

**MINERALOGIA DEL PROCESO DE OXIDACIÓN BACTERIANA DE LA GALENA (PbS) POR *Acidithiobacillus ferrooxidans*, MEDIANTE ANÁLISIS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO, FTIR Y DRX**  
**Mineralogical process of Galena (PbS) in bacterial oxidation for *Acidithiobacillus ferrooxidans* using SEM/EDX, FTIR and XRD.**

**RESUMEN**

Se caracterizaron mineralógicamente dos muestras de galena, pasante malla 200 y 325, provenientes del proceso de oxidación bacteriana mediante la utilización de una cepa compatible con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Los experimentos se realizaron previa adaptación de los microorganismos sobre el mineral como única fuente de energía. Para cada ensayo se hizo además blanco (abiótico) y réplica. Se midió pH y Eh diariamente durante 21 días, tomando muestras cada 4 días para el monitoreo mineralógico del proceso. La muestra -325 oxidó completamente, mientras que la -200 mostró oxidación parcial. La anglesita ( $PbSO_4$ ) fue el principal producto del proceso.

**PALABRAS CLAVES:** *Acidithiobacillus ferrooxidans*, anglesita, biooxidación, biolixiviación de Plomo, drenajes ácidos de mina.

**ABSTRACT**

*Two galena samples were mineralogically characterized, pass through 200 and 325 Tyler mesh, coming from oxidation bacterial process using a compatible culture with Acidithiobacillus ferrooxidans. The experiments were realized previous adaptation of the microorganism on mineral how only energy source. For each one test did inoculated controls and replies.*

*Daily along 21 days measuring pH and redox potential, taking samples every 4 days for the mineralogical monitor. The sample -325 was completely oxidized, while the sample -200 showed partial oxidation. The anglesite ( $PbSO_4$ ) was the principal product of the process.*

**KEYWORDS:** *Acidithiobacillus ferrooxidans*, anglesite, biooxidation, bioleaching of lead, acid mine drainage.

**1. INTRODUCCIÓN**

La utilidad de emplear microorganismos en el beneficio de metales asociados a sulfuros ha sido recientemente demostrada [17]. Sin embargo, la oxidación de la galena, asociada a la minería del oro, por microorganismos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* ha sido poco estudiada, debido a que el producto de la oxidación de este mineral, la anglesita ( $PbSO_4$ ), es un sulfato de plomo poco soluble impidiendo la posterior recuperación del plomo por técnicas electroquímicas clásicas como electrowinning [8,4].

La galena es un mineral de gran importancia desde dos puntos de vista, como fuente principal de plomo y como material semiconductor, con un *bandgap* alrededor de 0.4 eV [11]. Además, este mineral también juega un rol importante desde el punto de vista ambiental, debido a que frecuentemente es responsable de aumentar la acidificación de aguas luego de la explotación minera [11].

A diferencia de lo que ocurre con la galena, existe un gran interés en la biolixiviación de la esfalerita, debido a la necesidad creciente de procesar menas de bajo tenor. Sin embargo, este proceso enfrenta un problema particular, la asociación frecuente de la esfalerita con

otros sulfuros, especialmente las finas inclusiones de galena, lo cual complica la flotación diferencial de estos minerales [9, 19, 13].

Hoy en día se conocen bien la cinética y mecanismos de biolixiviación de la esfalerita [24, 12, 9, 21, 23], pero poco se sabe sobre los efectos electroquímicos, cinéticos, físicos, entre otros, de la galena [8].

Es bien conocido que dos minerales diferentes pueden ser selectivamente lixiviados debido a la interacción galvánica [8]. Cuando dos minerales de conductividad diferente entran en contacto en solución acuosa forman una celda galvánica donde el mineral de más bajo potencial es sacrificado mientras que el mineral de más alto potencial es pasivado [9]. Estudios recientes muestran que la biooxidación del zinc involucra la co-oxidación de la galena, donde la oxidación de la galena pasiva la oxidación de la esfalerita [9].

El mecanismo de oxidación de la galena ha mostrado gran interés en flotación, donde la oxidación del mineral en el circuito molienda-flotación afecta la hidrofobicidad del mineral y su interacción con el surfactante [3, 16, 22]. En el país no se realiza pretratamiento oxidante a menas refractarias, ni se ha implementado la biooxidación de minerales de bajo tenor o de minerales refractarios como

**ERICA MEJÍA RESTREPO**

Ing. Materiales, Grupo de Mineralogía Aplicada. [erikamejia@gmail.com](mailto:erikamejia@gmail.com)  
teléfono 4166667, Móvil 3007897082.

