



*Universidad Michoacana
de San Nicolás de Hidalgo*



Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales

“Reducción carbotérmica y biolixiviación de un mineral que contiene especies de hierro, titanio y vanadio, empleando la bacteria *Shewanella putrefaciens*”

TESIS

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES

Presenta

Hugo Jhonathan Marín García

Asesor

PhD. Ramiro Escudero García

Co-asesor

Doctor en Ingeniería Raúl Cortés Martínez

Morelia, Michoacán de Ocampo. Agosto 2014



DEDICATORIA

A mi familia, Aida García Pimentel, Ángel Marín Calzada, Paola Ninet Marín García y mi sobrina Paulette Izamná Vázquez Marín, por estar a mi lado compartiendo alegrías y momentos difíciles, por el cariño, preocupación, apoyo, entre otras más, que reiteran el profundo cariño que existe entre nosotros y que perdurara en el paso del tiempo. También a el resto de mi familia ¡VA POR USTEDES!

Mis entrañables abuelos, Salvador García Campos, Raquel Tzintzun Pimentel, Melchor Marín Pérez y Martha Calzada Zavala, por haber sido, seguir siendo y seguirán siendo para mí un legado de vida y su recuerdo siempre lo llevará conmigo.

A mi tío Alejandro Marín Calzada, por el saber que dejó con el paso de su vida en muchos de nosotros y sé que su cariño y recuerdo los tendré siempre.

A mi tío Salvador García Tzintzun por su generosidad que espero poder retribuir de alguna forma.

¡ESTE TRABAJO SE LOS DEDICO CON TODO MI CARÍÑO!

Vive como si fueras a morir mañana. Aprende como si fueras a vivir siempre.

Mahatma Gandhi (1869-1948) Político y pensador hindú



AGRADECIMIENTOS

Dios le agradezco infinitamente el haberme permitido vivir una etapa sorprendente que superó mis expectativas debido a la gente tan cálida que puso a mi lado, así mismo la obtención del grado de maestría pero sobre todo, el saber que está junto a mí y que a pesar de dar tan poco y pedir mucho, recibo de usted justamente lo que requiero para enfrentar la vida y que en mí depende el hacerlo increíble.

A mis asesores, Dr. Ramiro Escudero García y Dr. Raúl Cortés Martínez les agradezco su inversión de tiempo en el desarrollo de este proyecto de investigación y más aún por su enorme paciencia.

Le agradezco a mis sinodales, Dra. Ena Athenea Aguilar Reyes, Dr. Ricardo Morales Estrella, Dr. Gerardo Barrera Cardiel y Dr. Rafael García Hernández por el tiempo dedicado a la revisión de los reportes hasta la tesis y que con sus observaciones hicieron que mejorara la calidad del trabajo.

Un agradecimiento muy especial a la Mtra. Remedios Cisneros Magaña, ya que de ella no solo recibí la atención profesional que la caracteriza sino también su calidez y positividad para enfrentar los sucesos no tan buenos de la vida. Éste también se hace extensivo para el Dr. Víctor Hugo López Morelos ya que en él encontré siempre el apoyo institucional y que fue más allá, al Dr. Carlos A. León Patiño por el valioso apoyo brindado en el desarrollo de la maestría, al Dr José Luis Rico Cerda por su imprescindible apoyo en la etapa de oxidación además por valiosos consejos, así como al Ing. Antonio por las sesiones maratónicas en el MEB de última hora. Finalmente el reconocimiento a los técnicos M.C. Héctor, Ing. Sayil e Ing. Tarsicio por las facilidades otorgadas para trabajar en sus laboratorios; de igual forma a Don Sergio, Doña Bertha y Yunuen por la calidez y sencillez con que me trataron.

A mis amigas de siempre, Sue Ellen, Rocío, Eunice, Yuritzi, Edith y Delil incluyendo ahora a Alejandra, Ignacio, Oswaldo, Marcela, Maritza, Adelita, Ma. Christian, Carmen, Alfredo, Abigail, Rafael, Carlos, Eloy, Enrique, Wilson, Criseida, Víctor Hugo, Iván, Adán, Teresa, Tania, Roberto, Julio, Marcela, Denisse, y sin olvidar a mi visión 51 Nora Nelly,



Vianney, Nallely, Florencia, Silvia, Andrea, Guillermo, Manuel y Teresa por ser quiénes son y por todo lo que me han dado. Un agradecimiento muy grande a Azucena por el inmenso apoyo recibido durante la escritura de tesis, así mismo a Martín un excelente profesionalista y sobre todo generoso con su tiempo y conocimiento; por último, el reconocimiento y agradecimiento fraterno a la Dra. Carla Karina Chávez Moreno por seguir brindándome su apoyo en lo académico pero sobre todo por mantener una muy buena amistad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante los primeros cuatro semestres de maestría.

Al Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales dependiente de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al coordinador de la Maestría en Metalurgia y Ciencias de los Materiales, Dr. Alberto Ruiz Marines por las facilidades brindadas en el ingreso y estancia en este programa de posgrado. Finalmente, gracias a la M.C. Elisa López Loeza del Instituto de Física y Matemáticas–Laboratorio de Biofísica por el apoyo recibido así como a la Dra. Isabel Israde Alcántara del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Tierra por brindarme de su tiempo en lo referente a la caracterización morfológica del mineral.

Una mención especial al Dr. Ciro Eliseo Márquez Herrera de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Biol. Juan Carlos Estrada Mora del Instituto Politécnico Nacional por la amabilidad recibida al requerir de los servicios que brindan en sus laboratorios.

Por último un agradecimiento a toda la gente que sin saberlo me apoyaron bastante.

A TODOS USTEDES

¡¡¡MIL GRACIAS!!!



ÍNDICE GENERAL

Índice general	I
Índice de figuras	III
Índice de tablas	IX
Simbología	X
Resumen	XII
Abstract	XIII
Capítulo I. Introducción	1
1.1. Justificación	2
1.2. Hipótesis	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. General	3
1.3.2. Particulares	3
Capítulo II. Antecedentes	
2.1. Minerales refractarios de oro	4
2.1.1. Efecto cianicida del hierro	4
2.2. Titanio, vanadio y hierro	6
2.2.1. Titanio (Ti)	6
2.2.2. Vanadio (V)	7
2.2.3. Hierro (Fe)	7
2.3. Mineral de hierro: Arenas negras o minería aluvial	8
2.3.1. Concentración ferromagnética	9
2.4. Reducción carbotérmica	10
2.5. Lixiviación microbiana	18
2.5.1. <i>Shewanella putrefaciens</i>	19
2.5.2. Reducción bacteriana del hierro	20
2.6. Lixiviación tradicional (hidrometalurgia)	31



Capítulo III. Materiales y métodos

3.1. Preparación del mineral	37
3.2. Análisis químico del mineral	37
3.3. Reducción carbotérmica	39
3.3.1. Oxidación del mineral	40
3.3.2. Reducción carbotérmica del mineral	41
3.4. Lixiviación bacteriana	41
3.4.1. Adquisición y crecimiento de <i>Shewanella putrefaciens</i>	41
3.4.2. Adaptación de la bacteria al mineral	44
3.4.3. Lixiviación bacteriana del mineral	44
3.5. Análisis de liberación de los metales valor por lixiviación ácida tradicional	45
3.6. Análisis estadístico	46

Capítulo IV. Resultados y discusión

4.1. Preparación del mineral	47
4.2. Análisis químico del mineral	50
4.2.1. Análisis de fluorescencia y difracción de rayos X	50
4.2.2. Análisis del mineral por vía húmeda	56
4.3. Reducción carbotérmica	60
4.3.1. Oxidación (hematización) del mineral	60
4.3.2. Reducción carbotérmica del mineral	70
4.4. Lixiviación bacteriana	80
4.4.1. Crecimiento y adaptación de la bacteria	80
4.4.2. Lixiviación bacteriana del mineral	86
4.5. Análisis de liberación de los metales valor por lixiviación ácida tradicional	96

Capítulo V. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones	100
5.2. Recomendaciones	102

Bibliografía	103
---------------------	------------

Anexo A	109
----------------	------------

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo II. Antecedentes

2.1. Aspecto físico de los metales de titanio, vanadio y hierro.	8
2.2. Mineral de hierro: arena negra de la playa La Saladita, Guerrero	8
2.3. Efecto de la separación magnética en el mineral de hierro (arenas negras)	10
2.4. Micrografías del mineral de hierro (arenas negras) a) Ampliación 1000x sin concentrar; b) Ampliación 2000x concentrada	10
2.5. Efecto de la temperatura en la velocidad de reducción de la hematita	13
2.6. Micrografías de los pellets en diferentes estados de reducción a 1373 K	14
2.7. Difractogramas de los pellets en diferentes estados de reducción a 1373 K	15
2.8. Relación de los productos de reacción, temperatura de calentamiento y tiempo de permanencia durante la reducción carbotérmica de la hematita	15
2.9. a) Difractogramas para los productos obtenidos del templado por 1 h con relación molar 1:4 (ilmenita + carbón activado) en atmósfera de argón, b) Difractogramas para los productos obtenidos del templado por 1 h con relación molar 1:3 (rutilo + carbón activado) en atmósfera de argón	16
2.10. Porcentaje de hierro y titanio después de 1 h de templado en una atmósfera de argón con ilmenita + carbono en una relación molar 1:4	17
2.11. Micrografía de <i>Shewanella putrefaciens</i> cepa MR-7	20
2.12. Transferencia de electrones del hierro férrico en <i>Shewanella</i> sp. Abreviaturas: CymA, MtrA, MtrC y OmcA, citocromos tipo c; MtrB, proteína de la membrana externa; MQ, menaquinona	22
2.13. a), b) Micrografías de la cepa CN32 sobre magnetita biogénica, c) Espectro de EDS sobre estas células revelando que están revestidas por la magnetita	23
2.14. a) Difractograma del control con buffer de bicarbonato, b) y c) Micrografías de las muestras control de los días 7 y 14, respectivamente	24
2.15. a) Difractograma del mineral sólido del medio con buffer de bicarbonato, b) Micrografía donde se observa la siderita precipitada en la base de la magnetita, c), d) y e) Espectros de EDS de los tres puntos mostrados en la micrografía observándose diferentes composiciones	25

2.16. a) Difractograma del mineral sólido del medio con buffer PIPES, b y c) Micrografías que muestran el cambio morfológico de la magnetita a los 7 y 14 días, respectivamente	25
2.17. a) y b) Difractogramas del mineral sólido del tratamiento aeróbico con las cepas CN32 y MR-1 en magnetita sintética, c) Micrografía de la vivianita y magnetita no reducida con la cepa CN32, d) Micrografía de la vivianita y magnetita no reducida con la cepa MR-1	26
2.18. Modelo conceptual de la reducción del Fe (III) coloidal por <i>Shewanella putrefaciens</i> . Abreviaturas: Fe (III)-ox, Coloides férricos; Reduct., Reductasas	27
2.19. Acoplamiento de nanohematita sobre <i>S. putrefaciens</i> , tras la exposición de tres densidades bacterianas (3×10^8 , 1×10^9 , 1.25×10^9 células/mL) en el rango de concentración total de nanohematita (de 25 a 2820 $\mu\text{mol Fe (III)/L}$) en 5 mM NaCl, a pH 5	28
2.20. Micrografías MET (derecha) y METB (izquierda) de células de <i>Shewanella putrefaciens</i> que fueron expuestas a 20 (Baja), 100 (Mediana), y 500 (Alta) $\mu\text{mol/L}$ de nanohematita (densidad celular = 2×10^8 células/mL, a pH 5)	29
2.21. Difractograma de la arena rica en titanio y vanadio	32
2.22. Difractogramas de la muestra obtenida a 500°C a diferentes tiempos de tostación; a) Arena inicial, b) Tostado de 10 min, c) Tostado de 30 min, d) Tostado de 60 min, e) Tostado de 90 min	33
2.23. a) Efecto de la temperatura, b) Efecto del tiempo, c) Efecto de la relación líquido-sólido, d) Efecto del tamaño de partícula en el proceso de lixiviación	34
2.24. a) Reacciones propuestas para la formación de H_2TiO_4 sólido; b) Micrografía del dióxido de titanio obtenido	35
Capítulo III. Materiales y métodos	
3.1. Diagrama general del desarrollo experimental	36
3.2. Análisis de permanganometría, a) Material empleado en la valoración; b) Color indicativo del punto final de titulación	39
3.3. Camas delgadas de magnetita antes del tratamiento de oxidación	40
3.4. Crisoles de grafito con muestra antes del tratamiento de reducción	41

3.5. Izquierda, documento que avala la procedencia de la cepa ATCC®. Derecha, cultivos puros de <i>Shewanella putrefaciens</i> ATCC® 8071	42
3.6. a) Serie de tubos utilizados durante el proceso de experimentación, b) Cultivo puro de <i>Shewanella putrefaciens</i> ATCC® 8071 en AM	43
3.7. Tubos incubados a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 7 días. Izquierda, se muestra el control sin crecimiento. Derecha, tubos inoculados con bacterias sedimentadas en el mineral	44
3.8. a) Cámara de anaerobiosis para el muestreo de la cinética de biolixiviación, b) Incubación con agitación constante.	45
3.9. Soluciones obtenidas de la lixiviación con HCl al 3%	46
Capítulo IV. Resultados y discusión	
4.1. Gráficas de distribución normal del tamizado	47
4.2. Gráficas del diámetro 80 (D_{80}) del mineral de llegada y pulverizado	48
4.3. Difractograma del mineral de hierro. Abreviaturas: M, Magnetita; S, Óxido hierro-silicio; T, Óxido hierro-titanio	51
4.4. Micrografías del mineral sin tratamiento. a) Amplificación 1000x; b) Amplificación 2000x; d) Amplificación 5000x; c) Amplificación 15000x.	52
4.5. Mapeo del mineral sin tratamiento (natural). a) Micrografía base; b, c, d, e) Patrón de los elementos titanio, hierro, oxígeno y silicio, respectivamente; f) Mapeo de la micrografía base.	53
4.6. Espectro de EDS del mineral sin tratamiento	54
4.7. Micrografía del mineral sin tratamiento con dos partículas de contraste diferente (1, 2)	55
4.8. Espectro de EDS puntual de la partícula 1 del mineral sin tratamiento	55
4.9. Espectro de EDS puntual de la partícula 2 del mineral sin tratamiento	55
4.10. Micrografía del mineral sin tratamiento. a) Amplificación 5000x; b) Amplificación 10000x	56
4.11. Termograma del mineral de hierro (arenas negras)	61
4.12. Diagrama de fases del sistema Fe-O	62

4.13. Difractogramas del mineral sin tratamiento y oxidado a 950°C en diferentes tiempos de permanencia. Abreviaturas: M, Magnetita; S, Óxido hierro-silicio; T, Óxido hierro-titanio; H, Hematita	64
4.14. Micrografías del mineral a 2000 y 5000x; a, b) Sin tratamiento; c), d) Oxidado por 6 h; e), f) Oxidado por 12 h; g), h) Oxidado por 24 h	66
4.15. Espectro de EDS del mineral oxidado con 12 h de permanencia	67
4.16. Mapeo mineral oxidado por 24 h. a) Micrografía base; b), c), d), e), f) Patrón de los elementos titanio, hierro, oxígeno, silicio y cromo, respectivamente; g) Mapeo de la micrografía base	68
4.17. a) Micrografía del análisis puntual a 10000x; b) Ampliación a 20000x	69
4.18. Espectro de EDS puntual de la partícula 1 del mineral oxidado por 24 h	69
4.19. a) Micrografía del mineral oxidado por 24 h a 5000x; b) Ampliación a 20000x	70
4.20. Difractogramas de la mezcla mineral oxidado-grafito antes y después de la reducción. Abreviaturas C, Grafito; H, Hematita; T, Óxido hierro-titanio; F, Hierro elemental; Fo, Óxido ferroso; Tc, Carburo de titanio	72
4.21. Micrografías de la mezcla mineral oxidado-grafito antes de la reducción. a) Ampliación 500x; b) Ampliación 1000x; c) Ampliación 2000x; d) Ampliación 5000x	73
4.22. Mapeo mezcla mineral oxidado-grafito antes de la reducción. a) Micrografía base; b), c), d) Patrón de los elementos carbono, hierro y oxígeno, respectivamente; e) Mapeo de la micrografía base	74
4.23. Espectro de EDS de la mezcla mineral-grafito antes de la reducción	75
4.24. Micrografías de la mezcla mineral oxidado-grafito después de la reducción. a) Ampliación 2000x; b) Ampliación 5000x; c) Ampliación 10000x; d) Ampliación 20000x	76
4.25. Mapeo mineral oxidado-grafito después de la reducción. a) Micrografía base; b), c), d), e) Patrón de los elementos titanio, hierro, oxígeno y silicio, respectivamente; f) Mapeo de la micrografía base	77

4.26. Espectro de EDS de la mezcla mineral oxidado-grafito después de la reducción	78
4.27. a) Micrografía del mineral reducido a 5000x; b) Ampliación a 10000x	78
4.28. Micrografías comparativas a 2000x. a) Mineral sin tratamiento; b) Mineral oxidado; c) Mineral reducido carbotérmicamente.	79
4.29. a) Medición de la concentración bacteriana a diferentes longitudes de onda; b) Cinética de crecimiento de <i>Shewanella putrefaciens</i> en 14 h.	81
4.30. Identificación microbiológica de <i>Shewanella putrefaciens</i> . a) Crecimiento en AM; b) Pruebas bioquímicas inoculadas (derecha) y no inoculadas (izquierda); c) Tinción Gram a 100x	82
4.31. Micrografías de <i>Shewanella putrefaciens</i> adherida al mineral. a) Amplificación 3500x; b) Amplificación 10000x; c) Amplificación 20000x; d) Amplificación 40000x	83
4.32. Mapeo de las bacterias adheridas en el mineral a 30000x. a) Micrografía base; b), c), d), e), f), g) Patrón de los elementos carbono, azufre, fósforo, titanio, hierro y oxígeno, respectivamente; h) Mapeo de la micrografía base	84
4.33. Micrografía que muestra la interacción bacteria-mineral (zonas 1 y 2)	85
4.34. Espectro de EDS puntual de la zona 1 (bacteria)	86
4.35. Espectro de EDS puntual de la zona 2 (mineral)	86
4.36. Difractogramas del mineral sin tratamiento y biolixiviado a diferentes tiempos de permanencia. Abreviaturas: M, Magnetita; S, Óxido hierro-silicio; T, Óxido hierro-titanio; Mm, Magnesio-ferrita; Ma, Óxido de aluminio-magnesio; Sa, Silicato de aluminio sódico	87
4.37. Mineral con 3 h de lixiviación bacteriana. a) Micrografía a 10000x; b) Micrografía a 40000x	88
4.38. Mineral con 112 h de lixiviación bacteriana. a) Micrografía a 10000x; b) Micrografía a 40000x	89
4.39. Mineral con 336 h de lixiviación bacteriana. a) Micrografía a 5000x; b) Micrografía a 10000x; c) Micrografía a 10000x; d) Micrografía a 20000x	90
4.40. Sobrenadantes de la cinética de biolixiviación del mineral de hierro.	91
4.41. a) Hierro en solución vs tiempo; b) pH vs tiempo; c) Biomasa vs tiempo	92



4.42. Micrografías de las partículas coloidales de hierro. a) Ampliación a 40000X; b) Ampliación a 100000X	93
4.43. a) Micrografía obtenida por MET de las nanopartículas; b) Micrografía por MET de alta resolución de las nanopartículas; c) Gráfica de distribución del tamaño de partícula	94
4.44. Micrografías obtenidas por MET, lado izquierdo modo claro, lado derecho modo oscuro. a) 88 h; b) 208 h; c) 336 h de biolixiviación	95
4.45. Gráficas comparativas entre la digestión y lixiviación en HCl al 3%. a) Hierro; b) Titanio; c) Vanadio	98

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo II. Antecedentes

II.1. Propiedades físicas de los elementos: titanio, vanadio y hierro	6
II.2. Composición química del mineral de hierro (arena negra) de Atacama	9
II.3. Resultados comparativos en el proceso de reducción con y sin hematización	11
II.4. Composición química de la arena rica en titanio y vanadio (% en peso)	32
II.5. Composición química final de la muestra lixiviada (% en peso)	35

Capítulo III. Materiales y métodos

III.1. Reacciones parciales del sistema hierro, carbono y oxígeno	40
III.2. Composición del medio de cultivo Agar Marino (AM) con pH final de 7.3±0.1	42

Capítulo IV. Resultados y discusión

IV.1. Pesos y desviación estándar obtenidos del tamizado	47
IV.2. Resumen estadístico para determinar tamaño de partícula	49
IV.3. Concentración elemental en el mineral de hierro (% en peso)	50
IV.4. Resultados de la digestión ácida del mineral y porciento en peso de los metales determinados por absorción atómica	57
IV.5. Resultados del análisis de permanganometría	58
IV.6. Porciento en peso de los metales de interés en el mineral por ICP-OES	59
IV.7. Porcentaje de ganancia en peso del mineral al ser oxidado a 950°C	63
IV.8. Análisis de varianza ANOVA entre las longitudes de onda experimentales	81
IV.9. Porcentaje de lixiviación y digestión en una solución de HCl al 3%	96
IV.10. Análisis de varianza ANOVA entre el mineral sin tratamiento, reducido carbotérmicamente y biolixiviado para la dilución de hierro, titanio y vanadio	99

SIMBOLOGÍA

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
Fe ²⁺	Ion ferroso	HNO ₃	Ácido nítrico
Fe ³⁺	Ion férrico	HF ₄ B	Ácido tetrafluorobórico
Ti	Titanio	[Au(CN) ₂] ⁻	Ion cianuro áurico
V	Vanadio	H ₂ S	Ácido sulfhídrico
Fe	Hierro	H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
TiO ₂	Rutilo, anatasa (óxido de titanio)	NaNO ₃	Nitrato de sodio
FeTiO ₃	Ilmenita (óxido de titanio ferroso)	NaCl	Cloruro de sodio
FeS ₂	Pirita (sulfuro de hierro)	α-Fe	Hierro fase α
Fe(CrO ₂) ₂	Cromita (cromato ferroso)	FRX	Fluorescencia de Rayos X
Fe ₃ O ₄	Magnetita (óxido férrico-ferroso)	ICP-OES	Espectroscopia óptica acoplada a inducción por plasma
NaOH	Hidróxido de sodio	DRX	Difracción de Rayos X
Mg	Magnesio	MEB	Microscopia Electrónica de Barrido
MgO	Óxido de magnesio	EDS	Espectroscopia de Energía Dispersiva de Rayos X
Al ₂ O ₃	Alúmina (óxido de aluminio)	MET	Microscopia Electrónica de Transmisión
CaO	Óxido de calcio	METB	Microscopia Electrónica de Transmisión y Barrido
MnO	Óxido de manganeso	SEI	Electrones Secundarios, ángulo normal
SiO ₂	Sílice (óxido de silicio)	BSE-COMPO	Electrones Retrodispersados, ángulo normal
V ₂ O ₅	Pentaóxido de vanadio	TGA	Análisis Termogravimétrico
Na ₂ TiO ₃	Titanato de sodio	ATCC	American Type Culture Collection
MgTi ₂ O ₅	Dititanato de magnesio	AM	Agar Marino
NaMO ₂	Óxido metálico de sodio	CM	Caldo Marino
M ₃ O ₅	Óxidos metálicos	KIA	Agar Hierro Kligler
H ₂ TiO ₃	Óxido de titanio hidratado	TSI	Agar Hierro-Triple Azúcar
HMO ₃	Óxido metálico hidratado	BHI	Infusión Cerebro-Corazón
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico	pm	Picómetros
TiOSO ₄	Oxisulfato de titanio (IV)	°C	Grados centígrados
MgSO ₄	Sulfato de magnesio	g/cm ³	Gramos/centímetro cúbico



$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	Sulfato férrico	UV	Ultra-violeta
Na_2O	Óxido de sodio	%	Por ciento
Zr	Zircón	g	Gramos
FeWO_4	Tungstato ferroso	θ	Theta
Fe_2O_3	Hematita (óxido férrico)	min	Minutos
FeO	Wustita (óxido ferroso)	μm	Micrómetros
C	Carbono	kg	Kilogramos
CO	Monóxido de carbono	pH	potencial de Hidrógeno
$\text{Ti}_5\text{O}_9, \text{Ti}_4\text{O}_7,$	Óxidos de titanio	Å	Armstrong
$\text{Ti}_3\text{O}_5, \text{Ti}_2\text{O}_3$	transitorios	η_R	Grado de reducción
TiC	Carburo de titanio	K	Kelvin
CO_2	Dióxido de carbono	μmol	Micromol
Mn^{4+}	Ion manganeso IV	K_p	Constante de acoplamiento
ClO_3^-	Ion clorato	M_{max}	Capacidad máxima
Fe (II)	Hierro ferroso	L	Litros
Fe (III)	Hierro férrico	mL	Mililitros
O_2	Oxígeno molecular	nm	Nanómetros
$\text{Fe}(\text{OH})_3$	Hidróxido férrico	~	Aproximadamente
NAD^+	Nicotinamida adenina dinucleótido oxidado	kV	Kilovolts
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido	mA	Miliamper
ATP	Adenosín trifosfato	h	Horas
HCO_3^-	Ion bicarbonato	ppm	Partes por millón
HCl	Ácido clorhídrico	rpm	Revoluciones por minuto
PIPES	Ácido 1,4-piperazina dietanosulfónico	kJ/mol	Kilojoules/mol
FeCO_3	Carbonato ferroso	J/mol*K	Joule/mol*Kelvin
Mn(IV)	Manganeso (IV)	ΔH°	Entalpia estándar
U(VI)	Uranio (VI)	ΔS°	Entropía estándar
SO_3^{2-}	Ion sulfito	$\bar{X}$	Promedio
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	Ion tiosulfato	σ	Desviación estándar
NO_3^-	Ion nitrato	D_{80}	Diámetro ochenta
NO_2^-	Ion nitrito	F	Prueba F
Au/Hg	Oro/Mercurio	fcc	Cúbica centrada en las caras
Mn (II)	Manganeso II	hcp	Hexagonal compacta
Mn^{2+}	Ion manganeso II	bcc	Cúbica centrada en el cuerpo
$\alpha\text{-FeOOH}$	Oxihidróxido de hierro α		

RESUMEN

Actualmente la explotación de metales valor, como es el titanio y vanadio han adquirido importancia debido a las nuevas aplicaciones médicas, estructurales, por mencionar algunas; de igual forma el hierro sigue generando descubrimientos tanto en el área de materiales como biogeoquímica. Por lo tanto, el presente trabajo de investigación tiene el propósito de aplicar separadamente las rutas de reducción carbotérmica usando grafito como agente reductor y de biolixiviación con la bacteria férrico reductora *Shewanella putrefaciens* sobre un mineral denominado arenas negras de playa para la recuperación de hierro, titanio y vanadio. Después de la etapa de pulverizado, la partícula del mineral obtuvo un D_{80} de 86 μm y de acuerdo al análisis de FRX, absorción atómica e ICP-OES, el elemento principal es el hierro con el 60% en peso y en menor proporción titanio y vanadio (1.19% y 0.36% en peso, respectivamente), descartándose la presencia de oro y plata. El análisis por DRX muestra que la magnetita, óxido hierro-silicio e ilmenita son las fases principales y mediante MEB se observa una morfología compacta y de poca irregularidad; previa a la reducción se tiene la oxidación de la magnetita a α -hematita lograda bajo las condiciones experimentales propuestas. Posteriormente, la reducción con grafito realizada a 1100°C/4 h, da lugar a hierro elemental y carburo de titanio como lo indicaron los análisis por DRX y MEB. Con respecto a la biolixiviación, *Shewanella putrefaciens* desarrollada en metabolismo anaerobio presentó una buena adaptación al mineral debido al abundante crecimiento observado por MEB; la cinética de biolixiviación indica que en las primeras 112 h actúan los mecanismos indirectos de adquisición de hierro y después ocurre la adherencia de las bacterias a la superficie del mineral promoviendo el mecanismo directo, así mismo en este tratamiento se presenta la síntesis de nanopartículas y su biosorción. Finalmente, comparando el efecto de ambos tratamientos se obtiene que al lixiviar el mineral en solución ácida, la reducción carbotérmica y la biolixiviación favorecen la disolución del hierro, titanio y vanadio, teniendo la mayor diferencia en la lixiviación de hierro con 47 y 17.5% en peso, el titanio presentó poca diferencia con 0.9 y 0.7% en peso, mientras que el vanadio fue disuelto totalmente por ambos procesos.

Palabras clave: arenas negras de playa, magnetita, reducción carbotérmica, biolixiviación, *Shewanella putrefaciens*.

ABSTRACT

Currently the exploitation value of metals, such as titanium and vanadium have gained importance due to new applications in medicine, structural, to name a few; the same happens with iron, which exploitation continues generating discoveries, both in the area of materials such as biogeochemistry. Therefore, this research aims to apply separately routes: carbothermal reduction using graphite as a reducing agent and bioleaching with ferric reducing bacteria *Shewanella putrefaciens*, on mineral called black sand beach for the recovery of iron, titanium and vanadium. After the stage of pulverized, the ore particle size had a D_{80} equal to 86 microns and according to XRF analysis, atomic absorption and ICP-OES, the main element is iron with 60 wt% and to a lesser extent titanium and vanadium (1.19 and 0.36 wt%, respectively), ruling out the presence of gold and silver. XRD analysis shows that magnetite, iron-silicon oxide and ilmenite are the main phases and according to the SEM a compact morphology and little unevenness were observed; before reduction there was a oxidation of magnetite to α -hematite achieved under the proposed experimental conditions. Subsequently reducing graphite performed at 1100°C/4 hours, resulting in elemental iron and titanium carbide as indicated by the XRD and SEM analysis. With respect to bioleaching, *Shewanella putrefaciens* developed under anaerobic metabolism showed good adaptation to the mineral reflected in their growth observed by SEM; bioleaching kinetics indicates that during the first 112 hours, indirect acting iron acquisition mechanisms and then the adhesion of bacteria to the surface of the mineral occurs promoting direct mechanism, also in this treatment the synthesis of nanoparticles and biosorption phenomena occur. Finally, by the comparison of both treatments is obtained that the mineral acid leach solution, carbothermal reduction and bioleaching promote the dissolution of iron, titanium and vanadium, having the most significant difference in the leaching of iron with 47 and 17.5 wt%; titanium showed a minor difference from 0.9 to 0.7 wt%, while the vanadium was dissolved entirely by both processes.

Keywords: black sand beach, magnetite, carbothermal reduction, bioleaching, *Shewanella putrefaciens*.



Capítulo I
INTRODUCCIÓN

La metalurgia extractiva o minería está relacionada con la obtención de metales y sus derivados a partir de las fuentes primarias como son los minerales [1]. En México en el 2012, la industria minera no petrolera aportó 95,937 millones de pesos (a precios del 2003) al Producto Interno Bruto, que de acuerdo al Instituto de Estadística, Geografía e Informática ha presentado un importante crecimiento a partir del 2010 y una caída del 0.74% en el primer cuatrimestre del 2014 [2, 3]. Cabe destacar que de las 288 empresas registradas hasta el año 2011, 72.2% son canadienses, 16% estadounidenses, 2.8% chinas, 1.7% australianas y 7.3% otros países incluyendo mexicanas, siendo los estados de Sonora y Zacatecas los que acapararon un poco más del 50% del sector minero [4], finalmente la importación y exportación de los productos minero metalúrgicos en el 2012 se concentraron en un mismo país, Estados Unidos de América con 45.5% y 55.4%, respectivamente [2].

El estado de Michoacán de Ocampo obtuvo en el 2011 el décimo lugar en la producción minera nacional con el 1.48%, ocupando el primer lugar nacional en producción de hierro con el 38.2% y el segundo lugar en la síntesis de coque a partir de carbono importado con el 18.9% [3]. Este hecho proporciona mayor sustento a este proyecto de investigación enfocado a la explotación de un mineral con alto contenido en hierro (previa concentración magnética) denominado arenas negras de playa, el cual contiene como componentes principales magnetita (Fe_3O_4) e ilmenita (FeTiO_3) además de vanadio y manganeso inmersos en la matriz que incluso llegan a contener oro y plata [15, 16]. Sin embargo, por la naturaleza de este mineral no es factible el tratamiento tradicional por cianuración [7, 8], por lo que se propusieron dos procesos alternativos de tratamiento, siendo la reducción carbotérmica utilizando grafito como agente reductor y la lixiviación microbiana a través de la bacteria férrico reductora *Shewanella putrefaciens* [20, 27].

Este trabajo se centra principalmente en el beneficio de tres metales que son hierro, titanio y vanadio que de acuerdo a la ley minera mexicana pertenecen a los minerales concesionables [5], aún así la Secretaría de Economía de México no ha presentado datos sobre la producción de titanio y vanadio pero si de su exportación teniendo como principal destino Estados Unidos de América [4], el cual considera a estos elementos de alto valor



estratégico [6] y que de acuerdo al Tratado de Libre Comercio de América del Norte impone varias restricciones hacia México en el beneficio de dichos metales.

El contenido de la tesis comienza con el Capítulo I con una breve Introducción, en el Capítulo II que son los Antecedentes, en el se hace mención de los conceptos básicos además la revisión de diversas investigaciones enfocadas en el beneficio del mineral arenas negras y se describen los procesos de reducción carbotérmica y lixiviación con *Shewanella putrefaciens* sobre compuestos puros de óxidos de titanio y hierro. En el Capítulo III se presentan los Materiales y métodos, se detallan los procedimientos analíticos y las técnicas instrumentales de análisis empleadas en el desarrollo experimental. El Capítulo IV corresponde a presentación de los Resultados obtenidos de la experimentación y que son analizados y discutidos de acuerdo a lo reportado por otros investigadores. Finalmente, el Capítulo V engloba las Conclusiones a las que se llegó y las recomendaciones que se sugieren para continuar con el trabajo de investigación.

1.1. Justificación

La obtención de los metales de interés comercial es cada vez más difícil desde el punto de vista técnico, además de que requiere mayor inversión económica para obtenerlos, principalmente debido a las bajas leyes y las asociaciones químicas complejas de los metales base (hierro, titanio y vanadio), así como matrices refractarias que encapsulan o consumen cianuro (minerales de hierro).

Se proponen como alternativas viables la reducción carbotérmica utilizando grafito y lixiviación con *Shewanella putrefaciens* del mineral con alto contenido de hierro para aumentar la eficiencia de extracción de los metales hierro y de forma complementaria titanio y vanadio, así como para establecer un proceso de liberación más amigable con el ambiente.

1.2. Hipótesis

El proceso de reducción carbotérmica minimizará el carácter refractario del mineral arenas negras al reaccionar el óxido de hierro con el grafito para formar dióxido de carbono y hierro elemental, lo que permitirá una posterior lixiviación menos agresiva y eficiente de los metales de interés. De igual manera, *Shewanella putrefaciens* podrá utilizar el hierro presente en el mineral como aceptor de electrones a través de los mecanismos metabólicos que posee, reduciendo la matriz férrica y pasando a el hierro solución.

1.3. Objetivos

1.3.1 General

Disminuir el carácter refractario de un mineral concentrado de hierro a través de dos rutas de tratamiento: reducción carbotérmica y ataque con *Shewanella putrefaciens*, para facilitar la solubilización del hierro, titanio y vanadio como metales de interés comercial.

1.3.2 Particulares

- Disminuir la naturaleza estable de la magnetita utilizando el proceso de oxidación para favorecer la reducción carbotérmica.
- Adaptar a la bacteria *Shewanella putrefaciens* en el metabolismo anaerobio para que consuma el hierro férrico presente en la magnetita.
- Comparar los tratamientos de reducción carbotérmica y lixiviación con *Shewanella putrefaciens*, con respecto a la solubilización de hierro, titanio y vanadio presentes en el mineral arenas negras.

Capítulo II ANTECEDENTES

En este capítulo se muestra el marco teórico que consiste en una breve descripción de los conceptos básicos manejados en este trabajo de investigación. En esta revisión se amplía la información de la literatura, exponiéndose de manera clara y concisa y los fundamentos de la hipótesis y que sustentan la justificación enfocadas a la lixiviación de un mineral con alto contenido de hierro.

2.1. Minerales refractarios de oro

Un mineral refractario se define como aquel que no permite recuperaciones de oro superiores al 70-80% por métodos de cianuración convencional, aún después de haberse llevado a cabo una molienda fina.

La refractariedad química es relativamente rara y confinada a tres condiciones: a) Telurios insolubles de oro; b) Elementos del mineral con poder de descomponer y reaccionar con el cianuro (cianicidas); y c) Elementos del mineral que consumen oxígeno.

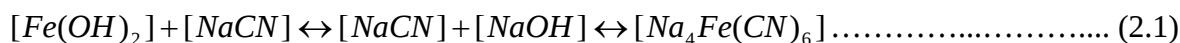
La refractariedad de los minerales de oro radica principalmente en su naturaleza física y debe especificarse por mineralogía microscópica. Se distinguen cinco tipos: a) R1 contiene oro fino encapsulado o unido a la matriz mineral; b) R2 contiene aleaciones de oro; c) R3 contiene oro recubierto con películas (de óxidos de hierro, cloruro de plata) del mismo mineral o creadas durante el tratamiento; d) R4 contiene materiales adsorbentes (carbonaceos y/o arcillas) que secuestran oro disuelto de la solución preñada; y e) R5 contiene en la matriz mineral descomponedores (sulfuros, tiosulfatos, arseniatos los cuales pueden formar cianicidas; iones de hierro pueden consumir oxígeno; ácidos húmicos pueden interactuar con el oro formando complejos) [7].

2.1.1. Efecto cianicida del hierro

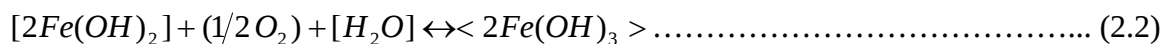
El hierro metálico y la mayoría de los minerales de hierro no son atacados por las soluciones cianuradas. Así, minerales oxidados tales como hematita, geotita, magnetita, siderita y silicatos de hierro, permanecen prácticamente inalterables en condiciones normales. Los sulfuros de hierro, como piritita, marcasita y pirrotita (pirita magnética), se

descomponen en las soluciones cianuradas, dependiendo del tipo de sulfuro, tamaño de partícula y condiciones de la solución. De éstos últimos, la pirita es el sulfuro más estable y la pirrotita el más fácilmente atacable [8].

La química más generalizada de la reacción (2.1) del hidróxido ferroso (formado en solución) con cianuro, pasa por un primer estado de formación de cianuro ferroso o complejo insoluble, el cual en presencia de exceso de cianuro, forma un ferrocianuro soluble.



Al aumentar el poder de oxidación del medio, dicho compuesto ($Fe(OH)_2$) se transforma en hidróxido férrico de acuerdo a la reacción 2.2. El cual, es un compuesto altamente estable que no tiene acción sobre el cianuro.



Sin embargo, los iones ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}) de la reacción 2.3 forman con el cianuro complejos estables, consumiéndolo. Por esto, la actividad del cianuro es retardada.



Es importante destacar que estos minerales refractarios no solo llegan a contener oro como metal de interés, sino también poseen un sinnúmero de elementos considerados de alto valor comercial por lo que no se les puede desechar al no presentar una concentración económicamente explotable de oro. En México, la producción minera se centra principalmente en minerales que contienen oro, plata, cobre, plomo y zinc; también se tiene los minerales siderúrgicos que son carbón, coque, hierro y manganeso; finalmente tenemos los productos metálicos no ferrosos como antimonio, bismuto y molibdeno [4].

No hay mención sobre la explotación de los metales de titanio y vanadio a pesar de que proceden principalmente de minerales ferrosos como titanio-magnetitas e ilmenito-magnetitas, además de considerarse metales ferrosos por utilizarse u obtenerse durante la fundición metalúrgica [9]. Sin embargo, la minería mexicana manifiesta la exportación de minerales y/o materiales que contienen titanio y vanadio sin especificar el lugar de origen [4].

2.2. Titanio, vanadio y hierro

Estos elementos pertenecen al grupo de metales de transición de la tabla periódica. La característica típica de estos metales es que tienen incompletas sus subcapas *d* o con facilidad dan origen a iones que tienen incompletas estas subcapas. Este hecho les confiere diversas propiedades sobresalientes, como coloración particular, capacidad de formar compuestos paramagnéticos, actividad catalítica y, en especial, una marcada tendencia a formar iones complejos [10]. Algunas propiedades físicas se presentan en la tabla II.1.

Tabla II.1. Propiedades físicas de los elementos: titanio, vanadio y hierro [10, 11].

Elemento	Ti	V	Fe
Número atómico	22	23	26
Peso atómico (uma)	47.90	50.942	55.847
Radio atómico (pm)	144.8	134	126
Punto de fusión (°C)	1668	1910	1536
Punto de ebullición (°C)	3260	3407	3000
Densidad (g/cm ³)	4.51	6.09	7.86

2.2.1. Titanio (Ti)

Elemento químico de símbolo Ti, llamado así por los Titanes, gigantes de la mitología griega (figura 2.1). Su comportamiento químico muestra varias semejanzas con el silicio y zirconio, pero la química en solución acuosa, especialmente de los estados de oxidación más bajos, tiene semejanzas con la del cromo y vanadio. El principal estado de valencia es +4, aunque también se conocen los estados +3 y +2, que son menos estables.

El dióxido de titanio (TiO₂), se encuentra comúnmente en forma negra o de color castaño conocido como rutilo. Las formas naturales que se encuentran menos en la naturaleza son la anatasa y la brooquita. El óxido básico negro, FeTiO₃, se encuentra en forma natural como mineral llamado ilmenita; éste es la principal fuente comercial del titanio [9].

El TiO₂ amorfo se utiliza como un pigmento blanco en pinturas exteriores por ser químicamente inerte, por su gran poder de recubrimiento, su opacidad al daño por la luz ultravioleta (UV), también se ha empleado como agente blanqueador y opacador de porcelana [11]. Debido a su resistencia y su peso ligero, el titanio se usa en aleaciones

metálicas y como sustituto del aluminio. Aleado con aluminio y vanadio, se utiliza en los aviones civiles y militares. Su uso también es apreciado en la estructura de los misiles y las sondas espaciales. La relativa propiedad inerte del titanio le hace eficaz como soporte para materiales sintéticos de los huesos y cartílagos en cirugía, así como para las tuberías y tanques que se utilizan en la elaboración de los alimentos [12].

2.2.2. Vanadio (V)

Manuel del Río lo descubrió en México en 1801, este elemento químico tiene el símbolo V (figura 2.1). El nombre proviene de la diosa escandinava de la belleza, *Vanadis*, en alusión a la variedad de colores producidos por sus estados de oxidación en disolución acuosa (V^{5+} incoloro, V^{4+} azul, V^{3+} verde, V^{2+} violeta claro). No se encuentra en estado elemental, pero si en una gran cantidad de minerales (más de 65), entre los que se encuentran: carnotita, roscoelita, vanadinita y patronita que son las fuentes más importantes del metal. También se encuentra en fosfatos y ciertos minerales de hierro, plomo, cobre y zinc.

El vanadio puro es un metal gris brillante, blando y dúctil. Tiene una buena resistencia a la corrosión por álcalis, ácidos sulfúrico y clorhídrico, agua de mar, forma rápidamente una capa de óxidos que lo protege, sin embargo, es muy soluble en ácido nítrico. El vanadio se utiliza en la producción de aceros de gran tenacidad, duros y resistentes a la corrosión, además se usa como catalizador y colorante [13].

2.2.3. Hierro (Fe)

Elemento químico cuyo símbolo es Fe, su nombre proviene del latín *ferrum*. El hierro es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre (5%). Es un metal maleable, tenaz, de color gris plateado y magnético (figura 2.1). Los cuatro isótopos son estables. Los dos minerales principales son la hematita y la magnetita (Fe_3O_4). La pirita (FeS_2) y la cromita [$Fe(CrO_2)_2$] también se explotan.

El uso más extenso del hierro es para la obtención de aceros estructurales; también se producen grandes cantidades de fundiciones de hierro gris y hierro blanco. Entre otros usos del hierro y de sus compuestos se tienen la fabricación de imanes, tintes y abrasivos [9].

