

Archivos de Ingeniería Bioquímica

Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras

Fernando Acevedo B.
Juan Carlos Gentina M.
EDITORES



EDICIONES UNIVERSITARIAS DE VALPARAÍSO
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Quedan rigurosamente prohibidas, sin la autorización escrita de los titulares del "Copyright", bajo las sanciones establecidas en las leyes, la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático y la distribución de ejemplares de ella mediante alquiler o préstamo públicos.

© Fernando Acevedo B. y Juan Carlos Gentina M., Editores, 2005
Inscripción N° 149.071

ISBN 956-17-0373-4

Tirada de 400 ejemplares
Derechos Reservados

Ediciones Universitarias de Valparaíso
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Calle 12 de Febrero 187, Valparaíso
Fono (32) 273087 - Fax (32) 273429
E.mail: euvs@ucv.cl
www.euv.cl

Diseño Gráfico: Guido Olivares S.
Asistente de Diseño: Mauricio Guerra P.
Corrección de Pruebas: Osvaldo Oliva P.

Impreso en Litogarín, Valparaíso

HECHO EN CHILE

ÍNDICE

- Págs. 09 - 24 **CAPÍTULO 1**
MECANISMO DE LA BIOLIXIVIACIÓN
Antonio Ballester
- Págs. 25 - 43 **CAPÍTULO 2**
BIOOXIDACIÓN DEL ION FERROSO
José Manuel Gómez y Domingo Cantero
- Págs. 45 - 61 **CAPÍTULO 3**
BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES DE COBRE
Fernando Acevedo y Juan Carlos Gentina
- Págs. 63 - 77 **CAPÍTULO 4**
OXIDACIÓN DE SULFUROS DE COBRE POR *A. ferrooxidans*:
Análisis de los productos de las fases líquidas y sólidas
Denise Bevilaqua y Oswaldo Garcia Júnior
- Págs. 79 - 91 **CAPÍTULO 5**
BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES DE ORO
Juan Carlos Gentina y Fernando Acevedo
- Págs. 93 - 105 **CAPÍTULO 6**
BIOOXIDACIÓN DE CONCENTRADOS REFRACTARIOS DE
ARSENOPIRITA EN TANQUES AGITADOS:
Experiencia Industrial en Tamboraque, Perú
Martha Elena Ly Arrascue
- Págs. 107 - 120 **CAPÍTULO 7**
BIO-REDUCCIÓN Y BIO-PRECIPITACIÓN DE IONES METÁLICOS:
Bacterias azufre-oxidantes y sulfato-reductoras en la bio-remediación de cromo
Edgardo Donati
- Págs. 121 - 135 **CAPÍTULO 8**
BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES DE COBRE EN CHILE, 1993 - 2003:
Una década de realizaciones
Sergio Bustos M.

PRÓLOGO

Chile es el principal productor de cobre del mundo, con una producción que alcanza actualmente cinco millones de toneladas anuales, de las cuales el 10% se produce a través de lixiviación bacteriana, constituyéndose en el bioproceso más importante en el país, aportando un 4% del PGB. Chile posee un 38,3% de las reservas mundiales de este metal y el crecimiento sostenido de esta industria permite suponer una creciente incorporación de esta tecnología en los procesos productivos de obtención de cobre y en la recuperación de otros metales tales como el oro.

Dependiendo de la composición del mineral sulfurado, la lixiviación bacteriana es una alternativa ventajosa a las tecnologías pirometalúrgicas por demandar menores inversiones de capital y tener menores costos de operación. Por otra parte la no emisión de SO_2 la convierten en una tecnología más limpia, cuestión no menor frente a la creciente preocupación pública por los efectos ambientales de operaciones industriales. Esta tecnología permite además el beneficio de minerales marginales y la exploración de botaderos que en muchos casos constituyen hoy pasivos ambientales, y al ser una tecnología de fácil aplicación es atractiva para ser empleada en países en vías de desarrollo.

La lixiviación bacteriana es un excelente ejemplo de cómo la actividad biológica controlada puede servir al hombre en la explotación de los recursos naturales sin el uso intensivo de energía. Desde la década del 50, en que se descubrió que los responsables de la acidificación de aguas de minas eran microorganismos, hasta hoy se ha avanzado mucho en el entendimiento de los mecanismos a través de los cuales se llevan a cabo la solubilización de las especies metálicas, y en la aplicación de estos principios en desarrollos tecnológicos. La mayor comprensión de los fenómenos asociados y los resultados obtenidos en faenas mineras han ido generando confianza en esta tecnología, la cual comienza a ser aplicada en forma intensiva en importantes faenas mineras en Chile tales como Quebrada Blanca y Cerro Colorado. Sin embargo queda mucho por entender y por lo tanto mucho por desarrollar e innovar en esta área.

La presente obra, el tercero de la Serie Archivos de Ingeniería Bioquímica, recoge el saber de un des-

tacado número de expertos en biominería de Chile, Perú, Brasil, Argentina y España. Editado por los Profesores Fernando Acevedo Bonzi y Juan Carlos Gentina Morales, de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, coautores en la obra y destacados investigadores del área, el libro reúne en 8 capítulos conocimientos actualizados, desde los mecanismos de la biolixiviación hasta un detallado recuento de la exitosa aplicación de esta tecnología en la minería del cobre en Chile. La aplicación de esta tecnología en los procesos de extracción de oro desde minerales refractarios y su potencialidad en la remediación de suelos contaminados por metales pesados es también parte sustantiva del texto.

La diversidad de perspectivas del trabajo investigativo de este selecto grupo de expertos en biominería hacen de esta obra un importante texto de estudio y consulta para estudiantes, investigadores e ingenieros.

Germán Aroca A., Ph.D.
Director
Escuela de Ingeniería Bioquímica

CAPÍTULO 1

MECANISMO DE LA BIOLIXIVIACIÓN

Antonio Ballester

Departamento de Ciencia de los
Materiales e Ingeniería Metalúrgica
Universidad Complutense

INTRODUCCIÓN

Desde que la biolixiviación comienza a tener una cierta importancia comercial, es decir, a mediados del siglo pasado, el interés por conocer qué hay detrás del proceso ha originado un gran número de trabajos experimentales tanto a nivel químico como microbiológico e incluso físico (por ejemplo, a través del fenómeno de adherencia bacteriana a superficies sólidas). Todo ello ha configurado un cuerpo de conocimiento que después de más de 50 años, lejos de aclarar el panorama lo que ha hecho, en muchas ocasiones y en relación con muchos temas, ha sido complicarlo de manera fehaciente. Esto es especialmente cierto en el caso del mecanismo o mecanismos que hay detrás de la biolixiviación, también conocida como lixiviación bacteriana.

En este sentido, existen muchas y variadas definiciones de lo que es **biolixiviación**. Una de ellas, ampliamente utilizada en el ámbito de la Biohidrometalurgia, es la siguiente: lixiviación de una determinada materia prima bajo la acción directa o indirecta de microorganismos. Por tanto, en la propia definición ya se suelen contemplar las dos opciones de mecanismo que frecuentemente se manejan: el directo y el indirecto. No obstante, la anterior definición refleja una cierta indefinición al hacer una distinción entre ambas opciones dejando abierto el objetivo central del presente capítulo, es decir, la existencia de un mecanismo directo de lixiviación, de uno indirecto o de ambos simultáneamente. En lo que sigue se tratará de hacer luz sobre esta problemática apoyándose en los trabajos considerados más interesantes de entre los publicados en los últimos años.