**JUAN DAVID OSPINA CORREA**

Ing. Materiales, Grupo de Mineralogía Aplicada. [jdavidospina@gmail.com](mailto:jdavidospina@gmail.com)  
teléfono 2385682, Móvil 3014486299.

**MARCO ANTONIO MÁRQUEZ G**

Ph. D. Mineralogía, Escuela de Ingeniería de Materiales, Facultad de Minas. Director Grupo de Mineralogía Aplicada. [mmarquez@unalmed.edu.co](mailto:mmarquez@unalmed.edu.co)  
A.A. 1226 teléfono 4255248, Móvil 3164941025.

la pirita, comúnmente asociados a la minería del oro, a escala comercial [2]. Debido a esto es común que se generen grandes pérdidas económicas, en especial en las minas menos tecnificadas. Sólo hasta ahora se están realizando investigaciones a nivel de laboratorio sobre las posibles aplicaciones de las principales bacterias nativas involucradas en este proceso [1,14]. Por lo anterior se hace necesario la investigación biotecnológica aplicada al sector minero-metalúrgico, la cual es importante como una herramienta que favorece la recuperación de recursos naturales de nuestro país, además de ser considerada como una tecnología limpia, con mayor protección ambiental que las tecnologías convencionales [18].

El este estudio muestran los resultados de la oxidación biológica de galena proveniente de la mina de oro Frontino Gold Mine (Segovia, Antioquia), mediante el uso de una cepa compatible con *A. ferrooxidans*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 2.1. MINERAL

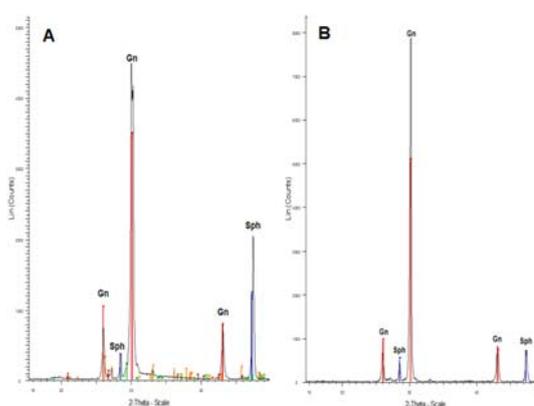
Los experimentos se hicieron usando una muestra natural de galena, proveniente de la compañía minera Frontino Gold Mine (Segovia, Antioquia), la cual presentó inclusiones ocasionales de esfalerita. El mineral fue sometido a un proceso de conminución y luego de separación gravimétrica en mesa Wiffley, elutriador, batea y concentración manual en microscopio estereográfico, con el fin de concentrar el mineral. Luego, el concentrado fue molido en mortero de ágata y tamizado con el fin de asegurar dos tamaños de partícula: pasantes malla 200 (Tyler mesh) ( $\sim 75\mu\text{m}$ ) y malla 325 (Tyler mesh) ( $\sim 45\mu\text{m}$ ). El mineral concentrado se esterilizó en autoclave a 18 p.s.i y T  $110^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Por DRX se confirmó que la fase mineral principal fue la galena, con cantidades menores de esfalerita (figura 1).

### 2.2. EXPERIMENTOS DE BIOOXIDACIÓN DE LA GALENA.

Para los ensayos biológicos se utilizó una cepa acidófila, quimiolitotrofa, oxidante de hierro y/o azufre compatible con *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la cual fue previamente aislada y cultivada. Los ensayos fueron realizados a nivel de *shaker*, con previa adaptación metabólica sobre el mineral, usando erlenmeyers de 500ml, utilizando un volumen final de 250ml y un porcentaje de pulpa del 10% (w/v) (25g de concentrado de galena). El medio de cultivo empleado fue el T&K reducido (sin sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), ajustando el pH a 1.8 con ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ); esta solución fue esterilizada en autoclave a  $120^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Adicionalmente, se realizó un control sin inóculo bacteriano bajo las mismas condiciones y para ambos tipos de sustrato. Todas las muestras fueron incubadas a  $35^\circ\text{C}$  en un agitador orbital a  $180 \pm 10\text{rpm}$  durante 21 días. Con el fin de monitorear el proceso de biooxidación se realizaron muestreos a las veinticuatro horas y cada cuatro días durante 21 días, tomando muestra sólida (1g

