

## ESTUDIO DE BIOLIXIVIACIÓN DE UN MINERAL DE SULFUROS DE COBRE DE BAJA LEY CON BACTERIAS *Tio-* Y *Ferro-oxidantes* EN CONDICIONES TERMÓFILAS.

R. E. Rivera-Santillán<sup>(1)</sup>, P. Y. Camejo-Medranda<sup>(1)</sup>, F. J. Moya-Flores<sup>(1)</sup>, J. L. López-Méndez<sup>(2)</sup>, M. Munguía-Bravo<sup>(2)</sup>.

(1) Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, MÉXICO.

(2) Unidad Minera La Caridad, MÉXICO.

E-mail : relva@servidor.unam.mx

### RESUMEN

*La solubilización de los constituyentes de un mineral por acción bacteriana es conocida como biooxidación o biolixiviación de acuerdo al proceso utilizado. En el primero, los componentes minerales que interfieren con la extracción convencional del valor metálico son removidos, la solución se desecha y el residuo se procesa para obtener el metal contenido inicialmente en el mineral, mientras que en el segundo, el valor metálico se pone en solución, el sólido se desecha y la solución conteniendo el valor se procesa para obtener el metal de interés. Este tipo de extracción ha sido usado comercialmente en la biolixiviación de minerales de sulfuros de cobre secundarios y en la biooxidación de concentrados de oro refractarios, además de ser responsable de la producción de drenaje ácido de mina. Las principales razones del uso de este bioproceso dentro del área metalúrgica son: reducción de costos para la industria, la explotación de yacimientos de minerales cuyo valor no puede ser extraído mediante procesos convencionales o no es viable económicamente, eliminación de emisiones de SO<sub>2</sub> en el tratamiento de minerales sulfurados, la maximización del uso de inversiones de capital y en la mayoría de los casos, ventajas ambientales, ya que al ser un proceso natural es amigable con el medio ambiente. El objetivo de esta investigación fue encontrar cepas bacterianas termófilas capaces de oxidar las especies reducidas de hierro y de azufre para su aplicación en la lixiviación de minerales de sulfuros de cobre de baja ley.*

*Para ello, se obtuvieron cultivos de cepas termófilas (50 y 70°C) tio- y ferro-oxidantes de microorganismos nativos de la mina La Caridad (México), adaptadas mediante pases sucesivos en un Medio Kelly Modificado (MKM) midiendo periódicamente pH, potencial de óxido reducción (ORP), conductividad, concentración de ion ferroso y crecimiento bacteriano. Posteriormente, se seleccionó para cada cepa la mejor condición de crecimiento y se adaptó al mineral lixiviable de La Caridad, bajo esta condición. Finalmente se seleccionaron las cepas y condiciones en que éstas se adaptaron mejor al mineral para realizar pruebas de biolixiviación en columnas construidas bajo la norma ASTM D5744.*

### Tópico 1: Metalurgia Extractiva

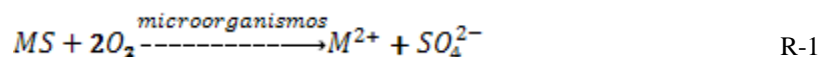
**Palabras clave:** (Biolixiviación, sulfuros metálicos, microorganismos ferroxidantes, microorganismos tiooxidantes).

### 1. INTRODUCCIÓN

La solubilización de metales a partir de minerales bajo la acción *directa* o *indirecta* de microorganismos para la recuperación posterior de los metales en solución, se conoce como