Un aspecto interesante de la química del hierro es el arreglo de los compuestos con enlaces de carbono, los complejos con cianuro, tanto el ion ferroso como el férrico, son

muy estables y no son intensamente magnéticos (como la mayoría de sus complejos), además éstas forman sales coloreadas [11].



Figura 2.1. Aspecto físico de los metales de titanio, vanadio y hierro.

2.3. Mineral de hierro: Arenas negras o minería aluvial

Éstas son el depósito de placer o también llamado placer (que incluye betas en minas), se trata de una acumulación de mineral valioso que se encuentra depositado con sedimentos en el lecho de una corriente de agua o en una zona inundable. Se usan excavadoras, dragas o bombas hidráulicas (en el proceso de minado) para extraer el mineral. La explotación minera del placer por lo general tiene por objetivo retirar (en caso de que existiera y dependiendo del tamaño de partícula) oro de los sedimentos (arena aluvial o arena negra) de un río o corriente de agua y en zonas inundables [14].

Las arenas negras consisten generalmente de magnetita (Fe_3O_4) e ilmenita (FeTiO_3) asociadas a granate, rutilo y zircón [15]. A continuación se muestra en la figura 2.2 el color negro característico de este tipo de mineral de hierro.

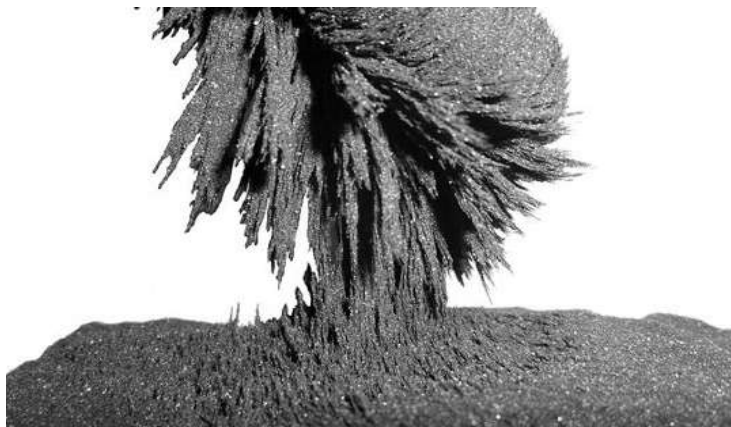


Figura 2.2. Mineral de hierro: arena negra de la playa La Saladita, Guerrero.

Valderrama *et al.* [16] caracterizaron unas arenas negras de playa del sector de Caldera en Atacama, para su posible proceso de concentración, encontrando a través del análisis mineralógico los principales constituyentes como son cuarzo, feldespato, ilmenita, titanita, rutilo y trazas de circonita, monacita y wolframita (tabla II.2). El trabajo se centra en el aprovechamiento del TiO_2 del mineral que tiene al SiO_2 como componente mayoritario; las pruebas de concentración gravitacional con ángulos de inclinación logran concentrados de 51.4% y recuperación de 21.4% de TiO_2 .

Tabla II.2. Composición química del mineral de hierro (arena negra) de Atacama [16].

Compuesto	SiO_2	CaO	Fe	TiO_2	Zr
%	41.8	19.5	1.4	1.8	0.05

2.3.1. Concentración ferromagnética

Separación que depende de las propiedades magnéticas. Los separadores magnéticos de baja intensidad se usan para concentrar minerales ferro-magnéticos tales como la Fe_3O_4 , mientras que los separadores magnéticos de alta intensidad se usan para separar minerales paramagnéticos de su ganga. La separación magnética es un proceso importante en el beneficio de las menas de hierro, pero también encuentra aplicación en el tratamiento de minerales no ferrosos. Se usa ampliamente para extraer wolframita (FeWO_4) y hematita (Fe_2O_3) de menas de estaño y encuentra considerable aplicación en el procesamiento de minerales no metálicos, tales como los que se encuentran en depósitos de arena en las playas [17].

El trabajo de Vargas *et al.* [18] se centra en la obtención de hierro a partir de arenas negras; éstas fueron concentradas por medio de un separador magnético obteniéndose 54.03% de rendimiento y el resto material de rechazo de un total de 222.1 kg de arena (figura 2.3). El mineral concentrado de acuerdo a los análisis de Fluorescencia de Rayos X (FRX) presentó aproximadamente un 54.72% de Fe_3O_4 , el restante está conformado por varios minerales no metálicos.

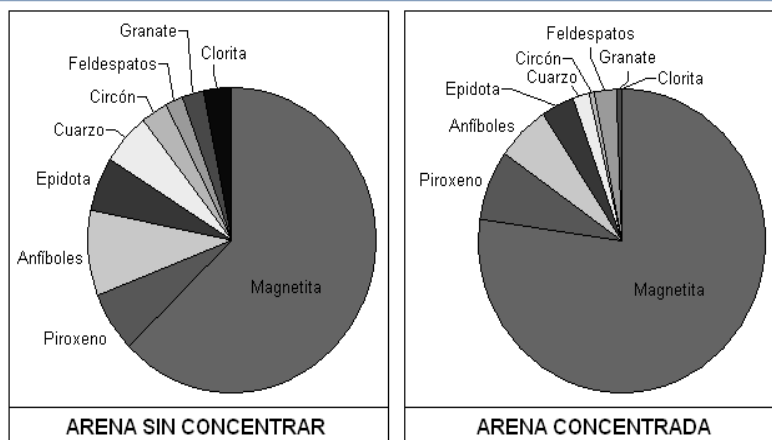


Figura 2.3. Efecto de la separación magnética en el mineral de hierro (arenas negras) [18].

De acuerdo a las micrografías de la Figura 2.4 (a) se observa claramente el óxido metálico (Fe_3O_4) diferenciado por su forma romboédrica. En la Figura 2.4 (b) el material translúcido muestra las especies mineralógicas tales como feldespatos y cloritas las cuales tienen una superficie lisa y escalonada, respectivamente.

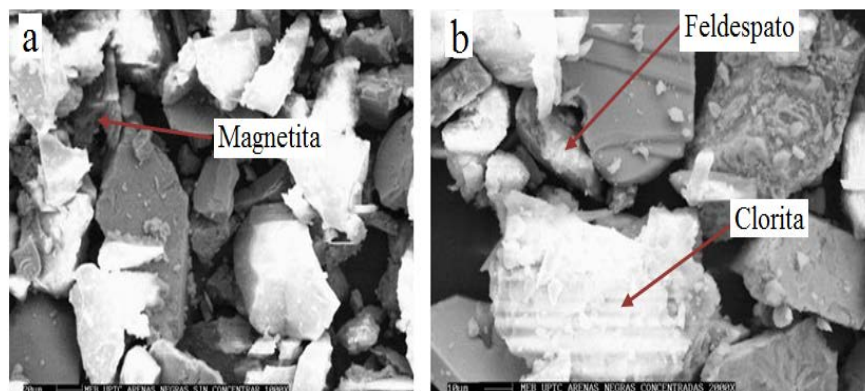


Figura 2.4. Micrografías del mineral de hierro (arenas negras). **a)** Ampliación 1000x sin concentrar; **b)** Ampliación 2000x concentrada [18].

2.4. Reducción carbotérmica

En la operación de reducción carbotérmica de óxidos o minerales, el agente reductor es el carbón. El producto de la reducción puede ser un metal (ej. estaño, zinc), un metal carburizado (ej. hierro) o un carburo (de cromo, manganeso, titanio, zircón o aluminio). La reducción carbotérmica de ilmenita con reducción del óxido de hierro y producción de rutilo es llevada a cabo en hornos rotatorios a 1200°C , lo que requiere un tiempo de reacción de varias horas (8 a 9) para obtener una casi completa reducción de óxido de

hierro (el grado de metalización del hierro llega a alcanzar 93 a 95%). La ilmenita es oxidada cerca de los 1000°C lo que causa la ruptura y expansión que son benéficas para la cinética global para los siguientes pasos de reducción. La separación del hierro del óxido de titanio es realizada por lixiviación [19].

Nuevamente, Vargas *et al.* [18] realizaron una etapa de pelletización con melaza diluida en agua en relación 2:1, después se dividió en dos métodos, al primero se le adicionó coque y se llevó directamente a fusión en el horno de arco eléctrico, sin ningún tipo de tratamiento adicional; para el segundo, los pellets fueron oxidados (hematizados) a 1150°C/4 h para facilitar su reducción, ya que la Fe_3O_4 como tal carece de permeabilidad y es muy densa, posteriormente se llevaron a fusión con adición de coque en el mismo horno.

De acuerdo a la tabla II.3 comparativa de los procesos, ellos determinaron que el material con mejor comportamiento en el horno lo presentó el mineral reducido, ya que el arco eléctrico se formó más rápido debido al grado de metalización de los pellets y por ende se tuvo menor tiempo de permanencia en el mismo. Por otro lado, la mayor producción de escoria en la arena sin tratamiento se le atribuye en gran parte a la melaza presente en los pellets que no se redujo en la hematización.

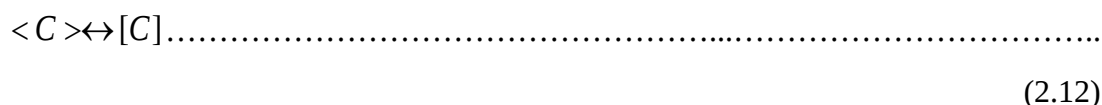
Tabla II.3. Resultados comparativos en el proceso de reducción con y sin hematización [18].

Carga de HAE			Resultados						
Arena (kg)			Adiciones		Metal obtenido (kg)	Composición del metal		Hierro total presente (kg)	Escoria (kg)
			Coque (kg)	CaO (kg)		% Fe	% C		
Concentrada y pelletizada	45.5	Hematizada	4.6	5.3	22.3	96.4	2.03	16.38	16.5
	60	Sin tratamiento	6	7	20	96.6	5.51	14.94	27.5

Los investigadores Yang *et al.* [20] estudiaron el mecanismo isotérmico de la reducción carbotérmica de la Fe_2O_3 a través de la formación de pellets compuesto de hematita-grafito. Las reacciones en estos pellets son clasificadas como reducción directa e indirecta. En la reducción indirecta se tienen las reacciones 2.4, 2.5 y 2.6 acompañadas por la reacción de pérdida de carbono en solución (reacción 2.7) también conocida como reacción de Boudouard.



Para las reducciones directas se presentan las reacciones 2.8, 2.9, 2.10; así como la reacción de la wustita (FeO) con carbono disuelto (reacción 2.11) acompañada por la reacción de carburización (reacción 2.12).



Ellos asumieron que la suma total de la reacción de los óxidos de hierro por el monóxido de carbono (CO) es igual a la suma de la reacción de pérdida de carbono, la reacción global (reacción 2.13) puede ser expresada como:



Por lo que la relación molar de hematita:grafito en la composición de los pellets es 1:3. El grado de reducción (η_R) puede ser definido como la relación de pérdida de masa en el pellet con la pérdida de masa teórica del mismo en el supuesto que la reacción 2.13 es completa. Así, el grado de reducción está dado por la ecuación 1.

$$\eta_R = \frac{W_0 - W_f}{W_0 \times \frac{3M_{CO}}{M_{Fe_2O_3} + 3M_C}} \times 100 \dots\dots\dots \text{Ec. 1}$$

Donde W_0 es la masa del pellet antes de la reducción en gramos, W_f es la masa del pellet después de la reducción en gramos, y M es la masa molecular en gramos/mol.

En la figura 2.5 se muestra los cambios en el grado de reducción del óxido de hierro con el tiempo a diferentes temperaturas. La dependencia del tiempo sobre el grado de reducción a 1323 K representa el comportamiento típico de reducción de los pellets compuesto de hematita:grafito. La curva consiste de tres etapas: en la etapa inicial, la reducción procede relativamente lenta; en la segunda etapa, la velocidad de reducción fue muy rápida; y en la tercera etapa, la reducción procede de forma bastante lenta. A la temperatura de 1473 K, la reducción del óxido de hierro procede muy rápido y decrece ligeramente a 1373 K mientras que a 1323 K se alarga la etapa inicial de reducción notoriamente. Cuando la temperatura fue 1273 y 1173 K, la reducción procede de forma bastante lenta.

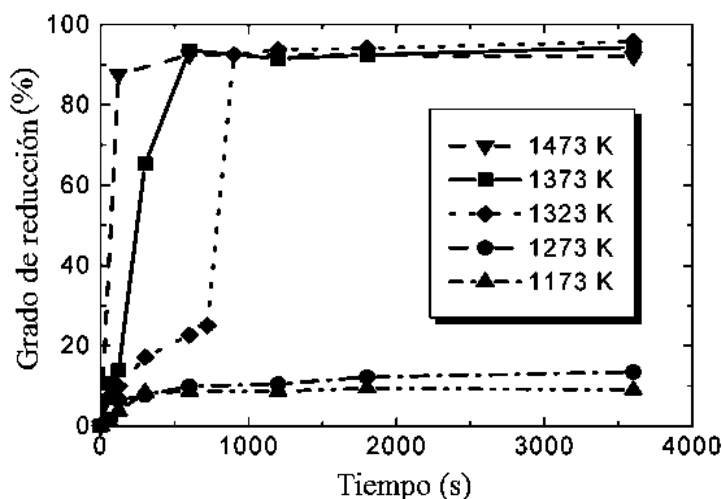


Figura 2.5. Efecto de la temperatura en la velocidad de reducción de la hematita [20].

Las micrografías de los cambios morfológicos de los pellets reducidos a 1373 K obtenidas por Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) se muestran en la figura 2.6, éstas tienen una magnificación de 2000x.

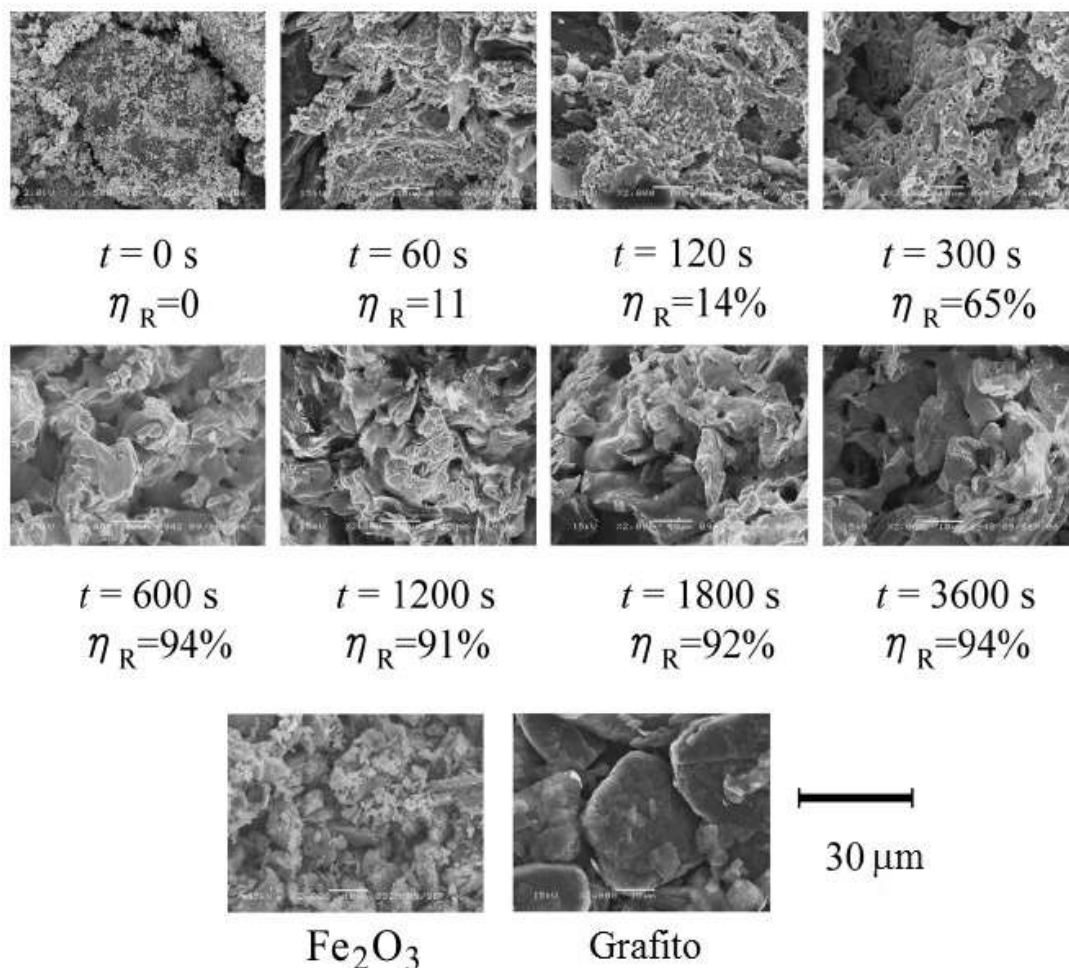


Figura 2.6. Micrografías de los pellets en diferentes estados de reducción a 1373 K [20].

Con el progreso de la reducción, las partículas de grafito se volvieron más pequeñas y aumentó la superficie de las mismas que posteriormente fueron cubiertas por los productos de reducción, lo que rompería el contacto entre la Fe_2O_3 y las partículas de grafito. Por lo tanto, después de un cierto tiempo de ocurrida la reacción, la reducción directa causada por el contacto entre los reactivos no era posible que tuviera lugar. La reducción indirecta y la reacción de pérdida de carbono en solución debieron dominar la velocidad de reducción.

Para clarificar el mecanismo de la reducción carbotérmica de la Fe_2O_3 , los pellets en diferentes estados de reducción fueron analizados con difracción de rayos X (DRX) mostrándose los resultados en la figura 2.7. Antes de la reducción, el difractograma muestra que los pellets están compuestos de Fe_2O_3 y carbono, además es claro que con el progreso de la reducción, las intensidades en los picos de grafito y Fe_2O_3 decrecen, mientras que los picos de Fe_3O_4 , FeO y hierro elemental (Fe) aparecen en su lugar.

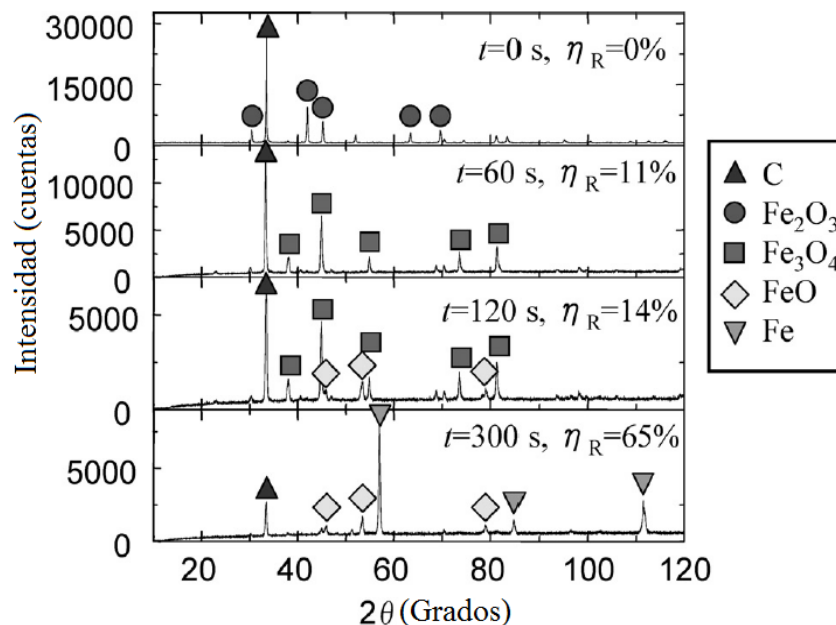


Figura 2.7. Difractogramas de los pellets en diferentes estados de reducción a 1373 K [20].

Por consiguiente, de los resultados del análisis de DRX, la relación de los productos de reacción, temperatura de calentamiento y tiempo de permanencia durante la reducción carbotérmica de la Fe_2O_3 en las condiciones experimentales de este trabajo se muestran en la figura 2.8.

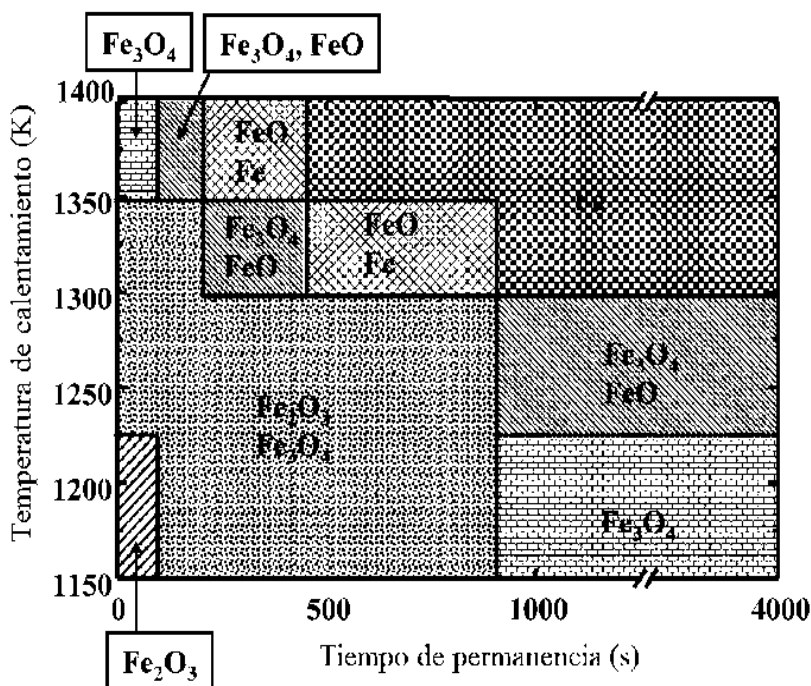


Figura 2.8. Relación de los productos de reacción, temperatura de calentamiento y tiempo de permanencia durante la reducción carbotérmica de la hematita [20].

Por otra parte, el proceso de reducción carbotérmica de la ilmenita (FeTiO_3) activado mecánicamente ha sido estudiado por Welham *et al.* [21] a través de la combinación de técnicas térmicas dinámicas y en estado de equilibrio acopladas con DRX. En este trabajo se analizó la reducción del rutilo puro con el fin de remover el efecto del hierro en los estados tardíos de reacción.

Los difractogramas del polvo reducido carbotérmicamente de FeTiO_3 templado por una hora hasta los 1400°C se muestran en la figura 2.9 (a) donde aparentemente a los 600°C no hay reacción (FeTiO_3 única fase), a los 700°C la reducción del FeTiO_3 es clara con la aparición de los picos de rutilo y hierro elemental. A los 800°C su reducción es completa al no presentar picos característicos.

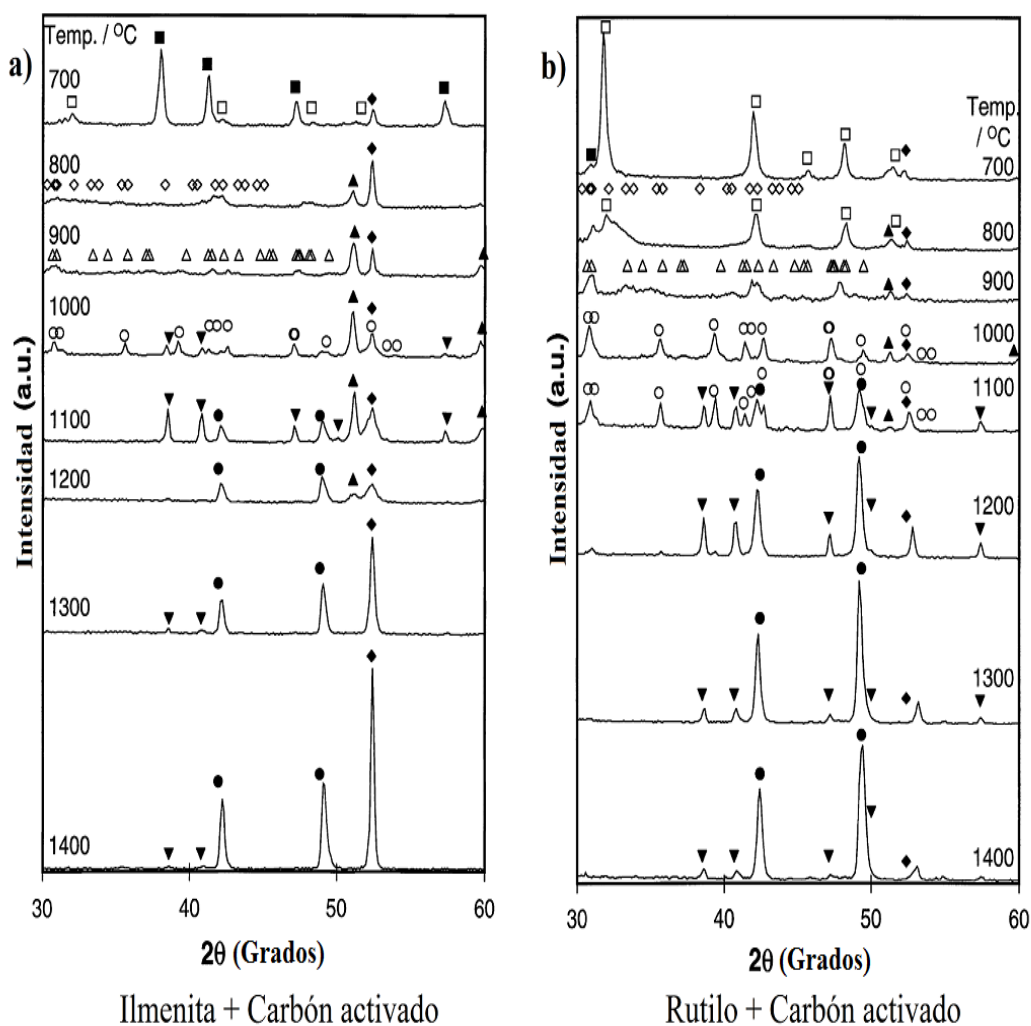


Figura 2.9 a) Difractogramas para los productos obtenidos del templado por 1 h con relación molar 1:4 (ilmenita + carbón activado) en atmósfera de argón. ■ - Ilmenita. b) Difractogramas para los productos obtenidos del templado por 1 h con relación molar 1:3 (rutilo + carbón activado) en atmósfera de argón. ■ - Grafito. Ambos ◆ - hierro; ▲ - Fe, C; □ - rutilo; ◇ - Ti_5O_9 ; △ - Ti_4O_7 ; ○ - Ti_3O_5 ; ▼ - Ti_2O_3 y ● - TiC. [22]

El descenso de intensidad de los picos de rutilo indica la reducción del mismo, sin embargo no se pudieron definir las fases formadas. Para las temperaturas de 900 a 1000°C los productos revelados por los picos de difracción fueron Ti_5O_9 , Ti_4O_7 , Ti_3O_5 y Ti_2O_3 . Ya para los 1100°C se tiene una mezcla de Ti_2O_3 y carburo de titanio (TiC) y para temperaturas $\geq 1200^\circ C$ el pico mayor es de TiC, Fe y picos muy débiles de Ti_2O_3 .

En cuanto al rutilo (figura 2.9 (b)), la reducción no aparece a los 700°C pero a 800°C su pico característico empieza a ensancharse y debilitarse indicando que la reacción ha iniciado. A 900°C no existe el rutilo sino fases posibles como Ti_5O_9 y Ti_4O_7 . Después de una hora a 1000°C predomina Ti_3O_5 , incrementado a 1100°C resultó en la reducción de una parte de Ti_3O_5 en dos fases Ti_2O_3 y TiC. A 1200°C, Ti_3O_5 ha sido completamente reducido y la casi completa reducción de Ti_2O_3 se presenta a 1300°C. Al igual que en el sistema de la $FeTiO_3$, un poco de la fase Ti_2O_3 sigue presentándose después del templado a 1400°C. Además, aumentando el contenido de carbón resulta el TiC la única fase presente.

Las fracciones de hierro y titanio lixiviadas de la molienda de la $FeTiO_3$ producida después del paso de templado se muestran en la figura 2.10; las líneas horizontales representan el grado de lixiviación de hierro y titanio de la molienda pero sin someter el polvo al templado. La disolución de hierro fue del 90% después de 800°C e incremento hasta una disolución casi completa después de los 1000°C. La separación del titanio y hierro es maximizada cuando el TiC y Fe están presentes por arriba de 1200°C.

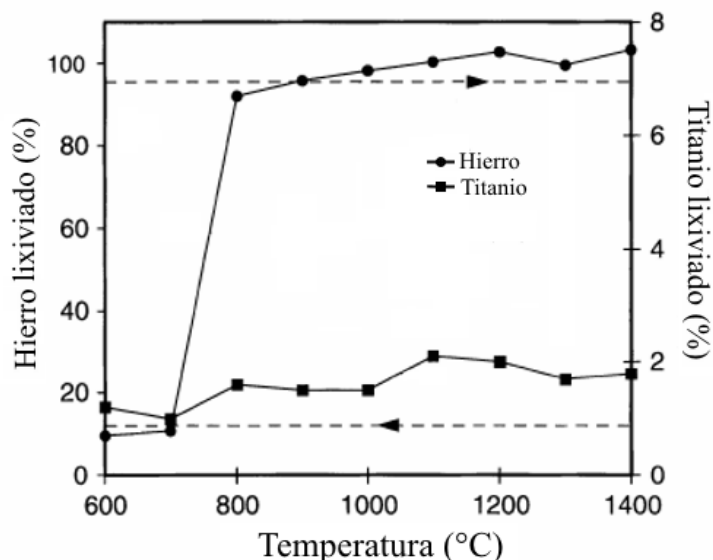


Figura 2.10. Porcentaje de hierro y titanio después de 1 h de templado en una atmósfera de argón con ilmenita + carbono en una relación molar 1:4 [21].

Los investigadores Setoudeh *et al.* [22] estudiaron el efecto de la reducción carbotérmica de las formas anatasa y rutilo del dióxido de titanio en presencia de hierro. El análisis termogravimétrico diferencial indicó una ruta diferente en presencia del hierro observada con una ganancia mínima numérica en la velocidad de pérdida de masa. A través de DRX se indica que el FeTiO_3 se reduce a $\gamma\text{-Ti}_3\text{O}_5$ y finalmente a TiC . El hierro se encuentra estabilizando las fases Ti_3O_5 que estaban ausentes en el sistema libre de hierro, esto se presume que es debido a la sustitución parcial del hierro trivalente por el titanio trivalente.

2.5. Lixiviación microbiana

El conocimiento de los ciclos biogeoquímicos de los elementos como el azufre, hierro y otros elementos, ha llevado a emplear diversos microorganismos en la recuperación de metales de menas de minerales pobres o de baja ley [23]. El término biolixiviación o lixiviación microbiana hace referencia a la conversión de un metal insoluble a uno soluble, y todo ello mediado por la acción de microorganismos. Es por esto, que algunos autores adjudican el sinónimo de biohidrometalurgia a este proceso, de forma análoga a la hidrometalurgia convencional [24, 25].

Debido a la alta eficacia con la que los microorganismos implicados en estos procesos separan al metal de valor del resto de la matriz mineral, se han conseguido realizar explotaciones económicamente rentables a partir de yacimientos con concentraciones de metal tan bajas que por los tradicionales métodos fisicoquímicos de extracción supondrían grandes pérdidas [25]. La implementación de la biohidrometalurgia reduce enormemente los costos de producción: los reactores o pilas de mineral apenas necesitan control; no se precisan las enormes cantidades de energía necesarias para la oxidación y/o reducción del mineral; no hay gastos en la compra de carbón de coque, aluminio, monóxido de carbono, etc., necesarios para reducir los distintos óxidos; no hace falta transportar el material de un lugar a otro, el proceso de recuperación del metal se hace en el mismo sitio y, con algunos procesos, se pueden obtener metales incluso a partir de silicatos [24].

De acuerdo al metabolismo de los microorganismos, la biolixiviación se puede clasificar en dos tipos [25]:

- a) Lixiviación autotrófica (quimiolitotrófica): la mayoría son bacterias acidófilas que fijan el dióxido de carbono (CO_2) y obtienen energía de la oxidación del ion ferroso (Fe^{2+}) o reduciendo compuestos sulfurados. Dentro de las bacterias se incluyen a las sulfuro-oxidantes (*Acidithiobacillus thiooxidans*), hierro-sulfuro-oxidantes (*Acidithiobacillus ferrooxidans*), y hierro-oxidantes (*Leptospirillum ferrooxidans*).
- b) Lixiviación heterotrófica (quimioorganotrófica): estos microorganismos necesitan como fuente de energía compuestos orgánicos para sobrevivir a los procesos de lixiviación. Dentro de esta lixiviación se tiene la aplicación de hongos filamentosos (*Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*) para la producción de ácidos orgánicos los cuales disuelven el mineral; pero también se tiene la presencia de bacterias con alto nivel de aplicación.

Diversas bacterias son capaces de reducir varios aceptores de electrones (Mn^{4+} , ClO_3^- y compuestos orgánicos), especialmente el ion férrico (Fe^{3+}). El Fe^{3+} es un aceptor de electrones para el metabolismo energético tanto para quimioorganotróficas como quimiolitotróficas. Una buena parte de la investigación sobre la energética de reducción del Fe^{3+} se ha llevado a cabo con la bacteria *Shewanella putrefaciens* y otros reductores importantes como son *Geobacter*, *Geospirillum* y *Geovibrio* [26].

2.5.1. *Shewanella putrefaciens*

La clasificación taxonómica de este microorganismo señala que esta especie pertenece al Dominio *Bacteria*, Filum BXII *Proteobacteria*, Clase III *Gamaproteobacteria*, Orden X *Alteromonadales*, Familia I *Alteromonadaceae* y Género XIV *Shewanella* [26, 27]. Los bacilos son Gram negativos rectos o curvos (figura 2.11), móviles por medio de un único flagelo polar que miden cerca de 2 μm de diámetro. Las colonias características tienen forma de cúpulas (convexas), circulares, ligeramente viscosas o mucoides y suelen ser pardo rojizas (agar sangre), blancas (agar soya-tripticosa) o color rosa salomón (agar marino, BHI). Tienen actividad de citocromo oxidasa y producen abundante ácido sulfhídrico en agar hierro de Kligler, lo cual es una característica rara entre los bacilos Gram negativos no fermentadores [28]. Esta bacteria reduce los nitritos a nitratos y da positivas en las pruebas de gelatinasa, ornitina descarboxilasa y ADNasa [29]. *Shewanella putrefaciens* es una bacteria quimioorganotrófica, aerobia facultativa, que puede utilizar un

gran número de azúcares (sacarosa, L-arabinosa, maltosa) además de contar con variaciones bioquímicas en su metabolismo [30].

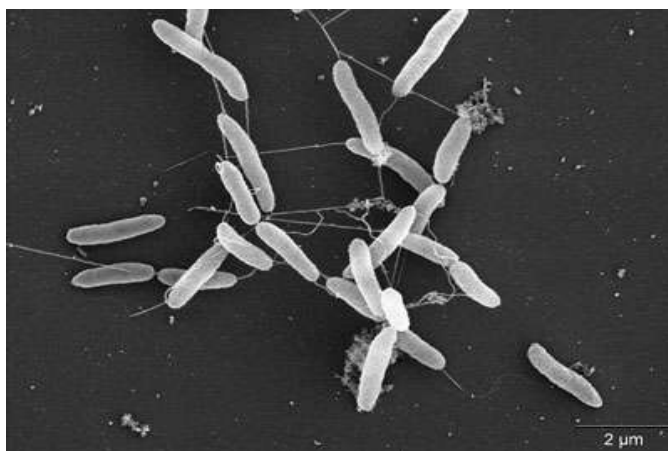


Figura 2.11. Micrografía de *Shewanella putrefaciens* cepa MR-7 [31].

2.5.2. Reducción bacteriana del hierro

En la naturaleza se encuentra, principalmente, como hierro ferroso (Fe II) o hierro férrico (Fe III), siendo generalmente el hierro elemental (Fe) producto de la actividad humana para obtener hierro fundido. Por lo tanto, el ciclo biogeoquímico del hierro queda reducido a la conversión entre las formas Fe (II) y Fe (III), que en función de las condiciones ambientales, puede ser tanto química como biológica. A temperatura ambiente, el único aceptor de electrones capaz de oxidar espontáneamente al Fe^{2+} es el oxígeno molecular (O_2) a pH neutro o básico, ya que a pH ácido el Fe^{2+} es estable [26].

En suelos anóxicos (baja concentración de O_2), el hierro suele encontrarse como Fe (II) y es soluble, mientras que la forma abundante en condiciones aerobias es la del Fe (III), que suele formar hidróxidos insolubles, en este caso hidróxido férrico $[\text{Fe}(\text{OH})_3]$, lo que limita la cantidad de este metal que está realmente disponible [26]; el $\text{Fe}(\text{OH})_3$, por ejemplo, es pobremente cristalino y más soluble que otros minerales con mayor cristalinidad como la hematita (Fe_2O_3). El potencial de $\text{Fe}(\text{OH})_3/\text{Fe}^{2+}$ es por lo tanto significativamente superior que otros, en este caso $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ porque la Fe_2O_3 es un mineral menos soluble. Los agentes quelantes pueden bajar o subir el potencial de reducción dependiendo de sus propiedades, por ejemplo, el citrato liga con mayor fuerza al Fe^{3+} estabilizándolo, de esta manera reduce el potencial de reducción [32].



Algunos microorganismos de ambientes adecuados, como suelos encharcados, tuberías o sedimentos anóxicos de lagos (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes* y otros), así como de ambientes anaerobios (*Geobacter*, *Geovibrio*, *Desulfuromonas*, *Shewanella*) pueden utilizar el Fe^{3+} como aceptor de electrones, consistiendo en una forma importante de respiración anaerobia, sin embargo, poco se sabe de cómo realizan este proceso [26, 32].

La reducción neutrofílica del Fe (III) posee dos principales retos para los microorganismos. Primero, el Fe (III) está generalmente en forma sólida y segundo, diferentes formas de hierro tienen diversas variaciones en los potenciales, algunos de los cuales son bastante bajos, por lo que limitan la energía disponible de la oxidación del carbón orgánico. En este sentido, *Shewanella* crece en compuestos con potenciales extremadamente bajos como es la magnetita (Fe_3O_4). Al usar este sustrato para generar energía al reducir el Fe (III), podría explicar porque *Shewanella* puede tomar ventaja sobre una variedad de compuestos con rango distinto de potenciales que *Geobacter* (otra bacteria reductora) que no presenta esta capacidad adaptativa [32].

El modelo general para el crecimiento heterotrófico de *Shewanella* se muestra en la figura 2.12, donde se observa que los electrones son obtenidos de una pequeña molécula con carbón orgánico (lactato) a través de la reacción redox NAD^+ a NADH. Los electrones del NADH son transferidos a una quinona (proteína intermembranal) por vía común Complejo NADH1, también los protones son translocados al periplasma y por ello crece el gradiente de protones en este sitio. Los protones traslocados reingresan al citoplasma a través de una enzima ATP sintetasa o mediante de otros canales. Los electrones viajan a través de la membrana interna, periplasma y la membrana externa teniendo inmersos varios citocromos multihemo con potenciales traslapados [32].

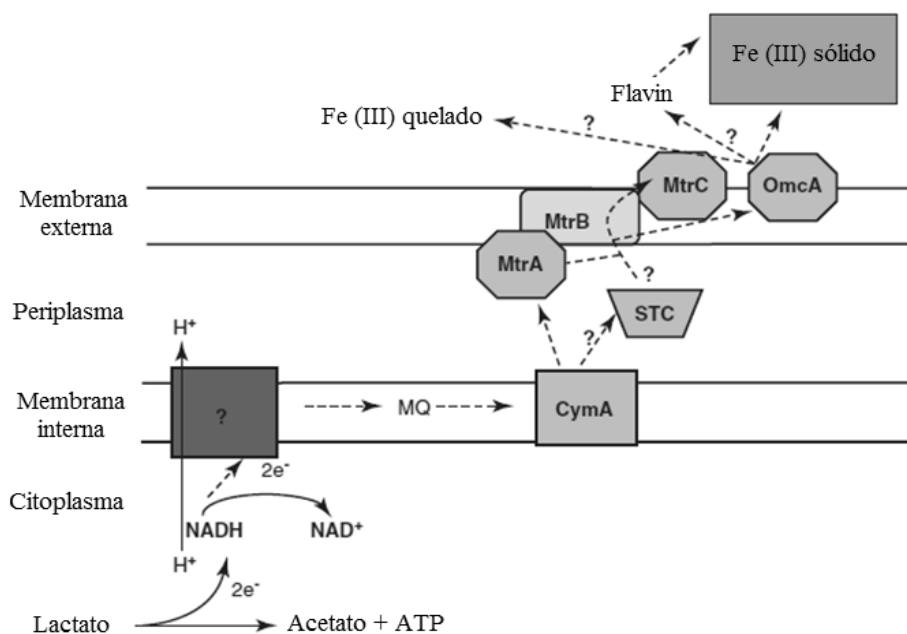


Figura 2.12. Transferencia de electrones del hierro férrico en *Shewanella* sp. Abreviaciones: CymA, MtrA, STC, MtrC, y OmcA, citocromos tipo c; MtrB, proteína de la membrana externa; MQ, menaquinona [32].

Se han sugerido tres mecanismos para la transferencia de electrones desde la membrana externa al Fe (III) del mineral (figura 2.12). Estos mecanismos no se excluyen entre sí y se explican a continuación [32]:

- Directamente desde la membrana externa con un citocromo tipo c (proteína unida covalentemente al grupo hemo c). Sin embargo, en teoría este mecanismo requeriría que la donación de electrones del citocromo sea a una distancia de 20 Å del Fe (III) sólido, limitando severamente el flujo de los electrones dentro de la biopelícula (exopolisácaridos), sugiriendo que otro mecanismo debe entrar en acción.
- Indirectamente por la vía de transportadores de electrones. Como soporte a este mecanismo, *Shewanella* ha mostrado la secreción de riboflavinas y flavinmononucleótidos cuando crece en hierro, fumarato y electrodos [32, 33]. Estos flavines actúan como transportadores de electrones del sólido (oxidantes extracelulares), retornan reducidos a la superficie celular y se reoxidan extracelularmente. Otra solución para la transferencia de electrones sugiere el “nanocableado”, vellosidades largas producidas como extremidades por esta bacteria.
- Indirectamente por la vía de la solubilización del Fe (III) por agentes quelantes orgánicos (restos de quinonas presentes en las sustancias húmicas). Soportando a

este mecanismo ha sido detectado Fe^{3+} en medios de hierro férrico con crecimiento de *Shewanella alga*. Esto ha sido también reportado para las especies *Shewanella putrefaciens* y *oneidensis*.

Los investigadores Dong *et al.* [34] realizaron el trabajo sobre los mecanismos y procesos biogeoquímicos que ocurren durante la reducción de la magnetita (Fe_3O_4) por *Shewanella putrefaciens* cepas CN32 y MR-1. Los experimentos fueron corridos con Fe_3O_4 biogénica y sintética en soluciones bien definidas. La Fe_3O_4 biogénica fue generada vía reducción microbiana de óxido férrico hidratado. Este compuesto fue adicionado a dos soluciones buffer, ion bicarbonato (HCO_3^-) y ácido 1,4-piperazina dietanosulfónico (PIPES), con o sin fósforo, y provista de lactato como donador de electrones. La Fe_3O_4 sintética fue añadida a un medio de cultivo M1 y fue inoculada con las células de cultivo (CN32 o MR-1) siendo el crecimiento aeróbico o anaeróbico. La producción de Fe^{2+} fue determinada por extracción con ácido clorhídrico (HCl) de las muestras biorreducidas en comparación de las muestras control no inoculadas.

En las interacciones entre la Fe_3O_4 biogénica y las células, la reducción inicial procede vía íntima entre éstas últimas y la Fe_3O_4 como se observa en la figura 2.13 (a) y (b), esta reacción se esperaba por la mediación enzimática para la transferencia de electrones hacia los óxidos de hierro, pero el análisis de Espectroscopia de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS, por sus siglas en inglés) de las células dieron picos de composición de Fe_3O_4 , en vez de una composición orgánica (figura 2.13 (c)).