En principio, se entiende como **mecanismo directo** aquel que está mediado por la acción bacteriana y en donde las reacciones químicas son catalizadas enzimáticamente; esta opción, además, supone el contacto físico de los microorganismos con el mineral. Por otro lado, se entiende como **mecanismo indirecto** aquel en el que toman parte reacciones químicas, enzimáticas o no enzimáticas, no habiendo contacto físico

entre los microorganismos y el mineral, aunque aquellos juegan un papel central en la formación de reactivos químicos que pueden tomar parte en el proceso [1].

Aunque las principales aplicaciones comerciales de la lixiviación bacteriana se centran en el ataque de los sulfuros minerales, se están haciendo esfuerzos considerables por aplicar estas técnicas a otras menas distintas como los minerales oxidados y silicatados. No obstante, el presente capítulo se centrará en describir el mecanismo de ataque de las menas sulfuradas.

Para resumir la situación, se puede decir que desde que la biolixiviación se está estudiando a nivel básico, siempre ha existido, y todavía existe, una gran controversia en relación con la importancia de uno u otro mecanismo y con el papel jugado por los microorganismos en ambos casos; en definitiva, no existe una teoría unánimemente aceptada. Ante esta situación, lo que se desarrolla a continuación es un estudio crítico para tratar de aclarar lo mucho o lo poco que se conoce hasta el momento.

Mecanismo directo

Y. Rodríguez hace una aproximación bastante acertada al tema en la Introducción de su Tesis Doctoral [2] y en una publicación al respecto junto con otros autores [3], las cuales se resumen a continuación. El primer intento de explicación del mecanismo de biolixiviación fue realizado por Silverman y Ehrlich en 1964 al plantear dos posibles opciones: las mismas que se vienen manejando en este texto (Figura 1.1).

Según el primero de los posibles mecanismos, la bacteria ataca al sulfuro metálico de forma directa, mediante su adherencia a la superficie mineral y la posterior oxidación enzimática de éste por transporte de electrones desde la parte reducida del mineral, generalmente un sulfuro, al oxígeno disuelto. La reacción general sería:

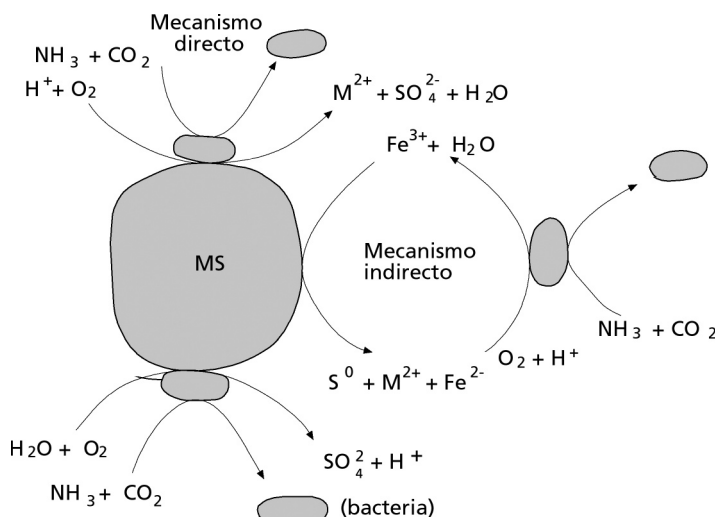
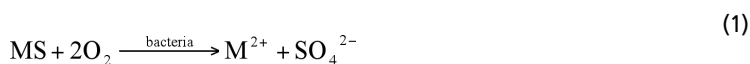
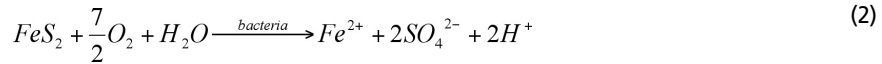


Figura 1.1. Mecanismos directo e indirecto de biolixiviación; según Rodríguez [2].

Para el caso de la pirita, la reacción anterior quedaría así:



La adherencia de bacterias al mineral es, por tanto, un requisito del mecanismo directo y la principal evidencia presentada en defensa del mismo.

Esta teoría ha sido apoyada por distintos estudios experimentales que confirman la adhesión de las bacterias biolixivantes a la superficie de los minerales. Así, hay un trabajo, ya clásico, de Berry y Murr [5] en donde se discuten evidencias de que los *Acidithiobacilli* secretaban algunas sustancias que podían ayudar al ataque, aunque su naturaleza era desconocida.

Bennet y Tributsch [6] observaron con el microscopio electrónico de barrido cristales de pirita expuestos a la acción de *Acidithiobacillus ferrooxidans* detectando huellas de corrosión en los cristales y sugiriendo que éstas eran causadas por las bacterias a través de un metabolito que podía actuar de tres formas distintas: oxidación del ión ferroso a férrico, solubilización del azufre de la superficie del mineral o por ataque directo. Además, comprobaron que *A. ferrooxidans* tenía capacidad para discernir las regiones más favorables de la superficie del mineral para obtener su fuente de energía y seleccionar el lugar de ataque en función de la mejor disponibilidad de nutrientes. No obstante, estos autores, lejos de utilizar estos resultados a favor del mecanismo directo, los han utilizado más tarde en apoyo del indirecto a través de lo que se ha dado por llamar lixiviación por contacto, la cual se discutirá al final de este capítulo.

Hansford y Drossou [7] detectaron, también mediante microscopía electrónica, la formación de orificios en la superficie de una esfalerita disuelta en presencia de bacterias y concluyeron que se debían al ataque directo de las bacterias sobre la superficie del mineral. Tributsch [8] estudió por SEM la superficie del sulfuro de plomo después de su ataque bacteriano apareciendo depresiones allí donde las bacterias se habían situado. Este autor concluyó que la bacteria producía un portador químico que promovía el ataque en el punto de adherencia de los microorganismos.

Otros investigadores, como Natarajan [9], Rodríguez-Leiva y Tributsch [10], Bärtels y col. [11], Mustin y col. [12], y Vargas y col. [13], también llegaron a conclusiones parecidas.

Newman [14] ha escrito un interesante artículo sobre cómo respiran las bacterias utilizando minerales, que aporta una nueva visión del problema aunque en este caso no relativa a los sulfuros minerales. Se sabe desde el siglo XVII que las superficies sólidas son un verdadero hogar para estos microorganismos. En este sentido, uno de los ejemplos más interesantes de interacción de los microorganismos con las rocas es el uso de distintos minerales para la respiración. Cómo hacen esto las bacterias es un misterio, en parte porque no hemos sido capaces de observar qué es lo que está pasando a nivel molecular, ni siquiera utilizando la microscopía electrónica de transmisión.

