecen al género *Acidithiobacillus* (anteriormente *Thiobacillus* reclasificadas por Kelly & Wood, 2000). Dentro de este grupo se encuentran las bacterias mesófilas que viven a temperaturas que oscilan entre los 20-30°C, obtienen su fuente de energía del hierro y/o azufre, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Éstas con las moderadamente termófilas (30-45°C) como *At. Calvus*, pertenecen a las Gran-negativas y σ -proteobacterias. También se encuentran bacterias pertenecientes a las Gran-positivas como las moderadamente termófilas del género *Leptospirillum*, *acidimicrobium*, *ferromicrobium* y *sulbocacillus* y las termófilas *sulfolobus*, *archeabacteria*, *metallosphaera* entre otras. En general, todas estas bacterias tienen un espectro limitado, es decir, pueden crecer sólo en condiciones aeróbicas oxidantes del hierro ferroso en contraste con *Acidithiobacillus ferrooxidans* que está dotado con una amplia capacidad metabólica siendo capaz de obtener su energía de compuestos reducidos del azufre, además, de tener la habilidad de oxidar hidrogeno molecular, ácido fórmico, hierro ferroso y otros iones metálicos.

3.3.1. *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Son las bacterias más ampliamente estudiadas en procesos de biolixiviación. Fue aislada por Colmer y Hinkle (1947) de drenajes ácidos en minas de carbón. Son bacterias no patógenas, Gram-negativas que no forma esporulación, tiene forma de bastón y tamaño promedio de 0.5 a 0.6 μm de ancho y 1 a 2 μm de largo, con extremos redondeados. Ocurren por separado o en parejas, muy rara

vez en cadenas cortas (Rossi, 2001, Bosecker, 2001). Son autotróficas, obtienen su fuente de carbono para la síntesis celular del dióxido de carbono atmosférico, además, requieren nitrógeno (como amonio), azufre (como sulfato ó compuestos reducidos de él) y fósforo (fostatos), junto con trazas de metales como: hierro, potasio, magnesio, sodio, calcio y cobalto (McIntosh *et al.*, 1997, Meruane 2002). Son quimiolitotróficas, es decir, obtienen la energía necesaria para su crecimiento de la oxidación de hierro ferroso y compuestos reducidos del azufre, utilizando el oxígeno como último aceptor de electrones (Rossi, 2001, Kelly & Wood, 2000).

Son bacterias mesófilas, crecen en condiciones de temperatura entre 28 y 33 °C, dependiendo de la concentración de hierro disuelto y el pH. Posee un pH óptimo de crecimiento entre 2.0 y 2.5, en la oxidación de sulfato ferroso, sin embargo, cuando oxida compuestos de azufre, puede mantener altas actividades a pH superiores a 4 (Meruane 2002). En la tabla 2, se pueden observar los resultados de diferentes estudios donde se encontró la temperatura y pH óptimo para el buen crecimiento de la bacteria.

Tabla 2. Temperatura y pH óptimos para el crecimiento de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Tomada de Daoud & Karamanev (2006).

Referencia	pH óptimo
Karamanev and Nivolov (1988)	2,0
Torma, 1977	2,3
Smith <i>et al.</i> , 1988	2,0-2,3
Drobner <i>et al.</i> , 1990	2,0
	Temperatura óptima
Ahonen and Tuovinen, 1989	28
Okereke & Stevens 1991	30
Smith <i>et al.</i> , 1988	25-30
Nemati, 1996	35

3.3.2. *Acidithiobacillus thiooxidans*

Morfológicamente tiene las mismas características que *Acidithiobacillus ferrooxidans*. También posee capacidad para oxidar azufre elemental y compuestos reducidos del azufre, sin embargo no es capaz de oxidar hierro ferroso, el cual se cree es el responsable de la rápida disolución de sulfuros metálicos. Por esta razón la acción de *Acidithiobacillus thiooxidans* en procesos de biolixiviación ha sido estudiada parcialmente (Mu-qing *et al.*, 2005). *Acidithiobacillus thiooxidans* fue aislada por Waksman & Joffe (1992).

Sin embargo, este microorganismo es mucho más efectivo para la oxidación de azufre elemental que *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Se caracteriza por alcanzar altos niveles de acidez, pH ~0,5 (Kelly & Wood 2000). Su temperatura óptima de crecimiento es muy similar a la *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

3.4. FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

La actividad que presentan los microorganismos en el proceso de biolixiviación depende, en gran medida, de las condiciones ambientales a las que son sometidos (Rossi, 2001). Dentro de estos factores, los más importantes son: pH, potencial redox, concentración de nutrientes, concentración de iones metálicos, tamaño de partícula e interacciones galvánicas (Das *et al.*, 1999; Acevedo, 2000; Rossi, 2001; Gómez & Cantero, 2005; Valencia & Acevedo 2008).

3.4.1. Temperatura

Actualmente se entiende que la descomposición de minerales es un proceso químico donde el rol principal de los microorganismos es producir hierro férrico y protones (ácido). Estudios indican que, como regla general, la velocidad de las reacciones químicas se duplica con el aumento en 10°C en la temperatura. A pesar que la velocidad de descomposición es lo suficientemente rápida en 35-40°C para casi todos los minerales, para otros casos como calcopirita temperaturas en el intervalo

45-80°C son indispensables para hacer que el proceso sea económicamente viable (Rawling 2003, 2004).

Sin embargo, la disponibilidad de oxígeno disuelto en la lixiviación bacteriana de sulfuros es un factor indispensable, ya que la bacteria necesita oxígeno durante la oxidación de las especies reducidas del hierro y azufre (Das *et al.*, 1999; Rossi, 2001). La solubilidad del oxígeno en agua a 35 °C es 8 g/m³ y disminuye con el aumento en la concentración de iones en la solución y la temperatura, por lo que un aumento de esta, puede hacer necesario un suministro externo de oxígeno (Das *et al.*, 1999).

Por lo tanto, los procesos de biooxidación tienen un máximo de temperatura por encima del cual las reacciones de oxidación se inhiben. Para los microorganismos del género *Acidithiobacillus*, la temperatura máxima es de alrededor 43°C, con un intervalo óptimo entre 25 y 35°C, estos microorganismos son denominados mesófilos, mientras que para microorganismos termófilos el rango de temperatura va 50-80°C (Hayward *et al.*, 1997).

3.4.2. pH

El pH influye de forma significativa en la velocidad de crecimiento de los microorganismos, debido a que afecta a los grupos ionizables presentes en las enzimas situadas en el citoplasma y periplasma de la célula. Dichos grupos deben encontrarse en la forma iónica más adecuada para mantener la conformación del centro activo de la célula y así enlazarse a los sustratos y catalizar la reacción (Gómez & Cantero, 2005).

Los microorganismos que participan en la lixiviación bacteriana de sulfuros son acidófilos, ya que son activos a pH por debajo de 3,0; con un pH óptimo para *Acidithiodacillus ferrooxidans* en el intervalo de 1,5 a 2,5 (Das *et al.*, 1999).

Valores de pH cercanos a 1,0 presentan una fuerte inhibición del crecimiento del *A. ferrooxidans*, lo que no ocurre con *A. thiooxidans*, que presenta caídas en el pH de sus cultivos incluso hasta menos de 1,0, debido a la producción de ácido sulfúrico y a su capacidad de tolerar una mayor acidez (Ossa, 2004; Gómez & Cantero, 2005).

La formación de precipitados en la biooxidación de sulfuros depende del valor de pH de la solución. A valores de pH por encima de 2,5 el hierro férrico tiene una baja solubilidad, ocasionando la formación de hidroxisulfatos básicos de Fe³⁺, con fórmula general MFe₃(SO₄)₂(OH)₆, donde M es K⁺ (jarosita), Na⁺ (natrojarosita), NH₄⁺ (amoniojarosita), H₃O⁺ (hidroniojarosita), Ag⁺ (argentojarosita), Pb²⁺ (plumbojarosita), entre otros. Esta precipitación depende fundamentalmente del pH, la composición iónica y la concentración del medio (Gómez & Cantero, 2005).

