

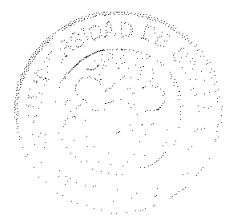
Efecto Catalítico del ión  $\text{Ag}^+$  en  
la Biolixiviación de Calcopirita

Joaquín Alba Hermosín  
Dpto. Ingeniería Química

EFFECTO CATALITICO DEL ION Ag<sup>+</sup> EN  
LA BIOLIXIVIACION DE CALCOPIRITA

Joaquín Alba Herмосín

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
SECRETARIA CENTRAL



Queda registrada esta Tesis Doctoral  
al folio 6 número 66 del libro  
correspondiente.

Sevilla, 31 JUL. 1990  
El Jefe del Negociado de Tesis,

*PA [Signature]*

Trabajo presentado para aspirar  
al Grado de Doctor en Química.

Sevilla, Julio de 1990

*[Signature]*

Fdo. Joaquín Alba Herмосín

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
Depositado en *Biblioteca*  
de la *Facultad Químicas*  
de esta Universidad desde el día  
hasta el día

Sevilla de de 19  
EL DIRECTOR DE

D. Antonio Roselló Segado, Director  
del Departamento de Ingeniería Química de la  
Facultad de Química de la Universidad de  
Sevilla,

CERTIFICA : que los trabajos correspondientes  
a la Tesis Doctoral presentada  
por D. Joaquín Alba Herмосín han  
sido realizados en su totalidad  
en este Departamento.

Sevilla, 20 de Julio de 1990

P.A.



A handwritten signature in dark ink, appearing to read "A. Roselló Segado", written over a horizontal line.

Antonio Roselló Segado

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi mas sincero agradecimiento por la ayuda prestada en la realización de esta Tesis Doctoral a las siguientes personas y entidades :

D. Francisco Carranza Mora, Director de la línea de Investigación, por su constante apoyo, la dirección de los trabajos experimentales y su valiosa ayuda en la interpretación de los resultados obtenidos.

D<sup>a</sup> Inmaculada Palencia Pérez, por su valiosa ayuda en la interpretación de los resultados obtenidos, así como por su inestimable colaboración en la presentación final de esta Tesis.

D. Juan Pereda Marín, por su constante estímulo a la realización de éste trabajo.

Departamento de Química Inorgánica de ésta Facultad, y en especial a D. Agustín Rodríguez Gonzalez-Elipe, por su colaboración en la realización e interpretación de los análisis de XPS.

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, y en especial a D. Eduardo Gómez, por su colaboración en la realización de los exámenes de muestras por Microscopía



Electrónica de Barrido (SEM).

Al resto de miembros y compañeros del Departamento de Ingeniería Química por su constante colaboración.

A Pilar, Daniel y Pablo

## INDICE

|  | <u>Página</u> |
|--|---------------|
| 1. Introducción y antecedentes bibliográficos  | 1             |
| 1.1 Introducción   | 1             |
| 1.2 La bacteria Thiobacillus Ferrooxidans  | 5             |
| 1.2.1 Localización y características generales del Thiobacillus Ferrooxidans           | 5             |
| 1.2.2 Requerimientos y medios de cultivo   | 10            |
| 1.2.3 Influencia de cationes y aniones en el crecimiento del Thiobacillus Ferrooxidans | 12            |
| 1.3 Oxidación de $Fe^{2+}$   | 17            |
| 1.4 Oxidación de azufre  | 19            |
| 1.5 Oxidación de sulfuros metálicos  | 19            |
| 1.5.1 Oxidación bacteriana de calcopirita  | 21            |
| 1.5.2 Efecto catalítico del ión $Ag^+$   | 26            |
| 1.5.3 Oxidación de otros sulfuros metálicos  | 31            |
| 1.6 Cinética del crecimiento bacteriana  | 33            |
| 1.7 Variables que afectan a la oxidación bacteriana de sulfuros metálicos              | 41            |
| 1.7.1 Condiciones medioambientales   | 41            |
| 1.7.2 Influencia del pH  | 45            |
| 1.7.3 Efecto de la temperatura   | 47            |
| 1.7.4 Efectos de la agitación y tamaño de partícula                                    | 50            |
| 1.7.5 Efecto del ión férrico   | 53            |

|   | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| 2. Plan de trabajo  | 61            |
| 3. Materiales y métodos   | 63            |
| 3.1 Descripción del equipo empleado   | 63            |
| 3.2 Preparación del mineral   | 63            |
| 3.3 Preparación del medio de cultivo  | 64            |
| 3.4 Preparación de inóculos   | 64            |
| 3.5 Análisis y control  | 66            |
| 3.5.1 Análisis de hierro y cobre  | 66            |
| 3.5.2 Controles de pH y temperatura   | 67            |
| 3.6 Determinación de tensiones superficiales                                      | 68            |
| 3.7 Análisis de residuos por XPS, AES y SEM                                       | 70            |
| 4. Planificación de las experiencias. El método de diseño factorial               | 77            |
| 4.1 Planes factoriales  | 78            |
| 4.2 Diseños factoriales a dos niveles   | 78            |
| 4.3 Contrucción de un diseño $2^k$  | 79            |
| 4.4 Contrucción de la matriz de diseño experimental                               | 80            |
| 4.5 Modelo lineal   | 81            |
| 4.6 Cálculo de los coeficientes del modelo  | 82            |
| 4.7 Superficie de respuesta cuadrática  | 84            |
| 4.8 Planes factoriales $3^2$  | 85            |
| 4.9 Análisis canónico. Simplificación de la superficie de cuadrática de respuesta | 85            |
| 5. Discusión de resultados  | 87            |
| 5.1 Lixiviabilidad de calcopirita en las condiciones fisico-químicas naturales    | 87            |

|  | <u>Página</u> |
|--|---------------|
| 5.2 Lixiviación bacteriana de calcopirita con plata  | 93            |
| 5.3 Estudio de la influencia de la presencia de cobre, tiosulfato sódico y plata en la lixiviación bacteriana de calcopirita | 101           |
| 5.4 Efecto catalítico del ión $Ag^+$   | 117           |
| 5.5 Determinación de las condiciones óptimas para la lixiviación bacteriana de calcopirita                                   | 141           |
| 5.5.1 Diseño factorial $2^3$   | 141           |
| 5.5.2 Diseño factorial $3^2$   | 170           |
| 5.6 Efectos químicos y bacterianos durante la lixiviación bacteriana de calcopirita  | 199           |
| 5.7 Evolución de la tensión superficial del medio de lixiviación   | 206           |
| 5.8 Determinación del mecanismo catalítico de ataque a la calcopirita del ión $Ag^+$   | 214           |
| 6. Conclusiones  | 235           |
| 7. Bibliografía  | 238           |



1. INTRODUCCION Y

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

## 1. Introducción y antecedentes bibliográficos

### 1.1 Introducción

La calcopirita es, con mucha diferencia, el mineral de cobre mas abundante en la naturaleza y, por ello, es la materia prima básica para la obtención de este metal mediante un proceso pirometalúrgico tradicional que consta de las siguientes etapas : concentración de mineral por flotación diferencial, fusión a mata, conversión a cobre blister, refino térmico y refino electrolítico, para dar lugar a cátodos de gran pureza.

En los últimos cincuenta años, la industria del cobre se ha visto acosada, cada vez con mayor fuerza, por tres tipos de problemas : económicos, tecnológicos y medio ambientales, a los que aún no se ha podido dar adecuadas soluciones. Por una parte, el precio de este metal, a diferencia de la gran mayoría de los productos de la industria química, ha sufrido un estancamiento que pone en permanente peligro la viabilidad económica de este tipo de explotación. Por otra parte, la ley de los yacimientos del mineral ha venido descendiendo de forma alarmante, lo que ha conducido a la obtención de concentrados de flotación cada vez mas pobres y con mayor contenido de impurezas (As, Sb, Hg, etc) que causan graves problemas tecnológicos en diversas etapas del proceso.

Por último, cabe resaltar que durante las etapas de fusión y conversión, se producen grandes volúmenes de  $SO_2$ , en

especial en la última en la que, además, tiene carácter intermitente. Aunque en la inmensa mayoría de las plantas estos efluentes gaseosos se utilizan para la obtención de ácido sulfúrico, es muy difícil evitar fugas ocasionales, lo que confiere a este tipo de explotación un riesgo muy elevado de contaminación por  $\text{SO}_2$ . Las restricciones legales en materia de contaminación, cada vez mas estrictas en todo el mundo, agravan este problema.

Así pues, todo parece indicar que la actual coyuntura aleja a este proceso tradicional de obtención de cobre de sus condiciones ideales de utilización.

La solución global a estos problemas implica el abandono de esta tecnología y el desarrollo e implantación de una nueva que permita la activación económica de la explotación, disminuyendo costes y propiciando la obtención de subproductos, que no sea tan sensible a la presencia de impurezas en los concentrados y que evite la formación de  $\text{SO}_2$ , no sólo para evitar la posible contaminación sino también para eludir la fabricación de ácido sulfúrico, producto con un mercado fuertemente saturado y, por tanto, de difícil venta.

El cambio tecnológico debe realizarse, de forma inexcusable, a través de un proceso hidrometalúrgico. Este tipo de procesos posee una gran facilidad en la separación de especies, separación deseable no sólo para evitar el efecto nocivo de las impurezas, sino además para permitir su aprovechamiento como subproductos; elude la formación de  $\text{SO}_2$  y

posibilita la transformación del sulfuro en azufre elemental, producto de fácil acceso al mercado.

La etapa esencial de todo proceso hidrometalúrgico es la de lixiviación, en la que el mineral en pulpa acuosa se somete a la acción del agente lixivante que hace pasar a disolución, en forma total o parcial, los diversos componentes de la mena.

En la búsqueda del proceso hidrometalúrgico idóneo, se han ensayado diversos agentes lixiviantes, entre ellos, el ión férrico, cloruro cuproso, hipoclorito, oxígeno a presión, etc. Todos ellos plantean dificultades derivadas del elevado precio del reactivo en unos, de la necesidad de reciclaje en otros o de las drásticas condiciones de operación en aquellos casos en los que se han de manejar disoluciones fuertemente corrosivas y en caliente, o en los que se emplean altas presiones.

Una alternativa de gran interés a estos procesos de lixiviación química la constituye la lixiviación bacteriana. Esta se realiza en condiciones de operación muy suaves, a temperaturas muy cercanas a la ambiente y a presión atmosférica; no se requiere el empleo externo de reactivos y, dadas las características de los microorganismos empleados, es muy fácil de operar y controlar. El principal inconveniente de la biolixiviación es su lenta cinética, que obliga a emplear grandes tiempos de contacto. Por ello, hasta el momento presente, sólo se ha empleado en el tratamiento de minerales

pobres, o incluso marginales, de metales no férreos, especialmente cobre y uranio, y en el de menas refractarias de oro y plata.

En 1986 B.C. Research (Vancouver, Canadá) anunció un nuevo procedimiento para la biolixiviación de calcopirita que emplea  $\text{Ag}^+$  como catalizador, tiosulfato e ión  $\text{Cu}^{2+}$  como activador de la superficie del mineral. Los autores desconocen el mecanismo a través del cual se produce el efecto catalítico, pero afirman que, a pesar de que el catión  $\text{Ag}^+$  es uno de los escasos iones letales para los microorganismos responsables de la lixiviación, bajo ciertas condiciones, se produce la lixiviación total del cobre contenido en el mineral y con una cinética mucho mas favorable.

Este proceso podía constituir un salto cualitativo de indudable importancia, tanto tecnológica como económica. La confirmación de los resultados anunciados y la determinación del mecanismo a través del cual se da esta biolixiviación, contituyeron los objetivos fundamentales de esta tesis doctoral.



## 1.2 La Bacteria Thiobacillus Ferrooxidans

### 1.2.1 Localización y características generales del Thiobacillus Ferrooxidans

La oxidación bacteriana de minerales sulfurados es un hecho conocido desde la antigüedad, aunque la lixiviación microbiológica (LM) como técnica hidrometalúrgica haya aparecido en el mundo de la investigación hace apenas cuarenta años.

En 1922 Rudolf (1) y Rudolf y Helbronner (2) informaron sobre la oxidación bacteriana de sulfuros metálicos y trazaron, ya entonces, una primera idea de una posible utilización industrial. Sin embargo, no es hasta 1947 cuando de nuevo cobra actualidad el tema ya que fue entonces cuando Colmer e Hinckle (3) aislaron de aguas ácidas de minas una bacteria que oxidaba al hierro y que era capaz de obtener energía de este proceso de oxidación. Posteriores trabajos (4,5) indicaron que la acidez hallada en las aguas de drenaje de las minas de carbón bituminoso era debida a la actividad de las bacterias oxidantes del hierro.

En 1951 la bacteria descubierta por Colmer e Hinckle recibió el nombre de *Thiobacillus ferrooxidans* (Tf) (6) ya que utiliza como fuente de energía el proceso de oxidación de hierro (II) y el de oxidación de azufre elemental y sus formas

reducidas, siendo estos dos los únicos caminos de obtención de energía que posee, por tanto *Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria obligadamente quimioautótrofa.

El descubrimiento de Colmer e Hinckle puso punto final a la búsqueda de las llamadas "bacterias del hierro" anunciadas por Winogradsky (7) hace casi setenta años, quien informó sobre el crecimiento de ciertas bacterias filamentosas que iba acompañado por la acumulación de formas insolubles de hierro, lo que le llevó a proponer su naturaleza litoautótrofa.

Aunque la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* fue aislada de las aguas de drenaje de minas de sulfuros metálicos, no existía hasta ese momento evidencia de que la bacteria estuviese involucrada en la puesta en solución de metales de los sulfuros metálicos.

No es hasta 1953 cuando Temple y Delchamps (8) y Bryner y colaboradores (9), empleando pirita finamente dividida, demostraron que esa bacteria puede oxidar a los sulfuros metálicos.

La bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* es un bacilo corto, de tamaño 0.5 x 1.0  $\mu\text{m}$ . Se encuentran solas o en pares, raramente encadenadas (Foto Num 1). Forman colonias en agar tiosulfato que son delgadas, pequeñas, con bordes irregulares y blanqueadas en el centro (Foto Num 2). El crecimiento sobre medio líquido conteniendo tiosulfato o azufre se manifiesta por una turbidez uniforme; en el primero se forma una película delgada después de 2-3 semanas. Sobre medios

agarizados que contienen hierro como fuente de energía, la apariencia de las colonias depende de la concentración de hierro. A bajas o moderadas concentraciones una zona ámbar revela la existencia de colonias microscópicas lobuladas cubiertas de hidróxido férrico; a altas concentraciones de hierro (II) el crecimiento es abundante con grandes incrustaciones de hidróxido férrico (10). El crecimiento sobre medio líquido que contiene ión ferroso se manifiesta por el cambio de color del medio líquido del verde claro inicial al pardo rojizo final, debido a la producción de ión férrico (Foto Num 3).

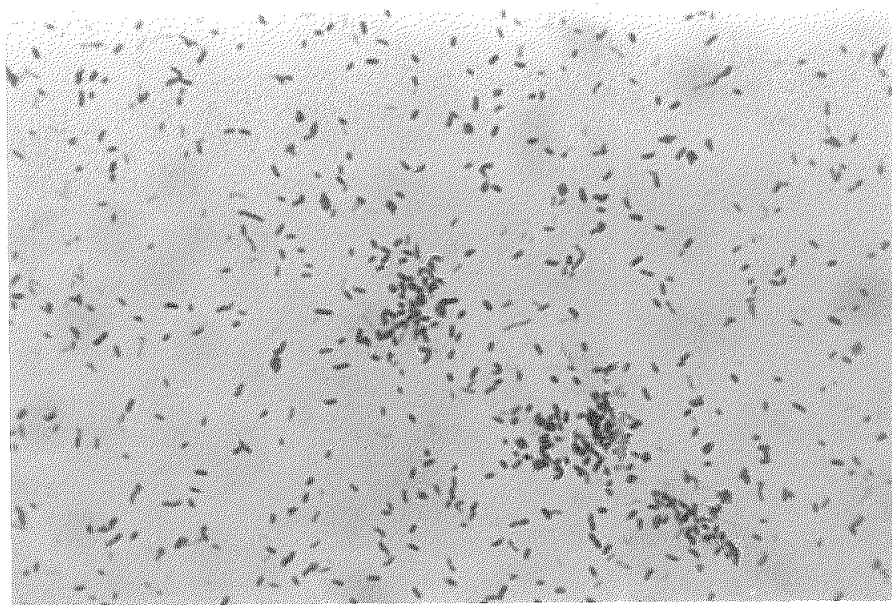


Foto num 1 T Ferrooxidans (x1500)

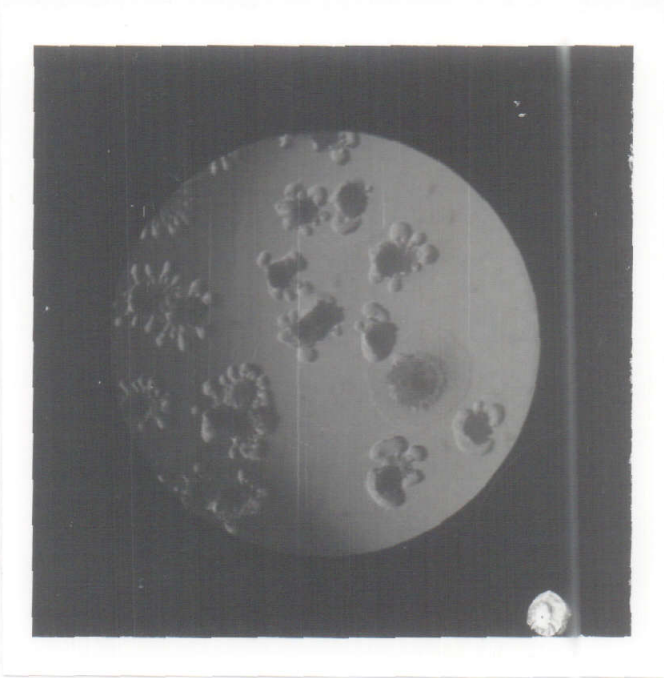


Foto num 2 colonias sobre agar tiosulfato

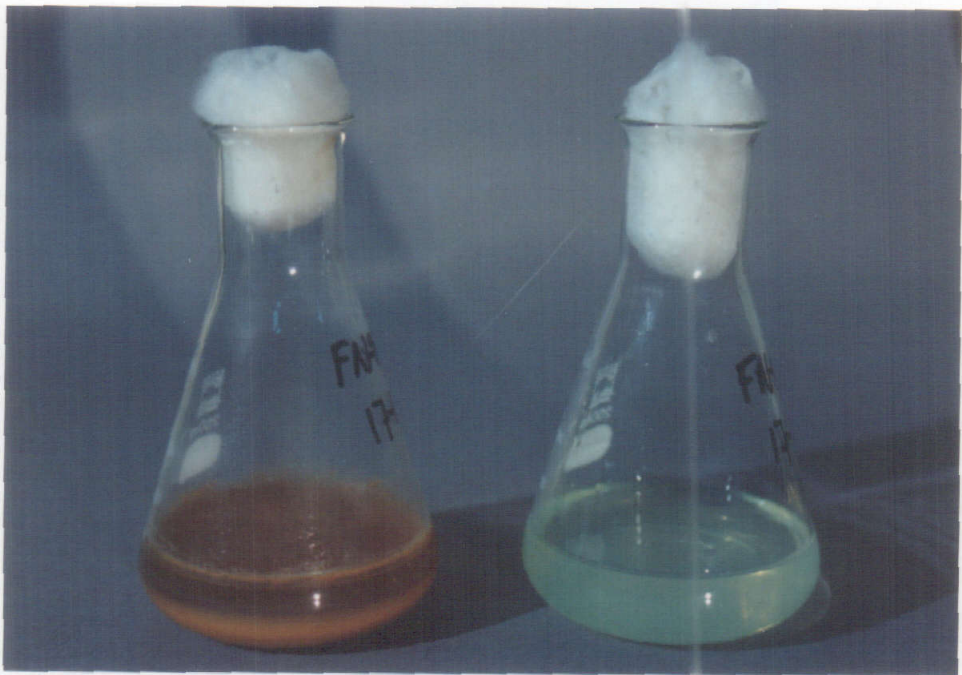


Foto num 3 evolución de cultivos

El *Thiobacillus ferrooxidans* utiliza las sales amónicas como fuente de nitrógeno. La bacteria Tf es estrictamente aeróbia y considerada como estrictamente autótrofa, aunque se ha informado por Shaffia y Wilkinson (11) que algunas cepas son capaces de crecer sobre glucosa despues de un periodo de adaptación. La temperatura óptima de crecimiento es de 15-20°C (12), aunque posteriores trabajos indican una temperatura óptima de 31 °C (10). Los límites de temperatura entre los cuales se da crecimiento del *Thiobacillus ferrooxidans* no pueden darse de una manera absoluta, ya que Tf como cualquier otra bacteria varía su respuesta a la temperatura dependiendo de las condiciones previas de crecimiento. Silverman y Lundgren (13) indicaron que se da ausencia de crecimiento a 37 °C. Posteriores trabajos indican que hay crecimiento a esa temperatura pero que la actividad metabólica decrece a 40 °C, siendo escasa o nula a 50 °C o mas (14). No obstante, es posible aislar al *Thiobacillus ferrooxidans* de un medio natural en el que la temperatura ambiente oscila entre 50 °C y 60 °C (15). La actividad metabólica del Tf a bajas temperaturas no ha sido estudiada en detalle y no se ha establecido un mínimo de temperatura para el crecimiento bacterial, no obstante, se acepta generalmente que dicha actividad cesa en el punto de congelación del medio de cultivo (10). El pH óptimo inicial para la oxidación bacterial del sulfato ferroso se encuentra entre 1.5 - 3.5 (16). Por debajo de pH 1.0 la bacteria pierde actividad o bien necesita de periodos de



adaptación excesivamente largos (17). El pH inicial óptimo para la oxidación de azufre elemental o de sus compuestos reducidos se encuentra entre 4.0 y 5.5 (18). Todas las cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* pueden crecer bajo condiciones estrictamente autotróficas, es decir, obteniendo todo el carbono que necesitan del  $\text{CO}_2$  atmosférico. Esto convierte al TF en un microorganismo quimiolitautótrofo, capaz de almacenar la energía obtenida en los procesos de oxidación de  $\text{Fe}^{2+}$  y formas reducidas del azufre en forma de ATP. Este ATP al hidrolizarse da ADP, fosfato inorgánico y energía, la cual puede ser usada por la bacteria para realizar trabajo en el transporte de materia (sustratos, nutrientes y productos de metabolismo) a través de la membrana celular, trabajo mecánico de vibración y locomoción y trabajo de biosíntesis para la construcción del material celular (19).

### 1.2.2 Requerimientos y medios de cultivo

La fuente de nitrógeno mas adecuada para el *Thiobacillus ferrooxidans* es el nitrógeno de las sales amónicas. No ha sido posible comprobar la asimilación de nitratos y nitritos (20,21). En ausencia de todo tipo de compuestos nitrogenados el crecimiento del TF disminuye pero no cesa (22). En 1971 McIntosh (23) informó sobre la capacidad de la bacteria TF para fijar el nitrógeno atmosférico, aunque posteriormente no se ha informado sobre la extensión de esta fijación. Si esta

fuese significativa indicaría la capacidad de cambio de este microorganismo para adaptarse a condiciones medioambientales poco favorables, como la ausencia de sales amónicas en el medio, factor éste que puede darse en la lixiviación natural.

El fósforo es otro de los nutrientes esenciales. Es un constituyente fundamental en nucleótidos, fosfolípidos, algunos enzimas y en el metabolismo energético. Si el suministro de fósforo es deficiente, la fijación del  $\text{CO}_2$ , el crecimiento y la asimilación y oxidación de diversas fuentes de energía se darán en extensión muy limitada. Se ha informado de una estimulación de la oxidación del sustrato y de la fijación del  $\text{CO}_2$  mediante la adición de fosfato (24,25,26), pero existen pocos datos que reflejen este hecho de una manera cuantitativa. Los fosfatos pueden resultar inhibitorios en la oxidación de algunos sustratos, especialmente sulfuros metálicos (20,25,27,28); este hecho no ha sido suficientemente explicado pero se supone que es debido a reacciones de precipitación entre los aniones fosfatos y el sustrato; estas reacciones no tienen lugar a pH inferior a 1.8.

El anión sulfato es esencial en varias funciones enzimáticas. Se ha demostrado la necesidad de sulfato en biosíntesis de aminoácidos (22,25,29). Dugan y Lundgren (30) han sugerido que el anión sulfato actúa como agente complejante en la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$ , asimismo se ha informado que otros aniones divalentes como  $\text{PO}_4\text{H}^{2-}$  pueden reemplazar al sulfato de manera parcial (31), pero al parecer la presencia

de sulfatos es obligatoria (32). Las cantidades de sulfato requeridas estan cubiertas ya que en los ambientes naturales donde ocurre la lixiviación microbiológica existe suficiente cantidad del mismo.

Hay algunos elementos traza necesarios para la actividad del *Thiobacillus ferrooxidans*, uno de ellos es el magnesio (33,34), del cual se requiere una cantidad mas de mil veces menor que de sulfato (22). Las necesidades de magnesio estan cubiertas con el contenido de este metal en las menas de sulfuros y en las aguas naturales, quizá por esto no ha sido posible demostrar que es un elemento traza fundamental en los sistemas de lixiviación microbiológica (26).

### 1.2.3. Influencia de cationes y aniones en el crecimiento del *Thiobacillus ferrooxidans*

Los mecanismos y tipos de inhibición de los microorganismos por los cationes metálicos han sido revisados por Sadler y Trudinger (35). Para la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* los aniones son generalmente mas tóxicos que los cationes, siendo pocos los cationes que le afectan. El *Thiobacillus ferrooxidans* puede tolerar altas concentraciones de zinc, níquel, cobalto, cobre, aluminio y manganeso durante la oxidación de  $Fe^{2+}$  (36), sin embargo los niveles de tolerancia disminuyen durante la oxidación de tiosulfato, especialmente para zinc, níquel y cobalto. No obstante, la tolerancia a los cationes depende del medio ambiente de donde

se aísle la bacteria y de las condiciones de cultivo, siendo posible hacer crecer cepas en presencia de cantidades relativamente grandes de cationes en principio tóxicos, como por ejemplo  $UO_2^+$ , en presencia del cual el *Thiobacillus ferrooxidans* no crece a concentraciones de 200 - 400 mg/L y que en sucesivas resiembras puede llegar a crecer a concentraciones de varios gramos por litro (37).

Se ha descrito en la bibliografía la máxima tolerancia a los distintos cationes : Zn 120 g/L (38), Ni 72 g/L (39), Co 30 g/L (39),  $U_3O_8$  12 g/L (37), Cu 55 g/L (40) y  $Fe^{2+}$  160 g/L (41). La plata y los aniones de arsénico, telurio y selenio son tóxicos a concentraciones de 50-100 mg/L y el molibdeno, como molibdato, a concentraciones de 5 ppm (42,43,44).

La oxidación del  $Fe^{2+}$  por el *Thiobacillus ferrooxidans* es inhibida por distintos aniones. Los cloruros y nitratos disminuyen la velocidad de oxidación a concentraciones de 6 g/L y 2 g/L respectivamente (20,22,29). Los fluoruros y cianuros inhiben totalmente la oxidación microbiológica de  $Fe^{2+}$  a concentraciones de  $2.5 \times 10^{-4}$  M (45).

Se ha supuesto que la tolerancia del *Thiobacillus ferrooxidans* a los cationes metálicos está basada en su capacidad para excluir dichos cationes de su estructura interna (129). Sobre esta base se presentan dos hipótesis para explicar las prolongadas fases de latencia que sufre el cultivo durante la oxidación del  $Fe^{2+}$  a causa de los cationes

de los metales pesados. Una de ellas se basa en el desarrollo de un sistema protector de la membrana citoplasmática, donde tienen lugar las reacciones enzimáticas que conducen a la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$ ; esta hipótesis conlleva la aceptación de la adaptación de la bacteria a la nueva situación en su sentido estricto, es decir, todas las células serían capaces de oxidar el  $\text{Fe}^{2+}$  en presencia de dichos cationes metálicos después de una reordenación estructural del material celular asociado con la membrana semipermeable que rodea al citoplasma. En apoyo de esta hipótesis estaría el hecho de que los periodos de latencia originados por los efectos inhibitorios de los cationes metálicos son de distinta duración dependiendo del catión en sí y de su capacidad específica de afectar a la reacción enzimática, lo que originaría una respuesta estructural protectora específica para cada metal. La segunda hipótesis se basa en que el largo periodo de latencia representaría el tiempo invertido por el cultivo en realizar una selección natural de bacterias tolerantes de antemano al catión metálico frente al resto que sería incapaz de sobrevivir o, al menos, de oxidar al  $\text{Fe}^{2+}$  en su presencia. Según este punto de vista, la adición del catión metálico considerado como inhibidor para la mayoría de la población bacteriana actuaría como agente favorecedor del desarrollo de las bacterias pretolerantes (36). Razzell y Trusell (48) concluyen que la tolerancia del *Thiobacillus ferrooxidans* a ciertos cationes metálicos



durante la oxidación del azufre es debido mas probablemente al proceso de selección que al de adaptación debido a que la inhibición producida por dichos cationes puede ser evitada mediante el empleo de grandes tamaños de inóculo y sugieren que una pequeña fracción de la población original es siempre tolerante a los cationes.

Los medios de cultivo del *Thiobacillus ferrooxidans* estan compuestos por disoluciones de sales inorgánicas en las que se aporta nitrógeno, fósforo y potasio como nutrientes, además de magnesio y calcio como elementos traza. Se añade tambien una fuente de energía que puede ser  $Fe^{2+}$ , azufre elemental o una forma reducida de azufre.

Entre los medios que usan  $Fe^{2+}$  como fuente de energía estan el medio de Leathen (46), el medio modificado 9k de Silverman y Lundgren (13) y el medio de Beck (47) y entre los medios que usan azufre o alguna de sus formas reducidas está el medio tiosulfato (4), las sales básicas del medio 9k mas azufre elemental, tiosulfato o sulfuro. En la Tabla I se da la composición de alguno de estos medios de cultivo.

Puede usarse tambien un medio sólido utilizando agar-agar o gel de sílice como agentes solidificantes (47,48).

TABLA I

COMPOSICION DE MEDIOS DE CULTIVOS

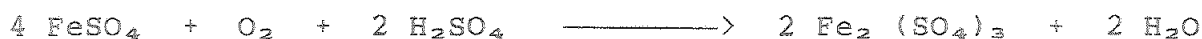
| Sales Basicas                             | Medio de LEATHEN | Medio 9k | Medio Tiosulfato |
|---|------------------|----------|------------------|
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$              | 0.15             | 3.00     | 0.2              |
| K Cl                                      | 0.05             | 0.10     | ----             |
| $\text{K}_2\text{PO}_4\text{H}$           | 0.05             | 0.50     | 3.0              |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.50             | 0.50     | 0.1              |
| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$                | 0.01             | 0.01     | ----             |
| $\text{CaCl}_2$                           | ----             | ----     | 0.2              |
| $\text{H}_2\text{O}$                      | 1000 ml          | 700 ml   | 1000 ml          |
| $\text{H}_2\text{SO}_4$ 10N               | ----             | 1 ml     | ----             |

Fuente de Energía

|   |                      |                  |      |
|---|----------------------|------------------|------|
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$                   | 10 ml sol.<br>al 10% | 300 ml<br>14.74% | ---- |
| $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | ----                 | ----             | 5.0  |

### 1.3. Oxidación de Fe<sup>2+</sup>

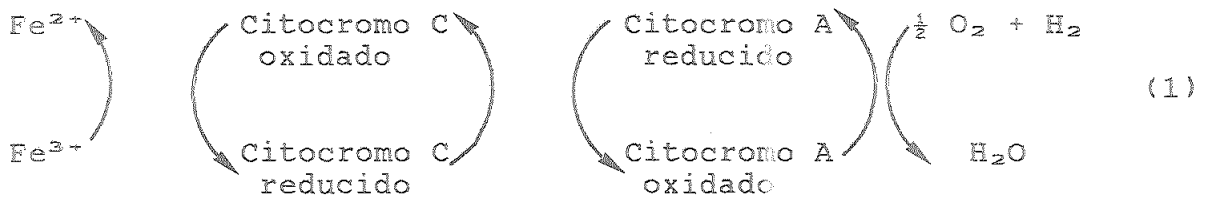
La oxidación de Fe<sup>2+</sup> como FeSO<sub>4</sub> puede representarse por la ecuación



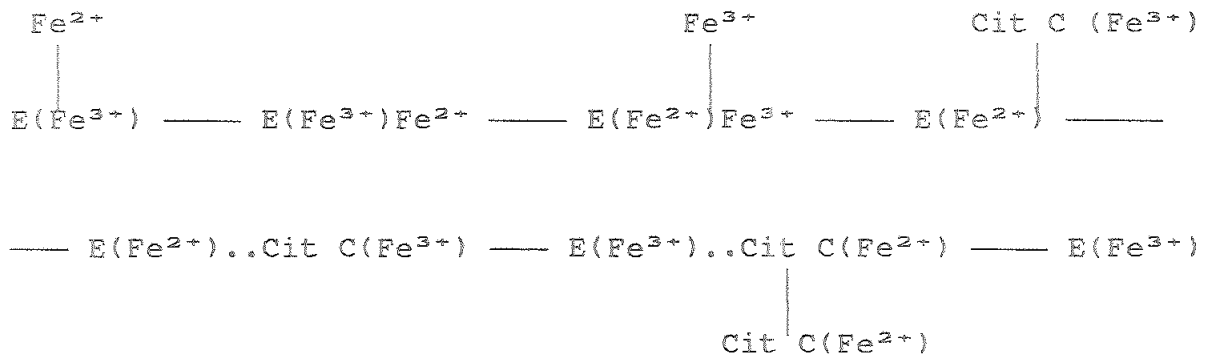
en la que se requiere un mol de oxígeno por cada cuatro átomos-gramo de Fe<sup>2+</sup> oxidados. Los resultados obtenidos durante la oxidación bacteriana de Fe<sup>2+</sup> por suspensiones celulares de TF se ajustan a esa estequiometría. La energía liberada en la reacción depende del pH. En las condiciones en las que se lleva a cabo la oxidación bacteriana y para el rango de pH comprendido entre 1.5 y 3.0 Tuovinen y Kelly (17) obtuvieron unos valores de energía libre comprendidos entre 5.9 y 7.8 Kcal/mol de Fe<sup>2+</sup> oxidado. Esta energía es por sí sola insuficiente para sostener el proceso de fosforilación oxidativa de ADP a ATP, el cual requiere entre 8.9 y 14.0 kcal/mol, no obstante se ha confirmado mediante estudios polarográficos y de absorción de Fe<sup>59</sup>, la formación de un complejo entre el Fe<sup>2+</sup> y una molécula orgánica de manera que el potencial actual del par Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> baja de 0.77 v a cero (49) aumentando la energía libre hasta aproximadamente 14 Kcal/mol de Fe<sup>2+</sup> oxidado.

Se han propuesto diversos mecanismos para la oxidación del Fe<sup>2+</sup>. El aislamiento de los citocromos A y C del

*Thiobacillus ferrooxidans* (50) hizo que se postulara la oxidación del hierro a través de un sistema de citocromos siendo el oxígeno el aceptor final de los electrones (49-52) :



Din y Suzuki (53) indican que la reacción global se realiza mediante un proceso enzimático según el siguiente mecanismo :



en el cual cada sustrato es ligado por una enzima. La enzima conteniendo un ión férrico enlaza con un ión ferroso que reduce al complejo enzima- $\text{Fe}^{3+}$  liberándose un ión  $\text{Fe}^{3+}$ . Posteriormente la forma reducida del complejo ferroenzimático enlaza con la forma oxidada del citocromo C dando lugar a la

forma oxidada del complejo ferroenzimático y a la forma reducida del citocromo C, el cual continuará el ciclo enlazando con la forma oxidada del citocromo A.

#### 1.4 Oxidación del Azufre

Los datos publicados hasta la fecha (25) indican que la ecuación global que representa la oxidación del azufre es



esta ecuación está de acuerdo con los datos de consumo de oxígeno y formación de sulfato.

El crecimiento de las cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* cuando se usa azufre como fuente de energía es mas lento que cuando se usa  $Fe^{2+}$ , no obstante, se ha comprobado que la eficiencia de la fijación de  $CO_2$  es aproximadamente cuatro veces mayor (24), postulándose que el mecanismo de transporte electrónico desde el azufre hasta el oxígeno en la cadena respiratoria sea diferente al mecanismo usado en la oxidación del  $Fe^{2+}$ . Los mecanismos de oxidación del azufre elemental y compuestos reducidos del azufre por bacterias del género *Thiobacillus* han sido descritos por Silver (54).

#### 1.5. Oxidación de Sulfuros Metálicos

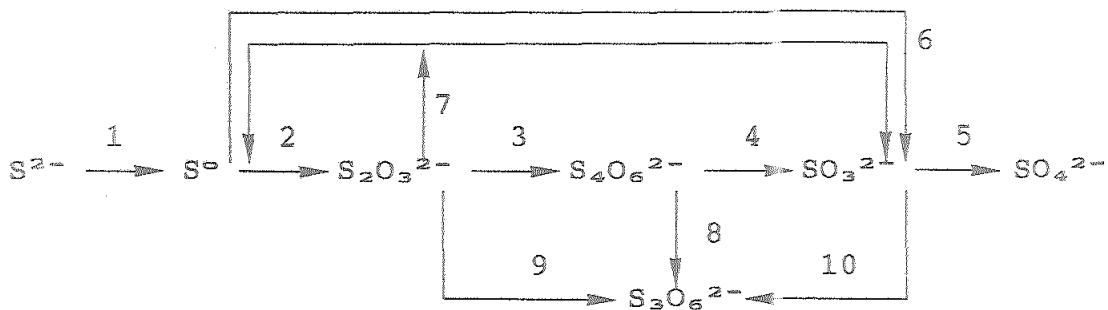
Sobre el mecanismo de ataque bacterial a los sulfuros metálicos se han propuesto dos mecanismos (55), denominados de

contacto directo e indirecto (56). El mecanismo indirecto indica que el ión  $Fe^{3+}$ , que es un agente oxidante, atacaría al sulfuro produciendo azufre elemental y reduciéndose a  $Fe^{2+}$ , el cual sería oxidado por las bacterias regenerando de esta forma el agente oxidante.



Según el mecanismo de contacto directo sólo se requiere un íntimo contacto entre la bacteria y la superficie del mineral en condiciones aeróbicas, pasando directamente la bacteria el sulfuro a sulfato. Este mecanismo ha sido propuesto en base a las observaciones de aumento de la velocidad de oxidación de los sulfuros metálicos exentos de hierro (9,28,48,57,58).

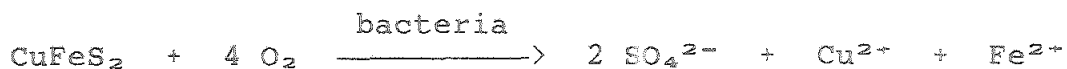
El esquema de la oxidación de sulfuros por TF siguiendo el mecanismo de contacto directo sería (59-63) :



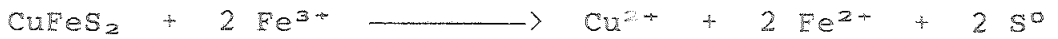
Las reacciones 1 - 4 son catalizadas por el enzima oxidante del azufre (61,64,65,66) dando sulfito como producto de reacción, el cual es oxidado a sulfato por el enzima sulfito-oxidasa (63) con formación de ATP (67). El tiosulfato se forma por la oxidación del azufre elemental (reacción 2) (62) y puede dismutar a azufre elemental y sulfito por acción de la rodanasa (reacción 7) (60). El tiosulfato se oxida a tetratiónato por acción del enzima oxidante del tiosulfato (reacción 3) (62). Las reacciones 8-10 pueden existir si se admite un comportamiento similar del Thiobacillus ferrooxidans con respecto a otros Thiobacillus (68,69).

#### 1.5.1 Oxidación bacterial de calcopirita

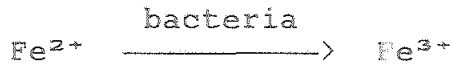
La calcopirita puede ser solubilizada en presencia de la bacteria Thiobacillus ferrooxidans. Se han propuesto dos mecanismos para explicar dicho proceso. En el primero de ellos, llamado de contacto directo, el sulfuro es oxidado por la bacteria hasta sulfato de acuerdo con la ecuación :



En el segundo de ellos, llamado de contacto indirecto, el sulfuro es oxidado hasta azufre elemental por el ataque químico del  $\text{Fe}^{3+}$  sobre la calcopirita :

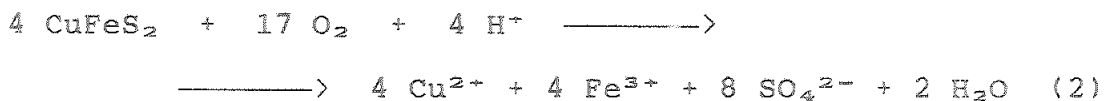


y el  $\text{Fe}^{3+}$  se regenera por oxidación bacterial :



No es posible asegurar que la oxidación de la calcopirita se lleve a cabo exclusivamente por uno de estos mecanismos, ya que siempre habrá un sustrato energético de la bacteria que avale la hipótesis del otro mecanismo. En efecto, si se asume un mecanismo de contacto directo se produce  $\text{Fe}^{2+}$  que puede ser oxidado por Tf a  $\text{Fe}^{3+}$  y desencadenar un ataque químico sobre la calcopirita, lo cual es la base del mecanismo de contacto indirecto. Y si se asume el mecanismo de contacto indirecto siempre habrá bacterias adheridas a la superficie de la calcopirita por lo que se dará en alguna extensión la oxidación por contacto directo.

Si se asume un mecanismo de contacto directo, la ecuación que representa el proceso es :

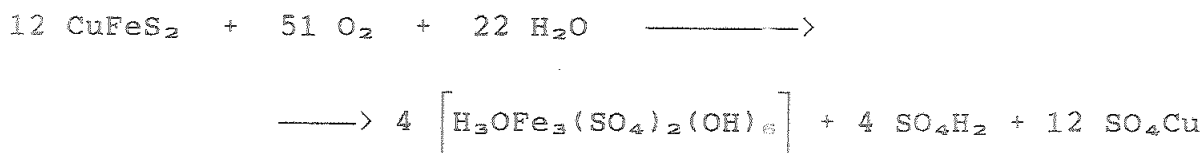


A pH aproximado de 2 el  $\text{Fe}^{3+}$  tiende a hidrolizarse precipitando como jarosita, produciendo ácido :





siendo la reacción global netamente productora de ácido



La reacción (2) puede descomponerse en las siguientes semirreacciones :

Semirreacción anódica



Semirreacción catódica



Se ha informado (117) que la semirreacción catódica es el paso controlante del proceso de oxidación de calcopirita.

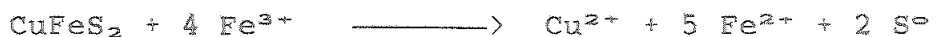
El *Thiobacillus ferrooxidans* puede adherirse directamente a la superficie de los minerales sulfurados (118), produciéndose la oxidación del sulfuro a través de dos etapas enzimáticas intermedias. En la primera el sulfuro pierde dos electrones produciéndose una polimerización de los átomos de azufre restantes. Posteriormente en la segunda etapa el azufre polimérico es oxidado a sulfato; estos dos

procesos ocurren en la membrana celular.

Los electrones generados en el proceso de oxidación son transportados hasta el oxígeno, último aceptor en la cadena respiratoria, a través de la cadena de citocromos. Por tanto la bacteria actúa facilitando la reducción del oxígeno, que es el paso controlante de la velocidad del proceso de oxidación de la calcopirita.

Experimentalmente se han obtenido (9,100,106...) bajos rendimientos para el proceso de oxidación bacteriana de la calcopirita, alcanzándose como máximo alrededor de un 30% de conversión de la calcopirita inicial en una sola etapa. Si el residuo de lixiviación se remuele y se lixivía de nuevo la extracción puede llegar al 100 % en varias etapas. Torma y col. (143) informaron que ello era debido a la formación de jarosita durante el proceso. La jarosita formada se depositaría sobre la superficie del mineral impidiendo el contacto entre la bacteria y dicha superficie, por lo que llega un momento en que la oxidación bacteriana se detiene.

La presencia de agentes oxidantes en el sistema da lugar a modificaciones importantes en el mismo. El ión  $Fe^{3+}$  es capaz de atacar a la calcopirita de acuerdo con la ecuación :



La estequiometría de esta reacción ha sido comprobada por numerosos investigadores (119-123). Esta reacción es

de suma importancia para la evolución del sistema bacterial debido a que se forma  $Fe^{2+}$  como producto de la reacción, que es un sustrato energético directamente utilizable por el *Thiobacillus ferrooxidans*, y sobre el cual muestra una cinética de crecimiento mas rápida que sobre el sulfuro.

Cabe resaltar que esta vía lleva a la obtención de dos productos : azufre elemental y cobre, en lugar de sólo cobre si se asume el mecanismo de contacto directo.

La formación de  $Fe^{2+}$  y su posterior oxidación bacterial a  $Fe^{3+}$  hace que pueda comenzar un nuevo ataque a la calcopirita, pudiendo, en principio, predecirse una total disolución de la misma. Sin embargo esto no ocurre debido a que el azufre elemental que se produce forma una capa alrededor de las partículas de calcopirita dificultando el ataque del  $Fe^{3+}$ , llegando un momento en que la reacción se detiene (121,123,131).

La cinética de la reacción está significativamente marcada por la presencia de la capa de azufre elemental. Los detalles de este control de velocidad para esta reacción no han sido establecidos aún. Algunos investigadores (119, 124) atribuyen el control de la velocidad de reacción a una reacción en la superficie, en cambio otros investigadores (120-122,117) atribuyen el control de la velocidad de reacción a fenómenos de transporte en la red de la calcopirita y/o a través de la capa de azufre elemental formada.

Posteriormente Muñoz y col. (123) a la luz de nuevos datos sobre el sistema de lixiviación férrica de calcopirita sugirieron que el paso controlante de la velocidad de reacción es el transporte de electrones a través de la capa de azufre elemental. Una representación esquemática del fenómeno se da en la figura 1.

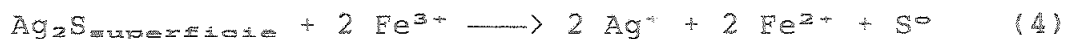
En oposición a los investigadores que achacan el descenso de la velocidad de reacción a la formación de la capa de azufre elemental hay otros investigadores (131,132) que basando su opinión en estudios electroquímicos llegan a la conclusión de que la verdadera barrera está formada no por el azufre elemental sino por un sulfuro que se va formando a medida que la reacción avanza y que es menos activo que la calcopirita. El descenso de la reactividad de la calcopirita revelaría un cambio de la composición química o estructural de la fase sulfuro sujeta a oxidación.

#### 1.5.2. Efecto catalítico del ión $Ag^+$ sobre la oxidación de la calcopirita

La plata también es capaz de oxidar a la calcopirita; Miller y Portillo (116) han estudiado la reacción del ión  $Ag^+$  con la calcopirita en ausencia de otros oxidantes. La reacción transcurre según la ecuación :



Cuando la calcopirita reacciona con el ión  $\text{Ag}^+$  rápidamente se forma un producto azul negro sobre la superficie de la misma, ese producto es  $\text{Ag}_2\text{S}$ . Posteriormente se llevaron a cabo otras investigaciones en las cuales la formación de  $\text{Ag}_2\text{S}$  sobre la calcopirita es sólo el primer paso para un posterior ataque con un agente oxidante. El  $\text{Fe}^{3+}$  puede atacar la capa de  $\text{Ag}_2\text{S}$  en una reacción rápida :



En presencia de  $\text{Ag}^+$  se lleva a cabo la disolución de la calcopirita produciéndose azufre elemental al igual que se forma en su ausencia, pero hay un aspecto fundamental que diferencia a los dos procesos de disolución, éste es la morfología de la capa de azufre elemental formada. En ausencia de  $\text{Ag}^+$ , se forma una capa de azufre muy tenaz y difícilmente atacable, mientras que en presencia de  $\text{Ag}^+$  se forma una capa de azufre muy poroso. Miller y Col. (125) sugirieron que la velocidad es controlada por la reacción de ataque del  $\text{Fe}^{3+}$  sobre  $\text{Ag}_2\text{S}$  la cual ocurre sobre la superficie de los cristales de sulfuro de plata. El ión  $\text{Ag}^+$  producido en la reacción (4) reacciona según la ecuación (3) formando nuevamente  $\text{Ag}_2\text{S}$  que a su vez es atacado por el  $\text{Fe}^{3+}$  y así sucesivamente. El azufre elemental formado no lo hace en forma de capa continua, impidiendo de esta manera el progreso de la reacción, sino que por la reacción (3) se forman cristales de  $\text{Ag}_2\text{S}$ , los

cuales ocuparían sitios sobre la superficie de la calcopirita en lugar del azufre elemental, permitiendo la transferencia electrónica entre la calcopirita y la disolución de  $Fe^{3+}$ . En oposición a la teoría de Miller y Col. (125), Parker (132) argumenta que los núcleos de  $Ag_2S$  ocupan sitios no cubiertos por azufre elemental en la barrera de sulfuro pasivado.

En la figura 2 se da una representación esquemática del mecanismo anteriormente explicado.

Recientemente Barriga y Col. (130) han confirmado que el descenso en la velocidad de lixiviación de la calcopirita con el tiempo no es debida a la formación de la capa de azufre elemental formada sobre el sólido durante la reacción, sino que es debida a la formación de una capa de sulfuro pasivado durante el ataque a la calcopirita. Dicha capa de sulfuro pasivado puede ser reactivada por inclusión en su red cristalina de sulfuros metálicos tales como  $Ag_2S$ ,  $HgS$ ,  $As_2S_3$ ,  $SnS$  y  $CoS$ , especialmente los tres primeros. La reactivación por uso de  $Ag_2S$  puede ser explicada por un mecanismo electroquímico basado en la formación de una célula galvánica  $Ag_2S / CuFeS_2$  donde  $Ag_2S$  actuaría como cátodo.

Hasta aquí, en cuanto al proceso de oxidación de la calcopirita catalizado con  $Ag^+$ , sólo se ha hablado del aspecto químico, sin embargo teniendo en cuenta la existencia en el medio de lixiviación de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* y su capacidad de oxidar disoluciones de  $Fe^{2+}$  es posible

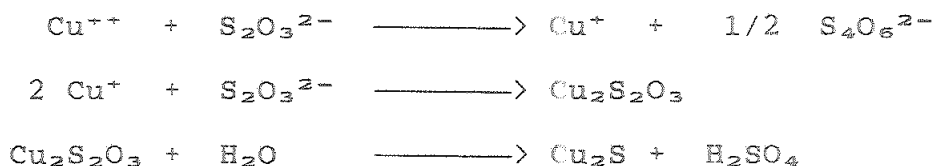
pensar en una oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$ , producido durante la disolución de la calcopirita, a  $\text{Fe}^{3+}$  con lo que se consigue la regeneración del agente lixiviante de la calcopirita, pudiendo pensarse en el inicio de un ciclo que llevaría a la disolución total de la misma. La acción de la bacteria en un sistema como este sólo es posible con la condición de que la cantidad de plata disuelta en el medio sea prácticamente nula, ya que este ión es precisamente uno de los más tóxicos para el *Thiobacillus ferrooxidans* (126), inhibiendo su crecimiento con una concentración en el medio de 0.01 ppm.

Si se asume el mecanismo propuesto en las reacciones (3) y (4), se concluye que el mecanismo de ataque bacterial debe ser indirecto, siendo la existencia del ión  $\text{Ag}^+$  efímera debido a que la reacción (3) debe ser muy rápida, en caso contrario la población bacteriana disminuiría. El pH debe ser mantenido por debajo de 2.2 ya que por encima de este valor el  $\text{Fe}^{3+}$  precipitaría como jarosita y por tanto no estaría disponible para reaccionar según la ecuación (4).

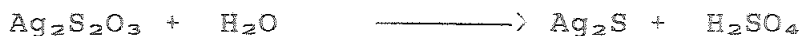
B.C. Research informó (127) que la disolución de la calcopirita catalizada con plata se puede llevar a cabo bajo otras condiciones experimentales. Este procedimiento se basa en la utilización de un medio de lixiviación carente de  $\text{Fe}^{3+}$  y de  $\text{Fe}^{2+}$ , es decir, sales básicas del medio 9k juntamente con sulfato de plata, tiosulfato sódico y sulfato de cobre. Se observó (127) que la formación de azufre elemental puede ser correlacionada con un potencial bajo del medio. A esos

potenciales el  $\text{Fe}^{3+}$  no juega ningun papel en la oxidación de la calcopirita. Al añadir tiosulfato se baja el potencial de oxidación del medio y además hace que no exista en el mismo nada de  $\text{Ag}^+$  ya que es un agente complejante del mismo. El  $\text{Cu}^{2+}$  fue añadido inicialmente para activar químicamente la superficie del mineral y tambien para permitir mantener un potencial bajo. La adición de  $\text{Ag}^+$ , tiosulfato sódico y  $\text{Cu}^{++}$  al comienzo del proceso de oxidación de la calcopirita da lugar a una serie de reacciones químicas que ocurren antes de que comience la acción bacterial. A este paso se le denomina activación química. Los autores indican en su informe (127) que todos los componentes son absolutamente necesarios para que el producto final sea azufre elemental en vez de sulfato.

En la fase de activación se añade tiosulfato en exceso para complejar toda la plata disponible. El exceso de tiosulfato reacciona con  $\text{Cu}^{++}$  dando  $\text{Cu}^+$  y  $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ , desencadenando las siguientes reacciones :



igualmente para la plata se llegaría a la reacción :





Estas ecuaciones sólo representan las reacciones globales, no indicándose los muchos compuestos intermedios que pueden formarse (politionatos, tritionato cúprico) ni la reacción de descomposición del tiosulfato cuproso en sulfuros cuproso y cúprico.

Los sulfuros formados actúan, como mezcla o compuesto, como un participante activo en la reacción de descomposición de la calcopirita.

En el mecanismo sugerido (127,134) tan pronto como los sulfuros cuproso y cúprico son oxidados con la correspondiente retirada de ácido y producción de azufre elemental, la calcopirita se disuelve para reemplazar el sulfuro de cobre y restablecer el equilibrio.

### 1.5.3. Oxidación de Otros Sulfuros

La oxidación bacteriana de otros sulfuros de cobre como la calcosina ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), covelita ( $\text{CuS}$ ), bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) y tetraedrita ( $\text{Cu}_8\text{Sb}_2\text{S}_7$ ) ha sido confirmada en numerosos trabajos (9,71,72 entre otros). No obstante, la extensión de esa oxidación bacteriana no es la misma en todos ellos en igualdad de condiciones; existe un factor importante que se debe considerar: la presencia o ausencia de hierro en el mineral. Este es un factor importante debido a que el tiempo medio de generación de la bacteria en su crecimiento sobre una disolución de  $\text{Fe}^{2+}$  es mucho menor que sobre cualquier sustrato sólido que contenga hierro y a su vez el tiempo medio de

generación de la bacteria en crecimiento sobre estos sustratos es menor que el que se obtiene cuando el crecimiento es sobre sustratos que contienen azufre elemental o formas reducidas de azufre en ausencia de hierro. Por tanto, en principio, cabe esperar una mayor oxidación de los minerales con hierro que de aquellos que no lo posean, es decir, calcopirita y bornita frente a covelita, calcosina y tetraedrita, aunque también hay que tener en cuenta la estructura cristalina del mineral (73). Experimentalmente se ha comprobado (71) que la velocidad de oxidación bacteriana de los sulfuros de cobre es, de mayor a menor :

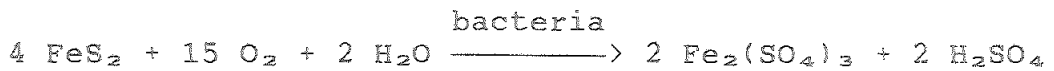
calcopirita > covelita > calcosina > bornita > tetraedrita

También se ha podido demostrar (147) que el *Thiobacillus ferrooxidans* es capaz de acelerar la disolución de sulfuro de cobre sintético (SCu) en ausencia de  $Fe^{3+}$  en el medio de cultivo, si bien las velocidades de extracción observadas son bajas.

Por su importancia merece mención especial la pirita, que es sin duda el sulfuro metálico de mayor abundancia. La pirita presenta en su composición química hierro y azufre, los dos elementos químicos base para el crecimiento del *Thiobacillus ferrooxidans*, por tanto cabe esperar una oxidación apreciable de la pirita puesta en contacto con suspensiones celulares de *Thiobacillus ferrooxidans*.

Carranza (10) demostró que la oxidación de la pirita por suspensiones celulares de Thiobacillus ferrooxidans, tiene lugar según un mecanismo de ataque directo, es decir, las bacterias quedan adheridas a la superficie del mineral y llevan a cabo 'in situ' la oxidación del azufre y el hierro piríticos.

La ecuación química que describe el proceso es



Los minerales sulfurados de otros metales tales como plomo, zinc, cobalto y níquel también son susceptibles de ser atacados por el Thiobacillus ferrooxidans. Torma (75) demostró que el TF es capaz de oxidar a sulfuros de zinc, cobalto y níquel en ausencia de hierro. Tomizuka (76) comprobó la oxidación bacteriana del PbS y Silver y Torma (77) demostraron que el TF es capaz de oxidar también al sulfuro de antimonio.

#### 1.6. Cinética del Crecimiento Bacterial

Las bacterias se multiplican por división binaria, por tanto si  $N_0$  es el número de bacterias en un tiempo cero, el número de bacterias al cabo de  $n$  divisiones será

$$N = N_0 \times 2^n$$

tomando logaritmos

$$\text{Log } N = \text{Log } N_0 + n \text{Log } 2 \quad (5)$$

El número de divisiones por unidad de tiempo se denomina tasa de división y su inverso el tiempo de generación que, por tanto, será el tiempo que transcurre entre una división y la siguiente; este tiempo de generación es constante durante la fase logarítmica de crecimiento.

Llamando  $T_d$  a la tasa de división tendremos

$$T_d = \frac{n}{t}$$

donde  $n$  es el número de divisiones y  $t$  el tiempo en que se producen esas  $n$  divisiones.

$$\frac{1}{T_d} = g$$

siendo  $g$  el tiempo de generación.