Respirar a partir de un mineral es algo que han hecho las bacterias desde hace miles de millones de años. Por respiración se entiende el proceso de generar energía transfiriendo electrones de un dador a un aceptor de los mismos. Por tanto, para que tenga lugar dicha respiración, debe existir un aceptor final de electrones, como por ejemplo el oxígeno; pero antes de existir este elemento en la atmósfera, los microorganismos tuvieron que respirar con aceptores alternativos. La ruta más común para ello es a través de especies solubles como el mismo oxígeno, pero también como los iones nitrato o sulfato. No obstante, esta ruta no es válida para un interesante grupo de microbios que usan sólidos –concretamente óxidos de hierro tipo hematites y goethita– como aceptores finales de electrones, ya que estos minerales son bastantes insolubles en las condiciones medioambientales más usuales.

Ante esta situación, la bacteria puede adoptar otras estrategias para respirar a partir de estos minerales, las cuales se pueden concretar en las siguientes:

- 1) Las bacterias pueden solubilizar los minerales produciendo moléculas quelantes. La adición de quelatos sintéticos al medio ha demostrado que estimula la transferencia electrónica del microorganismo al mineral de hierro aunque hasta la fecha no se dispone de evidencias que certifiquen claramente este hecho como mecanismo de respiración de las bacterias.
- 2) Las bacterias pueden utilizar portadores solubles, tales como compuestos con quinona, para transferir electrones de la célula al mineral; estos portadores pueden ser sustancias exógenas o pueden ser producidos por las propias células.
- 3) Posiblemente, el mecanismo dominante es el que transfiere directamente electrones de la célula al mineral habiéndose identificado, parece ser, varias biomoléculas que actúan en este sentido. De ellas, algunas se localizan en la membrana externa de la célula y probablemente pueden contactar directamente con la superficie del mineral sólido. No obstante, la naturaleza de esta transferencia electrónica es un fenómeno bastante desconocido todavía.

Las primeras medidas cuantitativas en este sentido las han realizado Lower y col. [15] trabajando a escala nanométrica, utilizando células de *Shewanella oneidensis* y dos minerales: una goethita (mineral de hierro) y una diaspora (mineral de aluminio). Estos autores argumentan que el proceso ocurre a través de una proteína de 150-kD situada en la membrana externa de la célula la cual interacciona con dicha goethita. Este resultado es importante porque abre una nueva vía hacia el conocimiento de la biolixiviación de minerales, que en el futuro podría, y debería, ser aplicada al ataque bacteriano de los sulfuros, y que finalmente podría apoyar el mecanismo directo que ahora se discute.

En cualquier caso, este mecanismo es objeto de continua controversia, que Crundwell [16] ha resumido críticamente en uno de sus recientes artículos. Según este autor, los pros y los contras, aunque más de lo segundo que de lo primero de este mecanismo se pueden concretar en los siguientes puntos:

- 1) **Condición para el mecanismo directo.** Está claro que la condición suficiente para la existencia de este mecanismo es que la lixiviación del mineral se produzca por un oxidante biológico y no por oxígeno o iones férrico. La propuesta de existencia del mecanismo directo es que la velocidad de lixiviación aumenta por la presencia de las bacterias.
- 2) **Adherencia de bacterias a la superficie del mineral.** Esta es una condición necesaria para la existencia de este mecanismo. Sin embargo, no es una condición suficiente en sí misma debido a la existencia de un mecanismo alternativo: el indirecto. Las bacterias libres en la disolución pueden secretar un oxidante al medio que lixivía al mineral en forma alternativa al propio mecanismo directo. Desde este punto de vista, todos los estudios que reivindican la existencia de un mecanismo directo basado únicamente en la adherencia de las bacterias al sólido deberían ser puestos en duda.
- 3) **Acción bacteriana sobre la superficie del mineral.** Como ya se ha indicado anteriormente, una serie de autores han observado picaduras, u otro tipo de deterioros, en la superficie del mineral y allí donde las bacterias han estado adheridas. Sin embargo, autores como Hansford y Drossou [7] y Tributsch [8], ya comentados, no han podido demostrar que estos deterioros hayan sido realmente producidos por ataque directo y, además, según Crundwell, no demostraron si la bacteria aumentó objetivamente la velocidad de disolución del mineral.
- 4) **Identificación del agente biológico de lixiviación.** Una vez observadas depresiones en la superficie de los minerales sulfurados, Tributsch y col. [10, 17] concluyen que las mismas fueron causadas por la presencia de un reactivo químico producido por la bacteria. Para apoyar sus resultados identifican el agente de lixiviación biológico. En el primer caso encuentran un fosfolípido en los exopolímeros

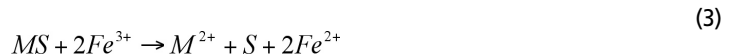
el cual lo identifican como un agente de lixiviación, pues actúa como un surfactante para el azufre, es decir, como un activador de su superficie. Posteriormente, en otro trabajo identifican al reactivo químico como cisteína. Sin embargo, según Crundwell no son capaces de relacionar estos reactivos con la cinética de la biolixiviación.

- 5) Argumentos basados en la estequiometría.** Algunos autores razonan a favor del mecanismo directo considerando el crecimiento de las bacterias sobre el mineral y comparándolo con su crecimiento sobre hierro ferroso en disolución. Así, Konishi y col. [18] indican que las bacterias crecieron mejor sobre el sustrato sólido que sobre los iones hierro en agua, aunque Crundwell pone en duda este razonamiento en función de los coeficientes estequiométricos utilizados en las medidas.
- 6) Comparación de las cinéticas de lixiviación con o sin bacterias.** Una condición necesaria y capital para la existencia del mecanismo directo es que la acción de las bacterias debe aumentar la velocidad de lixiviación del mineral. En este sentido, hay varios autores que han estudiado la cinética de estos sistemas en medios abióticos y bióticos y concluyen que la velocidad de lixiviación en ambos casos es similar; por tanto el mecanismo indirecto es el dominante.

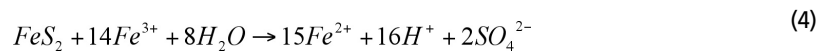
De todas las anteriores evidencias parece desprenderse que hay serias dudas y, desde luego, una discusión muy abierta sobre la posibilidad de que el mecanismo de la lixiviación bacteriana sea directo.

Mecanismo indirecto

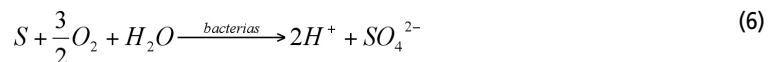
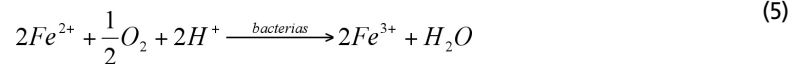
En contraste con el mecanismo directo, el indirecto considera básicamente la acción de los iones férricos sobre el mineral sulfurado disolviéndolo. A través de esta reacción química de lixiviación, se producen iones ferroso y azufre elemental. Finalmente, estas especies químicas son oxidadas biológicamente a hierro férrico e ion sulfato, respectivamente. Este mecanismo, en principio, no necesita de la adherencia de las células al sulfuro mineral. Las ecuaciones que toman parte son las siguientes:



En el caso de la pirita, la anterior reacción sería:



Paralelamente, la acción bacteriana cataliza la oxidación del ion ferroso y del azufre elemental según las dos reacciones siguientes:



Hasta hace relativamente poco tiempo no se avanzaba mucho más en la explicación y en la formulación de este mecanismo; sin embargo, en los últimos años, distintos investigadores han profundizado en esta línea de investigación para tratar de aclarar tanto aspectos oscuros en las distintas formulaciones de dicho mecanismo como algunas situaciones anómalas que no eran fácilmente explicables. En este sentido, son especialmente interesantes los trabajos del grupo de W. Sand en la Universidad de Hamburgo (Alemania) [19].