La precipitación de Fe³⁺ ocurre incluso a bajos valores de pH, sin embargo, se observa que medios con valores de pH menores de 1,8 son efectivos para limitar la extensión de la precipitación de estos compuestos (Gómez & Cantero, 2005; Daoud & Karamanev, 2006). Hayward *et al.*, (1997) recomiendan que para mantener la actividad bacteriana en un proceso de biooxidación de sulfuros en reactores de tanque agitado el pH de operación debe mantenerse en el intervalo de 1,6 – 1,8.

3.4.3. Potencial redox

El potencial redox de la solución es un indicador indirecto del metabolismo energético o actividad de la bacteria en el proceso de biolixiviación, debido a que es una medida de la tendencia de la solución a ser oxidada o reducida, que en estos procesos se mide la relación Fe³⁺/Fe²⁺. Durante la fase de crecimiento exponencial, el Eh de los medios con *A. ferrooxidans* se caracteriza por estar entre 320–580 mV (Rossi, 2001). Normalmente, la extracción de los iones alcanza sus mayores velocidades cuando el Eh de la solución ácida ha superado los 400–450 mV (Acevedo & Gentina, 2005).

3.4.4. Concentración de iones metálicos

La presencia de compuestos tóxicos o inhibitorios en el mineral puede causar serios problemas en la biolixiviación. En la Tabla 3, se presentan algunos niveles de toxicidad por cationes

y aniones para *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Una solución atractiva a este problema es la selección de cepas con cierta resistencia a estos iones, aisladas en los sitios donde se extrae el mineral a tratar, o, bien, la construcción artificial de cepas con estas características (Acevedo & Gentina, 2005).

Tabla 3. Niveles de toxicidad de cationes y aniones para el *A. ferrooxidans* (Acevedo & Gentina, 2005).

Metal	Nivel inhibitorio (mg/l)	Tolerancias reportadas (mg/l)
Zn ²⁺	> 10000	15000 – 72000
Ni ²⁺	> 10000	12000 - 50000
Cu ²⁺	> 10000	15000
Mn ²⁺	> 10000	-----
Co ²⁺	> 10000	3000
Al ³⁺	> 10000	6000
Ag ⁺	< 50	1ppb
UO ₂ ²⁻	< 700	200-500
AsO ₄ ³⁻	< 200	---
MoO ₄ ²⁻	< 5	90
SeO ₂	< 100	---

3.4.5. Nutrientes

La mayoría de los microorganismos que participan en la lixiviación bacteriana de sulfuros son autotróficos, es decir, obtienen el carbono necesario para su desarrollo del dióxido de carbono atmosférico y la energía de la oxidación de un compuesto inorgánico (Fe²⁺ ó S²⁻). Los otros elementos básicos para la nutrición de estos microorganismos deben estar en cantidades proporcionales a su composición celular en el medio de cultivo en forma de sales. Los más importantes cuantitativamente, son el nitrógeno, generalmente como sal de amonio, el magnesio (sulfato de magnesio), el fósforo (fosfato ácido de potasio) e iones metálicos pesados en menor cantidad (Acevedo & Gentina, 2005). El magnesio es necesario para la fijación del CO₂ y el fosforo se requiere para el metabolismo energético y para las primera etapas de oxidación del hierro. El sulfato es importante al ser un componente de algunos aminoácidos necesarios para estos microorganismos. El nitrógeno es el nutriente más importante para los *Acidithiobacillus* y es posible que los heterótrofos que habitan con él en los medios naturales puedan suminístrale, total o parcialmente este nutriente (Ballester, 2005).

Si un nutriente está presente en bajas concentraciones o es suministrado a bajas velocidades, el crecimiento celular ocurrirá a una menor velocidad. Los medios de cultivo, 9K y T&K, son los medios más empleados para el crecimiento de los *Acidithiobacillus* (Gómez & Cantero, 2005).

3.4.6. Actividad de los microorganismos y concentración bacteriana

La adaptación al medio ambiente es un fenómeno natural que toma lugar en animales, plantas y microorganismos. En la industria biohidrometalúrgica, la adaptación de microorganismos en medios de cultivo selectivos es un método comúnmente usado para aumentar la eficiencia en la biolixiviación y biooxidación. Los microorganismos utilizados en estos procesos son generalmente pre-adaptados en repetidas ocasiones a fin de aumentar la velocidad disolución de los metales presentes en los sulfuros (Li & Ke, 2001 a y b; Olson *et al.*, 2003)

La bacteria tiene la habilidad de adaptarse a condiciones cambiantes. Cuando un cultivo de bacterias es introducido a un nuevo tipo de fuente de energía, como los sulfuros, necesitan tiempo para adaptarse al nuevo material. Los *Acidithiobacillus* y otros microorganismos acidófilos tienen la capacidad de crecer en presencia de varios tipos de iones metálicos después de la adaptación. La etapa de adaptación ayuda a reducir la fase *lag*, aumentar la actividad bacteriana y reforzar, de esta forma, la cinética global de lixiviación (Das *et al.*, 1999).

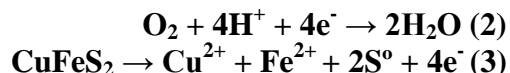
3.4.7. Tamaño de partícula

El área específica superficial es uno de los factores importantes que afectan el proceso de oxidación bacteriana. Generalmente, en los minerales refractarios, la fracción del área superficial ocupada por el sulfuro de interés es pequeña y se podría esperar que la velocidad de lixiviación sea proporcional a los pocos sitios activos de dicho sulfuro. A medida que el tamaño de partícula decrece, aumenta el área superficial y por ende el número de sitios activos, por lo que se cree que aumenta la eficiencia del proceso (Acevedo & Gentina, 2005, Valencia & Acevedo, 2008). Sin embargo, varios investigadores han encontrado que al disminuir el tamaño de partícula se generan factores inhibitorios, como efectos mecánicos, ya que se aumenta la posibilidad de colisión entre las partículas y las células y se genera estrés metabólico causado por concentraciones inhibitorias de metales pesados. Lo anterior, genera un efecto global negativo (Torma *et al.*, 1972; Nemati & Harrison 1999; Nemati *et al.*, 2000; Deveci, 2004, Acevedo *et al.*, 2004).

3.4.8. Interacciones galvánicas

Los sulfuros son materiales semiconductores que presentan interacciones galvánicas cuando se encuentran en contacto físico, lo que es común en menas naturales (Suzuki, 2001). Este efecto puede llegar a ser uno de los factores más importantes a nivel electroquímico, regulando la disolución de los sulfuros en los procesos hidrometalúrgicos.

En la interacción, el mineral con el más alto potencial de electrodo actúa como cátodo y se oxida, mientras que el mineral con menor potencial, se convierte en el ánodo y se pasiva (Das *et al.*, 1999; Suzuki, 2001). Un ejemplo de interacción galvánica es la lixiviación acelerada del cobre de la calcopirita en contacto con la pirita. La pirita, con un potencial más alto, actúa como un cátodo, mientras que la calcopirita, con un menor potencial, es anódicamente disuelta, (Suzuki, 2001; Klauber 2008), como se muestra en la siguiente reacción:



Cuando la galena forma un par galvánico con la pirita, la disolución de la galena se ve favorecida (Holmes & Crundwell, 1995) (Fig. 1).