aprox) y líquida (10 ml). La muestra líquida fue centrifugada durante 15 min en una centrifuga DIAMOND IEC DIVISION a 3000 rpm, con el fin de separar las partículas sólidas presentes. Posteriormente, se hizo análisis químico para sulfatos, de las muestras sólida y líquida, mediante el uso de un espectrofotómetro UV/visible, marca Thermo Electronic Corporatio, con celda de cristal. La muestra sólida fue además filtrada y secada, con el fin de hacer la caracterización mineralógica.

Diariamente se hicieron medidas de Eh y pH, *in situ*, con el fin de monitorear la actividad bacteriana. Para estos fines fue usado un equipo marca Hanna, con electrodo de referencia HI98150 para Eh y un pH-metro marca Handylab ref Scooth Glasuuerkd Mainz.



**Figura 1.** Difractograma de rayos-X para el mineral proveniente del sector minero de Segovia Antioquia, después de ser sometido a concentración mecánica y manual. A. mineral pasante malla 200 y B. malla 325.

### 2.3. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A las muestras sólidas de galena (malla 200 y 325) expuestas a la acción bacteriana, se le hicieron análisis por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), en un equipo con celda dispersiva, marca Termo-Nicolet Avatar 330. Los datos fueron procesados usando el software Spectrum 2.0V. Para esta técnica se tomaron 13 mg de muestra, previamente macerada en mortero de ágata, y se le adicionaron 300 mg de KBr. El KBr adicionado fue inicialmente secado a  $110^\circ\text{C}$  por un periodo de 24 horas. Se hicieron espectros utilizando una resolución de  $4\text{cm}^{-1}$ , en un rango de número de onda ( $\lambda$ ) entre los  $4000 - 450\text{cm}^{-1}$ .

### 2.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO SEM/EDX

Esta técnica se utilizó con el fin de definir las relaciones texturales entre las fases presentes producto de la biooxidación. Las muestras fueron analizadas mediante el uso de secciones pulidas. Los análisis se realizaron utilizando un equipo marca JEOL JSM 5910 LV, con un detector EDX marca Oxford, para hacer análisis microquímico.

### 2.5. DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

Esta técnica se utilizó con el fin de determinar la presencia o aparición de fases minerales cristalinas producto de la oxidación bacteriana durante diferentes periodos de proceso. Los análisis se realizaron usando un difractómetro marca Rigaku, modelo Miniflex, configuración Bragg-Bretano con una velocidad de barrido de 2° por minuto y radiación de CuK $\alpha$ . Para analizar los espectros se utilizó el software Diffrac Plus Eva, haciendo uso de la base de datos PDF 2.0.

## 3. RESULTADOS.

### 3.1. MONITOREO DE LA OXIDACIÓN

En las figuras 2 y 3 se observa la variación del pH y Eh para los sistemas inoculados con la cepa compatible con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y los respectivos controles. Los valores de pH en los medios inoculados (figura 2) presentaron un aumento en los primeros días del proceso hasta valores cercanos a 4. Este comportamiento ya fue reportado por [15, 8] e interpretado como un consumo de protones generado por el mineral, debido al carácter de monosulfuro de la galena. Con el fin de evitar la inhibición en la actividad bacteriana, se acidificó el sistema con ácido sulfúrico hasta obtener valores constantes y óptimos para los microorganismos, alrededor de 2, [8].

Por otro lado, para la muestra pasante malla 325, los valores de potencial redox (figura 3) aumentaron rápidamente hasta el día 6 y una vez alcanzados altos niveles (por encima de los 500 mV) se mantuvieron aproximadamente constantes (alrededor de los 550 mV) hasta el final del experimento.