Este grupo de investigadores se apoya en técnicas experimentales avanzadas para el análisis de los productos de degradación que se generan en el ataque de distintos sulfuros minerales y en el análisis de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que permiten la adherencia de las bacterias a los sólidos, así como la formación de biopelículas. Estos nuevos experimentos, junto con el conocimiento acumulado durante años en áreas como la química, la mineralogía y la física del estado sólido, les llevan a proponer un modelo integral de biolixiviación que se resume en los párrafos siguientes.

La hipótesis de partida del modelo es que los iones férricos y/o los protones son los únicos agentes –químicos– que disuelven al sulfuro. El mecanismo es, por tanto, en sentido estricto, de naturaleza indirecta. Las bacterias tienen las funciones de: 1) regenerar los iones férricos y/o los protones; y 2) concentrarlos en la interfase mineral/agua o mineral/célula bacteriana para favorecer y aumentar la degradación del mineral. Consideran entonces que hay un factor determinante: la formación de una capa muy fina de exopolímeros, el glicocálix, con un espesor del orden de nanómetros, que rodea a las células. En esta capa, se postula que tienen lugar los procesos químicos que llevan a la degradación del sulfuro. La catálisis del proceso en presencia de bacterias, en comparación con el proceso químico convencional, se explica por la alta concentración de agentes de lixiviación que se llega a alcanzar en la interfase citada. Además, el modelo no contempla la aparición de enzimas u otras sustancias biológicas que hasta la fecha no han sido detectadas. Basándose en las sustancias intermedias ya detectadas, este grupo de investigadores diferencian dos mecanismos indirectos: uno vía tiosulfato y otro vía polisulfuro, los cuales se describirán a continuación. Sin embargo, antes, se dará alguna información básica sobre la estructura electrónica de los sulfuros para entender mejor las hipótesis de partida.

Estructura electrónica y solubilidad de los sulfuros metálicos

La mayoría de los sulfuros metálicos son semiconductores. Según la teoría del orbital molecular y la del enlace, los orbitales, de átomos simples o de moléculas, forman bandas electrónicas con diferentes niveles de energía. La banda con el mayor nivel energético es la banda de valencia. En el caso de la pirita, molibdenita y volframita, las bandas de valencia se forman por combinación de orbitales procedentes de átomos metálicos; sin embargo, las bandas de valencia de otros sulfuros metálicos se generan a partir de orbitales procedentes tanto del metal como del azufre del sulfuro. Consecuentemente, las bandas de valencia de los tres sulfuros antes mencionados no contribuyen al enlace entre la parte de metal y de azufre del sulfuro metálico. Este enlace, por tanto, sólo puede ser roto a través de varias etapas de oxidación con el ion férrico hexahidratado. En el caso de los otros sulfuros metálicos, además de hierro (III), los protones también pueden eliminar electrones de la banda de valencia causando la rotura de los enlaces entre el metal y el azufre del sulfuro. La consecuencia final es que estos sulfuros son más o menos solubles en ácidos mientras que los tres nombrados en primer lugar no.

Mecanismo vía tiosulfato

Como ya se ha indicado, pirita, molibdenita y volframita sólo son atacables a través de un agente oxidante, como el hierro (III). A continuación, se discute el mecanismo de ataque de la pirita según Sand y col.

Las reacciones que describen la oxidación de la pirita desde el punto de vista químico o biológico, a través

del hierro férrico o del oxígeno, son esencialmente las antes formuladas con los números (1) a (6). Hay en la literatura muchas evidencias de que, a bajo pH, la velocidad de la oxidación química de la pirita está controlada por los iones férricos y no por el oxígeno molecular. También a pH neutro, estos iones Fe^{3+} son los aceptores preferidos por los electrones, incluso por encima del propio oxígeno. En definitiva, tanto por consideraciones de cinética química como de orbitales moleculares, se demuestra que los iones férricos son los responsables a bajo y alto pH de la disolución de la pirita, con lo que la reacción (2) no describe adecuadamente la realidad.

La formación de azufre elemental o de ion sulfato, se explica a través de las reacciones (3) y (4), respectivamente, aunque son reacciones globales que no indican nada en relación con el mecanismo, y especialmente sobre la formación de los politionatos detectados en el ataque biótico y abiótico de la pirita.

La lixiviación de la pirita realizada en presencia de cultivos puros de distintas bacterias suministra resultados interesantes. Por ejemplo, las bacterias con capacidad para oxidar el ion ferroso a férrico, como *A. ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, producen una disolución bastante efectiva de la pirita. Sin embargo, bacterias como el *A. thiooxidans*, que sólo son capaces de oxidar las especies reducidas del azufre, no producen dicho ataque. Este hecho de que sólo las bacterias con capacidad para oxidar al ion ferroso pueden disolver pirita confirma la importancia de los iones férricos como agentes lixiviantes de este sulfuro y, por tanto, avalan la hipótesis del mecanismo de lixiviación indirecta como el más activo en la biolixiviación del FeS_2 .

Desde un punto de vista mineralógico y cristalográfico, en la red cristalina de la pirita, el azufre aparece como un disulfuro (Figura 1.2).

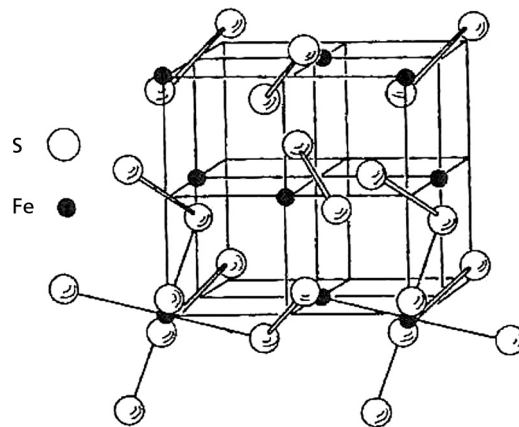


Figura 1.2. Estructura cristalina del disulfuro pirita; según Sand [19].

Según distintas consideraciones basadas en los orbitales moleculares, los iones hexahidratados de Fe (III) deben romper los enlaces entre el hierro y el disulfuro en la red cristalina de la pirita, transformándose aquel en un ion tiosulfato. Como consecuencia, en la disolución de la pirita se detectan los iones Fe (II) hexahidratados y tiosulfato. Mientras que los primeros son oxidados por distintas bacterias al estado trivalente del hierro, el tiosulfato es oxidado a sulfato, vía tetrationato, ácido disulfano-monosulfónico y tritionato. Además, aparecen pequeñas cantidades de azufre elemental y pentationato como subpro-

ductos. A este mecanismo, debido a que el tiosulfato es la especie química intermedia más importante, se le ha denominado del tiosulfato y se encuentra resumido en la Figura 1.3.