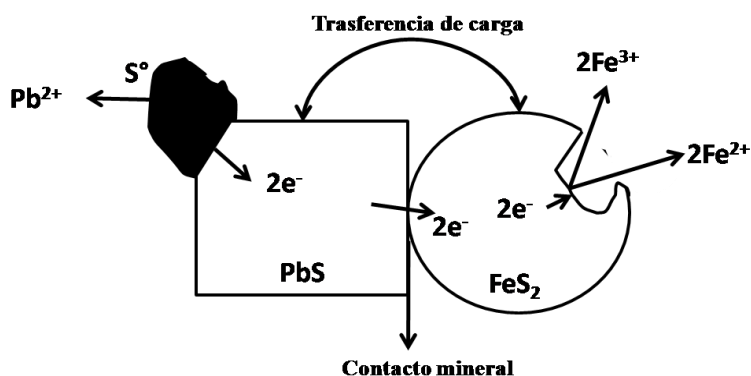


Figura 1. Interacción galvánica entre galena y pirita. Modificado de Holmes y Crundwell, 1995.

La pirita también puede facilitar la corrosión de la esfalerita, porque tiene un potencial de electrodo menor. De otro lado, también se ha encontrado que cuando la esfalerita y galena entran en contacto, la galena actúa como ánodo de sacrificio y se oxida a expensas de la pasivación de la esfalerita (Da Silva *et al.*, 2003, Urbano *et al.*, 2007).

La interacción galvánica afecta la lixiviación bacteriana de minerales, ya que retarda o aumenta la cinética de oxidación de los minerales que forman el par, dependiendo de las características electroquímicas de los mismos (Das *et al.*, 1999, Abraitis *et al.*, 2004, Cruz *et al.*, 2005).

3.5. SULFUROS: CARACTERISTICAS GENERALES

3.5.1. Calcopirita (CuFeS₂)

La calcopirita tiene una estructura cristalina en la que el hierro y el cobre se encuentran en coordinación tetraédral con el azufre (Fig. 2). La fórmula química que mejor representa a este sulfuro es: Cu⁺ Fe³⁺ S₂²⁻ aunque el estado de oxidación del cobre y del hierro aún es un tema controvertido (Boekema *et al.*, 2004; Mikhlin *et al.*, 2004)

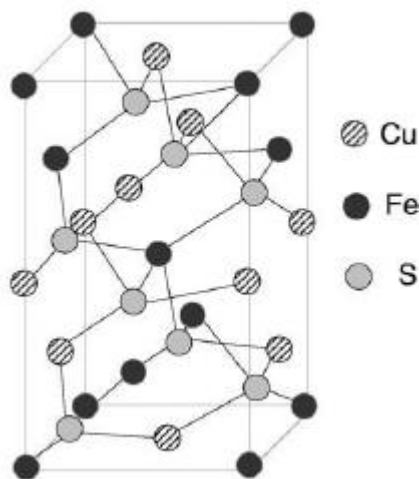
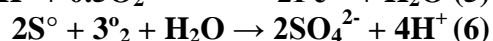
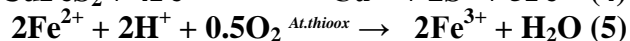
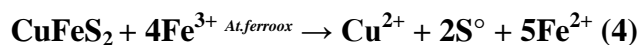


Figura 2. Estructura cristalina de la calcopirita. Tomado de Sand *et al.*, (2000).

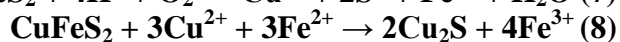
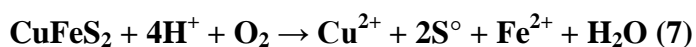
La calcopirita se caracteriza esencialmente por tener enlaces covalentes metal–azufre. Es un semiconductor con propiedades magnéticas y eléctricas inusuales y la sustitución de cobre y/o hierro por otros átomos, como Mn, Al y Ga, en la estructura cristalina conduce a la formación de un semiconductor tipo n y tipo p (Huitle & Baquero, 2007; Córdoba *et al.*, 2008 (a & b); Yao *et al.*, 2009).

La calcopirita es la fuente de cobre más abundante en el mundo y es, además, uno de los minerales más recalcitrantes en los procesos de hidrometalurgia (Dutrizac 1978). Por esta razón el cobre es extraído principalmente por pirometalurgia. Sin embargo, el agotamiento de los yacimientos minerales y la disminución del tenor ha generado el desarrollo de la hidrometalurgia para el tratamiento de la calcopirita (Córdoba *et al.*, 2008 a & b)

Las reacciones que tienen lugar durante el proceso de biolixiviación de la calcopirita han sido investigadas y estudiadas por varios autores (Schippers & Sand, 1999; Suzuki, 2001; Bevilaqua *et al.*, 2002; Watling, 2006, Bo *et al.*, 2008). Este proceso se representa, generalmente, por las siguientes ecuaciones y es favorecido a altos valores de potencial redox:



En contraposición a lo anterior, recientemente, un gran número de trabajos han sido publicados donde se evidencia que la biolixiviación de la calcopirita se ve favorecida a bajos potenciales de oxidación. Varios autores proponen un modelo para explicar esta aparente contradicción (Hiroyoshi *et al.*, 2008, 2007, 2002, 2001, 2000, 1997, Córdoba *et al.*, 2008 (a & b); Petersen & Dixon 2006, Sandström *et al.*, 2005). Explicado en las siguientes expresiones:



3.5.2. Galena (PbS)

La galena cristaliza en el sistema cúbico, con los átomos de Pb en coordinación octaédrica, ocupando las esquinas y los centros de las caras de una celda cúbica, (Fig. 3), mientras que los átomos de S caen en el centro de la celda y en los puntos medios de los bordes del cubo. Este arreglo corresponde a una estructura tipo halita (NaCl) en donde los grupos S ocupan los sitios del Cl mientras que el Pb ocupa las posiciones del Na (Danna, 2001).

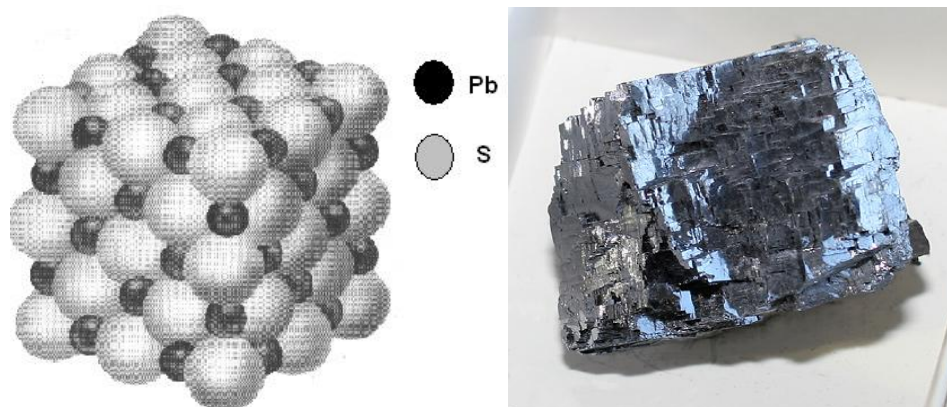


Figura 3. Izquierda, estructura cristalina de la galena, foto de un trozo de mineral masivo de galena. Danna, (2001).

La galena, de todos los sulfuros, es sobre el cual se tiene menos información. Sin embargo, según los trabajos de Southwood, 1986 y Karavainko, 1977 (in Marsden & House, 1992) y Rimstidt *et al.*, (1994), la galena es altamente susceptible a la oxidación, siendo que su razón de oxidación es considerada por Marsden & House (1992) como mayor que la arsenopirita y por Rimstidt *et al.*, (1994) como menor que ésta. Por otro lado, según lo mencionado por Bhatti *et al.*, (1993b) y, debido a que se trata de un monosulfuro, debe presentar consumo de ácido, de la misma forma que la pirrotita y la esfalerita. El principal producto de oxidación de la galena es la anglesita (PbSO_4) y, en presencia de Fe^{3+} , es generada jarosita, sin S^0 observado en los residuos de la oxidación (García *et al.*, 1995a). En la Figura 4 puede verse una representación esquemática de la oxidación bacteriana de galena (García *et al.*, 1995a).