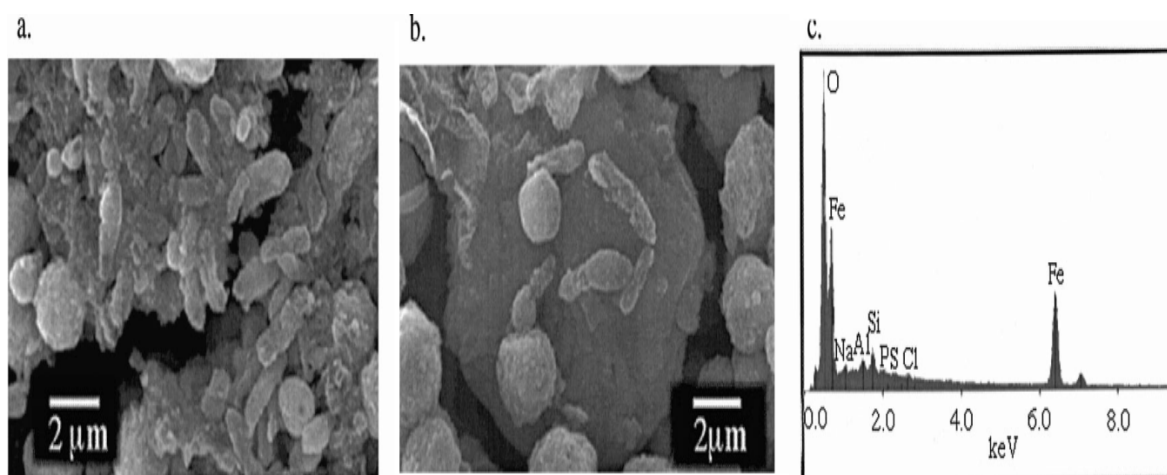


Figura 2.13 a), b) Micrografías de la cepa CN32 sobre magnetita biogénica, **c)** Espectro de EDS sobre estas células revelando que están revestidas por la magnetita [34].

En el control de las soluciones con buffer del HCO_3^- , la Fe_3O_4 fue la única fase sólida observada (figura 2.14 (a)). No obstante, la morfología de la Fe_3O_4 presentó cambios desde el inicio de este experimento, sin embargo se presentan únicamente los del día 7 y 14 de incubación. En la muestra del día 7, la Fe_3O_4 se presentó lo que parece una capa delgada de agregados (figura 2.18 (b)). En la muestra del día 14, la Fe_3O_4 se observan glóbulos, formados por agregados cristalinos individuales de tamaño nanométrico (figura 2.18 (c)).

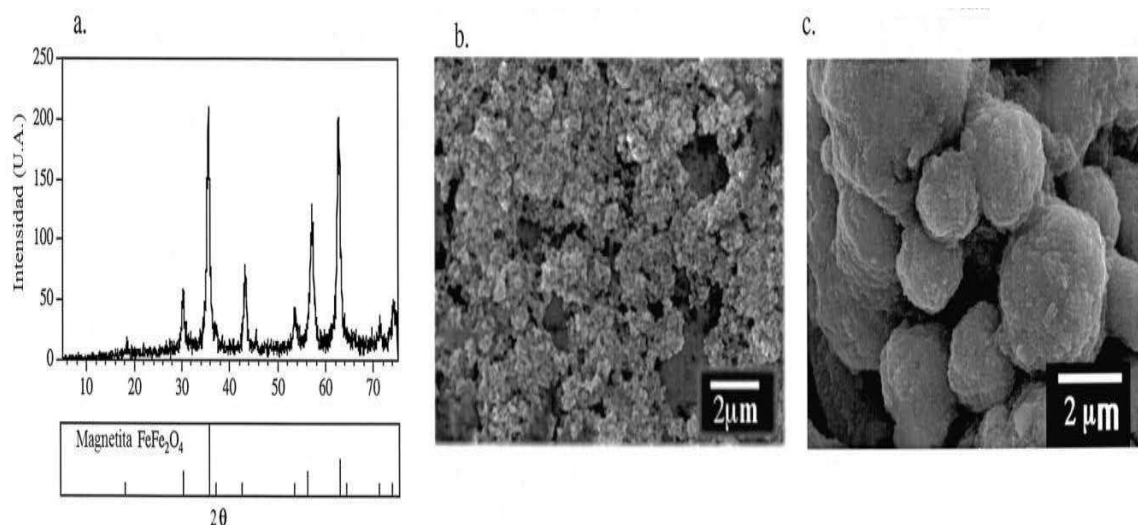


Figura 2.14 a) Difractograma del control con buffer de bicarbonato, b) y c) Micrografías de las muestras control de los días 7 y 14, respectivamente [34].

En la solución con buffer del HCO_3^- sin fósforo, la siderita (FeCO_3) y Fe_3O_4 fueron las fases sólidas predominantes después de la incubación (figura 2.15). En el medio con buffer del HCO_3^- con fósforo, con el análisis de DRX se detectó la presencia de siderita, vivianita y Fe_3O_4 no reducida.

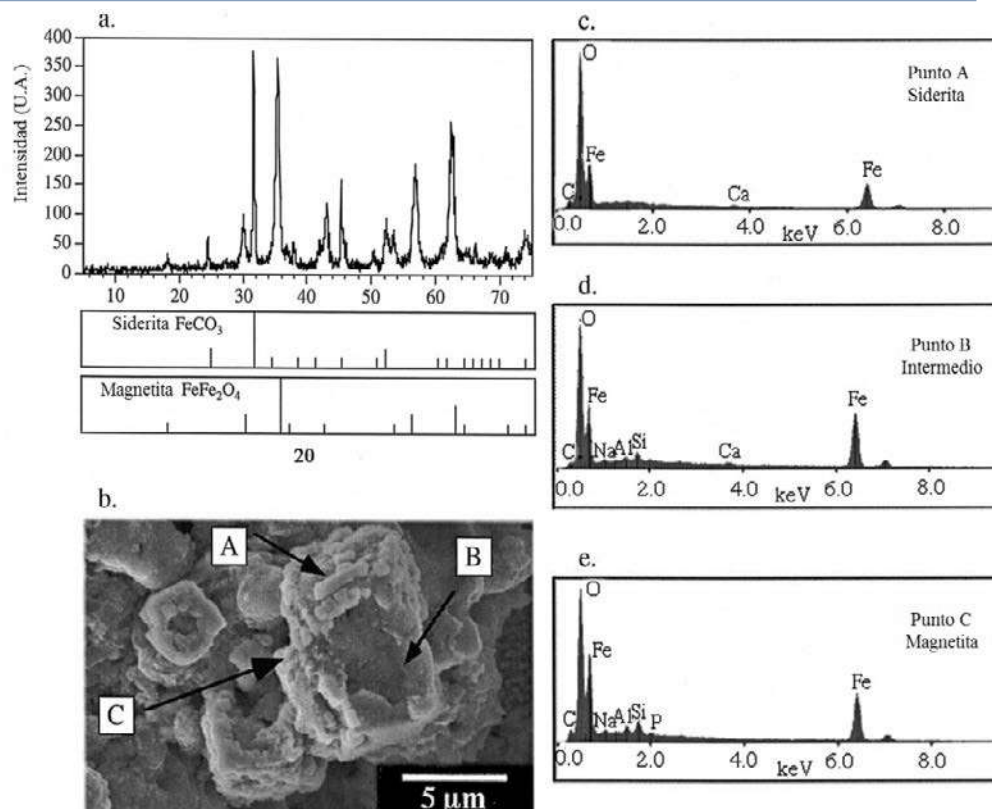


Figura 2.15 a) Difractograma del mineral sólido del medio con buffer de bicarbonato, b) Micrografía donde se observa la siderita precipitada en la base de la magnetita, c), d) y e) Espectros de EDS de los tres puntos mostrados en la micrografía observándose diferentes composiciones [34].

En las soluciones con buffer PIPES, durante la incubación (14 días) la morfología de la Fe_3O_4 cambio dramáticamente de una película delgada de agregados a los 7 días (figura 2.16 (b)) hasta esferas individuales de 2 μm a los 14 días (figura 2.16 (c)).

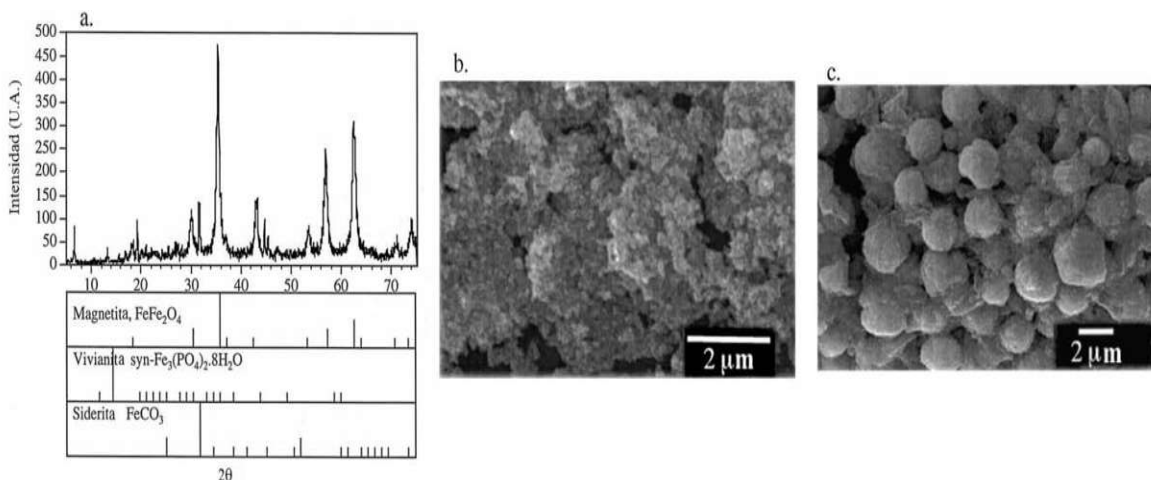


Figura 2.16 a) Difractograma del mineral sólido del medio con buffer PIPES, b) y c) Micrografías que muestran el cambio morfológico de la magnetita a los 7 y 14 días, respectivamente [34].

Ahora bien, con los productos minerales de la Fe_3O_4 sintética reducida con las cepas CN32 y MR-1, se tiene que la Fe_3O_4 obtenida presentó alta cristalinidad observándose con el pico característico de gran intensidad del difractograma (figura 2.17 (a) y (b)). Después de la reducción, la Fe_3O_4 es el residuo mineral dominante en la fase sólida, con varias cantidades de vivianita en diferentes tratamientos. El cultivo de las células CN32 de forma aeróbica (figura 2.17 (c)), producen una cantidad pequeña de vivianita; mientras que esta fase no se pudo observar en el MEB en el tratamiento anaeróbico de la cepa MR-1 pero sí en el aeróbico, detectándose por DRX una ligera cantidad de vivianita (figura 2.17 (b) y (d)).

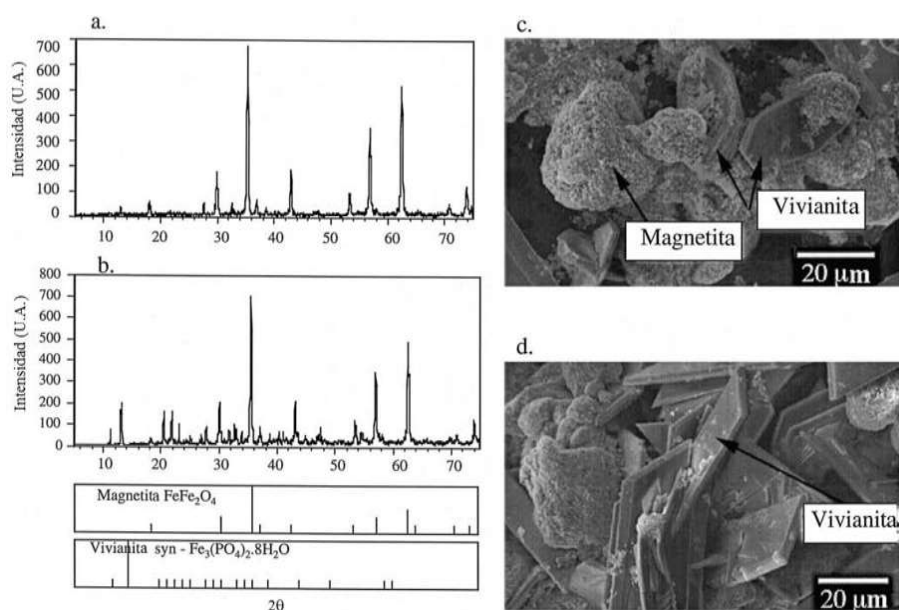


Figura 2.17 a) y b) Difractogramas del mineral sólido del tratamiento aeróbico con las cepas CN32 y MR-1, respectivamente en magnetita sintética, **c)** Micrografía de la vivianita y magnetita no reducida con la cepa CN32, **d)** Micrografía de la vivianita y magnetita no reducida con la cepa MR-1 [34].

La espectroscopia de Mössbauer de transmisión del isótopo de hierro 57 (^{57}Fe) fue empleada para caracterizar la naturaleza de la Fe_3O_4 sintética antes y después de la biorreducción y para identificar la naturaleza de cualquier mineral biogénico de Fe (II) formado. Mössbauer es una técnica muy sensible y específica del hierro con mayor sensibilidad que DRX; pequeñas cantidades de hierro, tan bajas como el 1% en peso es identificable por esta técnica. En contraste con DRX, ésta provee información sobre compuestos que no exhiben un orden estructural de rango alto (materiales pobremente cristalinos).

Un modelo cinético para la reducción microbiana de coloides de oxi-hidróxidos de Fe (III) en exceso de donador de electrones fue investigado por Bonneville *et al.* [35]. El modelo asume dos pasos en el mecanismo: 1) acoplamiento del coloide de Fe (III) a la superficie celular y 2) reducción del Fe (III) fijado en la superficie del coloide acoplado. La validez del modelo fue probada usando *Shewanella putrefaciens* como modelo desasimilatorio de reducción bacteriana de hierro y nanohematita (partículas coloidales de Fe (III)).

El modelo conceptual para la reducción del Fe (III) coloidal por *Shewanella putrefaciens* se ilustra en la figura 2.18. La reducción se asume que ocurre por vía de transferencia de electrones desde las reductasas (citocromos) unidas a la membrana hacia los centros cercanos de Fe (III) de la superficie acoplados a los coloides férricos. La reducción del Fe (III) de campo lejano que involucra transportadores de electrones solubles no fue considerada en el modelo. Por lo tanto, la velocidad de reducción total podría reflejar la abundancia de Fe (III) coloidal directamente unido a las células bacterianas.

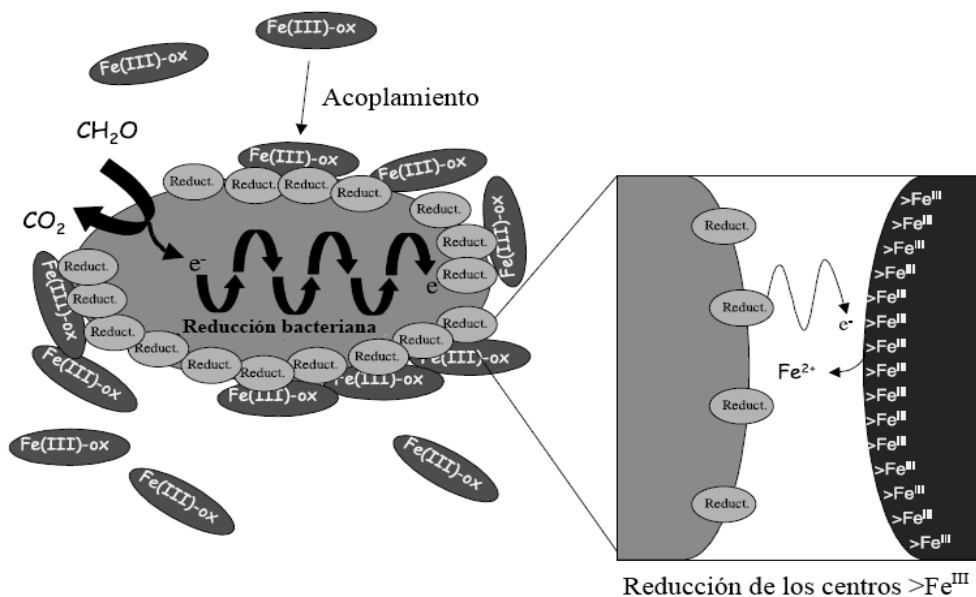


Figura 2.18. Modelo conceptual de la reducción del Fe (III) coloidal por *Shewanella putrefaciens*.
Abreviaturas: Fe (III)-ox, Coloides férricos; Reduct., Reductasas [35].

Los resultados de los 25 experimentos individuales de acoplamiento son resumidos en la figura 2.19; una baja relación de mineral y células ($<5 \times 10^{-10}$ $\mu\text{mol Fe (III)}/\text{células}$), del orden de 90% de la nanohematita fue asociada con la bacteria. Con el incremento de la

carga del mineral, la cantidad de células normalizadas acopladas a la nanohematita alcanzó finalmente un valor máximo. Se observa la saturación de las células con nanohematita para tres densidades bacterianas que pueden coincidir con la isoterma de Langmuir (figura 2.19) con valores promedio para la constante de acoplamiento, K_p , de $2.0 \times 10^{-2} \text{ L}/\mu\text{mol Fe(III)}$ y la capacidad máxima de acoplamiento sobre las células, M_{max} , de $1.1 \times 10^{-9} \mu\text{mol Fe(III)}/\text{célula}$.

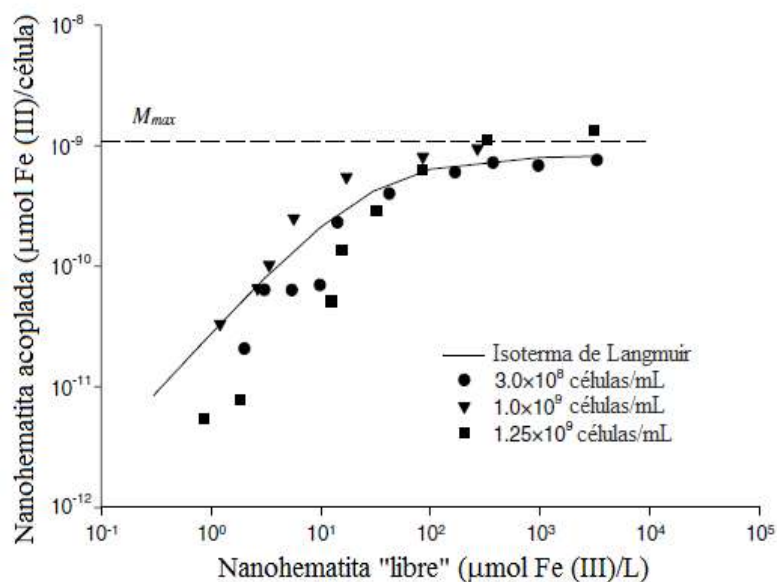


Figura 2.19. Acoplamiento de nanohematita sobre *S. putrefaciens*, tras la exposición de tres densidades bacterianas (3×10^8 , 1×10^9 , 1.25×10^9 células/mL) en el rango de concentración total de nanohematita (de 25 a 2820 $\mu\text{mol Fe(III)}/\text{L}$) en 5 mM NaCl, a pH 5 [35].

La figura 2.19 muestra que la pendiente de la cinética de acoplamiento fue rápida con un ligero cambio en los primeros 10 minutos en la concentración de la nanohematita en el límite celular. Además, en todos los 21 experimentos de desprendimiento, menos del 10% de nanohematita se recuperó en los filtrados después de 24 h, independientemente del pH del medio (intervalo de pH 5-9). Sin embargo, en condiciones ácidas (pH 5-6), no se encontró ninguna evidencia de la coagulación de nanohematita. Por lo tanto, se sugiere la retención de nanohematita en los filtros que refleja probablemente que el mineral queda unido a la célula.

La isoterma de Langmuir provee una adecuada descripción macroscópica del acoplamiento de la nanohematita en *Shewanella putrefaciens* a pH 5 (figura 2.19). La progresiva cobertura celular por la nanohematita debida al aumento en la carga del mineral

también es aparente en las micrografías de transmisión de las células expuestas a concentraciones variables de nanohematita (figura 2.20). Como se puede observar, para muy altas proporciones entre nanohematita y células, éstas últimas son rodeadas por una capa casi continua de coloides acoplados de Fe (III).

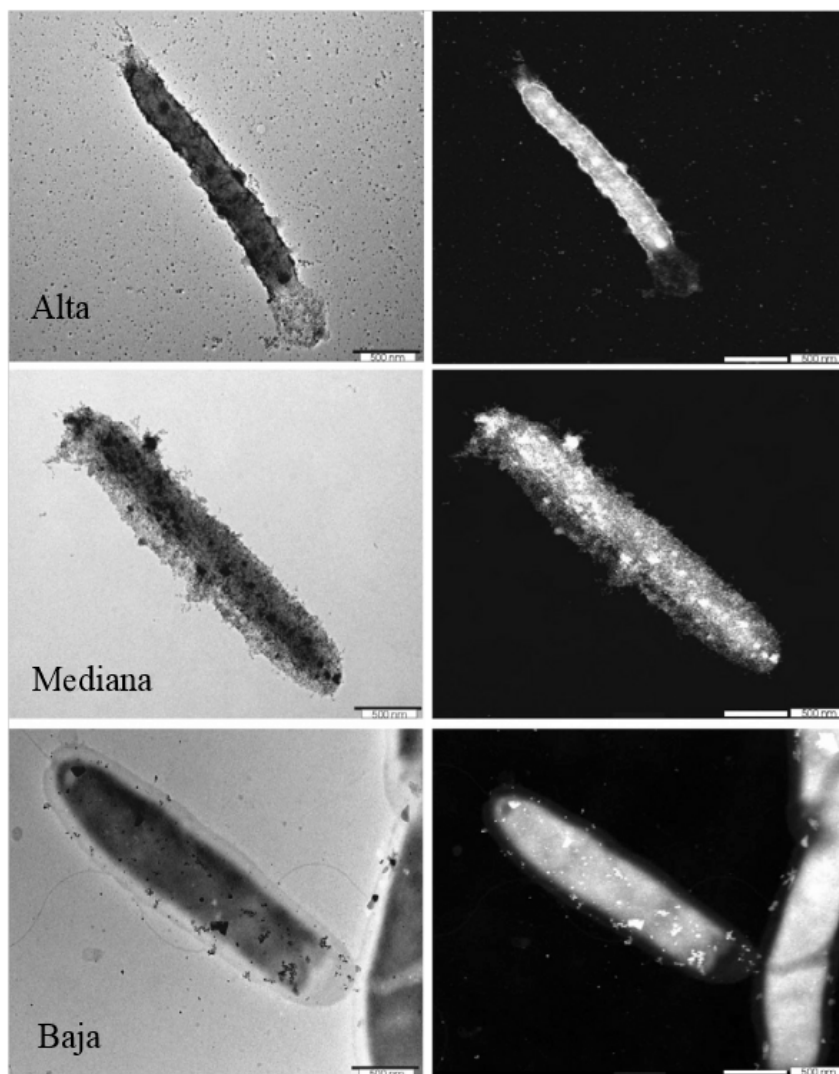


Figura 2.20. Micrografías MET (derecha) y METB (izquierda) de células de *Shewanella putrefaciens* que fueron expuestas a 20 (Baja), 100 (Mediana), y 500 (Alta) $\mu\text{mol/L}$ de nanohematita (densidad celular = 2×10^8 células/mL, a pH 5) [35].

Taillefert *et al.* [36] estudiaron el mecanismo de reducción del Fe (III) usando técnicas de voltametría en incubaciones anaeróbicas de *Shewanella putrefaciens* cepa 200 suplementado con citrato férrico o un conjunto de óxidos férricos como aceptores de electrones. Los resultados indican que los complejos orgánicos de Fe (III) se producen



durante la reducción del mismo a tasas que se correlacionan con la reactividad de la fase férrica y la densidad bacteriana. La actividad de solubilización anaeróbica de Fe (III) se detecta en ambos sistemas experimentales, lo que sugiere que el ligando orgánico producido es lo suficientemente fuerte como para desestabilizar el Fe (III) a partir del hierro soluble o sólido. Los resultados también demuestran que la disolución del Fe (III) a partir del óxido no está regida por la naturaleza química de los mismos. En lugar de ello, la reacción química entre el ligando orgánico endógeno sólo se ve afectada por el número de sitios reactivos disponibles en la superficie *Shewanella putrefaciens*. Este informe describe la primera aplicación de técnicas de voltametría para demostrar la producción de complejos orgánicos-Fe (III) solubles por cualquier microorganismo reductor del Fe (III) y es el primer informe de un ligando solubilizador del Fe (III) generado por un miembro metálico-reductor del género *Shewanella*.

El cultivo de *Shewanella putrefaciens* en una serie de diez compuestos alternativos como únicos aceptores de electrones fue estudiado por Blakeney *et al.* [37]. Cada tipo de cultivo se analizó para la actividad férrico-reductora, diferencia de absorbancia máxima menos el espectro de óxido-reducción y el contenido de proteína que posee el grupo Hemo. Se encontró alta tasa de actividad férrico-reductora, absorbancias máximas a 521 y 551 nm y una proteína de 29.3 kDa (kilodaltons) que contiene principalmente el grupo Hemo expresada por las células cultivadas en Fe (III), Mn (IV), U (VI), SO_3^{2-} $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, pero no por las células cultivadas en O_2 , NO_3^- , NO_2^- , trietilamina N-óxido o fumarato. Estos resultados sugieren que la actividad microbiana de reducción del Fe (III) se ve reforzada por el crecimiento anaeróbico en metales y compuestos de azufre, sin embargo, se limita en los demás aceptores de electrones.

Dollhopf *et al.* [38] utilizaron microelectrodos de estado sólido Au/Hg *in situ* para analizar Fe (II) y Mn (II) disuelto, liberados a partir de Fe (III) perteneciente a (oxi)hidróxidos y MnO_2 durante la reducción por cepas de *Shewanella putrefaciens*, en particular la cepa del Mar Negro, MR-4. Las diferentes cepas (comunes a los ambientes de agua dulce o agua de mar) mostraron un retraso en la liberación de Mn (II) pero una constante de velocidad de primer orden similar para su producción. Estos datos sugieren que todas las cepas utilizan un sistema de enzima común. Un aumento en la cantidad inicial de células añadidas a la fase sólida mostró un aumento que no fue lineal con la

concentración inicial de células, lo que indica efectos de limitación de la superficie. El citrato férrico se redujo más rápido que el $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y que el alfa-oxihidróxido de hierro ($\alpha\text{-FeOOH}$). La adición de nitrato a los cultivos inhibe tanto la reducción del Mn (IV) como la del Fe (III). Estos datos indican que la reducción del óxido metálico debe ser un proceso importante cuando las concentraciones de nitratos y oxígeno son bajas.

2.6. Lixiviación tradicional (hidrometalurgia)

Este campo de la metalurgia comprende toda una serie de procesos cuya característica común es la utilización de agua o de disoluciones acuosas para la preconcentración y extracción de los metales contenidos en los minerales. El caso de la lixiviación o también denominada disolución, que debe hacerse con los disolventes más idóneos en cada caso, siendo el agua el más económico. Según el reactivo empleado se hablará de disolución sulfúrica, clorhídrica, cáustica, cianhídrica, amoniacal, etc., dependiendo de los compuestos químicos que reaccionan con la solución lixiviante.

La lixiviación puede hacerse a presión atmosférica o a simple presión, enriquecida o no con gas, ejemplo oxígeno, para favorecer la disolución (prueba de botella). La lixiviación se realiza a temperatura ambiente o con calentamiento, también en riego “in situ” hasta en tanques con agitación mecánica o neumática, en este último la disolución es más rápida y eficaz. Una vez disuelto el metal del que se trate, se prepara la solución preñada para la extracción del mismo, lo que exigirá, según el caso, la purificación o concentración del metal [1].

Los investigadores Chen *et al.* [39] han desarrollado un proceso novedoso para recuperar hierro, titanio y vanadio a partir de concentrados de titanio-magnetita. Ellos realizaron un tratamiento a las arenas oxidadas con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) y un proceso de lixiviación con agua.

Las arenas ricas en titanio y vanadio fueron caracterizadas por espectroscopia de emisión óptica acoplada a inducción por plasma (ICP-OES, por sus siglas en inglés) cuyos resultados se muestran en la tabla II.4. En el análisis de DRX de la figura 2.21 se tienen las principales fases cristalinas del mineral que son anasovita (MgTi_2O_5 y M_3O_5 , $\text{M} = \text{Ti, Fe, Mg}$), hierro metálico, Fe_3O_4 y pequeñas cantidades de dióxido de silicio.

Tabla II.4. Composición química de la arena rica en titanio y vanadio (% en peso) [39].

Compuesto	Fe	TiO ₂	MgO	Al ₂ O ₃	CaO	MnO	SiO ₂	V ₂ O ₅
%	12.1	44.5	11.1	4.1	6.3	0.54	2.1	1.03

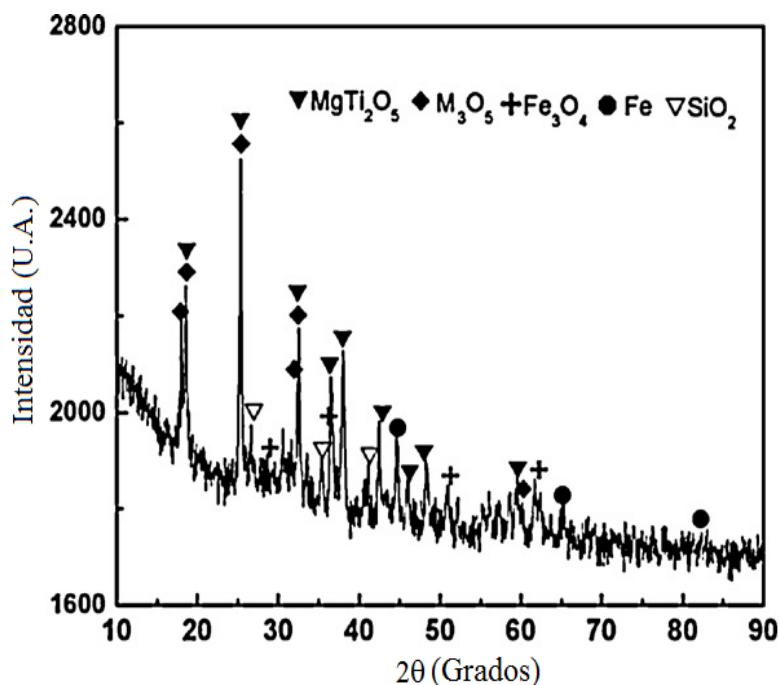


Figura 2.21. Difractograma de la arena rica en titanio y vanadio [39].

En la figura 2.22 se observa el comportamiento del mineral y la sal de NaOH en relación 1:1 y una temperatura de 500°C indicando que los picos de Fe₃O₄ y Na₂TiO₃ aparecen pero los de MgTi₂O₅ decrecen a los 10 minutos. Esto puede atribuirse al hierro metálico que fue oxidado a magnetita y que el MgTi₂O₅ fue convertido a Na₂TiO₃. Para los 30 minutos, la fase NaMO₂ apareció y los picos de Na₂TiO₃ se volvieron más intensos, mientras que las fases de hierro metálico y M₃O₅ desaparecen por completo; esto puede atribuirse a que el M₃O₅ fue convertido a la fase NaMO₂. Cuando el tiempo de tostado aumentó a 60 y posteriormente a 90 minutos, los picos de NaMO₂ se vuelven más intensos, mientras que los correspondientes a Na₂TiO₃ se vuelven débiles, y ya no hay formación de nuevas fases.

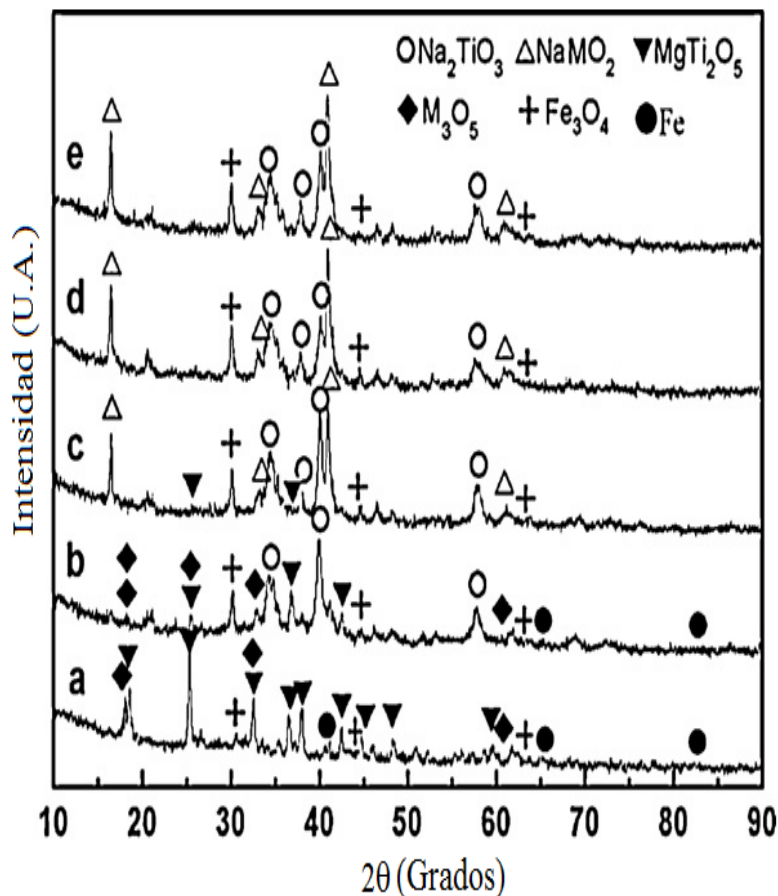


Figura 2.22. Difractogramas de la muestra obtenida a 500°C a diferentes tiempos de oxidación; **a)** Arena inicial, **b), c), d), e)** Oxidado a 10 min, 30 min, 60 min, y 90 min, respectivamente [39].

Para el proceso de lixiviado con agua se estudiaron los efectos de temperatura, tiempo, relación líquido-sólido y tamaño de partícula (figura 2.23 (a), (b), (c), y (d)), y se observó que el vanadio presentó un comportamiento estable en todos los rangos de los parámetros, los cuales fueron 30 a 100°C proponiendo 50°C como temperatura óptima; 5 a 60 minutos donde rápidamente el vanadio pasó a solución. Mientras que los últimos dos parámetros (2 a 7 en relación líquido-sólido y 44 a 180 μm en tamaño de partícula) no tuvieron efecto significativo en la lixiviación del vanadio. Esto se puede explicar debido a que la sal sódica de vanadio presenta una gran solubilidad en agua.

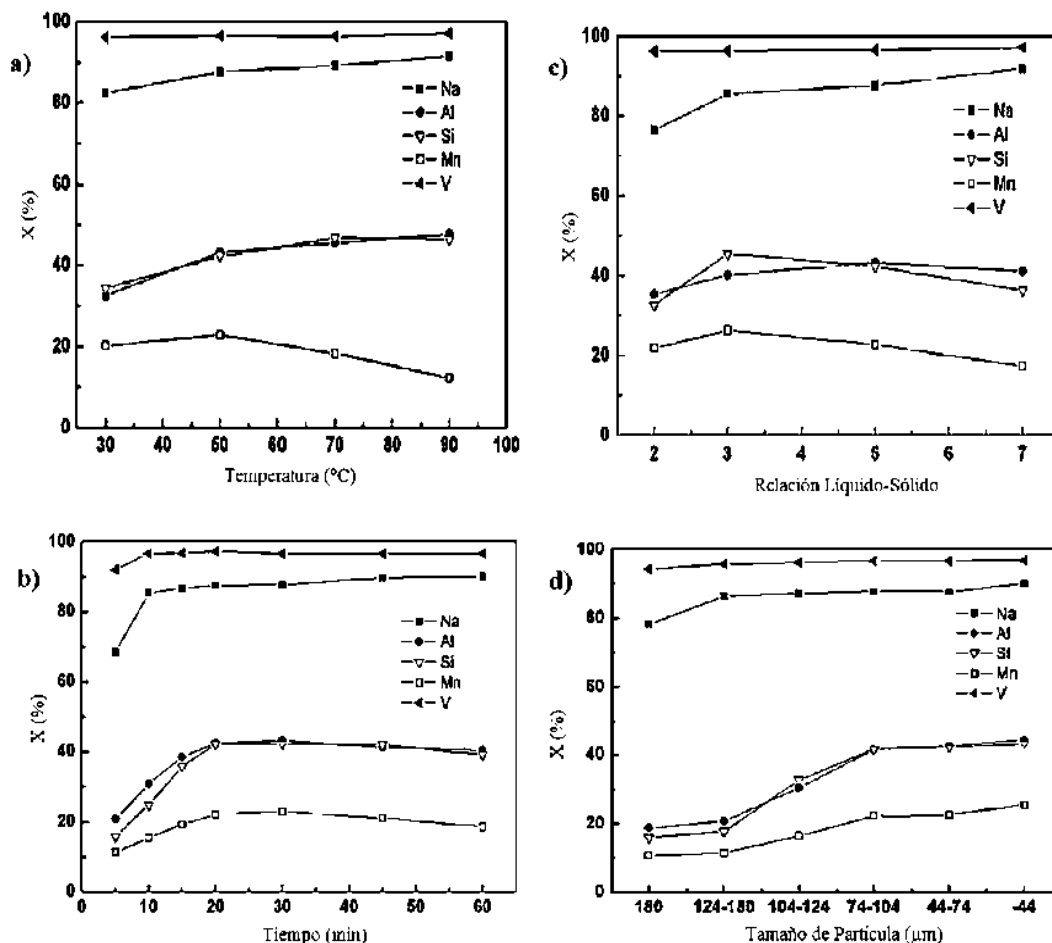


Figura 2.23 a) Efecto de la temperatura, b) Efecto del tiempo, c) Efecto de la relación líquido-sólido y d) Efecto del tamaño de partícula en el proceso de lixiviación [39].

La tabla II.5 muestra la composición final de un lixiviado a 50°C/20 min con una relación líquido-sólido de 5:1 y tamaño de partícula < 104 μm. Los componentes notables de titanio al final de la lixiviación fueron H_2TiO_3 y HMO_3 ($M = Ti^{4+}, Mg^{2+}, Fe^{3+}$), los cuales fueron disueltos en ácido sulfúrico (H_2SO_4) para producir $TiOSO_4$, $MgSO_4$ y $Fe_2(SO_4)_3$, y posteriormente fueron purificados por hidrólisis térmica para precipitar el H_2TiO_3 . El precipitado fue lavado para eliminar la mayor cantidad de impurezas y después se mantuvo a 800°C para obtener el dióxido de titanio (TiO_2) teniendo como fase cristalina la anatasa. La micrografía (figura 2.24) muestra que el TiO_2 tiene un tamaño de partícula homogéneo alrededor de 0.2 μm. Este precipitado puede ser usado como pigmento después de un tratamiento posterior.

Tabla II.5. Composición química final de la muestra lixiviada (% en peso) [39].

Compuesto	Fe	Na ₂ O	TiO ₂	MgO	Al ₂ O ₃	CaO	MnO	SiO ₂	V ₂ O ₅
%	15.9	9.2	47.1	9.83	1.91	6.2	1.27	0.44	0.036

a)

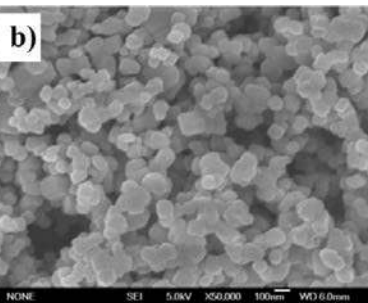
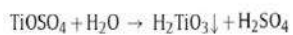
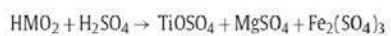
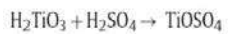


Figura 2.24 a) Reacciones propuestas para la formación de H_2TiO_4 sólido; **b)** Micrografía del dióxido de titanio obtenido [39].

Capítulo III MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se presentan los materiales y técnicas que se emplearon en el desarrollo de la investigación de este proyecto. En la figura 3.1 se muestra de manera resumida el procedimiento general de experimentación.

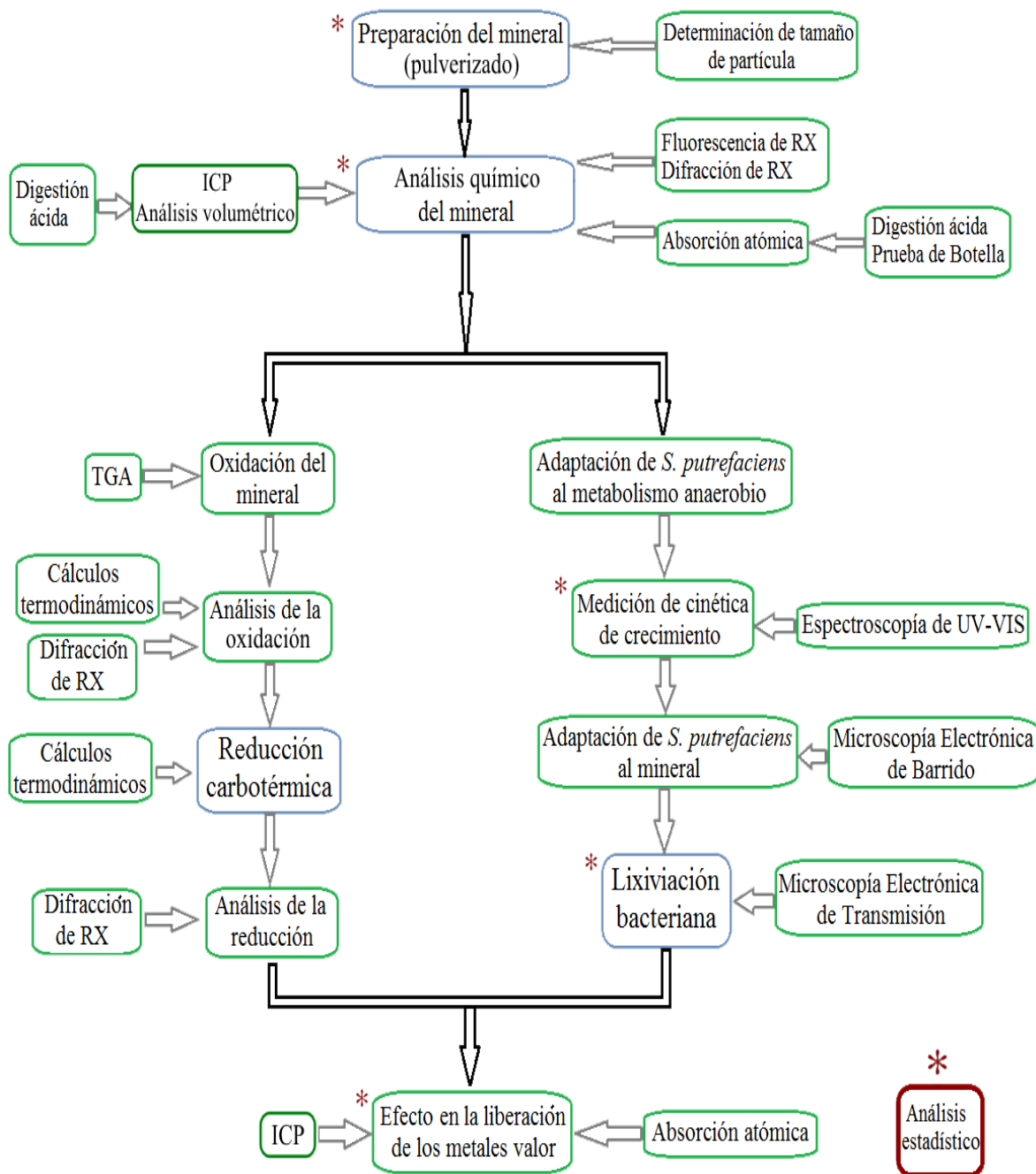


Figura 3.1. Diagrama general del desarrollo experimental.

3.1. Preparación del mineral

El mineral de hierro (arenas negras) fue sometido a una etapa de concentración magnética en La Saladita, Guerrero. Una vez traído al Departamento de Metalurgia Extractiva de este Instituto se revisaron las condiciones iniciales, las muestras obtenidas contenían humedad, por lo que fueron secadas directamente al sol por 6 h con mezclado periódico. Posteriormente se mezcló vigorosamente y se realizó el método de cuarteo para obtener una muestra representativa de 1 kilogramo de mineral.