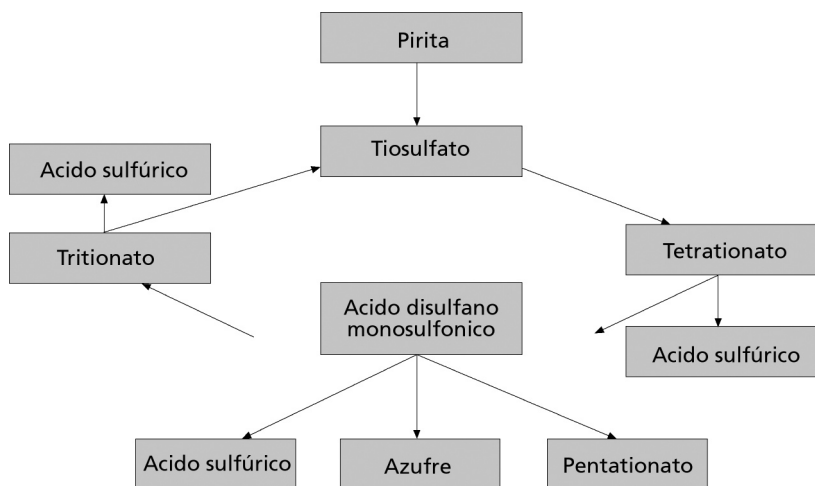


Figura 1.3. Esquema simplificado del mecanismo del tiosulfato en la oxidación de la pirita; según Sand [19].

Aunque todas las reacciones anteriores se ha demostrado que pueden ocurrir en un medio abiótico, no se descarta la posible influencia de reacciones enzimáticas producidas por las propias bacterias que participan en estos sistemas de lixiviación.

Mecanismo vía polisulfuro

Además de los sulfuros del grupo de la pirita, que sólo pueden ser atacados por un oxidante, la mayoría de los otros sulfuros pueden ser atacados también por un ácido. Entre estos sulfuros se encuentran algunos de gran importancia comercial, como esfalerita (ZnS), calcopirita ($CuFeS_2$) y galena (PbS), y otros menos interesantes desde este punto de vista pero importantes como sulfuros en sí mismos, como haverita (MnS_2), oropimente (As_2S_3) y rejalgar (As_4S_4).

Cuando se estudian y comparan los productos de oxidación de estos sulfuros con los del grupo de la pirita, se puede concluir que mientras que en este último caso el azufre forma hasta un 90% de sulfato, con los seis sulfuros anteriores el azufre sulfuro se oxida en un 90% a azufre elemental. Esto es producido por un mecanismo en el que los sulfuros metálicos son degradados a través de polisulfuros como intermediarios fundamentales en el sistema.

Debido a la solubilidad de estos compuestos en ácido, se asume que la primera reacción que ocurre es la siguiente:

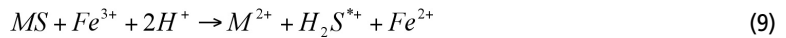


A diferencia de lo que sucede con la pirita, en estos sulfuros se rompe el enlace M-S antes de que el azufre sulfuro sea oxidado. La cinética de esta reacción depende del producto de solubilidad de cada sulfuro metálico.

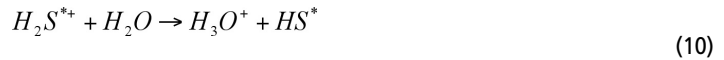
El mecanismo de oxidación del sulfuro, una vez que se encuentra en disolución, sería el siguiente, según Steudel [20]:



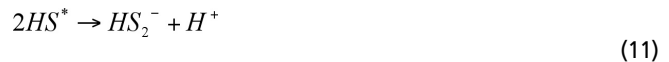
El radical catiónico H_2S^{*+} puede formarse también directamente por un ataque sobre el sulfuro metálico:



Por descomposición del citado radical catiónico, se forma uno nuevo:



Dos de estos radicales pueden reaccionar para formar un ion disulfuro:

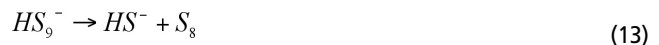


El ion disulfuro puede ser oxidado entonces por el hierro férrico o por el radical HS^* :



El tetrasulfuro puede formarse por dimerización de dos HS^* o puede aparecer trisulfuro por reacción de los radicales HS_2^* con HS^* . Además, se pueden formar otros polisulfuros con más átomos de azufre.

En un medio ácido, estos polisulfuros descomponen liberando anillos de azufre elemental (casi esencialmente S_8):



Este mecanismo no necesariamente funciona sólo en presencia de iones férricos. También es posible la transferencia electrónica a oxígeno molecular. La molécula de este gas es reducida a agua a través de un radical superóxido y de un peróxido. Sin embargo, los iones férricos son mucho más eficientes en este sentido. Las reacciones (8) a (13) explican la formación de azufre elemental como la especie química más importante en este mecanismo; sin embargo, también se detectan cantidades reducidas de sulfatos y politionatos a partir de reacciones del tiosulfato. Este puede producirse a través de alguna reacción secundaria.

En resumen, tiosulfato y politionatos juegan un papel central en el mecanismo vía tiosulfato y un papel colateral en el mecanismo vía polisulfuros. Este mecanismo, bastante complejo, se esquematiza en la Figura 1.4.

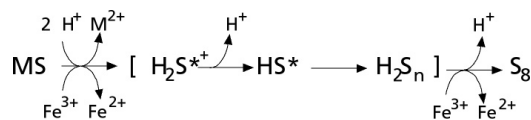


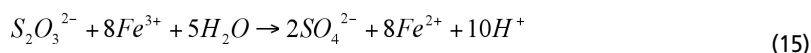
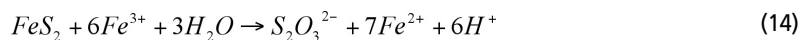
Figura 1.4. Esquema simplificado del mecanismo del polisulfuro; según Sand (19).

En cualquier caso, el producto final es esencialmente azufre elemental, el cual es oxidado biológicamente a ácido sulfúrico. Este hecho podría explicar la capacidad de *A. thiooxidans* para lixiviar algunos sulfuros metálicos como la esfalerita.

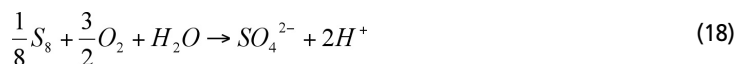
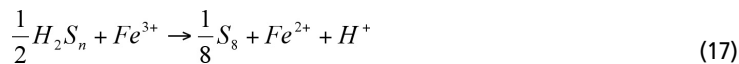
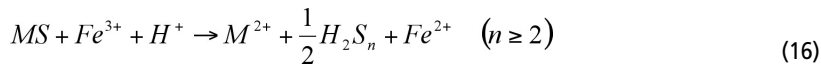
Resumen de mecanismos

De lo dicho, se pueden distinguir, apoyándose en los trabajos del grupo de W. Sand, dos mecanismos indirectos distintos:

Mecanismo del tiosulfato: Aplicado a la piritita daría lugar a las siguientes reacciones químicas:



Mecanismo del polisulfuro: Las reacciones para sulfuros como calcopirita, esfalerita, galena, etc. serían:



Finalmente, el esquema que se presenta en la Figura 1.5 resume los aspectos más importantes de ambas vías del mecanismo indirecto.