### 3.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A partir de los resultados obtenidos por medio de FTIR para las muestras biooxidadas de galena, se observaron diferencias entre el material -200 y -325 (figura 4) donde se evidenciaron claramente bandas distintivas de la anglesita como las bandas entre 950-1000  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al modo vibracional  $\nu_1$  y  $\nu_2$  del  $\text{SO}_4^{2-}$ , así como su modo vibracional  $\nu_3$  encontrado en las bandas 1165-1765, 1115-1125, 1050-1060  $\text{cm}^{-1}$ , el modo vibracional  $\nu_4$  también fue identificado alrededor de 592-620  $\text{cm}^{-1}$  [10]. Encontramos bandas muy representativas de la scotlandita ( $\text{PbSO}_3$ ), como las bandas 920 y 870 correspondientes al modo vibracional  $\nu_1$  del  $\text{SO}_3^{2-}$ , 970 correspondiente al modo vibracional  $\nu_2$  y 600-620 correspondiente al modo vibracional  $\nu_4$  [22]. Los espectros de infrarrojo están caracterizados por mostrar cambios significativos en la región comprendida entre las frecuencias 1000 a 900  $\text{cm}^{-1}$  y 700-560  $\text{cm}^{-1}$ . Para la malla 200 en la figura 4 se pudo observar bandas típicas de anglesita bien definidas que fueron creciendo a medida que avanzo el proceso de oxidación. En esta malla no se observo la presencia de la banda 1050-1060  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de infrarrojo realizados para las

muestras -325 se encuentran dominados por bandas típicas de anglesita (Figura 4), mostrando un crecimiento representativo a medida que avanza el proceso, su más alto crecimiento se dio al final del ensayo.

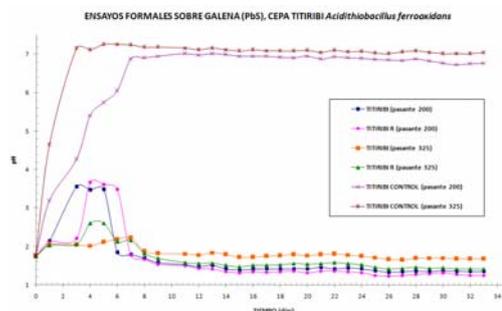


Figura 2. Variación en el pH durante el proceso de oxidación bacteriana.

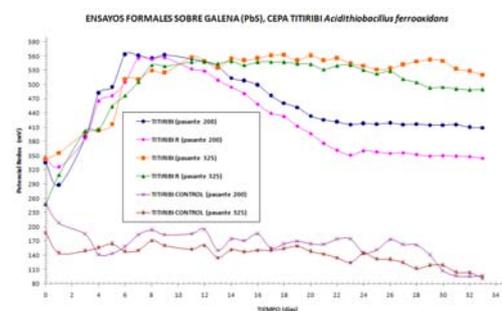


Figura 3. Valores de potencial redox (Eh) durante el proceso de oxidación bacteriana.

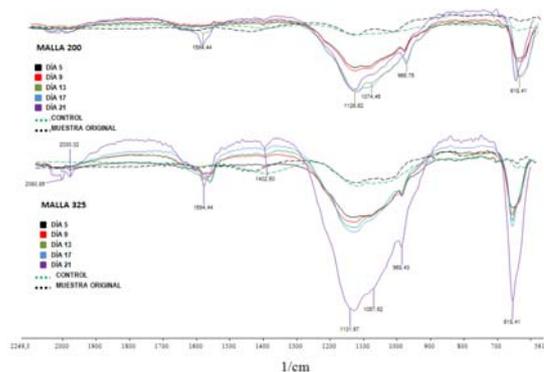
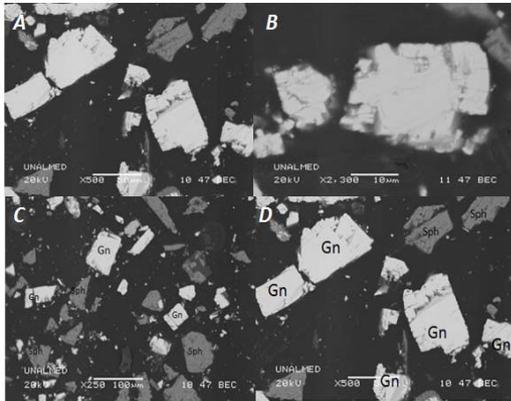


Figura 4. Espectros de FTIR para las bandas de sulfato producidas por la oxidación bacteriana para la malla 200 (~75 $\mu\text{m}$ ) para los días 5, 9, 13, 17 y 21.