De lo anterior se deduce que

$$g = \frac{t}{n} \quad ; \quad n = \frac{t}{g}$$

sustituyendo en (5) el valor de  $n$  :

$$\log N = \log N_0 + \frac{t}{g} \log 2$$

La representación de esta ecuación nos da la evolución del logaritmo del número de células de un cultivo en crecimiento con respecto al tiempo. Dicha representación se da en la figura 3 en la cual pueden apreciarse las distintas fases por las que pasa un cultivo en crecimiento.

En un cultivo en discontinuo el crecimiento bacterial es un proceso autocatalítico que sigue una cinética de orden 1.

$$\frac{dN}{dt} = \text{cte} \cdot N$$

siendo N la concentración bacterial en un determinado instante. La constante que aparece en la ecuación anterior se define (80) como la velocidad específica de crecimiento bacterial  $\mu$

$$\frac{dN}{dt} = \mu N$$

operando se tiene

$$\mu = \frac{1}{N} \frac{dN}{dt} = \frac{d \ln N}{dt}$$

por tanto  $\mu$  representa el valor de la pendiente de la curva representada en la figura 3 :  $\ln N \pm t$ . En base a ésta se pueden explicar las distintas fases por las que pasa un cultivo en discontinuo :

1. Fase de Latencia : Velocidad específica de crecimiento cero.
2. Fase de Crecimiento acelerado : La velocidad específica de crecimiento empieza a aumentar.
3. Fase Logarítmica : La velocidad específica de crecimiento es máxima y constante.

4. Fase de Crecimiento Retardado : La velocidad específica de crecimiento comienza a disminuir.
5. Fase Estacionaria : La velocidad específica de crecimiento se hace cero.
6. y 7. Fases de Muerte : La velocidad específica de crecimiento se hace negativa.

Las fases de latencia y logarítmica son, de todas ellas, las que mejor caracterizan la evolución de un cultivo.

La duración de la fase de latencia depende fundamentalmente de las condiciones de inoculación, en lo que respecta a la vejez del inóculo y a la composición del medio de cultivo. Es tanto mayor cuanto mas tiempo ha transcurrido desde que terminó la fase logarítmica del cultivo de donde procede el inóculo, ya que se ha demostrado (78) que durante la fase estacionaria disminuye el número de ribosomas y la célula ha de completarlo para poder alcanzar la velocidad máxima de crecimiento. Por otra parte un inóculo procedente de un cultivo en fase estacionaria o de muerte contiene un elevado número de células no viables, tanto mayor cuanto mas tiempo ha pasado desde que terminó la fase logarítmica; ello hace que aunque las células viables comenzasen a duplicarse inmediatamente, el número de células no se incrementaría significativamente hasta despues de varias divisiones.

Puede ocurrir también que el inóculo proceda de un medio de cultivo de distinta composición que la del medio fresco; en

estos casos el periodo de latencia indica el tiempo que invierte la bacteria en sintetizar los enzimas necesarios para metabolizar el nuevo sustrato energético (79).

La fase logarítmica es la que define el crecimiento propiamente dicho. Su duración depende de la concentración total de sustrato disponible y de la velocidad específica de crecimiento (80).

Monod (81) en 1950 propuso aplicar la expresión cinética deducida por Michaelis-Menten (82) para reacciones enzimáticas al crecimiento bacterial de un cultivo continuo.

La expresión general para reacciones enzimáticas propuesta por Michaelis-Menten (83) es



donde 'E' representa a la Enzima, 'S' al Sustrato, 'P' al Producto y 'ES' al complejo Enzima-Sustrato.

Esta expresión se basa en la hipótesis de que la reacción enzimática se lleva a cabo en un rango de concentraciones de sustrato en el que la cantidad de enzima disponible es limitante de la velocidad de reacción. Según la expresión anterior la enzima forma con el sustrato un complejo intermedio 'ES' a partir del cual se forma el producto 'P' y se libera la enzima. La variación de la velocidad de reacción con la concentración de sustrato se representa en la figura 4.

La curva, una hipérbola rectangular, tiene por ecuación  
(82)

$$V = k E_t \frac{S}{K_m + S} = V_{max} \frac{S}{K_m + S}$$

donde V es la velocidad de reacción,  $V_{max}$  la velocidad máxima que puede alcanzarse por aumento de la concentración de sustrato,  $K_m$  la constante de Michaelis, que representa la concentración de sustrato a la que la velocidad de reacción es la mitad de la máxima, 'S' es la concentración de sustrato y 'E<sub>t</sub>' es la concentración total de enzima.

La propuesta de Monod de la aplicación de la expresión de Michaelis-Menten al crecimiento bacterial de un cultivo continuo fue hecha en base a dos suposiciones :

a). Los microorganismos crecen de forma exponencial con una velocidad específica de crecimiento máxima ( $\mu_{max}$ ) hasta que la velocidad de división celular se ve limitada por una condición ambiental.

b). La velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) de un cultivo de microorganismos es proporcional a la concentración de sustrato (S) en régimen estacionario mientras ésta sea limitante. Cuando la concentración de sustrato deja de ser limitante la velocidad específica de crecimiento deja de ser proporcional a S y tiende a un valor límite  $\mu_{max}$ .

La aplicación de la ecuación de Michaelis-Menten a cultivos en discontinuo no es inmediata ya que la velocidad de reacción crece de forma exponencial a lo largo del proceso y



no es posible asignar un valor a la misma para cada concentración inicial de sustrato, y además durante la fase de crecimiento cambia la cantidad total de enzima, lo cual está en contra de la hipótesis sobre la que se basa la ecuación de Michaelis-Menten.

No obstante, se ha podido demostrar (145) que es posible aplicar a los cultivos en discontinuo una ecuación de Michaelis-Menten modificada en los términos de velocidad de reacción :

$$\mu = \mu_{max} \frac{K}{K + S}$$

en la que aparecen las velocidades específicas de crecimiento en lugar de las velocidades de reacción. Dicha ecuación es consistente con los datos experimentales aportados (145). La aplicación de esta ecuación modificada está justificada ya que puede demostrarse que la velocidad específica de crecimiento es independiente de la concentración de enzima.

En efecto, durante la fase logaritmica de oxidación se cumple que

$$V = \mu (P)$$

donde (P) es la concentración de producto. Tambien se cumple que

$$(X) = Y (P)$$

donde (X) es la concentración bacterial.

Si se supone constante el contenido enzimático medio en cada bacteria, al que denominaremos 'Z', se tiene que la cantidad total de enzima 'E<sub>t</sub>' es

$$E_t = Z(X) = Z(Y + P)$$

por tanto existe también una relación lineal entre la concentración de producto 'P' y la concentración total de enzima

$$(P) = k' E_t$$

sustituyendo se tiene que

$$V = \mu(P) = \mu k' E_t$$

e igualando con la ecuación de Michaelis-Menten

$$\mu k' E_t = k E_t \frac{S}{k + S}$$

se deduce que

$$\mu = \frac{(k/k') S}{k + S}$$

es decir, la velocidad específica de crecimiento es independiente de la concentración total de enzima.

## 1.7. VARIABLES QUE AFECTAN A LA OXIDACIÓN BACTERIAL DE SULFUROS METÁLICOS

### 1.7.1. CONDICIONES MEDIOAMBIENTALES

La lixiviación bacteriana de compuestos de azufre reducido, azufre elemental y hierro puede ser considerada como un proceso de transferencia de energía en el cual la energía tomada del entorno en forma de electrones es devuelta al mismo a un potencial menor. Los sistemas en los que se da la oxidación bacteriana son tales que esta transferencia de energía, al menos para sustratos inorgánicos, debe ser en forma de electrones e iones  $H^+$ . En un entorno inorgánico la disponibilidad y nivel de energía de electrones e iones  $H^+$  se describen en términos de potencial (Eh) y de pH, respectivamente. Los diagramas construidos usando Eh y pH como variables son diagramas de fase de energía libre de las especies químicas de las que se trate, por tanto esos diagramas darán una imagen gráfica de la energía libre disponible por las bacterias e indican dónde es más probable una transferencia de energía efectiva.

Baas-Becking y colaboradores (84) investigaron la relación entre las condiciones ambientales, en términos de Eh y pH, y la microflora existente en esas condiciones. En la figura 5 se da un diagrama de Eh + pH en el que se marcan los límites ambientales para el *Thiobacillus ferrooxidans* (85). En dicho diagrama puede observarse como los límites entre los

cuales es posible la existencia del Thiobacillus ferrooxidans son

$$50 \text{ mv} < \text{Eh} < 850 \text{ mv}$$

$$2.0 < \text{pH} < 9.5$$

No obstante se ha comprobado (86) que el crecimiento del Thiobacillus ferrooxidans es posible fuera de esos límites.

Moss y Andersen (87) indicaron que existe otro parámetro que define con mas precisión el efecto del medio ambiente sobre la actividad bacteriana, éste es el  $r\text{H}_2$ , definido como

$$r\text{H}_2 = - \log [\text{H}_2]$$

donde  $[\text{H}_2]$  es la concentración de hidrógeno molecular. A esta hipotética concentración de hidrógeno molecular se llega teniendo en cuenta el hecho de que Eh se mide en relación al electrodo de hidrógeno, donde la reacción que ocurre es



cuya constante de equilibrio es

$$K = \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{H}_2]}$$

aplicando la ecuación de Nerst a 25° C se tiene

$$\text{Eh} = \frac{0.059}{n} \log K \quad (6)$$

sustituyendo

$$Eh = \frac{0.059}{2} \log \frac{[H^+]^2}{[H_2]}$$

operando se tiene

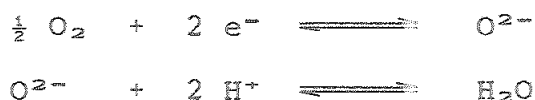
$$Eh = \frac{0.059}{2} [rH_2 - 2 \text{ pH}] \quad (7)$$

igualando (6) y (7)

$$rH_2 = \frac{2E_0}{0.059} + \frac{2 \log K}{n} + 2 \text{ pH} \quad (8)$$

expresión que da el parámetro  $rH_2$  en términos de Eh y pH.

Los valores de  $rH_2$  en soluciones acuosas están en el rango 0 a 41.7, correspondiendo directamente a un rango de energía libre de 56.69 a 0 kcal/mol y, debido a que esto está directamente relacionado con las reacciones terminales del sistema respiratorio bacterial :



el  $rH_2$  da una medida directa de la energía disponible por el microorganismo del medio ambiente.

Las interacciones de los aniones con los cationes en el medio de lixiviación puede modificar la eficacia del proceso de lixiviación. Dicha interacción queda regulada por el pH y

el potencial. Un ejemplo de esto lo constituyen los fosfatos cuya presencia es indispensable en el medio de cultivo. A pH 2 y potencial sobre 500 mv predomina el  $\text{Fe}^{2+}$ , y en exceso de fosfato precipita fosfato ferroso. El valor del producto de solubilidad de esta sal determina que la concentración de fosfato disuelto en el medio de lixiviación se mantenga en un valor de 100 ppm aproximadamente, concentración que es aún es mayor que la concentración de fosfatos en los medios de cultivo, que suelen tener del orden de 30-40 ppm. Sin embargo, si el pH es superior a 2.5 y el potencial mayor de 770 mv precipita fosfato férrico hasta que la concentración de fosfato es del orden de 1 ppm. Todo esto indica que es necesario mantener el pH y el potencial bajos para que el fosfato permanezca soluble y pueda ser utilizado como nutriente por las bacterias (87).

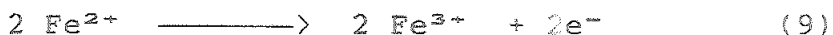
De las ecuaciones (6) y (8) se deduce que tanto el potencial como el  $r\text{H}_2$  pueden ser tamponados en forma análoga al pH sin mas que fijar una relación adecuada entre las formas reducida y oxidada en el sistema. Para un medio que contenga  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , el efecto de tamponación es máximo cuando la relación  $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$  está cercana a la unidad. En estas condiciones la adición de agentes oxidantes adicionales, tales como el aire, tendrá un efecto poco significativo sobre el potencial del sistema (87).

### 1.7.2. Influencia del pH

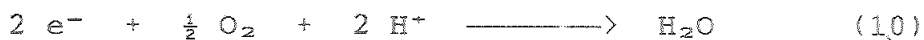
El *Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria obligadamente acidófila. La acidofilia plantea un problema para la bacteria : la necesidad de mantener el pH interno de la célula cercano a la neutralidad; se ha comprobado (88,89,90) la neutralidad interna por medición directa en condiciones de pH de 1 a 8 del medio externo; igualmente se ha comprobado (33,67) que dicha neutralidad es necesaria para la estabilidad de enzimas en la bacteria.

Según Apel y Dugan (91) la naturaleza obligadamente acidófila del *Thiobacillus ferrooxidans* es debida a que en el proceso de oxidación de  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  el electrón liberado pasa al interior de la célula tomándolo el citocromo C y para mantener la neutralidad eléctrica la bacteria toma un  $H^+$  del medio, éste  $H^+$  será usado inmediatamente en otros procesos, como por ejemplo formación de agua (ecuación 1); en este contexto parece que el  $H^+$  es un elemento esencial para la bacteria.

En un medio ácido el *Thiobacillus ferrooxidans* oxida el  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  :



los dos electrones son transportados hasta el oxígeno, via citocromos, que es el aceptor terminal de la cadena respiratoria, siendo la reacción terminal



por tanto, la reacción global consumiría  $Fe^{2+}$ ,  $O_2$  y  $H^{+}$ , produciendo  $Fe^{3+}$  y  $H_2O$  y energía para fijar el  $CO_2$  y para el crecimiento celular.

El potencial del par  $H_2O / O_2$  es dependiente del pH, por lo tanto, si el potencial del par  $Fe^{3+} / Fe^{2+}$  no lo es, un mínimo del pH proporcionará un máximo de la energía libre disponible.

Otro hecho a tener en cuenta es la insolubilidad del  $Fe^{3+}$  cuando aumenta el pH. El potencial del par  $Fe^{3+} / Fe^{2+}$  es menor cuanto mayor es el pH, por tanto, la energía libre es mayor cuanto mayor es el pH.

Así pues, tenemos dos efectos contrapuestos : la dependencia del pH de las dos reacciones (9 y 10) en sentido opuesto. Sin embargo, hay que señalar que la reacción 9 es mas sensible a los cambios de pH que la reacción 10 (180 mv por unidad de pH en la reacción 9 frente a los 60 mv por unidad de pH en la reacción 10).

A la vista de esto no es explicable que el *Thiobacillus ferrooxidans* sea acidófilo ya que se obtendría mas energía de la oxidación de sustratos a pH alto que a pH bajo. Se ha dado (92) como posible justificación el aumento de la autooxidación de  $Fe^{2+}$  a pH alto lo que puede dar lugar a intermedios de oxígeno tóxicos, tales como  $O_2^{-}$  y/o  $O_2^{2-}$ . Se ha comprobado que



en medio sulfato y a pH 2.0 la velocidad de autooxidación de  $\text{Fe}^{2+}$  es baja pero aumenta mucho si el pH aumenta (93).

El pH ha sido una de las variables mas estudiadas de todas las que influyen en el proceso de oxidación bacterial de sulfuros minerales. El valor de pH óptimo para la lixiviación de calcopirita varía según los autores de los trabajos pero en cualquier caso está situado en el rango de 2 - 3 (40,48,94). Para los sulfuros de zinc (26),  $\text{Cu}^+$  (95,96) y  $\text{Cu}^{2+}$  (96) los valores de pH óptimos también estan incluidos en el rango anteriormente citado.

### 1.7.3. Efecto de la Temperatura

La temperatura es un factor importante en la oxidación bacterial de minerales sulfurados. La presencia de microorganismos en el sistema limita el rango de temperaturas en el cual es posible la oxidación bacterial; dicho rango es aquel en el que sea posible la actividad biológica del *Thiobacillus ferrooxidans*. Hay dos factores que compiten que han de ser tenidos en cuenta; por un lado el aumento usual de la velocidad de reacción al aumentar la temperatura (activación) y por otro, el aumento de la muerte térmica de los microorganismos (inactivación) debido a la desnaturalización de las proteínas (97,98). Esta desnaturalización conduce a una pérdida de la actividad biológica; cuando la temperatura aumenta, la desnaturalización llega a ser mucho

mas rápida que la oxidación del sulfuro llegándose hasta la muerte térmica de los microorganismos. La temperatura óptima para la actividad biológica del Thiobacillus ferrooxidans se encuentra en el rango de 25-45°C (15). Para la oxidación bacterial de sulfuros metálicos se ha encontrado un valor óptimo de 35°C por parte de muchos investigadores (14,26,48, 95,99). La actividad biológica cesa sobre los 55°C y a mayores temperaturas no hay actividad del Thiobacillus ferrooxidans, sólo hay oxidación química (14). No se ha determinado la temperatura mínima para el crecimiento del Thiobacillus ferrooxidans pero se acepta generalmente que la actividad biológica cesa en el punto de congelación del medio de cultivo (100).

Se puede realizar un tratamiento cuantitativo del efecto de la temperatura sobre la velocidad de lixiviación de sulfuros metálicos a través del coeficiente de temperatura (101)  $Q_{10}$  que viene dado por la expresión

$$Q_{10} = \left[ \frac{V_2}{V_1} \right]^{\frac{10}{T_2 - T_1}}$$

donde  $V_1$  y  $V_2$  son las velocidades de reacción a las temperaturas  $T_1$  y  $T_2$  respectivamente.  $Q_{10}$  es el coeficiente de

temperatura para un diferencia de 10° C entre T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>. Se ha determinado (40) el Q<sub>10</sub> para la oxidación bacterial de calcopirita para las temperaturas 25 °C y 35 °C siendo su valor de 2.5.

Las energías de activación E<sub>a</sub> e inactivación E<sub>a<sub>i</sub></sub> pueden calcularse (40) haciendo uso de la ecuación de Arrhenius :

$$v = k \cdot e^{-[E_a/RT]}$$

donde 'v' es la velocidad de reacción; 'k' el factor de frecuencia; 'T' temperatura absoluta; 'R' constante de los gases y 'E<sub>a</sub>' energía de activación. De esta ecuación se deriva esta otra

$$E_a = \frac{T_1 T_2 R}{T_2 - T_1} \ln \left[ \frac{V_2}{V_1} \right]$$

donde V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> tienen el mismo significado explicado anteriormente.

El valor de la energía de activación para la calcopirita depende de numerosos factores (146), algunos de ellos difíciles de fijar. No obstante se ha informado de un valor de 75 kJ/mol para la lixiviación de calcopirita en medio sulfato férrico en el rango de temperaturas de 32-50°C (119).

En los procesos de lixiviación microbiológica de calcopirita la energía de activación es 16.7 Kcal/mol entre

las temperaturas de 25°C y 35°C (40). El valor de la energía de inactivación en el rango de 40-45°C es 56.2 Kcal/mol (40).

#### 1.7.4. Efectos de la Agitación y el Tamaño de Partícula

Para la actividad biológica del *Thiobacillus ferrooxidans* es necesaria la presencia de oxígeno y CO<sub>2</sub>, entre otros nutrientes. La velocidad de consumo de oxígeno depende de la actividad biológica, y ésta depende del sustrato, siendo muy alta durante la oxidación de Fe<sup>2+</sup> (47).

En un cultivo estático la disolución de oxígeno en el medio de cultivo únicamente puede darse por difusión a través de la interfase líquido-aire, siendo aquella muy lenta en esas condiciones.

Lo anterior puede aplicarse al CO<sub>2</sub>, que es la única fuente de carbono utilizable por la bacteria. Por tanto, es esperable que si se usa un método para favorecer la solubilidad del oxígeno y el dióxido de carbono en el medio líquido, aumente la velocidad de oxidación bacterial del sustrato.

Los métodos usados normalmente han sido agitación mecánica y aireación por burbujeo de aire a través del medio líquido. Silverman y Lundgren (13) encontraron que la concentración de bacterias *Thiobacillus ferrooxidans* se duplica durante la oxidación bacterial de Fe<sup>2+</sup> cuando se utiliza agitación frente a cultivo estático.

De igual manera se ha informado (102) que durante la lixiviación de calcopirita con *Thiobacillus ferrooxidans* los resultados obtenidos en estático han sido mucho peores que los obtenidos en pruebas con agitación. También se ha informado (24) de una concentración óptima de  $\text{CO}_2$  de un 2% en la fase gaseosa.

Otro factor a tener en cuenta en los cultivos sobre sustratos sólidos donde se emplea agitación mecánica es el efecto abrasivo entre las partículas de sólido, con el resultado de destrucción por rotura de material celular; este efecto puede conducir a una pérdida de eficiencia del proceso.

La rotura de células tiene una consecuencia inmediata cual es la liberación en el medio de lixiviación de moléculas orgánicas, las cuales pueden ejercer un efecto tensioactivo sobre las interfases del sistema, y al mismo tiempo pueden ejercer un cierto efecto de toxicidad sobre el resto de células intactas.

En cuanto al tamaño de partícula, o lo que es lo mismo, la superficie del mineral expuesta a la acción bacterial, la química de superficie durante la oxidación bacterial es poco conocida. En suspensiones acuosas de partículas sólidas de sulfuros, los elementos que han de ser oxidados provienen de la superficie del mineral. La concentración iónica de esos elementos es controlada por fenómenos tales como reacciones de precipitación, reacciones de hidrólisis, presencia de

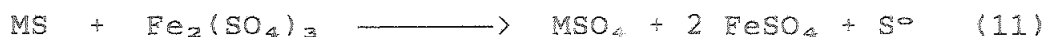
electrolitos inertes, tensión superficial, tamaño de partícula y potencial redox. Uno de los puntos importantes para la oxidación de sulfuros metálicos es la disponibilidad del sustrato, por ello lo ideal es que el sustrato sea soluble, como por ejemplo el sulfato ferroso. Para sustratos insolubles, un requerimiento importante será una adecuada exposición del mismo. En el caso de los sustratos sólidos, los microorganismos no pueden atacar el interior de las partículas hasta que se disuelven las capas de mineral mas externas. Por lo tanto, la concentración de sustrato viene determinada por el tamaño de partícula, superficie específica y superficie total expuesta. Disminuir el tamaño de partícula significa incrementar la superficie específica y la superficie total por unidad de volumen del medio líquido de lixiviación sin incrementar la masa de sólido. No obstante ésto no es siempre aplicable, como es el caso de los minerales de baja ley (73); en estos casos, una disminución del tamaño de partícula no sólo produce mas sulfuro expuesto, sino tambien una mayor superficie de ganga que lo acompaña. En la práctica, el tamaño de partícula óptimo ha de ser determinado para cada mineral que ha de ser lixiviado. Este tamaño estará determinado por economía, esto es, los beneficios que se obtengan por incremento de la velocidad de extracción metálica al disminuir el tamaño de partícula han de ser mayores que el aumento de los costes de molienda del mineral.

Numerosos estudios han señalado que una disminución del

tamaño de partícula, y por tanto, un aumento de la superficie expuesta del mineral, conduce a un aumento de la velocidad de oxidación bacteriana del sustrato sólido. Silverman y col. (103) observaron un aumento de la velocidad de oxidación de pirita disminuyendo el tamaño de partícula desde 200  $\mu\text{m}$  a 42  $\mu\text{m}$ . Sobre concentrados de calcopirita, se ha comprobado (28,48,106) que el cobre es más rápidamente extraído cuanto menor es el tamaño de partícula, siendo 42  $\mu\text{m}$  el tamaño medio de partícula con el que se obtuvieron los mejores resultados (102,104). Ha sido discutida la importancia del tamaño de partícula en la lixiviación bacteriana de calcopirita (87,105) y estudiado su efecto cuando se usan fracciones de tamaño cada vez más pequeño.

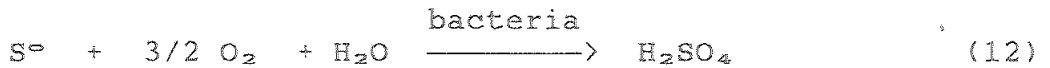
#### 1.7.5. Efecto del ión férrico

La oxidación bacteriana de sulfuros metálicos minerales se acelera en presencia de ión férrico, que es un agente oxidante. El  $\text{Fe}^{3+}$  oxida a los sulfuros metálicos según la ecuación :



donde M es un metal divalente.

Posteriormente el azufre elemental y el sulfato ferroso son oxidados a sulfúrico y sulfato férrico según las ecuaciones



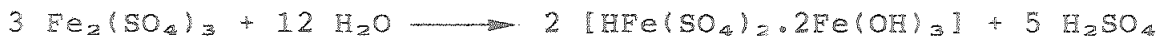
regenerandose el  $Fe^{3+}$  para comenzar el ciclo redox.

Se ha podido determinar (95,107) que el Thiobacillus ferrooxidans puede oxidar sulfuros sintéticos de níquel, cobalto y cobre. En presencia de concentraciones de  $Fe^{3+}$  de  $10^{-4}$  -  $10^{-2}$  M la velocidad de extracción metálica se duplica. Asimismo, se ha indicado que una concentración mayor de  $Fe^{3+}$  no es efectiva en esos procesos.

El potencial redox del par  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  es

$$Eh = 0.771 + 0.059 \log \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]}$$

según esta ecuación una ppm de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  tiene un potencial de oxidación mayor de 0.40 mv y por tanto podría oxidar a la mayoría de los sulfuros. En los sistemas de oxidación bacterial el consumo de ácido en la oxidación de  $Fe^{2+}$  lleva a un aumento del pH; en estas condiciones el  $Fe^{3+}$  producido tiende a hidrolizarse y precipitar como jarosita



La jarosita precipitada cubre parcialmente la superficie del sulfuro, dificultando un posterior ataque ya sea químico o



bacterial sobre la superficie del mineral.

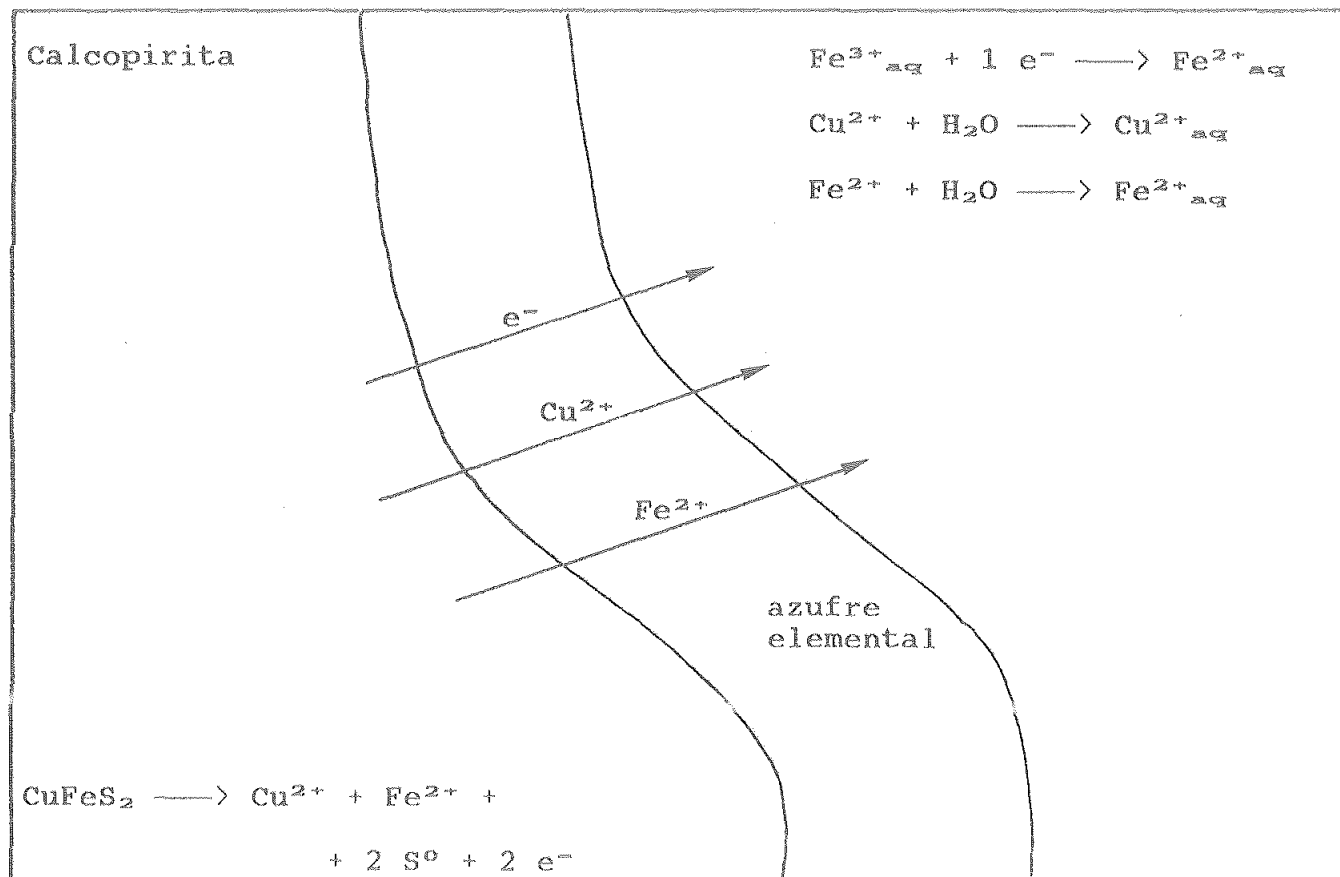


Fig. 1 Transporte electrónico e iónico a través de la capa de azufre elemental

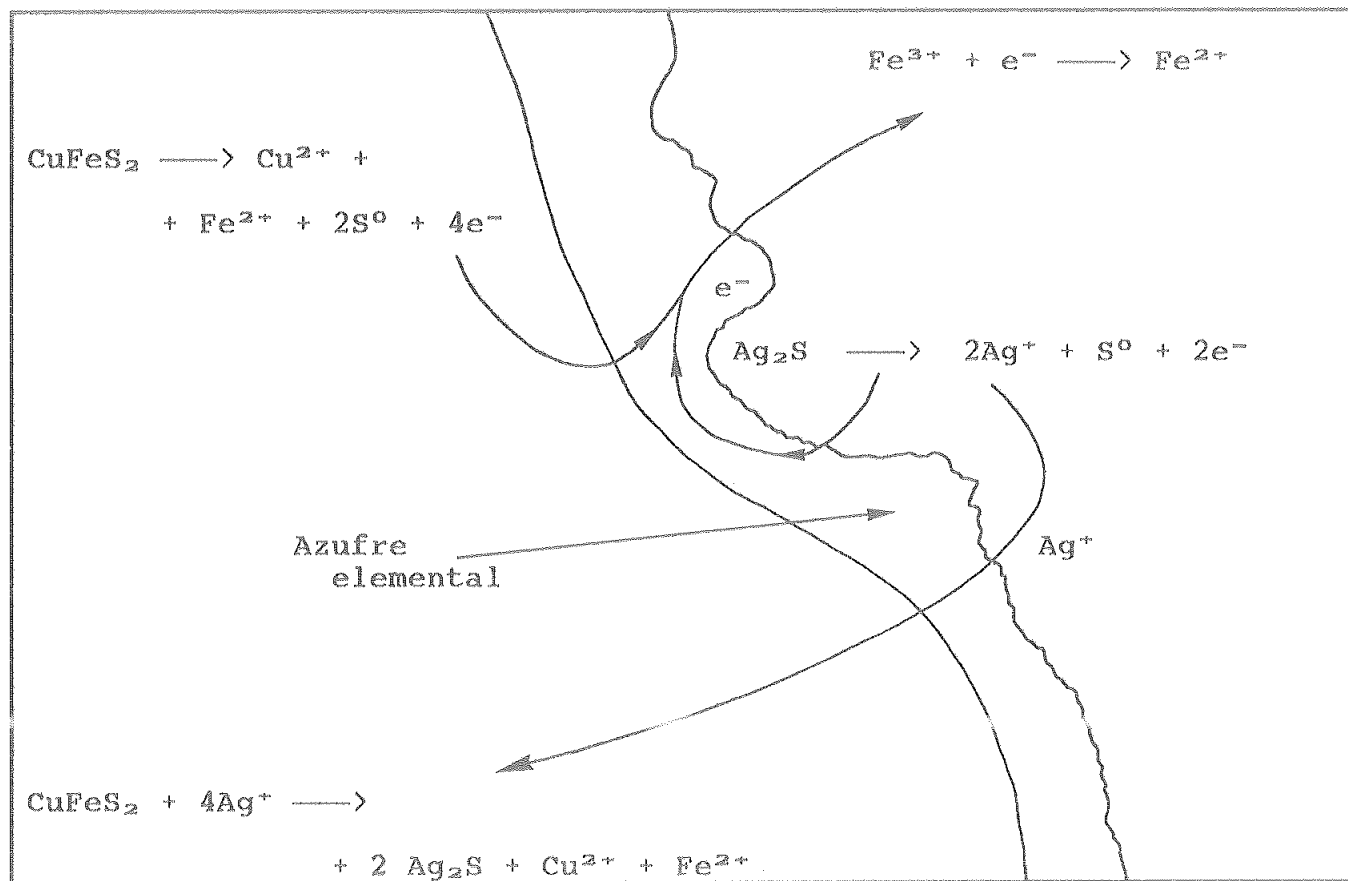


Fig. 2 Transporte electrónico a través de la capa de azufre elemental.

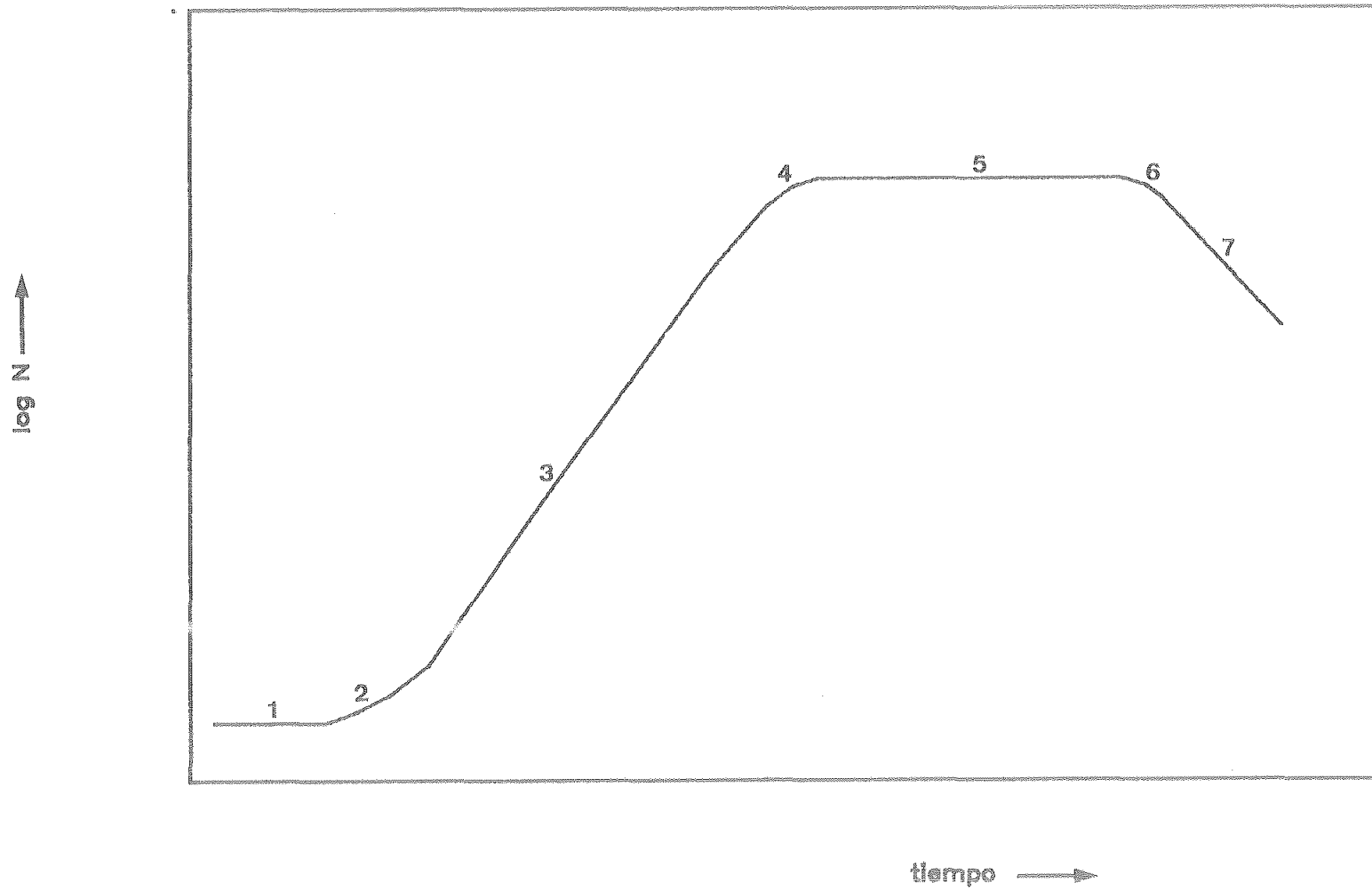


Fig. 3 Evolución del número de bacterias en un cultivo en crecimiento

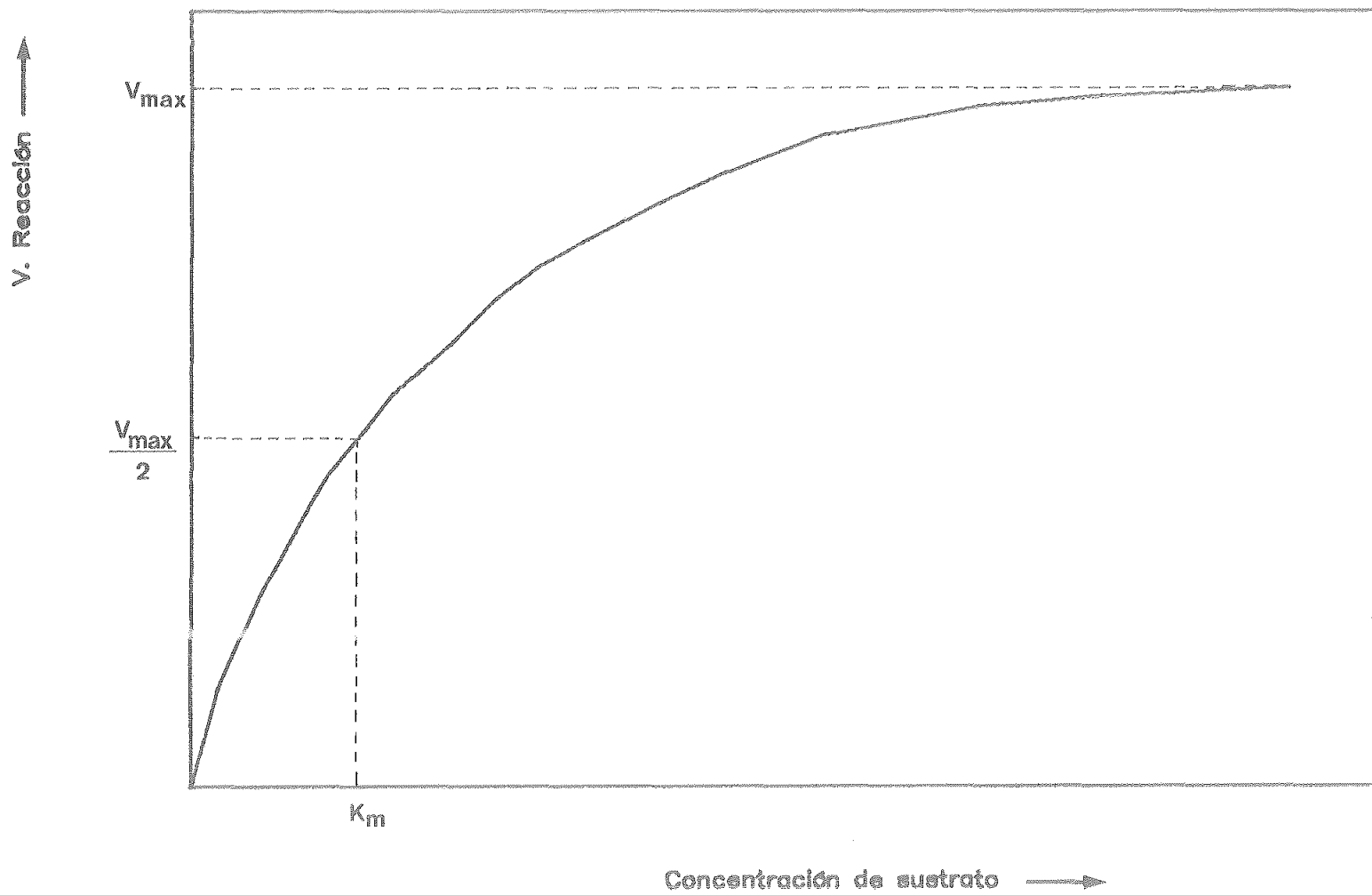


Fig. 4 Evolución de la velocidad de reacción en una reacción enzimática

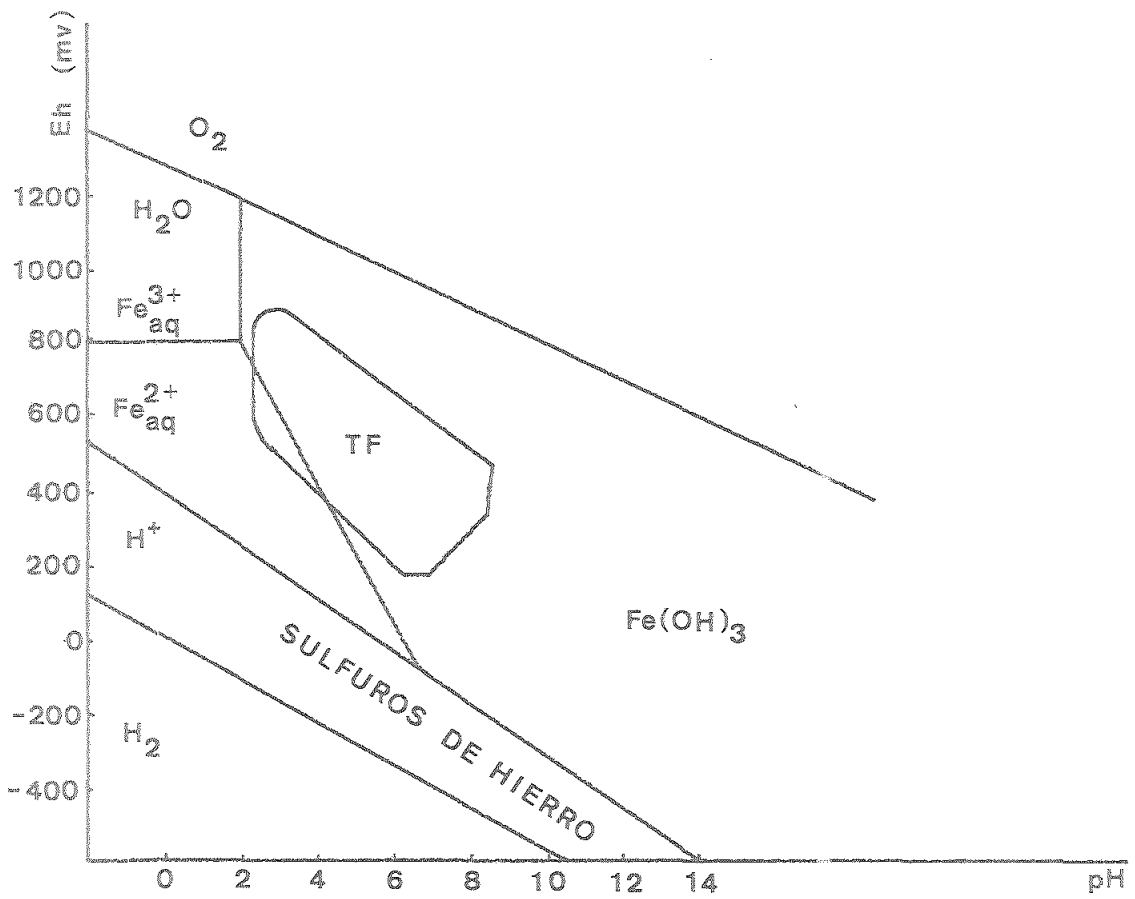


Fig. 5 Límites ambientales para el Thiobacillus Ferrooxidans (TF).

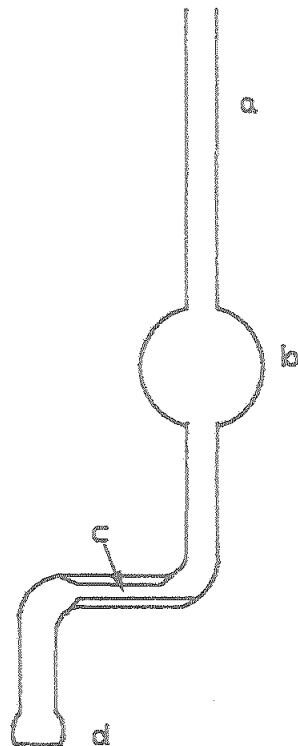


Fig. 7 Estalagmómetro.  
 (a) cuello, (b) bulbo, (c) capilar  
 (d) superficie pulida

## 2. PLAN DE TRABAJO

## 2. PLAN DE TRABAJO

Como se ha indicado en los antecedentes bibliográficos, la calcopirita es uno de los sulfuros metálicos mas difíciles de disolver, llegándose en el mejor de los casos a solubilizarse apenas en un 30% en una sola etapa. Debido a la importancia socioeconómica de los yacimientos de sulfuros metálicos en el SE de la Península Ibérica se pensó en estudiar a fondo este tema, fijandose el siguiente plan de trabajo experimental.

1. Estudio de la lixiviabilidad bacterial de calcopirita en las condiciones fisico-químicas naturales, efectuándose pruebas a altas concentraciones de cobre y con células no adaptadas.
2. Estudio de la lixiviabilidad bacterial de calcopirita en las condiciones señaladas en la patente canadiense de B.C. Research y estudio del mecanismo de disolución mediante el uso del ión  $Ag^+$  como catalizador.
3. Determinación de los factores que afectan a la lixiviación bacterial de calcopirita en presencia de  $Ag^+$  como catalizador. Se efectuan diversas pruebas en las que se varian los niveles de las distintas variables involucradas en procesos de lixiviación microbiológica de minerales sulfurados : densidad de pulpa, pH de trabajo, presencia de catalizadores (y



concentración en su caso).

4. Determinación de las condiciones óptimas de trabajo para la lixiviación bacteriana de calcopirita en presencia de  $\text{Ag}^+$  como catalizador. Se utiliza el método de diseño factorial para la optimización de las variables que afectan significativamente al proceso de lixiviación bacteriana de calcopirita.
5. Determinación del mecanismo catalítico del ión  $\text{Ag}^+$  en el proceso de disolución de la calcopirita. Se emplean técnicas analíticas de difracción de Rayos X, espectroscopía Auger y microscopía electrónica.

### 3. MATERIALES Y METODOS

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Descripción del Equipo Empleado

Para las pruebas de lixiviación microbiológica se ha usado una planta experimental cuyo esquema se representa en la figura 6. La agitación de los reactores se consiguió mediante agitación mecánica con un motor eléctrico de 0.5 CV que proporciona 1400 rpm al cual se le acopló una reductora con salida a 200 rpm. El motor mueve una batería de paletas de teflón de 15 cm<sup>2</sup> de superficie inclinadas 60° sobre la horizontal.

Se usaron reactores de vidrio de un litro de capacidad cerrados con tapas también de vidrio, provistas de tres bocas y entrada de varilla agitadora.

#### 3.2. Preparación del mineral

El mineral utilizado para las experiencias fue una calcopirita, cuya composición media se da en la Tabla III.

El mineral inicialmente se redujo de tamaño con ayuda de un mortero y posteriormente se molió con un molino marca Royal Triumph provisto de rejilla que permite el paso a partículas con un diámetro  $\leq 1$  mm.

El mineral molido se tamizó con ayuda de un vibrotamizador, haciéndosele pasar a través de los tamices

números 325 y 400 ASTM, escogiéndose la fracción de mineral que pasa por el de 325 mallas y es rechazada por el de 400 mallas, lo que proporciona un tamaño medio de partícula de mineral de 40.5  $\mu\text{m}$ . Posteriormente el mineral se desecó en estufa de vacío a 35 $^{\circ}$  C y 10 mm de Hg de presión.

### 3.3. Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo empleado para la pruebas de lixiviación microbiológica de sulfuros ha sido el medio modificado 9k de Silverman y Lundgren (13), cuya composición se da en la Tabla I, del que se ha eliminado el sulfato de hierro (II) salvo indicación contraria.

Los reactivos empleados fueron en todos los casos de la firma Merck y calidad RPA.

### 3.4. Preparación de Inóculos

La cepa de *Thiobacillus ferrooxidans* usada en el presente trabajo se obtuvo de cultivos mantenidos en crecimiento por resiembras sucesivas durante varios años (10). Con el fin de usar para la experimentación cepas bien adaptadas a las condiciones de lixiviación, se prepararon cultivos a pH 1.25, 1.50 y 1.75 y se efectuaron sucesivas resiembras en esas condiciones. Las resiembras se efectuaron al final de la etapa logarítmica de crecimiento, momento en el cual existe un mayor número de células viables, siguiéndose el control de

crecimiento de las resiembras por valoración del  $Fe^{2+}$  presente en el medio.

Los inóculos fueron autenticados como bacterias *Thiobacillus ferrooxidans* mediante todas o algunas de las siguientes pruebas :

- Crecimiento sobre medio 9k completo líquido en 3-4 días.

- Crecimiento sobre placas de agar-tiosulfato.

Identificación por la forma y tamaño de las colonias.

- Tamaño, forma y motilidad observada con microscopio óptico a 400 aumentos.

- Tinción de Gram: bacilo gram-negativo. Se colorea de rojo con safranina previa decoloración del violeta cristal con alcohol etílico.

Para las distintas pruebas se usaron inóculos provenientes directamente de cultivos de *Thiobacillus ferrooxidans* sobre medio 9k completo o bien pellets de células limpias. Un pellet de células limpias no es mas que una suspensión de células con una alta concentración celular, de la que se han eliminado totalmente las partículas de precipitado férrico que se encuentran en los cultivos sobre medio 9k completo. El procedimiento para su eliminación y la consecución de una alta concentración celular, consiste en agitar vigorosamente el recipiente que contiene el cultivo durante al menos una hora con objeto de desprender el máximo número de bacterias de las paredes del recipiente y de las

partículas de precipitado. Después se deja reposar, para decantar sólidos, a una temperatura de 6-8°C para no favorecer la movilidad de la bacteria. Posteriormente se separa la fase líquida y se centrifuga a 20.000 rpm.

### 3.5. ANALISIS Y CONTROL

#### 3.5.1. Análisis de Hierro y Cobre

Durante las pruebas de lixiviación de calcopirita en presencia de *Thiobacillus ferrooxidans* se produce hierro y cobre que pasan al medio líquido en forma de iones  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ , utilizándose la concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  como método para seguir la evolución de la lixiviación de la calcopirita.

El procedimiento seguido para la determinación de las concentraciones fue el siguiente :

Toma de Muestra: Se tomaron en todos los casos 5 ml de pulpa en agitación. La muestra así obtenida se transfirió a un vaso de precipitado de 100 ml.

Disolución de  $\text{Fe}^{3+}$ : Para obtener todo el hierro en forma soluble se trataron las muestras durante 30 minutos con 5 ml de HCl 9N en frío con objeto de disolver el  $\text{Fe}^{3+}$  precipitado.

#### Obtención de la disolución problema

Después del tratamiento con HCl 9N, la muestra se filtró sobre papel de filtro normal llevándola a

100 ml con HCl 1N.

Las determinaciones de las concentraciones de cobre y de hierro se llevaron a cabo por medición de la muestra problema con un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 2380. De esta forma se conocen las concentraciones de cobre, todo como  $\text{Cu}^{2+}$ , y de hierro total, suma de  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Las condiciones experimentales para la determinación de hierro y cobre por espectrofotometría de absorción atómica se dan en la tabla II.

Las concentraciones de  $\text{Fe}^{2+}$  se obtuvieron por valoración de 1 ml de la muestra problema con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  0.05 N con ayuda de una autobureta ABU 80 de la firma Radiometer Copenhagen. Las concentraciones de  $\text{Fe}^{3+}$  se obtuvieron por diferencia entre las concentraciones de hierro total y de hierro (II).

### 3.5.2. Controles de pH y Temperatura

El control de pH se hizo con un pH-metro Crison modelo microPH 2001. Para llevar a cabo las pruebas de lixiviación a la temperatura deseada (35° C), los reactores se introdujeron en baños de agua provistos de termostato y bomba de circulación.

### 3.6. Determinación de Tensiones Superficiales

La determinación de tensiones superficiales se hizo por el método del peso de la gota (108-110). El instrumento utilizado para formar las gotas es un estalagmómetro (fig 7). El estalagmómetro consta de un cuello a, bulbo b, capilar c y termina en una superficie perfectamente pulida d donde se forman las gotas. Con objeto de regular la velocidad de caída de las gotas, se coloca sobre el cuello del estalagmómetro un tubo de poliestireno que comunica el interior del estalagmómetro con el exterior, utilizando como válvula de comunicación una pinza de Hoffmann.

El procedimiento se basa en calcular el peso de una gota del líquido problema. El peso de una gota ideal que se deja caer desde un capilar viene dado por la Ley de Tate (111) :

$$w = 2 \pi r \sigma$$

donde  $w$  : peso de una gota  
 $r$  : radio del capilar  
 $\sigma$  : tensión superficial del líquido.

En la práctica esta ecuación requiere una modificación para incluir un término que describa la forma de la gota. Harkins y Brown (112) concluyeron que el peso actual de una gota  $w'$  puede venir representado por

$$w' = 2 \pi r \sigma f$$



donde  $f$  es un factor de forma que es función del volumen de la gota  $v$ .  $f$  es una función  $\theta$  del radio y volumen de la gota :

$$f = \theta \left[ \frac{r}{v^{1/3}} \right]$$

Los valores de tensión superficial se obtuvieron por comparación con el valor de la tensión superficial del agua bidestilada en las mismas condiciones ambientales. Señalando con subíndice  $a$  las magnitudes referidas al agua y con  $L$  las referidas al líquido problema se tiene

$$W_a = 2 \pi r \sigma_a f$$

$$W_L = 2 \pi r \sigma_L f$$

dividiendo estas dos ecuaciones se tiene

$$\frac{W_a}{W_L} = \frac{\sigma_a}{\sigma_L} \quad ; \quad \sigma_L = \sigma_a \frac{W_L}{W_a}$$

expresión que ha sido utilizada para calcular la tensión superficial del líquido problema.

El valor de la tensión superficial del agua bidestilada a la temperatura de trabajo es  $71.18 \text{ mN m}^{-1}$  (113).

En los valores de tensión superficial obtenidos por el método del peso de la gota influye decisivamente el tiempo de

formación de la gota (114) cuando la velocidad de formación de la gota es grande, entendiéndose por tiempo de formación de la gota el que transcurre desde que se desprende una gota del capilar hasta que se desprende la siguiente. Experimentalmente se comprueba que cuanto menor es el tiempo de formación mayor es el valor de la tensión superficial resultante, este valor va disminuyendo al aumentar el tiempo de formación hasta que llega un momento en el que el peso de la gota permanece constante si se aumenta el tiempo de formación (114).

El peso de una gota se obtuvo por media aritmética del peso de cinco gotas dejadas caer desde el estalagmómetro. Las gotas se dejaron caer a un tiempo de formación de gota comprendido entre 140 segundos y 150 segundos.

### 3.7 Análisis de Residuos por XPS, AES y SEM

La determinación del mecanismo catalítico del proceso de disolución de la calcopirita en presencia de  $Ag^+$ , implica la determinación del estado de oxidación del elemento plata durante el proceso catalítico, siendo las técnicas de análisis de superficie las más indicadas, ya que proporcionan gran cantidad de información del conjunto de elementos químicos presentes en la muestra.

De entre las diferentes técnicas existentes se hizo uso del XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) también conocida como ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis); esta

técnica ha demostrado ser muy útil en el estudio de superficie de sólidos policristalinos.

Básicamente consiste en hacer incidir un haz monocromático de rayos X sobre el sólido a analizar, lo cual provoca la extracción de electrones con una amplia distribución de energías cinéticas. La detección de electrones con energías discretas se pone de manifiesto por la aparición de picos superpuestos sobre el fondo continuo de los espectros de XPS. Los picos obtenidos pueden asociarse a los elementos químicos presentes en la muestra y se refieren al átomo y nivel energético del que procede el electrón (139).

Una explicación elemental del origen de los picos de un espectro de XPS puede realizarse basandose en la ecuación

$$E_c = h\nu - E_e$$

donde  $E_c$  es energía cinética del electrón extraído

$E_e$  es energía del nivel cuántico de procedencia del electrón

$h\nu$  es energía de la fuente electromagnética

por tanto, si es posible medir  $E_c$  será posible determinar  $E_e$ , pudiendo de esta forma conocer el nivel de procedencia del electrón extraído.

La incidencia del haz de rayos X sobre la muestra provoca la extracción de un electrón, resultando el sistema

ionizado y con un exceso de energía. El sistema se relaja mediante el paso de un electrón de un nivel superior de energía al hueco producido. La energía restante puede emplearse en la emisión de un fotón de energía  $h\nu$  dando lugar a fluorescencia de rayos X o bien se utilizaría para permitir a un electrón escapar al exterior; estos electrones se denominan electrones Auger, y la determinación de elementos por medición de la energía cinética de dichos electrones se denomina Espectroscopia Auger (AES) (139).

Aunque para la determinación del estado de oxidación de un elemento químico es el XPS la técnica que usualmente resulta mas útil, para ciertos elementos químicos, entre los cuales se encuentra la plata, la espectroscopia Auger se muestra como la técnica de elección, disponiéndose para estos elementos de unas tablas en las cuales se relaciona la energía de enlace del electrón en el nivel de procedencia con la energía cinética de electrones Auger y para los diversos estados de oxidación (140).

Resulta, pues, bastante fácil determinar el estado de oxidación de un elemento químico en una muestra una vez determinada la energía cinética de electrones Auger y conocida la energía de enlace del electrón en el nivel de procedencia mediante XPS.

Los espectros de XPS se llevaron a cabo en las siguientes condiciones experimentales :

Fuente de excitación : Mg K $\alpha$

Potencial : 11 kv

Intensidad : 20 mA

Potencial del multiplicador : 2.7 kv

El examen de la superficie de los residuos sólidos se llevó a cabo con un equipo de microscopía electrónica (Scanning Electron Microscopy) dotado de microsonda. El SEM se basa en hacer incidir directamente sobre la muestra un haz electrónico lo que provoca la producción de una gran variedad de señales que pueden ser medidas, entre las cuales se incluyen electrones dispersos, electrones secundarios, electrones Auger y rayos X (142). Estas señales son convertidas selectivamente a señales eléctricas y usadas para producir imágenes sobre un tubo de rayos catódicos (CRT). El SEM puede producir ampliaciones de 100.000 veces con una resolución menor de 100 Å. La microsonda asociada al SEM permite analizar un punto concreto de la superficie mostrada sobre el CRT. Esto proporciona la posibilidad de determinar zonas preferenciales de ataque de agentes oxidantes sobre la calcopirita y la distribución del agente catalizador en las muestras estudiadas.

