



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE INGENIERO QUÍMICO

Influencia del tiempo de residencia sobre la solubilización de un mineral aurífero refractario del distrito minero Portovelo en un sistema continuo de biooxidación en reactores de tanque agitado a escala laboratorio.

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR: Jaramillo Martínez, Katherine Ivanova

DIRECTOR: Aguirre Chamba, Paulina Isabel, Ing

LOJA – ECUADOR

2014

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

Ingeniera.

Paulina Isabel Aguirre Chamba

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración

El presente trabajo de fin de titulación: Influencia del tiempo de residencia sobre la solubilización de un mineral aurífero refractario del distrito minero Portovelo en un sistema continuo de biooxidación en reactores de tanque agitado a escala laboratorio, realizado por Jaramillo Martínez Katherine Ivanova, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Agosto de 2014

f) Paulina Isabel Aguirre Chamba

C.I: 1104265226

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo, Jaramillo Martínez Katherine Ivanova declaro ser autor del presente trabajo de fin de titulación: Influencia del tiempo de residencia sobre la solubilización de un mineral aurífero refractario del distrito minero Portovelo en un sistema continuo de biooxidación en reactores de tanque agitado a escala laboratorio, de la Titulación de Ingeniero Químico, siendo Paulina Isabel Aguirre Chamba; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos de tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f.

Autor: Jaramillo Martínez Katherine Ivanova

Cédula: 1103898969

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado a mi familia, en especial a mis padres Julio y Mónica por su amor, su sacrificio y por su apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida y que hoy hacen posible que cumpla uno más de mis sueños.

GRACIAS POR TODO.

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme la sabiduría y fortaleza necesaria para poder culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres, Julio y Mónica, por apoyarme incondicionalmente en alcanzar cada una de mis metas. La vida entera estaré agradecida con ustedes.

A mis hermanos, Adriana y Hans, que con su inocencia, sus locuras y ocurrencias supieron sacarme una sonrisa en los momentos difíciles.

A mi abuelita, Guillermina, que con su cariño y apoyo moral me ha incentivado a seguir adelante a lo largo de toda mi vida.

A mi Directora de Tesis, Ing. Paulina Aguirre, mi gratitud especial con ella, por confiar en mí y darme la oportunidad de llevar a cabo este trabajo, por todos los conocimientos enseñados, la paciencia, el gran apoyo y la ayuda constante desde el inicio de esta aventura, por que más que una tutora se convirtió en una gran amiga.

A los miembros de mi tribunal, Mgs. Diego Nieto y Mgs. Víctor Sanmartín, quienes me guiaron durante la realización de este trabajo, por su tiempo, consejos y experiencias compartidas que me han ayudado a crecer profesionalmente.

A mi cómplice de batalla, Pablo, que ha estado en las buenas y en las malas y con su entusiasmo, ayuda, apoyo y sobre todo con su gran amor ha sabido motivarme para culminar con éxito este trabajo.

A mis amigas Gabby y Karol por los gratos momentos que compartimos durante todos estos años

A todas las personas que me brindaron su ayuda desinteresada y participaron de manera directa e indirecta en la realización del presente trabajo.

GRACIAS A TODOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA.....	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I - MARCO TEÓRICO.....	6
1.1. Características físico - geográficas y mineralógicas del distrito minero Portovelo ..	7
1.1.1. Ubicación y acceso.	7
1.1.2. Tipo de yacimiento.	7
1.1.3. Mineralogía característica.	7
1.2. Biominería.	8
1.2.1. Biolixiviación y biooxidación.	9
1.2.2. Refratariedad del oro.....	9
1.3. Microbiología de la biooxidación	10
1.3.1. Características de los microorganismos.....	10
1.3.2. Mecanismos de biooxidación: reacciones bioquímicas.	11
1.3.3. Cinética de crecimiento bacteriano.	13
1.4. Biooxidación en tanques agitados.....	15
1.4.1. Sistema por lote.	15
1.4.2. Sistema continuo.	16
1.4.3. Configuración óptima del sistema continuo.	17
1.4.4. Factores que influyen en el proceso de biooxidación en tanques agitados.	18
1.5. Cianuración	22
CAPÍTULO II - METODOLOGÍA	23
2.1. Diseño experimental	24
2.2. Muestreo del mineral	25
2.3. Caracterización química y mineralógica del mineral.....	26

2.4. Preparación de la muestra mineral	26
2.5. Descripción de los reactores de tanque agitado.....	27
2.6. Montaje de los reactores de tanque agitado	28
2.7. Microorganismos	28
2.8. Biooxidación en un sistema por lote.....	29
2.9. Biooxidación en un sistema continuo	29
2.10. Mediciones analíticas.....	31
2.11. Cianuración.....	31
2.12. Determinación de oro.....	32
2.13. Análisis estadístico	32
CAPÍTULO III - RESULTADOS Y ANÁLISIS	33
3.1. Biooxidación en un sistema por lote.....	34
3.1.1. Análisis estadístico para la altura del rotor desde el fondo del tanque.	34
3.1.2. Caracterización de la cinética de crecimiento microbiano.	37
3.1.3. Caracterización de la solubilización del mineral aurífero refractario	40
3.1.4. Análisis del pH y el potencial redox (Eh).	42
3.2. Biooxidación en un sistema continuo	43
3.2.1. Análisis estadístico para el tiempo de residencia.	43
3.2.2. Solubilización del mineral aurífero refractario en sistema continuo.	45
3.3. Cianuración del mineral aurífero refractario	48
3.3.1. Caracterización de la cinética de cianuración.	48
3.3.2. Recuperación de oro a partir del proceso de biooxidación en sistema por lote y continuo.....	48
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES.....	52
BIBLIOGRAFÍA.....	53
ANEXOS	58

RESUMEN

La biooxidación de minerales sulfurados utilizando microorganismos nativos pretende aprovechar de una manera sustentable los recursos naturales del Ecuador. Por ende el objetivo de este estudio fue determinar los parámetros óptimos en el proceso de biooxidación que permitan obtener la mejor solubilización del mineral.

Los ensayos en sistema en lote se realizaron variando la altura del rotor, una vez optimizada, se inició los ensayos en sistema continuo modificando el tiempo de residencia. En ambos sistemas se mantuvo constantes: velocidad de agitación (400rpm), flujo de aire (3vvm), temperatura (30°C), pH (1.8), tamaño de partícula (-200 mallas) y densidad de pulpa (15%p/v). En ambos casos se determinó la concentración de Fe^{2+} , Fe total, sulfatos, proteína plantónica, proteína total y conteo microbiano.

Los resultados mostraron que en el sistema por lote a 3.5cm de altura del rotor se obtuvo un $Q_p Fe^{3+}$ de 1.49 g/Ldía, $Q_p SO_4^{2-}$ de 1.88 g/Ldía y una recuperación de oro del 60%. Mientras que para el sistema continuo ($tr=6$ días) se obtuvo un $Q_p Fe^{3+}$ de 6.64 g/Ldía, $Q_p SO_4^{2-}$ de 6.89 g/Ldía y una recuperación de oro del 17%.

Palabras clave: biooxidación, recuperación de oro, solubilización del mineral.

ABSTRACT

The biooxidation of sulphide ores using native microorganisms seeks to use in a sustainable way the natural resources of Ecuador. So the aim of this study was to determine the optimal parameters for the biooxidation process in order to obtain the best mineral solubilization.

The tests in batch system were carried out by varying the height of the impeller, once optimized; the tests were started in a continuous system by changing the residence time (t_r). In both systems remained constant: agitation speed (400rpm), airflow (3vvm), temperature (30°C), pH (1.8), particle size (-200mallas) and pulp density (15% w/ v). In both cases was determined the concentration of Fe^{2+} , Fe total, sulfates, plantonic protein, total protein, and microbial counts.

The results showed that in the batch system to 3.5cm of height of the impeller a $Q_p Fe^{3+}$ of 1.49 g/Lday, $Q_p SO_4^{2-}$ of 1.88 g/Lday and a gold recovery of 60% was obtained. While for the continuous system ($t_r = 6$ days) a $Q_p Fe^{3+}$ of 6.64 g/Lday, $Q_p SO_4^{2-}$ of 6.89 g/Lday and gold recovery of 17% was obtained.

Keywords: biooxidation, gold recovery, mineral solubilization.

INTRODUCCIÓN

Justificación

La biooxidación de minerales sulfurados de baja ley, utilizando microorganismos mesófilos es una alternativa económicamente viable para la recuperación de algunos metales (Gordillo *et al.*, 2009). A nivel nacional no se realiza pretratamiento oxidante a las menas refractarias, ni se ha implementado la biooxidación de minerales de baja ley o de oro refractario de manera comercial. Por tanto, se cree que ocurren grandes pérdidas de ellos, en especial en las minas menos tecnificadas (Muñoz *et al.*, 2003). Es por esto, que la investigación en microbiología aplicada al sector minero-metalúrgico se vuelve importante como una herramienta biotecnológica para favorecer la recuperación de recursos naturales de nuestro país, además de que es considerada como una tecnología limpia, con mayor protección ambiental que las tecnologías convencionales. (Smith y Misra, 1991).

En el Ecuador existe gran cantidad de relaves con características refractarias. El sector Portovelo produce alrededor de 1600 a 2000 toneladas de relaves por día, en cuyo contenido existe oro refractario ocluido básicamente en pirita, calcopirita, limonita, etc. (Gordillo *et al.*, 2009), debido a esto, se requiere de un tratamiento del mineral anterior a la lixiviación con cianuro, el cual permita destruir la matriz de sulfuro y liberar el oro contenido en ella (Marsden y House, 1992). Por lo tanto el sector Portovelo constituye uno de los sectores mineralógicos ideales para procesos biológicos para la recuperación de metales de interés (Gordillo *et al.*, 2009).

La biooxidación en reactores de tanque agitado es un método utilizado en el pretratamiento oxidante de menas refractarias específicamente, como una alternativa a los procesos de tostación y oxidación por presión (Ospina *et al.*, 2012). La capacidad de las bacterias mesófilas *Acidithiobacillus ferrooxidans*, para catalizar compuestos reducidos de azufre e ión ferroso, está dada por su condición quimiolitotrofa, es decir, su fuente de energía la obtienen de compuestos inorgánicos, por lo tanto, ellas crecen a expensas de la liberación u obtención de electrones a partir de la oxidación de minerales (Gordillo *et al.*, 2004). Este proceso es aprovechado en la minería aurífera para la oxidación de especies minerales, permitiendo así la liberación del oro ocluido en la estructura de algunos minerales, haciéndolo disponible para los procesos subsecuentes, como la lixiviación con cianuro (Ospina *et al.*, 2012).

La biooxidación es llevada a cabo de mejor forma en un modo de cultivo continuo en el que la productividad volumétrica es alta y los volúmenes del reactor pueden

mantenerse bajos. Si se desea un alto grado de conversión, un solo tanque con agitación requeriría un enorme volumen, de manera que un arreglo de reactores es más adecuado. Puede demostrarse que un reactor de tanque con agitación continua (CSTR) seguido de un reactor de flujo pistón (PFR) dará el mínimo volumen de reacción para alcanzar una cierta conversión. Ya que la necesidad de aireación y la presencia de partículas sólidas hacen las PFR poco prácticas, su funcionamiento puede aproximarse por una serie de CSTR (Acevedo, 2000). Se ha determinado que la configuración óptima que maximiza el porcentaje de solubilización del mineral es aquella en la que el primer reactor tiene un volumen entre dos y tres veces mayor que el resto de los reactores de igual volumen. Actualmente, este proceso biotecnológico es aplicado para la recuperación de oro en varias plantas a nivel comercial, entre las que se encuentran las establecidas en Australia, Sudáfrica, Ghana y Brasil, y ocho de ellos usan biorreactores (González *et al.*, 2004). El futuro de los biorreactores en la minería parece promisorio (Acevedo, 2000).

Es por ello que en este trabajo se pretende llevar a cabo un cultivo continuo a escala laboratorio para la biooxidación de concentrados de oro con alto contenido de pirita y cuantificar el efecto del tiempo de residencia en el proceso. A futuro se puede implementar un programa piloto a partir de los resultados de este estudio en cultivo continuo con proyecciones de ampliación a otros sectores mineros que posean características refractarias.

Fin de proyecto

Mediante la oxidación de minerales refractarios de oro aplicando métodos biológicos, se pretende lograr un mejor aprovechamiento de los recursos naturales del suelo, extrayendo el metal de interés (oro) de manera más eficiente y utilizando menor cantidad de sustancias químicas para los procesos posteriores, tales como la lixiviación con cianuro.

El fin de este estudio es determinar los parámetros óptimos para el proceso de biooxidación de minerales auríferos refractarios en tanques agitados a escala laboratorio a través de la implementación de un sistema de cultivo continuo de biooxidación. Los resultados de este estudio podrán ser utilizados para observar el comportamiento preliminar del cultivo antes de implementar el proceso continuo como modelo de tecnología limpia a escala piloto.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar los parámetros óptimos para el proceso de biooxidación de minerales auríferos refractarios en tanques agitados a escala laboratorio.

Objetivos específicos

- Determinar la solubilidad del mineral aurífero refractario (proceso de biooxidación) optimizando la altura del rotor desde el fondo del tanque y caracterizar la cinética de crecimiento microbiano en un sistema por lote con un reactor de tanque agitado de 5 litros.
- Determinar la influencia del tiempo de residencia sobre la solubilización de un mineral aurífero refractario (proceso de biooxidación) en un sistema continuo de biooxidación en reactores de tanque agitado de 5 litros.
- Cuantificar el oro liberado de la estructura mineral mediante el método de biooxidación, a través del proceso de lixiviación con cianuro.

Hipótesis de trabajo

H0: La altura del rotor desde el fondo del tanque no influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema por lote.

H1: La altura del rotor desde el fondo del tanque influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema por lote.

H0: El tiempo de residencia no influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema continuo.

H1: El tiempo de residencia influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema continuo.

H0: El oro recuperado no es mayor luego de los procesos de biooxidación y cianuración.

H1: El oro recuperado es mayor luego de los procesos de biooxidación y cianuración.

CAPÍTULO I - MARCO TEÓRICO

1.1. Características físico - geográficas y mineralógicas del distrito minero Portovelo

El Distrito Minero Portovelo es uno de los centros mineros más antiguos de Ecuador en donde la minería data desde comienzos de siglo XX. Las plantas del sector tratan el mineral empleando principalmente métodos gravimétricos y de lixiviación con cianuro, algunas veces complementados con flotación u otros métodos (PRODEMINCA, 1998). Este distrito se ubica a lo largo de los ríos Amarillo y Calera. La vegetación es típica del clima tropical. La humedad relativa es de 83% y la temperatura de del sector oscila entre 18 y 29° C (Crespo, 2007), temperatura favorable para procesos de oxidación por bacterias mesófilas.

1.1.1. Ubicación y acceso.

El distrito minero de Portovelo, se encuentra ubicado en la zona montañosa de la Cordillera de Vizcaya ramal occidental de la Cordillera de los Andes, en la provincia de El Oro, en el extremo suroeste del Ecuador. La extensión de la zona es de 15 Km en sentido N-S, 4Km en sentido E-W y 1.6Km en sentido vertical. Las coordenadas UTM del sector son: 654506, 9589381, 700, msnm (Alulima, 2009).

El acceso por vía terrestre al distrito minero Portovelo se lo puede realizar desde la ciudad de Machala (provincia de el Oro) por la vía Machala-Zaracay- Piñas- Portovelo o desde la Provincia de Loja por la vía Chinchas- Zambí- Portovelo (Alulima, 2009).

1.1.2. Tipo de yacimiento.

El yacimiento del Distrito Portovelo es uno de los yacimientos hidrotermales más grandes de la Cordillera Andina, consiste en un sistema complejo de estrechas y profundas vetas de cuarzo con mineralizaciones ricas en sulfuros asociados con oro y sulfosales, catalogando al yacimiento como aurífero-polisulfúrico. La roca encajante está formada por rocas volcánicas dacíticas-andesíticas con textura porfirítica de coloración verde parduzca en claro contraste con la presencia de colores pardos rojizos de los óxidos de hierro y de los colores blanco lechosos de las vetillas presentes de cuarzo (Crespo, 2007; PRODEMINCA, 1998).

1.1.3. Mineralogía característica.

Las características mineralógicas del yacimiento Portovelo corresponden a vetas de sulfuros polimetálicos, donde los minerales que más predominan son: pirita (FeS_2),

calcopirita (CuFeS_2), esfalerita (ZnS), galena (PbS) y bornita (Cu_5FeS_4). El material sin valor denominado ganga, está compuesta esencialmente de cuarzo (SiO_2). Debido a la gran cantidad de sulfuros presentes en el sector, el mineral presenta oro ocluido en estos, principalmente en pirita y calcopirita, otorgándole al mineral características refractarias (Aguaiza, 2013).

1.2. Biominería.

Biominería es el término genérico que describe el procesamiento de minerales con metales de interés o concentrados empleando microorganismos. Esta es un área de la biotecnología aplicada a la industria minero-metalúrgica la cual ha experimentado un crecimiento considerable desde la década de 1960 (Rawlings y Johnson, 2007). Las diferentes tecnologías de bioprocesamiento que se aplican a la industria minera incluyen biorremediación, biosorción, bioacumulación, biohidrometalurgia (biooxidación y biolixiviación), siendo esta la más estudiada para la recuperación de metales (Sekhar *et al.*, 2012; Simate *et al.*, 2013).

Por mucho tiempo, se pensó que el proceso de extracción de metales era un proceso netamente físico-químico. Sin embargo, en 1940 se descubrió la existencia de bacterias que revolucionaron la industria minera-metalúrgica surgiendo una nueva alternativa de procesamiento de minerales catalizado biológicamente (Rawlings y Johnson, 2007; Sekhar *et al.*, 2012).

La biohidrometalurgia se ocupa de la extracción de metales utilizando microorganismo a partir de minerales, especialmente minerales de sulfuro, haciéndolos más susceptibles a la disolución en soluciones acuosas. Es un campo multidisciplinario que involucra la Microbiología, la Química, la hidrometalurgia, el procesamiento de minerales y el medio ambiente (Sekhar *et al.*, 2012; Simate *et al.*, 2013).

La biohidrometalurgia se ha aplicado a nivel mundial para la recuperación de los metales como cobre y oro, actualmente es una tecnología industrial establecida para el pretratamiento de minerales refractarios. Se caracteriza por los bajos costos de operación, menor impacto ambiental, simplicidad de operación y mantenimiento de la planta. Lo cual hace que hoy en día sea una alternativa para los proyectos mineros (Sekhar *et al.*, 2012; Simate *et al.*, 2013).

1.2.1. Biolixiviación y biooxidación.

Ambos procesos se emplean para la oxidación de sulfuros (e. g. minerales sulfurados), pero se puede señalar que la biolixiviación es una tecnología que emplea bacterias específicas para lixiviar o extraer un metal de valor (e. g. uranio, cobre, zinc, níquel y cobalto) presente en las menas o en un concentrado mineral. El producto final de la biolixiviación es una solución ácida que contiene el metal en forma soluble (Guerrero, 1998). Mientras que el término biooxidación se emplea cuando el elemento a recuperar no puede ser solubilizado por los microorganismos pero su presencia beneficia la recuperación del mismo, a través de la degradación de la matriz mineral en la que está ocluido el elemento de interés (Donati, 2006).

La mayor aplicación de la biooxidación es para el mejoramiento de la extracción de oro, pero también se lo emplea para la obtención de plata (cuando se encuentra nativa e incluso como sulfuro) y molibdeno (cuando se encuentra bajo la forma de sulfuros como la molibdenita que es muy refractaria al ataque bacteriano) (Donati, 2006).

1.2.2. Refractariedad del oro.

El oro se encuentra en la naturaleza como oro nativo, oro asociado, oro ocluido o encapsulado principalmente en sulfuros (Arroyave, 2008; Remolina, 2011). La influencia de la presencia de compuestos sulfurados (pirita, arsenopirita, pirrotita, estibinita, galena) retarda y disminuye la obtención de oro por métodos convencionales de lixiviación con cianuro, debido a que el oro se encuentra como finas partículas microscópicas encapsuladas en una matriz mineral de sulfuros, esta matriz es insoluble y difícil de penetrar con soluciones de cianuro, lo que evita que el oro entre en contacto con el cianuro y por lo tanto su lixiviación (Parga y Carrillo, 1996; Remolina, 2011).

La refractariedad puede ser ocasionada por fenómenos de distinta naturaleza, fenómenos químicos y físicos (Iglesias *et al.*, 1998; Remolina, 2011).