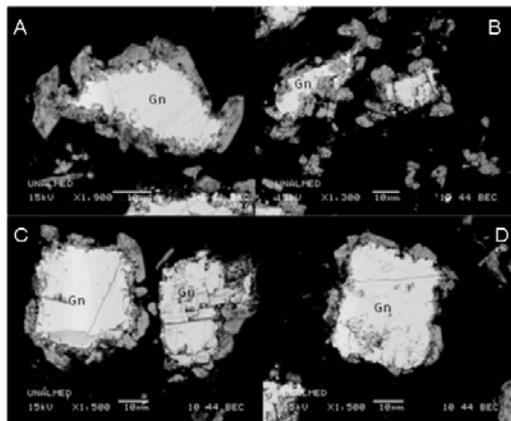
### 3.3. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM/EDX)

Los análisis de microscopía electrónica y análisis microquímicos se realizaron en muestras seleccionadas por presentar una buena eficiencia en los procesos de biooxidación de la galena demostradas por las medidas de Eh, pH, sulfatos en solución y en sólidos. Para los cinco primeros días del proceso se puede observar que el sustrato -200 presenta anglesita ( $\text{PbSO}_4$ ) recubriendo granos anedrales y subedrales de galena en forma de una capa porosa (figuras 6 y 7) y en la forma de cristales

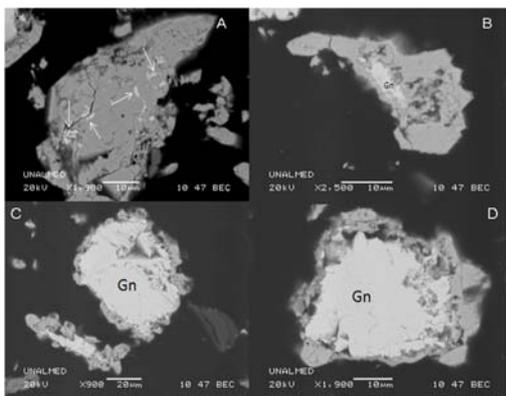
aciculares. El sustrato -325 presenta precipitados de anglesita y granos completamente anedrales de galena, en alto estado de oxidación (figuras 9 y 10). En las muestras podemos observar que las partículas más grandes se encuentran menos oxidadas.



**Figura 5.** Controles (abióticos) para muestra de galena pasante malla 200 y 325. A y B mineral -325 para los días 5 y 17. C y D mineral -200 para los días 5 y 17. En las figuras se observan cristales euedrales del mineral sin oxidación aparente.

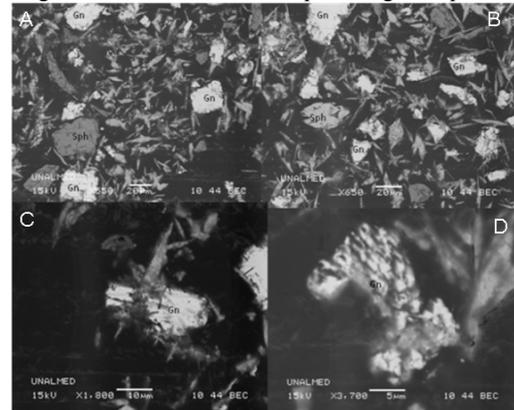


**Figura 6.** Galena pasante malla 200 después de 5 días de iniciado el proceso de biooxidación. A) grano de galena recubierto de una capa de anglesita porosa, B, C y D granos de galena con precipitados de anglesita alrededor del grano.

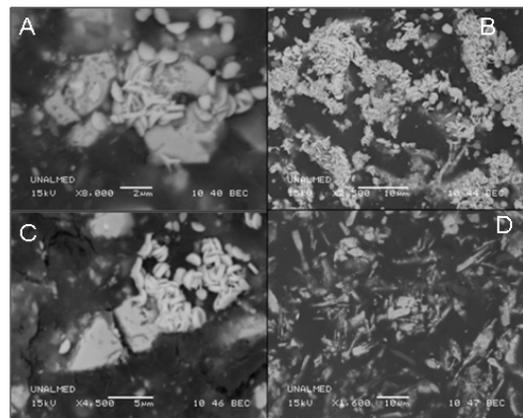


**Figura 7.** Galena pasante malla 200 después de 17 días de iniciado el proceso de biooxidación. A) Grano de anglesita donde las flechas indican núcleos remanentes de galena. B)

Anglesita porosa recubriendo núcleo de galena. C y D) granos de galena recubiertos de una capa de anglesita porosa.