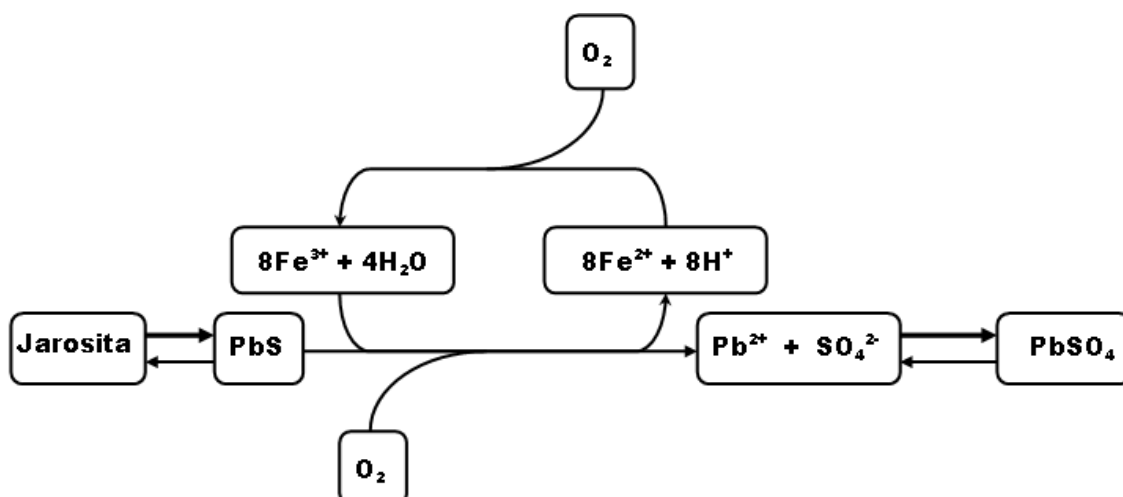


Figura 4. Disolución oxidante esquemática de la galena con Fe^{3+} y O_2 como oxidantes primarios.

La oxidación acoplada con O_2 puede ser abiótica o catalizada por las bacterias *A.ferrooxidans* o *A.thiooxidans*. La disolución mediada por el Fe^{3+} envuelve la preoxidación del Fe^{2+} mediante la acción de la bacteria *A.ferrooxidans*. García *et al.*, (1995 b), concluyó que la oxidación del mineral

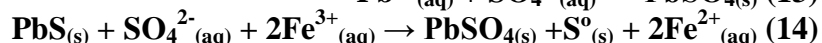
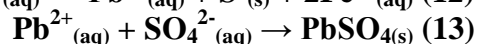
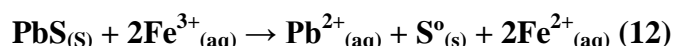
no involucra el intercambio del ion hidrógeno en la actividad de formación de la anglesita, según la siguiente expresión:



Algunos autores plantean un proceso no oxidativa y, en este proceso, el ácido sulfúrico reacciona con la galena como se observa en la siguiente ecuación (Dutrizac 1996).



En el análisis de este mecanismo se concluye que la oxidación de la galena se produce por medio de un mecanismo indirecto durante el proceso de biooxidación. Da Silva (2004), propone un mecanismo más completo en donde se muestra la acción oxidativa tanto del ion Fe^{3+} y del ácido sulfúrico, este mecanismo se muestra a continuación:



3.5.3. Esfalerita (ZnS)

La estructura de la esfalerita pertenece al sistema cúbico (Fig. 5), donde el zinc se encuentra en coordinación tetraédral con el azufre. Presenta una baja semiconductividad y es frecuentemente clasificado como dieléctrico, aunque la sustitución de impurezas metálicas por al Zn tiene gran efecto sobre sus propiedades eléctricas. Una esfalerita natural con concentraciones de Fe hasta 12%At, aproximadamente, muestra un comportamiento semiconductor típico (Crundwell, 1988). La esfalerita es la principal fuente de zinc en el mundo y además es la principal mena de Cd, In, Ge y Ga (Benedetto *et al.*, 2005).

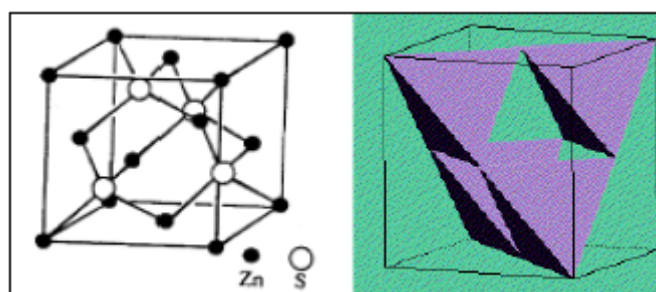
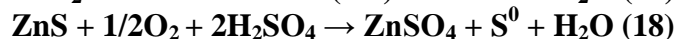
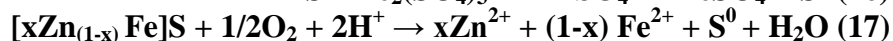
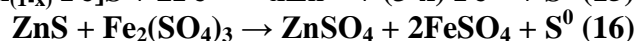


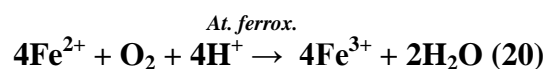
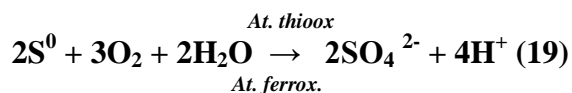
Figura 5. Estructura cristalina de la esfalerita. Danna 2001

El modelo iónico de la esfalerita concuerda con el que asocia bandas de valencia con el anión (S^{2-}) y banda de conducción con el catión (Zn^{2+}), debido a que la parte inferior de la banda de conducción se deriva del orbital 4s del Zn, mientras que la banda de valencia se deriva principalmente del orbital 3p del S (Crundwell, 1988; Tributsch & Bennett, 1981).

Las reacciones que tienen lugar durante el proceso de biolixiviación de la esfalerita han sido investigadas y revisadas por varios autores (Pistorio *et al.*, 1994; Fowler & Crundwell, 1998; García *et al.*, 1995a; Boom *et al.*, 1998), estando generalmente este proceso representado por las siguientes ecuaciones, donde x varía de acuerdo a los análisis químicos de la muestra mineral utilizada.



Según Silverman y Ehrlich, (1964), parte del azufre elemental es oxidado posteriormente por las bacterias:



Crundwell (1988) hace una revisión de los estudios realizados en relación a la influencia que tienen las impurezas en la estructura de la esfalerita, en cuanto a su velocidad de disolución, investigando la influencia de parámetros como la estructura electrónica y planteando un modelo matemático basado en propiedades electroquímicas y semiconductoras de esfaleritas a diferentes concentraciones de Fe. Llegó a la conclusión que en esfaleritas con hierro en su estructura, la transferencia de electrones y, por tanto, su proceso de oxidación es más eficiente en comparación con esfaleritas sin hierro. La velocidad de reacción es linealmente proporcional a la concentración de hierro presente en la estructura (Boom *et al.*, 1998).