La muestra fue pulverizada con el objeto de reducir el tamaño de partícula y liberar especies metálicas en el pulverizador de plato con disco de acero en su interior que por choque y fricción fragmentan la partícula. El procedimiento consistió en colocar ~150 g de mineral en el equipo durante 2 minutos de tratamiento, se continúa agregando mineral hasta completar el kilogramo de muestra. Después se determinó el tamaño de partícula en el equipo COULTER LS100Q (que utiliza el método de dispersión de luz y tiene un rango de detección de 0.4 a 1000 μm).

Finalmente se realizó el tamizado de la muestra a 100 g tanto del mineral de llegada como el pulverizado utilizando los tamices estándar Tyler: 70, 100, 200 y 270, obteniendo concentrados de tamaño de partículas de 212, 150, 75, 53 y <53 μm .

3.2. Análisis químico del mineral

Para este análisis se utilizó muestras con tamaño de partícula >75 μm , para ello fue necesario determinar la composición química empleando las técnicas de fluorescencia de rayos X (FRX, Spectro Xepos AMETEK, con tubo de rayos-X a 50 W y ventana de paladio), posteriormente a través de difracción de rayos X (DRX, SIEMENS D5000, con radiación monocromática de cobre de 40kV a 40mA, y una velocidad de barrido de 0.02 grados por 0.6 segundos en escala 2θ) se determinaron las estructuras cristalinas de los elementos principales. Así mismo se realizó su observación por microscopia electrónica de barrido de emisión de campo (MEB, JEOL JSM-7600F FEG-SEM, con porta-muestras de Cu/Zn, para fijar película de cobre y metalizado con cobre, corrida en el modo de electrones secundarios (SEI, por sus siglas en inglés, ángulo normal) y electrones

retrodispersados (BSE-COMPO, por sus siglas en inglés, ángulo normal). Estos mismos parámetros fueron utilizados en todo el desarrollo de la investigación.

La determinación de oro, plata y hierro se realizó por de vía húmeda, esto es, se montaron por separado digestiones ácidas del mineral. A 0.5 g de muestra se agregó la mezcla ácida de 2 mL de ácido nítrico (HNO_3) más 6 mL de ácido clorhídrico (HCl) conocida como agua regia (la cual es un reactivo específico para disolver oro y otros metales [40]) con la adición de 1 mL de ácido tetrafluorobórico (HF_4B , que disuelve la sílice [40, 41]). La segunda digestión consistió en colocar 0.25 g de muestra en 9 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), la cual se requirió para cuantificar el hierro en una técnica volumétrica posterior [42]. Los componentes del mineral se disolvieron en un volumen de aforo de 50 mL y posteriormente se cuantificaron en el equipo de absorción atómica (PERKIN ELMER 3100, la curva estándar se obtuvo utilizando soluciones patrón de cada elemento). Los elementos oro y plata se determinaron de forma directa mientras que para el hierro fue necesario realizar diluciones.

La cuantificación elemental de oro, plata, titanio, vanadio y hierro se aplicó la técnica de espectroscopia de emisión óptica acoplada a inducción por plasma (ICP-OES, por sus siglas en inglés), realizándose en el equipo a cargo del Dr. Ciro Eliseo Márquez Herrera de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La proporción de hierro y su estado de oxidación se determinó usando la técnica de permanganometría que consta de tres etapas analíticas [42], la primera etapa fue la cuantificación del hierro total obtenido en la digestión con agua regia adicionada con HF_4B ; la segunda etapa fue determinar el ion ferroso presente en la digestión con H_2SO_4 . Finalmente, en la tercera etapa se calculó ion férrico al restar el ion ferroso del hierro total [31]. El material empleado fue un matraz Erlenmeyer, bureta graduada y un soporte universal (figura 3.2 (a)), en la figura 3.2 (b) se muestra el color rosa-durazno obtenido en el punto final de titulación.

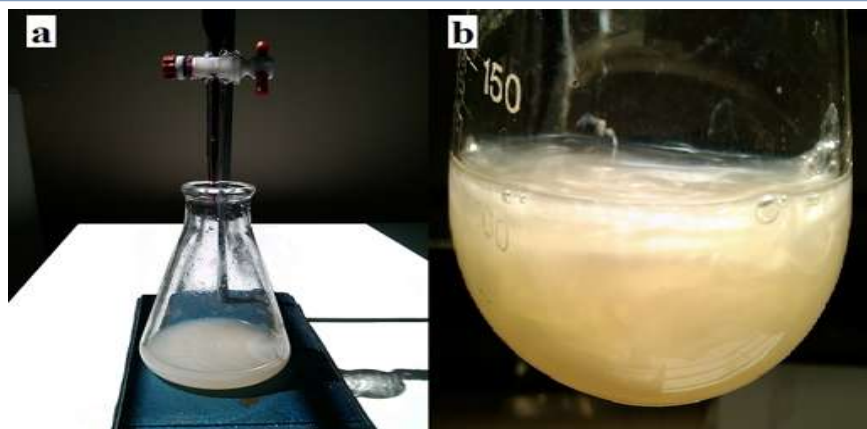
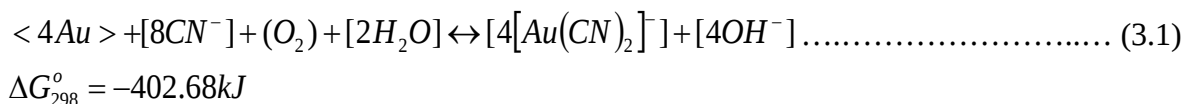


Figura 3.2. Análisis de permanganometría, **a)** Material empleado en la valoración; **b)** Color indicativo del punto final de titulación.

Para la prueba de botella se sometieron el mineral de llegada y los minerales oxidados a 800 y 900°C por 24 h. Se preparó una solución cianurada de 2000 ppm, la cual se adicionó a la muestra en una relación 3:1, éstas se llevaron a una cámara de vacío donde se saturaron con oxígeno para favorecer la formación del ion cianuro de oro (I) $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ de acuerdo a la ecuación química de Elsner (reacción 3.1), esta reacción presenta alta espontaneidad a un pH alcalino [7, 10, 43, 44]. Las muestras se pusieron en agitación a 150 rpm en un lapso de 12 h y reposaron 30 minutos para ser decantadas, el sobrenadante se analizó por ICP-OES para determinar la concentración de los elementos oro, plata, titanio, vanadio y hierro.



3.3. Reducción carbotérmica

En esta etapa experimental se trabajó únicamente con tamaños de partícula que quedaron por arriba de la malla número 200 ($>75 \mu\text{m}$). Así mismo, los cálculos termodinámicos para la oxidación y reducción tanto directa como indirecta se realizaron aplicando la ley de Hess con el uso de tablas que contienen las reacciones químicas con sus respectivos valores estándar de entalpía y entropía así como los rangos de temperatura [44], los cuales se muestran en la tabla III.1. Finalmente, el cálculo de la energía de Gibbs se realizó aplicando la ecuación 2.

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T\Delta S^{\circ} \dots\dots\dots \text{Ec. 2}$$

Tabla III.1. Reacciones parciales del sistema hierro, carbono y oxígeno [44].

Reacciones	ΔH° (kJ/mol)	ΔS° (J/mol*K)	Rango de temperatura (K)
$< C > + (1/2 O_2) \leftrightarrow (CO)$	-112.9	86.5	298-2500
$< C > + (O_2) \leftrightarrow (CO_2)$	-394.8	0.836	298-2500
$< Fe > + (1/2 O_2) \leftrightarrow < FeO >$	-264.0	-64.6	298-1650
$< 2Fe > + (3/2 O_2) \leftrightarrow < Fe_2O_3 >$	-815.0	-251.1	298-1735
$< 3Fe > + (2O_2) \leftrightarrow < Fe_3O_4 >$	-1103.1	-307.4	298-1870

3.3.1. Oxidación del mineral

Para el proceso de oxidación (tostación) o hematización, el mineral se sometió a un análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) atmósfera de aire. Se determinó la temperatura a la cual el mineral comenzaba a ganar peso, considerando que la transformación de fase: de magnetita a hematita tenía lugar.

Conocido el rango de temperatura de oxidación, se colocaron en la mufla dos recipientes de acero inoxidable con ~7.3 g de mineral acomodado en camas delgadas con el fin de evitar la formación de una posible capa de pasivación y que ello limitara dicho proceso. Las condiciones experimentales fueron inicialmente 800°C por 24 h y 900°C por 24 h con inyección constante de aire (para favorecer la oxidación). Finalmente y de acuerdo a la capacidad del equipo se trabajó a 950°C con tiempos de permanencia de 6, 12 y 24 h siempre con suministro de aire (figura 3.3). El mineral resultante de este proceso fue analizado por DRX y MEB.

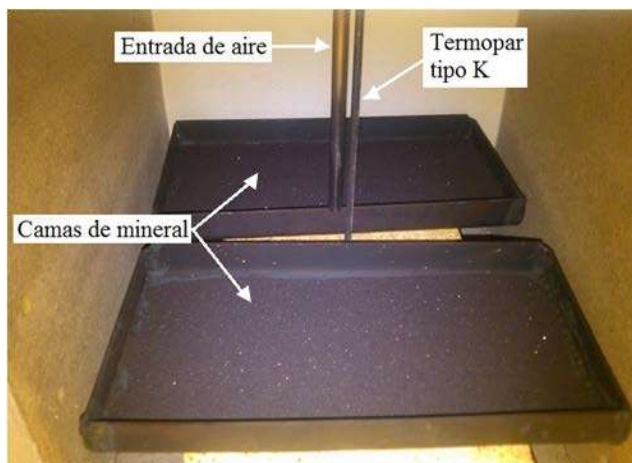


Figura 3.3. Camas delgadas de magnetita antes del tratamiento de oxidación.

3.3.2. Reducción carbotérmica del mineral

Los parámetros experimentales fueron establecidos de acuerdo a los antecedentes mostrados anteriormente [18, 20, 21]; éstos constaron de una mezcla de mineral oxidado y grafito (con un tamaño de partícula $\sim 34.58 \mu\text{m}$) en relación 1:4 molar realizada en el pulverizador por un periodo de 5 minutos, la temperatura fue de 1100°C con 4 h de permanencia con atmósfera de aire en un horno de tubo horizontal CARBOLITE. En la figura 3.4 (a) se muestra la coloración característica de la hematita pura (rojo ladrillo) oscurecida por el grafito; en la figura 3.4 (b) se presenta la coloración negra intensa de la mezcla del mineral-grafito, en ambas imágenes se tiene los crisoles y tapaderas de grafito utilizados para saturar el sistema con carbono. Las muestras obtenidas por esta etapa fueron analizadas por DRX y MEB.



Figura 3.4. Crisoles de grafito con muestra antes del tratamiento de reducción.

3.4. Lixiviación bacteriana

3.4.1. Adquisición y crecimiento de *Shewanella putrefaciens*

La bacteria *Shewanella putrefaciens* se adquirió como cepa de referencia ATCC® (American Type Culture Collection) con el número de referencia 8071 (figura 3.5, también se muestra una copia del acta de certificación en el Anexo A) a través del Biol. Juan Carlos Estrada Mora de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.



Figura 3.5. Izquierda, documento que avala la procedencia de la cepa ATCC[®]. Derecha, cultivos puros de *Shewanella putrefaciens* ATCC[®] 8071.

Una vez obtenida la bacteria, se inoculó en el medio de crecimiento Agar Marino (AM) cuya composición se muestra en la tabla III.2, la incubación se realizó en ambiente aerobio a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 h.

Tabla III.2. Composición del medio de cultivo Agar Marino (AM) con pH final de 7.3 ± 0.1 [45].

Componente	Peso (g)	Componente	Peso (g)
Peptona	5	Bromuro de potasio	0.08
Extracto de levadura	1	Cloruro de estroncio	0.034
Citrato férrico	0.1	Ácido bórico	0.022
Cloruro de sodio	19.45	Silicato de sodio	0.004
Cloruro de magnesio	8.8	Fluoruro de sodio	0.0024
Sulfato de sodio	3.24	Nitrato de amonio	0.0016
Cloruro de calcio	1.8	Fosfato disódico	0.008
Cloruro de potasio	0.55	Agar	15
Bicarbonato de sodio	0.16	Agua destilada*	1000 mL

Para su manutención y manipulación durante la experimentación se sembraron una serie de tubos con AM incubándose en las condiciones antes mencionadas, éstos se dividieron para su apertura en un período de ocho meses (figura 3.6 (a)). Para la adaptación de la bacteria al ambiente anaerobio se utilizó la jarra de anaerobiosis así como un sobre GasPak. De los tubos de cultivo puro (figura 3.6 (b)) se sembraron en una serie de cajas Petri y se incubaron en este sistema a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 3 a 5 días. El procedimiento se repite

hasta obtener un cultivo suficientemente puro para inocular tubos con Caldo Marino (CM) el cual presenta la misma composición del AM exceptuando el agar.

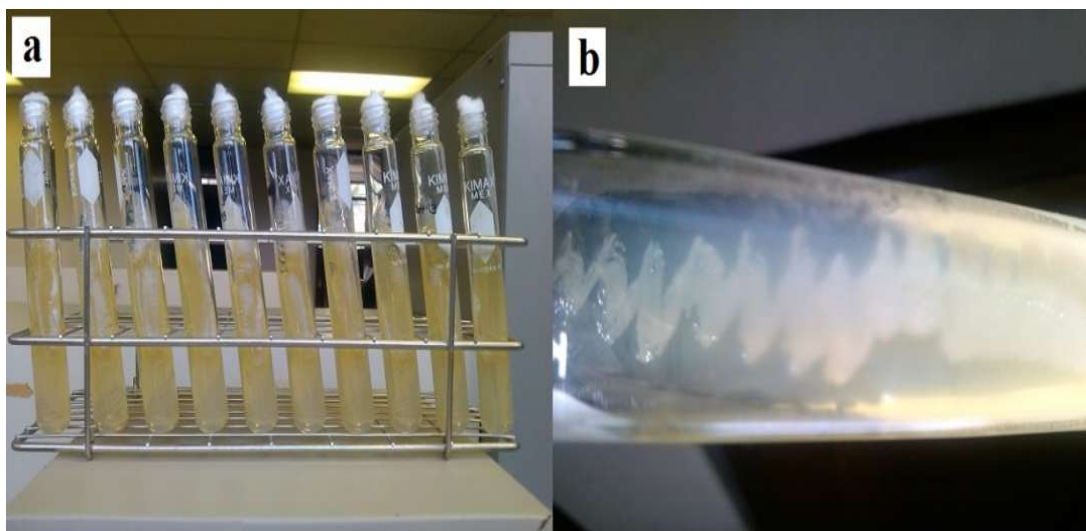


Figura 3.6 a) Serie de tubos utilizados durante el proceso de experimentación, **b)** Cultivo puro de *Shewanella putrefaciens* ATCC[®] 8071 en AM.

Para la caracterización de los aislados bacterianos se hizo un análisis al microscopio con la tinción Gram [46] y la prueba bioquímica de producción de ácido sulfhídrico (H₂S) en el Agar Hierro Kligler (KIA, por sus siglas en inglés) y Triple Azúcar-Hierro (TSI, por sus siglas en inglés) [47, 48].

La cinética de crecimiento se calculó con el procedimiento de la escala de MacFarland [49], el cual consistió en la preparación de soluciones con concentración conocida de cloruro de bario en ácido sulfúrico al 1% para establecer la curva de calibración y con ella determinar la concentración aproximada de los inóculos bacterianos. Se prepararon matraces con 100 mL de CM y se inocularon con 2 mL a una concentración de $\sim 1000 \times 10^6$ bacterias/mL con incubación a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ y 130 rpm; la cinética se determinó en un período de 14 h con muestreos regulares manteniendo el ambiente anaerobio. La turbidez se determinó a longitudes de onda de 540, 600, 630 y 660 nm en el equipo S2100UV⁺ Spectrophotometer UNICO[®] del Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

3.4.2. Adaptación de la bacteria al mineral

En esta etapa se prepararon tubos con CM con una concentración al 3% peso/volumen de mineral de hierro (figura 3.7), se inocularon con 2 mL de caldo con una concentración de $\sim 1000 \times 10^6$ bacterias/mL. Se incuban a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 7 días con agitación regular para favorecer la interacción bacteria-mineral. Transcurrido este período se inocularon en placas con AM para obtener un cultivo puro adaptado al consumo de hierro, el residuo se lavó y secó para su observación en DRX y MEB (JSM-6400 Scanning Microscope).



Figura 3.7. Tubos incubados a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 7 días. Izquierda, se muestra el control sin crecimiento. Derecha, tubos inoculados con bacterias sedimentadas en el mineral.

3.4.3. Lixiviación bacteriana del mineral

El análisis de cinética se realizó en matraces con tapa rosca así como una cámara de anaerobiosis para reducir la interferencia de oxígeno (figura 3.8 (a)); el medio de cultivo fue preparado al 5% peso/volumen de mineral de hierro, se inoculó con 2 mL a una concentración de $\sim 1000 \times 10^6$ bacterias/mL con incubación a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ y 130 rpm (figura 3.8 (b)). El ensayo tuvo una duración de 336 h (14 días) con muestreos regulares; al final del tratamiento se tomó una muestra del sobrenadante y se preparó para su observación en MEB y microscopía electrónica de transmisión (MET, Philips TECNAI F-20, aplicación de 200 keV, rejilla de cobre, porta muestras de única inclinación, corrida en campo claro y

campo oscuro), así mismo, el sedimento se lavó tanto de los matraces inoculados como del control para su análisis por DRX y MEB.

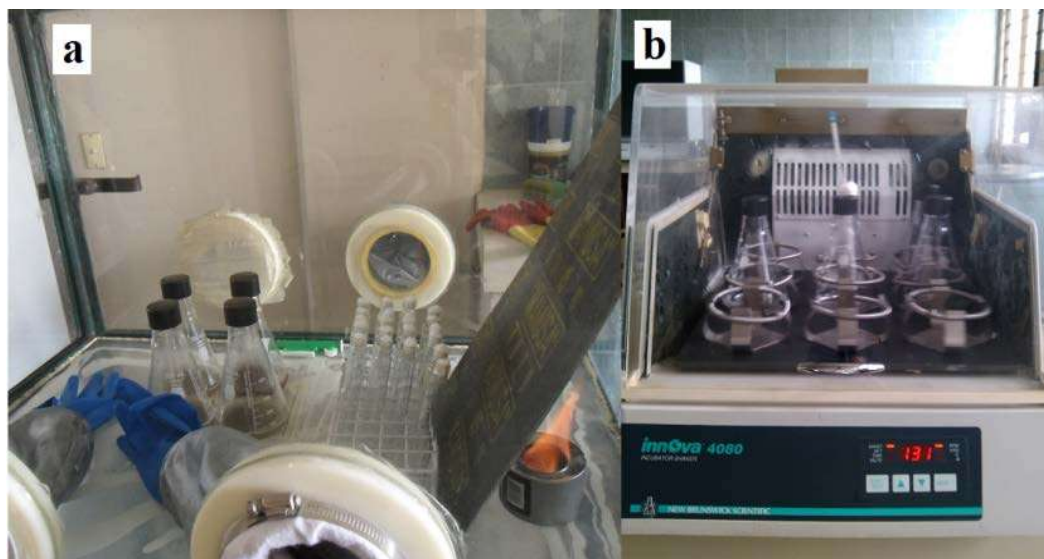


Figura 3.8 a) Cámara de anaerobiosis para el muestreo de la cinética de biolixiviación, **b)** Incubación con agitación constante.

El sobrenadante restante de las muestras fue filtrado utilizando el equipo MILLIPORE y una membrana de nylon con poros de $0.45\ \mu\text{m}$ HNWP, se almacenaron en refrigeración (7°C) hasta su análisis en absorción atómica para cuantificar el hierro en solución.

3.5. Análisis de liberación de los metales valor por lixiviación ácida tradicional

Los compuestos sólidos obtenidos de la oxidación, la reducción carbotérmica y del ataque bacteriano fueron sometidos por separado a lixivitaciones en HCl diluido al 3% de acuerdo a lo establecido en los antecedentes [21, 39] con la finalidad de pasar a solución los metales de interés; la primera fase constó de la digestión abierta de 1 g de muestra por 48 h, con cambio de solución cada 24 h (de 25 mL). La segunda fase consistió en una digestión total de las muestras (0.05 g en 7 mL de HCl al 3%) utilizando el horno de microondas Anton Para Multiwave 3000. Las soluciones obtenidas (figura 3.9) fueron analizadas por la técnica de ICP-OES en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.



Figura 3.9. Soluciones obtenidas de la lixiviación con HCl al 3%.

3.6. Análisis estadístico

Para este trabajo se aplicaron técnicas de estadística descriptiva por lo que los experimentos se realizaron por triplicado obteniendo así el promedio ($\bar{X}$) y se calculó la desviación estándar (σ) para constatar la reproducibilidad experimental. Así mismo, se aplicó el Análisis de Varianza-ANOVA utilizando la Prueba F para varianzas, obteniendo las diferencias significativas de cada proceso con un $\alpha=0.05$ dando un 95% de confianza [50]; se utilizó Microsoft Office Excel 2007 para este análisis [51].

Capítulo IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo describe los resultados obtenidos a lo largo de las diferentes etapas experimentales. De igual forma, se realiza la discusión de los mismos en base a lo reportado en la literatura.

4.1. Preparación del mineral (pulverización)

Del proceso de pulverización tanto del mineral de llegada como pulverizado, se realizó el tamizado obteniéndose la tabla IV.1 y la figura 4.1 de distribución de tamaño de partícula.

Tabla IV.1. Pesos y desviación estándar obtenidos del tamizado.

Tamaño de partícula (μm)	De llegada		Pulverizado	
	Promedio (g)	σ	Promedio (g)	σ
212	6.736	2.7269	1.908	1.0812
150	13.619	2.7110	8.815	2.2116
75	73.691	2.3478	83.313	3.7030
53	10.830	2.9125	3.375	1.1108
<53	0.513	0.2620	6.796	3.4706

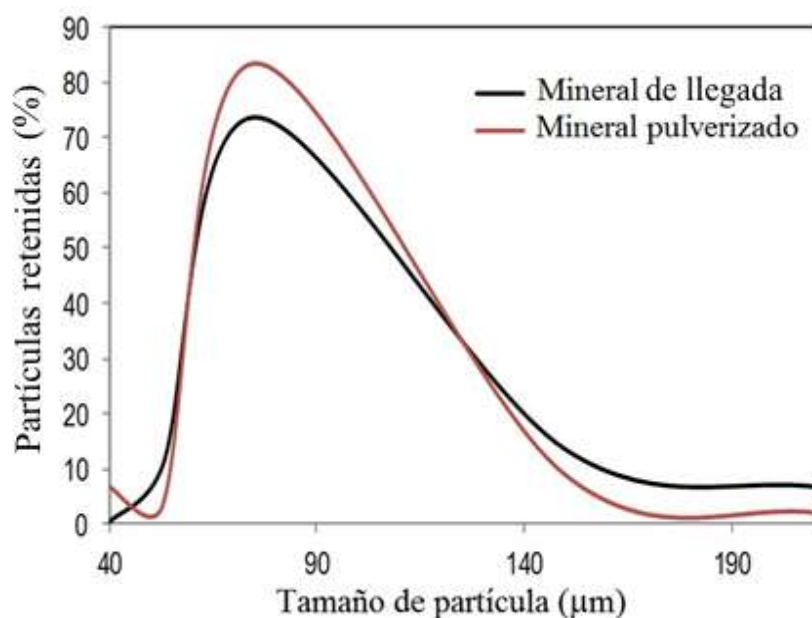


Figura 4.1. Gráficas de distribución normal del tamizado.

De acuerdo a los resultados se observa que la desviación estándar manejada para cada grupo de datos (tamaño de partícula) es $\bar{X} + 1\sigma$, incluyendo todos los valores, esto indica que las mediciones fueron homogéneas. Con lo que respecta a la gráfica de distribución de pesos (figura 4.1), se muestra el efecto de la etapa de pulverización, donde la concentración de las partículas con tamaños superiores a los 150 μm se reducen considerablemente, dando lugar a un aumento de la cantidad de partículas más pequeñas, generando mayor dispersión entre las mismas y teniendo una diferencia entre los picos cercana al 10%. Finalmente, en las distribuciones tanto del mineral de llegada como el pulverizado la asimetría (2.0816 y 2.2023, respectivamente) es positiva indicando que los datos se acumulan en el lado izquierdo del promedio, mientras que la forma en ambas es leptocúrtica.

Para la determinación del diámetro 80 (D_{80}) que se muestra en la figura 4.2, la etapa de pulverizado no presentó un efecto importante en reducir el tamaño de partícula, ya que los diámetros calculados gráficamente se encuentran próximos entre sí, siendo 98 μm para el mineral de llegada y 86 μm en el pulverizado.

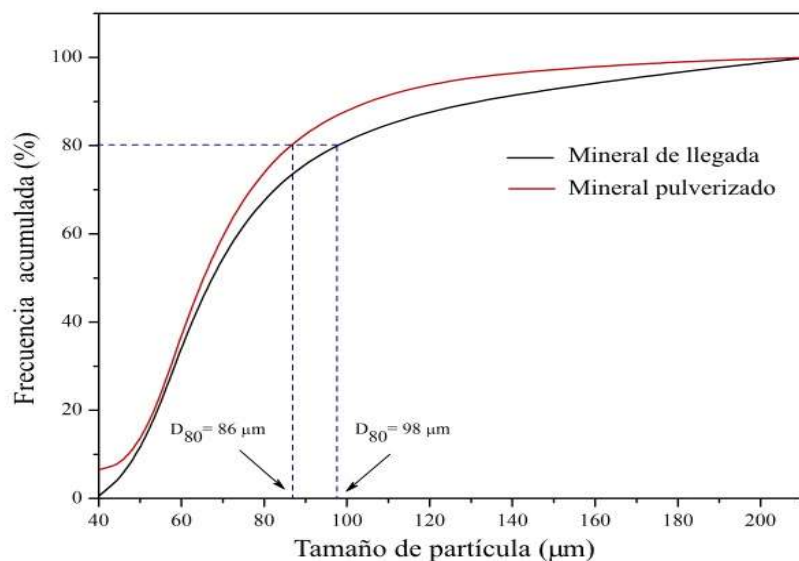


Figura 4.2. Gráficas del diámetro 80 (D_{80}) del mineral de llegada y pulverizado.

Este resultado indica que la etapa de pulverización no redujo sustancialmente el tamaño de partícula que favorezca el proceso de beneficio del mineral, lo que concuerda con el ligero aumento en la distribución del tamaño de partícula de la figura 4.1 con una curtosis de 4.88 en el mineral pulverizado, mientras que para el mineral de llegada es de

4.48 (indicando que la primera se aleja ligeramente de la distribución normal). Adicionalmente, esta etapa requiere de inversión en instalaciones, energía, capital humano, por mencionar algunas, la cual se puede ahorrar debido a que el mineral de forma de llegada cuenta con los tamaños de partícula requeridos, ya que otros investigadores reportan este parámetro para extracción de titanio y vanadio en el rango de 180 a 40 μm y en procesos biológicos se han reportado desde 74 hasta 30 μm [39, 52, 53].

Otro método para determinar el tamaño de partícula fue con el equipo COULTER LS100Q obteniéndose la tabla IV.2 que resume los valores estadísticos del mineral de llegada y pulverizado.

Tabla IV.2. Resumen estadístico para determinar el tamaño de partícula.

	Mineral de llegada	Mineral pulverizado
Volumen (%)	100	100
Promedio (μm)	19.13	11.1
Mediana (μm)	12.95	17.85
Moda (μm)	45.75	31.5
$\sigma(\mu\text{m})$	17.35	3.417

Estos resultados difieren bastante con los obtenidos en el tamizado, ya que el equipo muestra que la mayoría de las partículas (moda) tanto para el mineral de llegada como el pulverizado están por debajo del tamiz número 70 (53 μm). Sin embargo, estos valores se pueden explicar a través del fundamento del equipo con el que se realiza la valoración y a la alta densidad del mineral de hierro (magnetita pura es de 5.17 g/cm^3 [41]). Esto es, al ser muy densas las partículas del mineral no pudieron ser arrastradas hasta la fuente de luz por la corriente de aire que suministra el equipo (por ende no fueron cuantificadas), proponiendo que la clasificación mostrada en la tabla anterior pertenece a las partículas finas que sí pudieron ser arrastradas y medidas por el equipo. Al determinar la densidad del mineral en el picnómetro de helio (Micromeritics AccuPyc 1330) resulta de 4.8842 g/cm^3 , esta disminución es debida a que el mineral presenta otros componentes con diversas densidades que reducen a la de la magnetita pura.

Para decir claramente sí la etapa de pulverización es significativa en el proceso de beneficio de este mineral, se realizó el análisis de varianza-ANOVA, sin embargo debido a la naturaleza de los datos no fue aplicable, ya que se presentaban varianzas extremadamente

grandes dentro de los grupos (de llegada y pulverizado). La F calculada es 0.0001, siendo mucho menor que la F teórica de 5.32 con lo que se aceptaría la hipótesis nula, es decir, los grupos no presentarían diferencia estadística significativa entre sí.

4.2. Análisis químico del mineral

A partir de esta etapa se trabajó con el mineral pulverizado con tamaño de partícula $>75\ \mu\text{m}$, considerándose sin tratamiento cuando aún no se ha sometido a los procesos experimentales propuestos.

4.2.1. Análisis de fluorescencia y difracción de rayos X

Los elementos mayoritarios cuantificados por FRX se muestran en la tabla IV.3, donde el hierro es el de mayor concentración, presentando un comportamiento magnético, le siguen muy por debajo el silicio, sodio, magnesio, calcio, por mencionar algunos, los cuales han sido reducidos a través de la etapa previa de concentración magnética, ya que estos elementos en su mayoría forman minerales no metálicos [18]. Dentro de los metales de interés comercial se encontraron al titanio, aluminio, vanadio y manganeso, reportados por otros investigadores [16, 18, 39]. Sin embargo, debido a la sensibilidad de la técnica no fue posible determinar la presencia de los metales preciosos (oro y plata).

Tabla IV.3. Concentración elemental en el mineral de hierro (% en peso).

Elemento	Símbolo	Número atómico	Concentración (%)
Hierro	Fe	26	65.84
Silicio	Si	14	4.881
Sodio	Na	11	3.23
Titanio	Ti	22	2.794
Aluminio	Al	13	1.717
Magnesio	Mg	12	1.462
Calcio	Ca	20	0.9136
Vanadio	V	23	0.6141
Manganeso	Mn	25	0.2131
Fósforo	P	15	0.1054
Potasio	K	19	0.1048
Cromo	Cr	24	0.0890
Azufre	S	16	0.0173
Cloro	Cl	17	0.0126
Otros elementos	-----		<18.3082

Un mineral puede contener gran diversidad de fases cristalinas y en múltiples proporciones, por ello el análisis de FRX acota la identificación de estas composiciones hacia los elementos mayoritarios. Sin embargo, una de las restricciones que presentó el uso del equipo SIEMENS D5000 para DRX es la concentración de las fases, las cuales deben estar por encima del 4%. En la figura 4.3 se tiene el difractograma del mineral sin tratamiento en donde se puede apreciar que los picos se indexan claramente con las tarjetas JCPDS-00-019-0629 ($\text{Fe}+2\text{Fe}_2+3\text{O}_4$) y JCPDS-00-052-1140 ($\text{Fe}_{2.95}\text{Si}_{0.05}\text{O}_4$) pertenecientes a los compuestos magnetita (hierro ferroso-Fe (II) y hierro férrico-Fe (III)) y óxido hierro-silicio, respectivamente; ambos compuestos presentan una estructura cúbica, también se observa que los picos son altos y delgados indicando que el crecimiento de grano para ambas fases es heterogéneo. Además, contiene la fase óxido de hierro-titanio donde sus picos se indexan con la tarjeta JCPDS-00-054-1267 ($\text{Fe}_9\text{TiO}_{15}$), este compuesto posee una estructura romboédrica. Esta composición como tal no ha sido reportada, pero si la presencia de estos compuestos y los elementos en menor proporción (de la tabla IV.3) como característicos de las arenas negras [9, 15, 16, 18, 39].

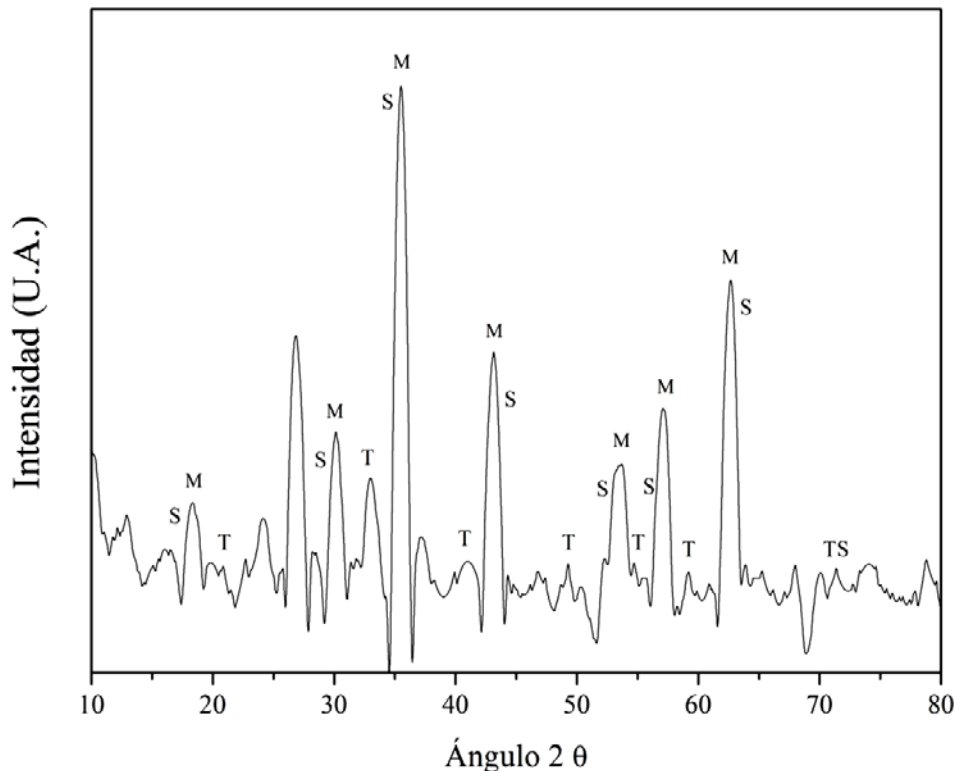


Figura 4.3. Difractograma del mineral sin tratamiento. Abreviaturas: M, Magnetita; S, Óxido hierro-silicio; T, Óxido hierro-titanio.

En la figura 4.4 se muestran las micrografías en el modo de electrones secundarios (SEI, ángulo normal) del mineral sin tratamiento. A una amplificación de 1000x (figura 4.4 (a)) se observa una partícula con caras regulares las cuales presentan varios compuestos adheridos a la superficie, esta topografía permanece constante en todo el mineral; en la figura 4.4 (b) se tiene un superficie semi-lisa y sin ninguna porosidad. Para los incisos de la figura 4.4 (d) y (c) la topografía a varias magnificaciones (10000x y 15000x, respectivamente) muestra granos con poco crecimiento en la fase de contraste oscuro atribuida a la magnetita (Fe_3O_4); también es posible observar partículas de contraste claro debido al efecto de carga (compuestos no conductores). Las micrografías obtenidas por Vargas *et al.* [18] presentan un mineral de composición próxima en concentración de hierro al estudiado en este proyecto, pero la topografía es distinta debido principalmente al tamaño de partícula (el cual no indica) además de que los minerales no metálicos presentan una morfología definida (feldespatos y cloritas).

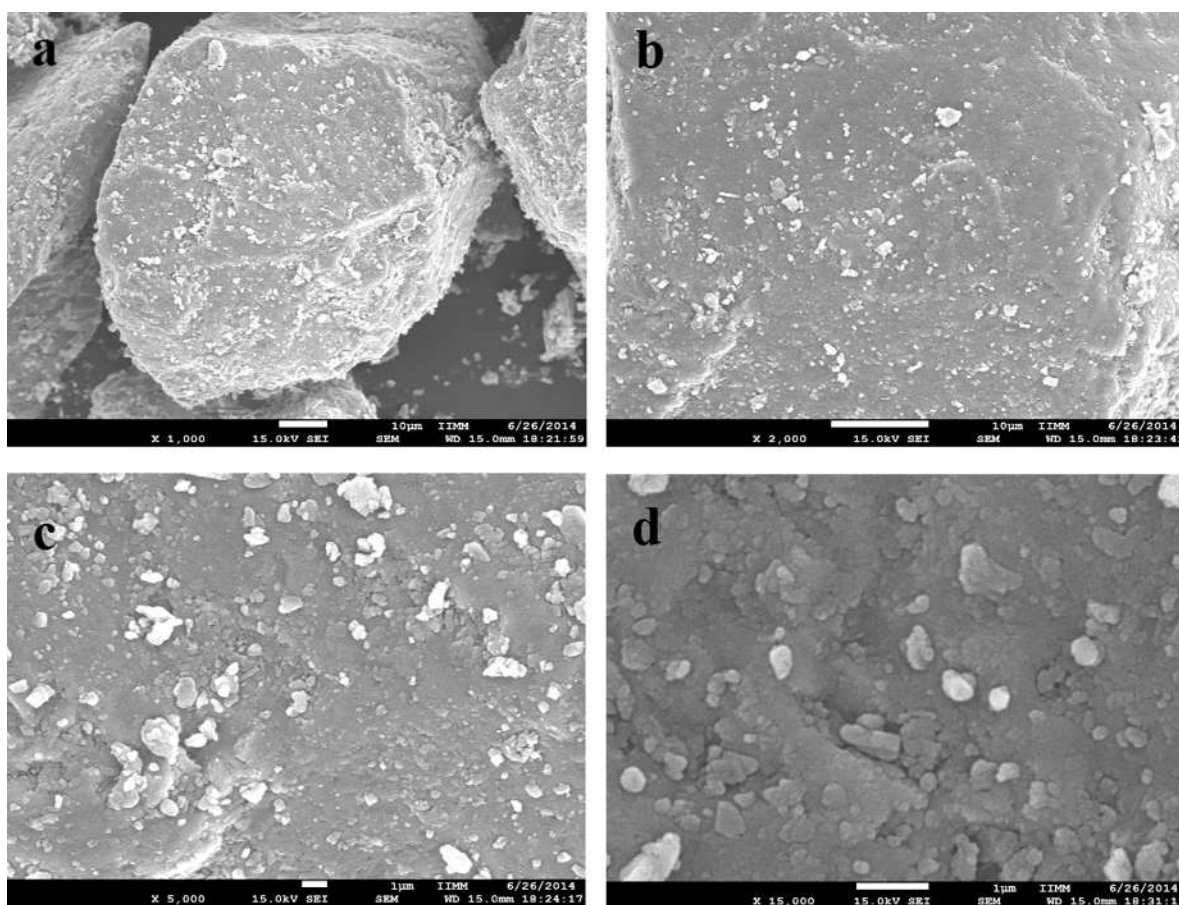


Figura 4.4. Micrografías del mineral sin tratamiento. **a)** Amplificación 1000x; **b)** Amplificación 2000x; **d)** Amplificación 5000x; **c)** Amplificación 15000x.

El análisis de mapeo se obtuvo para los elementos titanio, hierro, oxígeno y silicio (figura 4.5) donde se observa que el titanio (figura 4.5 (b)) se concentra en una pequeña partícula, pero al igual que el hierro (figura 4.5 (c)), se distribuye de forma homogénea en todo el mineral indicando que el compuesto de titanio es ilmenita (FeTiO_3) determinado en DRX.

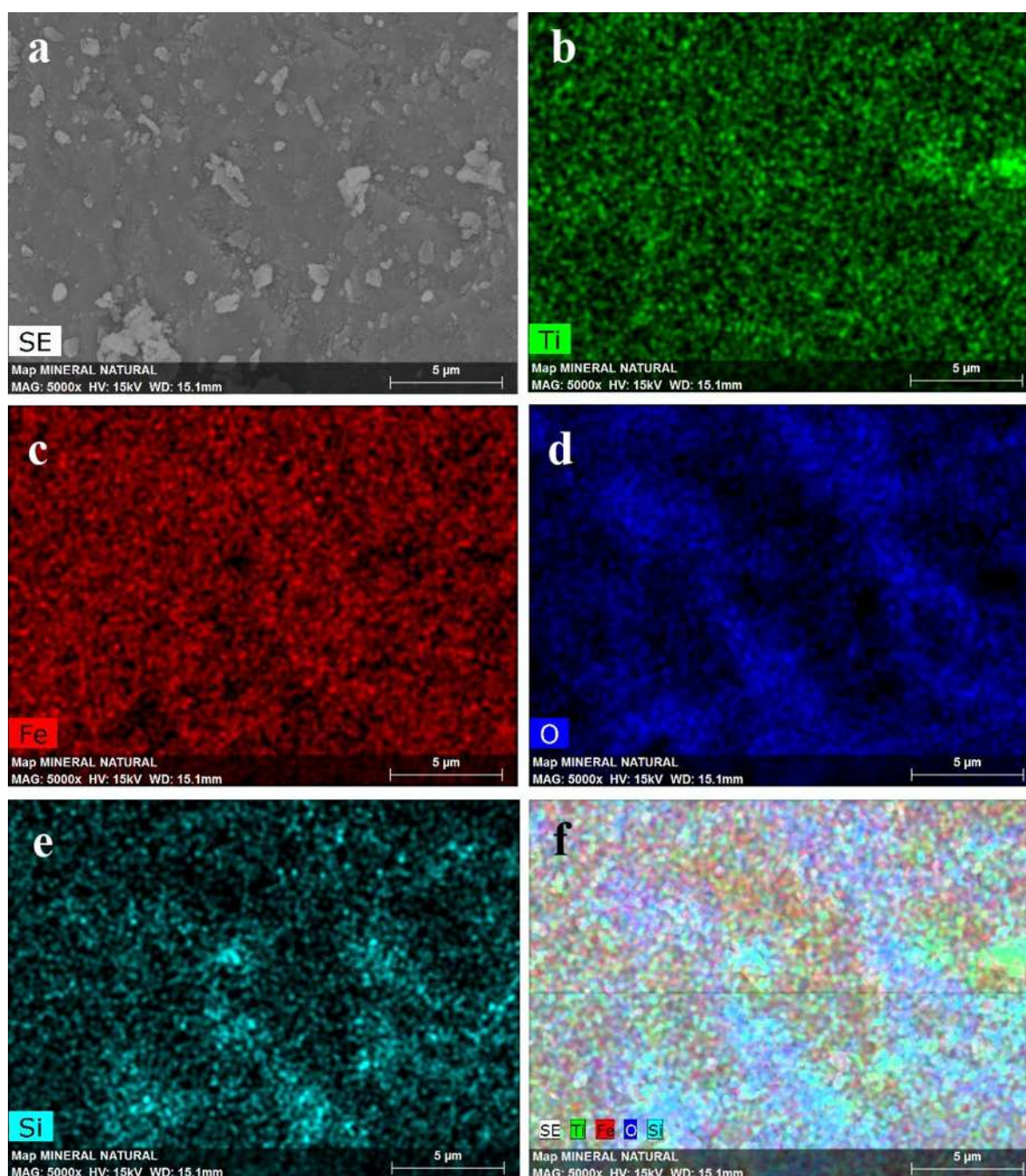


Figura 4.5. Mapeo del mineral sin tratamiento (natural). **a)** Micrografía base; **b), c), d), e)** Patrón de los elementos titanio, hierro, oxígeno y silicio, respectivamente; **f)** Mapeo de la micrografía base.

En el caso del silicio, su distribución se centra en partículas de contraste claro como en áreas de la fase oscura (figura 4.5 (e)), es decir, embebidas en la composición de hierro, como lo indica el compuesto determinado por DRX. El patrón de oxígeno (figura 4.5 (d)) muestra zonas oscuras debido a la topografía del mineral.

El análisis químico por espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDS, por sus siglas en inglés) se muestra en la **Figura 4.6** donde el hierro es el elemento principal y que el titanio está ligeramente por arriba del 2% con lo obtenido en FRX, así mismo se cuantifica la presencia de otros elementos como aluminio, calcio y carbono que forman parte de las fases minoritarias del mineral.