La refractariedad química se debe a:

- Telururos de oro insolubles.
- Componentes cianicidas.
- Consumidores de oxígeno.
- Precipitantes de oro.

La refractariedad física se debe a:

- Oro atrapado o encapsulado: en carbón, pirita, arsenopirita.
- Aleaciones de oro con antimonio o plomo.
- Oro cubierto con películas de óxidos de hierro, cloruros de plata, compuestos de antimonio, manganeso y plomo (Remolina, 2011).

En general los minerales de oro se consideran como refractarios si el porcentaje de extracción de oro mediante la lixiviación con cianuro es baja, no supera el 80%, por lo que la extracción no es eficiente y no permite una recuperación totalmente económica de este metal (Iglesias *et al.*, 1998; Parga y Carrillo, 1996).

1.3. Microbiología de la biooxidación

1.3.1. Características de los microorganismos.

Los microorganismos utilizados para la biooxidación de minerales poseen las siguientes características:

- **Quimiolitotrófos**, capaces de oxidar compuestos inorgánicos como azufre y/o hierro ferroso (donadores de electrones) a partir de minerales y obtienen su fuente de carbono de CO₂ atmosférico.
- **Acidófilos**, debido a su capacidad de generar ambientes ácidos (pH < 3) siendo el ácido sulfúrico un producto de su metabolismo (López, 2007; Mejía, 2010).
- **Mesófilos**, crecen a temperaturas entre 25 y 35° C. Actualmente estos microorganismos han jugado un papel importante en la industria de la minería y la metalurgia para la oxidación de sulfuros. Los géneros microbianos que se destacan son *Acidithiobacillus* (e. g. *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans*) y *Leptospirillum* (*L. ferrooxidans*). Los mismos han sido utilizados en procesos de biooxidación a nivel industrial (Donati, 2006; Suzuki, 2001).

1.3.1.1. *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Es la bacteria más estudiada para procesos tanto de biooxidación como de biolixiviación. Fue la primera bacteria que se descubrió y fue aislada de drenajes ácidos en minas de carbón por Colmer y Hinkle en 1947. Son miembros de las Proteobacterias y pertenecen al género *Acidithiobacillus*, no patógenas, Gram-negativas, presentan forma bacilar (algunas tienen flagelo), con diámetro entre 0.4µm-

0.8µm y longitud entre 0.9 – 2.0 µm, con extremos redondeados (Mejía, 2010; Ospina *et al.*, 2011; Rossi, 1990). Son quimiolitotróficas, es decir, obtienen la energía necesaria para su crecimiento de la oxidación de hierro ferroso y compuestos reducidos del azufre, y su fuente de carbono es el CO₂ atmosférico (Mejía, 2010; Rossi, 1990). Son aerobios (su aceptor final de electrones es el oxígeno), acidófilos (se desarrolla a valores de pH entre 1.5 y 3.0) y mesófilos (requieren de temperaturas que oscilan entre 25°C-35°C) (Rosales *et al.*, 2001).

El crecimiento de esta bacteria obedece el modelo de Monod, es decir, se distingue la fase lag, exponencial y estacionaria. Se ha comprobado que su desarrollo no está favorecido en condiciones de alto potencial redox (ambientes con más cantidad de Fe³⁺ que Fe²⁺) (Donati, 2006; Rossi, 1990).

1.3.1.2. *Leptospirillum ferrooxidans*.

Fue aislada de un medio mineral de sulfuros de cobre en Armenia, por Markosyan en 1972 (Rossi, 1990). Pertenece a la división Nitrospira (Donati, 2006). Gram-negativas, de forma espiral, con ancho de 0.3-0.5 µm y longitud de 0.9 a 3.0 µm, altamente tolerantes al ácido (pH óptimo ~ 1.5-1.8) (López, 2007; Rosales *et al.*, 2001). Crecen a temperaturas entre 20 a 40°C, con un crecimiento óptimo a 30°C (Rossi, 1990). Aerobios estrictos (requieren oxígeno gaseoso) y quimiolitotróficos, solo pueden utilizar Fe²⁺ como donador de electrones, no se ve inhibida por el Fe³⁺, razón por la cual es de gran aplicación en procesos de biooxidación en condiciones de alto potencial redox. (López, 2007; Rosales *et al.*, 2001).

1.3.2. Mecanismos de biooxidación: reacciones bioquímicas.

Actualmente los microorganismos involucrados en la disolución de los sulfuros metálicos se rigen solamente por dos rutas bioquímicas, las que están determinadas por la solubilidad ácida de los sulfuros: mecanismo vía tiosulfato, y mecanismo vía polisulfuro y azufre. También denominados “mecanismo de contacto” y “mecanismo de no-contacto”, respectivamente (Cárdenas *et al.*, 2004; Donati, 2006).

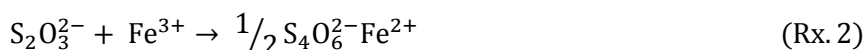
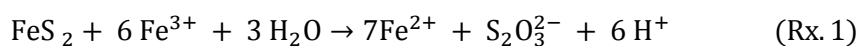
Estos mecanismos actúan de acuerdo a la especie mineral y a la capacidad de los sulfuros de ser disueltos por ácidos lo cual está vinculado con las bandas de valencia de las cuales pueden ser extraídos los electrones durante el ataque (Cárdenas *et al.*, 2004; Donati, 2006). Debido a las características del mineral el mecanismo de nuestro interés es el de contacto.

1.3.2.1. Mecanismo de contacto: vía del tiosulfato.

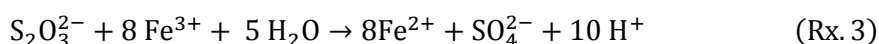
Este mecanismo tiene dos funciones principales:

- Adherencia de la bacteria a la superficie del sulfuro metálico a través de una capa de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) donde existen iones férricos (Fe^{3+}). La carga positiva del EPS permite adherencia del sulfuro metálico cargado negativamente.
- Disolución oxidante del sulfuro metálico (Cárdenas *et al.*, 2004).

Sulfuros metálicos como la pirita (FeS_2), son oxidados por este mecanismo, en donde el enlace químico entre el azufre y el metal se rompe luego de seis pasos sucesivos de oxidación electrónica, siendo el primer intermediario liberado el tiosulfato. Que luego es oxidado vía tetratiónato y otros politionatos, hasta llegar a sulfato (Cárdenas *et al.*, 2004; Donati, 2006; Rossi, 1990). De acuerdo a las Rx. (1) y (2):



Cuando las bacterias se adhieren a la superficie mineral, el ión férrico hexahidratado contenido en el exopolímero extracelular empieza a atacar al sulfuro metálico de forma indirecta (Rx.1), produciendo Fe^{2+} y tiosulfato. Este último reacciona generando tetratiónatos, ácido disulfano-monosulfónico y tritiónato, hasta llegar a sulfato, de acuerdo reacción global (Rx.3) (Cárdenas *et al.*, 2004; Mejía, 2010).



Finalmente, el ión ferroso es rápidamente oxidado a ión férrico por la bacteria y reciclado dentro del exopolímero (Cárdenas *et al.*, 2004; Mejía, 2010).

Las bacterias *A. ferrooxidans*, son capaces de regenerar el Fe^{3+} y oxidar tiosulfatos y politionatos a sulfato al mismo tiempo, mientras que *L. ferrooxidans* es capaz de oxidar Fe^{2+} , siendo más tolerante a la inhibición por Fe^{3+} , por lo que sería necesario en un proceso de biooxidación la existencia a la par de estas bacterias (Acevedo y Gentina, 2005; Cárdenas *et al.*, 2004). En la Figura 1 se muestra el mecanismo de lixiviación por contacto de las dos bacterias mencionadas.

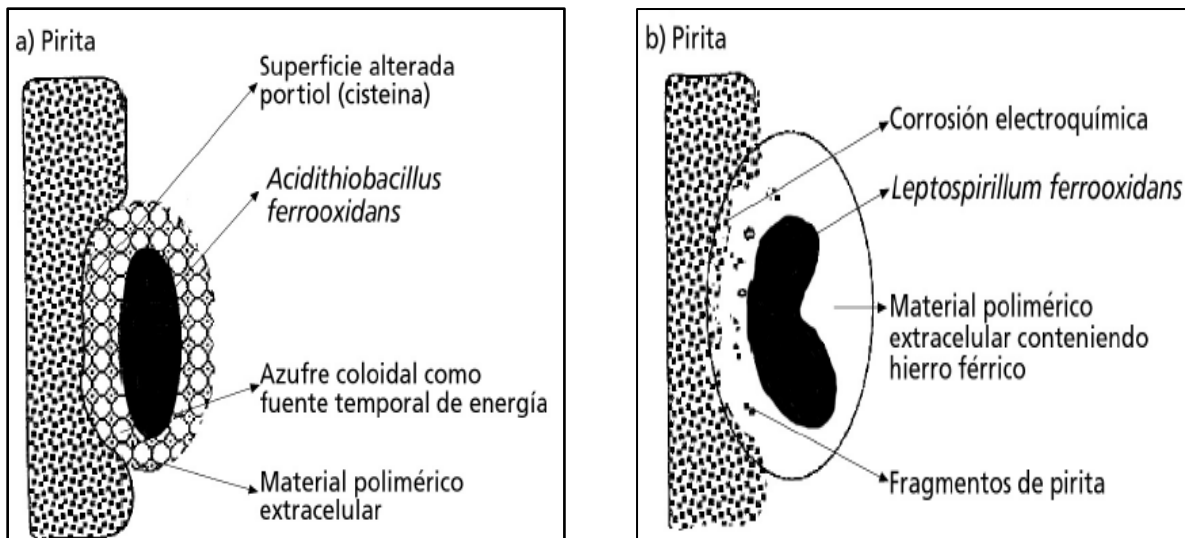


Figura 1. 1. Lixiviación por contacto durante la cual la bacteria acondiciona activamente la interfase con la pirita produciendo material polimérico extracelular como medio de reacción: a) *A. ferrooxidans* extrayendo azufre; y b) *L. ferrooxidans* despolarizando la pirita.

Fuente: Acevedo y Gentina, 2005.

1.3.3. Cinética de crecimiento bacteriano.

El crecimiento bacteriano es el incremento ordenado de todos los constituyentes celulares que conduce a un aumento de masa y por lo tanto a un aumento de número de células, para que este crecimiento se efectúe es necesario un aporte adecuado de nutrientes y de condiciones específicas (Sánchez, 2013).

La velocidad con que cambia la población bacteriana en todo momento es directamente proporcional a la densidad bacteriana, consecuentemente sigue una cinética de primer orden, según la Ec. (1) (Mazuelos, 1998):

$$\frac{dx}{dt} = ctte \cdot x = \mu \cdot x \quad (Ec. 1)$$

Despejando μ , se logra obtener la ecuación de Monod:

$$\mu = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} \quad (Ec. 2)$$

Donde:

μ : Tasa específica de crecimiento

x : Densidad bacteriana

t : Tiempo

En una cinética de crecimiento comúnmente se distinguen cuatro fases (Rossi, 1990):

- La fase de latencia o lag
- La fase exponencial
- La fase estacionaria
- La fase de declive o muerte

1.3.3.1. Cinética de crecimiento de un cultivo continuo.

Para este tipo de cultivos, el crecimiento de la población bacteriana en un reactor, se expresa por la Ec. (3).

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x - D \cdot x \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

μ : Tasa específica de crecimiento

x : Concentración bacteriana

t : Tiempo

D : Velocidad de dilución

Cuando el cultivo alcanza el estado estacionario, no existe variación en la concentración bacteriana, es decir $dx / dt = 0$, por lo tanto $\mu = D$.

En sistemas homogéneos la velocidad de dilución es la relación entre el flujo volumétrico y el volumen del reactor (F/V). Mientras que para procesos de biooxidación que tiene partículas sólidas dispersas en el líquido (medio de cultivo) existen dos velocidades de dilución, una para la fase líquida y otra para la fase sólida. En la mayoría de los casos cuando el sistema alcanza el sistema estacionario ambas velocidades de dilución llegan a ser la misma (González, 1999).

Existen dos modelos establecidos de cultivos continuos: de suspensión bacteriana y el de película bacteriana soportada. En el modelo de suspensión bacteriana utiliza uno o varios reactores de tanque agitado en continuo, donde se observa una gran influencia del tiempo medio de residencia en las conversiones alcanzadas. Mientras que en el modelo de película soportada las bacterias se encuentran inmobilizadas por adhesión a un sólido evitando su movimiento (Mazuelos, 1998).

1.4. Biooxidación en tanques agitados

La evolución y el perfeccionamiento de las prácticas de ingeniería en biominería, que relacionan el cultivo microbiano y la ingeniería del proceso, han sido importantes en la optimización y la mejora de la eficiencia de la recuperación de metales (Rawlings y Johnson, 2007).

La biooxidación de concentrados de oro refractario se ha convertido en la tecnología de elección para el tratamiento previo de estos minerales; específicamente los reactores de tanque agitado son los más utilizados a escala de laboratorio e industrial debido a las ventajas que presta, como: fácil control de variables en el proceso y la notable reducción en el tiempo en comparación con los procesos de lixiviación de escombrera y en pila. Se ha demostrado que removiendo del 40% a 50% del contenido de sulfuros puede recuperarse hasta el 90% de oro. (Alegre, 1997; Arroyave, 2008; López, 2007; Rossi, 1990).

El sistema de reacción en tanques agitados consta de tres fases: gaseosa, líquida y sólida, cada fase tiene un propósito fundamental en la biooxidación del mineral (Arroyave, 2008; González *et al.*, 2003). La fase gaseosa, suple la cantidad de oxígeno necesario para que los microorganismos oxiden los sulfuros. En la fase líquida se da el crecimiento microbiano, el enlace de las partículas sólidas con los microorganismos, descarga de iones metálicos, distribución uniforme y efectiva de los nutrientes para la oxidación bacteriana. Y por último la fase sólida que es el mineral refractario, será solubilizado (Arroyave, 2008; González *et al.*, 2003).

El uso de reactores de tanque agitado aumenta sustancialmente la eficacia y la velocidad del proceso de biooxidación ya que minimiza los gradientes en la composición, pH, potencial redox (Eh), y temperatura. Además, evita la acumulación de sólidos, debido a la vigorosa aireación y agitación con la que cuentan. Esto permite obtener una operación óptima para la transferencia de masa y calor (Arroyave, 2008; Donati, 2006; González *et al.*, 2003).

1.4.1. Sistema por lote.

En los sistemas por lote de biooxidación se trabaja con biorreactores por lote. Este tipo de reactores son utilizados en procesos de laboratorio donde se obtienen la mayor parte de los datos cinéticos para el diseño de biorreactores. Trabaja de la siguiente manera: (Cuevas, 2013; Scott, 2008) es un sistema cerrado cuya carga entra en la parte superior, luego es inoculado con los microorganismos y el proceso culmina

cuando todo el sustrato se ha consumido. El tiempo de residencia de todos los elementos del fluido es el mismo (Canales *et al.*, 2003; Cuevas; Levenspiel, 2005; Scott, 2008).

Una de las ventajas de los biorreactores por lote debido a sus características de operación es que permiten una alta conversión, ya que los reactivos (sustrato y células) pueden dejarse dentro del biorreactor por periodos prolongados hasta que se consuma el sustrato o los productos del metabolismo inhiban el proceso. Pero su desventaja es el alto costo de mano de obra por lote y la dificultad para producción a gran escala (Canales *et al.*, 2003; Scott, 2008).

1.4.2. Sistema continuo.

La modalidad de operación más utilizada en la biooxidación de minerales refractarios de oro es la de sistema continuo (González, 1999). El cual consiste en alimentar nutrientes y retirar productos continuamente de un biorreactor (Levenspiel, 2005). Debido a los grandes volúmenes de mineral a procesar, el proceso de biooxidación se realiza de mejor manera en este tipo de sistema. Generando una productividad volumétrica alta y manteniendo volúmenes de reactor bajos.

Los reactores continuos de tanque agitado (por sus siglas en inglés CSTR) se utilizan comúnmente en estos procesos industriales debido:

- Bajo ciertas condiciones el sistema alcanza el estado estacionario, es decir en el tiempo el volumen permanece constante
- Todas las variables como temperatura, presión, pH, composición, Eh, etc., son iguales en todos los puntos del interior del reactor y a la salida del mismo, puesto que no existen espacios muertos debido a la mezcla perfecta en el biorreactor (Levenspiel, 2005; Scott, 2008).

Las ventajas que se destacan en general en los sistemas continuos son: el aumento en la productividad, la homogeneidad del producto, el mantenimiento fisiológico del microorganismo, la operación en condiciones óptimas, entre otras (González, 1999).

La biooxidación de oro refractario en sistemas continuos de reactores de tanque agitado es actualmente una tecnología económicamente viable que se está aplicando a gran escala (Canales *et al.*, 2003). En los últimos años, se han implementado plantas de biooxidación a gran escala en los países como Sudáfrica, Brasil, Australia, Ghana, Perú, Australia y EE.UU., en la mayoría utilizando el proceso BIOX™,

tecnología desarrollada por GENCOR, pionera en el tratamiento de este tipo de minerales (Acevedo, 2000; Rawlings y Johnson, 2007).

1.4.3. Configuración óptima del sistema continuo.

En los reactores continuos de tanque agitado (CSTR) colocados en serie, la concentración de la mezcla reaccionante en cada reactor es uniforme, pero cambia de un reactor a otro. Es decir, los reactores son conectados en serie de tal modo que la salida de corriente de un reactor es la corriente de alimentación para otro reactor, existe un gradiente de concentración escalonado. A medida que se incrementa el número de reactores de tanque agitado, el comportamiento del sistema de reactores de mezcla perfecta se aproxima al del reactor de flujo en pistón (Scott, 2008).

En cambio cuando están colocados en paralelo, se puede tratar el sistema global como un solo reactor continuo de tanque agitado y con volumen igual al volumen total de las unidades individuales, la alimentación está distribuida de tal manera que las corrientes de fluido tienen la misma composición, por lo tanto a la salida la conversión de cada uno de los reactores será la misma (Scott, 2008).

La biooxidación de oro refractario, es un conjunto complejo de reacciones autocatalíticas. Este carácter autocatalítico está dado por el hecho de que el ión férrico (Fe^{3+}) y los microorganismos actúan como reactivos y productos (Canales *et al.*, 2003). La configuración ideal en el cual se verifica una reacción autocatalítica puede ser representada por un reactor continuo de tanque agitado (CSTR) seguido de un reactor tubular (PFR) (González, 1999; González *et al.*, 2004). Ya que la necesidad de aireación y la presencia de partículas sólidas hacen las PFR poco prácticas, su funcionamiento puede remplazarse por una serie de CSTR (Acevedo, 2000). Este tipo de configuración dará el mínimo volumen de reacción para una conversión dada (Acevedo, 2000; Canales *et al.*, 2003).

Por lo tanto, si se desea un alto grado de conversión, un solo tanque con agitación requeriría un enorme volumen, de manera que un arreglo de reactores en paralelo seguido de reactores en serie es más adecuado, siendo esta la configuración óptima para un proceso de biooxidación con un mínimo volumen de operación y consecuentemente mínimo tiempo de residencia (Acevedo, 2000; Canales *et al.*, 2003; González, 1999; González *et al.*, 2004).

1.4.4. Factores que influyen en el proceso de biooxidación en tanques agitados.

1.4.4.1. Factores físicos.

Temperatura.

La temperatura en los procesos de biooxidación de minerales refractarios tiene efecto directamente sobre el crecimiento celular, la velocidad de reacción, las interacciones electroquímicas medio-mineral, la solubilidad de nutrientes gaseosos, la formación de precipitados y algunos aspectos operacionales (Arroyave, 2008; González, 1999).

Los rangos óptimos de temperatura están determinados por la termolabilidad de las enzimas en el límite superior, y por un nivel mínimo de energía para que las reacciones ocurran a una velocidad aceptable en el límite inferior (González *et al.*, 2004), para bacterias mesófilas como *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* el rango óptimo está entre 25-35° C (González, 1999).

Tamaño de partícula.

El tamaño de partícula es un aspecto crítico que afecta la velocidad del proceso oxidativo y está inversamente relacionado con el área superficial del mineral. Las partículas de menor tamaño poseen mayor área superficial, por lo tanto existen más sitios activos para las bacterias puedan adherirse a la superficie. La velocidad de oxidación es proporcional al número de sitios activos que existen en el mineral (Alegre, 1997; Arroyave, 2008; González, 1999).