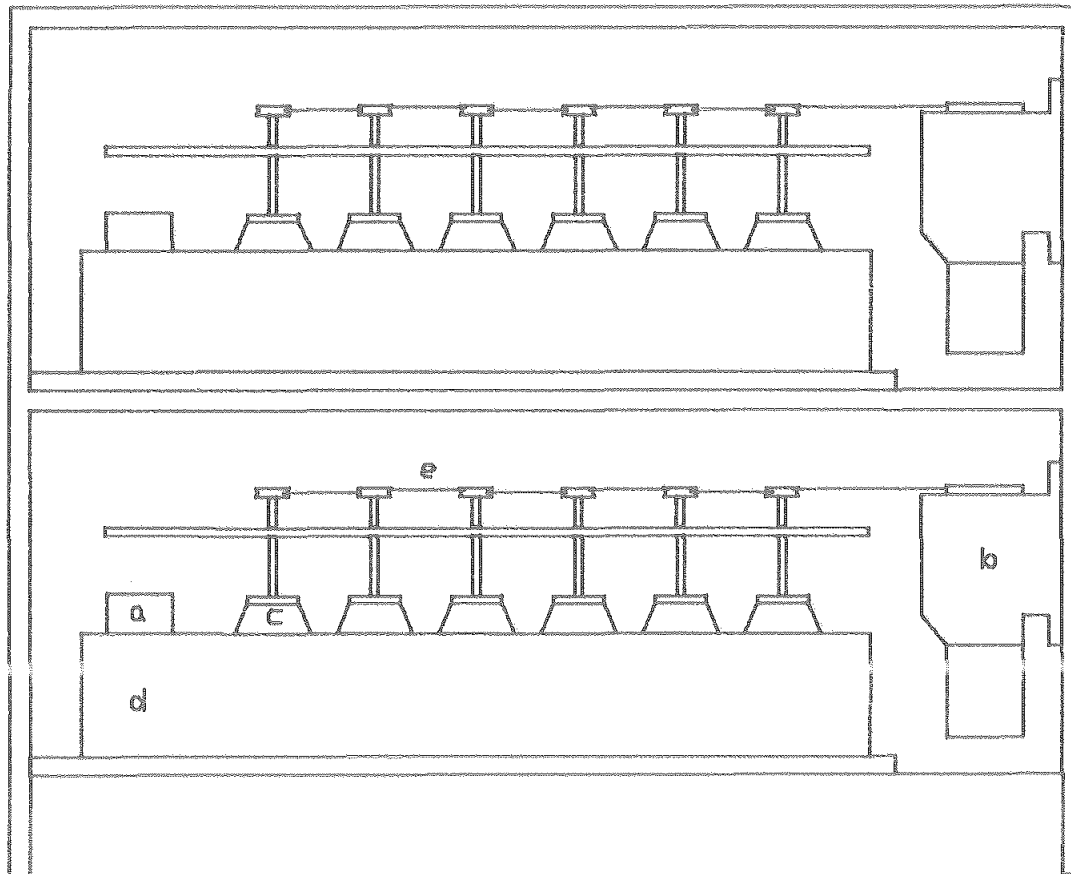


Fig. 6 Esquema general de la planta de lixiviación  
(a) termostato; (b) motor; (c) reactor  
(d) baño; (e) correas de transmisión

TABLA II

Condiciones experimentales para determinación de Hierro y Cobre por Espectrofotometría de A.A.

Fuente de luz : Lámpara de cátodo hueco del elemento químico.

Tiempo de Integración : 0.5 seg

Lectura : Digital con media de 10 valores

Llama : Combustión de mezcla aire-acetileno

Diluyente : HCl 1N

| Elemento Químico     | Fe    | Cu    |
|----------------------|-------|-------|
| I (mA)               | 30    | 15    |
| L (nm)               | 248.3 | 324.8 |
| Sensibilidad (µg/L)  | 0.12  | 0.09  |
| Rango Lineal (mg/L)  | 0.5   | 0.5   |
| Anchura Rendija (nm) | 0.2   | 0.7   |
| E (mg/L)             | ± 5   | ± 1   |

I = Intensidad de Corriente Continua para la excitación de la lámpara.

L = Longitud de onda a la que se presenta el máximo de absorbancia.

Sensibilidad : Concentración necesaria para obtener un 1% de absorbancia.

E = Límites de confianza de la determinación para un grado de significación del 95%.

TABLA III

COMPOSICION QUIMICA DEL MINERAL

| <u>Elemento Químico</u> | <u>Porcentaje (% en peso)</u> |
|-------------------------|-------------------------------|
| Cu                      | 25.7                          |
| Fe                      | 31.3                          |
| Zn                      | 0.5                           |
| S                       | 33.6                          |



#### 4. PLANIFICACION DE EXPERIENCIAS

#### 4. Planificación de las experiencias. El método de diseño factorial.

Cuando un proceso depende solamente de un factor es muy fácil su estudio y no es necesario recurrir a ningún método de diseño experimental, pero cuando la dependencia es de dos o mas factores lo mejor es utilizar un método de diseño experimental. Mediante el método de diseño se puede investigar o experimentar planificadamente y así obtener la mayor cantidad posible de información con la menor cantidad posible de experimentos, lo que significa ahorro de esfuerzo, tiempo y materiales.

Por otra parte, cuando dos o mas factores influyen sobre un proceso es mas eficaz estimar simultáneamente los efectos de varios factores sobre la respuesta del sistema que hacerlo independientemente.

La importancia de los métodos de diseño de experiencias reside en que mediante ellos se pueden estimar los efectos de las interacciones entre los factores sobre la respuesta del proceso.

Para todo lo que a continuación se expondrá es necesario conocer la terminología usada en diseños factoriales. Se denomina rendimiento a los valores obtenidos y que cuantifican la mayor o menor bondad del proceso. Se les denomina también respuesta. Son susceptibles de ser optimados y se designan por

las letras  $Y$ ,  $y$ . Se denominan variables operatorias a todas aquellas variables que puede tener influencia en los rendimientos del proceso y que sean factibles de ser medidas o controladas.

Se llama modelo a toda expresión que relaciona dos o mas variables.

#### 4.1 Planes Factoriales

Sobre un proceso normalmente tienen influencia varios factores; la dependencia del proceso de cada uno de los factores se ha de obtener mediante la experimentación con distintos valores de cada uno de los factores. Al número de valores probados de cada uno de los factores se les llama niveles de operación de las variables. El número total de experiencias para obtener la dependencia del proceso de cada uno de los factores vendrá dado por el número que resulte de calcular todas las posibles combinaciones de las variables operatorias en sus distintos niveles.

#### 4.2 Diseños Factoriales a dos niveles

Un caso particular de los diseños o planes factoriales son los diseños factoriales a dos niveles. En ellos cada variable estudiada se considera a dos niveles de operación.

Llamando  $k$  al número de variables operatorias, el número

total de experiencias a realizar sería  $2^k$ , expresión que se utiliza para identificar el diseño, es decir, los diseños factoriales a dos niveles se representan como diseños  $2^k$ .

#### 4.3 Construcción de un diseño $2^k$

En primer lugar se seleccionan las variables operatorias que se van a considerar en el diseño. Posteriormente se seleccionan dos niveles de operación para cada una de ellas; este es un paso muy importante porque los valores de las variables operatorias no deben ser ni muy grandes ni muy pequeños como para que no produzcan cambios notables en el rendimiento, confundiendo los cambios con los errores experimentales. Al mayor de los valores de las variables se le llama nivel alto y al menor nivel bajo. El siguiente paso es codificar las variables operatorias. La expresión general para la codificación es

$$F. \text{ codificado} = \frac{F. \text{ Físico} - 1/2 (N. \text{ Alto} + N. \text{ Bajo})}{1/2 (N. \text{ Alto} - N. \text{ Bajo})} \quad (14)$$

Esta expresión es tal que siempre se obtiene -1 para el factor codificado de nivel bajo y +1 para el nivel codificado de nivel alto. El siguiente paso es la construcción de la matriz de diseño experimental.

#### 4.4 Construcción de la matriz de diseño experimental

La matriz D del diseño experimental tiene tantas filas como número de experiencias a realizar en el laboratorio y tantas columnas como variables operatorias se hayan tenido en cuenta.

Las columnas se construyen de la siguiente manera :

Se escribe  $-1$   $2^{j-1}$  veces alternando con  $+1$   $2^{j-1}$  veces siendo  $j$  el numero de la columna.

| Num. Exper. | $X_1$ | $X_2$ | . | . | . | $X_m$ |         |
|-------------|-------|-------|---|---|---|-------|---------|
| 1           | -1    | -1    | . | . | . | -1    | m veces |
| 2           | +1    | -1    | . | . | . | -1    |         |
| 3           | -1    | +1    | . | . | . | -1    |         |
| 4           | +1    | +1    | . | . | . | .     |         |
| .           | .     | .     | . | . | . | .     |         |
| .           | .     | .     | . | . | . | +1    | m veces |
| .           | .     | .     | . | . | . | +1    |         |
| .           | .     | -1    | . | . | . | +1    |         |
| .           | +1    | -1    | . | . | . | .     |         |
| .           | -1    | +1    | . | . | . | .     |         |
| n           | +1    | +1    | . | . | . | .     |         |

Una vez construida la matriz de los coeficientes se ejecuta el plan experimental, representando cada fila de la matriz de diseño D un experimento a realizar en las condiciones operativas que indican los valores codificados de la fila : +1 Nivel Alto y -1 Nivel Bajo. Es importante que las experiencias no se realicen en el mismo orden en que figuran en la matriz D sino en orden aleatorio con objeto de

distribuir aleatoriamente los errores de operación en el conjunto del plan.

Una vez realizados los experimentos se obtienen n resultados con los que se forma la matriz Y de los resultados o respuestas, siendo la matriz Y una matriz columna

$$Y = \begin{pmatrix} Y_1 \\ Y_2 \\ Y_3 \\ \cdot \\ \cdot \\ \cdot \\ Y_n \end{pmatrix}$$

El siguiente paso es adaptar el proceso a un modelo lineal.

#### 4.5 Modelo Lineal

En un diseño  $2^3$  el modelo lineal vendrá dado por una ecuación del tipo

$$y = \beta_0 + \beta_1\alpha_1 + \beta_2\alpha_2 + \beta_3\alpha_3 + \beta_{12}\alpha_1\alpha_2 + \beta_{13}\alpha_1\alpha_3 + \\ + \beta_{23}\alpha_2\alpha_3 + \beta_{123}\alpha_1\alpha_2\alpha_3$$

expresada en variables físicas o bien en forma codificada

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + \\ + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$

El objetivo es determinar los coeficientes  $\beta$  haciendo una regresión por mínimos cuadrados. La determinación de los coe-

ficientes  $\beta$  no debe hacerse sólo con las ocho experiencias que exige el diseño sino que es preciso tener una medida de los errores puros o errores experimentales; esto puede hacerse repitiendo experiencias. Lo usual es hacer repeticiones en el centro del plan (valores cero de las variables codificadas).

De esta manera se puede hacer un análisis de la varianza, que incluye determinar los coeficientes significativos y posteriormente una prueba de ajuste del modelo lineal.

Definida la varianza por puro error como

$$S^2 = \frac{\left[ Y_r - \bar{Y}_r \right]}{r - 1}$$

donde  $r$  es el numero de repeticiones en el centro.  $r - 1$  será el número de grados de libertad de la varianza.

La varianza por puro error puede ser interna si las experiencias para determinarla forman parte del diseño factorial o externa si se ha obtenido por métodos ajenos al diseño factorial.

#### 4.6 Cálculo de los coeficientes del modelo

El cálculo de los coeficientes se hace mediante una regresión por mínimos cuadrados, siguiendo el método descrito por Box y Hunter (138).

Una vez obtenidos los coeficientes el siguiente paso es determinar qué coeficientes son significativos. Pueden seguirse dos métodos :

a) Comparación con la desviación estándar

- Son significativos aquellos coeficientes que son mayores que el doble de la desviación estándar.

b) Comparación con la F de Fisher

- Se compara con la F de Fisher una relación de varianzas para cada coeficiente. Esta relación es  $R = A_{b_i} / S^2_{pe}$ ; donde  $A_{b_i}$  es lo que aporta  $b_i$  al modelo  $B'X'Y$  y  $S^2_{pe}$  la varianza puro error.

Si  $R_i > F$  el coeficiente es significativo y en caso contrario no es sinificativo.

Posteriormente se hace la prueba de ajuste del modelo, la cual se realiza sólo con los coeficientes que resultaron significativos. El ajuste del modelo lo da la relación

$$R = S^2_{total} / S^2_{pe}$$

donde  $S^2_{total}$  es la varianza total del modelo.

Si  $R = 1$  el modelo se ajusta perfectamente ya que no hay errores por falta de ajuste, sólo hay errores puros. Si  $R > 1$  no se sabe en qué medida son mayores los errores por falta de ajuste que los errores puros por lo que se recurre a la F de Fisher. Se compara entonces  $R$  con  $F(n-p, GL S^2_{pe}, 95\%)$  donde  $n$  es el número de experiencias realizadas,  $p$  el número de coeficientes significativos. Si  $R < F$  el modelo se ajusta y si  $R > F$  el modelo no se ajusta.

Si el modelo lineal ensayado se ajusta a las respuestas



del sistema el siguiente paso es determinar los niveles óptimos de los factores que afectan al sistema para que la respuesta sea máxima. Si no se ajusta habrá que ensayar otro modelo lineal con otras variables.

Además de determinar el máximo de la respuesta, es interesante conocer como varía la respuesta en la vecindad del máximo, es decir, cuando los niveles de los factores varían alrededor de sus valores óptimos. Esto es así porque en ocasiones es difícil establecer el valor óptimo de cada factor pero puede que una combinación de niveles diferentes del óptimo de una opción económicamente mas favorable.

Para la localización del óptimo es necesario recurrir a los diseños de segundo orden, que nos dará una superficie de respuesta.

#### 4.7 Superficie de Respuesta Cuadrática

La forma general de un polinomio cuadrático es

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2$$

La superficie contiene términos lineales  $x_1$  y  $x_2$ , términos cuadráticos  $x_1^2$  y  $x_2^2$  y términos de productos cruzados  $x_1x_2$ .

Para poder determinar los coeficientes de regresión en este modelo, cada variable  $X_i$  debe tomar al menos tres niveles diferentes. Esto sugiere el uso de diseños factoriales  $3^k$ .

#### 4.8 Planes 3<sup>2</sup>

Cuando se tienen dos variables X, se puede ajustar una superficie de respuesta cuadrática mediante el plan 3<sup>2</sup>, en el cual cada variable tendrá tres niveles de operación.

A partir de aquí se calcula X'Y y se sigue el mismo proceso para calcular los coeficientes de regresión que en los diseños 2<sup>k</sup>.

#### 4.9 Análisis canónico. Simplificación de la superficie Cuadrática

Además de conocer la combinación óptima de los niveles de las variables que ha de ser usada, en la práctica es conveniente conocer la forma de la superficie de respuesta cercana al óptimo para tener alternativas que aunque no den el óptimo de rendimiento si den un óptimo económico.

Resulta fácil interpretar los resultados cuando se utiliza la forma canónica de la ecuación cuadrática.

Esta última se obtiene derivando parcialmente la ecuación con respecto a las variables :

Siendo  $y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2$   
se tiene

$$\delta Y / \delta X_1 = b_1 + 2b_{11}X_1 + b_{12}X_2$$

$$\delta Y / \delta X_2 = b_2 + 2b_{22}X_2 + b_{12}X_1$$

Para hallar el punto donde  $Y$  es máximo se igualan a cero ambas ecuaciones obteniéndose dos valores  $X_{1M}$  y  $X_{2M}$  que hacen  $Y = Y_M$  (máxima).

La forma general de la ecuación canónica (138) es

$$Y - Y_m = B_{11}x_1^2 + B_{22}x_2^2$$

donde  $B_{11}$  y  $B_{22}$  son los coeficientes respecto a un nuevo sistema de ejes que tiene la combinación del óptimo en su origen.

Esta ecuación indica físicamente el cambio en el rendimiento cuando se traslada la combinación de  $X_1$  y  $X_2$  fuera del óptimo.

## 5. DISCUSION DE RESULTADOS

## 5. Discusión de Resultados

### 5.1 Lixiviabilidad de Calcopirita en las condiciones fisico-químicas naturales

Los dos primeros ensayos sobre lixiviación microbiológica de calcopirita se efectuaron para determinar la lixiviabilidad del mineral. Se usó el mineral de calcopirita cuya composición media se dió en la tabla III y, como inóculo, un pellet de células limpias obtenido según el método descrito en el punto 3.4 . La utilización de pellets de células limpias en lugar de un cultivo crecido sobre  $\text{Fe}^{2+}$  se hizo para evitar introducir en el sistema un agente oxidante, como es el  $\text{Fe}^{3+}$ , que pudiese atacar el mineral y de esa forma alterar los resultados. El pellet de células inoculado al reactor R-1 se obtuvo de un cultivo crecido sobre medio 9k completo mientras que el pellet de células inoculado al reactor R-2 se obtuvo de cultivos crecidos sobre medio 9k completo al que además se puso suficiente  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  para obtener una concentración de 34 g/L de  $\text{Cu}^{2+}$ . La elección de unas células crecidas a alta concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  se hizo para evitar el posible inconveniente de una baja actividad bacteriana debido a la toxicidad potencial de una concentración creciente de  $\text{Cu}^{2+}$  a medida que se avanza en la lixiviación total del sustrato (calcopirita).

Ambas pruebas se iniciaron a pH 2.5 y se dejó evolucionar posteriormente. La densidad de pulpa se fijó al 2%. Los resultados se presentan en las tablas IV y V, y sus respectivas

representaciones gráficas en las figuras 8 y 9. Los resultados indican que en esas condiciones, y para un tiempo superior a 24 días, la extracción de cobre es muy pequeña, siendo en ambos casos inferior al 20% y con una diferencia del 2% aproximadamente. A la vista de estos resultados se pueden decir dos cosas : la primera es que en las condiciones de trabajo el grado de ataque al mineral es pequeño, con poca solubilización de hierro y cobre y la segunda es que en esas mismas condiciones no existe diferencia significativa de comportamiento entre cepas adaptadas y no adaptadas a  $\text{Cu}^{2+}$ .

TABLA IV

Reactor Num 1

Densidad de Pulpa : 2 %

pH inicial : 2.5 / Se dejó evolucionar

Inóculo : 20 ml. de pellet de células limpias.

Conc :  $5 \times 10^8$  cel/ml

Tipo de Inóculo : Células no adaptadas a  $\text{Cu}^{++}$

| <u>Dias</u> | <u>% Ex. Cu</u> | <u>% Ex. Fe</u> |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 0           | 5.28            | 11.03           |
| 2           | 5.95            | 11.54           |
| 5           | 7.95            | 12.81           |
| 7           | 8.19            | 13.16           |
| 9           | 8.98            | 14.26           |
| 12          | 9.88            | 14.67           |
| 14          | 10.11           | 15.64           |
| 15          | 10.10           | 15.92           |
| 17          | 9.95            | 16.72           |
| 21          | 10.55           | 17.09           |
| 23          | 11.00           | 17.05           |
| 27          | 11.01           | 17.14           |

TABLA V

Reactor Num 2

Densidad de Pulpa : 2 %

pH inicial : 2.5 / Se dejó evolucionar

Inóculo : 30 ml. de pellet de células limpias.

Conc :  $3.7 \times 10^8$  cel/ml

Tipo de Inóculo : Células adaptadas a 34 g/L  $\text{Cu}^{++}$

| <u>Dias</u> | <u>% Ex. Cu</u> | <u>% Ex. Fe</u> |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 0           | 8.42            | 13.78           |
| 2           | 9.03            | 13.93           |
| 6           | 10.29           | 14.99           |
| 8           | 11.19           | 15.00           |
| 12          | 12.40           | 15.93           |
| 14          | 12.62           | 16.11           |
| 15.5        | 12.85           | 16.44           |
| 17.5        | 13.03           | 17.11           |
| 19.5        | 12.62           | 17.25           |
| 22.5        | 13.17           | 17.94           |
| 24.5        | 13.17           | 17.93           |



# Reactor Num. 1

T6

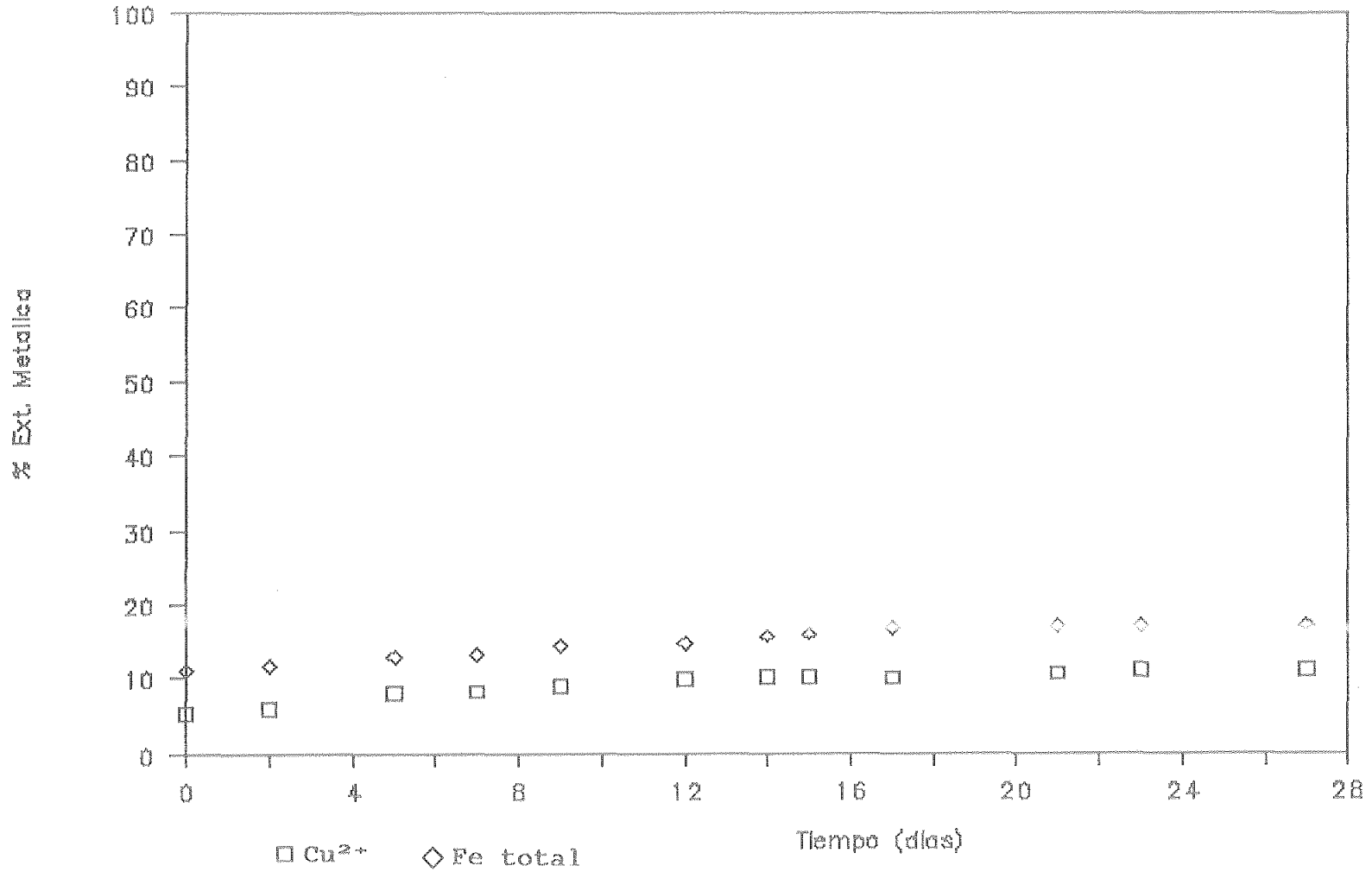


Fig. 8

# Reactor Num. 2

92

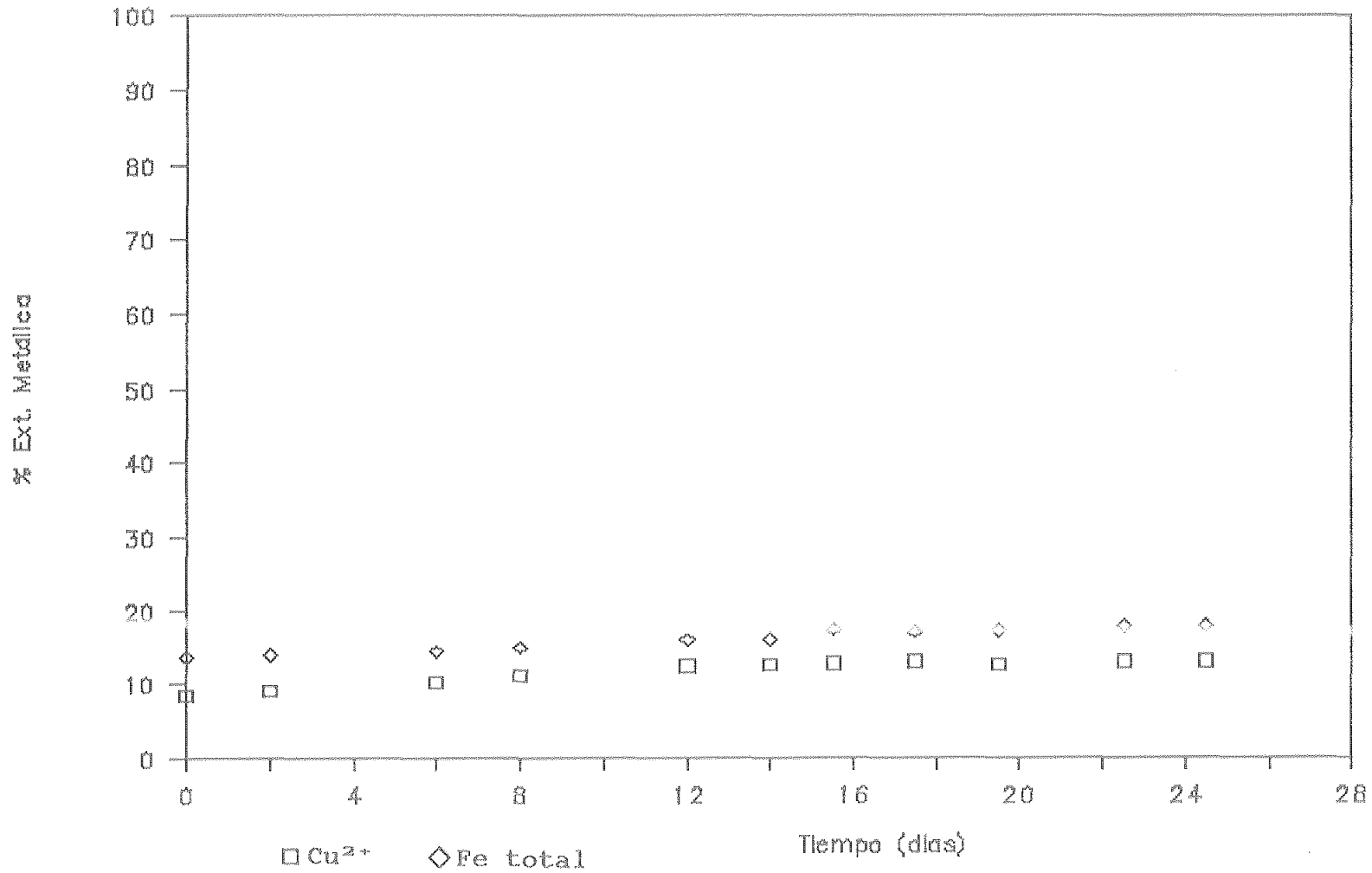


Fig. 9

## 5.2 Lixiviación bacteriana de calcopirita con plata

En vista de los resultados negativos obtenidos en las pruebas de los reactores R-1 y R-2 se decidió efectuar ensayos en las condiciones experimentales señaladas por Bruynestein y col. (133), en su trabajo para B.C. Research, y que se detallan a continuación : Densidad de pulpa del 20%, 1.16 g de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  por cada 400 g de concentrado de calcopirita, tiosulfato sódico y una concentración inicial alta de cobre soluble (aproximadamente de 18 g/L). En el artículo antes citado se indicaba que el sulfato de plata era usado como catalizador de la reacción de oxidación de la calcopirita; el tiosulfato sódico era usado como agente complejante del ión  $\text{Ag}^+$ , el cual ejerce un fuerte efecto inhibitorio (126) sobre el crecimiento del *Thiobacillus ferrooxidans*. La presencia de una alta concentración inicial de  $\text{Cu}^{2+}$  se justificaba con el fin de activar químicamente la superficie del mineral (133).

Los reactores R-3 y R-4 fueron inoculados con pellets de células limpias obtenidas como anteriormente se indicó. Las células se obtuvieron de cultivos adaptados a una concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  de 34 g/L y el pH se mantuvo constante durante toda la prueba a un valor de 2.5. El reactor R-3 se preparó con todos los productos indicados anteriormente y el reactor R-4 lo fue de igual manera excepto en la adición de sulfato de plata y tiosulfato sódico. Los resultados obtenidos se

muestran en las tablas VI y VII y sus representaciones gráficas en la figuras 10 y 11. Puede apreciarse que trabajando en las condiciones señaladas la disolución de la calcopirita para el reactor R-3 se da en una extensión del 12% aproximadamente en 57 días mientras que para el reactor R-4 la concentración de cobre al final es menor que la que inicialmente había es decir, se ha producido una precipitación de parte del cobre inicial puesto para activar la calcopirita. Este fenómeno, no bien estudiado, se produce en otras ocasiones, no siendo posible explicar la naturaleza del mismo, proponiéndose como hipótesis la precipitación del cobre como sulfuro.

TABLA VI

Reactor Num 3

Densidad de Pulpa : 20 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml de células limpias  
Conc. Celular  $5 \times 10^8$  cel/ml

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 290 mg /  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : 922.9 mg

$\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : 35.4 g

| <u>Dias</u> | <u>% Ex. Fe</u> | <u>% Ex. Cu</u> |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 0           | 3.59            | 0.85            |
| 0           | 4.60            | 1.54            |
| 0.87        | 4.10            | 0.55            |
| 3           | 4.09            | - 0.14          |
| 4.87        | 4.34            | - 0.37          |
| 6.87        | 6.45            | 3.23            |
| 8.91        | 7.10            | 3.88            |
| 11.87       | 6.89            | 1.10            |
| 14.29       | 8.74            | 2.28            |
| 15.95       | 8.41            | 0.29            |
| 18.91       | 8.28            | - 1.90          |
| 22.12       | 10.01           | 2.99            |

TABLA VI (Continuación)

Reactor Num 3 (Continuación)

| <u>Dias</u> | <u>% Ex. Fe</u> | <u>% Ex. Cu</u> |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 24.95       | 11.95           | 4.59            |
| 27.00       | 12.26           | 4.44            |
| 29.87       | 14.19           | 6.14            |
| 32.87       | 13.63           | 6.69            |
| 34.87       | 15.56           | 9.08            |
| 37.20       | 13.40           | 8.40            |
| 41.20       | 15.63           | 9.65            |
| 45.20       | 15.51           | 7.36            |
| 47.20       | 16.72           | 10.04           |
| 49.20       | 15.46           | 7.68            |
| 53.20       | 17.47           | 8.24            |
| 57.20       | 20.14           | 11.79           |

TABLA VII

Reactor Num 4

Densidad de Pulpa : 20 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
Conc.:  $5 \times 10^8$  cel/ml.

No se añade  $\text{Ag}^+$  ni  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

Concentración inicial de  $\text{Cu}^{2+}$  : 18 g/L

| <u>Dias</u> | <u>% Ex. Fe</u> | <u>% Ex. Cu</u> |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 0           | 2.96            | 3.05            |
| 0           | 2.97            | 1.99            |
| 0.87        | 3.03            | 1.94            |
| 3           | 3.01            | 2.37            |
| 4.87        | 3.22            | 1.58            |
| 6.87        | 4.58            | 5.51            |
| 8.91        | 4.76            | 4.09            |
| 11.87       | 5.13            | 3.48            |
| 14.29       | 6.22            | 4.64            |
| 15.95       | 6.15            | 3.06            |
| 18.91       | 6.12            | 0.20            |
| 22.12       | 7.76            | 5.19            |

TABLA VII (Continuación)

Reactor Num 4 (Continuación)

| <u>Dias</u> | <u>% Ex. Fe</u> | <u>% Ex. Cu</u> |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 24.95       | 8.20            | 4.84            |
| 27.00       | 8.70            | 4.27            |
| 29.87       | 8.55            | 2.92            |
| 32.87       | 9.15            | 2.64            |
| 34.87       | 10.01           | 2.40            |
| 37.20       | 10.94           | 2.36            |
| 41.20       | 11.73           | 2.33            |
| 45.20       | 13.78           | - 0.31          |
| 47.20       | 14.09           | 0.87            |
| 49.20       | 13.34           | - 3.72          |
| 53.20       | 16.56           | - 1.42          |
| 57.20       | 17.20           | - 1.81          |



# Reactor Num. 3

66

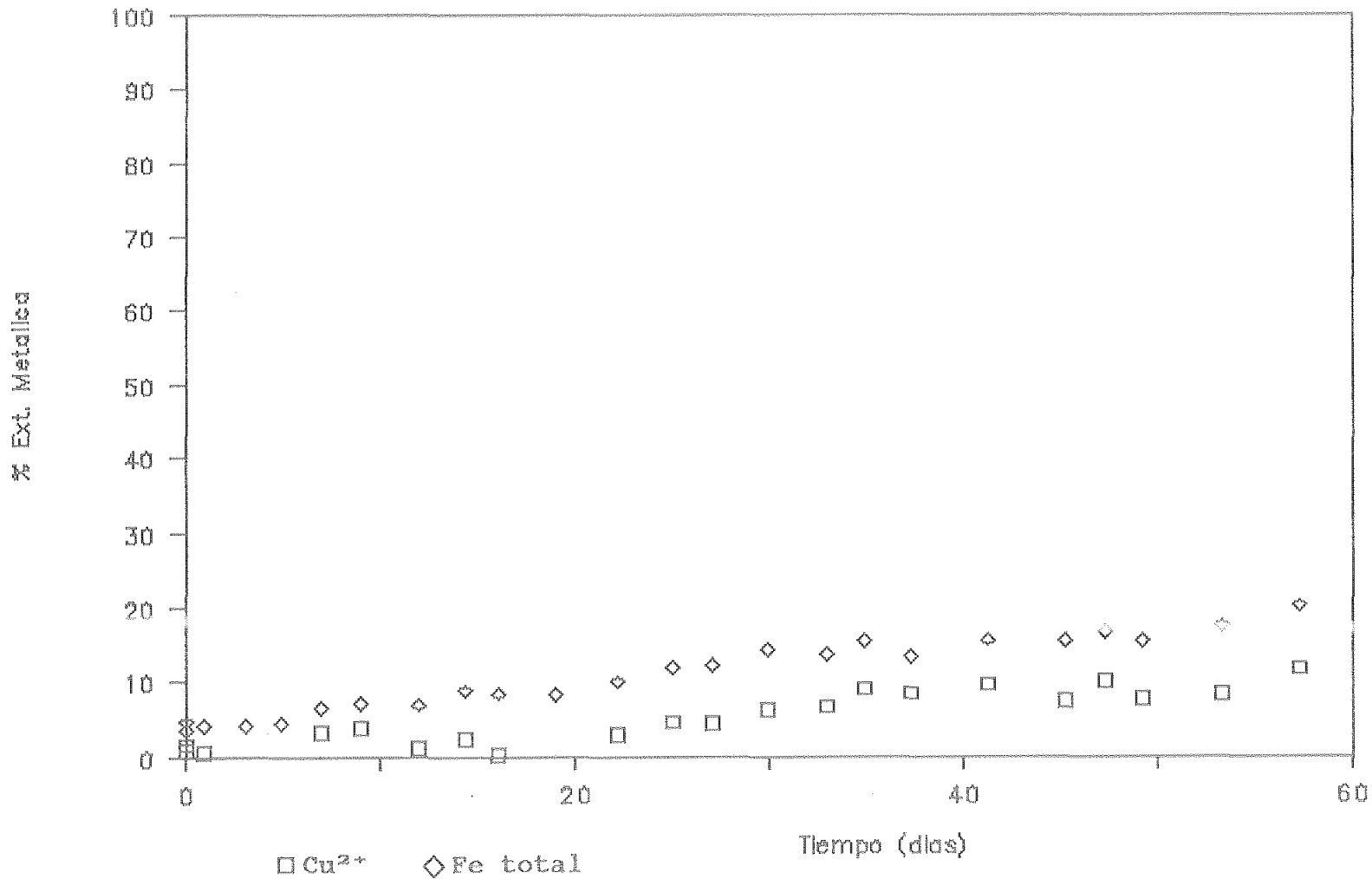


Fig. 10

# Reactor Num. 4

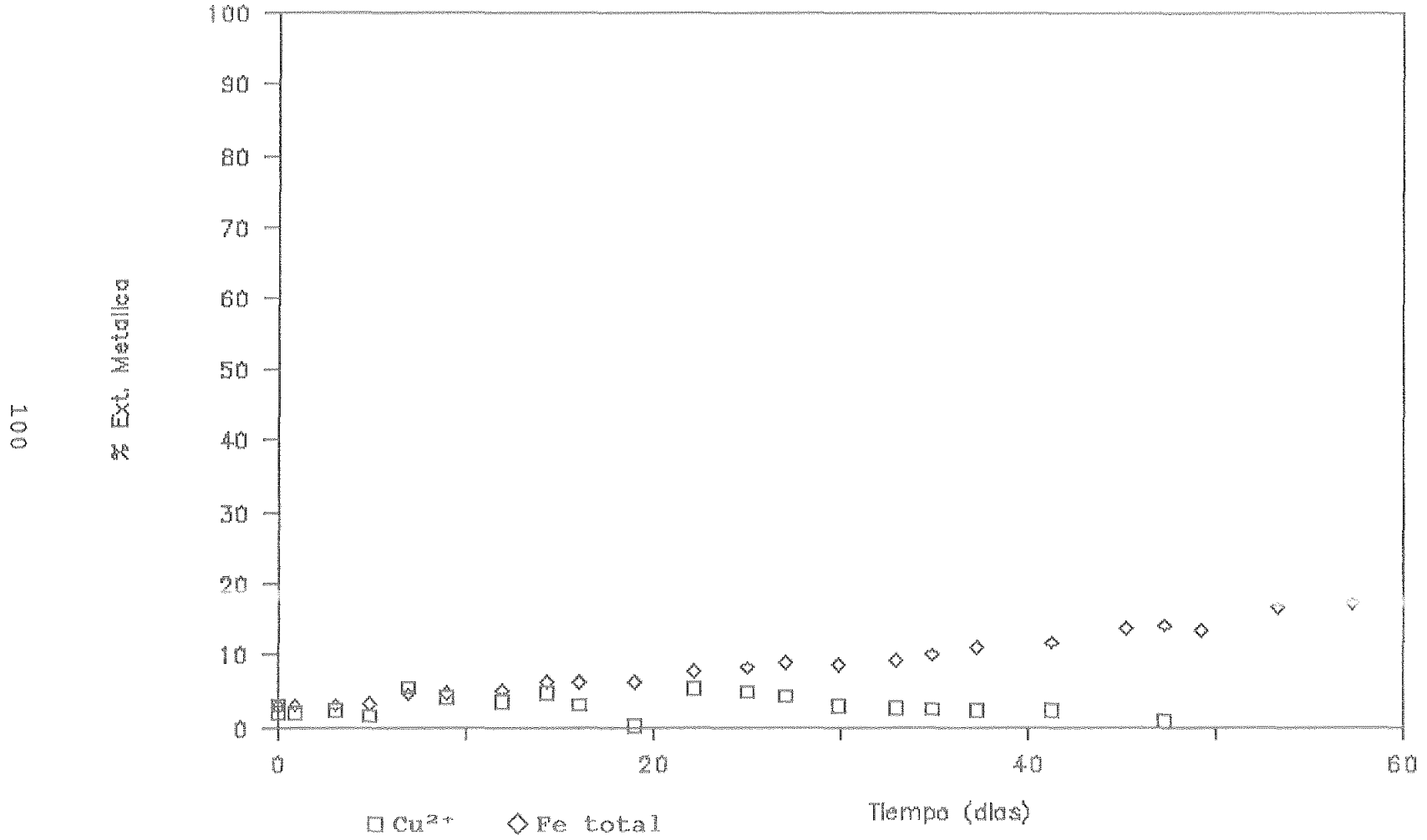


Fig. 11

### 5.3 Estudio de la influencia de la presencia de cobre, plata y tiosulfato sódico en la lixiviación bacteriana de calcopirita

Dada la dificultad de manipular una suspensión con una densidad de pulpa tan alta como la usada en las pruebas de los reactores R-3 y R-4 se decidió efectuar una serie de ensayos a una densidad de pulpa menor, eligiéndose un valor del 8% como valor razonablemente bueno a la vista de la experiencia previa con otros sulfuros. En esas pruebas se intentó determinar la influencia de las distintas variables sobre la extracción final de hierro y cobre. Las condiciones experimentales a las que se llevaron a cabo las pruebas se dan en la tabla VIII. Todas las pruebas se realizaron a pH 2.5. Los resultados se dan en las tablas IX-XIV y sus respectivas representaciones gráficas en las figuras 12-17. Todos los reactores se inocularon con 50 ml de un cultivo crecido sobre  $Fe^{2+}$  de ocho días de vejez. El reactor R-5 se inoculó con un cultivo adaptado a una concentración de cobre de 34 g/L.

Los resultados de estas pruebas indican en primer lugar que las condiciones de experimentación están lejos de las necesarias para alcanzar una disolución total del mineral de calcopirita, ya que en el mejor de los casos se obtuvo un 21% de extracción del cobre total. En segundo lugar los tiempos de trabajo son demasiado grandes, lo cual hace que los resultados sean aún peores.

Los datos obtenidos son poco significativos ya que no existen grandes diferencias entre los resultados de las distintas pruebas. A grandes rasgos pueden apuntarse algunas tendencias; una de ellas, extraída de la comparación de los resultados de los reactores R-5 y R-6, es que parece deducirse una mejora en los resultados si se usa  $\text{Cu}^{2+}$  como acondicionador de superficie en las pruebas donde se emplea  $\text{Ag}^+$  y tiosulfato. Otra tendencia, extraída de la comparación de los reactores R-6 y R-10, es que parece deducirse una mejora en los resultados si se usan concentraciones mas altas de  $\text{Ag}^+$  y  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  y no se usa  $\text{Cu}^{2+}$  como activador de la superficie. Para poder afirmar con rigor lo expresado en las tendencias antes comentadas seria necesario efectuar un mayor número de ensayos, los cuales no se han realizado dentro de este trabajo experimental, ya que los resultados que se podrían obtener no aportarían nada al objetivo perseguido de determinación de los niveles óptimos de las distintas variables que ejercen influencia significativa en el proceso de lixiviación bacteriana de calcopirita. Por último cabría comentar que hay un dato muy significativo, que es el que resulta de la comparación del mejor resultado obtenido en todas las pruebas efectuadas con la combinación de las distintas variables (Cantidad de  $\text{Ag}^+$ , cantidad de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , y presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  inicial) con el resultado obtenido en el reactor R-7 en el que no se emplea ninguno de ellos. El mejor

resultado se da para las condiciones ensayadas en el reactor R-5 , en el que la extracción final de cobre fue del 24.75% y el resultado obtenido en el reactor R-7, en el que no se añadió nada de  $\text{Ag}^+$ , tiosulfato ni  $\text{Cu}^{2+}$ , fue del 23.71%, de la comparación de ambos se deduce que en las condiciones experimentales empleadas y para los niveles de las variables que se usaron no hay diferencia significativa entre usar o no usar  $\text{Ag}^+$ , tiosulfato y  $\text{Cu}^{2+}$ .

TABLA VIII

## CONDICIONES EXPERIMENTALES DE LOS REACTORES R-5 A R-10

| Reactor Num. | Condiciones Experimentales (*)       |                        |  |
|--------------|--------------------------------------|------------------------|--|
|              | Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg) | Cu <sup>2+</sup> (g/L) | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O(mg) |
| 5            | 116                                  | 8                      | 369  |
| 6            | 116                                  | ---                    | 369  |
| 7            | ---                                  | ---                    | ---  |
| 8            | 116                                  | ---                    | ---  |
| 9            | 500                                  | ---                    | ---  |
| 10           | 500                                  | ---                    | 1591   |

(\*) En todos los reactores la densidad de pulpa fué fijada al 8% y el pH a 2.5

TABLA IX

Reactor Num 5

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
conc.  $2.2 \times 10^8$  cel/ml

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 116 mg /  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : 0.369 g

[ $\text{Cu}^{2+}$ ] como  $\text{SO}_4\text{Cu}$  : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.16              | 3.73           | 7.50                           | - 1.78         |
| 8           | 1.98              | 6.36           | 8.60                           | 4.62           |
| 13          | 2.45              | 7.83           | 7.02                           | - 4.57         |
| 16          | 2.84              | 9.06           | 6.88                           | - 5.33         |
| 20          | 2.84              | 9.03           | 6.76                           | - 5.97         |
| 28          | 4.27              | 13.55          | 7.21                           | - 3.31         |
| 34          | 4.70              | 14.86          | 7.48                           | - 1.71         |
| 44          | 3.65              | 11.49          | 9.12                           | 7.80           |
| 51          | 4.10              | 12.88          | 9.30                           | 8.71           |
| 58          | 5.25              | 16.44          | 9.82                           | 11.57          |
| 62          | 5.25              | 16.39          | 9.83                           | 11.45          |
| 67          | 6.35              | 19.76          | 11.21                          | 19.18          |
| 73          | 7.05              | 21.86          | 12.24                          | 24.75          |

TABLA X

Reactor Num 6

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
conc.  $2.2 \times 10^8$  cel/ml

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 116 mg /  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : 0.369 g

[ $\text{Cu}^{++}$ ] como  $\text{SO}_4\text{Cu}$  : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.09              | 3.49           | 0.67                           | 3.85           |
| 8           | 1.31              | 4.20           | 0.81                           | 4.65           |
| 13          | 1.57              | 5.02           | 0.87                           | 5.02           |
| 16          | 1.61              | 5.14           | 0.82                           | 4.69           |
| 20          | 1.60              | 5.10           | 0.80                           | 4.57           |
| 28          | 2.02              | 6.43           | 0.99                           | 5.65           |
| 34          | 2.17              | 6.90           | 1.05                           | 5.98           |
| 44          | 1.96              | 6.22           | 1.25                           | 7.11           |
| 51          | 2.19              | 6.93           | 1.39                           | 7.89           |
| 58          | 2.57              | 8.12           | 1.53                           | 8.67           |
| 62          | 3.10              | 9.78           | 1.42                           | 8.03           |
| 67          | 3.75              | 11.80          | 2.90                           | 16.37          |
| 73          | 3.95              | 12.40          | 2.90                           | 16.31          |



TABLA XI

Reactor Num 7

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
 conc.  $2.2 \times 10^8$  cel/ml

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : No se añade /  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : No se añade

$[\text{Cu}^{++}]$  como  $\text{SO}_4\text{Cu}$  : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.34              | 4.30           | 0.81                           | 4.69           |
| 8           | 1.63              | 5.22           | 0.95                           | 5.48           |
| 13          | 1.88              | 6.03           | 0.95                           | 5.44           |
| 16          | 2.13              | 6.80           | 0.98                           | 5.61           |
| 20          | 2.36              | 7.52           | 1.11                           | 6.34           |
| 28          | 3.31              | 10.52          | 1.67                           | 9.52           |
| 34          | 3.54              | 11.22          | 1.88                           | 10.69          |
| 44          | 2.76              | 8.72           | 2.12                           | 12.02          |
| 51          | 3.60              | 11.35          | 2.25                           | 12.72          |
| 58          | 4.60              | 14.46          | 2.45                           | 13.81          |
| 62          | 4.40              | 13.79          | 2.40                           | 13.48          |
| 67          | 5.00              | 15.62          | 3.95                           | 22.13          |
| 73          | 5.25              | 16.36          | 4.25                           | 23.71          |

TABLA XII

Reactor Num 8

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
 conc.  $2.2 \times 10^8$  cel/ml

$Ag_2SO_4$  : 116 mg /  $S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$  : No se añade

[Cu<sup>++</sup>] como  $SO_4Cu$  : No se añade

| <u>Días</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.18              | 3.78           | 0.70                           | 4.02           |
| 8           | 1.49              | 4.77           | 0.82                           | 4.74           |
| 13          | 1.92              | 6.14           | 0.66                           | 3.81           |
| 16          | 2.28              | 7.28           | 0.63                           | 3.61           |
| 20          | 2.27              | 7.23           | 0.59                           | 3.37           |
| 28          | 3.09              | 9.82           | 0.57                           | 3.25           |
| 34          | 3.60              | 11.41          | 0.73                           | 4.17           |
| 44          | 3.70              | 11.69          | 0.75                           | 4.27           |
| 51          | 4.70              | 14.81          | 1.05                           | 5.98           |
| 58          | 4.25              | 13.35          | 1.45                           | 8.24           |
| 62          | 5.50              | 17.22          | 1.55                           | 8.79           |
| 67          | 6.75              | 21.06          | 3.25                           | 18.40          |
| 73          | 7.10              | 22.07          | 3.90                           | 21.98          |

TABLA XIII

Reactor Num 9

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
 conc.  $2.2 \times 10^8$  cel/ml

$Ag_2SO_4$  : 0.5 g /  $S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$  : No se añade

[ $Cu^{++}$ ] como  $SO_4Cu$  : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[<math>Cu^{++}</math>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|-------------------------------------|----------------|
| 0           | 1.09              | 3.49           | 0.66                                | 3.82           |
| 8           | 1.18              | 3.78           | 0.79                                | 4.54           |
| 13          | 1.36              | 4.35           | 0.78                                | 4.50           |
| 16          | 1.54              | 4.92           | 0.77                                | 4.41           |
| 20          | 1.57              | 5.01           | 0.76                                | 4.34           |
| 28          | 1.98              | 6.31           | 0.74                                | 4.22           |
| 34          | 2.12              | 6.74           | 0.69                                | 3.93           |
| 44          | 2.59              | 8.22           | 0.89                                | 5.07           |
| 51          | 3.11              | 9.85           | 0.94                                | 5.35           |
| 58          | 3.64              | 11.50          | 1.44                                | 8.18           |
| 62          | 4.38              | 13.79          | 1.98                                | 11.22          |
| 67          | 5.80              | 18.21          | 3.35                                | 18.94          |
| 73          | 6.90              | 21.58          | 3.90                                | 21.95          |

TABLA XIVReactor Num 10

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 20 ml pellet células limpias  
conc.  $2.2 \times 10^8$  cel/mlAg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 0.5 g / S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O : 1.5918 g[Cu<sup>++</sup>] como SO<sub>4</sub>Cu : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 0.89              | 2.87           | 0.36                           | 2.07           |
| 8           | 1.17              | 3.75           | 0.51                           | 2.93           |
| 13          | 1.44              | 4.62           | 0.54                           | 3.13           |
| 16          | 1.65              | 5.27           | 0.55                           | 3.15           |
| 20          | 1.78              | 5.68           | 0.53                           | 3.03           |
| 28          | 2.43              | 7.74           | 0.56                           | 3.20           |
| 34          | 2.67              | 8.48           | 0.58                           | 3.31           |
| 44          | 3.05              | 9.67           | 0.75                           | 4.28           |
| 51          | 3.58              | 11.32          | 1.05                           | 5.99           |
| 58          | 5.62              | 17.72          | 1.34                           | 7.63           |
| 62          | 5.14              | 16.14          | 1.82                           | 10.34          |
| 67          | 6.55              | 20.50          | 3.50                           | 19.84          |
| 73          | 7.65              | 23.84          | 3.95                           | 22.28          |