Función del material polimérico extracelular

Se han hecho muchos estudios relativos al proceso de degradación de los sulfuros metálicos a nivel interfacial considerando el problema desde el punto de vista físico o químico. Sin embargo, el papel de las sustancias poliméricas extracelulares (SPE) excretadas por los microorganismos no ha sido valorado adecuadamente hasta hace muy poco tiempo. Nuevamente Sand y su grupo de colaboradores [19] trabajan con estas sustancias y señalan distintos aspectos que sería necesario recoger desde el punto de vista del mecanismo de la biolixiviación.

En este sentido, para el ataque de las bacterias sobre la superficie del sulfuro metálico, la presencia de SPE en el área de contacto entre la célula y la fuente de energía sulfurada parece ser un prerrequisito a tener muy en cuenta. Hay evidencias suficientes para asignar un papel central a la formación de películas

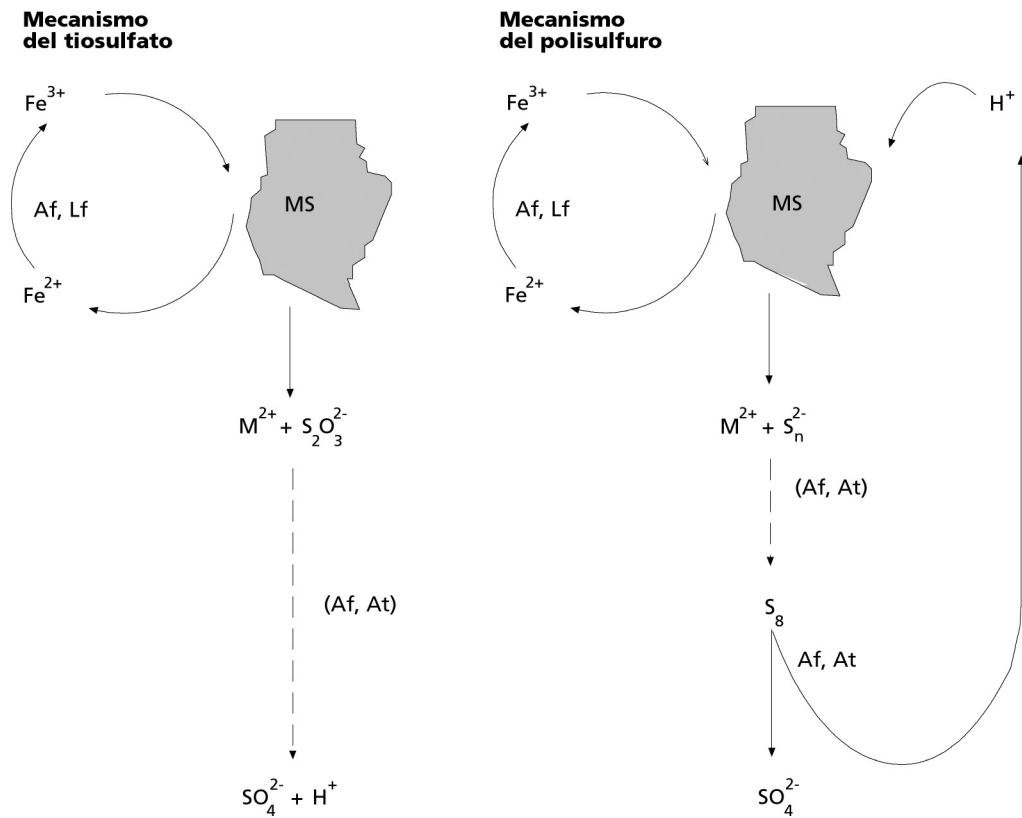


Figura 1.5. Mecanismos indirectos en la biolixiviación de sulfuros.
Af = *A. ferrooxidans*; Lf = *L. ferrooxidans*; At = *A. thiooxidans*; según Sand [19].

orgánicas en la interacción sustrato/bacteria. Por ejemplo, estas películas han sido detectadas cuando células de *A. ferrooxidans* se han hecho crecer sobre pirita.

Para que se produzca la disolución de la pirita, las células de las citadas bacterias se adhieren a la superficie del mineral por medio de SPE, que en esencia son lipopolisacáridos, oxidando al mineral y produciendo ácido sulfúrico e iones Fe (III). La adherencia inicial, a pH ácido, es mediada por iones Fe (III) complejados por exopolímeros a través de una interacción electrónica con la superficie cargada negativamente del sustrato mineral. Las células desprovistas de SPE ni atacan ni oxidan a la pirita.

Las especies del hierro están, presumiblemente, unidas y complejadas con subunidades de ácido glucurónico de la parte carbohidratada de dichos exopolímeros. Estos complejos dejan a las células con una carga positiva neta lo que permite su fijación y ataque sobre la superficie de la pirita que, como antes se comentaba, está cargada negativamente.

Por tanto, los iones Fe (III) son de central importancia para la adherencia bacteriana. Además, estos iones también participan en las etapas iniciales de la degradación de los sulfuros metálicos. Para que comience la biolixiviación, se necesita una cierta cantidad de iones férricos en el medio. Se puede demostrar que la velocidad de oxidación de la pirita permanece a niveles casi despreciables hasta que la concentración

de hierro en el medio llega a ser, como mínimo, de 0,2 g/L, bien sea por oxidación química de los iones ferrosos solubilizados o por adición externa de hierro al sistema. Por tanto, si hay en el medio una concentración suficiente de estos iones, la lixiviación de la pirita en presencia de células de *A. ferrooxidans* comienza sin la aparición de una fase inicial de ataque (*lag phase* en el crecimiento bacteriano).

Consecuentemente, la película de material exopolimérico conteniendo iones férricos complejados es un espacio de reacción en el cual tienen lugar los procesos de solubilización del mineral. Este espacio puede ser interpretado como un compartimento en donde se tienen unas condiciones muy especiales, hasta ahora desconocidas, a nivel de pH, potencial redox, concentración iónica, etc. Se ha estimado que la concentración de especies de hierro en esta película puede llegar a ser de hasta 53 g/L, la cual sólo puede ser mantenida en disolución a través de la formación de distintas especies complejadas que eviten la precipitación de compuestos sólidos de este metal. Nuevamente, por tanto, el mecanismo indirecto de biolixiviación, es decir, el efecto catalítico de los iones de Fe (III), puede explicar estos hechos.

Otra cuestión interesante a considerar, con una gran influencia en la cinética de todos estos procesos, es la precipitación de compuestos como las jarositas, que además de retirar hierro férrico del medio de reacción pueden impedir el contacto directo entre éste y el sólido. En este sentido, las SPE constituyen lugares de nucleación para la precipitación de estos compuestos. Dichas sustancias se forman por la interacción del Fe^{3+} y de los sulfatos y/o hidróxidos y, por tanto, son de naturaleza biogénica.