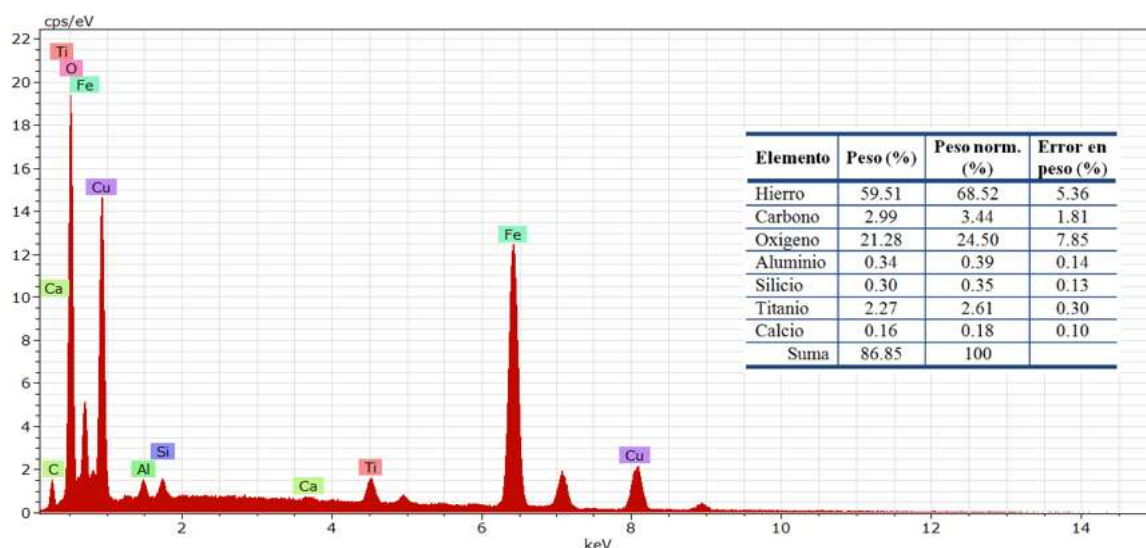


Figura 4.6. Espectro de EDS del mineral sin tratamiento.

Para confirmar que la composición entre las partículas de contraste claro y oscuro es diferente se realizó el análisis químico puntual por EDS mostrándose las zonas en la micrografía en modo SEI (figura 4.7). El espectro de EDS de la partícula clara (figura 4.8) presenta una disminución sustancial de hierro, porcentaje alto de carbono, oxígeno, silicio y aluminio así mismo la presencia de magnesio y calcio, sugiriendo que se trata de carbonatos, silicatos y aluminatos de calcio y magnesio, así como óxidos de magnesio, calcio, silicio y aluminio; con el espectro de EDS del punto dos (figura 4.9) se muestra una concentración alta de hierro (similar al del espectro de EDS de la figura 4.6), además la concentración de titanio es similar en ambos puntos, también en este espectro se cuantifica vanadio indicando que los elementos de interés están inmersos en la fase oscura.

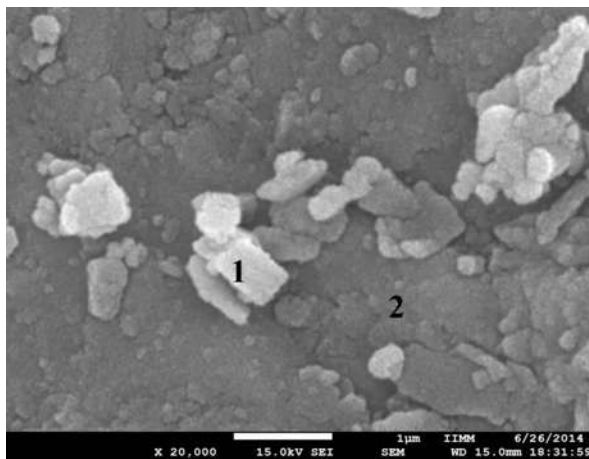


Figura 4.7. Micrografía del mineral sin tratamiento con dos partículas de contraste diferente (1, 2).

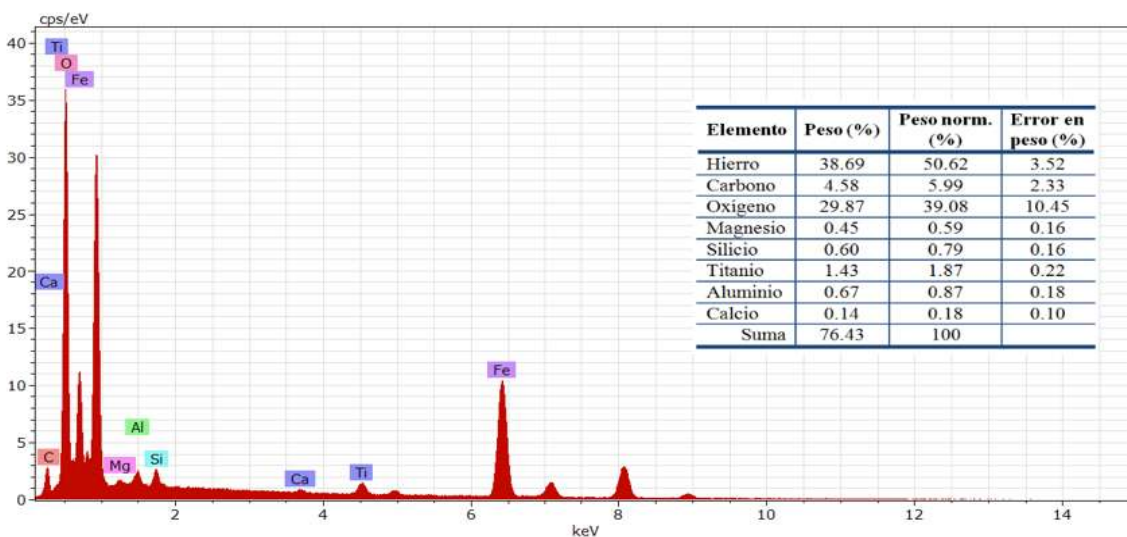


Figura 4.8. Espectro de EDS puntual de la partícula 1 del mineral sin tratamiento.

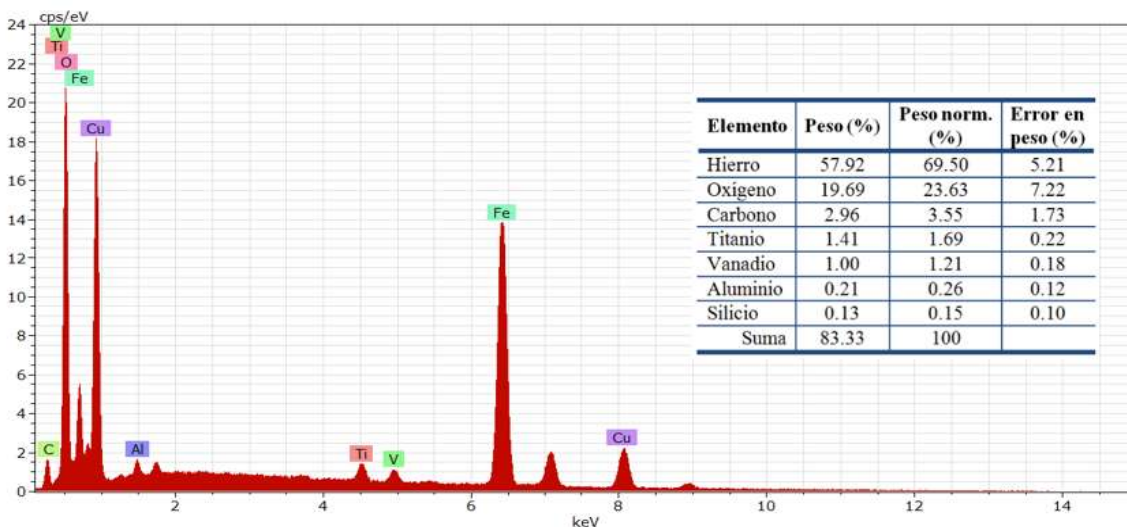


Figura 4.9. Espectro de EDS puntual de la partícula 2 del mineral sin tratamiento.

Las micrografías del mineral sin tratamiento por el modo de electrones retrodispersados (BSE-COMPO, ángulo normal) se muestran en la figura 4.10, donde se observa que el contraste gris es similar en toda la superficie debido a que el hierro está disperso homogéneamente (como se indica en el mapeo) y de acuerdo al análisis de FRX es el elemento con el número atómico más alto, base con la cual se hace el análisis de composición por esta técnica. Además, de acuerdo a la celda unitaria de la Fe_3O_4 , *fcc*, un hueco tetraédrico está ocupado por el Fe (II) y dos huecos octaédricos por el Fe (III), los restantes pueden ocuparse generalmente por metales de transición, en este caso por vanadio, manganeso y cromo, y en menor medida por el aluminio y silicio. Con lo que respecta al titanio (metal de transición) forma un compuesto definido con el hierro, de fórmula FeTiO_3 (indexado en DRX) con una celda unitaria hexagonal (menos simétrica que en la Fe_2O_3) pero el hierro puede ser sustituido por el magnesio y manganeso [54] presentes en el mineral.

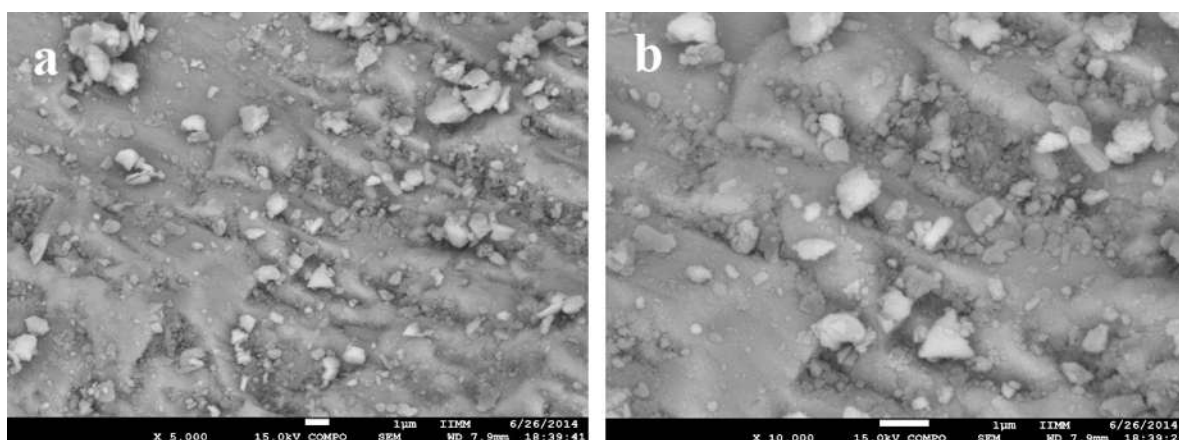


Figura 4.10. Micrografía del mineral sin tratamiento. **a)** Amplificación 5000x; **b)** Amplificación 10000x.

4.2.2. Análisis del mineral por vía húmeda

La cuantificación total de los metales de interés por la técnica de absorción atómica requirió que éstos estuvieran en solución, por ende fue necesaria la digestión del mineral. En primera instancia, la mezcla con ácido nítrico (HNO_3), ácido clorhídrico (HCl) y ácido tetrafluorobórico (HF_4B) manejó una digestibilidad alrededor del 95% del mineral, obteniéndose una solución amarilla ámbar que de acuerdo a la baja desviación estándar mostrada es reproducible.

Mientras que con el ácido sulfúrico (H_2SO_4) presentó una digestibilidad de ~70% y mayor dispersión en los resultados; la baja solubilidad de este ácido fue debido a la falta de adición de compuestos oxidantes que favorecieran la disolución del mineral, como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o nitrato de sodio (NaNO_3) y cloruro de sodio (NaCl) [55]. Sin embargo, para determinar el hierro ferroso por permanganometría el H_2SO_4 permite la disolución de este ion, ya que no tiene el potencial oxidante para transformarlo [42]. En la **Tabla IV.4** se resumen los resultados obtenidos del equipo PERKIN ELMER 3100.

Tabla IV.4. Resultados de la digestión ácida del mineral y por ciento en peso de los metales determinados por absorción atómica.

	$\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}_4\text{B}$		H_2SO_4	
	Promedio	σ	Promedio	σ
Digestión (%)	~95	2.6457	~70	3.6055
Oro (%)	0.0021	0.0458	0	0
Plata (%)	0	0	0	0
Hierro (%)	57.29	3.3140	42.77	2.8259

De acuerdo a la cuantificación por absorción atómica, la plata no se detectó en ninguna de las digestiones, mostrando que en el mineral está ausente este metal. De igual forma, en el caso del oro, por digestión con H_2SO_4 no se detectó; con lo que respecta a la mezcla de agua regia se cuantificó su presencia, dando una concentración de 21 g de oro por tonelada de mineral, lo que lo catalogaría en un mineral de alta ley [56], denotándose un error en el análisis.

Este valor tan alto se le atribuye al hierro, el cual presenta un gran número de longitudes de onda (en las cuales pasa del estado basal al excitado), así como el nivel de intensidad de emisión que se pueden traslapar con la de otros elementos, es por ello que se requiere la eliminación de esta interferencia por diversos métodos instrumentales de análisis [57], lo que daría un mineral con menor lectura de oro, llegando incluso a catalogarse como mineral de baja ley [58]. Este comportamiento se sugiere a que el oro al estar en tan baja proporción (e incluso inexistente) con respecto al hierro, éste último emite energía a una longitud de onda muy próxima a la del oro y por ello la lámpara (que no distingue entre la energía de un elemento y otro) cuantifica la totalidad de energía emitida. Esta información puede apoyarse en que la longitud de onda del hierro con mayor sensibilidad está a 248.2 nm (apertura de 0.2 nm) mientras que para el oro está a 242.8 nm

(apertura de 0.7 nm), lo que indica la proximidad entre estos elementos en la aplicación de la técnica de absorción atómica. Referente a la plata, la interferencia es menor debido a que ésta se cuantifica a 328.1 nm (apertura de 0.7 nm) y el hierro a pesar de emitir energía en longitudes de onda entre 305 y 392 nm, son las que presentan menor sensibilidad de detección en el equipo, por lo que no aparece en la medición reportada en la tabla anterior.

En el análisis de permanganometría se determinó por separado el hierro total (en agua regia), el hierro ferroso (ácido sulfúrico) y por diferencia el hierro férrico; el cual se presenta en la tabla IV.5. Con estos resultados se da certeza en la aplicación de la bacteria *Shewanella putrefaciens* como microorganismo férrico-reductor, ya que un poco más del 90% del hierro está en su estado oxidado. Aunque, la relación entre hierro férrico y ferroso en la Fe_3O_4 es 2:1 [59], por lo que se esperaría una concentración de hierro ferroso cercana al 33% y no el 8.315% obtenido, lo cual sugiere que el procedimiento de digestión tan prolongado favoreció la oxidación de este ion.

Tabla IV.5. Resultados del análisis de permanganometría.

	Hierro total $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}_4\text{B}$	Hierro ferroso H_2SO_4	Hierro férrico -----
Promedio (%)	60.52	8.315	91.685
σ	1.2091	3.9668	-----

El hierro total cuantificado a través de vía húmeda con una digestión de ~95% a través de absorción atómica (tabla IV.4) y permanganometría presentan una pequeña diferencia, la cual se adjudica en detrimento de la primer técnica por la manipulación de muestras, exactitud de estándares, entre otras; mientras que en la segunda técnica, la medición fue directa de la digestión por lo que el error analítico es menor. Sin embargo, al comparar con el resultado de fluorescencia, ambas están por debajo debido a la sobrestimación de esta técnica instrumental, ya que requiere para el análisis cuantitativo comparar cada intensidad de rayos X con la de una muestra estándar (de composición conocida) de la misma estructura elemental [60], lo cual es difícil al tratarse de una muestra que contiene varios componentes (por tratarse de un mineral natural).

La cuantificación de los elementos de interés por ICP e ICP-OES presentaron mayor sensibilidad al tratarse de una técnica de análisis multielemental que se aplica para cuantificar elementos traza [61]. Donde se analizaron ambas digestiones y de acuerdo a los

resultados de ICP-OES presentados en la tabla IV.6, el mineral está carente de los metales oro y plata, descartándose definitivamente la lixiviación como mineral aurífero. La cuantificación del titanio y vanadio tuvo mayor representatividad en la digestión con agua regia que se aproxima a las reportadas por FRX, aunque estas últimas están sobrestimadas como ya se mencionó anteriormente. El hierro no coincidió debido a su alta concentración que superó el rango de detección. Se observa que el proceso de oxidación tiene un efecto positivo en la disolución del vanadio, posiblemente formando una sal metálica que sea más reactiva al agua [39], el titanio no presentó cambio en la determinación.

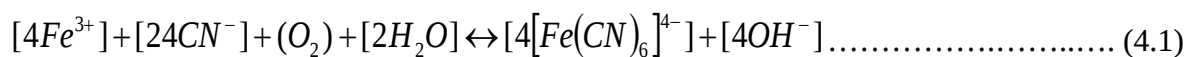
Con lo que respecta a los sobrenadantes de la prueba de botella saturada con oxígeno no se detectó tampoco la presencia de oro ni plata cianurable, concordando con la ausencia de estos metales en el mineral. Sin embargo, se cuantificó oro, plata y titanio en cantidades muy pequeñas, las cuales se consideran lecturas erróneas introducidas por la metodología y/o proceso analítico en el equipo.

Tabla IV.6. Porcentaje en peso de los metales de interés en el mineral por ICP-OES.

		Au (ppm)	Ag (ppm)	Ti (%)	V (%)	Fe (%)
Digestión del mineral	HNO ₃ + HCl + HF ₄ B	0	0	1.19	0.36	18.4
	Blanco ¹	0	0	0.012	0	0.488
	H ₂ SO ₄	0	0	1.06	0.21	0.57
	Blanco ¹	0.021	0	0	0	0.039
Prueba de botella	Mineral sin tratamiento	0	0.031	6.3x10 ⁻⁶	3.8x10 ⁻⁵	1.6x10 ⁻³
	Oxidado a 800°C/24 h	0	0	0	0.0106	8.4x10 ⁻⁴
	Oxidado a 900°C/24 h + aire	0	0.002	0	0.0157	8.2x10 ⁻⁴

1. Las unidades en este caso son ppm debido a que se tratan únicamente de los ácidos sin muestra.

De acuerdo a los valores obtenidos del hierro en esta prueba, no concuerdan con lo expresado en la reacción 4.1 [62, 63] que representa el efecto cianídico de este elemento, la cual tiene una energía de Gibbs casi cinco veces superior que la del oro (reacción 3.1), por lo que se esperaba que la solución preñada estuviera con una concentración mayor de hierro.



$$\Delta G_{298}^{\circ} = -1926.88 kJ$$

Esto se puede explicar con lo mencionado en los antecedentes, la solución cianurada tiene una acción muy débil en la mayoría de los minerales de hierro; los minerales oxidados de hierro como la hematita, limonita, magnetita, siderita no son atacados por la solución de cianuro [8]. Lo anterior se ve reflejado en los valores de hierro en solución (tabla IV.6), ya que su concentración es ligeramente mayor en el mineral natural (de composición magnetita), mientras que para el mineral oxidado (de composición hematita) es menor; confirmando que la hematita presenta menor reactividad al cianuro.

4.3. Reducción carbotérmica

De acuerdo a los resultados del análisis de composición del mineral, el elemento principal fue el hierro con una concentración aproximada del 60% en peso, esto significó que el comportamiento de la reducción carbotérmica recaía en la Fe_3O_4 , compuesto principal, se desprecia el efecto de los componentes minoritarios por la complejidad del sistema, aunque se sigue considerando a la $FeTiO_3$ y compuestos de vanadio como metales de interés. Sin embargo, se consideró únicamente el análisis termodinámico de la Fe_3O_4 para las dos etapas experimentales que conllevó la reducción carbotérmica.

4.3.1. Oxidación (hematización) del mineral

Se determinó experimentalmente la temperatura a la cual el mineral de hierro (arenas negras) comenzaba a oxidarse, esto a través de un análisis Termogravimétrico (TGA) que se muestra en la figura 4.11. El primer cambio se tiene a los 500 segundos con la estabilización del equipo, le sigue una ligera pendiente negativa atribuida a la eliminación de la humedad quimisorbida, posteriormente se continua con una pérdida de peso muy marcada que ocurre en un lapso de 1500 segundos entre el punto **a** y **b** (240 y 470°C, respectivamente) tratándose de las reacciones de deshidroxilación de los minerales no metálicos. Para el punto **c** se representa la transformación de la Fe_3O_4 en hematita (Fe_2O_3) a una temperatura de 740°C, la cual corresponde al diagrama de fases mostrado en la figura 4.12, a partir de este punto comienza la ganancia de peso lineal.

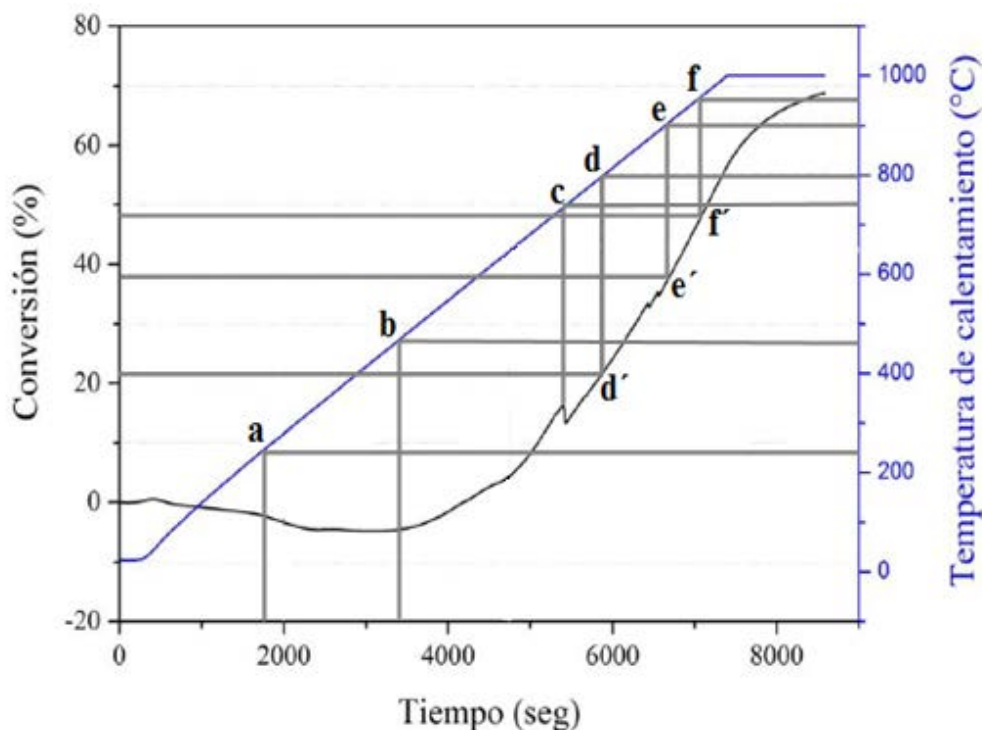
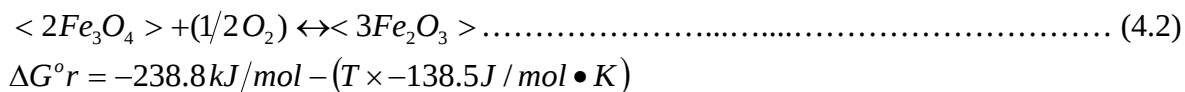


Figura 4.11. Termograma del mineral de hierro (arenas negras).

La primer temperatura de trabajo fue de 800°C, en la línea de temperatura se representa por el punto **d**, bajando a la línea de conversión se tiene el punto **d'** que al interpolarlo proporciona el porcentaje de esta transformación, el cual fue ligeramente superior al 20%. El mismo procedimiento se repite para la pareja de puntos **e—e'** y **f—f'** que corresponden a los porcentajes de conversión a 900 y 950°C, siendo cercanos al 40 y 50%, respetivamente. Finalmente, se decidió trabajar la temperatura de 950°C debido a que es más próxima a la temperatura de 1150°C reportada por otro investigador [18] y que cumple con los parámetros de operatividad de la mufla que tiene como máxima temperatura de trabajo 1000°C.

La oxidación llevada a cabo a 950°C (1223 K) se presenta en la reacción 4.2 con una energía de Gibbs de -69.4 kJ/mol indicando que el proceso es espontáneo.



Para mostrar el efecto al aumentar la temperatura a 1150°C (1423 K), se realizó el cálculo de la energía de Gibbs en la reacción 4.2, obteniéndose el valor de -41.71 kJ/mol,

lo cual indica que el proceso es más cercano al equilibrio. Al disminuir la temperatura se obtiene el efecto contrario, la reacción 4.2 presentó una energía de Gibbs de -90.12 kJ/mol a 800°C (1073 K), lo que indica que se aleja del equilibrio.

Este comportamiento se explica debido a que los signos resultantes del procedimiento de la ley de Hess, tanto de la entalpía como de la entropía son negativos, lo que significa que la energía de Gibbs a temperaturas bajas se aleja del equilibrio mientras que a altas se acerca a éste, en otras palabras, reacción con mayor espontaneidad a bajas temperaturas que tiende a disminuir a altas temperaturas e incluso al sobrepasar la temperatura de equilibrio de la reacción 4.2, 1724.19°C ($\Delta G_r^\circ = 0$), ocurre la inversión de signo y se vuelve no espontánea. Aunque la cinética sea mayor a altas temperaturas para este tipo de reacciones.

De acuerdo al diagrama de fases del sistema hierro-oxígeno, que se muestra en la figura 4.12, cuando el hierro es oxidado en aire a altas temperaturas, este se transforma en una mezcla que consiste de 3 fases, FeO (wustita), Fe_3O_4 y Fe_2O_3 . Además, es claro que la fase FeO, no se forma por debajo de los 570°C , por lo que la secuencia de oxidación arriba de esta temperatura sería FeO, Fe_3O_4 , Fe_2O_3 , con la FeO próxima al metal. La Fe_3O_4 posee una estructura de espinela inversa, un hueco tetraédrico ocupado por el Fe (II) y dos huecos octaédricos con el Fe (III), por lo que los defectos estructurales (vacancias) ocurren en ambos sitios debido a que los iones de hierro pueden difundir a través de éstos [64].

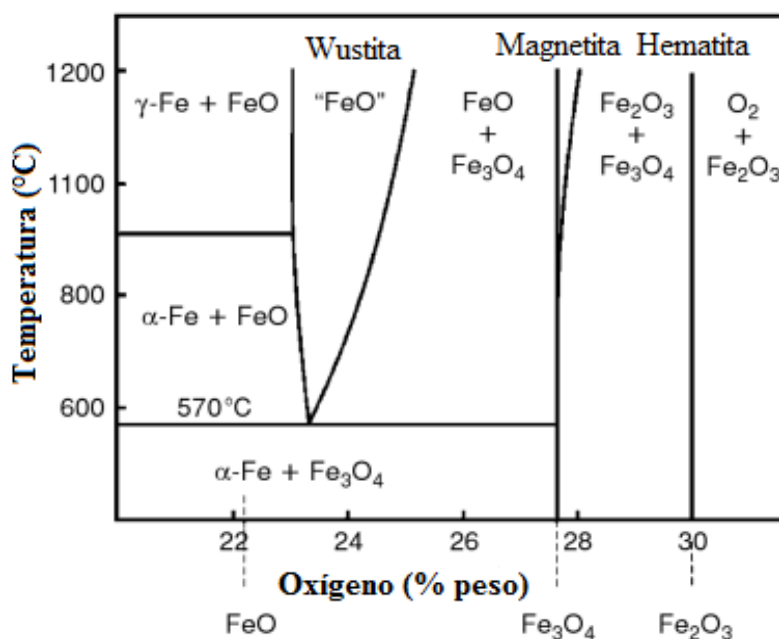


Figura 4.12. Diagrama de fases del sistema Fe-O [64].

La hematita existe en dos formas cristalinas, α -Fe₂O₃, que tiene una estructura romboédrica, y γ -Fe₂O₃, que es cúbica. Sin embargo, la γ -Fe₂O₃ se oxida a la forma α -Fe₂O₃ por arriba de los 400°C. En el cristal romboédrico, los iones oxígeno (aniones) existen en un arreglo hexagonal compacto con iones de hierro (cationes) en los intersticios [54, 64], siendo estos últimos de menor tamaño. En la tabla IV.7 se muestra la ganancia en peso de la muestra al ser oxidada a 950°C en los tres tiempos de permanencia, notándose que a las 6 y 12 h de tratamiento el peso adicional es muy próximo entre sí, por lo que se puede sugerir que no hay una diferencia notoria en el efecto de hematización entre ambos; lo que no sucede a las 24 h de permanencia, ya que la ganancia en peso es muy grande, cercana al 30%. Sin embargo, no se puede asegurar que se ha llegado a la transformación completa de la magnetita por no tratarse de una muestra pura, ya que se desconoce la interacción de los otros componentes en la oxidación del mineral.

Tabla IV.7. Porcentaje de ganancia en peso del mineral al ser oxidado a 950°C.

Tiempo de permanencia (h)	Ganancia en peso (%)
6	13.53
12	14.69
24	29.2

Con lo que respecta al análisis por DRX, la figura 4.13 muestra los difractogramas correspondientes al mineral sin tratamiento (descrito en la figura 4.3) y los productos de las oxidaciones en los tres tiempos de permanencia. Para esta etapa experimental, la fase de interés fue la hematita, la cual se pudo indexar claramente con la tarjeta JCPDS 01-089-8104 (Fe₂O₃) con una estructura romboédrica (fase α de la Fe₂O₃) [54, 64]; un hecho importante a destacar es que la cristalinidad de la Fe₂O₃ se ve reducida conforme aumenta el tiempo de oxidación de acuerdo a la disminución de la altura del pico así como por el ensanchamiento del mismo. También la fase magnetita se mantuvo presente en los tres tiempos de permanencia, ésta se indexó con la tarjeta JCPDS 01-075-0449 (Fe₃O₄) presentando una estructura cúbica; la proporción de la Fe₃O₄ aumentó en los tratamientos de 12 y 24 h, sugiriendo que la transformación alotrópica de la γ -Fe₂O₃ a la α -Fe₂O₃ se presenta en las primeras 6 h de oxidación.

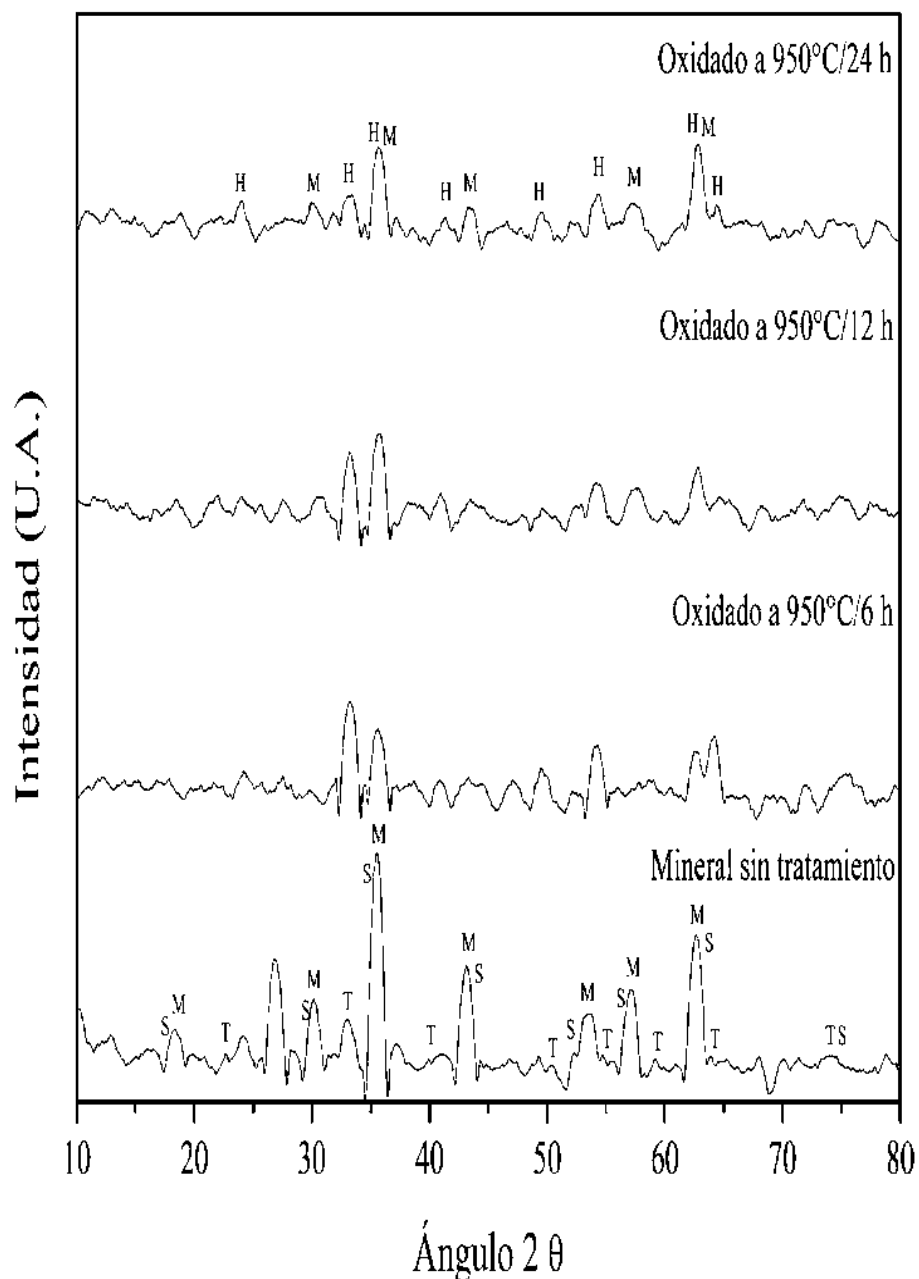


Figura 4.13. Difractogramas del mineral sin tratamiento y oxidado a 950°C en diferentes tiempos de permanencia. Abreviaturas: M, Magnetita; S, Óxido hierro-silicio; T, Óxido hierro-titanio; H, Hematita.

Las micrografías obtenidas en modo SEI (figura 4.14) muestran el efecto del proceso de oxidación en los diferentes tiempos de permanencia; la figura 4.14 (a) y (b) son las micrografías del mineral sin tratamiento donde se observa que los granos son muy pequeños y la topografía general es compacta. Para la oxidación se presenta el cambio de fase a Fe_3O_4 a Fe_2O_3 con un crecimiento de grano muy notorio.

En las micrografías a 2000 y 5000x de la figura 4.14 (c)-(d) y (e)-(f) del mineral a 6 y 12 h de oxidación, respectivamente, las muestras no presentan diferencia notable en la morfología, ya que las partículas observadas a 2000x los granos de hematita están unidos (aglomerados) uniformemente y los compuestos no conductores (con efecto de carga) están distribuidos homogéneamente, las micrografías a 5000x muestran con mayor claridad los límites de grano así como algunas estructuras ortorrómbicas características de la Fe_2O_3 , también se observa que los compuestos no conductores presentaron crecimiento de grano comparados con los del mineral sin tratamiento, esto se sugiere al cambio en la conformación de la celda unidad, *fcc* (Fe_3O_4) a *hcp* (Fe_2O_3), lo que altera en número los huecos disponibles para los otros elementos.

Con lo que respecta al tiempo de permanencia de 24 h, las micrografías a 2000 y 5000x (figura 4.14 (g)-(h), respectivamente) presentan un cambio en la morfología; se observa que en la partícula (2000x) ocurre la transformación de zonas hematizadas a magnetita debido a la compactación de los granos, tal como se muestra en el mineral sin tratamiento, este efecto se ve favorecido por la presencia carbonatos y silicatos de hierro, que al aumentar la temperatura (inyección de aire y tiempo de permanencia tan prolongado) se logró su transformación metamórfica hacia Fe_3O_4 [65].

Este comportamiento se presenta en el diagrama de fases (figura 4.12) que muestra la composición de hematita + magnetita. A 5000x la topografía presenta mayor irregularidad al igual que los granos, además con este tratamiento los compuestos no metálicos presentan mayor crecimiento, debido a la transformación metamórfica que libera silicio y carbono, también a los diversos elementos expulsados en el reacomodo de la estructura cristalina de la matriz de hierro, por lo pueden tener mayor contacto con el aire del ambiente inyectado y así crecer como óxidos, esto sugiere que la ganancia en peso (tabla IV.7) se le atribuye a la oxidación de los elementos minoritarios.

El comportamiento de la fase mayoritaria (óxido de hierro) concuerda con el difractograma de la figura 4.12 aunque no fue posible indexar fases minoritarias oxidadas.

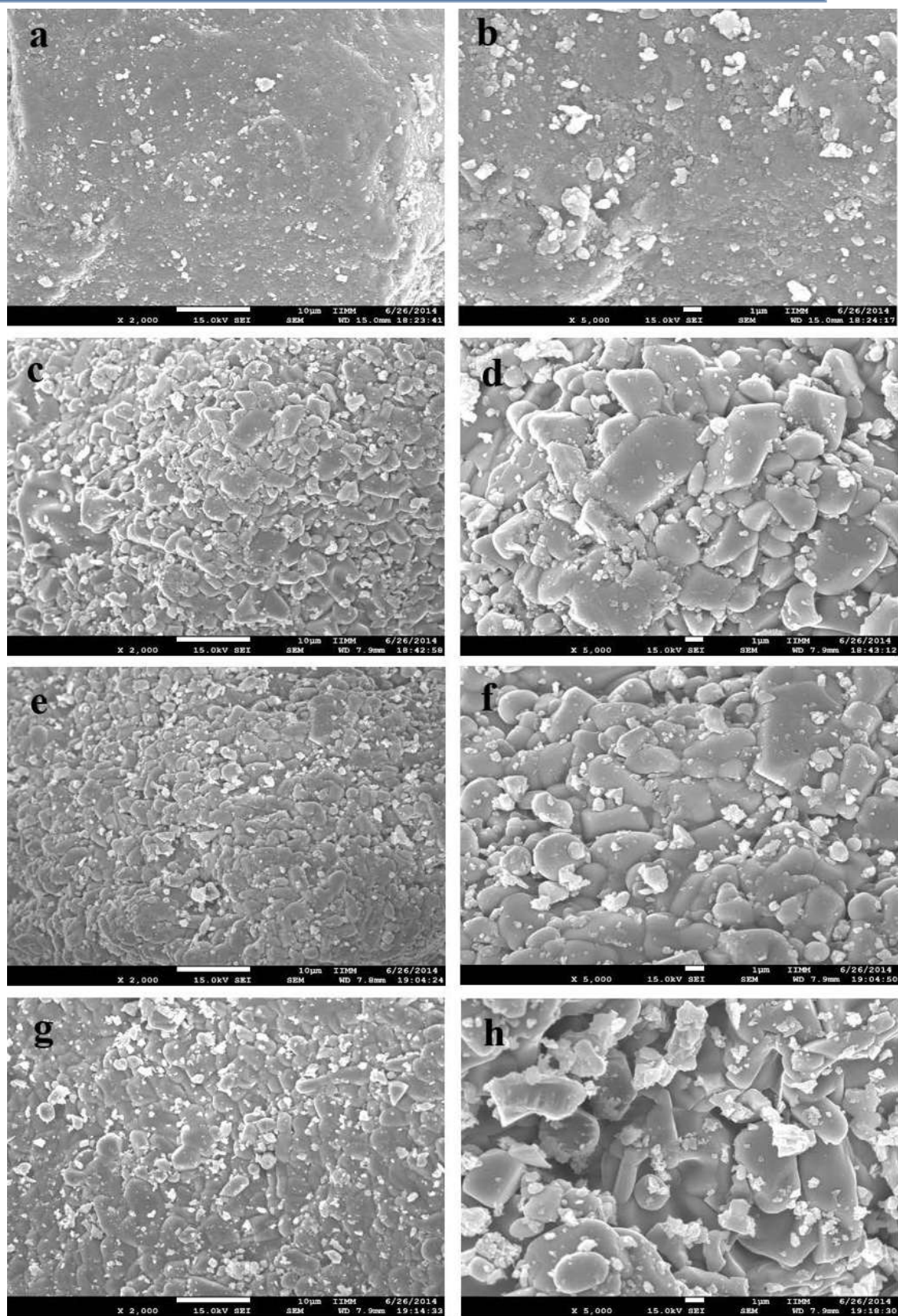


Figura 4.14. Micrografías del mineral a 2000 y 5000x. **a), b)** sin tratamiento; **c), d)** Oxidado por 6 h; **e), f)** Oxidado por 12 h; **g), h)** Oxidado por 24 h.

En la figura 4.15 se muestra el análisis químico por EDS de la muestra oxidada por 12 h, en comparación con el EDS del mineral sin tratamiento (figura 4.6), el hierro aumentó ligeramente, el carbono se redujo por su conversión a gas, el calcio se mantiene igual, mientras que el titanio y aluminio se reducen considerablemente probablemente a la difusión hacia el tercio de huecos intersticiales libres de la celda unidad *hcp* de la α -Fe₂O₃. Debido al proceso de difusión, el cromo aparece con alta concentración, el silicio aumenta ligeramente y con ellos el oxígeno con el que forman compuestos oxidados.

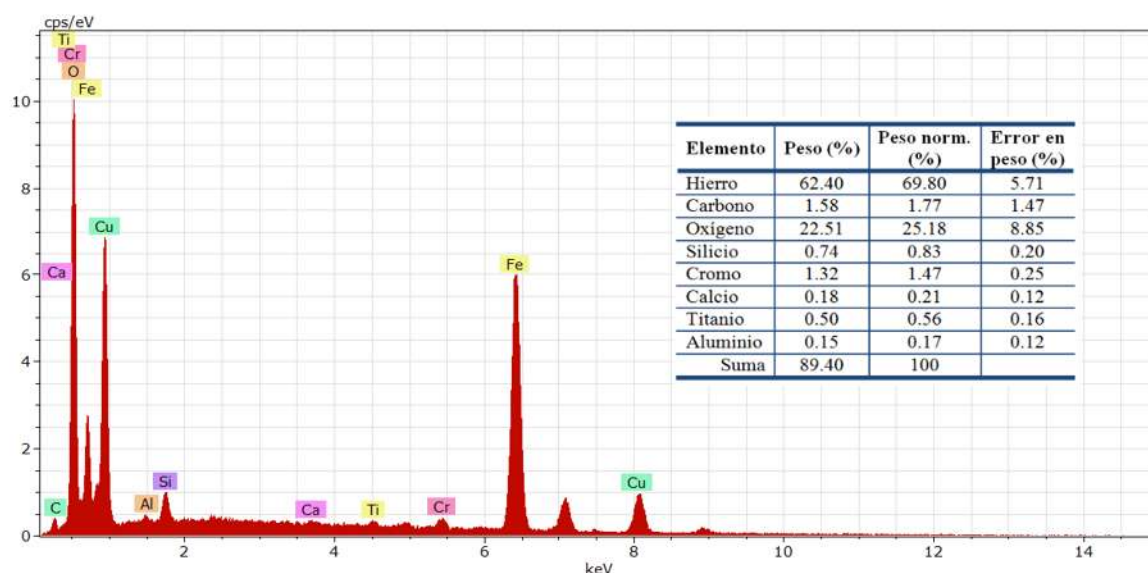


Figura 4.15. Espectro de EDS del mineral oxidado con 12 h de permanencia.

El mapeo del mineral oxidado por 24 h de la figura 4.16 (a) muestra cómo se concentraron el titanio, silicio y cromo en partículas independientes (figura 4.16 (b), (e) y (f)), respectivamente, siendo la partícula de titanio la de mayor tamaño sin embargo no es posible distinguir morfológicamente alguna característica típica de este compuesto; los que existen en mayor cantidad son las de cromo y por último las de silicio, ambas presentan morfología irregular; en cuanto al hierro (figura 4.16 (c)) continua distribuido homogéneamente en la superficie del mineral. Finalmente el oxígeno (figura 4.16 (d)) sigue mostrando la topografía de las partículas, principalmente del hierro.

