

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS MATERIALES E
INGENIERÍA METALÚRGICA



TESIS DOCTORAL

Biolixiviación de minerales sulfurados de cobre de baja ley

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Víctor Zepeda Álvarez

DIRECTORES

María Luisa Blázquez Izquierdo
Antonio Ballester Pérez

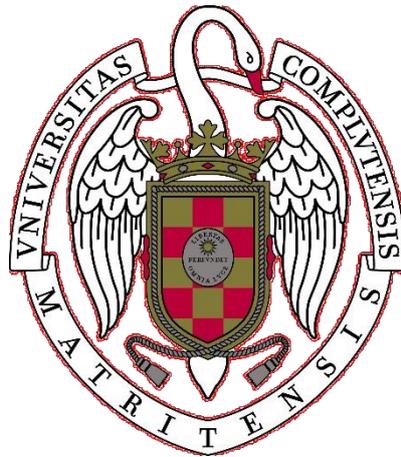
Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS MATERIALES E

INGENIERÍA METALÚRGICA



TESIS DOCTORAL

**BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE
COBRE DE BAJA LEY**

Víctor Zepeda Álvarez

DIRECTORES

Dra. María Luisa Blázquez Izquierdo

Dr. Antonio Ballester Pérez

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS MATERIALES E

INGENIERÍA METALÚRGICA

**BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE
COBRE DE BAJA LEY**

Memoria para optar al grado de

Doctor presenta

Víctor Zepeda Álvarez

DIRECTORES

Dra. María Luisa Blázquez Izquierdo

Dr. Antonio Ballester Pérez

Madrid, octubre 2017

Dedicado a:

Mis padres, por su apoyo incondicional

Claudia por su amor, paciencia y comprensión

Antonia mi razón de existir

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi sincera gratitud al Profesor Antonio Ballester y la Profesora María Luisa Blázquez, por toda su ayuda, supervisión, asesoramiento y enorme paciencia en el desarrollo de la presente Tesis. Además a los profesores Felisa González y Jesús Muñoz del Grupo de Investigación en Biohidrometalurgia del Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales de la Universidad Complutense de Madrid por la acogida y apoyo durante mi estancia en Madrid.

Agradecer la amistad, compañía y apoyo de todos aquellos con los que compartí durante mi tiempo de estadía en el Laboratorio en Madrid, entre ellos Borja, Mariana, Daniela, Cynthia, Horacio, Dina, Laura, Ivonne, Mauricio, Mayri, Jeniffer.

De igual manera quiero expresar mi agradecimiento a la Dra Cecilia Demergasso por su apoyo y todos los miembros del Centro de Biotecnología de la Universidad Católica del Norte.

Gracias a mi hermosa familia, a mi esposa, Claudia por su apoyo y paciencia. También a mi hija, Antonia, por perdonarme el tiempo de ausencia por mi estadía en Madrid. A mis padres y hermanas por su apoyo incondicional y por sentirlos siempre conmigo.

Agradezco a las siguientes instituciones por su financiamiento:

- Centro de Investigación Científico Tecnológico para la Minería (CICITEM)
- Programa Alβan, Programa de becas de alto nivel de la Unión Europea para América Latina N°. E07D401718CL.
- Centro de Biotecnología de la Universidad Católica del Norte

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS	VII
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	IX
RESUMEN	XVI
SUMMARY	XVIII
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1 MINERÍA DEL COBRE Y SU PROBLEMÁTICA.....	2
1.1.1 ESCENARIO DE PARTIDA: LA ECONOMÍA CHILENA Y SU DEPENDENCIA DEL COBRE.....	2
1.1.2 MERCADO DEL COBRE	6
1.1.2.1 El mercado total.....	6
1.1.2.2 Escenario actual del mercado del cobre	7
1.2 PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE COBRE.....	8
1.2.1 MINERALES SULFURADOS DE COBRE Y BIOLIXIVIACIÓN EN PILAS.....	8
1.2.2 MICROORGANISMOS QUE PARTICIPAN EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN	12
1.2.3 MECANISMOS DE LA BIOLIXIVIACIÓN	18
1.3 EFECTO DE LA ADICIÓN DE ÁCIDO EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN .	20
1.4 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	22
1.5 COMPORTAMIENTO DE LOS SULFUROS SECUNDARIOS DE COBRE EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	23
1.6 EFECTO DEL ION CLORURO EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	26
1.7 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	32
2.1. MICROORGANISMOS	33
2.1.1 CULTIVO MEL.....	33
2.1.2 CULTIVO CPY	34
2.1.3 CULTIVO CVS.....	35
2.2 MUESTRAS DE MINERAL PARA LOS ENSAYOS EN MATRACES, REACTORES Y COLUMNAS.....	35

2.2.1 MINERAL ESCONDIDA.....	36
2.2.2 MINERAL MSC.....	39
2.2.3 MINERALES SULFURADOS DE ALTA LEY	42
2.3 ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN EN COLUMNAS.....	42
2.3.1 DISEÑO DE LOS ENSAYOS EN COLUMNAS	42
2.3.2 ETAPA DE AGLOMERACIÓN Y CURADO DEL MINERAL.....	43
2.3.3 CARGA E IMPREGNACIÓN DE LAS COLUMNAS	43
2.3.4 OPERACIÓN DE LAS COLUMNAS	44
2.4 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA CARACTERIZAR LAS DISOLUCIONES Y LOS MINERALES	45
2.4.1 DETERMINACIÓN DE CU, FE TOTAL (FET) Y AL.....	45
2.4.2 DETERMINACIÓN DE FE (II).....	45
2.4.3 VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA PARA LA DETERMINACIÓN DE H ₂ SO ₄	45
2.4.3.1 Cálculo del consumo total de ácido (CAT)	46
2.4.3.2 Cálculo del consumo neto de ácido (CAN).....	48
2.4.4 DETERMINACIÓN DE SULFATO POR GRAVIMETRÍA	48
2.4.5 ANÁLISIS SECUENCIAL DE COBRE.....	49
2.4.6 FLUORESCENCIA DE RAYOS X.....	50
2.5 TÉCNICAS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	50
2.5.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	50
2.5.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRASMISIÓN (TEM).....	50
2.5.3. ANÁLISIS MINERALÓGICO QEMSCAN®	51
2.6 TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA CARACTERIZAR LOS MICROORGANISMOS EN LAS DISOLUCIONES Y EN LOS MINERALES.....	51
2.6.1 RECUENTOS DE MICROORGANISMOS TOTALES EN LAS DISOLUCIONES	51
2.6.2 RECUENTOS DE MICROORGANISMOS TOTALES POR TINCIÓN DAPI	52
2.6.3 NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP).....	52
2.6.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD OXIDANTE DE LOS CULTIVOS MEDIANTE LA MEDICIÓN DE CONSUMO DE FE (II)	53

2.6.5 ANÁLISIS DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS POR LA TÉCNICA DE PCR EN TIEMPO REAL.....	53
2.6.6 ANÁLISIS DE POBLACIONES MICROBIANAS POR TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN IN SITU (CARD-FISH).....	54
2.6.7 ANÁLISIS DE LA COMUNIDAD MICROBIANA POR MEDIO DE ELECTROFORESIS EN GEL CON GRADIENTE DESNATURALIZANTE (DGGE)	54
2.6.8 CLONACIÓN	55
CAPITULO III: ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA, ADICIÓN DE ÁCIDO Y VARIACIÓN DEL PH EN LOS PROCESOS DE BIOLIXIVIACIÓN.....	58
3.1 INTRODUCCIÓN	59
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	61
3.2.1 EFECTO DEL PH EN LA PRECIPITACIÓN DEL HIERRO EN ENSAYOS DISCONTINUOS EN MATRAZ	61
3.2.2 ADICIÓN DE ÁCIDO Y SU EFECTO EN LOS MICROORGANISMOS BIOLIXIVIANES... 62	
3.2.2.1 Diseño experimental	62
3.2.2.2 Efecto del aumento de la concentración de ácido sobre la población bacteriana mesófila.....	65
3.2.3 ENSAYOS EN COLUMNAS PARA ESTUDIAR EL EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA BIOLIXIVIACIÓN.....	65
3.3 RESULTADOS	67
3.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS INÓCULOS MEL Y CPY	67
3.3.2 EFECTO DEL PH EN LA PRECIPITACIÓN DE HIERRO Y EN LA ACTIVIDAD DE LOS MICROORGANISMOS.....	70
3.3.3 EFECTO DEL AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO EN LA POBLACIÓN DE MICROORGANISMOS BIOLIXIVIANES	73
3.3.3.1 Análisis estadístico de los resultados de la experiencia	73
3.3.3.2 Resultados del efecto de la concentración de ácido sobre el inóculo	76
3.3.4 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN	78
3.3.4.1 Resultados metalúrgicos.....	78
3.3.4.2 Caracterización de los microorganismos en la experiencia de biolixiviación.....	83
3.4 DISCUSIÓN.....	87

3.4.1 EFECTO DEL PH EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	87
3.4.2 EFECTO DE LA ADICIÓN DE ÁCIDO SOBRE LOS MICROORGANISMOS EN LA BIOLIXIVIACIÓN.....	90
3.4.2.1 Análisis estadístico del efecto del ácido sobre el inóculo	90
3.4.2.2 Efecto de la adición de ácido en los microorganismos presentes en la biolixiviación	93
3.4.3 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	94
CAPÍTULO IV: ESTUDIO DE LA DISOLUCIÓN DE LA COVELINA EN LOS PROCESOS DE BIOLIXIVIACIÓN DE COBRE.....	99
4.1 INTRODUCCIÓN.....	100
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	103
4.2.1 MICROORGANISMOS	103
4.2.2 ENSAYOS EN REACTORES	103
4.2.3 ENSAYOS EN COLUMNAS	104
4.3 RESULTADOS	107
4.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS CULTIVOS.....	107
4.3.2 BIOLIXIVIACIÓN EN REACTORES.....	108
4.3.2.1 Recuperación de cobre de los minerales de baja y alta ley	108
4.3.2.2 Análisis mineralógico de los residuos de biolixiviación del mineral de alta ley	111
4.3.2.3 Población microbiana en los ensayos de biolixiviación en reactores	114
4.3.3 BIOLIXIVIACIÓN EN COLUMNAS	115
4.3.3.1 Recuperación del cobre del mineral de baja ley	115
4.3.3.2 Análisis mineralógico del mineral de baja ley	120
4.3.3.3 Población microbiana en los ensayos en columna	122
4.4 DISCUSIÓN.....	124
4.4.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA DISOLUCIÓN DE LA COVELINA.....	124
4.4.2 RECUPERACIÓN DEL COBRE EN LOS ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN DE LA COVELINA	126
4.4.3 EFECTO DEL EH Y DEL HIERRO EN LA DISOLUCIÓN DE LA COVELINA	132

4.4.4 MICROORGANISMOS EN LA BIOLIXIVIACIÓN DE LA COVELINA	134
CAPÍTULO V: ESTUDIO DE LA DISOLUCIÓN DE LOS MINERALES SULFURADOS Y DE LA COLONIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN	137
5.1 INTRODUCCIÓN	138
5.2 MATERIALES Y METODOS	140
5.3 RESULTADOS	143
5.3.1 DISOLUCIÓN DE LOS MINERALES SULFURADOS DE BAJA LEY Y SU COLONIZACIÓN POR LOS MICROORGANISMOS	143
5.3.1.1 Disolución de los minerales sulfurados	143
5.3.1.2 Caracterización de los microorganismos en las disoluciones y en los minerales	147
5.3.1.3 Caracterización de los microorganismos en las disoluciones y en los minerales de la pila industrial	150
5.4 DISCUSIÓN	152
5.4.1 DISOLUCIÓN DE LOS MINERALES SULFURADOS EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN	152
5.4.2 INFLUENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN	156
CAPÍTULO VI: ESTUDIO DEL EFECTO DEL IÓN CLORURO EN LA BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE COBRE.....	163
6.1 INTRODUCCIÓN	164
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS	166
6.2.1 MICROORGANISMOS	166
6.2.2 EFECTO DEL IÓN CLORURO EN LOS ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN EN MATRACES	166
6.2.3 EFECTO DEL IÓN CLORURO EN LOS ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN EN COLUMNAS.....	168
6.3 RESULTADOS	169
6.3.1 MICROORGANISMOS	169
6.3.2 ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN EN MATRACES UTILIZANDO MINERAL SULFURADO DE ALTA Y BAJA LEY	170
6.3.2.1 Mineral de alta ley en calcopirita	170
6.3.2.2 Mineral sulfurado de baja ley	173

6.3.3 PRUEBAS DE BIOLIXIVIACIÓN EN COLUMNA	176
6.3.3.1 Parámetros metalúrgicos	176
6.3.3.2 Análisis mineralógico	180
6.3.3.3 Análisis biológicos.....	182
6.4 DISCUSIÓN.....	186
6.4.1 EFECTO DE LA ADICIÓN DE CLORURO SOBRE LOS MICROORGANISMOS QUE TOMAN PARTE EN LOS PROCESOS DE BIOLIXIVIACIÓN.....	186
6.4.2 EFECTO DE LA ADICIÓN DE CLORURO EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	189
6.4.3 EFECTO DEL POTENCIAL REDOX Y LA ADICIÓN DE CLORURO	192
6.4.4 RECUPERACIÓN DEL COBRE EN LOS ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN	195
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES	203
7.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA, ADICIÓN DE ÁCIDO Y VARIACIÓN DEL PH EN LOS PROCESOS DE BIOLIXIVIACIÓN.....	204
7.2 DISOLUCIÓN DE LA COVELINA EN LOS PROCESOS DE BIOLIXIVIACIÓN DE COBRE. 206	
7.3 DISOLUCIÓN DE LOS MINERALES SULFURADOS Y LA COLONIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN	207
7.4 EFECTO DEL ION CLORURO EN LA BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE COBRE	207
BIBLIOGRAFÍA.....	209

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Producción mundial de cobre de mina	7
Tabla 1.2 Producción Chilena de cobre comercial por empresa y productos.....	8
Tabla 1.3 Operaciones mineras utilizando procesos de biolixiviación	10
Tabla 1.4 Principales especies microbianas relacionadas con la biolixiviación (Schipper, 2013).....	14
Tabla 1.5 Diferentes operaciones de biolixiviación de cobre a nivel mundial (Watling, 2006).....	24
Tabla 1.6 Microorganismos acidófilos halotolerantes.....	28
Tabla 2.1 Caracterización química del refino diluido utilizado en el enriquecimiento del cultivo CVS.....	35
Tabla 2.2 Ley del mineral de alimentación	36
Tabla 2.3 Análisis químico por malla del mineral Escondida.....	37
Tabla 2.4 Análisis de fluorescencia de rayos X de los principales elementos del mineral Escondida.....	37
Tabla 2.5 Análisis mineralógico del mineral Escondida.....	39
Tabla 2.6 Análisis químico del mineral MSC	40
Tabla 2.7 Análisis químico de las diferentes fracciones de tamaño de partícula del mineral MSC.....	40
Tabla 2.8 Análisis mineralógico del mineral MSC	41
Tabla 3.1 Características de la disolución de refino.	61
Tabla 3.2 Diseño experimental de la prueba en matraces	62
Tabla 3.3 Diseño experimental para el análisis del efecto del ácido sobre la actividad microbiana.....	63
Tabla 3.4 Composición de la disolución utilizada en las pruebas.....	65
Tabla 3.5 Diseño experimental de la serie de ensayos en columnas.....	66
Tabla 3.6 Porcentaje de extracción de cobre a partir de las especies mineralógicas de cobre	83
Tabla 3.7 Actividad hierro- y azufre-oxidante de la población microbiana en diferentes condiciones experimentales	91
Tabla 4.1 Diseño de los ensayos de biolixiviación de covelina en reactores .	104
Tabla 4.2 Diseño de las pruebas de biolixiviación de la covelina en columna	105
Tabla 4.3 Análisis mineralógico de los minerales biolixiviados.....	106

Tabla 4.4 Biolixiviación en reactores: análisis secuencial de la recuperación de cobre	110
Tabla 4.5 Biolixiviación en columnas: análisis secuencial de la recuperación de cobre	115
Tabla 4.6 Comparación de la disolución de minerales por medio de su análisis mineralógico, en función de las condiciones operacionales.....	122
Tabla 5.1 Diseño de los ensayos en columna con descarga secuencial.....	142
Tabla 6.1 Diseño experimental de la prueba en matraces con mineral de alta ley de calcopirita	166
Tabla 6.2 Diseño experimental de la prueba en matraces con mineral de la mina Escondida.....	167
Tabla 6.3 Análisis mineralógico de la muestra de mineral de calcopirita de alta ley.....	167
Tabla 6.4 Diseño experimental de la prueba en columnas con adición de ion cloruro	168
Tabla 6.5 Recuperación de cobre en las distintas columnas utilizando el análisis secuencial	177
Tabla 6.6 Análisis de las distintas especies mineralógicas a partir de los residuos de lixiviación.....	181
Tabla 6.7 Análisis de las secuencias obtenidas por DGGE	184
Tabla 6.8 Secuencias obtenidas de la clonación de bacterias	184

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1.1 Principales destinos de las exportaciones totales de cobre de Chile. Promedio 2000-2014 en % del total de exportaciones	3
Figura 1.2 Precio nominal del cobre por día, expresado como media mensual . 5	
Figura 1.3 Precio nominal del cobre, expresado como media anual, desde 2007 a 2015	5
Figura 1.4 Exportaciones de Chile desde 1960 a 2014 (% del PIB y en millones de US\$ de 2014) (Meller, 2014)	6
Figura 1.5 Mecanismos de solubilización microbiana, comparación entre el mecanismo del tiosulfato y el del polisulfuro (Schipper, 2013)	20
Figura 1.6 Recuperación por especies a partir de un mineral lixiviado en una pila industrial: calcosina (CC), covelina (CV), calcopirita (CPY) y minerales oxidados (OX) (Jofré, 2012)	26
Figura 2.1 Columna de enriquecimiento del cultivo MEL	34
Figura 2.2 Biorreactor con cultivo CPY a 25 °C.....	34
Figura 2.3 Homogenización de la muestra.....	36
Figura 2.4 Porcentaje de mineral pasante versus apertura de malla del mineral Escondida.....	38
Figura 2.5 Porcentaje de mineral atravesando la malla versus a la apertura de malla del mineral MSC. P80 = 9,539 mm	41
Figura 2.6 Esquema del trabajo en columnas.....	42
Figura 2.7 Equipo de aglomeración del mineral	43
Figura 2.8 Carga del mineral aglomerado y curado en las columnas.....	44
Figura 2.9 Columnas de lixiviación a temperatura ambiente y controlada	44
Figura 2.10 Número más probable para microorganismos (NMP) (A) hierro-oxidantes y (B) azufre-oxidantes	53
Figura 2.11 Análisis Card-Fish para la cuantificación de la población bacteriana	54
Figura 3.1 Sistema de calefacción utilizado en los ensayos	64
Figura 3.2 Ensayos en incubador orbital de determinación de la actividad azufre-oxidante (izquierda) y hierro-oxidante (derecha).....	64

Figura 3.3 Recuento de microorganismos, totales y viables, de los inóculos MEL y CPY	67
Figura 3.4 Actividad oxidante de Fe^{2+} de los inóculos MEL y CPY.....	68
Figura 3.5 Cuantificación de las especies dominantes en los inóculos MEL y CPY mediante PCR en tiempo real	68
Figura 3.6 Cuantificación de microorganismos en los inóculos MEL y CPY mediante CARD-FISH	69
Figura 3.7 Control del pH en la disolución de percolado de la experiencia de biolixiviación	70
Figura 3.8 Potencial redox de los ensayos de lixiviación en matraces, bajo diferentes condiciones de pH	71
Figura 3.9 Perfiles de concentración de hierro total en las disoluciones de las experiencias en matraces	71
Figura 3.10 Recuperación de hierro total y de cobre en el mineral por análisis por fluorescencia de rayos X	72
Figura 3.11 Recuento de microorganismos totales y viables hierro- y azufre-oxidantes como una función del pH. A: recuento de microorganismos por DAPI; B: NMP de hierro-oxidantes; y C: NMP de azufre-oxidantes.....	73
Figura 3.12 Diagrama de Pareto de los efectos estandarizados de distintas variables sobre la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 de la población microbiana del inóculo MEL	74
Figura 3.13 Diagrama del efecto principal de las distintas variables sobre la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 (media de datos).....	74
Figura 3.14 Velocidad ponderada (media de los datos) que refleja las interacciones entre las variables estudiadas y la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4	75
Figura 3.15 Diagrama de contorno de la velocidad de producción de Fe^{3+} (izquierda) y H_2SO_4 (derecha) en función de la concentración de H_2SO_4	76
Figura 3.16 Efecto de la concentración de ácido sobre la actividad hierro-oxidante con inóculo previamente adaptado y no adaptado.....	77
Figura 3.17 Dinámica poblacional durante el aumento de la concentración de ácido total desde 8 a 30 g/L	78

Figura 3.18 Recuperación de cobre de las disoluciones de percolado de las experiencias de biolixiviación, MC1 temperatura ambiente y MC2 y MC3 controlada desde 25 a 50 °C.....	79
Figura 3.19 Temperatura del lecho del mineral en las experiencias de biolixiviación	79
Figura 3.20 Recuperación de cobre frente a consumo total de ácido en el percolado. MC1: temperatura ambiente; y MC2 y MC3: temperatura controlada desde 25 a 50 °C.....	80
Figura 3.21 pH (A) y potencial redox (B) de las disoluciones de percolado. MC1: temperatura ambiente; y MC2 y MC3: temperatura controlada desde 25 a 50 °C	80
Figura 3.22 Comportamiento de la concentración de hierro en las disoluciones de percolado de los ensayos A) MC1, B) MC2 y C) MC3	81
Figura 3.23 Recuperación de hierro total de las disoluciones. MC1: temperatura ambiente; y MC2 y MC3: temperatura desde 25 a 50 °C	82
Figura 3.24 Análisis mineralógico de las especies de sulfuros de cobre de baja ley de los ensayos MC1 (temperatura ambiente) y MC2 (temperatura desde 25 a 50 °C).....	83
Figura 3.25 Determinación del Número Más Probable de microorganismos Totales (A), hierro-oxidantes (B) y azufre-oxidantes (C), a 28°C, en las disoluciones de percolado de los ensayos de biolixiviación	84
Figura 3.26 Análisis de la actividad hierro- (A) y azufre- (B) oxidante en la disolución de percolado durante los ensayos de biolixiviación.....	84
Figura 3.27 Cuantificación de microorganismos mediante PCR en Tiempo Real de la disolución de percolado de los ensayos CM1, CM2 y CM3.....	85
Figura 3.28 Cuantificación de bacterias mediante PCR en tiempo real de los rípos superior e inferior de las columnas CM2 y CM3	86
Figura 3.29 Cuantificación de microorganismos mediante CARD-FISH de los rípos superior e inferior de las columnas CM1, CM2 y CM3.....	86
Figura 3.30 Micrografía SEM de la precipitación de jarosita con microorganismos del cultivo MEL.....	90
Figura 4.1 Equipo de calefacción utilizado en los ensayos con reactores.....	104
Figura 4.2 Equipo de calefacción utilizado en los ensayos en columna.....	105

Figura 4.3 Caracterización de los inóculos utilizados en los diferentes experimentos de biolixiviación.....	107
Figura 4.4 Cuantificación de las diferentes especies microbianas presentes en los subcultivos crecidos a 30 y 50 °C	108
Figura 4.5 Recuperación de cobre del mineral de baja ley: procesado y sin procesar	109
Figura 4.6 Recuperación de cobre del mineral de alta ley	109
Figura 4.7 Potencial redox de las disoluciones del percolado en los ensayos de biolixiviación de los minerales de alta y baja ley	111
Figura 4.8 pH de las disoluciones de percolado de los ensayos de biolixiviación de los minerales de alta y baja ley	111
Figura 4.9 Análisis mineralógico de las especies de sulfuros de cobre del mineral de alta ley antes y después de su ataque	112
Figura 4.10 Análisis de difracción de rayos X de las especies de sulfuros de cobre del mineral de alta ley sin atacar (A) y de los residuos de biolixiviación de los ensayos MR5 (B) y MR6 (C)	113
Figura 4.11 Recuento de microorganismos totales y activos de hierro- y azufre-oxidantes determinados en los ensayos con mineral de sulfuro de alta y baja ley. A: recuento de microorganismos DAPI; B: NMP hierro-oxidantes; y C: NMP azufre-oxidantes.....	114
Figura 4.12 Recuperación de cobre de los minerales de baja ley por biolixiviación en columna.....	116
Figura 4.13 Consumo total de ácido en los ensayos de biolixiviación en columna	116
Figura 4.14 pH (A) y Potencial redox (B) en la disolución de lixiviación de los ensayos en columna	117
Figura 4.15 Temperatura del lecho durante los ensayos de biolixiviación	117
Figura 4.16 Comportamiento de la concentración de hierro en las disoluciones de percolado de los ensayos de biolixiviación en columna	119
Figura 4.17 Recuperación del hierro en los ensayos de biolixiviación en columna	119
Figura 4.18 Análisis mineralógico del mineral sin procesar y de sus residuos en los ensayos MC5 y MC6	121

Figura 4.19 Análisis mineralógico del mineral procesado y de sus residuos en los ensayos MC1, MC3 y MC4.....	121
Figura 4.20 Recuento de microorganismos totales y activos hierro- y azufre-oxidantes determinados en los ensayos con mineral de baja ley sin procesar y procesado. A: recuento de microorganismos DAPI; B: NMP de hierro-oxidantes; y C: NMPde azufre-oxidantes.....	123
Figura 4.21 Estructura y dinámica de la población microbiana en las disoluciones de percolado y en los residuos de los ensayos MC2 y MC5, determinada por PCR en tiempo real	123
Figura 4.22 Formación de jarosita en muestras de mineral, tomadas al inicio (alimentación) y final (lixiviado) en el ciclo de lixiviación de los ensayos en columna.....	132
Figura 5.1 Imagen de la pila industrial de mineral ROM (run of mine) de Minera Escondida.....	141
Figura 5.2 Esquema de la malla de muestreo en la franja 1 de la pila industrial. M1 altura de 0 a 6m de profundidad, M2 de 6 a 12 m; M3 de 12 a 18 m	141
Figura 5.3 Recuperación de cobre de las disoluciones de percolado en los ensayos en columna	143
Figura 5.4 Consumo de ácido total a partir de las disoluciones de percolado en los ensayos en columna.....	144
Figura 5.5 Potencial redox (A) y pH (B) de las disoluciones de percolado en los ensayos en columna	144
Figura 5.6 Análisis mineralógico de las especies de sulfuros de cobre de las columnas descargadas de forma secuencial durante el ciclo de lixiviación ...	146
Figura 5.7 Análisis mineralógico de la formación de jarosita en los minerales lixiviados durante los ensayos en columna	147
Figura 5.8 Recuentos DAPI y NMP de microorganismos hierro- y azufre-oxidantes, a 28°C, en las disoluciones de percolado de los ensayos en columna (MC1 al MC6).....	148
Figura 5.9 Cuantificación de bacterias de la disolución de percolado (cel/m ³) y del mineral lixiviado inferior y superior (cel/t), en los ensayos en columna, mediante PCR en tiempo real	148

Figura 5.10 Cuantificación de bacterias totales mediante PCR en tiempo real en la disolución de percolado y en el mineral inferior y superior de los ensayos en columna (MC1 al MC6)	149
Figura 5.11 Cuantificación de bacterias mediante CARD-FISH en los rípos superiores e inferiores de los ensayos en columna (CM1 al MC6)	149
Figura 5.12 Determinación de <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> (A) y <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> (B), mediante PCR en tiempo real, en las disoluciones de alimentación y en el percolado de la franja 1	150
Figura 5.13 Determinación de microorganismos mediante PCR en tiempo real en las disoluciones de alimentación y en el percolado de la franja 9	151
Figura 5.14 Resultados de la comparación entre las cuantificaciones específicas de los microorganismos <i>A. thiooxidans</i> (A) y <i>A. ferrooxidans</i> (B) por CARD-FISH y PCR en tiempo real en las muestras correspondientes al mineral M1, M2, M3 y M4 de la franja 1	151
Figura 5.15 Ley de cobre por especies, obtenida por análisis QEMSCAM®, del mineral de entrada de los ensayos MC1 al MC6.....	153
Figura 5.16 A Micrografía de una muestra de mineral lixiviado en las columnas; B espectro EDS de la muestra de calcopirita	153
Figura 5. 17 Extracción de cobre a partir de minerales sulfurados (biolixiviación en reactor, pH 1,8-2, 30 °C, 2% densidad de sólidos (Watling, 2013).....	154
Figura 5.18 Esquema de las fases líquida, sólida y gaseosa dentro del lecho del mineral aglomerado (Govender et al., 2013).....	161
Figura 6.1 Análisis de la actividad oxidante de Fe ²⁺ del inóculo a distintas concentraciones de ion cloruro.....	169
Figura 6.2 Cuantificación de microorganismos, mediante PCR en tiempo real, del inóculo MEL adaptado a ion cloruro	170
Figura 6.3 Recuperación de cobre en los ensayos de biolixiviación en matraces, bajo diferentes condiciones de adición de ion cloruro e inoculación	171
Figura 6.4 Potencial redox en los ensayos de biolixiviación en matraces, bajo diferentes condiciones de adición de ion cloruro e inoculación	172
Figura 6.5 Perfiles de concentración de hierro total y hierro (II) correspondientes a las experiencias de biolixiviación en matraces utilizando mineral con alto contenido de calcopirita.....	173

Figura 6.6 Concentración de las diferentes especies microbianas presentes en los ensayos de biolixiviación en matraces con el mineral de alta ley, cuantificadas por PCR en tiempo real.....	173
Figura 6.7 Recuperación de cobre de un mineral de baja ley bajo diferentes condiciones de biolixiviación en cuanto a presencia de iones cloruro y microorganismos.....	174
Figura 6.8 Potencial redox en los ensayos de biolixiviación en matraces sobre un mineral de baja ley bajo diferentes condiciones de iones cloruro y microorganismos.....	175
Figura 6.9 Hierro total y ferroso en los ensayos de biolixiviación en matraces de un mineral de baja ley bajo diferentes condiciones de iones cloruro y microorganismos.....	176
Figura 6.10 Recuperación de cobre obtenida a partir del análisis de los percolados de las columnas.....	177
Figura 6.11 Potencial redox de las disoluciones de percolado procedentes de las pruebas en columna.....	178
Figura 6.12 pH de las disoluciones de percolado procedentes de las pruebas en columna.....	178
Figura 6.13 Comportamiento de la concentración de las distintas especies del hierro en las disoluciones de percolado de las pruebas en columna.....	179
Figura 6.14 Recuperación de hierro total obtenido a partir de las disoluciones de percolado de las pruebas en columna.....	180
Figura 6.15 Análisis mineralógico de las especies de cobre, tanto en la alimentación de las columnas como en los residuos de las mismas.....	181
Figura 6.16 Recuentos de NMP de microorganismos en el inóculo y en las disoluciones de percolado de las pruebas en columna.....	182
Figura 6.17 Imagen negativa de Gel de Electroforesis con Gradiente Desnaturalizante (DGGE) de las disoluciones de percolado de las columnas.....	183
Figura 6.18 Análisis de PCR en tiempo real del inóculo y de las disoluciones de percolado de los ensayos en columna.....	185

RESUMEN

En la actualidad, la mayor parte de la industria minera del cobre a nivel mundial enfrenta diversas dificultades en la producción de este metal. Entre los desafíos que se presentan podemos destacar la progresiva disminución de las leyes del mineral, la mayor dureza de las rocas, la fuerte caída de los precios de las materias primas y la disminución de la productividad en el sector. Estas problemáticas han forzado que las compañías mineras se vean en la necesidad de procesar un mayor y más complejo volumen de mineral. Este escenario impulsa la necesidad de innovar tecnológicamente para mantener los niveles de producción de cobre de acuerdo con las necesidades del mercado. En esta Tesis Doctoral se investigaron a escala de laboratorio, los parámetros operacionales relevantes del sistema, así como los cambios mineralógicos y la dinámica microbiológica en el proceso de biolixiviación para minerales sulfurados de cobre de baja ley.

En primer lugar, se estudió el comportamiento de algunos de los factores más importantes en una operación de biolixiviación, tales como la disponibilidad de ácido, el efecto de la temperatura del sistema y la actividad microbiana, para poder tener un mejor criterio en el control del proceso industrial. Se evaluó la influencia de la temperatura y de diferentes concentraciones de hierro total en la disolución de la covelina presente en minerales sin procesar y previamente procesados por lixiviación. Se realizó un seguimiento de las transformaciones que experimentan los minerales sulfurados durante el ciclo de lixiviación para comprender y predecir, a su vez, el comportamiento de las poblaciones microbianas tanto en la fase mineral como en la disolución. Finalmente, se innovó en la recuperación de cobre a partir de minerales sulfurados refractarios, con el estudio de la influencia de la adición de ion cloruro en el proceso de biolixiviación.

Los resultados obtenidos demostraron que el aumento de la temperatura favorece la actividad bacteriana y la recuperación de cobre, además se puso de manifiesto la importancia de trabajar a 50 °C con el fin de lixiviar eficientemente

RESUMEN

el cobre contenido en la covelina, ya sea sin tratar o tratada, pero también se evidenció la ventaja potencial de tratar este tipo de mineral a temperaturas más bajas (30 °C) a nivel industrial.

El estudio comparativo de las comunidades microbianas presentes en los minerales y en las disoluciones, tanto en los ensayos en columna como en las pilas industriales, ha demostrado suficiente similitud, por lo que se puede considerar que los resultados obtenidos en la disolución son un indicador de la de la población bacteriana en el lecho de la pila. Además, se determinó que los microorganismos predominantes en las experiencias en columna e industriales fueron *A. thiooxidans*, *A. ferrooxidans D2*, y *L. ferriphilum* tanto en la disolución de percolado como en el mineral.

Finalmente, se demostró que el uso combinado de microorganismos y cloruro produjo mayor recuperación de cobre en los ensayos de biolixiviación de sulfuros refractarios. Estos resultados abren la posibilidad de desarrollar una nueva tecnología para el tratamiento de minerales de baja ley a nivel industrial, que permitiría optimizar el uso del recurso hídrico de agua fresca o, en su defecto, utilizar agua más salina o, incluso, agua de mar.

SUMMARY

SUMMARY

Nowadays, copper mining industry is facing several difficulties in order to increase or even maintain copper production. Among the challenges are: progressive decreasing of grade, increasing hardness of rocks, price instability and production declining. These conditions have forced mining companies to process higher amounts of ore with more complex characteristics. In this scenario, technological innovations are necessary to enhance the efficiency in the production of copper. In this doctoral thesis, several operational parameters influencing the bioleaching of low-grade copper sulfide ore were investigated, as well as, mineralogical changes and microbial dynamics.

In first place, the behaviour of some of the more important parameters in a heap bioleaching operation was studied, such as acid availability, effect of temperature and microbial activity in order to improve criteria regarding the control during industrial operation.

The influence of temperature and different concentrations of total iron in the dissolution of covellite were assessed, when fresh or previously processed ore were treated. Mineralogical changes occurring during leaching cycle were monitored in order to understand and predict the microbial population behaviour either in the solid or liquid phase.

The results obtained by the study of the influence of chloride ions in the bioleaching process can be used to sketch an innovative bio-process.

The results showed that microbial activity and copper recovery are favoured by increasing the temperature, in addition it is highlighted the effect of working temperatures above 50 °C to efficiently leach covellite included either in the processed or in fresh ore, although certain advantage can be obtained at more suitable temperatures at industrial level (30 °C).

The comparison of planktonic and bentonic microbial communities, either at column tests or from industrial heap samples showed elevated similarities, which strongly suggests that results based on the analysis of solutions samples

SUMMARY

are representative of the microbial populations inhabiting the solid phase of the system in an industrial bioleaching heap. The dominant organisms in column tests and industrial samples were *A. thiooxidans*, *A. ferrooxidans* D2, and *L. ferriphilum* in both, liquid or solid samples.

Finally, it was demonstrated that bioleaching of refractory sulphide ore using chloride ions in combination with microorganisms produced a higher copper recovery than only using microorganisms.

These results support the possibility to develop a novel technology to treat refractory low grade ore at industrial allowing mining companies a better management of water or even using a saline water source, including sea water, especially in arid zones where fresh water is a scarce resource.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 MINERÍA DEL COBRE Y SU PROBLEMÁTICA

1.1.1 Escenario de partida: la economía chilena y su dependencia del cobre

En los últimos meses/años, el crecimiento mundial se ha desacelerado, principalmente, por la disminución del mismo en los países emergentes. Respecto de los países avanzados, Estados Unidos crece cerca de su crecimiento potencial, la Zona Euro repunta y Japón regresa a la recesión. Al mismo tiempo, China exhibe un menor dinamismo el cual se debe a factores cíclicos producto de ajustes en diversos mercados, a factores estructurales, asociados a la reorientación de su crecimiento desde la inversión y las exportaciones hacia el consumo interno, y a la bajada en su crecimiento potencial. Por su parte, Rusia y Brasil se encuentran en recesión, mientras América Latina, junto al resto de los países emergentes, enfrentan condiciones financieras menos favorables, depreciación de sus monedas, caída de los precios de sus principales productos, reversión de los flujos de capitales y un menor comercio con China. En cuanto a las proyecciones para el 2017, se espera un crecimiento mundial en torno al 3,3%, cifra superior al 3,1% del 2016.

Esta desaceleración, en un mundo globalizado, afecta directamente a Chile, que es un país abundante en recursos naturales. Una de las características más distintivas de su economía es la pujanza del sector de la gran minería y, en especial, el del cobre, que lo sitúa como el principal productor del mundo. Chile produce cerca de un tercio del cobre a nivel mundial, siendo su principal destino China, país que en el año 2014 recibió más de un tercio de los envíos chilenos de cobre al exterior (Figura 1.1).

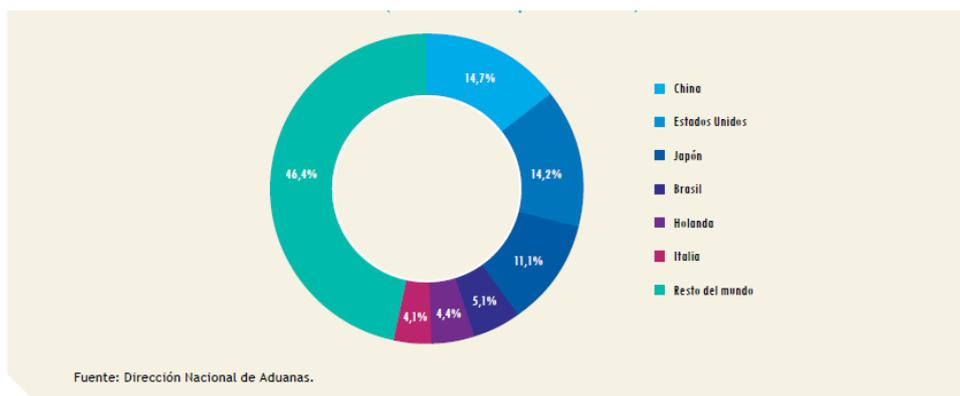


Figura 1.1 Principales destinos de las exportaciones totales de cobre de Chile. Promedio 2000-2014 en % del total de exportaciones

El escenario del cobre, en el año 2015, ha sido complejo para la industria minera. El primer día de 2015, las transacciones de este metal en la Bolsa de Metales de Londres cerraron con una caída del 0,79%. El descenso sirvió de avance de lo que sería el resto del año: se confirmó día tras día el fin del reciente ciclo excepcional de las materias primas trasladando el foco de las compañías mineras desde el aumento de la producción a una agresiva reducción de costos para resguardar sus márgenes operacionales. El resultado más evidente ha sido la disminución del empleo en el sector. El primer reporte de empleo publicado por el Instituto Nacional de Estadística chileno de este año mostraba que los empleados de la industria eran 235.810, mientras que en el último trimestre móvil (agosto - octubre) la cifra cayó a 223.390, una reducción de 12.420 puestos o un 5,2% (Diario Financiero, 2015).

En una revista de circulación nacional, al inicio del 2014, se informaba de que en los últimos 8 años, el llamado *sueldo de Chile* (relacionado con la producción de cobre en el país) tuvo una fuerte caída en sus aportes a los ingresos fiscales impactando muy apreciablemente el presupuesto del Gobierno en cuanto a la financiación de las necesidades de la población. Según cifras de la Dirección de Presupuestos (DIPRES), publicadas en marzo, la participación relativa de los ingresos del cobre disminuyó con fuerza en los ingresos efectivos totales del Fisco, pasando desde el 8,4% del Producto Interno Bruto (PIB), en 2006, hasta el 2,1%, en 2013, valor más bajo aún que el 2,5% que representó el

dato de 2009, debido a la crisis internacional. La menor cotización que ha tenido el metal y los mayores costos operacionales de las mineras y metalúrgicas son los factores que han incidido en esta menor presencia, según explican altos ejecutivos y expertos del sector (La Tercera, 2014).

Los márgenes operacionales han disminuido desde un máximo del 65%, en el año 2006, hasta un 22%, en el 2014. Todo esto provocado por las mismas razones que se apuntan más arriba: el aumento de los costos operacionales y la caída del precio del metal. Para comprender el escenario actual, se necesita, por tanto, analizar la evolución que han tenido estos dos factores (Cochilco, 2015a).

A) Costos operacionales

El costo medio de operación ha aumentado desde los 90 cUS\$/lb, del año 2005, hasta los 217 cUS\$/lb, del año 2014, lo que expresa un crecimiento promedio del 10% anual. Dentro del total, los mayores elementos de gasto de las empresas mineras corresponden a los materiales, las remuneraciones (propias y contratadas) y el apartado de otros servicios y gastos (17%, 21% y 28%, respectivamente). Cabe destacar que el gasto en energía (electricidad y combustible), se acercó a niveles máximos cercanos al 15% del costo operacional entre los años 2008 y 2011 (Cochilco, 2015a).

Entre los factores que explican el movimiento de los costos operacionales, se destacan el crecimiento del precio y la cantidad de los factores de producción. Éstos explican un 30% del aumento del costo, destacando el efecto precio/cantidad del factor trabajo con un 18% del total. Otro elemento relevante corresponde a que el sólo efecto aislado de la disminución de la ley del mineral permite explicar un 14% de la variación. Además, la corrección monetaria referida a efectos inflacionarios o de tipo de cambio logra explicar otro 19% del total del aumento.

B) Evolución del costo del cobre

En las Figuras 1.2 y 1.3 se observa la evolución del precio del cobre (Cochilco, 2015a) en los últimos días y años; a partir del 2011, se aprecia un continuo descenso en esta variable.

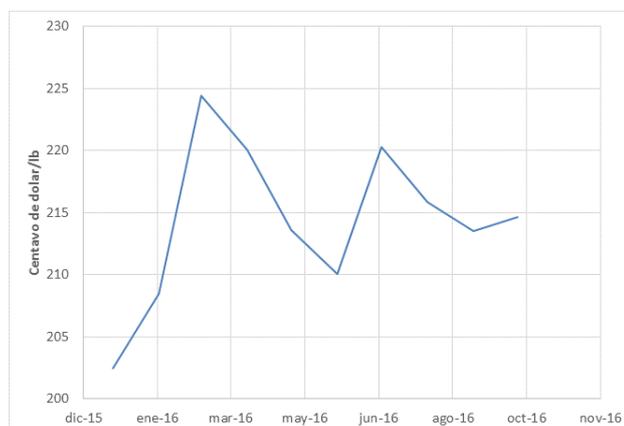


Figura 1.2 Precio nominal del cobre por día, expresado como media mensual

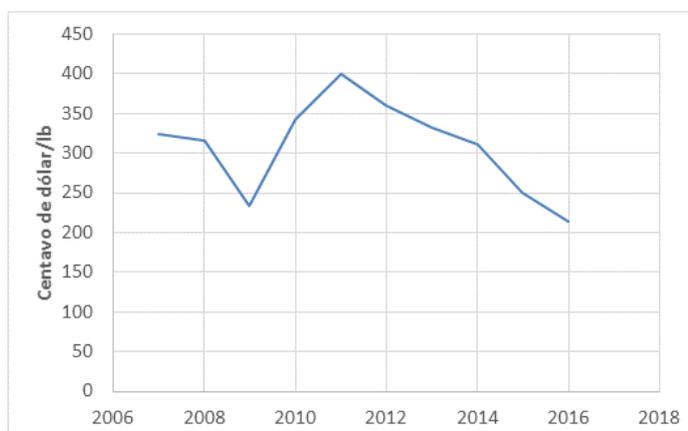


Figura 1.3 Precio nominal del cobre, expresado como media anual, desde 2007 a 2015

La exportación chilena más importante en los últimos siglos ha sido el cobre; así, los aportes de esta minería a la economía chilena, a lo largo del período 1960/2014, representan, en promedio anual, el 52,5% de las exportaciones totales y su valor ha crecido exponencialmente durante los últimos 25 años (Meller, 2014). Los envíos de mineral han registrado un promedio anual de 11.994 millones US\$ (dólar 2014), lo que ha representado anualmente más de la mitad de las exportaciones que realizó Chile (Figura 1.4).

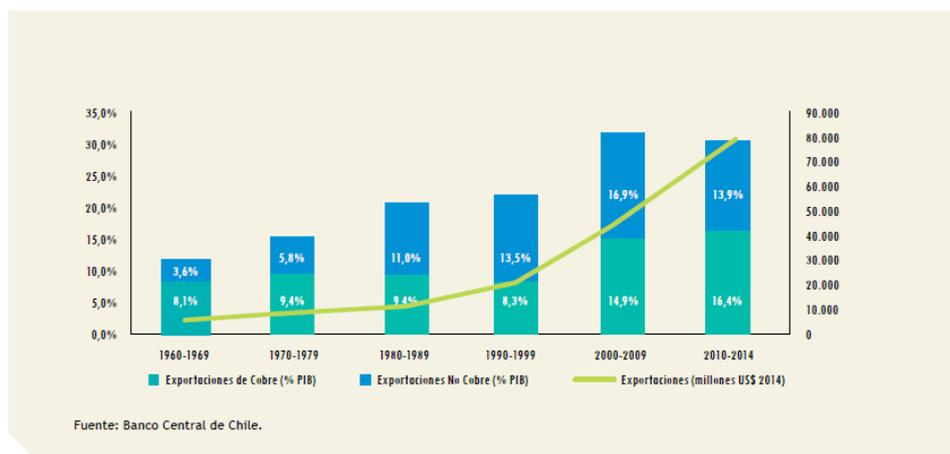


Figura 1.4 Exportaciones de Chile desde 1960 a 2014 (% del PIB y en millones de US\$ de 2014) (Meller, 2014)

1.1.2 Mercado del cobre

1.1.2.1 El mercado total

Está compuesto por todas aquellas empresas del mundo que poseen procesos industriales de producción de cobre. En los últimos 5 años, la producción mundial de cobre, a nivel de mina, ha crecido un 6,07% (Tabla 1.1) (Cochilco, 2016). Los diez mayores productores de cobre son: Chile, Perú, China, Estados Unidos, Indonesia, Australia, Zambia, Rusia, Canadá y Polonia. Las mayores empresas productoras de cobre en el mundo, en 2006, fueron: Codelco (11,9%), BHP Billiton (7,9%), Phelps Dodge (7,7%), Rio Tinto (5,4%) y Anglo American (4,3%). Cabe recordar que tras la compra de Phelps Dodge, Freeport se convirtió en la empresa privada productora de cobre más grande del mundo con una participación en el mercado total del 11,3% (Compendio Revista Minería Chilena, 2007).

Tabla 1.1 Producción mundial de cobre de mina

PRODUCCIÓN MUNDIAL DE COBRE DE MINA										
(Miles de TM en cobre fino)										
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Chile	4.739,0	4.580,6	4.904,2	5.412,5	5.320,5	5.360,8	5.557,0	5.327,6	5.394,4	5.418,9
Perú	722,4	844,6	842,6	1.035,6	1.009,9	1.048,5	1.190,3	1.267,9	1.274,7	1.247,1
China	587,4	568,1	604,4	742,2	761,6	872,9	928,0	1.076,1	961,5	1.155,8
Estados Unidos	1.340,0	1.140,0	1.115,8	1.160,0	1.140,0	1.197,0	1.168,0	1.310,0	1.203,9	1.141,7
Indonesia	1.047,4	1.162,7	1.003,4	841,6	1.064,2	816,6	788,9	650,5	997,4	854,2
Australia	896,0	879,0	830,0	854,0	930,0	875,0	871,0	886,0	854,0	849,0
Zambia	306,9	307,8	346,9	411,0	465,0	515,6	524,0	567,7	601,2	731,7
Rusia	600,0	685,0	665,1	767,0	804,7	779,4	770,0	784,8	742,4	727,8
Canadá	633,5	603,5	557,1	562,8	595,4	603,3	596,2	608,0	494,5	525,0
Polonia	474,0	502,8	503,2	530,5	511,5	497,1	452,0	429,4	439,0	425,0
Kazajstán	470,1	473,1	484,5	468,2	435,6	446,3	406,5	419,9	405,9	412,2
República Dem.Congo	33,0	32,3	56,9	69,6	97,7	131,4	144,6	239,2	299,3	384,9
México	371,1	329,6	323,7	368,6	390,9	312,1	337,5	246,6	238,4	260,9
Irán	146,3	140,7	146,1	153,0	192,7	230,4	249,2	254,8	261,7	260,4
Brasil	32,7	32,7	26,3	103,2	133,3	147,8	205,7	222,1	217,0	215,8
Papúa Nueva Guinea	203,8	211,3	202,3	173,4	193,0	194,4	169,2	159,7	166,7	159,8
Argentina	191,7	204,0	199,0	177,1	187,3	180,1	180,2	156,9	143,1	140,3
Otros (36 países)	961,4	867,6	841,5	843,2	916,8	971,9	1.009,6	1.061,0	1.114,9	1.192,2
TOTAL	13.756,7	13.565,4	13.653,0	14.673,5	15.150,1	15.180,6	15.548,0	15.668,1	15.810,0	16.102,9

Fuente :Adaptado -World Metal Statistics March 2011 and Yearbook 2010.
- Comisión Chilena del Cobre: Cifras de Producción de Chile

1.1.2.2 Escenario actual del mercado del cobre

El diario electrónico “Minería Al Día”, de 21 de febrero de 2012, señalaba que Chile no sólo es el mayor productor de cobre del mundo, sino también el país que posee las mayores reservas cupríferas del planeta, de acuerdo con uno de los informes anuales publicados por el Servicio Geológico de Estados Unidos (USGS). Según el organismo, Chile tiene más del doble de millones de toneladas en reservas del metal rojo que Perú, segundo productor global de cobre. En términos prácticos, lo anterior significa que este país posee unas reservas de 190.000 millones de toneladas de cobre, es decir, un 26% más de lo que se pensaba hasta la fecha (150.000 millones de toneladas), por lo que, al ritmo actual, la extracción del metal rojo está asegurada por, al menos, cien años. Los otros países con mayores reservas de cobre del mundo, según el USGS, son Perú (90.000 millones de toneladas), Australia (86.000), México (38.000), Estados Unidos (35.000), Rusia (30.000), China (30.000), Indonesia (28.000) y Polonia (26.000). El resto de países del globo tendrían un total acumulado de unos 134.000 millones de toneladas de mineral.

CAPITULO I

Pese a la importancia de la corporación estatal Codelco, a partir de 1997, la mayor producción de cobre en Chile proviene de productores privados, cuyas operaciones son el resultado de un proceso de inversión creciente extranjera en minería. Entre ellos, se encuentran Sur Andes (Anglo American), Escondida (BHP Billiton), Candelaria (Freeport-McMoRan/Sumitomo), Quebrada Blanca (Aur Resources), Cerro Colorado (BHP Billiton), Zaldívar (Barrick Gold Corp.), El Abra (Freeport-McMoran/Phelps Dodge-Codelco), Collahuasi (Anglo American, Xstrata Ltd, Mitsui) y Los Pelambres (Luksic-Mitsubishi) (Tabla 1.2).

Tabla 1.2 Producción Chilena de cobre comercial por empresa y productos

PRODUCCIÓN CHILENA DE COBRE COMERCIALIZABLE POR EMPRESAS Y PRODUCTOS										
(Miles de TM de cobre fino)										
I) POR EMPRESA	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Codelco-Chile	1.592,3	1.519,7	1.562,5	1.733,2	1.728,0	1.675,9	1.583,3	1.466,4	1.702,0	1.689,1
OTROS PRODUCTORES	3.146,7	3.060,9	3.341,7	3.679,3	3.592,5	3.684,9	3.973,7	3.861,2	3.692,4	3.729,8
Anglo American Norte	156,9	153,4	147,1	155,0	149,7	152,1	151,6	148,9	151,6	139,6
Anglo American Sur	251,6	249,8	277,9	300,6	293,7	294,8	302,1	283,5	276,9	257,7
Escondida	794,1	758,0	994,7	1195,1	1271,5	1255,6	1483,9	1254,0	1103,7	1086,7
Compañía Minera E	11,4	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Michilla	49,6	51,8	52,7	50,0	46,4	47,3	45,1	47,7	40,6	41,2
Candelaria	220,6	199,1	212,7	200,0	162,7	169,6	181,0	173,5	134,2	136,4
Cerro Colorado	133,9	128,3	131,5	119,5	90,4	115,5	98,7	104,2	93,7	89,0
Quebrada Blanca	74,6	73,8	80,1	76,3	81,0	82,4	82,9	85,4	87,4	86,2
Zaldívar	140,4	147,8	150,5	147,6	123,3	146,3	142,9	133,5	137,0	144,4
El Abra	217,6	225,2	226,6	218,0	210,6	218,6	166,0	165,8	164,1	145,2
Collahuasi	452,7	433,5	394,7	481,0	427,0	440,0	452,0	464,4	535,9	504,0
Lomas Bayas	56,3	59,3	60,4	62,0	63,2	64,3	61,5	59,2	73,1	71,8
Los Pelambres	373,8	335,5	337,8	362,6	333,8	335,2	300,1	351,2	322,6	398,0
El Tesoro	43,0	84,3	92,4	97,8	98,1	94,0	93,0	90,8	90,2	95,3
Spence	-	-	-	-	-	4,3	128,1	164,8	162,3	178,1
Otros/ Other	170,2	158,8	182,6	213,8	241,1	264,9	284,8	334,3	319,1	356,2
TOTAL	4.739,0	4.580,6	4.904,2	5.412,5	5.320,5	5.360,8	5.557,0	5.327,6	5.394,4	5.418,9

Fuente: Adaptado de Comisión Chilena del Cobre. Anuario Estadístico 2010.

1.2 PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE COBRE

1.2.1 Minerales sulfurados de cobre y biolixiviación en pilas

Mayoritariamente, los minerales de cobre se encuentran en la naturaleza en forma de sulfuros metálicos; sólo una pequeña porción se encuentra en forma

de óxidos metálicos siendo estos últimos los que aparecen en las capas superiores de los yacimientos y en contacto con la atmosfera. En general, los sulfuros de cobre son tratados por medio de un proceso secuencial de concentración y fundición (proceso pirometalúrgico), el cual requiere de la molienda del mineral a partículas finas para posteriormente ser flotado, lo cual supone un alto consumo energético e hídrico. En la etapa de fundición, junto con el alto consumo de energía, se generan contaminantes hacia el medio ambiente (esencialmente, dióxido de azufre). En las plantas modernas, el dióxido de azufre y los contaminantes gaseosos son captados para producir ácido sulfúrico. Si bien la tecnología de concentración-fundición presenta un alto consumo energético y genera contaminación ambiental, es una tecnología eficiente, muy probada y que se utiliza desde hace mucho tiempo (Schippers et al., 2013). Los minerales oxidados, ya casi agotados a nivel mundial, se tratan por medio de una lixiviación ácida, que es una tecnología simple y rápida en donde el cobre se solubiliza a sulfato de cobre, el cual es recuperado por medio de etapas de extracción por disolventes (SX) y electro-obtención (EW).

La biolixiviación de minerales de cobre surgió como una alternativa al procesamiento de minerales de baja ley cuando la tecnología de concentración-fundición no resultaba rentable, cuando se tenían yacimientos de compleja mineralogía o minerales con presencia de impurezas o contaminantes como, por ejemplo, arsénico, los cuales son penalizados por su presencia en los concentrados por parte de las plantas de fundición (Brierley C, 2010). En estos casos, se pueden utilizar microorganismos para la oxidación de tales minerales, solubilizando el cobre en un medio ácido y generando, finalmente, sulfato de cobre (Schippers et al., 2013; Brierley JA, 2008). Esta tecnología es simple, presenta bajos niveles de emisiones contaminantes al medio ambiente, requiere menos agua y posee bajos costos de producción y operación, aunque con mayores tiempos de operación que la lixiviación de minerales oxidados. Debido a que la biolixiviación ha permitido ampliar el uso de plantas de SX y EW existentes para la lixiviación de óxidos, la inversión de capital en nuevas plantas ha crecido apreciablemente (Brierley C, 2010; Watling, 2006).

El descubrimiento tanto de los primeros microorganismos biolixiviantes como de su rol en la oxidación del mineral fue el punto de partida para el desarrollo de nuevos procesos de oxidación de mineral mediados por la acción microbiana a nivel industrial (Brierley C, 2008). Los primeros pasos de esta tecnología a nivel comercial se desarrollaron en Minera Pudahuel, Chile, en la década de los 80 del siglo pasado (Brierley C, 2001); luego, con el surgimiento de nuevas operaciones comerciales de biolixiviación, se demostró su buen funcionamiento y rentabilidad (Tabla 1.3) (Schippers et al., 2013).

Tabla 1.3 Operaciones mineras utilizando procesos de biolixiviación

País	Operación	Operador	Proceso	Cu en T
Australia	Whim Creek	Venturex		4.000
Australia	Lady Annie	CST Mining	lixiviación en pila	20.000
Chile	Tres Valles	Vale SA	lixiviación en pila	18.500
Chile	División Andina	Codelco	Stockpile/lixiviación en pila	25.000
Chile	Lixiviación de Sulfuros Escodida Ltda	BHP Billiton	Stockpile/lixiviación en pila	180000
Chile	Ivan Zar	Cia Minera Milpo SA	lixiviación en pila	10.000
Chile	Los Bronces	Anglo American Teck Resource LTDA		50000
Chile	Quebrada Blanca	Teck Resource Ltda	lixiviación en pila	85.000
Chile	Spence	BHP Billiton		120.000
Chile	Radomiro Tomic	Codelco	lixiviación en pila	100.000
Chile	Collhuasi	Xtrata Plc		60.000
Chile	Cerro Colorado	BHP Billiton	lixiviación en pila	100.000
Chile	Andacollo	Teck Resource Ltda	lixiviación en botadero	10.000
Chile	Zaldívar	Barrick Gold Corp	lixiviación en pila	140.000
Chile	Chuquicamata	Codelco		20.000
China	Zijinshan COpper	Zijin Mining Group Co Ltda	lixiviación en pila	12.840
China	Huogeqi	Local Government	lixiviación en pila	20.000
Myanmar	Monywa	Rio Tinto, State of Myanmar	lixiviación en pila	9.000
Perú	Cerro Verde	Freeport-McMoran	lixiviación en pila	66.000
USA	Morenci	Freeport-McMoran	lixiviación en pila y botadero	230.000
			Total	1.280.340

La biolixiviación en pila, se ha aplicado con éxito, a escala industrial, desde hace más de 30 años y, en general, se considera que es la opción más eficaz para la extracción de cobre a partir de minerales sulfurados de cobre de baja ley (Watling, 2006; Brierley C, 2010). En Chile, más del 11% de los cátodos de cobre producidos lo son después de una etapa de biolixiviación. La aplicación

a nivel industrial de la biolixiviación en pilas proviene de una serie de pruebas a diferentes escalas que determinan su factibilidad técnica y económica. El desarrollo previo puede tardar varios años y en el transcurso del mismo es normal que se produzcan modificaciones en los procesos y nuevas patentes (Brierley JA, 2008; Brierley JA y Brierley C, 2001). La lixiviación de la calcosina, que es el principal sulfuro secundario de cobre, se inició como una lixiviación ácida (similar a la de los óxidos) y, luego, con la disminución de los contenidos de cobre, se convirtió en una biolixiviación haciendo uso de aireación e inoculación (Watling, 2006).

En este tipo de operaciones de lixiviación estática, el tamaño de partícula del mineral es fundamental para alcanzar una extracción de cobre aceptable aunque, a efectos de rentabilidad, el tamaño finalmente utilizado depende, en gran medida, de los costos operacionales asociados a la etapa de chancado y aglomerado. El chancado, o trituración de la mena, genera partículas tanto gruesas como finas, las cuales se mezclan con ácido sulfúrico en un proceso de aglomeración para formar una partícula de mayor tamaño compacta donde se adhieren partículas más finas (Brierley JA y Brierley, C, 2001; Bouffard, 2005). Cuando el chancado y aglomerado requieren de una elevada inversión es posible construir pilas de biolixiviación en donde el mineral proviene directamente de la mina (*Run of mine*, ROM); un ejemplo lo representa la planta de biolixiviación industrial de minerales sulfurados de baja ley de Minera Escondida, ubicada en el norte de Chile (Soto et al., 2010), donde el mineral de la pila no tiene un proceso de chancado ni de aglomeración previo. El mineral ROM es apilado en una superficie previamente impermeabilizada y provista de líneas de aire conectadas a un soplador en la base del montón que permite la inyección de aire dentro del mismo. La altura de la pila depende de la operación minera y de sus características de diseño, alcanzando alturas entre 6 y 18 m por piso.

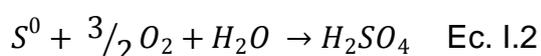
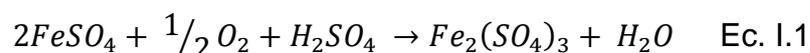
La monitorización de la biopila incluye los análisis químicos de cobre para determinar su nivel de extracción, de hierro (total y ferroso) y el potencial redox, todo lo cual aporta información de la solubilización de compuestos con contenidos elevados de hierro, como la pirita, así como el estado de la actividad hierro-oxidante de la población microbiana. También se controla la acidez libre y

el pH para determinar el consumo de ácido de la operación, así como algunas impurezas generadas como los iones sulfato, aluminio, cloruro y arsénico, entre otros. En el caso de la monitorización de la actividad microbiana, existen diferentes técnicas que analizan tanto la presencia de los microorganismos como el estado de actividad en la pila.

En los últimos años, el gran interés que se ha generado por los procesos de biolixiviación, tanto científico como comercial, ha permitido el estudio de la ecología microbiana responsable de la solubilización de los minerales de cobre durante su biotratamiento a nivel industrial; además, la comprensión de los aspectos microbiológicos involucrados en tales operaciones ha facilitado la mejora de esta tecnología, tanto desde el punto de vista del diseño como de su operación (Demergasso et al., 2005, 2011; Hawkes et al., 2006b; Xie et al., 2007; Wakeman et al., 2008; Brierley C, 2001; Rawlings y Johson, 2007; Watling, 2006; Yin et al., 2008).

1.2.2 Microorganismos que participan en el ciclo de biolixiviación

En las últimas décadas, se han realizado muchos esfuerzos para entender cómo actúan los microorganismos en los procesos de biolixiviación de minerales (Demergasso et al., 2005; Hawkes et al., 2006a). Su función principal es la oxidación de compuestos de azufre y del ion ferroso presentes en el mineral con el fin de producir ion férrico y protones, que solubilizan el mineral y permiten mantener un medio ácido para la extracción del cobre en forma de sulfato. La ecuación 1 muestra como transcurre la oxidación del ion ferroso por parte de los microorganismos hierro-oxidantes (Hedrich et al., 2011; Hedrich y Johnson, 2013) y la 2, la oxidación biológica de los compuestos de azufre por los microorganismos azufre-oxidantes (Norris et al., 2011), en donde el azufre se transforma en sulfato.



La mayor parte de los microorganismos que se describen en la literatura para la oxidación de minerales sulfurados son del grupo de los azufre-oxidantes (Dopson y Johnson, 2012; Hallberg y Johnson, 2001; Schipper, 2007, Schipper et al., 2013), capaces de fijar CO₂ atmosférico y crecer en forma quimiolitotrófica. Diversos estudios han demostrado una gran diversidad con respecto a las vías de asimilación de carbono de estos microorganismos (Hiraishi et al., 2000); por ejemplo *Acidithiobacillus spp.* y *Leptospirillum spp.* pueden crecer solamente quimiolitotróficamente y *Acidiphilium acidophilum* y *Acidimicrobium ferrooxidans* pueden crecer de modo autotrófico con compuestos de azufre reducido e iones ferroso, heterotróficamente con glucosa o extracto de levadura, y mixotróficamente con todos estos sustratos. Además, otros microorganismos como *Acidiphilium spp.* y *Acidisphaera rubrifaciens* poseen pigmentos que soportan su capacidad de actividad fototrófica.

Existen diferentes clasificaciones para los microorganismos responsables de la biolixiviación de minerales sulfurados (Kinzler et al., 2003; Norris et al., 2011). Una de las más utilizadas es la que lo hace considerando la temperatura óptima de crecimiento, distinguiéndose microorganismos de tres tipos: los mesófilos, tienen temperaturas óptimas de crecimiento inferiores a 40 °C (Hawkes et al., 2006a; Dopson y Johnson, 2012; Harneit et al., 2006); los termófilos moderados, con temperaturas de crecimiento entre 40 y 55 °C; y los termófilos extremos con temperaturas superiores a 55 °C. La Tabla 1.4 muestra un resumen de los principales microorganismos hierro- y azufre-oxidantes responsables de los procesos de biolixiviación de minerales sulfurados y sus rangos óptimos de temperatura y pH (Schipper et al., 2013).

Tabla 1.4 Principales especies microbianas relacionadas con la biolixiviación (Schipper, 2013)

Espece	pH óptimo	pH mínimo- máximo	T°C óptima	T°C mínima- máxima
Bacteria mesófilas y termófilas moderadas				
<i>Acidiferrobacter thiooxidans</i>	2	>1,2	38	>5-47
<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>	~2	na	45-50	<30-55
<i>Acidithiobacillus albertensis</i>	3,5-4,0	2,0-4,0	25-30	na
<i>Acidithiobacillus caldus</i>	2,0-2,5	1,0-3,5	45	32-52
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	2,5	1,3-4,5	30-35	10-37
<i>Acidithiobacillus ferrivornas</i>	2,5	1,9-3,4	27-32	4-37
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	2,0-3,0	0,5-5,0	28-30	10-37
<i>Ferrimicrobium acidiphilum</i>	2	>1,4	35	<37
<i>Leptosporillum ferriphilum</i>	1,3-1,8	na	30-37	na-45
<i>Leptosporillum ferrooxidans</i>	1,5-3,0	1,3-4,0	28-30	na
<i>Sulfobacillus acidophilus</i>	~2	na	45-50	<30-55
<i>Sulfobacillus sibiricus</i>	2,2-2,5	1,1-3,5	55	17-60
<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	~2	1,5-5,5	45-48	20-60
<i>Sulfobacillus thermotolerans</i>	2,0-2,5	1,2-5,0	40	20-60
<i>Thiobacillus prosperus</i>	~2	1,0-4,5	33-37	23-41
<i>Ferroplasma acidiphilum</i>	1,7	1,3-2,2	35	15-45
Arqueas termófilas extemas				
<i>Acidianus brierleyi</i>	1,5-2,0	1,0-6,0	~70	45-75
<i>Acidianus infernus</i>	~2	1,0-5,5	~90	65-96
<i>Acidianus sulfidivorans</i>	0,35-3,0	0,8-1,4	74	45-83
<i>Metallosphaera hakonensis</i>	3,0	1,0-4,0	70	50-80
<i>Metallosphaera sedula</i>	2,0-3,0	1,0-4,5	75	50-80
<i>Sulfolobus metallicus</i>	2,0-3,0	1,0-4,5	65	50-75

Los microorganismos comúnmente encontrados tanto en las pilas de lixiviación-biolixiviación como en los drenajes ácidos de mina son del tipo mesófilo, destacándose las diferentes especies de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y especies del género *Leptospirillum* (Remonsellez et al., 2007, 2009; Galleguillos et al., 2008). Sin embargo, el uso de microorganismos termófilos en biolixiviación presenta considerables ventajas debido a que la temperatura aumenta las velocidades químicas de oxidación del mineral (d'Hugues et al., 2002.; Dew et al., 1999). En el caso particular de la pila industrial de sulfuros de baja ley de Minera Escondida, tratada por medio de biolixiviación, un aumento de su altura generó una acumulación de calor en el lecho del mineral provocando el aumento de la temperatura en la misma. La acumulación de calor en la pila provoca el cambio en la dominancia de las especies microbianas pasando de las mesófilas a las termotolerantes y termófilas moderadas (Acosta et al., 2014).

Las bacterias responsables de la biolixiviación, mesófilas o termófilas moderadas, se distribuyen principalmente en los grupos filogenéticos: Proteobacteria, en donde se encuentran los géneros *Acidithiobacillus*, *Acidiphilium*, *Acidiferrobacter*, *Ferrovum*; Nitrospirae y el género de *Leptospirillum*; Firmicutes, con los géneros *Alicyclobacillus* y *Sulfobacillus*; y Actinobacteria con los géneros *Ferrimicrobium*, *Acidimicrobium* y *Ferrithrix* (Clark y Norris 1996; Norris et al., 2000). En el caso de los microorganismos termófilos, principalmente se encuentran arqueas en donde la mayoría pertenecen al grupo de las *Sulfolobales*, el cual es extremadamente termófilo, y oxidante de azufre y de hierro (II), incluyendo los géneros *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera* y *Sulfurisphaera* (Norris et al., 2000). También dentro de las arqueas, se encuentran dos especies hierro (II)-oxidantes (*Thermoplasmales*): *Ferroplasma acidiphilum* (Golyshina et al., 2000) y *Ferroplasma acidarmanus*.