El tamaño de partícula óptimo varía entre 75µm y 150µm, un incremento en el tamaño reduce considerablemente la velocidad de oxidación de los sulfuros, mientras que tamaños de partícula inferiores a 25µm dificulta a procesos subsecuentes como cianuración debido al aumento de viscosidad (Alegre, 1997; González, 1999).

Densidad de pulpa.

En reactores de tanque agitado, la densidad de pulpa cumple un papel fundamental, existen buenos resultados a 20% de densidad de pulpa (Arroyave, 2008; Deveci, 2004). Al aumentar la concentración de sólidos para un tamaño de inóculo constante, disminuirá la relación bacteria/sólido y por consiguiente la concentración de bacterias, esto se debe al aumento de fricción entre las partículas en suspensión que se encuentran en el interior del reactor causando daño en las bacterias (Arroyave, 2008;

Deveci, 2004; González, 1999). Altas densidades de pulpa generalmente limitan la velocidad de transferencia de oxígeno requiriendo mayor tiempo de biooxidación (Arroyave, 2008; Rossi, 1990).

Aireación: oxígeno y dióxido de carbono.

El oxígeno y el dióxido de carbono son compuestos gaseosos indispensables para el crecimiento de la bacteria y la biooxidación del mineral en términos generales. Las bacterias utilizadas en procesos de biooxidación son aerobias y quimiolitotróficas por lo que el oxígeno molecular cumple la función de aceptor final de electrones durante la oxidación de las especies reducidas del hierro y azufre, y el CO₂ suple las necesidades de carbono de la bacteria, fijándolo mediante el ciclo de Calvin-Benson (Arroyave, 2008; González, 1999; Rossi, 1990).

En plantas de biooxidación de minerales refractario de oro el suministro de gases representa cerca del 30 a 40% del costo total de operación, siendo el principal contribuyente en los costos de operación por lo que es necesario durante el diseño de la planta considerar los requerimientos necesarios de oxígeno y dióxido de carbono (Alegre, 1997; González, 1999).

Suspensión de sólidos: Agitación.

En un reactor CSTR la agitación tiene el propósito de aumentar la velocidad de las operaciones de transferencia de oxígeno y de calor, mantener las partículas en suspensión y mezclado el contenido del reactor asegurando una distribución homogénea de las partículas del mineral y las bacterias en todo el volumen del reactor (Alegre, 1997; Arroyave, 2008; González *et al.*, 2003).

La suspensión de sólidos depende de la densidad de pulpa, el tamaño de partícula, el diseño del rotor así como su tamaño, número y ubicación dentro del reactor (González, 1999). La mejor alternativa para diseñar un rotor es el uso de turbinas de flujo axial de bombeo hacia arriba, ya que las corrientes generadas por este tipo de impulsor causan un menor daño a las células, son menos sensibles al aumento de velocidad de aireación y provocan una adecuada suspensión de sólidos (Arroyave, 2008; González *et al.*, 2003).

1.4.4.2. Factores químicos.

pH.

Los microorganismos involucrados en procesos de biooxidación son acidófilos, permanecen activos en rangos óptimos de pH que van desde 1.5 a 2.5. Se considera óptimo a este rango debido a que la fase de latencia es más corta, la velocidad de oxidación es más rápida y los rendimientos de extracción son altos (Alegre, 1997; Arroyave, 2008).

A un pH >2.5 el ión férrico tiene baja solubilidad, lo que puede originar la formación y precipitación de complejos de jarosita, con formula general X (Fe₃ (SO₄)₂ (OH)₆) donde X puede ser K⁺ (jarosita de potasio), Na⁺ (narojarosita), NH₄⁺ (amoniojarosita), entre otros, dificultando el acceso de la bacteria al sustrato e inhibiendo su crecimiento (Alegre, 1997; Arroyave, 2008). A valores de pH menores del óptimo se reduce la actividad bacteriana y por lo tanto se reduce la oxidación de sulfuros (González, 1999).

Potencial redox (Eh).

El potencial de óxido-reducción indica la actividad de la bacteria en el proceso de biooxidación, da información acerca de la “actividad de los electrones” en el medio, debido a que es una medida de la tendencia del medio a ser oxidado o reducido (Alegre, 1997; Arroyave, 2008; González, 1999).

La oxidación de especies sulfuradas se caracteriza por la existencia de un potencial mixto, donde se dan simultáneamente dos procesos electroquímicos fuera del equilibrio: la oxidación del sulfuro y la reducción del ión férrico (González, 1999).

El potencial de oxidación de sulfuros es característico de cada especie mineral y depende de su estructura cristalina. (González, 1999). Normalmente, la extracción de los sulfuros alcanza sus mayores velocidades cuando el Eh de la solución ácida ha superado los 400 – 450 mV (Arroyave, 2008).

1.4.4.3. Factores biológicos.

Nutrientes e inhibidores.

Las bacterias *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* presentan otros requerimientos nutricionales tales como: sulfato de amonio (fuente de N), fosfato ácido de potasio (fuente de P), sulfato de magnesio (fuente de Mg), nitrato de calcio

(fuente de Ca), cloruro de potasio (fuente de K) y sulfato ferroso (fuente de energía y nutriente limitante) (Alegre, 1997; González, 1999).

Varios componentes del medio, a determinadas concentraciones, tienen un efecto inhibitorio en la actividad bacteriana y por consiguiente en todo el proceso. Si un nutriente está presente en bajas concentraciones o es suministrado a bajas velocidades, la velocidad del crecimiento celular será más lenta (Arroyave, 2008). Otros inhibidores son productos del metabolismo celular y la solubilización del mineral, como el ión férrico, arsénico, metales pesados y compuestos orgánicos provenientes de reactivos utilizados en procesos de concentración por flotación (González, 1999).

Adherencia celular y concentración bacteriana.

La adherencia de las células al mineral ocurre de manera selectiva, está controlada por la interacción física (electrostática e hidrofóbica) y por los sitios reducidos del mineral, las células se adhieren a sitios específicos de alto contenido energético. Se ha demostrado que los polímeros extracelulares (EPS), los que contiene iones férricos, son los responsables de la adherencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a sustratos sólidos cargados negativamente (González, 1999).

La velocidad de adherencia depende de factores como el área superficial, la densidad de pulpa, la composición iónica del medio y la concentración de células suspendidas, en reactores continuos de tanque agitado, la concentración de células varía entre 10^3 a 10^9 bacterias/mL (Arroyave, 2008; González, 1999).

Por otro lado, la velocidad de crecimiento en el medio líquido está relacionada con la concentración de iones ferrosos en la solución mientras que la velocidad de crecimiento en el mineral está a expensas simultáneamente del sulfuro y de azufre elemental del sustrato sólido (González, 1999).

Tiempo de residencia de los microorganismos.

El tiempo de residencia es el tiempo promedio que los reactivos, en este caso los sulfuros presentes en el mineral refractario, y los microorganismos van a permanecer en el interior del reactor en condiciones de régimen estacionario antes de ser desechadas, y por tanto la conversión que se alcanzará en el sistema (Davis y Masten, 2005; Rawlings y Johnson, 2007; Scott, 2008).

Para el tipo de configuración utilizada en el sistema continuo, donde la primera etapa de reactores se disponen en paralelo debe existir un tiempo de residencia adecuado

para permitir el desarrollo de la población bacteriana, si el tiempo de residencia es muy corto se produciría solo un lavado de la población bacteriana. En cambio, en la segunda etapa de reactores ubicados en serie debe haber un tiempo de residencia apropiado para que se dé la mayor parte de oxidación de sulfuros y por lo tanto liberación del metal de interés (oro), si el tiempo de residencia es muy corto la tasa de oxidación de sulfuros disminuiría (Rawlings y Johnson, 2007; Rossi, 1990).

1.5. Cianuración

El proceso hidrometalúrgico comúnmente utilizado para la extracción de oro es la cianuración. Este método se basa en la disolución de oro del mineral en solución acuosa alcalina utilizando oxígeno como oxidante y sales de cianuro como agente complejante. Existen varias sales de cianuro, siendo el cianuro de sodio el más utilizado a nivel industrial (Ludeña, 2012; Nava *et al.*, 2007; Salinas *et al.*, 2004). La reacción química de disolución del oro en las soluciones cianuradas se puede representar por la Rx. (4) propuesta por Elsner en 1946 (Ludeña, 2012).



A pesar de los problemas ambientales que presenta el uso del cianuro actualmente se sigue utilizando ampliamente este tipo de lixiviación debido a su bajo costo y a su simplicidad de operación del proceso (Nava *et al.*, 2007).

Los principales factores que influyen la cianuración son:

- Alcalinidad
- Temperatura
- Concentración de Cianuro (CN)
- Cantidad de oxígeno
- Tamaño de partícula
- Densidad de pulpa

CAPÍTULO II - METODOLOGÍA

2.1. Diseño experimental

El diseño experimental que se planteó en esta investigación fue un diseño por bloques, es decir las variables independientes del estudio se fueron experimentando por separado.

En el sistema por lote se realizaron experimentos variando la altura del rotor desde el fondo del tanque (3.5 y 6.5 cm) para optimizar esta condición de operación (González, 1999), los experimentos se realizaron por duplicado para cada altura, con un total de 4 experimentos. El diseño experimental se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Diseño experimental para optimizar la altura del rotor desde el fondo del tanque en el sistema por lote de biooxidación en reactores agitados.

Pregunta de investigación	Variable independiente	Valores de la variable independiente	Variables dependientes	Valores Constantes
¿Con qué altura del rotor desde el fondo del tanque dentro del sistema por lote de biooxidación se obtiene la mejor solubilización del mineral aurífero refractario?	Altura del rotor desde el fondo del tanque en el sistema por lote de biooxidación.	3.5 y 6.5 cm	Eh, concentración de ión ferroso, concentración de ión férrico, concentración de hierro total, concentración de sulfato, concentración de proteína en el líquido, concentración de proteína adherida al mineral, concentración de proteína total, porcentaje de conversión de hierro, porcentaje de oro recuperado del proceso de cianuración.	Temperatura (30°C), pH (1.4-1.8), tamaño de partícula de 180-200 mallas, densidad de pulpa (15% p/v), velocidad de agitación 400 rpm y flujo de aireación 3 vvm.

Fuente: la autora

En el sistema continuó, se probó cada uno de los tiempos de residencia establecidos (2, 4, 6, 8 y 10 días) hasta que el sistema continuo llegó al estado estacionario (Rawlings y Johnson, 2007). El diseño experimental se muestra en la Tabla 2.2. Cada tiempo de residencia fue evaluado por duplicado, realizando 10 experimentos.

Tabla 2.2. Diseño experimental para determinar la influencia del tiempo de residencia en la solubilización de mineral aurífero refractario en el cultivo continuo de biooxidación en reactores agitados

Pregunta de investigación	Variable independiente	Valores de la variable independiente	Variables dependientes	Valores Constantes
¿Con qué tiempo de residencia dentro del sistema continuo de biooxidación se obtiene la mejor solubilización del mineral aurífero refractario?	Tiempo de residencia del mineral en el sistema continuo de biooxidación	2, 4, 6, 8 y 10 días	Eh, concentración de ión ferroso, concentración de ión férrico, concentración de hierro total, concentración de sulfato, concentración de proteína en el líquido, concentración de proteína adherida al mineral, concentración de proteína total, porcentaje de conversión de hierro, porcentaje de oro recuperado del proceso de cianuración.	Temperatura (30°C), pH (1.4-1.8), tamaño de partícula de 180-200 mallas, densidad de pulpa (15% p/v), velocidad de agitación 400 rpm, flujo de aireación 3 vvm y altura del rotor desde el fondo 3.5 cm.

Fuente: la autora

2.2. Muestreo del mineral

La muestra mineral que se utilizó para el sistema en por lote y continuo en el proceso de biooxidación, provino del distrito minero Portovelo ubicado en las coordenadas UTM:

654506, 9589381, 700, msnm. Este mineral aún es considerado de interés para nuestros propósitos ya que posee leyes de oro que pueden ser recuperadas por métodos como la biooxidación. Con la finalidad de obtener una muestra representativa del sector, se realizó el muestreo de varias relaveras, recolectando una cantidad aproximada de 100 kg de mineral. Además se concentró los sulfuros de la muestra en un concentrador FALCON con capacidad de procesamiento de 2 toneladas por hora, obteniendo 60 kg de sulfuros concentrados.

El concentrado de sulfuros fue homogenizado y cuarteado por el método de los cuatro cuadrantes, obteniendo una muestra de 2 Kg (muestra de cabeza). Esta fue utilizada para los análisis químico, mineralógico y granulométrico. El resto de mineral (58 Kg) se utilizó para los ensayos de biooxidación.

2.3. Caracterización química y mineralógica del mineral

La caracterización química del mineral se la realizó en el laboratorio de Análisis Instrumental del Departamento de Química de la UTPL. Los metales analizados fueron: oro (Au), cobre (Cu), Hierro (Fe) y Plata (Ag) (Anexo 1). Para determinar la concentración de estos metales fue necesario digerir la muestra mineral siguiendo el procedimiento del Anexo 2 y realizar la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica. Los análisis químicos se realizaron a la muestra de cabeza, al mineral biooxidado y finalmente al mineral cianurado y a la solución cianurada para realizar los balances metalúrgicos respectivos.

La caracterización mineralógica se la realizó en el Departamento de Metalurgia Extractiva (DEMEX) de la Escuela Politécnica Nacional (EPN), mediante análisis por difracción de rayos X (DRX), siendo la piritita (Fe_2S) el principal mineral de interés. El análisis mineralógico fue realizado solamente a la muestra de cabeza (Anexo 1).

2.4. Preparación de la muestra mineral

Al concentrado de sulfuros metálicos obtenido, se lo sometió a un análisis granulométrico en un vibrotamiz marca Retsch con una serie de tamices ASTM, con el fin de determinar el tamaño de partícula en la que se encontraba la muestra original, debido a que ésta estuvo por debajo del tamaño requerido (80% -200 mesh) fue necesario realizar una molienda. Las características del molino y las condiciones de la molienda se describen en el Anexo 3.

Terminada la molienda, se secó la pulpa en una estufa marca Memmert a 80°C de temperatura por 48 horas, se disgregó el mineral con la ayuda de un rodillo, y se realizó nuevamente el análisis granulométrico respectivo (Anexo 4 – Curva Granulométrica). A

continuación el material fue esterilizado en un aparato de microondas marca Panasonic durante 5 minutos mediante pulsaciones repetidas de 1 minuto cada uno.

2.4.1. Acidificación del mineral para el sistema por lote.

El mineral se acidificó con la finalidad de acondicionar la pulpa al pH óptimo (pH 1.8) en el que los microorganismos se desarrollan. La acidificación del sistema por lote se realizó directamente en los tanques de acero inoxidable de 5 litros. En los mismos se añadió el 15% p/v de sólidos, el 2% de medio de cultivo Norris 9K (Tabla 2.3) y el 2% de ión ferroso inicial utilizado como inductor ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), aforados a un volumen de 3 L. Todos estos elementos fueron mezclados vigorosamente y se reguló el pH con ácido sulfúrico concentrado a un valor constante de 1.8, durante 2 a 3 días, aproximadamente. Las mediciones se las realizaron con un pHmetro marca Hanna.

Tabla 2.3. Composición del medio Norris 9K

Compuesto	Concentración
Cloruro de potasio – KCl	5 g/L
Sulfato de Magnesio heptahidratado - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10 g/L
Fosfato de amonio - $\text{NH}_4(\text{H}_2\text{PO}_4)$	130 g/L
Ácido Sulfúrico - H_2SO_4	Hasta pH = 1.8

Fuente: La autora

2.4.2. Acidificación del mineral para el sistema continuo.

Para este sistema la acidificación del mineral se la realizó en un recipiente de 25 L. Se consideró el volumen de los cuatro reactores, el volumen de las mangueras y una alimentación estéril, por lo tanto el volumen de aforo fue de 24,21 L, los cuales contenían 15% p/v de sólidos, 2% de medio de cultivo Norris 9K (Tabla 2.3) y 2% de ión ferroso (Fe^{2+}). A continuación se reguló el pH de la mezcla con ácido sulfúrico concentrado hasta pH constante de 1.8 durante 4 a 5 días aproximadamente.

2.5. Descripción de los reactores de tanque agitado

Los reactores de tanque agitado utilizados son de acero inoxidable, constan de cuatro tanques de 5 litros de capacidad, cada uno con un orificio de rebalse a una altura de 3 litros aproximadamente. Estos tanques poseen un sistema de agitación continua que consta de un eje móvil con aspa de tres hélices conectado a un motor de 0,5 HP que hace girar el eje a distintas velocidades que van desde 300 a 900 rpm.

Adicionalmente los reactores poseen 4 deflectores ubicados a 90 grados y un sistema de aireación basado en un difusor de aire y un flujómetro que a la vez está enlazado a bombas de vacío con el que se produjo el aire necesario para llevar a cabo el proceso de biooxidación. En el Anexo 5 (Figura 5.1.) se distingue cada una de las partes de los reactores de tanque agitado.

2.6. Montaje de los reactores de tanque agitado

Para montar los reactores en sistema por lote y llevar a cabo el proceso de biooxidación fue necesario tapar el orificio de rebalse para que no exista ni entrada ni salida de la pulpa mineral. De este sistema se optimizó una de las condiciones de operación más importantes, la altura del rotor desde el fondo del tanque, y se mantuvo constante el flujo de aire (3 vvm), la agitación (400 rpm) y la temperatura (30 - 35°C).

Por otro lado para el montaje de los reactores para el sistema continuo, fue necesario interconectar los reactores para lograr la configuración requerida, la misma que consistió en dos reactores en paralelo seguido de dos reactores en serie. La pulpa se alimentó mediante una bomba peristáltica marca Cole Parmer, específica para sólidos, hacia una “ Y ” donde se dividió el flujo entre los dos reactores dispuestos en paralelo, continuando por rebalse hacia los reactores en serie, para finalmente a la salida del sistema recoger la pulpa (mineral) ya biooxidada.

Los reactores se ubicaron de forma escalonada para facilitar el rebalse y caída de la pulpa por gravedad. Además se realizó las conexiones entre el difusor- flujómetro- bomba de vacío mediante mangueras de plástico para la entrada y control del aire. En el Anexo 5 (Figura 5. 2.) se muestra la configuración de los reactores y sus diferentes conexiones. También fue necesario regular el flujo del aire (vvm), la velocidad de agitación (rpm) y la altura del rotor (cm) de acuerdo a los parámetros establecidos en el sistema por lote.

2.7. Microorganismos

Esta investigación se desarrolló empleando un consorcio bacteriano formado por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, que fueron aislados de drenaje ácidos del Distrito minero Portovelo en el año 2007 por el laboratorio de Biotecnología Microbiana y Biominería que actualmente pertenece al Departamento de Química de la UTPL.

2.7.1. Adaptación del inóculo en medio mineral.

Se realizó la adaptación del inóculo a medio mineral con el propósito de que los microorganismos poco a poco vayan ajustándose a las condiciones del medio mineral.

La adaptación se la realizó en matraces Erlenmeyers de 1000mL para el sistema en por lote y directamente en los tanques de los reactores para el sistema continuo. Se utilizó un aforo de 600mL, el cual contenía: 2% p/v de sólidos, 2% de medio de cultivo Norris 9K (Tabla 3.3), 2% de ión ferroso (Fe^{2+}), ácido sulfúrico para regular el medio a un pH de 1.8 y 60mL de inóculo microbiano, incubado a una temperatura entre 30 - 35°C, con agitación de 200 rpm y con aireación de 1 vvm.

La etapa de adaptación duró entre 4 a 5 días, hasta que las mediciones de Fe^{2+} fueron mínimas y constantes. En el apartado 2.10, se mencionan los métodos analíticos para el control del proceso de adaptación.

2.8. Biooxidación en un sistema por lote

El proceso de biooxidación en por lote inició cuando los 600mL de inóculo adaptado del matraz Erlenmeyer se mezclaron en el reactor que contenía 2400mL de pulpa acidificada con nutrientes e inductor. Las condiciones constantes de operación fueron: 3 vvm de aireación, 400 rpm de agitación y 30 - 35°C de temperatura, mientras que la condición variable fue la altura del rotor desde el fondo del tanque, trabajando con una altura de 3.5 cm y 6.5 cm.

El bioproceso duró entre 25 - 30 días dependiendo de la concentración inicial de Fe^{2+} . Durante el mismo, se controló periódicamente realizando las mediciones analíticas que se detallan en el apartado 2.10. El proceso de biooxidación concluyó cuando la concentración de Fe^{2+} permaneció constante en el tiempo, es decir que ya fue oxidado la máxima cantidad de Fe^{2+} a Fe^{3+} .