# Reactor Num. 5

111

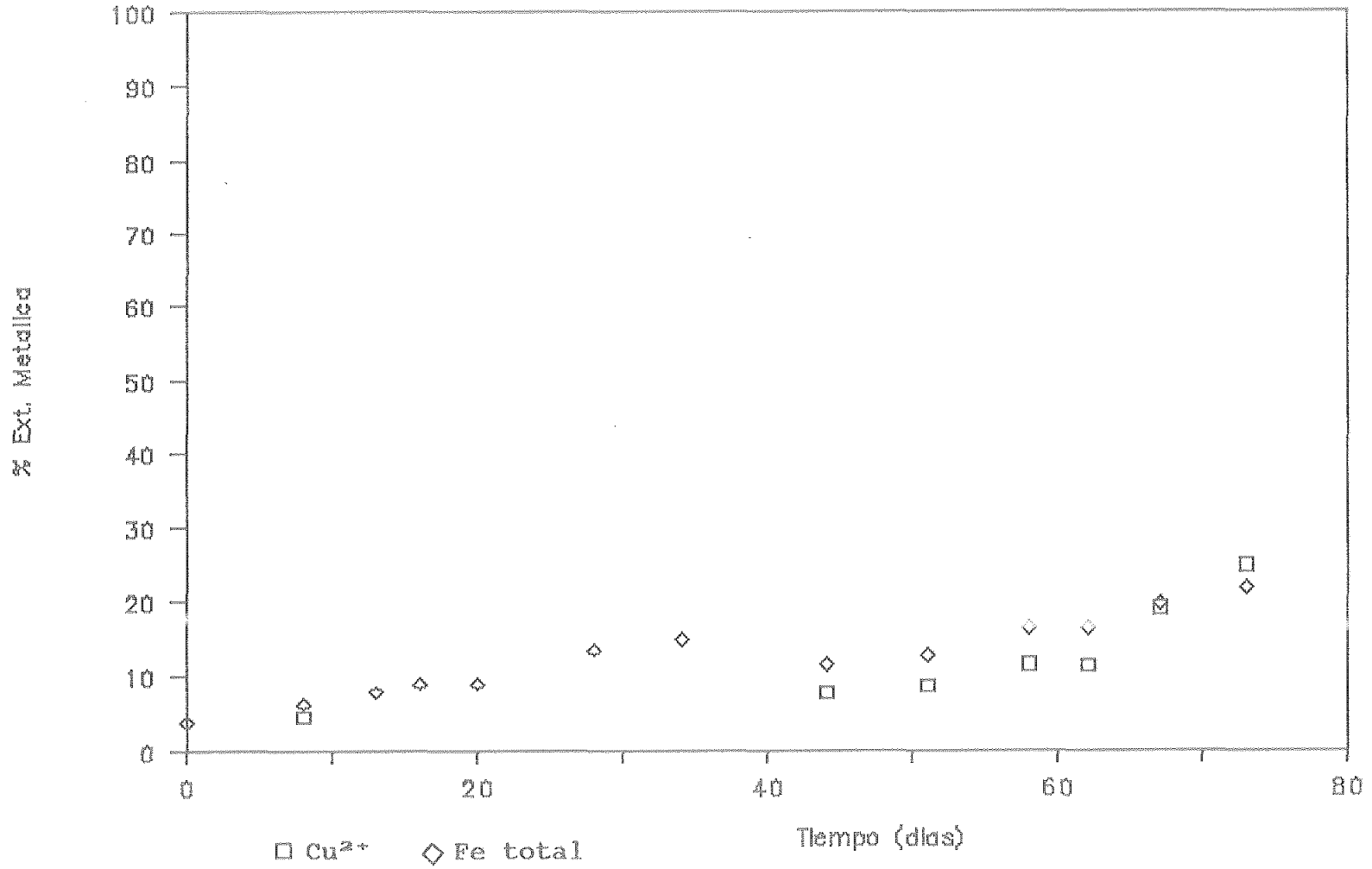


Fig. 12

# Reactor Num. 6

112

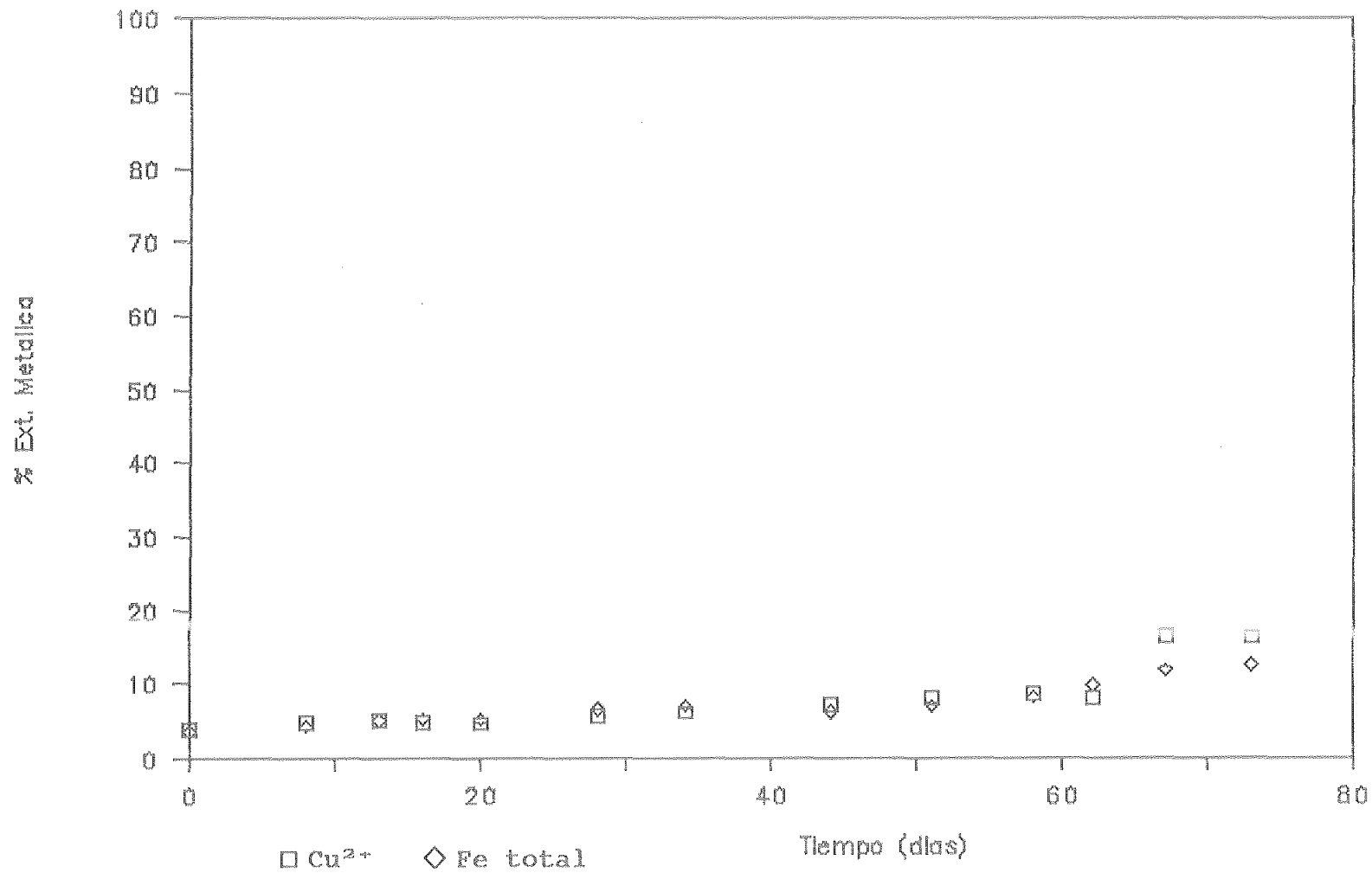


Fig. 13

# Reactor Num. 7

113

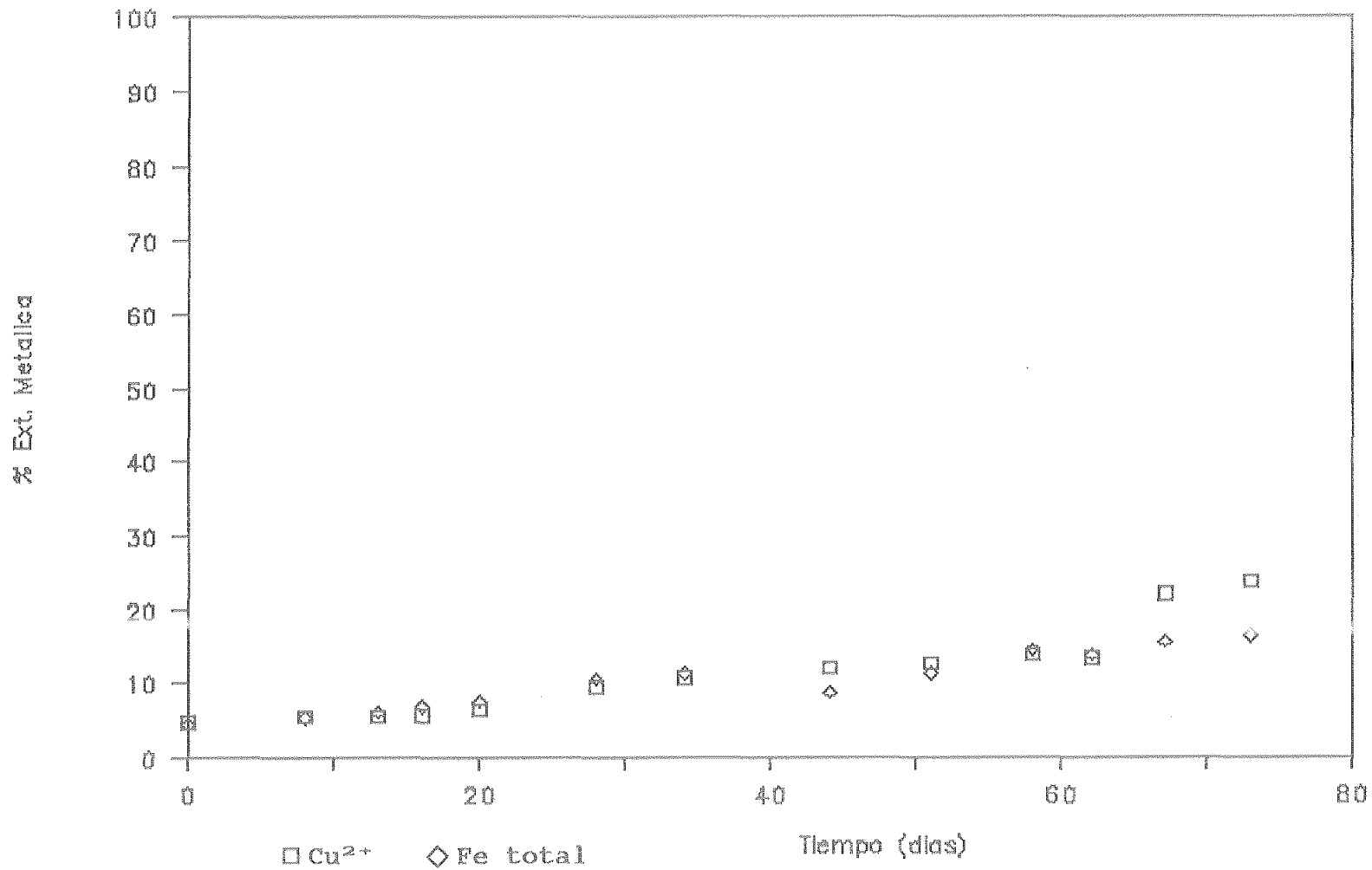


Fig. 14

# Reactor Num. 8

114

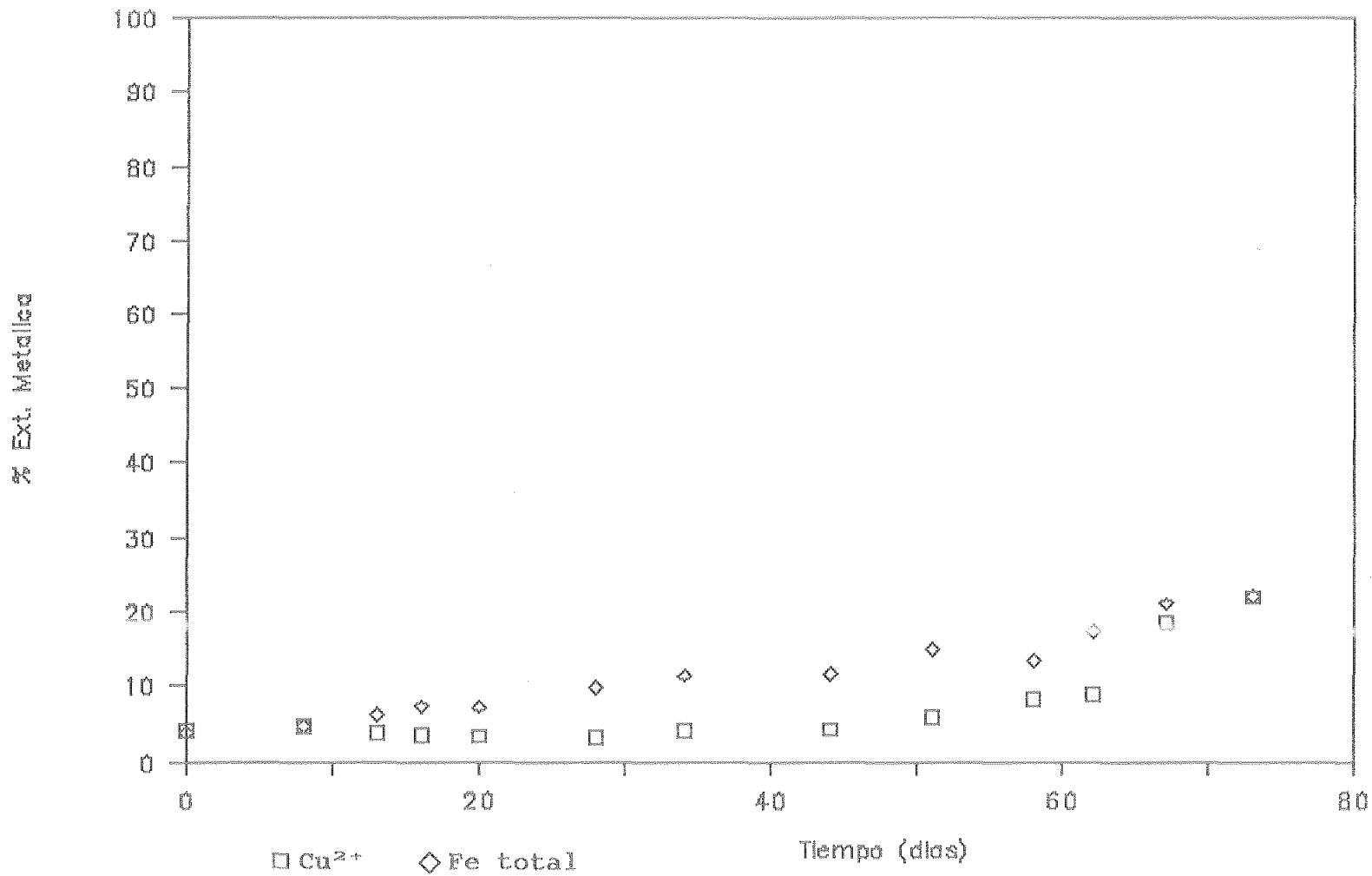


Fig. 15



# Reactor Num. 9

115

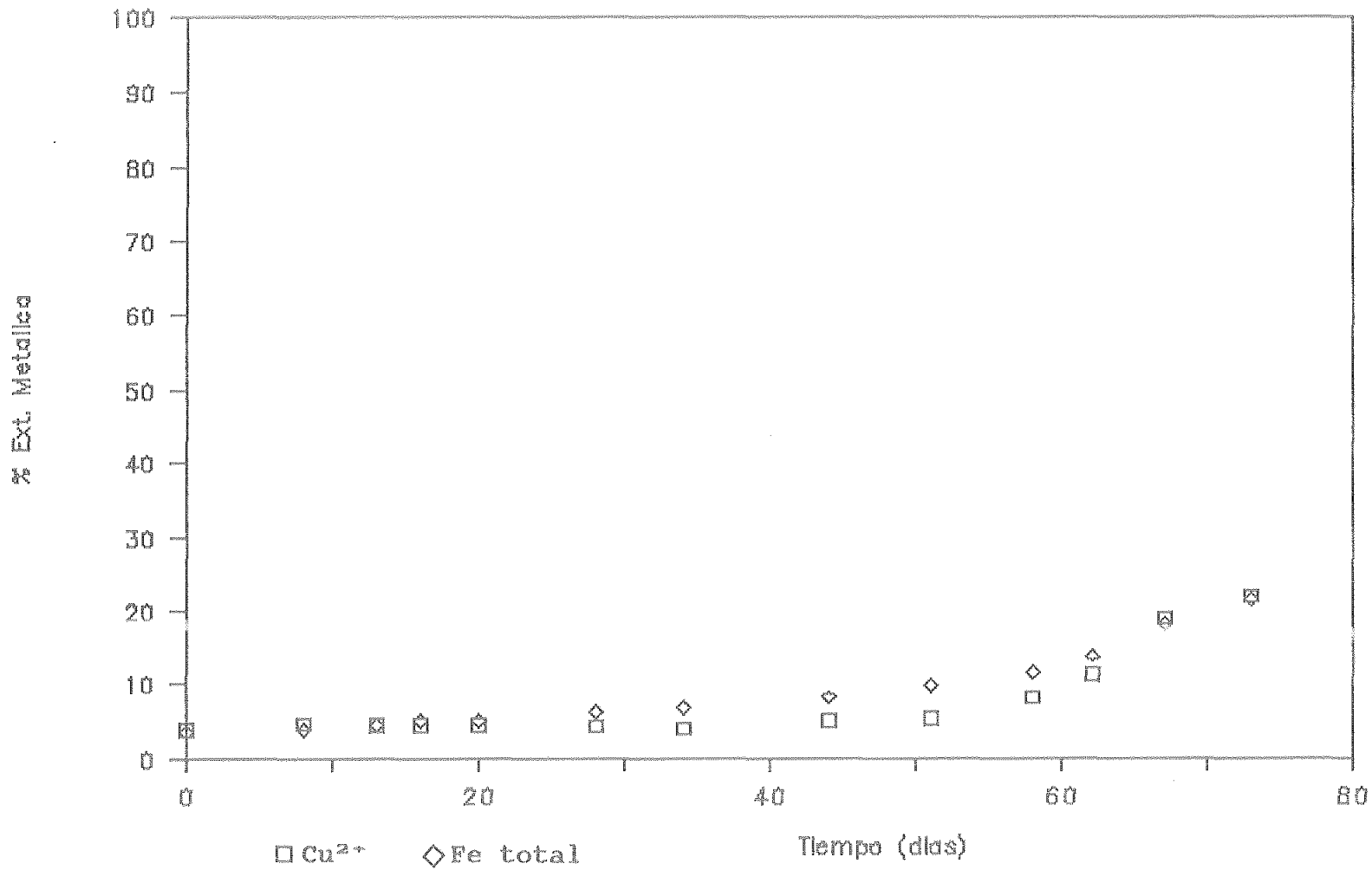


Fig. 16

# Reactor Num. 10

116

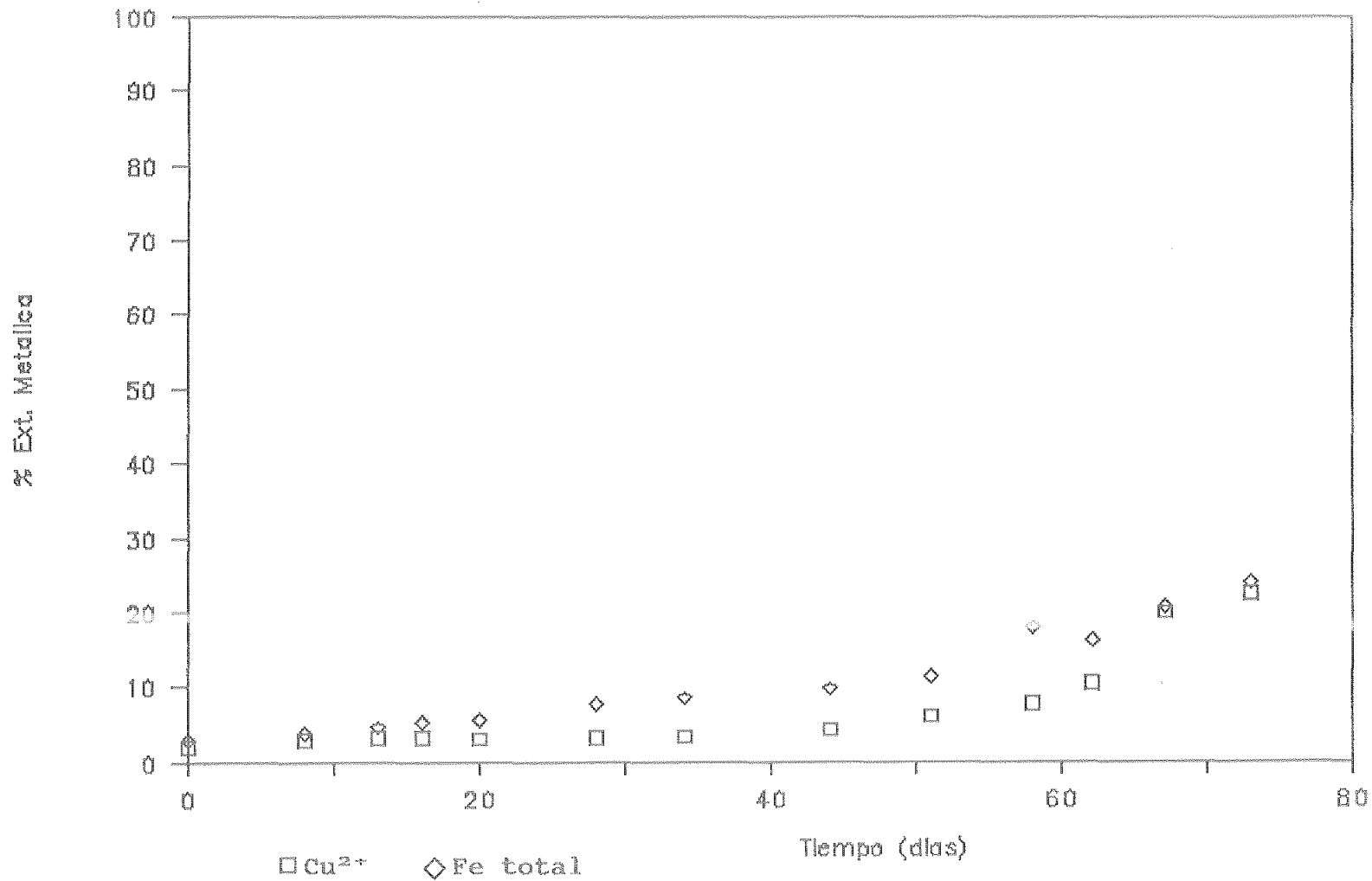


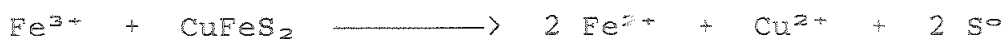
Fig. 17

#### 5.4 Efecto Catalítico del ión Ag<sup>+</sup>

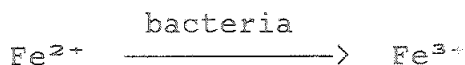
Los resultados obtenidos hasta ese momento hicieron pensar que había uno o varios factores que no estaban siendo tenidos en cuenta o bien no se les estaba dando la debida importancia, a juzgar por los malos resultados obtenidos. Por otro lado, el efecto catalítico del ión Ag<sup>+</sup> en el proceso de disolución de calcopirita sólo se produce cuando en el medio existe Fe<sup>3+</sup> en disolución (reacciones (2) y (3)). Este aspecto se tuvo en cuenta a la hora de diseñar la estrategia para sucesivas pruebas, y dado que Fe<sup>3+</sup> ya existe en el medio, aunque en forma de precipitado, se pensó en bajar el pH de trabajo a un valor suficientemente bajo como para permitir que el Fe<sup>3+</sup> esté en disolución; el valor elegido fué 1.25 por ser el valor de pH mas bajo al cual se disponía de una cepa de Thiobacillus ferrooxidans suficientemente activa. El resto de las condiciones experimentales fueron 116 mg de Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 369 mg de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O. Un factor que se decidió fijar fué la forma de adición de las células. En pruebas anteriores se alternó la adición de cultivos con pellets de células limpias en los cuales las células se habian separado del resto del material del cultivo. A partir de estas pruebas las células se adicionaron en forma de cultivos. Esta decisión se tomó al estimar que el proceso de separación, durante el cual se somete a las células a fuertes aceleraciones (por

centrifugación a 20.000 rpm) y fuertes agitaciones para separarlas de los depósitos que contiene el cultivo, puede conducir a la obtención de células inviables para su posterior uso por un posible debilitamiento de su estructura. La prueba se identificó con las siglas R-11. Los resultados experimentales se muestran en la tabla XV y su representación gráfica en la figura 18.

Como se puede apreciar, los resultados obtenidos variaron radicalmente de los anteriores, llegándose a una disolución casi total de la calcopirita, aproximadamente un 96%, en un tiempo de 46 días. Uno de los factores modificados fué el pH del medio, sin embargo, de acuerdo con la extensa bibliografía que hay al respecto, el *Thiobacillus ferrooxidans* tiene un pH óptimo de crecimiento sobre diferentes sustratos en el rango de 2.0-3.0 (26,40,48,94,95,96), por tanto a un pH tan bajo como 1.25 la prueba debería haber concluido con unos resultados peores que el obtenido a pH 2.5 y sin embargo se consiguió una extracción casi total. Cabría preguntarse donde está la explicación de este hecho. La explicación está, sin lugar a dudas, no sólo en el bajo valor de pH sino en una consecuencia directa del mismo como es que el  $Fe^{3+}$  que acompaña al inóculo, que va precipitado como mezcla de hidróxido férrico y jarosita, se disuelve en parte iniciando una reacción química de ataque a la calcopirita



produciendo  $\text{Fe}^{2+}$ , sustrato energético de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*, que es pasado por ésta a  $\text{Fe}^{3+}$



poniéndolo nuevamente en disposición de atacar a la calcopirita, iniciando de nuevo el ciclo. Estos resultados fueron comprobados en pruebas posteriores. En efecto, se prepararon dos reactores con calcopirita al 8% de densidad de pulpa, a ambos se les añadió 116 mg de sulfato de plata y 0.3693 g de tiosulfato sódico pentahidrato, ajustando el pH a uno de ellos a 2.5 y al otro a 1.25. El primero se marcó como R-12 y al segundo como R-13. El inóculo fue en ambos casos de 50 ml de un cultivo crecido sobre  $\text{Fe}^{2+}$  de ocho días de vejez. El inóculo del reactor mantenido a pH 1.25 fué adaptado previamente a ese valor de pH.

Los resultados se dan en las tablas XVI y XVII y sus representaciones gráficas en las figuras 19 y 20. Los resultados obtenidos confirman los anteriormente comentados del reactor R-11. El reactor R-13, que operó a pH 1.25 obtuvo una extracción total de cobre del 100% en 43 días mientras que el que operó a pH 2.5 (R-12) en esos mismos 43 días sólo obtuvo el 16.24% de extracción de cobre. En cuanto a la ex-

tracción de hierro los resultados fueron similares, el R-13 alcanzó una extracción del 99.09% mientras que el R-12 sólo alcanzó una extracción del 23.04%.

También se realizó una prueba para determinar si la presencia de una alta concentración inicial de  $\text{Cu}^{2+}$  era necesaria o no en un sistema como el que nos ocupa. Los resultados se dan en la tabla XVIII y la representación gráfica de los mismos en la figura 21. El reactor fué preparado en la misma forma que el R-13 y además se le añadió sulfato de cobre pentahidrato en cantidad suficiente para alcanzar una concentración inicial de 18 g/L de  $\text{Cu}^{2+}$ . El inóculo usado fué una cepa de *Thiobacillus ferrooxidans* crecida sobre  $\text{Fe}^{2+}$  a pH 1.25 y a una concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  de 34 g/L. La prueba fue marcada con las siglas R-14. Los resultados obtenidos indican que no es aconsejable utilizar una alta concentración inicial de  $\text{Cu}^{2+}$  en el medio ya que se pierde casi un 23% de extracción de cobre en relación con la extracción obtenida en el R-13. En cuanto al hierro total extraído ocurre algo parecido ya que también baja la extracción desde el 99% al 65% obtenido en esta prueba. Estos resultados se oponen en cierta forma a los obtenidos para los reactores R-5 y R-6 y de los cuales se indicó que reflejaban una cierta tendencia a una mejoría en los resultados en los reactores en los que se emplea  $\text{Cu}^{2+}$  como elemento acondicionador de la superficie del mineral. Sin embargo, no son resultados comparables, ya que en el caso de

estos reactores, al operar a pH 2.5, valor al cual todo el  $\text{Fe}^{3+}$  está precipitado, sólo es posible un ataque directo del *Thiobacillus ferrooxidans* a la calcopirita. En esas condiciones un elemento acondicionador de la superficie como es el  $\text{Cu}^{2+}$  (133) puede facilitar ese ataque directo, y por ello es lógico que se obtenga un mejor resultado en los reactores que usan  $\text{Cu}^{2+}$  inicial que en los que no se usa. Por otro lado en los reactores R-13 y R-14 al trabajar a pH 1.25 el  $\text{Fe}^{3+}$  está en disolución pudiendo atacar químicamente a la calcopirita, llevándose a cabo la disolución por un método indirecto. En este caso la bacteria sería la encargada de regenerar el agente lixiviante  $\text{Fe}^{3+}$  mediante la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$ .

La oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  por diferentes cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* es mas rápida para cepas crecidas continuamente sobre medio 9k completo que para cepas que han sido adaptadas a otros sustratos o habituadas a crecer en presencia de metales 'extraños' como puede ser el  $\text{Cu}^{2+}$  o crecidas en condiciones desfavorables como puede ser el pH bajo. Esto es de tal manera que una cepa crecida sobre medio 9k completo, sin otros condicionantes, es capaz de oxidar mas rápidamente a una solución determinada de  $\text{Fe}^{2+}$  que una cepa crecida sobre  $\text{Fe}^{2+}$  pero a pH 1.25 y en presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  a una concentración de 34 g/L. Por tanto, es posible explicar que en presencia de una alta concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  y a pH 1.25 el  $\text{Fe}^{2+}$  producido por ataque químico sea oxidado mas lentamente

que en ausencia de  $\text{Cu}^{2+}$ . Se hizo también una prueba de comparación realizada a pH 2.5 en ausencia de plata y tiosulfato sódico. Los resultados obtenidos se dan en la tabla XIX y su representación gráfica en la figura 22. Los resultados indican que no existe diferencia significativa con el resultado obtenido en el R-12.

Todas las pruebas anteriormente comentadas pueden considerarse pruebas preliminares ya que hasta ahora sólo se ha determinado la relación entre el pH y la presencia de  $\text{Ag}^+$  y su efecto catalítico. De las posibles combinaciones entre las variables pH y presencia de catalizador  $\text{Ag}^+$  se tienen los resultados de las siguientes combinaciones

|      |         |               |    |
|------|---------|---------------|----|
| R-7  | pH 2.50 | $\text{Ag}^+$ | No |
| R-8  | pH 2.50 | $\text{Ag}^+$ | Si |
| R-13 | pH 1.25 | $\text{Ag}^+$ | Si |

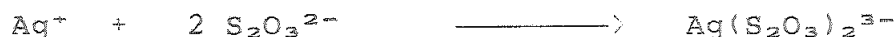
Para completar todas las posibilidades de combinación de ambas variables se realizó una prueba (R-16) a pH 1.25 en ausencia de  $\text{Ag}^+$ , tiosulfato y  $\text{Cu}^{2+}$  inicial. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla XX. Se puede apreciar que la extracción máxima en 42 días es sólo del 11.74%. Comparando los resultados obtenidos en los reactores R-7 R-8 R-13 y R-16 estos indican que el ión  $\text{Ag}^+$  muestra un fuerte efecto catalítico que sólo es evidente a pH bajo. Los resultados comparati-



vos se han representado gráficamente en la figura 23.

De estas pruebas cabe deducir que la variable, mas influyente del proceso es el pH siendo con diferencia la variable con mas peso hasta el punto de que resto de las variables como la presencia de  $Ag^+$ , tiosulfato y  $Cu^{2+}$  son significativas sólo en caso de un valor bajo de pH, en caso contrario las variaciones en las extracciones de cobre y hierro son pequeñas entre las distintas pruebas realizadas con distintas combinaciones de los factores antes citados.

De las experimentaciones realizadas hasta este punto parece deducirse de una forma clara que la hipótesis defendida por B.C. Research (133) según la cual se produce una lixiviación completa de la calcopirita en presencia de  $Ag^+$ ,  $S_2O_3^{2-}$  y alta concentración inicial de  $Cu^{2+}$  no es consistente. En efecto, según los datos antes expuestos la sólo presencia de  $Ag^+$  en el medio no justifica en sí misma una alta lixiviableidad del mineral, como queda reflejado en la experiencia R-8, donde sólo se consigue un 22% de extracción de cobre al cabo de 73 días de prueba. La presencia de tiosulfato sódico como sustancia favorecedora de un bajo potencial de oxidación y como agente complejante del ión  $Ag^+$  según la reacción



no deja de ser un punto poco claro visto desde la justificación de B.C. Research, ya que en cuanto a su faceta de agente

complejante, en las condiciones de la experimentación, la existencia de tal complejo es efímera, como se demuestra en los resultados experimentales obtenidos por Barriga (137). En efecto, el complejo de  $\text{Ag}^+ \text{---} \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  mas estable resulta ser el antes señalado  $\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$  como se aprecia en la figura 24. Este complejo en presencia de calcopirita se destruye en un 50% en la primera hora de existencia llegando a destruirse totalmente al cabo de unas siete horas (fig. 25). Por tanto no cabe justificar la presencia de tiosulfato como agente complejante del ión  $\text{Ag}^+$ . En última instancia la presencia de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  sólo conduce a la formación de  $\text{Ag}_2\text{S}$  en la descomposición del complejo y esto ya se consigue sin adición de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ . En cuanto a su faceta de sustancia favorecedora de bajos potenciales de oxidación, ha podido ser confirmada por análisis químico de residuos de pruebas realizadas en presencia y ausencia de tiosulfato. El residuo de un prueba con tiosulfatos (como por ejemplo la R-13) refleja una proporción de azufre elemental del 68% y sólo un 25% de sulfatos, mientras que el residuo de pruebas sin tiosulfatos (como por ejemplo R-26 y R-27) muestran un mayor contenidos de sulfatos, 40-45% y un menor porcentaje de azufre elemental, un 28%.

La presencia inicial de alta concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  fue tambien otro punto contrastado. Los resultados obtenidos en las pruebas R-13 y R-14 indican la no conveniencia de usar  $\text{Cu}^{2+}$  inicial, ya que en la prueba R-14, que es en la que se

puso una concentración inicial alta de  $\text{Cu}^{2+}$ , se observa una pérdida de mas de un 20% de extracción. Teniendo en cuenta que la función de este  $\text{Cu}^{2+}$  inicial es sólo como agente acondicionador de la superficie mineral se debe deducir que el paso determinante de la reacción no debe producirse en la superficie del mineral sino fuera de ella : en el medio líquido.

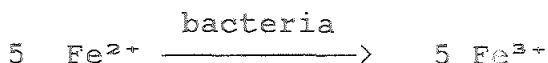
De los puntos antes comentados se concluyó que se debían eliminar para futuras experiencias tanto la adición de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  como la de  $\text{Cu}^{2+}$  inicial puesto que ambas adiciones no conducen a nada positivo.

Los resultados obtenidos hasta este punto llevan a desechar la idea de un mecanismo de contacto directo para la disolución de la calcopirita y a proponer, para las condiciones de trabajo expresadas y en presencia de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*, un mecanismo de contacto indirecto de disolución en el que todo ocurre como si el agente oxidante  $\text{Fe}^{3+}$  atacase a la calcopirita liberando  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ , y actuando la  $\text{Ag}^+$  sólo como catalizador, siendo el  $\text{Fe}^{3+}$  regenerado por oxidación bacteriana de  $\text{Fe}^{2+}$  con el concurso de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*.

Es decir, en forma global :



asumiendo la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* la reacción

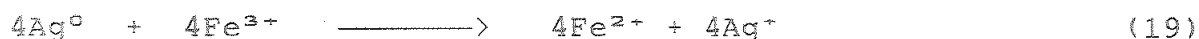
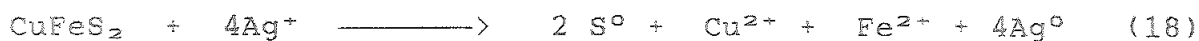


El catalizador podría actuar de dos formas distintas, la primera sería según las reacciones :



es decir, formandose  $\text{Ag}_2\text{S}$  como producto intermedio de la reacción.

La segunda sería :



en el que el producto intermedio sería  $\text{Ag}^0$ .

TABLA XV

Reactor Num 11

Densidad de Pulpa : 8 %

pH inicial : 1.25 constante

Inóculo : 50 ml. cultivo FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 116 mg / S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.5 H<sub>2</sub>O : 0.369 g

| <u>Dias</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex. Cu</u> |
|-------------|--------------------------------|-----------------|
| 0           |                                | 4.00            |
| 7           | 3.12                           | 17.95           |
| 10          | 3.80                           | 21.73           |
| 13          | 5.60                           | 31.82           |
| 15          | 6.40                           | 36.06           |
| 18          | 7.75                           | 43.34           |
| 20          | 8.60                           | 47.74           |
| 22          | 9.55                           | 52.65           |
| 25          | 10.24                          | 56.08           |
| 28          | 11.70                          | 63.66           |
| 32          | 13.40                          | 72.38           |
| 36          | 14.90                          | 79.83           |
| 40          | 16.80                          | 89.21           |
| 43          | 17.55                          | 92.26           |
| 46          | 18.35                          | 95.45           |

Reactor Num 12

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 116 mg / S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O : 0.369 g

[Cu<sup>++</sup>] como SO<sub>4</sub>Cu : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.45              | 3.40           | 0.75                           | 4.31           |
| 1           | 1.99              | 5.12           | 0.97                           | 5.57           |
| 3           | 1.97              | 5.05           | 0.90                           | 5.16           |
| 4           | 2.31              | 6.12           | 1.08                           | 6.18           |
| 6           | 2.27              | 5.98           | 1.04                           | 5.94           |
| 8           | 2.74              | 7.47           | 1.09                           | 6.25           |
| 11          | 2.97              | 8.18           | 1.11                           | 6.32           |
| 14          | 3.20              | 8.89           | 1.22                           | 6.93           |
| 17          | 3.87              | 10.98          | 1.23                           | 6.97           |
| 20          | 4.06              | 11.55          | 1.34                           | 7.58           |
| 23          | 4.66              | 13.40          | 1.46                           | 8.25           |
| 26          | 4.81              | 13.83          | 1.53                           | 8.63           |
| 30          | 5.29              | 15.23          | 1.69                           | 9.51           |
| 33          | 5.55              | 15.99          | 1.81                           | 10.16          |
| 35          | 5.97              | 17.22          | 2.03                           | 11.38          |
| 38          | 7.09              | 20.48          | 2.56                           | 14.31          |
| 41          | 7.63              | 22.07          | 2.69                           | 15.00          |
| 43          | 7.96              | 23.04          | 2.92                           | 16.24          |

Reactor Num 13

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cult. FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 116 mg / S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O : 0.369 g

[Cu<sup>++</sup>] como SO<sub>4</sub>Cu : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 2.00              | 5.16           | 0.95                           | 5.46           |
| 1           | 2.71              | 7.43           | 1.15                           | 6.60           |
| 3           | 3.97              | 11.43          | 1.66                           | 9.51           |
| 4           | 5.10              | 14.99          | 2.18                           | 12.49          |
| 6           | 6.10              | 18.09          | 2.66                           | 15.14          |
| 8           | 7.97              | 23.90          | 3.23                           | 18.31          |
| 11          | 10.15             | 30.60          | 4.37                           | 24.66          |
| 14          | 12.16             | 36.67          | 5.46                           | 30.64          |
| 17          | 14.26             | 42.94          | 6.77                           | 37.76          |
| 20          | 16.97             | 51.00          | 8.05                           | 44.62          |
| 23          | 19.46             | 58.26          | 9.68                           | 53.30          |
| 26          | 21.57             | 64.24          | 11.39                          | 62.27          |
| 30          | 24.12             | 71.43          | 12.87                          | 69.83          |
| 33          | 27.30             | 80.34          | 14.72                          | 79.21          |
| 35          | 29.06             | 84.80          | 15.59                          | 83.12          |
| 38          | 31.71             | 91.72          | 17.28                          | 91.24          |
| 41          | 33.48             | 95.86          | 18.23                          | 95.22          |
| 43          | 34.99             | 99.09          | 19.40                          | 100.00         |

Reactor Num 14

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cult FN adapt a  $\text{Cu}^{++}$  y  
pH 1.25

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 116 mg /  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : 0.369 g

$[\text{Cu}^{++}]_i$  como  $\text{SO}_4\text{Cu}$  : 18 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.45              | 3.40           | 18.30                          | 4.19           |
| 1           | 2.31              | 6.15           | 18.60                          | 5.80           |
| 3           | 3.43              | 9.72           | 18.96                          | 7.72           |
| 4           | 3.78              | 10.80          | 19.09                          | 8.27           |
| 6           | 4.62              | 13.43          | 19.24                          | 8.94           |
| 8           | 5.77              | 17.02          | 20.14                          | 13.87          |
| 11          | 6.73              | 19.97          | 20.46                          | 15.40          |
| 14          | 8.06              | 24.05          | 20.68                          | 16.36          |
| 17          | 9.35              | 27.98          | 21.82                          | 22.51          |
| 20          | 10.66             | 31.88          | 22.86                          | 28.00          |
| 23          | 12.13             | 36.25          | 24.21                          | 35.15          |
| 26          | 13.87             | 41.40          | 24.88                          | 38.46          |
| 30          | 15.38             | 45.78          | 26.37                          | 46.30          |
| 33          | 17.50             | 51.95          | 27.22                          | 50.56          |
| 35          | 17.90             | 52.82          | 28.59                          | 57.62          |
| 38          | 19.57             | 57.50          | 30.12                          | 65.43          |
| 41          | 20.90             | 61.06          | 31.48                          | 72.18          |
| 43          | 22.30             | 64.75          | 32.76                          | 78.35          |



Reactor Num 15

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 2.5 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cult FN

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : No se añade / S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O : No se añade

[Cu<sup>++</sup>]<sub>1</sub> como SO<sub>4</sub>Cu : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 1.90              | 4.84           | 1.00                           | 5.75           |
| 1           | 2.11              | 5.50           | 1.14                           | 6.54           |
| 3           | 2.24              | 5.91           | 1.21                           | 6.93           |
| 4           | 3.30              | 9.28           | 1.33                           | 7.60           |
| 6           | 2.59              | 6.99           | 1.34                           | 7.64           |
| 8           | 3.01              | 8.31           | 1.41                           | 8.02           |
| 11          | 3.50              | 9.84           | 1.47                           | 8.34           |
| 14          | 3.38              | 9.43           | 1.49                           | 8.44           |
| 17          | 4.00              | 11.37          | 1.65                           | 9.33           |
| 20          | 4.30              | 12.28          | 1.82                           | 10.27          |
| 23          | 4.75              | 13.65          | 1.99                           | 11.20          |
| 26          | 4.90              | 14.08          | 2.16                           | 12.13          |
| 30          | 5.76              | 16.72          | 2.44                           | 13.66          |
| 33          | 5.67              | 16.39          | 2.62                           | 14.63          |
| 35          | 6.19              | 17.95          | 2.85                           | 15.87          |
| 38          | 7.01              | 20.43          | 3.33                           | 18.50          |
| 41          | 7.44              | 21.69          | 3.47                           | 19.21          |
| 43          | 7.33              | 21.27          | 3.71                           | 20.48          |

Reactor Num 16

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml cult FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : No se añade / S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O : No se añade

[Cu<sup>++</sup>] como SO<sub>4</sub>Cu : No se añade

| <u>Dias</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|----------------|
| 1           | 1.31           |
| 4           | 3.26           |
| 6           | 3.95           |
| 10          | 5.26           |
| 14          | 5.64           |
| 17          | 7.17           |
| 20          | 7.57           |
| 23          | 8.42           |
| 29          | 9.75           |
| 34          | 10.76          |
| 38          | 11.28          |
| 42          | 11.74          |

# Reactor Num. 11

133

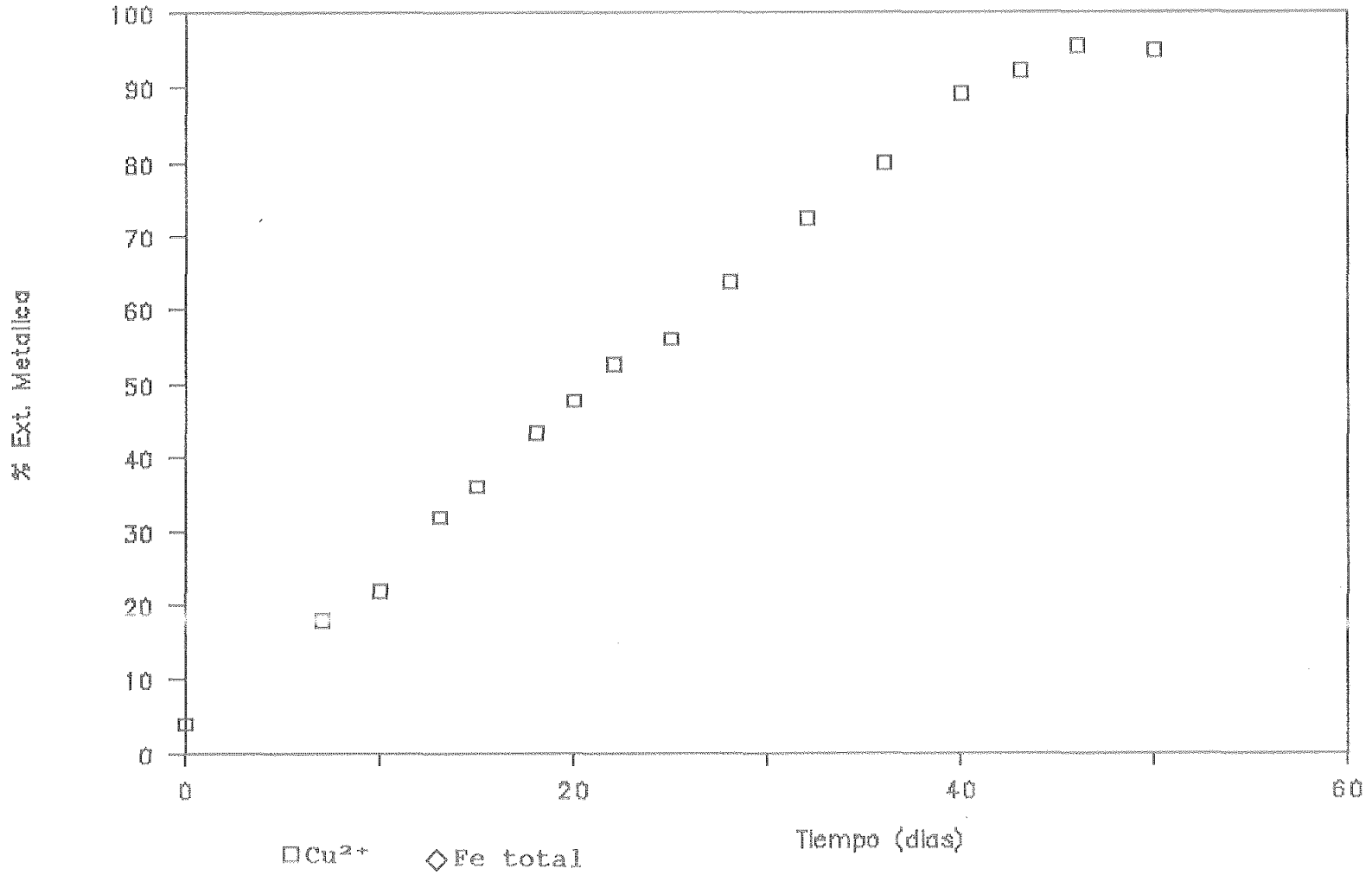


Fig. 18

# Reactor Num. 12

134

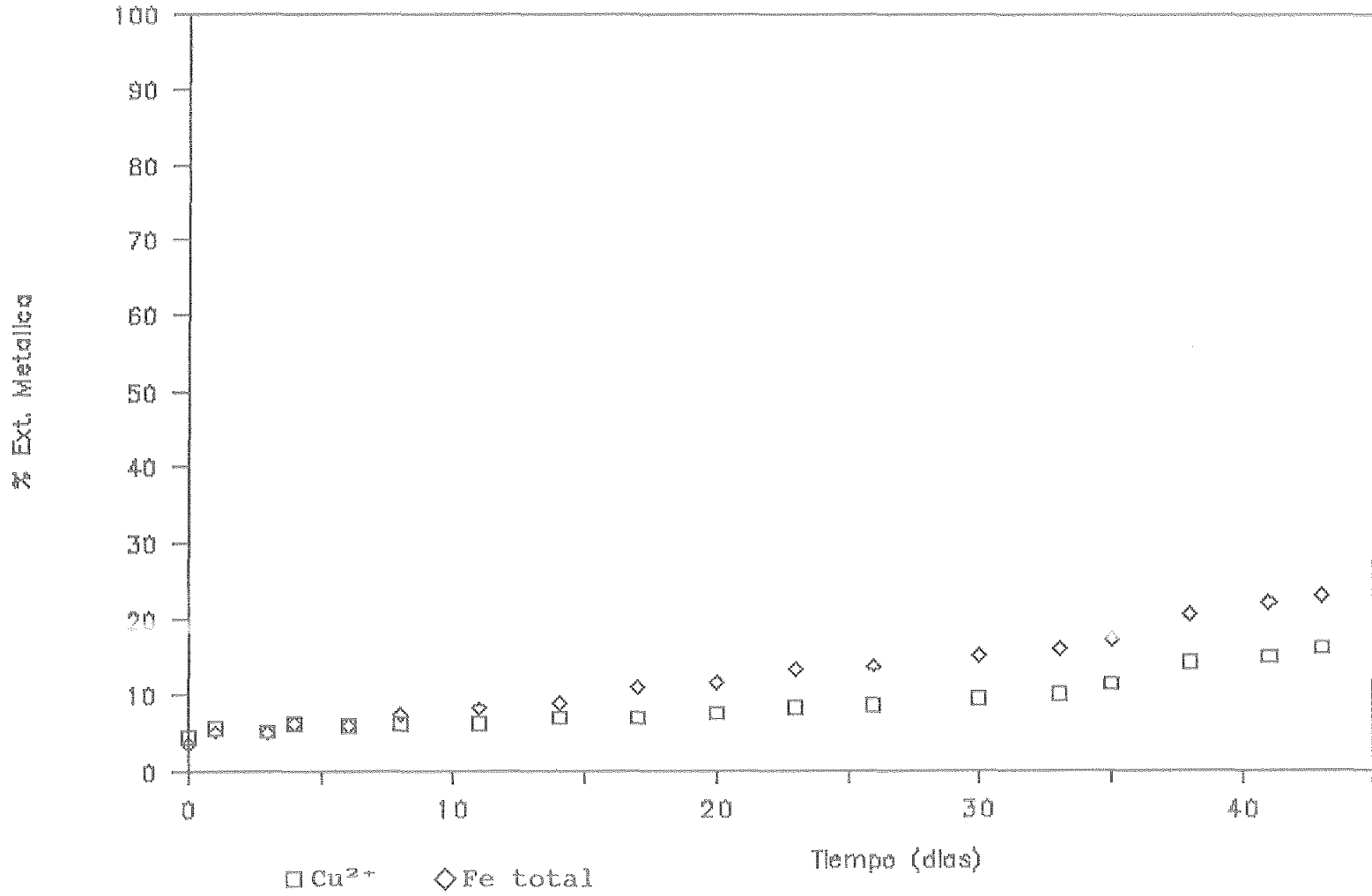


Fig. 19

# Reactor Num. 13

135

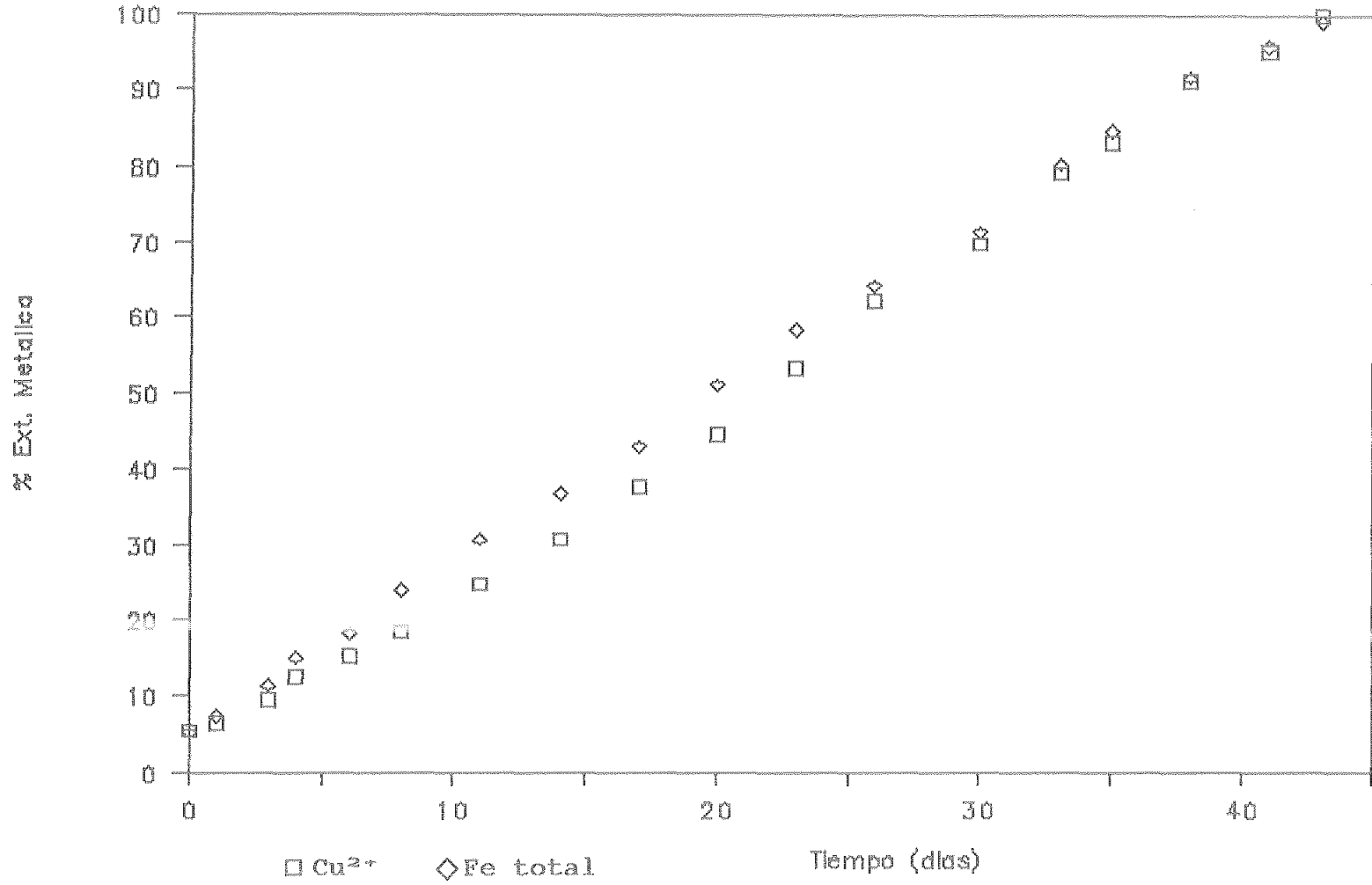


Fig. 20

# Reactor Num. 14

136

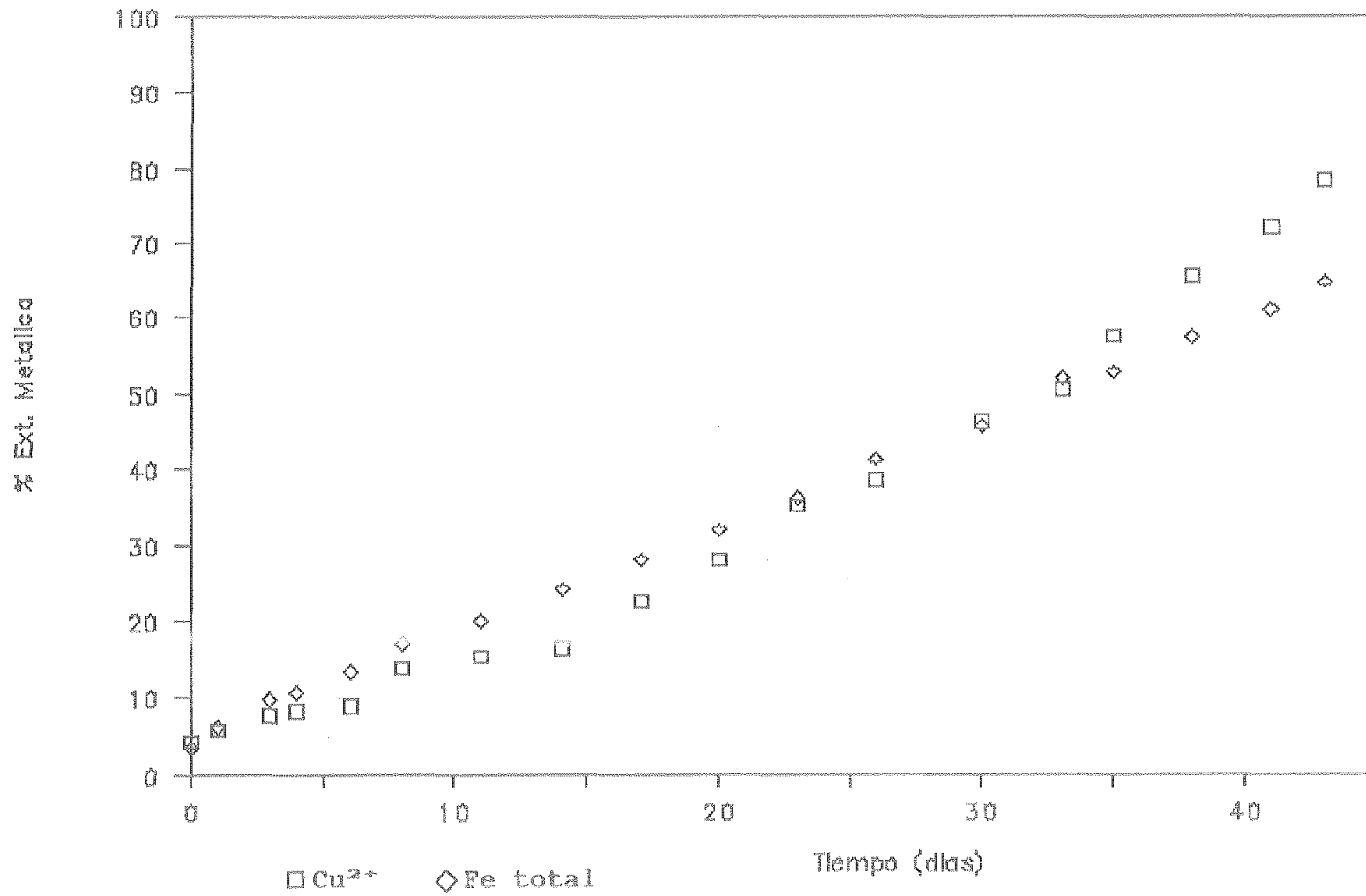


Fig. 21

# Reactor Num. 15

137

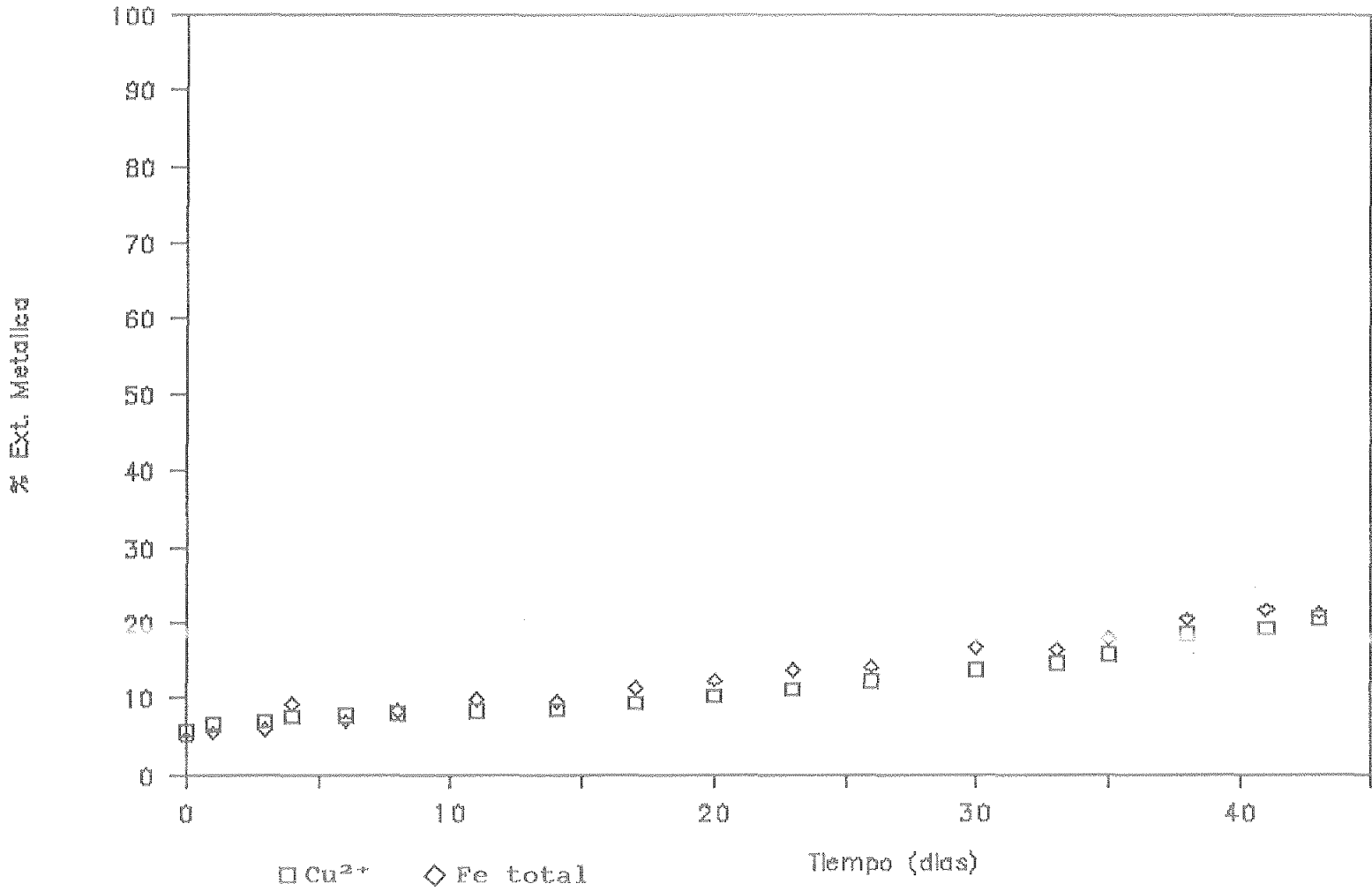


Fig. 22

# Reactores Num. 7, 8, 13 y 16

138

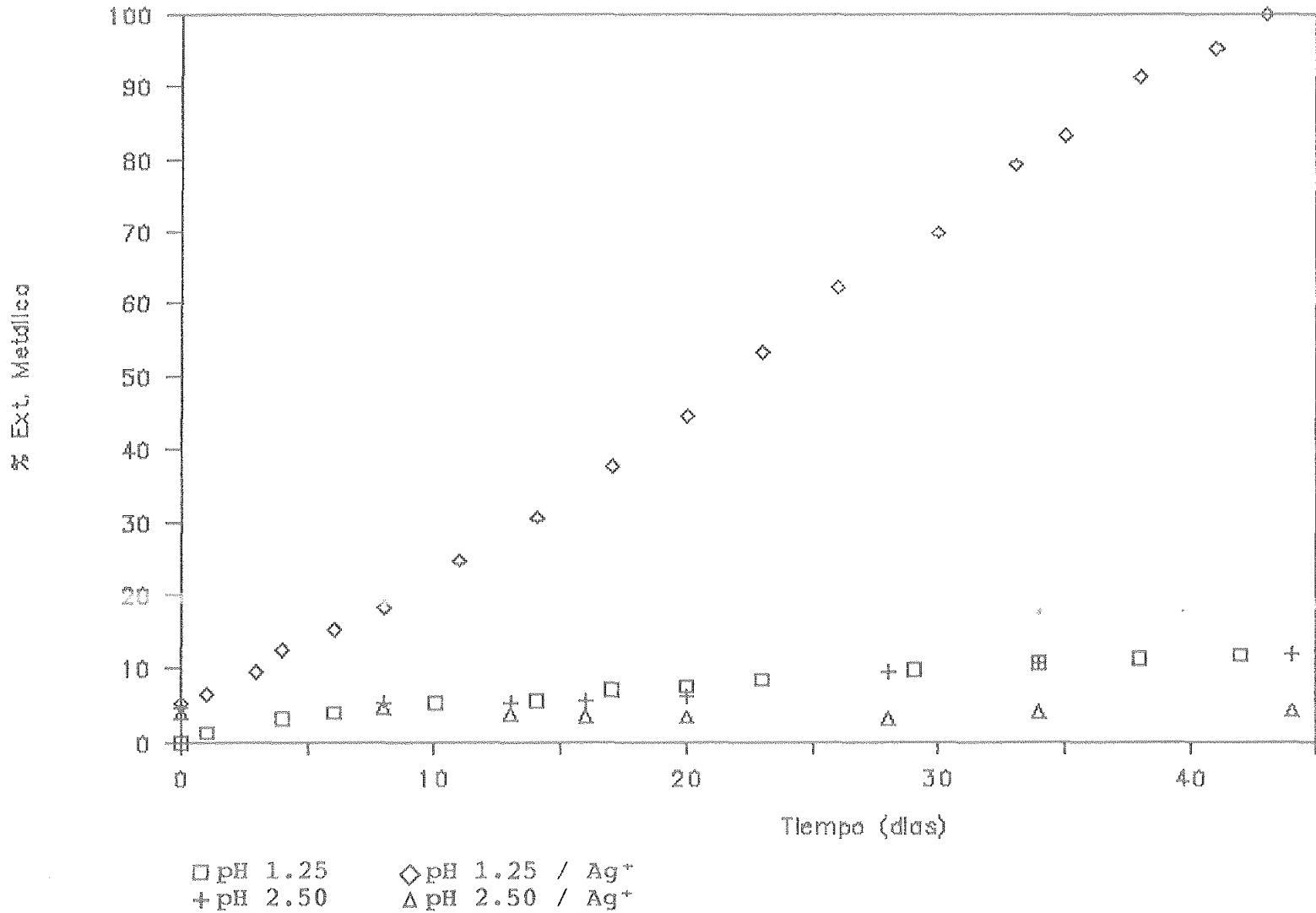


Fig. 23



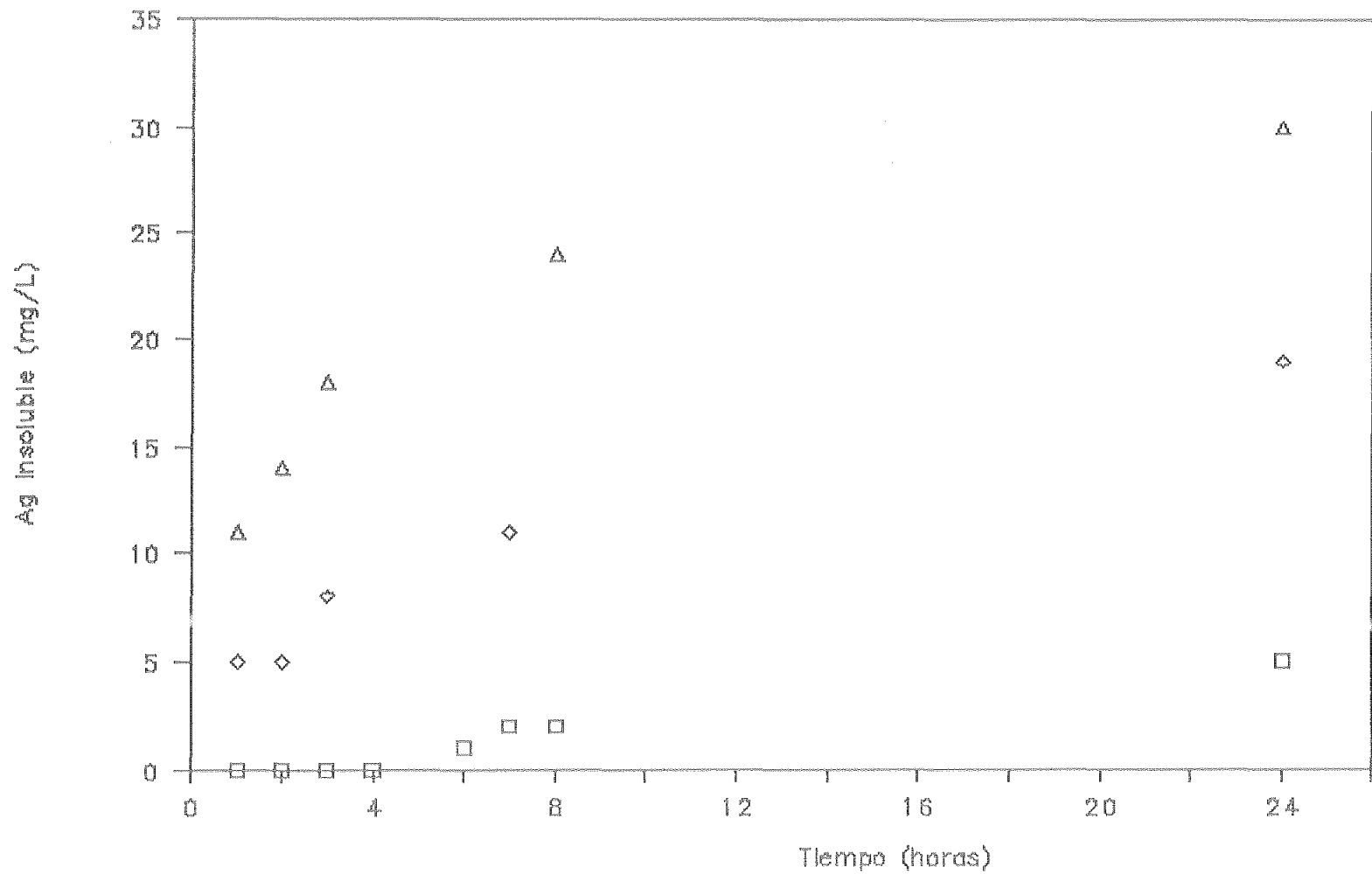


Fig. 24 Destrucción de complejos Ag-Tiosulfato  
Relaciones Ag/Tiosulfato :  $\Delta$  1:1  $\diamond$  1:1.5  $\square$  1:2