A continuación, se indican las características principales de algunos de los microorganismos relevantes en los procesos de biolixiviación.

Acidithiobacillus ferrooxidans. Es el acidófilo más estudiado entre aquellos que participan en estos procesos; se encuentra ampliamente distribuido en ambientes ácidos alrededor de todo el planeta. Es un organismo Gram negativo, acidófilo, mesófilo, autótrofo y que obtiene energía a partir de la oxidación de hierro ferroso, hidrógeno, azufre y compuestos reducidos de azufre (tales como sulfuros metálicos, tetrionato y tiocianato, entre otros). Posee una temperatura de crecimiento óptima de 28-30 °C. Algunas especies recientemente reclasificadas, como la especie *Acidithiobacillus ferrivorans*, son capaces de oxidar hierro ferroso a temperaturas tan bajas como 5 °C (Hallberg et al., 2010). También, se han reclasificado algunas cepas en la nueva especie *Acidithiobacillus ferridurans*, que, por lo general, son capaces de tolerar condiciones de mayor acidez que *At. ferrooxidans* y *At. ferrivorans* (Hedrich y Johnson, 2013). Todas estas especies fijan CO₂ desde el ambiente como fuente de carbono (autótrofos) para la generación de biomasa, son capaces de fijar N desde el aire o usar, como fuentes de tal elemento, amonio o nitrato, y pueden crecer en condiciones anaeróbicas por medio de la oxidación de compuestos de

azufre o hidrógeno y la reducción de compuestos tales como hierro férrico o nitrato (Bryan et al., 2012).

Acidithiobacillus thiooxidans. Es Gram negativo, acidófilo, mesófilo autótrofo, que obtiene energía a partir de la oxidación de azufre y compuestos reducidos de este (tales como sulfuros metálicos, tetratiónato y tiocianato, entre otros) generando ácido sulfúrico. Posee una temperatura óptima de crecimiento de 28-30 °C, con tolerancias límites cercana a los 18 y 37 °C. Es un organismo aerobio estricto, es decir, requiere de oxígeno para crecer y fija CO₂ del ambiente para obtener carbono y generar biomasa (autótrofo). Para su crecimiento necesita nitrógeno soluble disponible, proveniente de iones amonio o nitrato, ya que no posee la capacidad de fijar N₂ desde el aire (Johnson y Hallberg, 2009).

Leptospirillum ferriphilum. Es un microorganismo Gram negativo, acidófilo, autótrofo, moderadamente termófilo con temperatura óptima de crecimiento de 35-38 °C. Su única fuente de energía descrita hasta ahora es el hierro ferroso. Para su crecimiento requiere oxígeno y es estrictamente aeróbico. Fija CO₂ desde el ambiente como fuente de carbono y lo hace mediante una vía metabólica diferente (ciclo del ácido tricarboxílico reverso) a la de los organismos del género *Acidithiobacillus* (metabolismo similar al ciclo de Calvin). Entre las especies descritas del género *Leptospirillum*, se incluyen *L. ferrooxidans*, *L. ferriphilum* y *L. ferrodiazotrophum*. La especie *L. ferriphilum* es la que principalmente se detecta e identifica en procesos de biolixiviación de minerales de cobre de baja ley en pila (Demergasso et al., 2005; Watling, 2006).

***Acidiphilium* sp.** Los miembros de este género son Gram negativos, acidófilos, mesófilos y heterótrofos, aunque algunas cepas se han descrito como autótrofas. Obtienen su energía de compuestos orgánicos que en ambientes ácidos naturales son exudados por organismos autótrofos y existe evidencia de que mejoran la actividad oxidante de otros autótrofos del género *Acidithiobacillus* y *Leptospirillum* (Liu et al., 2011).

***Acidisphaera* sp.** Es un organismo acidófilo, mesófilo, Gram negativo, aerobio obligado, quimio-organotrófico y facultativamente foto-organotrofo. Se ha descrito que la luz estimula su crecimiento en aerobiosis y mantiene su

viabilidad, produce bacterioclorofila a y carotenoides. Por lo general, crece entre pH 3 y 6, y en rangos de temperatura de 20-40 °C (óptimo 30-35 °C). No crece sobre el 3% (p/v) de NaCl. Crece en laboratorio en medios complejos con presencia de peptona (Hiraishi et al., 2000).

Sulfobacillus thermosulfidooxidans. Es un organismo acidófilo, moderadamente termófilo, Gram positivo y capaz de formar esporas. Crece en un rango de temperatura de 20-60 °C, con óptimos de 50-55 °C y en el rango de pH de 1,5-5,5, con un óptimo de 1,9-2,4. Puede utilizar Fe ferroso o compuestos de S como fuente de energía (Golovacheva and Karavaiko, 1978; Watling et al., 2008). Se han descrito tres cepas.

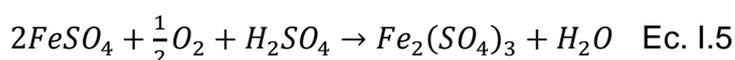
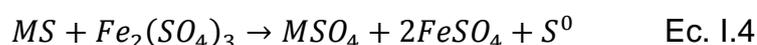
Ferromicrobium acidiphilum. Es un organismo Gram negativo, acidófilo, mesófilo y obligadamente heterotrófico; es capaz de reducir y oxidar Fe y de oxidar pirita. Su temperatura óptima de crecimiento es de 35-37 °C; su pH óptimo de crecimiento es 2,0 (mínimo 1,4); es facultativamente anaerobio (Johnson et al., 2009).

Ferroplasma acidiphilum. Es un organismo Gram negativo, acidófilo, moderadamente termófilo, que pertenece al dominio arquea; para su crecimiento en cultivos de laboratorio requiere de cantidades mínimas de materia orgánica y por encima de un 0,02% de extracto de levadura su crecimiento es inhibido; obtiene su energía de la oxidación de Fe ferroso. Es capaz de tolerar pH bajos (hasta pH 1,3) y crece en el rango de temperaturas de entre 20 y 45 °C, con un óptimo alrededor de 35 °C (Golyshina et al., 2000). Algunos estudios sugieren que en casos de muerte celular de otros microorganismos, esta arquea aprovecha la materia orgánica y se hace predominante en el sistema (Okibe et al., 2003).

Acidiplasma sp. Es un organismo Gram negativo, acidófilo, moderadamente termófilo, perteneciente al dominio arquea; es facultativamente anaeróbico y oxida Fe ferroso como fuente de energía en presencia de trazas de extracto de levadura (Golyshina et al., 2009).

1.2.3 Mecanismos de la biolixiviación

En las últimas décadas, los fundamentos tanto químicos como bioquímicos de la biolixiviación de sulfuros metálicos han sido objeto de grandes discusiones (Schipper et al., 2013). El mecanismo de acción de los microorganismos se basa en la disolución de los minerales la cual, a su vez, se realiza por medio de la oxidación de los átomos reducidos. Desde hace muchos años, este asunto ha despertado mucho interés científico y algunos investigadores plantearon distintos mecanismos de acción microbiana mediante los cuales los minerales sulfurados son solubilizados (Schippers et al., 1996; Schippers and Sand, 1999; Rohwerder et al., 2003). El primer mecanismo planteado fue el directo (Ec. I.3), si bien en la actualidad se encuentra prácticamente desechado (Sand et al., 1995), planteaba que la oxidación del mineral se realizaba por acción enzimática directa. El segundo mecanismo, denominado indirecto (Ec. I.4 a I.6), se basa en que los microorganismos oxidan los minerales por medio de la generación de ion férrico.



El mecanismo indirecto se puede dividir en dos tipos (Sand et al., 2001; Rawlings, 2002), en función de que haya contacto o no entre el sólido mineral y los microorganismos. En la lixiviación por contacto, los microorganismos se adhieren a la superficie del mineral y, en este caso, la disolución se realiza por medio de procesos electroquímicos que tienen lugar en la interface entre el microorganismo y el mineral sólido. En el mecanismo de no-contacto, los microorganismos planctónicos oxidan los iones ferroso en disolución para producir ion férrico que interactúa con la superficie del mineral reduciéndose, para ser nuevamente regenerado por la acción microbiana; en este paso, también una fracción del sulfuro se oxida (Sand et al., 1995). Un tercer

mecanismo de acción, denominado lixiviación cooperativa, realizado por los microorganismos planctónicos, explica la disolución de coloides de azufre, intermediarios de azufre y fragmentos de mineral (Tributsch, 2001; Rawlings, 2002).

Los átomos metálicos y de azufre de los minerales sulfurados interaccionan de acuerdo con la teoría de orbitales moleculares y bandas de valencia: el nivel o banda de más alta energía es el que transfiere primero los electrones. En el caso de la pirita (FeS_2), las bandas de valencia sólo corresponden a los orbitales de los átomos metálicos, a diferencia de lo que ocurre con la calcopirita, donde la valencia depende tanto de los átomos metálicos como de los de azufre (Sand et al., 1995). Entonces, la oxidación de minerales sulfurados puede ser descrita por dos vías diferentes: el mecanismo vía tiosulfato y el mecanismo vía polisulfuro (Schippers et al., 1996; Schippers y Sand 1999; Sand et al., 2001). La formación de compuestos intermediarios de azufre en cada vía depende de la mineralogía y las condiciones geoquímicas ambientales, como el pH y la presencia de agentes oxidantes (Schippers, 2004).

La vía del tiosulfato ocurre con los minerales: pirita, FeS_2 (Rimstidt y Vaughan, 2003; Schippers, 2004; Druschel y Borda, 2006), molibdenita, MoS_2 , y wolframita, WS_2 . El mineral es atacado por los iones férricos y el azufre liberado es oxidado a compuestos intermedios solubles, donde el primer intermediario corresponde al tiosulfato (Moses et al., 1987). Después, éste es oxidado a tetrionato (Williamson y Rimstidt, 1994; Schippers et al., 1996) y, posteriormente, es degradado a varios compuestos de azufre como tritionato, pentationato, azufre elemental y sulfito, los cuales son, finalmente, oxidados a sulfato (Williamson and Rimstidt, 1994; Schippers et al., 1996). El mecanismo se resume en las ecuaciones I.7 y I.8.



La vía del polisulfuro explica la solubilización de gran cantidad de minerales como la calcopirita, rejalgar, esfalerita y galena, ente otros. En este mecanismo, la solubilización se inicia por la presencia de iones ácidos en disolución, siendo el azufre del mineral oxidado a azufre elemental y, posteriormente, a sulfato, por acción microbiana (Dutrizac y MacDonald, 1974a; Schippers y Sand, 1999). Las ecuaciones I.9 a I.11 describen las etapas del proceso. La Figura 1.5 permite comparar los dos mecanismos citados.

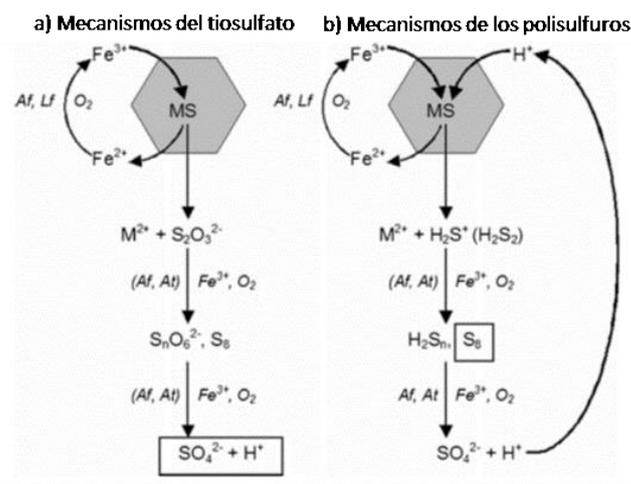
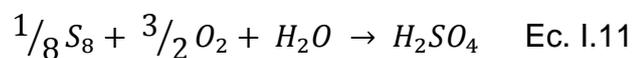
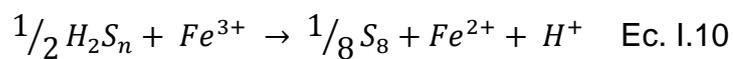
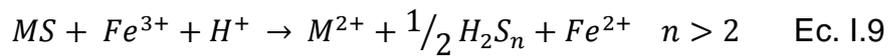


Figura 1.5 Mecanismos de solubilización microbiana, comparación entre el mecanismo del tiosulfato y el del polisulfuro (Schipper, 2013)

1.3 EFECTO DE LA ADICIÓN DE ÁCIDO EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

En el desarrollo de un proyecto de lixiviación o de biolixiviación, uno de los parámetros importantes a considerar es el consumo de ácido por parte del mineral durante el ciclo de lixiviación (Scheffel y Miller, 2015; Watling et al., 2014a). Por los volúmenes que se utilizan en los procesos, su costo no es despreciable y, por tanto, la optimización de su consumo es un factor crítico del

proceso de extracción de cobre. Por otro lado, el ácido sulfúrico es un producto secundario de la pirometalurgia de este mismo metal y sus ventas representan cerca del 20% de los ingresos de las fundiciones de cobre chilenas (Schippers et al., 2013).

En los procesos hidrometalúrgicos, una de las etapas previas a considerar es la aglomeración del mineral con ácido sulfúrico, con el fin de mejorar la solubilización del mineral y de contrarrestar el efecto de neutralización generado por el consumo de ácido a partir de la ganga del propio mineral (Ngoma et al., 2015). En la etapa inicial de la lixiviación, se realiza la solubilización del cobre proveniente, principalmente, de minerales como la calcosina y covelina (Govender et al., 2015), cuya disolución implica un consumo importante de ácido en el sistema aunque, en una pila, la cantidad de ácido utilizado varía dependiendo de algunos factores, siendo uno de estos su altura (Tupikina et al., 2011).

Distintas investigaciones han demostrado que la actividad de los microorganismos responsables de la solubilización de minerales sulfurados se ve afectada por la comentada acidez (Ngoma et al., 2015; Song et al., 2013; Tupikina et al., 2013; Plumb et al., 2008; Deveci et al., 2008). La razón es que tales microorganismos experimentan estrés en la operación debido a cambios en las condiciones ambientales. Esto es especialmente acentuado si se introducen durante el proceso de aglomeración. Se han reportado cambios importantes tanto en su crecimiento como en su capacidad de oxidación de distintos minerales trabajando en rangos de pH de entre 0,5 y 3,5 (Plumb et al., 2008).

En los sistemas de lixiviación en pilas que están bien colonizados, se han medido velocidades de oxidación de minerales aceptables y buenas actividades microbiológicas en un rango de pH que oscila entre 1,1 y 2,0 (Plumb et al., 2008); sin embargo, en sistemas moderadamente termófilos, se observaron efectos negativos a un pH menor de 0,9, con el crecimiento y la lixiviación seriamente deteriorados a pH 0,7 (Tupikina et al., 2011).

1.4 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

La temperatura tiene un claro efecto sobre la cinética de lixiviación química de los minerales sulfurados, tanto primarios como secundarios. Las altas temperaturas incrementan las velocidades de reacción, según se deduce de la ecuación de Arrhenius (Levenspiel, 2004). Las reacciones exotérmicas de oxidación de minerales, que generan calor dentro de una pila, aumentan su temperatura y favorecen las reacciones de oxidación y la velocidad de solubilización del cobre (Franzmann et al., 2005). Además, se ha determinado que la temperatura en el interior de la pila depende de un fino balance entre la aireación de la misma y los flujos de irrigación que se estén utilizando en la práctica industrial (Dixon, 2003).

El aumento de la temperatura de la pila se puede concretar, también (Dixon, 2000), en su relación con la sensibilidad de los microorganismos a esta variable. En una pila de biolixiviación, cambios en la temperatura del lecho de mineral llevan a un proceso selectivo entre especies mesófilas y termófilas moderadas o extremas (Franzmann et al., 2005; Acosta et al., 2014; Demergasso et al., 2005, 2010). Por ejemplo, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la especie microbiana más común asociada a procesos de biolixiviación, es un mesófilo que prospera a temperaturas cercanas a 30 °C, pero a temperaturas por debajo de 10 °C o a otras sobre los 40 °C pierde su actividad. Por otro lado, los termófilos tales como *Sulfolobus*, pueden prosperar a altas temperaturas (65 °C); sin embargo, pueden ser sensibles a las condiciones ambientales que, por ejemplo, propician la presencia de determinadas impurezas (Dixon, 2003; Cautivo et al., 2013).

En otro sentido, las principales reacciones de oxidación, que determinan la recuperación del cobre a partir de minerales sulfurados, son fuertemente dependientes de la temperatura. Por ejemplo, la calcopirita es muy sensible a la temperatura en cuanto a su lixiviación (Córdoba et al., 2009): su velocidad de reacción es muy lenta y, por tanto, la temperatura determina, en gran medida, el tiempo de lixiviación en pilas. Estos tiempos, normalmente, superan el año y

pueden llegar incluso a 18 meses en algunos casos (Dixon, 2003). Por último, la generación de calor en la pila, que depende en gran medida de las condiciones ambientales y de la composición del mineral, como ejemplo su contenido en pirita cuya disolución genera una mayor temperatura. Un ejemplo de la influencia de las condiciones ambientales lo representan las operaciones de biolixiviación del Norte de Chile, en el desierto de Atacama, en donde hay pérdidas de calor importantes en la superficie por evaporación en días de alta temperatura y baja humedad, y por radiación durante las noches frías. Para disminuir las pérdidas de calor en la pila, se han incorporado importantes cambios en el sistema de riego de las mismas modificando los sistemas de goteo de la disolución de riego y, en casos extremos, incluso, enterrando las líneas de goteo e incorporando termopelículas protectoras en la superficie de la pila (Dixon, 2003; Aguirre et al., 2015). En este contexto, la altura de la pila juega un rol importante en la conservación de calor; la experiencia adquirida en la planta industrial de Minera Escondida, en el Norte de Chile, demuestra que la temperatura subió a medida que aumentó la altura de las pilas (Demergasso et al., 2005; Soto et al., 2013). En el caso de la generación de calor, la presencia de pirita permite también un incremento en la temperatura, la cual no necesariamente se produce de forma homogénea debido a que se pueden generar microambientes dentro de la propia pila (Dixon, 2003; Demergasso et al., 2005).

1.5 COMPORTAMIENTO DE LOS SULFUROS SECUNDARIOS DE COBRE EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

La covelina, CuS , es un sulfuro de cobre que se encuentra bien en forma nativa en los yacimientos cupríferos o bien se genera en los procesos de biolixiviación, como consecuencia de la solubilización ácida de la calcosina, Cu_2S . La biolixiviación ha permitido la extracción de cobre, con gran éxito y además a un bajo costo, de minerales secundarios de baja ley, como la citada calcosina, en diferentes operaciones a nivel mundial (Watling, 2006). La calcosina es un mineral sulfurado secundario compuesto por, aproximadamente, un 79% de cobre, y es el mineral más abundante en las pilas de biolixiviación, como se muestra en la Tabla 1.5.

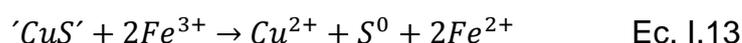
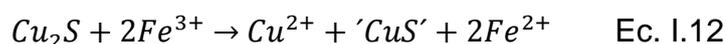
Tabla 1.5 Diferentes operaciones de biolixiviación de cobre a nivel mundial (Watling, 2006)

Region/mine	Operation reserves (t)	Ore processed (t/day)	Cu production (t/year)
Lo Aguirre, Chile 1980–1996	Heap bioleach 12×10^6 at 1.5% Cu	Oxides/chalcocite 16×10^3	$14\text{--}15 \times 10^3$
Cerro Colorado, Chile 1993–	Heap bioleach 80×10^6 at 1.4% Cu	Chalcocite, covellite 16×10^3	100×10^3
Ivan Zar, Chile 1994–	Heap bioleach 5×10^6 at 2.5% Cu	Oxides/sulphides 1.5×10^3	12×10^3
Quebrada Blanca, Chile 1994–	Heap/dump bioleach 85×10^6 at 1.4% Cu 45×10^6 at 0.5% Cu	Chalcocite 17.3×10^3	75×10^3
Punta del Cobre, Chile 1994–	Heap (bio)leach 10×10^6 at 1.7% Cu	Oxides/sulphides –	$7\text{--}8 \times 10^3$
Andacollo, Chile 1996–	Heap/dump bioleach 32×10^6 at 0.58% Cu	Chalcocite 15×10^3	21×10^3
Dos Amigos, Chile 1996–	Heap bioleach 2.5%	Chalcocite 3×10^3	–
Zaldivar, Chile 1998–	Heap/dump bioleach 120×10^6 at 1.4% Cu 115×10^6 at 0.4% Cu	Chalcocite 20×10^3	150×10^3
Lomas Bayas, Chile 1998–	Heap/dump 41×10^6 at 0.4% Cu	Oxides/sulphides 36×10^3	60×10^3
Cerro Verde, Peru 1977–	Heap bioleach — at 0.7% Cu	Oxide/sulphide 32×10^3	54.2×10^3
Escondida, Chile	Heap bioleach 1.5×10^9 at 0.3–0.7%	Oxides, sulphides	200×10^3
Lince II, Chile, 1991–	Heap leach 1.8% Cu	Oxides, sulphides	27×10^3
Toquepala, Peru	Heap leach	Oxides, sulphides	40×10^3
Morenci, Arizona 2001–	Mine for leach 3450×10^6 0.28% Cu	Chalcocite, pyrite 75×10^3	380×10^3
Equatorial Tonopah, Nevada, 2000–2001	Heap bioleach 0.31% Cu	25×10^3	25×10^3
Gunpowder Mammoth Mine, Australia, 1991–	In situ (bio)leach 1.2×10^6 at ~ 1.8% Cu	chalcocite and bornite –	33×10^3
Girilambone, Australia 1993–2003	Heap bioleach — at 2.4% Cu	Chalcocite/chalcopyrite 2×10^3	14×10^3
Nifty Copper, Australia, 1998–	Heap bioleach — at 1.2%	Oxides/chalcocite 5×10^3	16×10^3
Whim Creek and Mons Cupri, Australia 2006–	Heap bioleach 900×10^3 at 1.1% Cu 6×10^6 at 0.8% Cu	Oxides/sulphides	17×10^3
Mt Leyshon, Australia 1992–1997	Heap bioleach — 0.15%	Chalcocite 1.3×10^3	750
S&K Copper, Monywa, Myanmar, 1999–	Heap bioleach 126×10^6 at 0.5% Cu	Chalcocite 18×10^3	40×10^3
Phoenix deposit, Cyprus, 1996–	Heap (bio)leach 9.1×10^6 at 0.78% Cu 5.9×10^6 at 0.31% Cu	Oxide/sulphide –	8×10^3
Jinchuan Copper, China 2006–	240×10^6 at 0.63% Cu	Chalcocite, covellite, enargite	10×10^3

La solubilización de esta calcosina se realiza, principalmente, en dos etapas representadas por las ecuaciones 12 y 13; en la primera (Ecuación 12), tiene lugar la oxidación del Cu del Cu_2S por acción de los iones férricos, los cuales se reducen, a su vez, produciéndose también *covelina-blaubleibender*; estas covelinas son de origen natural y están descritas, con frecuencia, como productos de meteorización secundaria en los yacimientos de cobre (Ramdohr, 1969; Goble, 1980). Se generan por la lixiviación sucesiva del cobre de las fases más ricas, como la digenita y la calcosina en el manto de enriquecimiento primario (Frenzel 1959; 1961). Se cree que son fases metaestables del sistema Cu-S (Moh 1971, Rickard 1972; Potter 1977, Goble 1980) y son un producto intermedio en la oxidación. La velocidad de reacción de la primera ecuación es

muy alta y se encuentra limitada por la difusión de iones férricos (Dixon, 2003); por tanto, el primer ion cobre presente en la calcosina es fácil de recuperar.

En la segunda etapa, ecuación I.13, la velocidad de reacción es lenta en comparación con la reacción de la ecuación I.12 y, por tanto, determina el tiempo de lixiviación de los minerales. Desde un punto de vista termodinámico, la primera reacción (Ec. I.12) tiene una energía de activación del orden de 4-25 kJ/mol lo que la hace rápida a temperatura ambiente; mientras que la segunda (Ec. I.13) tiene una mayor energía de activación, del orden del 100 kcal/mol, por lo que la reacción es muy lenta a temperatura ambiente (Petersen y Dixon, 2007; Bolorunduro, 1999). De esta forma, un aumento en la temperatura generaría una mayor velocidad de solubilización del cobre a partir de la *covelina-blaubleibender* (Petersen y Dixon, 2007; Acar et al., 2005). La actividad microbiana contribuye a la oxidación de los minerales sulfurados tanto a nivel de la oxidación de los compuestos reducidos de azufre como en la regeneración del hierro férrico necesario para la oxidación de la citada *covelina-blaubleibender*; además, también se genera calor dentro de la pila, por lo que es posible encontrar microambientes de mayor temperatura que favorecen la solubilización de esta covelina (Soto et al., 2013).



En una operación minera a nivel industrial, se encontró un mayor porcentaje de covelina después del ciclo de lixiviación, como se muestra en la Figura 1.6; se comprobó que distintas especies como la calcosina, calcopirita y distintos óxidos disminuyeron su presencia en el medio y sólo la covelina aumentó su porcentaje en el mineral lixiviado que se generó en la pila industrial (Jofré, 2012).

La covelina nativa puede encontrarse junto a *covelina-blaubleibender* en lugares enriquecidos en minerales sulfurados secundarios. Ciertos investigadores reportan diferencias considerables respecto de la velocidad de

solubilización de la *covelina-blaubleibender* y la covelina nativa, en un medio con iones férricos, donde la lixiviación de esta última fue un orden de magnitud más rápida que la de la covelina nativa (Walsh y Rimstidt, 1986), lo que indica que la identificación mineralógica de los diferentes tipos de covelina resulta importante en la determinación de las velocidades de recuperación de cobre (Walsh y Rimstidt, 1986; Acar et al., 2005).

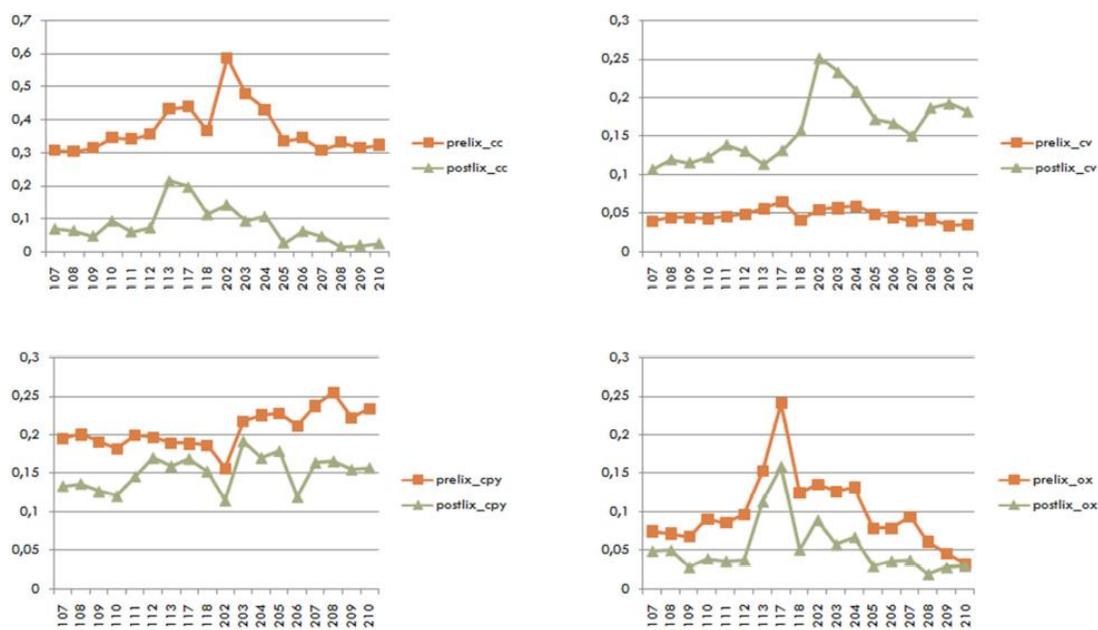


Figura 1.6 Recuperación por especies a partir de un mineral lixiviado en una pila industrial: calcosina (CC), covelina (CV), calcopirita (CPY) y minerales oxidados (OX) (Jofré, 2012)

1.6 EFECTO DEL ION CLORURO EN EL PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN

Los procesos de recuperación de cobre (concentración por flotación o hidrometalúrgicos) requieren grandes cantidades de agua. Por otro lado, una parte considerable de las operaciones mineras de cobre en Chile se encuentran en el desierto de Atacama, que es considerada la región más árida del mundo. Por tanto, el uso eficiente de este recurso es fundamental para las operaciones en curso y la aplicación de futuros proyectos. De hecho, la industria minera en Chile genera el 13% del consumo del agua potable total utilizada en el país, y un considerable y enorme 43% en la Región de Antofagasta (Cochilco, 2015b).

El uso de recursos hídricos de baja calidad, como las de disoluciones con elevadas concentraciones de solutos (principalmente, iones cloruro y sulfato), agua de mar o aguas procedentes de salares poseen baja aplicabilidad en los procesos de biolixiviación debido, principalmente, a la más que probable inhibición de los microorganismos que participan en estos procesos. En este sentido, cuando el nivel de solutos en las operaciones industriales afecta las actividades biológicas oxidantes de hierro o azufre, la opción es extraer un cierto volumen de disolución acuosa del proceso y adicionar agua fresca al circuito con el fin recuperar la actividad oxidante de los microorganismos. A pesar de la importancia de los microorganismos implicados en los procesos de biolixiviación industriales, se han hecho muy pocos esfuerzos en la determinación de los mecanismos y moléculas que participan en la homeostasis de su agua. Pocas especies hierro- y azufre-oxidantes poseen la capacidad de crecer en ambientes salinos. *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* son inhibidas en ambientes con cloruro (Romero et al., 2003). En la actualidad, sólo se conoce al microorganismo *Acidithiobacillus prosperus* capaz de simultáneamente tener actividad hierro- y azufre-oxidante y de requerir cloruro para su crecimiento hasta concentraciones de este ion de 5 g/L (Davis-Belmar et al., 2008); sin embargo, la presencia de otros inhibidores, como sulfato, cobre y aluminio, han dificultado la aplicación de esta cepa a nivel industrial.

La escasez de estos recursos hídricos ha motivado diferentes investigaciones con el fin de analizar la posibilidad de utilizar agua de mar en los procesos de biolixiviación. Como ya se ha indicado, los microorganismos responsables de la biolixiviación presentan una baja tolerancia al ion cloruro (Tabla 1.6) disminuyendo su actividad catalítica frente a las reacciones más importantes que participan en el mecanismo de esta bio-operación (Kieft y Spence, 1988; Romero et al., 2003; Shiers et al., 2005; Zammit et al., 2012). Una manera de mejorar tal actividad lixivante es utilizar cultivos microbianos adaptados a mayores concentraciones de cloruro (Davis-Belmar et al., 2014).

Por otro lado, uno de los grandes desafíos de la biohidrometalurgia es mejorar las extracciones de cobre obtenidas a partir de calcopirita y en pilas de biolixiviación ya que la calcopirita es el mineral de cobre más abundante en la

CAPITULO I

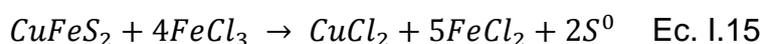
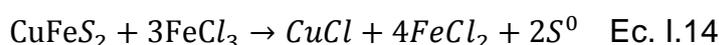
naturaleza. En este sentido, existen diversos estudios sobre la biolixiviación de concentrados de calcopirita en presencia de microorganismos termófilos (du Plessis, 2007; d'Hugues et al, 2002), lográndose altas recuperaciones de cobre en reactores a alta temperatura. Pero la reducida solubilización de la calcopirita en procesos a baja temperatura, se encuentra asociada a la formación de una capa en la superficie del mineral que impide el transporte de electrones, fenómeno denominado pasivación (Yin et al., 2000; Klauber, 2008; Ruiz et al., 2011).

Tabla 1.6 Microorganismos acidófilos halotolerantes

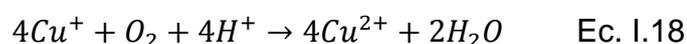
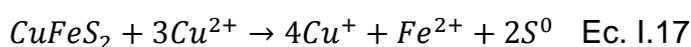
Microorganismos	Nivel de tolerancia	Referencia	Observaciones
<i>Acidiphilium cryptum</i>	1.2 M NaCl	Harrison, 1981	
	0.3 M Al ₂ (SO ₄) ₃	Moritz et al., 2015	
<i>Thiobacillus -like strain KU2-11</i>	0.3 M NaCl	Kamimura et al., 2001	
<i>Acidithiobacillus -like strain TTH19A</i>	0.3 M NaCl	Ohtsuka and Mitarai, 2007	
<i>At. ferrooxidans</i>	0.2 M NaCl	Brock, 1975; Huber and Stetter, 1989; Razzel and Trussel, 1963; Romero et al., 2003	
<i>At. caldus</i>	0.45 M NaCl	Zammit et al, 2012	Usa el tetrionato como donador de electrones
<i>L. ferrooxidans -like LA</i>	0.3 M NaCl, 0.4 M Na ₂ SO ₄	Romero et al., 2003	
<i>L. ferriphilum DSM 14647</i>	0.3 M NaCl	Wang et al., 2012; Zammit et al., 2012; Zammit et al., 2009	
<i>L. ferriphilum Sp-CI</i>	0.17 M NaCl al., 2011	Davis-Belmar et al., 2014; Rautenbach et al., 2011	Cepa predominante en solución en pruebas de columna de biolixiviación de sulfuros de cobre. Activa hasta NaCl 0,5 M
<i>L. ferriphilum -like strain YSK</i>	0.12 M NaCl	Wang et al., 2012	
<i>Sb. thermosulfidooxidans DSM 9293^T</i>	0.3 M NaCl	Zammit et al., 2012	
<i>Sulfobacillus spp.</i>	1.0 M	Korehi et al. 2013	En un cultivo mixto junto con <i>Acidiphilium sp.</i>
<i>Sulfobacillus sp. TPY</i>	0.3 M NaCl	Qi et al., 2010; Wang et al., 2012	
<i>Sb. Thermosulfidooxidans Cutipay</i>	0,14 M NaCl	Bobadilla-Fazzini et al., 2014	
<i>Acidianus spp.</i>	0.7 M NaCl	Segeer et al., 1988; Segeer et al., 1986	
<i>Sulfolobus solfataricus, Sulfolobus acidocaldarius</i>	0.32 M NaCl	Grogan, 1989	
<i>Sulfolobus metallicus</i>	0.51 M NaCl	Huber and Stetter, 1991; Salo-Zieman et al., 2006	
<i>Metallosphaera cuprina</i>	0.17 M NaCl	Liu et al., 2011	
<i>Ferroplasma acidiphilum DSM 12658</i>	0.34 M NaCl	Zammit et al., 2012	

Sb=*Sulfobacillus*
T=Type strain

Las principales reacciones químicas involucradas en la lixiviación de calcopirita con cloruro se presentan en las ecuaciones I.14, I.15, y I.16 (Wang, 2005; Yoo et al., 2010)



De forma alternativa, la lixiviación de la calcopirita en ambientes con concentraciones apreciables de ion cloruro ha presentado mejores tasas de solubilización de cobre (Carneiro y Leão, 2007). Con la presencia de iones cloruro en la disolución de lixiviación, opera un segundo par redox ($\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$), además del par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$; de este modo, la solubilización del cobre se estabiliza por medio de la formación de complejos Cu-Cl (Bonan et al., 1981) según las ecuaciones I.17 y I.18. Los iones cuprosos producidos pueden también ser rápidamente reoxidados a iones cúpricos (Ecuación 16) por acción del oxígeno (Ruiz et al., 1998; Tran and Swinkels, 1986).



En sistemas con cloruro también se ha observado la pasivación de la calcopirita (Lu et al., 2000). En el ataque de la calcopirita, se ha definido una zona de potencial, justo por debajo del potencial de pasivación o potencial crítico, donde ocurre la lixiviación de la calcopirita de forma eficaz (Córdoba et al., 2008b; Kametani y Aoki, 1985). Este potencial crítico se encuentra cercano a 0,45 V (Barr et al., 1992).

1.7 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La fuerte caída de los precios de las materias primas y de la productividad en el sector minero, sumado a la progresiva disminución de las leyes del mineral y a la mayor dureza de las rocas, son algunos de los factores que han forzado a que las compañías mineras se vean en la necesidad de procesar un mayor y más complejo volumen de mineral. Esto impulsa la necesidad de innovar tecnológicamente para mantener los niveles de producción de acuerdo con las necesidades del mercado. Como es conocido, el cobre, y un gran número de otros materiales, exhibe ciclos de precios altos y bajos, los cuales son regidos por la ley de la oferta y la demanda, además de por la estabilidad de los mercados mundiales. En momentos de bajos precios de cobre, una alternativa para la industria minera es recurrir a nuevas tecnologías más eficientes para el

procesamiento de mineral y con menores costos de producción; en este contexto, la innovación tiene un rol fundamental. Además, históricamente, se observa que gran parte de las nuevas tecnologías biohidrometalúrgicas han sido implementadas en las etapas de menores precios (Brierley C, 2010).

De acuerdo con lo anterior, en esta Tesis Doctoral se investiga, a escala de laboratorio, el tratamiento de minerales sulfurados de cobre de baja ley para así poder contribuir al mayor entendimiento del proceso de biolixiviación. Para esto, se establecieron tres objetivos:

Mejora de las tecnologías actuales y mayor conocimiento en el ciclo de biolixiviación de los minerales sulfurados.

Para alcanzar este objetivo se va a trabajar en los siguientes objetivos parciales:

- Estudiar algunos de los factores relevantes en los procesos de biolixiviación de sulfuros de cobre, como la adición de ácido y la temperatura, que regulan la precipitación de jarosita y la actividad microbiana.
- Evaluar la influencia de la temperatura y de diferentes concentraciones de hierro total en la disolución de la covelina, proveniente de minerales sulfurados, en dos condiciones distintas: minerales sin procesar y ya procesados (mineral previamente lixiviado).

El monitoreo de los minerales sulfurados en el ciclo de lixiviación para comprender y predecir, a su vez, el comportamiento de las poblaciones microbianas en las distintas fases (mineral y disoluciones).

Para alcanzar este objetivo se van a desarrollar los siguientes objetivos parciales:

- Obtención de un mayor conocimiento del comportamiento de los minerales sulfurados y de la colonización de los microorganismos en el ciclo de lixiviación sobre este tipo de sustrato.
- Comparar la población de microorganismos presentes en las disoluciones de planta y en las fases del mineral durante los procesos de biolixiviación a nivel de laboratorio y a escala industrial.

Innovar en la recuperación de cobre desde minerales sulfurados refractarios y mejorar el aprovechamiento de los recursos hídricos.

Este objetivo se concretará en:

Investigar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de cloruro en los ensayos de biolixiviación con minerales sulfurados de cobre.

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

Este capítulo describe los materiales y métodos estándar que se utilizan en esta tesis doctoral. Las modificaciones o métodos adicionales que se incluyeron para ensayos específicos se describen en los capítulos correspondientes.

2.1. MICROORGANISMOS

Los microorganismos utilizados en los diferentes estudios realizados son nativos del norte de Chile y provienen de operaciones mineras con procesos de biolixiviación. Las características generales de estos microorganismos se han descrito en Capítulo I (apartado 1.2.2). Los cultivos utilizados fueron denominados como: MEL, CPY y CV. Las condiciones estándares de adaptación y enriquecimiento para cada uno se indican a continuación.

2.1.1 Cultivo MEL

Procede de una disolución de percolación de una pila industrial del Proyecto Sulfuros de Minera Escondida, Chile. El enriquecimiento se realizó en una columna de 1 m de alto por 0,11 m de diámetro, que incluyó un 10% de mineral lixiviado (ripios) y un 90% de mineral fresco, y se recirculó con una disolución de percolado de planta, con un caudal de riego de 6 L/m²/h y con inyección de aire con un flujo de 0,02 m³/t*h (Figura 2.1). La columna de inóculo se mantuvo en operación durante todo el transcurso de los ensayos para la reinoculación de las experiencias que lo requirieron. Se controló el enriquecimiento de los microorganismos a través de análisis físico-químicos como los del cobre, pH y potencial redox, y se identificaron y cuantificaron las especies componentes de la comunidad bacteriana.



Figura 2.1 Columna de enriquecimiento del cultivo MEL

2.1.2 Cultivo CPY

Provenía de un biorreactor suplementado con los siguientes nutrientes: 0,5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,4 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g/L K_2HPO_4 y un concentrado de pirita y cobre; fue operado a 25 °C y pH 1,8 y ubicado en el Centro de Biotecnología (CB) de la Universidad Católica del Norte (UCN) Antofagasta, Chile (Figura 2.2). La comunidad bacteriana presente en este cultivo se caracterizó y cuantificó antes de ser utilizado en los diferentes ensayos de biolixiviación.



Figura 2.2 Biorreactor con cultivo CPY a 25 °C

2.1.3 Cultivo CVS

El cultivo CVS estuvo formado por dos subcultivos de microorganismos mesófilos y termófilos moderados, pertenecientes al Centro de Biotecnología de la UCN. Este cultivo se utilizó en pruebas de biolixiviación de covelina a dos temperaturas diferentes: 30 y 50 °C. La preparación del inóculo para las pruebas a 30 °C se realizó inicialmente en un matraz de 500 mL situado en un incubador orbital a 100 rpm. Como medio de crecimiento se utilizó la disolución de alimentación de una operación minera, diluida al 50% con agua destilada debido a la elevada concentración de ácido del refino, como se muestra en Tabla 2.1. La disolución de alimentación diluida fue suplementada con 2 g/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 4 g/L de azufre elemental, para favorecer el crecimiento de los microorganismos hierro y azufre oxidantes. La preparación del inóculo para las pruebas de biolixiviación de covelina a 50 °C, se realizó de modo similar al realizado para la generación del inóculo a 30 °C, modificando solamente la temperatura de incubación para favorecer el crecimiento de microorganismos termófilos moderados capaces de crecer en esas condiciones.

Tabla 2.1 Caracterización química del refino diluido utilizado en el enriquecimiento del cultivo CVS

Muestra	Cu^{+2} (g/L)	FeT (g/L)	Fe^{+2} (g/L)	H_+ (g/L)	SO_4^{-2} (g/L)	pH	Eh (mV)
Refino	0,16	0,68	0,1	4,42	43	1,6	792

2.2 MUESTRAS DE MINERAL PARA LOS ENSAYOS EN MATRACES, REACTORES Y COLUMNAS

Para los diferentes ensayos realizados se utilizaron dos muestras de mineral de sulfuro de cobre de baja ley, las cuales provenían de operaciones mineras de Chile. En algunos de los ensayos en matraces y en reactores, se emplearon muestras de minerales de sulfuros de alta ley de cobre con altos contenidos de calcosina, covelina y calcopirita.

2.2.1 Mineral Escondida

Para los ensayos realizados con este mineral, se utilizó una muestra de 1.352 kg, suministrada por la empresa Minera Escondida Limitada, específicamente de su Proyecto de Biolixiviación de Sulfuros. La preparación mecánica de la muestra fue la siguiente: el mineral fue triturado hasta un tamaño de partícula inferior a ½” (12,5 mm) y se homogeneizó mediante un separador de muestra (Figura 2.3). Se separaron 26 cargas de aproximadamente 25 kg cada una, para rellenar las columnas. Para la caracterización del mineral de alimentación, de las 26 cargas se tomó una al azar y se realizaron los siguientes análisis:



Figura 2.3 Homogenización de la muestra.

- a) La ley general del mineral de alimentación, de las columnas y de cada fracción granulométrica, se determinó mediante las técnicas especificadas en el apartado 2.4 y se muestran en las Tablas 2.2 y 2.3. Adicionalmente, se analizaron los principales elementos presentes en el mineral por fluorescencia de rayos X (Tabla 2.4). El porcentaje de humedad y la densidad del mineral fueron: 1,10% y 2,70 g/mL, respectivamente.

Tabla 2.2 Ley del mineral de alimentación

Muestra	CuT %	CuS %	FeT %	FeS %	S %
Mineral MEL	0,544	0,231	2,794	0,393	1,286

CuT: cobre total, CuS: cobre soluble en ácido; FeT: hierro total; FeS: hierro soluble en ácido.

Tabla 2.3 Análisis químico por malla del mineral Escondida

Mallas Nº	Abertura (mm)	CuT (%)	CuS (%)	FeT (%)
1/2"	12,50	0,42	0,13	2,26
3/8"	9,50	0,45	0,13	2,85
1/4"	6,30	0,41	0,10	2,64
10#	1,70	0,47	0,17	2,33
32#	0,43	0,49	0,22	2,86
65#	0,21	0,61	0,29	3,69
100#	0,15	0,70	0,33	4,08
150#	0,11	0,75	0,37	3,66
200#	0,08	0,79	0,37	3,15
-200#		0,86	0,54	2,29

Tabla 2.4 Análisis de fluorescencia de rayos X de los principales elementos del mineral Escondida

Elemento	Al	Ca	Cl	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	O	P	S	Si	Ti
Concentración (%)	13,2	0,5	0,2	0,58	2,5	3,3	0,76	0,02	0,94	44,6	0,14	1,14	31	0,41

- b) El análisis granulométrico del mineral de alimentación, determinado por tamizado, que consistió en pasar una muestra de peso conocido, sucesivamente, a través de tamices más y más finos y pesando el material retenido en cada tamiz; la separación por tamaño en tamices se muestra en la Figura 2.4. La distribución del mineral con un P80 igual a 9,539 mm indica que el 80% del mineral se encontraba bajo una malla 3/8" (9,5 mm). El porcentaje de mineral fino fue inferior al 10%.

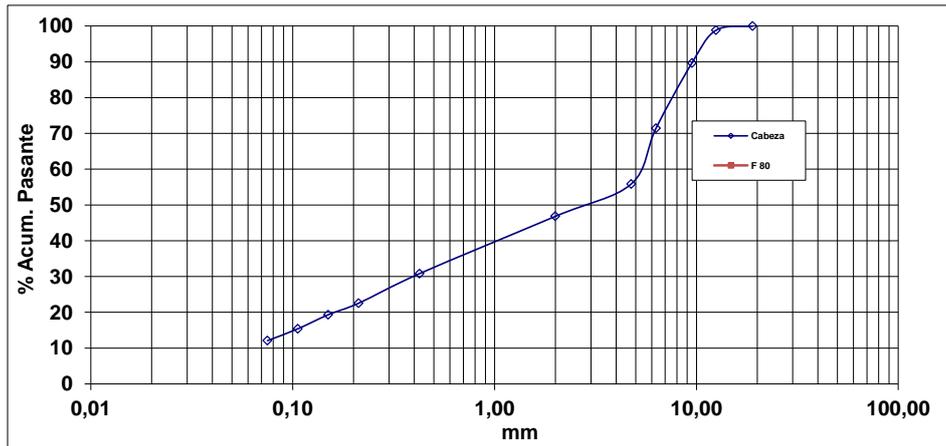


Figura 2.4 Porcentaje de mineral pasante versus apertura de malla del mineral Escondida

- c) El análisis mineralógico de los sulfuros de cobre y los principales compuestos de la ganga (Tabla 2.5), el cual se determinó mediante análisis de QEMSCAN® siguiendo la metodología especificada en el apartado 2.5.3.

Tabla 2.5 Análisis mineralógico del mineral Escondida

Mineral	Fórmula	Mineral Escondida (%)
Calcosina	$\text{Cu}_2\text{S} - \text{Cu}_{1,4}\text{S}$	0,10
Covelina	$\text{Cu}_{1,4}\text{S} - \text{CuS}$	0,21
Calcopirita	CuFeS_2	0,60
Bornita	Cu_5FeS_2	0,01
Otros minerales de cobre	Cu_x	0,15
Pyrite	FeS_2	2,07
Otros sulfuros	$\text{PbS} / \text{ZnS} / \text{MoS}_2$	0,02
Óxidos de hierro	$\text{FeO(OH)} / \text{Fe}_2\text{O}_3 / \text{Fe}_3\text{O}_4$	0,54
Cuarzo	SiO_2	36,03
Feldespatos	$(\text{K,Na})\text{AlSi}_3\text{O}_8 / (\text{Ca,Na})\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	13,41
Muscovita/Sericita	$\text{KAl}_2(\text{Si}_3\text{Al})\text{O}_{10}(\text{OH,F})_2$	26,00
Caolinitas/Arcillas	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 / \text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	12,72
Biotita	$\text{K}(\text{Mg,Fe}^{2+})_3[\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH,F})_2]$	0,93
Clorita	$(\text{Mg,Fe}^{2+})_5\text{Al}[(\text{OH})_8\text{AlSi}_3\text{O}_{10}]$	3,89
Jarosita	$(\text{K,Na,H}_3\text{O})\text{Fe}^{3+}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$	0,23
Otros sulfatos	$x.\text{SO}_4.n\text{H}_2\text{O}$	1,76
Otros	---	1,33
Total		100,00

2.2.2 Mineral MSC

Se utilizó una muestra de 125 kg de un mineral de sulfuro de cobre de baja ley procedente de la mina Progreso, una pequeña operación minera de la Segunda Región, Antofagasta, Chile. El porcentaje de humedad y la densidad del mineral fueron 0,9% y 1,4 g/mL, respectivamente. A partir de la muestra inicial, homogeneizada mediante un separador de muestras, se prepararon 10 cargas, aproximadamente, de 3 kg cada una, para rellenar las columnas de 0,5 m. Una de estas 10 cargas se tomó al azar para realizar la caracterización del mineral de alimentación a través de los siguientes análisis:

- Determinación de la composición química, tanto global como de cada fracción granulométrica, del mineral de alimentación MSC (Tablas 2.6 y 2.7).

Tabla 2.6 Análisis químico del mineral MSC

Muestra	CuT %	CuS %	CuCN %	CuR %	FeT %
Mineral 2	0,79	0,12	0,51	0,16	4,1

CuT: cobre total; CuS: cobre soluble en ácido; CuCN: cobre soluble en cianuro; CuR: cobre residual; FeT: hierro total.

Tabla 2.7 Análisis químico de las diferentes fracciones de tamaño de partícula del mineral MSC

Mallas Nº	Abertura (mm)	CuT (%)	CuS (%)	FeT (%)
1/2"	12,50	0,68	0,21	2,45
3/8"	9,50	0,50	0,10	2,42
1/4"	6,30	0,56	0,15	2,04
10#	1,70	0,71	0,22	2,82
32#	0,43	0,87	0,29	2,13
65#	0,21	1,17	0,41	2,25
100#	0,15	1,33	0,45	3,62
150#	0,11	1,41	0,45	3,54
200#	0,08	1,43	0,43	2,98
-200#		1,54	0,76	2,23

CuT: cobre total; CuS: cobre soluble en ácido; FeT: hierro total

- b) El análisis granulométrico (Figura 2.5) mostró una distribución con un P80 igual a 9,539 mm. Esto indica que el 80% del mineral se encontraba por debajo de un tamaño correspondiente a la malla 3/8" (9,5 mm), siendo el porcentaje de mineral fino inferior al 10%.

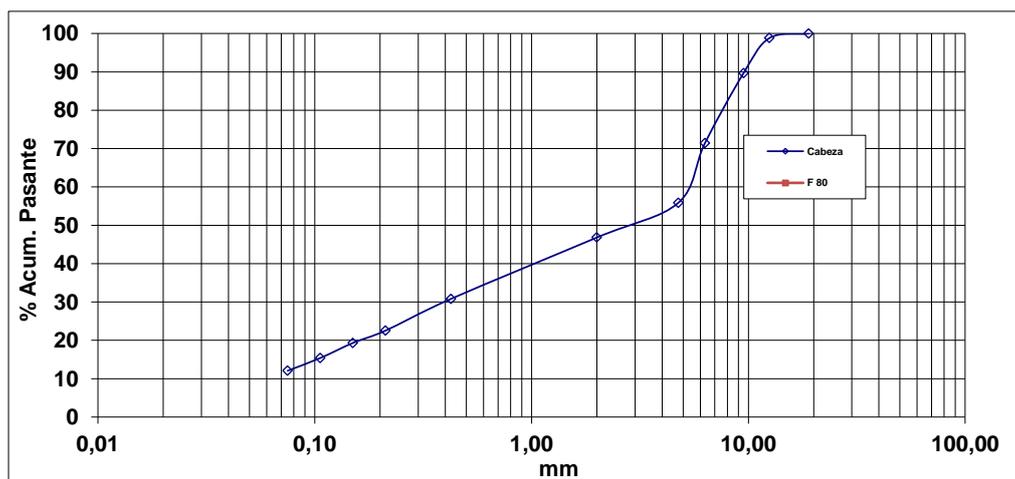


Figura 2.5 Porcentaje de mineral atravesando la malla versus a la apertura de malla del mineral MSC. P80 = 9,539 mm

- c) Análisis mineralógico de los sulfuros de cobre y de los principales compuestos de la ganga (Tabla 2.8).

Tabla 2.8 Análisis mineralógico del mineral MSC

Mineral	Fórmula	Mineral MSC (%)
Calcosina	$\text{Cu}_2\text{S} - \text{Cu}_{1,4}\text{S}$	0,58
Covelina	$\text{Cu}_{1,4}\text{S} - \text{CuS}$	0,30
Calcopirita	CuFeS_2	0,56
Bornita	Cu_5FeS_4	0,01
Otros minerales de cobre	Cu_x	0,11
Pirita	FeS_2	2,73
Otros sulfuros	$\text{PbS} / \text{ZnS} / \text{MoS}_2$	0,11
Oxidos de hierro	$\text{FeO.OH} / \text{Fe}_2\text{O}_3 / \text{Fe}_3\text{O}_4$	1,14
Cuarzo	SiO_2	23,72
Feldespatos	$(\text{K,Na})\text{AlSi}_3\text{O}_8 / (\text{Ca,Na})\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	33,58
Moscovita/Sericita	$\text{KAl}_2(\text{Si}_3\text{Al})\text{O}_{10}(\text{OH,F})_2$	17,05
Caolinita/Arcillas	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 / \text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	6,37
Biotita	$\text{K}(\text{Mg,Fe}^{2+})_3[\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH,F})_2]$	5,14
Clorita	$(\text{Mg,Fe}^{2+})_5\text{Al}[(\text{OH})_8\text{AlSi}_3\text{O}_{10}]$	6,92
Jarosita	$(\text{K,Na,H}_3\text{O})\text{Fe}^{3+}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$	0,03
Otros sulfatos	$x.\text{SO}_4.n\text{H}_2\text{O}$	0,29
Otros	---	1,36
Total		100,00

2.2.3 Minerales sulfurados de alta ley

Estos minerales se usaron en los ensayos en matraces y en reactores; con ellos no fue posible realizar ensayos en columna debido a que es muy difícil disponer de grandes cantidades de muestra. Las tres muestras de mineral utilizadas provinieron de materiales escogidos en pequeñas operaciones mineras de la Tercera Región, Atacama, Chile. Se eligieron tres muestras diferentes en las que predominaban covelina, calcosina y calcopirita, respectivamente, descritas en los apartados 4.2.2 y 6.2.2.

2.3 ENSAYOS DE BIOLIXIVIACIÓN EN COLUMNAS

2.3.1 Diseño de los ensayos en columnas

Se operaron columnas de 2 tamaños diferentes: 0,5 y 1 m de alto por 0,09 y 0,149 m de diámetro, respectivamente. En la Figura 2.6 se muestra el esquema general de trabajo en los ensayos de biolixiviación en columna, con las diferentes etapas y los análisis que se realizaron en cada una: químicos, genético-moleculares, microscópicos, mineralógicos y de fluorescencia de rayos X.

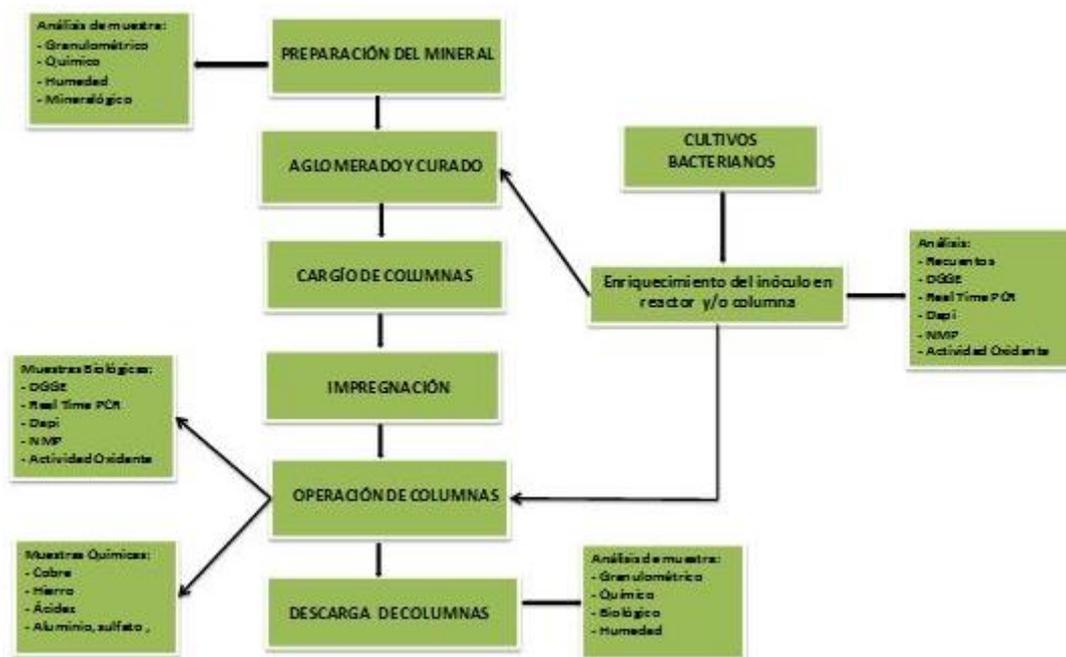


Figura 2.6 Esquema del trabajo en columnas.

2.3.2 Etapa de aglomeración y curado del mineral

La aglomeración en los procesos de lixiviación de minerales de cobre requiere de la adición de un aglomerante al mineral y, para ello, se utiliza agua de proceso y ácido sulfúrico. Este procedimiento permite la unión de las partículas finas a otras de mayor tamaño para asegurar así un buen coeficiente de permeabilidad de la disolución en las columnas. De forma simultánea a la aglomeración, con la adición de ácido sulfúrico concentrado se produce el efecto del curado ácido del mineral, que mejora la cinética de extracción de cobre. La aglomeración y el curado se realizaron en un equipo (Figura 2.7) similar a un tambor rotatorio de aglomeración (Bouffard, 2005). Las condiciones estándar de aglomeración y de curado en los ensayos de columnas fueron de 2 kg de ácido sulfúrico y 70 L de agua por tonelada de mineral.



Figura 2.7 Equipo de aglomeración del mineral

2.3.3 Carga e impregnación de las columnas

Terminada la etapa de aglomeración y curado, se procedió al relleno de las columnas con mineral (Figuras 2.8 y 2.9) dejando este en reposo durante 48 horas. Posteriormente, se realizó la impregnación del mineral con una disolución de alimentación a un caudal de 3 L/m²/h. El tiempo de impregnación terminó cuando percoló la primera gota de líquido de la columna (tiempo aproximado de entre 6 y 8 horas para las columnas de 1 m de altura).



Figura 2.8 Carga del mineral aglomerado y curado en las columnas



Figura 2.9 Columnas de lixiviación a temperatura ambiente y controlada

2.3.4 Operación de las columnas

La operación de las columnas se inició una vez concluida la impregnación. Esta operación, básicamente, constó de tres etapas: riego, inoculación y análisis de las muestras de la disolución de percolación.

La inoculación se realizó cuando la disolución de percolación alcanzó un valor de pH inferior a 2 y según el requerimiento de cada columna. La cantidad de inóculo utilizada en todos los casos fue de 0,01 L de inóculo por cada kilogramo de mineral cargado a la columna; la concentración del inóculo utilizada fue de $2,5 \cdot 10^8$ cél por mL de disolución. Los parámetros operacionales específicos de cada ensayo en columna se describen en los apartados 3.2.3, 4.2.3, 5.2.1 y 6.2.2.

2.4 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA CARACTERIZAR LAS DISOLUCIONES Y LOS MINERALES

2.4.1 Determinación de Cu, Fe total (FeT) y Al

El cobre, el hierro y el aluminio se analizaron a partir de las disoluciones obtenidas en los ensayos de biolixiviación en matraces, reactores y columnas. El cobre y hierro permiten controlar el ataque de los minerales y realizar balances de materia, mientras que el aluminio se cuantifica para evaluar que los niveles mantenidos en las disoluciones no sean nocivos para los microorganismos. En el caso de los minerales de alimentación y de los rípios, se determinó el cobre total (CuT), el cobre soluble (CuS) y el hierro total (FeT) por medio de ataque ácido a los mismos. Estos análisis se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica, usando dos espectrofotómetros: Perkin Elmer, modelo AAnalyst 400, y Varian, modelo SpectrAA 50/55.

2.4.2 Determinación de Fe (II)

El contenido de Fe^{+2} se determinó mediante un método de volumetría de óxido-reducción descrito previamente (Galleguillos et al., 2008). La disolución de dicromato de potasio se preparó a una concentración 0,01 N, se utilizó una disolución de una mezcla ácida que contenía 150 mL de H_2SO_4 y 150 mL de ácido ortofosfórico y se ajustó el volumen a 1L, en matraz aforado. El indicador difenilamina se preparó en una disolución al 0,1%. El procedimiento para la determinación fue el siguiente: a 5 mL de muestra se le adicionaron 5 mL de mezcla ácida y 3 gotas de indicador, se tituló con la disolución de dicromato y el punto final se obtuvo cuando la disolución tomó una intensa coloración azul violeta que persistía después de agitar.

2.4.3 Valoración potenciométrica para la determinación de H_2SO_4

En los procesos de biolixiviación es importante mantener la concentración de ácido relativamente más baja que la que se tiene en los procesos de lixiviación de minerales oxidados de Cu, para permitir así un óptimo crecimiento de los microorganismos. Por ello, es necesario medir y controlar periódicamente la

adición y el consumo de ácido durante el proceso. El análisis de acidez se realizó por medio de una valoración potenciométrica usando oxalato de potasio (Skoog et al., 2001). Este método es aplicable a disoluciones acuosas provenientes del proceso de extracción de cobre, que comprende lixiviación, extracción por disolventes y electro-obtención. La disolución de hidróxido de sodio se preparó con una concentración 0,1 N y se utilizó una disolución de oxalato de potasio al 22%. El procedimiento en la determinación fue el siguiente: en un vaso de precipitados de 100 mL se pusieron 5 mL de muestra, se adicionaron 5 mL de oxalato de potasio y 25 mL de agua destilada, se agitó la disolución, se introdujo el electrodo de pH y con una bureta se añadió NaOH (0,1 N) hasta que el pH de la disolución alcanzó el valor de 6,5. En ese momento, se registró el volumen gastado de NaOH.

2.4.3.1 Cálculo del consumo total de ácido (CAT)

El consumo total de ácido se determinó de forma diferente en los ensayos en reactores o en columnas. Esta diferenciación se realizó debido a que los reactores corresponden, generalmente, a un sistema homogéneo operado en modalidad discontinuo. En el caso de las columnas, se tiene un sistema de flujo pistón, en modo circuito abierto.

Para calcular el consumo de ácido en los reactores, a diferentes tiempos, se utilizó la ecuación II.1 que relaciona: la acidez inicial, la cantidad de ácido utilizado para ajustar el pH y la cantidad de mineral adicionado al reactor. Puesto que los datos obtenidos correspondían a valores puntuales entre dos muestreos, el consumo a diferentes tiempos se obtuvo sumando estos resultados.

$$H_{total}^{+} = \frac{\sum\{(H_{t=0}^{+} - H_{t=1}^{+}) * V_{reactor} + (V_{H_2SO_4, t=0} * \rho_{H_2SO_4})\}}{Mineral} \quad \text{Ec. II.1}$$

Siendo:

$H_{t=0}^{+}$: La concentración de ácido en el refino alimentado (g/L).

$H_{t=1}^{+}$: La concentración de ácido en la solución muestreada del reactor (g/L).

$V_{reactor}$: El volumen de reacción (L).

CAPITULO II

$V_{H_2SO_4, t=0}$: El volumen de H_2SO_4 adicionado para el ajuste del pH a tiempo cero (mL).

$\rho_{H_2SO_4}$: La densidad del H_2SO_4 (1,8 g/mL).

M_{mineral} : La masa de mineral utilizada en el ensayo (kg).

H_{total}^+ : (kg/t).

El consumo total de ácido en las columnas se calculó considerando la diferencia entre la masa de ácido de la disolución de alimentación y la de la disolución de percolación. A diferencia de los reactores, no hubo ajuste de ácido dentro de la columna. Para el cálculo del consumo total de ácido en las columnas, se utilizó la ecuación II.2. Puesto que muestra datos calculados que corresponden a valores puntuales entre dos muestreos, el consumo a diferentes tiempos se obtuvo sumando estos valores.

$$H_{\text{total}}^+ = \frac{\sum (H_{\text{alim } t=0}^+ * \text{vol}_{\text{alim } t=0} - H_{\text{PLS } t=1}^+ * \text{vol}_{\text{PLS } t=1}) * 1000}{\text{Mineral}}$$

Ec. II.2

Siendo:

$H_{\text{alim } t=0}^+$: La concentración de ácido en el refino alimentado (g/L) a tiempo igual 0.

$H_{\text{PLS } t=1}^+$: La concentración de ácido (g/L) en la disolución percolada (PLS) a tiempo igual 1.

$\text{Vol}_{\text{alim } t=0}$: El volumen de alimentación (L) a tiempo 0.

$\text{Vol}_{\text{PLS } t=1}$: El volumen de percolado (L) a tiempo 1.

M_{mineral} : La masa total de mineral utilizada en el ensayo (t).

H_{total}^+ : (kg/t).

2.4.3.2 Cálculo del consumo neto de ácido (CAN)

El consumo neto de ácido se determinó de forma similar tanto para los reactores como para las columnas. Se calculó en base al consumo total de ácido de las pruebas, restando el ácido que era devuelto al sistema en la etapa de extracción por disolventes. La ecuación II.3 muestra el cálculo realizado.

$$H_{neto}^+ = H_{total\ t=1}^+ - 1,54 \left(\frac{Cu_{lix\ t=1}}{Mineral} \right) \quad \text{Ec. II.3}$$

Siendo:

$H_{total\ t=1}^+$: El consumo total de ácido (kg/ton) a tiempo 1.

1,54 : El factor que permite correlacionar el ácido que es devuelto al refino según el contenido de cobre del PLS (adimensional).

$Cu_{lix\ t=1}$: Masa de cobre lixiviada a un tiempo determinado (kg).

Mineral: Masa total de mineral de la prueba (t).

H_{neto}^+ : (kg/t).

2.4.4 Determinación de sulfato por gravimetría

La cuantificación del ion sulfato en las disoluciones de los procesos de biolixiviación tiene como objetivo controlar su concentración, porque si es alta aumenta la fuerza iónica de tales disoluciones afectando la actividad oxidante de los microorganismos. La determinación de sulfato se realizó por el método gravimétrico (Ospina et al., 2010). El procedimiento fue el siguiente: se tomó una alícuota de 5 mL; se le adicionaron 100 mL de agua destilada caliente más 2 mL de HCL concentrado en un vaso de precipitados de 250 mL; se calentó suavemente durante 30 minutos y se agregaron lentamente 20 mL de BaCl₂ al 10% para precipitar el sulfato; se cubrió el vaso con un vidrio reloj y se dejó en una placa calefactora, a temperatura baja (sin ebullición), durante 30 minutos. Posteriormente, se taró el crisol conteniendo el papel de filtro; se vertió el contenido del vaso de precipitados en el crisol; se lavó con agua caliente y se

dejó secar el precipitado en estufa a 100 °C. A partir del peso del precipitado se calculó la cantidad de sulfato (g/L).

2.4.5 Análisis secuencial de cobre

El objetivo fue determinar el porcentaje de cobre asociado a las diferentes especies minerales (Carmona y Adaros, 2000). El método está basado en la diferente solubilidad de los minerales oxidados y sulfurados (malaquita, crisocola, calcosina, covelina y calcopirita) en disoluciones de ácido sulfúrico diluido, de cianuro de sodio y en ácidos concentrados a ebullición. El análisis se llevó a cabo en tres etapas:

1) Disolución del mineral en ácido sulfúrico diluido: se pesó una muestra de mineral, de aproximadamente 1,0 g, y se transfirió a un matraz erlenmeyer de 250 mL. Se adicionaron 50 mL de H₂SO₄ al 5% y se agitó durante 30 minutos a 150 rpm. Se centrifugó la muestra y se transfirió la disolución sobrenadante a un matraz de 100 mL. Se lavó el residuo con agua destilada, se centrifugó y se transfirió el líquido sobrenadante al matraz aforado. Se determinó el contenido de cobre en la disolución.

2) Disolución del residuo en cianuro sódico: el residuo obtenido en la etapa anterior, se colocó en un matraz de 250 mL y se adicionaron 50 mL de cianuro de sodio al 1%. Se agitó durante 30 minutos, a 25 °C y 200 rpm. Se centrifugó la muestra a 7.000 rpm durante 10 min y se transfirió, cuantitativamente, la disolución cianurada a un matraz aforado de 100 mL. Se lavó el residuo con agua destilada, se centrifugó y se transfirió el líquido sobrenadante a un matraz aforado. Se determinó, finalmente, el contenido de cobre.

3) Digestión ácida del residuo de la etapa 2: el residuo obtenido después del tratamiento del cobre soluble con cianuro de sodio, se transfirió a un vaso de precipitados de 250 mL. Se adicionaron a continuación los siguientes ácidos concentrados: 15 mL de ácido clorhídrico, 5 mL de ácido nítrico, 1 mL de ácido sulfúrico, y se calentó hasta sequedad. Posteriormente, se dejó enfriar el vaso y se adicionaron 10 mL de ácido clorhídrico, se calentó de nuevo a ebullición y se pasó la disolución a un matraz para determinar su contenido de cobre.