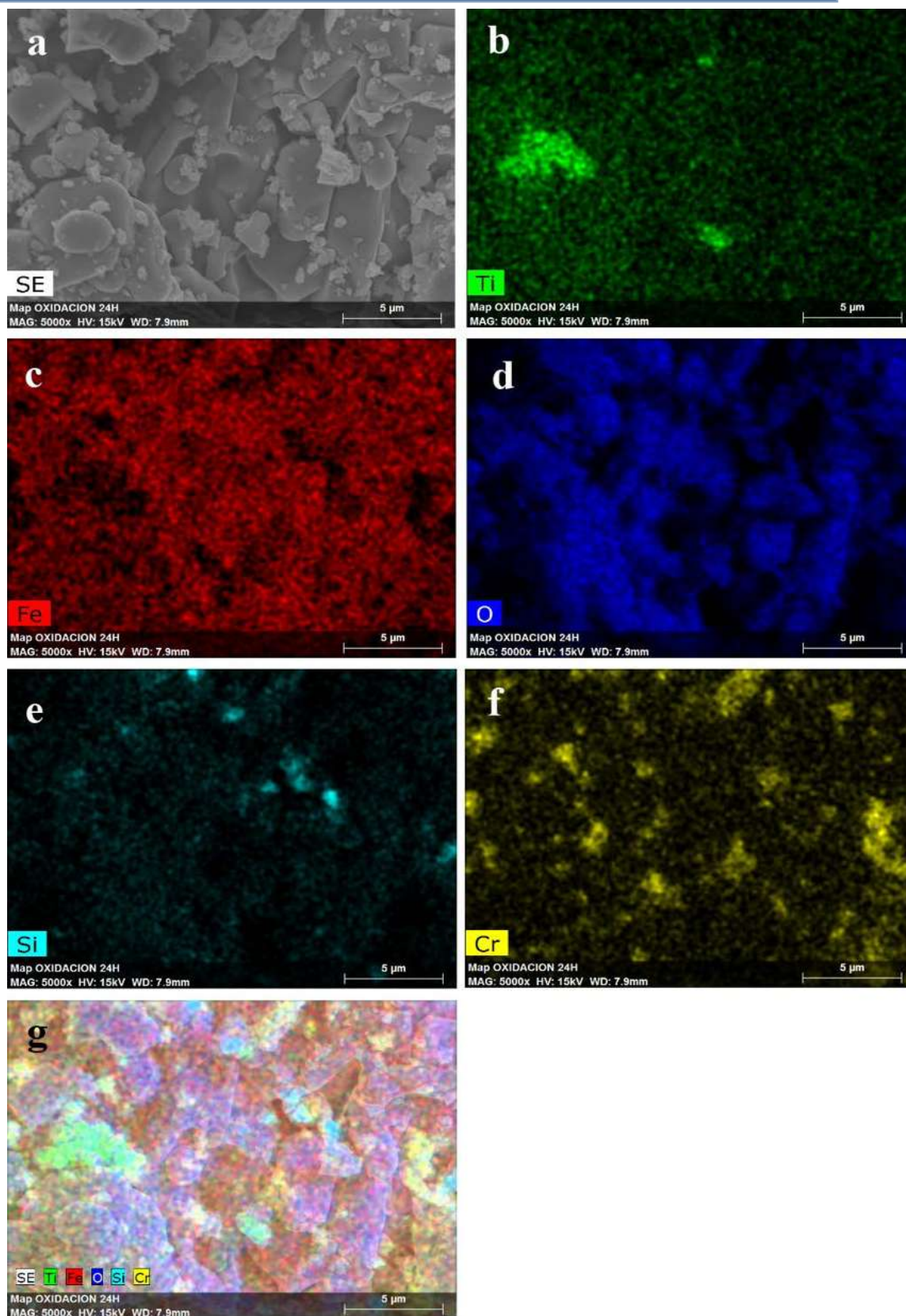


Figura 4.16. Mapeo mineral oxidado por 24 h. **a)** Micrografía base; **b), c), d), e), f)** Patrón de los elementos titanio, hierro, oxígeno, silicio y cromo, respectivamente; **g)** Mapeo de la micrografía base.

En el mineral oxidado a 24 h no sólo se presentó la acumulación de los elementos no conductores sino que también favoreció la formación de estructuras cúbicas y en espiga por lo que se decidió hacer un análisis puntual de EDS para conocer su composición. En la figura 4.17 se tiene la micrografía en modo SEI mostrándose la zona de análisis (figura 4.17 (a)) y una ampliación (figura 4.17 (b)) donde se observa que la estructura en espiga es independiente a la matriz de hierro.

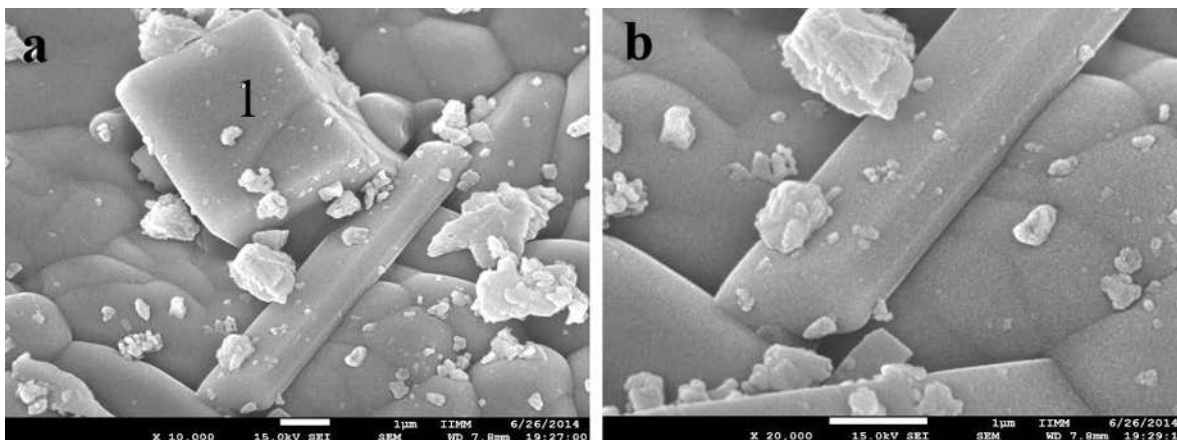


Figura 4.17 a) Micrografía del análisis puntual a 10000x; b) Ampliación a 20000x.

La figura 4.18 presenta el análisis químico por EDS de la partícula mostrando que está constituido principalmente de hierro con una concentración alta de titanio y oxígeno, tratándose de la ilmenita, esta estructura cúbica se formó a través de la solución completa de la Fe_2O_3 y el FeTiO_3 a la temperatura de 950°C [54].

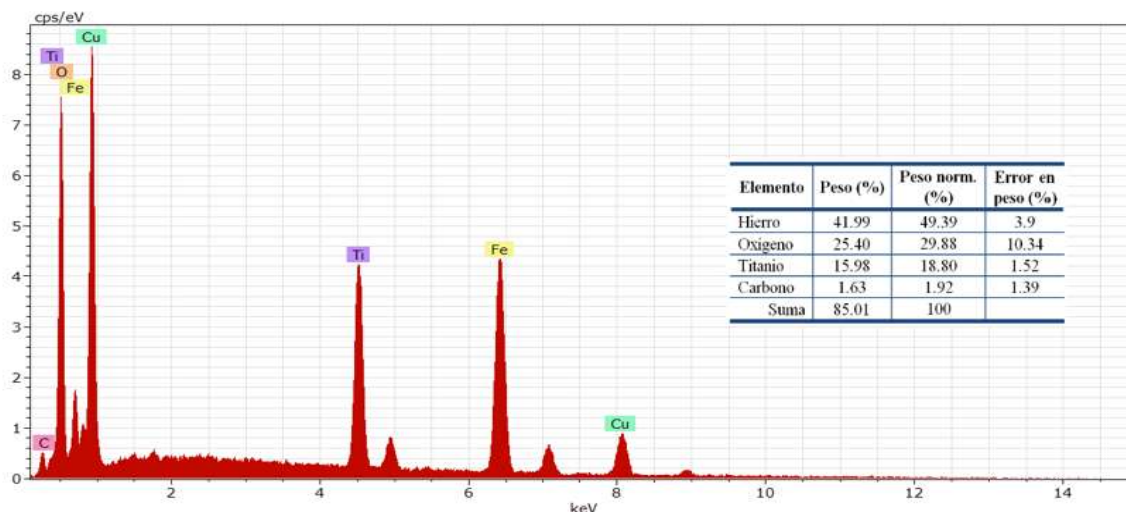


Figura 4.18. Espectro de EDS puntual de la partícula 1 del mineral oxidado por 24 h.

Además, el tiempo de permanencia tan prolongado fue un factor importante para la reacción entre el carbono, oxígeno y hierro generando un carbonato de hierro que sea parte de la estructura cúbica.

Las micrografías en modo BSE-COMPO (Figura 4.19) muestran nuevamente como el hierro está distribuido homogéneamente en toda la muestra debido a la uniformidad del contraste gris, siendo las estructuras cúbica y de espiga fases del compuesto FeTiO_3 .

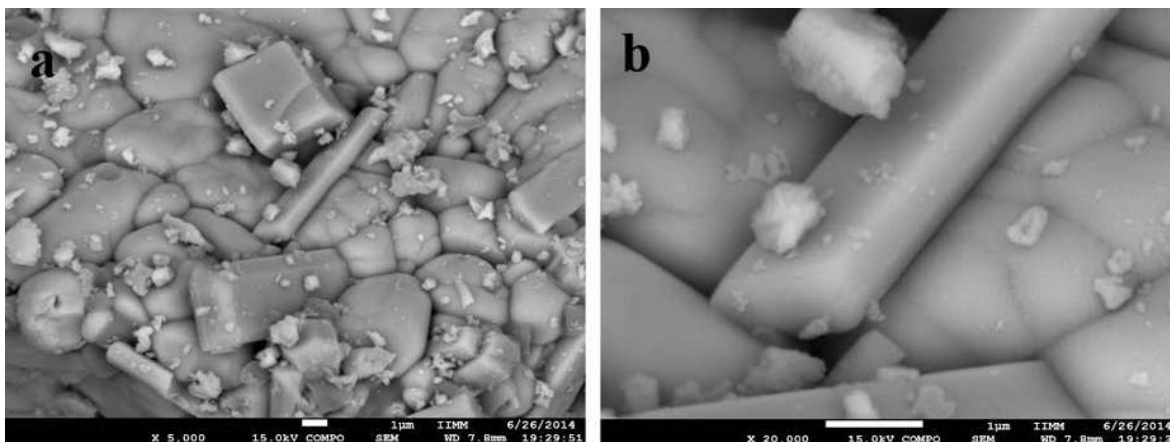
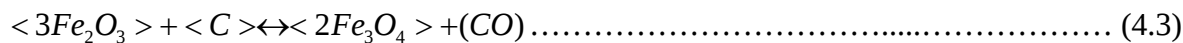


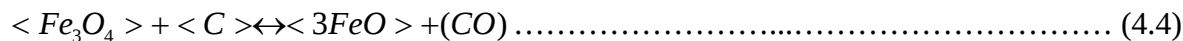
Figura 4.19 a) Micrografía del mineral oxidado por 24 h a 5000x; **b)** Ampliación a 20000x.

4.3.2. Reducción carbotérmica del mineral

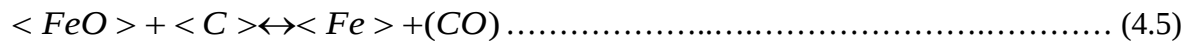
Para la reducción directa a 1100°C (1373 K) se tienen las reacciones 4.3 a 4.5 donde se observa que la energía de Gibbs en la reacción 4.3 es el doble de la reacción 4.4 y tres veces mayor a la reacción 4.5, indicando que la transformación de Fe_2O_3 a Fe_3O_4 (porosa y permeable) es la más espontánea. Para las transformaciones de Fe_3O_4 a FeO (reacción 4.4) y FeO a hierro elemental-Fe (reacción 4.5) la energía de Gibbs están muy próximas entre sí, lo que indica que ambas reacciones ocurren a la par en el proceso de reducción.



$$\Delta G^\circ_r = 125\text{kJ/mol} - (T \times 225\text{J/mol} \cdot \text{K}) = -183.03\text{kJ/mol}$$

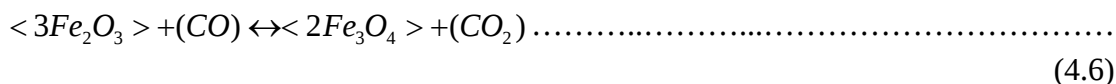


$$\Delta G^\circ_r = 198.2\text{kJ/mol} - (T \times 200.1\text{J/mol} \cdot \text{K}) = -76.5\text{kJ/mol}$$



$$\Delta G^\circ_r = 151.1\text{kJ/mol} - (T \times 151.1\text{J/mol} \cdot \text{K}) = -56.4\text{kJ/mol}$$

Finalmente para la reducción indirecta a 1100°C (1373 K) se muestran las reacciones 4.6 a 4.8 siendo la reacción 4.6 la que tiene mayor espontaneidad y muy por debajo la reacción 4.7; este hecho contribuye a una transformación completa de la Fe_2O_3 (por ambos mecanismos) y favorece la reducción de la Fe_2O_3 hacia FeO . Con lo que respecta a la reacción 4.8, ésta presenta una energía de Gibbs positiva, lo que indica que la FeO es más estable que el Fe , el cual actúa como agente reductor para el dióxido de carbono. Es por ello que para la fase FeO la transformación completa a Fe es difícil aunado que en la reducción directa esta reacción presenta la energía de Gibbs más cercana al equilibrio.



$$\Delta G^\circ_r = -43.1 \text{ kJ/mol} - (T \times 52.836 \text{ J/mol} \cdot \text{K}) = -115.64 \text{ kJ/mol}$$



$$\Delta G^\circ_r = 29.2 \text{ kJ/mol} - (T \times 27.936 \text{ J/mol} \cdot \text{K}) = -9.19 \text{ kJ/mol}$$



$$\Delta G^\circ_r = -17.1 \text{ kJ/mol} - (T \times -21.064 \text{ J/mol} \cdot \text{K}) = 11.82 \text{ kJ/mol}$$

En la figura 4.20 se muestran los difractogramas del mineral oxidado por 12 h antes y después de la reducción carbotérmica. En la mezcla inicial se tiene al grafito identificado plenamente por su pico e indexado con la tarjeta JCPDS 00-026-1077 (C, estructura hexagonal), así como las fases hematita y óxido hierro-titanio indexadas con las tarjetas JCPDS 01-071-5088 (Fe_2O_3) y JCPDS 01-070-5770 ($\text{Fe}_{1.696}\text{Ti}_{0.228}\text{O}_3$), respectivamente; ambas presentan estructura romboédrica. Después de las 4 h de tratamiento la fase de grafito llega a casi desaparecer, mientras que la Fe_2O_3 se redujo a Fe , presentando un pico alto y delgado indicativo de alta cristalinidad, éste se indexó con la tarjeta PDF JCPDS 00-006-0696 (Fe , estructura cúbica), así mismo la Fe_2O_3 produjo FeO en una proporción muy baja y se indexó con la tarjeta JCPDS 00-006-0711 (FeO , estructura romboédrica), lo que constata lo expuesto anteriormente sobre su termodinámica de reacción. Por último, se tiene la presencia de khamrabaevita poco cristalina debido al pico pequeño y ancho, ésta fue indexada con la tarjeta JCPDS 00-074-1219 (TiC , estructura cúbica), producto de la reducción del óxido hierro-titanio.

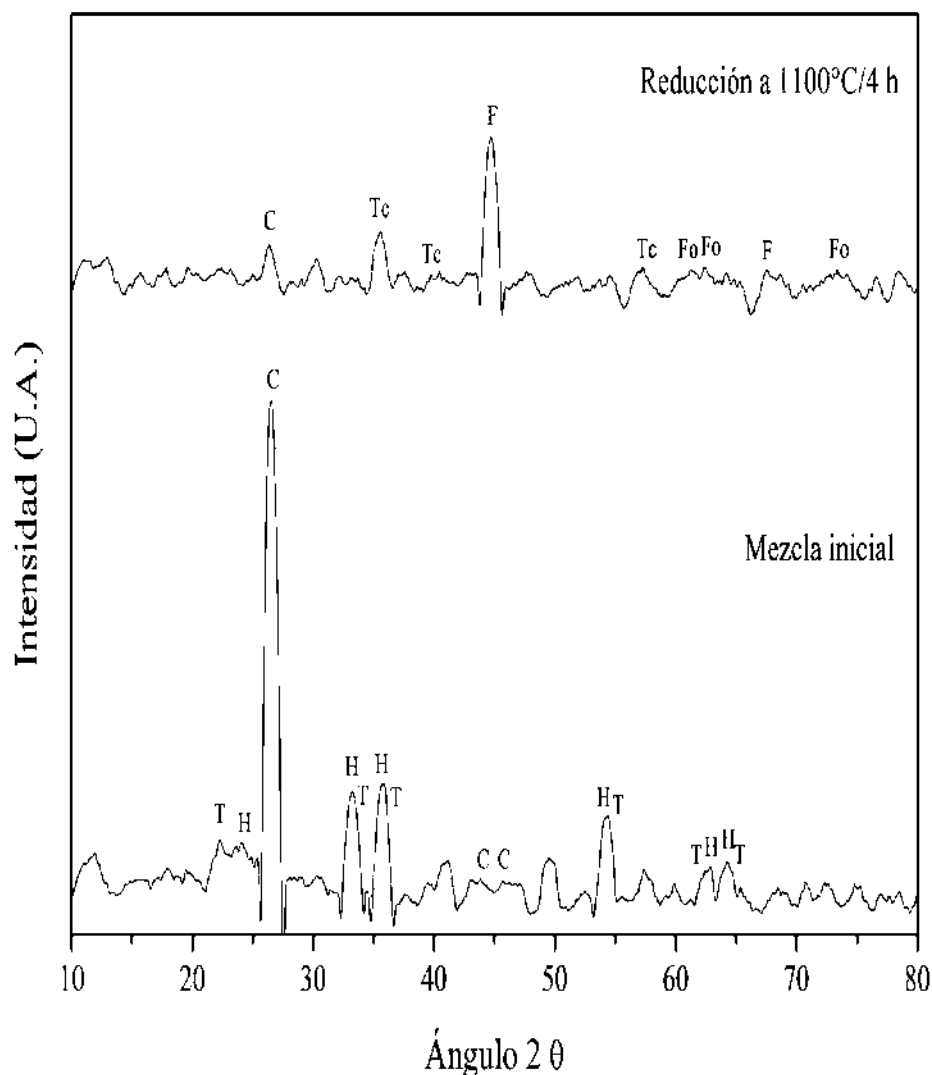


Figura 4.20. Difractogramas de la mezcla mineral oxidado-grafito antes y después de la reducción. Abreviaturas C, Grafito; H, Hematita; T, Óxido hierro-titanio; F, Hierro elemental; Fo, Óxido ferroso; Tc, Carburo de titanio.

Las micrografías de la mezcla mineral-grafito antes de la reducción se presentan en la figura 4.21, donde es posible observar al mineral sin la cristalinidad obtenida en la oxidación (figura 4.21 (a), (b)) debido al proceso de mezclado-pulverizado al que se sometió junto con el grafito. De igual forma, a mayor magnificación se muestra que el grafito esta adherido a la superficie del mineral, en algunas zonas se aprecia que forma capas muy gruesas pero en general hay una distribución homogénea (figura 4.21 (c), (d)). Esta morfología presenta gran similitud con la obtenida en el tiempo cero de la investigación realizada por Yang *et al.* [20].

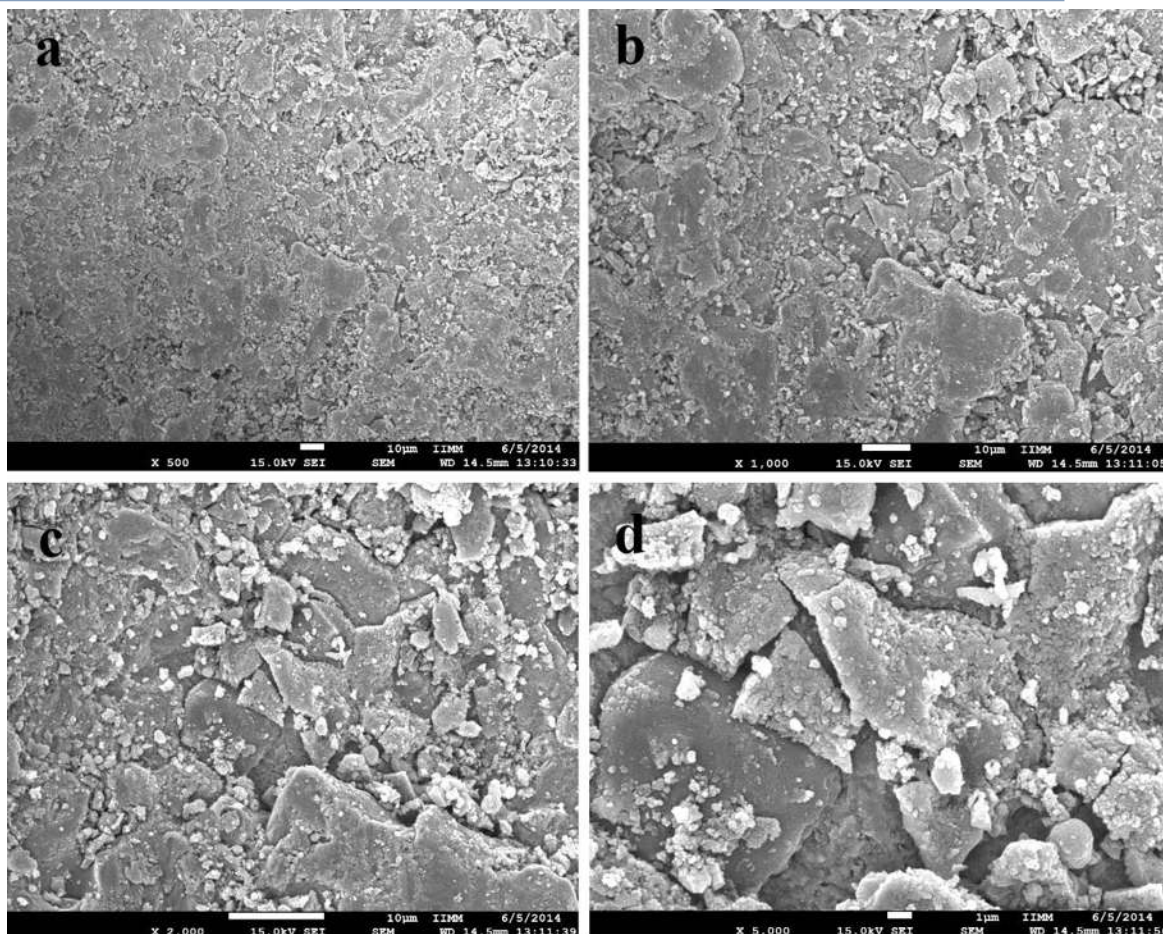


Figura 4.21. Micrografías de la mezcla mineral oxidado-grafito antes de la reducción. **a)** Ampliación 500x; **b)** Ampliación 1000x; **c)** Ampliación 2000x; **d)** Ampliación 5000x.

El análisis de mapeo de esta mezcla se muestra en la figura 4.22 aplicando los elementos carbono (C), hierro (Fe) y oxígeno (O) por tratarse de los elementos de interés en esta etapa experimental. En la figura 4.22 (a) se tiene la imagen base del mapeo, mientras que los patrones se muestran en la figura 4.22 (b), (c), (d); la imagen obtenida de la unión de los patrones (figura 4.22 (e)) muestra que el carbono está concentrado en pequeñas zonas de las partículas, y también está distribuido en todo el mineral de acuerdo al patrón. En cuanto al hierro, se observa que la mayor proporción se tiene en las zonas donde se distingue un acomodo cristalino similar a la hematita, también es importante notar que de acuerdo al patrón el hierro está presente en las zonas cubiertas por los compuestos no conductores (contraste blanco), que de acuerdo al patrón del oxígeno se trata de óxidos de un compuesto no metálico. De igual forma, se muestra partículas que no dan composición de hierro sino de algún otro elemento químico.

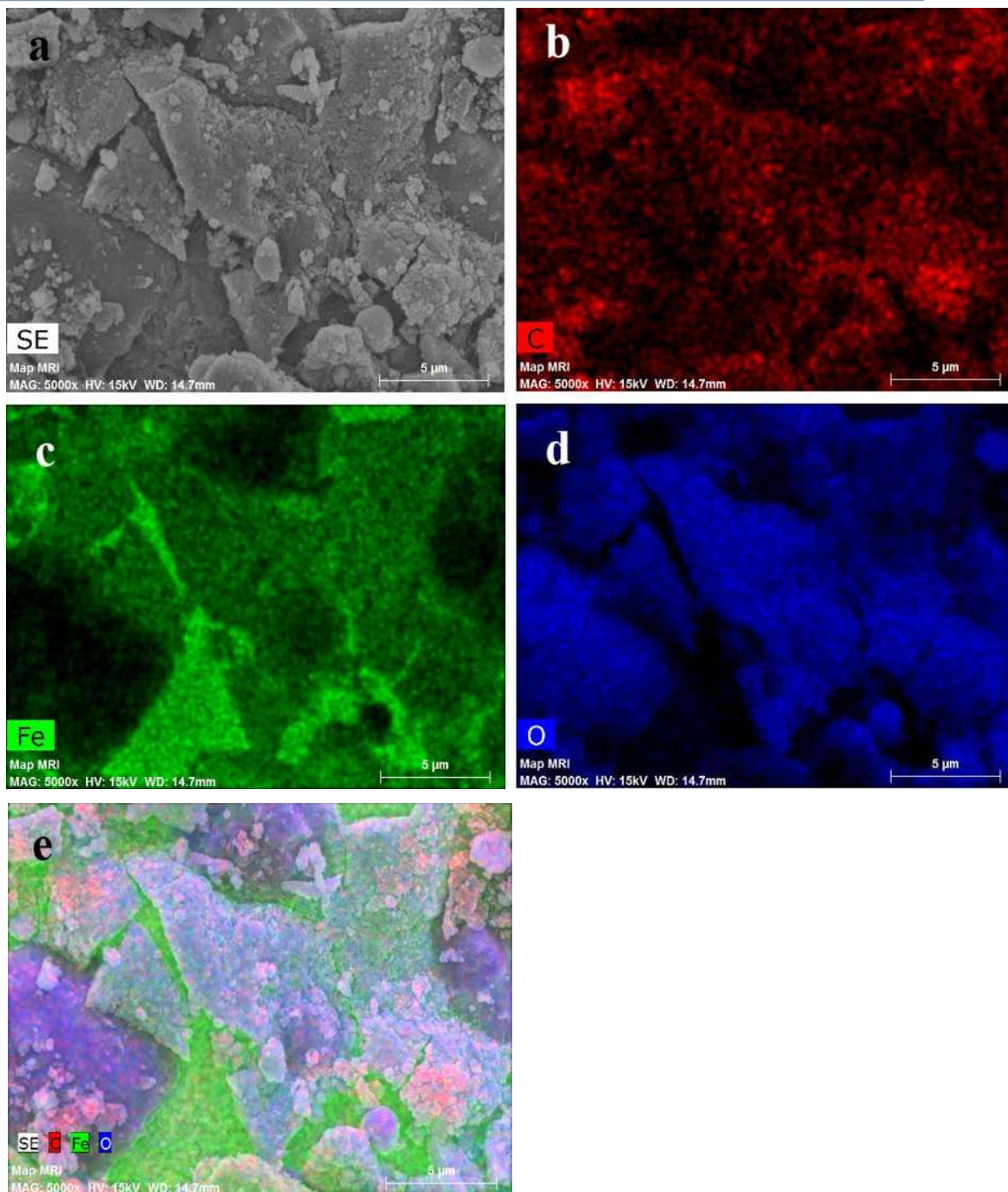


Figura 4.22. Mapeo mezcla mineral oxidado-grafito antes de la reducción. **a)** Micrografía base; **b), c), d)** Patrón de los elementos carbono, hierro y oxígeno, respectivamente; **e)** Mapeo de la micrografía base.

Para conocer los componentes se realizó el análisis químico por EDS mostrándose el espectro y tabla de composición en la figura 4.23; el elemento de mayor concentración es el hierro y muy por debajo el silicio y aluminio, lo que sugiere que los compuestos mencionados en la figura anterior pertenecen a óxidos, fosfatos y sulfatos de aluminio, silicio y calcio. El grafito está presente en baja proporción respecto al hierro a pesar de que la mezcla se realizó 1:4 molar respecto a este elemento.

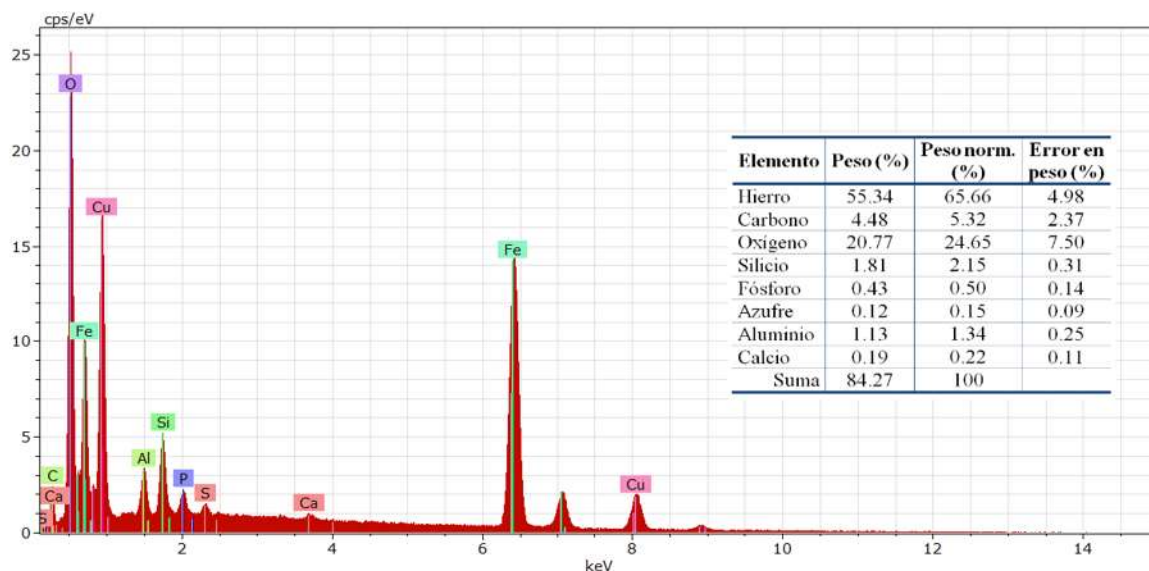


Figura 4.23. Espectro de EDS de la mezcla mineral-grafito antes de la reducción.

Ocurrida la reacción de reducción carbotérmica, la morfología del mineral cambia sustancialmente, lo que se ilustra en las micrografías en modo SEI de la figura 4.24. En la amplificación de 500X (figura 4.24 (a)) se muestra claramente la morfología isométrica del hierro α (α -Fe), la cual presenta cristales en forma nodular y en masas grandes con una celda unidad *bcc* [54], de igual manera se observan partículas amorfas que están sobre la superficie del mineral, que se sugiere son de los elementos minoritarios y desprendimientos de α -Fe. A mayores amplificaciones (figura 4.24 (b), (c), (d)) se muestra la formación de partículas esféricas embebidas en la matriz de hierro debido al enfriamiento lento que sufrió el mineral y con ello se propició un nuevo acomodo estructural que favoreció esta precipitación esférica, éstas se describen más adelante.

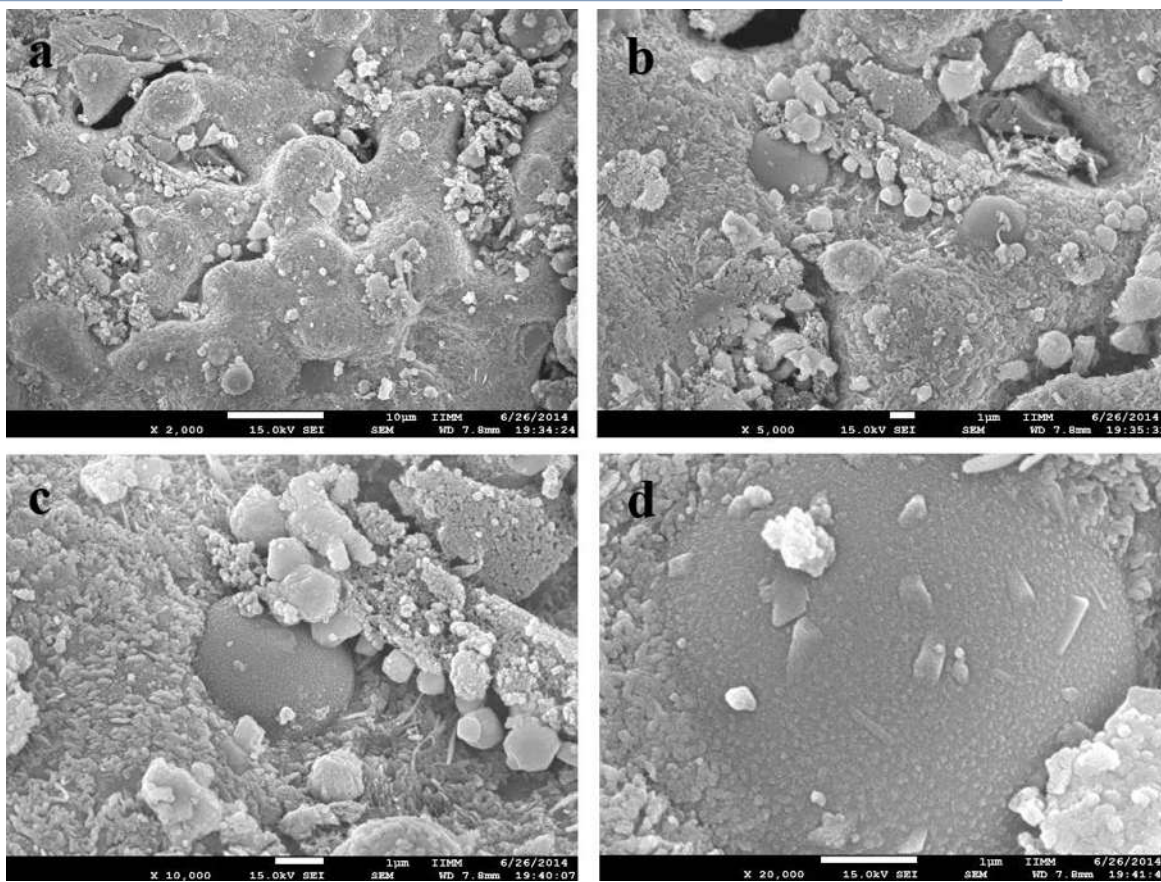


Figura 4.24. Micrografías de la mezcla mineral oxidado-grafito después de la reducción. **a)** Ampliación 2000x; **b)** Ampliación 5000x; **c)** Ampliación 10000x; **d)** Ampliación 20000x.

De acuerdo al mapeo de la figura 4.25 (a) muestra que el titanio se concentra en pequeñas partículas (figura 4.25 (b)) pero en el patrón de hierro (figura 4.25 (c)) se observa que está presente junto al titanio, lo que no sucede en la región de las partículas esféricas, ya que aquí está completamente ausente y en su lugar se encuentra el silicio (figura 4.25 (e)) que forma un compuesto con el oxígeno (figura 4.25 (d)), sin embargo, este último sigue mostrando la topografía del mineral indicando que continua formando parte de la fase de hierro y de los demás componentes.

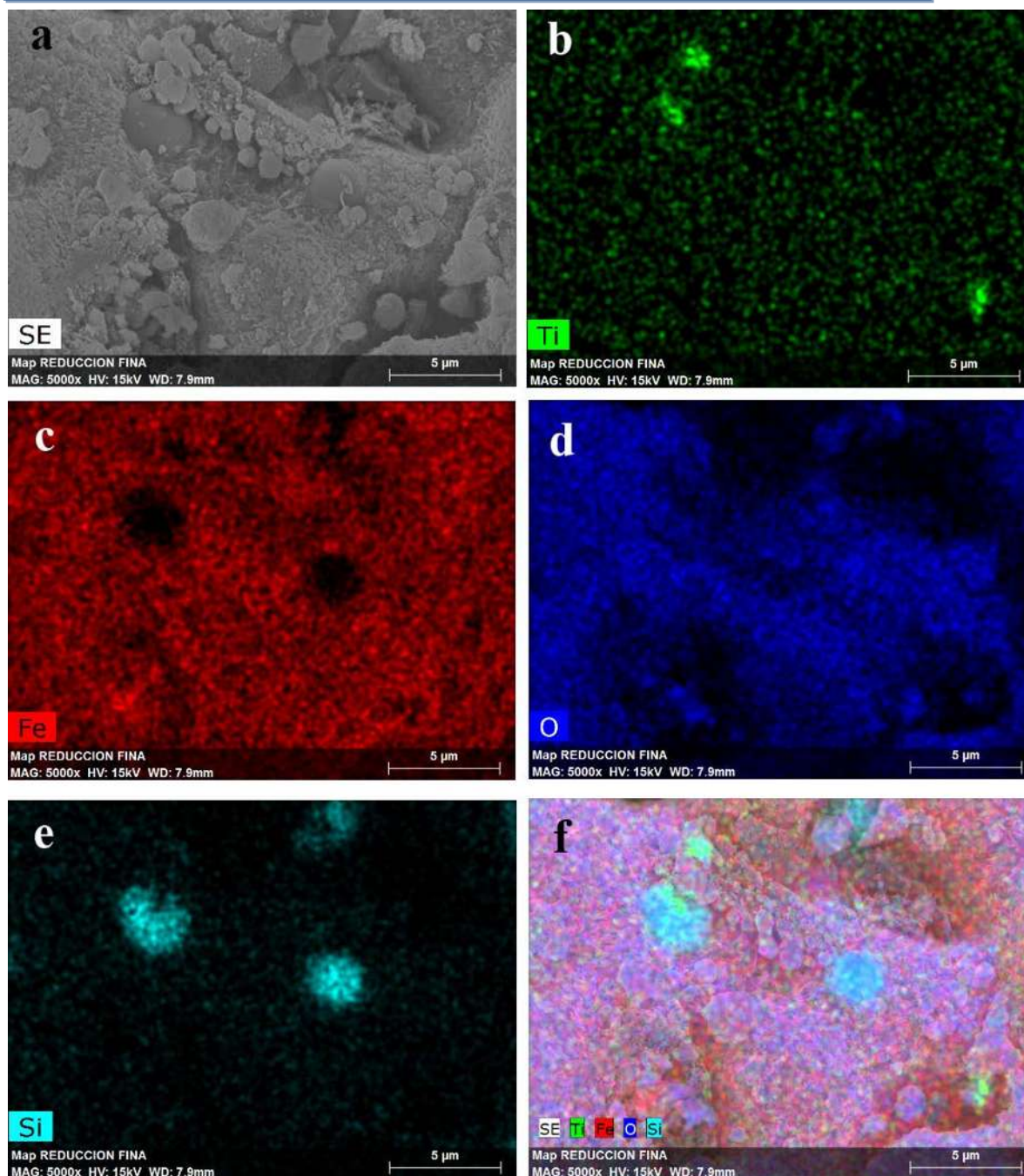


Figura 4.25. Mapeo mineral oxidado-grafito después de la reducción. **a)** Micrografía base; **b), c), d), e)** Patrón de los elementos titanio, hierro, oxígeno y silicio, respectivamente; **f)** Mapeo de la micrografía base.

El análisis químico de EDS (figura 4.26) muestra un aumento en el hierro, el carbono se reduce levemente de la mezcla inicial (figura 4.23), aunque el promedio en pérdida en peso fue del 32.8% mientras que para el blanco fue del 40% (ligeramente superior), lo que

indica que los demás componentes tienen el efecto de minimizar la transformación del carbono en CO_2 . El silicio del óxido hierro-silicio se concentra debido a su precipitación y se reduce la concentración de aluminio y cromo probablemente a su difusión hacia la matriz de hierro o precipitación en otras zonas del mineral.

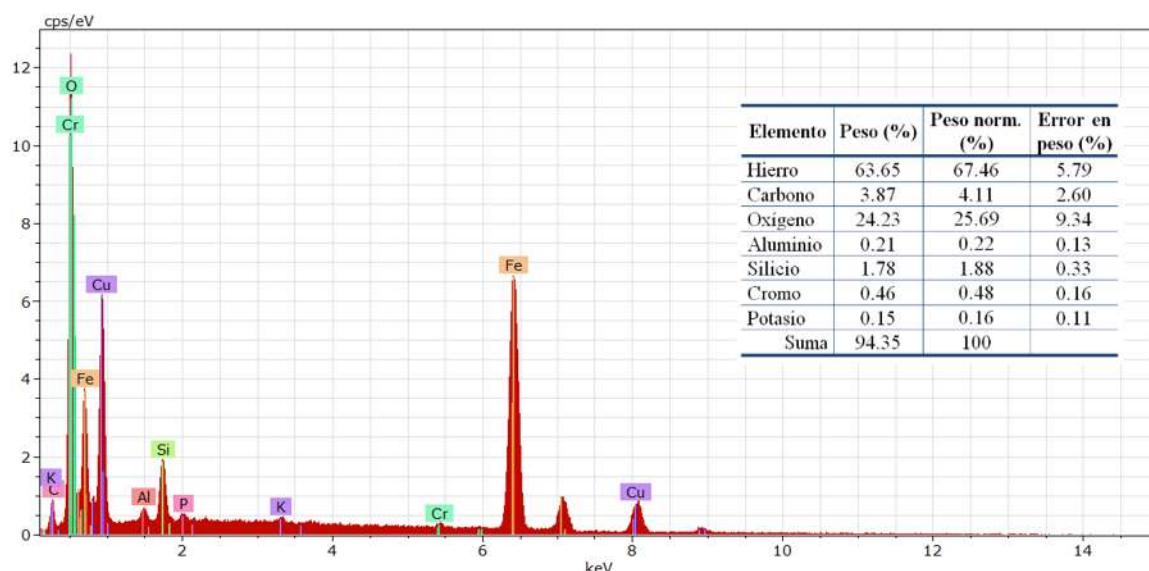


Figura 4.26. Espectro de EDS de la mezcla mineral oxidado-grafito después de la reducción.

La precipitación de la fase de óxido de silicio se muestra en micrografías modo BSE-COMPO (figura 4.27) puesto que se observa claramente la diferencia en contraste de grises, ya que el hierro al ser el elemento con número atómico mayor su estructura es más clara (o brillante), mientras que el silicio (número atómico menor) su estructura es más oscura. La composición de las partículas de tonalidad blanca se desconoce.

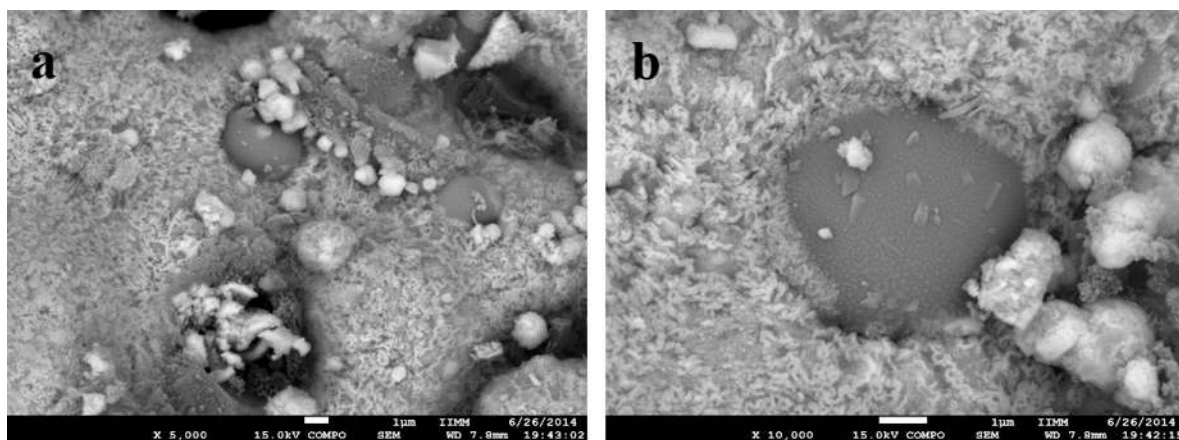


Figura 4.27. a) Micrografía del mineral reducido a 5000x; **b)** Ampliación a 10000x.