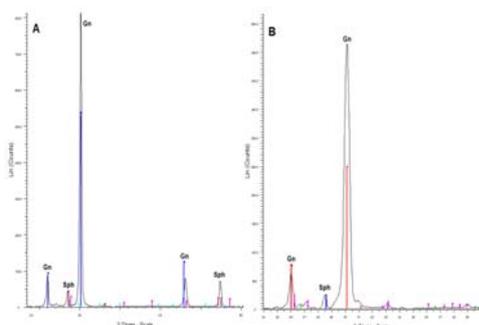
**Figura 8.** Galena pasante malla 325 después de 5 días de iniciado el proceso de biooxidación. A, B y C) Granos anedrales y aciculares de anglesita, con presencia de granos de escalerita sin oxidación evidente y granos de galena en alto estado de oxidación. D) Grano de galena en alto estado de oxidación donde se aprecian golfos de corrosión.



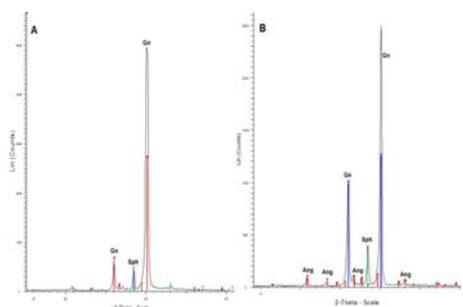
**Figura 9.** Galena pasante malla 325 después de 17 días de iniciado el proceso de biooxidación. A, B y C) granos aciculares de anglesita. D) granos anedrales de anglesita.

### 3.4. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

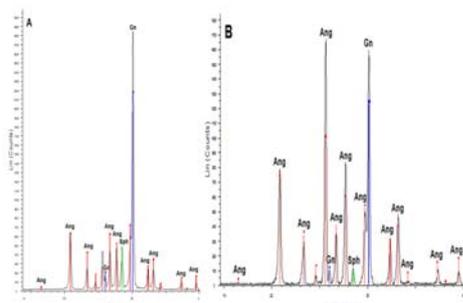
Con base en los análisis realizados de SEM/EDX y FTIR se seleccionaron algunas muestras que permitieron un seguimiento a la nueva fase formada, además de facilitar el monitoreo en la disminución del porcentaje de galena a lo largo del proceso. Los análisis de difracción de rayos X (Figuras 10, 11, 12 y 13) evidencian la formación de anglesita a expensas de la galena, mostrando al final de proceso una oxidación prácticamente total para la muestra -325. El análisis de los espectros obtenidos para cada una de las muestras fue netamente cualitativo



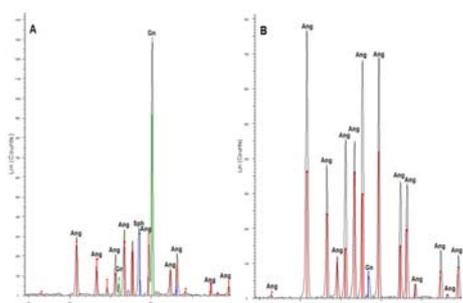
**Figura 10.** Difractograma de rayos X de los controles para el día 21 del proceso. A) sustrato -200 B) Sustrato -325. Donde Gn es galena y Sph esfalerita,



**Figura 11.** Difractograma de rayos X de las muestras inoculadas para el día 1 del proceso. A) sustrato -200 B) Sustrato -325. Donde Gn es galena, Sph es esfalerita y Ang es anglesita.



**Figura 12.** Difractograma de rayos X de las muestras inoculadas para el día 13 del proceso. A) sustrato -200 B) Sustrato -325. Donde Gn es galena, Sph esfalerita y Ang es anglesita



**Figura 13.** Difractograma de rayos X de las muestras inoculadas para el día 21 del proceso. A) sustrato -200 B) Sustrato -325 Donde Gn es galena, Sph esfalerita, y Ang es anglesita.