Todas las determinaciones de Cu, al final de las etapas anteriores, fueron realizadas por espectrofotometría de Absorción Atómica.

2.4.6 Fluorescencia de rayos X

Esta técnica se utilizó para el análisis semicuantitativo de las muestras de mineral de alimentación y de los ripsos de las columnas. Se realizó un barrido de 20 elementos por muestra con un espectrómetro de XFR PANalytical.

2.5 TÉCNICAS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

2.5.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Mediante esta técnica, se analizó la morfología de los microorganismos presentes en efluentes líquidos de los ensayos en columnas. Las células fueron recolectadas en membranas de filtración (*millipore* de 0,22 μm diámetro de poro) y sometidas a un proceso de deshidratación con acetona mediante el siguiente procedimiento: se filtraron lentamente 5 mL de la disolución de percolado de las columnas y, directamente en el filtro, se deshidrataron progresivamente inyectando 10 mL de varias disoluciones de acetona de concentración creciente (30, 50, 70, 90 y 100%). Posteriormente, se retiró el filtro del soporte y se colocó en un recipiente de acero junto con acetona pura para ser sometida a un tratamiento de secado mediante la técnica del punto crítico, por aplicación de sucesivas corrientes de CO_2 , en un equipo Balzers CPD 030. Finalmente, la muestra se recubrió por vaporización con una capa conductora de grafito y se observó en un microscopio JEOL, modelo JM-6400.

2.5.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Con esta técnica se observó la morfología de los microorganismos del inóculo MEL. La preparación de la muestra se realizó de la siguiente forma: i) se eliminaron las partículas de mineral presentes en el cultivo por centrifugación; ii) se pusieron 20 μL del cultivo en papel de parafina y se colocó sobre él una rejilla (Cu 400HX) durante 2 minutos; y iii) se procedió a la tinción de los microorganismos con acetato de uranilo al 2% durante 30 segundos y,

finalmente, se realizó el recubrimiento de la muestra con carbono para su observación en el microscopio electrónico de transmisión JEOL, modelo JEM-4000EX.

2.5.3. Análisis Mineralógico QEMSCAN®

Esta metodología se utilizó para analizar los minerales de la alimentación y de los residuos de lixiviación. QEMSCAN® es un sistema que incluye un microscopio electrónico de barrido (SEM), diseñado para apoyar a la industria minera, que proporciona un análisis automatizado y cuantitativo de la mineralogía de una muestra mineral. Las muestras de mineral, montadas en una resina, fueron analizadas mediante BMA (*Bulk Mineralogical Analysis*) para obtener su mineralogía modal. La preparación de la muestra para el análisis se llevó a cabo siguiendo un protocolo estándar. Durante el análisis se recogieron los espectros de rayos X con una separación de píxeles definida en el protocolo. La identificación de los minerales presentes en la muestra se realizó con el programa de software del ordenador QEMSCAN® que compara automáticamente los espectros medidos en la muestra con una base de datos de espectros conocidos y asignándose un nombre de mineral o fase en cada punto de medición. De esta forma, a cada partícula de la superficie se le identifica con el nombre de un mineral, compuesto o especie química. Los resultados obtenidos se contrastan con los análisis químicos de Cu, Fe y S como controles de calidad (Pirrie et al., 2004).

2.6 TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA CARACTERIZAR LOS MICROORGANISMOS EN LAS DISOLUCIONES Y EN LOS MINERALES

2.6.1 Recuentos de microorganismos totales en las disoluciones

El recuento de microorganismos en disolución se realizó utilizando una cámara de Petroff Haüser y un microscopio de contraste de fase modelo LEICA DMLS. El límite de detección de la técnica es de 10^6 cel/mL.

2.6.2 Recuentos de microorganismos totales por tinción DAPI

Esta técnica consiste en el recuento de microorganismos totales (vivos y muertos) presentes en las disoluciones y en los minerales mediante tinción específica del DNA celular. La tinción permite la visualización sólo de microorganismos, evitando la confusión de partículas de pequeño tamaño con éstos. Para el recuento se usa un microscopio de epifluorescencia. En general, la técnica presenta un límite de detección 10^4 cel/mL (Härd et al, 1990).

2.6.3 Número más probable (NMP)

Por medio de esta técnica es posible estimar el número de microorganismos viables o activos, que participan en la oxidación del hierro y del azufre en los procesos de lixiviación. El análisis de las bacterias hierro- y azufre-oxidantes se llevó a cabo tanto en muestras de la disolución como en muestras del mineral. Para las muestras líquidas solamente fue necesario agitar antes de realizar el análisis. Para muestras sólidas, se pesaron 5 g y se colocaron en un matraz estéril con 50 mL de medio cultivo, a pH 1.8, se agitó la disolución y se utilizó el sobrenadante como muestra. Para la determinación del número más probable se usaron placas multipocillo, añadiendo a cada pocillo de la placa 225 μ L de medio cultivo a pH 1.8 con Fe^{2+} o tetrionato de sodio estéril. Las diluciones se realizaron en la misma placa. Se inóculo el primer pocillo con 25 μ L de muestra, se agitó con la micropipeta y se tomaron 25 μ L de esta primera dilución que se agregaron al segundo pocillo. Este procedimiento, se repitió sucesivamente, por quintuplicado, hasta llegar a la novena dilución. Se incubaron en estufa a 28 °C durante 15 días. Cumplido este tiempo, se determinaron los microorganismos hierro-oxidantes contando los pocillos que presentaron el color café característico de la oxidación a Fe^{3+} debido a la acción bacteriana, como indicador positivo. Los pocillos que no cambiaron de color correspondían a un resultado negativo. Para determinar los microorganismos azufre-oxidantes, con el tiempo de incubación cumplido, a cada pocillo se agregaron 8 μ L del indicador naranja de metilo al 0,05%, para detectar la formación de ácido. El cambio de color a rojo indica un resultado positivo y si no hay cambio de color el resultado es negativo (Escobar y Godoy, 1999). El número

más probable (NMP) se determinó a través de un programa computacional con los datos del número de pocillos con resultado positivo de cada dilución (Hurley y Roscoe, 1983). El límite de detección es de 10^2 cel/mL (Figura 2.10).

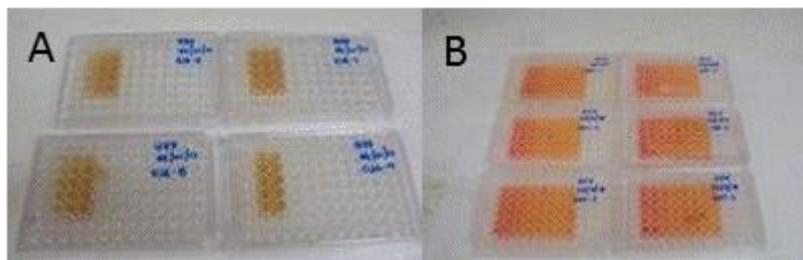


Figura 2.10 Número más probable para microorganismos (NMP) (A) hierro-oxidantes y (B) azufre-oxidantes

2.6.4 Determinación de la actividad oxidante de los cultivos mediante la medición de consumo de Fe (II)

La metodología utilizada permitió determinar el consumo de Fe (II) mediante la medida de la cinética de oxidación de este catión catalizada por los microorganismos presentes en el cultivo: en disolución o adheridos al mineral. Esta técnica también se puede utilizar para determinar indirectamente el número de bacterias adheridas al mineral o en suspensión y/o para detectar condiciones inhibitorias para las comunidades microbianas, ejercidas por la presencia de impurezas o condiciones adversas en las disoluciones industriales (Galleguillos et al., 2008).

2.6.5 Análisis de las poblaciones microbianas por la técnica de PCR en tiempo real

La metodología usada para el control de la dinámica poblacional considera el uso de técnicas moleculares que permiten cuantificar las cepas específicas presentes en los procesos de biolixiviación, tanto en las disoluciones como en los minerales. El análisis se lleva a cabo mediante la extracción del ADN y la amplificación de un fragmento del gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal involucrada en la síntesis de proteínas (16S rRNA) por

medio de la reacción de la polimerasa en cadena, seguida en tiempo real (qPCR) (Remonsellez et al., 2009). El límite de detección es de 10^2 cél/mL. Se utilizaron 8 partidores específicos para: *Acidithiobacillus ferrooxidans* cepa D2, *Acidithiobacillus ferrooxidans* cepa DM, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferriphilum*, *Sulfobacillus* sp. *escondida*, bacterias totales, arqueas totales y *Ferroplasma acidiphilum*.

2.6.6 Análisis de poblaciones microbianas por técnicas de hibridación in situ (CARD-FISH)

Esta técnica permite la cuantificación específica de los distintos tipos de microorganismos presentes tanto en las disoluciones como en los minerales de los procesos de biolixiviación (Pernthaler et al., 2002). En esta investigación, se utilizaron sondas para bacterias y arqueas en general, *Leptospirillum*, *Acidithiobacillus*, *Ferroplasma*, *Acidimicrobium*, *Sulfobacillus*, y *Acidiphillum*. El límite de detección es de 10^2 cel/mL (Figura 2.11).

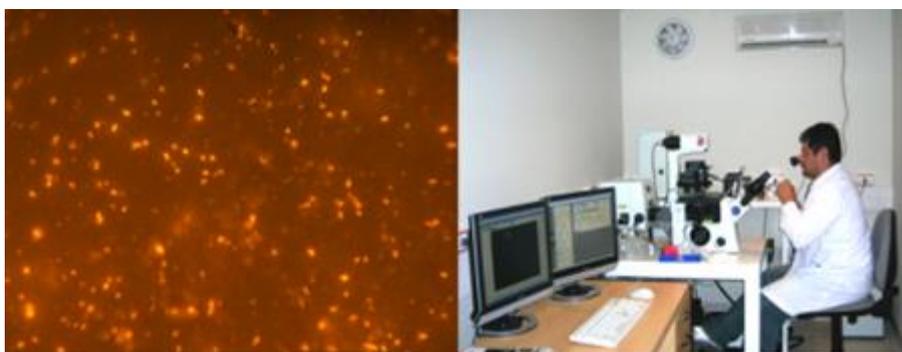


Figura 2.11 Análisis Card-Fish para la cuantificación de la población bacteriana

2.6.7 Análisis de la comunidad microbiana por medio de Electroforesis en Gel con Gradiente Desnaturalizante (DGGE)

Mediante esta técnica se puede realizar un análisis semicuantitativo de la diversidad de la población microbiana en los ensayos de laboratorio o en las pilas de biolixiviación y su modificación durante el transcurso del proceso. La técnica de DGGE permite la identificación de los microorganismos por medio de la

amplificación y separación de un fragmento del gen 16S ARNr, que presenta diferencias definidas entre especies microbianas. El amplificado (producto de PCR) es cargado en un gel con gradiente de desnaturizante. La separación se produce por el avance de los fragmentos a través de un gradiente de Urea-formamida que permite la formación de bandas (gen 16S ARNr) que corresponden a las diferentes especies o cepas microbianas (Demergasso et al., 2005). Posteriormente, las bandas son extraídas del gel, re-amplificadas por PCR y secuenciadas. Las secuencias se comparan con la base de datos disponible en el *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) para definir las identidades de cada banda y, en base a ello, identificar los diferentes microorganismos presentes en cada muestra.

2.6.8 Clonación

Esta metodología permite conocer la diversidad de los microorganismos presentes en las disoluciones de los procesos de biolixiviación. La clonación molecular se refiere al proceso de aislar una secuencia de ADN de interés y obtener múltiples copias de ella en un organismo modificado. El procedimiento de análisis constó de las siguientes etapas:

- Se obtuvo el producto de PCR de fragmentos del gen 16S ARNr utilizando partidores universales.
- **Ligación:** Se colocaron en un tubo de 0,6 mL los siguientes reactivos: 2X Rapid Ligation Buffer, T4 DNA Ligase, pGEM®-T or pGEM®-T Esasy Vector (50 ng), producto de PCR (obtenido en el paso anterior) y T4 DNA Ligase. La mezcla se incubó 1 hora a temperatura ambiente.
- **Transformación:** Se colocaron 3 µL de la reacción de ligación en un tubo de 1,5 mL, se adicionaron 25 µL de células competentes y se dejaron en hielo durante 20 minutos. Posteriormente, la muestra se incubó a 42 °C durante 45-50 segundos en baño termostaticado y se colocó nuevamente

en hielo durante 2 minutos. Se agregaron 425 μL de medio SOCy y se incubó a 37 °C, durante 1 hora y 30 minutos, con agitación.

- **Siembra de Placas:** La transformación obtenida en el paso anterior, se centrifugó durante 10 minutos a 5.000 rpm, se eliminó el sobrenadante dejando solo 100 μL y se resuspendió el pellet en medio SOC. Se colocaron en una placa 50 μL , con ayuda de un asa rastrillo estéril, se distribuyeron por toda la placa y se incubaron a 37 °C durante 24 horas.
- **Selección de colonias positivas:** De las placas obtenidas con colonias blancas y azules, se seleccionaron las colonias blancas. Se pusieron en 225 μL de medio LB al 7% de glicerol y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Para el análisis de los clones positivos se utilizó un protocolo estándar PCR.
- **Crecimiento de colonias en medio LB/AMP para la obtención de plásmidos:** Se tomaron 100 μL de la colonia enriquecida, se colocaron en un tubo estéril de 15 mL con 4 mL de medio LB/AMP y se dejaron incubando durante 16 horas a 37 °C.
- **Purificación de plásmidos:** El producto de la incubación anterior se centrifugó durante 10 minutos a 11.000 rpm, se eliminó el sobrenadante y el pellet obtenido se resuspendió en 250 μL de buffer P1 del Kit QIA prep® Spin; se agregaron 250 μL del buffer P2 y se agitó la disolución, la cual pasó a color azul; posteriormente, se adicionaron 350 μL del buffer N3 y se agitó suavemente; la disolución quedó transparente y el precipitado de color blanco se eliminó por centrifugación durante 10 minutos a 13.000 rpm.
- La disolución transparente se transfirió a una columna de retención y se centrifugó durante 1 minuto a 13.000 rpm descartando la disolución. La columna se lavó con 500 μL de buffer PB y nuevamente se centrifugó a 13.000 rpm por 1 minuto; luego se adicionaron 750 μL del buffer PE a la columna de retención y se centrifugó, a las mismas condiciones, descartando la disolución. Por último, a la columna de retención se le

adicionaron 100 μ L del buffer EB, se dejó 1 minuto en reposo y se centrifugó durante 2 minutos a 13.000 rpm. El líquido obtenido fue guardado y se cuantificó el DNA en NANODROP.

**CAPITULO III: ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA,
ADICIÓN DE ÁCIDO Y VARIACIÓN DEL pH EN LOS PROCESOS
DE BIOLIXIVIACIÓN**

3.1 INTRODUCCIÓN

La biolixiviación es una tecnología razonablemente bien establecida, que en comparación con otros procesos, como la lixiviación química o los procesos de concentración, ofrece claras ventajas técnicas y económicas para el tratamiento de minerales sulfurados de baja ley. Así, los procesos industriales de biolixiviación poseen un diseño operativo relativamente simple, los costes de operación son reducidos y la construcción de las instalaciones se realiza en tiempos cortos en comparación con otro tipo de procesos alternativos (Norgate y Jahanshahi, 2010; Watling, 2006; Brierley C, 2001). Además, esta tecnología es una de las pocas que produce un mínimo impacto ambiental y un menor uso de recursos hídricos. Por esto, la utilización de la biolixiviación ha ido en aumento en la industria minera durante los últimos 25 años. Sin embargo, para que un proceso de biolixiviación a escala industrial sea exitoso es necesaria la optimización de ciertos parámetros operacionales claves con el fin de mantener las condiciones adecuadas que favorezcan la actividad oxidante de los microorganismos que intervienen en el proceso.

En este sentido, la temperatura tiene un rol importante en esta disolución de minerales sulfurados catalizada por microorganismos. Su efecto ha sido ampliamente estudiado y referido en la literatura, por lo que es bien sabido que al incrementar esta variable, se mejora la cinética de recuperación del cobre desde el mineral (Franzmann et al., 2005; Watling et al., 2014b; Dopson et al., 2007; Halinen et al., 2009). Sin embargo, en el manejo de las condiciones térmicas que se generan en una pila industrial intervienen varios factores como, por ejemplo, las condiciones climáticas y la altura de la propia pila, los cuales determinan el flujo de calor en la misma (Plumb et al., 2007).

Como es sobradamente sabido, los procesos de biolixiviación están asistidos por microorganismos acidófilos que crecen entre pH 0 y 3 y que transforman el ion ferroso en férrico, el cual participa como agente oxidante en las reacciones de disolución de los minerales sulfurados de cobre. No obstante, el ion férrico se hidroliza fácilmente y forma hidróxidos de hierro y/o jarosita. La

precipitación de esta última, se ha observado incluso en el intervalo de pH comprendido entre 1,4 y 1,5 (Dopson et al., 2007).

La situación actual, en la que confluyen un aumento del coste del ácido y una disminución tanto de las leyes de los depósitos como del precio del cobre, es urgente para la industria lograr una disminución de los costes de producción. Por tanto, uno de los mayores desafíos a enfrentar es la determinación de la concentración óptima de ácido en el ciclo de lixiviación y, además, que esta concentración resulte compatible con los tiempos necesarios para una efectiva recuperación del cobre (Scheffel et al., 2015). Varias de las operaciones de biolixiviación más importantes utilizando la tecnología en pila, se encuentran en funcionamiento en Chile (Brierley C, 2008) estando entre ellas alguno de los 30 (Chilean Copper Commission, 2009) más importantes consumidores de ácido sulfúrico.

Paralelamente, se han conseguido avances importantes en el monitoreo y control de la población bacteriana durante los procesos de biolixiviación, pero aún falta poder relacionar, de mejor forma y a nivel industrial, los resultados biológicos con los parámetros metalúrgicos. De esta manera, el objetivo de los trabajos experimentales incluidos en este capítulo fue estudiar alguno de estos factores relevantes en los procesos de biolixiviación de sulfuros de cobre, los cuales se podrían concretar en la disponibilidad de ácido y en la temperatura del sistema, que regulan la precipitación de jarosita y la actividad microbiana, para así tener un mejor criterio en el manejo del proceso industrial.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Efecto del pH en la precipitación del hierro en ensayos discontinuos en matraz

Se realizaron, por duplicado, ensayos en matraces de 300 mL agitados a 100 rpm con la ayuda de un incubador orbital, marca New Brunswick Edison, durante 42 días; la temperatura se fijó en 25 °C. Como medio de ensayo, se utilizó una disolución de alimentación, denominada refino, obtenida de una planta industrial de sulfuros de Minera Escondida Ltda., localizada en la 2da. Región de Chile, Antofagasta (Tabla 3.1). El pH se mantuvo según el diseño del ensayo (Tabla 3.2) en un valor estable por medio de la adición de ácido sulfúrico concentrado o hidróxido sódico 1 M. Se usaron 10 g de mineral en cada matraz; su composición química y mineralógica se encuentra descrita en el Capítulo 2 (apartado 2.2.1). El cultivo MEL fue el utilizado en estos ensayos y se inocularon los matraces con una concentración de $1 \cdot 10^7$ cel/mL. El diseño experimental de la prueba se encuentra en la citada Tabla 3.2. La toma de muestras se realizó cada 7 días y se analizaron el Cu y el Fe total (Fe^T) en disolución. El Eh y pH se controlaron todos los días. Así mismo, se tomaron muestras a los 0, 15 y 32 días para los recuentos de microorganismos totales (DAPI) y de microorganismos viables mediante análisis del NMP de bacterias hierro- y azufre-oxidantes.

Tabla 3.1 Características de la disolución de refino.

Muestra	Cu^{+2} (g/L)	Fe^T (g/L)	Fe^{+2} (g/L)	H^+ (g/L)	SO_4^{-2} (g/L)	pH	Eh (mV)
Refino	0,12	0,68	0,1	4,52	39	1,8	705

Tabla 3.2 Diseño experimental de la prueba en matraces

Muestra	Refino (mL)	Inóculo MEL (mL)	pH
M1 control	100	-	1,6
M2	99	1	2,5
M3	99	1	2,3
M4	99	1	2,0
M5	99	1	1,8
M6	99	1	1,6
M7	99	1	1,5
M8	99	1	1,4
M9	99	1	1,3
M10	99	1	1,0

3.2.2 Adición de ácido y su efecto en los microorganismos biolixivantes

La investigación se realizó en dos etapas. La primera consistió en distintas pruebas de oxidación de hierro y azufre en matraces con diferentes concentraciones de ácido para evaluar su efecto en la actividad microbiana. En una segunda etapa, se investigó el impacto que produce el incremento de los niveles de ácido en la comunidad microbiana, en la capacidad de adaptación de los microorganismos y en el tiempo de recuperación de la actividad.

3.2.2.1 Diseño experimental

Se realizó un Diseño Experimental (DOE) 2^4 que se obtuvo con el programa estadístico MiniTab (Mathews, 2005) que consideró 4 factores para analizar el efecto del ácido sobre las actividades hierro- y azufre-oxidantes de la población microbiana. Los factores considerados fueron: concentración de ácido, temperatura, concentración de impurezas y fuente de energía (Fe^{2+} y S°). Este diseño experimental y las condiciones elegidas se presentan en la Tabla 3.3.

Los ensayos se realizaron en matraces erlenmeyer de 250 mL, durante 20 días, agitados a 100 rpm en una incubadora orbital y en un sistema con control constante de la temperatura (Figuras 3.1 y 3.2). El muestreo se realizó tomando un volumen de 7 mL, todos los días para la prueba hierro-oxidante y cada dos días para la prueba azufre-oxidante. En la cuantificación de la actividad hierro-

oxidante, se estimó la velocidad de consumo de Fe^{2+} por medio de la determinación periódica de su concentración. Se determinó también la velocidad de producción de H_2SO_4 por medio del análisis periódico de la concentración de ácido generado a partir del azufre. Se utilizó el cultivo MEL y cada matraz se inóculo con $1 \cdot 10^7$ cel/mL.

Tabla 3.3 Diseño experimental para el análisis del efecto del ácido sobre la actividad microbiana

N°prueba	Ácido (g/L)	Temperatura (°C)	Suplemento	Sulfato (g/L)
1	8	30	Hierro	80
2	15	30	Hierro	80
3	8	45	Hierro	80
4	15	45	Hierro	80
5	8	30	Azufre	80
6	15	30	Azufre	80
7	8	45	Azufre	80
8	15	45	Azufre	80
9	8	30	Hierro	100
10	15	30	Hierro	100
11	8	45	Hierro	100
12	15	45	Hierro	100
13	8	30	Azufre	100
14	15	30	Azufre	100
15	8	45	Azufre	100
16	15	45	Azufre	100
17	11,5	37,5	Hierro	90
18	11,5	37,5	Azufre	90
19	11,5	37,5	Hierro	90
20	11,5	37,5	Azufre	90



Figura 3.1 Sistema de calefacción utilizado en los ensayos



Figura 3.2 Ensayos en incubador orbital de determinación de la actividad azufre-oxidante (izquierda) y hierro-oxidante (derecha)

Las disoluciones de trabajo utilizadas en las pruebas se prepararon en base al refino que se obtenía en aquel momento en la planta de Minera Escondida Ltda. (Tabla 3.4). El ajuste de las concentraciones se realizó diluyendo el refino y adicionando ácido y/o sales, según fuese necesario; el Fe^{+2} fue añadido como sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), el sulfato como Na_2SO_4 y el azufre elemental como tal. Las disoluciones se acidificaron con H_2SO_4 concentrado.

Tabla 3.4 Composición de la disolución utilizada en las pruebas

Muestra	Cu ⁺² (g/L)	Fe ^T (g/L)	Fe ⁺² (g/L)	H ⁺ (g/L)	SO ₄ ⁻² (g/L)	pH	Eh (mV)
Refino	0,32	1,35	0	8,84	86	1,3	792

3.2.2.2 Efecto del aumento de la concentración de ácido sobre la población bacteriana mesófila

Se realizó un ensayo en un reactor de 2 litros, a 30 °C y con adición de aire a razón de 1 L/min. Se utilizó como inóculo la población microbiana enriquecida de la disolución de refino, usando Fe²⁺ y S⁰ como fuentes de energía. Los cultivos en discontinuo se ajustaron a las siguientes concentraciones de ácido: 8, 15 y 30 g/L de H₂SO₄, usando ácido concentrado. El enriquecimiento y adaptación del cultivo se hizo en tres etapas. En la primera, el cultivo se adaptó a crecer en las concentraciones del refino de la planta (8 g/L) y luego en 15 y 30 g/L de ácido. El crecimiento del cultivo a las distintas concentraciones de ácido fue monitoreado mediante mediciones de potencial y análisis del ion ferroso. La estructura de la comunidad microbiana presente en el cultivo enriquecido se determinó por medio de cuantificaciones específicas del número de copias de genes 16S ARNr por PCR en tiempo real.

3.2.3 Ensayos en columnas para estudiar el efecto de la temperatura en la biolixiviación

La experiencia se realizó en 3 columnas de 1 m de altura utilizando el mineral Escondida descrito en el apartado 2.2.1. Las columnas se operaron en circuito cerrado, es decir, el percolado obtenido de cada ensayo, que contenía una mayor concentración de cobre que la disolución alimentada, se contactaba con un extractante orgánico específico en la primera etapa de extracción por disolvente (SX), con lo que entonces retornaba al sistema una disolución con menor contenido de metal. La columna MC1 se ensayó por duplicado y se mantuvo a temperatura ambiente simulando las condiciones de temperatura de la planta industrial de biolixiviación de sulfuros de Minera Escondida Ltda.; la Tabla 3.5 muestra las condiciones operacionales de los ensayos. Las 3 columnas

operaron con una disolución de alimentación de la planta industrial de Minera Escondida Ltda. Los cultivos utilizados en estos ensayos fueron los MEL y CPY descritos en apartado 2.1.1 y 2.1.2; las columnas se inocularon con 10 L/t, en el día 5 de operación. Las columnas MC2 y MC3 se mantuvieron en un equipo con control constante de la temperatura, en donde fue posible controlarla entre 25 y 50 °C según el diseño de las pruebas (Tabla 3.5). Estas columnas se mantuvieron, aproximadamente, 30 días a 25 °C; posteriormente, se aumentó la temperatura a intervalos de entre 1 y 2 °C, cada 3 días, para alcanzar una temperatura de 50 °C a los 90 días de operación.

Tabla 3.5 Diseño experimental de la serie de ensayos en columnas

Columnas	Ciclo de Lixiviación (días)	Tasa de Riego (L/(h*m ²))	Temperatura (°C)	Inóculo
MC1	154	6	ambiental	MEL
MC2	154	6	25 a 50	MEL
MC3	154	6	25 a 50	CPY

Se realizaron periódicamente análisis químicos (Cu, Fe total, Fe²⁺, ácido, pH y Eh, también SO₄²⁻, Cl⁻ y Al³⁺), análisis de la composición de la comunidad microbiana (recuentos de microorganismos totales y viables, a través de la técnica del Número Más Probable (NMP), de hierro- y azufre-oxidantes) y determinación de la actividad oxidante de los cultivos (medición del consumo de Fe²⁺ y producción de ácido). La cuantificación específica de microorganismos se realizó a través del análisis de PCR en tiempo real. Al mineral de alimentación y de los residuos del ciclo de lixiviación, se les realizó un análisis mineralógico por QEMSCAM®. Estos análisis están descritos en el capítulo II apartado 2.4 y 2.6.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Caracterización de los inóculos MEL y CPY

Los recuentos de microorganismos, totales y viables (Figura 3.3), muestran una mayor cantidad de microorganismos en el inóculo CPY, con una diferencia de hasta tres órdenes de magnitud en los microorganismos hierro-oxidantes; el cultivo MEL es más abundante sólo en los microorganismos azufre-oxidantes. Esta mayor concentración de células se puede explicar porque el cultivo CPY fue obtenido en un biorreactor, lo que implica que haya mejor control de las condiciones operacionales, como agitación y aireación, comparado con la columna de inóculo. Los inóculos mostraron buena actividad hierro-oxidante, como se observa en Figura 3.4, debido a que sólo tardaron 6 días en que se consumiera todo el hierro (II); como era de esperar, el ensayo control, sin microorganismos, presentó una oxidación significativamente más lenta y casi inexistente en 6 días.

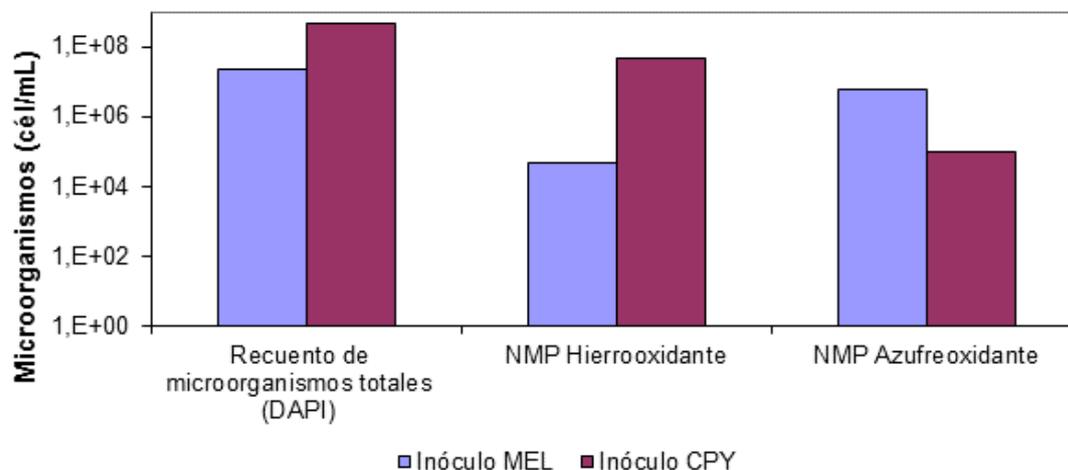


Figura 3.3 Recuento de microorganismos, totales y viables, de los inóculos MEL y CPY

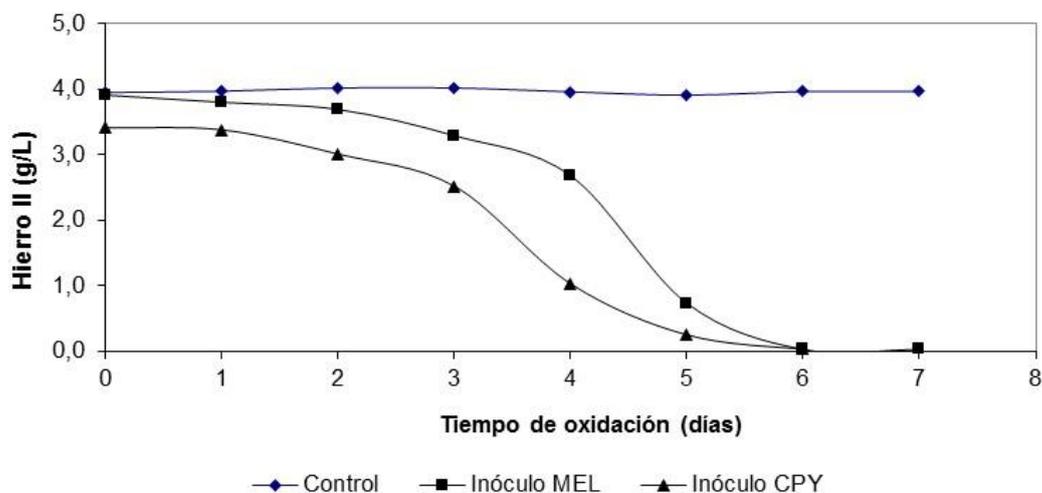


Figura 3.4 Actividad oxidante de Fe²⁺ de los inóculos MEL y CPY

La cuantificación específica de los microorganismos de los inóculos MEL y CPY se realizó a través de dos técnicas de biología molecular: mediante PCR en tiempo real y CARD-FISH. La comparación de la composición de las comunidades microbianas realizada mediante PCR en tiempo real de ambos inóculos indica un mayor número de microorganismos en el inóculo CPY, donde las especies dominantes fueron *Acidithiobacillus ferrooxidans* DM y *Acidithiobacillus thiooxidans*. El inóculo MEL presentó una elevada abundancia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* D2, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum* (Figura 3.5).

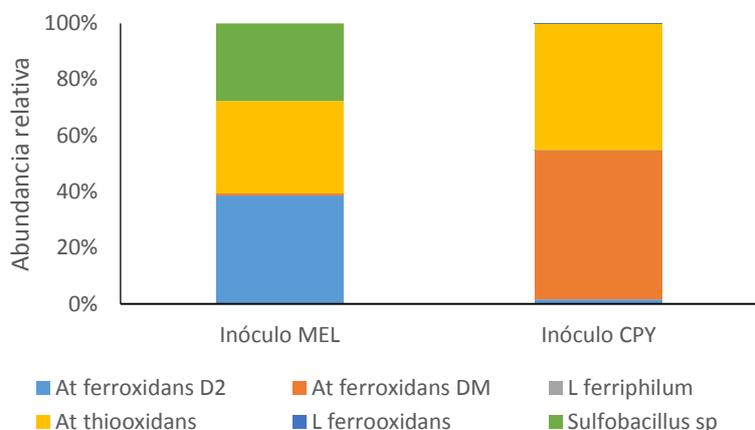


Figura 3.5 Cuantificación de las especies dominantes en los inóculos MEL y CPY mediante PCR en tiempo real

El análisis mediante CARD-FISH mostró mayor cantidad de microorganismos en el inóculo CPY; para el inóculo MEL detectó una elevada abundancia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, mientras que las especies *Acidiphillum* sp. y *Sulfobacillus* sp., se encontraban cerca del límite de detección de esta técnica. Para el inóculo CPY este análisis indicó que los microorganismos predominantes fueron *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* (Figura 3.6).

Los resultados obtenidos entre ambas técnicas son similares, Por otro lado existen diferencias relevantes entre ambas metodologías, entre estas se pueden mencionar que la cuantificación de la técnica de PCR en tiempo real es específica para una cepa de una determinada especie, en cambio por CAR-FISH la cuantificación es a nivel de especie, también para PCR en tiempo real es necesario extraer el ADN de las células para luego amplificar un fragmento del gen del 16S ARNr, lo que puede estar influido por la presencia de inhibidores de PCR que co-purifican con el ADN durante la extracción. Para CAR-FISH el número de células determinado dependerá de la fluorescencia producida, y de la cantidad de ARN presente en la célula, aunque tiene un bajo riesgo de contaminación ya que carece de una etapa de amplificación de ácido nucleico (Hedrich et al., 2016).

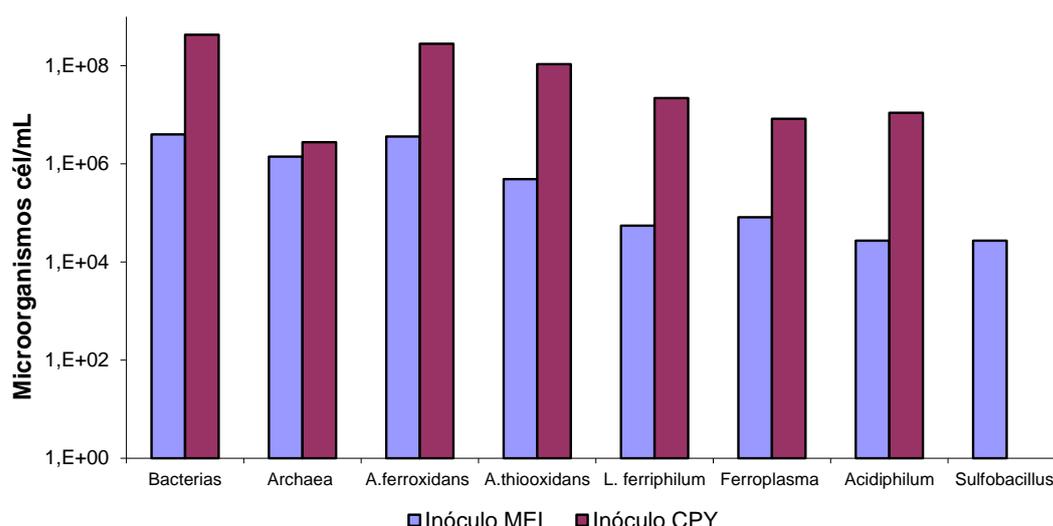


Figura 3.6 Cuantificación de microorganismos en los inóculos MEL y CPY mediante CARD-FISH

3.3.2 Efecto del pH en la precipitación de hierro y en la actividad de los microorganismos

El control del pH en los diferentes ensayos en matraces no presentó mayores inconvenientes y la acidez se mantuvo en el pH deseado como se muestra en la Figura 3.7. La temperatura fue controlada a 25 ± 2 °C.

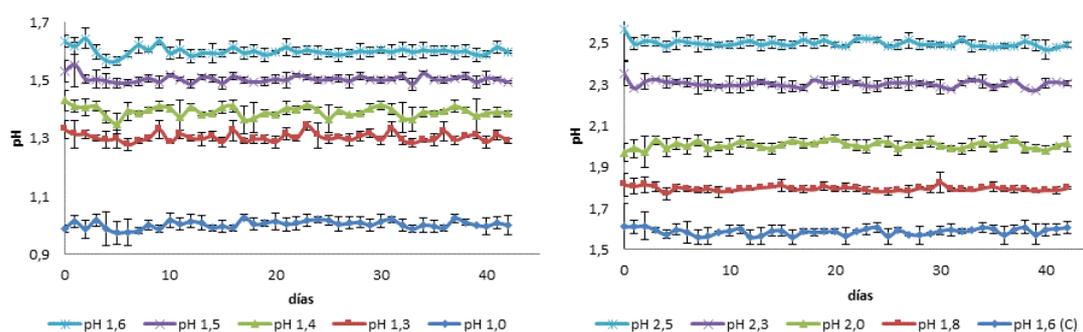


Figura 3.7 Control del pH en la disolución de percolado de la experiencia de biolixiviación

En cuanto al comportamiento del potencial redox durante la experiencia fue el siguiente: a tiempo cero, el potencial redox promedio de todos los ensayos fue de 680 mV. En los ensayos M2 (pH 2,5) hasta el M7 (pH 1,5), se observó un comportamiento similar hasta los 8 días de operación con una disminución del potencial y después un aumento hasta los 700 mV, que se mantuvo hasta el final de la experiencia. El incremento de potencial fue relativamente más lento en los ensayos M8 (pH 1,4) y M9 (pH 1,3). En el ensayo M8 se observó un aumento de potencial redox hasta los 700 mV, que se demoró 15 días, mientras que para el ensayo M9 ocurrió a los 21 días. En los ensayos M1 control (pH 1,6) y M10 (pH 1,0), no se observó aumento significativo de potencial redox (Figura 3.8).

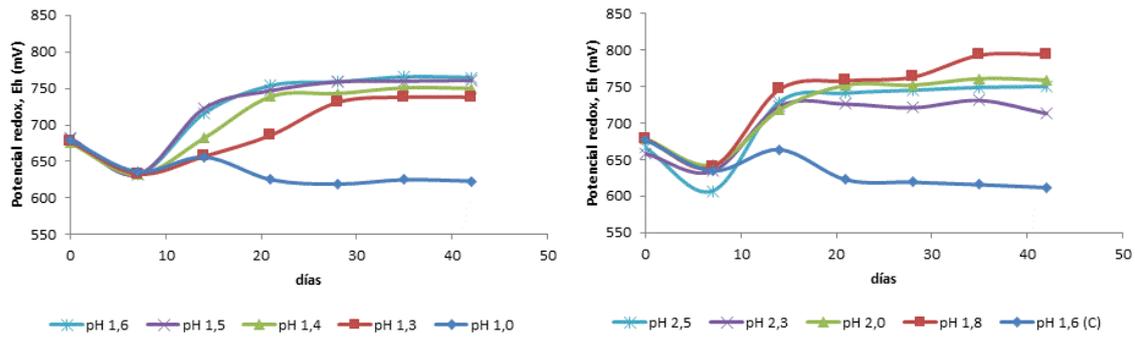


Figura 3.8 Potencial redox de los ensayos de lixiviación en matraces, bajo diferentes condiciones de pH

Se observó una mayor solubilización de hierro total en los ensayos (M6, M7, M8, M9 y M10) que corresponde al intervalo de pH entre 1,0 y 1,6. Por el contrario, se observó precipitación en los ensayos realizados en el intervalo de pH entre 1,8 y 2,5 (Figura 3.9).

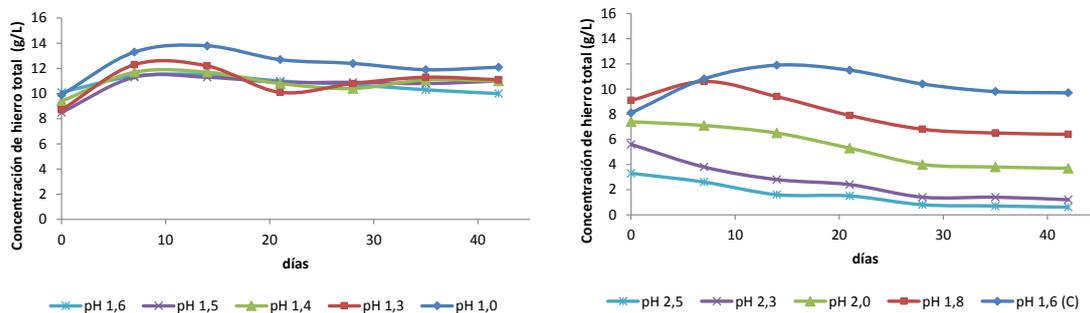


Figura 3.9 Perfiles de concentración de hierro total en las disoluciones de las experiencias en matraces

Los resultados de la precipitación de hierro en la disolución de percolado se confirmaron con los análisis semicuantitativos de fluorescencia de rayos X realizados a los residuos de los minerales después del ciclo de biolixiviación. Se observó precipitación de hierro en el rango de pH desde 1,8 hasta 2,5, lo cual queda demostrado en la Figura 3.10 donde se evidencian porcentajes de hierro en los residuos de los minerales ensayados mayores al 100%. El cobre que quedó en el mineral lixiviado fue similar en todas las experiencias.

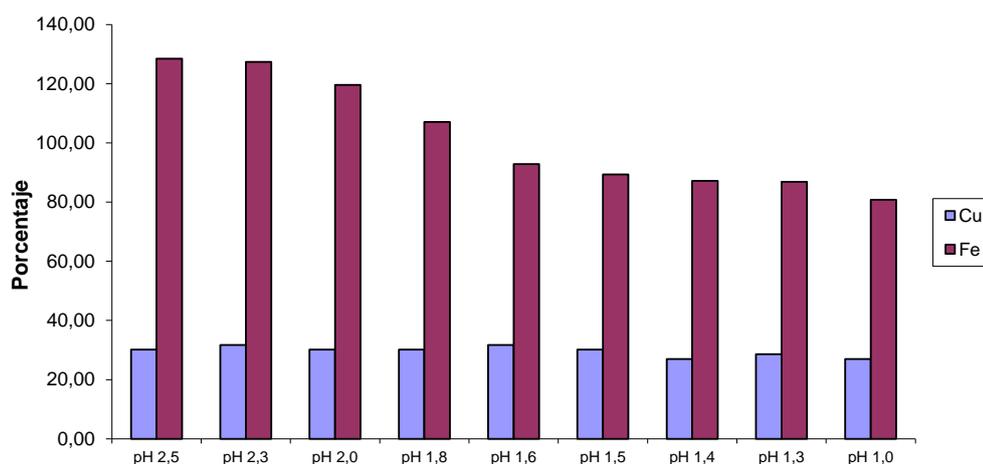


Figura 3.10 Recuperación de hierro total y de cobre en el mineral por análisis por fluorescencia de rayos X

Los recuentos totales de microorganismos (por DAPI) oscilaron entre 10^4 y 10^6 cel/mL y los mayores recuentos se observaron en el intervalo de pH entre 1,6 y 2,3, durante los 15 días de operación; mientras que a pH menor (pH 1,3 y 1,0) no se detectaron microorganismos a los 15 y 32 días de operación (Figura 3.11A). Los recuentos de microorganismos hierro-oxidantes por análisis de NMP variaron entre 10^3 y 10^4 cel/mL y la mayor actividad hierro-oxidante se detectó entre pH 2,3 y 1,5. Al final de la prueba, no se detectó actividad oxidante para pH 1,3 y 1,0 (Figura 3.11B). Los NMP para bacterias azufre-oxidantes se mantuvieron entre 10^2 y 10^4 cel/mL en todos los ensayos, pero en los ensayos de menor pH (pH 1,3 y 1,0), se observaron microorganismos azufre-oxidantes del orden de 10^2 cel/mL, (Figura 3.11C).

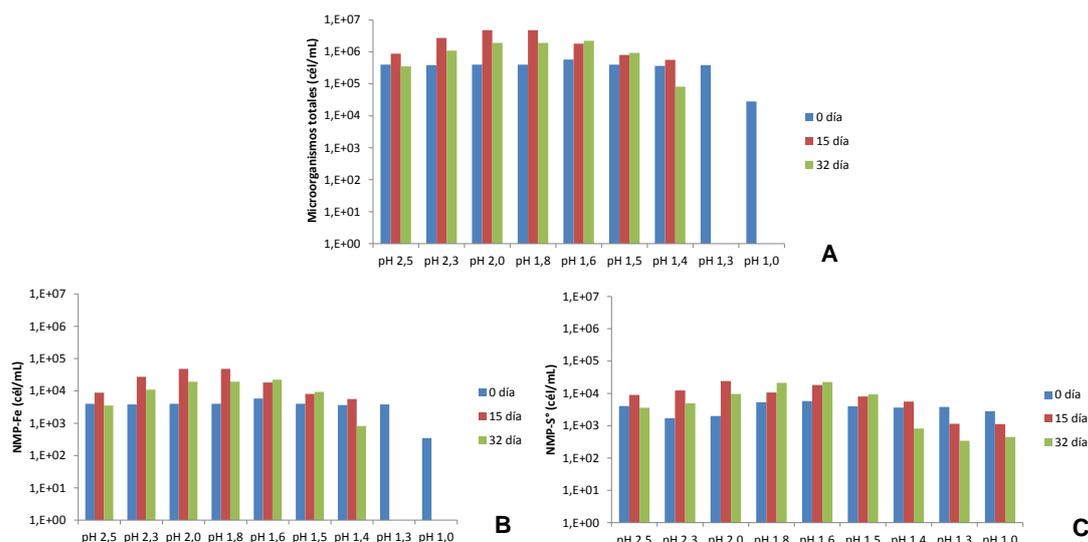


Figura 3.11 Recuento de microorganismos totales y viables hierro- y azufre-oxidantes como una función del pH. A: recuento de microorganismos por DAPI; B: NMP de hierro-oxidantes; y C: NMP de azufre-oxidantes

3.3.3 Efecto del aumento de la concentración de ácido en la población de microorganismos biolixiviantes

3.3.3.1 Análisis estadístico de los resultados de la experiencia

El diagrama de Pareto de la Figura 3.12 muestra el efecto estandarizado de las variables estudiadas (ácido, temperatura, suplemento de fuentes de energía e ion sulfato) y las interacciones dobles de éstas sobre la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 de la población microbiana en una disolución proveniente de la planta industrial. Se observó que la concentración de ácido, así como la interacción suplemento energético-temperatura afectaban de manera significativa la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 (actividad hierro- y azufre-oxidante), considerando un nivel de confianza del 95%.

El análisis de los efectos principales mostró la variación de la velocidad normalizada de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 (media de datos) en los dos niveles estudiados. Los resultados muestran que el aumento en la concentración de H_2SO_4 tiene un impacto claro en la velocidad de producción de ion férrico y de H_2SO_4 debido a que la media de la velocidad ponderada disminuye con el

aumento de la concentración de este ácido. En el caso de la temperatura, se observó claramente su influencia positiva en las velocidades de ataque del mineral. Desde el punto de vista del suplemento, se observó que la velocidad ponderada de producción de Fe^{3+} es levemente mayor que la de H_2SO_4 , debido a que la primera fuente utilizada es soluble (Fe^{2+}) y la segunda no (S^0). En el caso del sulfato, se observó que un aumento en la concentración afectaba levemente las velocidades (Figura 3.13).

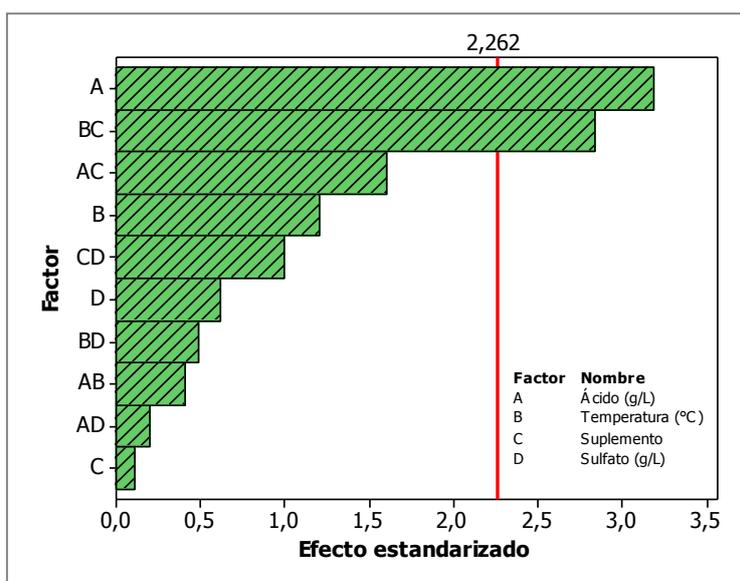


Figura 3.12 Diagrama de Pareto de los efectos estandarizados de distintas variables sobre la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 de la población microbiana del inóculo MEL

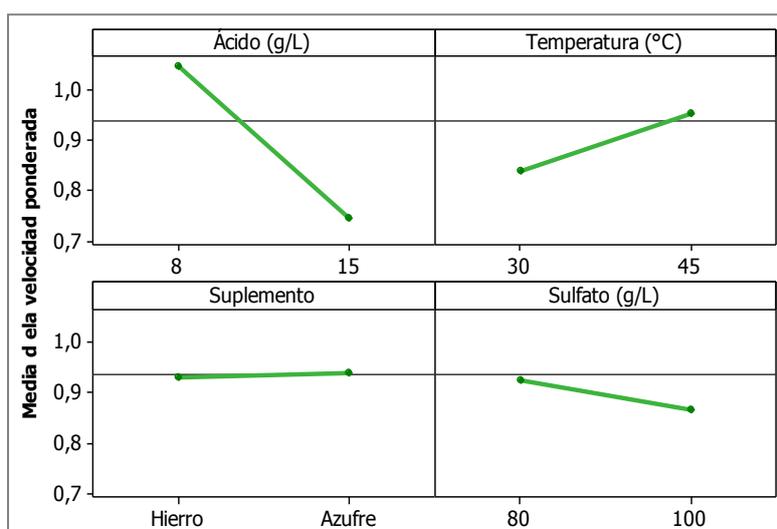


Figura 3.13 Diagrama del efecto principal de las distintas variables sobre la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 (media de datos)

Análisis de los efectos secundarios

Las interacciones entre los factores estudiados y las medias de las velocidades ponderadas de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4 se muestran en la Figura 3.14. En este caso, sólo se observó interacción (cruce de curvas) en el par suplemento energético-temperatura. El resto de las interacciones, a los niveles estudiados, no tuvieron un efecto significativo sobre las velocidades de producción de ambas especies químicas.

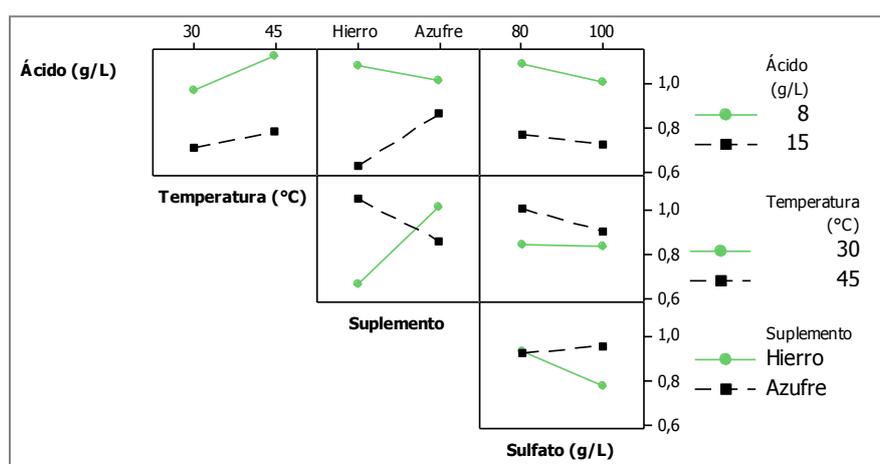


Figura 3.14 Velocidad ponderada (media de los datos) que refleja las interacciones entre las variables estudiadas y la velocidad de producción de Fe^{3+} y H_2SO_4

Los resultados mostraron el espectro de actividad hierro- y azufre-oxidante (en gama de color verde) en función de las dos variables ensayadas, concentración de ácido y temperatura. Se observó que la mayor actividad hierro-oxidante (verde tono oscuro), evaluada como la velocidad de producción de Fe^{3+} , se presentó en el menor nivel de ácido utilizado (8 g/L de H_2SO_4) y al mayor nivel de temperatura (45 °C). En el caso de la menor actividad hierro-oxidante (color verde tono claro), ésta se presentó a 30 °C y a una concentración de ácido de 15 g/L (Figura 3.15A). La mayor actividad azufre-oxidante (color verde tono oscuro) se presentó a 30 °C y 8 g/L de ácido. A diferencia de lo observado en la actividad hierro-oxidante, el aumento de la temperatura tuvo un efecto adverso en la población azufre-oxidante. De forma similar, la alta concentración de ácido (15 g/L) afectó negativamente a la actividad azufre-oxidante (Figura 3.15B). Los colores indican los rangos de velocidad de producción de iones férricos y ácido sulfúrico generado (Figura 3.15).

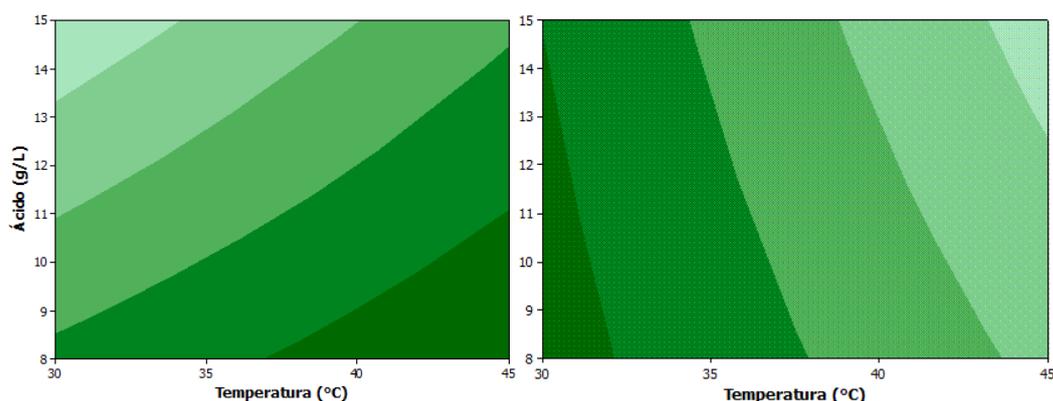


Figura 3.15 Diagrama de contorno de la velocidad de producción de Fe³⁺ (izquierda) y H₂SO₄ (derecha) en función de la concentración de H₂SO₄

3.3.3.2 Resultados del efecto de la concentración de ácido sobre el inóculo

Los resultados mostraron que la capacidad oxidante del Fe con el cultivo adaptado fue afectada por un aumento desde 8 a 15 g/L de ácido. Un aumento de la concentración de ácido a 30 g/L produjo un retardo notable en la cinética de oxidación del Fe²⁺ que, en este ensayo, se evidenció por un aumento del tiempo de incubación de, aproximadamente, 5-6 días, requeridos para la oxidación completa del ión ferroso. Cuando se utilizó disolución de alimentación proveniente de la planta industrial, con microorganismos no adaptados, no hubo oxidación (Figura 3.16).

La velocidad de oxidación del ion ferroso en el reactor con cultivo adaptado, medida en la condición de 8 g/L de ácido, fue de 5,4 mg Fe/día. Al aumentar la concentración de ácido de 8 a 15 g/L, la velocidad de oxidación disminuyó a un valor de 4,2 mg Fe/día, representando una disminución del 22%. Por otra parte, la velocidad medida en condición de 30 g/L fue de 3,2 mg Fe/día, representando una disminución de un 41% respecto de la observada en presencia de 8 g/L de ácido.

Con el aumento de la concentración de ácido en la disolución de alimentación, se observaron cambios en las especies microbianas presentes en la disolución de alimentación (Figura 3.17). Así, se observó un descenso de las concentraciones celulares de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum*

ferriphilum a medida que se aumentó tal concentración de ácido en el reactor (operado siempre a 30 °C).

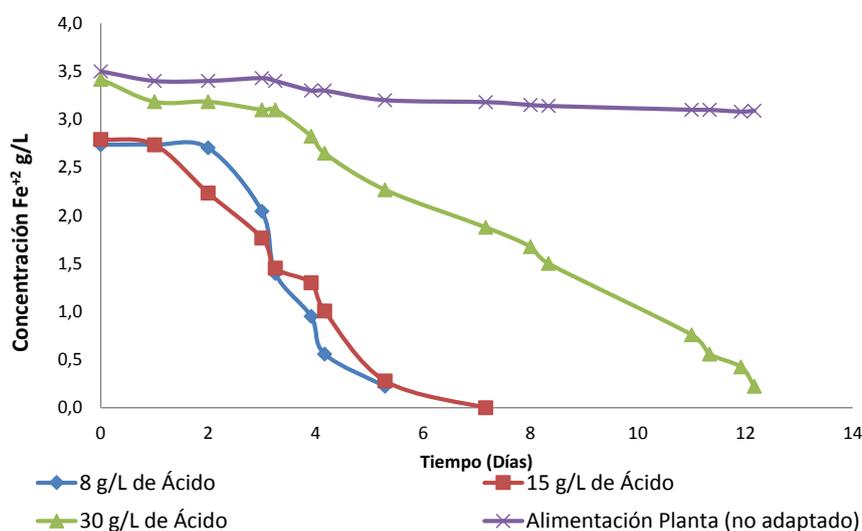


Figura 3.16 Efecto de la concentración de ácido sobre la actividad hierro-oxidante con inóculo previamente adaptado y no adaptado.

El microorganismo más abundante en niveles de acidez de 8 g/L fue *L. ferriphilum*; sin embargo, con un aumento en la concentración desde 8 a 30 g/L de ácido, esta especie disminuyó en número de células por mL en aproximadamente 2 órdenes de magnitud. Inicialmente, su concentración se detectó en el orden de 10^7 cel/mL (en 8 g/L de ácido), que disminuyó luego a 10^6 cel/mL al aumentar la concentración de ácido a 15 g/L y, finalmente, sólo alcanzó 10^5 cel/mL en presencia de 30 g/L de ácido total. A pesar de no ser uno de los microorganismos con mayor abundancia en la prueba, *A. ferrooxidans*, de modo similar a *L. ferriphilum*, disminuyó también su concentración en aproximadamente un orden de magnitud al pasar de 8 a 30 g/L de ácido total. Por otra parte, con respecto a los miembros del género *Sulfobacillus* spp., aunque se notó una leve disminución con el aumento de la concentración de ácido, sus niveles se mantuvieron cercanos a 10^5 cel/mL.

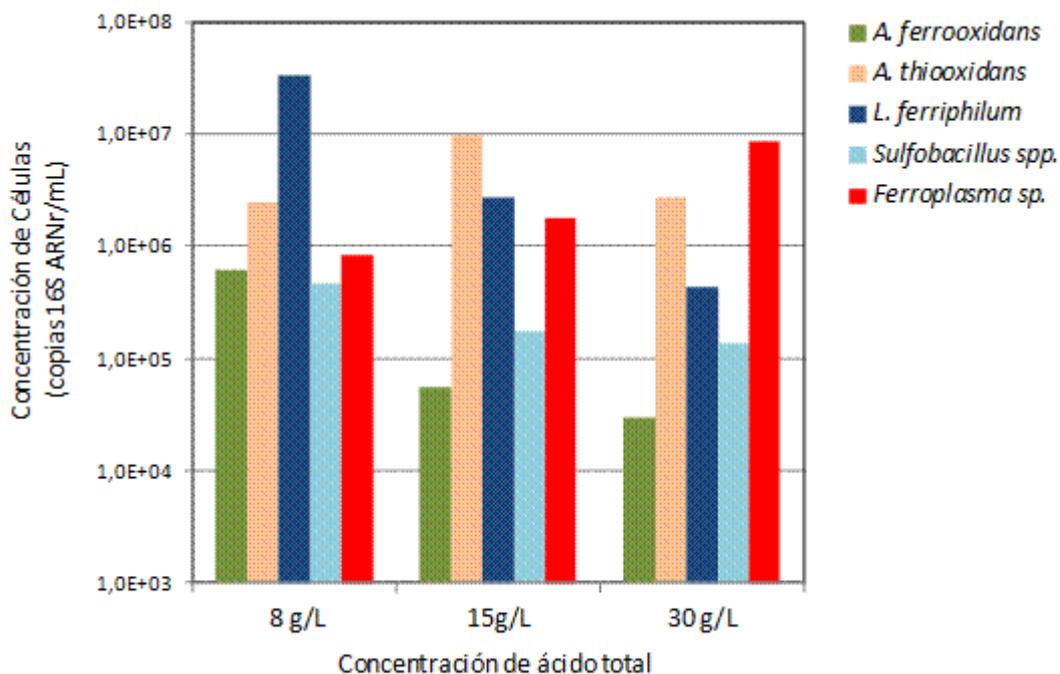


Figura 3.17 Dinámica poblacional durante el aumento de la concentración de ácido total desde 8 a 30 g/L

3.3.4 Efecto de la temperatura en el proceso de biolixiviación

3.3.4.1 Resultados metalúrgicos

En la experiencia en columnas, la recuperación de cobre se calculó determinando el metal contenido en las disoluciones de alimentación, en el percolado, en el mineral de entrada y en los residuos sólidos ya lixiviados. Los resultados mostraron un 64,0% de recuperación en el ensayo MC1 (temperatura ambiente); en los ensayos MC2 y MC3 la recuperación promedio fue del 77,0% para ambas columnas; es decir, una diferencia de más del 13% entre el ensayo MC1, a temperatura ambiente, y estos otros ensayos a mayor temperatura (Figura 3.18). La diferencia en la recuperación de cobre entre las columnas MC1 y MC2-MC3 está relacionada con la temperatura de operación de los ensayos debido a que la temperatura interna promedio en las columnas de los ensayos MC2 y MC3 fue de 35,2 °C. En estos ensayos, se fue incrementando la temperatura durante todo el ciclo de lixiviación hasta llegar a los 50 °C en el lecho del mineral. El ensayo control MC1 fue operado a temperatura ambiente (24,3 °C

promedio) y la temperatura interna del lecho de mineral fue de 22,0 °C, aproximadamente (Figura 3.19). La figura 3.20 muestra el consumo de ácido referido al ácido consumido por el mineral (mena y ganga) comparado con la recuperación de cobre obtenida. El mayor consumo de ácido fue para el ensayo MC1 (34,2 Kg/t) comparado con los 20,3 y 17,1 Kg/t consumidos por los ensayos MC2 y MC3, respectivamente.

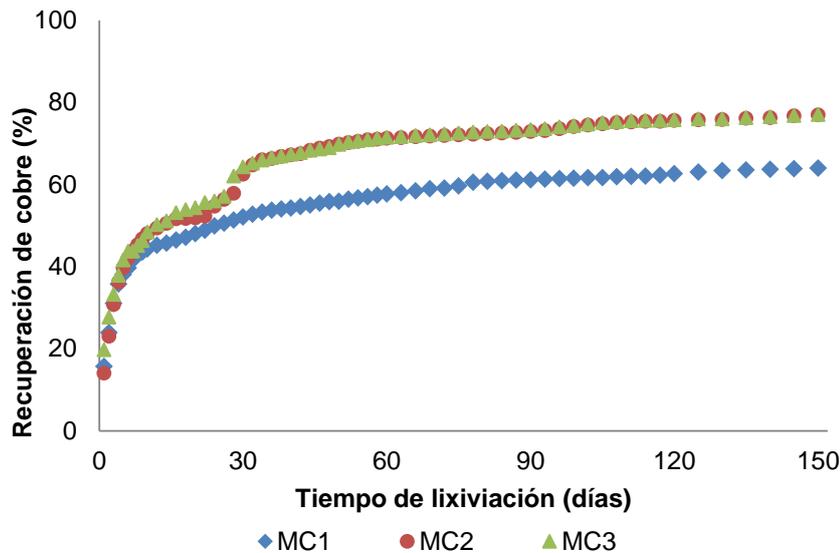


Figura 3.18 Recuperación de cobre de las disoluciones de percolado de las experiencias de biolixiviación, MC1 temperatura ambiente y MC2 y MC3 controlada desde 25 a 50 °C

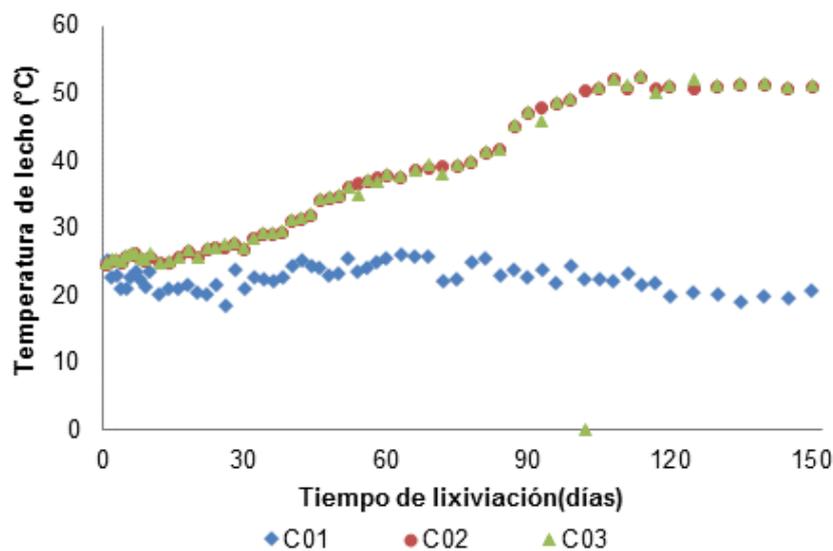


Figura 3.19 Temperatura del lecho del mineral en las experiencias de biolixiviación

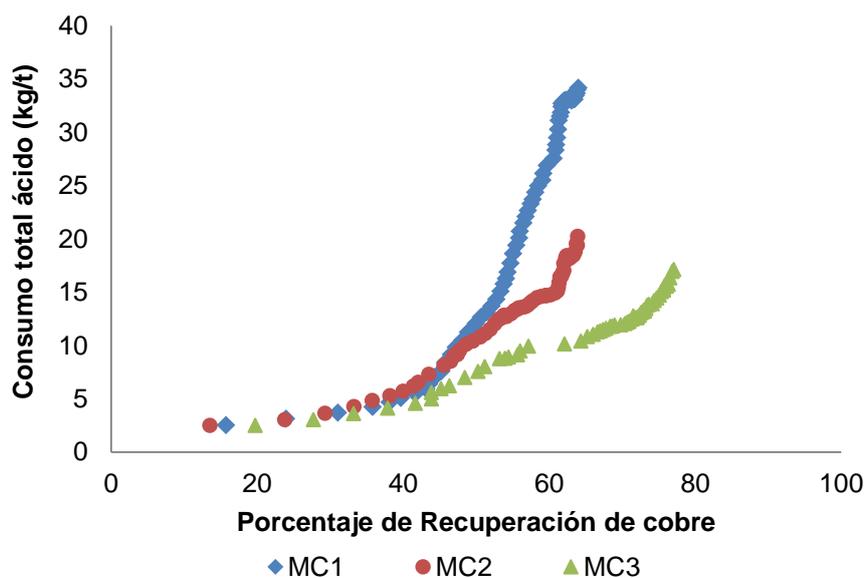


Figura 3.20 Recuperación de cobre frente a consumo total de ácido en el percolado. MC1: temperatura ambiente; y MC2 y MC3: temperatura controlada desde 25 a 50 °C

El pH inicial de los ensayos, es decir, en la disolución de percolado, fue de 2,6, bajando luego hasta 1,2. Esto se puede atribuir a que la concentración de ácido de la disolución de alimentación de los primeros 27 días estaba en torno a 5,5 g/L, más el aporte de H^+ de la etapa de extracción por disolventes. Después, el pH de la disolución de percolado aumentó (49 días) y se mantuvo entre 1,4 y 1,8 durante el resto del ciclo de lixiviación (Figura 3.21A). El potencial redox de la disolución de percolado aumentó a los 39 días y se mantuvo hasta los 80 días en un valor entre 800 y 850 mV, lo que concuerda con la oxidación del ion ferroso (Figura 3.21B).