En resumen, los compuestos de las SPE con capacidad para enlazar con el hierro férrico de *A. ferrooxidans* o de *L. ferrooxidans* son decisivos para la interacción entre las células y el sustrato que se ataca. Los iones férricos parecen unirse a subunidades de ácido glucorónico que tiene una alta capacidad de complejación del hierro oxidado. Además, los átomos de oxígeno de los grupos hidroxilo cercanos a azúcares neutros, como la glucosa, también pueden cooperar a enlazar a cationes metálicos de la disolución.

Tributsch [21] cree también trascendente el papel de las SPE en la biolixiviación. Así, defiende que en algunos casos las bacterias no pueden contar con las especies químicas tal como están disponibles en el ambiente natural en el que se desarrollan, sino que tienen bien que producir un portador energético de naturaleza química para disponer de ellas o bien que incrementar artificialmente la concentración del aceptor final de electrones (Fe^{3+}) cercano a la superficie de la pirita. En ambos casos, la bacteria tiene que crear una zona de reacción controlada artificialmente que se concreta en una capa de SPE entre la membrana bacteriana y el sulfuro (Figura 1.6).

En el caso de *A. ferrooxidans* el portador del azufre, basado en la cisteína, es transportado para extraer azufre pirítico y formar un polisulfuro, el cual deja libre azufre elemental en forma coloidal como una reserva temporal de energía. En el caso de *L. ferrooxidans*, el Fe^{3+} se acumula en la capa de SPE para extraer electrones a un potencial lo suficientemente positivo como para que se forme, electroquímicamente, tiosulfato y sulfato.

La acción corrosiva y localizada de la bacteria se puede demostrar según Tributsch [6] muy fácilmente. Como ya se señaló en el apartado 2, en el caso de *A. ferrooxidans*, se pueden seleccionar determinadas condiciones para favorecer una actividad muy localizada resultando picaduras de corrosión muy pronunciadas y cadenas de las mismas sobre las que las bacterias se han multiplicado. Esto significa que la bacteria mantiene un contacto íntimo con la superficie del sulfuro, a través de las SPE, con el fin de disolverlo.

Lo anterior podría interpretarse como una defensa del mecanismo directo de biolixiviación discutido con anterioridad. Sin embargo, la definición de este mecanismo supone que la membrana bacteriana interacciona directamente con el sulfuro utilizando mecanismos enzimáticos. Esta no es la situación vista a través del estudio que se está refiriendo. Por otro lado, incluso en un mecanismo indirecto, puede ser muy complicado distinguir películas de dimensiones moleculares entre la célula bacteriana y el propio

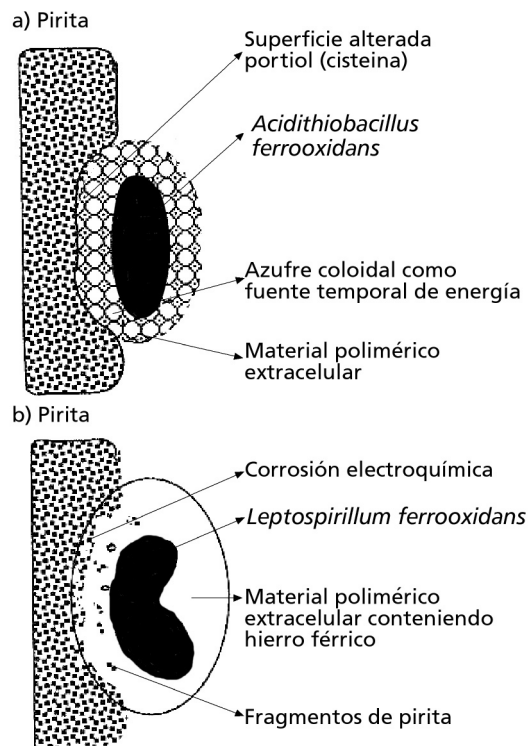


Figura 1.6. Lixiviación por contacto durante la cual la bacteria acondiciona activamente la interfase con la pirita produciendo material polimérico extracelular como medio de reacción: a) *A. ferrooxidans* extrayendo azufre; y b) *L. ferrooxidans* despolimerizando la pirita. Según Tributsch [21].

sulfuro. Por esta razón, Tributsch sugiere renombrar el mecanismo como de “lixiviación por contacto”. Esto describiría una situación en la cual la bacteria se adhiere al sulfuro con el objeto de acondicionar las inmediaciones de éste de tal forma que se facilite el proceso de disolución, que de otra manera no podría tener lugar.

Adicionalmente, convendría conocer como las bacterias se pueden adaptar a los distintos ambientes y sistemas de lixiviación. Algunos sulfuros simplemente se disuelven en una disolución ácida o pueden disolverse extrayéndoles electrones a través del aceptor final hierro férrico. Esta es una situación favorable para la **lixiviación indirecta** (Figura 1.7) durante la cual la bacteria no tiene que estar adherida a la superficie del mineral.

Los sulfuros como la pirita no se pueden disolver fácilmente de la citada manera y entonces es necesario recurrir a la **lixiviación por contacto** (Figura 1.7) bien para romper la estructura cristalina del sulfuro y/o extraer azufre (*A. ferrooxidans*) o bien para disolverlo electroquímicamente con Fe^{3+} (*L. ferrooxidans*).

Como una última opción también sería posible la denominada **lixiviación cooperativa** en la que se dan las dos situaciones anteriores: actúan las bacterias adheridas a la superficie del mineral y las que se encuentran libres en el medio líquido (Figura 1.7). Los *Acidithiobacilli* lixivian pirita y azufre mientras que

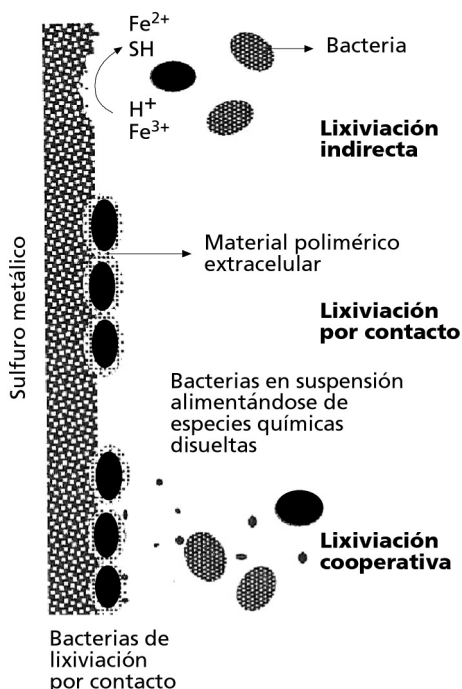


Figura 1.7. Esquema visualizando los distintos tipos de lixiviación de un sulfuro según Tributsch [21].

se encuentran adheridos a la superficie mineral y, por tanto, liberan especies químicas portadoras de energía que alimentan a las bacterias que se encuentran suspendidas en el líquido de los alrededores. Este comportamiento puede favorecer la supervivencia de las bacterias al estar produciendo un suministro óptimo de energía química a partir de una superficie limitada de sulfuros.