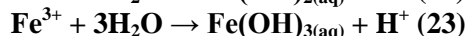
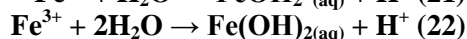
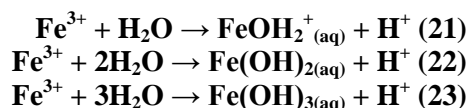
3.6. PRECIPITADOS FORMADOS EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

En los procesos de biolixiviación se genera un aumento de diversas especies iónicas en solución, en particular iones de hierro y sulfato. Cuando estos iones en solución alcanzan el límite de saturación, para el caso del Fe^{3+} 6000 ppm, se genera la precipitación de minerales insolubles (Barón & Palmer 1996; Casas 2007). La jarosita es una de las principales fases formadas en este tipo de procesos (Márquez, 1999; Schippers & Sand 1999; Hiroyoshi *et al.*, 2000; Bevilaqua *et al.*, 2002; Parker *et al.*, 2003; Sandstrom *et al.*, 2005; Daoud & Karamanev, 2006; Walting 2006; Zapata 2007, Akcil & Koldas 2006, Córdoba *et al.*, 2008 a y b, Mejía *et al.*, 2009; Cardona & Márquez 2009).

La jarosita pertenece al grupo alunita-jarosita, descrito por la fórmula: $\text{AB}_3(\text{OH})_6(\text{XO}_4)_2$ (Baron & Palmer, 1996), donde A es un sitio de coordinación 12 que usualmente está ocupado por cationes de K^+ , Na^+ , H_3O^+ , NH_4^+ , aunque también pueden estar presentes cationes como Ag^+ , $\frac{1}{2}\text{Pb}^{2+}$, $\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}$. La posición B representa un sitio de coordinación octaédrica que es ocupado por el Fe^{3+} en las jarositas y por el Al^{3+} en las alunitas, aunque también puede incluir Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , etc. Finalmente, el sitio X posee una coordinación tetraédrica y puede contener S, P, As, Sb, Cr, Se, etc. (Scott, 1990).

La jarosita presenta una estructura hexagonal (Fig. 6) y las dimensiones de la celda unitaria pueden variar ligeramente de acuerdo con la composición química (Gasharova *et al.*, 2005; Papike *et al.*, 2006). En esta estructura el radical sulfato forma tetraedros, mientras que el Fe^{3+} forma octaedros con 4 oxígenos de los radicales OH y dos grupos de SO_4^{2-} . Los cationes del sitio A se encuentran localizados entre dos capas formadas por los tetraedros de radicales sulfato y están coordinados por 6 átomos de oxígeno y 6 radicales OH (Gasharova *et al.*, 2005)

Por otra parte la formación de jarositas en los procesos de biolixiviación se ve favorecida con la oxidación del ion ferroso, ecuación 5. Seguido de un consumo de iones hidrogeno, el pH del medio líquido incrementa, el cual es contrarrestado con la hidrólisis del hierro.



Por lo tanto, es visible que el pH del sistema tiene un efecto marcado sobre las reacciones de oxidación e hidrólisis del hierro. Adicionalmente se generan otras reacciones de competencia, en las cuales se forman sulfatos básicos de hierro, precursores de jarosita, como $\text{Fe}_2(\text{OH})_4\text{SO}_4$ ó $\text{Fe}(\text{OH})\text{SO}_4$, estos en presencia de cationes afines, para este caso los cationes, B^+ , provenientes del

medio T&K como K^+ , NH_4^+ , entre otros, reaccionan para formar jarositas (Barón & Palmer, 1996, Jiang & Lawson, 2006, Daoud & Karamanev, 2006, Kovács *et al.*, 2008).

La formación de jarositas tiene en la mayoría de los casos efectos negativos en los procesos de biolixiviación, algunos de los efectos incluyen la disminución del hierro férrico en solución, bloqueo de válvulas y tuberías, entre otros. Además, la creación de barreras cinéticas que impiden la difusión de la solución lixiviante a la superficie del mineral (Hiroyoshi *et al.*, 2000; Parker *et al.*, 2003; Sandstrom *et al.*, 2005; Daoud & Karamanev, 2006; Zapata, 2007, Córdoba *et al.*, 2008 a y b, Mejía *et al.*, 2009; Cardona & Márquez 2009). Sin embargo, en la industria del zinc, la precipitación de jarositas es ampliamente utilizada para eliminar el hierro disuelto y otras impurezas presentes (Dutrizac, 1999). Además, en los procesos de desulfurización de carbones la formación de jarositas en la superficie de los sulfuros disminuye la eficiencia del proceso (Cardona & Márquez 2009).

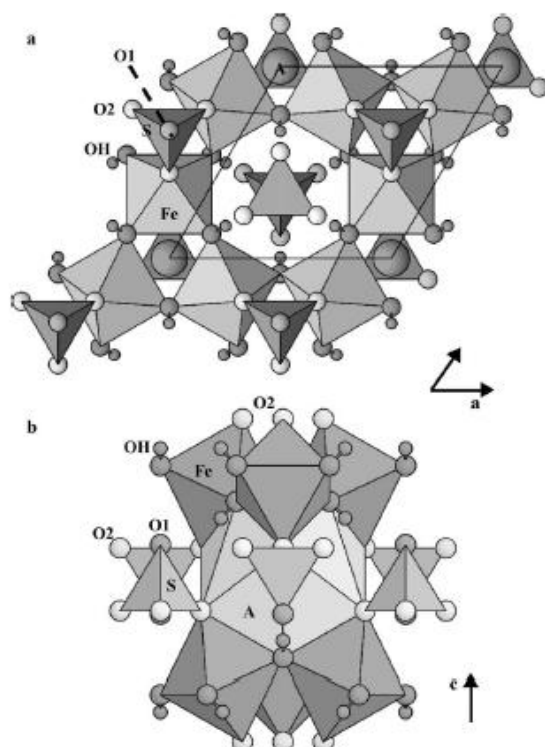
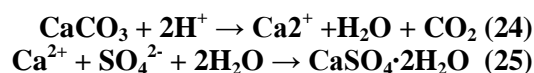


Figura 6. Estructura cristalina de la jarosita donde A es K, H_3O . (a) Vista en dirección del eje c; (b) vista en dirección del eje a. Tomada de Gasharova *et al.*, 2005.

El yeso es otro sulfato encontrado en los precipitados, formado por la presencia de carbonato de calcio en el concentrado, donde la condición ácida y rica en sulfatos del medio conlleva a la generación de yeso y bicarbonatos como puede verse en la reacción 24 y 25 (Celiani & Galan, 1997). Es por ello que en muchos procesos de biolixiviación sustratos que contienen carbonatos, principalmente calcita, el yeso es un mineral frecuentemente encontrado en los precipitados (Márquez, 1999, Mousavi *et al.*, 2006, Sampson *et al.*, 2005, Zapata, 2007, Arroyave 2007, Rehman *et al.*, 2009).



La anglesita ($PbSO_4$) es la principal fase encontrada en la biolixiviación de la galena por *A. ferrooxidans* debido a su baja solubilidad (Silver & Torma 1974; García, 1995a; Mejía *et al.*, 2007). Aunque el plomo es muy tóxico para la mayoría de microorganismos empleados en procesos de biolixiviación, este efecto es reducido por la baja solubilidad del producto formado (Viera *et al.*, 2007). La formación de anglesita tiene efectos adversos en este tipo de procesos ya que forma

películas que inhiben o disminuye la difusión de la solución lixivante hacia los granos de galena (Da Silva *et al.*, 2003).

3.7. MECANISMOS IMPLICADOS

El proceso de biolixiviación se produce por la catálisis de los microorganismos durante la disolución de algunos minerales, el microorganismo se sirve del mineral como combustible, utilizando la transferencia de electrones para sus propios propósitos de supervivencia y liberando metales sin requerir una aplicación externa de energía. En estos procesos no es necesaria una alta energía de activación, una prueba de ello es que se da a baja presión y baja temperatura (Rodríguez *et al.*, 2001).