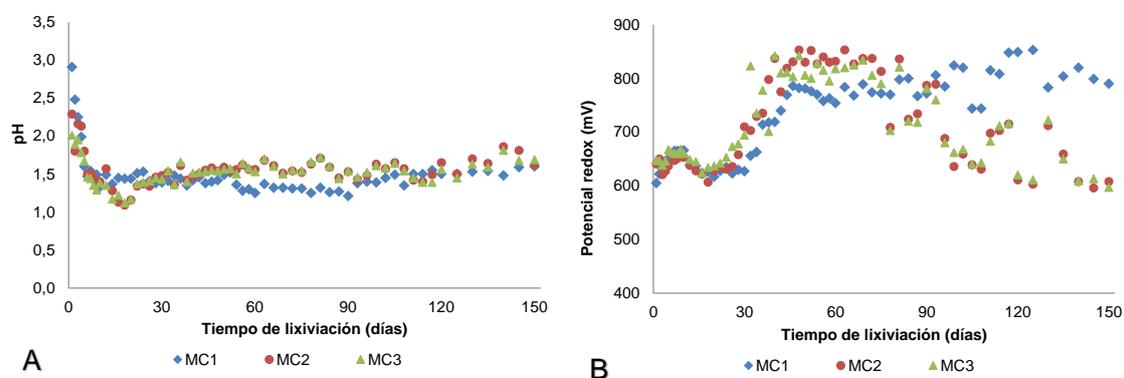


Figura 3.21 pH (A) y potencial redox (B) de las disoluciones de percolado. MC1: temperatura ambiente; y MC2 y MC3: temperatura controlada desde 25 a 50 °C

El comportamiento de la concentración de hierro en estos ensayos fue diferente en cada caso; para el ensayo MC1 el incremento de la oxidación del ion ferroso comenzó a los 28 días, aproximadamente, y se mantuvo hasta el final del ciclo de lixiviación (Figura 3.22A). Para los ensayos a mayor temperatura (MC2 y MC3), la oxidación del ion ferroso se inició, aproximadamente, en el día 21 aunque se observó que a los 93 días hubo una disminución de esta oxidación (Figura 3.22B y C) debido a la precipitación del ion férrico; esto fue corroborado por la menor recuperación de hierro total en los ensayos a mayor temperatura (Figura 3.23).

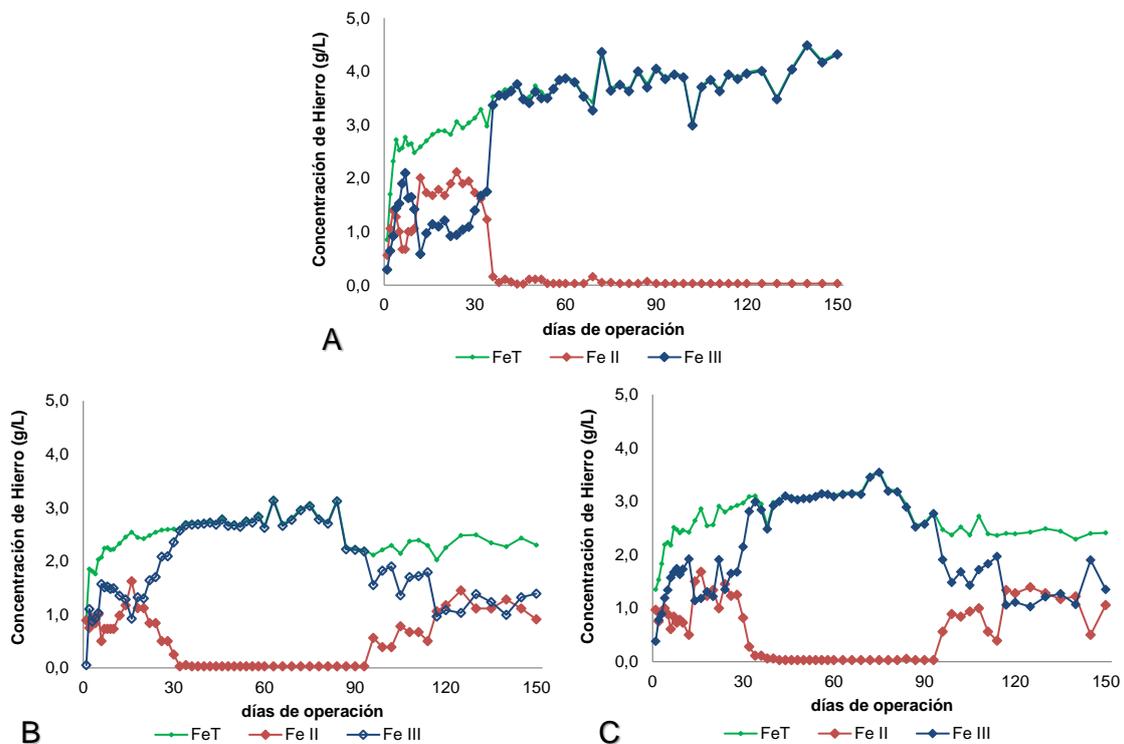


Figura 3.22 Comportamiento de la concentración de hierro en las disoluciones de percolado de los ensayos A) MC1, B) MC2 y C) MC3

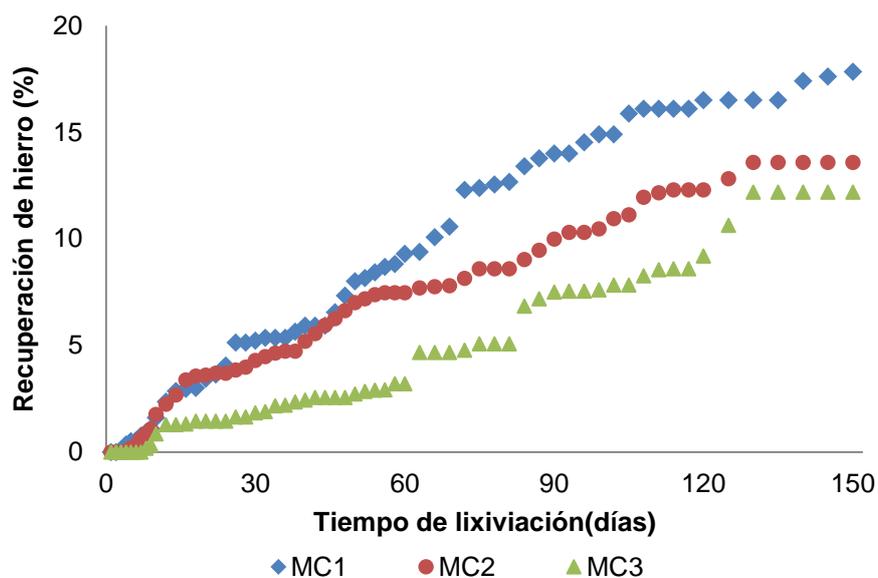


Figura 3.23 Recuperación de hierro total de las disoluciones. MC1: temperatura ambiente; y MC2 y MC3: temperatura desde 25 a 50 °C

Los análisis mineralógicos, por QEMSCAM®, del mineral de entrada y de los residuos de los ensayos de columnas MC1 y MC2 mostraron una disolución mayor del 90% de los minerales oxidados. En el caso de los sulfuros como la calcosina, se observó una disolución del 82,5% en el ensayo MC1 y para el ensayo a mayor temperatura fue del 89,6%. La disolución de la covelina fue mayor al 82%, aproximadamente, en los dos ensayos; y para la calcopirita, la disolución en la columna MC2, 37,0%, fue mayor que en la MC1, 21,6% (Figura 3.24 y Tabla 3.6).

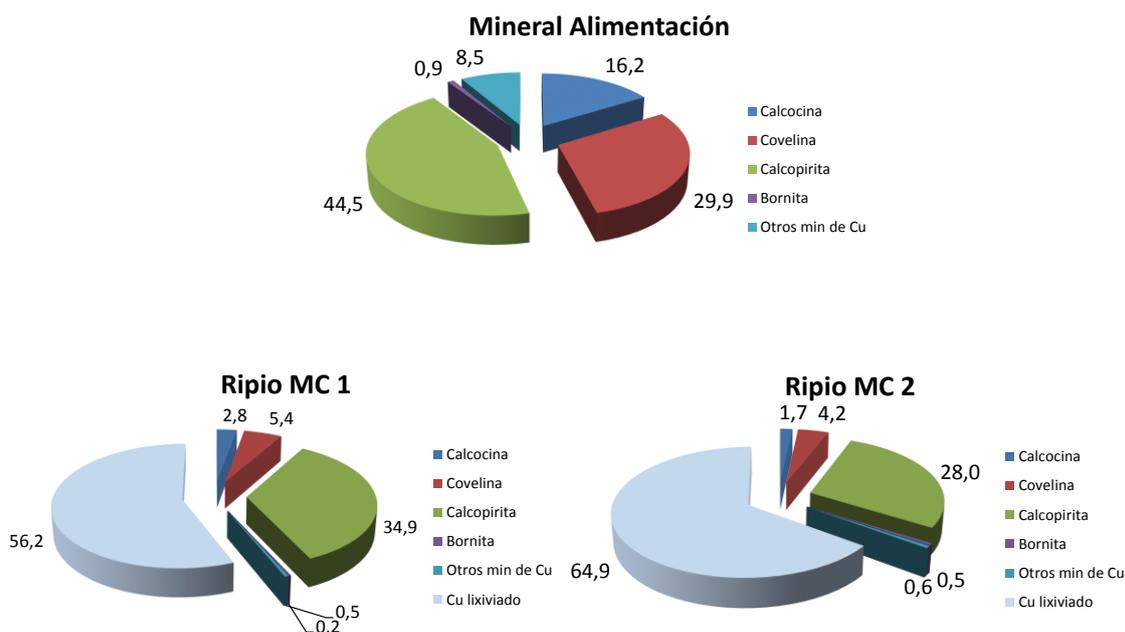


Figura 3.24 Análisis mineralógico de las especies de sulfuros de cobre de baja ley de los ensayos MC1 (temperatura ambiente) y MC2 (temperatura desde 25 a 50 °C)

Tabla 3.6 Porcentaje de extracción de cobre a partir de las especies mineralógicas de cobre

Ensayo	Temp (°C)	%Disolución				
		Calcocina	Covelina	Calcopirita	Bornita	Otros minerales de Cu
MC1	Ambiente	82,5	81,9	21,6	78,8	94,7
MC2	25 a 50	89,6	85,9	37,0	43,8	93,0

3.3.4.2 Caracterización de los microorganismos en la experiencia de biolixiviación

Los recuentos totales y viables de microorganismos se realizaron cada 20 días durante los 150 días que duró la experiencia. En los recuentos totales por tinción DAPI, se detectaron entre 10^5 y 10^6 cel/mL, en todos los ensayos y durante todo el ciclo de lixiviación (Figura 3.25A). En los recuentos utilizando el Número Más Probable (NMP) predominaron los microorganismos azufre-oxidantes, aunque se observó que a partir del día 100 de operación disminuyeron estos microorganismos, en los ensayos MC2 y MC3, en más de tres órdenes de

CAPITULO III

magnitud (Figura 3.25C). Finalmente, los microorganismos hierro-oxidantes disminuyeron entre los 80 y 100 días de operación, lo que coincidió con la ralentización de la oxidación del ion ferroso (Figura 3.25B y C).

La actividad oxidante del ion ferroso fue máxima a los 40 días de operación en todos los ensayos (Figura 3.26A). La actividad azufre-oxidante fue mayor en el ensayo CM1 (Figura 3.26B).

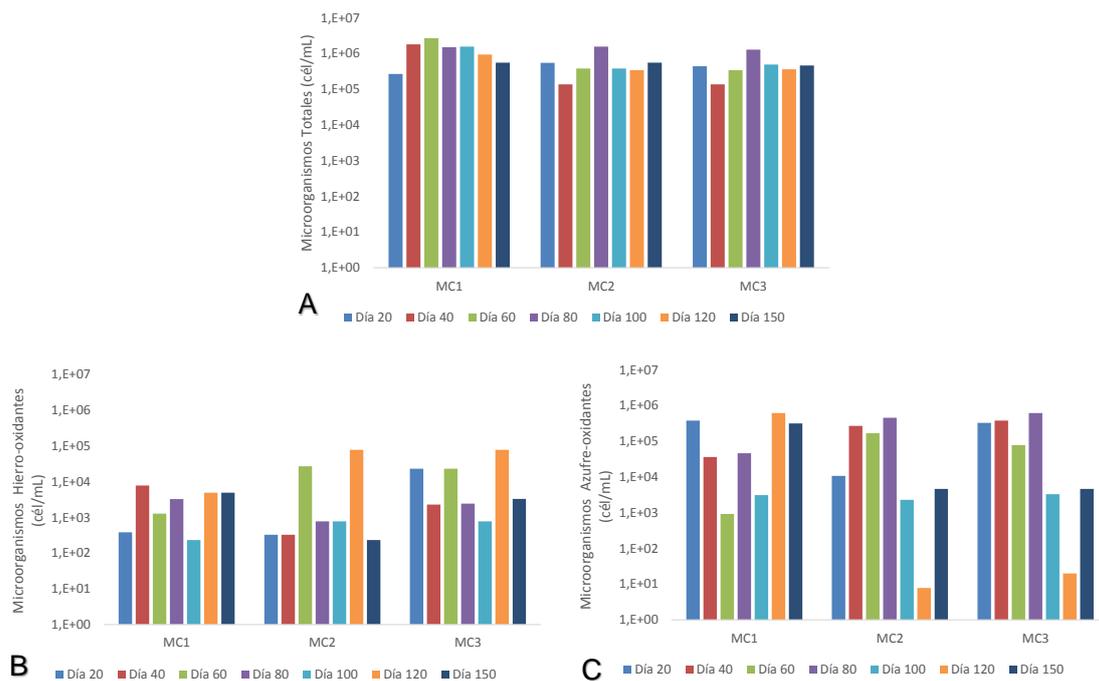


Figura 3.25 Determinación del Número Más Probable de microorganismos Totales (A), hierro-oxidantes (B) y azufre-oxidantes (C), a 28°C, en las disoluciones de percolado de los ensayos de biolixiviación

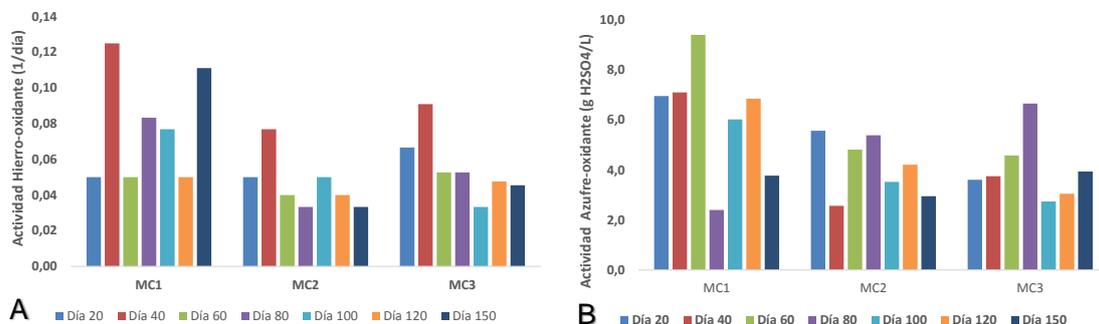


Figura 3.26 Análisis de la actividad hierro- (A) y azufre- (B) oxidante en la disolución de percolado durante los ensayos de biolixiviación

CAPITULO III

Los microorganismos predominantes en la disolución de percolado, determinados por el análisis de PCR en tiempo real, para los ensayos MC1, MC2 y MC3 fueron *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrophilum*, mientras que *Acidithiobacillus ferrooxidans* DM y D2, *Leptospirillum ferrophilum* y *Sulfobacillus* sp se detectaron en baja concentración. Debido al incremento gradual de la temperatura con el tiempo y, posiblemente, de la materia orgánica, se detectó una mayor concentración de *Ferroplasma acidiphilum* en los ensayos MC2 y MC3 (Figura 3.27).

El análisis realizado a los rípos (residuos sólidos), mediante PCR en tiempo real, mostró la presencia de *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, como las bacterias de mayor abundancia en el ciclo de lixiviación. No se apreciaron diferencias significativas entre las poblaciones de los rípos superior e inferior y, además, tampoco se detectaron arqueas (Figura 3.28). Los resultados de los análisis CARD-FISH mostraron una abundancia importante de las especies *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, mientras que las arqueas se detectaron en baja concentración (Figura 3.29).

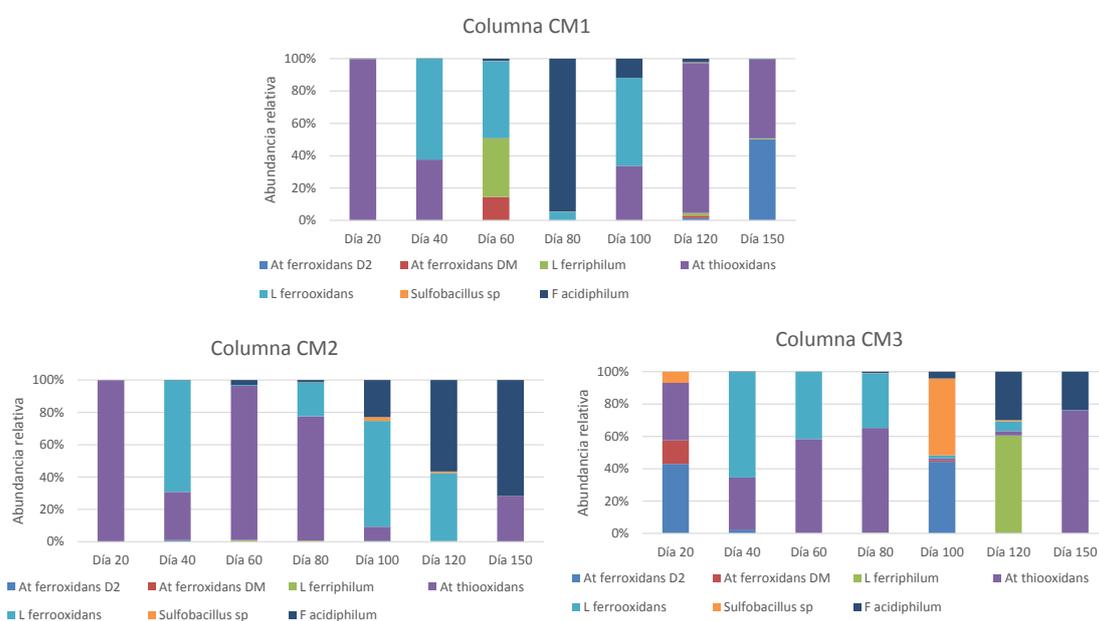


Figura 3.27 Cuantificación de microorganismos mediante PCR en Tiempo Real de la disolución de percolado de los ensayos CM1, CM2 y CM3

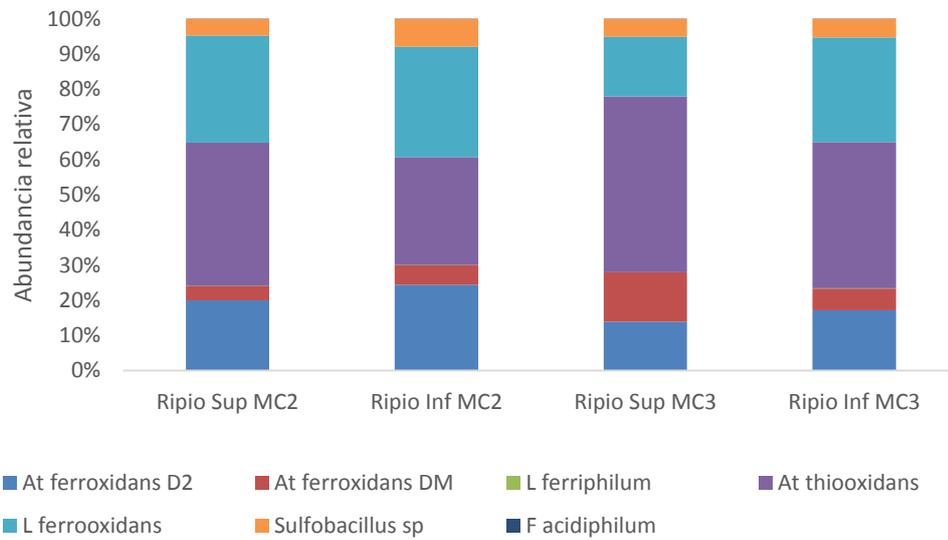


Figura 3.28 Cuantificación de bacterias mediante PCR en tiempo real de los rios superior e inferior de las columnas CM2 y CM3

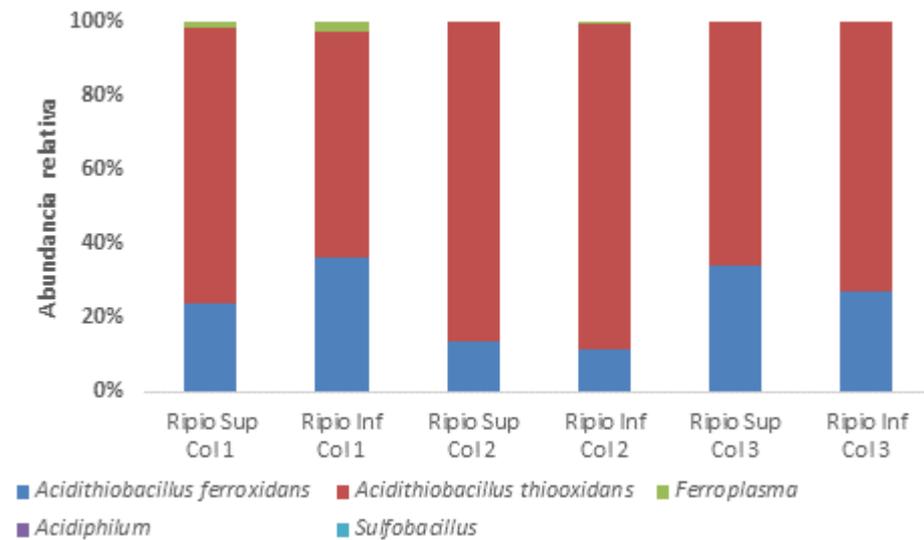


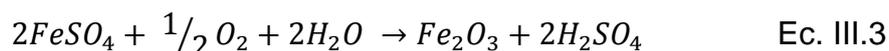
Figura 3.29 Cuantificación de microorganismos mediante CARD-FISH de los rios superior e inferior de las columnas CM1, CM2 y CM3

3.4 DISCUSIÓN

3.4.1 Efecto del pH en el proceso de biolixiviación

A partir de los distintos ensayos, se pudo determinar la precipitación del hierro a pH entre 1,8 y 2,5 (Figura 3.9), lo que concuerda con el análisis realizado al mineral lixiviado, el cual mostró porcentajes mayores de hierro que el 100% correspondiente al contenido inicial de la muestra (Figura 3.10). La importancia de la actividad hierro-oxidante generada a través de la oxidación del ion ferroso a férrico por los microorganismos es una etapa crítica para la biolixiviación de los minerales sulfurados. El metabolismo microbiano es la vía para generar el hierro férrico y el hierro ferroso actúa como dador de electrones en la cadena respiratoria microbiana (Ingledew, 1982). No resulta simple la descripción, pero tampoco la cuantificación, de la precipitación del hierro que se produce durante el proceso de biolixiviación, ya que el control preciso del pH es muy complicado debido a que hay un consumo y generación simultánea de protones a partir del gran número de reacciones que ocurren en el sistema (Casas et al., 1988). En los procesos de lixiviación en pilas, se requiere un oxidante, en este caso los iones férricos (Ec. III.1), para la solubilización en medio ácido de los minerales sulfurados de cobre. Una vez que la lixiviación consume los iones férricos, estos se regeneran por la acción bacteriana sosteniendo así la solubilización de los sulfuros durante el período de tiempo que dura el ciclo de lixiviación. Simultáneamente ocurre la disolución ácida de algunos componentes de la ganga, lo cual se traducirá en un aumento del pH de la disolución dentro de la pila debido a que la química del hierro está directamente relacionada con la acidez en los sistemas de lixiviación. Las especies o mezcla de especies formadas están influenciadas en su composición por el pH; así le ocurre a la ferrihidrita, con fórmula aproximada $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, formada principalmente en disolución con $\text{pH} > 5$, y a la goethita, FeOOH , cuya formación está promovida en disoluciones con $\text{pH} > 4$ (Watling et al., 2010). Por lo tanto, bajo condiciones de pH relativamente elevado y altas concentraciones de ion férrico, precipitan compuestos de hierro y jarositas. Algunas de las reacciones implicadas en la disolución de la ganga son la disolución de la pirrotita (FeS) o de la biotita (Ec. III.2 y Ec. III.3), que puede ser bastante reactiva en ambientes oxigenados ácidos

(Watling, 2006; Watling et al., 2010). Estos resultados concuerdan con lo encontrado por otros autores en procesos industriales de lixiviación, los cuales indican que la precipitación del ion férrico tiene lugar como hidróxidos ($\text{Fe}(\text{OH})_3$), óxidos (Fe_2O_3), goethita (FeOOH) y jarositas ($\text{MFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$), que se forman según las ecuaciones Ec. III.4 y Ec. III.5 (Dutrizac y MacDonald, 1974b). Estos compuestos son importantes debido a que su formación agota los iones férricos de la disolución de lixiviación, impactando en la producción de iones ferrosos, que es la fuente de energía para los microorganismos hierro-oxidantes. Así mismo, el agotamiento de ion férrico en la lixiviación puede también afectar la oxidación continua de algunos sulfuros.



Donde $\text{M}^+ = \text{H}_3\text{O}^+$, Na^+ , K^+ , NH_4^+ o Ag^+ .

Los problemas que puede originar la formación de hierro precipitado son:

- cubrir la superficie de los minerales formando barreras difusionales que retarden o impidan la oxidación del mineral de cobre; esta capa pasivante puede obstaculizar el proceso de lixiviación o incluso detenerlo por completo. En la investigación de Córdoba et al., 2008a, la causa principal de la pasivación de minerales sulfurados (calcopirita), en un medio sulfato férrico, fue la precipitación y la nucleación de jarositas sobre la superficie de la calcopirita; y b) la precipitación de hierro podría contribuir a la producción de finos en el interior de la pila de lixiviación afectando la permeabilidad de ésta (Watling et al., 2006).

Los resultados indicaron que en el intervalo de pH entre 1,6 y 2,3, se obtuvo la mayor actividad hierro-oxidante de los microorganismos (Figura 3.10 y Figura 3,11A). La adaptación de los microorganismos azufre-oxidantes a los

diferentes valores de pH fue mejor (Figura 3.11C) debido a su mayor resistencia a estas condiciones; un ejemplo es el de *Acidithiobacillus thiooxidans* que es un microorganismo Gram negativo, acidófilo, mesófilo autótrofo que obtiene energía a partir de la oxidación de azufre y compuestos reducidos de éste (George et al., 2008). Plumb investigó el efecto del pH en la actividad oxidante de algunas cepas en los procesos de biolixiviación y realizó experiencias en reactores en un intervalo de pH entre 0,5 y 3,5 (Plumb et al., 2008). Los resultados mostraron que *Acidithiobacillus thiooxidans* posee un intervalo amplio de pH óptimo. En general, las cepas (*L. ferriphilum*, *A. thiooxidans*, *S. thermosulfidooxidans* y *M. hakonensis*) utilizadas en el estudio crecieron con las fuentes de energía seleccionadas a pH entre 1,5 y 2,0, aunque el microorganismo *A. thiooxidans* mostró moderada actividad oxidante a menores pH (pH 1,0). Estos resultados concuerdan con los obtenidos para los microorganismos azufre-oxidantes en nuestro estudio (Figura 3,11A).

Otro posible efecto de la precipitación de hierro sobre la comunidad microbiana, aparte de la pérdida de este metal en el sistema, es que los precipitados pueden atrapar nutrientes tales como K^+ o NH_4^+ reduciendo la disponibilidad de estos para los microorganismos oxidantes del proceso. Además, los precipitados originados por la formación de jarosita también pueden atrapar microorganismos, como se muestra en la Figura 3.30.

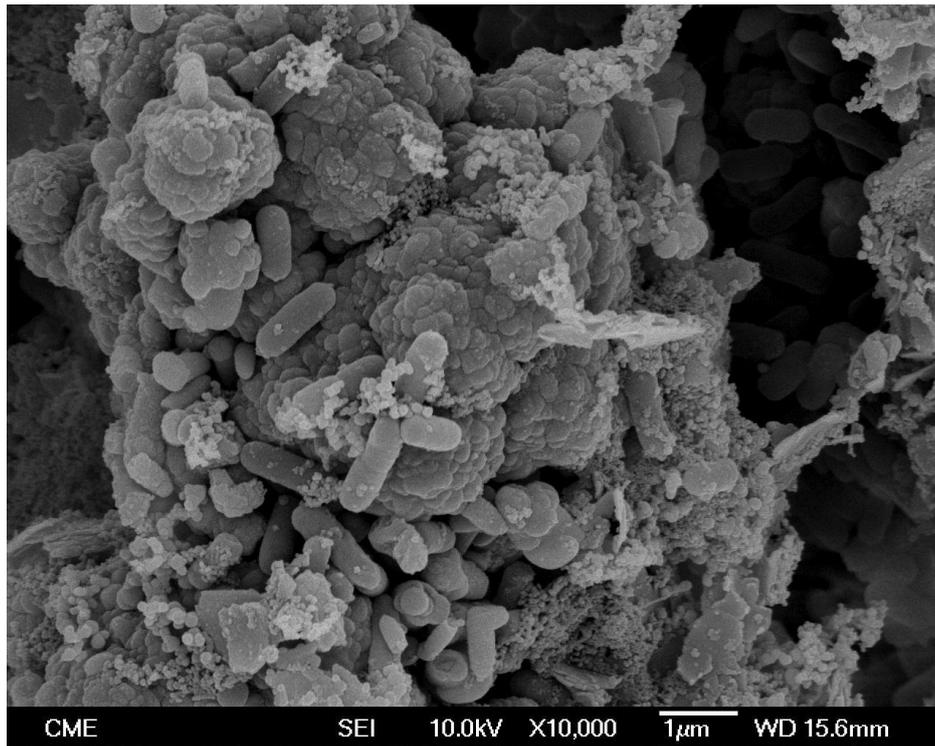


Figura 3.30 Micrografía SEM de la precipitación de jarosita con microorganismos del cultivo MEL

3.4.2 Efecto de la adición de ácido sobre los microorganismos en la biolixiviación

3.4.2.1 Análisis estadístico del efecto del ácido sobre el inóculo

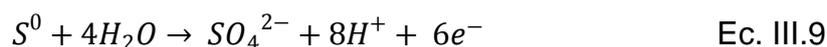
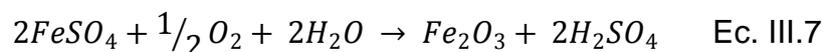
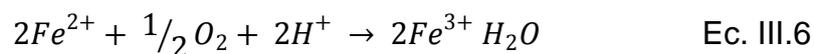
El diseño estadístico del experimento (DOE) permitió analizar el efecto del ácido sobre la actividad microbiana hierro- y azufre-oxidante del inóculo obtenido en una operación minera industrial. Sin embargo, fue necesario realizar una normalización de los resultados con el fin de establecer comparaciones válidas entre ambas actividades. Así, se tomó como valor 1 la actividad basal, es decir, a la menor condición de temperatura, concentración de sulfato y acidez. Las demás actividades ponderadas se determinaron obteniendo la relación entre el valor inicial de actividad y el valor de actividad basal.

Esta normalización se realizó para comparar los resultados de actividad oxidante de hierro y azufre expresados como las velocidades de producción de

Fe^{3+} y H_2SO_4 debido a que la cantidad de energía disponible de cada fuente ($\text{Fe} - \text{S}^0$) es diferente. Como se observó claramente (Tabla 3.7), la magnitud de la velocidad de producción de Fe^{3+} fue superior a la de H_2SO_4 , debido a que en la oxidación de iones ferroso a férrico hay un electrón involucrado, en cambio, en la oxidación del azufre elemental a sulfato hay 6 electrones. Las ecuaciones Ec. III.6 a Ec. III.9 muestran en forma reducida el cambio en el estado de oxidación de hierro y azufre, y los electrones involucrados en cada caso. Esto permite visualizar y comprender por qué la velocidad hierro-oxidante es aproximadamente 6 veces la azufre-oxidante.

Tabla 3. 7 Actividad hierro- y azufre-oxidante de la población microbiana en diferentes condiciones experimentales

Muestra	Fuente de energía	Velocidad de producción
		$\text{Fe}^{3+}/\text{H}^+$ (g/L día)
1	Hierro	0,666
2	Hierro	0,253
3	Hierro	0,884
4	Hierro	0,672
5	Azufre	0,109
6	Azufre	0,114
7	Azufre	0,085
8	Azufre	0,053
9	Hierro	0,567
10	Hierro	0,278
11	Hierro	0,756
12	Hierro	0,469
13	Azufre	0,146
14	Azufre	0,126
15	Azufre	0,066
16	Azufre	0,050
17	Hierro	0,797
18	Azufre	0,065
19	Hierro	0,856
20	Azufre	0,063



El diseño estadístico experimental mostró un efecto significativo de la concentración de ácido sobre la actividad microbiana del inóculo de planta. En el diagrama de Pareto (Figura 3.12), además del efecto de la adición de ácido, también se determinó que el par suplemento-temperatura afecta igualmente, de manera significativa, la actividad hierro- y azufre-oxidante. El análisis de los resultados de los efectos principales (Figura 3.13) corrobora, además, que el aumento de la concentración de ácido (H_2SO_4) disminuye la actividad oxidante del inóculo. La temperatura tuvo un efecto positivo en la velocidad de oxidación; en el caso de los suplementos con hierro y azufre hubo un leve aumento del hierro, y en el caso del sulfato, su aumento afectó levemente las velocidades de oxidación debido a que las concentraciones empleadas en el estudio no resultaron inhibitorias para el cultivo (Figura 3.14). En la literatura se encuentran descritas las concentraciones inhibitorias, que son mayores a 120 g/L de SO_4^{2-} (Watling et al., 2010; Cautivo et al., 2013).

El diagrama de contorno (Figura 3.15A) mostró que el aumento de temperatura favorece la velocidad de producción de Fe^{3+} por la alta actividad bacteriana conseguida a 45 °C; esto se explica por la presencia de especies termófilas moderadas en el inóculo. Por el contrario, esta mayor temperatura desfavoreció la velocidad de producción de H_2SO_4 (Figura 3.15B), aunque se observó que la actividad azufre-oxidante no decrecía a concentraciones mayores de ácido, lo que se confirmó por la elevada concentración de *Acidithiobacillus thiooxidans* detectada en las tres condiciones estudiadas (Figura 3.17).

3.4.2.2 Efecto de la adición de ácido en los microorganismos presentes en la biolixiviación

La capacidad oxidante en el seno de la disolución de alimentación, utilizando un cultivo previamente adaptado para crecer en dicha disolución, suplementada con ion ferroso, difiere de modo notable con la misma actividad medida a partir de una disolución de alimentación de planta a la misma temperatura (30 °C). Esto es debido a que en los ensayos utilizando cultivos previamente adaptados a altas concentraciones de ácido, estos fueron capaces de oxidar completamente el ion ferroso después de entre 5 y 10 días de incubación en las mismas condiciones de temperatura y concentración inicial de iones ferrosos (Figura 3.16). Esto demuestra que es posible mejorar la calidad microbiológica de las disoluciones de alimentación, en las actuales condiciones de operación de planta, mediante inoculación con microorganismos adaptados.

Con el incremento del ácido en la disolución de alimentación, se observaron cambios en la población microbiana (Figura 3.17); entre estos, la disminución de la concentración de algunos microorganismos (*Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum*). En el caso de *Acidithiobacillus thiooxidans*, su concentración se mantuvo constante en las tres condiciones estudiadas, a pesar de que no se adicionaron fuentes de energía utilizadas por este microorganismo. En estas pruebas, probablemente, la presencia de compuestos reducidos de azufre en la disolución de alimentación favoreció su crecimiento. *Sulfobacillus* spp. no tuvo mayor variación a las tres concentraciones estudiadas. En la literatura se indica que una cepa de *Sulfobacillus*, obtenida de una planta de biolixiviación de cobre y cultivada en pirita, tuvo mayor tolerancia al aumento de la acidez (pH 0,9) en comparación con otras cepas de *Leptospirillum* y de *Acidithiobacillus* (Liu et al., 2009).

La única arquea detectada en la población fue *Ferroplasma* spp., que, con el aumento de la concentración de ácido de 8 a 30 g/L de ácido total, mostró un aumento en su población de alrededor de un orden de magnitud, siendo la más abundante con acideces desde 15 a 30 g/L. Estudios previos han demostrado que los miembros del género *Ferroplasma* spp. presentan elevada tolerancia a

la acidez y, además, que pueden convertirse en el microorganismo predominante en operaciones industriales de biolixiviación de calcosina en pila (Hawkes et al., 2006b). Esta arquea es capaz de oxidar ion ferroso pero requiere de bajos niveles de materia orgánica para su crecimiento. Al igual que lo observado en el reactor de prueba, la concentración de especies del género *Ferroplasma* aumentan en reactores pilotos en serie para el tratamiento de minerales de Zn y Cu, específicamente en aquellos donde la disolución se vuelve más ácida, mientras que otros miembros de la comunidad disminuyen o no se detectan en tales condiciones de elevada acidez (Okibe et al., 2003).

3.4.3 Efecto de la temperatura en el ciclo de biolixiviación

La recuperación de cobre fue mayor en los ensayos CM2 y CM3 (Figura 3.18) y se observó un cambio de pendiente en las curvas de estos ensayos a los 26 días de operación que concuerdan con el aumento del potencial redox y de la oxidación del hierro (Figura 3.20B, Figura 3,21). Estas dos últimas variables tuvieron un comportamiento similar en el ensayo MC1, pero se produjo una menor recuperación de cobre, un 15% menos, en comparación con los ensayos MC2 y MC3. La mayor extracción de cobre en MC2 y MC3, se atribuyó al aumento de la temperatura. La columna control (CM1) tuvo un consumo de ácido total mayor que en los ensayos MC2 y MC3 (Figura 3.19) debido a que se irrigó en el ciclo de lixiviación con una concentración mayor de ácido, 5,42 g/L H⁺ comparado a los 3,97 y 3,86 g/L H⁺ en los ensayos CM2 y CM3, respectivamente, aunque esto no significó una mayor recuperación de cobre. El análisis mineralógico mostró mayor ataque del mineral del ensayo MC2 en cuanto a todos los sulfuros: calcosina, covelina y calcopirita. La mayor diferencia entre los dos ensayos se detectó en la disolución de la calcopirita (15%) (Figura 3.24). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la recuperación de cobre de acuerdo con las curvas cinéticas de los mismos ensayos.

El efecto de la temperatura sobre la recuperación de cobre de la calcopirita se ha descrito ampliamente en diversas investigaciones publicadas por distintos autores. Uno de estos estudios se realizó en dos columnas de 1 m. Una de ellas a temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) y otra a temperatura

controlada a 10 °C. El mineral usado fue un sulfuro de baja ley y el ciclo de lixiviación fue de 90 días. Las recuperaciones de cobre fueron de 41,2% en la columna a 10 °C y de 57,2% en la columna a 20 °C, con una diferencia de más del 17% en la extracción de cobre (Zepeda et al., 2007). Otra investigación realizada por Mutch et al., 2010 mostró el efecto de la temperatura en cuatro columnas que fueron operadas a 30, 40, 50 y 60 °C, usando cultivos mixtos como inóculos. Las recuperaciones de cobre obtenidas en los diferentes ensayos fueron del 17, 38, 64 y 73%, respectivamente.

Los ensayos MC1 y MC2 se inocularon con el inóculo MEL y el ensayo MC3 con el inóculo CPY. El inóculo CPY mostró una mayor concentración de microorganismos en los recuentos de bacterias totales y activas (Figura 3.3); esto estuvo relacionado con la procedencia del inóculo CPY debido a que se obtuvo en un reactor donde su enriquecimiento fue sometido a un mejor control operacional, comparado con el inóculo MEL que fue obtenido a partir del enriquecimiento en una columna de lixiviación. A pesar de la diferencia numérica, la mayor concentración de células en el cultivo CPY no significó una mayor recuperación de cobre en los ensayos en columnas.

El análisis de las impurezas en los ensayos MC2 y MC3, realizados en las disoluciones de percolado, mostró un promedio de 3,3 g/L de Cl⁻, 3,6 g/L de Al⁺³ y 60,7 g/L de SO₄⁻² en las dos columnas (CM2 y CM3). Estos niveles de impurezas no constituyeron niveles inhibitorios para los microorganismos, ya que los recuentos totales oscilaron entre 10⁵ y 10⁶ cel/mL (Figura 3.19) durante el ciclo de lixiviación. Otra investigación mostró niveles similares de microorganismos hierro-oxidantes determinados por NMP en muestras de procesos industriales (Soto et al., 2013). En la literatura, se encuentran descritas concentraciones inhibitorias del orden de 120 g/L de SO₄⁻², de 10 g/L de Al⁺³ y para el Cl⁻ concentraciones mayores a 14 g/L (Watling et al., 2010; Cautivo et al., 2013). Lo que es importante considerar es que, tal vez, estos iones y cationes, por si solos, no presentan inhibición pero, en su conjunto, pueden provocar un efecto sinérgico haciendo que la actividad bacteriana sea menor (Pradhan et al., 2008). Además, se debe tener en cuenta que las disoluciones de percolado fueron contactadas con fase orgánica en la primera etapa de extracción por

disolvente; en este sentido, un estudio realizado mediante la técnica de PCR en tiempo real, en muestras tomadas en diferentes días de operación, de las disoluciones que entran y salen de la etapa de extracción por disolvente de un proceso industrial, mostró cambios en la abundancia de los microorganismos antes y después del proceso, afectando de modo diferente a cada tipo de microorganismo. *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* se encontraron en mayor concentración en la disolución de entrada, mientras que la concentración de *Leptospirillum ferriphilum* fue mayor en las disoluciones de salida. En la determinación de actividades hierro- y azufre-oxidantes, por la técnica del Número Más Probable, se encontraron pequeños cambios en el proceso de extracción por disolvente (Demergasso et al., 2010).

El efecto de la temperatura sobre la oxidación de hierro (II) y azufre por microorganismos acidófilos está bien determinado (Franzmann et al., 2005). Distintos autores han trabajado con la influencia de esta variable. Así, Stott determinó que la temperatura óptima para las cepas *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* era de 28 °C (Stott et al., 2003). Por otra parte, en un estudio realizado con disoluciones industriales para la determinación de la actividad microbiana, en función de la temperatura y utilizando la ecuación de Ratkowsky que describe la relación entre la actividad bacteriana y la temperatura, para un sistema determinado (Franzmann et al., 2005), se llegó a la conclusión de que a 15 °C no se detectaba actividad oxidante de hierro ni de azufre, mientras que a 20 °C la actividad oxidante fue similar a la de las cepas *Leptospirillum ferrooxidans* y *L. ferriphilum*. Finalmente, no se pudo determinar la temperatura óptima para los cultivos hierro-oxidantes ya que el estudio se realizó sólo hasta 25 °C y los resultados obtenidos indicaron que era necesario realizar experiencias a mayor temperatura (Zepeda et al., 2007).

En el presente estudio, con el incremento de la temperatura, los microorganismos predominantes en la disolución de percolado fueron *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum* y, así mismo, se detectó una mayor cantidad de microorganismos del dominio de las arqueas (Figura 3.27), que pudieron contribuir a la mayor recuperación de cobre. El

microorganismo detectado fue *Ferroplasma acidiphilum*. Algunas de sus características son: su morfología en forma de barra recta y filamentosa, que obtiene su energía por medio de la oxidación de ion ferroso y pirita en bajas concentraciones y que su rango óptimo de temperatura está entre 37 y 39 °C (Johnson et al., 2005; Watling, 2006). Distintos estudios sugieren que en casos de aumento de disponibilidad de materia orgánica, como, por ejemplo, por la muerte celular de otros microorganismos, esta arquea aprovecha dicha materia orgánica para su crecimiento haciéndose predominante en el sistema (Okibe et al., 2003). En el caso de los rípios, los microorganismos predominantes fueron *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Estos resultados indican la importancia de la temperatura en la biolixiviación al favorecer tanto la actividad bacteriana como la recuperación química del cobre, lo que además queda corroborado por las investigaciones que se encuentran en la literatura. El mayor desafío para la lixiviación a temperaturas elevadas es su incremento durante la operación y, además, su mantenimiento en el seno de las pilas de lixiviación a nivel industrial. En la bibliografía, se encuentran diferentes artículos y patentes para favorecer el aumento de la temperatura en las pilas; algunos de ellos se nombran a continuación:

- Acondicionamiento del mineral agregando una disolución a mayor temperatura y concentración de ácido para calentar la pila y promover, así, una oxidación más rápida (Schnell, 1997).
- El uso de cubiertas para limitar la evaporación y/o el aislamiento de la pila de lixiviación (Schnell, 1997).
- El aumento de la capacidad de generación de calor de la pila por medio de la adición de otros sulfuros (Kohr et al., 2002).
- La transferencia de calor a la disolución de lixiviación en pilas desde otro proceso (Batty y Norton, 2003; Schnell, 1997).
- Aireación y riego controlado para maximizar el calor y su conservación en la pila (Norton y Crundwell, 2004).
- La adición de carbono (carbonato, dióxido de carbono, carbono orgánico) a la pila para mejorar el crecimiento microbiano y la actividad a temperaturas superiores a 60 °C (duPlessis y Kock, 2005).

Lo que si ha sido probado a nivel industrial es la mezcla del mineral con un sulfuro con un contenido de pirita superior al 2,5%; al final, esta variante no llegó a implementarse. Por otra parte, lo que se está usando con éxito a nivel industrial es recubrir la superficie de la pila (corona) con una termocubierta que tiene pegados los goteros que se utilizan para la irrigación de la misma; con esta modificación, se asegura el aumento, en unos grados más, de la temperatura en el lecho del mineral (Aguirre et al., 2015).

**CAPÍTULO IV: ESTUDIO DE LA DISOLUCIÓN DE LA COVELINA
EN LOS PROCESOS DE BIOLIXIVIACIÓN DE COBRE**

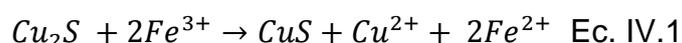
4.1 INTRODUCCIÓN

Como ya se ha dicho, la biolixiviación se presenta como una alternativa económicamente rentable para la obtención de cobre a partir de minerales sulfurados de baja ley. La demanda que ha tenido este metal en la última década ha permitido que esta tecnología posibilite recuperarlo de minerales que son descartados por otros procesos. En este aspecto, Chile es pionero en la utilización de esta tecnología a nivel industrial, siendo, además, uno de los mayores productores de cobre a nivel mundial. Hoy en día, aproximadamente, el 10% del cobre producido en forma de cátodos se genera por procesos de biolixiviación (Demergasso et al., 2010).

El proceso de biolixiviación de sulfuros de cobre a nivel industrial se realiza en pilas o botaderos, en función del tipo y de la ley del mineral sulfurado que contiene el yacimiento. En algunos casos, el mineral de baja ley (con un contenido promedio de cobre del 0,40%) se utiliza para construir pilas con mineral que viene directamente de la mina (mineral ROM), sin pasar por un proceso de molienda y de aglomerado y curado. Un ejemplo de esto último lo constituye la pila industrial del proyecto de Sulfuros de la Compañía Minera Escondida (Demergasso et al., 2011). Por otra parte, esta tecnología se puede aplicar a procesos de biolixiviación *in situ*, como el caso de Minera los Bronces, de Anglo American (Saldívar y Zárate, 2007).

Estudios basados en análisis mineralógicos realizados en procesos de biolixiviación de minerales sulfurados a nivel industrial han demostrado que a pesar de obtenerse recuperaciones de cobre aceptables en las pilas, los ripios, es decir, los residuos sólidos de la lixiviación, presentan un contenido de cobre remanente que, en la mayoría de los casos, corresponde a la calcopirita y a la covelina (Soto et al., 2013). Lee et al., 2011, también describen en su investigación que las especies de cobre que quedan en los ripios son principalmente calcopirita y covelina en un proceso de biolixiviación en que se utilizaron microorganismos mesófilos. Dew et al., 2000, describen un orden para las especies mineralógicas en el proceso de biolixiviación de sulfuros de cobre relacionado con la solubilidad o con el nivel refractario de las especies

mineralógicas usando un cultivo mesófilo. La secuencia de disolución, de mayor a menor, es la siguiente: Calcosina > Bornita > Cubanita > Covelina > Pirita > Enargita > Carrolita > Calcopirita. La calcopirita es refractaria y presenta bajas recuperaciones en pilas operadas en condiciones de temperatura ambiente (20 - 30 °C). Por otra parte, la covelina es un sulfuro de cobre que se encuentra en forma nativa en los yacimientos cupríferos o se genera en los procesos de biolixiviación como consecuencia de la solubilización ácida de calcosina (Walsh et al., 1986) (Ec. IV.1).



Entre los principales factores que influyen en la disolución de los minerales sulfurados de cobre se encuentran la temperatura y la relación Fe (III)/Fe (II), expresada como potencial redox (Boon et al., 1998). En ensayos a escala de laboratorio, la solubilización completa de covelina se ha reportado en experiencias realizadas a temperaturas de 65 °C o mayores (Lee et al., 2011). La mayoría de los estudios coinciden en que es posible lograr recuperaciones de cobre superiores al 70% por medio de la utilización de microorganismos termófilos (Acar et al., 2005) en experiencias realizadas a temperaturas superiores a 60 °C. Sin embargo, a nivel industrial el incremento de temperatura en el lecho de una pila es lento y el calor generado favorece principalmente el crecimiento de microorganismos termófilos moderados (Soto et al., 2013). Otro factor importante para la disolución de minerales de sulfuro en procesos biológicos y químicos es el oxígeno. En los procesos de biolixiviación en pilas industriales se suministra aire a través de tubos conectados a ventiladores eléctricos en la base de las pilas. No se dispone de datos empíricos que demuestren que la cantidad de aire inyectado es el óptimo para suministrar el oxígeno (y también CO₂) necesario en todo el plano vertical de la pila, ya que la inyección de aire puede encontrar resistencia por la presencia de partículas finas y/o de disolución que pueden tapar los conductos por donde se introduce el mismo. Existe, entonces la posibilidad cierta de que se produzcan zonas anaeróbicas en el interior de la pila. Por otra parte, a pesar de la importancia del oxígeno en la oxidación y disolución de sulfuros de cobre, hay publicaciones que indican que la disolución de covelina puede ocurrir de forma significativa en

condiciones anaeróbicas y en presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Donati et al., 1997). En general, la mayoría de los estudios enfocan sus esfuerzos en la lixiviación de calcopirita y para el caso de la lixiviación de covelina se registra comparativamente una menor cantidad de información en la literatura, acotándose sólo a un reducido número de investigaciones a nivel de laboratorio. El objetivo de este capítulo es evaluar la influencia de la temperatura y de diferentes concentraciones de hierro total en la disolución de la covelina proveniente de un mineral de sulfuro de baja ley en dos condiciones distintas: sin procesar y ya procesado (mineral ya lixiviado), y en un mineral de alta ley con un alto porcentaje de covelina en ensayos de biolixiviación, tanto en reactores como en columnas.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Microorganismos

Los microorganismos empleados en este estudio fueron acidófilos nativos del norte de Chile procedentes de la colección del Centro de Biotecnología de la Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. Se utilizó el cultivo CVS enriquecido en matraces de 300 mL a dos temperaturas: 30 y 50 °C. El enriquecimiento se llevó a cabo mediante el procedimiento descrito en el apartado 2.1.4. Específicamente para estos ensayos, del cultivo CVS se prepararon dos subcultivos: uno a 30 y otro a 50 °C, los cuales fueron utilizados en los experimentos en reactores y columnas. Para la caracterización de los cultivos se realizó el recuento de los microorganismos totales y el cálculo del número más probable (NMP) de bacterias hierro- y azufre-oxidantes. La oxidación del Fe (II) y del azufre por parte de los cultivos, se determinó mediante el consumo de Fe (II) y la producción de ácido. La cuantificación específica de microorganismos se hizo mediante la técnica PCR en tiempo real descrita en el capítulo II (apartado 2.6).

4.2.2 Ensayos en reactores

Se llevaron a cabo en reactores de 2 L de capacidad, usando dos tipos de minerales: uno de baja ley (mineral MSC) previamente procesado y, también, el mismo mineral sin procesar; y, además, otro mineral de alta ley en covelina. La composición química, mineralógica y granulométrica de los minerales se indicó en el apartado 2.2. Ambos minerales se redujeron de tamaño a menos de 200 mallas Tyler (tamaño de partícula de 75 μm) y se sometieron a ciclos de lixiviación de 32 días, a las temperaturas de trabajo de 30 y 50 °C, dependiendo del cultivo utilizado. Los ensayos se realizaron en un equipo cerrado, con control de temperatura, en el cual se introdujeron los reactores (Figura 4.1). La agitación fue de 300 rpm y las densidades de pulpa del mineral de baja ley y del mineral de alta ley de covelina fueron del 2 y 5%, respectivamente. El pH se mantuvo constante a 1,6. Se adicionó 1 L/min de aire. El diseño de los ensayos que se llevaron a cabo se muestra en la Tabla 4.1.



Figura 4.1 Equipo de calefacción utilizado en los ensayos con reactores

Tabla 4.1 Diseño de los ensayos de biolixiviación de covelina en reactores

Ensayo	Tipo de mineral	Fe II (g/L)	Temperatura (°C)	Inóculo
MR1	Sin procesar baja ley	3	30	inoculado
MR2	Procesado baja ley	3	30	inoculado
MR3	Sin procesar baja ley	3	50	inoculado
MR4	Procesado baja ley	3	50	inoculado
MR5	Mineral alta ley	3	30	inoculado
MR6	Mineral alta ley	3	50	inoculado
MR7	Mineral alta ley	3	30	Sin inocular
MR8	Mineral alta ley	3	50	Sin inocular

4.2.3 Ensayos en columnas

Para estos ensayos se operaron por duplicado 6 columnas de 0,5 m de altura y 0,09 m de diámetro. Se prepararon 14 cargas de aproximadamente 3 kg cada una, que se emplearon para el relleno de las columnas y para los diferentes análisis. El ciclo de lixiviación fue de 120 días y como disolución de riego se empleó un refinado sintético con una concentración de 0,1 g/L de Cu, añadido como sal de sulfato de cobre ($\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), y 2 g/L de H_2SO_4 . El caudal de riego fue de 6 L/h.m² y la inoculación se produjo a razón de 10 L/t. Los ensayos se realizaron en un equipo con control de temperatura como se muestra en la Figura 4.2. El diseño operacional de las columnas se muestra en Tabla 4.2.



Figura 4.2 Equipo de calefacción utilizado en los ensayos en columna

Tabla 4.2 Diseño de las pruebas de biolixiviación de la covelina en columna

Ensayo	Tipo de mineral	Tipo de Ley	Fe II (g/L)	Temperatura (°C)
MC1	Procesado	Baja Ley	3	50°C
MC2	Procesado	Baja Ley	3	30°C
MC3	Procesado	Baja Ley	6	50°C
MC4	Procesado	Baja Ley	6	30°C
MC5	No procesado	Baja Ley	6	50°C
MC6	No procesado	Baja Ley	3	20°C

El mineral utilizado para los ensayos en columna fue un sulfuro de baja ley, una muestra de mineral MSC procesado y sin procesar y para los ensayos en reactores el mismo mineral de baja ley antes mencionado y un mineral de alta ley de covelina proveniente de una muestra seleccionada de una mina de cobre del norte de Chile. El mineral de alta ley contenía 40,0% de cobre y 10,7% de hierro, con un contenido del 34% de covelina. La composición mineralógica global del mineral MSC, procesado y sin procesar, y del mineral de alta ley se muestra en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3 Análisis mineralógico de los minerales biolixiviados

Mineral	Fórmula	Mineral sin procesar	Mineral Procesado	Mineral alta ley
Calcosina	$\text{Cu}_2\text{S} - \text{Cu}_{1,4}\text{S}$	0,58	0,1	5,7
Covelina	$\text{Cu}_{1,4}\text{S} - \text{CuS}$	0,3	0,28	34,2
Calcopirita	CuFeS_2	0,56	0,47	26,4
Brochantita	$\text{Cu}_4(\text{SO}_4)(\text{OH})_6$	0,02	0,01	0
Crisocola	$(\text{Cu},\text{Al})_2\text{H}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot n(\text{H}_2\text{O})$	0,05	0,02	0
Cu-con arcilla	$\text{Cu}_x \cdot (\text{K},\text{Fe},\text{Mg})_x \cdot \text{Al}_x \cdot \text{Si}_x \cdot (\text{OH})_x$	0,02	0	0,8
Pirita	FeS_2	2,73	3,32	2,6
Otros sulfuros	$\text{PbS} / \text{ZnS} / \text{MoS}_2$	0,11	0,13	0,1
Óxidos de hierro	$\text{FeO}(\text{OH}) / \text{Fe}_2\text{O}_3 / \text{Fe}_3\text{O}_4$	1,14	1,14	0
Cuarzo	SiO_2	23,73	25,51	0
Clorita	$(\text{Mg},\text{Fe}^{2+})_5\text{Al}[(\text{OH})_8\text{AlSi}_3\text{O}_{10}]$	6,92	6,41	0
Jarosita	$(\text{K},\text{Na},\text{H}_3\text{O})\text{Fe}^{3+}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$	0,03	0,03	2,6

Se realizaron, periódicamente, análisis químicos de Cu, Fe^{T} , Fe^{+2} y H^+ , se controlaron el pH y Eh, y también el SO_4^{-2} y Al^{+3} . La composición de la comunidad microbiana se caracterizó del mismo modo que en los cultivos iniciales (apartado 4.2.1). El mineral de alimentación y el residuo del ciclo de lixiviación se analizó por el método QEMSCAM® (apartado 2.5.3) y se hizo un análisis de cobre secuencial (apartado 2.4.5).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Caracterización de los cultivos

En primer lugar, se realizó la caracterización de la actividad hierro- y azufre-oxidante de los dos subcultivos, crecidos a 30 y 50 °C, provenientes del cultivo CVS. La actividad hierro-oxidante se determinó mediante la medición del consumo de Fe (II) siendo el tiempo de oxidación de 4 días para los dos subcultivos. La producción de ácido alcanzó las concentraciones finales de 3,9 y 4,3 g/L de H₂SO₄ para los cultivos de 30 y 50 °C, respectivamente. La Figura 4.3 muestra que los recuentos totales DAPI de ambos cultivos alcanzaron una concentración de 10⁷ cel/mL. Con relación al número más probable de células, para los microorganismos hierro-oxidantes (MPN-Fe) fue del mismo orden de magnitud, 10⁴ cel/mL, en ambos cultivos. Para los microorganismos azufre-oxidantes los valores de MPN-S^o fueron de 10⁵ y 10³ cel/mL para los cultivos a 30 y 50 °C, respectivamente.

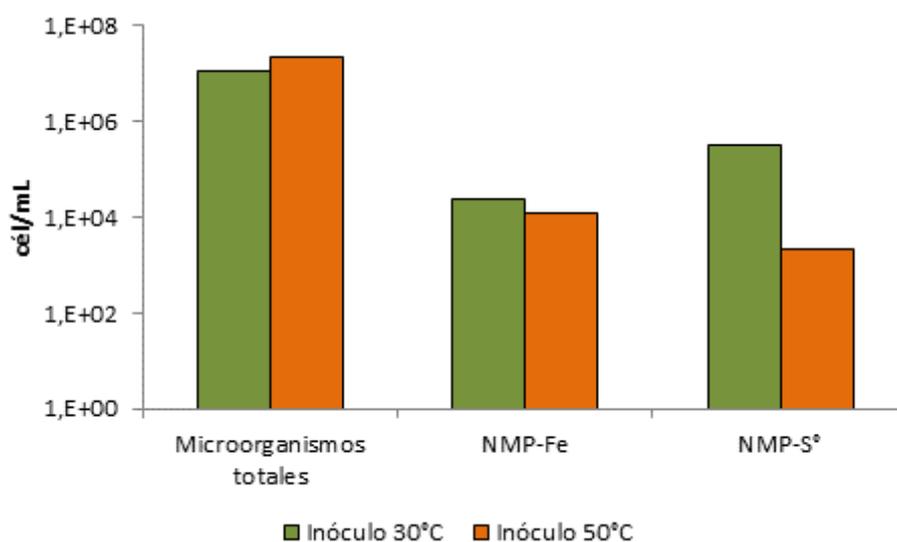


Figura 4.3 Caracterización de los inóculos utilizados en los diferentes experimentos de biolixiviación

Los resultados de la cuantificación específica de los microorganismos presentes en la comunidad microbiana, determinados por PCR en tiempo real (Figura 4.4), muestran que los principales microorganismos en el cultivo crecido a 30 °C fueron *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, mientras

que para el cultivo crecido a 50 °C predominaron las especies de *Acidithiobacillus caldus* y *Sulfobacillus sp.* (Figura 4.4).

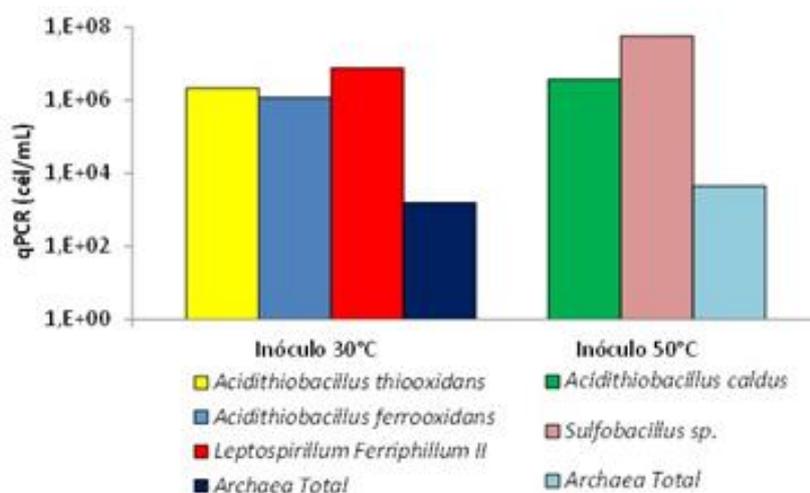


Figura 4.4 Cuantificación de las diferentes especies microbianas presentes en los subcultivos crecidos a 30 y 50 °C

4.3.2 Biolixiviación en reactores

4.3.2.1 Recuperación de cobre de los minerales de baja y alta ley

La Figura 4.5 muestra los perfiles de recuperación de cobre del mineral de baja ley, procesado y sin procesar. La mayor recuperación de cobre (92,8%) se obtuvo en el ensayo con el mineral sin procesar (MR3) y a 50 °C. Los ensayos MR4 y MR1 alcanzaron una recuperación similar cercana al 80% y la menor recuperación (62%) correspondió al mineral procesado (MR2) y a 30 °C. Para los ensayos del mineral de alta ley de covelina (Figura 4.6), la mayor recuperación se obtuvo en los dos experimentos inoculados MR6 y MR5, con recuperaciones del 96,4 y 87,6% de cobre, respectivamente.

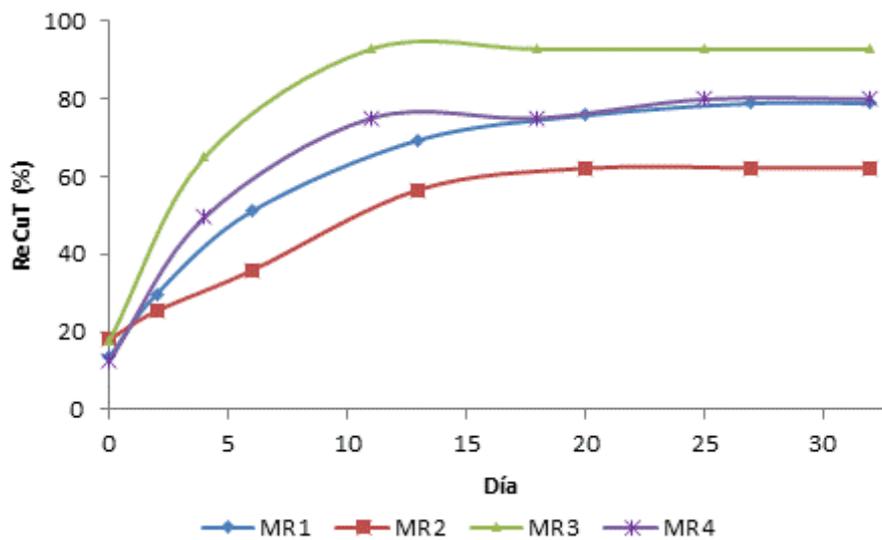


Figura 4.5 Recuperación de cobre del mineral de baja ley: procesado y sin procesar

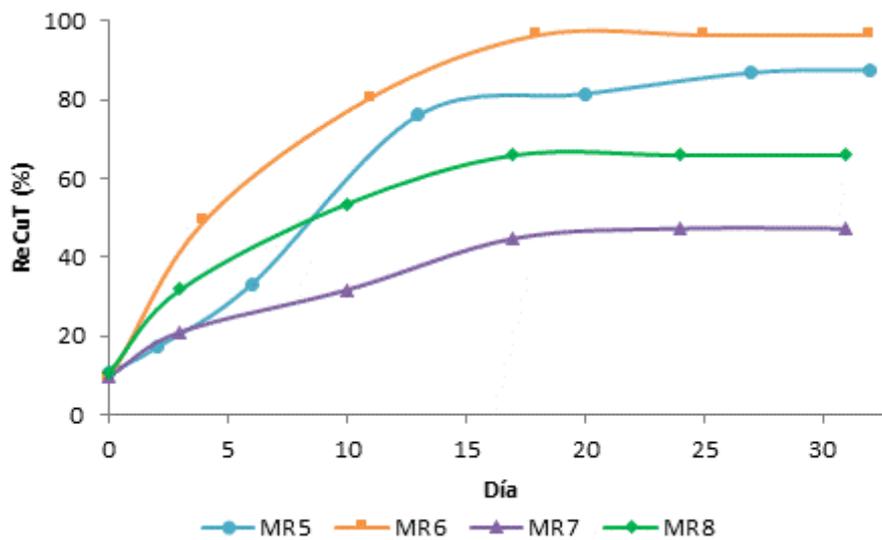


Figura 4.6 Recuperación de cobre del mineral de alta ley

Los valores de recuperación de cobre coinciden con los resultados del análisis de cobre secuencial realizados a los minerales de la alimentación y de los residuos de lixiviación de los minerales de baja ley, procesado y sin procesar, obteniéndose los mayores porcentajes de extracción de cobre en el ensayo del mineral procesado a 50 °C (MR3) (Tabla 4.4). Para el caso del mineral de alta

ley de covelina, se obtuvo una mayor recuperación en los ensayos inoculados en comparación con los libres de células, siendo la extracción total de cobre a 50 °C ligeramente superior a la obtenida a 30 °C.

Tabla 4.4 Biolixiviación en reactores: análisis secuencial de la recuperación de cobre

Prueba	%Cu extraído de minerales oxidados	%Cu extraído de sulfuros secundarios	%Cu extraído de sulfuros primarios	ReCuT (%)
MR1	89,2±1,6	88,0±2,1	71,7±2,4	84,7±1,8
MR2	79,5±1,8	71,5±1,8	69,1±1,7	71,4±1,6
MR3	96,3±2,1	99,0±0,9	75,5±1,5	93,5±1,2
MR4	89,7±0,9	92,2±1,1	80,9±1,2	87,7±1,4
MR5	98,2±1,1	92,8±1,5	95,8±1,5	94,8±0,9
MR6	99,1±1,3	98,9±1,1	98,5±1,3	98,7±1,7
MR7	86,8±1,1	50,2±2,4	81,0±2,0	69,6±2,0
MR8	99,3±3,1	98,8±2,1	94,4±2,6	96,4±1,5

ReCuT (%): porcentaje de recuperación de cobre

El potencial redox inicial en los ensayos con mineral de baja ley (procesado y no procesado) fue de aproximadamente 600 mV, aumentando a 800 mV en los ensayos MR1 y MR2, operados a 30 °C y después de 5 días de operación. En los reactores que operaban a 50 °C, el Eh aumentó sólo a 750 mV después de 18 días (Figura 4.7A). Esta diferencia podría ser atribuida a una mayor precipitación del hierro férrico en las pruebas a 50°C.

En los ensayos con el mineral de alta ley, el potencial redox de partida fue de aproximadamente 550 mV en los ensayos inoculados (MR5 y MR6) y aumentó a valores superiores a 800 mV después de 13 días de operación (Figura 4.7B). El máximo potencial redox registrado en el reactor no inoculado MR8 fue de 655 mV, mientras que en el ensayo MR7 alcanzó valores superiores a 800 mV después de 17 días de operación. Sin embargo, a pesar del alto valor del potencial redox observado en el ensayo MR7 (no inoculado y a 30 °C) esto no se reflejó en una mayor recuperación de cobre puesto que fue considerablemente inferior a la obtenida en el ensayo MR8 (no inoculado y a 50 °C).

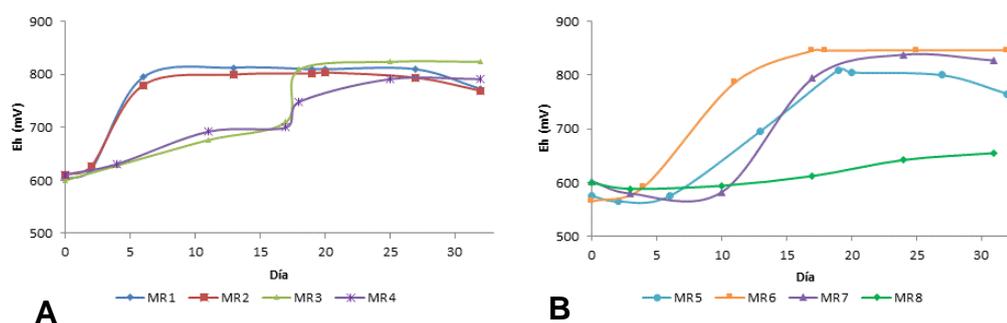


Figura 4.7 Potencial redox de las disoluciones del percolado en los ensayos de biolixiviación de los minerales de alta y baja ley

El pH al inicio de la lixiviación en las columnas se trató de mantener constante a un valor en torno a 1,6 pero, debido al consumo inicial de ácido por la disolución del mineral, los valores fluctuaron entre 1,8 y 1,5 en el caso del mineral de baja ley (Figura 4.8A). El comportamiento en los ensayos con mineral de alta ley fue similar y el mayor aumento de pH se observó en los reactores no inoculados (Figura 4.8B).