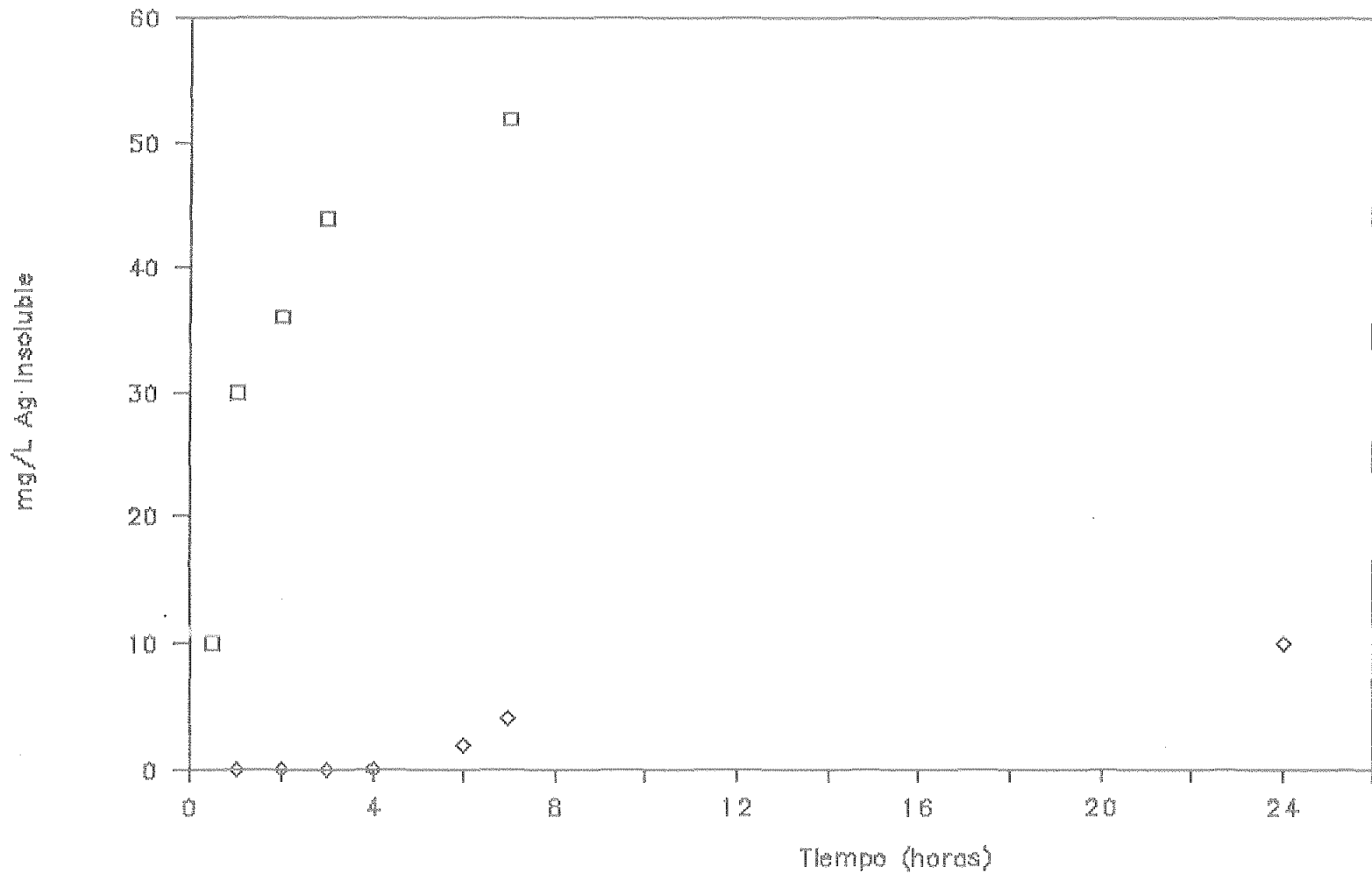


Fig. 25 Destrucción de complejos Ag-Tiosulfato en contacto con calcopirita  
◇ Ag-Tiosulfato    □ Ag-Tiosulfato-calcopirita

## 5.5 Determinación de las condiciones óptimas para la lixiviación bacteriana de calcopirita

### 5.5.1 Diseño factorial 2<sup>3</sup>

Para la fase decisiva del estudio sobre el efecto catalítico del ión  $\text{Ag}^+$  sobre la lixiviación microbiana de la calcopirita se decidió, tras los estudios anteriores, que las variables que en principio van a ser estudiadas son el pH y la concentración de catalizador. Se consideró también la necesidad de determinar el efecto de la concentración inicial del agente oxidante  $\text{Fe}^{3+}$ , que es realmente el desencadenante de la reacción de disolución de la calcopirita.

La estrategia que se siguió es la anteriormente explicada del diseño factorial, ensayándose inicialmente el modelo 2<sup>3</sup>, tres variables a dos niveles. Los valores elegidos para la realización del plan factorial 2<sup>3</sup> fueron los siguientes :

| <u>Variable</u>               | <u>Nivel Bajo</u> | <u>Nivel Alto</u> |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|
| pH                            | 1.25              | 1.75              |
| $[\text{Fe}^{3+}]_i$ (g/L)    | 2                 | 8                 |
| $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ (mg) | 76                | 156               |

En todas las pruebas se mantuvo constante la temperatura a 35°C, la densidad de pulpa inicial fué del 8% y se

inocularon todos los reactores con 50 ml de un cultivo de *Thiobacillus ferrooxidans* crecido sobre  $Fe^{2+}$  de ocho días de vejez adaptado al pH de trabajo. El detalle de las condiciones de operación de cada uno de los reactores se dan en la tabla XXI. Los resultados obtenidos se dan en las tablas XXII - XXIX y sus representaciones gráficas en las figuras 26 - 33.

Como respuesta del sistema para la función de ajuste del plan factorial  $2^3$  se eligió el porcentaje de extracción de cobre a los 38 días del comienzo de la prueba. La elección del porcentaje de extracción de cobre como respuesta del sistema se hizo en base a que es el parámetro que mejor caracteriza el proceso de disolución de un mineral de cobre como es la calcopirita. La elección del tiempo de 38 días se hizo porque este es el tiempo que se tarda en disolver toda la calcopirita en las mejores condiciones ensayadas.

Siguiendo el método desarrollado por Box y Hunter (138), explicado anteriormente en el apartado 4.2, se construye con la matriz de las respuestas del sistema :

$$Y = \begin{bmatrix} 61.22 \\ 31.98 \\ 98.11 \\ 34.40 \\ 69.08 \\ 31.69 \\ 93.66 \\ 33.72 \end{bmatrix}$$

siendo

$$X' = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ -1 & 1 & -1 & 1 & -1 & 1 & -1 & 1 \\ -1 & -1 & 1 & 1 & -1 & -1 & 1 & 1 \\ -1 & -1 & -1 & -1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 & -1 & 1 \\ 1 & -1 & 1 & -1 & -1 & 1 & -1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & -1 & 1 & 1 \\ -1 & 1 & 1 & -1 & 1 & -1 & -1 & 1 \end{bmatrix}$$

y como quedó reflejado anteriormente, la matriz de los coeficientes B es

$$B = \left[ X'X \right]^{-1} X' Y$$



$$B = \begin{bmatrix} 56.73 \\ -23.78 \\ 8.24 \\ 0.30 \\ -7.12 \\ -0.54 \\ -1.58 \\ 1.49 \end{bmatrix}$$

Una vez obtenidos los coeficientes, el siguiente paso es determinar cuál o cuales de ellos son significativos. Para ello se eligió como método de contraste la comparación con la F de Fisher; realmente el coeficiente no se compara con la F de Fisher sino con una relación de varianzas para cada coeficiente. Esta relación es

$$R = \frac{A_{b_i}}{S^2_{P_e}}$$

donde  $A_{b_i}$  es la contribución del coeficiente  $b_i$  al modelo y  $S^2_{P_e}$  es la varianza por puro error.

Para el cálculo de la varianza por puro error se hicieron cuatro repeticiones en el centro de la cuales se desechó una en que claramente se había cometido un error experimental grave en el transcurso de la prueba (aproximadamente hacia los doce días, ya que hasta ese momento los resultados obtenidos

eran parecidos).

Las pruebas de repeticiones en el centro fueron llevadas a cabo a pH 1.50, concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$  de 5 g/L y 116 mg de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ , que son justamente los valores medios del rango de trabajo. Los resultados corresponden a los reactores numerados como R-20, R-24, R-36 y R28 y arrojaron para tres de ellos los resultados de 54.80%, 54.78% y 53.00% de extracción de cobre.

La varianza se define como

$$\sigma = \sum_i \frac{(y_i - \bar{y})^2}{r - 1}$$

donde  $\bar{y}$  es la media de las respuestas consideradas,  $y_i$  cada una de las respuestas y  $r$  el número de experiencias. Operando se obtiene un valor medio de las respuestas de  $\bar{y} = 54.19$ . Sustituyendo se obtiene un valor para la varianza de  $\sigma = 1.07$

Cada uno de los  $A_{b_i}$  son los sumandos correspondientes al producto  $B'X'Y$ . Los valores que se obtienen operando son los que se dan a continuación

$$\begin{array}{lll} A_{b_0} = 25747.5 & A_{b_1} = 4524.8 & A_{b_2} = 543.2 \\ A_{b_3} = 0.73 & A_{b_{12}} = 405.9 & A_{b_{13}} = 2.36 \\ A_{b_{23}} = 20.06 & A_{b_{123}} = 17.76 & \end{array}$$

a partir de los cuales se obtienen los  $R_i$



$$\begin{array}{llll}
R_0 & = & 24063.1 & R_1 & = & 4228.7 & R_2 & = & 507.6 \\
R_3 & = & 0.72 & R_{12} & = & 379.4 & R_{13} & = & 2.20 \\
R_{23} & = & 18.74 & R_{123} & = & 16.59 & & & 
\end{array}$$

Comparando estos valores con la F de Fisher para dos grados de libertad y un grado de significación del 95% cuyo valor es

$$F(1,2,95\%) = 18.51$$

resultan ser significativos los coeficientes siguientes

$$b_0 \quad b_1 \quad b_2 \quad b_{12} \quad b_{23}$$

que son los únicos mayores que la F de Fisher, por tanto la ecuación que describe el proceso será :

$$y = 56.73 - 23.78 x_1 + 8.24 x_2 - 7.12 x_1 x_2 - 1.58 x_2 x_3$$

Para que esta ecuación pueda representar el ajuste de un modelo lineal al sistema hace falta que el modelo supere la prueba de ajuste lo cual da una idea de como representa el modelo lineal al sistema. La prueba de ajuste sólo se hace con los coeficientes significativos, proporcionando el ajuste del modelo la relación

$$R = \frac{S^2_{total}}{S^2_{pe}}$$

siendo

$$S^2_{total} = \frac{e' e}{n - p}$$

donde n el número de experiencias, p el número de coeficientes significativos y e'e la diferencia

$$e' e = Y'Y - B'X'Y$$

conocidos ambos productos cuyos valores son

$$Y'Y = 31265.07$$

$$B'X'Y = 31262.39$$

se tendrá e'e = 2.68 y, por tanto, el valor de  $S^2_{total}$  será

$$S^2_{total} = 0.9$$

siendo R

$$R = 0.9 / 1.07 \approx 1$$

El modelo lineal describe perfectamente la relación entre las variables elegidas como variables influyentes y las respuestas alcanzadas con las respectivas combinaciones.

La ecuación anteriormente expresada es la llamada ecuación codificada, que expresa la respuesta del sistema cuando se expresan las variables en sus valores codificados. Si se quiere expresar la ecuación de tal manera que se tenga la respuesta del sistema cuando se sustituyan los valores físicos de las variables, habrá que descodificar la ecuación

aplicando la ecuación 14 expresada en la explicación del método del diseño factorial. De la aplicación de dicha ecuación se obtiene esta otra en forma descodificada

$$Y = 106.8 - 47.6 X_1 + 18.5 X_2 + 0.07 X_3 - 9.5 X_1 X_2 - 0.01 X_2 X_3$$

donde  $X_1$  es pH,  $X_2$  es  $[Fe^{3+}]$  inicial y  $X_3$  es cantidad de sulfato de plata añadida al reactor.

Esta ecuación indica que son significativas las tres variables que en el plan de estrategia se habían elegido como variables que pudieran influir en el sistema. No obstante, a la vista de los coeficientes, resultan ser muy importantes el pH y la concentración inicial de  $Fe^{3+}$  y menos importante la cantidad de  $Ag^+$  en el medio de lixiviación. La importancia del pH confirma los resultados hallados en las pruebas preliminares en las cuales se habían comprobado una gran diferencia de rendimiento en las pruebas efectuadas a valores de pH de 1.25 y 2.50, y que sugieren el mecanismo de ataque indirecto como explicación de la rápida disolución de la calcopirita.

La ecuación indica que cuanto menor es el pH, a igualdad de valores de las otras variables, mayor es la respuesta del sistema, variando rápidamente ésta con diferencias pequeñas de pH, debido al coeficiente con que contribuye el pH a la ecuación.

La concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$  es el otro factor que contribuye de manera importante en la ecuación de la respuesta del sistema. De ella se deduce que cuanto mayor sea la concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$ , mayor será la respuesta del sistema puesto que el coeficiente  $b_2$  en la ecuación es positivo. Esto es absolutamente cierto si el pH del sistema es tal que permite que todo el  $\text{Fe}^{3+}$  inicialmente añadido se mantenga disuelto y ejerciendo su efecto oxidante sobre la calcopirita; este efecto no se daría si el pH fuese tal que aunque se añadiese una gran cantidad de  $\text{Fe}^{3+}$  al comienzo de la prueba, parte del mismo precipitara no estando disponible para la reacción química de ataque a la calcopirita. Por ello debe haber, en la ecuación química que se propone como ajuste del modelo, un término que englobe el efecto combinado de pH y concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$ ; este término es el término cruzado  $X_1X_2$ . Este término no puede ser evualuado aisladamente sino que debe serlo conjuntamente con los términos en  $X_1$  y  $X_2$ . Para un valor fijo de la cantidad de plata presente en el medio de lixiviación un pequeño aumento en el pH hace que haya de aumentarse considerablemente la cantidad de  $\text{Fe}^{3+}$  inicialmente puesta para conseguir la misma respuesta del sistema.

En cuanto a la cantidad de plata presente en el sistema como catalizador aparece en un término de la ecuación, aunque es un término con poco peso en la respuesta total del sistema. Esto confirma los resultados exploratorios obtenidos en los

que se vió que la presencia de plata en el medio de lixiviación es esencial pero no es tan importante la cantidad en la que se halle presente. En la ecuación existe un término cruzado entre la cantidad de plata y la concentración inicial de  $Fe^{3+}$ . Este término, al igual que sucediera en los anteriormente comentados, no puede ser considerado aisladamente sino que debe ser evaluado conjuntamente con el término en  $X_2$ . Su interpretación es que para un valor fijo de pH el mantenimiento de una respuesta constante exige que una elevación sustancial de la cantidad de  $Ag^+$  sea acompañada por una elevación pequeña de la concentración de  $Fe^{3+}$ .

Anteriormente se indicó que la respuesta del sistema es mayor cuanto menor sea el pH. Esto haría pensar que ha de trabajarse a un pH muy bajo, tan bajo como se pueda. Sin embargo, hay un límite que viene dado por la singularidad del sistema, que incluye la utilización de una bacteria, el *Thiobacillus ferrooxidans*. Esta bacteria aunque es acidófila, tiene inhibido su crecimiento a valores de pH cercano a 1.0, por tanto el valor de 1.25 puede ser considerado como el valor óptimo de operación (o muy cercano al mismo).

En cuanto a la plata a añadir al sistema, se ha indicado que su importancia estriba no en la cantidad, sino en su presencia, de manera que en lo sucesivo se va a operar con la menor cantidad de plata que se ha utilizado durante la fase de ajuste un modelo lineal : 76 mg de sulfato de plata.

De las variables estudiadas se consideran optimadas el pH y la cantidad de  $\text{Ag}^+$  a añadir por las razones esgrimidas anteriormente y se considera que es posible optimar la concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$ . En el ajuste a un modelo lineal se fijó la densidad de pulpa al 8%; este valor no fue fijado al azar sino que fue elegido como resultado de la experiencia previa que se tiene de sistemas de lixiviación microbiiológica de minerales sulfurados y se consideró que era un valor suficientemente cercano al posible valor óptimo. No obstante, en este momento en el que se trata de determinar el nivel óptimo de cada factor parece importante incluir la densidad de pulpa como una variable a optimar, juntamente con la concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$ , en un diseño factorial de dos variables a tres niveles.

Diseño Factorial 2<sup>3</sup>

|           |                                  |            |             |
|-----------|----------------------------------|------------|-------------|
| Variables | pH                               | Constantes | Temperatura |
|           | [Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> |            | ml Inóculo  |
|           | Ag <sup>+</sup> añadida          |            | Dens. Pulpa |

Variables Codificadas

|                                  | X <sub>1</sub> (-1) | X <sub>2</sub> (+1) |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|
| pH                               | 1.25                | 1.75                |
| [Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> | 2 g/L               | 8 g/L               |
| Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | 76 mg               | 156 mg              |

| Reactor Num | pH   | [Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> (g/L) | Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> mg |
|-------------|------|--|------------------------------------|
| 21          | 1.25 | 2                                      | 76                                 |
| 17          | 1.75 | 2                                      | 76                                 |
| 22          | 1.25 | 8                                      | 76                                 |
| 18          | 1.75 | 8                                      | 76                                 |
| 25          | 1.25 | 2                                      | 156                                |
| 27          | 1.75 | 2                                      | 156                                |
| 19          | 1.25 | 8                                      | 156                                |
| 23          | 1.75 | 8                                      | 156                                |

Repeticiones en el centro

|             |      |   |     |
|-------------|------|---|-----|
| 20 24 26 28 | 1.50 | 5 | 116 |
|-------------|------|---|-----|

Reactor Num 17

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.75 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.75

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 2.00              | 0.00           | 0.00                           | 0.00           |
| 2           | 4.00              | 5.63           | 1.08                           | 5.37           |
| 5           | 5.00              | 9.69           | 1.64                           | 8.14           |
| 9           | 5.75              | 12.69          | 2.46                           | 12.17          |
| 12          | 6.31              | 14.89          | 3.12                           | 15.38          |
| 16          | 7.31              | 18.05          | 3.81                           | 17.91          |
| 19          | 7.87              | 20.10          | 4.25                           | 19.88          |
| 23          | 8.68              | 23.09          | 5.12                           | 23.84          |
| 26          | 9.12              | 24.62          | 5.37                           | 24.88          |
| 30          | 9.18              | 24.72          | 5.87                           | 27.07          |
| 33          | 9.31              | 25.07          | 6.38                           | 29.28          |
| 38          | 10.37             | 28.96          | 7.00                           | 31.98          |



TABLA XXIII

Reactor Num 18

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.75 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.75

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>1</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 8.00              | 0.00           | 0.01                           | 0.04           |
| 2           | 12.93             | 19.86          | 1.56                           | 7.76           |
| 5           | 10.62             | 10.15          | 2.12                           | 10.53          |
| 9           | 11.12             | 12.08          | 3.06                           | 15.13          |
| 12          | 11.37             | 12.98          | 3.56                           | 17.52          |
| 16          | 13.18             | 19.32          | 4.43                           | 20.80          |
| 19          | 14.43             | 23.94          | 5.18                           | 24.19          |
| 23          | 14.25             | 23.02          | 5.87                           | 27.26          |
| 26          | 13.93             | 21.67          | 6.31                           | 29.13          |
| 30          | 15.25             | 26.52          | 6.50                           | 29.84          |
| 33          | 14.37             | 23.06          | 6.81                           | 31.13          |
| 38          | 15.93             | 28.82          | 7.56                           | 34.40          |

Reactor Num 19

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 156 mg / [Fe<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 8.00              | 0.00           | 0.02                           | 0.10           |
| 2           | 11.37             | 13.45          | 2.87                           | 14.29          |
| 5           | 12.87             | 19.39          | 4.62                           | 22.88          |
| 9           | 15.31             | 29.01          | 6.93                           | 34.08          |
| 12          | 16.56             | 33.64          | 8.75                           | 42.60          |
| 16          | 18.75             | 40.21          | 10.81                          | 49.98          |
| 19          | 20.68             | 47.15          | 12.18                          | 55.85          |
| 23          | 22.06             | 51.90          | 14.12                          | 64.23          |
| 26          | 23.56             | 57.09          | 15.37                          | 69.34          |
| 30          | 26.25             | 66.63          | 18.31                          | 81.91          |
| 33          | 28.56             | 74.59          | 21.18                          | 93.87          |
| 38          | 28.87             | 75.07          | 21.37                          | 93.66          |

TABLA XXVReactor Num 21

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 2.00              | 0.00           | 0.02                           | 0.12           |
| 2           | 4.31              | 6.91           | 1.06                           | 5.28           |
| 5           | 5.43              | 11.47          | 2.18                           | 10.85          |
| 9           | 6.56              | 15.98          | 3.50                           | 17.30          |
| 12          | 7.50              | 19.67          | 4.43                           | 21.82          |
| 16          | 9.18              | 25.21          | 6.00                           | 28.10          |
| 19          | 10.25             | 29.16          | 7.31                           | 34.01          |
| 23          | 11.87             | 35.08          | 8.68                           | 40.13          |
| 26          | 12.87             | 38.61          | 9.75                           | 44.72          |
| 30          | 13.93             | 42.35          | 11.06                          | 50.40          |
| 33          | 14.25             | 43.25          | 12.06                          | 54.58          |
| 38          | 16.56             | 51.59          | 13.62                          | 61.22          |

Reactor Num 22

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 8.00              | 0.00           | 0.01                           | 0.00           |
| 2           | 10.12             | 8.34           | 1.81                           | 9.01           |
| 5           | 11.68             | 14.32          | 3.25                           | 16.11          |
| 9           | 12.81             | 19.02          | 4.75                           | 23.42          |
| 12          | 14.68             | 26.37          | 6.93                           | 33.97          |
| 16          | 16.81             | 33.12          | 9.18                           | 42.74          |
| 19          | 21.00             | 48.74          | 12.12                          | 55.92          |
| 23          | 20.31             | 45.58          | 12.68                          | 57.98          |
| 26          | 22.68             | 54.13          | 14.87                          | 67.44          |
| 30          | 28.62             | 75.83          | 20.18                          | 90.77          |
| 33          | 29.68             | 79.02          | 22.00                          | 97.86          |
| 38          | 30.12             | 79.87          | 22.31                          | 98.11          |

TABLA XXVII

Reactor Num 23

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.75 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 156 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 8.00              | 0.00           | 0.01                           | 0.00           |
| 2           | 10.43             | 9.62           | 1.87                           | 9.32           |
| 5           | 11.12             | 12.32          | 2.62                           | 13.01          |
| 9           | 11.25             | 12.69          | 3.37                           | 16.65          |
| 12          | 12.25             | 16.61          | 4.12                           | 20.26          |
| 16          | 13.93             | 22.26          | 5.56                           | 26.02          |
| 19          | 14.25             | 23.24          | 5.75                           | 26.74          |
| 23          | 14.87             | 25.43          | 6.50                           | 30.06          |
| 26          | 14.68             | 24.52          | 6.75                           | 31.05          |
| 30          | 14.93             | 25.31          | 7.06                           | 32.32          |
| 33          | 13.18             | 18.57          | 7.12                           | 32.45          |
| 38          | 10.06             | 6.75           | 7.43                           | 33.72          |

TABLA XXVIIIReactor Num 25

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 156 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>0</sub> : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 2.00              | 0.00           | 0.03                           | 0.17           |
| 2           | 4.81              | 8.96           | 2.50                           | 12.43          |
| 5           | 5.93              | 13.50          | 2.68                           | 13.30          |
| 9           | 6.81              | 16.96          | 3.81                           | 18.79          |
| 12          | 8.06              | 21.90          | 4.93                           | 24.21          |
| 16          | 9.75              | 27.32          | 6.50                           | 30.34          |
| 19          | 11.00             | 31.89          | 9.06                           | 42.02          |
| 23          | 12.43             | 37.12          | 9.62                           | 44.27          |
| 26          | 13.37             | 40.40          | 10.50                          | 47.96          |
| 30          | 14.93             | 46.00          | 12.18                          | 55.30          |
| 33          | 15.68             | 48.50          | 13.06                          | 58.84          |
| 38          | 18.56             | 58.84          | 15.43                          | 69.04          |

TABLA XXIXReactor Num 27

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.75 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml Cultivo FN adapt pH 1.75

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 156 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 0           | 2.00              | 0.00           | 0.02                           | 0.09           |
| 2           | 4.75              | 8.70           | 0.87                           | 4.35           |
| 5           | 5.12              | 10.18          | 1.87                           | 9.30           |
| 9           | 5.50              | 11.65          | 2.37                           | 11.75          |
| 12          | 6.18              | 14.37          | 3.00                           | 14.79          |
| 16          | 7.18              | 17.55          | 3.93                           | 18.51          |
| 19          | 7.50              | 18.65          | 4.25                           | 19.89          |
| 23          | 7.87              | 19.98          | 4.75                           | 22.12          |
| 26          | 8.68              | 22.97          | 5.56                           | 25.78          |
| 30          | 9.31              | 25.23          | 6.00                           | 27.67          |
| 33          | 9.25              | 24.86          | 6.31                           | 28.97          |
| 38          | 10.25             | 28.52          | 6.93                           | 31.69          |

# Reactor Num. 17

162

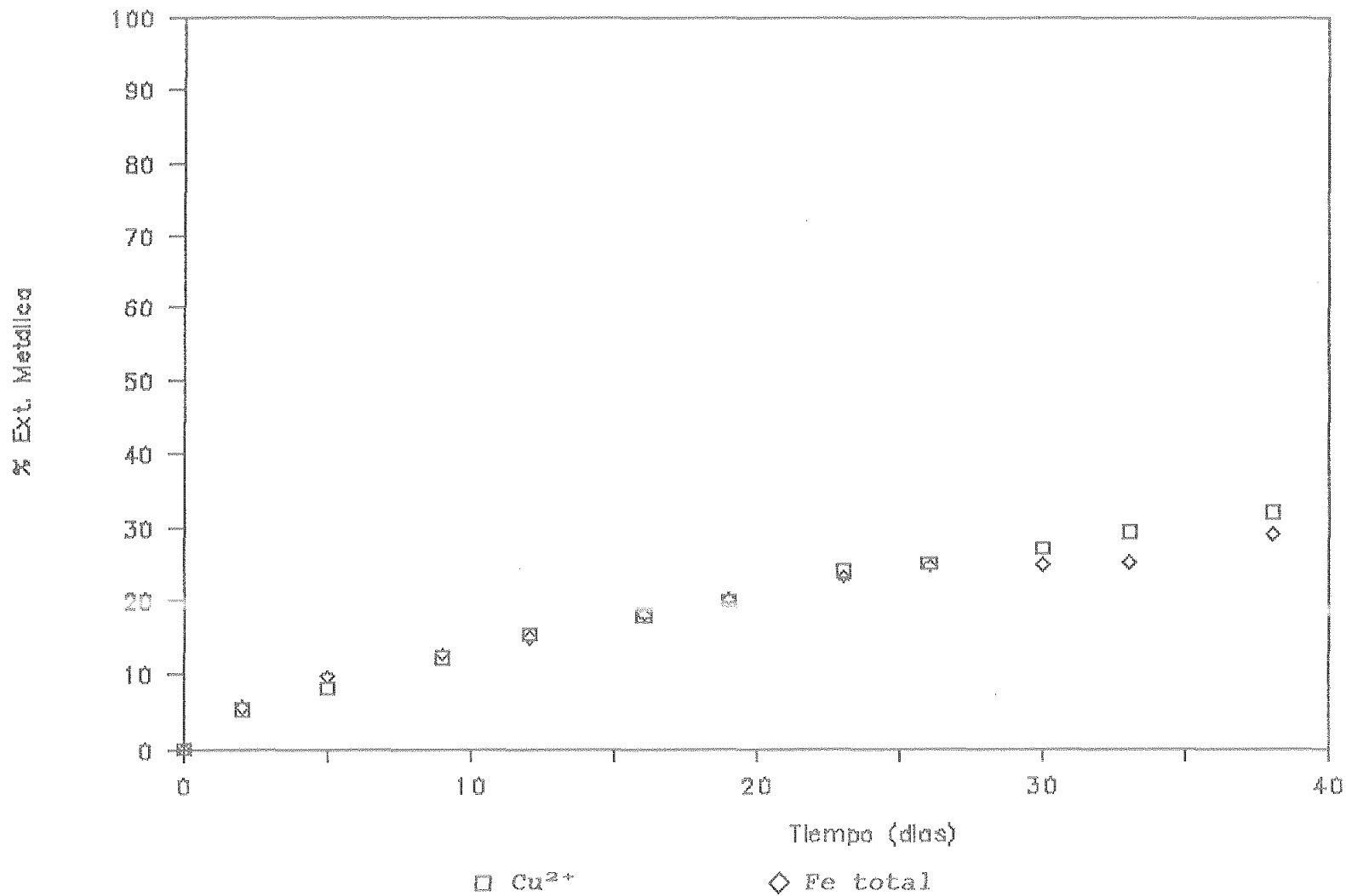


Fig. 26



# Reactor Num. 18

163

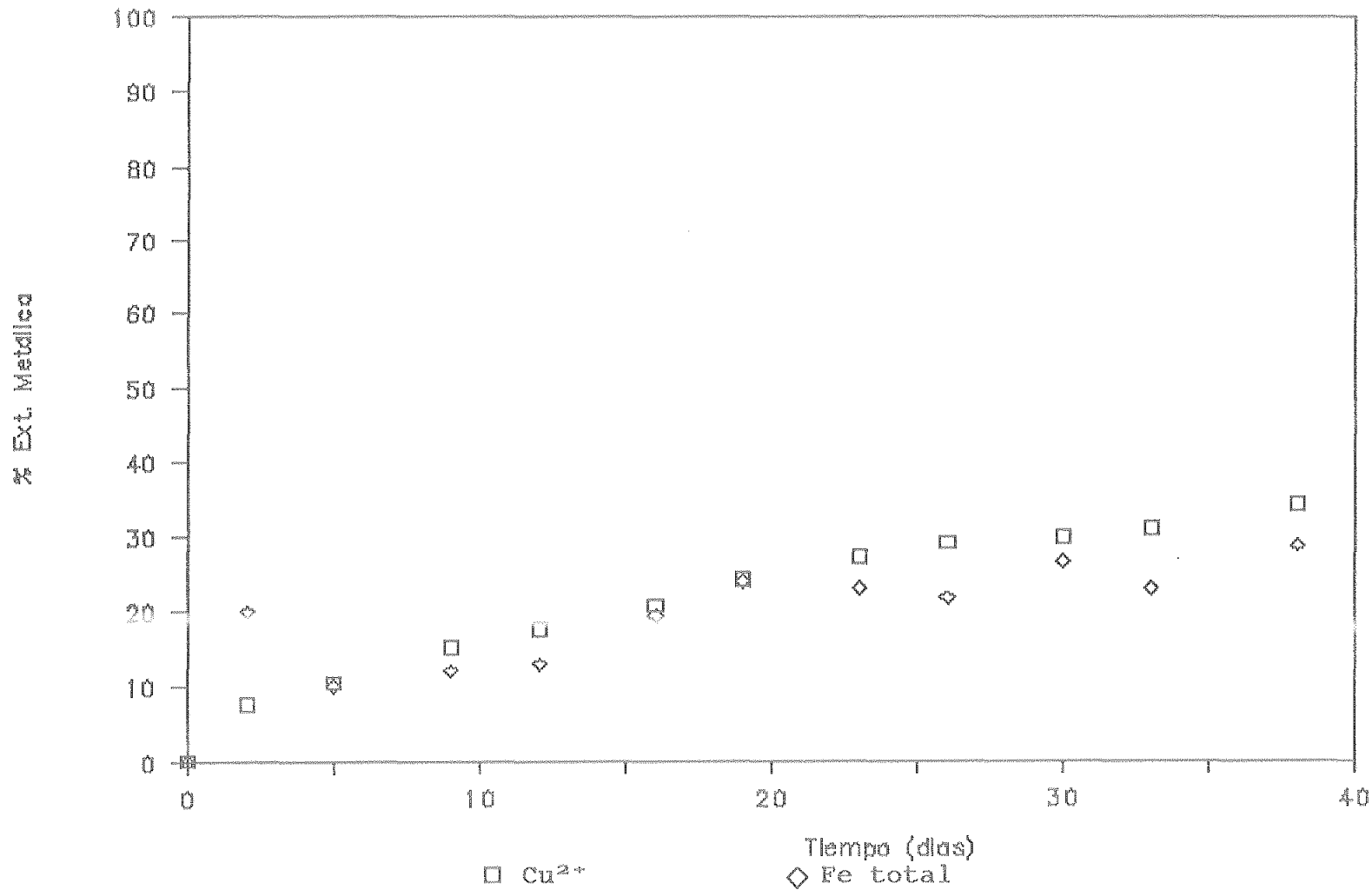


Fig. 27

# Reactor Num. 19

164

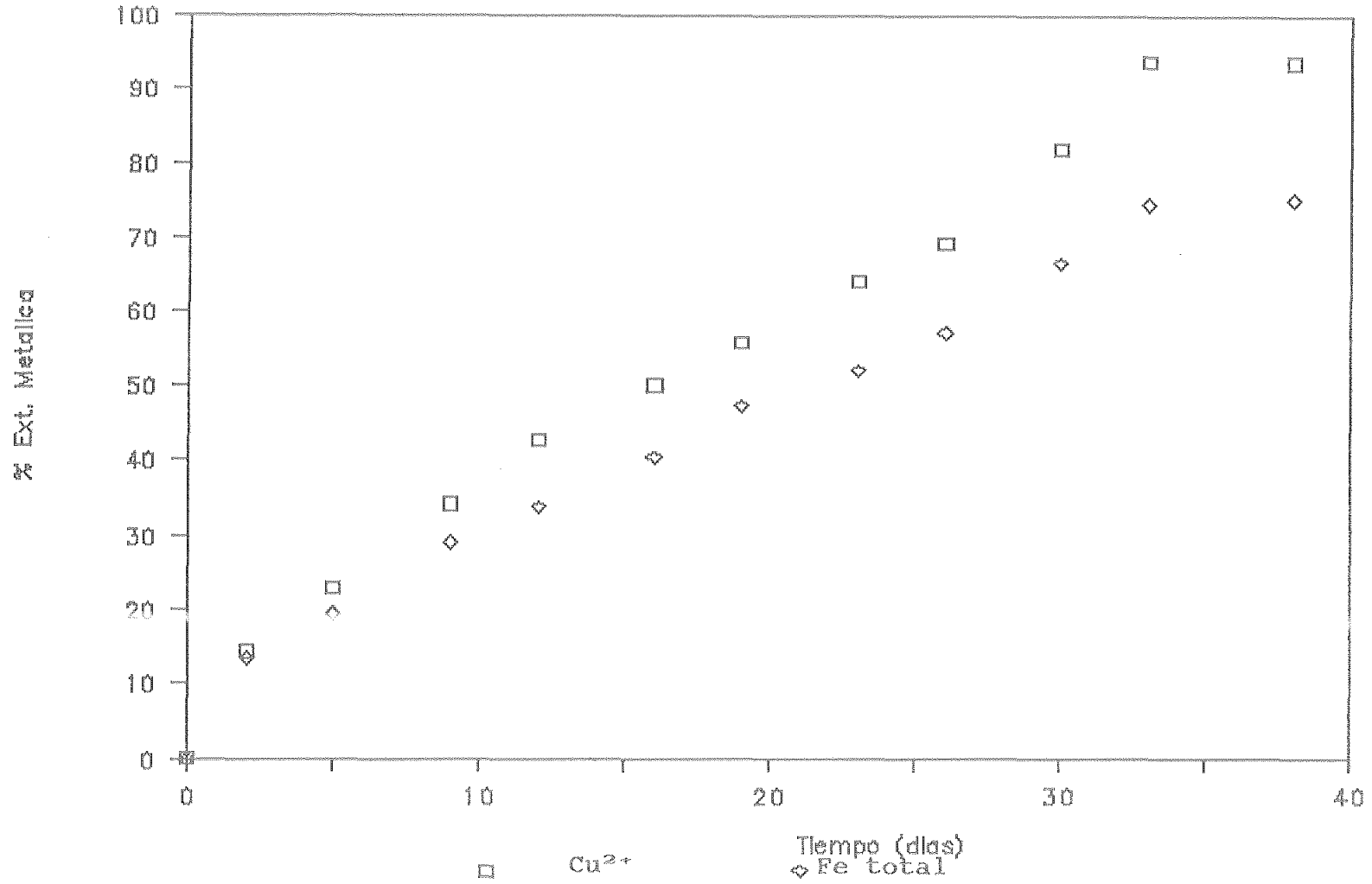


Fig. 28

# Reactor Num. 21

165

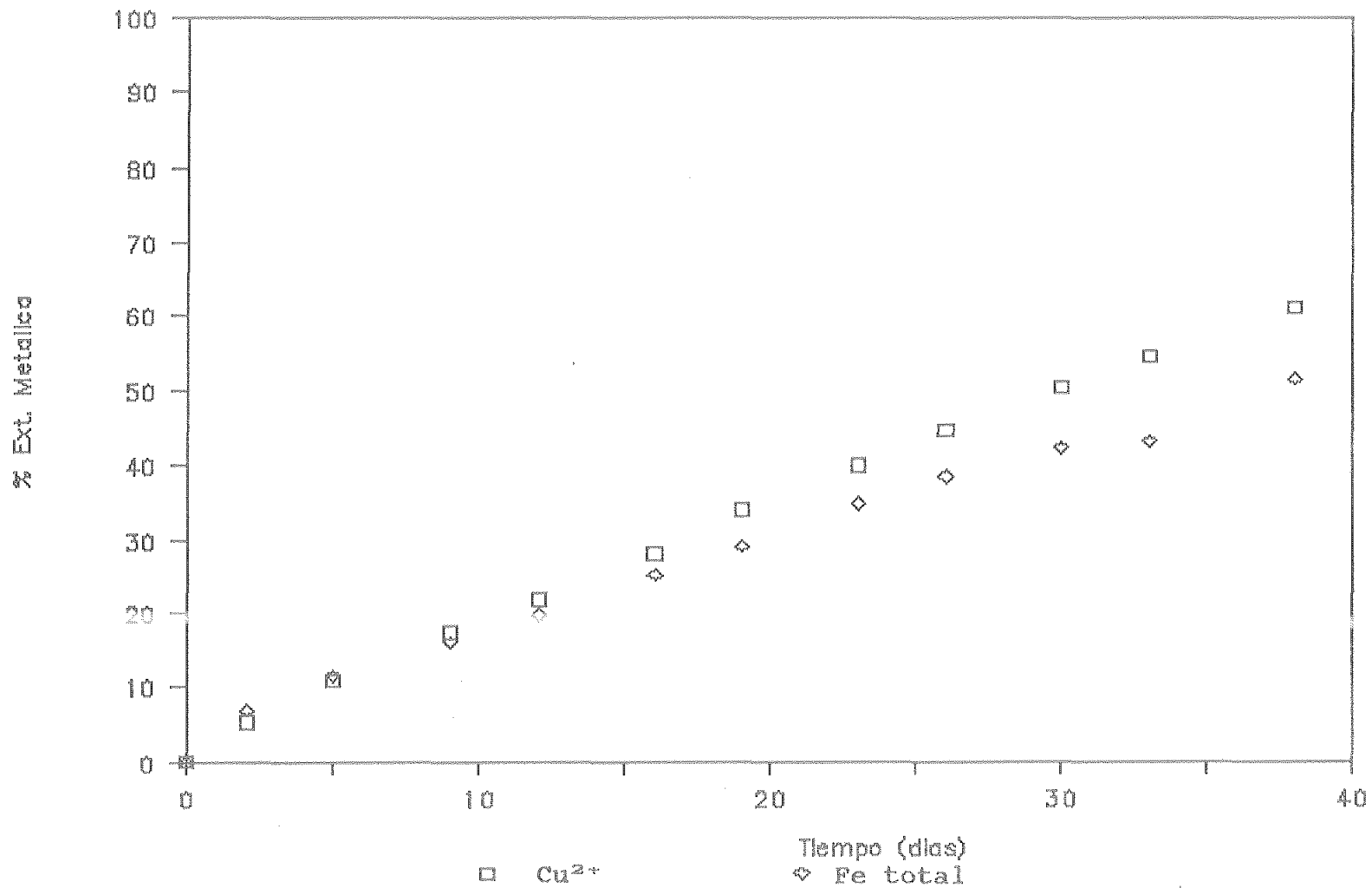


Fig. 29

# Reactor Num. 22

166

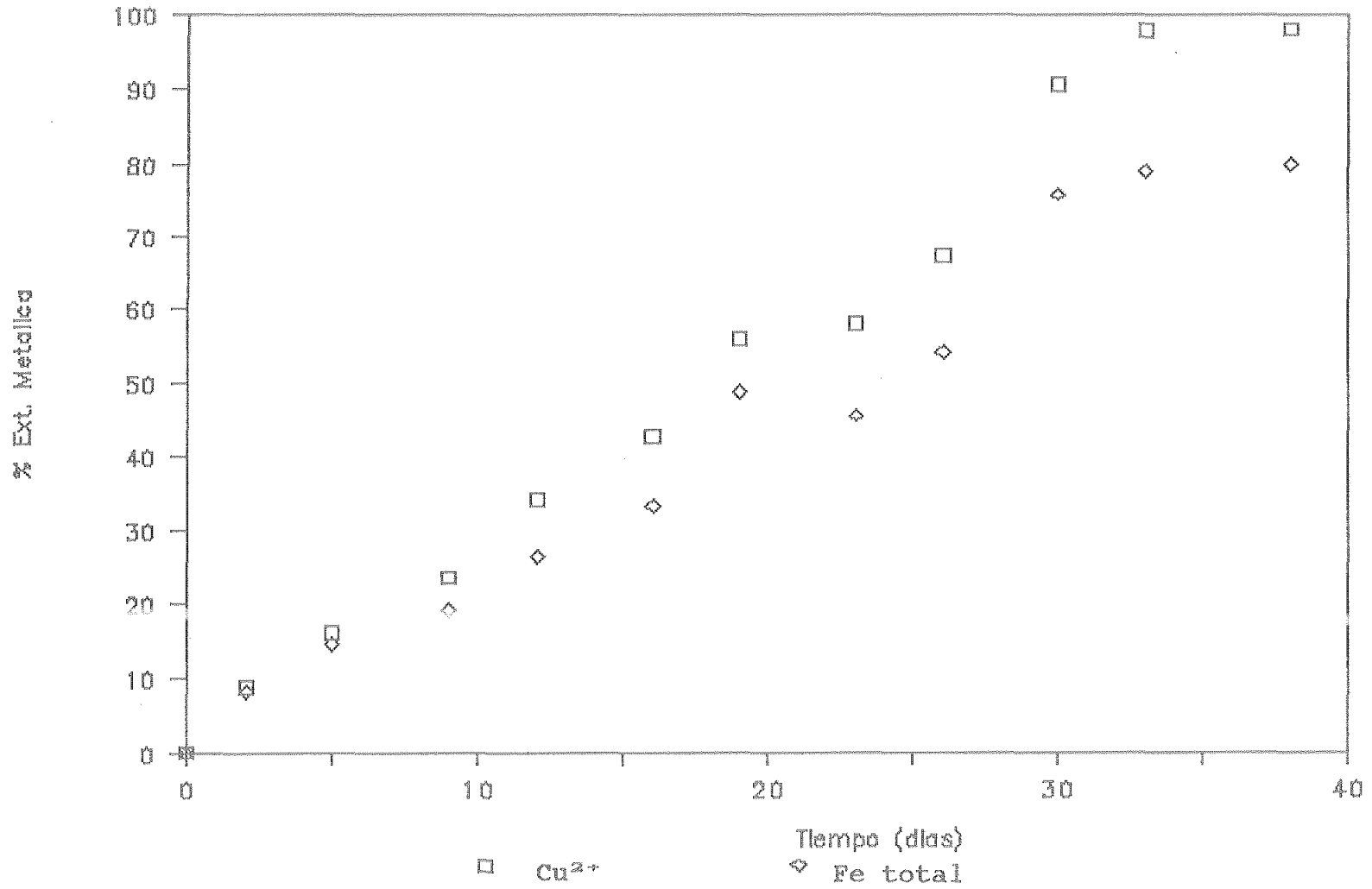


Fig. 30

# Reactor Num. 23

167

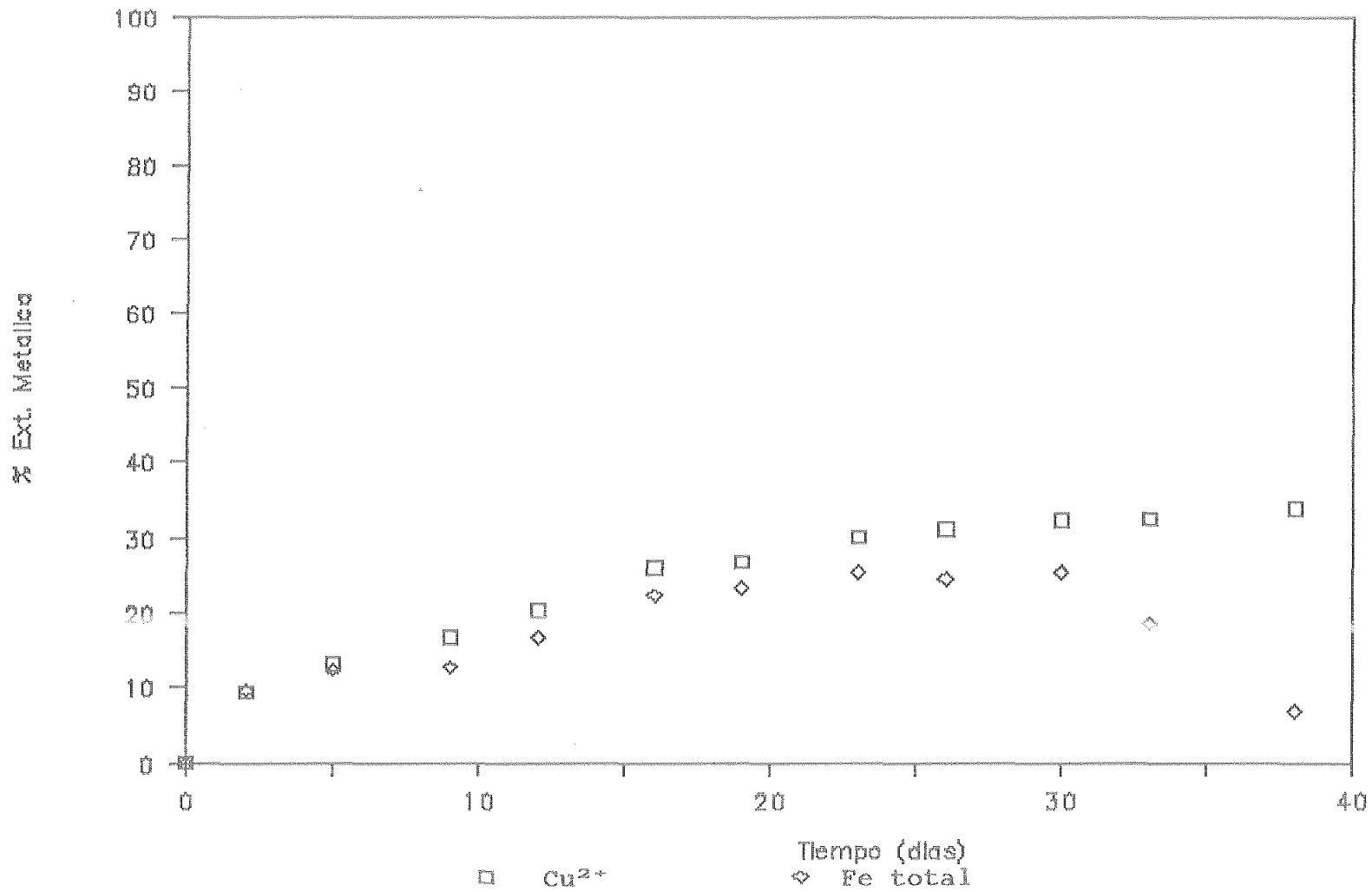


Fig. 31

# Reactor Num. 25

168

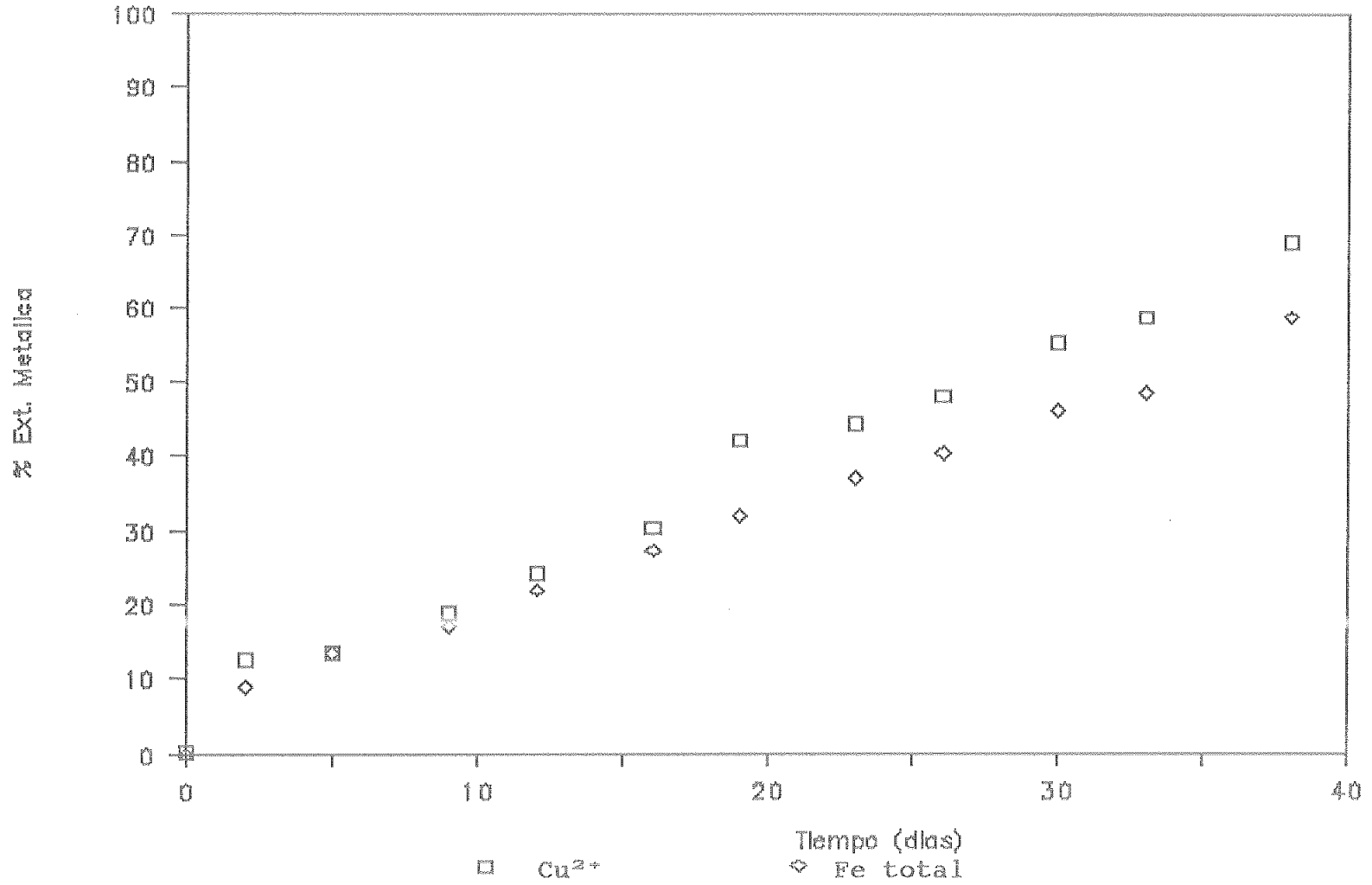


Fig. 32

# Reactor Num. 27

169

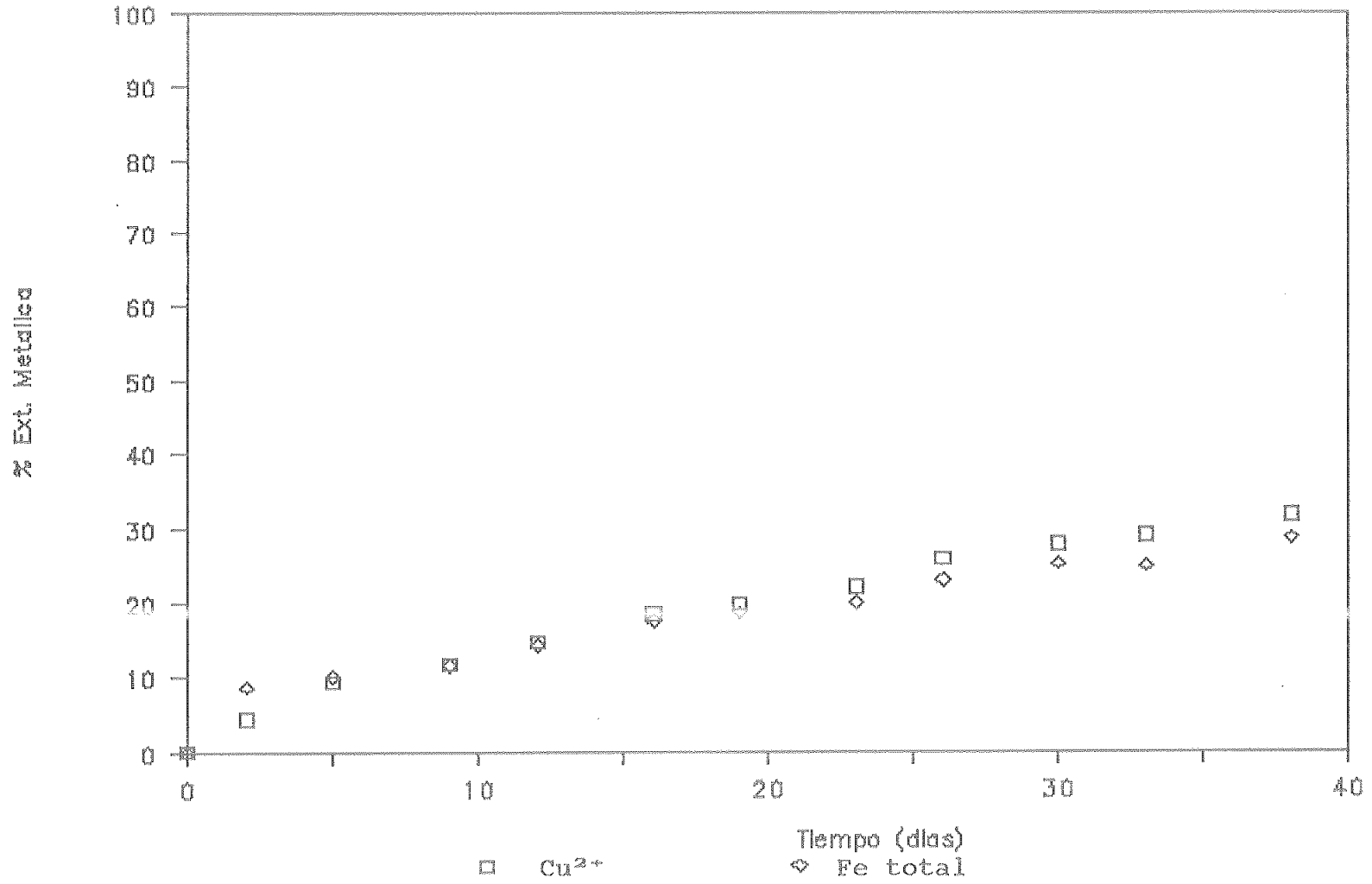


Fig. 33

### 5.5.2 Diseño factorial 3<sup>2</sup>

Para las pruebas de este diseño factorial se mantuvieron constantes la temperatura, la cantidad de inóculo y la relación plata / calcopirita, es decir, miligramos de plata como sulfato / gramos de calcopirita. Esta cantidad se fijó a 9.5 mg de Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por cada 1% de densidad de pulpa.