2.9. Biooxidación en un sistema continuo

Con el fin de experimentar con el tiempo de residencia en un sistema de cultivo continuo, se realizó el montaje de los reactores de acuerdo a la configuración mencionada anteriormente en el apartado 2.6.

2.9.1. Flujo de alimentación.

Se utilizó la Ec. (4) para calcular el flujo de alimentación de pulpa. Donde el volumen total se determinó tomando en cuenta la volumen efectivo del tanque más el volumen de pulpa que

está contenido dentro de las tuberías, además la alimentación de inóculo fue estéril, es decir, el inóculo se encontraba ya en los reactores. El flujo cambió para cada tiempo de residencia considerado (2, 4, 6, 8 y 10 días). En el Anexo 6 se presentan los cálculos que se realizó para determinar el flujo para cada tiempo de residencia.

$$Q = \frac{V_{total}}{\tau} \quad (Ec. 4)$$

Dónde:

- **Q**: Flujo de alimentación (L/día)
- **V_{total}**: Volumen total del sistema (L)
- **τ**: tiempo de residencia (día)

2.9.2. Calibración de la bomba peristáltica.

La calibración de la bomba peristáltica se la realizó pesando el flujo de salida en un tiempo determinado, en unidades másicas (g/día), por lo que fue necesario determinar la densidad de pulpa al 15% de sólidos y el peso específico del mineral, para comparar con los flujos volumétricos calculados (L/día).

2.9.3. Puesta en marcha del sistema continuo.

Con la pulpa acidificada, la bomba calibrada y los microorganismos adaptados en plena fase exponencial se arrancó con el cultivo de biooxidación en sistema continuo.

El recipiente de 25.00 L que contenía 21.81 L de pulpa mineral se mantenía con agitación continua (200 rpm) en un agitador orbital marca Max3000, para evitar la precipitación de los sólidos. La mezcla homogénea era bombeada hacia los reactores en paralelo, y continuaba su camino por rebalse y de forma escalonada hacia el primer y segundo reactor en serie, saliendo del sistema una pulpa (mineral) ya biooxidada. La experiencia se realizó con las condiciones de cultivo obtenidas en el sistema por lote.

El bioproceso se controló diariamente, tomando muestras de uno de los reactores en paralelo y del segundo reactor en serie, para realizar las mediciones analíticas que se detallan en el apartado 2.10. El proceso concluyó una vez que se terminó la pulpa de alimentación. El estado estacionario se verificó mediante la concentración de iones férricos y proteína total que había a la salida del sistema, además el incremento de la velocidad de dilución se logró variando proporcionalmente el flujo de alimentación.

Finalmente la pulpa biooxidada que se obtuvo de cada uno de los sistemas de operación, fue filtrada al vacío, separando el mineral y el líquido. El líquido fue desechado, mientras que

el mineral fue lavado varias veces con agua destilada para aumentar el pH del mineral, evitando el consumo excesivo de cal durante el proceso de cianuración. Posteriormente se secó el mineral a 80°C de temperatura por 48 horas, se disgregó y se pesó, quedando listo para la lixiviación con cianuro.

2.10. Mediciones analíticas

Estas determinaciones se las realizó diariamente tanto para la adaptación del inóculo y como para el sistema continuo y cada 2 o 3 días para controlar el sistema por lote.

2.10.1. Determinación de ión ferroso (Fe^{2+}) y de hierro total.

El ión ferroso y el hierro total se determinaron con el método de Muir y Andersen (1977) mientras que el ión férrico se determinó por diferencia entre estos. El procedimiento se describe en el Anexo 7.

2.10.2. Determinación de ión sulfato.

El ión sulfato se determinó por el método turbidimétrico, basado en la formación cristales uniformes de sulfato de bario en solución (González, 1999), como se detalla en el Anexo 8.

2.10.3. Determinación de proteína plantónica y proteína total.

La determinación de proteína plantónica y proteína total se la realizó mediante el método espectrofotométrico de Lowry *et al.* (1951), por diferencia entre estas se determinó la proteína en el líquido. En el Anexo 9 se indica detalladamente el procedimiento a seguir.

2.10.4. Determinación del número de bacterias.

La determinación de bacterias por mL de inóculo se realizó a través del conteo celular en cámara de Neubauer (Anexo 10). Para conocer el número de bacterias por mL fue necesario aplicar Ec. (5).

$$\frac{\# \text{bact}}{\text{mL}} = \frac{4 \cdot 10^6 \cdot FD \cdot \# \text{bact}_{\text{contadas}}}{20} \quad (\text{Ec. 5})$$

2.10.5. Determinación de pH Y Eh.

La medición de pH y Eh se la realizó con un pHmetro marca Hanna, para ambos casos.

2.11. Cianuración

La cianuración se realizó con la finalidad de recuperar y cuantificar el oro liberado mediante el proceso de biooxidación. Para este proceso se utilizó las muestras biooxidadas de los

sistemas por lote y continuo, y una celda de cianuración tipo WENCO con agitación mecánica y autoaireación.

Las condiciones de trabajo se muestran en la Tabla 3.4 y se empleó el procedimiento descrito en el Anexo 11.

Tabla 2.4. Condiciones de operación para la cianuración del mineral biooxidado en los sistemas por lote y continuo

PARÁMETRO	UNIDADES	CANTIDAD
Concentración de NaCN	g/L	1
Dilución S/L	-	½
Peso muestra	g	400 – 750
Volumen de agua	mL	800 - 1500
pH	-	10.5 – 11
Tiempo de Cianuración	h	13

Fuente: La autora

2.12. Determinación de oro

Se determinó la presencia de oro en las muestras de solución cianurada y de relave cianurado, empleando un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer. Las muestras de solución cianurada se leyeron directamente en el equipo, mientras que las de relave cianurado requirieron un tratamiento previo (Anexo 2). Finalmente, se realizaron los balances metalúrgicos respectivos.

2.13. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante un análisis ANOVA empleando el programa IBM SPSS Statistics 20, para observar la variabilidad de los datos (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Fe total, SO_4^{2-} , proteína total, proteína adherida al mineral y proteína en el líquido).

CAPÍTULO III - RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. Biooxidación en un sistema por lote

3.1.1. Análisis estadístico para la altura del rotor desde el fondo del tanque.

En el Anexo 12 se detallan los descriptivos estadísticos como la media, desviación típica, error típico, entre otras para cada variable de respuesta principales ($Q_p \text{ Fe}^{3+}$, $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$ y hierro extraído) y secundarias ($Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max}) de este sistema respecto a la altura del rotor desde el fondo del tanque (3.5cm y 6.5cm).

Inicialmente se realizó la prueba de homogeneidad de las varianzas, con el propósito de establecer las desviaciones de la normalidad de los datos, en la Tabla 3.1 se indican los resultados obtenidos para esta prueba. Las significancias (Sig.) de cada variable son superiores a $p < 0.05$, lo que indica que no existen diferencias significativas de varianzas entre sí, por lo tanto un análisis ANOVA es aplicable para este grupo de datos (Montgomery, 2004).

Tabla 3.1.- Prueba de homogeneidad de varianzas respecto a $Q_p \text{ Fe}^{3+}$, $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$, hierro extraído, $Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max} para un proceso de biooxidación por lote.

VARIABLES DE RESPUESTA	UNIDADES	ESTADÍSTICO DE LEVENE	GRADOS DE LIBERTAD 1	GRADOS DE LIBERTAD 2	SIG.
$Q_p \text{ Fe}^{3+}$	g/L día	0.701	1	4	0.450
$Q_p \text{ SO}_4^{2-}$	g/L día	0.004	1	4	0.955
hierro extraído	%	3.381	1	4	0.140
$Y_{x/\text{Fe}}$	g/g	1.949	1	4	0.235
μ_{max}	días ⁻¹	0.000	1	4	0.987

Fuente: Programa estadístico IBM SPSS Statistics 20

Las hipótesis planteadas para el análisis ANOVA de un factor fueron:

H0: La altura del rotor desde el fondo del tanque no influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema por lote.

H1: La altura del rotor desde el fondo del tanque influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema por lote.

Este análisis se aplicó con la finalidad de comparar la variabilidad de la media que hay entre los dos grupos (alturas del rotor de 3.5cm y 6.5cm), así como la que existe dentro de cada grupo (repeticiones). En la Tabla 3.2 se muestran los resultados revelados por el programa SPSS, esta tabla ofrece la suma de cuadrados, los grados de libertad, la media cuadrática y

el estadístico Fisher-Snedecor con su nivel de significancia. Al ser los niveles de significancia menores a $p < 0.05$ para las variables principales ($Q_p \text{ Fe}^{3+}$, $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$ y el % de hierro extraído), la hipótesis nula se rechaza, es decir que la altura del rotor si influye en la solubilización del mineral refractario.

Tabla 3.2.- ANOVA de un factor (altura del rotor: 3.5 y 6.5cm) respecto a $Q_p \text{ Fe}^{3+}$, $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$, hierro extraído, $Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max} para un proceso de biooxidación por lote.

VARIABLES DE RESPUESTA	UNIDADES	TIPO DE GRUPO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	F	SIG.
$Q_p \text{ Fe}^{3+}$	g/L día	Inter-grupos	0.148	1	0.148	9.947	0.034
		Intra-grupos	0.059	4	0.015		
		Total	0.207	5			
$Q_p \text{ SO}_4^{2-}$	g/L día	Inter-grupos	0.208	1	0.208	17.131	0.014
		Intra-grupos	0.049	4	0.012		
		Total	0.257	5			
hierro extraído	%	Inter-grupos	67.509	1	67.509	83.664	0.001
		Intra-grupos	3.228	4	0.807		
		Total	70.737	5			
$Y_{x/\text{Fe}}$	g/g	Inter-grupos	0.002	1	0.002	4.093	0.113
		Intra-grupos	0.002	4	0.001		
		Total	0.004	5			
μ_{max}	días ⁻¹	Inter-grupos	0.005	1	0.005	0.608	0.479
		Intra-grupos	0.030	4	0.008		
		Total	0.035	5			

Fuente: Programa estadístico IBM SPSS Statistics 20

Para las variables de respuesta secundarias ($Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max}), la significancia es mayor a 0.05 por lo tanto no existe diferencia significativa, indicando que la altura del rotor no influye sobre el rendimiento ($Y_{x/\text{Fe}}$) y la velocidad de crecimiento (μ_{max}) de los microorganismos.

Finalmente para determinar que altura del rotor fue la mejor en el proceso, se realizó un análisis de comparación de medias. En la Figura 3.1 se muestran las gráficas de las diferentes variables de respuesta respecto a las alturas del rotor evaluadas, se distingue que los picos mayores estuvieron a una altura de 3.5cm, por lo tanto la mejor solubilización se da a una altura de rotor desde el fondo del tanque a 3.5cm. Adicionalmente a pesar de que estadísticamente no hay diferencia en las variables secundarias ($Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max}), en la comparación de media se muestra que existe un mayor crecimiento microbiano a una altura de 3.5cm.

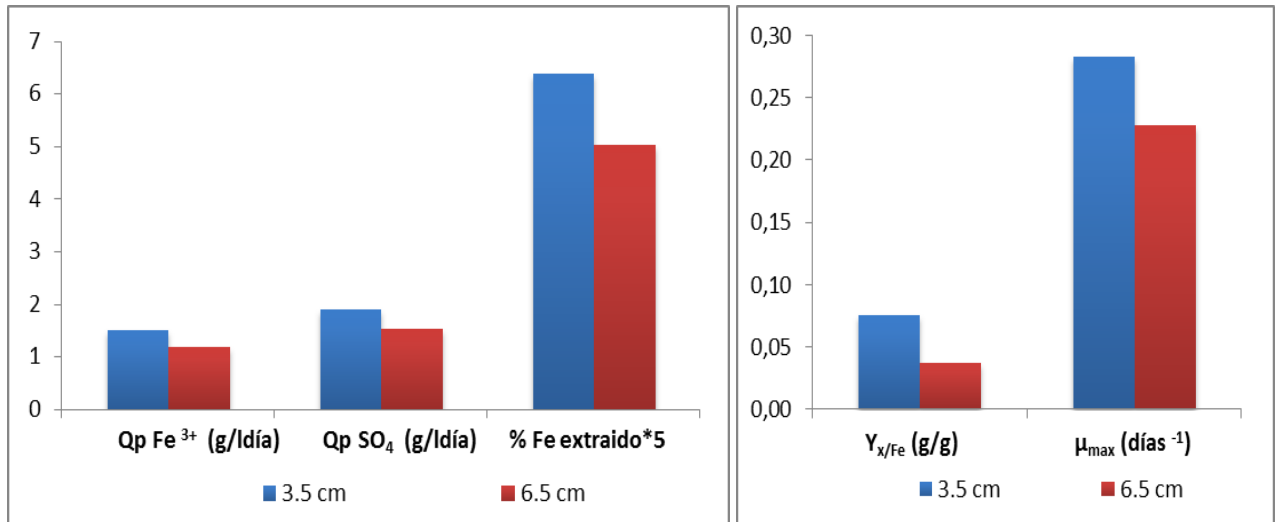


Figura 3.1. Comparación de medias de las variables de respuesta ($Q_p \text{ Fe}^{3+}$, $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$, % de hierro extraído, $Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max}) Vs la altura del rotor (3.5cm y 6.5cm) para la solubilización de un mineral aurífero refractario en un sistema por lote.

Fuente: Autora

De acuerdo a la velocidad de agitación y flujo de aire establecidas, podemos decir que la solubilización del mineral se da de mejor manera bajo las siguientes condiciones:

- Velocidad de agitación: 400 rpm
- Flujo de aire: 3vvm
- Altura del rotor desde el fondo del tanque: 3.5 cm

Esto se debe a que existe una mejor suspensión de sólidos en el interior del reactor a 3.5cm de altura del rotor, ya que al alejar el rotor del fondo se dificulta el levantamiento de sólidos, por las características físicas del mineral, especialmente por el peso específico del mismo (2.5), sin embargo al acercarse el rotor al fondo se disminuye la zona de bombeo o el empuje de los sólidos a una mayor altura en el reactor, este fenómeno se ve compensando con el flujo de aire (3vvm) inyectado, que tiene un efecto positivo en la suspensión de sólidos, para velocidades de agitación bajas (400rpm) y cuando el rotor está cerca del fondo del tanque como es este caso, debido a que la corriente de aire ascendente arrastra cierta cantidad de sólidos, ayudando al mezclado de sólidos en el fondo del tanque (González, 1999).

Por lo tanto al existir mayor homogeneidad en el reactor, se disminuye la acumulación de sólidos, por lo que los microorganismos tienen más disponibilidad de sustrato, en consecuencia se da una mejor crecimiento microbiano y solubilización del mineral (González *et al.*, 2003).

Los mejores resultados se obtuvieron a una altura de rotor de 3.5 cm, (Figura 3.1.) se alcanzó un $Q_p \text{ Fe}^{3+}$ de 1.489 g/l día, $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$ de 1.884 g/l día y un porcentaje de hierro extraído de 31.87%, el escalamiento permitió tener mejores rendimientos a los obtenidos en matraces por Gordillo *et al.*(2009), en el cual utilizaron condiciones similares de densidad de pulpa, tamaño de partícula y concentración de inóculo, lo cual permite deducir que la velocidad de agitación, flujo de aire y altura del rotor son las adecuadas y favorecen la solubilización del mineral. Además los valores alcanzados de $Y_{x/\text{Fe}}$ fue de 0.0751 g biomasa / g sustrato y de μ_{max} fue de 0.318 días⁻¹.

3.1.2. Caracterización de la cinética de crecimiento microbiano.

La caracterización de la cinética de crecimiento se realizó en reactores de tanque agitado, manteniendo constantes las variables de operación como velocidad de agitación (400rpm) y flujo de aire (3vvm) mientras que la variable modificada fue la altura del rotor desde el fondo del tanque, trabajando con 3.5cm y 6.5cm.

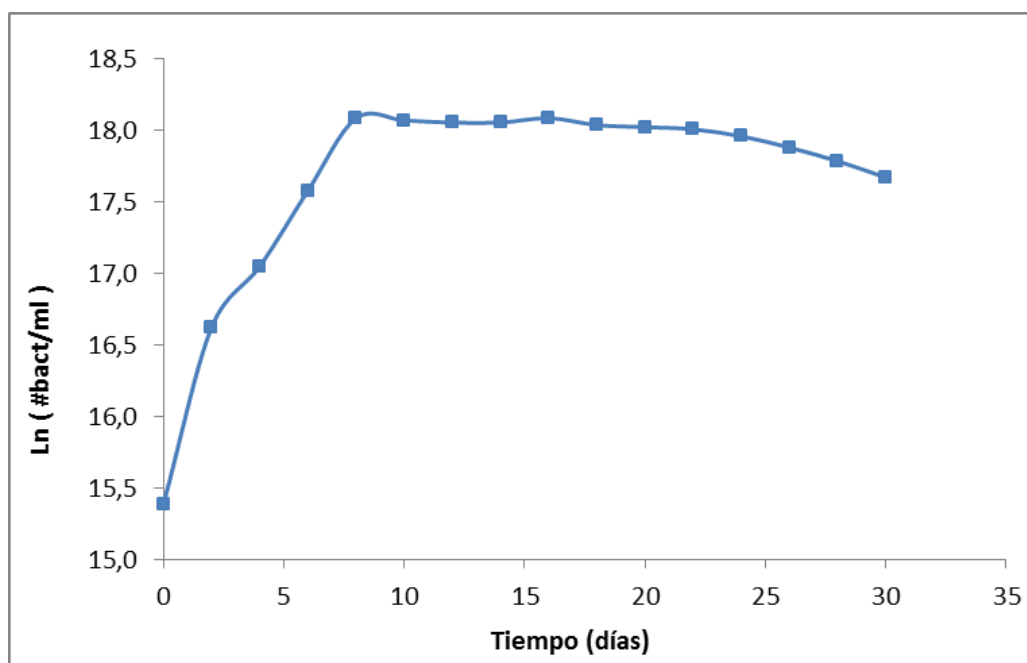


Figura 3.2. Cinética de crecimiento del consorcio de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a 3.5cm de altura del rotor desde el fondo del tanque en un sistema por lote.

Fuente: Autora

En la Figura 3.2 y 3.3 se observa la cinética de crecimiento celular del consorcio de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, en ellas se pueden distinguir las diferentes etapas características del crecimiento bacteriano en cultivo por lote. No se distingue la etapa de latencia, por lo que el desarrollo exponencial es inmediato hasta los 8

días, a partir esto tiende a mantenerse constante y a estabilizarse hasta los 22 días aproximadamente (etapa estacionaria), y culmina con la etapa de declive, donde los microorganismos van disminuyendo paulatinamente.

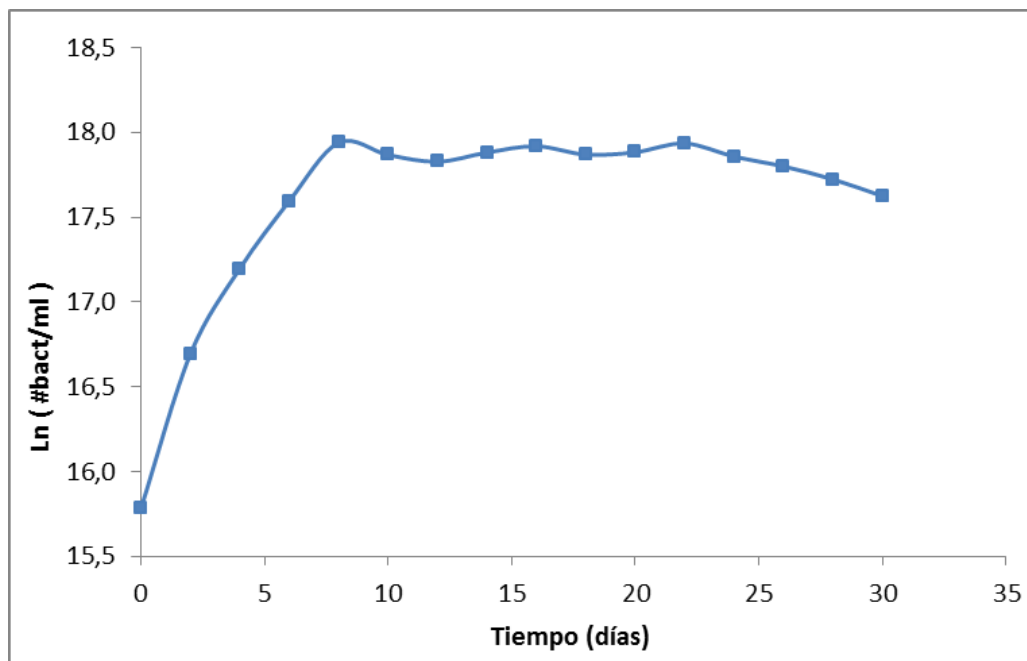


Figura 3.3. Cinética de crecimiento del consorcio de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a 6.5cm de altura del rotor desde el fondo del tanque en un sistema por lote.