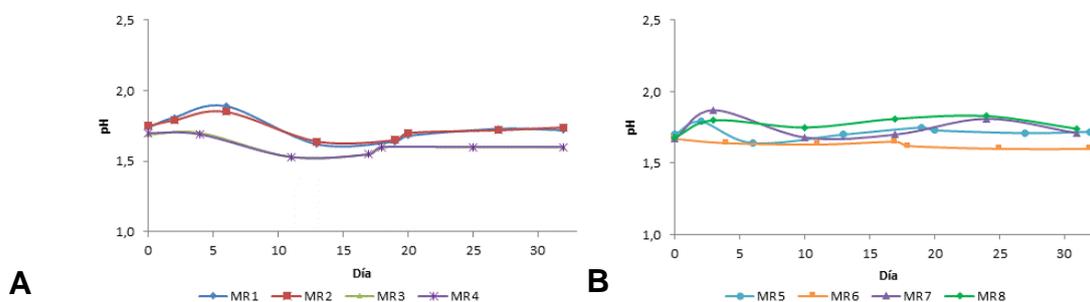


Figura 4.8 pH de las disoluciones de percolado de los ensayos de biolixiviación de los minerales de alta y baja ley

4.3.2.2 Análisis mineralógico de los residuos de biolixiviación del mineral de alta ley

Los datos obtenidos de las fases sólidas mediante el análisis mineralógico por QEMSCAM® incluyen el contenido de cobre, calcosina, covelina, calcopirita y minerales oxidados. La Figura 4.9 muestra los resultados obtenidos para las

muestras MR5 y MR6, correspondientes al mineral de alta ley inoculado y tratado a 30 y 50 °C, durante 32 días. Los resultados del análisis de los rípios de las experiencias indicaron una solubilización elevada de covelina para las dos temperaturas en estudio (30 y 50 °C) y los porcentajes de recuperación de cobre en estos reactores fueron del 98,7 y 99,9%, respectivamente. Estos resultados fueron también corroborados por análisis de difracción de rayos X, en los que se pudo observar la disolución de la covelina en los reactores MR5 y MR6 (Figura 4.10). En el reactor MR5 (30 °C), los niveles de solubilización de calcosina y calcopirita fueron 79,4 y 86,7%, respectivamente, mientras que en el reactor MR6 (50 °C) fueron superiores, 98,6 y 95,1%, respectivamente.

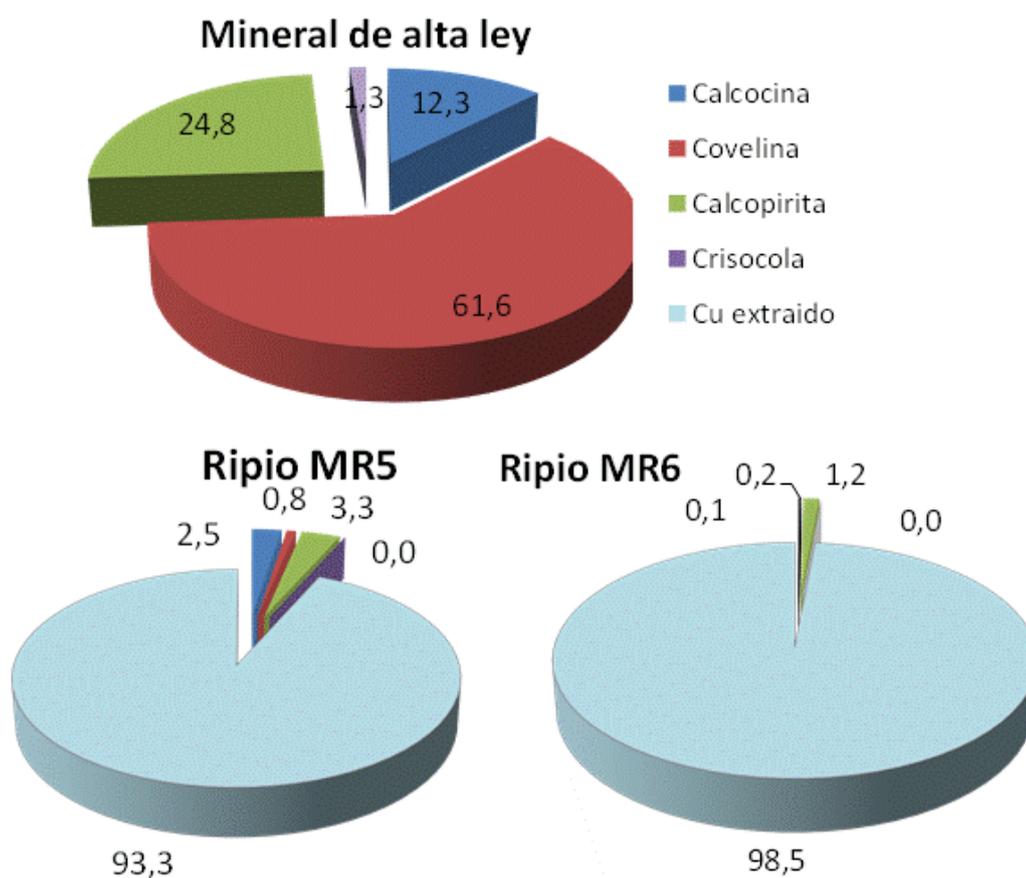


Figura 4.9 Análisis mineralógico de las especies de sulfuros de cobre del mineral de alta ley antes y después de su ataque

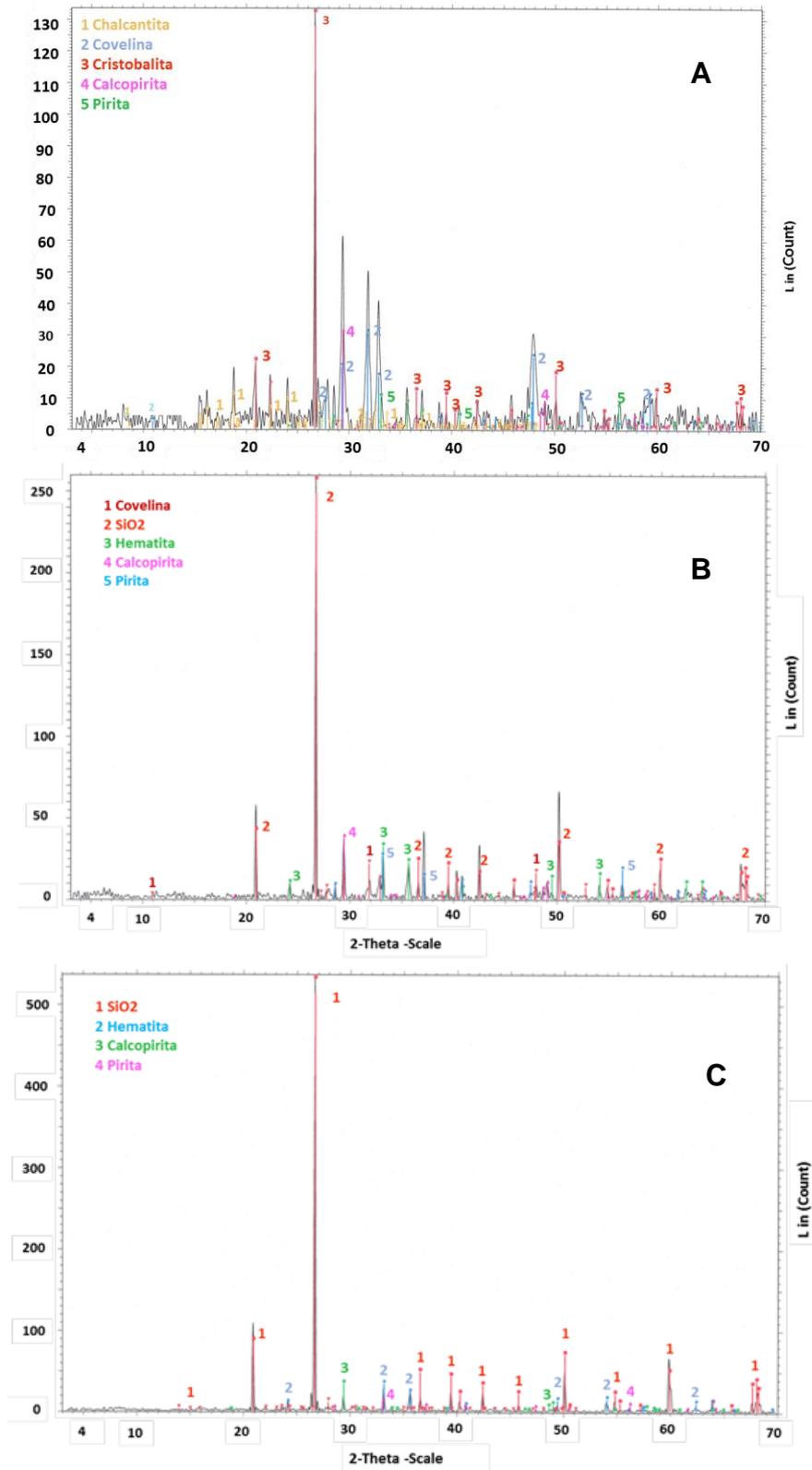


Figura 4.10 Análisis de difracción de rayos X de las especies de sulfuros de cobre del mineral de alta ley sin atacar (A) y de los residuos de biolixiviación de los ensayos MR5 (B) y MR6 (C)

4.3.2.3 Población microbiana en los ensayos de biolixiviación en reactores

La Figura 4.11A muestra los recuentos totales de microorganismos (DAPI) realizados en las disoluciones de biolixiviación de los minerales de baja y alta ley, al inicio y al final de los ensayos. El número total de microorganismos osciló entre 10^5 y 10^6 cel/mL y no se observaron cambios significativos en este sentido al comparar las etapas iniciales y finales de los ensayos. El NMP de microorganismos hierro-oxidantes varió entre 10^3 y 10^4 cel/mL, observándose un pequeño aumento en los reactores MR1, MR2 y MR3 en la etapa final de la prueba; sin embargo, este incremento fue menor de un orden de magnitud (Figura 4.11B). La concentración de microorganismos azufre-oxidantes activos varió entre 10^3 a 10^5 cel/mL, correspondiendo los valores más elevados a los minerales sin procesar a 30 °C (Figura 4.11C).

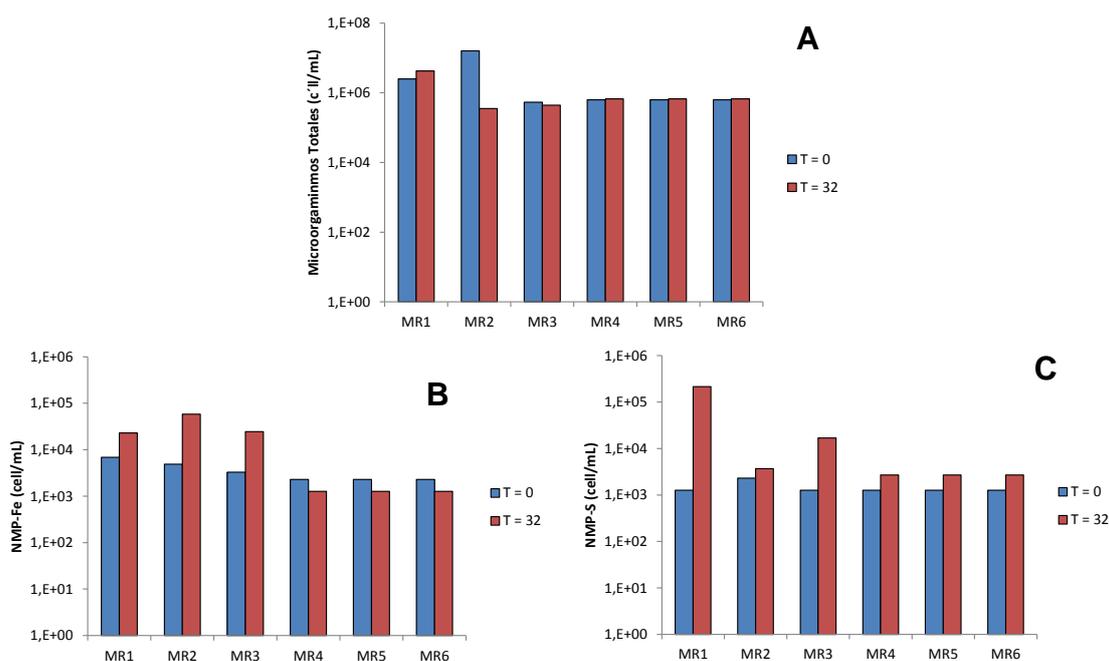


Figura 4.11 Recuento de microorganismos totales y activos de hierro- y azufre-oxidantes determinados en los ensayos con mineral de sulfuro de alta y baja ley. A: recuento de microorganismos DAPI; B: NMP hierro-oxidantes; y C: NMP azufre-oxidantes

4.3.3 Biolixiviación en columnas

4.3.3.1 Recuperación del cobre del mineral de baja ley

El ciclo de biolixiviación de los minerales de baja ley en columnas fue de 120 días y la recuperación de cobre total se calculó en función de la determinación de cobre en las disoluciones (de alimentación y percolado) y en el mineral (de alimentación y de los residuos de cada columna). La Figura 4.12 muestra las cinéticas de lixiviación de cobre en las columnas. La extracción de cobre varió entre el 56 y el 74%, correspondiendo las mayores recuperaciones a los ensayos de lixiviación de los minerales sin procesar (MC5) y procesado (MC3) llevados a cabo con 6 g/L de Fe^{+2} y a 50 °C. Las curvas muestran una primera etapa con una mayor disolución de cobre en los primeros días, que puede ser atribuida a una lixiviación química que no depende de los microorganismos. Estos resultados fueron corroborados por el análisis secuencial del cobre mostrado en la Tabla 4.4, que indicó más de un 80,4% de disolución de los óxidos de cobre (brochantita y crisocola). A esto, se debe sumar la disolución, por la acción del ácido, de parte de la calcosina. En una segunda etapa, donde hay intervención de los microorganismos, la cinética fue más lenta y también se observó claramente el efecto de la temperatura en la recuperación de acuerdo con los análisis de cobre secuencial. La influencia de la temperatura fue especialmente significativa en la disolución de los sulfuros primarios en las columnas ensayadas a 50 °C (Tabla 4.5).

Tabla 4.5 Biolixiviación en columnas: análisis secuencial de la recuperación de cobre

Prueba	%Cu extraído de minerales oxidados	%Cu extraído de sulfuros secundarios	%Cu extraído de sulfuros primarios	ReCuT (%)
MC1	76,4±1,3	78,6±0,3	43,3±4,7	63,1±0,8
MC2	77,4±5,3	72,4±1,7	29,7±3,3	57,6±2,8
MC3	84,9±1,4	84,8±1,8	46,7±2,1	71,4±1,3
MC4	81,1±1,5	75,2±2,3	29,3±1,5	57,9±2,9
MC5	85,9±1,4	82,7±3,1	44,4±1,5	74,0±2,8
MC6	90,9±1,4	71,4±3,1	12,1±2,4	58,5±1,1

ReCuT (%): porcentaje de recuperación de cobre

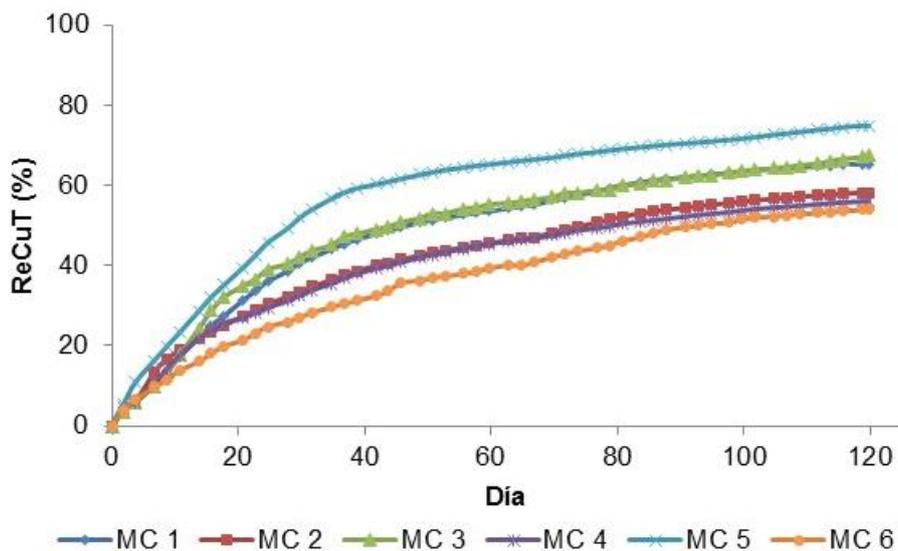


Figura 4.12 Recuperación de cobre de los minerales de baja ley por biolixiviación en columna

El mayor consumo de ácido se observó en los ensayos de los minerales sin procesar a 50 (MC5) y a 20 °C (MC6), llegando a los 22,05 y 20,37 kg/t, respectivamente (Figura 4.13). La columna MC4 consumió ácido hasta aproximadamente el día 23 de operación y luego generó ácido hasta el final del ciclo de lixiviación.

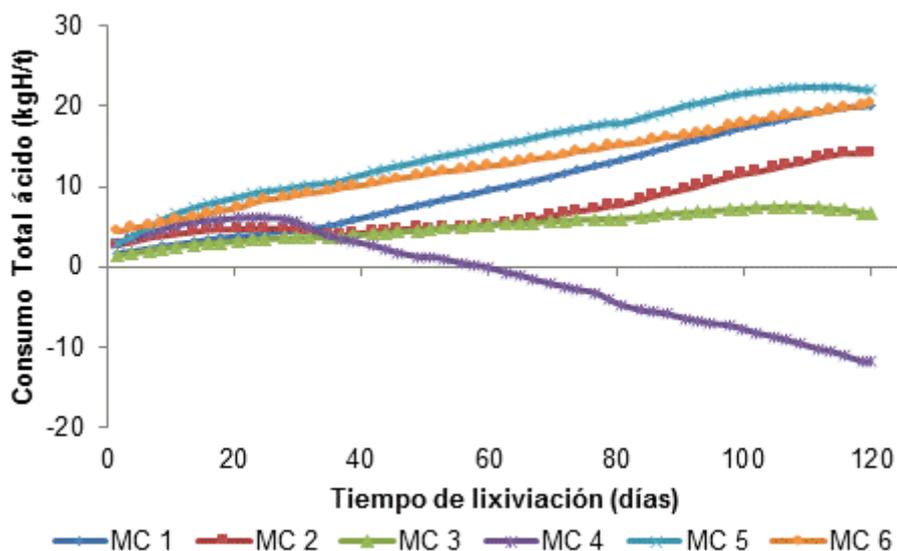


Figura 4.13 Consumo total de ácido en los ensayos de biolixiviación en columna

El perfil de pH de la disolución del percolado mostró valores más altos al inicio de las pruebas (que oscilaron entre 2,5 a 3,0); pero, a medida que avanzó el tiempo de lixiviación, el pH se mantuvo alrededor de 2,0 (Figura 4.14A). Con relación a la evolución del potencial redox, se observaron valores más altos en los ensayos realizados a 30 °C que a 50 °C. En los ensayos MC2 (mineral procesado, 3 g/L de Fe^{2+} , 30 °C), MC4 (mineral procesado, 6 g/L de Fe^{2+} , 30 °C) los valores fluctuaron en torno a 800 y 680 mV, respectivamente. En los ensayos en columna operados a 50 °C, durante el ciclo de lixiviación, los valores del potencial redox oscilaron entre 550 y 650 mV frente a SHE para las columnas (Figura 4.14B). La temperatura en el lecho del mineral no tuvo mayor variación durante el ciclo de lixiviación (Figura 4.15).

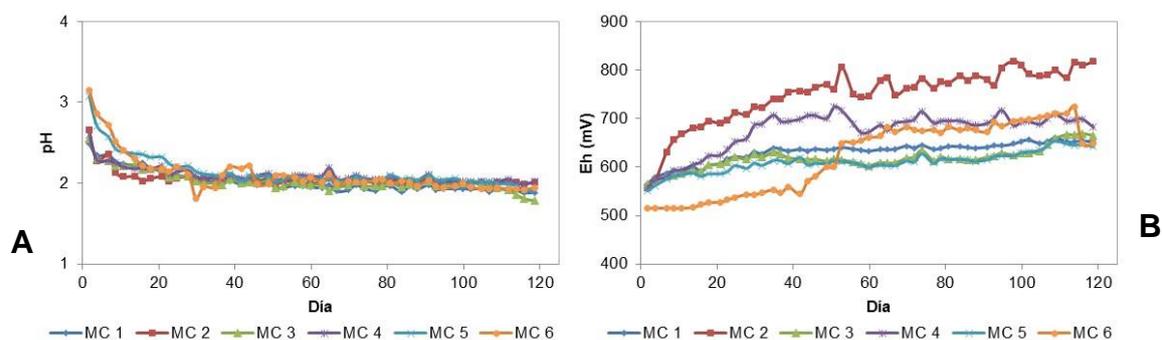


Figura 4.14 pH (A) y Potencial redox (B) en la disolución de lixiviación de los ensayos en columna

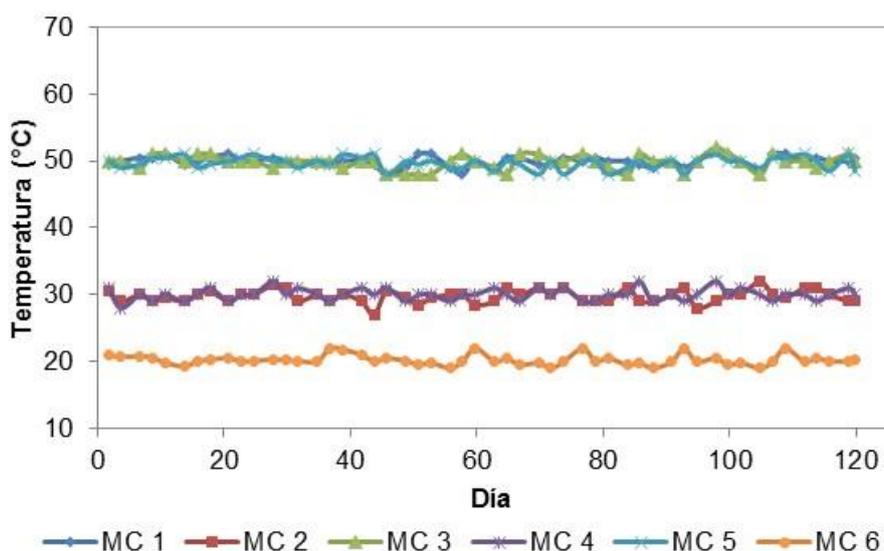


Figura 4.15 Temperatura del lecho durante los ensayos de biolixiviación

El comportamiento del hierro mostró que la oxidación del ion ferroso fue más rápida para el mineral procesado a 30 °C (ensayos MC2 y MC4) que para el mineral sin procesar (MC6), oxidándose la mayor parte del ion ferroso antes de los 25 días frente a los 42 días necesarios para el mineral sin procesar, lixiviado a 20 °C. En los ensayos de lixiviación a 50 °C (MC1, MC3 y MC5), la velocidad de oxidación fue muy lenta y no se observó un aumento significativo de la oxidación del ion ferroso durante todo el ciclo de lixiviación (Figura 4.16). Estos resultados son concordantes con el comportamiento del potencial (Figura 4.16B).

La recuperación de hierro mostró una cinética de extracción relativamente lenta y similar en todos los ensayos, con una recuperación de hierro máxima del 2,2% en la experiencia MC4, a 30 °C. En general, las columnas que operaron a temperatura ≤ 30 °C fueron las que presentaron la mejor recuperación comparadas con las experiencias MC1, MC3 y MC5 operadas a 50 °C (Figura 4.17).

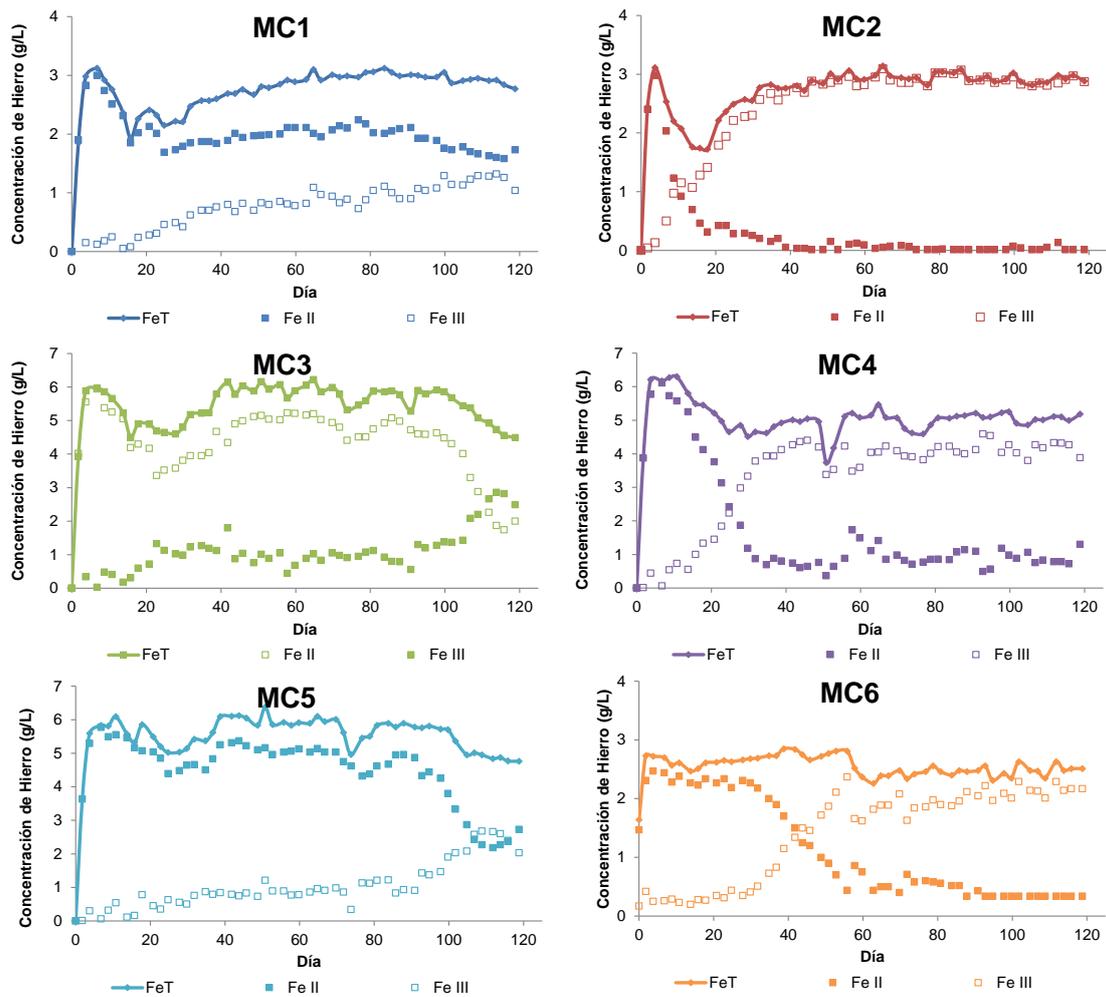


Figura 4.16 Comportamiento de la concentración de hierro en las disoluciones de percolado de los ensayos de biolixiviación en columna

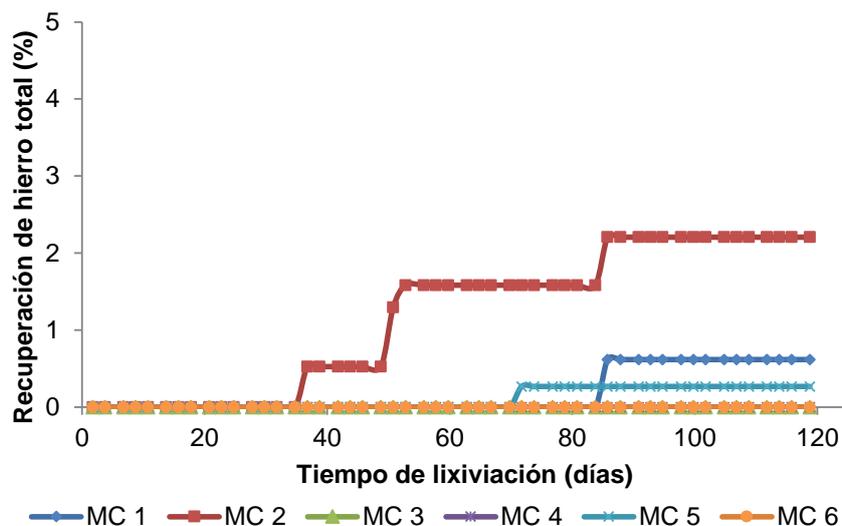


Figura 4.17 Recuperación del hierro en los ensayos de biolixiviación en columna

4.3.3.2 Análisis mineralógico del mineral de baja ley

Los análisis de QEMSCAN del mineral y de los residuos de lixiviación en columnas se muestran en las figuras 4.18 y 4.19. Los resultados obtenidos indicaron que la recuperación de cobre a partir de la covelina presente en el mineral sin procesar estuvo fuertemente influenciada por la temperatura, obteniéndose recuperaciones del 73,0 y 17,8%, en las columnas MC5 (50 °C) y MC6 (20 °C), respectivamente (Tabla 4.6). Con relación a la recuperación de cobre de la calcopirita, en ensayos realizados a la misma temperatura (50 °C), fue mayor en el caso del mineral sin procesar (MC5), 40%, que en el del mineral procesado (MC1-MC3). No fue posible realizar los análisis de mineralogía a los residuos de lixiviación de la columna MC2 por problemas en la preparación de la muestra.

En las columnas MC1, MC3 y MC4 no se observaron diferencias significativas en la recuperación de cobre de la covelina, a pesar de que la concentración de hierro total utilizada era diferente. La recuperación de cobre de este mineral osciló entre el 83 y 90%, correspondiendo los mayores valores a los ensayos realizados con la concentración de Fe^{2+} de 6 g/L (Figura 4.19 y Tabla 4.6). Los resultados también sugieren que la recuperación de cobre a partir de la covelina es significativa, incluso en pruebas operadas a temperatura relativamente menor (ensayo MC4).

Los resultados de disolución del cobre de la calcopirita, en los ensayos del mineral procesado, fueron aproximadamente 3 veces mayores a 50 °C que a 30 °C (10 y 28%, respectivamente). El aumento de la concentración de Fe^{2+} tuvo una influencia reducida en la extracción del cobre, como se puede comprobar al comparar los ensayos MC1 y MC3 de lixiviación del mineral procesado a 50 °C: 23,5% de recuperación en el ensayo MC1, con 3 g/L Fe^{2+} , y 28% en el MC3, con 6 g/L Fe^{2+} (Tabla 4,6).

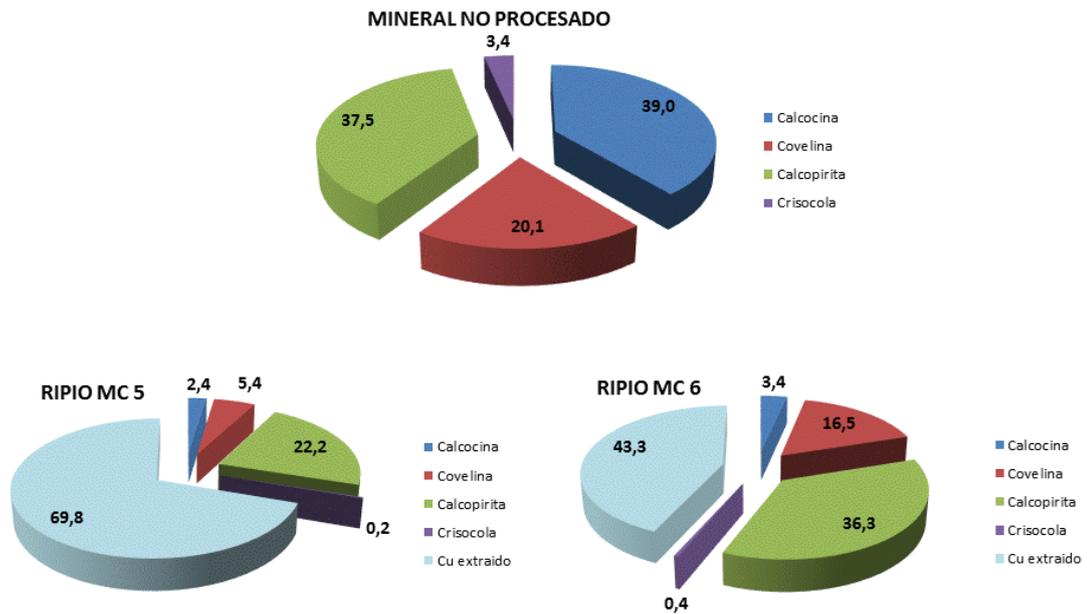


Figura 4.18 Análisis mineralógico del mineral sin procesar y de sus residuos en los ensayos MC5 y MC6

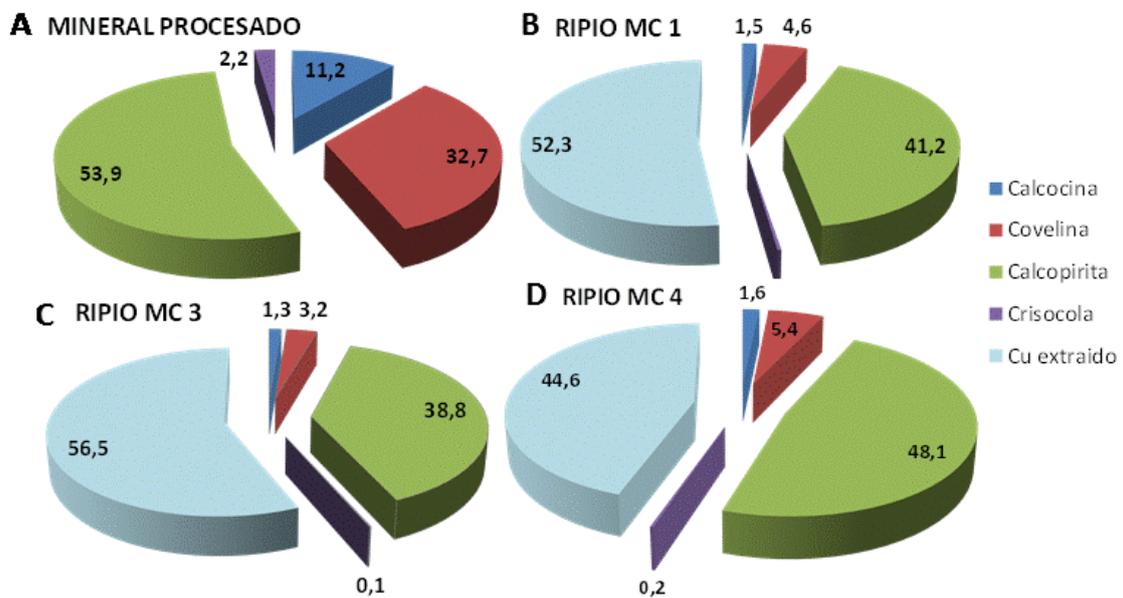


Figura 4.19 Análisis mineralógico del mineral procesado y de sus residuos en los ensayos MC1, MC3 y MC4

Tabla 4.6 Comparación de la disolución de minerales por medio de su análisis mineralógico, en función de las condiciones operacionales

Ensayo	Temperatura (°C)	Tipo de mineral	Fe II (g/L)	% Disolución			
				Calcocina	Covelina	Calcopirita	Crisocola
MC1	50°C	Procesado (baja ley)	3	86,4	85,8	23,5	85,8
MC3	50°C	Procesado (baja ley)	6	88,7	90,1	27,9	94,7
MC4	30°C	Procesado (baja ley)	6	85,4	83,3	10,8	88,9
MC5	50°C	No procesado (baja ley)	6	93,9	73,1	40,7	93,7
MC6	20°C	No procesado (baja ley)	3	91,2	17,8	3,2	87,0

4.3.3.3 Población microbiana en los ensayos en columna

Los recuentos de células totales por DAPI mostraron concentraciones de 10^6 cel/mL durante el ciclo de lixiviación (Figura 4.20A). Los NMP de hierro-oxidantes fueron mayores en los ensayos MC2 y MC4 y las concentraciones máximas de células activas fueron alrededor de 10^5 cel/mL (Figura 4.20B). Los NMP de microorganismos oxidantes de azufre (Figura 4.20C) fueron relativamente bajos; en el ensayo MC2 solo se observó mayor concentración de células a los 30 y 60 días de operación y la experiencia MC4 tuvo un aumento desde el día 60 de operación. Con los recuentos específicos realizados por PCR en tiempo real, se determinaron las estructuras de las poblaciones microbianas en las columnas MC2 y MC5. Dichas estructuras de población microbiana concuerdan con las especies que pueden prosperar de acuerdo a sus temperaturas de operación, es decir, principalmente mesófilos en la columna MC2 a 30°C y termófilos moderados en la columna MC5 a 50 °C (Figura 4.21).

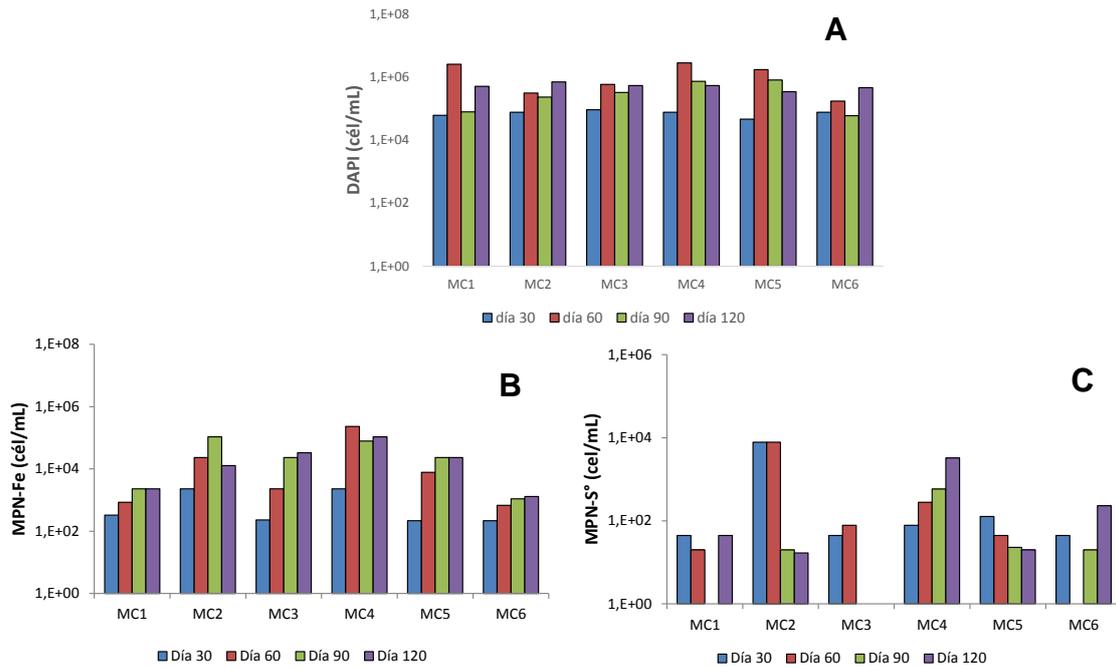


Figura 4.20 Recuento de microorganismos totales y activos hierro- y azufre-oxidantes determinados en los ensayos con mineral de baja ley sin procesar y procesado. A: recuento de microorganismos DAPI; B: NMP de hierro-oxidantes; y C: NMP de azufre-oxidantes

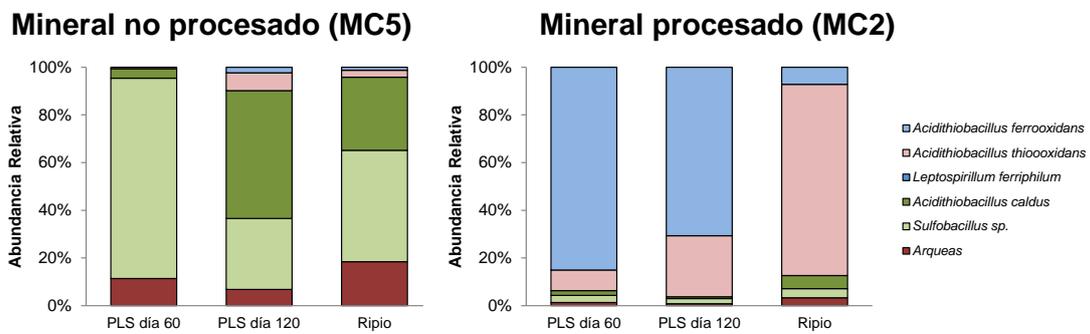


Figura 4.21 Estructura y dinámica de la población microbiana en las disoluciones de percolado y en los residuos de los ensayos MC2 y MC5, determinada por PCR en tiempo real

4.4 DISCUSIÓN

4.4.1 Efecto de la temperatura en la disolución de la covelina

De acuerdo a lo esperado, se observó que en experimentos realizados a 50 °C se obtenía una mayor recuperación de cobre de los minerales tanto de baja como de alta ley. El efecto de la temperatura en los procesos de biolixiviación ha sido ampliamente estudiado por diferentes autores (Franzmann et al., 2005; Watling, 2006; Halinen et al., 2009). La mayoría de los estudios se han centrado en la recuperación de cobre a partir de la calcopirita y, sin embargo, son muy escasos los que han abordado el caso específico de la disolución de la covelina. Uno de estos estudios es el publicado por Acar et al. (2005), enfocado en el efecto de la temperatura sobre la disolución de minerales que contienen covelina, a partir de ensayos en columna de biolixiviación realizados a 23 y 65 °C, utilizando organismos mesófilos y termófilos. La recuperación de cobre de la covelina en estos ensayos osciló del 12 al 20% en las columnas que operaron a 23 °C y del 62 al 65% para las columnas a 65 °C. En otro estudio más reciente, se reportaron recuperaciones de cobre de covelina mayores al 60% en experimentos a temperaturas superiores a 60 °C y usando inóculos de microorganismos termófilos (Lee et al., 2011).

Las primeras investigaciones de la lixiviación química de la covelina fueron realizadas por Sullivan, 1930, que informó del aumento de su disolución al aumentar la temperatura. Dutrizac y Macdonald, 1974a, indicaron que la primera etapa de lixiviación de la calcosina es muy rápida en relación a la segunda. Esto fue apoyado por la baja energía de activación observada (entre 4,18 y 29,26 kJ/mol). Pero la segunda etapa, de lixiviación de la covelina formada a partir de calcosina, fue muy lenta y presentó una alta energía de activación (entre 62,7 y 104,5 kJ/mol), por lo que concluyeron que la velocidad estaba controlada por la reacción de disolución anódica. Otras investigaciones (Thomas y Ingrahan, 1967; Mulak, 1971) han informado sobre el efecto de la disolución de la covelina a mayor temperatura y con energías de activación altas, en el rango de 77 a 92 kJ/mol. Ruan et al., 2013, en ensayos en reactor con un mineral sulfurado de baja ley conteniendo covelina, encontraron que la energía de activación para la

disolución de este sulfuro era de 96,86 kJ/mol, lo que indicó que la temperatura fue el factor clave para su disolución. Este hecho quedó demostrado en ensayos realizados a 30, 45, 60 y 75 °C en los que se observó un aumento significativo de la disolución a medida que aumentaba la temperatura.

Los resultados de la presente investigación, al igual que los estudios que se encuentran en la bibliografía, confirman el papel clave que juega la temperatura en los procesos de biolixiviación de sulfuros. Por otro lado, en este trabajo también se aborda la posibilidad de lixiviar el mineral sulfurado que contiene covelina (ya sea sin tratar o tratado) a temperaturas menores. Las recuperaciones de cobre total obtenidas en las experiencias a 30 °C alcanzaron valores del 71% (Figuras 4.5 y 4.6) en los ensayos en reactores. En las columnas, la recuperación de cobre fue aproximadamente del 57% y en la experiencia a 20 °C (MC6) se obtuvo una recuperación de 54% (Figura 4.12). Esta recuperación de cobre a menor temperatura puede ser económicamente atractiva a nivel industrial, concretamente en los procesos de biolixiviación en pilas.

A nivel industrial es más complejo alcanzar y mantener temperaturas operacionales mayores a las ambientales; esto se debe a diferentes factores como:

- La ubicación geográfica: generalmente en Chile las operaciones mineras se encuentran en zonas geográficas sobre los 3.000 m sobre el nivel del mar, en donde hay variaciones de temperatura entre el día y la noche que pueden ser de más de 20°C, y la temperatura del lecho o en el interior de la pila se puede encontrar en el rango de 12 a 27 °C (Watling, 2006).
- En la lixiviación de minerales de baja ley en las pilas de lixiviación, se debe procesar un gran volumen de mineral para obtener una buena rentabilidad económica. Este es el caso de la pila industrial de sulfuros de Minera Escondida Ltda., cuyas dimensiones son de 2.000 m de ancho, 5.000 m de largo y de 18 m de altura por piso,

con proyección de hasta 7 pisos. Obviamente, los enormes volúmenes de material que se manejan hacen muy difícil el control de la temperatura en el interior de la pila (Demergasso et al., 2011).

A pesar de las dificultades encontradas para mantener la temperatura en operaciones a gran escala, existen algunos factores o estrategias en las pilas industriales que pueden contribuir al aumento de la temperatura interna, de manera que la temperatura pueda alcanzar 30 °C e incluso valores superiores (Soto et al., 2013, Aguirre et al., 2015). De entre todos los factores cabe destacar: i) La composición mineralógica; por ejemplo, una ley de pirita mayor al 2,5%, debido a su oxidación, genera calor (Ruan et al., 2013), ii) La altura de las pilas, debido a que la disolución tiene que recorrer mayor distancia y se generan más reacciones exotérmicas, por la adición de ácido. iii) Estrategias de recubrimiento de la superficie de la pila (termocubierta) y del manejo de las tasas de riego.

4.4.2 Recuperación del cobre en los ensayos de biolixiviación de la covelina

Los ensayos se llevaron a cabo para determinar y optimizar la recuperación de cobre de minerales sulfurados de alta y baja ley que contenían covelina. Un aspecto relevante del estudio fue el tratamiento de minerales ya procesados debido a que, por medio de los análisis mineralógicos realizados, se ha podido determinar que en algunas operaciones mineras el remanente de cobre en las pilas de biolixiviación corresponde mayoritariamente a sulfuros, concretamente calcopirita y covelina (Soto et al., 2013). El mineral procesado o biolixiviado que se utilizó en este estudio contenía un 0,28% de covelina como remanente del proceso en el que el cobre contenido en este mineral no pudo ser recuperado (Tabla 4.3).

El mineral de baja ley tuvo una mayor extracción de cobre total en los ensayos realizados a 50 °C, comparado con los ensayos a 30 °C (Figuras 4.5 y 4.12). Las diferencias fueron también significativas en los ensayos con reactores y con columnas (15,3 y 10,6%, respectivamente). Se evidenció, además, que hay una mayor recuperación de cobre en los minerales sin procesar que en los

procesados; esto se puede considerar lógico debido a que el mineral sin tratar cuenta con mayor proporción de minerales fácilmente lixiviables, óxidos y sulfuros de cobre (digenita, calcosina) (Tabla 4.3). También hay que considerar que el mineral procesado pudo sufrir transformaciones por la pasivación de la superficie que quedó sin reaccionar en el proceso de lixiviación previo.

El mineral de alta ley (40% de cobre total y 34,2% de covelina) fue usado sólo en los ensayos en reactor debido a que son muestras seleccionadas manualmente y, por ello, fue posible disponer de una cantidad de mineral suficiente para realizar los ensayos en tales reactores pero no para los correspondientes ensayos en columna. Actualmente, los minerales con alta ley son escasos, lo que dificulta encontrarlos en cantidad suficiente para realizar la lixiviación a mayor escala.

Debido a la amplia explotación de los minerales ricos en cobre, la ley de los minerales procesados industrialmente está experimentando una constante disminución. Así, en el año 2012, en la minería del cobre en Chile, se tenía una ley promedio de 1,61%, en tanto que en el año 2012 ésta había descendido al 0,87%, del punto de vista mundial la disminución fue de 1,45 a 1,12% (Concha, 2012).

La extracción de cobre total del mineral de alta ley fue similar a la del mineral de baja ley, la mayor recuperación fue en la experiencia (MR6) realizada a 50 °C e inoculada, con una recuperación de 98,7%. Además del efecto de la temperatura en la solubilización de cobre, se observó claramente el efecto de la inoculación, registrándose una diferencia superior al 30% de recuperación de cobre entre los ensayos inoculados y no inoculados (Figura 4.6).

Es importante destacar, que la extracción de cobre en los ensayos en reactores fue aproximadamente un 20% mayor que en los realizados en columnas. Esta mayor recuperación de cobre se puede justificar debido a la diferencia en el tamaño de partícula del mineral y a la mejor cinética de reacción en sistemas agitados. Los ensayos en reactores se llevaron a cabo con mineral de granulometría menor a # 200 Tyler (abertura 75 µm), mientras que en los ensayos de columna la granulometría fue bajo media pulgada (abertura 12.500

µm). Es un hecho bien documentado que un menor tamaño de partícula genera una mayor superficie de contacto con la disolución y facilita la disponibilidad y reacción del sulfuro contenido en el mineral con los oxidantes y microorganismos lixiviantes (Olubambi et al., 2008, Watling et al., 2010).

El seguimiento de la disolución de la covelina se realizó a través de las técnicas de análisis de cobre secuencial, mineralógico QEMSCAN y difracción de rayos X, tanto para los minerales de baja como de alta ley usados en las diferentes experiencias de biolixiviación. Los análisis de cobre secuencial con el mineral de baja ley procesado y sin procesar, mostraron que los sulfuros secundarios (calcosina y covelina), en los ensayos de mayor temperatura, fueron los que tuvieron mayor extracción de cobre con recuperaciones promedio del 90% en reactores y 80% en columnas. El efecto del mineral procesado y sin procesar solo fue significativo en los experimentos MR1 y MR2, realizados a la menor temperatura (30 °C), siendo la extracción de cobre un 16% mayor en el mineral sin procesar (Tabla 4.4 y 4.5) .

En el análisis de cobre secuencial de los ensayos con el mineral de alta ley de covelina, además de corroborar el efecto producido por la inoculación en la recuperación de cobre proveniente de los minerales secundarios en los ensayos MR5 y MR6 inoculados (Tabla 4.4), también se pudo observar que se solubilizó más del 90% de la covelina, tanto la nativa como la formada en los ensayos inoculados por la disolución de la calcosina de acuerdo con la ecuación Ec. IV.1. El análisis secuencial también mostró una mayor disolución de los sulfuros primarios (calcopirita) a mayor temperatura (50 °C). Además, se puso de manifiesto una recuperación de cobre total similar a la obtenida a través de las curvas de cinética de recuperación de los diferentes experimentos (Figuras 4.5, 4,6 y 4.12).

Con relación a la influencia de la temperatura en la biolixiviación del sulfuro de alta ley, el análisis por QEMSCAN mostró una solubilización elevada de la covelina nativa y también de la covelina proveniente de la disolución de la calcosina, con una mínima diferencia en la extracción de cobre (aproximadamente, un 2%) entre los dos ensayos inoculados y realizados a 30

(MR5) y 50 °C (MR6) (Figura 4.9). Es importante destacar la elevada extracción de cobre obtenida en el ciclo de biolixiviación a 30 °C, pues se disolvió prácticamente el 100% de covelina y la recuperación de cobre total fue superior al 94%; estos ensayos fueron realizados con un cultivo de microorganismos mesófilos compuesto por *Acidithiobacillus ferridurans*, *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidiphilium sp* (Figura 4.4). La disolución de la covelina también se vio confirmada por el análisis semicuantitativo de difracción de rayos X; los difractogramas mostraron la disolución de casi el 100% de la covelina a 30 y 50 °C (Figura 4.10). La solubilización de los otros sulfuros de la muestra, como calcosina y calcopirita, fue mayor a 50 °C.

Los resultados de disolución de covelina obtenidos en el presente trabajo son muy superiores a los publicados en un estudio reciente de Ruan en el que la lixiviación de covelina de alta ley, con un contenido de cobre de 53,79%, a distintas temperaturas entre 30 y 60 °C, tuvo porcentajes de disolución de cobre comprendidos entre el 10 y el 60% (Ruan et al., 2013).

El análisis mineralógico del mineral de baja ley sin procesar mostró que la recuperación del cobre presente en la covelina en los ensayos en las columnas MC5 y MC6, a 50 y 20 °C, respectivamente, se encuentra influenciada en mayor magnitud por la temperatura que por la concentración de hierro (Figura 4.18). El ensayo MC6 se realizó a 20 °C, en lugar de a 30°C, con el fin de contar con un control y simular las condiciones de temperatura promedio que se pueden encontrar en el lecho de las pilas en el proceso industrial. Estos resultados concuerdan con estudios previos que señalan a la covelina como un mineral refractario, y tanto su recuperación como su cinética de lixiviación pueden mejorar a mayores temperaturas (>65 °C) y en presencia de microorganismos termófilos (Acar et al. 2005, Ruan et al., 2013).

La recuperación de cobre a partir de la covelina es significativa en el mineral de baja ley y no se observó mayor diferencia entre las dos temperaturas en estudio. Del análisis comparativo de la biolixiviación en columna de los diferentes minerales contenidos en el mineral de baja ley (Tabla 4.6) se deduce que una temperatura mayor a 30 °C no tuvo una gran influencia en la

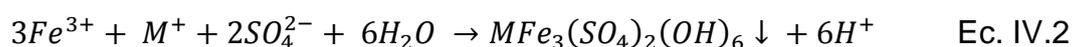
recuperación del cobre de la covelina. En el ensayo a 30 °C (MC4), se obtuvo una recuperación de cobre del 83% mientras que en los ensayos a 50 °C (MC1 y MC3) se registraron recuperaciones de cobre del 86 y 90%, respectivamente, siendo ligeramente superior cuando se utilizó la mayor concentración de Fe^{2+} (6 g/L). Por otra parte, el efecto de la temperatura fue más marcado en la solubilización de sulfuros primarios como la calcopirita, siendo la disolución de este mineral aproximadamente 3 veces superior a 50 °C (Figura 4.19). Al comparar el mineral tratado y sin tratar se observó mayor disolución de covelina en el mineral tratado. Esto coincide con lo que indican algunos autores respecto a que la covelina secundaria originada a partir de la disolución de la calcosina es menos refractaria que la covelina primaria y su lixiviación aumenta a medida que aumenta la concentración de hierro (III) (Dutrizac y MacDonald, 1974b; Cheng y Lawson, 1991). Miki y colaboradores reportaron en su investigación que el mineral secundario se disuelve más rápidamente (al menos un orden de magnitud) que la covelina primaria (Miki et al., 2011). Este efecto fue atribuido al aumento de la superficie de la covelina secundaria que se formó por disolución del 50% del cobre, aproximadamente, a partir de calcosina. Si se compara la composición mineralógica inicial del mineral no procesado y procesado en las experiencias realizadas, el contenido de covelina es mayor en el mineral sin procesar (0,30%) que en el procesado (0,28%). Los resultados obtenidos en las experiencias de biolixiviación del mineral sugieren que la covelina determinada en el mineral procesado debe corresponder principalmente a covelina secundaria (Tabla 4.3).

En los sulfuros primarios (calcopirita), la mayor recuperación se observó en el mineral sin tratar, lo cual se puede atribuir a la ausencia del efecto de pasivación o de una capa pasivante en la superficie del mineral sin procesar, como ya ha sido descrito ampliamente en la bibliografía (Hackl et al., 1995, Stott et al., 2000, Tshilombo, 2004, Córdoba et al., 2009).

Los consumos de ácido más altos se observaron en los ensayos con mineral sin procesar en columnas (MC5 y MC6) desde el inicio de la lixiviación (Figura 4.13). Esto es probablemente debido a que el mineral sin procesar, además del ácido que necesita en la lixiviación de los compuestos asociados al

cobre, también requiere una mayor concentración de ácido debido al consumo producido por la ganga alcalina que contiene (Tabla 4.3), comparado con los ensayos con mineral ya lixiviado. No se observó un efecto claro de la temperatura en el consumo de ácido en los ensayos, lo que se comprueba al comparar las experiencias MC2 a 30 °C y MC3 a 50 °C, ambas con mineral procesado. Se debería esperar que a mayor temperatura se generara un aumento en el consumo de ácido, por la mayor reactividad en la ganga del mineral, pero en los minerales tratados lo que quedó disponible para reaccionar en ambas pruebas pudo ser diferente por las nuevas superficies de contacto generadas después de la lixiviación; además, la ganga presente en el mineral procesado ya consumió ácido en su primera etapa de lixiviación.

El ensayo MC4 tuvo un comportamiento diferente, en cuanto al consumo de ácido, con respecto al resto: sólo se produjo este consumo hasta el día 23 del ciclo de lixiviación; después se generó ácido hasta el final del ensayo. El aumento de la concentración de ácido pudo ser debido a la precipitación del ion férrico, ya que la concentración de este ion se incrementa en las disoluciones de lixiviación por la oxidación bacteriana del ion ferroso contenido en los minerales o en la ganga, de manera que un determinado porcentaje de este ion férrico puede precipitar como jarosita (Ec. IV 2). Precisamente, el ensayo MC4 fue el que tuvo mayor concentración promedio de ion férrico (3,29 g/L) (Figura 4.16). El análisis mineralógico que se realizó al final del ciclo, tanto al mineral de alimentación como al mineral lixiviado en las pruebas, mostró un aumento del contenido de jarosita mayor en el ensayo MC4, en comparación con el resto de los ensayos (Figura 4.22). Los análisis biológicos también indican una mayor actividad de los microorganismos azufre-oxidantes, que aumentaron continuamente durante el ensayo, confirmando la producción de ácido observada en el sistema a partir del día 23 (Figura 4.20).



Donde $M^+ = H_3O^+, Na^+, K^+, NH_4^+$ o Ag^+ .

El pH de la disolución de percolado de la columna MC4 osciló entre 2,6 y 2,0 en el ciclo de lixiviación (Figura 4.14A). Estos valores de pH pueden favorecer

la generación de jarosita cuya formación depende de esta variable, siendo el rango comprendido entre 1,7 y 2,3 el óptimo, y de la presencia de iones férricos, sulfato y cationes monovalentes (Klauber et al., 2008).

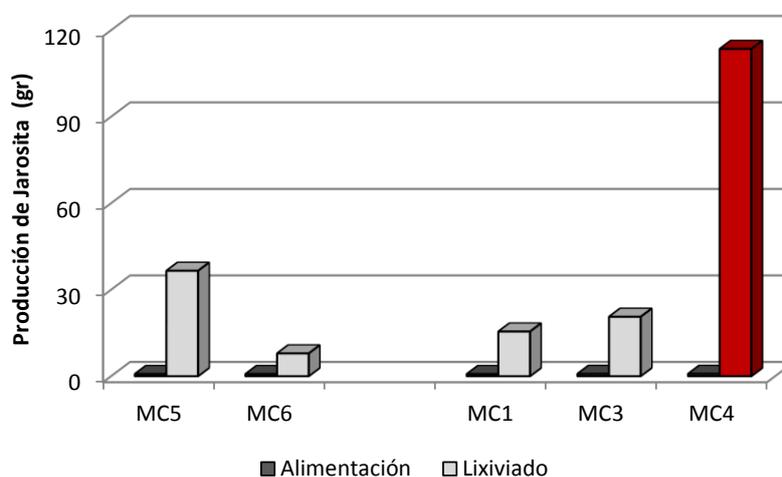


Figura 4.22 Formación de jarosita en muestras de mineral, tomadas al inicio (alimentación) y final (lixiviado) en el ciclo de lixiviación de los ensayos en columna

4.4.3 Efecto del Eh y del hierro en la disolución de la covelina

Las experiencias en reactor, con mineral de baja y alta ley, mostraron valores promedio de potenciales redox en torno a 750 mV. En los ensayos no inoculados, en particular en la experiencia MR7, el potencial redox alcanzó valores superiores a 800 mV. Sin embargo, a pesar del alto valor de este potencial redox, no se constató una mayor recuperación de cobre (Figura 4.7B). Esto es coincidente con el estudio de Ruan y colaboradores (2013), que en su investigación en reactores al operar con diferentes potenciales (655 mV, 755 mV y 805 mV frente a SHE) no encontraron una diferencia significativa en la lixiviación del cobre de la covelina. En la bibliografía se indica que a potenciales redox superiores a 600 mV es posible la lixiviación de la covelina (Miki et al., 2011). Sin embargo, en esta investigación un valor alto de potencial no fue condición suficiente para obtener una mayor lixiviación de este mineral y, por lo tanto, se necesitó el complemento de otros parámetros operacionales, como la

temperatura (Acar et al., 2005), la disminución del tamaño de partícula y la inoculación de microorganismos, para lograr una mayor extracción de cobre.

En los ensayos en columna, se detectó una diferencia en el potencial redox entre las experiencias que operaban a 50 y 30 °C, siendo así que el Eh fue unos 150 mV menor en los ensayos a 50 °C con respecto a los que operaban a 30 °C. Esto coincide con un estudio de biolixiviación de covelina en donde se observaron diferentes valores de potencial redox entre los experimentos que se realizaron a 65 y 23 °C con una diferencia de aproximadamente 100 mV (Acar et al., 2005). Además, el mismo fenómeno se ha observado en la biooxidación de la piritita durante el tratamiento de minerales que contienen oro refractario (Brierley JA, 2003). En estos dos estudios los autores describen una mayor concentración de hierro ferroso y una menor concentración de hierro total en las pruebas llevadas a cabo a temperaturas elevadas en comparación con las que se realizaron a temperatura relativamente baja. Los resultados experimentales en el presente estudio son similares a los reportados en los estudios descritos anteriormente (Figura 4.16). La alta concentración de hierro total en los ensayos de columna no tuvo el efecto esperado en la recuperación de cobre para las concentraciones ensayadas (3 y 6 g/L), independientemente de la temperatura. Al mismo tiempo, los resultados mostraron una baja extracción de hierro a partir de los minerales utilizados (Figura 4.17). Esto fue evidente al comparar los resultados obtenidos en las experiencias MC2 y MC4, a 30 °C, con la adición de 3 y 6 g/L de hierro y recuperaciones de cobre del 57,6 y 57,9%, respectivamente.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio son similares a los publicados por Ruan para ensayos en columnas con diferentes concentraciones de ion férrico (3,5, 11,51 y 40 g/L), en donde la velocidad de extracción del cobre al inicio de la lixiviación fue mayor, pero en el transcurso del ciclo de lixiviación (120 días), las curvas de recuperación de cobre alcanzaron el mismo nivel de extracción (Ruan et al., 2013). Otro estudio indicó que para la disolución de covelina se requiere una concentración de ion férrico superior a 1,0 g/L (Maley et al., 2009).

4.4.4 Microorganismos en la biolixiviación de la covelina

La importancia de la inoculación en los procesos de biolixiviación se vio reflejada en la mayor recuperación de cobre de las experiencias inoculadas (MR5 y MR6) en comparación con las experiencias sin inocular (MR7 y MR8); la diferencia de recuperación fue del 40,4 y 30,5% a 30 y 50 °C, respectivamente, en los ensayos realizados con el mineral de alta ley (Figura 4.6). En la biolixiviación de este mineral las concentraciones de cobre en la disolución llegaron hasta 7 g/L en las experiencias MR5 y MR6, pero no resultaron inhibitorias para los microorganismos. En general, para las experiencias con minerales de alta y baja ley, en los análisis de recuentos de células activas por el análisis de NMP se mantuvieron concentraciones de microorganismos aceptables para el proceso de biolixiviación. No hubo inhibición de los microorganismos por concentraciones de Cu o impurezas (Cl^- , SO_4^{2-} y Al^{3+}) en las disoluciones de los ensayos, ya que en los recuentos de microorganismos de los inóculos a 30 y 50 °C se tuvo un promedio de células de $1,6 \cdot 10^7$ cel/mL (Figura 4.3) al adicionarlo a los reactores y después del ciclo de lixiviación. Los recuentos finales indicaron valores promedios de alrededor de $1,2 \cdot 10^6$ cel/mL; esta disminución de microorganismos en las disoluciones de la etapa de lixiviación fue, probablemente, debida a la adhesión de las células al mineral (Figura 4.11A). Echeverría y Demergasso (2015) determinaron que el mayor porcentaje de adhesión de las células al mineral se producía el primer día de contacto, y para los minerales de calcosina y pirita representaban el 66 y 58%, respectivamente, del total de células que originalmente se encontraban en suspensión. En la literatura se encuentran investigaciones de ensayos de biolixiviación de minerales de sulfuros que reportan recuentos similares de DAPI con variaciones, al final de los ensayos, entre 10^7 y 10^8 cel/mL (Halinen et al., 2009). Los resultados de la actividad hierro-oxidante a través del análisis por NMP mostraron concentraciones menores en un orden de magnitud si se comparan con el inóculo (Figura 4.3); en el análisis final de los ensayos MR1, MR2 y MR3, se observó un aumento de la concentración de células que pudo ser significativo (Figura 4.11). Estudios anteriores indicaron niveles similares de microorganismos hierro-oxidantes, determinados por NMP, en muestras procedentes de procesos industriales (Soto et al., 2013). La concentración de

microorganismos azufre-oxidantes mostró un incremento en la etapa final de las pruebas, sobre todo, en los ensayos MR1 y MR3, probablemente por la mayor disponibilidad de sustrato presente en el mineral sin procesar.

En general, se acepta que la biolixiviación de minerales sulfurados implica diferentes etapas. Demergasso y colaboradores (2010) describen las distintas fases del ciclo como: i) acondicionamiento con ácido y liberación del cobre soluble; ii) oxidación del ion ferroso; iii) lixiviación bacteriana de la calcosina (oxidación de compuestos reducidos de azufre y de hierro); iv) la lixiviación bacteriana de minerales sulfurados con potenciales de reposo más altos (pirita y covelina); y v) oxidación bacteriana de minerales del sulfuro remanente y compuestos reducidos de azufre inorgánicos. Otro estudio de Ghorbaniab et al., 2016, indicó tres grandes sub-procesos: primero, la lixiviación ácida del hierro férrico del mineral sulfurado, seguido por la oxidación microbiana de la fracción de azufre y la oxidación microbiana del hierro ferroso hasta la forma férrica. Los resultados del presente estudio coinciden con lo descrito por estos autores en cuanto a las diferentes etapas del ciclo de lixiviación: primero, la lixiviación ácida y la liberación del cobre soluble proveniente de los minerales oxidados (crisocola y brochantita), seguida de la biolixiviación de la calcosina, después la disolución de la covelina por la oxidación del ion ferroso a férrico y los compuestos reducidos de azufre inorgánico y, finalmente, la oxidación bacteriana parcial de los sulfuros primarios (calcopirita). La composición de la población microbiana en las disoluciones y en el mineral lixiviado (ripio), muestran una predominancia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en la experiencia MC5, con mineral tratado a 30 °C y a los 60 días de operación, manteniéndose hasta el final de la prueba. Este comportamiento es coincidente con lo indicado en el estudio de Demergasso et al., 2010, quienes también encontraron que el microorganismo predominante en las etapas (ii y iii) anteriormente descritas fue *Acidithiobacillus ferrooxidans*. En el análisis del ripio, el microorganismo predominante también fue el *Acidithiobacillus thiooxidans*. En la experiencia con mineral sin procesar, a 50 °C, el microorganismo que predominó, a los 60 días, fue *Sulfobacillus* sp, pero al final del ensayo se observó un aumento de *Acidithiobacillus caldus* (Figura 4.21). El NMP de oxidantes de hierro fue mayor en los ensayos MC2 y MC4, a 30 °C (Figura 4.20B). El NMP de microorganismos

CAPITULO IV

oxidantes de azufre (Figura 4.20C) fue relativamente bajo en todas las experiencias, pero el ensayo MC4 fue el que mostró una mayor actividad comparado con el resto, lo que se vio reflejado en la mayor generación de ácido que se produjo en esta experiencia (Figura 4.13).

**CAPÍTULO V: ESTUDIO DE LA DISOLUCIÓN DE LOS
MINERALES SULFURADOS Y DE LA COLONIZACIÓN DE LOS
MICROORGANISMOS EN EL CICLO DE BIOLIXIVIACIÓN**

5.1 INTRODUCCIÓN

Por lo general, el monitoreo de la población microbiana durante los procesos de biolixiviación en pilas industriales se realiza mediante el análisis de muestras de disolución y no de mineral. Los desafíos de una toma de muestras de mineral durante el proceso de biolixiviación a nivel industrial son enormes, implicando costes elevados, riesgos para la operación y complejidad para su ejecución. Por estas razones, la mayor parte de los estudios en este tipo de sistemas se han centrado principalmente en el seguimiento de las poblaciones en las muestras líquidas en lugar de en el mineral (Watling et al., 2015; Demergasso et al., 2005, 2011; Remonsellez et al., 2007). El análisis de la interfase mineral-microorganismo es importante debido a la necesidad de un estrecho contacto entre los microorganismos con los sustratos liberados desde el sólido al producirse su oxidación (Sand et al., 1995). Diversos estudios realizados en columnas de laboratorio, atacando un mineral sulfurado de baja ley (calcopirita/pirita), sobre la colonización microbiana de los minerales y del crecimiento posterior de los microorganismos durante el proceso de biolixiviación, con la comparación entre los microorganismos planctónicos y sésiles, indicaron que *Acidithiobacillus ferrooxidans* presentaba diferente abundancia en la disolución de percolado y en el mineral sólido (Govender et al., 2013, 2015).