Los mecanismos de biolixiviación, tradicionalmente, se ha diferenciado en dos grandes grupos: Mecanismo Directo y Mecanismo Indirecto, (Fig. 7). El primero hace referencia a una acción bacteriana directamente sobre el mineral, el contacto físico es necesario y la oxidación se da por reacciones químicas catalizadas enzimáticamente por la bacteria. El segundo mecanismo no requiere de un contacto físico directo sino que consiste en la regeneración de hierro férrico (Fe^{+3}) a partir de hierro ferroso (Fe^{+2}) por parte del microorganismo (Ballester 2005).

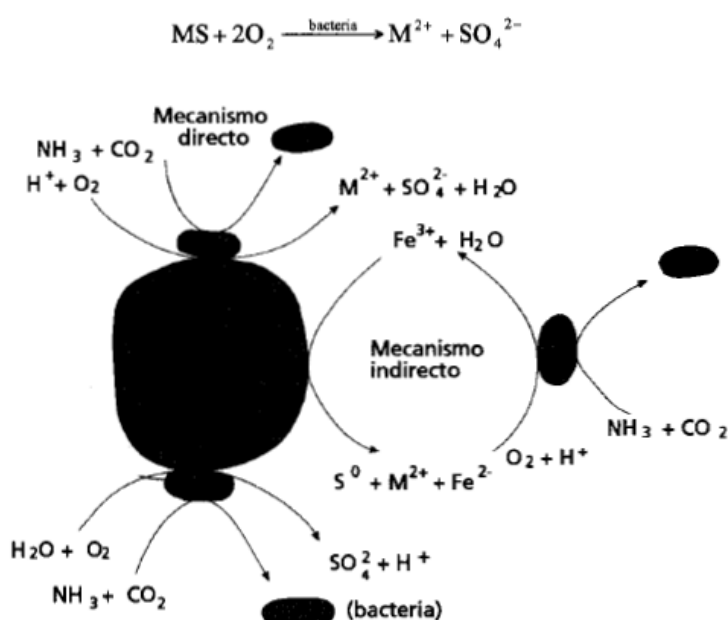


Figura 7. Mecanismo directo e indirecto de biolixiviación, según Rodríguez 2001.

3.7.1. Mecanismo directo

La bacteria ataca al sulfuro metálico de forma directa mediante su adherencia a la superficie del mineral y posterior oxidación enzimática de éste por el transporte de electrones desde la parte reducida del mineral, generalmente un sulfuro, al oxígeno disuelto (Rodríguez 2001).

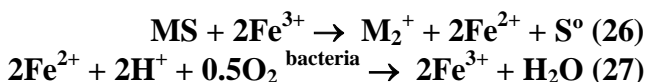
La adherencia del microorganismo al mineral es necesaria y es la principal evidencia presentada en defensa del mismo, sin embargo según Croudwen (2003) esta no es una condición suficiente en sí misma, debido a la existencia de un mecanismo alternativo: el de contacto indirecto. Las bacterias que se encuentran en la solución pueden secretar un agente oxidante al medio que lixivia al mineral de forma alternativa al propio mecanismo directo.

Hasta el momento lo que se ha descubierto es que en la interface mineral la bacteria se forma una capa de sustancias expoliméricas extracelulares (SPE) de espesor nanométrico, la cual es vital para el desarrollo del proceso de oxidación, ya que al parecer sirve como almacén temporal de productos intermedios tales como el S^0 (Jerez, 2001) y se ha observado que células desprovistas de esta película no atacan ni oxidan sulfuros como la pirita (Ballester, 2005).

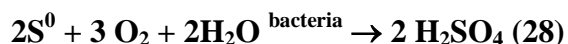
De lo anteriormente descrito se puede concluir que este mecanismo no es “directo”, ya que no es la membrana bacteriana la que interactúa directamente con el sulfuro metálico por medio de reacciones enzimáticas. Tributsch (2001), sugiere llamar a este mecanismo como “lixiviación por contacto no directo”, el cual describe la adherencia del microorganismo al sulfuro, por medio de sustancias poliméricas, con el objetivo de acondicionar las intermediaciones del mismo y así facilitar el proceso de disolución.

3.7.2. Mecanismo indirecto

Tiene lugar por la interacción del sulfuro con productos intermedios o finales del metabolismo de los microorganismos. No se presentan por tanto reacciones enzimáticas que actúen directamente sobre el mineral y el agente lixivante son básicamente, los iones férricos, los cuales son regenerados por las bacterias, según las siguientes reacciones (Rodríguez *et al.*, 2001).



El azufre elemental generado en el proceso es oxidado a ácido sulfúrico por la acción bacteriana



Este mecanismo es la base de los procesos industriales de extracción de cobre y uranio, entre otros, que se emplea a gran escala desde hace años. Sin embargo, deja algunas lagunas como el hecho de que en ausencia del ion férrico y en presencia de bacterias se observe disolución de sulfuros libres de hierro (Rodríguez *et al.*, 2001).

Por las razones anteriormente planteadas aun se continúan realizando investigaciones que permitan encontrar un mecanismo de biolixiviación que aclare el panorama, en este sentido es especialmente interesante el trabajo de W. Sand y su grupo de investigación de la Universidad de Hamburgo (Alemania), los cuales han propuesto una subdivisión del mecanismo indirecto en dos grupos: uno vía tiosulfato y otro vía polisulfuro.

3.7.2.1. Vía tiosulfato

Explica la oxidación de sulfuros no solubles en ácido (pirita, molibdenita y wolframita) debido a que las bandas de valencia se forman por combinación de orbitales procedentes de átomos metálicos, es decir, estos sulfuros solo pueden ceder electrones desde bandas de valencia del metal, sin afectar el enlace azufre-metal. Este enlace sólo puede romperse por varias etapas de oxidación del ion férrico. Estos sulfuros no generan azufre como principal producto de oxidación sino tiosulfato, el cual es el primer producto liberado por el sulfuro, luego de 6 pasos sucesivos de oxidación; este tiosulfato es posteriormente oxidado a tetratiónato y otros politiónatos hasta sulfato. Este mecanismo solo lo generan bacterias hierro-oxidantes (Schippers & Sand, 1999, Sand *et al.*, 2000, Ballester 2005).

3.7.2.2. Vía polisulfuro

Explica la oxidación de sulfuros solubles en ácido (calcopirita, esfalerita, galena, entre otros). Las bandas de valencia se generan a partir de orbitales procedentes tanto del metal como azufre del sulfuro, en este caso tanto el hierro férrico como los protones pueden eliminar electrones de la banda de valencia, causando la rotura de la unión metal azufre. La degradación de los sulfuros, en este caso, está controlada por una serie de productos intermedios, polisulfuros, quienes son transformados a azufre elemental y éste a su vez es oxidado, por acción biológica, a ácido sulfúrico (Schippers & Sand, 1999, Sand *et al.*, 2000, Ballester 2005). El esquema mostrado en la figura 8, resume los aspectos más importantes del mecanismo indirecto.