Fuente: Autora

Las cinéticas realizadas por Arroyave (2008) indican que los microorganismos sin previa adaptación al mineral presentan una fase lag de alrededor 10 o 20 días para un porcentaje de pulpa de 5 y 10%, respectivamente, mientras que el microorganismo adaptado no presenta fase lag para un porcentaje de pulpa de 5%. Comparando los resultados a 15% de pulpa de este trabajo, de igual manera no existe etapa lag debido a que se utilizó microorganismos previamente adaptados al mineral.

Tanto en la Figura 3.2 y 3.3 se dan patrones similares que coinciden con las cinéticas de crecimiento bacteriano en cultivo por lote realizadas por Chandraprabha *et al.* (2002) y Arroyave (2008), sin embargo se diferencian entre sí, puesto que a 3.5cm de altura del rotor se da un mejor crecimiento microbiano que a una altura de 6.5 cm, por ejemplo a los 10 días de operación se tuvo que a 3.5cm la concentración de #bact/ml fue de $7(10)^7$ mientras que a una altura de rotor de 6.5cm fue de $5.7(10)^7$ #bact/ml.

En la Figura 3.4 y 3.5 se puede observar la velocidad máxima de crecimiento microbiano - μ_{max} (días⁻¹), donde se puede evidenciar que el μ_{max} obtenido fue de 0.318 días⁻¹ para una

altura de rotor de 3.5cm, mientras que se obtuvo una velocidad de crecimiento de 0.2608 días⁻¹ para 6.5cm. González *et al.* (2004) determinaron que la velocidad específica de crecimiento es de 0.327 días⁻¹, operando con una densidad de pulpa del 6%, siendo esta similar a la obtenida en esta investigación a 3.5cm de altura del rotor y con una densidad de pulpa del 15%.

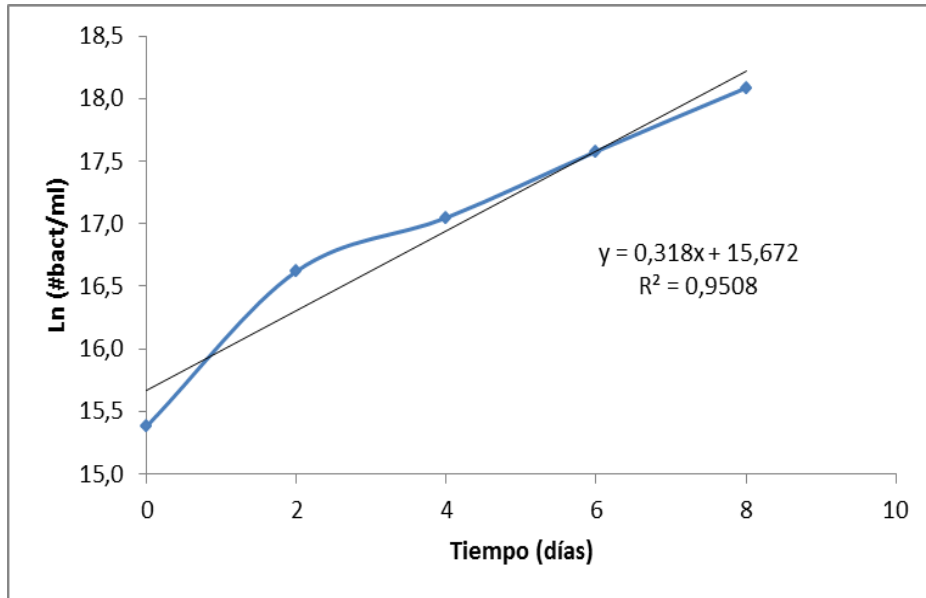


Figura 3.4. Velocidad de crecimiento del consorcio de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a 3.5cm de altura del rotor desde el fondo del tanque en un sistema por lote.

Fuente: Autora

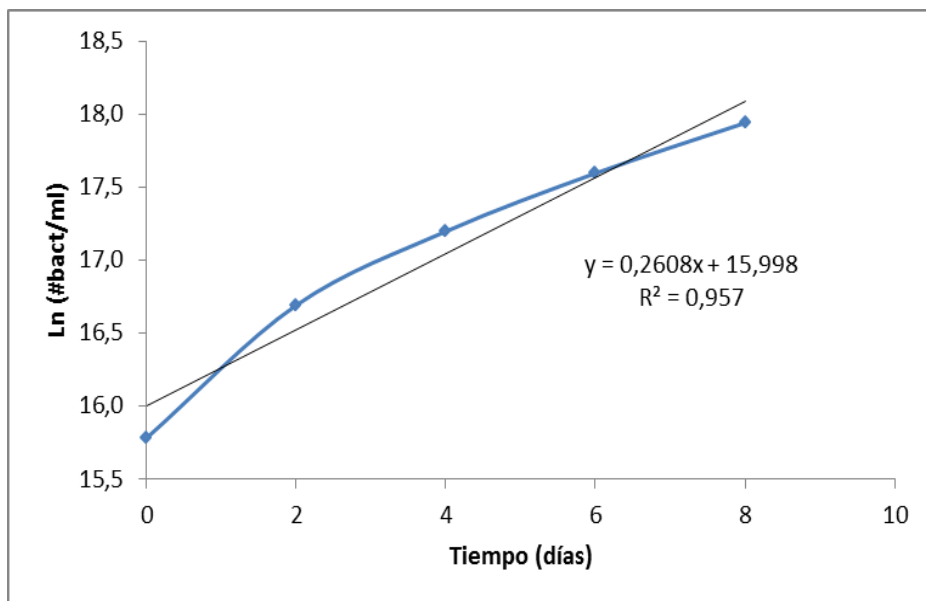


Figura 3.5. Velocidad de crecimiento del consorcio de *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a 6.5cm de altura del rotor desde el fondo del tanque en un sistema por lote.

Fuente: Autora

3.1.3. Caracterización de la solubilización del mineral aurífero refractario

En la Figura 3.6 y 3.7 se detalla la solubilización de hierro y producción de sulfatos para una altura del rotor de 3.5cm y 6.5cm, respectivamente. Ambas figuras tienen la misma tendencia, es decir se observa que la concentración de Fe^{3+} aumenta en el tiempo, mientras que el Fe^{2+} disminuye; puesto que el principal mecanismo catalítico de las bacterias consiste en la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} , como resultado se da la liberación de sulfatos por la ruptura de la estructura cristalina del sulfuro, en el caso de la pirita por cada molécula de FeS_2 atacada, se da la formación de dos moléculas de sulfato (Acevedo y Gentina, 2005). La mayor oxidación biológica de Fe^{2+} a Fe^{3+} se da en un periodo corto, esto se debe al grado de adaptación de los microorganismos y a la concentración de inductor utilizado (2g/l), el mismo que favoreció el proceso oxidativo, este fenómeno también fue afirmado por estudios de Aguirre *et al.* (2013), en donde evaluaron el proceso de biooxidación sin y con inductor a diferentes concentraciones, determinando que 2g/l era concentración adecuada.

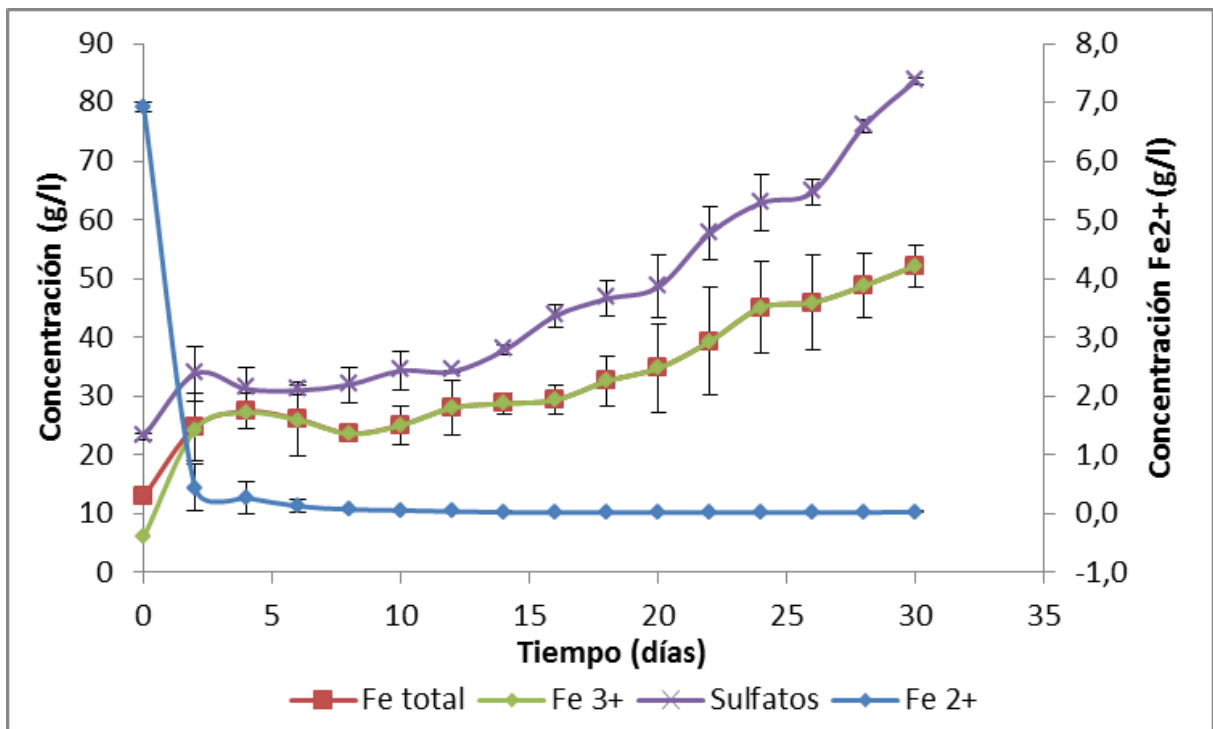


Figura 3.6. Solubilización del mineral aurífero refractario a 3.5cm de altura del rotor desde el fondo del tanque en un sistema por lote.

Fuente: Autora

De acuerdo a las Figuras 3.6 y 3.7, se pudo definir la máxima concentración hierro total presente en solución, obteniendo una concentración de 52.23 g/l para una altura de rotor de 3.5cm y de 39.92 g/l para 6.5cm, en un tiempo de 30 días y operando a un 15% p/v de

densidad de pulpa. Se determinó únicamente el hierro total en solución y no el precipitado en forma de jarositas. Estudios similares en sistema por lote realizados por Groza *et al.* (2008) reportan concentraciones de hierro total en solución de 13.09 g/l en 10 días de biooxidación, operando con el 9% de densidad de pulpa; a diferencia de este estudio el proceso tuvo una duración mayor, lo cual justifica el contraste en la concentración obtenida.

Al mismo tiempo en la Figura 3.6 y 3.7 se observa que la concentración máxima obtenida de sulfatos fue de 83.69 g/l y 67.80 g/l para 3.5cm y 6.5 cm de altura del rotor respectivamente, sin embargo los resultados obtenidos por Arroyave (2008) a condiciones de operación similares indican que la concentración de sulfatos producida en 10 días es de 59.92 g/l, siendo una concentración alta respecto a los días del tratamiento, esto se debe a que el consorcio microbiano utilizado está formado por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, y específicamente los *A. thiooxidans* son grandes generadores de sulfatos, por lo tanto se explica que las concentraciones de sulfatos producidas son menores en este estudio.

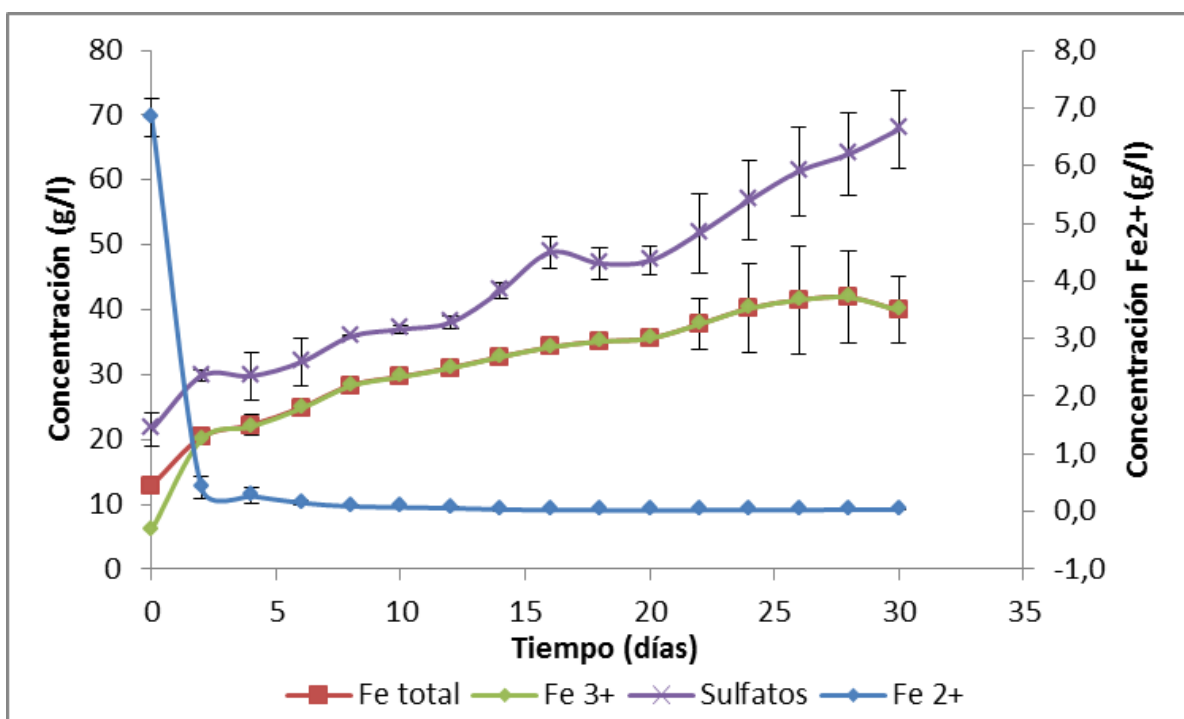


Figura 3.7. Solubilización del mineral aurífero refractario a 6.5cm de altura del rotor desde el fondo del tanque en un sistema por lote.

Fuente: Autora

Comparando entre sí a la Figuras 3.6 y 3.7 se evidencia que se da una mejor solubilización del mineral a 3.5cm altura del rotor debido a que las concentraciones de hierro y sulfato producidas son mayores.

3.1.4. Análisis del pH y el potencial redox (Eh).

En cada ensayo, se observó una disminución continua del pH y aumento del potencial de redox (Eh) como se muestra en la Figura 3.8., esto fue provocado por la oxidación de Fe^{2+} mediada por la acción de los microorganismos acidófilos (Meruane y Vargas, 2003). El valor inicial de pH fue de 1.8; durante los primeros días del proceso existió un aumento en el mismo, debido a que en este periodo existe una acción buffer de los exopolisacáridos celulares en la superficie del mineral, a partir de ahí se dio la disminución a un valor de 1.39 en ambos casos, interpretado como una producción de bacteriana de ácido sulfúrico a partir del azufre contenido en el mineral y por hidrólisis de Fe^{3+} en solución acuosa (Muñoz *et al.*, 2003).

A la par el potencial redox (Eh) incrementa en el tiempo a medida que el mineral se va oxidando, lo cual provoca el aumento de la relación Fe^{3+}/Fe^{2+} en solución (Meruane y Vargas, 2003), el Eh máximo obtenido fue de 320mV para ambos casos aproximadamente, resultados análogos a los obtenidos por Díaz (2012), ya que obtuvieron un Eh máximo de 308mV en un 15% de densidad de pulpa y 10% de inóculo. Algunos estudios indican valores de potencial redox mayores, debido a que este se ve influenciado directamente por la cantidad de inóculo y la variedad de microorganismos existentes en el mismo, lo que produce un descenso en el pH y por consecuencia un aumento de Eh (Tsaplina *et al.*, 2012).

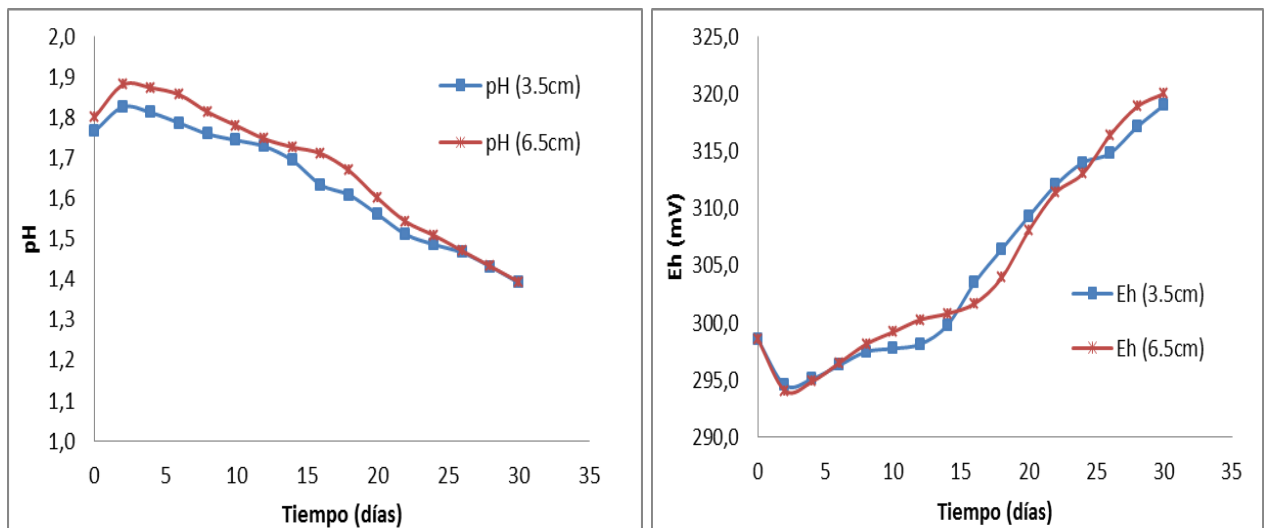


Figura 3.8. Variación de pH y Eh durante la biooxidación en un sistema por lote a 3.5cm y 6.5 cm de altura del rotor

Fuente: Autora

3.2. Biooxidación en un sistema continuo

3.2.1. Análisis estadístico para el tiempo de residencia.

En el Anexo 13 se detallan los descriptivos estadísticos como la media, desviación típica, error típico, entre otras para cada variable de respuesta principales (Qp Fe³⁺, Qp SO₄²⁻ y hierro extraído) de sistema continuo respecto al tiempo de residencia (2, 4, 6, 8 y 10 días).

Tabla 3.3. Prueba de homogeneidad de varianzas respecto a Qp Fe³⁺, Qp SO₄²⁻ y hierro extraído para un proceso de biooxidación en continuo.

Variabes de respuesta	Unidades	Estadístico de Levene	Grados de libertad 1	Grados de libertad 2	Sig.
Qp Fe ³⁺	g/L día	1.598	4	10	0.249
Qp SO ₄ ²⁻	g/L día	2.193	4	10	0.143
hierro extraído	%	1.395	4	10	0.304

Fuente: Programa estadístico IBM SPSS Statistics 20

La Tabla 3.3 muestra los resultados obtenidos de la prueba de homogeneidad. Las significancias de cada variable son mayores a p<0.05, lo que revela que no existen diferencias significativas de varianzas entre sí.

Tabla 3.4. ANOVA de un factor (tiempo de residencia: 2, 4, 6, 8 y 10 días) respecto a Qp Fe³⁺, Qp SO₄²⁻ y hierro extraído para un proceso de biooxidación continuo.

Variabes de respuesta	Unidades	Tipo de grupo	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Qp Fe ³⁺	g/L día	Inter-grupos	4.060	4	1.015	20.39	0.00
		Intra-grupos	0.498	10	0.050		
		Total	4.558	14			
Qp SO ₄ ²⁻	g/L día	Inter-grupos	3.666	4	0.917	16.77	0.00
		Intra-grupos	0.546	10	0.055		
		Total	4.212	14			
hierro extraído	%	Inter-grupos	2526.961	4	631.740	1048.84	0.00
		Intra-grupos	6.023	10	0.602		
		Total	2532.984	14			

Fuente: Programa estadístico IBM SPSS Statistics 20

Las hipótesis planteadas en sistema continuo para el análisis ANOVA de un factor fueron:

H0: El tiempo de residencia no influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema continuo.