En este sentido, en el presente estudio, se realizó la comparación de los microorganismos presentes en las disoluciones y en el mineral utilizado en un ensayo en columnas de 1 m y el muestreo realizado a dos franjas de la pila industrial de Minera Escondida en Chile. Esta planta, utilizada para realizar un proceso de biolixiviación de un mineral sulfurado de baja ley, se encuentra ubicada a 170 km al sureste de Antofagasta (norte de Chile). La pila industrial (Figura 5.1), cuyas dimensiones son de 2.000 m de ancho, 125 m de largo y de 18 m de altura por piso, con una proyección hasta los 7 pisos, fue diseñada para tener una sola disolución de irrigación, procedente de la planta de extracción por disolventes, para lixiviar las diferentes franjas de mineral. Cada franja recibe su propia disolución de percolado y el aire es suministrado constantemente por medio de aireación a través de sopladores ubicados en la base de pila (Demergasso et al., 2011; Casas et al., 1998).

CAPITULO V

El objetivo de este capítulo fue obtener un mayor conocimiento del comportamiento de los minerales sulfurados y de la colonización de los microorganismos sobre este tipo de sustrato en el ciclo de lixiviación, además de comparar su población en las disoluciones de planta y en las diferentes fases sólidas del mineral en los procesos de biolixiviación tanto en las pruebas de laboratorio en columna como a escala industrial en las citadas pilas.

5.2 MATERIALES Y METODOS

Se realizaron ensayos de disolución de los minerales sulfurados de baja ley y se estudió su colonización por los microorganismos.

Se prepararon 6 columnas, que fueron operadas usando los parámetros del proceso de biolixiviación de la pila industrial del proyecto Sulfuros de Minera Escondida. Con el fin de disponer de muestras de mineral a lo largo del ciclo de lixiviación, las columnas se fueron descargando en forma secuencial. Por otra parte, además, se tomaron muestras del mineral de la pila industrial de Minera Escondida con el objetivo de comparar los resultados con los obtenidos en los experimentos realizados en columnas. La pila industrial se divide en franjas y se tomaron muestras de la franja 1, terminado su ciclo de lixiviación, en cuatro puntos (M1, M2, M3 y M4) que se muestrearon a tres profundidades diferentes (0-6, 6-12 y 12-18 m) (Figura 5.2). En el momento de la toma de la primera muestra del mineral, la franja 1 no estaba operativa y se compararon los resultados de las muestras de los minerales de esta franja con la última muestra de la disolución tomada 2 meses antes. La segunda muestra fue tomada de la franja 9 a 0,5 m de profundidad; esta franja estaba en operación en el momento del muestreo. La pila industrial y el esquema de muestreo se pueden ver en las Figuras 5.1 y 5.2, respectivamente.

Las 6 columnas de 1 m de altura y 0,149 de diámetro, se cargaron con el mineral Escondida descrito en el apartado 2.2.3. Todas las columnas se operaron a temperatura ambiente y en circuito cerrado y con una disolución de alimentación de planta. Las columnas se inocularon, el día 1 de operación, con el cultivo MEL a razón de 10 L/t de inóculo. El diseño y los parámetros operacionales se encuentran en Tabla 5.1.

Periódicamente, se realizaron medidas del Cu, Fe^T, Fe²⁺, H⁺, pH y Eh; análisis de la composición de la comunidad microbiana por recuento de microorganismos viables (NMP); y la cuantificación de microorganismos a través de CARD-FISH y PCR en tiempo real en las disoluciones y en los minerales lixiviados de los ensayos en columna y de las muestras de la pila industrial. Adicionalmente, se hizo el análisis mineralógico por QEMSCAM® del mineral de

CAPITULO V

alimentación y de los lixiviados de cada ensayo en columna. Los procedimientos de análisis están descritos en el capítulo II, apartados 2.4 y 2.6.

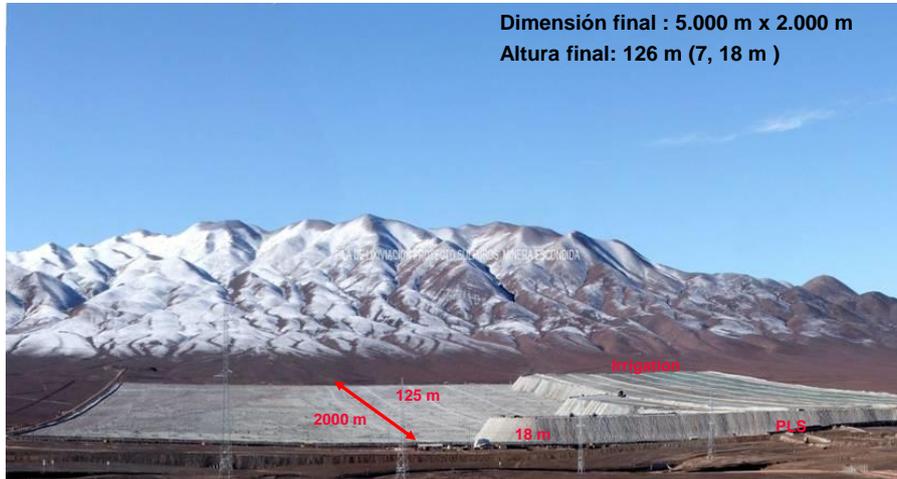


Figura 5.1 Imagen de la pila industrial de mineral ROM (*run of mine*) de Minera Escondida

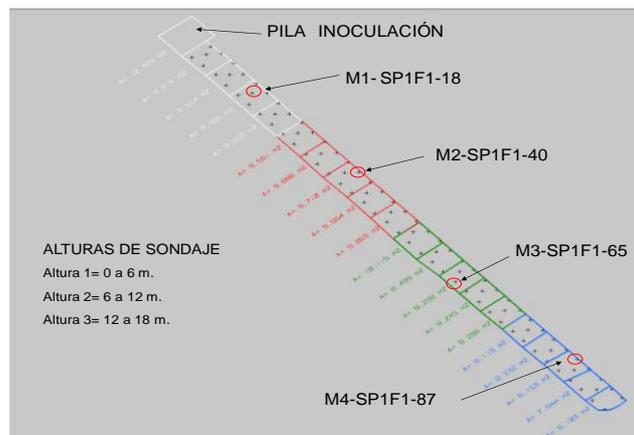


Figura 5.2 Esquema de la malla de muestreo en la franja 1 de la pila industrial.
M1 altura de 0 a 6m de profundidad, M2 de 6 a 12 m; M3 de 12 a 18 m

Tabla 5.1 Diseño de los ensayos en columna con descarga secuencial

Columnas	Ciclo de Lixiviación (días)	Tasa de Riego (L/(h*m ²))	Temperatura (°C)	Flujo de Aire m ³ /t*h
MC1	7	6	ambiental	0,02
MC2	14	6	ambiental	0,02
MC3	21	6	ambiental	0,02
MC4	50	6	ambiental	0,02
MC5	100	6	ambiental	0,02
MC6	150	6	ambiental	0,02

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Disolución de los minerales sulfurados de baja ley y su colonización por los microorganismos

5.3.1.1 Disolución de los minerales sulfurados

En los experimentos en columna, la recuperación de cobre total se calculó mediante la determinación del metal en las disoluciones de alimentación y percolado, en el mineral de entrada y en los residuos ya lixiviados. Los resultados mostraron una recuperación de cobre superior al 37% en el ensayo MC1 después de 7 días de lixiviación, mientras que en el ensayo MC2 la recuperación fue del 49,3% en 14 días, alcanzándose, probablemente, en este ensayo la solubilización de la mayor parte de los minerales oxidados. En los restantes ensayos, del MC3 al MC6, se obtuvo una recuperación de cobre del 57 al 68% entre los días de operación 21 a 150 habiéndose disuelto parte de los minerales conteniendo sulfuros secundarios (calcosina y covelina) y primarios (calcopirita) (Figura 5.3). La Figura 5.4 muestra el consumo de ácido total, el cual fue proporcional al tiempo de lixiviación; los ensayos MC5 y MC6 fueron los que tuvieron los mayores consumos, 13,53 y 13,17 Kg/t, comparados con los 5,08 a 11,98 Kg/t consumidos por los ensayos MC1 y MC4, respectivamente.

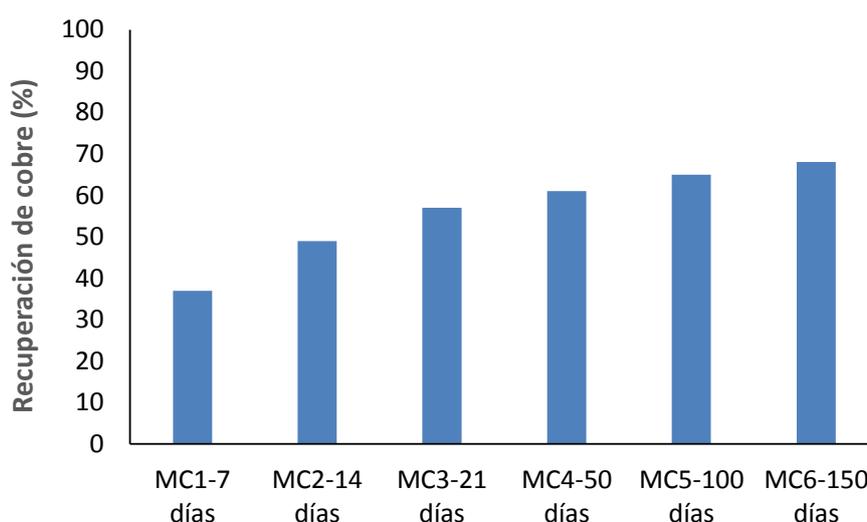


Figura 5.3 Recuperación de cobre de las disoluciones de percolado en los ensayos en columna

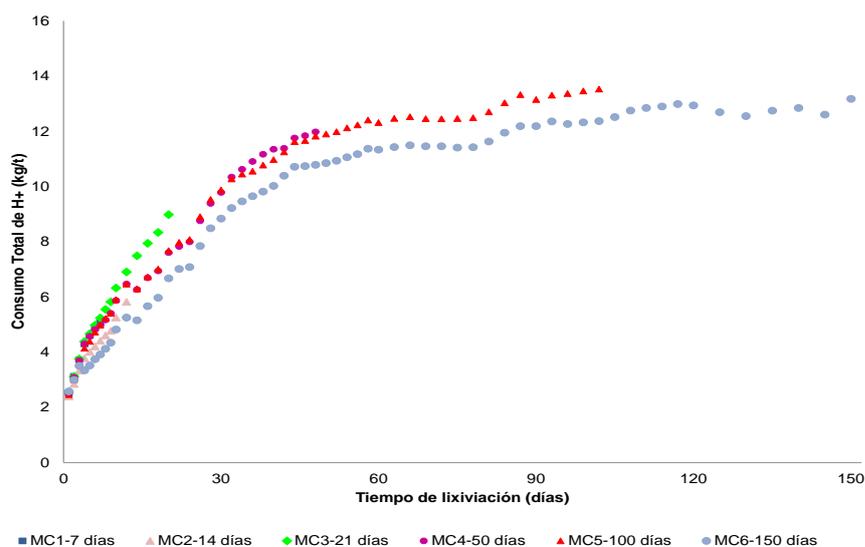


Figura 5.4 Consumo de ácido total a partir de las disoluciones de percolado en los ensayos en columna

Los potenciales redox de las columnas MC5 y MC6 aumentaron notoriamente durante la disolución, concretamente hasta 780 mV después de 51 días de operación (Figura 5.5A). El pH de las disoluciones de percolado de las columnas se mantuvo en el intervalo entre 2,3 y 1,4 (Figura 5.5B).

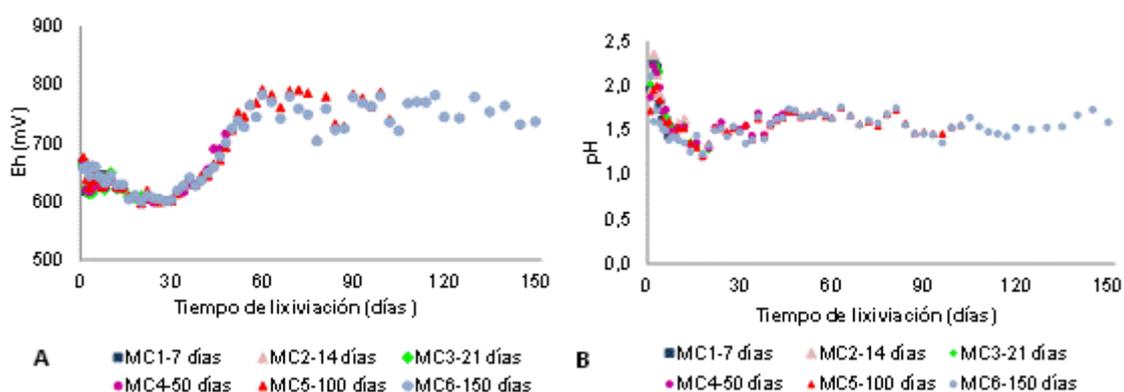


Figura 5.5 Potencial redox (A) y pH (B) de las disoluciones de percolado en los ensayos en columna

Los resultados generales del análisis mineralógico, mediante SEM y QEMSCAM®, indicaron que la recuperación de cobre a partir de los minerales con un cierto contenido en óxidos fue superior al 83% en todos los ensayos. Por otro lado, a mayor tiempo de lixiviación hubo una mayor disolución de los

minerales sulfurados como la calcosina y covelina. Sólo en los ensayos de mayor duración, CM5 y CM6, se observaron diferencias con respecto al contenido inicial, obteniéndose mayor recuperación a los 100 días de operación que a los 150 días; las razones de esta mayor recuperación pudieron estar relacionadas con que la columna CM5 tuvo una mejor colonización, ya que esta columna tuvo un orden de magnitud más que la CM6 en relación a las bacterias contenidas. La recuperación de cobre desde los sulfuros primarios, principalmente calcopirita, también aumentó con el tiempo de lixiviación pero fue inferior al 29% (Figura 5.6).

En cuanto a la formación de jarositas, se observó una mayor formación al inicio del ciclo de lixiviación, sobre todo en los ensayos MC1 y MC2 con un 0,30 y 0,39%, respectivamente, comparado con el 0,26 y 0,23% correspondiente a los ensayos MC5 y MC6 (Figura 5.7).

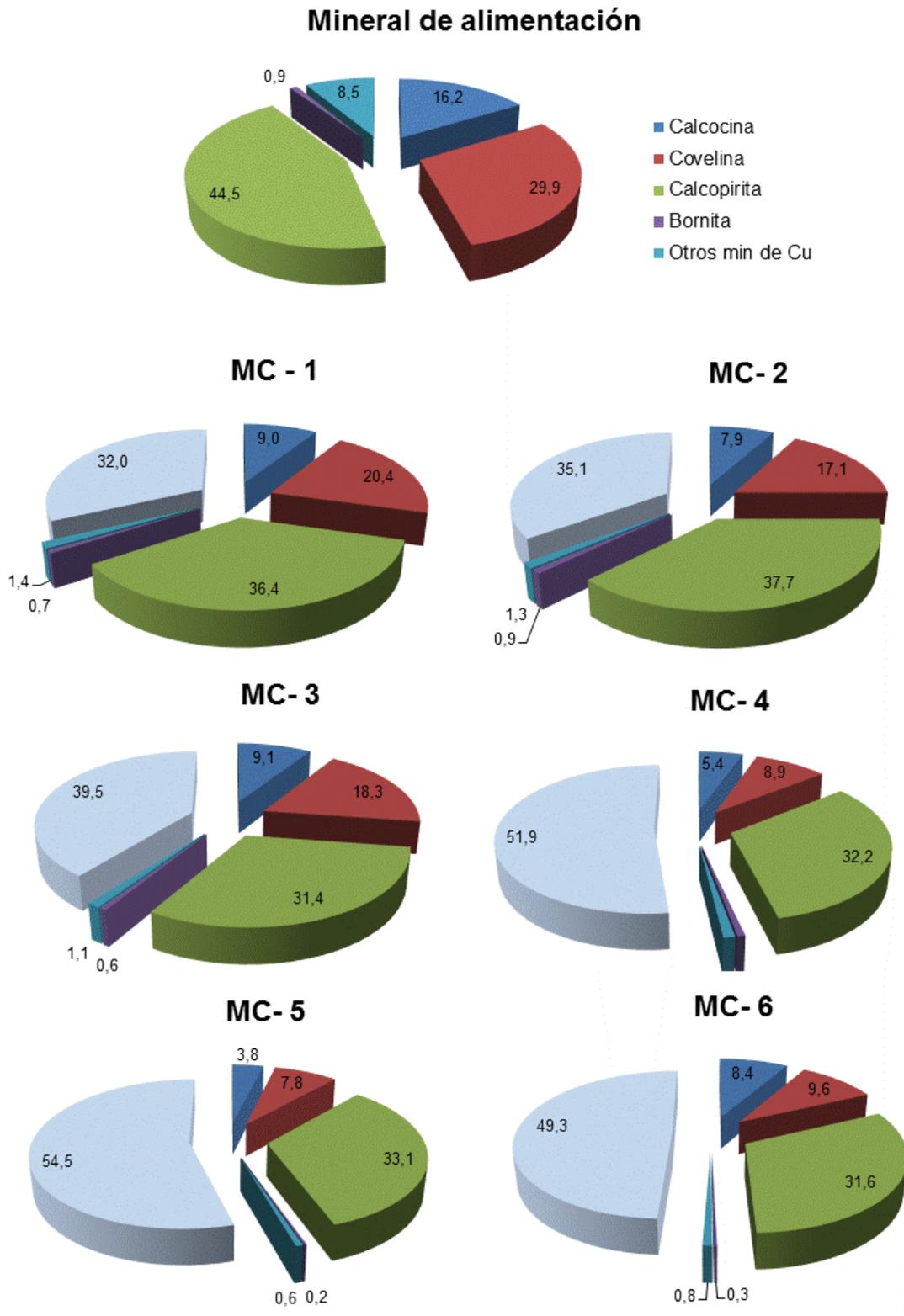


Figura 5.6 Análisis mineralógico de las especies de sulfuros de cobre de las columnas descargadas de forma secuencial durante el ciclo de lixiviación

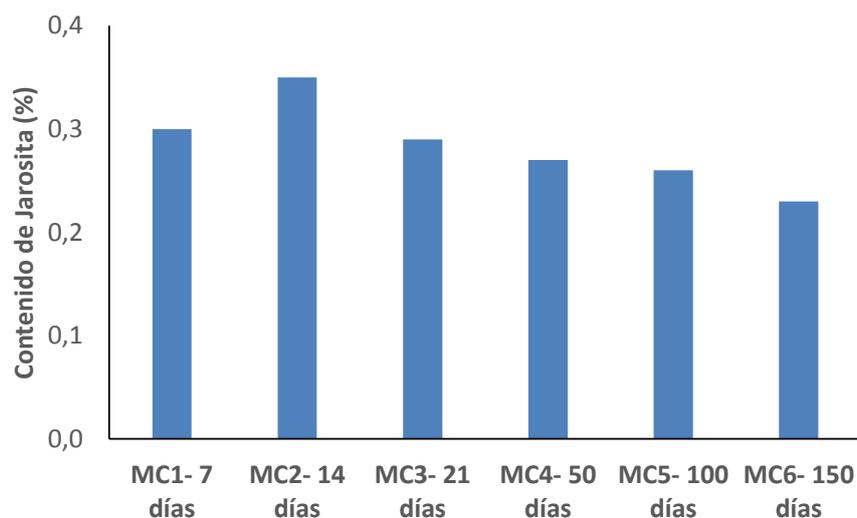


Figura 5.7 Análisis mineralógico de la formación de jarosita en los minerales lixiviados durante los ensayos en columna

5.3.1.2 Caracterización de los microorganismos en las disoluciones y en los minerales

La caracterización del cultivo MEL utilizado como inóculo de las columnas, descrita en el Capítulo III, apartado 3.3.1, puso de manifiesto que en dicho inóculo predominaban los microorganismos azufre-oxidantes frente a los hierro-oxidantes. El análisis mediante recuentos totales DAPI en las disoluciones de percolado de los ensayos en columnas presentó una oscilación entre 10^{11} y 10^{12} cel/m³ y fue similar en todos los ensayos (Figura 5.8). El mayor número de células se registró en el percolado del ensayo CM3, en el día 21 de operación, en el momento de ser descargada la columna. Los recuentos del número más probable (NMP) no detectaron microorganismos activos a los 7 días de operación y durante todo el período de operación predominaron los microorganismos azufre-oxidantes (Figura 5.8). Los microorganismos más frecuentes en el ciclo de lixiviación de 150 días, en los rípos, fueron los *Acidithiobacillus thiooxidans*, seguidos por *Leptospirillum ferriphilum*, *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* D2. No se encontró mayor diferencia en la cuantificación de los microorganismos entre los rípos de la parte superior e inferior. En la disoluciones del percolado, la predominancia a partir de los 21 días

fue de *Acidithiobacillus thiooxidans*. (Figura 5.9). La cuantificación de la comunidad microbiana en cuanto a bacterias totales, determinada por PCR en tiempo real, mostró que en los primeros días de operación los microorganismos estaban en mayor concentración en el mineral que en la disolución de percolado: se observaron diferencias de más de dos órdenes de magnitud, pero a partir del día 21 hasta el 150 de operación, esta diferencia no fue significativa (Figura 5.10).

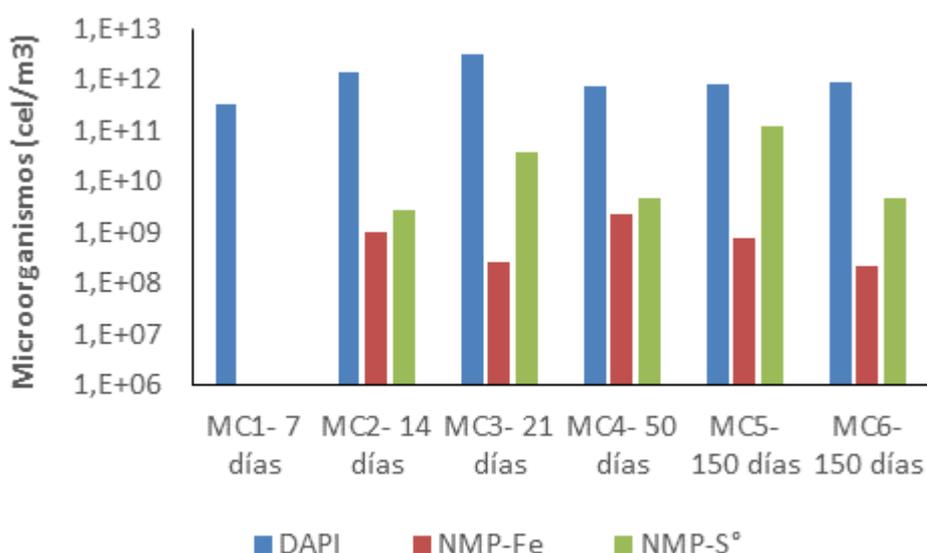


Figura 5.8 Recuentos DAPI y NMP de microorganismos hierro- y azufre-oxidantes, a 28°C, en las disoluciones de percolado de los ensayos en columna (MC1 al MC6)

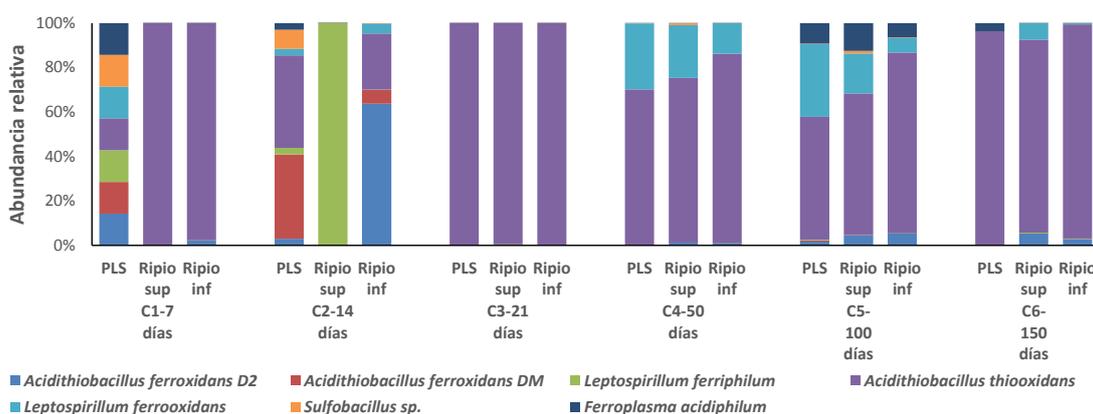


Figura 5.9 Cuantificación de bacterias de la disolución de percolado (cel/m³) y del mineral lixiviado inferior y superior (cel/t), en los ensayos en columna, mediante PCR en tiempo real

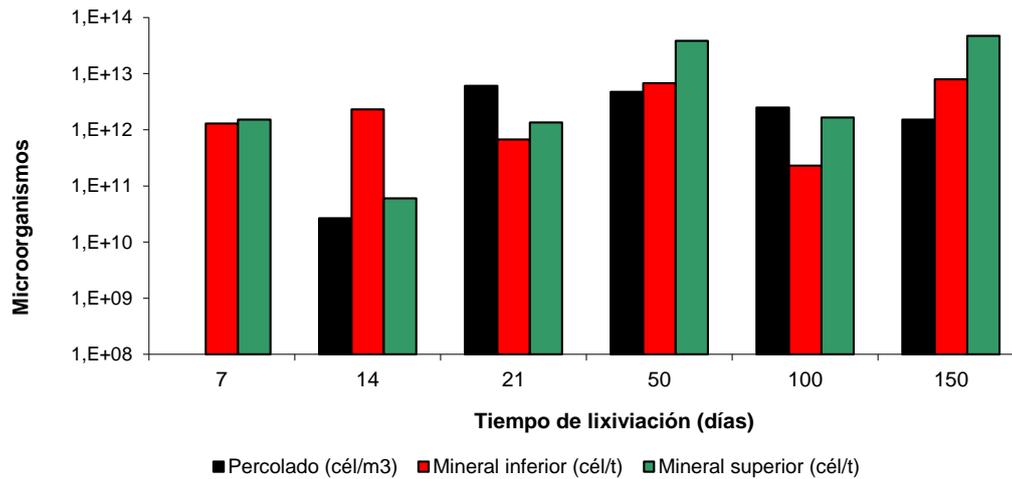


Figura 5.10 Cuantificación de bacterias totales mediante PCR en tiempo real en la disolución de percolado y en el mineral inferior y superior de los ensayos en columna (MC1 al MC6)

Los resultados de aplicar el ensayo CARD-FISH sobre el mineral mostraron un predominio de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Las determinaciones de *Acidithiobacillus ferrooxidans* por CARD-FISH indicaron una diferencia de un orden de magnitud, respecto a la realizadas por medio de PCR en tiempo real (Figura 5.11).

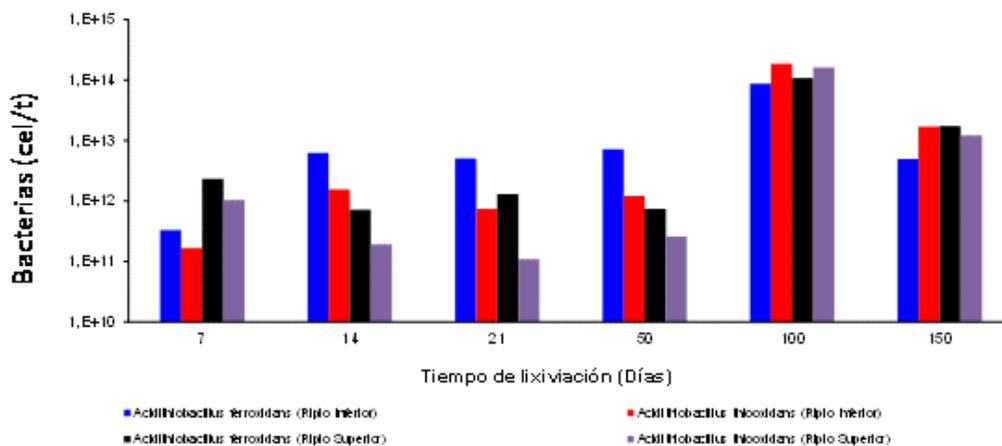


Figura 5.11 Cuantificación de bacterias mediante CARD-FISH en los ripios superiores e inferiores de los ensayos en columna (CM1 al MC6)

5.3.1.3 Caracterización de los microorganismos en las disoluciones y en los minerales de la pila industrial

En la pila industrial, específicamente en la franja 1, *Acidithiobacillus thiooxidans* fue predominante en tres de las cuatro muestras de mineral extraídas (Figura 5.12), mientras que *Acidithiobacillus ferrooxidans* predominó en sólo uno de los puntos de muestreo. En la franja 9 la cepa que predominó, tanto en el mineral como en la disolución, fue *A. ferrooxidans* D2 (Figura 5.13).

Se compararon los resultados obtenidos de las técnicas CAR-FISH y PCR en tiempo real, de las muestras tomadas de la franja 1. En la cuantificación, *Acidithiobacillus thiooxidans*, con ambas técnicas, apareció con valores similares en el punto de muestreo M1, en todas las profundidades de esta muestra; en los puntos de muestreo M2, M3 y M4, se registraron diferencias mayores a un orden de magnitud a las diferentes profundidades (Figura 5.14A). En el caso de *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Figura 5.14B), se observaron diferencias importantes en su cuantificación, tanto en los puntos de muestreo como a distintas profundidades, siendo aproximadamente dos órdenes de magnitud superiores con la técnica de determinación CARD-FISH, que con PCR en tiempo real.

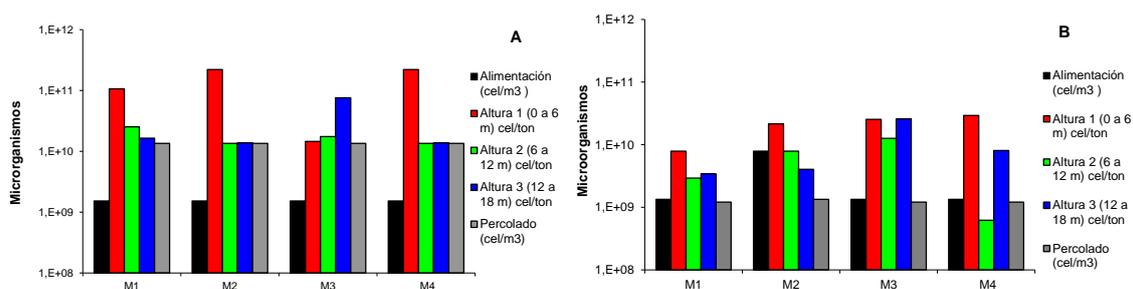


Figura 5.12 Determinación de *Acidithiobacillus thiooxidans* (A) y *Acidithiobacillus ferrooxidans* (B), mediante PCR en tiempo real, en las disoluciones de alimentación y en el percolado de la franja 1

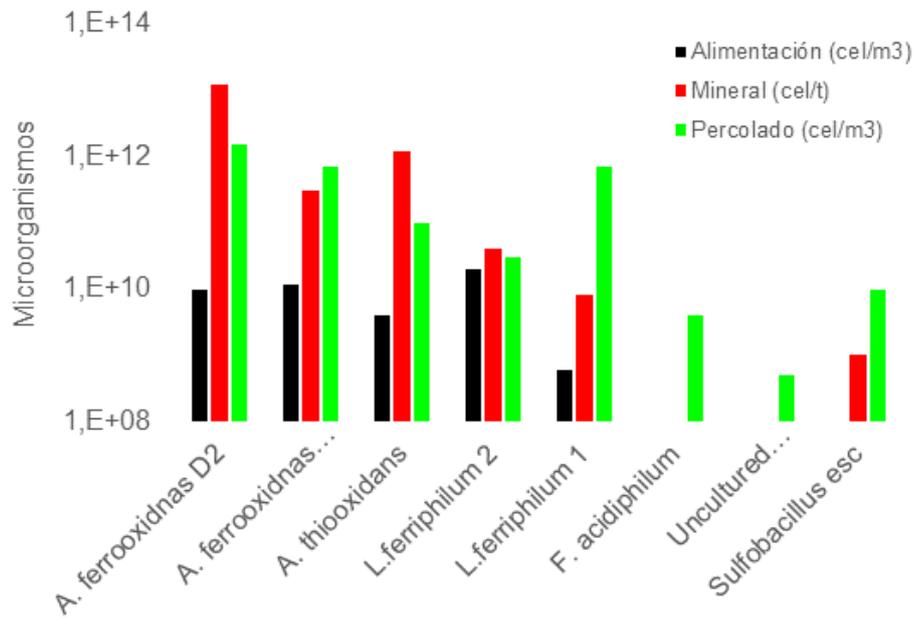


Figura 5.13 Determinación de microorganismos mediante PCR en tiempo real en las disoluciones de alimentación y en el percolado de la franja 9

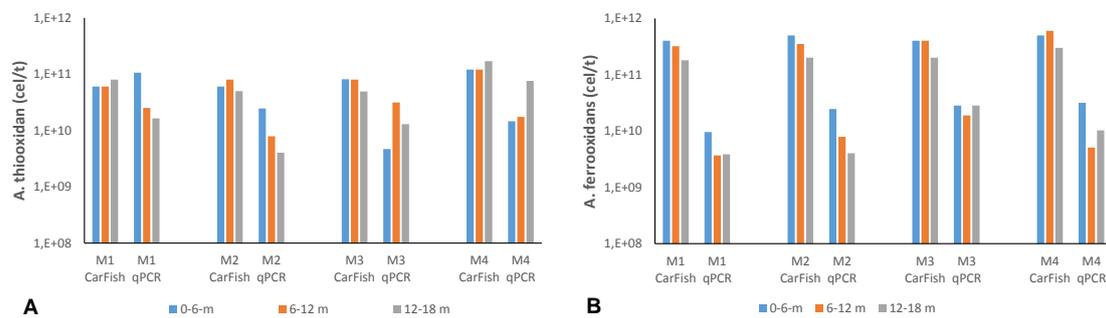


Figura 5.14 Resultados de la comparación entre las cuantificaciones específicas de los microorganismos *A. thiooxidans* (A) y *A. ferrooxidans* (B) por CARD-FISH y PCR en tiempo real en las muestras correspondientes al mineral M1, M2, M3 y M4 de la franja 1

5.4 DISCUSIÓN

5.4.1 Disolución de los minerales sulfurados en el ciclo de biolixiviación

Como ya se ha comentado, los ensayos se realizaron para obtener un mayor conocimiento sobre la dinámica de la disolución de los sulfuros en el ciclo de lixiviación. En este sentido, los ensayos en columnas demostraron que a los 7 días de operación ya se había recuperado más del 37% del cobre total (Figura 5.3), del cual el 80% correspondería a la disolución de los minerales oxidados de cobre, tales como atacamita, crisocola y brochantita (Figura 5.6). A los 14 días de operación, se había lixiviado casi el 50% del cobre total, de ahí en adelante la lixiviación fue más lenta hasta llegar a los 150 días de operación con una recuperación del 68% del Cu.

El estudio mineralógico que se realizó sobre las muestras de los ensayos MC1 al MC6 suministró información sobre la disolución de los principales sulfuros de interés que contenía el mineral (calcosina, Cu_2S ; covelina, CuS ; calcopirita, CuFeS_2 ; y bornita, Cu_5FeS_4) (Figura 5.6). Las recuperaciones por especies mostraron la disolución mayoritaria de la covelina y calcosina y una muy baja disolución de la calcopirita (Figura 5.15). Estos resultados también están en concordancia con los análisis de microscopía electrónica SEM que se realizaron al mineral lixiviado de las columnas al final de la prueba de biolixiviación, en los que sólo se detectó calcopirita, como se muestra en la Figura 5.16.

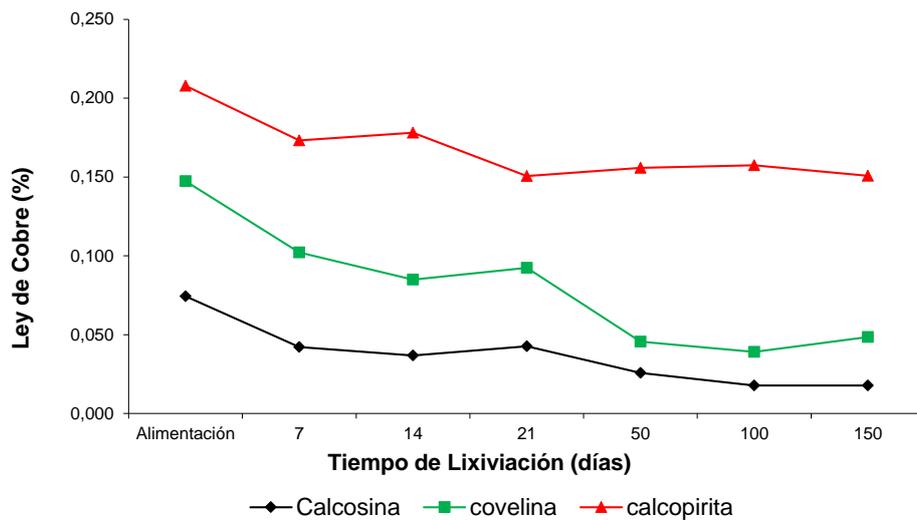


Figura 5.15 Ley de cobre por especies, obtenida por análisis QEMSCAM®, del mineral de entrada de los ensayos MC1 al MC6

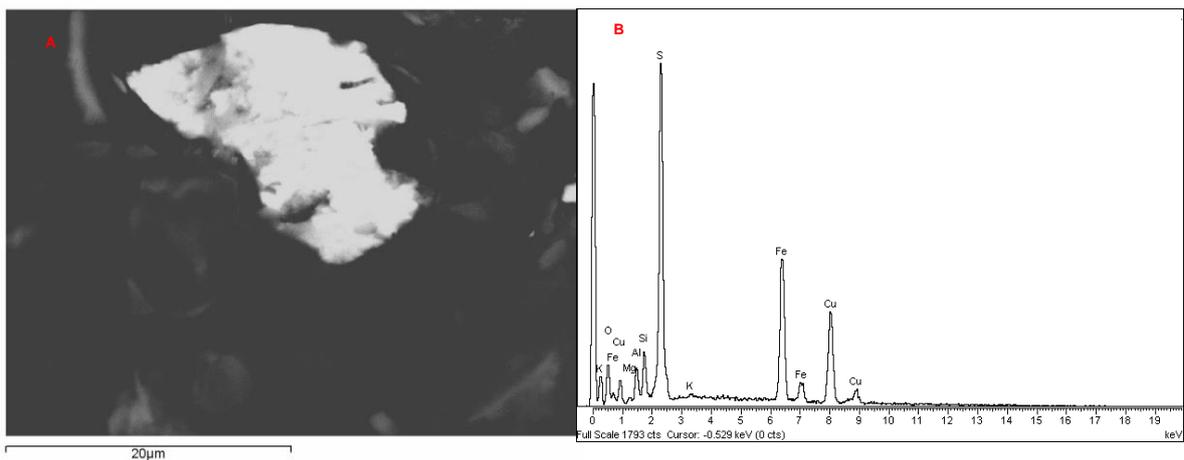


Figura 5.16 A Micrografía de una muestra de mineral lixiviado en las columnas; B espectro EDS de la muestra de calcopirita

Los resultados obtenidos en los experimentos en columnas concuerdan con los descritos por Watling, respecto de la baja disolución de calcopirita. La Figura 5.17 muestra la disolución de los diferentes sulfuros de cobre en un proceso de biolixiviación de acuerdo con esta autora (Watling, 2013).

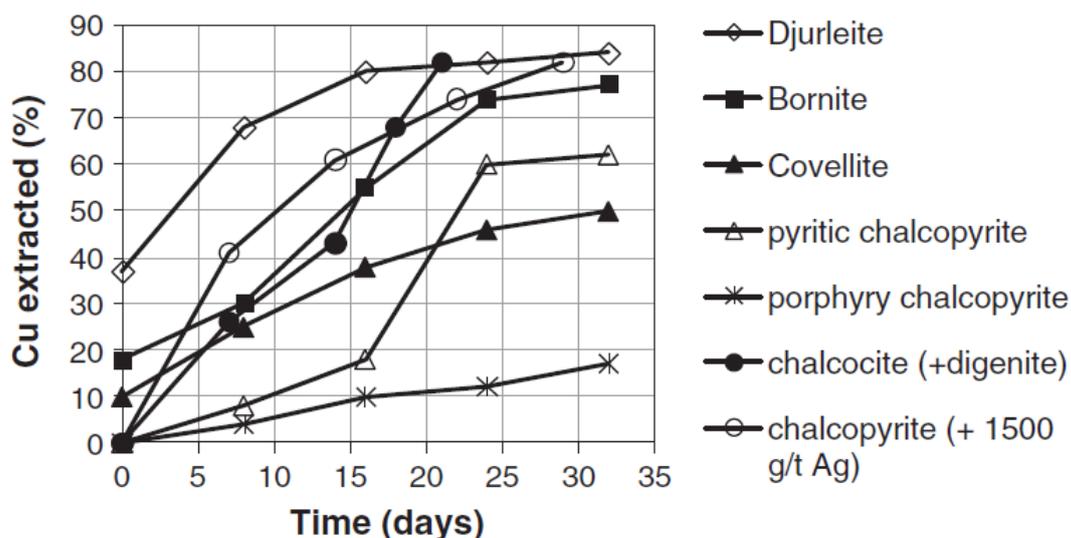


Figura 5. 17 Extracción de cobre a partir de minerales sulfurados (biolixiviación en reactor, pH 1,8-2, 30 °C, 2% densidad de sólidos (Watling, 2013)

Los resultados de la biolixiviación de la calcopirita muestran que sólo se alcanzó un 27% de disolución, lo que concuerda con los estudios de otros autores que indican la dificultad para la biolixiviación de este sulfuro a temperatura ambiente y con microorganismos mesófilos (Mehta y Murr, 1982). Esto se debe, principalmente, a un fenómeno de pasivación que ocurre a potenciales elevados en la disolución (>600 mV vs. Ag/AgCl), generados por la acción de los microorganismos hierro-oxidantes que participan en los procesos de biolixiviación (Hackl et al., 1995). Los productos de reacción que se cree que están implicados en la pasivación de la calcopirita son: una película compleja de sulfuro, polisulfuro y/o azufre elemental; o una capa no reactiva, rica en óxido de cobre que cubre parcialmente las superficies de la calcopirita (Hackl et al., 1995; Fu et al., 2012); o óxidos e hidróxidos de hierro, sulfatos básicos de hierro y/o jarosita (Córdoba et al., 2008a).

Se observó que la mayor proporción de jarosita se genera en los primeros días del ciclo de lixiviación, como se evidenció en los ensayos MC1 y MC2 (7 y 14 días de operación); posteriormente, experimentó una leve disminución, como en los ensayos CM3 a MC6 (desde el día 21 hasta el día 150) (Figura 5.7). La formación de jarosita está favorecida por el aumento del pH; valores entre 1,7 y

2,3 se consideran óptimos para la generación de jarosita en sistemas de lixiviación de sulfuros (Klauber, 2008). En las columnas MC1 y MC2, el pH osciló en el rango que va de 1,6 a 2,3 y, posteriormente, fue disminuyendo en el transcurso del ciclo de lixiviación (Figura 5.5A). Si se comparan estos valores de pH con los obtenidos en el estudio del efecto de esta variable en el proceso de biolixiviación (Capítulo III) (apartado 3.4.1), los resultados concuerdan en cuanto al intervalo de pH en el que se produjo la mayor precipitación de hierro. La temperatura es otro factor importante en la formación de la jarosita. En la literatura, se ha descrito que la formación de este compuesto está favorecida a temperaturas mayores de 60 °C (Watling et al., 2010). En el presente estudio, la temperatura promedio del lecho de las columnas fue de 21 °C y la ambiental de $23,2 \pm 2$ °C; por tanto, parece que esta variable no tuvo mayor incidencia en la formación de jarosita, siendo el pH el principal parámetro responsable de la formación de este precipitado.

La eficiencia de un proceso de biolixiviación depende en gran parte de la naturaleza de la mena en la cual se encuentra el metal (Muñoz et al., 1995) teniéndose que tener en cuenta diferentes aspectos:

- El mineral puede aportar nutrientes (los principales: nitrógeno, magnesio, fósforo e iones metálicos a nivel traza) que sirvan para el crecimiento de los microorganismos. El nitrógeno es el elemento más importante, después del carbono, para la síntesis de nueva biomasa celular. Niveles de amonio de 0,2 mM han demostrado ser suficientes para satisfacer los requisitos de nitrógeno de *At. ferrooxidans* (Tuovinen, 1978). La adición de NH_4^+ o PO_4^{3-} se traduce en un aumento de los costos del proceso de biolixiviación, además existe el riesgo que estos nutrientes propicien la formación de jarositas de amonio y fosfatos férricos (Watling et al., 2010). Estos requisitos nutricionales de los microorganismos en la pila industrial son aportados principalmente por los propios minerales.
- La disolución de la ganga del mineral consume ácido durante la lixiviación o biolixiviación y puede formar gel de sílice amorfa,

aumentando así la viscosidad y la concentración del hierro en lixiviados y, por consecuencia, promover la formación de jarosita (Dopson et al., 2009; Halinen et al., 2009; Watling et al., 2009).

- La disolución de la ganga también aporta impurezas, que pueden producir inhibición o toxicidad en la comunidad microbiana, además de reaccionar con el ácido formando precipitados que dificultan la percolación de la disolución en la pila por su menor permeabilidad. También se tiene que tomar en consideración que los minerales suelen ser muy distintos entre sí. Las especies portadoras de cobre son, generalmente, muy similares en su composición química pero, dependiendo de la ubicación y génesis del yacimiento, pueden estar contenidas en vetillas o finamente diseminadas en una roca matriz cuya composición y grado de alteración genera respuestas diferentes en el proceso de biolixiviación (Bustos, 2005).

5.4.2 Influencia de los microorganismos en el ciclo de biolixiviación

El estudio de la composición de las comunidades bacterianas en las experiencias en columnas mostró que las cepas dominantes en la disolución fueron *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*; y en el mineral *Acidithiobacillus thiooxidans*, seguido por *Leptospirillum ferriphilum*, *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* D2 (Figura 5.10). La predominancia de las bacterias *Acidithiobacillus thiooxidans* concuerda con el análisis de número más probable (Figura 5.8), el cual mostró mayor actividad de los microorganismos azufre-oxidantes desde el día 21 hasta el término del ciclo de lixiviación. Estos resultados están de acuerdo con otros estudios publicados en la literatura en cuanto a la relación entre el número de células obtenidas a partir del PCR en tiempo real, el recuento de NMP y la actividad oxidante. Los resultados indicaron que hay una buena correlación entre la actividad de oxidación microbiana y los recuentos de microorganismos (Demergasso et al., 2010; Soto et al., 2010).

Se observó que al inicio del ciclo de lixiviación el mayor porcentaje de microorganismos estaba en el mineral y no en el percolado y a medida que transcurría el tiempo la diferencia entre la concentración de microorganismos en la disolución y en el mineral fue menor a un orden de magnitud (Figura 5.10). Estos resultados fueron corroborados por un estudio de adhesión de las bacterias en los minerales sulfurados calcosina y pirita en el que se determinó que el mayor porcentaje de adhesión de las células al mineral se producía el primer día de contacto y las células en los minerales representaban más del 50% del total de las células que se encontraban en suspensión (Echeverría et al., 2015). Otro estudio comparó la adhesión de *At. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* y *Leptospirillum* sp., sobre superficies de calcosina, pirita o calcopirita demostrando que la mayoría de las células estaban asociadas a la pirita y a la calcopirita, con poca colonización de calcosina, y el número de células *Leptospirillum* era siempre menor que el de las dos especies de *Acidithiobacillus*, para todos los minerales (Echeverría et al., 2009). En una investigación realizada en columnas de pequeño tamaño, a partir del análisis de las muestras de la disolución de percolado, se estimó que el $69 \pm 13\%$ de las células inoculadas se mantuvo en la columna 2h después del inicio de la irrigación de la disolución de alimentación (Govender et al., 2013).

Los resultados mostraron una predominancia de *Acidithiobacillus thiooxidans* en las muestras M1, M2 y M4 y de *Acidithiobacillus ferrooxidans* D2 en la muestra M3 (Figura 5.12), en la franja con más de 400 días de funcionamiento. En la profundidad 1 (0 a 6 m), se observó, en las muestras M1, M2 y M4, una mayor cantidad de células para *A. thiooxidans* y *A. ferrooxidans* D2 en relación con los análisis a otras profundidades; esto pudo ser debido a la mayor concentración de oxígeno que hay en la superficie de la pila el cual es aportado por el aire del ambiente. El O₂ es necesario para la oxidación de los minerales sulfurados, de los productos intermedios y para la respiración oxidativa de los microorganismos. Por otra parte, el aire también aporta CO₂, que es necesario, como fuente de carbono, para los microorganismos autótrofos que actúan como productores primarios (Bryan et al., 2012; Petersen et al., 2010). En las pilas industriales, se introduce O₂ y CO₂ mediante la inyección de aire al sistema, por la parte inferior de las mismas. La tendencia anterior no se observó

en la muestra M3 analizada; esto se debió, posiblemente, a la heterogeneidad de la pila, en la que se podrían formar microambientes, los cuales presentan una dominancia característica en cuanto a los microorganismos crecidos en tales ambientes. En las pilas de gran tamaño es inevitable que las condiciones varíen dentro del lecho del mineral como resultado de cambios en la mineralogía del mismo, en la aireación y en la disolución, así como por una distribución imperfecta, a través del lecho, del mineral y a la diferente posibilidad de realización de las diferentes reacciones químicas que, finalmente, afectan a la temperatura, al pH y a la cinética de disolución (Watling et al., 2010). A modo de ejemplo, Plumb indicó que los ciclos de biolixiviación son de larga duración, pueden ser de meses a años, y, por tanto, también se ven afectados por la ubicación geográfica y los cambios climáticos estacionales asociados (Plumb et al., 2007).

En la muestra de la franja 9, con 60 días de funcionamiento, la cepa dominante en el sistema fue *Acidithiobacillus ferrooxidans* D2 (Figura 5.13). La concentración de microorganismos en esta franja fue, en promedio, dos órdenes de magnitud superior a la de la franja 1. Estas diferencias se atribuyen a que el mineral estudiado de la franja 9, en el momento del sondaje, se encontraba en operación lo cual mantuvo un mayor número de células por la mayor humedad del mineral; entonces, el mineral con poco tiempo de lixiviación pudo aportar más hierro y azufre, como fuente de energía y nutrientes, en comparación con las muestras de la franja 1 que, debido al tiempo transcurrido entre el término de la operación y el sondaje, había terminado su ciclo de lixiviación por lo que el mineral presentaba menor humedad y un mayor agotamiento del sustrato para ser utilizado por los microorganismos.

En la comparación que se realizó de los resultados obtenidos con las técnicas de biología molecular de CARD-FISH y PCR en tiempo real, en las muestras tomadas de la franja 1, se observó una diferencia importante en cuanto a la cuantificación de *A. ferrooxidans* (Figura 5.14B). Los recuentos de este microorganismo fueron aproximadamente dos órdenes de magnitud superiores a lo contabilizado por PCR en tiempo real. Este hecho se debe, posiblemente, a que la sonda utilizada para CARD-FISH es una sonda universal para todos los

microorganismos de esta especie, en tanto que los partidores utilizados para la cuantificación por PCR en tiempo real sólo coinciden con dos cepas de forma específica. Si existieran en el proceso otras cepas de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la población de este microorganismo estaría subestimada en los análisis por PCR en tiempo real.

En el estudio comparado entre las comunidades microbianas analizadas en muestras de las experiencias en columnas e industriales, se comprobó que había una elevada similitud entre las poblaciones presentes en el mineral y en la disolución; por tanto, se puede considerar que los resultados obtenidos a partir de la disolución reflejan también la estructura de la comunidad presente en el interior del lecho de la pila. De este modo, los resultados han confirmado que las poblaciones de microorganismos más abundantes en muestras de minerales de la citada pila corresponden a los encontrados comúnmente como predominantes en las disoluciones de lixiviación.

Estos resultados difieren de lo encontrado en la literatura. Los estudios realizados por Govender et al., 2015, en un sistema experimental a nivel de laboratorio, que simulaba el proceso de biolixiviación para cuantificar la colonización, el crecimiento y la propagación de una cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, se presentaron diferencias en los valores obtenidos en el lecho de un mineral sulfurado de baja ley (calcopirita) comparados con los de la disolución de percolado. El estudio definió tres fases en el sistema: la disolución de percolado; una fase intersticial, es decir, asociada con el mineral y el líquido estancado en la superficie del mineral, siendo la más abundante dentro de la pila (Figura 5.18); y, por último, la fase de adhesión a la superficie del mineral. Se encontró que había una clara diferencia en la dinámica de la población bacteriana en cada una de estas fases debido a que la fase de disolución de percolado fue dominada por los efectos del transporte de las otras fases; por tanto, la cinética de crecimiento determinada para la fases minerales son subestimadas y deben ser mejoradas para tener en cuenta el transporte microbiano de cada fase asociada (Govender et al., 2013, 2015). En el estudio realizado para completar el presente capítulo, se comparó la abundancia de microorganismos en el mineral y en la disolución de percolado sin considerar

fluctuaciones por la influencia de disoluciones intersticiales. Las muestras de la pila industrial analizadas provenían de un proceso ROM, lo que significa que no hay una etapa de chancado y el mineral no fue aglomerado, por lo que el tamaño de partícula es mucho más heterogéneo que en el estudio de Govender. Los resultados sugirieron una baja influencia de las fases intersticiales respecto de la abundancia de los microorganismos en el mineral y en la disolución del percolado. Además, los microorganismos usados en nuestra experimentación fueron los de un cultivo mixto nativo y se determinó la dinámica de más de una cepa.

Otro estudio recogido en la bibliografía propone una metodología para determinar la cinética de crecimiento y de oxidación de microorganismos sésiles. El estudio inicial indicó que tales bacterias sésiles alcanzaron mayores rendimientos con la utilización de carbono, pero al parecer lo asimilaron de manera diferente a los cultivos planctónicos (Duku et al., 2013). La investigación de la adhesión de microorganismos en minerales sulfurados ha sido orientada principalmente a la calcopirita, habiendo pocos estudios de la calcosina, que es el principal recurso lixiviable en los procesos de biolixiviación. Echeverría et al., 2015, investigaron la adherencia a la calcosina y a la pirita con microorganismos acidófilos obtenidos de una operación de biolixiviación. Utilizaron cepas de *A. ferrooxidans* y *A. ferridurans* que mostraron diferencias significativas tanto en la adhesión, con respecto a la pirita y la calcosina, como en su hidrofobicidad, resistencia y motilidad.

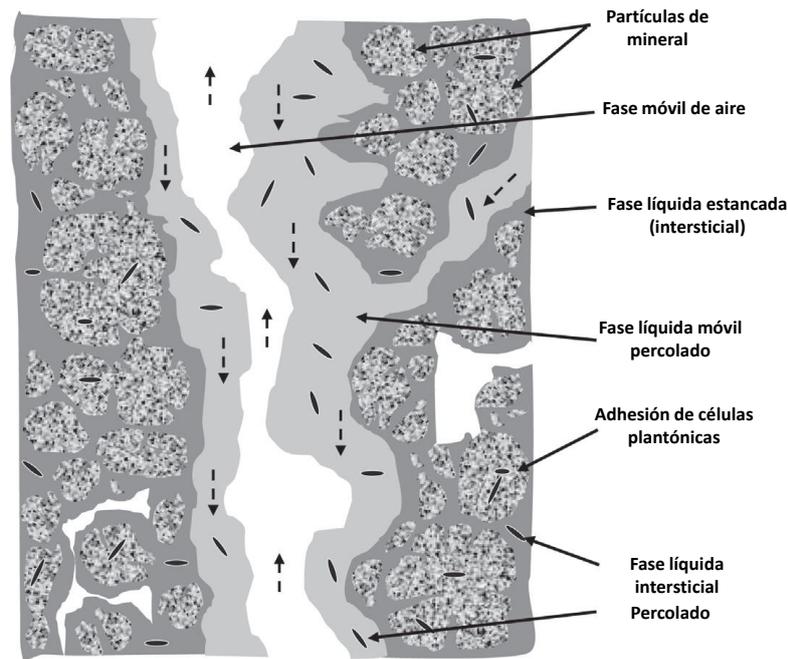


Figura 5.18 Esquema de las fases líquida, sólida y gaseosa dentro del lecho del mineral aglomerado (Govender et al., 2013)

En otros estudios realizados en columnas y en pilas, piloto e industrial, se obtuvieron resultados similares en cuanto a la biodiversidad de las comunidades microbianas y en su predominancia, como se muestra a continuación:

- El estudio de la caracterización de la comunidad microbiana que se realizó en la pila piloto del Proyecto Lixiviación de Sulfuros de Minera Escondida reveló una dinámica de microorganismos predominantes a temperatura ambiente en las diferentes etapas del ciclo de biolixiviación. La distribución de los microorganismos en el tiempo permitió diferenciar tres períodos. En la primera etapa, los microorganismos predominantes fueron *Acidithiobacillus ferrooxidans* y la arquea *Sulfurisphaera* sp. En la segunda etapa, entre los días de operación 255 y 338, los microorganismos detectados como predominantes fueron *Leptospirillum* sp. y *Ferroplasma* sp. Por último, en el tercer período, entre los días de operación 598 y 749, *Sulfobacillus* sp. se convirtió en el microorganismo predominante y la única arquea detectada fue *Ferroplasma* sp. (Demergasso et al., 2005).

- En experiencias de biolixiviación en columnas de 6 m, realizadas por la compañía Anglo American, División Los Bronces, Chile, con un mineral sulfurado de cobre de baja ley (0,55% de cobre total), en el que la calcopirita y calcosina eran las principales especies de sulfuros primarios y secundarios, se caracterizaron las disoluciones de percolado y mineral mediante análisis moleculares (DGGE, FISH y CARD-FIHS). Los resultados obtenidos mostraron que la especie predominante en las disoluciones percoladas y en el mineral de la columna fue *Acidithiobacillus ferrooxidans*; además de esta especie, se encontraron *Acidiphillum acidophilus* y *Leptospirillum* (Saldivar y Zárate, 2007).
- En un estudio realizado durante la transición de un proceso de lixiviación de óxido a un proceso de biolixiviación de sulfuro (2006-2009), utilizando mineral de *Capricho Creek*, se investigaron las comunidades microbianas en experiencias en columnas y en pilas industriales, mediante análisis moleculares (PCR, T-RFLP). En las columnas se detectaron cepas bacterianas relacionadas con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *At. caldus*, *Leptospirillum ferriphilum*, *Acidimicrobium ferrooxidans*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* y con la arquea *Ferroplasma acidiphilum*. En la pila industrial, se encontraron distintas poblaciones en las muestras del mineral, siendo los microorganismos predominantes en las muestras líquidas *Leptospirillum* y *Acidithiobacillus* y en las sólidas *Leptospirillum* (Watling et al., 2014a).

**CAPÍTULO VI: ESTUDIO DEL EFECTO DEL IÓN CLORURO EN LA
BIOLIXIVIACIÓN DE MINERALES SULFURADOS DE COBRE**

6.1 INTRODUCCIÓN

El ión cloruro puede tener distintos efectos en los procesos de lixiviación de sulfuros metálicos. En los procesos de biolixiviación, elevadas concentraciones de este ión ejercen un efecto inhibitor sobre el crecimiento celular (Zammit et al., 2009). El diseño completo de los procesos biohidrometalúrgicos tiene que contemplar el uso eficiente de los recursos hídricos y, por ello, las disoluciones, por lo general, son constantemente recirculadas en el sistema. En el tiempo, esta constante recirculación puede producir un aumento de la carga iónica, principalmente a través del aumento de las concentraciones de iones tales como cloruro, sulfato y aluminio, que pueden afectar a la comunidad microbiana, disminuyendo la actividad de los microorganismos hierro- y/o azufre-oxidantes. Cuando se observan este tipo de inhibiciones debido al aumento de la carga iónica, parte de la disolución madre circulando en el sistema debe ser desechada y sustituida por agua fresca, con el fin de producir, obviamente, una dilución en la concentración de los solutos y de mejorar la calidad del agua industrial y, por tanto, de los procesos (Davis-Belmar et al., 2008). Esta dilución alivia el estrés osmótico de la población microbiana y permite a los microorganismos recuperar su actividad oxidante. Por otra parte y desde un punto de vista químico, es conocido que la presencia de ion cloruro puede mejorar la lixiviación de calcopirita a potencial bajo (Dutrizac, 1981; Shiers et al., 2005). En los minerales sulfurados de cobre de baja ley, la recuperación del metal desde la calcopirita utilizando la biolixiviación es relativamente baja; en este sentido, se han realizado diversos estudios sobre cuáles serían las bases físico-químicas que explicarían la baja recuperación de cobre en procesos de lixiviación bacteriana. La mayoría de los estudios realizados indican, principalmente, una tendencia a la pasivación del mineral cuando se trabaja a elevados potenciales electroquímicos (>600 mV vs Ag/AgCl) (Córdoba et al., 2009). Se ha encontrado que la máxima disolución de calcopirita ocurre, en presencia de cloruro, en el intervalo de potencial 550-620 mV (Velásquez-Yévenes et al., 2010a).

En los procesos de biolixiviación, se han encontrado microorganismos acidófilos halotolerantes que pueden adaptarse adecuadamente, bajo ciertas condiciones salinas, aunque no requieran NaCl para su crecimiento (Watling, 2014). En este sentido, se ha publicado un trabajo utilizando microorganismos halotolerantes para la biolixiviación de un mineral sulfurado de cobre de baja ley (Rautenbach et al., 2011). Los autores describen la biolixiviación de los minerales de sulfuro de cobre secundario utilizando dos microorganismos acidófilos halotolerantes obtenidos mediante el enriquecimiento en disoluciones del proceso. No se han identificado o descrito microorganismos acidófilos en procesos de biolixiviación industrial que, además, requieran concentraciones elevadas de NaCl para su crecimiento (halófilos). Actualmente, el único microorganismo acidófilo oxidante de Fe y S que requiere NaCl (40 mM) para su crecimiento óptimo es *Thiobacillus prosperus*; sin embargo, no ha sido detectado en las operaciones de biolixiviación de cobre (Davis-Belmar et al., 2008).

En general, a nivel industrial, se han realizado pocos intentos con el fin de investigar y conocer la biología de las disoluciones que contienen las mayores concentraciones de Cl⁻ (como el agua de mar o las salmueras). El desechar agua a escala industrial genera un mayor costo de operación y un impacto ambiental negativo, teniendo en cuenta que el agua es un recurso fundamental para la operación. Pero, además, en el caso particular de los procesos de biolixiviación, también cuenta la calidad de esta agua. Por otro lado, una parte considerable de los depósitos ricos en cobre se encuentran ubicados en zonas áridas y semiáridas donde, normalmente, las fuentes de agua son limitadas y de baja calidad. Por ejemplo, el norte de Chile y, específicamente, la Región de Antofagasta (desierto de Atacama), que acoge la mayoría de las operaciones mineras de este país, es una de las zonas más secas del planeta. Para un mejor aprovechamiento de los recursos hídricos y para una adecuada recuperación de cobre desde los minerales más refractarios, se requiere innovar tecnológicamente; por ello, en este trabajo, se propone investigar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de cloruro en ensayos de biolixiviación, tanto en matraces como en columnas, utilizando tanto un mineral con un alto porcentaje de calcopirita como otro de baja ley.

6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1 Microorganismos

Se utilizó el cultivo MEL original según ha sido descrito en el apartado 2.1.1. El cultivo se adaptó a concentraciones de hasta 15 g/L de cloruro. La preparación del inóculo para las pruebas de adaptación en medio cloruro se realizó en matraces de 300 mL, con 100 mL de un medio de cultivo denominado TK 4-4-4, que tiene la siguiente composición: 0,4 g/L de sulfato de amonio, 0,4 g/L de fosfato de potasio y 0,4 g/L de sulfato de magnesio. Se añadieron 4 g/l de Fe²⁺, se incubó a 25 °C y se adicionó el 5% del inóculo MEL original agitando a 100 rpm en una incubadora orbital.

6.2.2 Efecto del ión cloruro en los ensayos de biolixiviación en matraces

Se realizaron ensayos por duplicado con mineral proveniente de Minera Escondida Ltda. (MEL) descritos en apartado 2.2.1, y con un mineral de alta ley en calcopirita. Las pruebas se realizaron en matraces de 300 mL, agitados a 100 rpm, en una incubadora orbital New Brunswick Edison y a temperatura ambiente. La disolución usada fue medio de cultivo TK 4-4-4 (ver apartado anterior). La inoculación de los matraces se realizó con una suspensión conteniendo $1 \cdot 10^7$ cel/mL; el cloruro se adicionó como NaCl. El diseño experimental de cada prueba se recoge en las Tablas 6.1 y 6.2.

Tabla 6.1 Diseño experimental de la prueba en matraces con mineral de alta ley de calcopirita

Matraces	Mineral (g)	Inóculo MEL (mL)	Medio de cultivo (mL)	Cl- (g/L)	Hierro II (g/L)
M1	2	-	100	-	0,5
M2	2	-	100	7	0,5
M3	2	1	99	-	0,5
M4	2	1	99	7	0,5
M5	2	1	99	10	0,5
M6	2	1	99	14	0,5

Tabla 6.2 Diseño experimental de la prueba en matraces con mineral de la mina Escondida

Matraces	Mineral (g)	Inóculo MEL (mL)	Medio de cultivo (mL)	Cl- (g/L)	Hierro II (g/L)
M1	10	-	100	-	0,5
M2	10	-	100	7	0,5
M3	10	1	99	-	0,5
M4	10	1	99	7	0,5
M5	10	1	99	10	0,5
M6	10	1	99	14	0,5

La muestra utilizada de mineral de alta ley de calcopirita provenía, a su vez, de una muestra del norte de Chile. El mineral contenía 30,0% de cobre y 27,9% de hierro total. El mayor porcentaje de cobre estuvo asociado a la calcopirita (65%) y la composición mineralógica global se muestra en la Tabla 6.3. De los ensayos en matraces, se realizaron periódicamente análisis químicos de Cu, Fe^T, Fe⁺², pH y Eh a las disoluciones, y de Cu y Fe al mineral; finalmente, también se hicieron análisis de la composición de la comunidad microbiana utilizando la técnica de PCR en tiempo real.

Tabla 6.3 Análisis mineralógico de la muestra de mineral de calcopirita de alta ley

Mineral	Fórmula	Mineral alta ley
Calcosina	Cu ₂ S - Cu _{1,4} S	0,06
Covelina	Cu _{1,4} S - CuS	0,09
Calcopirita	CuFeS ₂	65,84
Otros minerales de cobre	Cu ₄ (SO ₄)(OH) ₆	0,08
Pirita	FeS ₂	0,94
Óxidos de hierro	FeO(OH) / Fe ₂ O ₃ / Fe ₃ O ₄	2,40
Cuarzo	SiO ₂	3,92
Biotita	K(Mg,Fe ²⁺) ₃ [AlSi ₃ O ₁₀ (OH,F) ₂	0,11
Hornblende	Ca ₂ [Mg ₄ (Al,Fe ³⁺)]Si ₇ AlO ₂₂ (OH) ₂	0,85
Calcita	CaCO ₃ / (Mg,Ca)CO ₃ / x.CO ₃	0,33
Apatita	Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH,F,Cl)	16,20
Clorita	(Mg,Fe ²⁺) ₅ Al[(OH) ₈ AlSi ₃ O ₁₀]	5,58
Jarosita	(K,Na,H ₃ O)Fe ³⁺ ₃ (SO ₄) ₂ (OH) ₆	0,08
Otros	---	3,11
Total		100

6.2.3 Efecto del ión cloruro en los ensayos de biolixiviación en columnas

Se construyeron 4 columnas de 0,5 m de altura, que fueron operadas con parámetros similares a los del proceso industrial utilizado para la biolixiviación y con una disolución de alimentación sintética, la cual contenía distintas concentraciones de cloruro (7, 10 y 14 g/L Cl⁻). Las columnas MC1, MC2 y MC3 fueron inoculadas con el cultivo MEL adaptado y la columna MC4 trabajó como control sin inocular.

El procedimiento de trabajo para las 4 columnas está descrito en el apartado 2.2.3. Las columnas operaron a temperatura ambiente y en circuito abierto con una disolución de alimentación sintética compuesta por agua destilada con 0,1 g/L de Cu y 0,5 g/L de Fe²⁺, añadidos como sales de sulfato ferroso (FeSO₄*7H₂O) y sulfato de cobre (Cu₂SO₄*5H₂O), respectivamente, y acidificada con H₂SO₄, con un pH de 1,8. Las columnas se inocularon con 10 l/ton del inóculo MEL, el día 5 de operación. El diseño experimental y los parámetros operacionales se encuentran en Tabla 6.4.

Se realizaron, periódicamente, análisis químicos de Cu, Fe^T, Fe²⁺, H⁺, pH y Eh, el análisis de la composición de la comunidad microbiana utilizando el recuento de microorganismos viables (NMP) y la cuantificación de los microorganismos a través de DGGE y PCR en tiempo real. Al mineral de alimentación y a los residuos del ciclo de lixiviación se les realizó un análisis mineralógico por QEMSCAM® y un análisis de cobre secuencialmente.