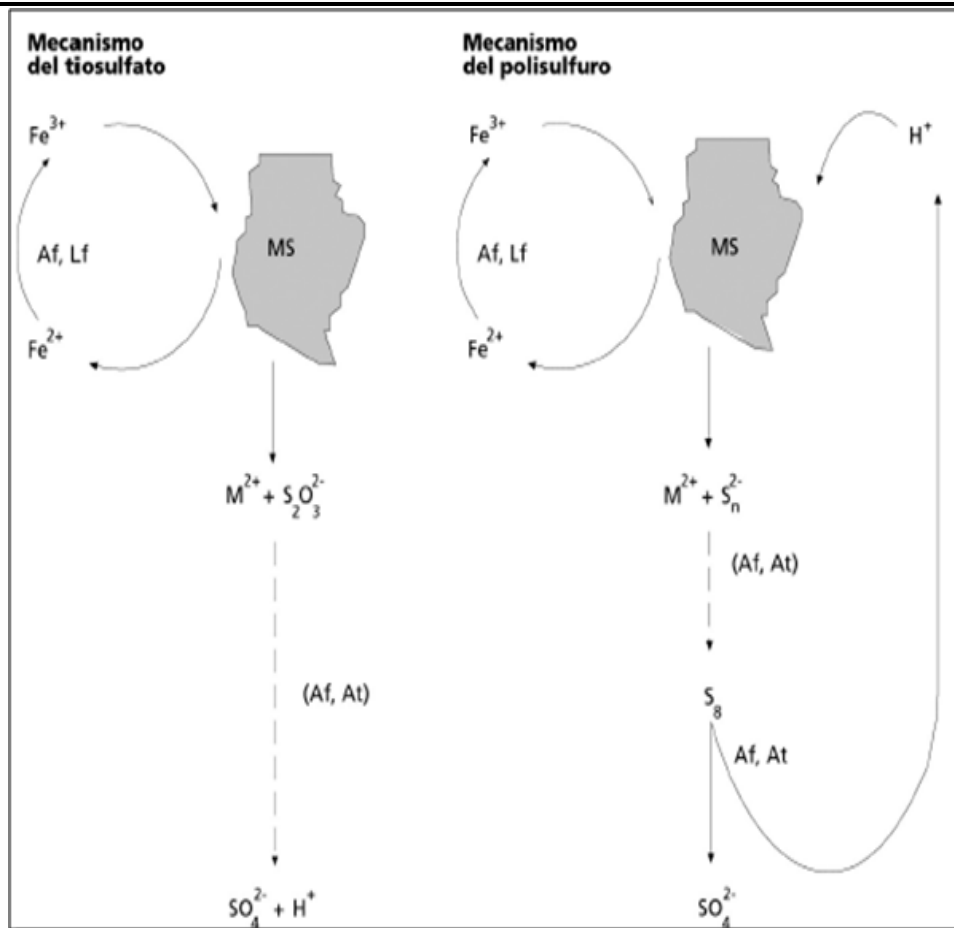


Figura 8. Mecanismos indirectos en la biolixiviación de sulfuros según Sand *et al.*, 2000. Af = *A. ferrooxidans*; Lf = *L. ferrooxidans*; At = *A. thiooxidans*.

3.8. TÉCNICAS ANÁLITICAS: GENERALIDADES

3.8.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Permite la caracterización de materiales mediante el uso de un fino haz de electrones, centrado, que interactúa con la muestra y produce radiación. Esta técnica nos brinda información de topografía (electrones secundarios) y composición química cualitativa (electrones retro proyectados). Permite encontrar formación de nuevas fases minerales y dar una idea de los mecanismos de transformación del mineral, además la preparación de la muestra es relativamente simple (montaje en resina polimérica y posterior pulido mediante paños), (McIntosh *et al.*, 1997).

3.8.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Se fundamenta en la interacción de las radiaciones electromagnéticas y las vibraciones moleculares. Se puede realizar un análisis cualitativo del material, es una técnica muy sensible a la identificación de compuestos amorfos y la adsorción de especies en la superficie del mineral. Las muestras minerales son comúnmente usadas en cristales individuales o en polvo embebidas en una matriz de KBr (McIntosh *et al.*, 1997).

3.8.3. Espectroscopía Mössbauer

Se basa en la emisión y adsorción nuclear resonante sin retroceso. Es una técnica extraordinariamente útil para el estudio de aspectos relacionados con la estructura electrónica de los sólidos como por ejemplo el enlace químico o el magnetismo ya que permite detectar variaciones en los niveles de energía nucleares provocados por el acoplamiento electromagnético entre la carga del núcleo y las cargas electrónicas que lo rodean. Esta técnica ha sido empleada en la mineralogía para determinar los estados de oxidación, estructura, efectos magnéticos en la superficie. Sus

aplicaciones más importantes incluyen estudios de fenómenos de adsorción interfacial y erosión (McIntosh *et al.*, 1997).

3.8.4. Microscopía de fuerza atómica (AFM)

El Microscopio de Fuerza Atómica (MFA) es un instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los nanonewton. Al analizar una muestra, se registra continuamente la altura sobre la superficie de una sonda o punta cristalina de forma piramidal. La sonda va acoplada a un listón microscópico, muy sensible al efecto de las fuerzas, de sólo unos 200 μm de longitud. Es muy versátil ya que puede usarse tanto en superficies conductoras como no conductoras, permite observar la microtopografía de la superficie a escala molecular, así como posibles cambios químicos como la interacción mineral bacteria (McIntosh *et al.*, 1997).

3.8.5. Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de Rayos X es una técnica de caracterización ampliamente empleada en la caracterización de orgánicas e inorgánicas con alto grado de simetría. Debido a que los patrones de difracción son característicos para cada sustancia según la naturaleza tridimensional de los cristales y los átomos constituyentes, la técnica puede usarse comparativamente. Esto es, comparar los patrones de la muestra problema con los de sustancias ya conocidas. Los espectros de difracción de Rayos X pueden ser complejos. La posición de los haces difractados por un sólido cristalino dependerá únicamente del tamaño, la simetría del cristal y la longitud λ de la radiación incidente; la intensidad de los haces difractados depende del tipo de átomos constituyentes del cristal y de la disposición de éstos en la celda unitaria. Por lo tanto, no existen dos sustancias con un patrón de difracción idéntico y pueden usarse como método de identificación por comparación con espectros de referencia.

4. METODOLOGÍA

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

1. Revisión bibliográfica

2. Muestreo

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

a. Calcopirita (CuFeS_2)

Se tomó de la zona de El Limón mina la Chorrera, donde se conoce la existencia de bloques considerables de este mineral, asociados a la minería aurífera de la zona.

b. Galena (PbS)

Se tomó de la zona minera de Segovia Antioquia de la mina el Silencio (Frontino Gold Mines Ltda.).

c. Esfalerita (ZnS)

Se tomó de Butírica Antioquia de la mina “El Centeno”. (Conexcol S.A.).

3. Preparación del mineral

Fue necesario realizar todo el proceso de conminución y molienda con el objetivo de liberar del mineral valioso de la ganga antes de las operaciones de concentración, incrementando la superficie específica de las partículas y poder garantizar las dos distribuciones de tamaños de partícula pasante malla Tyler 200 y 325.

a. Trituración y molienda

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

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

b. Preparación

Para el análisis mineralógico inicial mediante el uso de microscopio óptico de luz plana polarizada (MOLPP) y microscopía electrónica de barrido con analizador de estado sólido tipo EDX (SEM/EDX), se elaboraron secciones pulidas de los materiales a ser tratados por acción bacteriana, muestras de roca dura y montaje de granos en resina epóxica, los cuales fueron desbastados utilizando carburo de silicio N° 200, 400, 600, 1000, 1200 y 1500 para finalmente ser pulido utilizando alúmina de granulometría 3, 1 y $0.05\mu\text{m}$.