Finalmente, en la figura 4.28 se muestran a manera de resumen los cambios morfológicos que sufre la matriz de hierro, los cuales son muy distintos entre sí, además de poseer diferentes celdas unidad: Fe_3O_4 , *fcc*; $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, *hcp*; $\alpha\text{-Fe}$, *bcc*. También, estos cambios se ven reflejados en la propiedad intrínseca del mineral como es la densidad, partiendo de 4.88 g/cm^3 en Fe_3O_4 , para la $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ aumenta ligeramente a 4.99 g/cm^3 debido a que su celda presenta menor número de huecos intersticiales disponibles, en el caso del $\alpha\text{-Fe}$ su densidad fue relativamente menor con 4.68 g/cm^3 ya que la celda unidad es la que posee el mayor número de huecos o poros intersticiales disponibles. Además, en la morfología del Fe se observan porosidades formadas por la salida de los gases CO y CO_2 , entre otros, lo que favorecerá la etapa de lixiviación ácida tradicional, debido al incremento de área superficial que reaccionará con la solución.

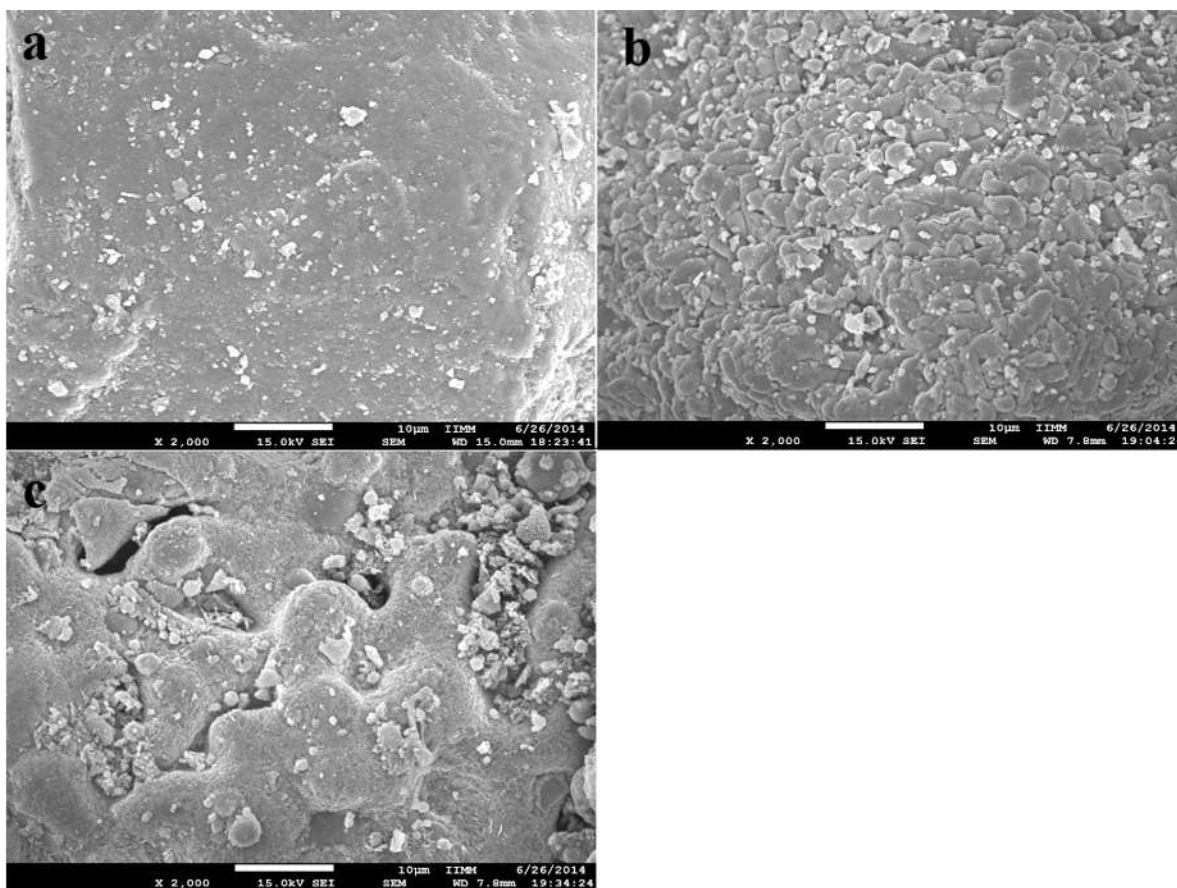


Figura 4.28. Micrografías comparativas a 2000x. **a)** Mineral sin tratamiento; **b)** Mineral oxidado; **c)** Mineral reducido carbotérmicamente.

4.4. Lixiviación bacteriana

4.4.1. Crecimiento y adaptación de la bacteria

a) Cinética bacteriana de crecimiento

El primer parámetro a establecer fue la velocidad de crecimiento de *Shewanella putrefaciens* adaptada al metabolismo anaeróbico, esto a través de la escala de MacFarland y en cuatro longitudes de onda, lo cual se presenta en la figura 4.29 (a), en ella se observa que en las diferentes longitudes de onda propuestas la biomasa bacteriana absorbe satisfactoriamente, aunque las que presentaron mayor concentración fueron a 540 y 600 nm indicando que ciertos componentes bacterianos de esta especie absorben mejor los colores verde y amarillo del espectro visible, sin embargo su comportamiento presentó más ruido. Es por ello que los resultados se sometieron a un análisis de varianza-ANOVA mostrado en la tabla IV.8, aquí se determinó que los valores obtenidos de concentración bacteriana no presentan diferencia estadística significativa, es decir, se acepta la hipótesis nula ya que la F calculada es mucho menor que la F teórica, por lo que se puede trabajar con cualquiera de las longitudes de onda propuestas.

Se decidió continuar la cinética de crecimiento aplicando la longitud de onda de 630 nm, debido a que presentó mejor comportamiento lineal (figura 4.29 (b)). En 14 h de cultivo se observaron tres etapas características del desarrollo bacteriano, 1) latencia, conformada por las primeras 4 h; 2) crecimiento exponencial, que se prolonga hasta las 9 h y 3) estacionaria, que se mantiene después de las 14 h de monitoreo, es por ello que la última etapa o fase de muerte no se pudo observar, aunque esto no es detrimento para las posteriores etapas de análisis. Finalmente, se puede considerar que a partir de 4 h de incubación existe la certeza de inocular con un cultivo joven en fase exponencial lo que mejoraría los procesos subsecuentes de catálisis bacteriana.

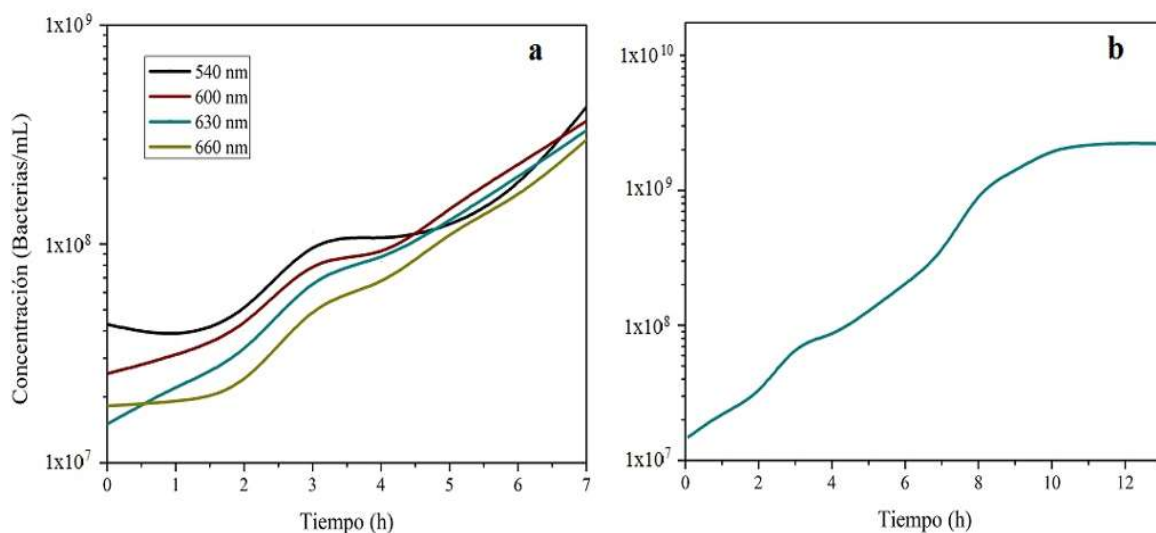


Figura 4.29. a) Medición de la concentración bacteriana a diferentes longitudes de onda; **b)** Cinética de crecimiento de *Shewanella putrefaciens* en 14 h.

Tabla IV.8. Análisis de varianza ANOVA entre las longitudes de onda experimentales.

Pares de longitud de onda comparados	<i>F</i> calculada	<i>F</i> teórica
540 nm–600 nm	0.0087	4.60
630 nm–540 nm	0.1350	4.60
660 nm–540 nm	0.4599	4.60
600 nm–630 nm	0.0789	4.60
600 nm–660 nm	0.3615	4.60
630 nm–660 nm	0.1040	4.60

Dentro de la metodología para corroborar que la cepa bacteriana no se haya perdido, se identificó el crecimiento característico en el medio Agar Marino (AM) obteniéndose colonias pequeñas, convexas y color rosa pálido (figura 4.30 (a)), éstas se inoculan en las pruebas bioquímicas Hierro-Kligler (KIA) y Triple Azúcar-Hierro (TSI) donde se observó en ambas la producción de ácido sulfhídrico (H_2S , precipitado negro) además se muestra que la bacteria no es fermentadora de los azúcares presentes en el TSI debido a que el indicador rojo de fenol no viró a amarillo (figura 4.30 (b)). Finalmente, se realizó la tinción Gram (figura 4.30 (c)) mostrando que el crecimiento se mantuvo puro, ya que solo se apreciaron bacilos Gram negativos (rosas) pertenecientes a la bacteria *Shewanella putrefaciens* [28, 29].

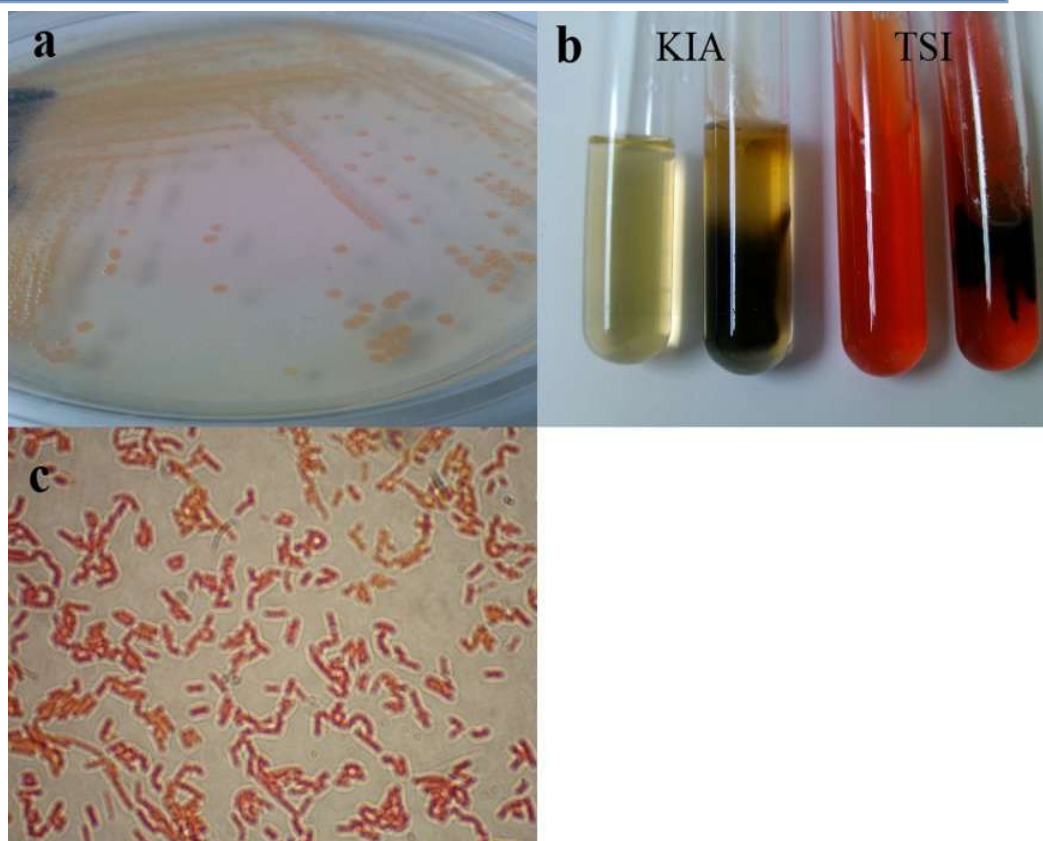


Figura 4.30. Identificación microbiológica de *Shewanella putrefaciens*. **a)** Crecimiento en AM; **b)** Pruebas bioquímicas inoculadas (derecha) y no inoculadas (izquierda); **c)** Tinción Gram a 100x.

b) Adaptación bacteriana al mineral de hierro

Después de los 7 días de contacto entre bacteria y mineral, el residuo fue lavado y secado obteniéndose las micrografías de la figura 4.31, se logra un abundante crecimiento sobre la superficie del mineral (figura 4.31 (a)), también es posible observar las partículas no conductoras con efecto de carga (blanco brillante) adheridas al mineral correspondientes a los minerales no metálicos, así mismo bacterias de tonalidad clara e incluso blanco brillante, mostrando composición orgánica no conductora. Para la figura 4.31 (b), (c) y (d), se tienen bacterias con la tonalidad gris similar a la del mineral de hierro, además se muestra una interacción muy íntima entre la bacteria y mineral, lo que favorece el primer mecanismo para reducir hierro (directamente desde la membrana externa con un citocromo tipo *c* o reductasa), sin embargo esto no excluye los otros mecanismos metabólicos por los cuales la bacteria adquiere hierro para su crecimiento [32, 35].

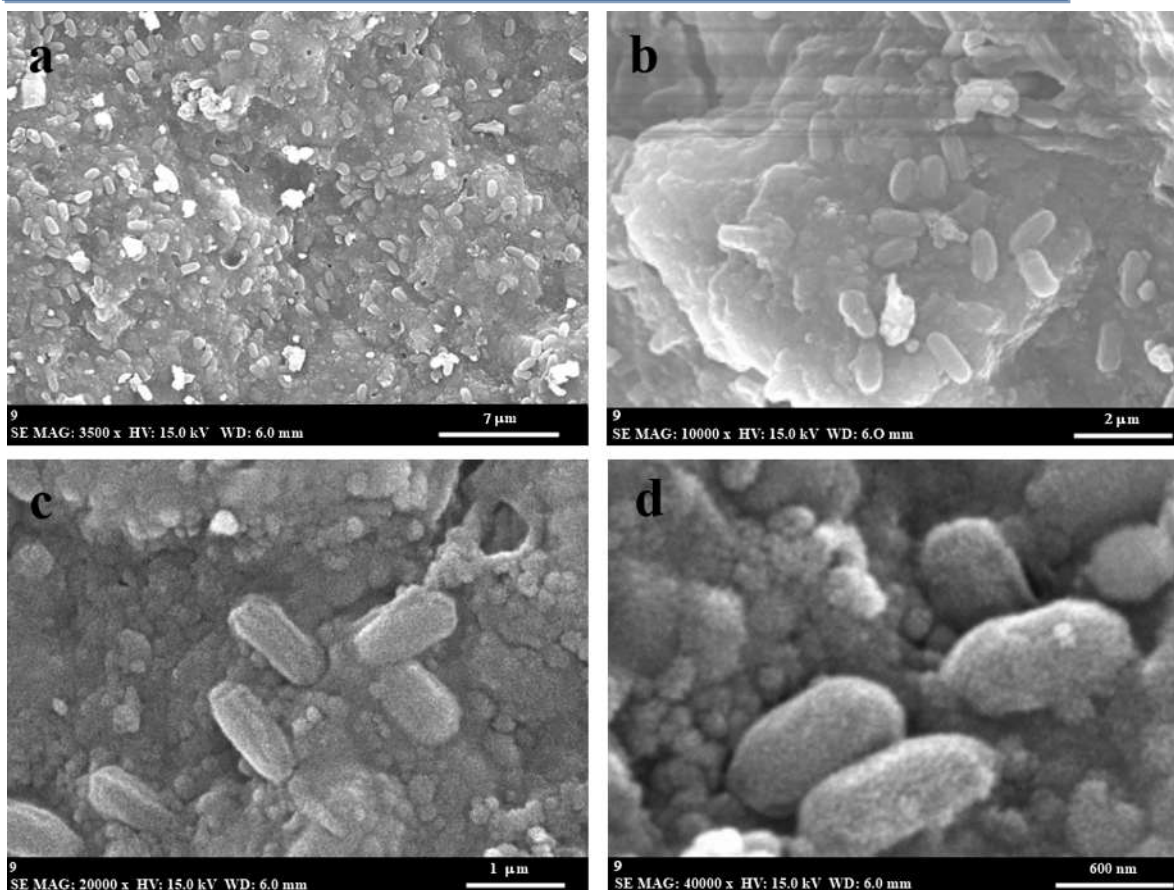


Figura 4.31. Micrografías de *Shewanella putrefaciens* adherida al mineral. **a)** Amplificación 3500x; **b)** Amplificación 10000x; **c)** Amplificación 20000x; **d)** Amplificación 40000x.

Para confirmar que las estructuras con forma bacilar estuvieran constituidas de materia orgánica (por tratarse de una bacteria) se realizó el análisis de mapeo (figura 4.32 (a)) a través de los elementos carbono (C), azufre (S), fósforo (P), titanio (Ti), hierro (Fe) y oxígeno (O) mostrando los patrones en la figura 4.32 (b), (c), (d), (e), (f) y (g), respectivamente. En el carbono se logra apreciar ligeramente la silueta de las bacterias de mayor tamaño, para el caso del azufre y fósforo no se distingue ninguna silueta, debido posiblemente a la baja proporción que estos elementos representan en la estructura celular. El hierro y titanio están distribuidos homogéneamente en la superficie del mineral, finalmente el oxígeno muestra concentraciones similares a la del carbono, mostrando estructuras similares a las formas bacilares. En conjunto (figura 4.32 (h)) se logra una reproducibilidad del relieve de la micrografía base mostrada.

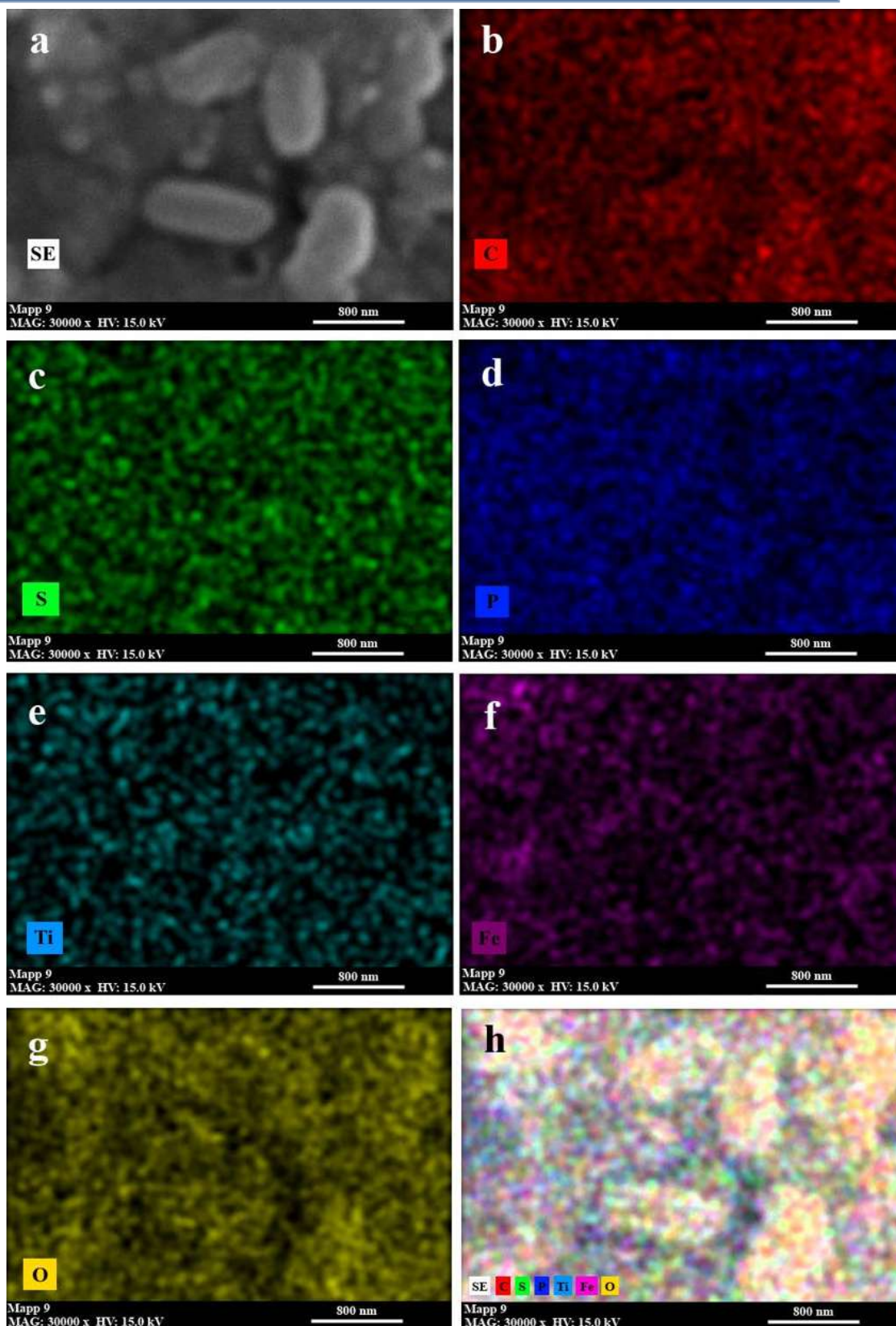


Figura 4.32 Mapeo de las bacterias adheridas en el mineral a 30000x. **a)** Micrografía base; **b), c), d), e), f), g)** Patrón de los elementos carbono, azufre, fósforo, titanio, hierro y oxígeno, respectivamente; **h)** Mapeo de la micrografía base.

Se realizó el análisis químico puntual por EDS para diferenciar la composición entre la estructura bacilar y la superficie del mineral mostrándose las zonas en la micrografía en modo SEI (figura 4.33). El espectro de EDS de la estructura bacilar (figura 4.34) y el espectro de EDS de la superficie mineral (figura 4.35) presentan diferencias muy sutiles siendo la primera, la ligera disminución de los elementos carbono, oxígeno y sodio en el área del mineral, los primeros dos confirman lo observado en el análisis de mapeo que muestran la forma bacilar (figura 4.32); la segunda, los elementos magnesio, silicio, cloro, azufre y potasio se mantienen con concentraciones similares en las dos zonas, lo que sugiere que están en su forma iónica dispersa; y la tercera diferencia, aumenta ligeramente la proporción de hierro, calcio y fósforo en la zona del mineral, indicando que estos últimos elementos forman compuestos con los que se mantienen constantes. En cuanto al hierro, a pesar de la diferencia próxima al 2%, la composición en ambas zonas no representa gran diferencia coincidiendo con Dong *et al.* [34]; también es importante remarcar la tonalidad gris de la bacteria (antes mencionada) ya que con ella es posible sustentar el proceso de biosorción de hierro, puesto que a menor sorción de este elemento por la bacteria presenta un color gris claro que llega al blanco brillante (figura 4.31) [35], sugiriendo que se trata de bacterias jóvenes producto de la fisión binaria.

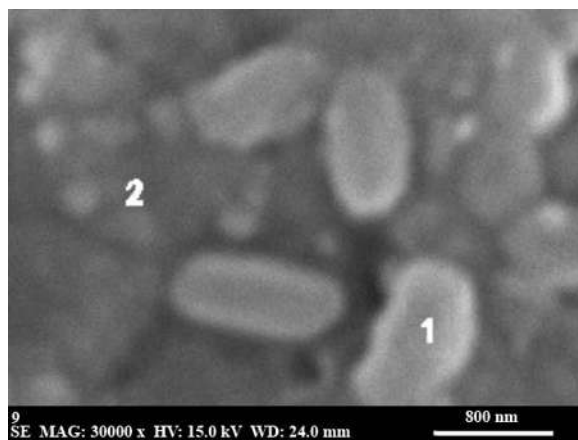


Figura 4.33. Micrografía que muestra la interacción bacteria-mineral (zonas 1 y 2).

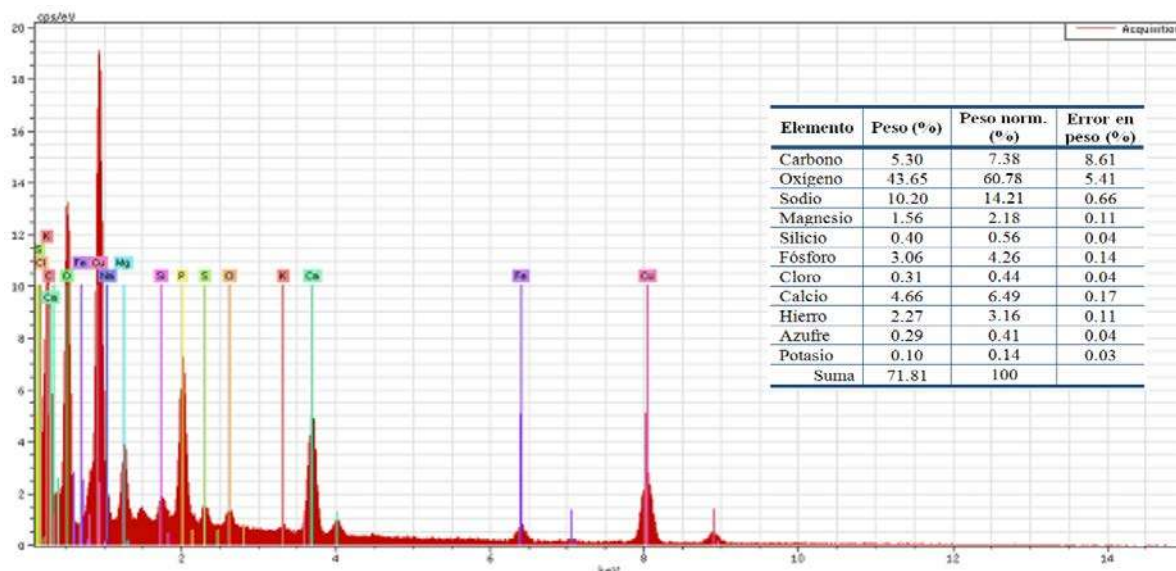


Figura 4.34. Espectro de EDS puntual de la zona 1 (bacteria).

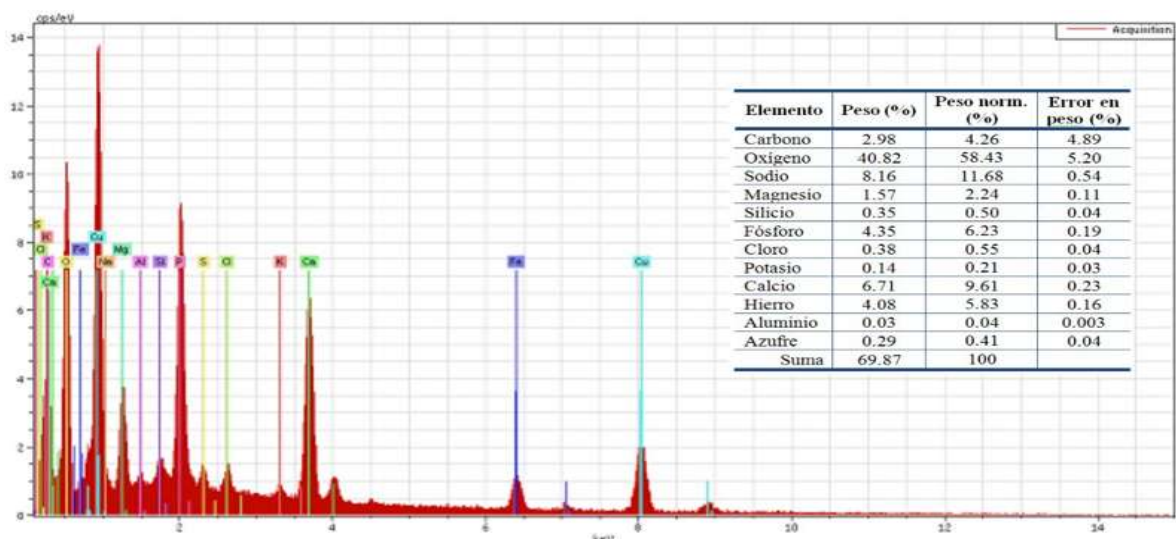


Figura 4.35. Espectro de EDS puntual de la zona 2 (mineral).

4.4.2. Lixiviación bacteriana del mineral

a) Interacción bacteria-mineral

Después de establecer la adaptación de la bacteria *Shewanella putrefaciens* a la respiración de hierro férrico proveniente del mineral, se procedió a la etapa de lixiviación comprendida por 14 días de duración. Con lo que respecta al análisis por DRX, la figura 4.36 muestra los difractogramas correspondientes al mineral sin tratamiento (descrito en la



Intensity (U.A.)

Biolixiviación a 35°C/336 h

Biolixiviación a 35°C/112 h

Biolixiviación a 35°C/3 h

Mineral sin tratamiento

Ángulo 2 θ

Figura 3.36. Difractogramas del mineral sin tratamiento y biolixiviado a diferentes tiempos de permanencia. Abreviaturas: M, Magnetita; S, Óxido hierro-silicio; T, Óxido hierro-titanio; Mm, Magnesioferrita; Ma, Óxido de aluminio-magnesio; Sa, Silicato de aluminio sódico.

La formación de la magnesioferrita se favoreció debido a que la composición del caldo marino presenta cloruro de magnesio, además otros compuestos fueron formados en conjunto con los reactivos del medio de crecimiento y el metabolismo bacteriano como son el óxido de aluminio-magnesio indexado con la tarjeta JCPDS 01-077-0438 (MgAl_2O_4 , de estructura cúbica) y el silicato de aluminio sódico indexado con la tarjeta JCPDS 01-076-1733 (NaAlSiO_4 , de estructura cúbica).

En la figura 4.37 se presentan las micrografías en modo SEI tomadas al residuo obtenido después de 3 h de tratamiento. La primera micrografía muestra una capa sedosa y gruesa de material no conductor que está distribuida especialmente en las regiones altas de la superficie del mineral (figura 3.37 (a)) tratándose de las sales que componen el caldo de crecimiento. A mayores ampliificaciones se observa el efecto de la capa antes mencionada (figura 4.37 (b)), con la modificación de la superficie lisa y con pocas irregularidades del mineral sin tratamiento (figura 4.4) a una con imperfecciones mayores e incluso con desprendimiento de granos.

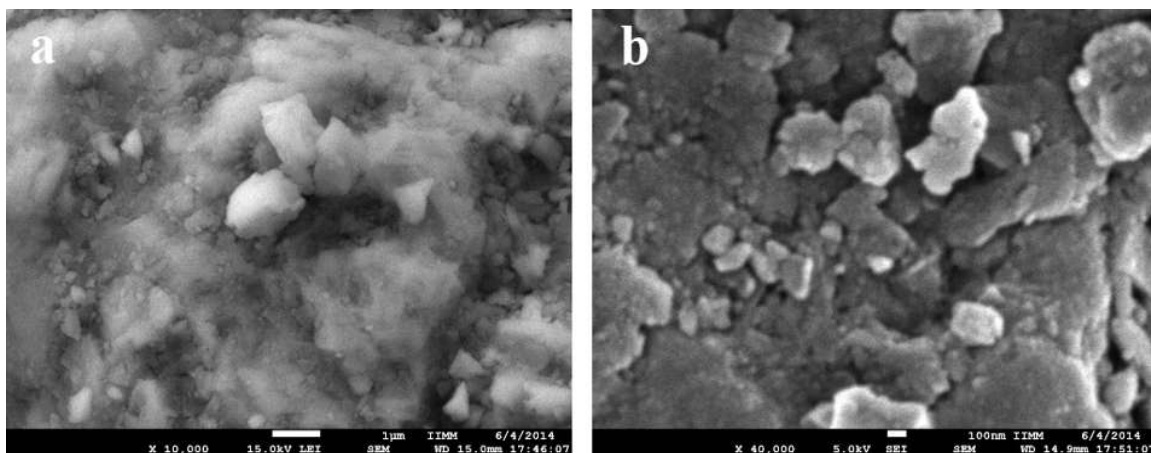


Figura 4.37. Mineral con 3 h de lixiviación bacteriana. **a)** Micrografía a 10000x; **b)** Micrografía a 40000x.

En la figura 4.38 se muestran micrografías en modo SEI del residuo obtenido tras 112 h de tratamiento, en la micrografía de la figura 4.38 (a) se presenta una superficie más lisa y la capa sedosa de material no conductor ahora es más delgada y está distribuida de forma homogénea; con la ampliación (figura 4.38 (b)) es posible notar la modificación sustancial en la morfología del mineral, ya que presenta granos de mayor tamaño desprendidos totalmente de la matriz de hierro. Además, es claro que la capa de material no

conductor ha reaccionado con el mineral coincidiendo con lo mostrado en el difractograma (figura 4.36), ya que las partículas presentan una tonalidad de gris claro que indica este proceso. Sin embargo, no se detectó el crecimiento de bacterias en la superficie del mineral mostrando que los cambios morfológicos fueron promovidos por las reacciones químicas del mecanismo indirecto celular para adquirir hierro.

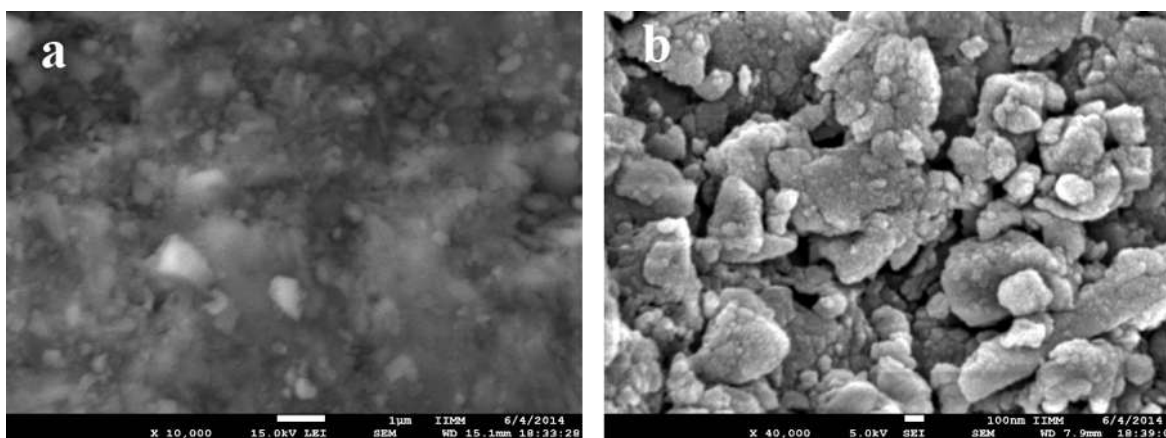


Figura 4.38. Mineral con 112 h de lixiviación bacteriana. **a)** Micrografía a 10000x; **b)** Micrografía a 40000x.

El crecimiento bacteriano observado en las micrografías en modo SEI se presentó de forma abundante a las 336 h de tratamiento (figura 4.39), esto significa que posterior a las 112 h (4.6 días) las bacterias comenzaron a producir expolisacáridos para adherirse a la superficie del mineral. En la figura 4.39 (a) se muestra este crecimiento en toda la superficie del mineral, también aún es posible observar pequeñas partículas de material no conductor que se encuentran embebidas en las bacterias. Se observa en la figura 4.39 (b) que la biosorción de hierro es homogénea en las bacterias debido a la uniformidad de tonalidad gris, sin embargo la integridad estructural de las células está dañada debido a la etapa de esterilización al que se sometieron las muestras obtenidas de la biolixiviación. La figura 4.39 (c) y (d) muestran una célula bacteriana íntegra con su respectivo acercamiento, en la primera se observa en la esquina superior izquierda la conformación de una nueva estructura morfológica, así como zonas despobladas de crecimiento bacteriano; en el acercamiento se muestra claramente la forma bacilar de *Shewanella putrefaciens*, la cual mide aproximadamente 2 µm de diámetro.

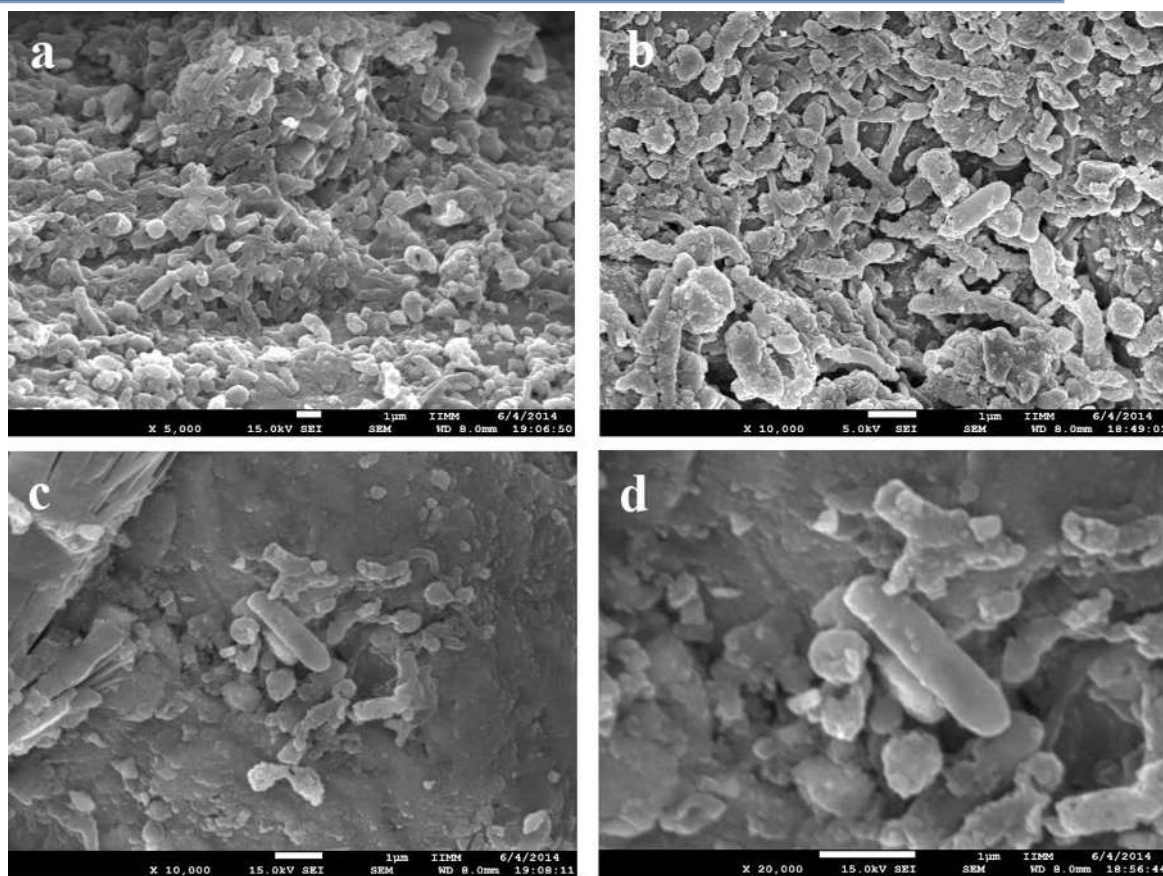


Figura 4.39. Mineral con 336 h de lixiviación bacteriana. **a)** Micrografía a 5000x; **b)** Micrografía a 10000x; **c)** Micrografía a 10000x; **d)** Micrografía a 20000x.

b) Liberación de hierro

Los sobrenadantes obtenidos (figura 4.40) tras 336 h de biolixiviación muestran que en las primeras horas no hay cambio aparente en la solubilidad del hierro (tubos 0, 1 y 2), ya en las 88 h (tubo 3) empieza el cambio de tonalidad a un amarillo ámbar que de acuerdo a lo plasmado anteriormente, radicaría en las reacciones químicas de disolución promovidas por el caldo de cultivo y en los mecanismos metabólicos indirectos de la bacteria para obtener hierro como son la segregación de transportadores de electrones y agentes quelantes orgánicos [32, 33]. A partir de las 112 hasta terminar el tratamiento de biolixiviación (tubos 4, 5, 6, 7 y 8) presentan un intenso color ámbar, el cual se asoció en primera instancia a la eficiencia con que *Shewanella putrefaciens* estaba solubilizando el hierro. Para mostrar que el efecto de las reacciones químicas de disolución promovidas por el caldo de cultivo no fueran las que rigieran el mecanismo para disolver hierro, se corrió el blanco (caldo de cultivo sin inóculo bacteriano), que a las 336 h de lixiviación muestra una

coloración ámbar con intensidad intermedia entre los tubos 3 y 4, confirmando que efectivamente este mecanismo es únicamente inicial en el proceso de lixiviación y que el resto de la solubilización de hierro radica en las propiedades metabólicas de la bacteria.



Figura 4.40. Sobrenadantes de la cinética de biolixiviación del mineral de hierro.

Las variables monitoreadas en el tratamiento de biolixiviación se presentan en la figura 4.41, el primer parámetro fue la medición de hierro disuelto a través de absorción atómica (figura 4.41 (a)), aquí se observa que en el tiempo 0 (5 minutos de contacto) hay una inmediata disolución de 0.5 ppm por el efecto químico del caldo de crecimiento, precedido por una reacción de primer orden donde la concentración del producto incrementa exponencialmente en un período de 0 a 75 h. Le sigue una reacción de segundo orden con comportamiento parabólico respecto al sustrato en un lapso menor que comprende de 75 a 112 h, la disolución del hierro tanto de la catálisis bacteriana indirecta como de las reacciones químicas llegan a un comportamiento de orden cero, es decir, no hay variación en el tiempo porque se ha llegado a la saturación de estos mecanismos.

Después de las 112 h ocurre un cambio de pendiente positivo que llega a un pico a las 262 h sugiriendo que la bacteria aplicó el mecanismo metabólico directo para obtener hierro. A partir de este punto existe un decaimiento de la concentración de hierro en disolución adjudicada al proceso de biosorción que realiza *Shewanella putrefaciens*, también otro mecanismo que se sugiere entra en acción es la biosíntesis de nanopartículas que sucede cuando los microorganismos toman iones de su entorno y luego los reducen en iones metálicos a través de enzimas celulares; se pueden clasificar en intracelular y

extracelular dependiendo de la localización en donde se forman las nanopartículas [66, 67]. El género *Shewanella* ha sido reportado como magnetotáctico productor de nanopartículas de magnetita por las especies *S. oneidensis* (extra e intracelular) y *S. putrefaciens* (extracelular) [68, 69] entre otras.