Tabla 6.4 Diseño experimental de la prueba en columnas con adición de ion cloruro

Columna	Ciclo de Lixiviación (días)	Tasa de Riego (L/(h*m ²))	Temperatura (°C)	Inoculación (L/t)	Cl ⁻ (g/L)
MC1	69	6	ambiental	10	7
MC2	69	6	ambiental	10	10
MC3	69	6	ambiental	10	14
MC4	69	6	ambiental	-	7

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Microorganismos

El cultivo MEL, proveniente de una disolución de percolado de la pila industrial del Proyecto Sulfuros de Minera Escondida Chile (apartado 2.1.1), fue gradualmente adaptado a concentraciones crecientes de cloruro. Al adicionarle concentraciones mayores a 8 g/L, el inóculo presentó una baja actividad hierro-oxidante y su tiempo de oxidación fue mayor a 30 días. Para concentraciones de hasta 8 g/L, se observó que la actividad hierro-oxidante de los microorganismos se paralizó antes de los 12 días y, en general, la actividad decreció a medida que la concentración de cloruro fue mayor. La actividad oxidante se determinó mediante medición del consumo de ion ferroso (Galleguillos et al., 2008). La Figura 6.1 muestra que los tiempos en que se alcanzó la oxidación de esta especie del hierro, en cultivos que contenían 5 y 8 g/L de cloruro, fueron de 6 y 11 días, respectivamente; es decir, un tiempo más elevado en comparación con el ensayo control sin cloruro y las concentraciones de 1 y 3 g/L, condiciones en las que se tardó entre 3 y 4 días en oxidar todo el hierro ferroso.

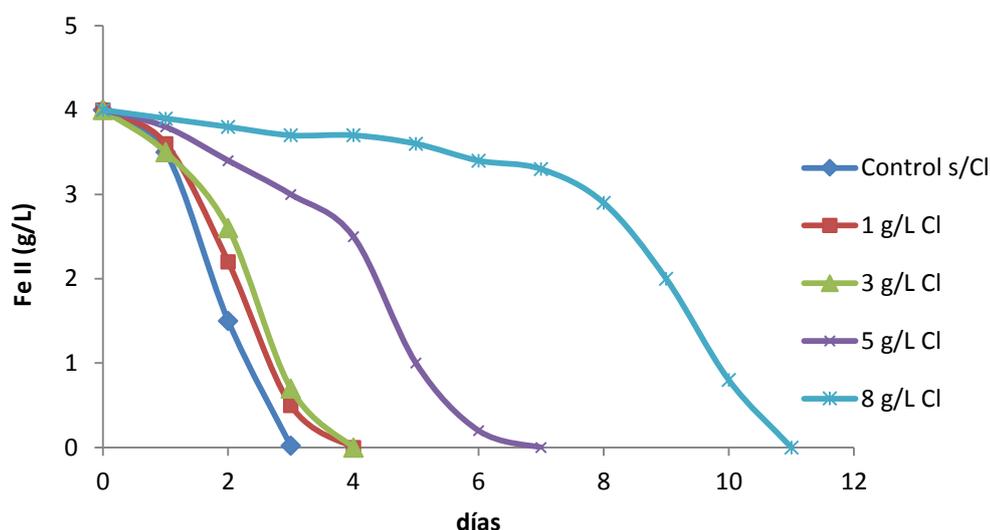


Figura 6.1 Análisis de la actividad oxidante de Fe^{2+} del inóculo a distintas concentraciones de ion cloruro

La cuantificación de la comunidad microbiana, determinada por PCR en tiempo real (Remonsellez et al., 2007 y 2009), mostró que los microorganismos

predominantes fueron *Acidithiobacillus ferridurans* y *Leptospirillum ferriphilum*. La única arquea detectada fue *Ferroplasma* sp. (Figura 6.2).

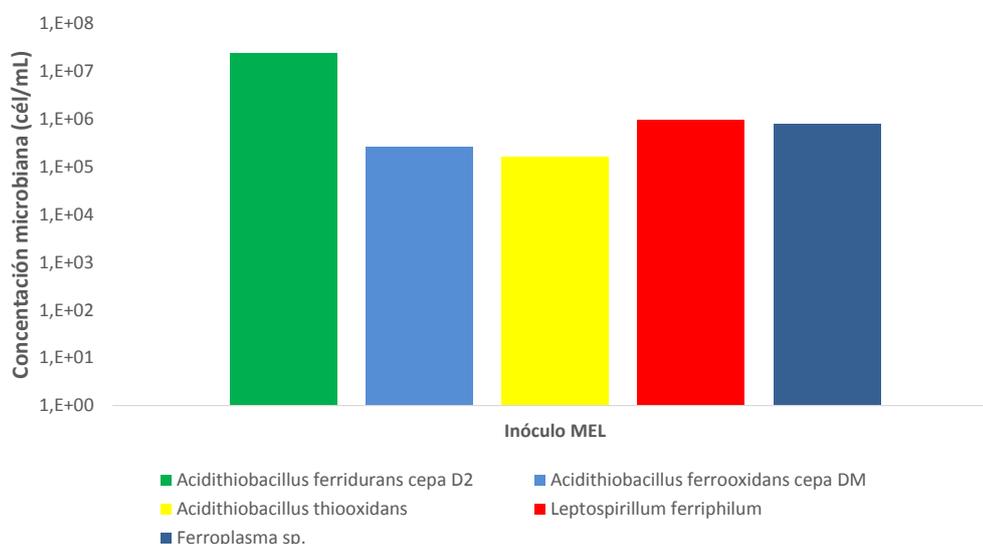


Figura 6.2 Cuantificación de microorganismos, mediante PCR en tiempo real, del inóculo MEL adaptado a ion cloruro

6.3.2 Ensayos de biolixiviación en matraces utilizando mineral sulfurado de alta y baja ley

6.3.2.1 Mineral de alta ley en calcopirita

Los resultados obtenidos en la experiencia en matraces muestran un porcentaje de recuperación de Cu no mayor al 36%. Los ensayos M4, M5 y M6 (inoculados y con cloruro) fueron los que presentaron mayor recuperación; concretamente, el ensayo inoculado en presencia de 14 g/L de ion Cl⁻ (M6) fue el que alcanzó la recuperación más alta, 35,7%, seguido por los ensayos M4 (inoculado y con 7 g/L de Cl⁻) y M5 (inoculado y en presencia de 10 g/L de Cl⁻) con el 34,0 y 32%, respectivamente, de recuperación de cobre (Figura 6.3). El ensayo no inoculado y con adición de Cl⁻ (M2) presentó una menor recuperación (23,0%) que los anteriores, con un 6,8% menos que el ensayo inoculado sin adición de Cl⁻ (M3); el ensayo control, sin cloruro ni inóculo (M1), fue el que tuvo la menor recuperación (20,8%) en comparación con el resto de ensayos. En

general, el porcentaje de recuperación de cobre del mineral de alta ley no fue mayor al 40%.

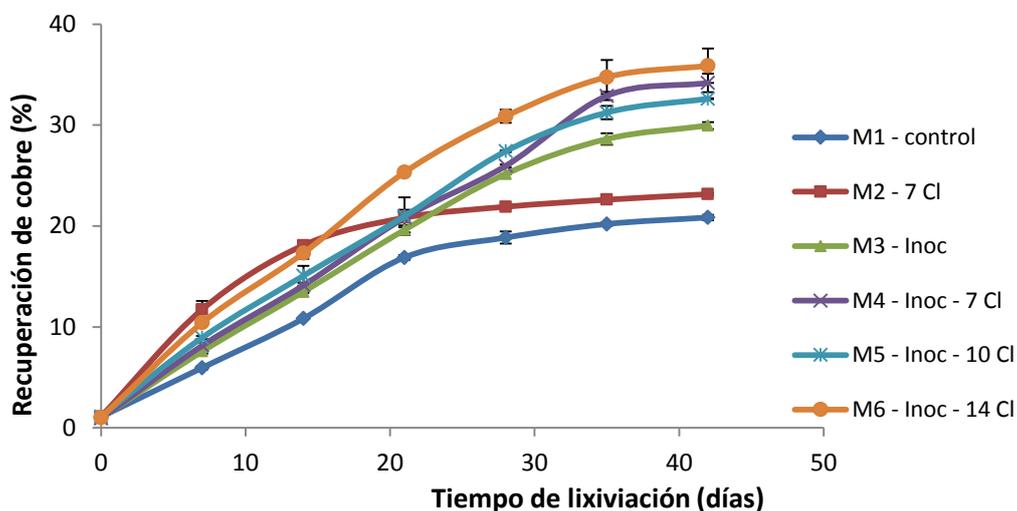


Figura 6.3 Recuperación de cobre en los ensayos de biolixiviación en matraces, bajo diferentes condiciones de adición de ion cloruro e inoculación

En las pruebas en matraces con mayor adición de cloruro, M5 y M6 (10 y 14 g/L, respectivamente), el potencial redox se mantuvo por debajo de los 450 mV durante toda la prueba de biolixiviación. En los matraces M1, M3 y M4 el potencial redox subió después de los 30 días de lixiviación y en el matraz M2, inoculado, el potencial aumentó significativamente al décimo día de operación (Figura 6.4).

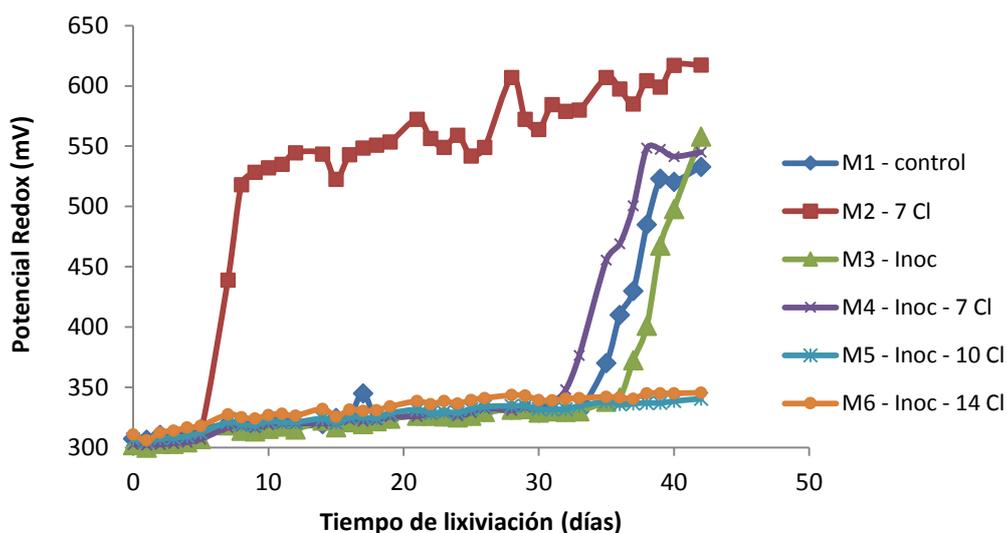


Figura 6.4 Potencial redox en los ensayos de biolixiviación en matraces, bajo diferentes condiciones de adición de ion cloruro e inoculación

Se observó una mayor disolución de hierro en los matraces con adición de cloruro (M4, M5 y M6) y en el matraz M3, sin cloruro e inoculado, siendo mayor a 2.100 ppm; la menor disolución tuvo lugar en los matraces M1 y M2 (Figura 6.5 A). El comportamiento del hierro (II) muestra que en el matraz M3 la oxidación del ión ferroso se vió incrementada a partir del día 7 de operación, oxidándose la mayor parte. En los matraces M1, M2 y M4, la oxidación del ión ferroso se inició en los días de operación 21 y 35, lo cual es compatible con el aumento de potencial en los matraces M2 y M4 (Figura 6.4). En los matraces M5 y M6 no se observó oxidación del ión ferroso en el período de prueba (Figura 6.5 B).

En el día 42 de ensayo, se tomaron muestras de disolución de cada una de los matraces inoculados para la cuantificación de microorganismos. Los resultados mostraron la presencia de especies hierro- y azufre-oxidantes. En los matraces M3, M4 y M6, la predominancia fue de *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, con concentraciones superiores a $1 \cdot 10^5$ cel/mL, en tanto que en el matraz M5 predominó *Leptospirillum ferriphilum* (Figura 6.6).

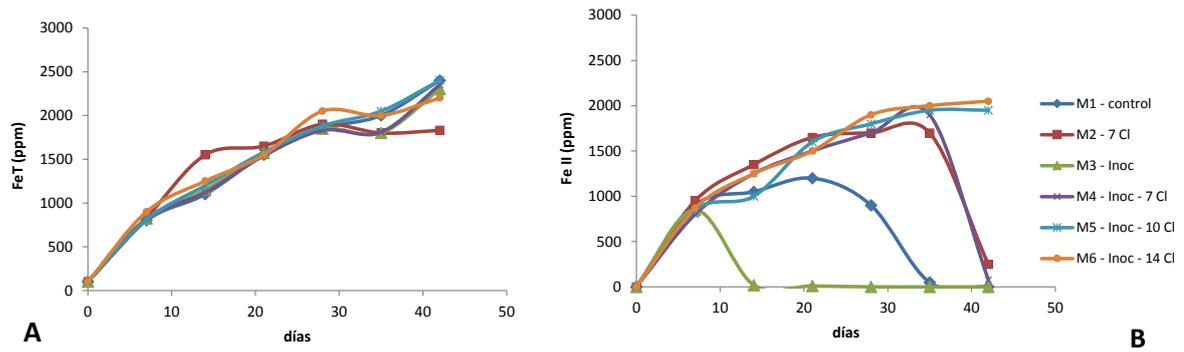


Figura 6.5 Perfiles de concentración de hierro total y hierro (II) correspondientes a las experiencias de biolixiviación en matraces utilizando mineral con alto contenido de calcopirita

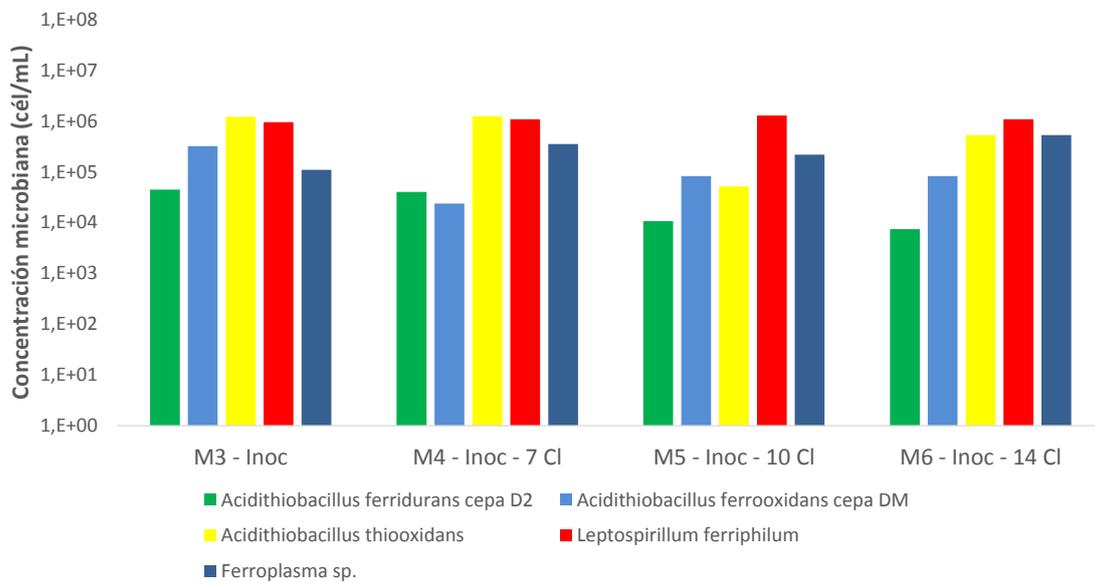


Figura 6.6 Concentración de las diferentes especies microbianas presentes en los ensayos de biolixiviación en matraces con el mineral de alta ley, cuantificadas por PCR en tiempo real

6.3.2.2 Mineral sulfurado de baja ley

En este caso, también, la recuperación de cobre fue mayor en las experiencias inoculadas en presencia de cloruro (M4, M5 y M6).

El sulfuro de cobre de baja ley produjo las mayores recuperaciones de metal en los matraces M4, M5 y M6 (inoculados y con adición de cloruro); el

matraz M6 (inoculado y con 14 g/L de Cl^-) fue el que tuvo la mayor recuperación de cobre, alcanzando un 85,0%, seguido por los matraces M5 (inoculado y con 10 g/L de Cl^-) y M4 (inoculado y con 7 g/L de Cl^-) con 80,3 y 79,4% de recuperación, respectivamente (Figura 6.7). El matraz M3 tuvo una recuperación de 75,1% habiendo sido inoculado y en ausencia de cloruro, y con una diferencia favorable de, aproximadamente, un 7% en relación a los matraces M1 y M2, con recuperaciones de cobre del 67,5 y 68,3%, respectivamente. En cualquier caso, las diferencias entre unos y otros ensayos no fueron muy significativas.

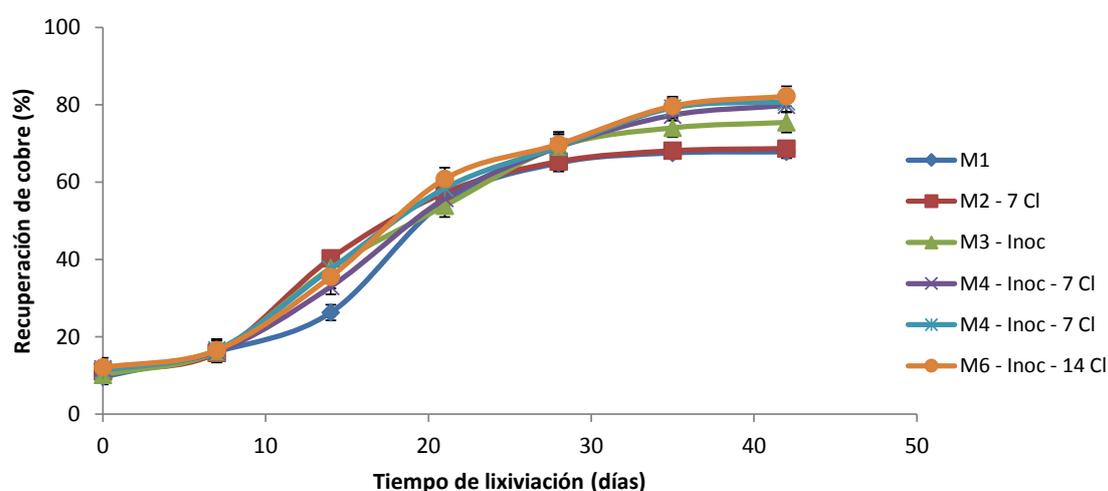


Figura 6.7 Recuperación de cobre de un mineral de baja ley bajo diferentes condiciones de biolixiviación en cuanto a presencia de iones cloruro y microorganismos

El potencial redox de la experiencia en ausencia de Cl^- (M3) aumentó en 5 días a valores cercanos a 611 mV y se mantuvo más o menos constante durante toda la prueba. En la experiencia control (M1) hubo un incremento significativo de potencial a los 29 días, hasta valores por encima de los 500 mV. Las restantes experiencias se mantuvieron por debajo de los 400 mV durante toda la prueba de biolixiviación (Figura 6.8).

En concordancia con los resultados de potencial redox, los perfiles de concentración de $\text{Fe}(\text{II})$ confirmaron el comportamiento de este ion. La experiencia M3 mostró que la oxidación del ion ferroso se incrementó a partir del día 7 de operación, oxidándose la mayor parte a ion férrico y en la experiencia

M1 la oxidación del ion ferroso se inició a los 35 días de operación (Figura 6.8). En el resto de los ensayos se observó que, después de 15 días, hubo una disminución del ión ferroso que se prolongó hasta el día 20 manteniéndose constante durante el resto de la experiencia (Figura 6.9B).

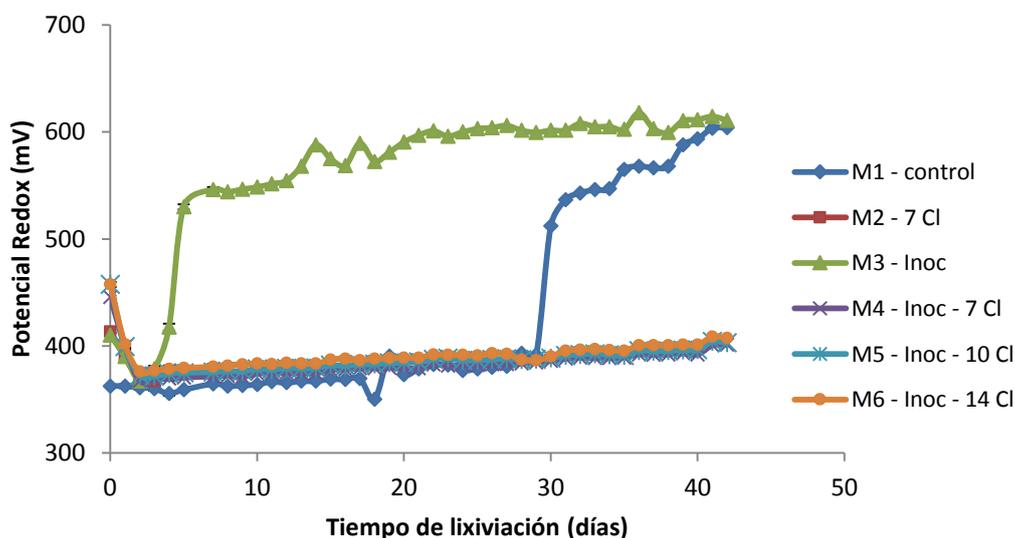


Figura 6.8 Potencial redox en los ensayos de biolixiviación en matraces sobre un mineral de baja ley bajo diferentes condiciones de iones cloruro y microorganismos

Además, a partir del día 14, se observó una disminución del hierro total en todas las experiencias, lo cual se atribuyó a fenómenos de precipitación del ión férrico. Al final de la prueba, la mayor recuperación de hierro total fue en la experiencia libre de Cl^- (M3) (Figura 6.9A), aunque la diferencia entre los distintos ensayos tampoco fue muy significativa.

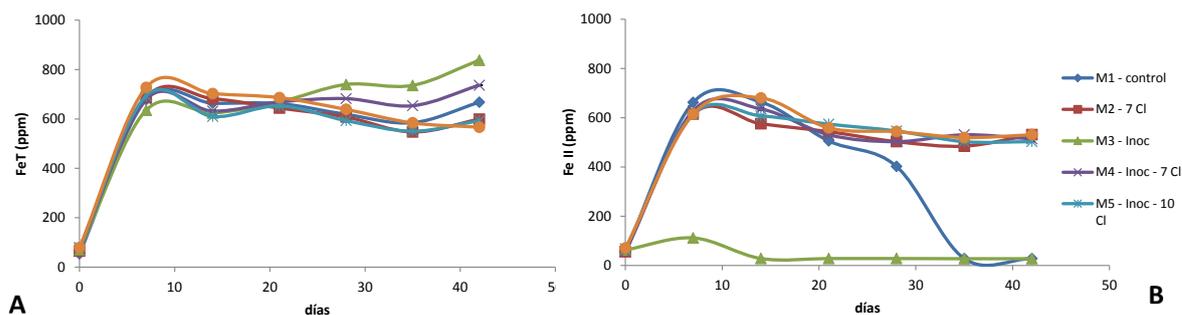


Figura 6.9 Hierro total y ferroso en los ensayos de biolixiviación en matraces de un mineral de baja ley bajo diferentes condiciones de iones cloruro y microorganismos

6.3.3 Pruebas de biolixiviación en columna

6.3.3.1 Parámetros metalúrgicos

La recuperación total del cobre se calculó, a través del tiempo, teniendo en cuenta el cobre de las disoluciones de alimentación, del percolado y el cobre del mineral, tanto en la alimentación de la columna como en los residuos. La mayor recuperación de cobre se obtuvo en las columnas inoculadas (MC1, MC2 y MC3) con un 67,0; 66,5 y 65,7%, respectivamente. La única columna con un porcentaje de recuperación significativamente diferente fue la columna no inoculada (MC4), que tenía la misma concentración de cloruro que la columna MC1 pero no estaba inoculada; tuvo una diferencia significativa en la recuperación, del 7% aproximadamente, con respecto a la columna MC1. Esta columna MC4 fue la que tuvo la menor recuperación de cobre, con un 58,5% de extracción (Figura 6.10).

El análisis de cobre realizado al mineral de entrada y a los residuos del ataque indicó, también, la mayor recuperación en la columna MC1, con la menor concentración de ion cloruro (7 g/L). Los análisis indicaron, además, que en las columnas con mayor concentración de ion cloruro (MC2 y MC3), se lixivió un mayor porcentaje de la calcopirita contenida en el mineral sulfurado de baja ley (Tabla 6.5).

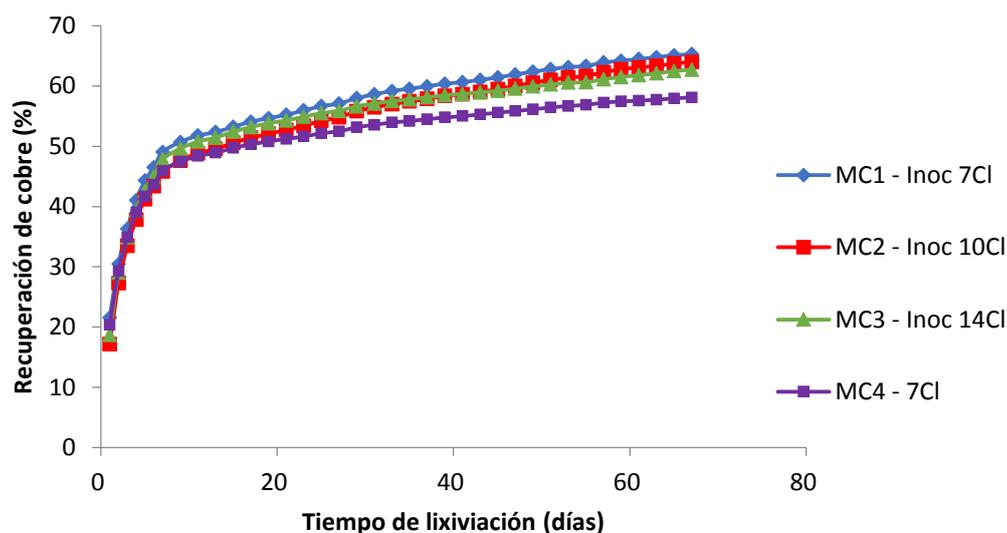


Figura 6.10 Recuperación de cobre obtenida a partir del análisis de los percolados de las columnas

Tabla 6.5 Recuperación de cobre en las distintas columnas utilizando el análisis secuencial

Columna	Recuperación de cobre (%)				Error estándar
	Óxidos	Sulfuros secundarios	Sulfuros primarios	Total	
MC1	96,34±2,67	58,33±1,87	7,69±2,65	66,04±2,05	1,86
MC2	92,86±2,81	41,67±1,06	10,77±2,65	61,13±1,65	1,69
MC3	92,85±2,47	41,67±1,76	15,38±1,34	62,26±1,23	1,78
MC4	92,83±2,69	33,33±1,23	7,69±1,43	58,49±1,31	1,60

Sólo el potencial redox de la columna no inoculada se mantuvo por debajo de los 450 mV durante todo el ciclo de lixiviación, a diferencia de lo ocurrido en las columnas inoculadas, que entre los 23 y 57 días, aproximadamente, superaron los 450 mV (Figura 6.11). El pH en las columnas, al comienzo de la lixiviación, fue elevado (2,5-3,0) debido al consumo de ácido inicial por la neutralización del propio mineral. Después de 7 días de operación, el pH se estabilizó en un intervalo de entre 1,3 y 1,7 durante todo el resto de la prueba (Figura 6.12).

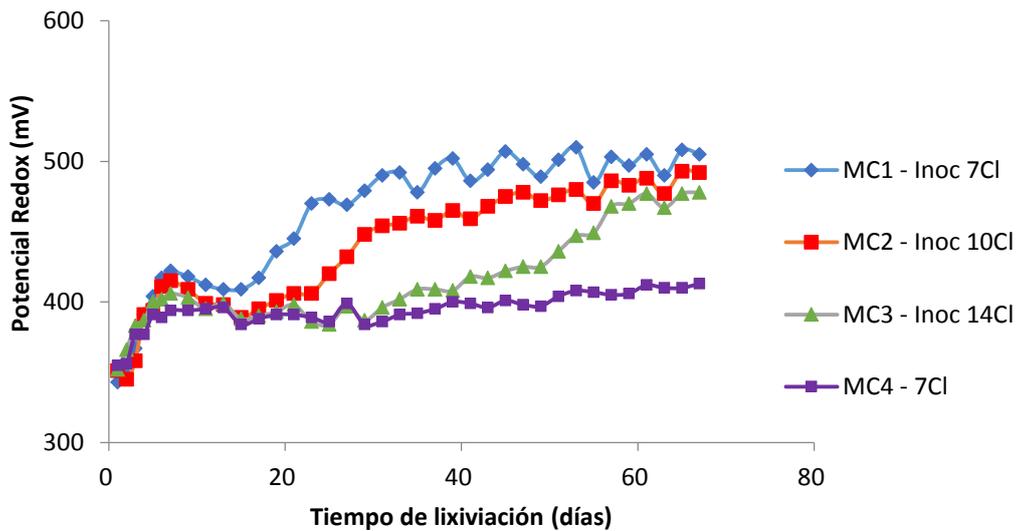


Figura 6.11 Potencial redox de las disoluciones de percolado procedentes de las pruebas en columna

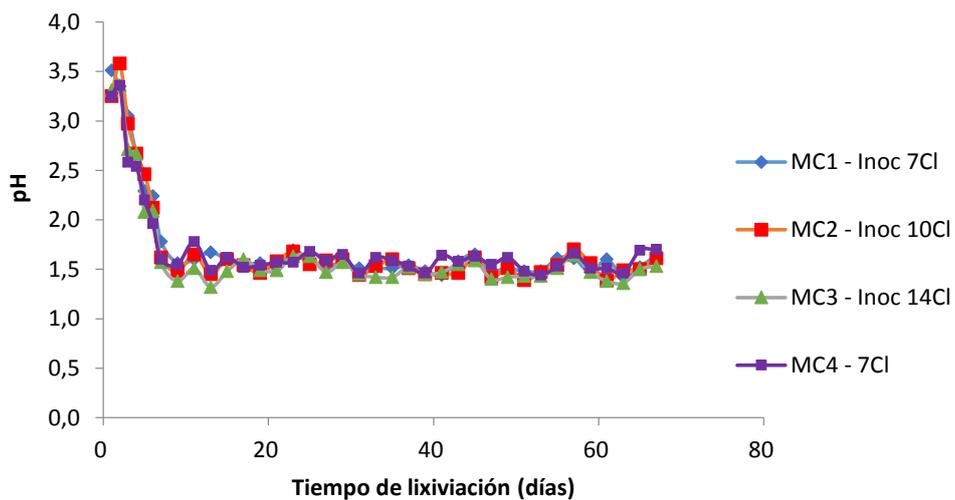


Figura 6.12 pH de las disoluciones de percolado procedentes de las pruebas en columna

La disminución del hierro ferroso se observó primeramente en la columna MC1 (Figura 6.13), con la menor concentración de ion Cl^- . En las experiencias MC2 y MC3, la oxidación del ion ferroso se inició, respectivamente, a los 31 y 57 días de operación, lo cual concuerda con el correspondiente aumento del potencial redox (Figura 6.11). En la columna MC4, no se observó una disminución del ión ferroso durante todo el ciclo de lixiviación (Figura 6.13).

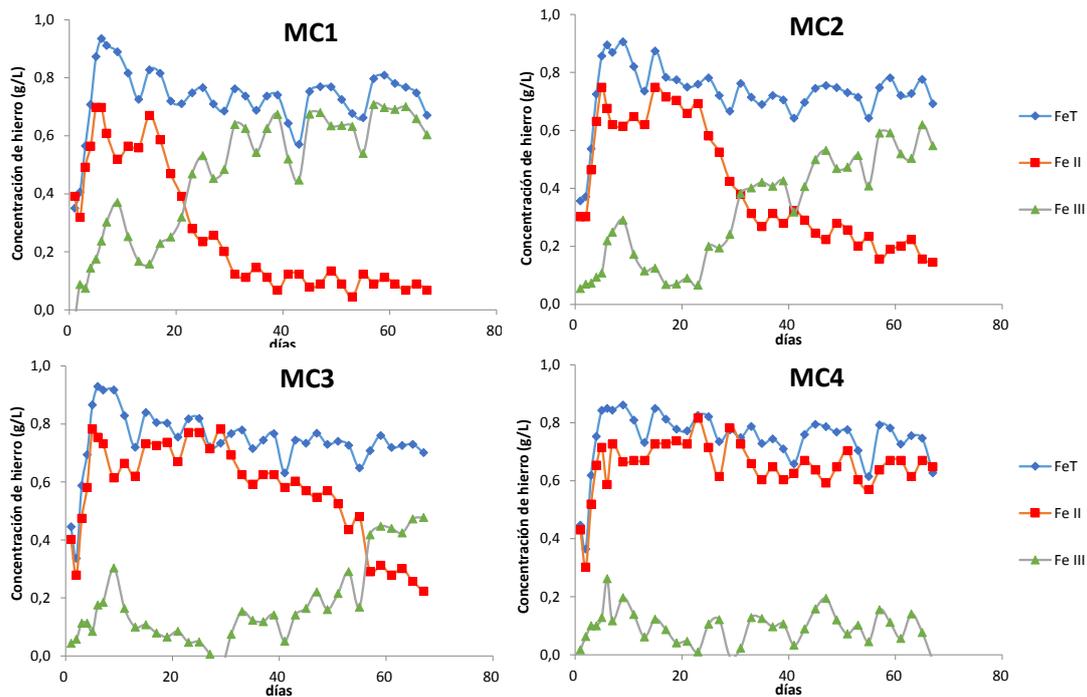


Figura 6.13 Comportamiento de la concentración de las distintas especies del hierro en las disoluciones de percolado de las pruebas en columna

La cinética de recuperación del hierro fue similar en las experiencias MC1, MC2 y MC4, con una recuperación de este metal no superior al 12%. La columna MC3 presentó una cinética similar a las otras columnas hasta el día 27 de operación, momento en que se estabilizó la recuperación del hierro hasta el día 43; a partir de aquí, se produjo un nuevo aumento de la cinética, con una pendiente similar a la de las otras columnas hasta terminar el ciclo de lixiviación (Figura 6.14).

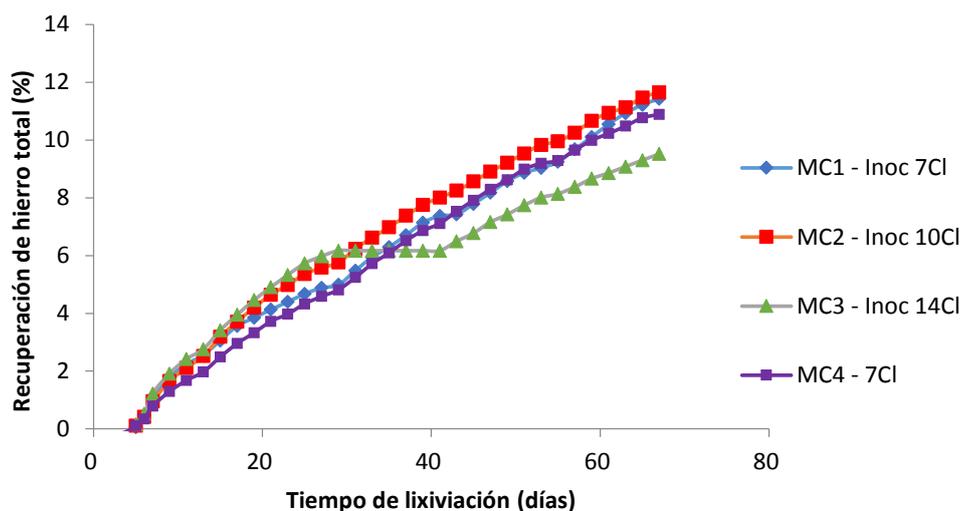


Figura 6.14 Recuperación de hierro total obtenido a partir de las disoluciones de percolado de las pruebas en columna

6.3.3.2 Análisis mineralógico

Los análisis mineralógicos por QEMSCAM®, tanto del mineral de entrada como de los residuos de las columnas, mostraron una disolución mayor al 96% de los minerales oxidados, en todos los casos. En los sulfuros, como la calcosina, se observó una disolución mayor al 72% en las columnas inoculadas y, por el contrario, la columna MC4 sólo alcanzó un 69%. El ataque de la covelina fue mayor al 62% en todas las columnas. Para la calcopirita, la mayor disolución fue en las columnas MC2 y MC3, con un 29,5 y 32,5%, aproximadamente, y para las columnas MC1 y MC4 fue de alrededor del 26,2 y 17,5% de disolución, respectivamente. La columna MC3 fue la que tuvo mayor disolución de pirita, mientras que en las columnas restantes la disolución fue menor al 5% (Tabla 6.6 y Figura 6.15).

Tabla 6.6 Análisis de las distintas especies mineralógicas a partir de los residuos de lixiviación

Columna	Cloruro (g/L)	Inoculación	%Disolución						
			Calcocina	Covelina	Calcopirita	Oxidos de Cu	Pirita	Jarosita	Óxido de Fe
MC1	7	inoculado	77,6	63,3	26,2	97,8	3,0	50,3	1,6
MC2	10	inoculado	72,50	68,1	29,5	96,2	5,0	54,3	-8,7
MC3	14	inoculado	75,40	62,8	32,5	97,2	14,1	52,5	-8,9
MC4	7	no inoculado	69,40	64,6	17,5	96,7	2,4	46,7	-7,0

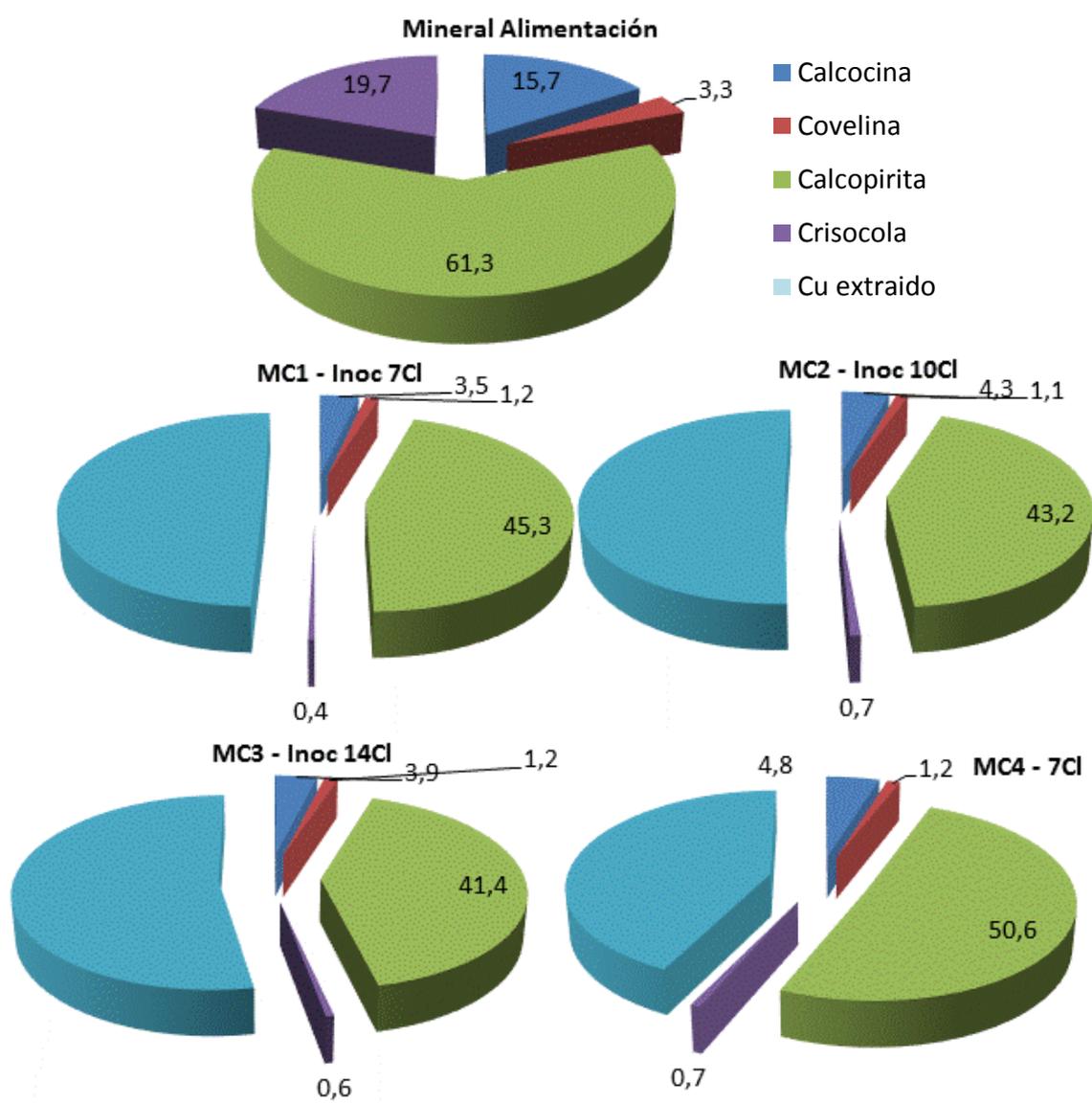


Figura 6.15 Análisis mineralógico de las especies de cobre, tanto en la alimentación de las columnas como en los residuos de las mismas

6.3.3.3 Análisis biológicos

Para determinar la actividad oxidante de las poblaciones microbianas presentes en las muestras de percolado de las columnas, se utilizó la técnica microbiológica del Número Más Probable (NMP) (Escobar y Godoy, 1999) para los microorganismos hierro-oxidantes activos. Para ello, se tomaron muestras, en diferentes días de operación, de las disoluciones de percolado de las columnas. La concentración de especies hierro-oxidantes activas se presenta en la Figura 6.16. Los resultados muestran que, inicialmente, el inóculo contenía una concentración de 2×10^6 cel/mL de microorganismos oxidantes de Fe activos. Las columnas MC1 y MC2 tuvieron recuentos de especies hierro-oxidantes de 1×10^3 cel/mL y 1×10^2 cel/mL, respectivamente; durante el ciclo de lixiviación, se observó un leve aumento de las concentraciones hasta valores superiores a 1×10^2 cel/mL; en la columna MC3, al final de la operación, y en la columna MC4, los valores se mantuvieron bajo el límite de detección.

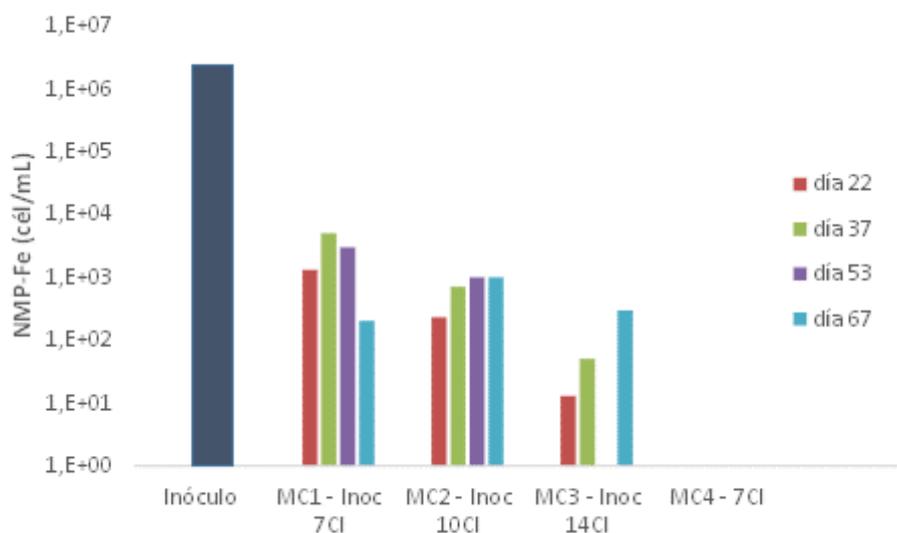


Figura 6.16 Recuentos de NMP de microorganismos en el inóculo y en las disoluciones de percolado de las pruebas en columna

La Figura 6.17 muestra el gel obtenido por la técnica DGGE, con el resultado de la separación de los fragmentos de genes de 16S ARNr de los cultivos microbianos de las disoluciones de percolado de las 4 columnas

correspondientes al día 60 de operación y a una muestra del cultivo nativo MEL adaptado. El inóculo fue el que tuvo un mayor número de bandas (5), comparado con los perfiles de las distintas columnas. La Tabla 6.7 muestra los resultados de la secuenciación y los análisis de identidad de las bandas recuperadas desde el gel de DGGE. No se realizó análisis de fragmentos de arqueas debido a que la amplificación por PCR del gen 16S ARNr, usando partidores universales para ese dominio arquea, no tuvo resultados positivos. Para corroborar los resultados obtenidos, se realizó una clonación de los amplificadores de cada banda de DGGE; los resultados se encuentran en Tabla 6.8.

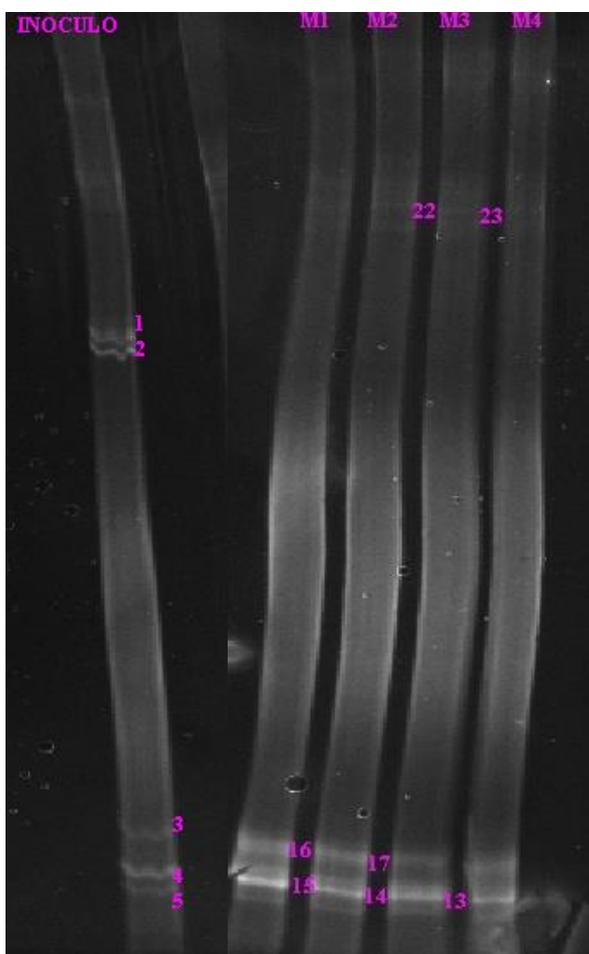


Figura 6.17 Imagen negativa de Gel de Electroforesis con Gradiente Desnaturalizante (DGGE) de las disoluciones de percolado de las columnas

Tabla 6.7 Análisis de las secuencias obtenidas por DGGE

Banda	Microorganismo	N° de acceso base de datos NCBI
1	<i>Acidiphilium sp</i>	EU003879.1
2	<i>Acidiphilium sp</i>	EU003879.1
3	<i>Leptospirillum Ferriphilum</i>	GU168010.1
4	<i>Acidiphilium sp</i>	EU003879.1
14	<i>Acidiphilium sp</i>	EU003879.1
15	<i>Acidiphilium sp</i>	EU003879.1

Tabla 6.8 Secuencias obtenidas de la clonación de bacterias

Clones de bandas	Microorganismo	Porcentaje de similitud	N° de acceso base de datos NCBI
1, 4, 13	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	99	CP001132.1
1, 2, 3, 22	<i>Acidiphilium sp</i>	98	DQ145976.1

Para la cuantificación específica de microorganismos por medio de análisis molecular, se tomaron muestras de la disolución de percolado de cada una de las columnas a los 60 días de operación. Los resultados de cuantificación por PCR en tiempo real de tales disoluciones mostraron la presencia de especies hierro- y azufre-oxidantes. Así, en el ensayo en columnas predominaron las especies *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum* con una concentración superior a $3 \cdot 10^3$ cel/mL. Y las experiencias MC1 y MC2 fueron las que tuvieron una mayor concentración de microorganismos en comparación con la columna MC3 (Figura 6.18).

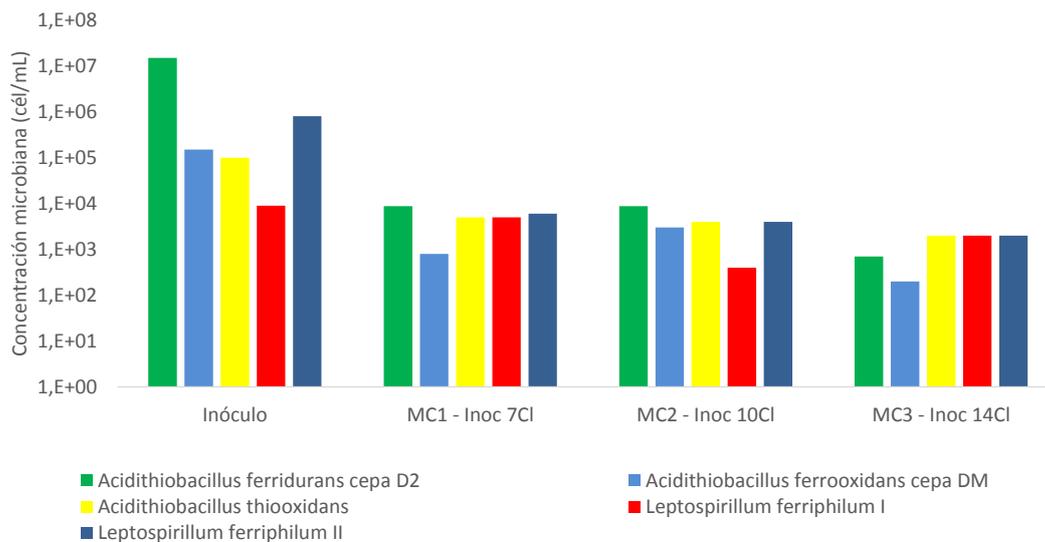


Figura 6.18 Análisis de PCR en tiempo real del inóculo y de las disoluciones de percolado de los ensayos en columna

6.4 DISCUSIÓN

6.4.1 Efecto de la adición de cloruro sobre los microorganismos que toman parte en los procesos de biolixiviación

En los diferentes ensayos (matraces y columnas) se utilizó un cultivo mixto, MEL. Las especies de microorganismos que predominaron en los cultivos adaptados a cloruro fueron *Acidithiobacillus ferrooxidans* del grupo II, reclasificado recientemente como *Acidithiobacillus ferridurans* que, por lo general, es capaz de tolerar condiciones de mayor acidez que *Acidithiobacillus ferrooxidans* grupo I y *Acidithiobacillus ferrivorans* (Hedrich y Johnson, 2013), y *Leptospirillum ferriphilum*. En el dominio arquea sólo se detectó *Ferroplasma acidiphilum* (Figura 6.3); su presencia puede atribuirse a la de materia orgánica debido a la muerte de otros microorganismos, no tolerantes al cloruro, durante la adaptación del inóculo. Algunos estudios han sugerido que el aumento de la abundancia de esta arquea se produce por un aumento de disponibilidad de materia orgánica en el medio y, principalmente, cuando esta materia orgánica es originada por la muerte de otras especies (Okibe et al., 2003).

En cuanto a la actividad hierro-oxidante del inóculo MEL con concentraciones de cloruro hasta 8 g/L de Cl⁻, se observó que a mayor concentración de cloruro, mayor es el tiempo requerido para completar la oxidación de Fe (II), lo cual se puede atribuir a posibles mecanismos de inhibición que retardan las fases *lag* y exponencial durante el crecimiento de los microorganismos (Figura 6.2). Shiers et al., 2005, informaron que concentraciones mayores a 7 g/l de cloruro de sodio producen un aumento del tiempo de duplicación de las células de un cultivo mixto. Como se ha mencionado previamente, los trabajos previos recogidos en la literatura difieren respecto de los niveles de toxicidad de cloruro sobre los microorganismos que participan en el proceso de biolixiviación. Por ejemplo, Gahan et al., 2009, encontraron que 4 g/L de cloruro fue mortal para un consorcio microbiano formado por bacterias hierro-oxidantes, azufre-oxidantes y arqueas. Deveci et al., 2008 informaron que en el intervalo 1-4% de disolución acuosa de NaCl (10 y 40 g/L de la sal), a medida que aumentaba la concentración, el cloruro era más perjudicial para las

bacterias mesófilas. Otros autores también han descrito que elevados niveles de cloruro en disolución pueden inhibir la actividad hierro- y azufre-oxidante de los microorganismos (Gahan et al., 2009; Xiong y Guo, 2011; Zammit et al., 2012). Sin embargo, se ha demostrado que existen microorganismos halotolerantes, que pueden crecer bajo condiciones salinas, pero que no requieren NaCl para su crecimiento; como ejemplo sirva el del *Acidithiobacillus thiooxidans-like* cepa SH, con una temperatura óptima de crecimiento de 30 °C y siendo capaz de oxidar compuestos de azufre (Watling et al., 2010 y 2014c).

De acuerdo a los datos obtenidos por análisis de PCR en tiempo real, de la biodiversidad de microorganismos en las disoluciones de los ensayos de biolixiviación con el mineral de alta ley, se confirmó en la mayoría de los ensayos la presencia de especies hierro- y azufre-oxidantes características de los procesos de biolixiviación a temperatura ambiente y una mayor abundancia relativa de *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus thiooxidans*, (Figura 6.6). El ensayo inoculado y sin la adición de cloruro (M3) presentó mayores concentraciones de *Acidithiobacillus ferridurans* cepa D2, *Acidithiobacillus ferrooxidans* cepa DM y *Acidithiobacillus thiooxidans*, en comparación con los ensayos inoculados y con adición de cloruro (M4, M5 y M6). La adición del cloruro generó inhibición y, por tanto, una menor concentración de microorganismos y una menor actividad oxidante del hierro (II) y del azufre, como se ha descrito previamente en otros trabajos (Suzuki et al., 1999; Zammit et al., 2009). A través de la medición del potencial redox y de la cuantificación de los microorganismos, se pudo comprobar que la adición de cloruro evitó una mayor actividad oxidante de los mismos, lo cual hizo posible un mejor control de esta variable.

Del dominio de las arqueas, se detectó *Ferroplasma* sp., cuya concentración fue superior a $1 \cdot 10^4$ cel/mL en todas las experiencias, pero se evidenció mayor concentración en los ensayos con adición de cloruro porque su crecimiento mejora por una mayor disponibilidad de materia orgánica en el medio. Por otra parte, el aumento de materia orgánica inhibe el crecimiento de algunas especies autotróficas oxidantes de Fe, como *Sulfobacillus* y *Leptospirillum ferriphilum* (Okibe et al., 2003).

Los resultados de la actividad hierro–oxidante, a través del análisis por NMP, mostraron concentraciones bajas de microorganismos activos si se comparan con las del inóculo; el ensayo en la columna MC1 fue el que tuvo mayor actividad, pero a medida que la concentración de cloruro fue mayor, la actividad oxidante disminuyó. Para el ensayo MC2, la concentración de microorganismos fue mayor que $1 \cdot 10^2$ cel/mL y en cuanto al ensayo MC4, sólo la muestra tomada después de 67 días de operación superó el límite de detección del análisis: $< 10^2$ cel/mL (Figura 6.16). Es decir, se puso de manifiesto el efecto inhibitorio, sobre los microorganismos, de la adición del cloruro, lo que ha sido descrito también por otros autores. La toxicidad del cloruro se basa en que tiene carga negativa, es permeable a la membrana de tales microorganismos y cuando entra en la célula reduce el potencial transmembrana, lo que, finalmente, da lugar a la absorción de otros iones, incluyendo protones, que producen la acidificación del citoplasma (Suzuki et al., 1999; Matin, 2007). Los resultados obtenidos en el análisis del NMP de estos ensayos en columna muestran rangos de concentración similares a los encontrados en otro estudio realizado sobre la disolución del percolado de una pila industrial conteniendo un mineral de sulfuro de baja ley (Soto et al., 2013).

Mediante análisis BLAST de las bandas de gel de la técnica DGGE y de la clonación de productos de PCR del gen 16S ARNr de bacterias, se detectó la presencia, principalmente, de microorganismos relacionados con las especies *Acidiphilium sp.*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum*. En la literatura se han descrito microorganismos halotolerantes que pueden adaptarse adecuadamente a un medio con ciertas condiciones salinas generadas por el NaCl (Davis-Belmar et al, 2008); algunos de estos microorganismos son de la cepa *Leptospirillum ferriphilum-like cepa YSK* (Wang et al., 2012) o de la cepa *Leptospirillum Sp.- Cl* (Rautenbach et al., 2011), con rangos de concentraciones óptimos de NaCl entre 0 y 7 g/L y 5 y 30 g/L, respectivamente. El mayor número de bandas encontradas fue de *Acidiphilium sp.*, que es un microorganismo Gram negativo, acidófilo, mesófilo y heterótrofo que obtiene su energía de compuestos orgánicos en ambientes ácidos. Remonsellez et al., 2009, proponen que la actividad de las bacterias *Acidiphilium* heterótrofas podría depender de la dinámica oxidante de los autótrofos, y Liu et al., 2011, indican que la presencia

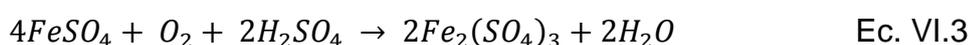
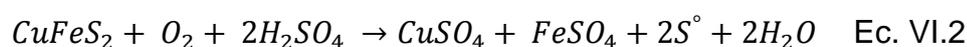
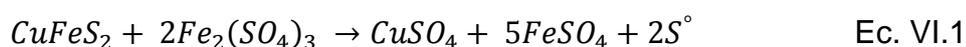
de este heterótrofo mejora la actividad oxidante de otros autótrofos del género *Acidithiobacillus* y *Leptospirillum*.

Los resultados de PCR en tiempo real de las disoluciones de percolado indicaron una mayor predominancia de *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum* y que las experiencias MC1 y MC2 fueron las que tuvieron un mayor número de células, pero menor proporción que el inóculo (Figura 6.18), y se observó, también, el efecto inhibitorio del cloruro como en el análisis por NMP. Davis-Belmar, 2014, indica que en ensayos en columnas, con 6 g/L de cloruro, utilizando un cultivo mixto adaptado a este ion, el microorganismo predominante en la disolución de percolación, al final de la prueba, fue *Leptospirillum ferriphilum Sp-Cl*. Remonsellez et al., 2009, muestran los análisis cuantitativos de PCR en tiempo real de las disoluciones de percolado de una pila industrial reseñando concentraciones de células del orden de $1 \cdot 10^3$ cel/mL para *L. ferriphilum*, mientras que *At. thiooxidans* se encontraba en concentraciones entre $1 \cdot 10^4$ y $1 \cdot 10^5$ cel/mL, que son valores similares a los encontrados en el presente estudio para estos microorganismos; no obstante, si bien en el caso de las columnas la limitante para el aumento de la concentración de células fue la adición de cloruro, en la pila industrial la inhibición depende de más iones (SO_4^{2-} , Al^{3+} , Cl^-) presentes en la disolución debido a que ésta se va cargando en impurezas, no ya por la recirculación de la disolución sino también por el contacto que ésta tiene en la etapa de extracción por disolventes, siendo así su fuerza iónica mayor. Watling et al., 2010, por datos obtenidos en la literatura, indican que la estimación de la fuerza iónica para pilas de biolixiviación se encuentra en un rango de 1,4 a 1,7, con disoluciones con altas concentraciones de Fe^{3+} y Al^{3+} .

6.4.2 Efecto de la adición de cloruro en el proceso de biolixiviación

El efecto de la adición de cloruro en los ensayos, tanto en matraces como en columnas, fue favorable porque se observó una mayor recuperación de cobre en el proceso de biolixiviación.

La lixiviación de los sulfuros en medio ácido se ha estudiado ampliamente en las últimas décadas, aunque los mecanismos son complejos debido a las distintas alternativas de reacción, a las reacciones competitivas y, también, a los compuestos intermedios que se pueden formar tanto sobre las superficies sólidas como en disolución. Watling, 2013, indica que las reacciones químicas que son, generalmente, aceptadas en los procesos de lixiviación para la extracción de cobre, partiendo de calcopirita y a través de la oxidación con oxígeno o iones férricos, en presencia de ácido sulfúrico (H_2SO_4), son:



La reacción de lixiviación para la disolución de calcopirita con oxígeno, en disoluciones acuosas ácidas, se puede representar por la ecuación Ec. VI.2; sin embargo, dado que esta reacción produce iones ferrosos, y estos pueden ser oxidados a iones férricos por el oxígeno, también puede ocurrir, a medida que avanza la lixiviación, la oxidación de la calcopirita por los iones férricos a través de la ecuación Ec. VI.1, reacción que se puede acoplar con la regeneración de los iones férricos (Ec. VI.3). Pero como esta ecuación (Ec. VI.3), a presión ambiente, es lenta, limitando la formación de ion férrico en el sistema, es necesario mejorar la cinética de oxidación del ion ferroso a férrico. Esto se puede realizar en los procesos de lixiviación en pila a través de microorganismos que participan en la disolución de los minerales sulfurados, principalmente, de dos formas: (i) mediante catálisis de la oxidación de los iones ferrosos a férricos (ecuación Ec. VI.3), reacción más rápida que la que ocurre en los sistemas químicos; y (ii) mediante la oxidación del azufre a sulfato, ayudando a eliminar recubrimientos de azufre pasivantes y, además, la generación de ácido sulfúrico (ecuación Ec. VI.4).

La lixiviación de la calcopirita en medio ácido (H_2SO_4) y con la presencia de iones férricos está muy limitada por la formación de productos secundarios en la superficie mineral. Estos productos de reacción secundaria, o de pasivación, pueden ser recubrimientos profundos o compactados que obstaculizan la difusión de los reactivos a la superficie de la calcopirita y/o la difusión de iones lejos de la superficie, o pueden ser compuestos de baja conductividad eléctrica (Watling, 2013). Los productos de reacción que se cree están implicados en la pasivación de la calcopirita son: i) Películas complejas de sulfuros, polisulfuros y/o azufre elemental (Ec VI.1), o una capa no reactiva, rica en óxido de cobre, que cubre parcialmente la superficie de la calcopirita (Hackl et al., 1995; Fu et al., 2012); y ii) Óxidos e hidróxidos de hierro como los hidróxisulfatos de hierro (jarosita) (Ec. VI.5) (Stott et al., 2000; Córdoba et al., 2008b).

Klauber, 2008, manifiesta que hay que ponerse de acuerdo en cuanto a identificar los factores que han sido descritos por distintos autores y que pueden intervenir en esta pasivación; se definen cuatro factores posibles; i) sulfuros metálicos, con una superficie deficiente por efecto de la disolución; ii) polisulfuros; iii) azufre elemental; y iv) jarositas. Klauber, 2008, concluyó que era cuestionable que la pasivación fuera por los sulfuros metálicos deficientes antes mencionados, y para los polisulfuros pensaba que podrían ser rechazados como pasivantes porque eran demasiado reactivos y se oxidaban a azufre elemental por simple exposición al aire, especialmente, en presencia de humedad. No discute, sin embargo, la evidencia de la influencia del azufre elemental y el papel que tiene la jarosita en el proceso de lixiviación.

Por tanto, para tratar de evitar esta pasivación, se adicionó cloruro en los ensayos en matraces y en columnas, lo cual mejoró la disolución de cobre a partir de estos minerales, como así también lo manifiestan distintos autores que han investigado el mecanismo de lixiviación en presencia de cloruro. Lu et al., 2000, informan que esta mejora de la disolución fue producida por los cambios en la morfología del azufre elemental que se forma como producto intermedio de la lixiviación. Carneiro y Leão, 2007, indican que esto se produce por un cambio en el mecanismo de lixiviación debido a la pareja redox Cu^{2+}/Cu^+ . Velásquez-Yévenes et al., 2010a y 2010b; y Nicol et al., 2010, propusieron diferentes

mecanismos para explicar la disolución mejorada de la calcopirita en una cierta ventana de potencial. Estos investigadores llevaron a cabo experimentos de lixiviación de calcopirita en disoluciones diluidas de cloruro, bajo condiciones controladas, y encontraron que la velocidad de disolución de este sulfuro mejoró para potenciales redox en el rango de 550 a 600 mV vs SHE. Muller et al., 2011, propusieron que en presencia de cloruro: (i) El tipo de morfología y la distribución del azufre elemental tenía lugar lejos de la superficie de la calcopirita; (ii) Las especies de Cu (I) se estabilizaban permitiendo que el par Cu (II)/Cu (I) controlara el potencial redox; (iii) La termodinámica y, posiblemente, la velocidad de la reacción no oxidativa mejoraba; y (iv) el potencial formal de la pareja del Cu (II)/Cu (I) aumentaba.

El proceso CUPROCHLOR fue desarrollado para extraer cobre de minerales oxidados del metal y de minerales mixtos que contenían sulfuros secundarios como la calcosina, bornita y covelina. En una pila de lixiviación, el mineral se aglomeró con cloruro de calcio. La concentración de cloruro en la disolución atacante del mineral era tres veces mayor que la del agua de mar; en estas condiciones, se propuso que el cloruro podía: (i) estabilizar el Cu (I) formado durante la lixiviación que da como resultado que el par Cu (II)/Cu (I) pudiera contribuir a la oxidación de los sulfuros; (ii) mejorar la oxidación de tales sulfuros por los iones férricos; y (iii) influenciar la morfología del azufre elemental facilitando el movimiento de los iones férrico y ferroso hacia y desde las superficies de la calcopirita (Espejo et al., 2001; Faine et al., 2005; Herreros et al., 2006; Aroca et al., 2012).

6.4.3 Efecto del potencial redox y la adición de cloruro

Está abundantemente descrita en la literatura la importancia del control del potencial redox en el proceso de disolución de la calcopirita. En la experiencia en matraces con mineral de alta ley, los ensayos con adición de cloruro e inoculados (M5 y M6) no tuvieron aumento en el potencial redox. En las experiencias con inóculo (M4, M2 y M1) aumentó el potencial al final de la prueba hasta valores mayores a 530 mV; finalmente, el ensayo M3 fue el único que

aumentó su potencial desde el inicio del ensayo (figura 6.5), lo cual coincidió con la oxidación del ion ferroso (Figura 6.6B).

La capa pasivante sobre la superficie de la calcopirita se forma cuando el potencial redox aumenta; por tanto, se puede esperar que si en presencia del ion cloruro este potencial no se incrementa, no se forme la capa pasivante y, consecuentemente, la lixiviación de este sulfuro se vea favorecida. No obstante, a pesar de que los potenciales redox obtenidos fueron menores a 450 mV con la adición del cloruro, estos valores se encuentran por debajo del rango de potencial redox óptimo reportado en la bibliografía para la disolución de la calcopirita (Viramontes-Gamboa et al., 2010). Velásquez-Yévenes et al., 2010b, realizaron un estudio con un mineral y con un concentrado con alto contenido de calcopirita que indicó que la velocidad de disolución de este sulfuro dependía del potencial y de la presencia de oxígeno disuelto. En esas condiciones de operación, que determinaron una ventana de potencial de 550 a 620 mV (frente SHE), se incrementó apreciablemente la velocidad de disolución de la calcopirita. Otros autores sitúan este potencial redox de disolución en 413 mV vs. Ag/AgCl (Hiroyoshi, 2001). Córdoba et al., 2008b, determinaron que el potencial crítico para la solubilización de la calcopirita en disoluciones de lixiviación de sulfato férrico/ferroso era igual a 450 mV.

En las experiencias en matraces, con mineral de baja ley, el potencial redox se mantuvo constante para los ensayos con adición de cloruro (M2, M4, M5 y M6) no superándose los 410 mV durante todo el ensayo, y en el ensayo inoculado y sin cloruro (M3) aumentó su potencial redox (Figura 6.8), lo cual coincidió con la oxidación del ión ferroso (Figura 6.9B). En estos ensayos, la adición de cloruro mantuvo el potencial redox en los intervalos óptimos para la disolución de la calcopirita de acuerdo con ensayos realizados por otros investigadores y descritos un poco más arriba (Hiroyoshi et al., 2001; Córdoba et al., 2008a; Velásquez-Yévenes et al., 2010a).

El potencial redox medido en las columnas tuvo un comportamiento diferente al mostrado por los ensayos en matraces utilizando minerales tanto de alta como de baja ley. Mientras que en las pruebas en matraces, las experiencias

inoculadas y con adición de cloruro mantuvieron su potencial redox por debajo de los 450 mV, durante casi todo el tiempo de lixiviación, en las pruebas en columnas se pudo observar que sólo el ensayo MC4, no inoculado, mantuvo su potencial redox en menos de 450 mV vs. Ag/AgCl; el resto de las experiencias fueron aumentando su potencial con el tiempo dependiendo de la concentración de cloruro que se utilizó en cada una de ellas (Figura 6.11). Esto se confirmó midiendo la oxidación del ión ferroso a férrico para las experiencias MC1, MC2 y MC3 y a través de la nula actividad oxidante que mostró el ensayo MC4 (Figura 6.12). En cualquier caso, mantener constante el potencial redox en un ensayo en columna es complejo debido a que es un sistema muy abierto, a diferencia de las pruebas en matraz o en un reactor donde hay mejor control de los parámetros de operación.

Si se quieren llevar estos controles a nivel industrial, se pueden detectar diferentes problemáticas como las que se describen en la patente de Hunter, 2006, relativa a una pila de mineral conteniendo calcopirita, que se inoculó con un cultivo bacteriano que sólo tenía "oxidantes de azufre", es decir, con microorganismos azufre-oxidantes sin capacidad para oxidar hierro (II). Además, se tomaron precauciones para que el agua del proceso de alimentación de la pila se mantuviera con un potencial redox inferior a 695 mV (frente SHE), de tal manera que las condiciones químicas que prevalecieran fueran propicias para la lixiviación de la calcopirita sin provocar la pasivación de la superficie de la misma. No obstante, como las pilas de lixiviación son sistemas abiertos, mantener un potencial redox bajo fue difícil debido a que, además, a la colonización del mineral por los microorganismos inoculados, se sumaron los nativos, entre ellos, microorganismos hierro-oxidantes.