Como variables se ensayaron la densidad de pulpa y la concentración inicial de Fe<sup>3+</sup> con los valores que se detallan a continuación

| <u>Variable</u>                  | <u>Nivel Bajo</u> | <u>Nivel Medio</u> | <u>Nivel Alto</u> |
|----------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| D <sub>p</sub>                   | 2%                | 8%                 | 14%               |
| [Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> | 2 g/L             | 8 g/L              | 14 g/L            |

Los detalles de las condiciones de operación de cada uno de los reactores se dan en la tabla XXX. Los resultados se dan en las tablas XXXI - XXXVIII y sus representaciones gráficas en las figuras 34 - 41.

Se eligió como respuesta del sistema para la función de ajuste del plan factorial 3<sup>2</sup> el número de gramos de cobre extraído a los catorce días. La razón de esta elección es la misma que la explicada anteriormente para el plan factorial 2<sup>3</sup>. Siguiendo el método desarrollado por Box y Hunter (138) se construye la matriz Y con las respuestas del sistema en las



distintas condiciones experimentales.

$$Y = \begin{bmatrix} 1.81 \\ 2.76 \\ 2.35 \\ 2.57 \\ 3.95 \\ 3.55 \\ 2.50 \\ 4.97 \\ 4.46 \end{bmatrix}$$

siendo

$$B = \left[ X'X \right]^{-1} X' Y$$

y

$$X = \begin{bmatrix} 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & -1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & 1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

operando se llega a obtener la matriz de los coeficientes B :

$$B = \begin{bmatrix} 4.037 \\ 0.580 \\ 0.835 \\ -1.020 \\ -0.215 \\ 0.355 \end{bmatrix}$$

por tanto la ecuación de la superficie será

$$y = 4.037 + 0.58 x_1 + 0.835 x_2 - 1.020 x_1^2 - 0.215 x_2^2 + 0.355 x_1 x_2$$

expresada en valores codificados. Descodificando la ecuación se tiene

$$Y = 0.59 + 0.47 X_1 + 0.16 X_2 - 0.03 X_1^2 - 0.006 X_2^2 + 0.01 X_1 X_2 \quad (20)$$

donde  $X_1$  es la densidad de pulpa y  $X_2$  es la concentración inicial de  $Fe^{3+}$ .

La representación gráfica de esta ecuación se da en la figura 42. De esta figura se pueden obtener las combinaciones de densidad de pulpa y concentración inicial de  $Fe^{3+}$  necesarias para alcanzar una respuesta determinada. Cada una

de las líneas dibujadas correspondería a secciones longitudinales de una superficie como la esquemáticamente se representa en la figura 43, siendo la superficie S en dicha figura la superficie que representa la ecuación 20.

Cada una de las líneas dibujadas corresponde a líneas en las que se obtiene el mismo rendimiento del sistema con distintas combinaciones de densidad de pulpa y concentración inicial de  $Fe^{3+}$ . La distancia relativa entre las distintas líneas de isorendimiento nos da una idea de la pendiente de la superficie representada. Así la pendiente es muy alta en la zona de la superficie correspondiente a bajos rendimientos, lo cual indica que con pequeñas variaciones de la concentración inicial de  $Fe^{3+}$  y/o de densidad de pulpa el rendimiento aumenta considerablemente en términos relativos. La pendiente va decreciendo paulatinamente a medida que nos situamos en una zona de rendimiento mas alta, y así se puede ver que el paso de la línea de rendimiento tres a la de rendimiento cuatro y de ésta a la de rendimiento cinco es un paso suave, lo que indica que se está llegando a la región cercana a la respuesta máxima, por lo que hacen falta cambios relativamente grandes en densidad de pulpa y/o en concentraciones iniciales de  $Fe^{3+}$  para obtener un pequeño cambio en la respuesta del sistema.

A partir de la ecuación 20 pueden obtenerse las condiciones experimentales en las que se obtendría la respuesta máxima. En efecto, derivando parcialmente con respecto a la densidad de pulpa y a la concentración inicial

de  $\text{Fe}^{3+}$  se tiene :

$$\frac{\delta Y}{\delta D_p} = 0.47 - 0.06 D_p + 0.01 [\text{Fe}^{3+}]_i$$

$$\frac{\delta Y}{\delta [\text{Fe}^{3+}]_i} = 0.16 - 0.012 [\text{Fe}^{3+}]_i + 0.01 D_p$$

igualando a cero estas ecuaciones y sustituyendo se obtiene que la respuesta es máxima para una densidad de pulpa del 11.67% y una concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$  de 23.04 g/L. Sustituyendo estos valores en la ecuación 20 se obtiene la máxima respuesta obtenible del sistema, la cual resulta ser de 5.18 g de cobre extraídos a los catorce días.

El análisis de la superficie de respuesta resulta mas cómodo y mas fácil hacerlo a través de la ecuación canónica de la superficie. La ecuación canónica de la superficie no es mas que la ecuación de la superficie de respuesta en función de unos nuevos ejes coordenados cuyo origen está precisamente en el óptimo. La forma general de la ecuación canónica es

$$Y - Y_M = \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2$$

donde  $\beta_{11}$  y  $\beta_{22}$  son las coordenadas de cualquier punto de la superficie respecto al nuevo sistema de ejes coordenados.  $Y_M$  es la respuesta máxima del sistema y,  $x_1$  y  $x_2$  son las nuevas

variables del nuevo sistema de ejes coordenados. Siguiendo el procedimiento de Box y Wilson (134) se tiene que la ecuación canónica es

$$Y - 5.18 = -0.031 x_1^2 - 0.005 x_2^2 \quad (21)$$

La representación gráfica de esta ecuación se da en la figura 44. En ella se observa que los contornos caen más rápidamente en la dirección del eje  $x_2$  que en la dirección del eje  $x_1$ .

La interpretación de esta ecuación es muy importante puesto que indica el cambio en el rendimiento del sistema cuando varían las condiciones del máximo, es decir, cuánto varía el rendimiento al modificar los valores de las variables que conducen al máximo. En este caso, al ser negativos los coeficientes que figuran en el lado derecho de la ecuación 21 siempre que varíen las condiciones experimentales que conducen al máximo se producirá un descenso del rendimiento del sistema.

Diseño Factorial 3<sup>2</sup>

|           |   |            |  |
|-----------|---|------------|--|
| Variables | Dens. Pulpa<br>[Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> | Constantes | Temperatura<br>ml Inóculo<br>Relación<br>Ag <sup>+</sup> /CuFeS <sub>2</sub> |
|-----------|---|------------|--|

Se añadió 9.5 mg de Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/1% D<sub>p</sub>

Variables Codificadas

|                                  | X <sub>1</sub> (-1) | X <sub>2</sub> (+1) |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|
| D <sub>p</sub>                   | 2 %                 | 14 %                |
| [Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> | 2 g/L               | 14 g/L              |

| Reactor Num | D <sub>p</sub> (%) | [Fe <sup>3+</sup> ] <sub>i</sub> (g/L) |
|-------------|--------------------|--|
| 29          | 2                  | 2                                      |
| 30          | 8                  | 2                                      |
| 31          | 14                 | 2                                      |
| 32          | 2                  | 8                                      |
| *           | 8                  | 8                                      |
| 33          | 14                 | 8                                      |
| 34          | 2                  | 14                                     |
| 35          | 8                  | 14                                     |
| 36          | 14                 | 14                                     |

Reactor Num 29

Densidad de Pulpa : 2 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 19 mg /  $[\text{Fe}^{3+}] = 2 \text{ g/L}$

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 3.75              | 7.07           | 0.35                           | 6.83           |
| 4           | 4.65              | 21.49          | 1.61                           | 31.41          |
| 6           | 5.37              | 32.88          | 2.10                           | 40.77          |
| 10          | 6.62              | 52.56          | 3.06                           | 59.07          |
| 14          | 7.03              | 58.60          | 3.67                           | 70.32          |
| 17          | 7.71              | 68.83          | 4.42                           | 84.01          |
| 20          | 8.03              | 73.28          | 4.69                           | 88.33          |
| 23          | 8.37              | 77.95          | 5.20                           | 97.01          |
| 29          | 8.68              | 82.04          | 5.88                           | 100.00         |

TABLA XXXIIReactor Num 30

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 4.66              | 5.75           | 0.55                           | 2.73           |
| 4           | 5.84              | 10.57          | 1.89                           | 9.37           |
| 6           | 6.53              | 13.30          | 2.56                           | 12.68          |
| 10          | 7.78              | 18.28          | 4.08                           | 20.09          |
| 14          | 9.59              | 25.45          | 5.46                           | 26.78          |
| 17          | 10.91             | 30.50          | 7.34                           | 35.76          |
| 20          | 11.88             | 34.12          | 8.59                           | 41.53          |
| 23          | 13.94             | 42.04          | 10.59                          | 50.82          |
| 29          | 17.06             | 54.02          | 13.56                          | 64.58          |
| 34          | 20.13             | 65.56          | 16.56                          | 78.21          |
| 38          | 21.13             | 68.89          | 17.75                          | 83.05          |
| 42          | 23.62             | 77.93          | 20.31                          | 94.15          |
| 45          | 26.18             | 86.99          | 22.56                          | 100.00         |



TABLA XXXIII

Reactor Num 31

Densidad de Pulpa : 14 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 133 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 4.87              | 4.01           | 0.57                           | 1.67           |
| 4           | 5.70              | 5.95           | 1.43                           | 4.15           |
| 6           | 6.17              | 7.03           | 2.00                           | 5.77           |
| 10          | 7.68              | 10.56          | 3.34                           | 9.61           |
| 14          | 8.75              | 12.98          | 4.56                           | 13.06          |
| 17          | 10.15             | 16.16          | 5.68                           | 16.18          |
| 20          | 10.28             | 16.32          | 6.18                           | 17.49          |
| 23          | 11.68             | 19.45          | 7.81                           | 21.95          |
| 29          | 13.62             | 23.76          | 9.81                           | 27.38          |
| 34          | 16.06             | 29.14          | 11.68                          | 32.37          |
| 38          | 19.56             | 36.85          | 14.93                          | 41.08          |
| 42          | 19.56             | 36.57          | 14.93                          | 40.76          |
| 45          | 20.37             | 38.15          | 16.50                          | 44.73          |
| 48          | 21.00             | 39.32          | 17.25                          | 46.47          |
| 53          | 25.25             | 48.50          | 21.00                          | 56.23          |

TABLA XXXIII (Continuación)

Reactor Num 31

Densidad de Pulpa : 14 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 133 mg /  $[\text{Fe}^{3+}]_i$  : 2 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 58          | 31.00             | 60.84          | 25.37                          | 67.47          |
| 61          | 29.25             | 56.55          | 24.25                          | 63.95          |
| 65          | 31.25             | 60.49          | 25.12                          | 65.74          |
| 72          | 32.25             | 62.20          | 27.12                          | 70.41          |
| 79          | 34.25             | 65.99          | 28.62                          | 73.66          |
| 86          | 35.25             | 67.57          | 30.25                          | 77.14          |
| 93          | 35.50             | 67.52          | 31.87                          | 80.49          |

Reactor Num 32

Densidad de Pulpa : 2 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 19 mg /  $[\text{Fe}^{3+}]_0$  : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 9.56              | 6.30           | 0.39                           | 7.62           |
| 4           | 11.75             | 41.39          | 2.68                           | 52.29          |
| 6           | 12.25             | 48.76          | 3.39                           | 65.60          |
| 10          | 14.25             | 79.91          | 4.46                           | 85.58          |
| 14          | 14.75             | 86.80          | 5.29                           | 100.00         |

Reactor Num 33

Densidad de Pulpa : 14 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba.

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 133 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>0</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 5.75              | 0.00           | 0.53                           | 1.05           |
| 4           | 12.31             | 8.37           | 3.03                           | 8.76           |
| 6           | 14.12             | 12.56          | 4.00                           | 11.51          |
| 10          | 15.56             | 15.76          | 5.56                           | 15.91          |
| 14          | 16.62             | 18.02          | 6.93                           | 19.71          |
| 17          | 18.75             | 22.72          | 8.50                           | 23.97          |
| 20          | 19.00             | 22.99          | 9.18                           | 25.70          |
| 23          | 20.37             | 25.90          | 10.87                          | 30.20          |
| 29          | 21.87             | 29.06          | 12.81                          | 35.33          |
| 34          | 24.18             | 34.05          | 14.93                          | 40.90          |
| 38          | 25.93             | 37.71          | 16.50                          | 44.87          |
| 42          | 28.50             | 43.18          | 18.75                          | 50.66          |
| 45          | 31.62             | 49.82          | 21.00                          | 56.36          |
| 48          | 32.37             | 51.13          | 22.62                          | 60.30          |
| 53          | 34.37             | 55.19          | 24.50                          | 64.82          |

TABLA XXXV (Continuación)

Reactor Num 33

Densidad de Pulpa : 14 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 133 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 58          | 35.75             | 57.81          | 26.00                          | 68.27          |
| 61          | 37.50             | 61.19          | 27.37                          | 71.29          |
| 65          | 44.50             | 75.78          | 32.87                          | 84.89          |
| 72          | 42.75             | 71.36          | 30.75                          | 78.59          |
| 79          | 43.75             | 72.84          | 32.75                          | 82.89          |
| 86          | 50.12             | 85.52          | 36.00                          | 90.19          |
| 93          | 49.75             | 83.83          | 37.25                          | 92.26          |

Reactor Num 34

Densidad de Pulpa : 2 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 19 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>1</sub> : 14 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 15.13             | 7.14           | 0.40                           | 7.81           |
| 4           | 16.13             | 10.74          | 0.70                           | 13.65          |
| 6           | 16.63             | 18.59          | 1.00                           | 19.46          |
| 8           | 18.13             | 53.00          | 2.50                           | 47.50          |
| 10          | 20.88             | 86.35          | 4.06                           | 78.80          |
| 14          | 21.50             | 94.16          | 5.05                           | 96.93          |
| 17          | 22.63             | 100.00         | 5.84                           | 100.00         |

TABLA XXXVIIReactor Num 35

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 14 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 17.13             | 7.94           | 0.88                           | 4.35           |
| 4           | 20.13             | 20.04          | 4.60                           | 22.84          |
| 6           | 21.50             | 25.21          | 5.45                           | 26.85          |
| 10          | 23.88             | 34.32          | 7.91                           | 38.66          |
| 14          | 26.75             | 45.25          | 9.97                           | 48.27          |
| 17          | 27.50             | 47.59          | 11.38                          | 54.63          |
| 20          | 27.38             | 46.62          | 12.75                          | 60.75          |
| 23          | 30.88             | 59.93          | 14.75                          | 69.75          |
| 29          | 33.75             | 70.60          | 17.75                          | 83.26          |
| 34          | 37.50             | 84.44          | 20.13                          | 93.53          |
| 38          | 38.38             | 86.97          | 21.25                          | 97.74          |
| 42          | 38.44             | 86.36          | 21.88                          | 99.52          |

TABLA XXXVIII

Reactor Num 36

Densidad de Pulpa : 14 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 133 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>1</sub> : 14 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 16.25             | 3.20           | 1.34                           | 3.88           |
| 4           | 20.62             | 13.55          | 4.46                           | 12.90          |
| 6           | 20.56             | 13.10          | 5.40                           | 15.50          |
| 10          | 22.43             | 17.26          | 6.93                           | 19.75          |
| 14          | 25.00             | 22.92          | 8.75                           | 24.72          |
| 17          | 26.37             | 25.70          | 10.34                          | 28.97          |
| 20          | 28.12             | 29.34          | 11.12                          | 30.90          |
| 23          | 29.50             | 32.10          | 13.53                          | 37.31          |
| 29          | 32.50             | 38.56          | 15.93                          | 43.63          |
| 34          | 35.50             | 44.94          | 18.87                          | 51.30          |
| 38          | 36.75             | 47.35          | 20.87                          | 56.33          |
| 42          | 39.06             | 52.13          | 22.50                          | 60.28          |
| 45          | 41.09             | 56.24          | 24.21                          | 64.42          |
| 48          | 42.65             | 59.27          | 25.62                          | 67.65          |
| 53          | 44.84             | 63.60          | 29.06                          | 76.12          |



TABLA XXXVIII (Continuación)

Reactor Num 36

Densidad de Pulpa : 14 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

$\text{Ag}_2\text{SO}_4$  : 133 mg /  $[\text{Fe}^{3+}]_i$  : 14 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Fe] (g/L)</u> | <u>% Ex Fe</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|-------------|-------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| 58          | 47.65             | 69.18          | 29.53                          | 76.66          |
| 61          | 47.96             | 69.28          | 30.93                          | 79.58          |
| 65          | 48.28             | 69.37          | 31.09                          | 79.22          |
| 72          | 51.71             | 76.01          | 33.28                          | 83.99          |
| 79          | 52.50             | 76.94          | 34.53                          | 86.25          |
| 86          | 54.37             | 80.07          | 35.62                          | 88.03          |
| 93          | 54.21             | 78.95          | 36.71                          | 89.73          |

# Reactor Num. 29

188

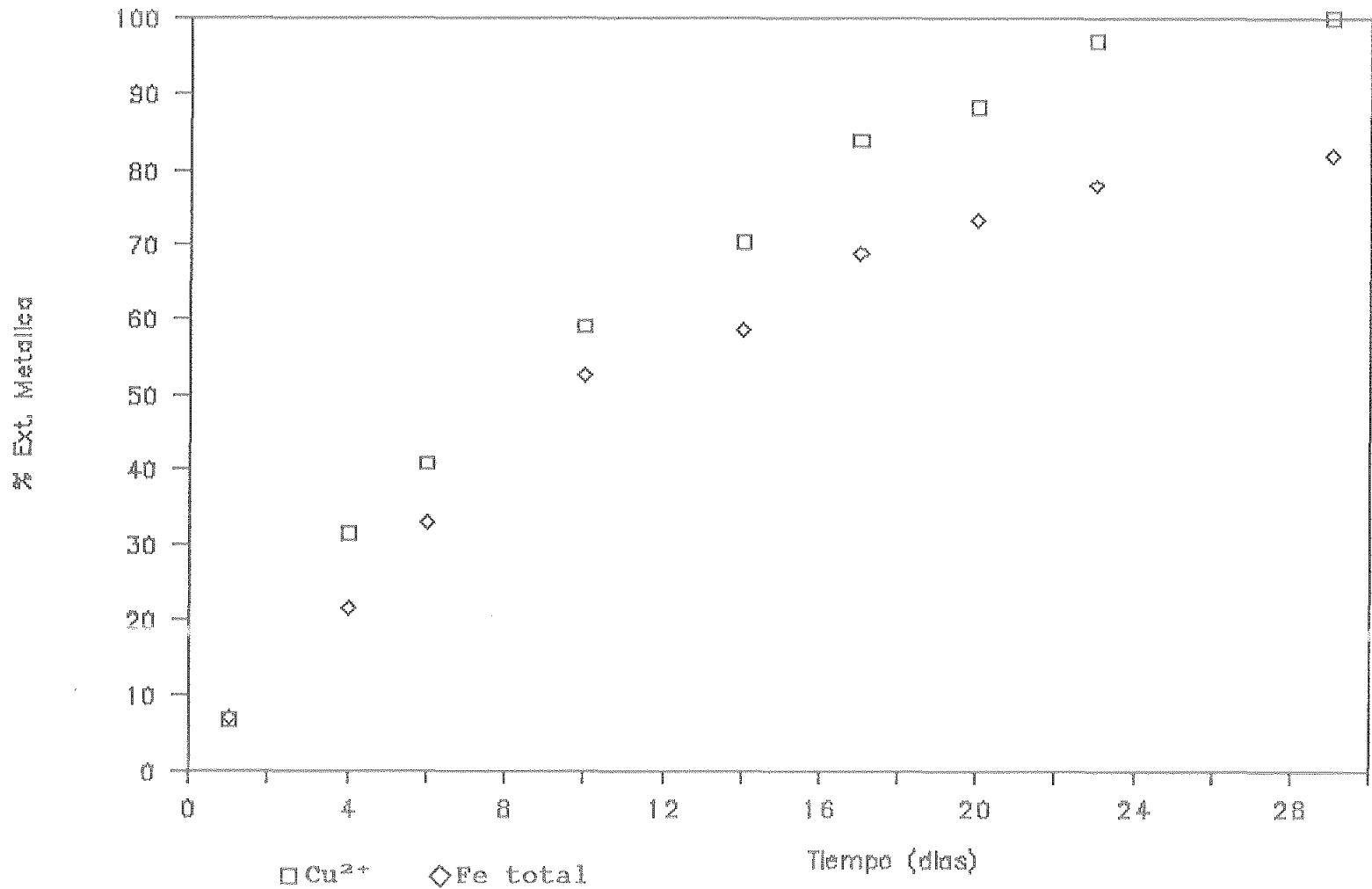


Fig. 34

# Reactor Num. 30

189

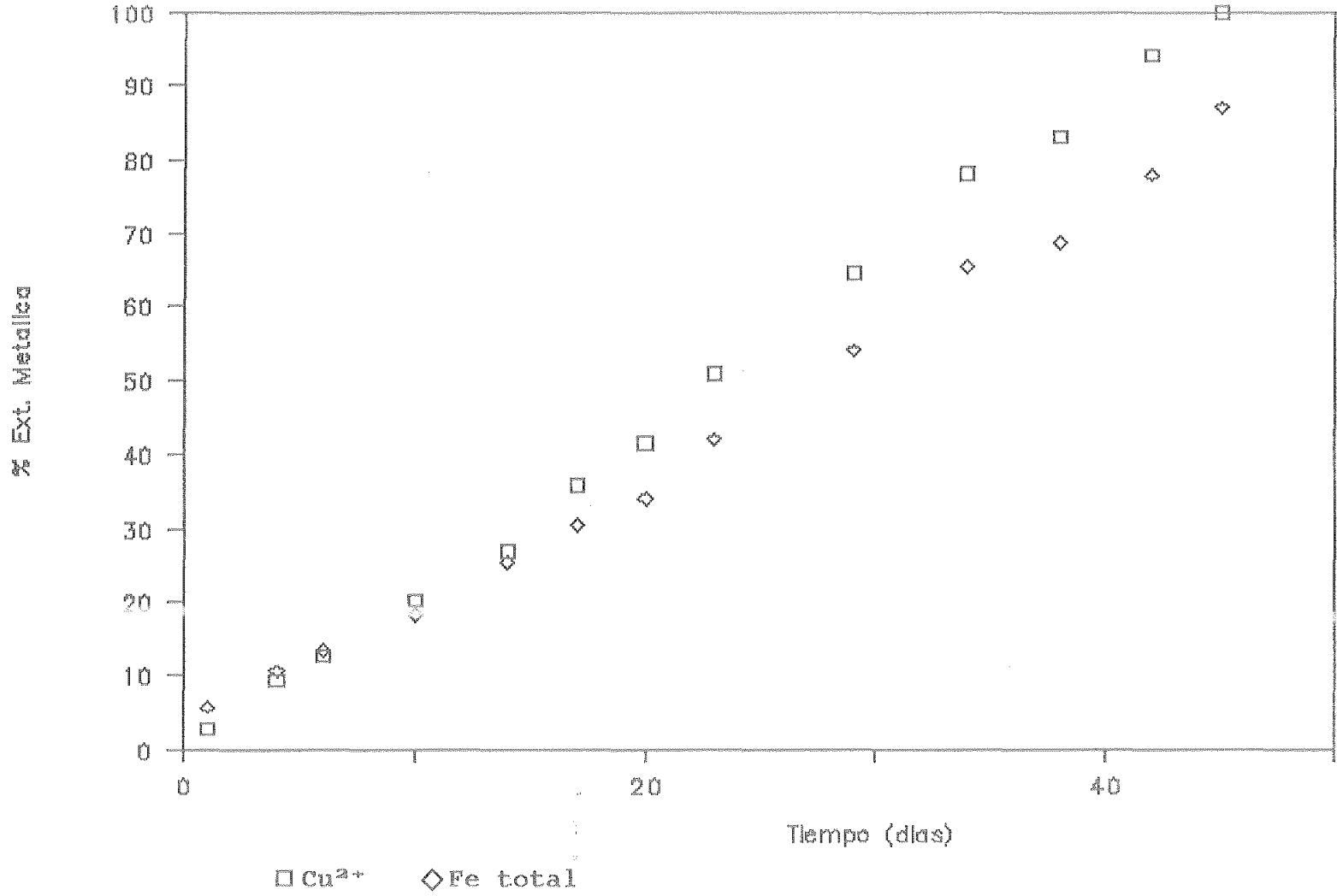


Fig. 35

# Reactor Num. 31

190

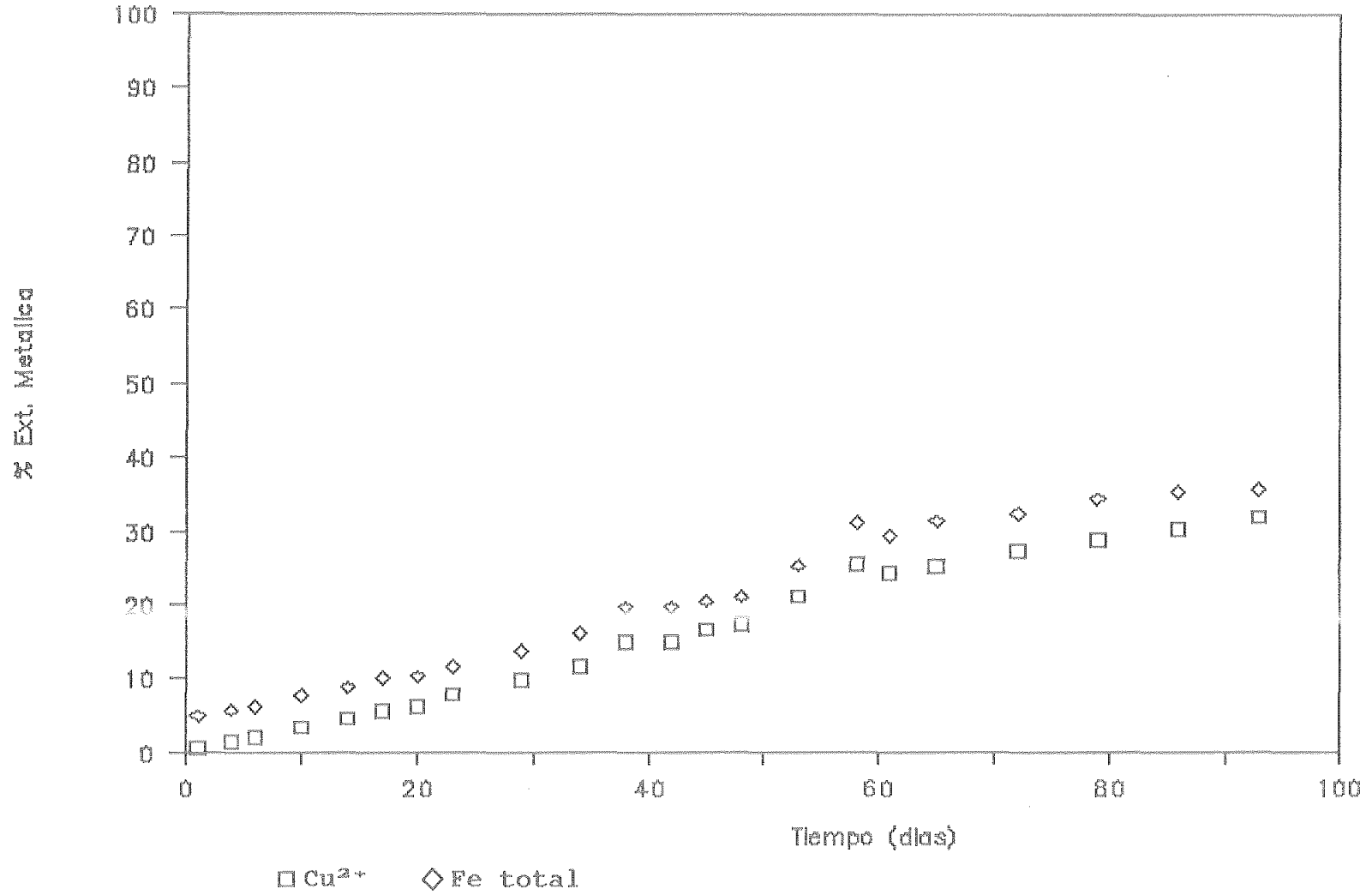


Fig. 36

# Reactor Num. 32

191

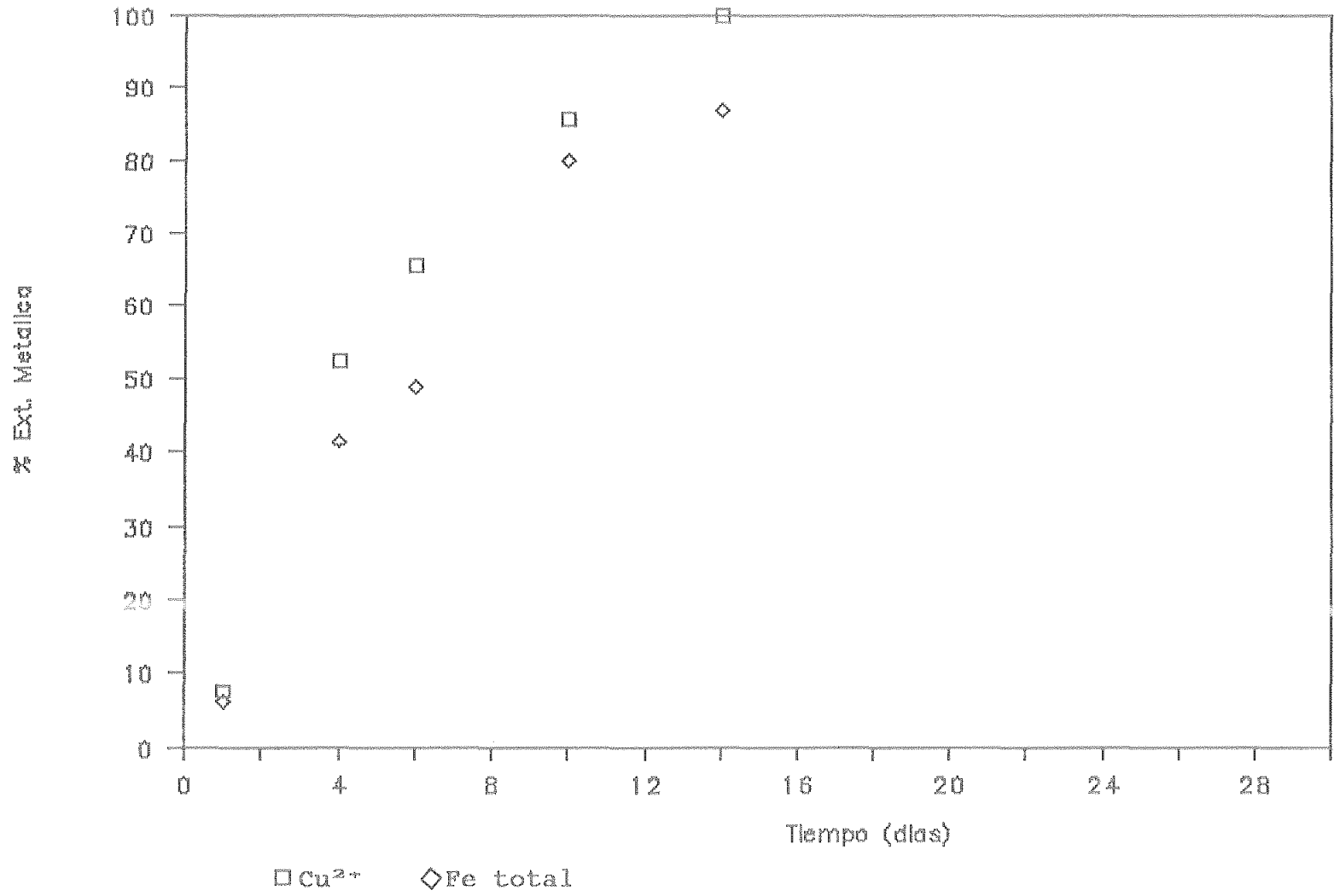


Fig. 37

# Reactor Num. 33

192

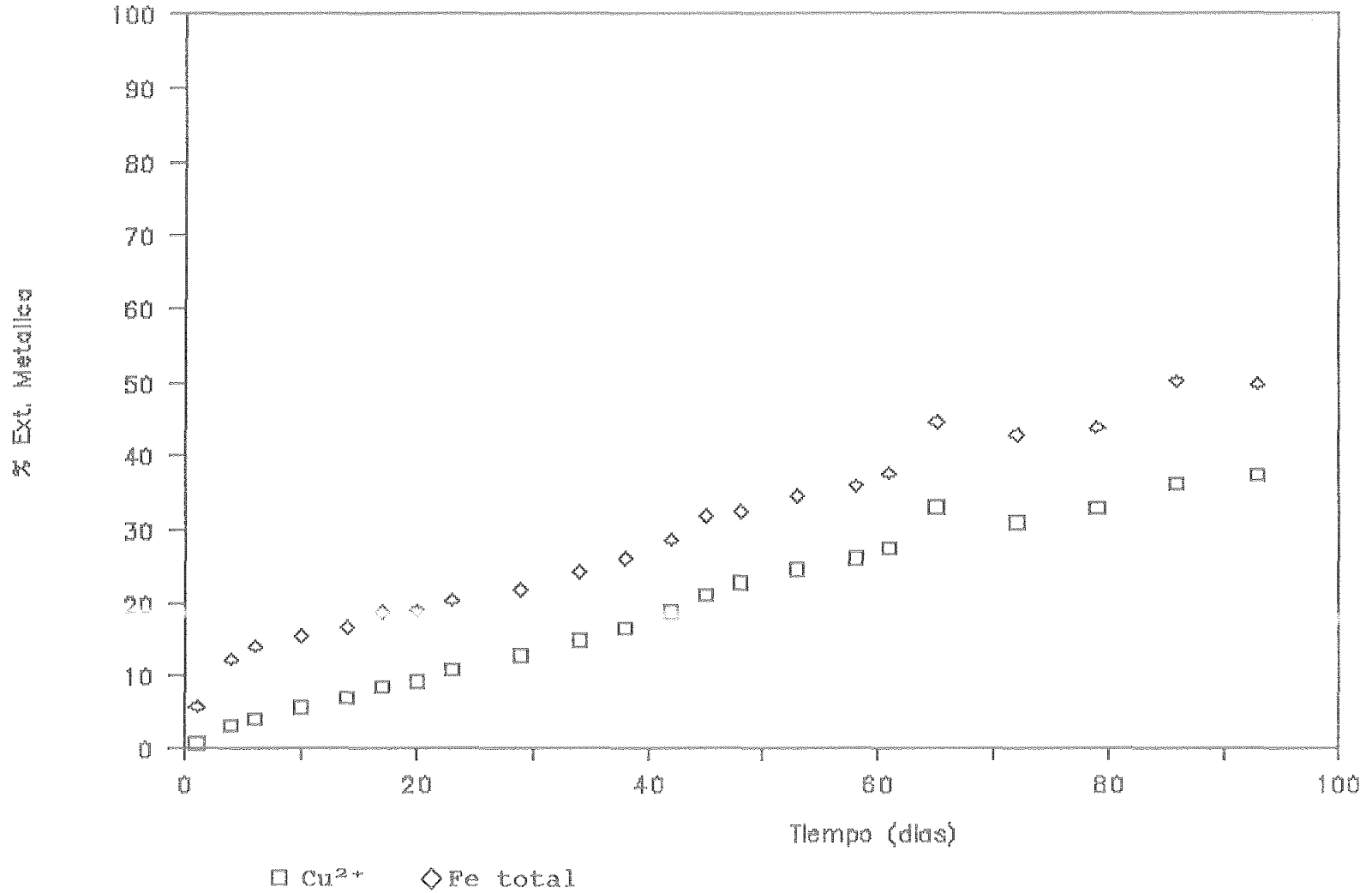


Fig. 38

# Reactor No. 34

193

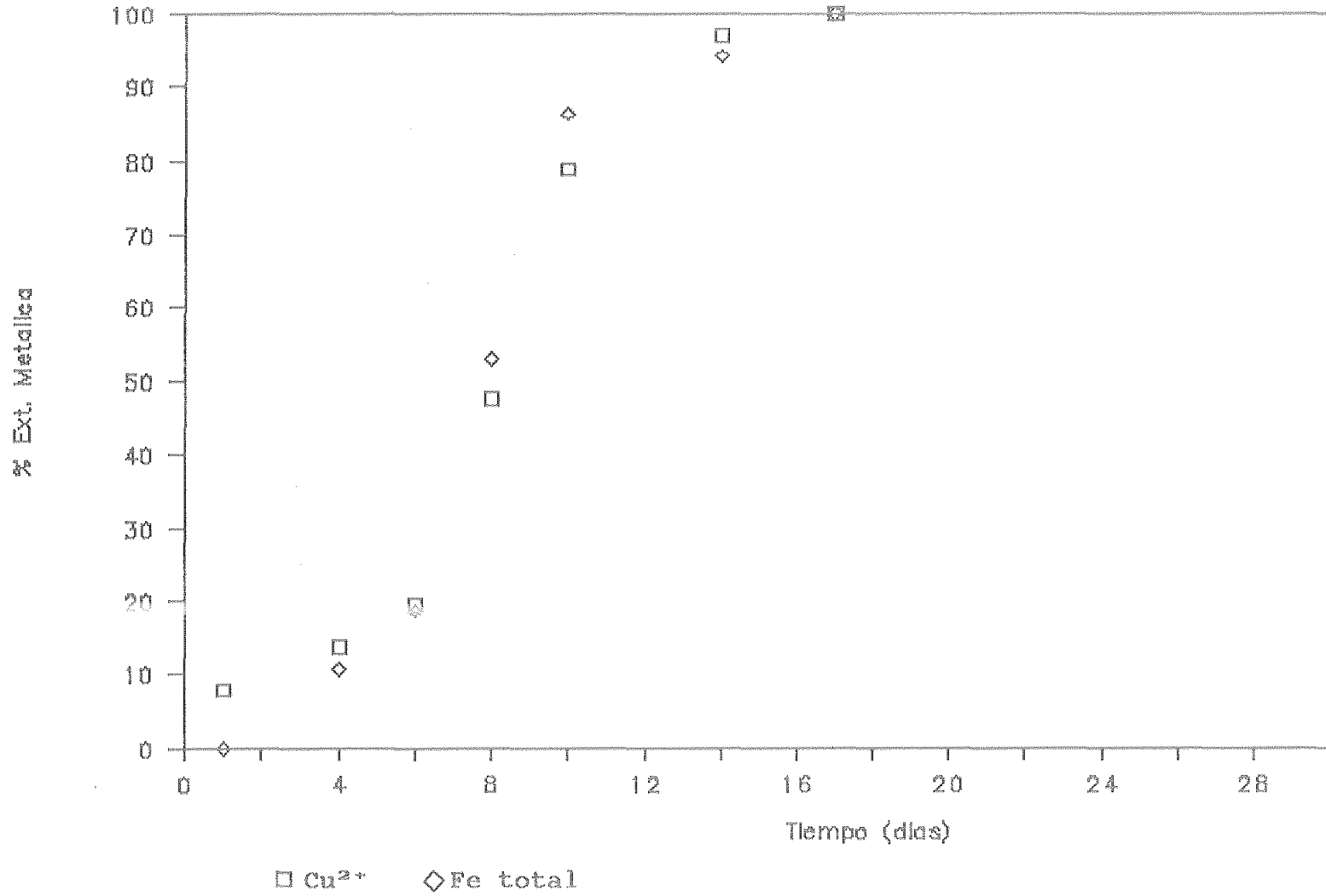


Fig. 39

# Reactor Num. 35

194

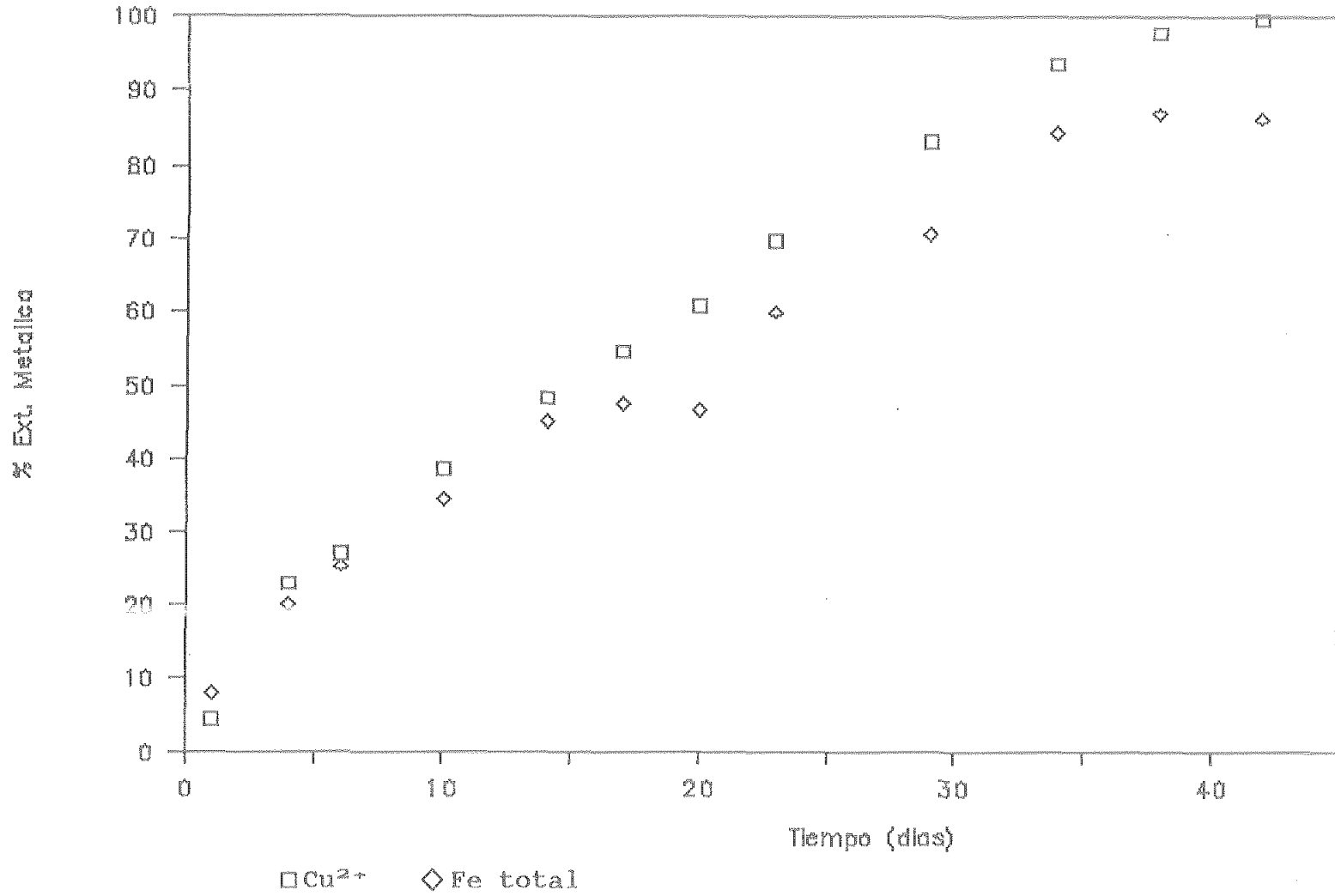


Fig. 40



# Reactor Num. 36

195

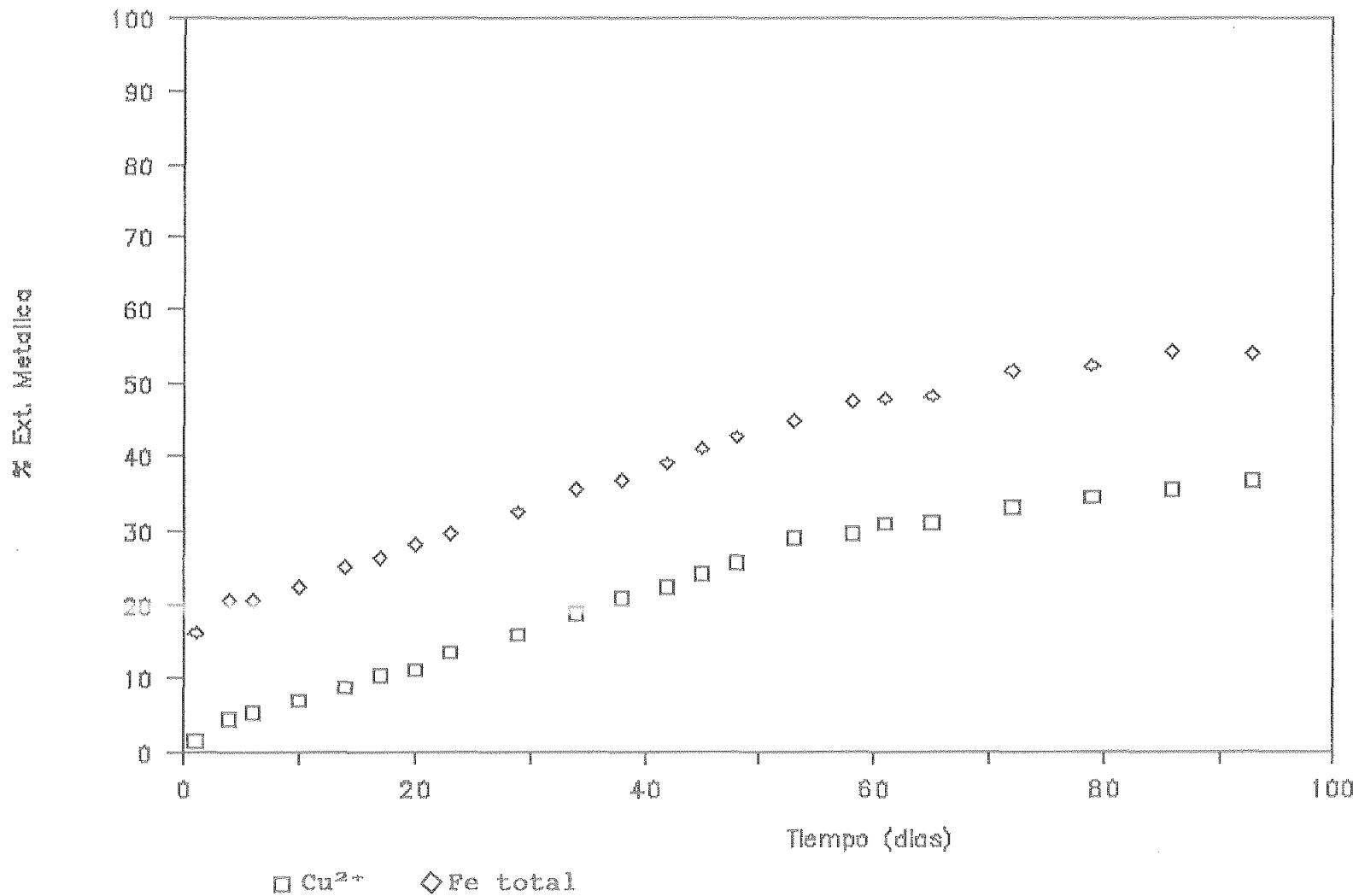


Fig. 41

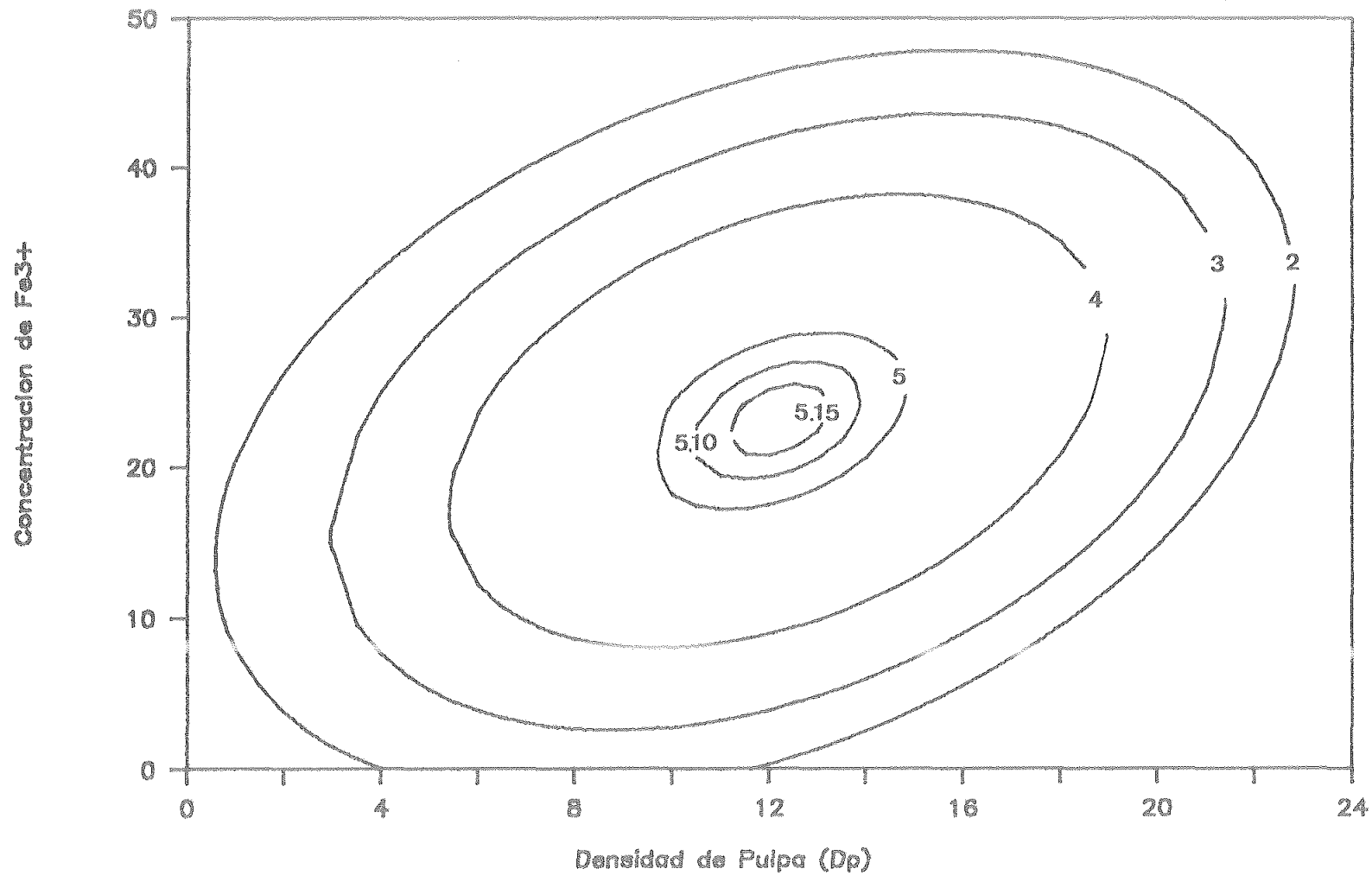


Fig. 42 Superficie de respuesta

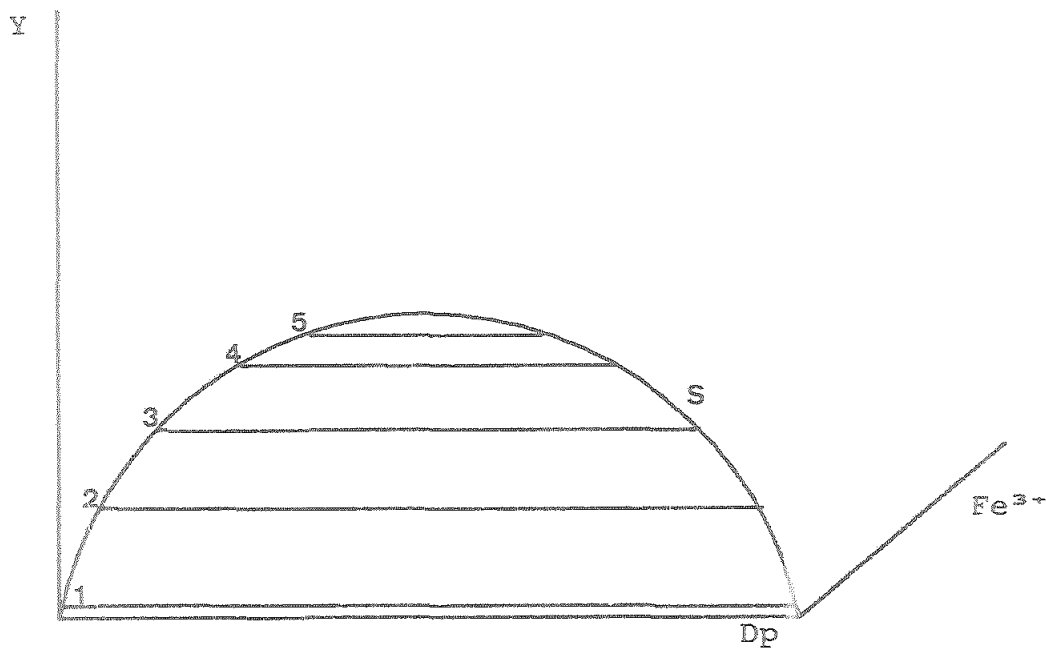


Fig. 43 Sección longitudinal de la superficie cuadrática de respuesta. Y: Respuesta del sistema  
 Dp: densidad de pulpa. Fe<sup>3+</sup>: Concentración inicial de ión férrico. S: Contorno de la superficie de respuesta.