#### 4. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

En este estudio, la cepa compatible con *Acidithiobacillus ferrooxidans* aislada en trabajos anteriores en el grupo, revela una buena adaptación al mineral como única fuente de energía y una alta actividad oxidativa sobre él, mediante el análisis del pH, Eh, sulfatos en fase sólida y en fase líquida, y la caracterización del mineral antes y después de la acción bacteriana, se encontró diferencias significativas entre los dos tamaños de grano seleccionados, mostrando una mejor oxidación la malla 325, posiblemente debido al tamaño de partícula que en promedio se encontraba en las 14µm, tamaño determinado por análisis de Coulter, este tamaño inhibió en la mayoría de las partículas la formación de una capa superficial de anglesita, como se puede observar en las figuras 6 y 7.

Para la malla 200, se forma una capa de anglesita porosa (PbSO<sub>4</sub>) recubriendo los granos de galena, lo cual fue confirmado por análisis de FTIR, DRX y visualmente mediante SEM/WDX; la presencia de esta capa concuerda con los trabajos de [8,15] en el cual una mol de sulfato de plomo es formado por mol de galena oxidada, ecuación 1, en este caso la velocidad de oxidación de la galena se encuentra controlada por la capa formada de anglesita, para esta malla cuyo tamaño promedio determinado por Coulter está en las 62µm y no por las reacciones químicas presentes en el mecanismo indirecto de biooxidación.

En general en los dos sustratos las reacciones se dan por medio del mecanismo vía polisulfuro en el cual el ataque al mineral puede ser generado por el ácido producido por la catálisis de la bacteria y no por el ataque químico del ion férrico debido a que ni el medio ni el mineral contenían el ion, esta generación de ácido explica la paulatina disminución del pH del medio biooxidante, resultado que concuerda con [14], la disolución del mineral puede ser explicada por las siguientes reacciones:



Los análisis mineralógicos mostraron el efecto pasivante que tiene la galena sobre la esfalerita debido a que esta última tiene un potencial de reposo más alto, lo cual hace que la galena actúe como ánodo de sacrificio oxidándose, mientras que la esfalerita actúa como cátodo y se pasiva, lo anterior concuerda con lo dicho por [8, 7]. Las técnicas de SEM DRX y FTIR son métodos competitivos que permiten evidenciar los cambios efectuados en las muestras luego de la oxidación bacteriana, sin embargo se deben considerar parámetros que permitan obtener espectros de FTIR de mejor calidad, así como contar con otro tipo de técnicas de caracterización como análisis químico como absorción atómica o ICP además de XPS y microscopía electrónica de transmisión (TEM) que ayuden a complementar y a definir las fases mineralógicas formadas y permitan definir los mecanismos de oxidación generados en la galena.

## AGRADECIMIENTOS.

Al Programa de Biotecnología de Colciencias, al Laboratorio de Biomineralogía de la Unal-med, al profesor Diego Hernán Giraldo de la UdeA y al laboratorio del grupo interdisciplinario de estudios moleculares de la UdeA.