Volviendo a los resultados del presente trabajo, la columna MC4 mantuvo su potencial por debajo de los 450 mV, en los intervalos óptimos ya descritos para la disolución de la calcopirita, aunque los resultados mostraron que ésta fue la columna que tuvo menor disolución de esta calcopirita, como se muestra en los análisis de cobre secuencial (Tabla 6.5) y en el análisis mineralógico de las muestras de sólido (Figura 6.14).

Lo anterior también quedó demostrado con otro estudio de biolixiviación realizado en columna; se observó que la columna que mantuvo el menor potencial redox no fue la que tuvo mayor recuperación a partir de los sulfuros primarios (Davis-Belmar et al., 2014).

A la problemática para mantener el potencial redox constante, se suma el tamaño de partícula. En las pilas ROM de lixiviación, el mineral viene directo desde la mina y no tiene una etapa de molienda, con lo que el tamaño de partícula no es uniforme y puede variar desde micrómetros a centímetros; en las operaciones a gran escala en pilas, se utilizan tamaños de partícula en el rango de los 13 a los 200 mm o incluso mayores (Acevedo y Gentina, 2005); por tanto, una cantidad significativa de sulfuro puede estar ocluida en la ganga del mineral. Watling et al., 2010, indicaron que la disponibilidad efectiva de minerales sulfurados en estas condiciones de tamaño de partícula puede ser de dos órdenes de magnitud inferior al valor nominal de la ley del mineral en las pilas industriales.

6.4.4 Recuperación del cobre en los ensayos de biolixiviación

Efectivamente, hay diferencias en la recuperación de cobre como producto de la adición de microorganismos y/o cloruro a las muestras de mineral de alta ley (Figura 6.4). Como era de esperar, la menor recuperación fue en la experiencia sin inóculo y sin cloruro (M1): la disolución del cobre sólo fue producto de una lixiviación química debido al ácido sulfúrico (H_2SO_4) utilizado en el ensayo. El ensayo M3 tuvo una recuperación mayor que los ensayos M2 (sin inóculo y 7 g/L de cloruro) y M1; esta diferencia en el porcentaje de extracción fue del 7 y el 9%, respectivamente; se asume que esta mayor extracción fue producto de la actividad oxidante de los microorganismos (Watling, 2006) lo cual se vio reflejado en el aumento del potencial redox a los 8 días de lixiviación (Figura 6.5) y en la correspondiente oxidación del hierro (II) (Figura 6.6 B). La mayor extracción de cobre se obtuvo en el ensayo (M6) con un 35,7%, aunque se podría considerar una recuperación baja teniendo en cuenta que es un mineral de alta ley. No obstante, si se compara con otros estudios reflejados en la literatura, como el de Bevilaqua et al., 2013, utilizando mineralogías y

temperaturas similares a las del presente estudio (22 ± 2 °C), estos resultados son interesantes. Estos últimos investigadores realizaron ensayos en matraces con un concentrado de cobre que contenía un 23,0% de metal proveniente de la calcopirita contenida en el mismo, como única fuente de sulfuros, a una temperatura de 26 ± 2 °C. La mayor disolución de cobre obtenida fue del orden de 1,8 g/L. Si se compara con los resultados de nuestro estudio, en donde la recuperación de cobre fue de 35,7% (2,2 g/L de cobre), todavía la recuperación fue menor.

La baja recuperación de cobre en estos ensayos con mineral de alta ley puede estar relacionada con distintos factores como la composición del mineral y la temperatura. La composición mineralógica de la muestra fue mayoritariamente calcopirita (65% del total de la muestra) y los otros compuestos de cobre fueron sólo el 0,32% del total (Tabla 6.3). Como ya es conocido y mencionado varias veces en esta memoria de Tesis, la calcopirita es altamente refractaria a la lixiviación en los procesos hidrometalúrgicos realizados a temperatura ambiente, produciéndose una pasivación de su superficie. Distintos estudios, realizados principalmente con H_2SO_4 y HCl , han sugerido que el proceso de lixiviación se inhibe por la formación de una capa pasivante (Hackl et al., 1995; Stott et al., 2000; Tshilombo, 2004; Córdoba et al., 2009; Viramontes-Gamboa et al., 2010), pero no hay un consenso general en cuanto a su mecanismo de formación. Lu et al., 2000, señalan que a pesar de que el azufre es un producto de reacción deseado, su formación puede ser un problema importante en cuanto a la lixiviación ya que tiende a formar una capa protectora sobre las partículas minerales. Una vez que esta capa pasivante está presente, puede obstaculizar el proceso de lixiviación o incluso detenerlo por completo. En la investigación de Córdoba et al., 2008a, la causa principal de la pasivación de la calcopirita en un medio con sulfato férrico fue la nucleación y precipitación de jarositas sobre las partículas de calcopirita.

Otro factor importante para mejorar la disolución de la calcopirita es el efecto de la temperatura. En el presente estudio, los ensayos se realizaron a una temperatura promedio de 22 ± 2 °C. En la literatura se describe que para mejorar la cinética de disolución de cobre a partir de la calcopirita, se debe aumentar la

activación de la superficie del mineral; una de las opciones es a través del aumento de dicha temperatura. Como se muestra en el estudio de Córdoba et al., 2009, en donde se realizaron ensayos de biolixiviación en matraces, para un mineral de alta ley en calcopirita (aproximadamente el 80% de CuFeS_2), a diferentes temperaturas (35 y 68 °C) y a potenciales controlados, se obtuvieron recuperaciones de cobre menores al 5%, para una temperatura de 35 °C, y del 70%, para 68 °C. Se observó claramente en estos ensayos la importancia de la temperatura en la recuperación del cobre de la calcopirita. De acuerdo con la bibliografía, la mayoría de los procesos hidrometalúrgicos propuestos para el tratamiento de este sulfuro están realizados a altas temperaturas en combinación con diferentes condiciones de lixiviación férrica, con cloruro o a alta presión. También se encuentran procesos de biolixiviación con microorganismos termófilos (65 a 80 °C) (Dreisinger et al., 2006 y Watling, 2014). Se ha descrito un proceso a menor temperatura, *Bactech/Mintek low temperature bioleach*, que es una biolixiviación a temperatura entre 35 y 50 °C, pero que requiere un tamaño de partícula muy fino para superar la pasivación de la calcopirita (Miller et al., 1997).

Las recuperaciones de cobre fueron mayores en la experiencia en matraces con el mineral de baja ley (Figura 6,7), si se comparan con el mineral de alta ley y gran contenido de calcopirita. Esta mayor extracción fue debida, principalmente, a la composición mineralógica, ya que el mineral de baja ley contenía, además de los sulfuros primarios, sulfuros secundarios como calcosina y covelina, siendo así que estos últimos se lixivian muy rápidamente en procesos de biolixiviación a temperatura ambiente con disoluciones férrico/ferroso (Zepeda et al., 2007); además, el mineral contenía un porcentaje significativo, aunque no muy elevado, de minerales oxidados. No ocurría lo mismo con el mineral de alta ley, cuya composición mineralógica era, mayoritariamente, calcopirita (Tabla 6.3).

Bajo las condiciones estudiadas, la mayor recuperación de cobre en las experiencias en columnas, con cloruro e inoculadas (MC1, MC2 y MC3) y con el mineral de baja ley, fue en el ensayo MC1, pero no hubo una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los resultados alcanzados si se

compara con los ensayos MC2 y MC3, aunque si la hubo con el ensayo con adición de cloruro pero sin inoculación (MC4) (Figura 6.10). Los resultados muestran que al inicio de la lixiviación se produjo una rápida disolución del cobre proveniente de los minerales oxidados (brochantita, atacamita y crisola) en el ácido de la disolución utilizada y también de la disolución del primer cobre de la calcosina. En los primeros 9 días de lixiviación, en esta etapa, se alcanzó una recuperación de cobre total, aproximadamente, del 50%. Después, se inició una nueva etapa donde se produjo la oxidación de los sulfuros secundarios, como el cobre proveniente de la calcosina y también la disolución de la covelina, a través de la actividad microbiana hierro-oxidante (Petersen y Dixon, 2007), pero con una cinética más lenta. Finalmente, tuvo lugar la lixiviación de los sulfuros primarios, como la calcopirita, con un menor ataque debido a lo difícil que es su disolución utilizando la biolixiviación con cultivos mesófilos y a temperatura ambiente (22 ± 2 °C).

El análisis secuencial del cobre mostró una mayor extracción total de este metal en el ensayo MC1. La recuperación de los minerales oxidados, contenidos en el mineral de baja ley, fue mayor al 92%. Para los sulfuros secundarios, se pudo observar el efecto de la actividad oxidante de los microorganismos en la recuperación de cobre: la mayor recuperación fue en las experiencias inoculadas. El ensayo no inoculado (MC4) fue el que tuvo menor recuperación. Los sulfuros primarios más refractarios, como la calcopirita, produjeron una menor recuperación de cobre. No obstante, se observó que la recuperación de cobre fue directamente proporcional a la adición de cloruro: el ensayo MC3 tuvo la mayor recuperación de cobre y se le adicionaron 14 g/L de Cl^- , seguido por el ensayo MC2 con 10 g/L de Cl^- , y la menor recuperación de cobre fue en las experiencias MC1 y MC2, las dos, también, con la menor concentración de cloruro (Tabla 6.5). Estas recuperaciones están relacionadas directamente con las obtenidas en el análisis de las disoluciones que se producen a partir del ataque del mineral en las columnas.

El análisis mineralógico muestra recuperaciones similares entre las experiencias MC1, MC2 y MC3, con adición de cloruro e inoculadas, pero, además, una menor extracción de cobre, de un 8% aproximadamente, en el

ensayo no inoculado (MC4) (Figura 6.14). Las mayores disoluciones de cobre correspondieron a los óxidos de cobre (brochantita, crisocola y atacamita), seguidos por los sulfuros secundarios como la calcosina y la covelina. La calcopirita fue la menos atacada (Tabla 6.6 y Figura 6.14), corroborando lo ya aprendido con los ensayos en matraces utilizando el mineral de alta ley y con el análisis secuencial en cuanto a que una mayor concentración de cloruro genera una mayor disolución de la calcopirita. Los resultados obtenidos a través del análisis mineralógico son semejantes a los descritos por Davis-Belmar et al., 2014, que mostró que su mineral estaba, mayoritariamente, formado por sulfuros secundarios, aunque también contenía una pequeña cantidad de calcopirita; su conclusión fue que la mayor disolución de cobre provino de la calcosina y covelina, con una recuperación promedio del 80 y 71%, respectivamente.

El análisis mineralógico reafirmó el comportamiento del mineral en relación a la disolución del cobre de acuerdo con lo mostrado previamente en los balances de materia de las disoluciones de percolación y en el análisis del mineral de entrada y del residuo de las columnas, completado, además, por los resultados del análisis secuencial realizado al mineral de baja ley.

En relación con el ataque de la pirita, el ensayo MC3 mostró una mayor disolución de este mineral en comparación con el resto de las experiencias, aunque también fue el que presentó una mayor precipitación de hierro, como se observa en Tabla 6.6, todo lo cual fue corroborado por la gráfica de recuperación de hierro total en donde se observó que en este ensayo MC3, a los 31 días, aproximadamente, la cinética del ataque decreció manteniéndose constante por otros 10 días, dando lugar a la experiencia con menor recuperación de hierro.

La formación de jarosita fue baja y similar para las cuatro experiencias (Tabla 6.6). La razón de esto pudo ser debida a la temperatura de trabajo de las columnas (temperatura ambiente de 22 ± 2 °C) y al pH del ciclo de lixiviación que, al principio y durante unos 6 días, fue mayor que 2; en este periodo de tiempo fue donde se formó la mayor cantidad de jarosita. Después, el pH bajó y se mantuvo, para todas las columnas, en un intervalo de 1,4 – 1,6 hasta que finalizó el proceso de lixiviación. Klauber, 2008, indicó que la formación de jarosita es

dependiente de la temperatura, pH y Eh y, en este sentido, a mayores temperaturas, la velocidad de formación de estos sulfatos básicos de hierro se incrementa drásticamente, pero, a temperaturas menores a 60° C, es muy lenta. En cuanto al pH, la velocidad óptima de precipitación se obtiene a un pH de 2, aproximadamente. Para Watling et al., 2010, la formación de jarosita (Ec. VI.5) se facilita a pH entre 1,7 y 2,3, con mayores concentraciones de iones férricos y sulfato y con la presencia de cationes monovalentes.

En la literatura científica, la mayoría de los estudios de lixiviación de la calcopirita con adición de cloruro están referidos a concentrados, pero aunque para minerales de baja ley hay menos información, también hay algunos estudios que han sido realizados por las empresas mineras utilizando este tipo de sulfuros procedentes de sus yacimientos y que han derivado en algunos casos en patentes como la de Rautenbach et al., 2011, denominada: “*Method of treating a sulphide mineral*”. Este procedimiento está relacionado con el tratamiento de un mineral conteniendo sulfuros o un mineral mixto óxido-sulfuro, que incluye la etapa de biolixiviación del mineral en una disolución de iones cloruro con un cultivo mixto que, al menos, contiene una cepa de *Leptospirillum ferriphilum* y un microorganismo oxidante de azufre que es halófilo o halotolerante. Davis-Belmar et al., 2008, describe la investigación realizada con la cepa *Thiobacillus prosperus*, un microorganismo acidófilo, hierro- y azufre-oxidante, que requiere NaCl para su crecimiento, con una velocidad de oxidación similar a la del *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Se experimentó en ensayos en columnas, con un sulfuro de baja ley y con una concentración de cobre del 0,65%, con la mitad del cobre contenido correspondiendo a la calcopirita. Los resultados mostraron que la mayor recuperación de cobre fue para la columna con una concentración de 2,5% de NaCl e inoculada, en comparación con la columna con un 5% de NaCl más inóculo y con la columna control. Otro estudio de Davis-Belmar trata el proceso de biolixiviación de minerales con sulfuros de cobre secundarios mediante el uso de dos cepas: *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum* cepa Sp-Cl (DSM 22399), que son, como es sabido, microorganismos acidófilos halotolerantes. Los mejores resultados se obtuvieron en la columna con disoluciones que contenían hasta 6 g/L de Cl, con un nivel de extracción de metal que oscilaba desde el 79,5 al 83,3%, en comparación con las otras

concentraciones ensayadas de 1, 5, 3 y 10 g/L de cloruro (Davis-Belmar et al., 2014). Por tanto, la concentración óptima de cloruro (6 g/L), determinada por Davis-Belmar para una mayor extracción de cobre, fue similar a la encontrada en este estudio (7 g/L) para el mineral sulfurado de baja ley estudiado en este ensayo en columnas.

Por los resultados obtenidos en los ensayos en matraces y en columnas sobre estos minerales con un cierto contenido de calcopirita, se determinó que la mayor extracción de cobre fue en las pruebas que tenían cloruro y que fueron inoculadas. Así, se puede pensar en una nueva tecnología para el procesado de minerales de baja ley en pilas de lixiviación combinando el uso del ion cloruro y los microorganismos acidófilos que sean tolerantes a este ion. De esta manera, esta es una opción para superar la escasez y/o el costo del agua dulce en operaciones ubicadas en áreas desérticas. La utilización de microorganismos capaces de soportar mayores concentraciones de impurezas permitirá mantener más tiempo la recirculación de las disoluciones del proceso sin tener que purgar u optar por el uso de agua de naturaleza más salina o agua de mar que podrían ser utilizadas o no en función de las concentraciones de haluros que toleren los microorganismos.

Hay escasa información disponible sobre el uso del agua de mar en procesos de lixiviación, pero parece ser un eficiente disolvente con capacidad portadora de ácido y oxidante, tal como ocurre con el agua dulce (Watling, 2014).

En la mayoría de los procesos de lixiviación en pila sobre mineral de baja ley, el control de los parámetros de operación es complicado; por ejemplo, en el caso del mineral que proviene directamente de la mina, sin realizar un tratamiento de chancado o molienda previa, el tamaño de partícula es una variable que no se puede controlar. En otros casos, la temperatura es un parámetro que sólo en parte se ha podido manejar; así, se ha probado, con éxito, a recubrir la superficie de la pila con una película aislante que asegura aumentar unos grados más la temperatura en el lecho del mineral (Aguirre et al., 2015). Aunque, de los efectos estudiados en esta investigación, la adición de cloruro

CAPITULO VI

combinado con microorganismos halotolerantes es posible debido a su buen manejo operacional pudiéndose aumentar la cinética y la recuperación del cobre.

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente trabajo se han estructurado de acuerdo a los objetivos específicos de la investigación realizada.

7.1 Efecto de la temperatura, adición de ácido y variación del pH en los procesos de biolixiviación

En el estudio del efecto de la concentración de ácido en el proceso de biolixiviación se pudo determinar que la precipitación del hierro tiene lugar en el intervalo de pH 1,8 a 2,5. La concentración de hierro en el mineral lixiviado es mayor que en el mineral de entrada en este intervalo de pH.

Los mayores recuentos de microorganismos activos oxidantes de hierro y azufre se registraron en el intervalo de pH de 1,6 a 2,3. Los microorganismos azufre-oxidantes se detectaron también activos a pH menores de 1,6 mostrando una mayor tolerancia al medio ácido.

De las cuatro variables estudiadas (concentración de ácido, temperatura, suplemento de ácido y sulfato), la adición de ácido y el par suplemento de ácido-temperatura, son los parámetros que ejercen mayor influencia en la actividad hierro- y azufre-oxidante de los microorganismos biolixiviantes.

El aumento de temperatura tiene un efecto positivo en la velocidad de producción del ion férrico, por el incremento de la actividad bacteriana debido a la presencia de especies termófilas moderadas, como *Sulfobacillus spp* y *Ferroplasma sp.*, que utilizan al ion ferroso como fuente de energía en el inóculo.

Sin embargo, el aumento de la temperatura también tuvo un efecto adverso en la población de bacterias azufre-oxidantes. No obstante, se constató que la actividad azufre-oxidante no decrece al aumentar la concentración de ácido, lo que se confirmó por la elevada concentración de *Acidithiobacillus thiooxidans* en los ensayos de biolixiviación.

La capacidad oxidante de los microorganismos mejora significativamente con su adaptación a cantidades crecientes de ácido. Las bacterias adaptadas a concentraciones entre 8 y 30 g/L de H₂SO₄ completaron la oxidación del ion ferroso (4 g/L) entre 6 y 12 días, aproximadamente; mientras que una disolución de alimentación de planta industrial (8 g/L H₂SO₄), con microorganismos no adaptados, no logró completarla en 30 días.

El aumento de la concentración de ácido en la disolución de alimentación del proceso de biolixiviación dio lugar a cambios en la comunidad bacteriana, principalmente una disminución de un orden de magnitud en la concentración de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum*. La concentración de *Acidithiobacillus thiooxidans* se mantuvo constante en las tres condiciones de adición de ácido estudiadas. La única arquea detectada fue *Ferroplasma* spp.

La recuperación de cobre en los ensayos en columna, a temperatura controlada entre 25 y 52 °C, fue un 13% superior que en la columna control (a temperatura ambiente). Estos resultados demuestran la importancia del aumento de la temperatura en los procesos de biolixiviación estática, debido a que favorece la actividad bacteriana y la recuperación del cobre. El desafío en el futuro será lograr una mayor temperatura en el lecho del mineral en las pilas industriales.

Los microorganismos predominantes en la disolución de percolado de las columnas, a mayor temperatura, fueron las bacterias *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferriphilum* y la arquea *Ferroplasma acidiphilum*. En el mineral ya lixiviado, los microorganismos predominantes fueron *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

7.2 Disolución de la covelina en los procesos de biolixiviación de cobre

La biolixiviación en reactor del mineral de covelina de alta ley, se favorece con la inoculación, registrándose una diferencia considerable entre los ensayos inoculados y no inoculados, que superó el 30% en términos de recuperación de cobre.

La recuperación de cobre a partir de la covelina es mayor si el mineral ha sido procesado previamente, lo que demuestra que la covelina secundaria originada a partir de la disolución de la calcosina es menos refractaria que la covelina primaria.

La temperatura también ejerció una gran influencia sobre la recuperación de cobre a partir del mineral de cobre de alta ley en los ensayos en columna en ambas condiciones (procesado y sin procesar). Sin embargo, la elevada concentración de hierro total no tuvo un efecto significativo en la recuperación de cobre.

Se ha puesto de manifiesto la importancia de trabajar a 50 °C con el fin de lixiviar eficientemente el cobre contenido como covelina, ya sea sin tratar o tratada, pero también se demuestra la ventaja potencial de tratar este tipo de mineral a temperaturas más bajas (30 °C) a nivel industrial.

La actividad microbiana del mineral sulfurado conteniendo covelina fue confirmada a través de los análisis del número más probable (MPN) de bacterias oxidantes de hierro y azufre. No se observaron diferencias en la composición de la comunidad bacteriana: *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* fueron los microorganismos predominantes a 30 °C, y *Sulfobacillus* sp. y *Acidithiobacillus caldus* las más abundantes a 50 °C.

7.3 Disolución de los minerales sulfurados y la colonización de los microorganismos en el ciclo de biolixiviación

La descarga secuencial de las columnas permitió determinar la dinámica de disolución de los principales sulfuros en el ciclo de biolixiviación. La secuencia de disolución, de mayor a menor, fue la siguiente: calcosina seguido de covelina y, como era de esperar, del sulfuro más refractario: calcopirita.

La mayor proporción de jarosita en el ciclo de lixiviación se generó en los primeros días de operación en la experiencia en columnas descargadas en forma secuencial.

En general, los microorganismos predominantes en las experiencias en columnas y en las franjas de la pila industrial fueron *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans D2*, y *Leptospirillum ferriphilum*, tanto en la disolución de percolado como en el mineral lixiviado. De todas ellas, la cepa dominante fue la azufre-oxidante *Acidithiobacillus thiooxidans*.

El estudio comparativo de las comunidades microbianas presentes en los minerales y en las disoluciones, tanto en los ensayos en columna como en las pilas industriales, ha demostrado que existe suficiente similitud, por lo que se puede considerar que los resultados obtenidos en la disolución son un indicador de la población bacteriana presente en el lecho de la pila.

7.4 Efecto del ion cloruro en la biolixiviación de minerales sulfurados de cobre

La adición de ion cloruro aumenta la extracción de cobre a partir de los minerales sulfurados que contienen calcopirita, tanto en los ensayos de biolixiviación en matraces como en columnas, lo que demuestra que la combinación cloruro y microorganismos acidófilos halotolerantes tiene un efecto sinérgico en la extracción de cobre.

El potencial redox ejerce un rol importante en la biolixiviación de la calcopirita; sin embargo, el control de esta variable en los ensayos en matraces y en columna, en relación a los valores indicados en la bibliografía como inhibidores de la pasivación de la calcopirita, no fue suficiente para obtener una mejora apreciable de la extracción de cobre a partir de minerales que contienen calcopirita.

El ion cloruro en las concentraciones estudiadas (7, 10 y 15 g/L Cl⁻) no ejerce un efecto inhibitorio del crecimiento de las especies hierro- y azufre-oxidante características del proceso de biolixiviación a temperatura ambiente. En presencia de dicho ion, los microorganismos principales fueron las bacterias *Leptospirillum ferriphilum*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidiphilium sp* y la arquea *Ferroplasma sp*.

Se demostró que la combinación del ion cloruro con los microorganismos acidófilos se traduce en una mayor recuperación de cobre por la biolixiviación de los minerales sulfurados que contienen calcopirita. Estos resultados abren la posibilidad de desarrollar una nueva tecnología para el tratamiento de minerales de baja ley a nivel industrial, que permitiría optimizar el uso del recurso hídrico de baja ley a nivel industrial, que permitiría optimizar el uso del recurso hídrico de agua fresca o, en su defecto, utilizar agua más salina o, incluso, agua de mar.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Acar, S., Brierley, J.A., Wan, R. 2005. Conditions for bioleaching a covellite-bearing ore. *Hydrometallurgy* 77: 239-246.

Acevedo, F., Gentina J. 2005. Biolixiviación de minerales de cobre. Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras. Ediciones Universitarias de Valparaíso, pp. 45-61.

Acosta, M., Galleguillos, P., Ghorbani, Y., Tapia, P., Contador, Y., Velásquez, A., Espoz, C., Pinilla, C. and Demergasso, C. 2014. Variation in microbial community from predominantly mesophilic to thermotolerant and moderately thermophilic species in an industrial copper heap bioleaching operation. *Hydrometallurgy* 150: 281–289.

Aguirre, D., Ocaranza, G., Pinilla, C., Herrera, N. 2015. Improved Copper Recovery and Decreased Water Consumption in Sulphides Bioleaching Minera Escondida. 7th Internacional Seminar on Process Hydrometallurgy, Hydroprocess 2015. Gecamin, Antofagasta.

Aroca, F., Backit, A., Jacob, J. 2012. CuproChlor®, a hydrometallurgical technology for sulphides leaching. In: Casas, J.C., Ciminelli, V.S.T., Montes-Atenas, G., Stubina, N. (Eds.), *Hydroprocess 2012*. Gecamin, Santiago, pp. 97–108.

Barr, D.W., Jordan, M.A., Norris, P.R., Phillips, C.V. 1992. An investigation into bacterial cell, ferrous iron, pH and Eh interactions during thermophilic leaching of copper concentrates. *Minerals Engineering* 5 (3–5): 557–567.

Batty, J. de K., Norton, A., 2003. Heat transfer in heap leaching of sulphide ores. U. S. Patent Application 20,030,167,879, September 11.

Bevilaqua, D., Lahti, H., Suegama, P.H., Garcia Jr. O. 2013. Effect of Na-chloride on the bioleaching of a chalcopyrite concentrate in shake flasks and stirred tank bioreactors. *Hydrometallurgy* 138: 1–13.

Bolorunduro, S.A. 1999. Kinetics of leaching of chalcocite in acid ferric sulphate media: Chemical and bacterial leaching. M.A.Sc. Thesis, University of British Columbia.

BIBLIOGRAFÍA

Boon, M., Heijnen, J. and Hansford, G., 1998. The mechanism and kinetics of bioleaching sulphide minerals. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review* 19: 107-115.

Bonan, M., Demarthe, J.M., Renon, H. and Baratin, Fe. 1981. Chalcopyrite leaching by CuCl_2 in strong NaCl solutions. *Metallurgical and Material Transactions B* 12: 269-274.

Bouffard, S.C. 2005. Review of agglomeration practice and fundamentals in heap leaching *Mineral Processing & Extractive Metall. Rev.*, 26: 233–294. Brierley JA. 2010. Biohydrometallurgical prospects. *Hydrometallurgy* 104: 324–328.

Brierley, C. 2001. Bacterial succession in bioheap leaching. *Hydrometallurgy* 59: 249-255.

Brierley, C. 2008. How will biomining be applied in the future? *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 18: 1302–1310.

Brierley, C. 2010. Biohydrometallurgical prospects. *Hydrometallurgy* 104: 324-328.

Brierley, J.A. 2003. Response of microbial systems to thermal stress in biooxidation-heap pretreatment of refractory gold ores. *Hydrometallurgy* 71 (1-2): 13-19.

Brierley, J.A. 2008. A perspective on developments in biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy* 94: 2–7.

Brierley, J.A., and Brierley, C. 2001. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy* 59: 233-239.

Bryan, C.G., Davis-Belmar, C.S., Van Wyk, N., Fraser, M.K., Dew, D, Rautenbach, G.F., Harrison, S.T.L. 2012. The Effect of CO_2 Availability on the Growth, Iron Oxidation and CO_2 -Fixation Rates of Pure Cultures of *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology and Bioengineering* 109 (7): 1693-1703.

BIBLIOGRAFÍA

Bustos, S. 2005. Biolixiviación de minerales de cobre en Chile. Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras, Ediciones Universitarias de Valparaíso, pp. 121-135.

Carmona, M. y Adaros, C. 2000. Análisis secuencial de cobre aplicado al reconocimiento de especies mineralógicas y pruebas metalúrgicas. Tesis Universidad de Tarapacá.

Carneiro, M.F.C., Leão, V.A. 2007. The role of sodium chloride on surface properties of chalcopyrite leached with ferric sulphate. *Hydrometallurgy* 87: 73–82.

Casas, J.M., Lienqueo, M.E., Cubillos, F., Herrera, L., 2000. Modelación cinética de la precipitación de hierro como jarosita en soluciones lixiviantes utilizando la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. Congreso Chileno de Ingeniería Química. Universidad de Santiago.

Casas, J., Martínez, J., Moreno, I., Vargas, T. 1998. Bioleaching Model of a Copper-Sulfide Ore Bed in Heap and Dump Configurations. *Metallurgical and Material Transaction* 29B: 899-909.

Cautivo, D., Soto, P., Zepeda, V., Galleguillos, P. Velásquez, A. Pinilla, C., Demergasso, C. 2013. Estimation of ionic load effect on the oxidizing activity of the microbial population in the heap bioleaching process at Escondida Mine. *Advanced Material Research* 825: 219-222.

Clark, D.A., Norris, P.R. 1996. *Acidimicrobium ferrooxidans* gen. nov., sp. nov.: mixed-culture ferrous iron oxidation with *Sulfobacillus* species. *Microbiology* 142 (4): 785-790.

Cochilco. 2015a. "Caracterización de los Costos de la Gran Minería del Cobre". Dirección de Estudios y Políticas Públicas. Sitio web www.cochilco.cl.

Cochilco. 2015b. Producción del consumo de agua en la minería del cobre al 2026. DEPP 16/2016. Dirección de Estudios y Políticas Públicas. Ministerio de Minería. Gobierno de Chile.

BIBLIOGRAFÍA

Cochilco. 2016. Producción mundial de cobre de mina. Estadísticas Producción Minera. Sitio web www.cochilco.cl.

Compendio Revista Minería Chilena. 2007. Freeport McMoran reduce a mitad deuda por Phelps Dodge. <http://www.mch.cl/2007/09/28/freeport-mcmoran-reduce-a-mitad-deuda-por-phelps-dodge/>

Concha, M. 2010. Grandes mineras advierten caída de casi 50% en leyes de mineral de cobre en 20 años. Economía y Negocios. <http://www.economiaynegocios.cl/noticias/noticias.asp?id=97921>.

Córdoba E.M., Muñoz, J.A., Blázquez, M.L., González, F., Ballester, A. 2008a. Leaching of chalcopyrite with ferric ion. Part I: general aspects. *Hydrometallurgy* 93: 81–87.

Córdoba, E.M., Muñoz, J.A., Blázquez, M.L., González, F., Ballester, A. 2008b. Leaching of chalcopyrite with ferric ions. Part II: effect of redox potential. *Hydrometallurgy* 93, 88–96.

Córdoba, E.M., Muñoz, J.A., Blázquez, M.L., González, F., Ballester, A. 2009. Passivation of chalcopyrite during its chemical leaching with ferric ion at 68 °C. *Minerals Engineering* 22: 229–235.

Cheng, C.Y., Lawson, F. 1991. The kinetics of leaching covellite in acidic oxygenated sulphate–chloride solutions. *Hydrometallurgy*, 27: 269–284.

Chilean Copper Commission. 2009. The Chilean sulfuric acid market estimations through, Report No. DE/05/2009.

Chilean Copper Commission, the Chilean sulfuric acid market estimations through 2015, Report No. DE/05/2009, 2009, p. 30.

d'Hugues, P., Foucher, S., Gallé-Cavalloni, P., Morin, D. 2002. Continuous bioleaching of chalcopyrite using a novel extremely thermophilic mixed culture. *Int. J. Miner. Process.* 66: 107– 119.

BIBLIOGRAFÍA

Davis-Belmar, C.S., Nicolle, J.L.C., and Norris, P.R. 2008. Ferrous iron oxidation and leaching of copper ore with halotolerant bacteria in ore columns. *Hydrometallurgy* 94: 144-147.

Davis-Belmar, C.S., Cautivo D., Demergasso, C., Rautenbach, G. 2014. Bioleaching of copper secondary sulfide ore in the presence of chloride by means of inoculation with chloride-tolerant microbial culture. *Hydrometallurgy* 150: 308–312.

Demergasso, C., Galleguillos P., Escudero, L., Zepeda, V., Castillo, D., Casamayor, O. 2005. Molecular characterization of microbial populations in a low-grade copper ore bioleaching test heap. *Hydrometallurgy* 80: 241–253.

Demergasso, C., Galleguillos, F., Soto, P., Serón, M., Iturriaga, V. 2010. Microbial succession during a heap bioleaching cycle of low grade copper sulfides Does this knowledge mean a real input for industrial process design and control? *Hydrometallurgy* 104: 382–390.

Demergasso, C., Soto, P., Zepeda, V., Galleguillos, P. 2011. Scientific monitoring of industrial bioleaching process. *Biohydrometallurgical processes: A practical approach*. Santos, L. Monteiro, D, Gomes, C. (eds.), pp. 91-102.

Deveci, H., Jordan, M.A., Powell, N., Alp, I., 2008. Effect of salinity and acidity on bioleaching activity of mesophilic and extremely thermophilic bacteria. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 18: 714–721.

Dew, D., Buuren, C., McEwan, K., Bowker, C. 1999. Bioleaching of base metal sulphide concentrates: a comparison of mesophile and termophile bacterial cultures. In Amils, R. and Ballester, A. (eds). *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century*. Proceedings of the 13th International Biohydrometallurgy Symposium. Madrid, pp. 229-238.

Dew, D., Van Buuren, C., McEwan, K., Bowker, C. 2000. Bioleaching of base metal sulphide concentrates: a comparison of high and low temperature bioleaching. *The South African Institute of Mining and Metallurgy*, pp. 409-413.

BIBLIOGRAFÍA

Diario Financiero, "Tormenta perfecta: planes de ahorro y freno de inversiones mineras producen pérdida de 12.400 empleos". 28 de diciembre de 2015. https://www.df.cl/noticias/empresas/mineria/tormenta-perfecta-planes-de-horro-y-freno-de-inversiones-mineras-producen-perdida-de-12-400-empleos/2015-12-26/161536.html?utm_source=Titulares&utm_medium=Email&utm_campaign=Titulares_28122015&utm_content=Link_Nota.

Dixon, D.G. 2000. Analysis of heat conservation during copper sulphide heap leaching. *Hydrometallurgy* 58(1): 27–41.

Dixon, D.G. 2003. Heap leach modelling — the current state of the art. In: Young, C.A., Alfantazi, A.M., Anderson, C.G., Dreisinger, D.B., Harris, B., James, A. (Eds.). *Hydrometallurgy, Volume 1: Leaching and Solution Purification*. TMS, Warrendale, pp. 289–314.

Donati, E., Pogliani, C., Boiardi, J. 1997. Anaerobic leaching of covellite by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied Microbiology. Biotechnology*. 47: 636-639.

Dopson, M., Halinen, A.K, Rahunen, N., Özkaya, B., Sahinkaya, E., Kaksonen, A.H, Börje Lindström, E., Puhakka, J.A. 2007. Mineral and Iron Oxidation at Low Temperatures by Pure and Mixed Cultures of Acidophilic Microorganisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 97 (5): 1205-1215.

Dopson, M., Lövgren, L., Boström, D. 2009. Silicate mineral dissolution in the presence of acidophilic microorganisms: implications for heap bioleaching. *Hydrometallurgy* 96: 288–293.

Dopson, M., Johnson, D.B. 2012. Biodiversity, metabolism and applications of acidophilic sulfur-metabolizing microorganisms. *Environmental Microbiology* 14: 2620–2631.

Dreisinger, D. 2006. Copper leaching from primary sulfides: Options for biological and chemical extraction of copper, *Hydrometallurgy* 83: 10–20.

Druschel, G., Borda, M. 2006. Comment on “Pyrite dissolution in acidic media” by Descostes M, Vitorge P, Beaucaire C. *Geochimica Cosmochimica Acta* 70: 5246–5250.

BIBLIOGRAFÍA

du Plessis, C.A., de Kock, S.H. 2005. Heap bioleaching process. World Patent WO 2,005,073,414. 11 August.

du Plesis, C. Batyy, J.D., Dew, D.W. 2007. Commercial applications of thermophile bioleaching In. Rawling, DE, Johnson B (eds) Biomining. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp: 57-80.

Duku, P., Minnaar, S.H., Harrison, S.T.L., and Petersen, J. 2013. A novel apparatus to determine the bio-oxidation kinetics of sessile *Leptospirillum ferriphilum*. *Advanced Materials Research*, 825: 238-241.

Dutrizac, J.E., MacDonald, R.J.C. 1974a. The kinetics of dissolution of covellite in acidified ferric sulphate solutions. *Canadian Metallurgical Quarterly* 13 (3): 423-433.

Dutrizac, J.E., MacDonald, R.J.C. 1974b. Ferric ion as a leaching medium. *Minerals Science and Engineering* 6: 59–100.

Dutrizac, J. 1981. The dissolution of chalcopyrite in ferric sulfate and ferric chloride media. *Metallurgical and Materials Transactions B*, Vol. 12 (2): 371-378.

Echeverria, A., Demergasso, C. 2009. Assessment of microbial adhesion in mixed cultures to sulfide minerals using CARD-FISH techniques. *Advanced Material Research*, 71–73: 83–86.

Echeverría-Vega, A., Demergasso, C.S. 2015. Copper resistance, motility and the mineral dissolution behavior were assessed as novel factors involved in bacterial adhesion in bioleaching. *Hydrometallurgy* 157: 107–115.

Escobar, B., Godoy, I. 1999. Determination of sulfur and iron oxidation bacteria by the most probable number (MPN) technique. *Process Metallurgy* 9: 681-687.

Espejo, R.Y., Arriagada F., D'amico, J., Jo, M., Rojas, J., Neuberg, H., Ruiz, M., Yanez, H., Reyes, R., Bustos, S., Montealegre, R., Rauld, J. 2001. Procedimiento para aglomerar minerales de cobre chancados fino, mediante la adición de cloruro de calcio y ácido sulfúrico y procedimiento de lixiviación previa aglomeración del mineral. Chilean Patent Application No. 40891 (19 May 1997).

BIBLIOGRAFÍA

Faine, R., Aroca, J., Alfaro, F., Montealegre, J.R., Gutierrez, B.A. 2005. Nonbiochemical method to heap leach copper concentrates. U.S. Patent 6926753 (9 August 2005).

Franzmann, P.D., Haddad, C.M., Hawkes, R.B., Robertson, W.J., Plumb, J.J. 2005. Effects of temperature on the rates of iron and sulfur oxidation by selected bioleaching Bacteria and Archaea: Application of the Ratkowsky equation. *Minerals Engineering* 18 (13-14): 1304-1314.

Frenzel, G. 1959. Idait und "blaubleibender covelina". *Journal of Mineralogy and Geochemistry* 93:87-132.

Frenzel, G., 1961. - Der Cu-Uberschuss des blaubleibender Covellin. *Neues Jahrb. Mineral., Monatsh.* **9**, pp. 199-204.

Fu, K.B., Lin, H., Wang, H., Wen, H.W., Wen, Z.L. 2012. Comparative study on the passivation layers of copper sulphide minerals during bioleaching. *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials* 19 (10): 886–892.

Gahan, C.S., Sundkvist, J.E., Sandström, Å. 2009. A study on the toxic effects of chloride on the biooxidation efficiency of pyrite. *Journal Hazardous Materials* 172: 1273–1281.

Galleguillos, P., Remonsellez, F., Galleguillos, F., Guiliani, N., Castillo, D., Demergasso, C. 2008. Identification of differentially expressed genes in an industrial bioleaching heap processing low-grade copper sulphide ore elucidated by RNA arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Hydrometallurgy* 94: 148–154.

George, G. N., Gnida, M., Bazylnski, D. A., Prince, R. C., Pickering, I. J. 2008. X-Ray Absorption Spectroscopy as a Probe of Microbial Sulfur Biochemistry: the Nature of Bacterial Sulfur Globules Revisited. *Journal of Bacteriology* 190 (19) 6376-6383.

Ghorbaniab, Y., Franzidisc, J.P. Petersenc, J. 2016. Heap Leaching Technology—Current State, Innovations, and Future Directions: A Review. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 37(2): 73-119.

BIBLIOGRAFÍA

Goble, R.J. 1980. Copper sulfides from Alberta: yarrowite Cu_9S_8 and spionkopite $\text{Cu}_{39}\text{S}_{28}$. *The Canadian Mineralogist*, 18: 511-518.

Golovacheva, R.S. and Karavaiko, G.I. 1978. *Sulfobacillus*, a new genus of thermophilic sporulating bacteria. *Mikrobiologiya* Vol. 47(5): 815-22.

Golyshina, O., Pivovarova, T.A., Karavaiko, G.I., Kondrat'eva, T.F., Moore, E.R.B., Abraham, W.R., Lünsdorf, H., Timmis, K.N., Yakimov, M.M., Golyshin P.N. 2000. *Ferroplasma acidiphilum* gen. nov., sp. nov., an acidophilic, autotrophic, ferrous-iron-oxidizing, cell-wall-lacking, mesophilic member of the *Ferroplasmaceae* fam. nov., comprising a distinct lineage of the Archaea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 997-1006.

Golyshina O., Yakimov, M.M., Lunsdorf, H., Ferrer, M., Nimtz, M., Timmis, K.N., Wray, V., Tindall B.J. and Golyshin, P.N. 2009. *Acidiplasma aeolicum* gen. nov., sp. nov., a euryarchaeon of the family *Ferroplasmaceae* isolated from a hydrothermal pool, and transfer of *Ferroplasma cupricumulans* to *Acidiplasma cupricumulans* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59: 2815-2823.

Govender, E., Bryan, C.G., Harrison, S.T.L. 2013. Quantification of growth and colonisation of low grade sulphidic ores by acidophilic chemoautotrophs using a novel experimental system. *Minerals Engineering* 48: 108–115.

Govender, E., Bryan, C.G., Harrison, S.T.L. 2015. Effect of physico-chemical and operating conditions on the growth and activity of *Acidithiobacillus ferrooxidans* in a simulated heap bioleaching environment. *Minerals Engineering* 75: 14–25.

Hackl, R., Dreisinger, D., Peters, E., King, J. 1995. Passivation of chalcopyrite during oxidative leaching in sulfate media. *Hydrometallurgy* 39 (1-3): 25-48.

Halinen, A.K., Rahunen, N., Kaksonen, A.H., Puhakka, J.A. 2009. Heap bioleaching of a complex sulfide ore. Part I: effect of pH on metal extraction and microbial composition in pH controlled columns. *Hydrometallurgy* 98: 92–100.

Hallberg, K.B., Johnson, D.B. 2001. Biodiversity of acidophilic prokaryotes. *Advances in Applied Microbiology* 49: 37–84.

BIBLIOGRAFÍA

Hallberg, K. B., González-Toril, E. and Johnson, D. B. 2010. *Acidithiobacillus ferrivorans*, sp. nov.; facultatively anaerobic, psychrotolerant iron-, and sulfur-oxidizing acidophiles isolated from metal mine-impacted environments. *Extremophiles* 14: 9-19.

Härd, T., P. Fan and D. R. Kearns (1990) A fluorescence study of the binding of Hoechst 33258 and DAPI to halogenated DNAs. *Photochem. Photobiol.* 51, 77-86. Harneit, K., Göksel, A., Kock, D., Klock, J.H., Gehrke, T., Sand, W. 2006. Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*. *Hydrometallurgy* 83: 245–254.

Hawkes, R.B., Franzmann, P.D., and Plumb, J.J. 2006a. Moderate thermophiles including '*Ferroplasma cyprexacervatum*' sp. nov., dominate an industrial scale chalcocite heap bioleaching operation. *Hydrometallurgy* 83: 229–236.

Hawkes, R.B., Franzmann, P.D., O'hara, G., Plumb, J.J. 2006b. *Ferroplasma cupricumulans* sp. nov., a novel moderately thermophilic, acidophilic archaeon isolated from an industrial scale chalcocite bioleach heap. *Extremophiles* 10: 525–530.

Hedrich, S., Schlömann, M., Johnson, D.B. 2011. The iron-oxidizing proteobacteria. *Microbiology* 157: 1551-1564.

Hedrich, S., Guézennec, AG., Charon, M., Shippers, A., and Joulain, C. 2016. Quantitative Monitoring of Microbial Species during Bioleaching of a Copper Concentrate. *Frontiers in Microbiology* (7): 2044. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02044>.

Hedrich, S., Johnson, D.B. 2013. *Acidithiobacillus ferridurans*, sp. nov., an acidophilic iron-, sulfur- and hydrogen-metabolizing chemolithotrophic Gammaproteobacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 4018-4025.

Herreros, O., Quiroz, R., Longueira, H., Fuentes, G., Viñals, J. 2006. Leaching of djurleite in Cu²⁺/Cl⁻ media. *Hydrometallurgy* 82: 32–39.

BIBLIOGRAFÍA

Hiraishi A, Matsuzawa, Y., Kanbe, T., Wakao, N. 2000. *Acidisphaera rubrifaciens* gen. nov., sp. nov., an aerobic bacteriochlorophyll-containing bacterium isolated from acidic environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1539-1546.

Hiro Yoshi, N., Miki, H., Hirajima, T., Tsunekawa, M. 2001. Enhancement of chalcopryrite leaching by ferrous ions in acidic ferric sulfate solutions. *Hydrometallurgy* 60: 185–197.

Hunter, C.J. 2006. Method for the bacterially assisted heap leaching of chalcopryrite. U.S. Patent 7,022,504 (4 April 2006).

Hurley, M.A. and Roscoe, M.E. 1983. Automated statistical analysis of microbial enumeration by dilution series. *Journal of Applied Bacteriology* 55: 159-164.

Ingledeu, W.J. 1982. The bioenergetics of acidophilic chemolithotroph. *Biochimica et Biophysica Acta* 683: 89-117.

Jofré L. 2012. Análisis y exploración de información mineralógica en pilas de biolixiviación utilizando minería de datos: un caso de estudio de la pila industrial de biolixiviación de Minera Escondida Limitada, Tesis de grado, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

Johnson, D. B., Okibe, N., Hallberg, K. B. 2005. Differentiation and identification of iron-oxidizing acidophilic bacteria using cultivation techniques and amplified ribosomal DNA restriction enzyme analysis. *Journal of Microbiological Methods* 60: 299-313.

Johnson, D. B., Bacelar-Nicolau, P., Okibe, N., Thomas, A., Hallberg, K.B. 2009. *Ferrimicrobium acidiphilum* gen. nov., sp. nov. and *Ferrithrix thermotolerans* gen. nov., sp. nov: heterotrophic, iron-oxidizing, extremely acidophilic actinobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59: 1082-1089.

Johnson, D. B., Hallberg, K. B. 2009. Carbon, iron and sulfur metabolism in acidophilic micro-organisms. *Advances in Microbiology and Physiology* 54: 201-255.

BIBLIOGRAFÍA

Kametani, K., Aoki, A. 1985. Effect of suspension potential on the oxidation rate of copper concentrate in sulfuric acid. *Metallurgical and Material Transactions B* 18B (4), 489–496.

Kieft, T.L., Spence, S.D., 1988. Osmoregulation in *Thiobacillus ferrooxidans*: stimulation of iron oxidation by proline and betaine under salt stress. *Current Microbiology* 17: 255–258.

Kinzler, K., Gehrke, T., Telegdi, J., Sand, W. 2003. Bioleaching: a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS). *Hydrometallurgy* 71: 83–88.

Klauber, C. 2008. A critical review of the surface chemistry of acidic ferric sulphate dissolution of chalcopyrite with regards to hindered dissolution. *International Journal of Mineral Processing* 86: 1–17.

Kohr, W.J., Shrader, V. and Johansson, C. 2002. High temperature heap bioleaching process. U. S. Patent Application 20,020,194,962. December 26.

La Tercera, ¿Por qué el cobre perdió peso en las arcas fiscales?, 30 de marzo de 2014 <http://www.latercera.com/noticia/negocios/2014/03/655-571832-9-por-que-el-cobre-perdio-peso-en-las-arcas-fiscales.shtml>.

Lee, J., Acar, S., Doerr, D.L., Brierley, J.A. 2011. Comparative bioleaching and mineralogy of composited sulfide ores containing enargite, covellite and chalcocite by mesophilic and thermophilic microorganisms. *Hydrometallurgy* 105(3-4): 213-221.

Levenspiel, O. 2004. *Ingeniería de las reacciones químicas*. 3ª ed. México, Limusa Wiley, 669 pp.

Liu, X., Shu, R., Chen, B., Wu, B., Wen, J. 2009. Bacterial community structure change during pyrite bioleaching process: Effect of pH and aeration. *Hydrometallurgy* 95: 267–272.

Liu, H., Yin, H., Dai, Y., Dai, Z., Liu, Y., Li, Q., Jiang, H., Liu, X. 2011. The co-culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidiphilium acidophilum* enhances

BIBLIOGRAFÍA

the growth, iron oxidation and CO₂ fixation". Archives of Microbiology 198: 857-866.

Lu, Z.Y., Jeffrey, M.I., Lawson, F. 2000. The effect of chloride ions on the dissolution of chalcopyrite in acidic solutions. Hydrometallurgy 56, 189–202.

Maley, M., van Bronswijk, W. and Watling, H.R. 2009. Leaching of a low-grade, copper-nickel sulfide ore. 3. Interactions of Cu with selected sulfide minerals. Hydrometallurgy 98: 73–80. A.

Mathews, P.G. 2005. Design of Experiments with MINITAB American Society for Quality, Quality Press, Milwaukee 53203 © 2005 by ASQ.

Matin, A. 2007. pH Homeostasis in Acidophiles. In Novartis Foundation Symposium 221 - Bacterial Responses to pH (John Wiley & Sons, Ltd.), pp. 152-166.

Mehta, A., Murr, L. 1982. Kinetic study of sulfide leaching by galvanic interaction between chalcopyrite, pyrite and sphalerite in the presence of *T. ferrooxidans* (30°C) and thermophilic organism (55 °C). Biotechnology and Bioengineering 24 (4): 919-940.

Meller, P. 2014. El rol del cobre para que Chile alcance el pleno desarrollo. http://www.aminerals.cl/wp-content/files/Sntesis_El_valor_del_cobre_para_que_Chile_alcance_el_pleno_desarrollo.pdf.

Miki, H., Nicol, M. and Velasquez-Yevenes, L. 2011. The kinetics of dissolution of synthetic covellite, chalcocite and digenite in dilute chloride solutions at ambient temperatures. Hydrometallurgy 105(3-4): 321-327.

Miller, P.C., Winby, R. 1997. The Potential Commercialization of Bioleaching for the Treatment of Chalcopyrite Ores and Concentrates, Preprint, Bactech Australia Limited, Belmont, WA, Australia.

Moh, G.H. 1971. Blue-remaining covellite and its relations to phases in the sulfur rich portion of the copper-sulfur system at low temperature. Mineral Society Japan Spec, 1: 226-232.

BIBLIOGRAFÍA

Moses, C.O., Nordstrom, D.K., Herman, J.S., Mills, A, L. 1987. Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen and by ferric iron. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51: 1561–1571.

Mulak, W. 1971. Kinetics of dissolving polydisperse covellite in acidic solutions of ferric sulphate. *Roczniki Chemii* 45: 1417–1424.

Muller, E.L., Basson, P., Nicol, M.J. 2011. Chloride heap leaching. U.S. Patent 8,070,851 B2 (6 December 2012). (Also EP 2024523 B1 granted 21 December 2011).

Muñoz, J.A., Gonzalez, F., Blazquez, M.L., Ballester, A. 1995. A study of the bioleaching of a Spanish uranium ore. Part I: A review of the bacterial leaching in the treatment of uranium ores. *Hydrometallurgy* 38: 39-57.

Mutch, L.A., Watling, H.R., Watkin, E.L.J. 2010. Microbial population dynamics of inoculated low-grade chalcopyrite bioleaching columns. *Hydrometallurgy* 104 (3–4): 391–398.

Ngoma, E.I, Ojumu, T.V., Harrison, S.T.L. 2015. Investigating the effect of acid stress on selected mesophilic microorganisms implicated in bioleaching. *Minerals Engineering* 75: 6–13.

Nicol, M., Miki, H., Velásquez-Yévenes, L. 2010. The dissolution of chalcopyrite in chloride solutions. Part 3. Mechanisms. *Hydrometallurgy* 103:86–95.

Norgate, T., Jahanshahi, S., 2010. Low grade ores – smelt, leach or Concentrate. *Minerals Engineering* 23: 65–73.

Norris P.R, Burton N.P, Foulis N.A. 2000. Acidophiles in bioreactor mineral processing. *Extremophiles* 4(2):71-6. Norris, P.R., Davis-Belmar, C.S., Brown, C.F., Calvo-Bado, L.A. 2011. Autotrophic, sulfuroxidizing actinobacteria in acidic environments. *Extremophiles* 15: 155–163.

Norton, A.E., Crundwell, F.K. 2004. The HotHeap™ process for the heap leaching of chalcopyrite ores. SAIMM Colloquium: Innovations in Leaching Technologies (Saxonwold, RSA). SAIMM, Johannesburg. 24 pp.

BIBLIOGRAFÍA

Okibe, N., Gericke, M., Hallberg, K. B., Johnson, D. B. 2003. Enumeration and characterization of acidophilic microorganisms isolated from a pilot plant stirred-tank bioleaching operation. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 1936-43.

Olubambi, P. A., Ndlovu, S., Potgieter, J. H., Borode, J. O. 2008. Role of ore mineralogy in optimizing conditions for bioleaching low-grade complex sulphide ores. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 18(5): 1234–1246.

Ospina G., García de Ossa, J., Martínez Yepes, P. 2010. *Gravimetría y Volumetría / Fundamentación Experimental en Química Analítica*, Editorial Elizcom, pp: 150.

Pernthaler, A., Pernthaler, J., Amann, R., 2002. Fluorescence in situ hybridization and catalyzed reporter deposition for the identification of marine bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 3094–3101.

Petersen, J. and Dixon, D. 2007. Principles, mechanisms and dynamic of chalcocite heap bioleaching. *Microbial Processing of Metal Sulfides*, E.R. Donati and W. Sand (eds.) Springer, 10: 193-218.

Petersen, J., Minaar, S., y du Plessis, C. 2010. Carbon dioxide and oxygen consumption during the bioleaching of a copper ore in a large isothermal column. *Hydrometallurgy*, 104: 356-362.

Pirrie, D., Butcher, A.R., Power, M.R., Gottlieb, P., Miller, G.L. 2004. Rapid quantitative mineral and phase analysis using automated scanning electron microscopy (QEMSCAN); potential applications in forensic geoscience. In: Pye, K., Croft, D.J. (Eds.), *Forensic Geoscience, Principles, Techniques and Applications*, vol. 232. Geological Society Special Publication, London, pp. 123–136.

Plumb J.J, Hawkes, R.B., Franzmann, P.D. 2007. The microbiology of moderately thermophilic and transiently thermophilic ore heaps, in *Biomining*, D.E. Rawlings and D.B. Johnson, eds., Springer, Berlin, pp. 217–235.

BIBLIOGRAFÍA

Plumb, J.J., Muddle, R., Franzmann, P.D., 2008. Effect of pH on rates of iron and sulphur oxidation by bioleaching organisms. *Minerals Engineering*. 21: 76–82.

Potter, R.W. 1977. An electrochemical investigation of the system copper-sulfur. *Economic Geologist* 72, 1524-542.

Pradhan N., Nathsarma K.C., Rao S., Sukla L.B., Mishra B.K. 2008. Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. *Minerals Engineering* 21: 355-365.

Ramdohr, P. 1969. *The ore minerals and their intergrowths*. Pergamon Press, Oxford.

Rautenbach, G.F., Davis-Belmar, C.S., Demergasso, C.S. 2011. "Method of treating a sulphide mineral". U.S. Patent Application 2011/0201095-A1 (18 August 2011).

Rawlings, D.E. 2002. Heavy metal mining using microbes. *Annual Review of Microbiology* 56: 65–91.

Rawlings, D.E., and Johnson, B.D. 2007. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral oxidizing microbial consortia. *Microbiology* 153: 315–324.

Remonsellez, F., Galleguillos, F., Janse van Rensburg, S., Rautenbach, G.F., Galleguillos, P., Demergasso, C. 2007. Monitoring of Microbial Community Inhabiting a Low-Grade Copper Sulphide Ore by Quantitative Real-Time PCR Analysis of 16S rRNA Genes. *Advanced Materials Research* 20-21: 539-542.

Remonsellez, F., Galleguillos, F., Moreno-Paz, M., Parro, V., Acosta, M., Demergasso, C. 2009. Dynamic of active microorganisms inhabiting a bioleaching industrial heap of low-grade copper sulfide ore monitored by real-time PCR and oligonucleotide prokaryotic acidophile microarray. *Microbiology and Biotechnology* 2: 613–624.

Rickard, D.T. 1972. Covellite formation in low temperature aqueous solutions. *Mineral Deposita* 7:180-188.

BIBLIOGRAFÍA

Rimstidt, J.D., Vaughan, D.J. 2003. Pyrite oxidation: a state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67: 873–880.

Rohwerder, T., Gehrke, T., Kinzler, K., Sand, W. 2003. Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63: 239–248.

Romero, J., Yañez, C., Vasquez, M., Moore, E.R., Espejo, R.T. 2003. Characterization and identification of an iron-oxidizing, *Leptospirillum*-like bacterium, present in the high sulfate leaching solution of a commercial bioleaching plant. *Research in Microbiology* 154 (5): 353-359.

Ruan, R., Zou, G., Zhong, S., Wu, Z., Chan, B., Wang, D. 2013. Why Zijinshan copper bioheapleaching plant works efficiently at low microbial activity – Study on leaching kinetics of copper sulfides and its implications. *Minerals Engineering* 48: 36–43.

Ruiz, M.C., Honores, S., Padilla, R., 1998. Leaching kinetics of digenite concentrate in oxygenated chloride media at ambient pressure. *Metallurgical and Materials Transactions B* 29B: 961–969.

Ruiz, M.C., Montes, K.S., Padilla, R. 2011. Chalcopyrite leaching in sulfate–chloride media at ambient pressure. *Hydrometallurgy* 109: 37–42.

Saldívar, E. and Zárate, G., 2007. Optimization of ROM Sulfide Leaching at Anglo American Chile. Los Bronces Division. *Advanced Materials Research* 20-21: 21-25.

Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R., Schippers, A. 1995. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in) direct attack mechanism: a critical evaluation of bacterial leaching. *Applied Microbiology and Biotechnology* 43: 961–966.

Sand, W., Gehrke, T., Jozsa, P-G., Schippers, A. 2001. (Bio)chemistry of bacterial leaching: direct versus indirect bioleaching. *Hydrometallurgy* 59: 159–175.

BIBLIOGRAFÍA

Scheffel, R.E., Miller, G. 2015. Minimizing acid consumption in mixedoxide/supergene and sulfide heap leaches, Proceedings of Heap Leach Solutions, September 14-16, 535 pp, Reno, Nevada, USA.

Schippers, A., Jozsa, P.G., Sand, W. 1996. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite. *Applied and Environmental Microbiology* 62: pp. 3424–3431.

Schippers, A., Sand, W. 1999. Bacterial leaching of metal sulfide proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. *Applied and Environmental Microbiology* 65: pp. 319–321.

Schippers, A. 2004. Biogeochemistry of metal sulfide oxidation in mining environments, sediments and soils. In: Amend JP, Edwards KJ, Lyons TW (eds) *Sulfur biogeochemistry: past and present*. Geological Society of America, Boulder. Special paper 379: pp. 49-62.

Schippers, A. 2007. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification (Chap. 1). In: Donati ER, Sand W (eds.) *Microbial processing of metal sulfides*. Springer, Dordrecht. Section I: pp. 3-34.

Schippers, A., Hedrich, S., Vasters, J., Drobe, M., Sand, W., Willscher, S. 2013. *Biomining: Metal Recovery from Ores with Microorganisms*. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology* 141: 1–47.

Schnell, H. 1997. Bioleaching of Copper. In: Rawlings, D.E. (Ed.), *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes*. Springer Verlag, Berlin, pp. 21–43.

Shiers, D.W., Blight, K.R., Ralph, D.E. 2005. Sodium sulphate and sodium chloride effect on batch culture iron oxidizing bacteria. *Hydrometallurgy* 80: 75–82.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler. 2001. “*Química Analítica*” 4ª Ed., Editorial Reverte, S.A. Ed. Mc Graw Hill, pp. 432- 437.

BIBLIOGRAFÍA

Song, J., Gao, L., Lin, J., Wu, H., Lin, J. 2013. Kinetics and modelling of chemical leaching of sphalerite concentrate using ferric ion in a redox-controlled reactor. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 21 (8): 933–936.

Soto, P., C. Demergasso, M. Serón and C. Meneses (2010). Decision Trees and Rule Induction Applied to the Characterization of Oxidizing Activity of a Microbial Community in an Industrial Bioleaching Heap. The 14th World Multi-Conference on Systemics, Cybernetics and Informatics: WMSCI 2010, Orlando, Florida, USA.

Soto, P., Galleguillos, P., Serón, M., Zepeda, V., Demergasso, C., Pinilla, C. 2013. Parameters influencing the microbial oxidation activity in the industrial bioleaching heap at Escondida mine, Chile. *Hydrometallurgy* 133: 51–57.

Stott, M.B., Watling, H.R., Franzmann, P.D., Sutton, D. 2000. The role of iron-hydroxy precipitates in the passivation of chalcopyrite during bioleaching. *Minerals Engineering* 13: 1117–1127.

Stott, M.B., Sutton, D.C., Watling, H.R., Franzmann, P.D. 2003. Comparative leaching of chalcopyrite by selected acidophilic bacteria and archaea. *Geomicrobiology Journal* 20: 215-230.

Sullivan, J.D., 1930. Chemistry of Leaching Covellite. US Bureau of Mines, Washington, DC, USA. TP 487.

Suzuki, D. Lee, B. Mackay, L. Harahuc, and J.K. O. 1999. Effect of various anions, pH, and osmotic pressure on oxidation of elemental sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*. *Applied Environmental Microbiology* 65: 5163–5168.

Thomas, G., Ingrahan, T.R. 1967. Kinetics of dissolution of synthetic covellite in aqueous acidic ferric sulphate solutions. *Canadian Metallurgical Quarterly* 6: 153–165.

Tran, T., Swinkels, D.A.J., 1986. The kinetics of oxidation of Cu (I) chloride by oxygen in NaCl–HCl solutions. *Hydrometallurgy* 15: 281–295.

BIBLIOGRAFÍA

Tributsch, H. 2001. Direct versus indirect bioleaching. *Hydrometallurgy* 59: 177–185.

Tshilombo, A.F. 2004. Mechanism and kinetics of chalcopyrite passivation and depassivation during ferric and microbial leaching. PhD Thesis University of British Columbia.

Tuovinen, A.H. 1978. Inhibition of *T. ferrooxidans* by mineral flotation reagents. *European Journal of Applied Microbiology* 5: 301-304.

Tupikina, O., Ngoma, E., Minnaar, S., Harrison, S.T.L. 2011. Some aspects of pH effects and acid stress in heap leaching. *Minerals Engineering* 24 (11): 1209–1214.

Tupikina, O.V., Minnaar, S.H., van Hille, R.P., van Wyk, N., Rautenbach, G.F., Dew, D., Harrison, S.T.L. 2013. Determining the effect of acid stress on the persistence and growth of thermophilic microbial species after mesophilic colonisation of low grade ore in a heap leach environment. *Minerals Engineering* 53: 152–159.

Velásquez-Yévenes, L., Miki, H., Nicol, M., 2010a. The dissolution of chalcopyrite in chloride solutions. Part 2. Effect of various parameters on the rate. *Hydrometallurgy* 103: 80–85.

Velásquez-Yévenes, L., Nicol, M. & Miki, H. 2010b. The dissolution of chalcopyrite in chloride solutions: Part 1. The effect of solution potential. *Hydrometallurgy* 103 (1-4): 108-113.

Viramontes-Gamboa, G., Peña-Gomar, M.M., Dixon, D.G. 2010. *Hydrometallurgy* 105: 140–147.

Wakeman, K., Auvinen, H., Johnson, D.B. 2008. Microbiological and geochemical dynamics in simulated-heap leaching of a polymetallic sulfide ore. *Biotechnology and Bioengineering* 101:739–750.

Walsh, C., Rimstidt, J. 1986. Rates of reaction of covellite and blaubleibender covellite with iron at Ph 2.0. *Canadian Mineralogist* 24: 35-44.

BIBLIOGRAFÍA

Wang, S., 2005. Copper leaching from chalcopyrite concentrates. *The Journal of The Minerals, Metals & Materials Society* 57 (7), 48–51.

Wang, Y., Su, L., Zhang, L., Zeng, W., Wu, J., Wan, L., Giu, G., Chen, X., Zhou, H. 2012. Bioleaching of chalcopyrite by defined mixed moderately thermophilic consortium including marine acidophilic halotolerant bacterium. *Bioresource Technology* 121: 348–354.

Watling, H.R. 2006. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - A review. *Hydrometallurgy*, 84: 81-108.

Watling H.R, Perrot, F.A, Shiers, D.W. 2008. Comparison of selected characteristics of *Sulfobacillus* species and review of their occurrence in acidic and bioleaching environments. *Hydrometallurgy* 93: 57-65.

Watling, H.R., Elliot, A.D., Maley, M., van Bronswijk, W., Hunter, C. 2009. Leaching of a low-grade, copper–nickel sulfide ore. 1. Key parameters impacting on Cu recovery during column bioleaching. *Hydrometallurgy* 97: 204–212.

Watling, H.R., Watlinga, E.L., Watkin, J. and Ralph, D.E. 2010. The resilience and versatility of acidophiles that contribute to the bio-assisted extraction of metals from mineral sulphides. *Environmental Technology* 31(8–9): 915–933.

Watling, H.R. 2013. Chalcopyrite hydrometallurgy at atmospheric pressure: 1. Review of acidic sulfate, sulfate–chloride and sulfate–nitrate process options, *Hydrometallurgy* 140: 163–180.

Watling, H.R. 2014. Chalcopyrite hydrometallurgy at atmospheric pressure: 2. Review of acidic chloride process options *Hydrometallurgy* 146: 96–110.

Watling, H.R., Collinson, D.M., Li, J., Mutch, L.A., Perrot, F.A., Rea, S.M., Reith, F., Watkin, E.L.J. 2014a. Bioleaching of a low-grade copper ore, linking leach chemistry and microbiology, *Minerals Engineering* 56: 35–44.

Watling H.R., Collinson, D.M., Fjastad, S., Kaksonen, A. H., Li, J., Morris, C., Perrot, F.A., Rea, S.M. 2014b. Shiers Column bioleaching of a polymetallic ore:

BIBLIOGRAFÍA

Effects of pH and temperature on metal extraction and microbial community structure. *Minerals Engineering* 58: 90–99.

Watling, H.R., Shiers, D.W., Li, J., Chapman, N.M., Douglas, G.B. 2014c. Effect of water quality on the leaching of a low-grade copper sulfide ore. *Minerals Engineering* 58: 39–51.

Watling, H.R., Denis, W., Shiers and David M. Collinson. 2015. Extremophiles in Mineral Sulphide Heaps: Some Bacterial Responses to Variable Temperature, Acidity and Solution Composition, *Microorganisms* 3: 364-390.

Williamson, M.A, Rimstidt, J.D. 1994. The kinetics and electrochemical rate-determining step of aqueous pyrite oxidation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58: 5443–5454.

Xie, X., Xiao, S., He, Z., Liu, J., and Qiu, G. 2007. Microbial populations in acid mineral bioleaching system of Tong Shankou Copper Mine, China. *Journal Applied of Microbiology* 103: 1227–1238.

Xiong, H., Guo, R., 2011. Effects of chloride acclimation on iron oxyhydroxides and cell morphology during cultivation of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Environmental Science and Technology* 45: 235–240.

Yin, Q., Vaughan, D.J., England, K.E.R., Kelsall, G.H., Brandon, N.P. 2000. Surface oxidation of chalcopyrite (CuFeS₂) in alkaline solutions. *Journal of the Electrochemical Society* 147: 2945–2951.

Yin, H., Cao, L., Qiu, G., Wang, D., Kellogg, L., Zhou, J., Liu, X., Dai, Z., Ding, J., Liu, X. 2008. Molecular diversity of 16 rRNA and gyrB genes in copper mines. *Archives of Microbiology* 189: 101-110.

Yoo, K., Kim, S-k., Lee, J-c., Ito, M., Tsunekawa, M., Hiroyoshi, N. 2010. Effect of chloride ions on leaching rate of chalcopyrite. *Minerals Engineering* 23: 471-477.

Zammit, C., Mutch, L., Watling, H., Watkin, E.L.J. 2009. The characterization of salt tolerance in biomining microorganisms and the search for novel salt tolerant

BIBLIOGRAFÍA

strains In International. In: Edgardo R. Donati, Marisa R. Viera, Eduardo L. Tavani, María A. Giaveno, Teresa L. Lavalle and Patricia A. Chiacchiarini, Biohydrometallurgy: a Meeting Point Between Microbial Ecology, Metal Recovery Processes and Environmental Remediation. 18th International Biohydrometallurgy Symposium, Bariloche, Argentina, pp: 283-286.

Zammit, C., Mangold, S., Mutch, L.A., Watling, H.R., Dopson, M., Watkin, E.L. 2012. Bioleaching in brackish waters—effect of chloride ions on the acidophile population and proteomes of model species. *Applied in Microbiology and Biotechnology* 93 (1): 319–329.

Zepeda, V., Galleguillos, F., Castillo, D., Lastra, M., Demergasso, C. 2007. Bacterial Activity at Low Temperature in Cultures Derived from a Low-Grade Copper Sulphide Bioleaching Heap at the Escondida Mine, Chile. *Advanced Material Research* 20-21: 543-546.