H1: El tiempo de residencia influye sobre la solubilización del mineral aurífero refractario en el proceso de biooxidación en un sistema continuo.

El análisis ANOVA se empleó para comparar la variabilidad de las medias que hay entre los cinco grupos (tiempo de residencia: 2, 4, 6, 8 y 10 días) y la que existe dentro de cada grupo (repeticiones). Los resultados de la Tabla 3.4 muestran que los niveles de significancia fueron menores a 0.05, es decir que el tiempo de residencia si influye en la solubilización del mineral aurífero refractario.

Por último se realizó un análisis de comparación de medias para determinar el mejor tiempo de residencia (Montgomery, 2004). En la Figura 3.9 se observan las variables de respuesta respecto a los tiempos de residencia evaluados, se distingue que las barras más altas estuvieron a un tiempo de residencia de 6 días para $Q_p \text{Fe}^{3+}$ y $Q_p \text{SO}_4^{2-}$. Por lo tanto la mejor solubilización se dio en un tiempo de residencia de 6 días.

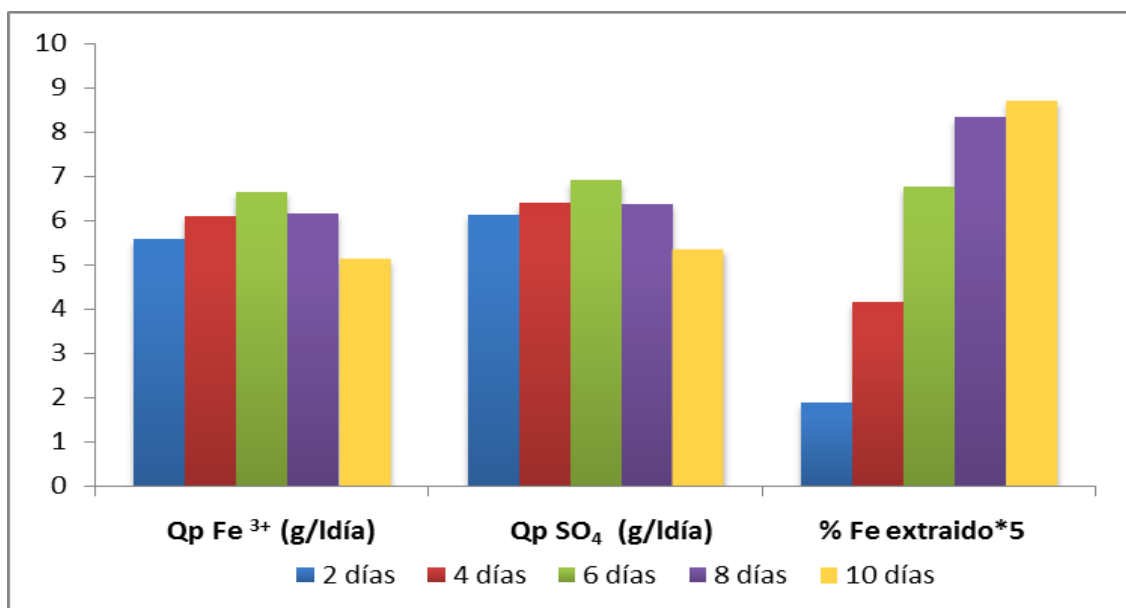


Figura 3.9. Comparación de medias de las variables de respuesta ($Q_p \text{Fe}^{3+}$, $Q_p \text{SO}_4^{2-}$, % de hierro extraído) Vs el tiempo de residencia para la solubilización de un mineral aurífero refractario.

Fuente: Autora

Cabe recalcar que el mayor porcentaje de hierro extraído se obtuvo a los 10 días sin embargo no se tomó en cuenta al determinar el tiempo de residencia adecuado debido a que esta variable aumenta proporcionalmente en el tiempo, ya que el porcentaje de hierro

extraído hace referencia a la cantidad de hierro solubilizado respecto al hierro inicial del proceso.

En la planta BIOX de Tamboraque – Perú el tiempo de residencia utilizado es de 5 días (Acevedo y Gentina, 2005), mientras que Rawlings y Johnson, 2007 indican que en la planta BIOX de Fairview – Sudáfrica el tiempo de residencia con el que operaban en un inicio fue de 7 días, pero en un periodo de 3 años se redujo a 4 días, debido a que los microorganismos se fueron adaptando mejor a las condiciones del mineral. La naturaleza de las adaptaciones que permiten un crecimiento más eficiente y una reducción en el tiempo de residencia no se conoce. Esta adaptación es probable que sea a dos niveles: el enriquecimiento de ciertos tipos de microorganismos capaces de un crecimiento eficiente en los tanques seguido por mutaciones que mejoran aún más esta eficiencia. Los resultados en este estudio muestran que se da una mejor solubilización del mineral aurífero refractario en un tiempo de residencia de 6 días, siendo un tiempo intermedio a los examinados en las referencias bibliográficas.

3.2.2. Solubilización del mineral aurífero refractario en sistema continuo.

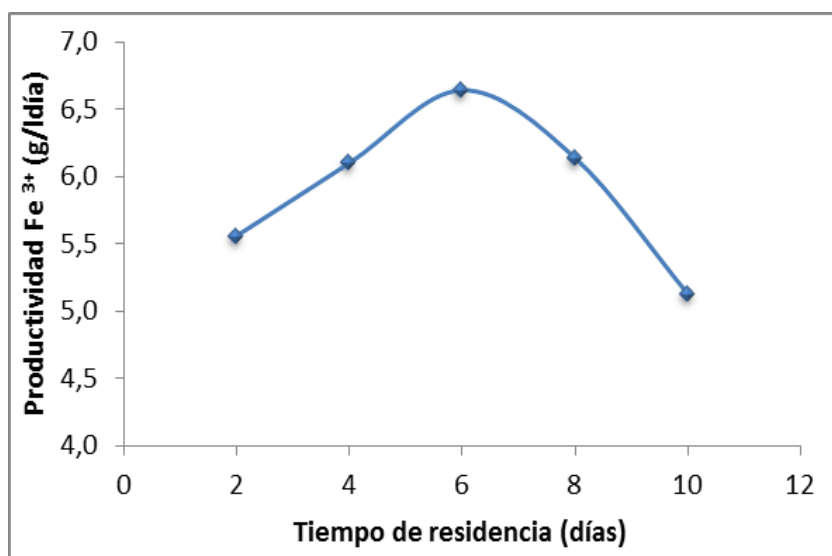


Figura 3.10. Productividad volumétrica de ión férrico ($Q_p \text{Fe}^{3+}$) para cada tiempo de residencia evaluado en el sistema continuo.

Fuente: Autora.

En la Figura 3.10 y 3.11 se indican la productividad volumétrica de ión férrico ($Q_p \text{Fe}^{3+}$) e ión sulfato ($Q_p \text{SO}_4^{2-}$) por cada tiempo de residencia, se observa que existe una concentración alta ión férrico y de ión sulfato a los 6 días de llevado a cabo el proceso, los valores obtenidos fueron para $Q_p \text{Fe}^{3+}$ de 6.641 g/l día y $Q_p \text{SO}_4^{2-}$ de 6.893 g/l día, resultado

análogo al obtenido por Canales *et al.* (2003) en el cual las más altas productividades se generaron a un tiempo de residencia de 5.5 días con valores de 1.36 y 2.27 g/l día para $Q_p \text{Fe}^{3+}$ y $Q_p \text{SO}_4^{2-}$, respectivamente operando en tanques de 6 litros.

Según Rawlings *et al.* (1999) la población dominante en un sistema continuo de biooxidación son *Leptospirillum ferrooxidans*, esto se debe a que este tipo de microorganismos tienen una mayor afinidad por el hierro ferroso y son menos sensibles a la inhibición por el hierro férrico en prolongada aireación, por lo tanto al ser esta la población dominante se justifica los niveles bajos de productividad de sulfatos obtenida en este trabajo, ya que el único mecanismo de las *Leptospirillum ferrooxidans* es oxidar el Fe^{2+} a Fe^{3+} , consecuentemente se deduce que los sulfatos producidos fueron por la acción de las *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

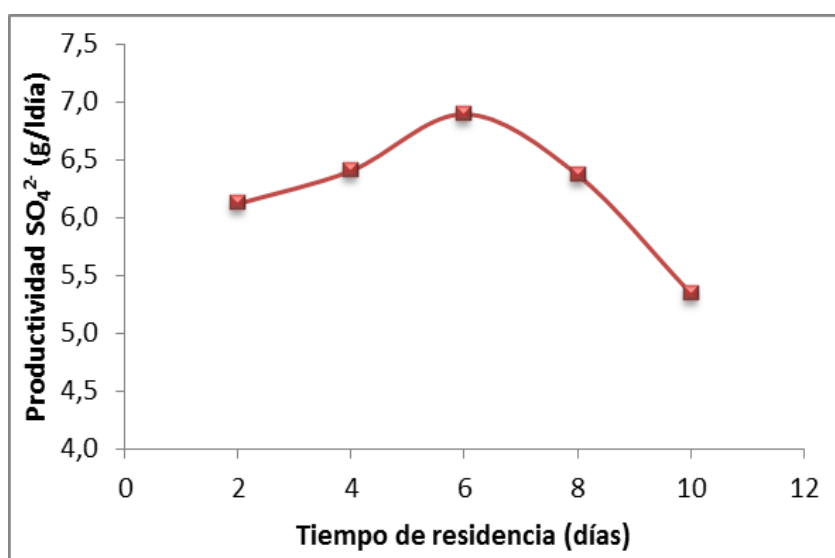


Figura 3.11. Productividad volumétrica de ión sulfato ($Q_p \text{SO}_4^{2-}$) para cada tiempo de residencia evaluado en el sistema continuo

Fuente: Autora.

En la Figura 3.12 se describe los resultados obtenidos para el hierro extraído o solubilizado en cada tiempo de residencia que experimentó, en ésta se evidencia que el porcentaje de hierro extraído aumenta a medida que el tiempo de residencia se extiende, debido al reciclo del hierro que los microorganismos desarrollan para poder completar su ciclo metabólico. En los estudios realizados por Canales *et al.* (2003) indican que la mayor producción de hierro soluble en porcentaje se dio en un tiempo de residencia de 10 días, con una producción del 50% aproximadamente, siendo estos resultados cercanos a los obtenidos en este trabajo, 43.53% de hierro extraído en un tiempo de residencia de 10 días.

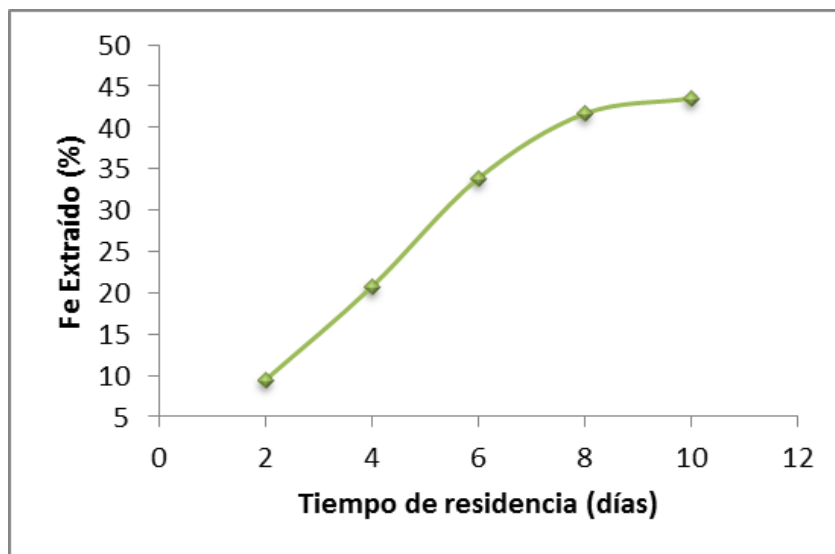


Figura 3.12. Porcentaje de Hierro extraído para cada tiempo de residencia evaluado en el sistema continuo

Fuente: Autora.

En la Figura 3.13 se muestra el rendimiento de biomasa en ión ferroso, es decir el crecimiento celular a partir del sustrato consumido, se observa que el mayor rendimiento producido es a los 8 días obteniendo un rendimiento de 0.0623 g/g, esto se debe a que en este tiempo de residencia existió un mayor crecimiento celular. Los rendimientos obtenidos por González (1999) en reactores de tanque agitado operando a un 18% de pulpa muestran valores análogos ya que obtuvo un rendimiento de 0.0702 g/g a los 8 días.

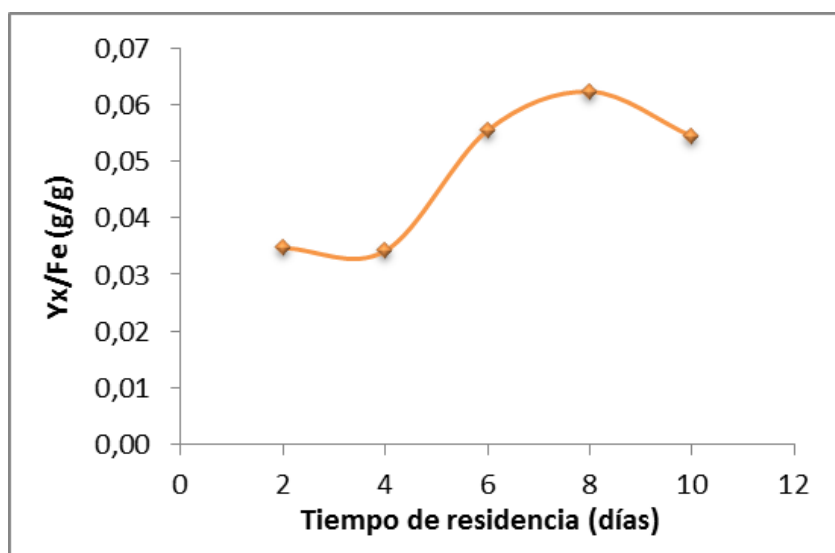


Figura 3.13. Rendimiento aparente asociado al crecimiento celular en el sustrato para cada tiempo de residencia evaluado en el sistema continuo.

Fuente: Autora.

3.3. Cianuración del mineral aurífero refractario

3.3.1. Caracterización de la cinética de cianuración.

La cinética de cianuración se realizó con la finalidad de conocer el tiempo apropiado para cianurar el mineral y así obtener la máxima recuperación de oro. Este tipo de cinéticas son propias de cada mineral, es decir tiene un comportamiento específico de recuperación en el tiempo para cada mineral que se somete al proceso de cianuración (Syed, 2012). En la Figura 3.14 se observa la cinética de cianuración del mineral Portovelo, en ella se muestra que hay una recuperación ascendente hasta las 11 horas, a partir de las 12 horas se distingue que la recuperación permanece constante, por lo que no fue necesario alargar más el proceso. A partir de esta cinética se estableció un tiempo de 13 horas de cianuración para cada una de las muestras biooxidadas.

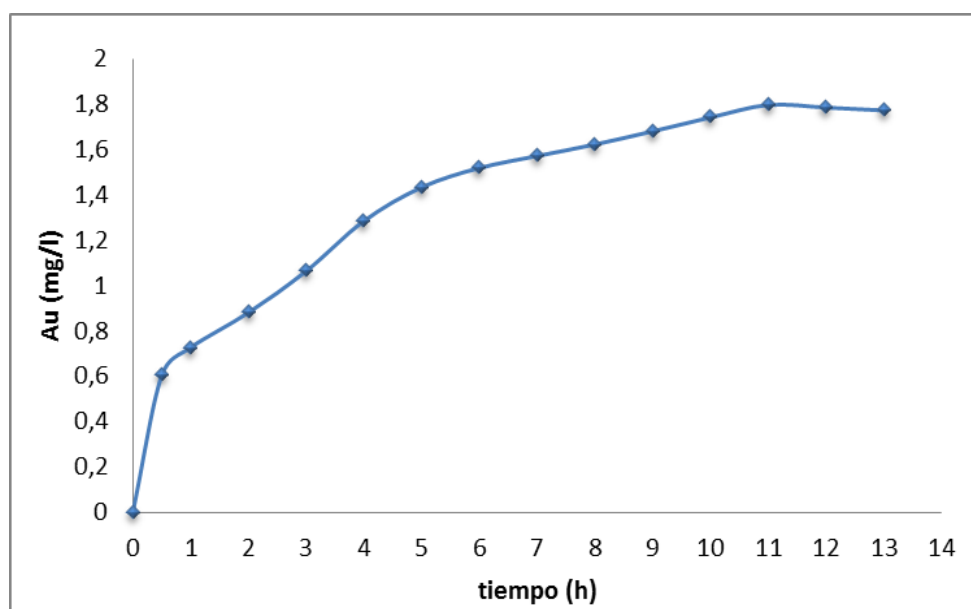


Figura 3.14. Cinética de cianuración del mineral Portovelo.

Fuente: Autora.

3.3.2. Recuperación de oro a partir del proceso de biooxidación en sistema por lote y continuo.

Finalmente se evaluó la recuperación de oro a partir del pretratamiento oxidativo, en la Figura 3.15 se muestra el oro obtenido en el sistema por lote en función de altura de rotor, se comprueba que el mayor porcentaje de recuperación de oro se dio a una altura de rotor de 3.5cm, alcanzando un 60% aproximadamente, mientras que en la Figura 3.16 se indica

el oro obtenido en el sistema continuo en función al tiempo de residencia evaluado, la mayor recuperación de oro se dio en un tiempo de 6 días, obteniendo un 17%.

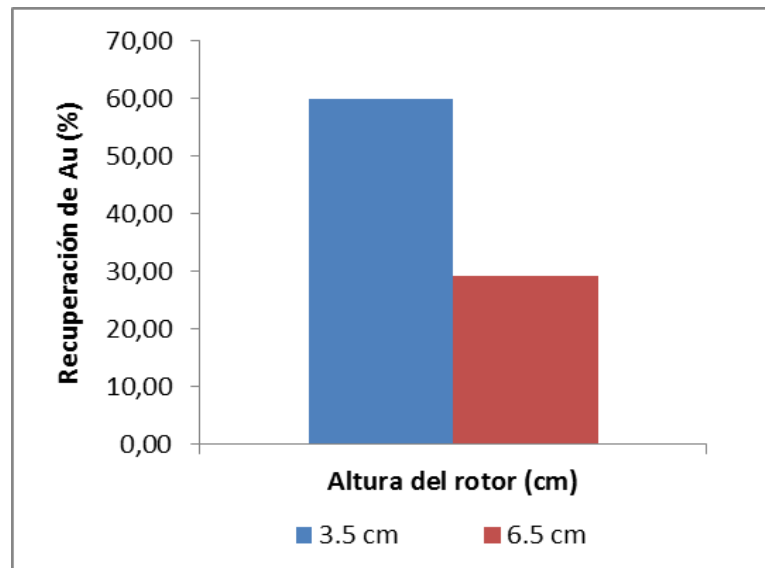


Figura 3.15. Porcentaje de recuperación de oro para cada altura del rotor desde el fondo del tanque en el sistema por lote.

Fuente: Autora.

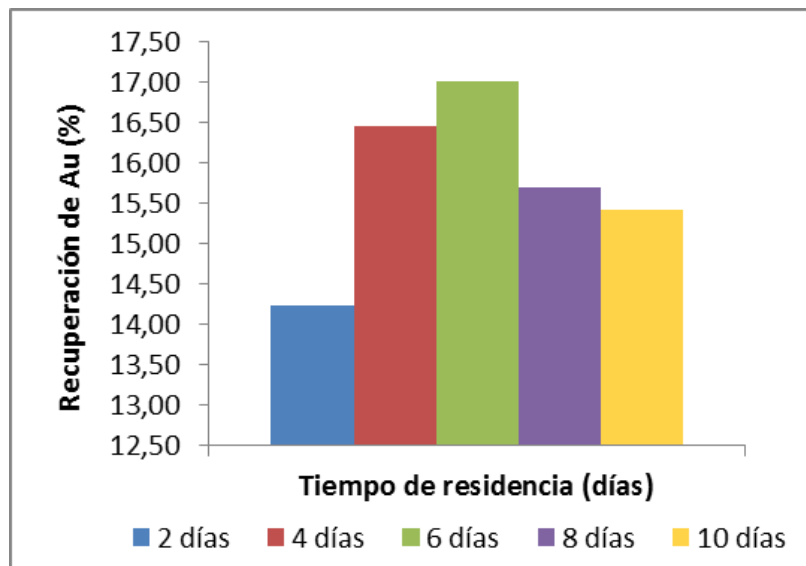


Figura 3.16. Porcentaje de recuperación de oro para para cada tiempo de residencia evaluado en el sistema continuo.