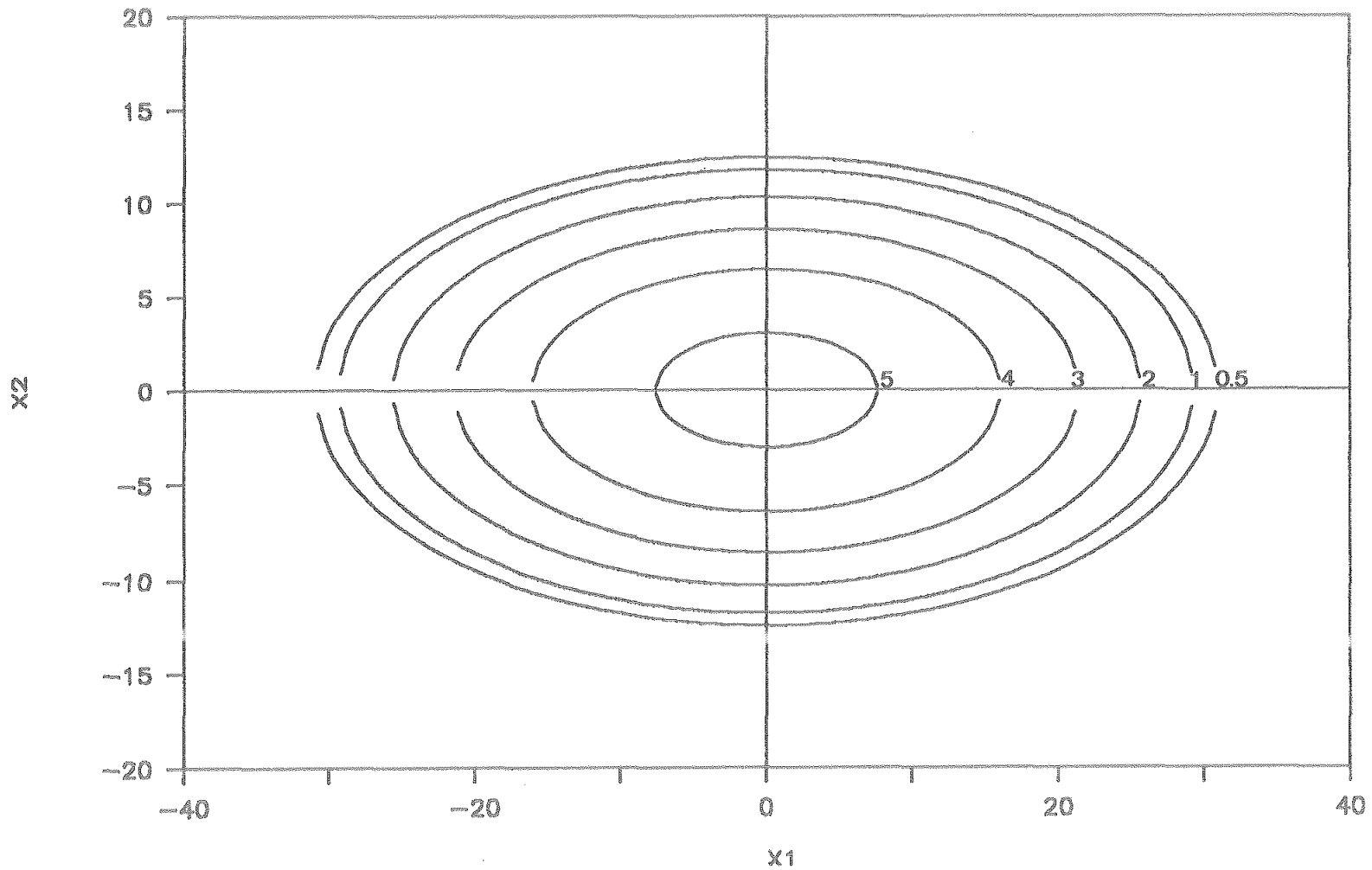


Fig. 44 Representación de la ecuación canónica de la superficie de respuesta

## 5.6 Efectos químicos y bacterianos durante la lixiviación microbiana de calcopirita

La presencia de un agente oxidante como el  $\text{Fe}^{3+}$  en un sistema donde hay sulfuros a bajo pH trae como consecuencia el ataque sobre éstos, oxidándose el sulfuro hasta azufre elemental y reduciéndose el  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ . Anteriormente se apuntó que la misión de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* era la de oxidar el  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ ; de esta forma podría comenzar de nuevo la oxidación del sulfuro.

A un valor suficientemente bajo de pH como para mantener todo el  $\text{Fe}^{3+}$  en solución, todo éste debería reaccionar sin más límite que el que impone el desarrollo superficial del sulfuro. Esto se ve confirmado en la práctica, ya que en los análisis químicos del medio líquido sólo un 20% del hierro presente lo está como  $\text{Fe}^{3+}$ , el resto lo está como  $\text{Fe}^{2+}$ . El segundo paso, es decir, la oxidación bacteriana de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  es un proceso bastante rápido una vez superado el periodo inicial de latencia. Así, cultivos de *Thiobacillus ferrooxidans* sobre disoluciones de  $\text{Fe}^{2+}$  de 8.5 g/L transforman este  $\text{Fe}^{2+}$  totalmente a  $\text{Fe}^{3+}$  en aproximadamente 65 horas, a una velocidad específica de  $0.06 \text{ h}^{-1}$  (145). Se tienen, pues, dos pasos bastante rápidos, que combinados deberían hacer muy rápido el proceso global de ataque férrico a la calcopirita más la oxidación bacteriana del hierro ferroso. Experimentalmente se observa que se va acumulando  $\text{Fe}^{2+}$  en el reactor sin

que éste sea oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$  por la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* a la velocidad esperada. Indudablemente esto es como consecuencia de que la velocidad de producción de  $\text{Fe}^{2+}$  (o lo que es lo mismo : la velocidad de reacción del  $\text{Fe}^{3+}$  sobre la calcopirita) es mayor que la velocidad de oxidación bacteriana del  $\text{Fe}^{2+}$ , hecho éste que hace que la cinética global del proceso sea lenta. La explicación de este hecho puede estar en la acción de fenómenos inhibitorios por sustrato del crecimiento del *Thiobacillus ferrooxidans*, lo que conduce a bajas concentraciones bacteriales. También puede ocurrir que la población bacteriana se vea constantemente diezmada por abrasión de las partículas sólidas del mineral. Sea cual sea la explicación del fenómeno está claro que en las condiciones de trabajo la cinética es lenta y que en el interior del reactor ocurre algún fenómeno inhibitorio. Para demostrarlo se pensó en preparar una prueba en la que las reacciones química y bacteriológica ocurriesen en recipientes separados de manera que pudiesen darse las condiciones óptimas de cada uno de los procesos por separado. El dispositivo ideado se representa esquemáticamente en la figura 45.

La reacción química entre el  $\text{Fe}^{3+}$  y la calcopirita tiene lugar en el reactor tanque agitado en el cual se colocó el mineral a una densidad de pulpa del 8%, la disolución férrica a una concentración de 8 g/L y 684 mg de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ . El pH se ajustó a 1.25 y la prueba se llevó a cabo a 31 °C. En esas

condiciones el  $\text{Fe}^{3+}$  oxida a la calcopirita reduciéndose a  $\text{Fe}^{2+}$ . Mediante una bomba peristáltica se iba extrayendo continuamente medio líquido exento de sólido. El líquido era alimentado a un dispositivo denominado biodisco (Contactador Biológico Rotatorio, RBC), que consiste básicamente en un semicilindro dispuesto horizontalmente que sirve de recipiente contenedor de medio de cultivo y una serie de discos dispuestos perpendicularmente al eje del semicilindro que giran con ayuda de un motoreductor a una velocidad de 10 rpm. El volumen total de medio en el biodisco es de 4.2 L y la superficie de disco es de 0.15 m<sup>2</sup>. En el biodisco las bacterias se encuentran soportadas sobre la superficie de los discos (operación previa al comienzo de la prueba que nos ocupa). La oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  alimentado al biodisco la realiza el *Thiobacillus ferrooxidans* al estar en contacto los discos con la disolución ferrosa. La disolución alimentada al biodisco avanza hasta la salida como consecuencia de un pequeño desnivel existente entre la entrada y la salida. A su paso a lo largo del biodisco el  $\text{Fe}^{2+}$  es totalmente oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$ , siendo la disolución de  $\text{Fe}^{3+}$  devuelta al reactor químico iniciando un nuevo ciclo.

Los resultados obtenidos en esta prueba se dan en la tabla XXXIX y su representación gráfica en la figura 46. En ella se muestra además la comparación con los resultados obtenidos en la prueba efectuada en las mismas condiciones llevada a cabo en un sólo reactor sin separación de efectos químico y

bacterianos.

Los resultados son espectaculares, alcanzándose una oxidación prácticamente total (98%) en sólo diez días y medio, frente a los más de treinta días que se necesitan para alcanzar una conversión similar en un reactor tanque agitado.

El aumento del rendimiento puede ser explicado no sólo por la eliminación de la abrasión bacterial y de las inhibiciones por producto y sustrato, sino por el empleo de un dispositivo de película bacterial soportada (biodisco), los cuales son mucho más efectivos que los de crecimiento disperso para la oxidación bacterial de  $Fe^{2+}$  (135,136).



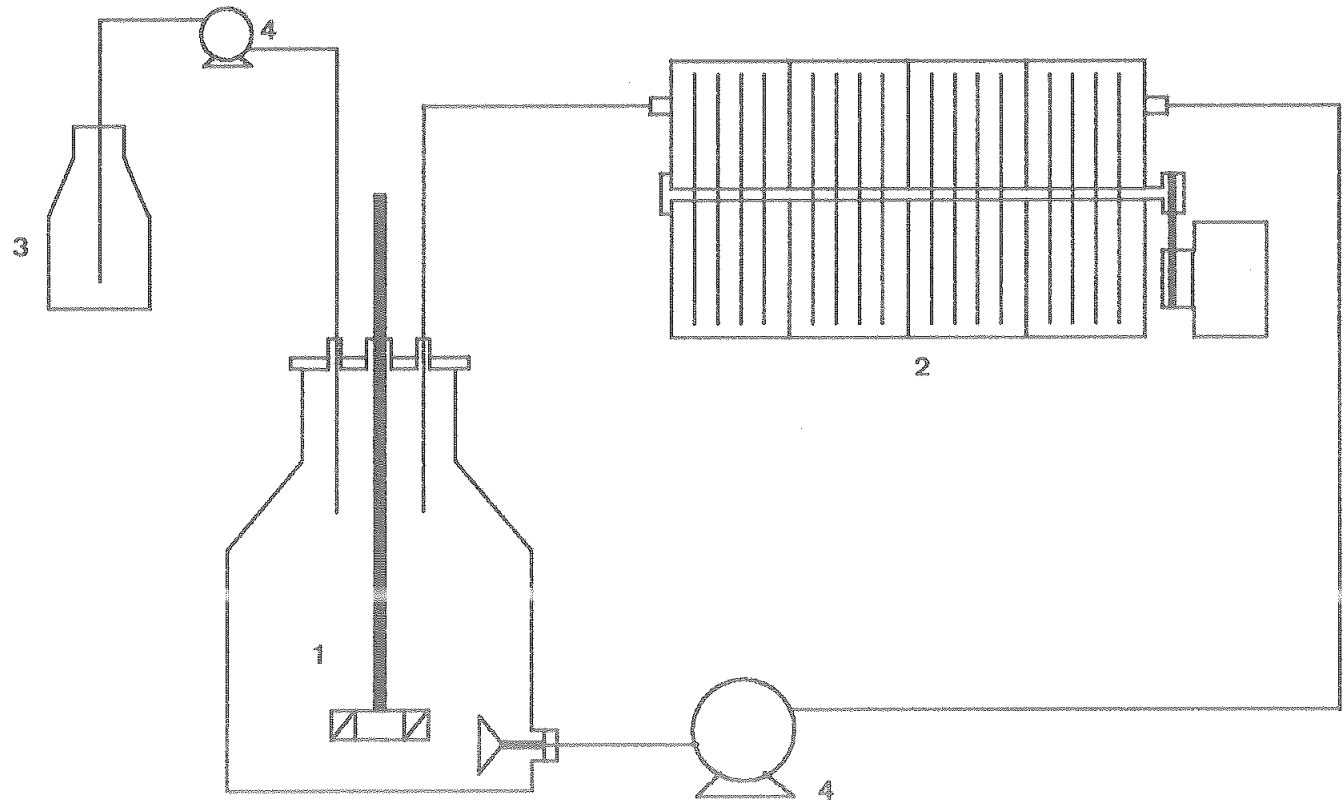


Fig. 45 Uso de biodisco en pruebas de lixiviación  
Esquema general : (1) Reactor (2) Biodisco  
(3) Agua destilada (4) Bombas

Reactor tanque agitado / Biodisco

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25  
por cada 500 ml de pulpa

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 684 mg / [Fe<sup>3+</sup>] = 8 g/L

| <u>Horas</u> | <u>[Fe<sup>++</sup>]</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (R)*</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (B)*</u> | <u>% Ex Cu</u> |
|--------------|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|
| 4            | 9.93                     | 2.12                          | ---                           | 15.22          |
| 20           | 8.38                     | 2.20                          | 1.20                          | 18.34          |
| 44           | 7.12                     | 2.50                          | 1.90                          | 21.98          |
| 68           | 7.83                     | 3.35                          | 2.85                          | 30.10          |
| 96           | 7.65                     | 4.25                          | 3.90                          | 38.79          |
| 119          | 8.50                     | 4.90                          | 4.85                          | 45.47          |
| 144          | 9.79                     | 5.70                          | 5.80                          | 53.23          |
| 168          | 8.79                     | 6.55                          | 6.80                          | 61.46          |
| 188          | 7.88                     | 7.20                          | 7.50                          | 67.61          |
| 212          | 8.28                     | 8.10                          | 8.70                          | 76.62          |
| 236          | 9.75                     | 9.00                          | 10.45                         | 86.79          |
| 254          | 8.00                     | 10.10                         | 11.95                         | 97.88          |

\* Concentraciones expresadas en (g/L)

(B) Concentraciones medidas a la salida del Biodisco

(R) Concentraciones medidas a la salida del Reactor

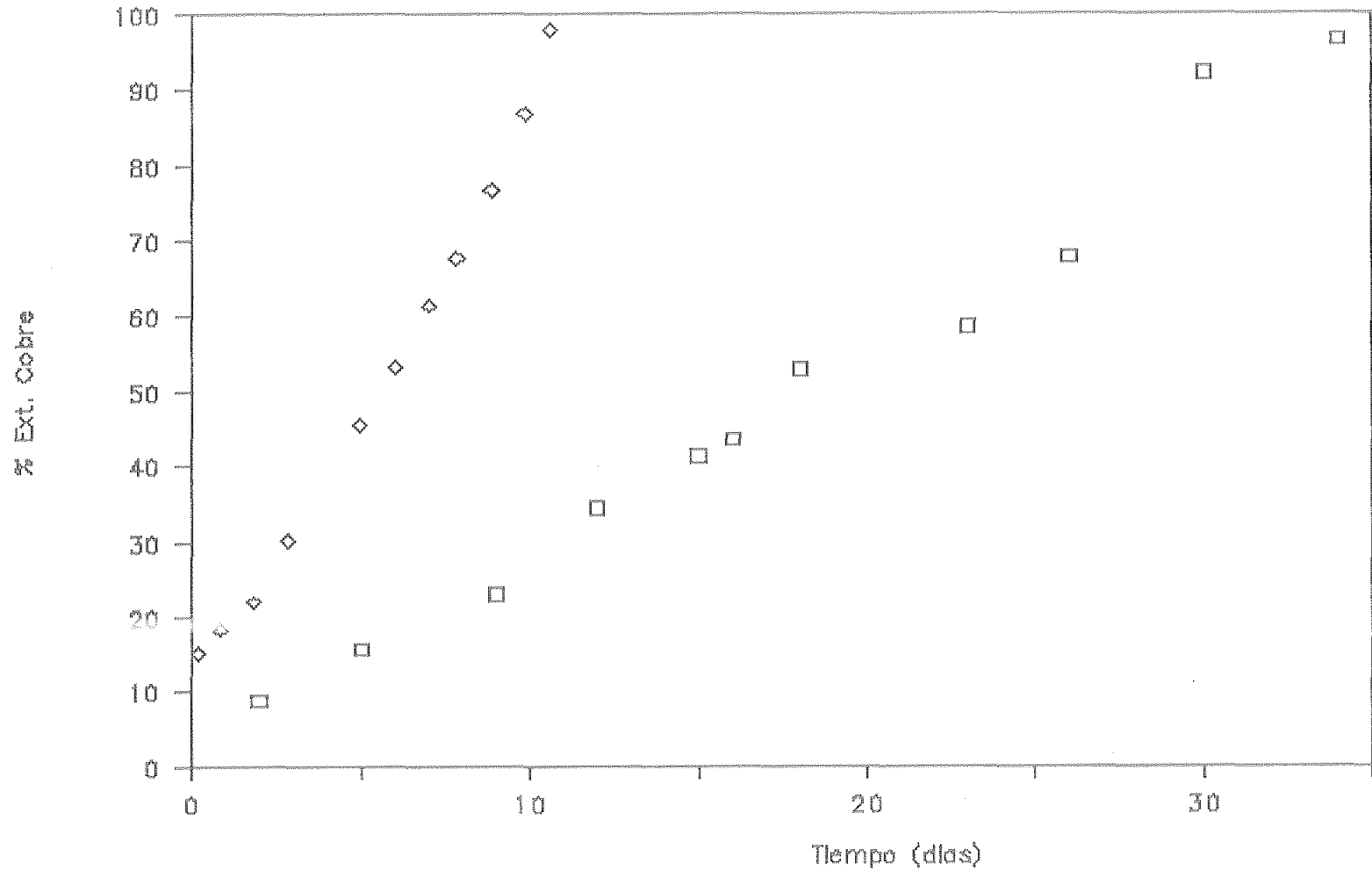


Fig. 46 Uso de Biodisco en procesos de biolixiviación  
Comparación de resultados:  
□ Tanque agitado      ◇ Dispositivo continuo

## 5.7 Evolución de la tensión superficial en el medio de lixiviación

La prueba anteriormente descrita demuestra que existe un impedimento importante para alcanzar la oxidación total de la calcopirita cuando las reacciones química y bacterial se llevan a cabo en el mismo reactor. Con objeto de determinar la naturaleza de este impedimento se pensó en efectuar el seguimiento de la tensión superficial del medio de cultivo para observar si tiene lugar alguna variación significativa en la evolución de la misma. La idea va dirigida a buscar algún indicio que permita demostrar la hipótesis de la rotura de células por abrasión con el sólido. El material celular (polisacáridos, fosfolípidos, etc...) debe manifiestar en disolución efectos tensioactivos, disminuyendo la tensión superficial del medio líquido.

Se efectuaron dos pruebas en las condiciones descritas anteriormente, es decir, 8% de densidad de pulpa, 8 g/L de  $Fe^{2+}$  inicial, pH 1.25, 50 ml de medio de cultivo de *Thiobacillus ferrooxidans* de ocho días de vejez y 76 mg de  $Ag_2SO_4$ . También se efectuó el seguimiento de un cultivo de *Thiobacillus ferrooxidans* sobre sulfato ferroso a pH 1.25. Los resultados obtenidos se dan en las tablas XL - XLII y sus respectivas representaciones gráficas en las figuras 47 - 49.

La tensión superficial del medio líquido de cultivo sobre  $Fe^{2+}$  (R-39) permanece prácticamente constante con el paso del

tiempo (error del método  $\pm 1 \text{ mN m}^{-1}$ ). Sin embargo la tensión superficial del medio líquido de las pruebas efectuadas en las condiciones óptimas de lixiviación muestran un descenso de la tensión superficial (aproximadamente 10 a 12  $\text{mN m}^{-1}$ ) en los primeros días de la prueba (hacia los diez días) para luego ir subiendo poco a poco hasta alcanzar prácticamente el valor de partida de la tensión superficial.

Esta elevación de la tensión superficial puede explicarse por la continua liberación de sales de hierro en el medio líquido de lixiviación provenientes de la paulatina disolución de la calcopirita. Las sales de hierro, como la mayoría de los compuestos inorgánicos solubles, tienden a aumentar la tensión superficial del líquido donde se disuelven.

El descenso observado en la tensión superficial del medio de cultivo debe achacarse a la liberación de sustancias orgánicas liberadas por rotura de células y, en principio, no debe influir la liberación de metabolitos liberados por las bacterias vivas ya que la tensión superficial del cultivo sobre  $\text{Fe}^{2+}$  se mantiene prácticamente constante.

Reactor Num 37

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>±</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>[Fe] (total)</u> | <u>[Fe<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>T Sup<sup>*</sup></u> |
|-------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 1           | 2.56                           | 10.88               | 9.93                           | 78.69                    |
| 4           | 3.94                           | 12.25               | 10.75                          | 73.86                    |
| 6           | 5.38                           | 13.56               | 12.40                          |                          |
| 9           | 6.88                           | 15.63               | 13.83                          | 69.83                    |
| 12          | 8.38                           | 17.06               | 15.73                          | 66.82                    |
| 14          | 9.38                           | 17.75               | 16.27                          | 73.97                    |
| 17          | 10.94                          | 19.31               | 17.26                          | 72.63                    |
| 20          | 12.25                          | 20.25               | 17.79                          | 74.68                    |
| 22          | 13.38                          | 20.38               | 18.62                          | 75.48                    |
| 25          | 15.00                          | 21.75               | 19.34                          | 75.52                    |
| 28          | 16.50                          | 23.38               | 20.84                          | 75.72                    |
| 32          | 19.00                          | 25.19               | 22.44                          | 77.56                    |
| 35          | 19.81                          | 26.88               | 22.86                          | 76.69                    |
| 40          | 22.25                          | 29.56               | 22.85                          | 77.07                    |

\* Tensión superficial expresada en mN m<sup>-1</sup>

TABLA XLIReactor Num 38

Densidad de Pulpa : 8 %

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 76 mg / [Fe<sup>3+</sup>]<sub>i</sub> : 8 g/L

| <u>Dias</u> | <u>[Cu<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>[Fe] (total)</u> | <u>[Fe<sup>++</sup>] (g/L)</u> | <u>T Sup**</u> |
|-------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|----------------|
| 1           | 2.77                           | 10.88               | 9.98                           | 76.35          |
| 4           | 4.45                           | 12.06               | 10.74                          | 73.90          |
| 6           | 5.88                           | 13.69               | 12.24                          |                |
| 9           | 7.27                           | 15.50               | 13.91                          | 68.67          |
| 12          | 9.00                           | 17.31               | 15.21                          | 70.25          |
| 14          | 10.19                          | 18.38               | 16.60                          | 74.81          |
| 17          | 11.69                          | 19.44               | 17.64                          | 74.15          |
| 20          | 13.13                          | 20.69               | 18.19                          | 75.24          |
| 22          | 14.06                          | 21.56               | 19.23                          | 75.42          |
| 25          | 15.44                          | 22.75               | 20.00                          | 75.35          |
| 28          | 17.44                          | 24.44               | 21.31                          | 76.30          |
| 32          | 19.81                          | 26.31               | 22.59                          | 77.56          |
| 35          | 21.00                          | 27.81               | 23.15                          | 76.66          |
| 40          | 22.50                          | 29.69               | 22.23                          | 77.16          |

\*\*Tensión superficial expresada en mN m<sup>-1</sup>

Reactor Num 39

Cultivo sobre medio 9k completo

pH : 1.25 constante durante toda la prueba

Tamaño/Tipo de Inóculo : 50 ml FN adaptado a pH 1.25

| <u>Horas</u> | <u>[Fe<sup>2+</sup>] (g/L)</u> | <u>[Fe<sup>3+</sup>] (g/L)</u> | <u>TSup (nN/m)</u> |
|--------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| 1            | 8.46                           | 0                              | 78.5               |
| 6            | 8.30                           | 0.15                           | 78.5               |
| 20           | 7.70                           | 0.75                           | 78.5               |
| 24           | 7.41                           | 1.04                           | 77.2               |
| 30           | 7.09                           | 1.36                           | 78.9               |
| 44           | 5.63                           | 2.82                           | 77.4               |
| 48           | 5.07                           | 3.39                           | 77.3               |
| 54           | 3.89                           | 4.56                           | 76.0               |
| 60           | 0.95                           | 7.50                           | 77.0               |
| 64           | 0.08                           | 8.92                           | 77.6               |



# Reactor Num. 37

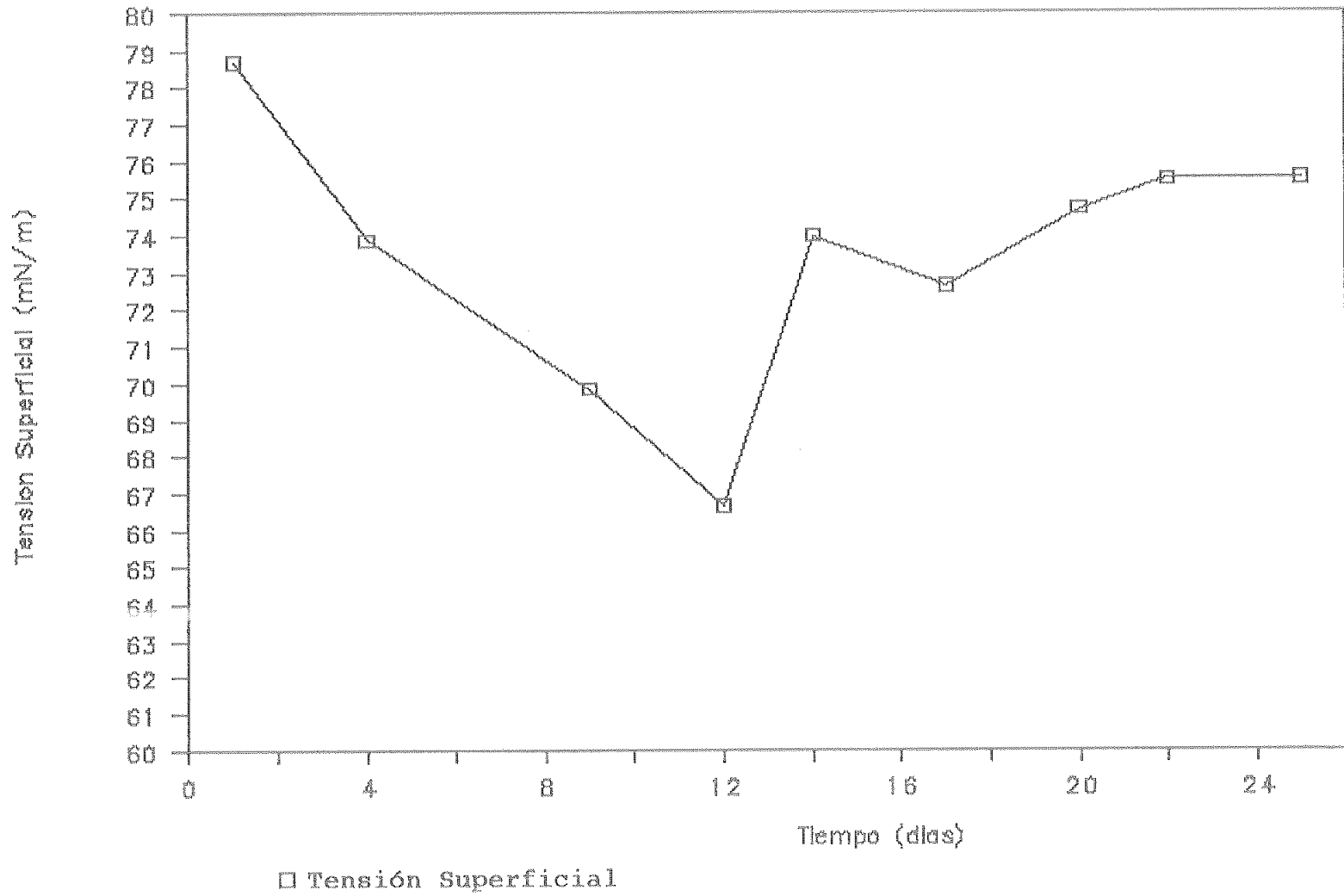


Fig. 47

# Reactor Num. 38

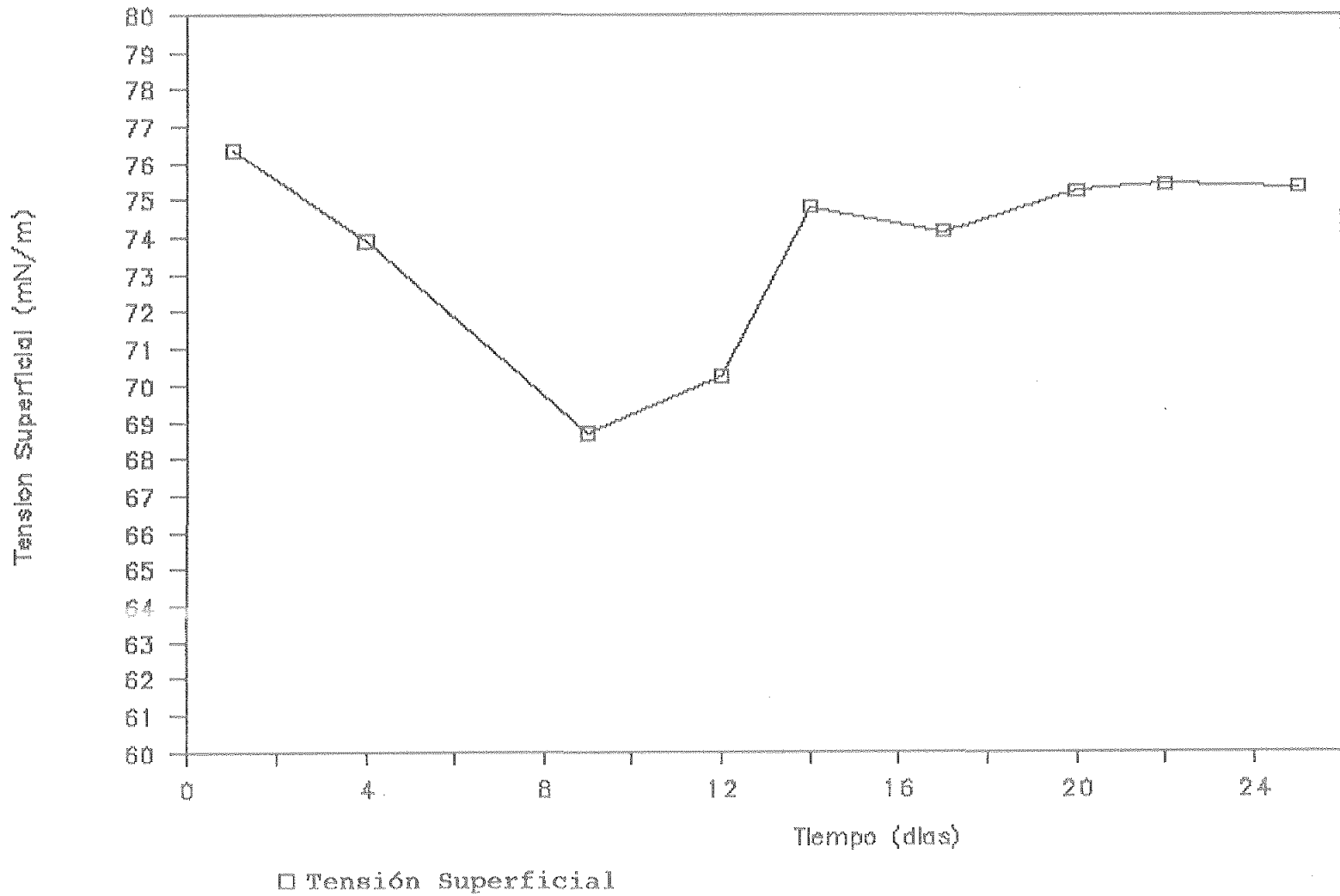


Fig. 48

# Reactor Num. 39

213

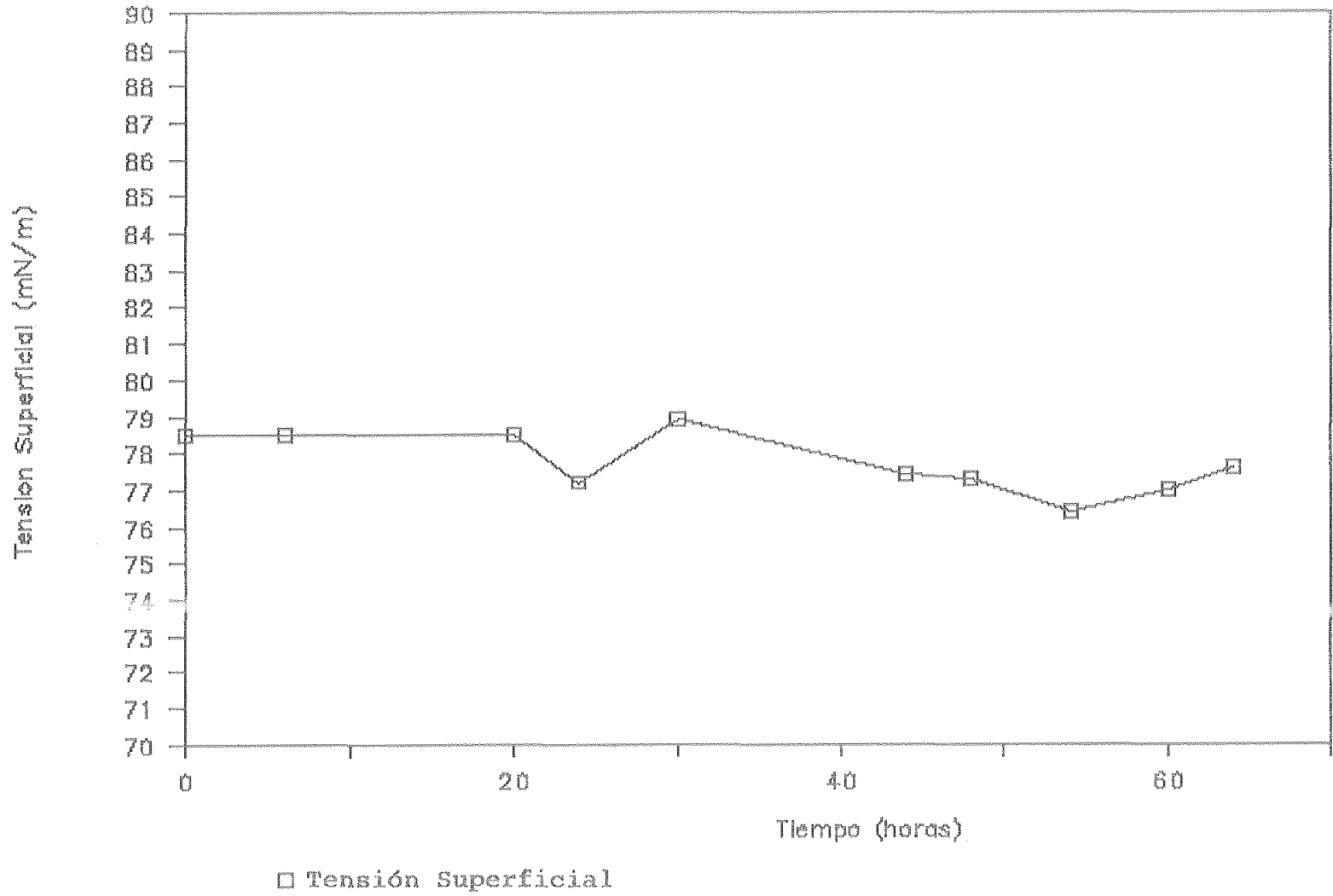
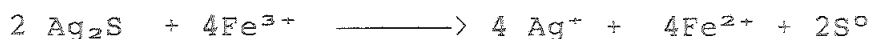
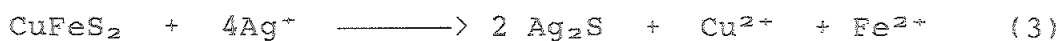


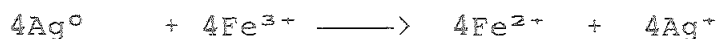
Fig. 49

### 5.8 Determinación del mecanismo catalítico de ataque a la calcopirita del ión $\text{Ag}^+$

Anteriormente se apuntó la posibilidad de que el mecanismo catalítico de ataque del ión plata pudiera darse de dos maneras distintas, variando el estado de oxidación de la plata :



formándose  $\text{Ag}_2\text{S}$  como producto intermedio de plata, o bien



formándose  $\text{Ag}^0$  como intermedio. Este punto será el que a continuación se pasará a discutir.

Se tomó el residuo de lixiviación de una prueba, identificada como R-40, llevada a cabo en las siguientes condiciones : Densidad de pulpa 8%, concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$  : 8 g/L, sulfato de plata: 76 mg y pH constante a 1.25.

Se intentó detectar mediante difracción de rayos X la presencia de plata metálica o de algún compuesto de plata, especialmente sulfuros, pero no fué posible debido a que el límite de sensibilidad de esta técnica analítica está por

encima de los niveles de plata en la muestra. La proporción de un compuesto en la muestra debe ser al menos del 5% en peso para poder ser detectada por difracción de rayos X, en tanto que en las condiciones descritas la proporción máxima de plata es del orden del 0.4%.

Descartada la técnica de difracción de rayos X, se pensó en utilizar el XPS, técnica que resulta muy útil en la determinación de los estados de oxidación de los elementos químicos presentes en la superficie de un sólido.

Los primeros ensayos no resultaron positivos, ya que se aprecian en el espectro de XPS desdoblamiento de los picos, tal como se muestra en las figuras 51 - 56. Este desdoblamiento de picos impide tomar un punto de referencia para la asignación de los mismos a elementos y por tanto resulta imposible determinar con certeza los elementos químicos y sus estados de oxidación.

El fenómeno de desdoblamiento de picos es debido a que al hacer incidir el haz electrónico sobre la muestra, esta no se carga por igual en toda su extensión, lo que hace pensar que la muestra no es homogénea, es decir, que está formada por partículas de diferente conductividad desigualmente repartidas. Este hecho indujo a pensar que la diferencia de conductividad era debida a la presencia de plata metálica, si bien no en cantidad suficiente para hacer que la muestra fuera homogénea.

Por tanto, se pensó en aumentar la cantidad de plata en el residuo final, para lo cual se realizó una prueba, identificada como R-41, en las mismas condiciones descritas anteriormente pero con mayor cantidad de plata : un 4% en peso, para lo cual se añadieron 2.31 gramos de sulfato de plata. El análisis del residuo por XPS revela la desaparición de los desdoblamientos de picos en los elementos químicos de la muestra, pudiendose identificar claramente los picos de los elementos O, C, S, Cu, Fe y Ag (fig. 57-62).

Como se apuntó en el punto 3.7, para algunos elementos, entre los cuales figura la plata, resulta muy útil la espectroscopia Auger en la determinación del estado de oxidación de elementos químicos. Efectuado un espectro Auger de una muestra de residuo de lixiviación de esta última prueba (R41) para los elementos Cu(2p) y Ag(3d<sub>5/2</sub>), se observan dos picos Auger para la plata, uno a 897.5 eV y otro a 903 eV (fig. 62). Para la obtención de la energía cinética de los electrones Auger basta con restar a estas cantidades la energía de la fuente, valor experimental fijado a 1253 eV.

Para el pico Auger situado a 897.5 eV se tiene una energía cinética de 356.1. Este dato nos sirve para poder entrar en tablas que relacionan energías cinéticas con energías de enlace para cada nivel de oxidación. También es posible una determinación gráfica : haciendo uso de la gráfica de la figura 63.

Del espectro XPS para Ag(3d) (fig 61) se tiene que el

primer pico (electrón  $3d_{5/2}$ ) tiene una energía de enlace de 368.2 eV. Entrando con este valor por abscisa y con 356.1, como valor de energía cinética, por ordenadas, las perpendiculares a los ejes por esos puntos se cortan en el punto marcado con un asterisco (\*) en la figura 63. Este punto nos da el estado de oxidación de la plata. Como se puede apreciar dicho punto cae cerca de la zona de los óxidos de plata y muy alejado de la zona de plata metálica, sugiriendo, por tanto, la posibilidad de que se forme un óxido de plata durante la lixiviación de calcopirita catalizada con  $Ag^+$ . De esta forma, el óxido de plata se incorporaría al conjunto de compuestos que, a priori, podrían formarse durante el citado proceso :  $Ag_2S$  y  $Ag^0$ .

La identificación de óxido de plata ha sido confirmada por otros autores para un sistema en el que se hace reaccionar pirita con ión  $Fe^{3+}$  en presencia de ión  $Ag^+$  (148,149).

Los resultados experimentales expresados anteriormente, permiten afirmar que, al menos en la superficie, no se existe plata metálica. Por otra parte, la presencia de óxido de plata sólo puede admitirse como producto de la oxidación de la plata metálica o sulfuro de plata en la superficie, ya que en las condiciones de lixiviación (medio ácido) es poco probable la formación de óxidos de plata, por tanto, éste debió formarse durante la fase de secado y almacenamiento previo al análisis por XPS (148).

Descartada la formación de óxidos de plata durante las pruebas de lixiviación, la plata debió formar sulfuro de plata o plata metálica. En la superficie, sólo puede admitirse que se forme sulfuro de plata, ya que si se admite que se forma plata metálica, no podría explicarse el hallazgo de óxidos de plata por XPS. En efecto, el oxígeno atmosférico (oxígeno molecular) puede adsorberse sobre la superficie de la plata pero no la oxida a temperatura ambiente (150), si, en cambio, sería oxidada por el oxígeno atómico (150). Obviamente esta posibilidad quedó descartada por no ajustarse a las condiciones de experimentación y almacenamiento. Por tanto, cabe pensar en que, al menos en la superficie, el compuesto que se forma es sulfuro de plata, no descartándose que en capas mas profundas pueda haber plata metálica, y que ésta no haya podido ser detectada por XPS, ya que ésta es una técnica de análisis de superficie. La ausencia de datos bibliográficos para el sulfuro de plata impide afirmar o negar su presencia sobre la superficie de la calcopirita.

En cualquier caso, sea cual sea el producto depositado sobre la superficie de la calcopirita, es claro que la plata metálica debe formarse como producto intermedio, ya que aunque termodinámicamente la reacción (3) es altamente favorable ( $\Delta G^\circ = -229.61 \text{ kJ/mol}$ ) (141) también es muy favorable la formación de  $\text{Ag}^\circ$  según la reacción (18) ( $\Delta G^\circ = -149.18 \text{ kJ/mol}$ ) (141). Esto explica que algunos investigadores hayan podido detectar  $\text{Ag}^\circ$  en pruebas de lixiviación férrica catalizada con



$Ag^+$  de diversos minerales. En efecto, Hiskey y col. (148) detectaron  $Ag^0$ , durante lixiviación férrica de pirita mediante técnicas voltamétricas, y Price y Warren (141) detectaron  $Ag^0$  durante pruebas de lixiviación férrica de calcopirita, galena y esfalerita.

La presencia de plata metálica no pudo detectarse tampoco durante los exámenes de las muestras de residuos con el SEM. En los diferentes barridos y exámenes puntuales con la microsonda sólo fué posible detectar zonas en las que la proporción de plata era muy alta pero siempre acompañada de azufre. Salvo excepciones la proporción de azufre en el examen puntual fué mayor que la de plata. En la figura 64 se representa una adquisición puntual del residuo sólido del R-41 en la que se puede apreciar una proporción de plata ligeramente superior a la de azufre. Por último, cabe destacar de los exámenes de los residuos con el SEM, que se confirma la formación de azufre elemental y parece deducirse un ataque preferencial del ión  $Ag^+$  sobre la calcopirita frente a la pirita, ya que nunca se ve plata asociada a azufre y hierro.

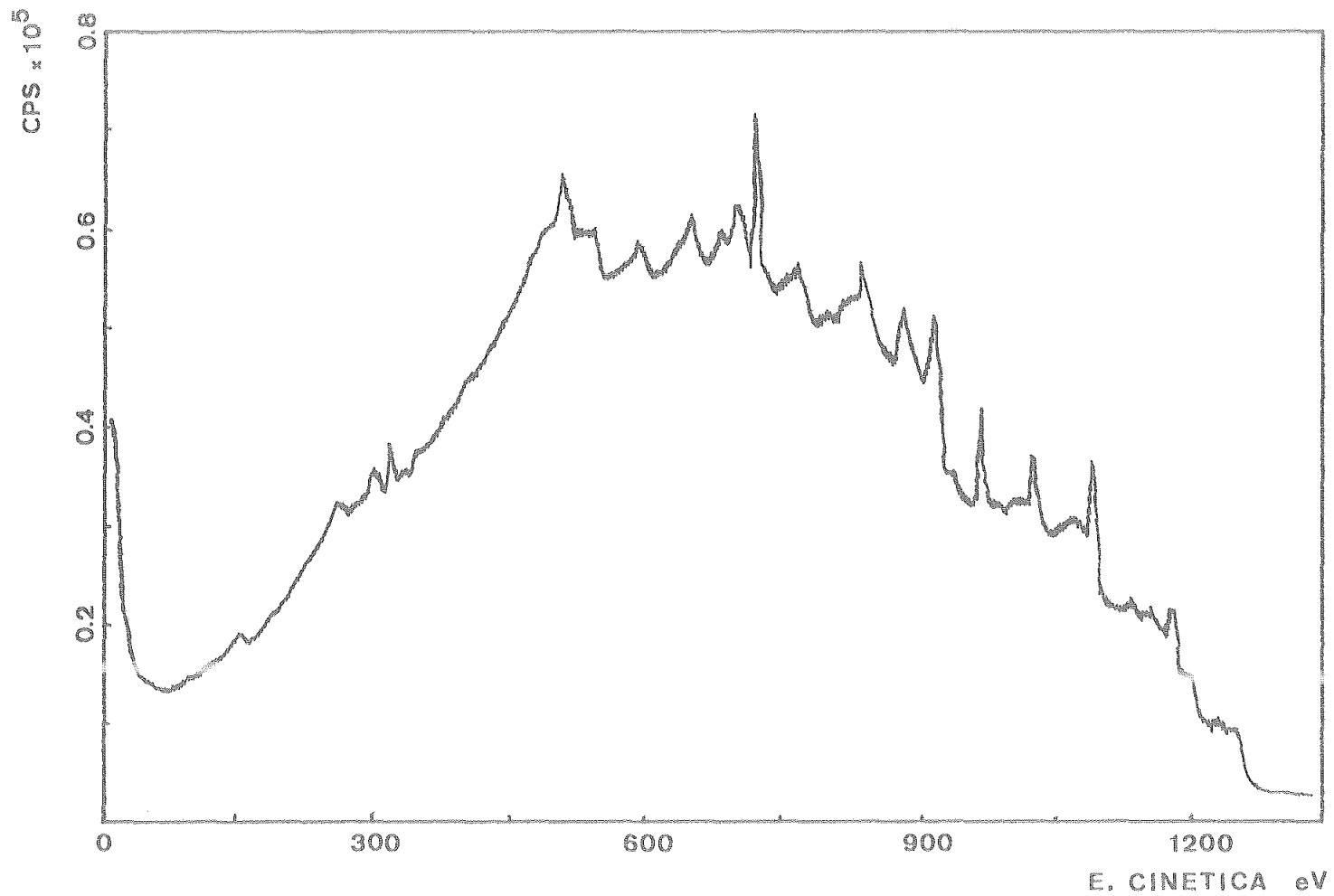


Fig. 50 Espectro general Mg K $\alpha$  del residuo (R-40)

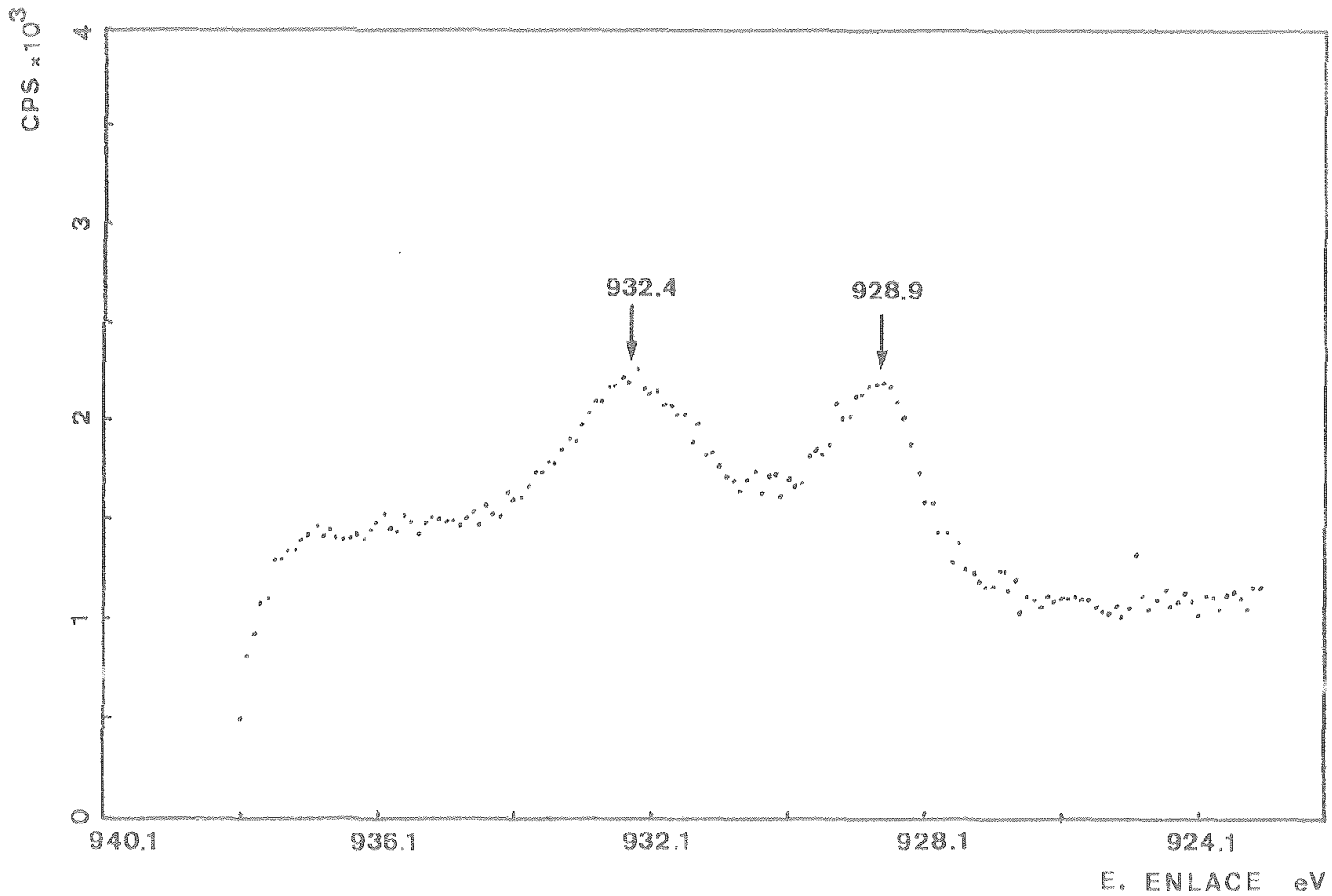


Fig. 51 R-40. Espectro XPS para Cu(2p)

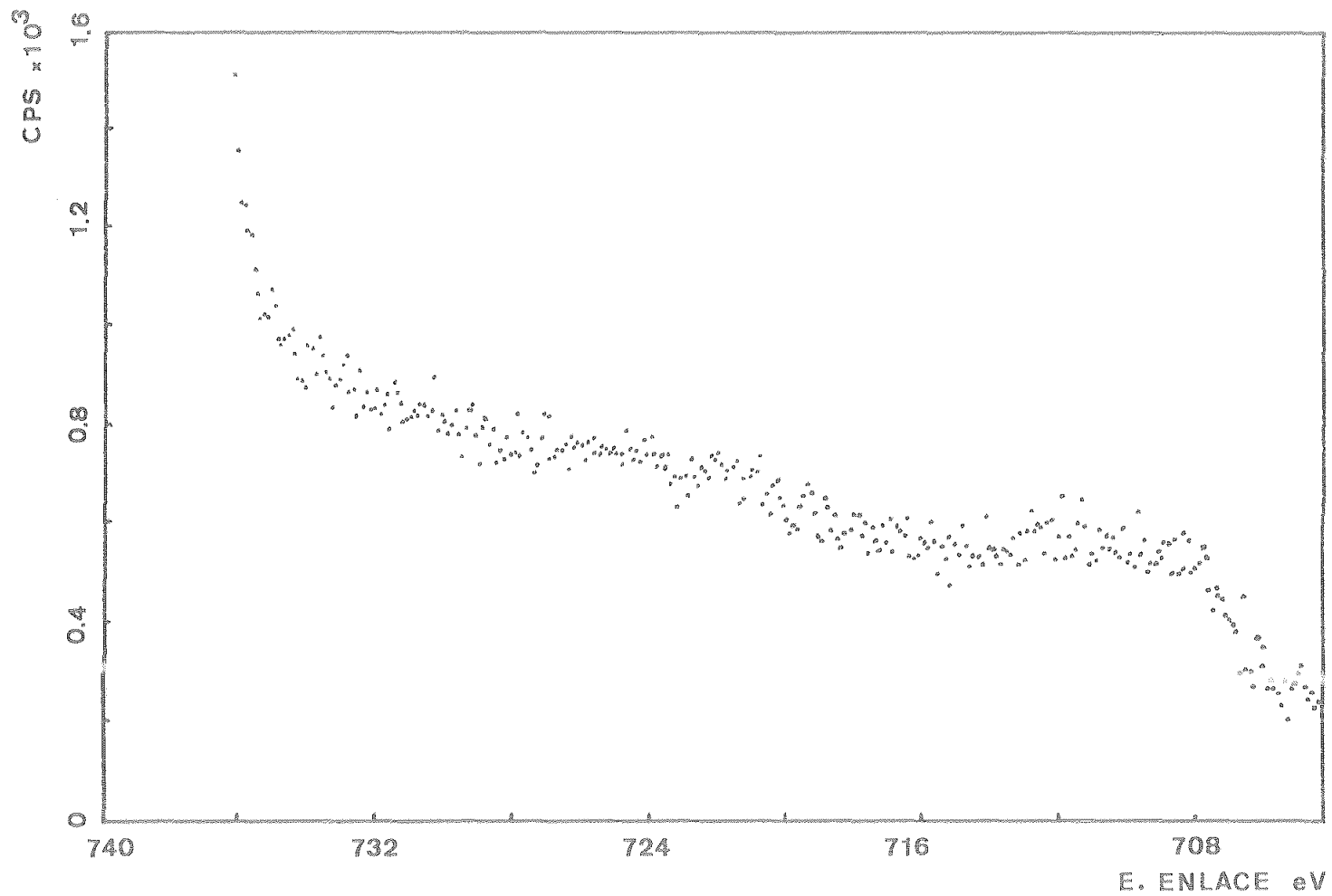


Fig. 52 R-40. Espectro XPS para Fe(2p)

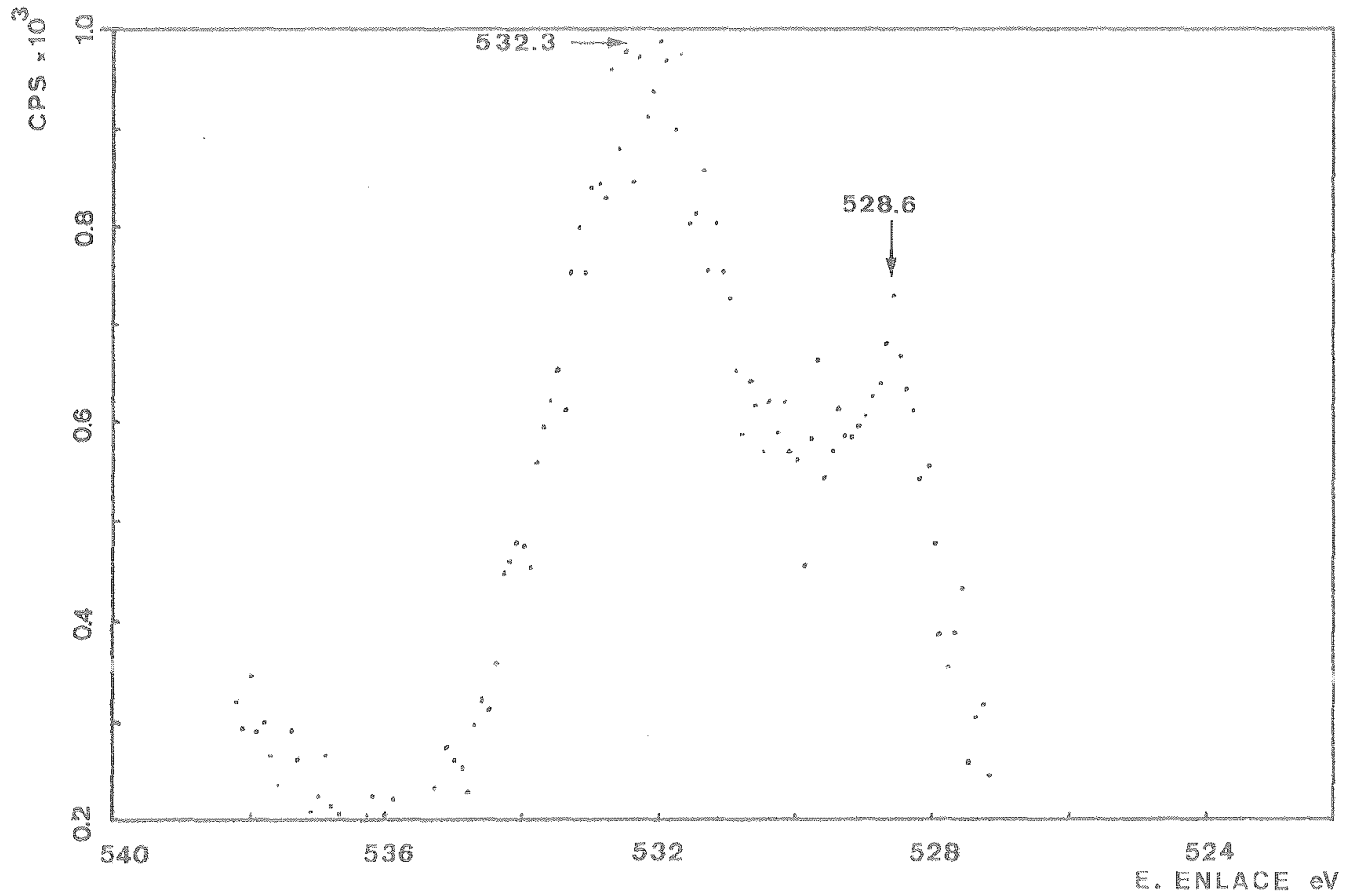


Fig. 53 R-40. Espectro XPS para O(1s)