## 5. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] **A. Muñoz, O. Montoya, M. Márquez, O. Ruiz, V. Lemeshko.** Oxidación de concentrados de sulfuros metálicos provenientes de la mina de oro La Maruja, de Marmato, Caldas, mediante una cepa nativa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Memorias XII congreso Nacional de Química. Bogotá.
- [2] **Alexandra Muñoz, Marco A. Márquez, Olga I. Montoya, Orlando Ruiz, Víctor Lemeshko.** Evaluación de oxidación bacteriana de sulfuros con *Acidithiobacillus ferrooxidans* mediante pruebas de FTIR y difracción de rayos X. REVISTA COLOMBIANA DE BIOTECNOLOGÍA. Vol. V. pp. 73 – 81. 2003.
- [3] **B. Jańczuk, R. Perea, F. González-Caballero.** The influence of oxidation degree of galena surface and of ethyl xanthate on the stability of galena-air aggregates. Powder Technology. Vol 75. pp. 43 – 48. 1993.
- [4] **D. Santhiya, S. Subramanian, K. A. Natarajan.** Surface chemical studies on galena and sphalerite in the presence of *Thiobacillus thiooxidans* with reference to mineral beneficiation. Minerals Engineering. Vol. 13. No. 7. pp. 747 – 763. 2000.
- [5] **F. Acevedo, J.C. Gentina.** Process engineering aspects of the bioleaching of copper ores. Bioprocess Engineering. Vol 4. Pp. 223-229. 1989.
- [6] **G. da Silva, M. R. Lastra, J. R. Budden.** Electrochemical passivation of sphalerite during bacterial oxidation in the presence of galena. Minerals Engineering. Vol. 16. pp. 199 – 203. 2003.
- [7] **G. Urbano, A. M. Meléndez, V. E. reyes, M. A. Veloz, I. Gonzáles.** Galvanic interactions between galena – sphalerite and their reactivity. International Journal of Mineral Processing. Vol. 82. pp. 148 – 155. 2007.
- [8] **Gabriel da Silva.** Kinetics and mechanism of the bacterial and ferric sulphate oxidation of galena. Hydrometallurgy. Vol. 75. pp. 99 – 110. 2004.
- [9] **Gabriel da Silva.** Relative importance of diffusion and reaction control during the bacterial and ferric sulphate leaching of zinc sulphide. Hydrometallurgy. Vol. 73. pp. 313 – 324. 2004.
- [10] **I.V. Chernyshova.** An in situ FTIR of galena and pyrite oxidation in aqueous solution. Vol 558. Pp. 83-98. 2003.
- [11] **J. Muscat, J. D. Gale.** First principles of the surface of galena PbS. Geochimica et Cosmochimica Acta. Vol. 67. No. 5. pp. 799 – 805. 2003.
- [12] **M. Boon, M. Snijder, G. S. Hansford, J. J. Heijnen.** The oxidation kinetics of zinc sulphide with *Thiobacillus ferrooxidans*. Hydrometallurgy. Vol. 48. pp. 171 – 186. 1998.
- [13] **M. X. Liao, T. L. Deng.** Zinc and lead extraction from complex raw sulfides by sequential bioleaching and acidic brine leach. Minerals Engineering. Vol. 17. pp. 17 – 22. 2004.
- [14] **Ossa, D.M., Márquez, M.A.** Biooxidación de sulfuros mediante cepas nativas de acidófilos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, mina de oro El Zancudo, Titiribí, Colombia. Revista Colombiana de Biotecnología. Vol VII, No. 2. 2006.
- [15] **Oswaldo Garcia, Jr., Jerry M. Bigham, Olli H. Tuovinen.** Oxidation of galena by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. Canadian Journal Microbiology. Vol. 41. pp. 508 – 514. 1995.
- [16] **P. Nowak, K. Laajalehto, I. Kartio.** A flotation related X-ray photoelectron spectroscopy study of the oxidation of galena surface. Colloids Surface. A 161. pp. 447- 460. 2000.
- [17] **Partha Patra, K. A. Natarajan.** Surface chemical studies on selective separation of pyrite and galena in the presence of bacterial cells and metabolic products of *Paenibacillus polymyxa*. Journal of Colloid and interface Science. Vol. 298. Issue 2. pp. 720 – 729. 2006.
- [18] **R. W. Smith, M. Misra.** Mineral processing. Editado por R. W. Smith and M Misra. Ed. TMS Nevada. pp. 493. 1991.
- [19] **S. A. Bolorunduro, D. B. Dreisinger. G. Van Weert.** Zinc and silver recoveries from zinc-lead-iron complex sulphides by pressure oxidation. Minerals Engineering. Vol. 16. pp. 375 – 389. 2003.
- [20] **T. A. Fowler; P. R. Holmes, F. K Crundwell.** Mechanism of pyrite dissolution in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. Applied Environmental Microbiology. Vol 65. Pp. 2987-2993. 1999.
- [21] **W.H. Paar, R. S. W. Braithwaite, T. T. Chen, P. Keller.** A new mineral, scotlandite (PbSO<sub>3</sub>) from Leadhills Scotland; the first naturally occurring sulphite. Mineralogical Magazine. Vol. 48. Pp. 283 – 288. 1984.
- [22] **Y. Peng, S. Grano, J. Ralston, D. Fornasiero.** Towards prediction of oxidation during grinding: I. Galena flotation. Minerals Engineering. Vol. 15. pp. 493 – 498. 2002.
- [23] **Y. Rodriguez, A. Ballester, M. L. Blázquez, F. Gonzalez, J. A. Muñoz.** New information on the sphalerite bioleaching mechanism at low and high temperature. Hydrometallurgy. Vol. 71. pp. 57 – 66. 2003.
- [24] **Zapata DM, Márquez MA and Ossa DM.** Sulphur product layer in sphalerite biooxidation: Evidences for a mechanism of formation. Advances Materials Research. Vol 20-21. Pp. 134 – 138. 2007.