Fuente: Autora.

Las mayores recuperaciones obtenidas están relacionadas con el nivel de solubilización del mineral tanto para el sistema por lote como para el continuo. Sin embargo las

recuperaciones de oro fueron bajas respecto a los resultados obtenidos de productividades ($Q_p \text{ Fe}^{3+}$ y $Q_p \text{ SO}_4^{2-}$), que comprobaron que se tuvo un buen nivel de solubilización del mineral. Por lo que se deduce que la baja recuperación de oro se originó al cianurar el mineral biooxidado sin extraer el Fe^{3+} y el SO_4^{2-} que se generó en el pretratamiento oxidativo. Al alcalinizar el mineral previo al proceso de cianuración se produjo la formación de jarositas y consecuente pasivación del mineral, este fenómeno se ocasionó por el cambio brusco de pH, lo que dio paso a la impermeabilidad superficial de pirita por precipitación de jarositas ($\text{KFe}_3^{3+} (\text{SO}_4)_2 (\text{OH})_6$) o azufre elemental, lo que dificulta el contacto del cianuro con el oro para su lixiviación, dando como resultado rendimientos bajos en la recuperación de oro (Kaksonen *et al.*, 2014). A nivel comercial la planta BIOX de Tamboraque - Perú, para evitar ese tipo de inconvenientes utiliza un floculante catiónico en una serie de espesadores a contracorriente para lavar el mineral, de esta manera se garantiza la extracción de hierro, arsénico y azufre, que son los principales precursores en la formación de jarositas, obteniendo así mayores recuperaciones de oro que las obtenidas en este estudio (Acevedo y Gentina, 2005).

CONCLUSIONES

- La mayor solubilización del mineral en el sistema por lote de biooxidación se dio a una altura del rotor desde el fondo del tanque de 3.5cm, obteniendo un $Q_p \text{Fe}^{3+}$ de 1.489 g/l día, un $Q_p \text{SO}_4^{2-}$ de 1.884 g/l día y un porcentaje de hierro extraído de 31.87%, además la disminución de pH fue hasta 1.39 y el potencial redox (Eh) alcanzó un valor de 320mV, este proceso fue realizado en 30 días.
- La cinética de crecimiento para este consorcio bacteriano se ajustó al modelo propuesto por Monod para sistemas por lote. A partir de esto se determinó que operando a una altura de rotor de 3.5cm se obtuvo una velocidad específica de crecimiento de 0.318días^{-1} y un rendimiento aparente de hierro en biomasa de $0.0751 \text{g}_b/\text{g}_s$.
- En el sistema continuo de biooxidación la mejor solubilización del mineral se dio en un tiempo de residencia de 6 días, obteniendo $Q_p \text{Fe}^{3+}$ de 6.641 g/l día y $Q_p \text{SO}_4^{2-}$ de 6.893 g/l día. El porcentaje de hierro extraído aumenta proporcionalmente en el tiempo, por lo que en 10 días se obtuvo 43,53% siendo el porcentaje más alto, además el mejor rendimiento aparente asociado al crecimiento celular en el sustrato fue de 0.0623g/g y se dio a los 8 días, debido a que a este tiempo existe un mayor crecimiento celular.
- Con la cinética de cianuración se estableció un tiempo de lixiviación de 13 horas. Para el sistema por lote de biooxidación se obtuvo una recuperación de oro del 60% a una altura de rotor de 3.5cm, mientras que en el sistema continuo se obtuvo un 17% en un tiempo de residencia de 6 días.

RECOMENDACIONES

- En el sistema por lote de biooxidación al no haber ni entrada ni salida del medio, se debe controlar periódicamente el volumen del proceso ya que tiende a darse evaporaciones por la inyección de aire y por el aumento de temperatura que se da en el interior.
- Realizar mediciones de oxígeno disuelto y la influencia de este sobre la biooxidación, ya que a nivel industrial esta variable representa cerca del 30 a 40% del costo total de operación.
- En investigaciones futuras antes de iniciar el proceso de cianuración del mineral biooxidado, se recomienda separar los iones Fe^{3+} y el SO_4^{2-} para evitar inconvenientes. Para ello es necesario lavar el mineral varias veces con agua y aplicar un floculante catiónico que se encargue de extraer estos iones, con el propósito de aumentar la recuperación de oro.
- La determinación analítica de oro se realiza por espectrofotometría de absorción atómica, para muestras sólidas se debe dar un tratamiento previo denominado fusión – copelación, ya que este método es más exacto para conocer las leyes de oro.
- Ampliar la investigación a otros sectores mineros con características refractarias de potencial interés para la aplicación de la biolixiviación y biooxidación.
- Creación de un banco de cepas nativas de bacterias hierrooxidantes y sulfooxidantes de otros sectores mineros del Ecuador.
- Realizar un estudio de las rutas metabólicas para determinar la interacción de cada microorganismo frente a un determinado mineral refractario.
- Hacer un estudio de la proteómica en la biooxidación para determinar las proteínas expresadas en el proceso por cada microorganismo.
- Realizar la simulación del proceso de biooxidación a escala industrial.
- Llevar a cabo un estudio de factibilidad del sistema continuo de tanques agitados para la aplicación industrial de la biooxidación.
- Realizar el dimensionamiento de reactores de tanque agitado para el sistema continuo de biooxidación a escala semi-industrial, tomando en cuenta la altura de rebalse de cada reactor para facilitar el transporte de los sólidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acevedo, F. Electron. J. Biotechnol. **2000**, *3*, 184-194.
2. Acevedo, F; Gentina, J. *Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras*; Ediciones Universitarias de Valparaíso, Valparaíso, 2005.
3. Aguaiza, S. Análisis por difracción de rayos x de fases cristalinas presentes en muestras de desechos sólidos producidos en la extracción de oro, sin y con tratamientos térmicos. Tesis de física, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador, 2013.
4. Aguirre, P; Díaz, E; Gentina, J. Adv. Mater. Res. **2013**, *825*, 364-367.
5. Alegre, C. Biooxidación de concentrados refractarios de oro en tanques agitados. Tesis de Maestría, Universidad católica de Valparaíso, Chile, 1997.
6. Alulima, J. Rendimiento de la flotación para concentrar sulfuros minerales de los relaves en los distritos mineros de Portovelo- Zaruma, Bella Rica y San Gerardo. Tesis de ingeniería en geología y minas, Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador, 2009.
7. Arroyave, D. Evaluación del proceso de biooxidación a escala de laboratorio del mineral aurífero de la mina el Zancudo, Titiribí, Antioquia. Tesis de Maestría, Universidad Nacional De Colombia, Colombia, 2008.
8. Canales, C; Gentina, J; Acevedo, F. Int. Biohydrometall. Symp. **2003**, *15*, 185-192.
9. Cárdenas, J; Guerrero, J; Zárate, G. Mecanismos de oxidación bacteriana de minerales sulfurados. <http://www.solomineria.com.pe/html/metalurgia/57.pdf> (consultado 10 de Junio de 2013).
10. Chandrababha, M; Modak, J; Natarajan, K; Raichur, A. Miner. Eng. **2002**, *15*, 751-753.
11. Crespo, J. Elección del Sistema de Explotación del Bloque R-Norte de la veta Santa Ana, Distrito Minero Zaruma-Portovelo. Tesis de ingeniería en minas. Escuela Superior Politécnica Del Litoral, Ecuador, 2007.
12. Cuevas, R. Ingeniería de reactores. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Balancemateria_10657.pdf (consultado 18 de Junio de 2013).

13. Davis, M; Masten, S. *Ingeniería y Ciencias Ambientales*, McGraw- Hill Interamericana: México D.F, 2005.
14. Deveci, H. *Hidrometallurgy*. **2004**, *71*, 385-396.
15. Díaz, E. Optimización de parámetros para la biooxidación de minerales polimetálicos del distrito minero Portovelo. Tesis de Ingeniería Química. Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador, 2012.
16. Donati, E. *Biominería: Una tecnología alternativa*.
<http://www.fundamin.com.ar/es/publicaciones/61-mineria-y-medio-ambiente/105-biomineria-una-tecnologia-alternativa.html> (consultado 08 de Junio de 2013).
17. González, R. Biooxidación de un mineral concentrado refractario de oro en sistema continuo. Tesis de Maestría .Universidad católica de Valparaíso, Chile, 1999.
18. González, R; Gentina, J; Acevedo, F. *Electron. J. Biotechnol.* **2003**, *6*, 233-243.
19. González, R; Gentina, J; Acevedo, F. *Electron. J. Biotechnol.* **2004**, *19*, 33-42.
20. Gordillo, F; Sanmartín, V; Toracchi, E; Carrión, F. Congreso Internacional de Minería, Metalurgia y Materiales. 2004, 3.
21. Gordillo, F; Suárez, J; Sanmartín, V; Aguirre, P; Gentina, J; Donati, E. *Adv. Mater. Res.* **2009**, *71*, 481-484.
22. Groza, N; Filcenca-Olteanu, A; Panturu, E; Radulescu, R; Aurelian, F. *Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timișoara)*. **2008**, *53*, 237-240.
23. Guerrero, J. *Bioteconología en la disolución y recuperación de metales*.
<http://www.mobot.org/jwccross/phytoremediation/Bioteconologia.htm> (consultado 28 de Mayo de 2013).
24. Iglesias, N; Carranza, F; Palencia, I. *Revista de Metalurgia de Madrid*. **1998**, *3*, 29-38.
25. Kaksonen, A; Madhu Mudunuru, B; Hackl, R. *Hydrometallurgy*. **2014**, *142*, 70-83.
26. Levenspiel, O. *Ingeniería de las reacciones químicas*, 3rd ed.; Limusa Wiley: México D.F, 2005.

27. López, C. Biominería.
http://personal.us.es/evpolo/pdf/trab_dirig/Carmen%20opezlopezcorregido.pdf
(consultado 08 de Junio de 2013)
28. Lowry, O; Rosebrough, N; Farr, A; Randall, R. The Journal of Biological Chemistry. **1951**, 193, 265-275.
29. Ludeña, R. Estudio Hidrometalúrgico por Cianuración de los concentrados de Flotación de los relaves provenientes de la minería artesanal del yacimiento Nambija. Tesis de Ingeniería Química. Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador, 2012.
30. Marsden, J; House, I. The Chemistry of gold extraction; E. Horwood: England, 1992.
31. Mazuelos, A. Biooxidación en continuo del ión ferroso en disolución en reactores de lecho fijo inundado. Tesis de Ciencias Químicas. Universidad de Sevilla, España, 1998.
32. Mejía, E. Mineralogía del proceso de lixiviación bacteriana de calcopirita (CuFeS_2), esfalerita (ZnS) y galena (PbS). Tesis de Maestría, Universidad Nacional De Colombia, Colombia, 2010.
33. Meruane, G; Vargas, T. Hydrometallurgy. **2003**, 71, 149-153.
34. Montgomery, D. Diseño y análisis de experimentos, 2nd ed.; Limusa Wiley: Arizona, 2004.
35. Muir, M; Andersen, T. Metall. Trans. B. **1977**, 8, 517-518.
36. Muñoz, A; Márquez, M; Montoya, O; Ruiz, O; Iemehsko, V. Rev. Colomb. Biotecnol. **2003**, 5, 73-81
37. Nava, F; Elorza, E; Uribe, A; Pérez, R. Revista de metalurgia de Madrid. **2007**, 43, 20-28.
38. Ospina, J; Mejía, E; Osorno, L; Márquez, M; Morales, A. Rev. Colomb. Biotecnol. **2012**, 14, 135-145.
39. Ospina, J; Osorno, L; Mejía, E; Márquez, M. Informador Técnico (Colombia), **2011**, 75, 53-65.

40. Parga, J; Carrillo, F. Revista de Metalurgia de Madrid. **1996**, 32, 254-261.
41. Prodeminca. Monitoreo ambiental de las áreas mineras en el sur del Ecuador. Ministerio de Energía y Minas Ecuador, Subsecretaría de Minas. Swedish Environmental System: Quito, 1998.
42. Rawlings, D; Johnson, D. Biomining, 1rs ed.; Springer- Verlag Berlin Heidelberg: New York, 2007.
43. Rawlings, D; Johnson, B. Microbiology. **2007**, 153, 315-324.
44. Rawlings, D., Tributsch, H., y Hansford, G. Microbiology. **1999**, 145, 5-13.
45. Remolina, J. Tostación clorurante de un mineral aurífero refractario sulfurado como alternativa para disminuir su refractariedad a la cianuración. Tesis de Ingeniería Metalúrgica, Universidad industrial de Santander, Colombia. 2011.
46. Rosales, V; Guerrero, J; Sáez, M. Industrial. **2001**, 2, 7-10.
47. Rossi, G. biohydrometallurgy; McGraw- Hill Book Company GmbH: Hamburgo, 1990.
48. Salinas, E; Rivera, I; Carrillo, F; Patiño, F; Hernández, J. Revista de la sociedad Química de México. **2004**, 48, 315-320.
49. Sánchez, I. Diversidad microbiana y taxonomía: Crecimiento microbiano. http://www.diversidadmicrobiana.com/index.php?option=com_contentyview=articleid=182yltemid=225 (consultado 11 de Junio de 2013).
50. Scott, H. Elementos de la ingeniería de las reacciones químicas, 4th ed.; Pearson Educación: México D. F., 2008.
51. Sekhar, C; Srichandan, H; Kim, D; Akcil, A. Res. J. Recent Sci. **2012**, 1, 85-99.
52. Simate, G; Ndlovu, S; Iyuke, S; Walubita, L. Biotechnology and Nanotechnology: A Means for Sustainable Development in Africa. En Chemistry for Sustainable Development in Africa. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: South Africa, 2013; pp 159-191.
53. Smith, R; Misra, M. Mineral processing; TMS: Nevada, 1991.
54. Suzuki, I. Biotechnol. Adv. **2001**, 19, 119-132.

55. Syed, S. Hydrometallurgy, **2012**, 115-116, 30-51.

56. Tsaplina, I; Zhuravleva, A; Grigor'eva, N; Belyi, V; Pivovarova, T; Bulaev, A; Melamud, V;
Kondrat'eva, T. Microbiology. **2012**, 81, 288-298.

ANEXOS

ANEXO 1.- CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MINERALÓGICA DEL MINERAL DE CABEZA PORTOVELO

Tabla 1.1. Análisis químico de cabeza.

Metal	kg/ton
Hierro (Fe)	2742
Cobre (Cu)	135.5
Oro (Au)	6.2
Plata (Ag)	0.6

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental de la UTPL

Tabla 1.2. Análisis mineralógico de cabeza por difracción de rayos X

Mineral	Fórmula	Contenido (%)
Cuarzo	SiO_2	55
Muscovita	$\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$	10
Caolinita	$\text{Al}_2(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4$	4
Gypsum	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10
Montmorillonita (Grupo Esmectitas)	$(\text{Na}, \text{Ca})_{0.3}(\text{Al}, \text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ $(\text{Al}, \text{Mg}, \text{Na})(\text{OH})_2\text{Si}_4\text{O}_{10} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2
Anortita (Grupo plagioclasa)	$(\text{Na}, \text{Ca})\text{Al}(\text{Si}, \text{Al})\text{Si}_2\text{O}_8$	10
Clinocloro	$(\text{Mg}, \text{Fe})_5\text{Al}(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$	4
Pirita	FeS_2	3
Calcopirita	CuFeS_2	1
Pirrotina	$\text{Fe}_{(1-x)}\text{S}$	1

Fuente: Escuela Politécnica Nacional- Departamento de Metalurgia extractiva.

ANEXO 2.- DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS MEDIANTE ENSAYO AL FUEGO.

Para determinar metales pesados en muestras líquidas se realiza directamente, mientras que para muestras sólidas se requiere un tratamiento previo a su lectura en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica, el procedimiento de ensayo al fuego se muestra a continuación:

- Homogenización y cuarteo de la muestra mineral.
- Clasificación del mineral (Tabla 2.1).
- Preparación de 75 g de carga fundente (Tabla 2.2), conjuntamente con un oxidante o reductor según las características del mineral a utilizar (Tabla 2.3)
- Mezclar enérgicamente la carga fundente con el mineral en un crisol.
- Colocar unas gotas de nitrato de plata (6.3 g/L) aproximadamente 1 ml.
- Colocar sobre toda la superficie una capa de bórax
- Fundir en un horno mufla a 950°C durante unos 50 minutos.
- Calentar a lingotera previamente para evitar proyecciones.
- Al alcanzar la fluidización completa, se retira el crisol del horno y se vierte el líquido en una lingotera.
- Enfriar a temperatura ambiente hasta su solidificación.
- Retirar la carga de la lingotera y separa la escoria del regulo de plomo.
- Desechar la escoria y golpear el regulo de plomo para darle forma cúbica.
- Colocar sobre una copela (previamente calentada en la mufla) el regulo de plomo.
- Copelar en una mufla a una temperatura entre 850 – 1200°C hasta que el plomo se funda y se absorba en la copela, liberando el doré (aleación de plata y oro).
- Dar golpecitos al doré con el fin de laminarlo y colocarla en un vaso de precipitación
- Agregar 3 ml de ácido nítrico concentrado y calentar durante 10 minutos.
- Agregar 9 ml de ácido clorhídrico y calentar hasta disolver la lámina
- Colocar la solución obtenida en balones de 25 ml y aforar con agua destilada.
- Leer la solución en espectrofotómetro de absorción atómica.

Tabla 2. 1. Tipos de minerales

Muestra	Color	Cantidad
Cabeza	gris	25 g
Concentrado	negro	10 g
Colas	blanco	30 g

Fuente: Autora.

Tabla 2. 2. Carga fundente

Litargirio (PbO)	1650 g
Carbonato de sodio	750 g
Bórax	500 g
Sílice	50 g

Fuente: Autora.

Tabla 2. 3. Oxidante o reductor

Muestra	Cantidad (g)
Cabeza	1.5 – 2 (harina)
Concentrado	3 (harina)
Colas	15 g (Nitro)

Fuente: Autora.

ANEXO 3.- CARACTERISTICAS DEL MOLINO Y CONDICIONES DE MOLIENDA

El tipo de molino utilizado es un molino bolas, con las siguientes características:

- Tipo de Chaqueta: porcelana
- Tipo de bolas: porcelana
- Densidad de las bolas: 3235 kg/m^3
- Diámetro externo del molino: 91.5 cm
- Diámetro interno del molino: 88.5 cm
- Longitud del molino: 80 cm
- Volumen del molino: 0.492 m^3

Las condiciones de operación fueron:

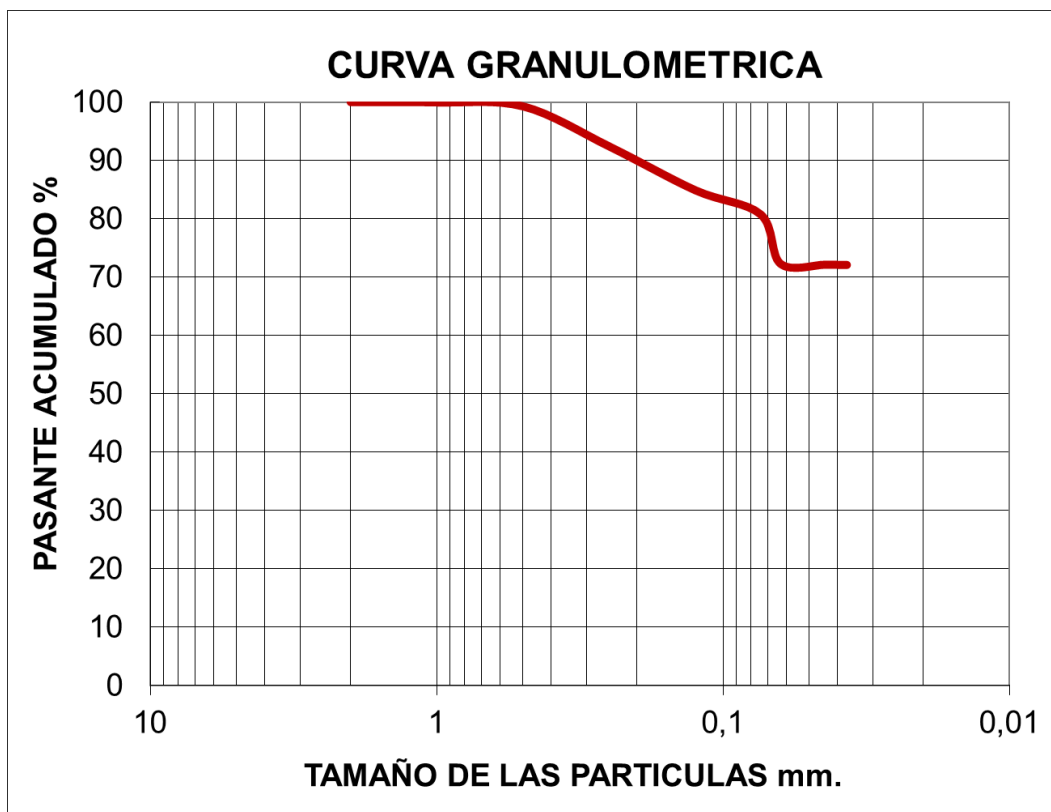
- Tipo de molienda: en húmedo
- Dilución de pulpa: 1:1
- Mineral: 60 kg
- Agua: 60 L
- Porcentaje de carga de molienda: 40%
- Carga de molienda: 637.38 kg
- Velocidad experimental: 25 rpm
- Velocidad crítica: 44.2 rpm
- Tiempo de molienda: 1h 30min



Figura 3.1. Molino de bolas.