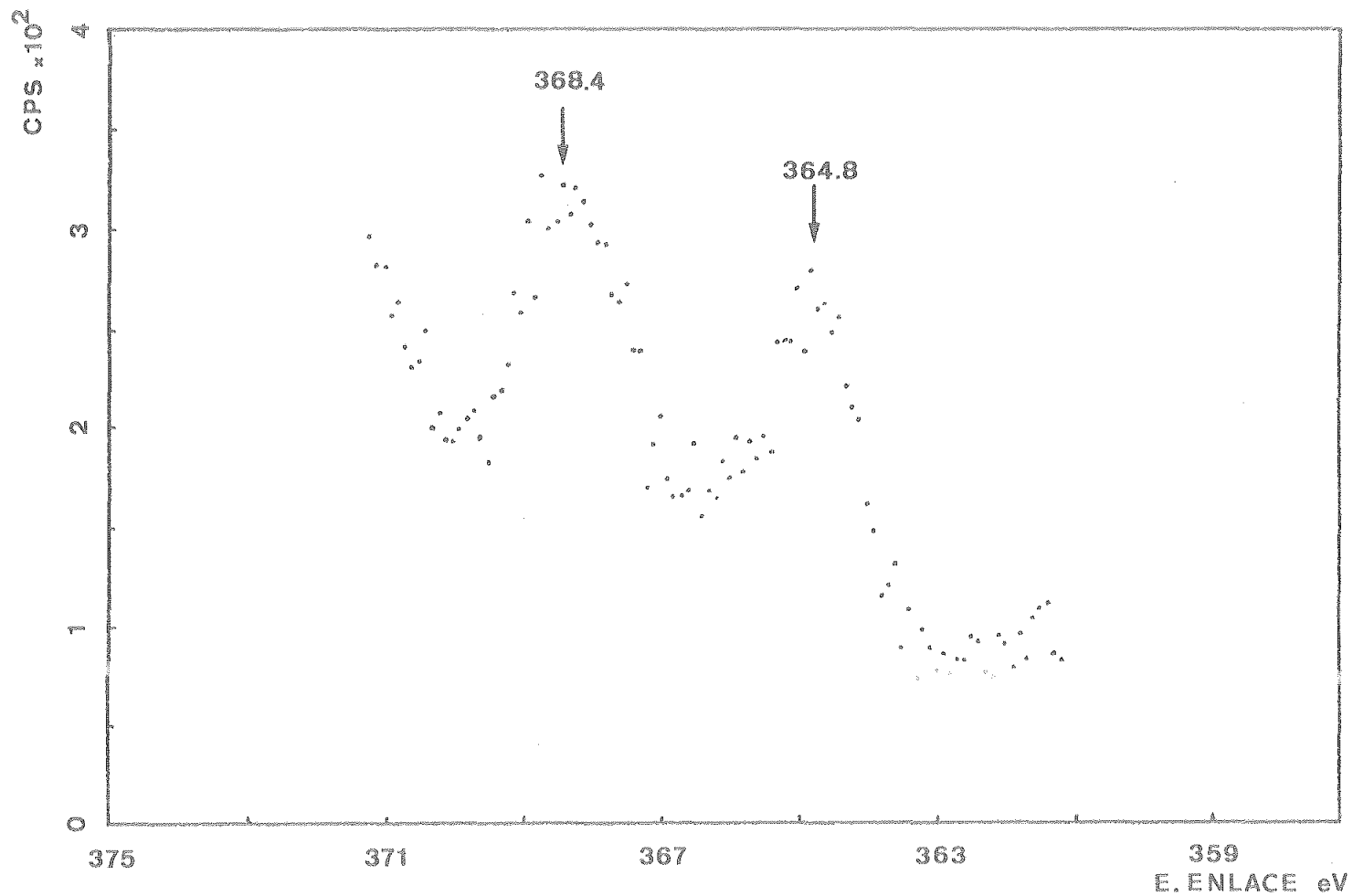


Fig. 54 R-40. Espectro XPS para Ag(3d)

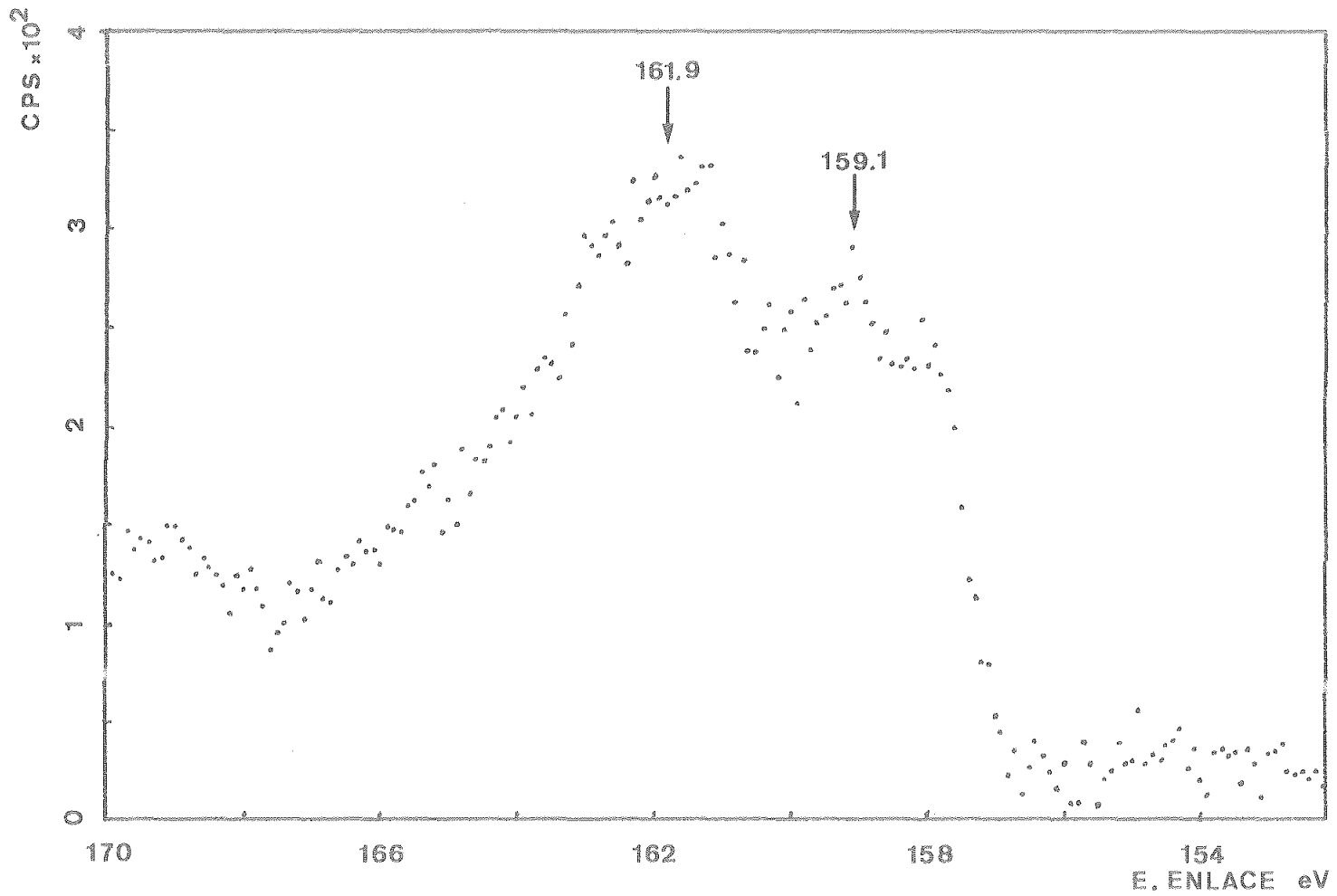


Fig. 55 R-40. Espectro XPS para S(2p)

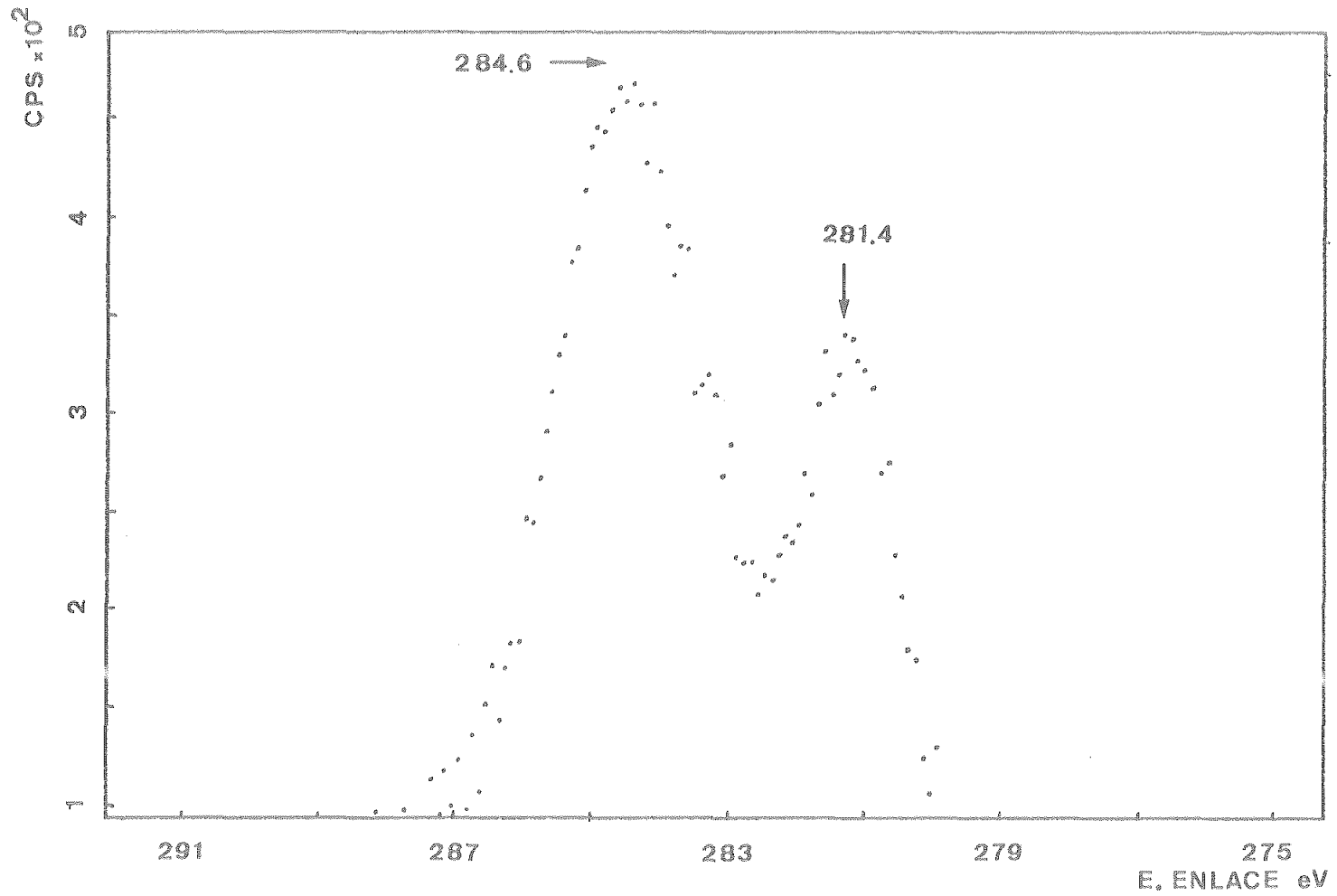


Fig. 56 R-40. Espectro XPS para C(1s)



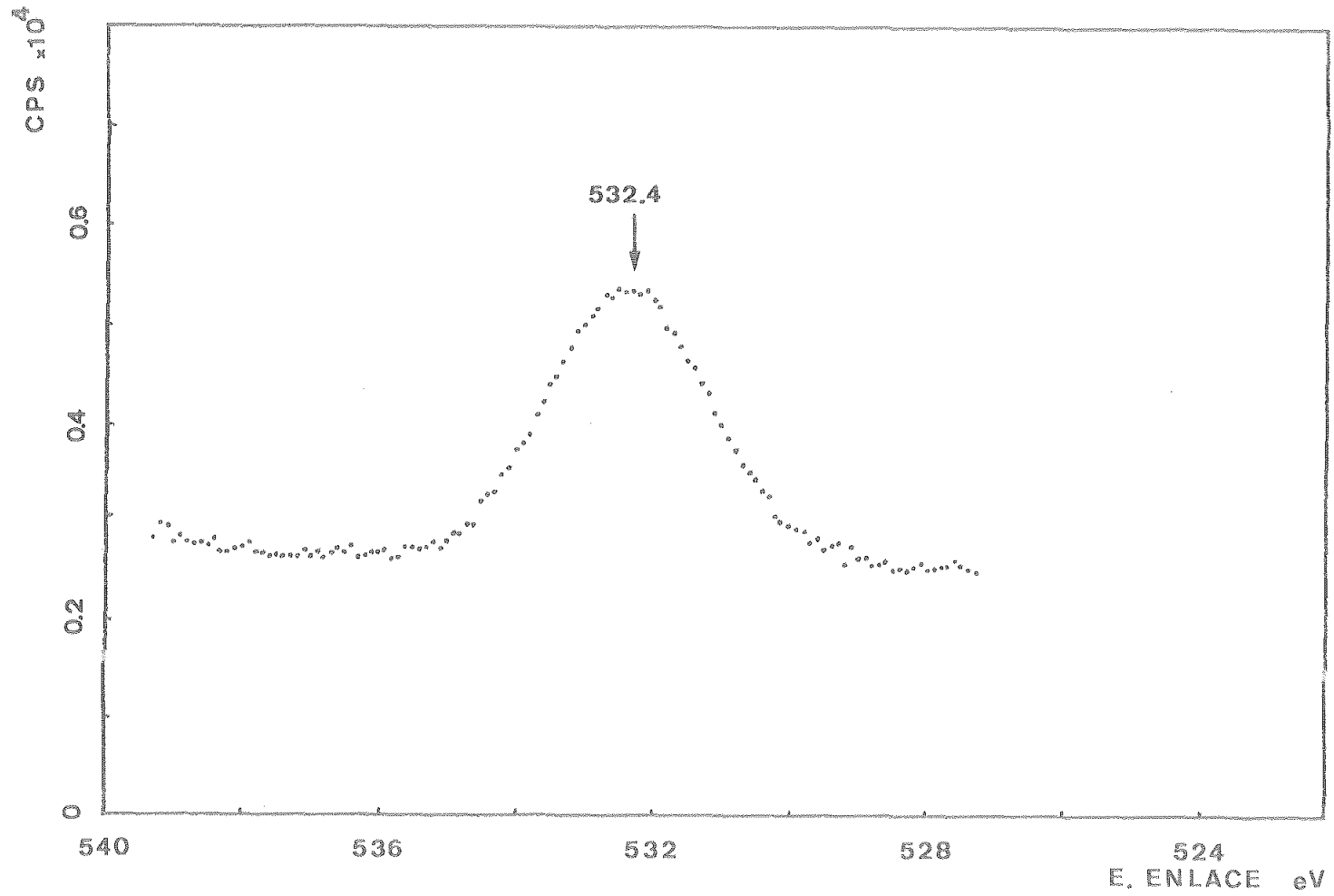


Fig. 57 R-41. Espectro XPS para O(1s)

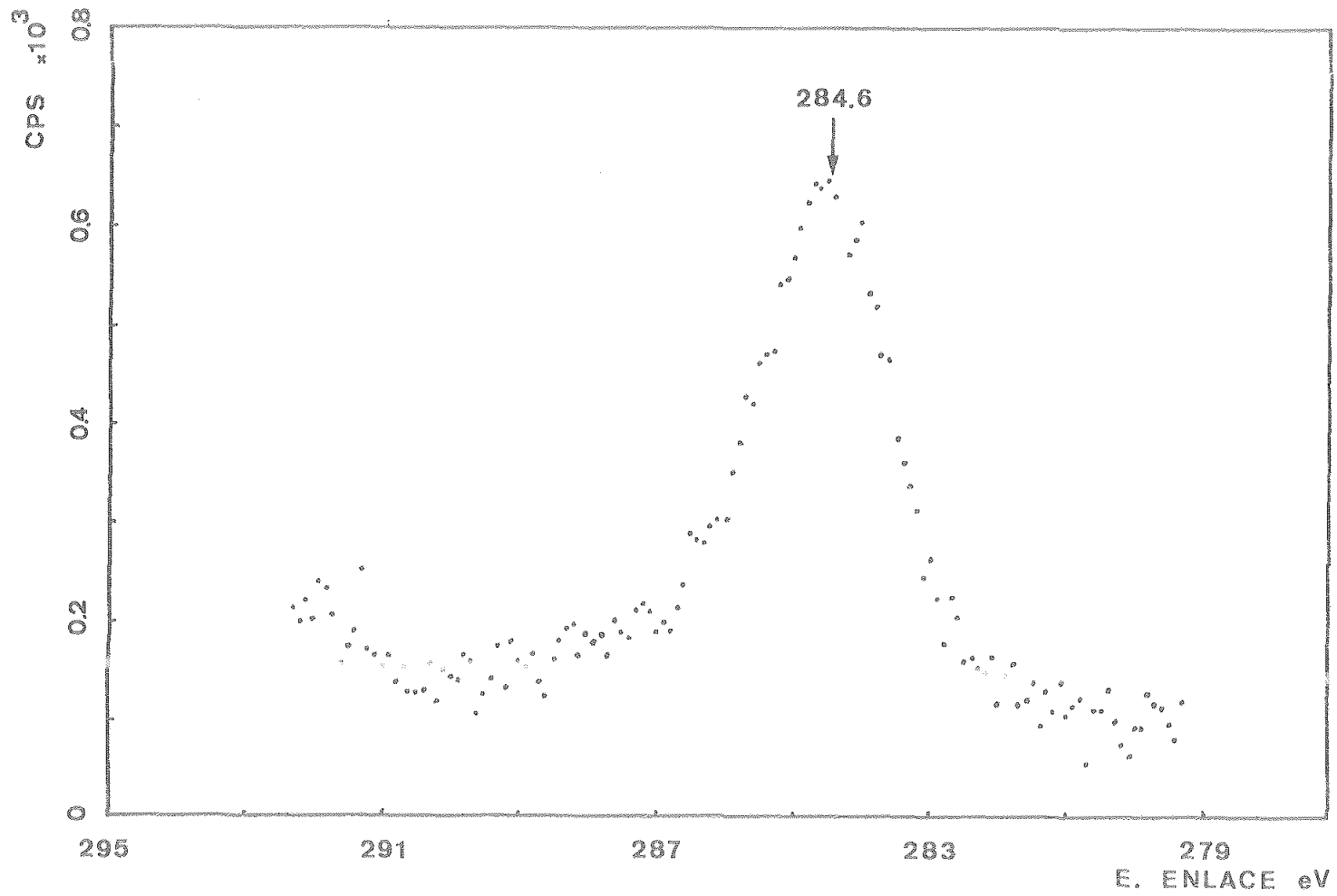


Fig. 58 R-41. Espectro XPS para C(1s)

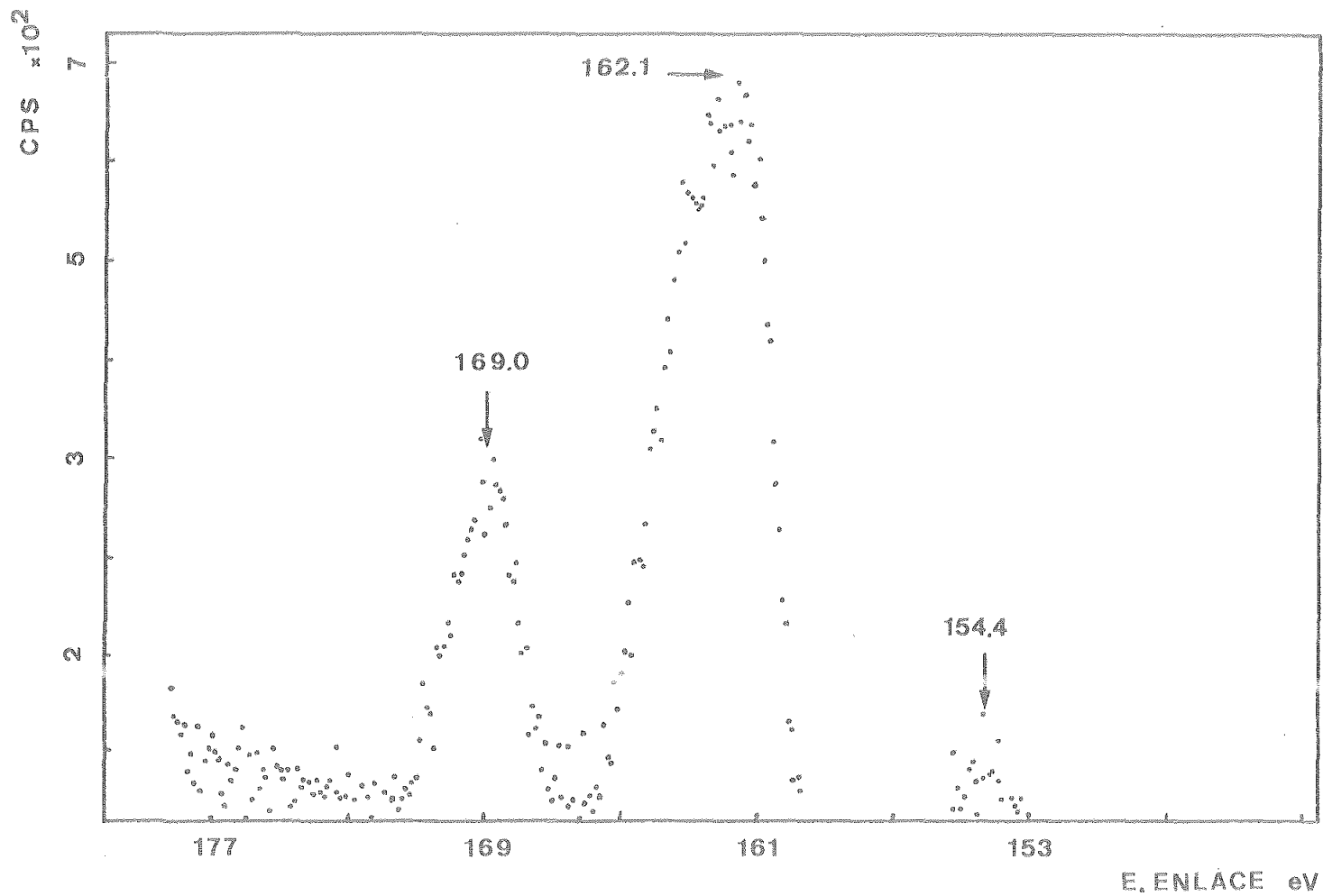


Fig. 59 R-41. Espectro XPS para S(2p)

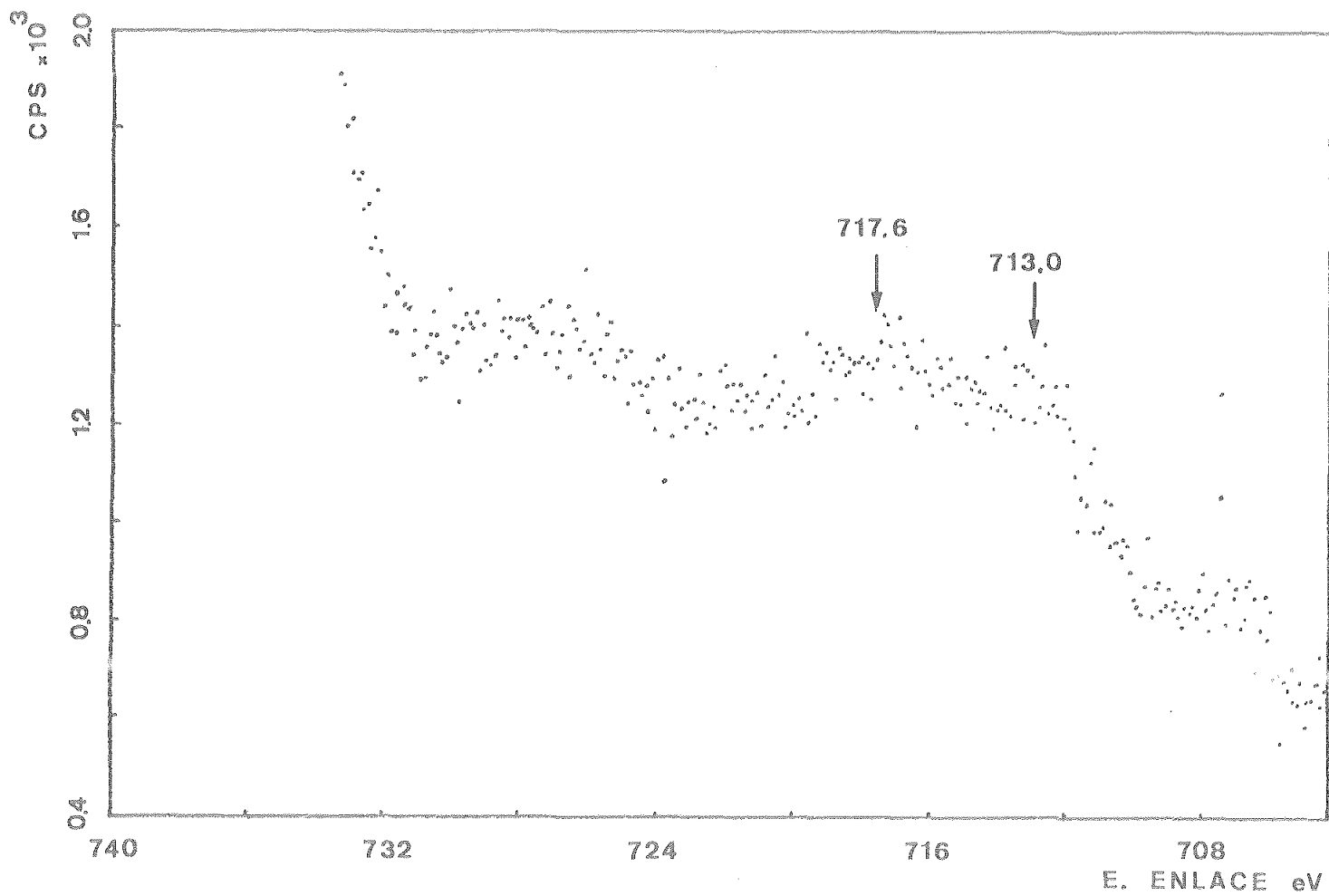


Fig. 60 R-41. Espectro XPS para Fe(2p)

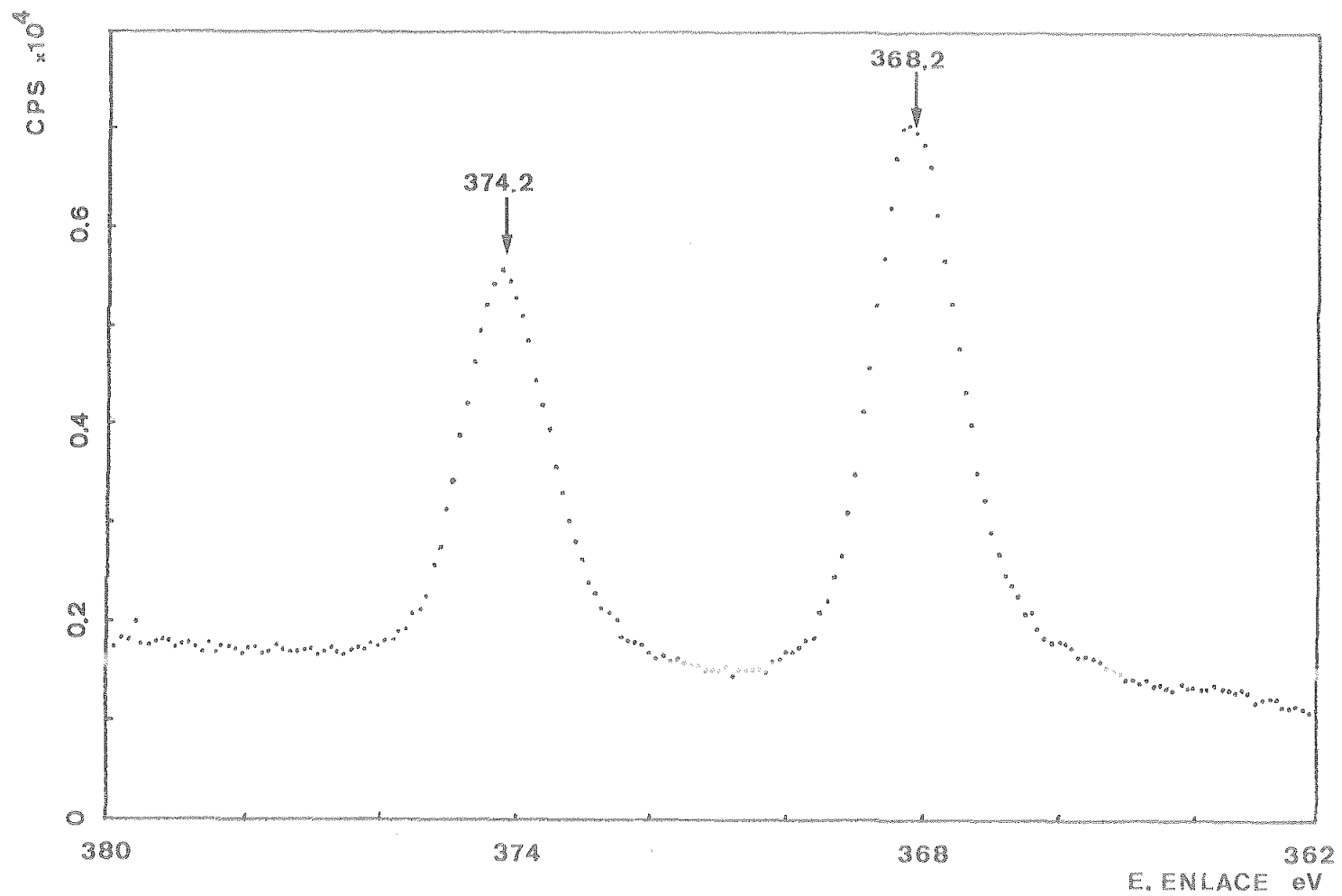


Fig. 61 R-41. Espectro XPS para Ag(3d)

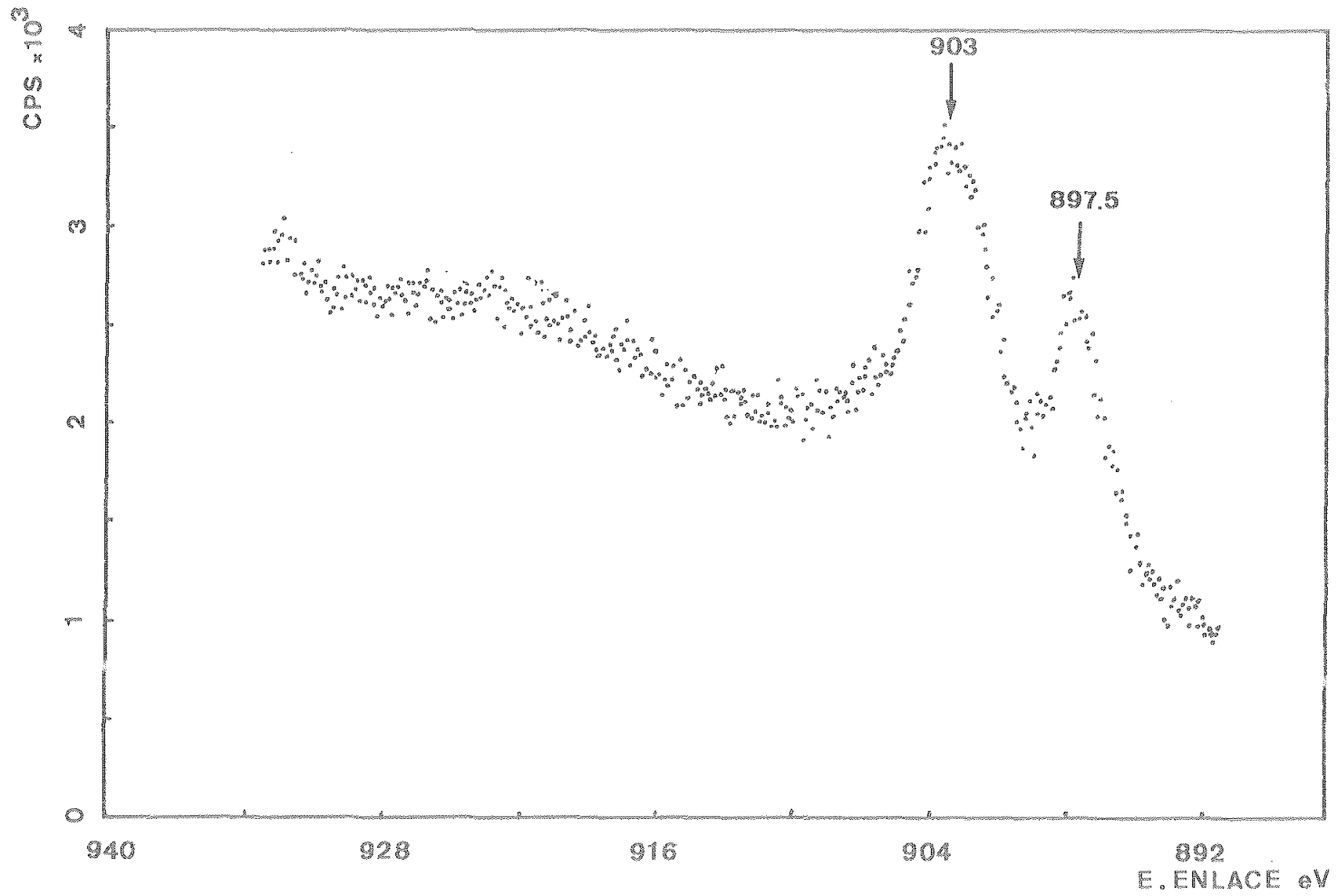


Fig. 62 R-41. Espectro XPS para Cu(2p) + Ag (Auger)



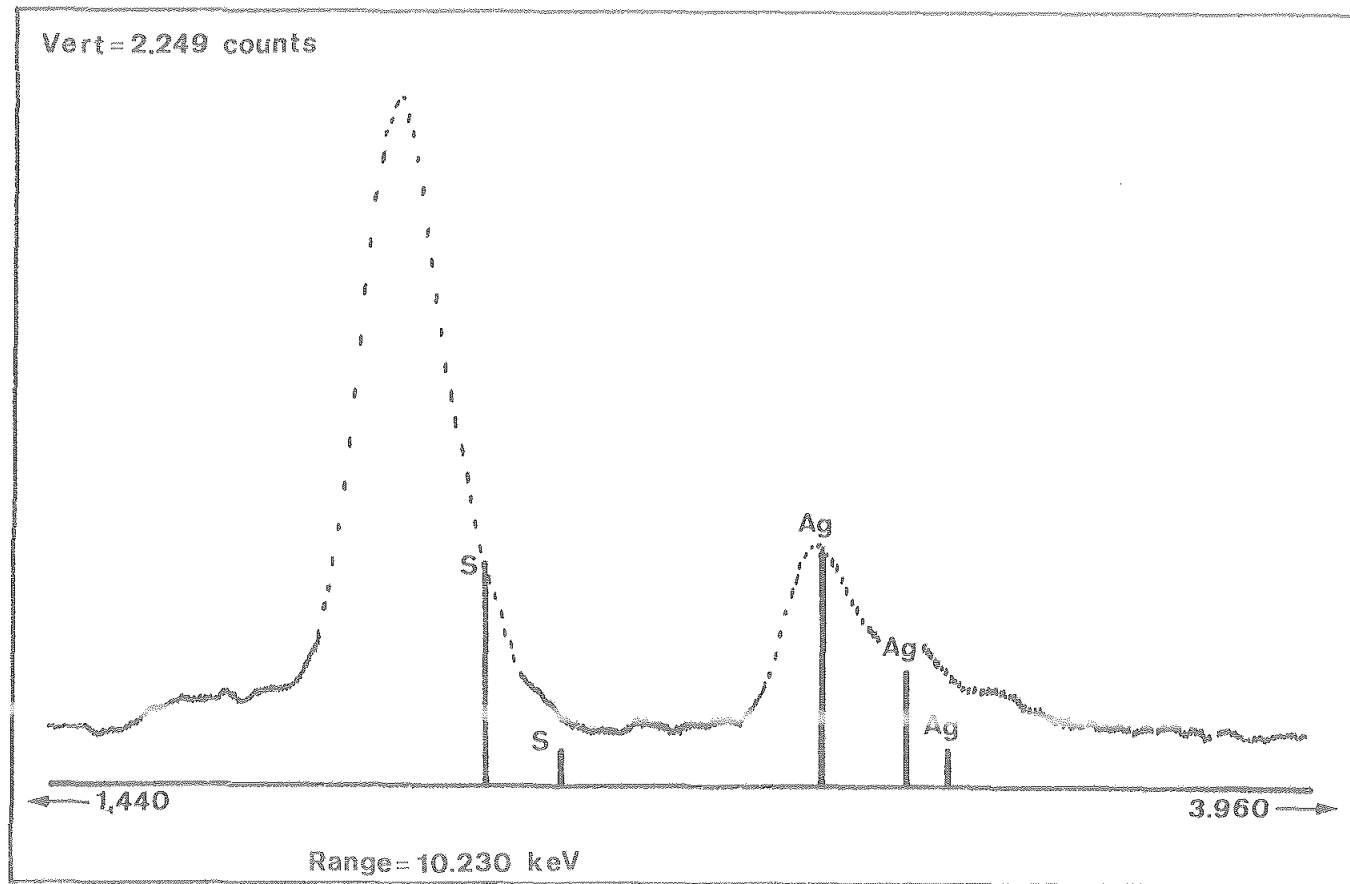


Fig. 64 Residuo R-41. Adquisición puntual.



## 6. CONCLUSIONES

## 6. Conclusiones

1. Es posible la biolixiviación total de calcopirita empleando  $\text{Ag}^+$  como catalizador.
2. Los resultados expuestos en la patente de BC Research (127) no han podido ser reproducidos. La sólo presencia de  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  no mejora la cinética del proceso, obteniéndose muy bajos rendimientos de extracción de cobre.
3. El pH es la variable que ejerce la mayor influencia sobre el proceso. A pH 1.25 se produce la extracción total de cobre en presencia de  $\text{Ag}^+$  y con una cinética muy favorable.
4. A un valor de pH de 2 o superior, el efecto catalítico del ión  $\text{Ag}^+$  se anula por completo.
5. La presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  en el sistema es innecesaria y conduce a peores resultados cuando están presentes.

6. El mecanismo de disolución de la calcopirita en presencia de  $\text{Ag}^+$  y bacterias *Thiobacillus Ferrooxidans* es un mecanismo de contacto indirecto en el que se produce el ataque químico del  $\text{Fe}^{3+}$  sobre la calcopirita y posterior regeneración del agente oxidante por oxidación bacterial de  $\text{Fe}^{2+}$ , actuando el ión  $\text{Ag}^+$  sólo como catalizador.

7. Una separación de los efectos químico y bacterianos que tiene lugar en un reactor tanque agitado durante la prueba de lixiviación microbiológica conduce a una mejora importante en la velocidad. La velocidad global del proceso es aproximadamente 3.5 mayor.

8. Durante las pruebas de lixiviación microbiológica de calcopirita con *Thiobacillus Ferrooxidans* se produce un moderado descenso de la tensión superficial del medio líquido, producido presumiblemente por la liberación de sustancias orgánicas procedentes de rotura de material celular.

9. El empleo de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) permite afirmar la existencia de azufre elemental como producto de la reacción de ataque a la calcopirita.

10. El ión  $\text{Ag}^+$  reacciona de forma preferencial con la calcopirita, quedando la pirita prácticamente inatacada.

11. Aunque la combinación de las técnicas de análisis de superficie empleadas (SEM, XPS y Espectroscopía Auger) no han proporcionado resultados definitivos acerca del compuesto de plata que se forma en la superficie de la muestra, todo parece indicar que se trata de  $\text{Ag}_2\text{S}$ , aunque no es descartable la existencia de  $\text{Ag}^0$  en el interior.

## 7. BIBLIOGRAFIA

## 7. Bibliografía

1. Rudolf, W.  
Soil Sci. 14, 135 (1922)
2. Rudolf, W. y Helbronner, A.  
Soil Sci. 14, 459 (1922)
3. Colmer, A.R. e Hinckle, M.E.  
Science 106, 253 (1947)
4. Colmer, A.R.; Temple, K.L. e Hinckle, M.E.  
J. Bacteriol. 59, 317 (1950)
5. Leathen, W.W. y Madison, K.M.  
Bacteriol. Proc. 64 (1949)
6. Temple, K.L. y Colmer, A.R.  
J. Bacteriol. 62, 605 (1951)
7. Winogradsky, S.  
"Microbiologie du sol", Mason et C<sup>ie</sup>, Paris (1949)
8. Temple, K.L. y Delchamps, W.  
Appl. Microbiol. 1, 255-8 (1953)
9. Bryner, L.C.; Beck, J.V.; Davis, D.B. y Wilson, D.G.  
Ind. Eng. Chem. 46, 2587-92 (1954)
10. Carranza Mora, F.  
"Lixiviación Microbiologica de Pirita en Discontinuo  
Estudio de Variables e Investigación del Mecanismo"  
Tesis Doctoral, Sevilla (1982)
11. Shafia, F. y Wilkinson, R.F.  
J. Bacteriol. 97, 256 (1969)
12. Bergey  
"Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"  
Ed. Ballière Londres (1957)
13. Silverman, M.P. y Lundgren, D.G.  
J. Bacteriol. 77, 642-47 (1959)
14. Bryner, L.C.; Walker; R.B. y Palmer, R.  
Trans. Soc. Min. Eng. AIME 238, 56 (1967)
15. Marchlewitz, B. y Schwartz, N.  
Z. Allg. Mikrobiol. 1, 100-14 (1961)

16. MacDonald, D.G. y Clark, R.H.  
Can. J. Chem. Eng. 48, 669-76 (1970)
17. Tuovinen, O.H. y Kelly, D.P.  
Z. Allg. Mikrobiol. 12, 311-46 (1972)
18. Landesman, J.; Duncan, D.W. y Walden, C.C.  
Can. J. Microbiol. 12, 957-64 (1966)
19. Burton, K.  
Nature 181, 1954 (1958)
20. Corrick, J.D. y Sutton, J.A.  
US Bur. Min. Rep. Inv. 6719 (1965)
21. Lundgren, D.G.; Andersen, K.J.; Remsen, C.C. y Mahoney, R.  
Dev. Ind. Microbiol. , 250-9 (1964)
22. Tuovinen, O.H.; Niemelä, S.I. y Gylleberg, H.G.  
Biotechnol. Bioeng. 13, 517-27 (1971)
23. McIntosh, M.E.  
J. Gen. Microbiol. 66, 1-2 (1971)
24. Beck, J.V. y Shafia, F.M.  
J. Bacteriol. 88, 850-7 (1964)
25. Beck, J.V.  
Ferment Adv. Pap. Int. Ferm. Symp 3<sup>a</sup> 1968,  
747-51 (1969)
26. Torma, A.E.; Walden, C.C. y Branion, R.M.R.  
Biotechnol. Bioeng. 12, 501-17 (1970)
27. Silverman, M.P. y Lundgren, D.G.  
J. Bacteriol. 78, 326-31 (1959)
28. Razzel, W.E. y Trussell, P.C.  
Appl. Microbiol. 11, 105-10 (1963)
29. Lazaroff, N.  
J. Bacteriol. 85, 78-83 (1963)
30. Dugan, D.W. y Lundgren, D.G.  
J. Bacteriol. 89, 825-34 (1965)
31. Schnaitman, C.A.; Korczynski, M.S. y Lundgren, D.G.  
J. Bacteriol. 99, 552-57 (1969)

32. Bodo, C.A. y Lundgren, D.G.  
Bacteriol. Proc. 131 (1971)
33. Gale, N.L. y Beck, J.V.  
J. Bacteriol. 94 1052-9 (1967)
34. Howard, A. y Lundgren, D.G.  
Can. J. Biochem. 48, 1302-7 (1970)
35. Sadler, W.R. y Trudinger, P.A.  
Mineralium Deposita 2, 158-68 (1967)
36. Tuovinen, O.H.; Niemelä, S.I. y Gylleberg, H.G.  
Antonie Van Leeuwenhoek 37, 489-96 (1971)
37. Duncan, D.W. y Bruynestein, A.  
Can. Mining. Metall. Bull. 64 32-6 (1971)
38. Torma, A.E.; Walden, C.C.; Duncan, D.W. y Branion, R.  
Biotechnol. Bioeng. 14, 777 (1972)
39. Baker, A.R. y Wiltshire, A.G.  
Environm. Sci. Technol. 4, 401-7 (1970)
40. Sakaguchi, H.; Silver, M. y Torma, A.E.  
Biotechnol. Bioeng. 18, 1091 (1976)
41. Chernyak, A.S. y Mineev, G.G.  
J. Non-Ferrous Metals 7, 28 (1966)
42. Duncan, D.W.; Landesman, J. y Walden, C.C.  
Can. J. Microbiol. 13, 397-403 (1967)
43. Bhappu, R.B.; Reynolds, D.H. y Roman, R.G.  
J. Metals 17, 1199-1205 (1965)
44. Wyckoff, R.W.G.  
Bull. Soc. Franç. Min. Cristallog. 93, 120-2 (1970)
45. Andersen, K.J. y Lundgren, D.G.  
Can. J. Microbiol. 15, 73-9 (1969)
46. Leathen, W.W.; Kinsel, N.A. y Braley, S.A.  
J. Bacteriol. 72, 700-4 (1956)
47. Beck, J.V.  
J. Bacteriol. 79, 502-9 (1960)



48. Razzell, W.E. y Trussell, P.C.  
J. Bacteriol. 85, 595-603 (1963)
49. Blaylock, B.A. y Nason, A.  
J. Biol. Chem. 238, 3453 (1963)
50. Vernon, L.P.; Mangun, J.H.; Beck, J.V. y Shafia, F.M  
Arch. Biochem. Biophys. 88, 227 (1960)
51. Tikhonova, G.; Lisenkova, L.; Doman, N. y  
Skulachev, V.  
Biokimiya, 32, 725 (1967)
52. Yates, M.G. y Nason, A.  
J. Biol. Chem. 247, 4872 (1966)
53. Din, G.A. y Suzuki, I.  
Can. J. Biochem. 45, 1547 (1967)
54. Silver, M.  
"Metallurgical Applications of Bacterial Leaching  
and Related Microbiological Phenomena"  
Eds. Murr, L.E.; Torma, A.E. y Brierley, J.A.  
Academic Press Londres 1978
55. Silverman, M.P. y Ehrlich, H.L.  
Advan. Appl. Microbiol. 6, 153-206 (1964)
56. Silverman, M.P.  
J. Bacteriol. 94, 1046-51 (1967)
57. Bryner, L.C. y Anderson, R.  
Ind. Eng. Chem. 49, 1721-4 (1957)
58. Ehrlich, H.L.  
Econ. Geol. 58, 991-4 (1963)
59. Sinka, D.B. y Walden, C.C.  
Can. J. Microbiol. 12, 1041 (1966)
60. Tabita, R.; Silver, M. y Lundgren, D.G.  
Can. J. Biochem. 47, 1141 (1969)
61. Silver, M. y Lundgren, D.G.  
Can. J. Biochem. 46, 457 (1968)
62. Silver, M. y Lundgren, D.G.  
Can. J. Biochem. 46, 1215 (1968)

63. Vestal, J.R. y Lundgren, D.G.  
Can. J. Biochem. 49, 1125 (1971)
64. Margalith, P.; Silver, M. y Lundgren, D.G.  
J. Bacteriol. 92, 1706-9 (1966)
65. Gleen, H. y Quastel, J.H.  
Appl. Microbiol. 1, 70 (1953)
66. Pankhurst, E.S.  
J. Gen. Microbiol. 34, 427 (1964)
67. Adapoe, C. y Silver, M.  
Can. J. Microbiol. 1, 1 (1975)
68. Vishniac, W.  
J. Bacteriol. 64 163 (1952)
69. Trudinger, P.A.  
Biochem. J. 90, 640 (1964)
70. Blancarte-Zurita, M.A.; Branion, R.M.R. y  
Lawrence, R.W.  
Biohydrometall. Proc. Int. Symp. 1987 pp 273-85  
(Pub. 1988) Ed. Norris, P.R. y Kelly, D.P.  
Sci. Technol. Lett.: Kew, UK.
71. Sutton, J.A. y Corrick, J.D.  
Mining. Eng. 6, 37-40 (1963)
72. Nielsen, A.M. y Beck, J.V.  
Science, 175, 1124-6 (1972)
73. Ehrlich, H.L. y Fox, S.I.  
Biotech. Bioeng. 9, 471-485 (1967)
74. Le Roux, N.W.; North, A. y Wilson, J.C.  
The Instit. of Mining and Metall. Paper 45  
10<sup>th</sup> IMPL Congress Londres (1973)
75. Torma, A.E.  
Rev. Can. Biol. 30, 209-16 (1971)
76. Tomizuka, N.  
Report of the Ferment. Res. Inst. 48, 51  
(1976)
77. Silver, M. y Torma, A.E.  
Can. J. Microbiol. 20, 141-7 (1974)

78. Maalöe, O.  
"The Bacteria" Vol. 4 Academic Press New York  
(1962)
79. Senez, J.C.  
"Microbiología General" Ed. Alhambra Madrid (1976)
80. Monod, J.  
Ann. Rev. Microbiol. 3, 371 (1949)
81. Monod, J.  
Annls. Inst. Pasteur Paris 9, 390-410 (1950)
82. Christensen, N.H. y Palmer, G.A.  
"Cinética Enzimática" Ed. Reverté Barcelona (1980)
83. Michaelis, L. y Menten, M.N.  
Biochem. Z. 49, 333 (1913)
84. Baas-Becking, L.G.M. et Al.  
Koninkl. Nederl. Akad. Wetenschappen Amsterdam  
Proc Series B. 58, 160 (1955) - 60 102  
(1957)
85. Baas-Becking, L.G.M.; Kaplan, I.R. y More, D.  
J. Geol. 8, 243 (1960)
86. Vallentyne, J.R.  
Ann. New York Acad. Sci. 08, 342 (1967)
87. Moss, F.J. y Andersen, J.E.  
Proc. Austr. Inst. Minig. Metall. 225, 15-25  
(1968)
88. Ingledew, W.J.; Cox, J.C. y Halling, P.J.  
FEMS Lett. 2, 193-7 (1977)
89. Ingledew, W.J.; Cox, J.C.; Jones, R.W. y Garland, P.  
Frontiers Biological Energetics Vol 1  
Eds Scarpa, A.; Dutton, P.L. y Leigh, J.S. pp 334-41  
Academic Press N.Y.
90. Cox, J.C.; Nichols, D.G. e Ingledew, W.J.  
Biochem. J. 78, 195-200 (1979)
91. Apel, W.A. y Dugan, P.R.  
"Metallurgical Applications of Bacterial Leaching  
and Related Microbiological Phenomena" pp 45-9  
Academic Press Londres (1978)

92. Ingledew, W.J.  
Biochimica et Biophysica Acta 683, 89-117 (1982)
93. Lamb, A.B. y Elder, L.W.  
J. Am. Chem. Soc. 53, 137-63 (1931)
94. Malouf, E.E. y Prater, J.D.  
J. Met. 13, 353 (1961)
95. Sakaguchi, H.; Torma, A.E. y Silver, M.  
Appl. Environ. Microbiol. 31, 7 (1976)
96. Imai, K.; Sakaguchi, H.; Sugio, T. y Tano, T.  
J. Ferment. Technol. 51, 865 (1973)
97. Hulett, J.R.  
Quart. Rev. 8, 227 (1964)
98. Han, M.H.  
J. Theor. Biol. 35, 543 (1972)
99. Guay, R.  
Ph. D. Thesis Laval University, Quebec (1977)
100. Torma, A.E.  
"Advances in Biochemical Engineering" Vol 6  
Eds. Ghose, T.K.; Fletcher, A. y Blekebrough, N.  
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1977)
101. Trumbore, R.H.  
"The Cell Chemistry and Function" p 102  
Saint Louis The C.V. Mosby Co. (1966)
102. Duncan, D.W.; Trusell, P.C. y Walden, C.C.  
Appl. Microbiol. 12, 122 (1964)
103. Silverman, M.P.; Rogoff, M.H. y Wender, I.  
Appl. Microbiol. 9, 491 (1961)
104. Duncan, D.W.; Walden, C.C. y Trusell, P.C.  
Can. Min. Met. Bull. 59, 1075 (1966)
105. McGoran, C.J.M.; Duncan, D.W. y Walden, C.C.  
Can. J. Microbiol. 15, 135 (1969)
106. Pinches, A.; Al-Jaid, F.O.; Williams, D.J. y  
Atkinson, B.  
Hydrometallurgy, 2, 87-103 (1976)

107. Torma, A.E.  
Can. Pat. N. 960463 (1975) y Eng. Pat. N. 1382357  
(1975)
108. Bandfield, D.L.; Simpson, M.P.; Newson, I.H. y  
Adler, P.J.  
UK Atomic Energy Authority, Research Group (Report)  
Harwell, Berkshire (1966)
109. Adamson, A.W.  
"Physical Chemistry of Surfaces" 3<sup>ra</sup> Ed.  
John Wiley & Sons Eds., New York (1976)
110. Shaw, D.J.  
"Introducción a la Química de Superficies y  
Coloides" Ed. Alhambra, Madrid (1977)
111. Tate, T.  
Phil. Mag. 27, 176 (1864)
112. Harkins, W.D. y Brown, F.E.  
J. Am. Chem. Soc. 1, 499 (1919)
113. Horvath, A.L.  
"Physical Properties of Inorganic Compounds"  
Arnold Pub., Norwich (1975)
114. Harkins, W.D.  
"The Physical Chemistry of Surface Films"  
Reinhold Pub. Corp., New York (1952)
115. Lawrence, R.W.; Wизsolyi, A. y Vos, R.J.  
AIChE National Meeting, Atlanta (Georgia) (1984)
116. Miller, J.D. y Portillo, H.Q.  
13<sup>th</sup> Int. Mineral Processing Congress, Varsovia  
(1979)
117. Peters, E.  
"Electrochemistry of Sulphide Minerals"; Trends in  
Electrochemistry, J. O'M. Bockris, Ed. Plenum Press  
New York (1977)
118. Beck, J.V. y Brown, D.G.  
J. Bacteriol. 6, 1433 (1968)
119. Lowe, D.F.  
Ph. D. Thesis, University of Arizona (1970)

120. Linge, H.G.  
Hydrometallurgy, 2, 51 (1976)
121. Dutrizac, J.E.; MacDonald, R.J.C. e Ingraham, T.R.  
Trans. TMS-AIME 45, 955 (1969)
122. Beckstead, W.; Muñoz, P.B.; Miller, J.D.;  
Herbst, J.A.; Olson, F.A. y Wadsworth, M.E.  
"Extractive Metallurgy of Copper II"  
The Metallurgical Society of AIME, New York (1976)
123. Muñoz, P.B.; Miller, J.D. y Wadsworth, M.E.  
Met. Trans. B. 10B, 149 (1979)
124. Jones, D.L. y Peters, E.  
"Extractive Metallurgy of Copper II"  
The Metallurgical Society of AIME, New York (1976)
125. Miller, J.D.; McDonough, P.J. y Portillo, H.Q.  
"Process and Fundamental Considerations of Selected  
Hydrometallurgical Systems", Kuhn, M.C. Editor  
SME-AIME New York (1981)
126. Norris, P.F. y Kelly, D.P.  
"Metallurgical Applications of Bacterial Leaching  
and Related Microbiological Phenomena"  
Eds. Murr, L.E.; Torma, A.E. y Brierley, J.A.  
Academic Press (1978)
127. BC Research Council  
BC Research Project Num. 1-42-487 (1984)
128. Hiskey, J.B. y Wadsworth, M.E.  
"Process and Fundamental Considerations of Selected  
Hydrometallurgical Systems", Kuhn, M.C. Editor  
SME-AIME New York (1981)
129. Kuznetsov, S.I.; Ivanov, N.V. y Lyalikova, N.M.  
"Introduction to Geological Microbiology"  
McGraw-Hill Books Co. New York (1963)
130. Barriga Mateos, F.; Palencia Perez, I y  
Carranza Mora, F.  
Hydrometallurgy, 19, 159-167 (1987)
131. Ammou-Chokroum, M.; Steinmetz, A.M. y Malve, A.  
Bull. Mineral. 101, 26-43 (1978)
132. Parker, A.J.; Paul, R.L. y Power, G.P.  
J. Electroanal. Chem. 18, 305-316 (1981)

133. "Rx for leaching copper : Go the biological way"  
Chem. Eng. July (1983)
134. Lawrence, R.W.; Vizsolyi, A. y Vos, R.J.  
Microbiological Effects on Metallurgical Processes  
Eds.: Haas, L.A. y Clum, J.A. AIME, N.Y.
135. Groudev, S.N.  
Dock. Bolg. Akad. Nauk. 34, 10, (1981)
136. Wichlacz y Unz  
Biotech. Bioeng. 11, 495-504 (1981)
137. Barriga Mateos, F.  
Comunicación Personal.
138. Box, G.E.; Hunter, W.G. y Hunter, J.S.  
"Statistic for experiments. An introduction to  
design, data analysis and model building"  
New York. John Wiley & sons (1978)
139. Gonzalez-Elipe, A.R. y Munuera, G.  
"Fundamentos y aplicaciones de la Espectroscopía  
de fotoelectrones XPS/ESCA"  
Publicaciones Univ. Sevilla S. Ciencias Num 26  
(1986)
140. Perkin-Elmer  
Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy
141. Price, O.W. y Warren, G.W.  
Hydrometallurgy 15, 303-24 (1986)
142. Freeman, H.D.; Hartley, J.N. y Wick, O.J.  
Process Mineralogy Conference Proceeding  
Chicago, Illinois 1981
143. Torma, A.E. and Banhegyi, I.G.  
Trends in Biotechnology, 2, 1 (1984)
144. Dutrizac, J.E.  
Trans, Am. Instn. Min. Engrs. 45, 5 (1969)
145. Carranza Mora, F.  
Comunicaciones II Reunión Científica de  
Microbiología Industrial. Sevilla (1983)
146. Dutrizac, J.E.  
Met. Transac. 12B, 6 (1971)

147. Alba Hermosín, J.  
Tesis de Licenciatura. Sevilla (1981)
148. Hiskey, J.B.; Phule, P.P. y Pritzker, M.D.  
Met. Transac. 18B Dic. (1987)
149. Hiskey, J.B. y Pritzker, M.D.  
Journal of Applied Electrochemistry 18 484-90  
(1988)
- \*150. Buckley, A.N.; Wouterlood, H.J. y Woods, R.  
Journal of Applied Electrochemistry 19 744-51  
(1989)



# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

EXCMO. TRIBUNAL DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de

D. JOAQUIN ALBA HERMOSIN

titulada EFEECTO CATALITICO DEL ION AgT EN LA BIOLIXIVIACION DE CALCOPIRITA

acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE

Sevilla, 28 de SEPTIEMBRE 1990

El Vocal,



El Presidente

El Vocal,



El Secretario,

El Vocal,



El Doctorado,