4. Caracterización mineralógica Inicial

En esta etapa, se definió las características generales de la calcopirita, galena y la esfalerita, así como sus fases acompañantes.

a. Conteo de puntos

La caracterización mineralógica inicial fue hecha mediante conteo de puntos en el microscopio óptico de luz plana polarizada, modo luz reflejada, según norma ASTM D 2799 de 2009. Determinando la concentración volumétrica de los componentes acompañantes del sustrato de interés.

b. Difracción de rayos X (DRX)

Se hizo DRX de las muestras iniciales, con el objetivo de definir las proporciones de minerales presentes y detectar posibles contaminantes en la forma de minerales acompañantes y/o minerales producto de algún tipo de oxidación intempélica incipiente. Los análisis se realizaron empleando un difractor marca Bruker D8ADVANCE con una velocidad de barrido de 2° por minuto, modo continuo y radiación Cu $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$, radiación generada 35kV y 30mA. Los espectros se analizaron por medio del software Diffrac Plus Eva, haciendo uso de la base de datos PDF 2.0.

c. Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)

Este tipo de técnica se usó como un complemento de la DRX, con el fin de detectar posibles minerales producto de una oxidación natural incipiente que, por su carácter amorfo o su baja cristalinidad, no sean detectados por DRX. Las muestras sólidas se caracterizaron usando un equipo marca Shimadzo Advantage 8400 empleando pastillas de KBr (modo transmitancia). Para esta técnica se tomaron 2mg de muestra en 200mg de KBr. El número total de *scans* fue 20 con resolución espectral de 4cm^{-1} , en un rango de longitud de onda de $400\text{-}4000\text{cm}^{-1}$ con corrección Happ-Henzel.

d. Microscopía óptica de luz plana polarizada (MOLPP)

Se usó esta técnica en su modo de luz reflejada, con el fin de caracterizar diversos tipos de intercrecimiento con fases acompañantes, así como características de los minerales a ser estudiados tales como zonación, entre otras. Las secciones pulidas fueron analizadas mediante microscopía óptica de luz plana polarizada, modo luz reflejada, utilizando un microscopio óptico marca Leitz Laborlux 11POL, con objetivos de aumento de 10X y 20X en aire y 32X y 50X en aceite.

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

Mediante el uso de SEM/EDX, se definió la química mineral de los diferentes sulfuros y sus variaciones, con el objetivo de dilucidar sus limitaciones y alcances en el proceso subsiguiente de biooxidación. Las imágenes de SEM se tomaron en un equipo marca JEOL JSM 5910 LV, con detector de estado sólido tipo EDS marca OXFORD para los análisis microquímicos. Para el análisis con SEM/EDX las muestras fueron previamente metalizadas con oro y se utilizó un voltaje de aceleración de 18kV, con un tiempo de colecta de 120 segundos.

f. Espectroscopía Mössbauer

El objetivo de esta técnica fue definir la presencia de fases de Fe, tales como, óxidos, oxihidroxidos, sulfatos, sulfuros. Para todas las medidas se utilizó un espectrómetro Mössbauer en modo de transmisión, 256 canales, con una fuente de ^{57}Co en una matriz de Rh.

5. Ensayos de biolixiviación

a. Preparación del inóculo bacteriano

Se determinó la población idónea de los microorganismos compatibles con el género *Acidithiobacillus* previamente adaptados y aclimatados a los minerales, los cuales fueron tomados del laboratorio de bio-mineralogía, facultad de minas, universidad Nacional de Colombia.

b. Realización de ensayos

Los ensayos fueron realizados a nivel de agitador orbital, usando erlenmeyers de 500ml, utilizando un volumen final de 300ml y un porcentaje de pulpa de 10% (w/v) (30g de concentrado de sustrato). Para los ensayos utilizando *A. ferrooxidans*, el medio de cultivo

empleado fue el T&K con las siguientes proporciones de sales basales: $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$: 0.5g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.5g/L; K_2HPO_4 : 0.5g/L, ajustando el pH a 1,8 con ácido sulfúrico (H_2SO_4); esta solución fue esterilizada en autoclave a 120°C por 20 minutos. Todos los ensayos se hicieron por duplicado.

Para los ensayos utilizando una mezcla de *A. ferrooxidans* más *A. thiooxidans* se utilizó el mismo medio T&K pero con la adición de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0.01g/L sin adición de azufre; ajustando el pH a 1.8 con ácido sulfúrico (H_2SO_4). Adicionalmente, se realizó un control (sin bacterias) bajo las mismas condiciones y para ambos sustratos evaluados. Todas las muestras fueron incubadas a 35°C en un agitador orbital a 180 ± 10 rpm, durante 30 días. El pH y el Eh se midieron diariamente, *in situ*, y se tomaron muestras del mineral para ser analizadas por SEM/EDX, DRX y FTIR cada cinco días, por un período de 30 días. Todos los ensayos se hicieron por duplicado.

c. Seguimiento químico del proceso

Se hizo un seguimiento del proceso de biolixiviación mediante medidas de potencial redox, pH, Fe^{2+} y Fe^{3+} en la solución. Así como medidas de absorción atómica para la determinación de cobre y zinc total en la solución, cada 5 días hasta el día 30. Las mediciones de pH y óxido-reducción (Eh) se hicieron mediante el uso de un equipo SCHOTT *Handylab*, con electrodo de referencia $\text{Ag}^\circ/\text{AgCl}$ y un electrodo de pH con electrolito de KCl. Las mediciones de hierro y sulfatos se hicieron en un espectrofotómetro marca GENESYS UV 10, bajo las normas estándar 3500-Fe B para determinación de hierro por el método colorimétrico o-fenantrolina y 4500 SO_4^{2-} para la determinación de sulfatos, por el método turbidimétrico.

6. Caracterización mineralógica final (Mineralogía del Proceso)

a. Difracción de rayos X (DRX)

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

b. Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)

Este tipo de técnica se usó como un complemento de la DRX, con el fin de detectar posibles fases minerales producto de la biolixiviación, que por su carácter amorfo o su baja cristalinidad, no fueron detectados por DRX. Las muestras fueron retiradas de los erlenmeyer luego de 24 horas y posteriormente cada 5 días.

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

Con ésta técnica se definió, a nivel micrométrico, la química mineral de las nuevas fases generadas producto de las transformaciones en los sistemas estudiados, además, se definieron características texturales entre ellas como películas, golfos de corrosión, etc. Las muestras fueron analizadas en secciones pulidas.

d. Espectroscopía Mössbauer

Mediante el empleo de esta técnica se definió la presencia de fases de Fe, tales como, óxidos, oxihidroxidos, sulfatos, sulfuros, etc., y se obtuvo, a partir de ésta información sobre las implicaciones mineralógicas en el proceso. Las interpretaciones fueron realizadas por el autor con la orientación del profesor Aramburo. Los espectros fueron obtenidos a temperatura ambiente RT (*Room Temperature*) (297°K), usando una fuente de ^{57}Co en una

matriz de Rh. La radiación transmitida fue registrada por un contador proporcional y almacenada en un analizador multicanal con 256 canales. El espectro fue ajustado empleando análisis Lorentziano. El tratamiento de los datos se hizo con ayuda del software *Mössbauer Analysis Software for Windows RECOIL 1,05 ken Lagarec*[®] 2002

7. Análisis de superficie de muestras biolixiviadas

a. Preparación de muestras

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

b. Ensayos de biolixiviación

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

c. Microscopía de barrido por sonda, modo de fuerza atómica (SPM/AFM)

Mediante esta técnica se hizo un monitoreo a nivel micro y nanométrico de la interacción mineral bacteria. Fue utilizado para obtener imágenes de alta resolución topográfica de la superficie de los sulfuros pulidos luego de la interacción bacteriana y en los ensayos no inoculados. Para el análisis, se tomaron cristales individuales de calcopirita, esfalerita y galena, los cuales fueron sometidos a pulido espejo con una serie de lijas de carburo de silicio con la siguiente serie: 300, 600, 1000, 1200 y 1500 y finalmente pulidas con alúmina de 3, 1 y 0,05 μm . Los cristales pulidos fueron limpiados por ultrasonido y finalmente sometidos a la acción bacteriana por un periodo de 12 horas, así mismo se realizó un control estéril con el fin de comparar el efecto de los microorganismos.

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

Las sondas AFM son en silicio.

8. Ensayos de Biomodulación/Bioflotación

Los ensayos de flotación diferencial fueron llevados a cabo en una celda de flotación, tipo Hallimond empleando un gramo de mineral, con mezclas artificiales de pirita-calcopirita, pirita-esfalerita y pirita-galena. 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 ml^{-1} durante periodos de tiempo de 2, 4, 12, 24 y 48 horas y luego se empleó 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 ante la presencia de colector.