Fuente: Autora

ANEXO 4.- ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO



N° malla"	Abertura de malla (mm)	Peso parcial (g)	% retenido	% retenido acumulado	% pasante acumulado
10	2	0.00	0.000	0.000	100.000
18	1	0.14	0.056	0.056	99.944
35	0.5	1.67	0.669	0.726	99.274
60	0.25	17.14	6.871	7.596	92.404
120	0.125	18.76	7.520	15.116	84.884
200	0.074	10.31	4.133	19.249	80.751
230	0.063	21.17	8.486	27.735	72.265
325	0.044	0.32	0.128	27.863	72.137
400	0.037	0.11	0.044	27.907	72.093
FONDO	Lamas	179.85	72.093	100.000	0.000
TOTAL		249.47	100.000		

D80 = 0.073 mm

ANEXO 5.- DESCRIPCIÓN Y MONTAJE DE LOS REACTORES DE TANQUE AGITADO



Figura 5.1. Partes de un reactor de tanque agitado.

Fuente: Autora



Figura 5.2. Configuración de los reactores del sistema continuo.

Fuente: Autora

ANEXO 6.- CALCULOS PARA EL SISTEMA CONTINUO

- Determinación del volumen total en el sistema continuo.

$$V_{tubos} = \frac{\pi D^2}{4} \cdot h$$

$$V_{tubos} = \frac{\pi(0.7 \text{ cm})^2}{4} \cdot 532 \text{ cm}$$

$$V_{tubos} = 204,7 \text{ cm}^3 = 0,2047 \text{ l}$$

$$V_{reactor} = V_t * \%pulpa$$

$$V_{reactor} = 3 \text{ l} * 0.8 = 2.4 \text{ l}$$

$$V_{TSistema} = V_{tubos} + 4V_{reactor}$$

$$V_{TSistema} = 0,2047 \text{ l} + 4(2.4 \text{ l})$$

$$V_{TSistema} = 9.81 \text{ l}$$

- Determinación de fórmula para el tiempo de residencia

$$t_{20\% \text{ arranque}} = t_{llenado} + t_{salida}$$

$$t_{20\% \text{ arranque}} = \frac{9.81 \text{ l}}{Q} + \frac{12 \text{ l}}{Q}$$

$$t_{20\% \text{ arranque}} = \frac{21.81 \text{ l}}{Q}$$

FÓRMULA GENERAL PARA CALCULAR EL CAUDAL

$$Q = \frac{21.81 \text{ l}}{t_{20\% \text{ arranque}}}$$

Donde $t_{20\% \text{ arranque}} = 2, 4, 6, 8 \text{ y } 10 \text{ días}$

Tomando en cuenta la densidad de pulpa al 15% de sólidos de: 1.099g/ml se determinó el caudal para cada tiempo de residencia en ml/min y en g/min.

$$Q_{2\text{días}} = 7.573 \frac{\text{ml}}{\text{min}} \text{ o } 8.322 \frac{\text{g}}{\text{min}}$$

$$Q_{4\text{días}} = 3.786 \frac{\text{ml}}{\text{min}} \text{ o } 4.161 \frac{\text{g}}{\text{min}}$$

$$Q_{6\text{días}} = 2.524 \frac{\text{ml}}{\text{min}} \text{ o } 2.774 \frac{\text{g}}{\text{min}}$$

$$Q_{8\text{días}} = 1.893 \frac{\text{ml}}{\text{min}} \text{ o } 2.080 \frac{\text{g}}{\text{min}}$$

$$Q_{10\text{días}} = 1.515 \frac{\text{ml}}{\text{min}} \text{ o } 1.665 \frac{\text{g}}{\text{min}}$$

ANEXO 7.-DETERMINACIÓN DE IÓN FERROSO (Fe^{2+}) Y HIERRO TOTAL (Muir y Andersen, 1977; González, 1999)

PROCEDIMIENTO DE IÓN FERROSO (Fe^{2+})

- La muestra (0.1mL), en el rango de 10 –100 ppm de Fe^{2+} , se coloca en un tubo de 10 mL. Previamente, la muestra se diluye con agua destilada para que la concentración de Fe^{2+} este dentro del rango señalado.
- Se añade reactivo fluoruro complejante (1.0 mL), seguido por agitación del tubo por 2 minutos
- Se añade 0.4 mL del reactivo ortofenantrolina y el tubo se agita vigorosamente por 2 minutos.
- La mezcla se diluye a 2.5 mL con agua destilada acidulada (pH 1.8) y el tubo se agita nuevamente.
- Después de 5 minutos y a temperatura ambiente se lee la absorbancia en UV visible a 510 nm

PROCEDIMIENTO DE HIERRO TOTAL

- La muestra (0.1mL), en el rango de 10 –100 ppm de Fe Total se coloca en un tubo de 10 mL. Previamente, la muestra se diluye con agua destilada para que la concentración de Fe Total este dentro del rango señalado.
- Se agrega 0.1 mL de Agente reductor (Clorhidrato de Hidroxilamina al 10%) y se agita fuertemente durante 3 minutos aproximadamente.
- Se añade 0.4 mL del reactivo ortofenantrolina y el tubo se agita vigorosamente por 2 minutos.
- La mezcla se diluye a 2.5 mL con agua destilada acidulada (pH 1.8) y el tubo se agita nuevamente.
- Después de 5 minutos y a temperatura ambiente se lee la absorbancia en UV visible a 510 nm

El blanco contiene todos los reactivos excepto la muestra, la cual se reemplaza por agua destilada.

Para la curva de calibrado se realizó soluciones estándares de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en un rango de 10 a 100 ppm. Estas soluciones se procesan y se leen de manera idéntica a la solución problema.

ANEXO 8.-DETERMINACIÓN DE SULFATOS (González, 1999)

PROCEDIMIENTO

- Tomar una muestra y realizar un factor de dilución a un aforo de 2ml
- Colocar la muestra diluida en un tubo de ensayo y añadir 0.1 mL de reactivo condicionante.
- Agitar continuamente durante 3 minutos.
- Añadir cloruro de bario con la ayuda de una espátula y agitar por un minuto.
- Medir absorbancia a 520 nm durante 4 minutos, tomando como el valor máximo.

Se toma como blanco a una muestra que no se añade cloruro de bario.

Para la curva de calibrado se realizó soluciones estándares de Na_2SO_4 anhidro en un rango de 10 a 100 ppm. Estas soluciones se procesan y se leen de manera idéntica a la solución problema.

ANEXO 9.-DETERMINACIÓN DE PROTEINA ADHERIDA Y PROTEINA TOTAL (Lowry *et al.*, 1951; González, 1999)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA MEDICIÓN DE PROTEINA ADHERIDA

- Se toma una muestra de 5 mL desde el medio de biooxidación, lo más homogénea posible.
- Se separan los sólidos por centrifugación a 100 rpm por 2 minutos.
- Se toma el sobrenadante y se centrifuga nuevamente a 12000 rpm durante 15 minutos.
- El pellet se resuspende en 5 mL de agua acidulada (pH 1.8) y nuevamente se centrifuga a 12000 rpm durante 15 minutos.
- En nuevo pellet se resuspende en 3 mL de agua acidulada y 3 mL de NaOH 3N.
- Colocar la muestra en un baño de agua hirviendo por 5 minutos.
- Neutraliza con 1.15 mL de H₂SO₄ 4M (Cantidad relativa)
- Centrifugar a 12000 rpm durante 15 minutos, separando el sobrenadante, el que contiene las proteínas. Esta suspensión es considerada la muestra.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA MEDICIÓN DE PROTEINA TOTAL

- Se toma una muestra de 5 mL desde el medio de biooxidación, lo más homogénea posible.
- Se digiere con 5 mL de NaOH 3N
- Colocar en baño de agua hirviendo durante 25 minutos.
- Centrifugar a 12000 rpm durante 15 minutos para eliminar los sólidos.
- Neutralizar el sobrenadante con H₂SO₄ 4M.
- Adicionar 1 gota de H₂O₂ por cada mL de hidrolizado. Esta suspensión es considerada la muestra.

PROCEDIMIENTO

- Tomar 1 mL de muestra y adicionar 1 mL de Solución A.
- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente
- Agregar 4 mL de Solución B y agitar fuertemente.
- Incubar durante 5 minutos a 55°C en un baño de agua.
- Enfriar rápidamente en un baño de hielo.
- Medir absorbancia a 650 nm.

Para el blanco se reemplaza la muestra por agua destilada, y para la curva de calibrado se realiza estándares de 10 –100 ppm con albúmina bovina.

ANEXO 10.- DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE BACTERIAS

Se esterilizó la cámara de Neubauer y el cubre-objetos con alcohol y se los limpió cuidadosamente evitando que queden impurezas que obstruyan al momento del conteo.

Se colocó 25µL de muestra entre la cámara de Neubauer y el cubre-objetos y se observó en el microscopio con un aumento de 100 X. A partir del cuadrante central el conteo celular se lo realizó en diagonal por los cuadrantes 1, 2, 3, 4, y 5 como se muestra en la Figura 1. Para conocer el número de bacterias por ml fue necesario aplicar la siguiente ecuación.

$$\frac{\# \text{bact}}{\text{mL}} = \frac{4 \cdot 10^6 \cdot FD \cdot \# \text{bact}_{\text{contadas}}}{20}$$

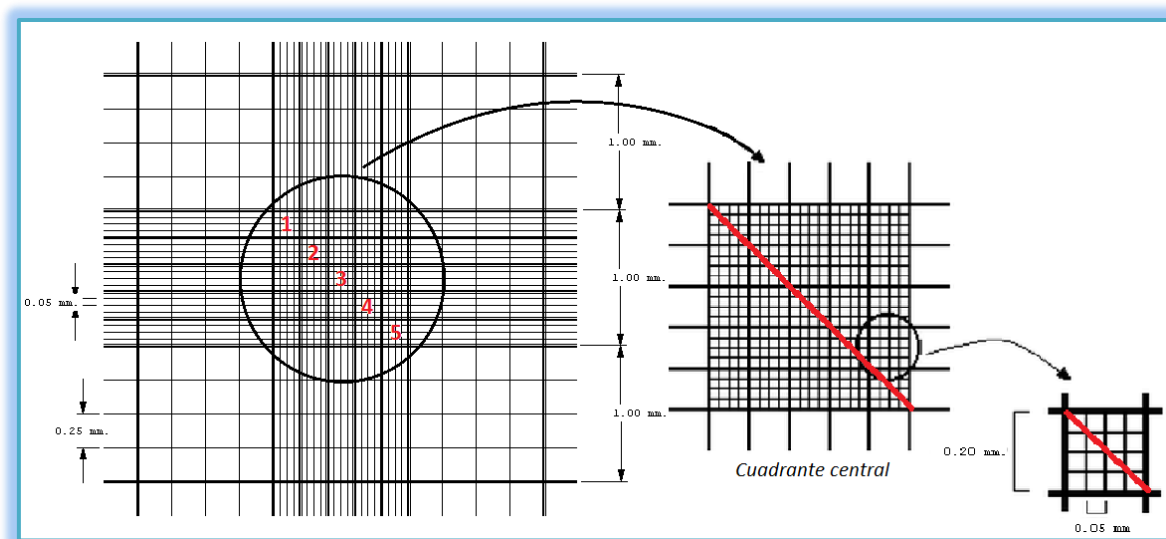


Figura 10.1. Cámara de Neubauer.

Fuente: Autora

ANEXO 11.- PROCEDIMIENTO DE LA CIANURACIÓN (Ludeña, 2012)

El protocolo que se siguió para cianurar fue el siguiente:

- Preparación de la pulpa con la cantidad de material y agua dado en la Tabla 2.4 dependiendo de la muestra.
- Homogenización de la pulpa en la celda de cianuración por 5 minutos.
- Medición del pH y adición de cal para alcanzar el pH de operación (10-11).
- Adición de cianuro de sodio según las concentraciones establecidas. Desde el momento que empieza la prueba de cianuración hasta 13 horas.
- Filtración al vacío de la pulpa para obtener la torta y la solución.
- La torta se coloca en la estufa para eliminar la humedad.
- La torta seca se disgrega, homogeniza y almacena para su análisis químico junto con la solución cianurada

Control de Cianuro libre y pH

La determinación del cianuro libre se realizó por viraje con solución de nitrato de plata a 4,34 g/l, para esto se tomó una alícuota de 25 ml de pulpa que se filtró al vacío para separar los sólidos, del filtrado se tomó 5 ml en un vaso de precipitación agregando 4 gotas de indicador (yoduro de potasio) y se llevó a titulación con una solución de AgNO_3 . El momento del viraje se produce cuando la solución cambia de transparente a ligeramente amarillo, se toma lectura del gasto de nitrato de plata, se calcula el cianuro libre con la siguiente ecuación:

$$CN^- = \frac{\text{Gasto de AgNO}_3(\text{ml}) \cdot Vi}{2}$$

Dónde:

- CN libre = gramos de cianuro libre
- Gasto AgNO_3 = gasto de nitrato de plata al momento del viraje (mL)
- V_i = volumen de agua para formar la pulpa (mL)
- 2 = factor de equivalencia debido a que se toma 5 ml de pulpa filtrada

La cantidad de cianuro que se ha consumido es igual a la concentración de NaCN inicial menos el cianuro libre residual, este valor es el que debe ser adicionado para mantener la concentración inicial. En el momento de detener el proceso se tituló el cianuro libre residual, que es el cianuro remanente en la pulpa. Los controles se programaron cada hora.

ANEXO 12.- DESCRIPTIVOS ESTADÍSTICOS PARA CADA VARIABLE DE RESPUESTA EN EL SISTEMA POR LOTE DE BIOOXIDACIÓN.

Tabla 12.1. Descriptivos estadísticos de $Q_p \text{Fe}^{3+}$, $Q_p \text{SO}_4^{2-}$, hierro extraído, $Y_{x/\text{Fe}}$ y μ_{max} para cada altura del rotor en un proceso de biooxidación por lote.

Variables de respuesta	Unidades	Altura del rotor (cm)	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
							Límite inferior	Límite superior		
$Q_p \text{Fe}^{3+}$	g/L día	3.5	3	1.48867	0.152500	0.088046	1.10983	1.86750	1.336	1.641
		6.5	3	1.17467	0.080501	0.046477	0.97469	1.37464	1.094	1.255
		Total	6	1.33167	0.203650	0.083140	1.11795	1.54538	1.094	1.641
$Q_p \text{SO}_4^{2-}$	g/L día	3.5	3	1.88400	0.108000	0.062354	1.61571	2.15229	1.776	1.992
		6.5	3	1.51133	0.112500	0.064952	1.23187	1.79080	1.399	1.624
		Total	6	1.69767	0.226699	0.092549	1.45976	1.93557	1.399	1.992
hierro extraído	%	3.5	3	31.8727	1.26650	0.73121	28.7265	35.0188	30.61	33.14
		6.5	3	25.1640	0.09900	0.05716	24.9181	25.4099	25.07	25.26
		Total	6	28.5183	3.76130	1.53555	24.5711	32.4656	25.07	33.14
$Y_{x/\text{Fe}}$	g/g	3.5	3	0.075133	0.0310500	0.0179267	0.001999	0.152266	0.0441	0.1062
		6.5	3	0.037500	0.0086000	0.0049652	0.016136	0.058864	0.0289	0.0461
		Total	6	0.056317	0.0289846	0.0118329	0.025899	0.086734	0.0289	0.1062
μ_{max}	días ⁻¹	3.5	3	0.28300	0.087600	0.050576	0.06539	0.50061	0.195	0.371
		6.5	3	0.22760	0.086500	0.049941	0.01272	0.44248	0.141	0.314
		Total	6	0.25530	0.083565	0.034115	0.16760	0.34300	0.141	0.371

Fuente: Programa estadístico IBM SPSS Statistics 20

ANEXO 13.- DESCRIPTIVOS ESTADÍSTICOS PARA CADA VARIABLE DE RESPUESTA EN EL SISTEMA CONTINUO DE BIOOXIDACIÓN.

Tabla 13.1. Descriptivos estadísticos de $Q_p \text{Fe}^{3+}$, $Q_p \text{SO}_4^{2-}$ y hierro extraído para cada tiempo de residencia en un proceso de biooxidación en continuo.

Variables de respuesta	Unidades	Tiempo de residencia	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
							Límite inferior	Límite superior		
$Q_p \text{Fe}^{3+}$	g/L día	2	3	5.56233	0.335500	0.193701	4.72890	6.39576	5.227	5.898
		4	3	6.10200	0.253000	0.146070	5.47351	6.73049	5.849	6.355
		6	3	6.64133	0.264500	0.152709	5.98428	7.29839	6.377	6.906
		8	3	6.13800	0.030000	0.017321	6.06348	6.21252	6.108	6.168
		10	3	5.12967	0.037501	0.021651	5.03651	5.22282	5.092	5.167
		Total	15	5.91467	0.570577	0.147322	5.59869	6.23064	5.092	6.906
$Q_p \text{SO}_4^{2-}$	g/L día	2	3	6.11900	0.095000	0.054848	5.88301	6.35499	6.024	6.214
		4	3	6.40467	0.416500	0.240466	5.37002	7.43931	5.988	6.821
		6	3	6.89267	0.297500	0.171762	6.15364	7.63170	6.595	7.190
		8	3	6.36900	0.036000	0.020785	6.27957	6.45843	6.333	6.405
		10	3	5.38100	0.028688	0.016563	5.30974	5.45226	5.348	5.400
		Total	15	6.23327	0.548525	0.141629	5.92950	6.53703	5.348	7.190
hierro extraído	%	2	3	9.4383	0.56950	0.32880	8.0236	10.8530	8.87	10.01
		4	3	20.7100	0.85900	0.49594	18.5761	22.8439	19.85	21.57
		6	3	33.8100	1.34400	0.77596	30.4713	37.1487	32.47	35.15
		8	3	41.6620	0.20400	0.11778	41.1552	42.1688	41.46	41.87
		10	3	43.5227	0.31850	0.18389	42.7315	44.3139	43.20	43.84
		Total	15	29.8286	13.45093	3.47301	22.3797	37.2775	8.87	43.84

Fuente: Programa estadístico IBM SPSS Statistics 20

ANEXO 14.- FOTOS



Figura 14.1. Distrito Minero Portovelo.

Fuente: Autora



Figura 14 2. Muestreo del Mineral aurífero refractario.

Fuente: Autora



Figura 14.3. Molienda del mineral.

Fuente: Autora



Figura 14.4. Mineral molido (80% -200 mallas).

Fuente: Autora



Figura 14.5. Oxidación por acción bacteriana.

Fuente: Autora



Figura 14.6. Adaptación del inóculo a medio mineral.

Fuente: Autora



Figura 14.7. Sistema Por lote de biooxidación.

Fuente: Autora



Figura 14.8. Configuración óptima de los reactores de tanque agitado en el sistema continuo.

Fuente: Autora



Figura 14.9. Sistema Continuo de Biooxidación.

Fuente: Autora



Figura 14.10. Pulpa biooxidada.

Fuente: Autora



Figura 14.11. Mineral inicial vs mineral biooxidado.

Fuente: Autora



Figura 14.12. Espectrofotómetro UVisible.

Fuente: Autora



Figura 14. 13. Cianuración del mineral biooxidado.

Fuente: Autora



Figura 14.14. Fusión – Copelación de mineral de cabeza y relaves de cianuración.

Fuente: Autora



Figura 14.15. Determinación de oro por Espectrofotometría de absorción atómica.

Fuente: Autora