Recientemente, Rodríguez y col. han publicado distintos resultados relativos a la importancia de la adherencia bacteriana sobre la superficie de sulfuros, como la pirita, calcopirita y esfalerita [22] además de algunas ideas sobre el mecanismo de biolixiviación, mesófila y termófila, de estos mismos sulfuros que confirman las ideas antes expuestas de Sand y col. y de Tributsch y col. [23-25].

Así, durante la biolixiviación de estos sulfuros se detectan tres etapas. Una inicial con una alta adherencia de las bacterias a la fase pirítica de cada mineral. Esta etapa es necesaria para alcanzar altas velocidades de disolución debido a la liberación de iones ferrosos por lixiviación por contacto. Una segunda etapa en la que el número de células libres en el medio líquido aumenta sensiblemente debido tanto a la saturación de la superficie del mineral en cuanto a células adheridas como a la presencia de $Fe(II)$ en disolución. Esto favorece el incremento de células hierro-oxidantes generando una mayor concentración de $Fe(III)$ y, por tanto, un mejor ataque del mineral. Y, finalmente, hay una tercera etapa en la cual se alcanza un equilibrio entre las células adheridas y las libres dando lugar a un mecanismo de lixiviación cooperativa.

Las células adheridas atacan la fase pirítica de cada uno de los minerales generando Fe^{2+} . Este es oxidado por las células libres en la disolución regenerando el agente oxidante Fe^{3+} para la biolixiviación indirecta del mineral. Los resultados muestran que hay una relación entre la adherencia y la velocidad de ataque

del mineral, y las altas velocidades de lixiviación fueron debidas, probablemente, a una importante adherencia inicial de las bacterias al sólido. Por tanto, la adherencia bacteriana a la superficie de la pirita es de gran importancia en la biolixiviación de cualquiera de los minerales estudiados debido a varios efectos positivos tales como la liberación de Fe^{2+} por lixiviación por contacto y a la oxidación de este mismo hierro ferroso y de azufre, los cuales se pueden acumular sobre la superficie del mineral sólido. Es decir, se puede indicar como conclusión final que la biolixiviación de estos sulfuros fue un esfuerzo cooperativo entre la lixiviación por contacto y la lixiviación indirecta a partir de las bacterias libres en la solución.

Bibliografía

- [1] Rossi, G., 1990. Biohydrometallurgy. McGraw-Hill Book Co GmbH, Hamburg, pp. 99-100.
- [2] Rodríguez, Y., 2000. Tesis Doctoral: "Contribución al estudio del mecanismo de biolixiviación de distintos sulfuros metálicos con bacterias mesófilas y termófilas". Universidad Complutense, Madrid, España.
- [3] Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M. L., González, F., Muñoz, J. A., 2001. Mecanismo de biolixiviación de sulfuros metálicos. Revista de Metalurgia 37, 665-672.
- [4] Silverman, M. P., Ehrlich, H. L., 1964. Microbial formation and degradation of minerals. Advances in Applied Microbiology 6, 153-206.
- [5] Berry, V. K., Murr, L. E., 1978. Basic microbial studies applied to leaching. Academic Press, New York.
- [6] Bennet, F. F., Tribusch, H., 1978. Bacterial leaching patterns on pyrite cristal surface. Journal of Bacteriology 134, 310.
- [7] Hansford, G. S., Drossou, M., 1987. A propagating pore model for the batch bioleach kinetics of refractory gold-bearing pyrite. In: Norris, P. R. y Kelly, D. P. (Ed.), Proceedings of Biohydrometallurgy International Symposium, University of Warwick, Coventry, UK, pag. 345-358.
- [8] Tributsch, H., 1976. Naturwissenschaften 63, 88.
- [9] Natarajan, K. A., 1992. Electrochemical aspects of bioleaching multisulfide minerals. Biotechnology and Bioengineering 39, 907.
- [10] Rodríguez-Leiva, M., Tributsch, H., 1988. Morphology of bacterial leaching patterns by *Thiobacillus ferrooxidans* on synthetic pyrite. Archives of Microbiology 149, 401-405.
- [11] Bärtels, C.C., Charzitheodorou, G., Rodríguez-Leiva, M., Tributsch, H., 1988. Novel technique for investigation and quantification of bacterial leaching by *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnology and Bioengineering 33, 1196.
- [12] Mustin, C., Donato, P., Berthelin, J., 1992. Quantification of the intergranular porosity formed in bioleaching of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnology and Bioengineering 39, 1121.
- [13] Vargas, T., Sanhueza, A., Escobar, B., 1992. Electrochemical studies on the bacterial leaching of pyrite with *Thiobacillus ferrooxidans*. In: Hager, J. P. (Ed.), EPD Congress 1992, The Minerals, Metals and Materials Soc., Warrendale, Pennsylvania, USA, pag. 273-284.
- [14] Newman, D. K., 2001. How bacteria respire minerals. Science 292, 1312-1313.
- [15] Lower, S. K., Hochella Jr., M. F., Beveridge, T. J., 2001. Bacterial recognition of mineral surfaces: Nanoscale interactions between *Shewanella* and α -FeOOH. Science 292, 1360-1363.

- [16] Crundwell, F. K., 2001. How do bacteria interact with minerals?. In: Ciminelli, V. y García Jr., O., Biohydrometallurgy: Fundamentals, technology and sustainable development, Part A, Elsevier Science B. V., Amsterdam, pag. 149-157.
- [17] Rojas-Chapana, J. A., Tributsch, H., 2001. Biochemistry of sulfur extraction in bio-corrosion of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. Hydrometallurgy 59, 291-300.
- [18] Konishi, Y., Takasaka, Y., Asai, S., 1994. Kinetics of growth and elemental sulfur oxidation in batch culture of *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnology and Bioengineering 44, 667-673.
- [19] Sand, W., Gehrke, T., Jozsa, P.-G., Schippers, A., 2001. (Bio)chemistry of bacterial leaching – direct vs. indirect bioleaching. Hydrometallurgy 59, 159-175.
- [20] Steudel, R., 1996. Mechanism for the formation of elemental sulfur from aqueous sulfide in chemical and microbiological desulfurization processes. Industrial and Engineering Chemistry Research 35, 1417.
- [21] Tributsch, H., 2001. Direct versus indirect bioleaching. Hydrometallurgy 59, 177-185.
- [22] Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M. L., González, F., Muñoz, J. A., 2003. Study of bacterial attachment during the bioleaching of pyrite, chalcopyrite, and Sphalerite. Geomicrobiology J. 20, 131-141.
- [23] Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M. L., González, F., Muñoz, J. A., 2003. New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and high temperature. Hydrometallurgy 71, 37-46.
- [24] Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M. L., González, F., Muñoz, J. A., 2003. New information on the chalcopyrite bioleaching mechanism at low and high temperature. Hydrometallurgy 71, 47-56.
- [25] Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M. L., González, F., Muñoz, J. A., 2003. New information on the sphalerite bioleaching mechanism at low and high temperature. Hydrometallurgy 71, 57-66.