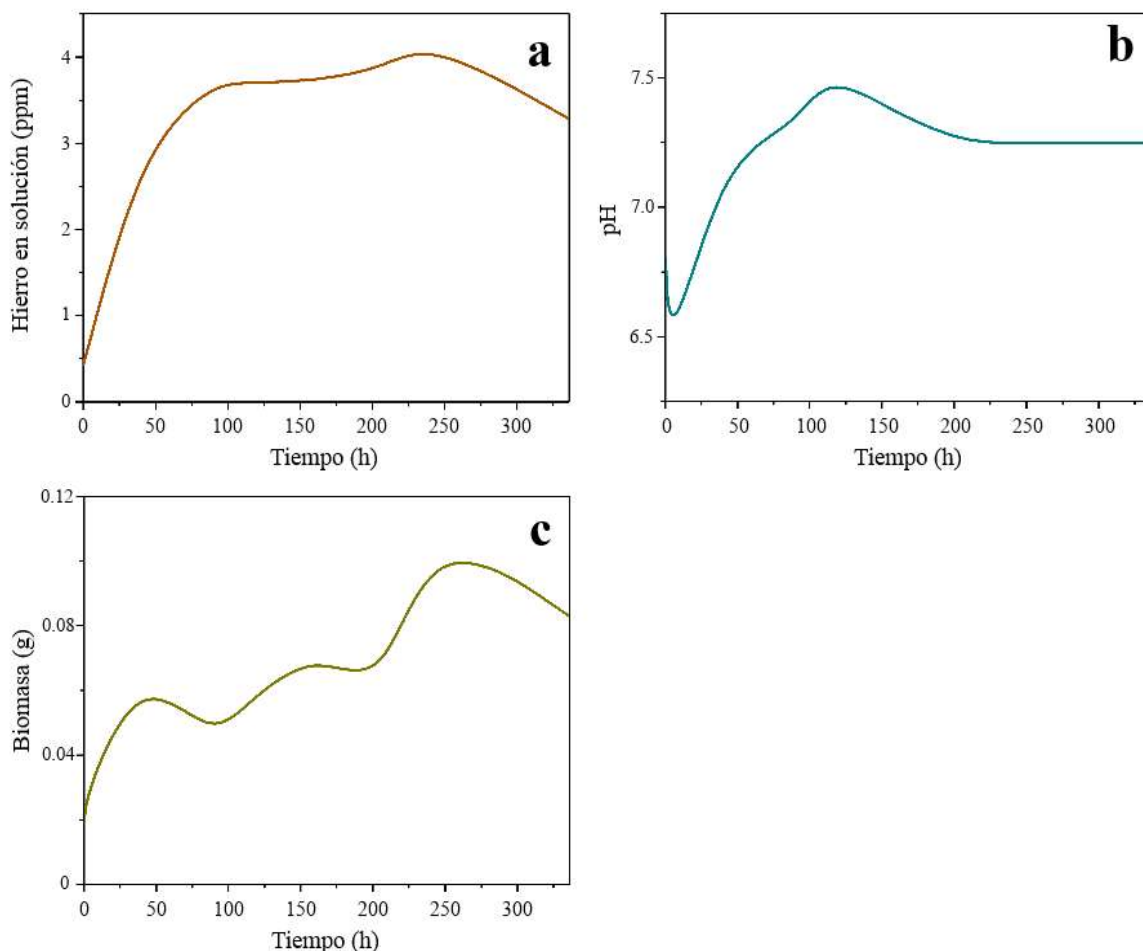


Figura 4.41. a) Hierro en solución vs tiempo; b) pH vs tiempo; c) Biomasa vs tiempo.

Las variaciones de pH se muestran en la figura 4.41 (b), el pH del caldo de cultivo fue de 7.2, en un período de 3 h se acidifica a 6.6 debido a los componentes ácidos solubles del propio mineral. A partir de aquí comienza su neutralización y hasta presentar un pH ligeramente alcalino de 7.4 a las 112 h de tratamiento, lapso que coincide con las reacciones de primer y segundo orden de la disolución de hierro, mostrando que la bacteria excreta sustancias alcalinas para favorecer la metabolización de este metal en el mecanismo indirecto. Posteriormente se observa una ligera acidificación de pH (7.25) ya que al adherirse *Shewanella putrefaciens* al mineral excreta pequeñas cantidades de ácidos

orgánicos para solubilizar hierro sólido. Finalmente el pH se mantiene constante durante el resto del tratamiento por lo que se ha alcanzado un equilibrio ácido-base.

En cuanto al desarrollo de biomasa (figura 4.41 (c)) se presentaron varias fluctuaciones debido principalmente a la metodología empleada para su determinación, sin embargo se logró mostrar su aumento conforme transcurría el tratamiento.

Para apoyar el sustento de la biosíntesis de nanopartículas de hierro expresado anteriormente se muestra la figura 4.42 con las micrografías en modo SEI del sobrenadante filtrado con 336 h de biolixiviación. En la figura 4.42 (a) se presenta un cumulo de nanopartículas de apariencia esférica sobre la superficie en hojuelas característica de la pintura de carbono conductora, con la ampliación se puede observar con mayor claridad la forma de las nanopartículas (figura 4.42 (b)), a las cuales no se logró realizar en análisis químico por EDS debido a la baja energía utilizada para obtener la imagen.

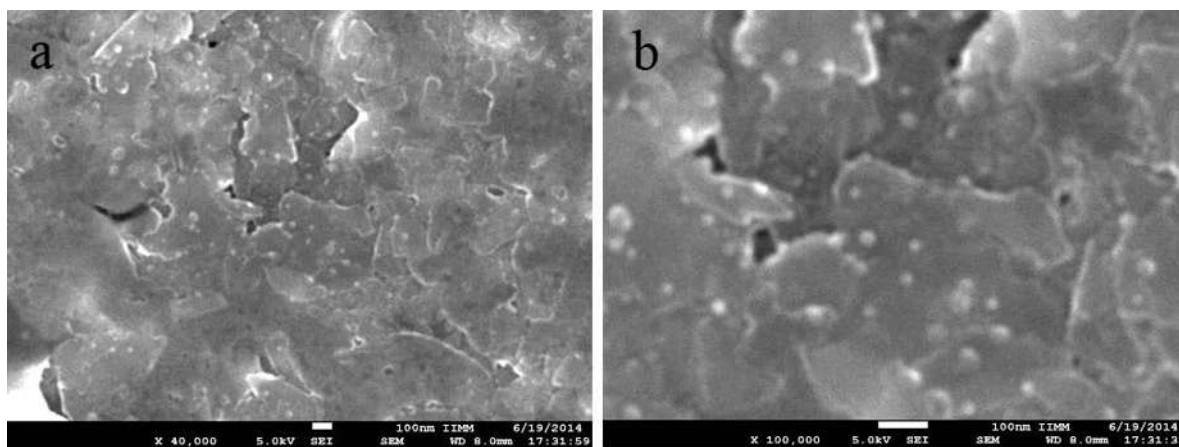


Figura 4.42. Micrografías de las partículas coloidales de hierro. **a)** Ampliación a 40000X; **b)** Ampliación a 100000X.

Así mismo, en la micrografía tomada por MET (figura 4.43 (a)) se observan las nanopartículas con forma semiesférica, además debido al proceso de crecimiento se logran obtener nanopartículas de mayor tamaño con planos cristalográficos definidos, mostradas en la figura 4.43 (b), sin embargo, no fue posible el análisis de composición por EDS. Se calculó la distribución del tamaño de las partículas nanométricas utilizando un programa de análisis de imagen, con el cual se midieron los diámetros de las nanopartículas vistas en las micrografías de MET de alta resolución, obteniéndose una grafica de distribución mostrada en la figura 4.43 (c). Estas partículas tienen como tamaño promedio 4.11 nm y una desviación estándar de 2.23, la curtosis fue de -0.09, la cual está muy próxima a 0

mostrando un comportamiento de distribución normal (mesocúrtica), para la asimetría se obtuvo 1.09, es decir, positiva indicando que la mayor concentración de datos está en el lado izquierdo del promedio. El hecho de presentar tamaños de partícula menores a 10 nm repercute en la biodisponibilidad del hierro, que de acuerdo a Dehner *et al.* [70] los mecanismos indirectos, principalmente la excreción de agentes quelantes (sideróforos) por parte de *Pseudomonas mendocinas* (bacteria aerobia capaz de utilizar hierro de manera análoga a *Shewanella putrefaciens*) requieren de este tamaño para llevarse a cabo.

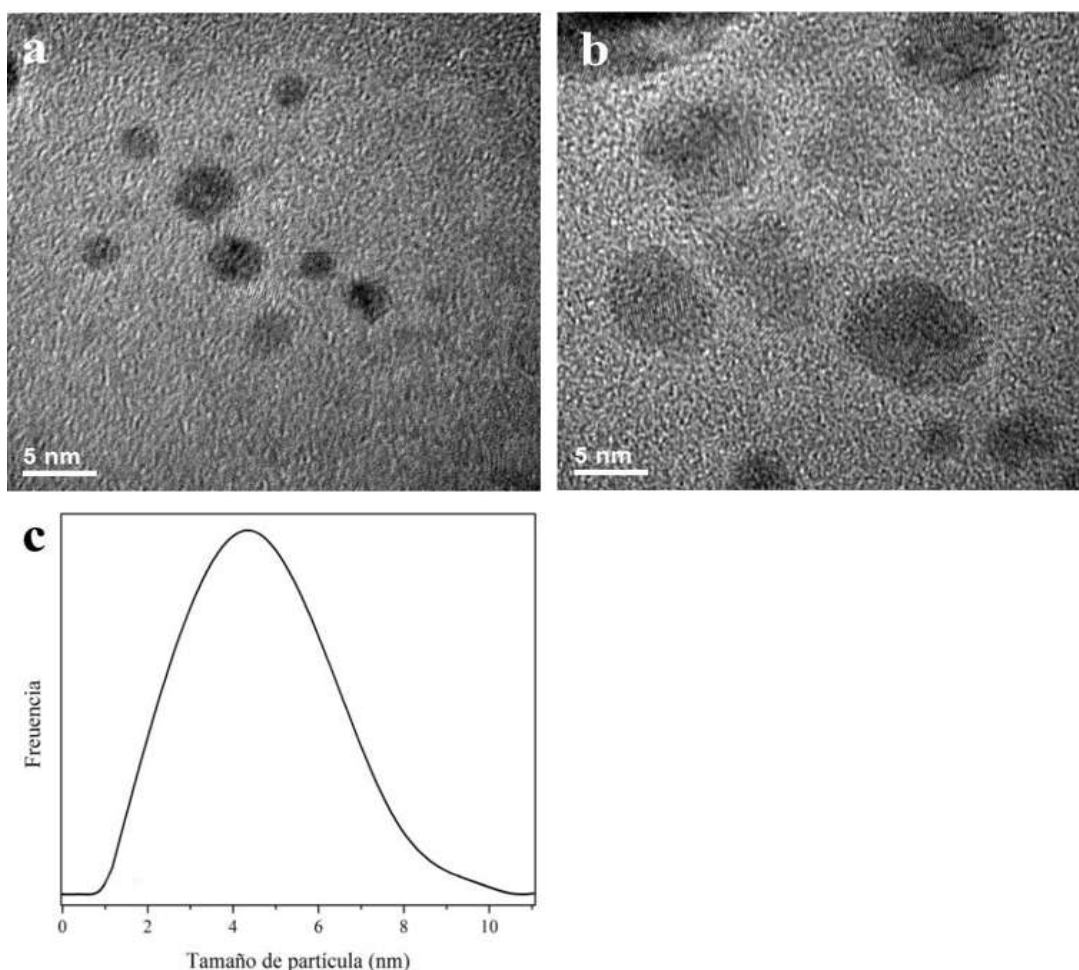


Figura 4.43. **a)** Micrografía obtenida por MET de las nanopartículas; **b)** Micrografía por MET de alta resolución de las nanopartículas; **c)** Gráfica de distribución del tamaño de partícula.

Otro mecanismo (anteriormente mencionado) es la sorción de hierro por parte de la bacteria *Shewanella putrefaciens*, mostrándose en la figura 4.44 las micrografías de MET donde se observa que en las primeras horas de biolixiviación no hay cambio aparente en la morfología bacteriana ni la formación de nanopartículas. A las 208 h de tratamiento se

observa claramente la producción de exopolisacáridos y el atrapamiento de nano-partículas (campo oscuro), lo cual es contundente a las 336 h. Este fenómeno también fue observado y reportado por Dehner *et al.* [70], en este estudio el autor asocia el atrapamiento de nanopartículas como un proceso acumulativo de reserva y fácil adquisición de hierro por parte de la bacteria.

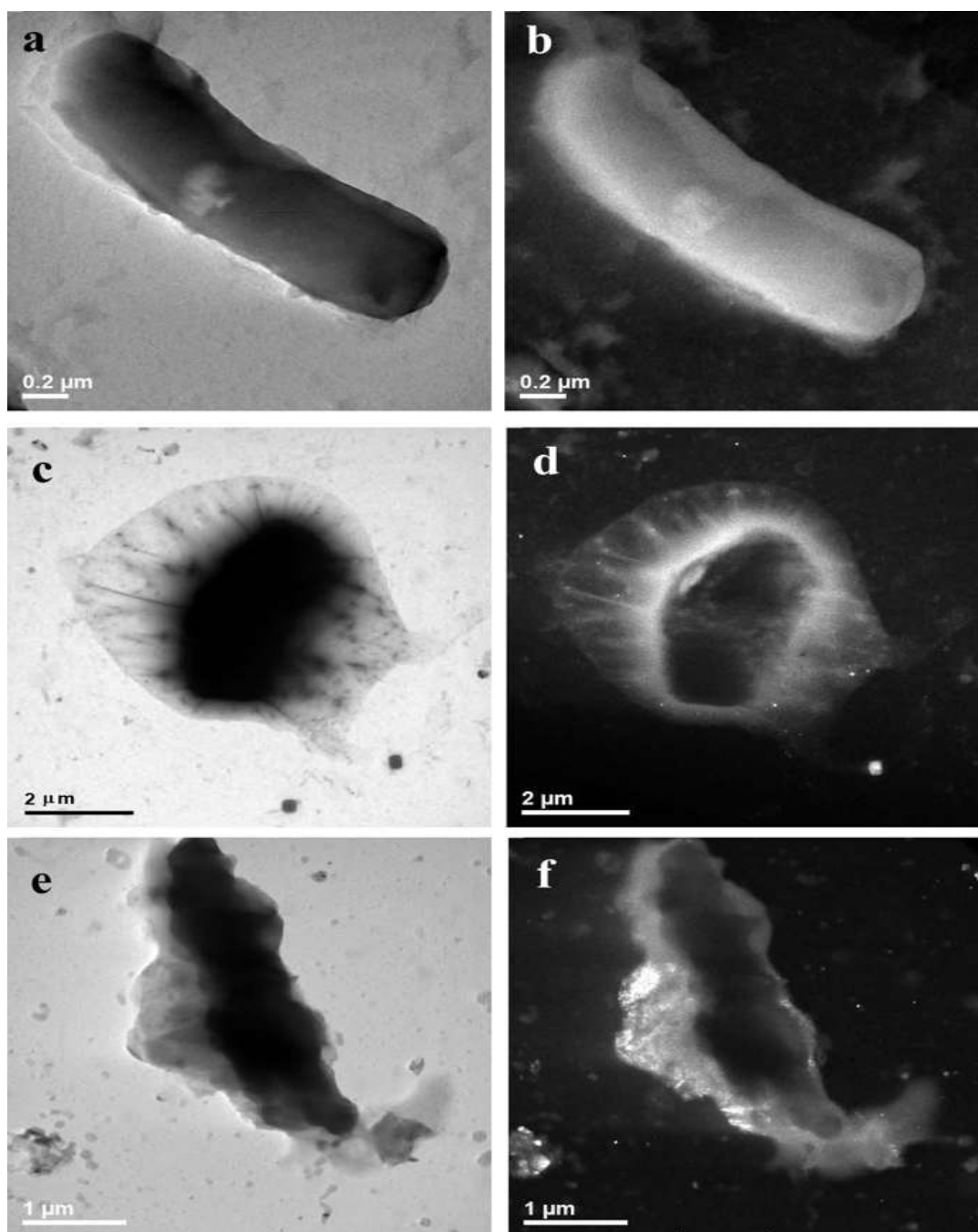


Figura 4.44. Micrografías obtenidas por MET, lado izquierdo modo claro, lado derecho modo oscuro.
a) 88 h; b) 208 h; c) 336 h de biolixiviación.

4.5. Análisis de liberación de los metales valor por lixiviación tradicional con ácido

a) Efecto de la lixiviación y digestión en el mineral sólido

Como se reveló en la figura 3.9, el proceso de lixiviación con el HCl mostro rápida reacción con el mineral sin tratamiento, reducido y biolixiviado, ya que se observa claramente el cambio de color, de transparente a amarillo de diferentes tonalidades dependiendo de la muestra. El lixiviado que no presentó este cambio de color fue el obtenido en la oxidación, sin embargo esto no demerita que se haya realizado la disolución de mineral. En la tabla IV.9 se presenta el porcentaje de lixiviación obtenido tras 48 h de permanencia, así como el de la digestión obtenida en el horno de microondas.

Tabla IV.9. Porcentaje de lixiviación total del mineral y digestión en una solución de HCl al 3%.

	Lixiviación por 48 h (%)	Digestión (%)
Sin tratamiento	8.86	100
Oxidado	8.08	100
Reducido	70.73	100
Biolixiviado remanente	20.75	100

La tabla anterior, muestra que efectivamente ocurre una pérdida de masa en la muestra del mineral oxidado del 8.08%, lo que indica que ciertos compuestos generados en esta etapa presentaron reactividad en solución ácida sin mostrar un cambio de color. Otro hecho interesante se observa en el mineral sin tratamiento donde la lixiviación disolvió únicamente el 8.86% de la muestra, pero en este caso si hubo un cambio de color notorio que sugiere que el hierro en la composición magnetita es ligeramente más reactivo en las soluciones ácidas. Finalmente, el proceso de reducción carbotérmica provocó la mayor reactividad del mineral hacia una solución lixivante ácida (HCl al 3%) al transformar la α - Fe_2O_3 a Fe y la FeTiO_3 a TiC (figura 4.20) concordando con lo establecido en los antecedentes [21], aunque el proceso biológico presento alto porcentaje de lixiviación aún está muy alejado del proceso químico.

b) Disolución de los metales hierro, titanio y vanadio

En la figura 4.45 se resumen los resultados del hierro, titanio y vanadio obtenidos por las técnicas de absorción atómica e ICP-OES; la línea punteada representa la disolución máxima del metal calculada a partir de las digestiones completas.

En el hierro (figura 4.45 (a)) se observa que la digestión total (horno de microondas) se cuantifica en promedio 60.53% en peso de este elemento que compone la totalidad de la muestra, esto concuerda con lo reportado anteriormente en el apartado de análisis por vía húmeda al obtenerse por permanganometría 60.52% en peso. De igual forma, la lixiviación de hierro ocurre en mayor proporción en el mineral reducido obteniendo el 46% en peso seguido por el mineral atacado con *Shewanella putrefaciens* con el 17.5% en peso, esto indica que ambos tratamientos benefician la recuperación de hierro ya que del mineral sin tratamiento únicamente se llegó a disolver 2.14% en peso mientras que para el oxidado fue de 0.435% en peso concordando con la figura 3.9 donde la solución lixiada no presenta color.

En el caso del titanio (figura 4.45 (b)), su disolución presenta un comportamiento similar a la del hierro, ya que ambos procesos propuestos favorecen la lixiviación de titanio. La reducción carbotérmica con el 0.9% en peso seguida muy de cerca por la biolixiviación con el 0.7% en peso, esto muestra la relación directa entre el hierro y titanio, al disolver más hierro se libera más titanio; siendo la cantidad máxima de titanio (línea punteada) del 1.17% en peso, valor próximo al 1.19% en peso calculado en análisis químico. Para el mineral sin tratamiento se lixivió únicamente el 0.08% en peso, mientras que para el oxidado se tuvo el 0.24% en peso, indicando que la ilmenita que pudo ser migrada a la superficie (figura 4.19) por la etapa de hematización, la expuso al ataque de la solución de HCl.

El vanadio (figura 4.45 (c)) del mineral sin tratamiento se lixivió solamente el 0.11% en peso. La oxidación favoreció un poco más la disolución llegando al 0.18% en peso, comportamiento similar al del titanio. El promedio de vanadio obtenido por la digestión completa fue de 0.35% en peso, cantidad muy próxima a la calculada en el análisis químico que fue del 0.36% en peso. Se logró con ambos procesos propuestos la disolución total del vanadio presente en este mineral.

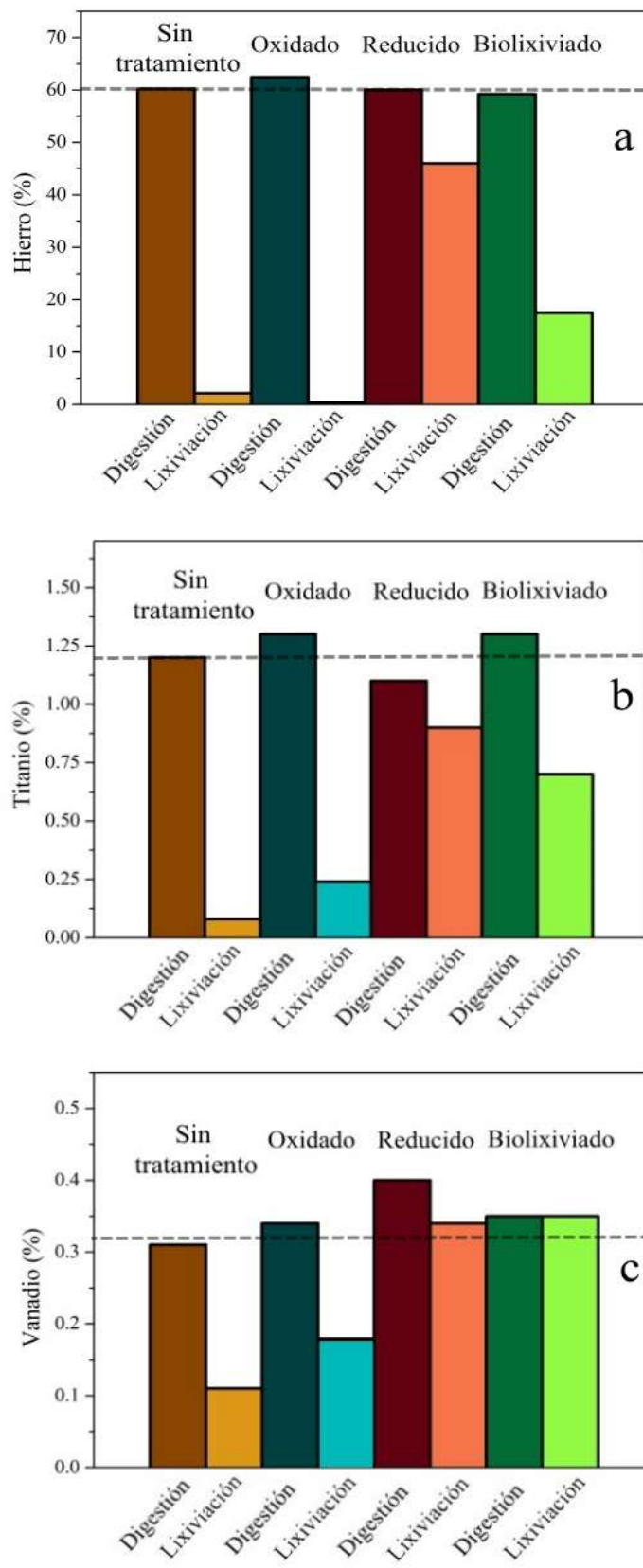


Figura 4.45. Gráficas comparativas entre la digestión y lixiviación en HCl al 3%. **a)** Hierro; **b)** Titanio; **c)** Vanadio, en porciento en peso.



Finalmente, de acuerdo al análisis de varianza ANOVA de la tabla IV.10 se acepta la hipótesis general en que la disolución de hierro, titanio y vanadio es estadísticamente significativa al comparar el mineral sin tratamiento contra los procesos de reducción carbotérmica y lixiviación con *Shewanella putrefaciens*.

De igual forma, se muestra que los procesos propuestos también tienen diferencia estadística significativa entre sí para disolver dichos elementos, sin embargo el caso del vanadio es la excepción, ya que la F calculada es mucho menor que la F teórica, esto indica que se acepta la hipótesis nula donde no hay diferencia estadística significativa al disolver vanadio por estos dos tratamientos.

Tabla IV.10. Análisis de varianza ANOVA entre el mineral sin tratamiento, reducido carbotérmicamente y biolixiviado para la dilución de hierro, titanio y vanadio.

Elemento	Comparación		F calculada	F teórica
Hierro	Sin tratamiento	Reducido	669.40	7.71
	Sin tratamiento	Biolixiviado	110.78	7.71
	Reducido	Biolixiviado	169.86	7.71
Titanio	Sin tratamiento	Reducido	695.59	7.71
	Sin tratamiento	Biolixiviado	205.93	7.71
	Reducido	Biolixiviado	20.34	7.71
Vanadio	Sin tratamiento	Reducido	54.72	7.71
	Sin tratamiento	Biolixiviado	39.27	7.71
	Reducido	Biolixiviado	0.064	7.71



Capítulo V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Una vez realizado el presente trabajo de investigación y analizados los resultados se tiene que:

De acuerdo a los objetivos planteados, éstos fueron cumplidos satisfactoriamente ya que se logró solubilizar los metales de interés contenidos en el mineral arenas negras aplicando los tratamientos, reducción carbotérmica y lixiviación con *Shewanella putrefaciens*, lo que implica que se ha comprobado la hipótesis postulada al inicio de este proyecto.

De manera particular se concluye lo siguiente:

1. El proceso de pulverizado es una etapa innecesaria debido a que el mineral sin tratamiento ya presenta tamaños de partículas (D_{80} de 98 μm) apropiados para someterlo a las etapas propuestas.
2. La caracterización mineralógica mediante técnicas cualitativas y cuantitativas aporta elementos importantes al momento de valorizar los depósitos minerales, siempre y cuando se haya realizado un muestreo representativo de los mismos. Las fases presentes en las arenas negras provenientes de La Saladita, Gro. son: magnetita (principalmente), óxido de hierro-silicio, ilmenita y varios elementos inmersos que debido a la baja intensidad de los picos en el difractograma no fue posible indexarlos.
3. La caracterización anterior permite proponer el análisis termodinámico teórico para la reducción carbotérmica de la fase mayoritaria que es la magnetita, de igual forma sustenta la elección del microorganismo férrico-reductor *Shewanella putrefaciens* que tiene la propiedad de utilizar este compuesto para obtener el hierro necesario su crecimiento anaerobio.
4. Para la composición de este mineral de arenas negras, se determina a través de análisis termogravimétrico la temperatura de 740°C que corresponde a la transformación de la



- magnetita a hematita. Conforme se prolonga el tiempo de permanencia de oxidación, la cristalinidad de la hematita decrece.
5. El proceso de reducción carbotérmica fue eficiente aunque no se observa un cambio notorio; es importante resaltar los procesos de difusión y precipitación de las especies minoritarias, especialmente la fase óxido hierro-silicio, que precipita en óxido de silicio con forma esférica y quedando embebido en la matriz de hierro elemental.
 6. La presencia de otros compuestos en el mineral además de la magnetita no inhibieron el crecimiento ni los mecanismos metabólicos de *Shewanella putrefaciens*, demostrándose la capacidad biogeoquímica adaptativa de este microorganismo.
 7. Se presenta la versatilidad de la bacteria en la biosorción y síntesis de nanopartículas ocurrida después de las 112 h de permanencia del mineral sin tratamiento. Este resultado muestra la relevancia del uso de la biolixiviación en la síntesis de nanopartículas de hierro que tienen diversas aplicaciones tecnológicas, lo que generaría mayor plusvalía al proceso biológico.
 8. Experimentalmente se demostró que al someter las arenas negras con 60% de hierro, 1.19% de titanio y 0.36% de vanadio a los tratamientos de reducción carbotérmica y lixiviación con *Shewanella putrefaciens* se reduce la refractariedad de las mismas. Ya que a través de la lixiviación ácida tradicional se logra la disolución del 46% de hierro, 0.9% de titanio y 0.34% de vanadio en la reducción carbotérmica. Mientras que con la biolixiviación se llega al 17.5% de hierro, 0.7% de titanio y 0.35% de vanadio.



5.2. Recomendaciones

1. Como método alternativo para determinar el tamaño de partícula de este mineral se sugiere el análisis de imagen con un procedimiento estadístico que al utilizar programas especializados se pueden medir de forma fotográfica las partículas.
2. Investigar e implementar procedimientos y técnicas experimentales que minimicen e incluso eliminen la interferencia del hierro en el análisis composicional.
3. Utilizar la pelletización y lecho fluidizado para eficientar la etapa de oxidación, así como aumentar la temperatura y obtener muestras con menor tiempo de permanencia.
4. Complementar la caracterización del mineral reducido mediante otras técnicas como el análisis térmico diferencial al proceso de reducción carbotérmica para definir las transformaciones que ocurren, además parámetros de reacción.
5. Cultivar la bacteria *Shewanella putrefaciens* en el medio de crecimiento M1, para mostrar que la biosorción y síntesis de nanopartículas es independiente de este parámetro.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 PARDAVE LIVIA, W., *Reciclado industrial de metales: Una aproximación*. 1era ed. Ecoe. Bogotá, Col. 2006. p 4, 87, 88.
- 2 Secretaría de Economía. (2013). *Prontuario Industria Minero Metalúrgica* [en línea]. Disponible en: <www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/informacionSectorial/minero/prontuario_industria_minero_metalurgica_0513.pdf> [16-Jul-2014].
- 3 INEGI. (2014). *Estadística de la Industria Minerometalúrgica* [en línea]. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/notasinformativas/ind_miner/ni-im.pdf> [16-Jul-2014].
- 4 S.G.M. (2012). *Anuario Estadístico de la Minería Mexicana Ampliada 2011* [en línea]. Secretaría de Economía. Cd. de México. Disponible en: <http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/informacion_sectorial/mineria/anuario_estadistico_mineria_ampliada_2011.pdf> [04-Nov-2012].
- 5 Gobierno de MÉXICO., *Ley Minera*. 2006.
- 6 MONICA, B. (2012). *Recursos naturales y la geopolítica de la integración Sudamericana* [en línea]. Disponible en: <www.rebelion.org/docs/127270.pdf> [16-Jul-2014].
- 7 YANNOPOULUS, J. C., *The Extractive Metallurgy of Gold*. 1era ed. Van Nostrand Reinhold. New York, USA. 1991. p 79-82.
- 8 ITGE, *Minería Química*. 1era ed. Artes Gráficas MV, S.A. Madrid España. 1991. p 202, 203.
- 9 VASSALLO, L. F. (2008). *Yacimientos minerales metálicos* [en línea]. Universidad Nacional Autónoma de México. Querétaro. Disponible en: <<http://www.geociencias.unam.mx/~bole/eboletin/IVassallo0908.pdf>> [17-Oct-2012].
- 10 CHANG, R., COLLEGE, W., *Química*. 7ma ed. McGraw-Hill. Colombia. 2005. p 848, 878-882.
- 11 LENNTECH, B. V. *Water Treatment Solutions Lenntech* [en línea]. Disponible en: <<http://www.lenntech.es/periodica/tabla-periodica.htm>> [02-Nov-2012]
- 12 GUADARRAMA TAPIA, M. *Red escolar* [en línea]. Disponible en: <http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/publicaciones/publi_rocas/titanio.htm> [02-Nov-2012]
- 13 JIMÉNEZ, A. *Vanadio* [en línea]. Disponible en: <<http://www.uam.es/docencia/elementos/spV21/conmarcos/elementos/v.html>> [03-Sept-2013]
- 14 *Vista general de la actividad minera y sus impactos* [en línea]. Disponible en: <<http://www.elaw.org/files/mining-eia-guidebook/Capitulo%201.pdf>> [17-Nov-2012].

- 15 ALONSO, R. N., *Diccionario minero: Glosario de voces utilizadas por los mineros de Iberoamérica*. 1era ed. CSIC. Madrid. 1995. p 24.
- 16 Valderrama, L., Poblete, R., Contreras, C. Caracterización y concentración de muestras de arenas de Caldera, Región de Atacama. *Revista de la Facultad de Ingeniería*, 19 (38-44), 2005.
- 17 CORTÉS RUÍZ VELASCO, J. F., GUILLÉN MÉNDEZ, A.N. (2012). Procesos de extracción y concentración de minerales [en línea]. *Universidad Nacional Autónoma de México*. México DF. Disponible en: <<http://galeon.com/quimica3cch/MINEROMET/Sepycon.pdf>> [17-Nov-2012].
- 18 VARGAS, J. A., CASTAÑEDA, E.A., FORERO, A.H., DÍAZ, S.C., *Obtención de hierro a partir de arenas negras del Atlántico Colombiano desembocadura Río Magdalena*. [en línea], Disponible en: <http://www.inervaloresgroup.com/upload/T1-06_forero-ah_n1.pdf> [17-Nov-2012].
- 19 VIGNES, A., *Extractive Metallurgy 2: Metallurgical Reaction Processes*. ed. John Wiley & Sons. 2013. p
- 20 Yang, J., Mori, T. and Kuwabara, M. Mechanism of Carbothermic Reduction of Hematite in Hematite-Carbon Composite Pellets. *Iron and Steel Institute of Japan*, 47 (10), 1394-1400. 2007.
- 21 Welham, N. J. and Williams, J. S. Carbothermic reduction of Ilmenite (FeTiO₃) and rutile (TiO₂). *Metallurgical and Materials Transactions B*, 30 (6), 1075-1081. 1999.
- 22 Setoudeh, N., Saidi, A. and Welham, N. J. Effect of elemental iron on the carbothermic reduction of the anatase and rutile forms of titanium dioxide. *Journal of Alloys and Compounds*, 395 (1-2), 141-148. 2005.
- 23 FRANCISCO CASTILLO RODRÍGUEZ, M. D. R. R., RAFAEL BLASCO PLÁ, *Biotecnología ambiental*. 1era ed. Tébar. Madrid, España. 2005. p 155, 202-212.
- 24 REBIGO, *Lixiviación microbiana*. Revista da Facultade de BioloXía da Universidade de Vigo [en línea], 2 Disponible en: <http://www.facultadbiologiavigo.es/tl_files/Documentos%20PDF/rebigo2007.pdf> [22-Feb-2012].
- 25 Anjum, F., Shahid, M. and Akcil, A. Biohydrometallurgy techniques of low grade ores: A review on black shale. *Hydrometallurgy*, 117-118 (0), 1-12. 2012.
- 26 MANDIGAN, M. T., MARTINKO J.M., PARKER, J., Brock. *Biología de los microorganismos*. 12ma ed. Pearson-Prentice Hall. Madrid España. 2009. p 690,691-704-777,778-1189-1192.
- 27 CALLEJO, R. (2010). Curso Teórico y Práctico. Identificación de Bacilos Gram Negativos no Fermentadores [en línea]. *Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas*. Buenos Aires,

- Argentina. Disponible en: <<http://es.scribd.com/doc/215459673/Bacilos-No-Fermentadores>> [04-Ago-2013].
- 28 FORBES, B. S., DANIEL F.; WEISSFELD, ALICE S., *Bailey & Scott; diagnóstico microbiológico*. 12va ed. Médica Panamericana. Argentina. 2009. p 355.
- 29 ELMER W. KONEMAN, S. A., *Diagnóstico Microbiológico: texto y atlas a color*. 6ta ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 2008. p 397.
- 30 Janda, S. K. a. J. M. Biochemical and Pathogenic Properties of *Shewanella alga* and *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Clinic Microbiology*, 36 (3), 783-787. 1998.
- 31 CALIFORNIA, U. O. *The Regents of the University of California* [en línea]. Disponible en: <http://genome.jgi-psf.org/she_m/she_m.home.html> [04-Dic-2013]
- 32 Bird, L. J., Bonnefoy, V. and Newman, D. K. Bioenergetic challenges of microbial iron metabolisms. *Trends in Microbiology*, 19 (7), 330-340. 2011.
- 33 Marsili, E., Baron, D. B., Shikhare, I. D., Coursolle, D., Gralnick, J. A. and Bond, D. R. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105 (10), 3968-3973. 2008.
- 34 Dong, H., Fredrickson, J. K., Kennedy, D. W., Zachara, J. M., Kukkadapu, R. K. and Onstott, T. C. Mineral transformations associated with the microbial reduction of magnetite. *Chemical Geology*, 169 (3-4), 299-318. 2000.
- 35 Bonneville, S., Behrends, T., Cappellen, P. V., Hyacinthe, C. and Röling, W. F. M. Reduction of Fe(III) colloids by *Shewanella putrefaciens*: A kinetic model. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70 (23), 5842-5854. 2006.
- 36 Taillefert, M., Beckler, J. S., Carey, E., Burns, J. L., Fennessey, C. M. and Dichristina, T. J. *Shewanella putrefaciens* produces an Fe(III)-solubilizing organic ligand during anaerobic respiration on insoluble Fe(III) oxides. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101 (11-12), 1760-1767. 2007.
- 37 Blakeney, M. D., Moulai, T. and Dichristina, T. J. Fe(III) reduction activity and cytochrome content of *Shewanella putrefaciens* grown on ten compounds as sole terminal electron acceptor. *Microbiological Research*, 155 (2), 87-94. 2000.
- 38 Dollhopf, M. E., Nealson, K. H., Simon, D. M. and Luther Iii, G. W. Kinetics of Fe(III) and Mn(IV) reduction by the Black Sea strain of *Shewanella putrefaciens* using in situ solid state voltammetric Au/Hg electrodes. *Marine Chemistry*, 70 (1-3), 171-180. 2000.
- 39 Chen, D., Zhao, L., Liu, Y., Qi, T., Wang, J. and Wang, L. A novel process for recovery of iron, titanium, and vanadium from titanomagnetite concentrates: NaOH molten salt roasting and water leaching processes. *Journal of Hazardous Materials*, 244-245 (0), 588-595. 2013.



- 40 DULSKI, T., R. , *A manual for the chemical analysis of metals*. 1era ed. American Society for Testing and Materials. Estados Unidos de América. 1996. p 76-77.
- 41 LIDE, D. R., BAYSINGER, GRACE., BERGER, LEV I., GOLDBERG, ROBERT N., KEHIAIAN, HENRY V., KUCHITSU, KOZO., *CRC Handbook of Chemistry and Physics. Internet Version 2007*. 87va ed. Taylor and Francis. Florida, USA. 2007. p 4-69, 4-88.
- 42 VOGEL, A. I., *Química Analítica Cuantitativa: teoría y práctica. Volumen I. Volumetría y Gravimetría*. 1era ed. Kapelusz. Buenos Aires, Argentina. 1960. p 377-398.
- 43 BORGOGNO, F. G. (2010). Compendio de propiedades, tabla de entalpía de formación, energía libre de Gibbs y entropía de formación de compuestos inorgánicos [en línea]. Neuquén, Argentina. Disponible en: <<http://es.scribd.com/doc/186652740/Entalpia-Energia-Libre-Compuestos-Inorganicos>> [05-Oct-2012].
- 44 LEE, H. G., *Chemical Thermodynamics for Metals and Materials*. 3era ed. Imperial College Press. 1999. p 275-294.
- 45 *ATCC Medium: 2 Marine Agar/Broth 2216* [en línea]. Disponible en: <<https://www.atcc.org/~media/B5025AB990724A91B4491C391E054448.ashx>> [02-Sept-2013]
- 46 Romano, J. F. H., Gutiérrez, E. M. and De Lima Barragán, R. Sepsis de etiología mixta con aislamiento de *Shewanella putrefaciens*. Reporte de un caso. *Revista Mexicana de Pediatría*, 75 (5), 2008.
- 47 Savvaidis, I. N., Skandamis, P., Riganakos, K. A., Panagiotakis, N. and Kontominas, M. G. Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged trout at 4 and 10C using irradiation. *Journal of Food Protection®*, 65 (3), 515-522. 2002.
- 48 Richards, G. P., Watson, M. A., Crane, E. J., Burt, I. G. and Bushek, D. *Shewanella* and *Photobacterium* spp. in oysters and seawater from the Delaware Bay. *Applied and environmental microbiology*, 74 (11), 3323-3327. 2008.
- 49 DESMONCEAUX, M. and MONGET, D., *Novel enzymatic substrates for detecting pseudomonas aeruginosa, compositions containing same and method for detecting said species*. Google Patents. 2003.
- 50 MILLER J. C., M. J. N., *Estadística para Química Analítica*. 2da ed. Addison-Wesley Iberoamerican. Delaware, Estados Unidos. 1993. p
- 51 Braunschweig, J., Bosch, J., Heister, K., Kuebeck, C. and Meckenstock, R. U. Reevaluation of colorimetric iron determination methods commonly used in geomicrobiology. *Journal of Microbiological Methods*, 89 (1), 41-48. 2012.
- 52 Falco, L., Pogliani, C., Curutchet, G. and Donati, E. A comparison of bioleaching of covellite using pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a

- mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Hydrometallurgy*, 71 (1–2), 31-36. 2003.
- 53 Sharma, P. K., Das, A., Hanumantha Rao, K. and Forssberg, K. S. E. Surface characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* cells grown under different conditions. *Hydrometallurgy*, 71 (1–2), 285-292. 2003.
- 54 KLEIN, C. and HURLBUT, C. S., *Manual de mineralogía*. ed. Reverté. 1997. p 377-378, 412-414, 419-422, 426-429.
- 55 Begum, N., Maisyarah, A., Bari, F., Ahmad, K. R. and Hidayah, N. Leaching Behaviour of Langkawi Black Sand for the Recovery of Titanium. *APCBEE Procedia*, 3 (0), 1-5. 2012.
- 56 Alp, İ., Celep, O., Paktunç, D. and Thibault, Y. Influence of potassium hydroxide pretreatment on the extraction of gold and silver from a refractory ore. *Hydrometallurgy*, 146 (0), 64-71. 2014.
- 57 Pyrzyńska, K. Recent developments in the determination of gold by atomic spectrometry techniques. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 60 (9–10), 1316-1322. 2005.
- 58 Murthy, D. S. R., Kumar, V. and Rao, K. V. Extraction of gold from an Indian low-grade refractory gold ore through physical beneficiation and thiourea leaching. *Hydrometallurgy*, 68 (1–3), 125-130. 2003.
- 59 Wei, X. and Viadero Jr, R. C. Synthesis of magnetite nanoparticles with ferric iron recovered from acid mine drainage: Implications for environmental engineering. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 294 (1–3), 280-286. 2007.
- 60 KLEIN, C., HURLBUT, CORNELIUS S., *Manual de Mineralogía, Volumen I*. ed. Reverté S.A. España. 2006. p 248-250.
- 61 Bounouira, H., Choukri, A., Cherkaoui, R., Gaudry, A., Delmas, R., Mariet, C., Hakam, O. K. and Chakiri, S. Multielement analytical procedure coupling INAA, ICP-MS and ICP-AES: Application to the determination of major and trace elements in sediment samples of the Bouregreg river (Morocco). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 278 (1), 65-79. 2008.
- 62 OCAMPO, A. G., FABILA G. F., JUÁREZ C., J. M., MONSALVO V., R., RAMÍREZ R., V. M., *Fundamentos de Química 3*. 2ed ed. Publicaciones Cultural. México. 2001. p 73-80.
- 63 CASTELLAN, G. W., *Fisicoquímica*. 2ed ed. Addison Wesley Iberoamericana S.A. México. 1998. p 1023-1026.
- 64 BIRKS, N., MEIER, GERALD H., PETTIT, FREDERICK S., *Introduction to the High-Temperature Oxidation of Metals*. 2da ed. Cmbridge University Press. United Kingdom. 2006. p 83-85.



-
- 65 HERNÁNDEZ, R. L., *Mineralogénesis de los yacimientos de hierro del Noroeste de la Península*. 1 era ed. IGME. 1977. p 132.
- 66 Kato, H. In vitro assays: tracking nanoparticles inside cells. *Nature nanotechnology*, 6 (3), 139-140. 2011.
- 67 Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R. and Surampalli, R. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*, 82 (4), 489-494. 2011.
- 68 Lovley, D. R., Stolz, J. F., Nord, G. L. and Phillips, E. J. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. *Nature*, 330 (6145), 252-254. 1987.
- 69 Rossello-Mora, R. A., Caccavo Jr, F., Osterlehner, K., Springer, N., Spring, S., Schüler, D., Ludwig, W., Amann, R., Vannanneyt, M. and Schleifer, K. H. Isolation and Taxonomic Characterization of a Halotolerant, Facultatively Iron-reducing Bacterium. *Systematic and Applied Microbiology*, 17 (4), 569-573. 1995.
- 70 Dehner, C. A., Barton, L., Maurice, P. A. and Dubois, J. L. Size-Dependent Bioavailability of Hematite (α -Fe₂O₃) Nanoparticles to a Common Aerobic Bacterium. *Environmental Science & Technology*, 45 (3), 977-983. 2010.



Anexo A

CERTIFICADO DE PROCEDENCIA DE LA CEPA *Shewanella putrefaciens*