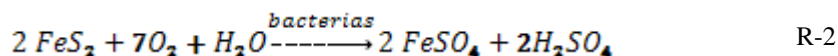
“biolixiviación”. Este método es una alternativa económica para la recuperación de metales a partir de minerales, especialmente minerales de baja ley y residuos de las actuales operaciones de minería, que requiere un moderado capital de inversión y costos de operación. La lixiviación en pilas, depósitos, etc., con microorganismos ofrece una serie de ventajas que abarcan equipos simples, inversión y costos de operación menores, y rendimientos razonables. La aplicación de la técnica es importante en el caso de minerales de sulfuros complejos y en el caso de minerales de metales preciosos refractarios a la cianuración. Como todo proceso hidrometalúrgico, se caracteriza por la ausencia de emisiones de SO<sub>2</sub>, y al ser un proceso natural desarrollado por microorganismos, es amigable con el medio ambiente. La importancia del proceso reside en la oxidación microbiológica de las especies reducidas de hierro y de azufre presentes en los minerales. Las primeras investigaciones en el campo de la biohidrometalurgia se basaron en el aislamiento e identificación de cultivos puros y su posterior caracterización fisiológica, de *Acidithiobacillus ferrooxidans* como la principal bacteria mesófila implicada en los procesos de biolixiviación. Estudios posteriores han demostrado que si bien *At. ferrooxidans* no es el único organismo implicado en procesos de este tipo, es uno de los más importantes y significativos. Además de los microorganismos *ferrooxidantes* y *tiooxidantes* mesófilos, existen microorganismos termófilos con importantes ventajas en las aplicaciones biohidrometalúrgicas [1,2], por lo que cada día cobra más fuerza la idea de la utilización de microorganismos termófilos, ya que el aumento de la temperatura conlleva una aceleración de la cinética química del proceso. El uso de estas bacterias no está restringido a condiciones de laboratorio o a reactores controlados, diversos autores comprobaron la existencia en el interior de los montones de lixiviación de temperaturas con valores que oscilan entre los 50 y los 80 °C con reconocida capacidad lixivante [3-6].

La disolución de los elementos metálicos contenidos en los minerales puede deberse a procesos químicos o biológicos. El papel de los microorganismos es catalizar la reacción de disolución del sulfuro metálico la cual se puede esquematizar con la siguiente reacción:

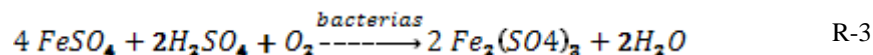


La biolixiviación ocurre mediante dos mecanismos: el directo y el indirecto. En el primer caso la disolución del mineral es consecuencia de reacciones químicas catalizadas enzimáticamente mediante el contacto físico de los microorganismos con el mineral, en el segundo caso es consecuencia de reacciones químicas, enzimáticas o no enzimáticas, no habiendo contacto físico entre los microorganismos y el mineral, los microorganismos juegan un papel central en la formación de reactivos químicos que pueden tomar parte en el proceso.

En el caso de la pirita, la transformación directa del sulfuro en sulfato ocurre a través de una oxidación enzimática según la reacción global:

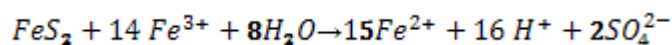


El sulfato ferroso formado es oxidado, en una etapa posterior por las bacterias, a sulfato férrico según la siguiente reacción:

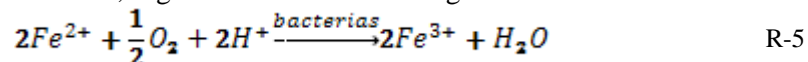


La transformación indirecta en el caso de la pirita, es consecuencia del ataque químico de los iones férricos que proceden de la acción bacteriana sobre el mineral sulfurado disolviéndolo. La reacción global correspondiente es la siguiente:

R-4



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



## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

**2.1 Materiales.** Las muestras utilizadas en el estudio fueron proporcionadas por la compañía minera “Mexicana de Cobre”. El mineral a lixiviar, mineral de sulfuros de cobre de baja ley, fue obtenido por excavación a 3 metros de profundidad del terrero de lixiviación 1380F de la Unidad Minera “La Caridad”, México. A partir de éste se prepararon 2 muestras representativas, una con tamaño de partícula menor a 100 micras y otra entre 5/6 y 1/2 pulgada, para los estudios de biolixiviación en incubadora y de biolixiviación en columna, respectivamente. La composición del mineral utilizado fue de 0.405 % Cu y 3.669 % Fe.

Para la obtención de microorganismos biolixivantes se utilizaron tres muestras ambientales, una muestra mineral de terrero de lixiviación (1515G) obtenida por excavación a 1.5 m, una muestra de solución PLS (RGpe) y una muestra de solución de colas (P11).

**2.2 Obtención de microorganismos.** Los microorganismos *ferrooxidantes* y *tiooxidantes* nativos de “La Caridad” fueron obtenidos a partir de muestras ambientales, mediante eutrofización de éstas en medio nutriente Kelly modificado (MKM) enriquecido con Fe(II) y con S°, a 50°C y a 70°C, y a 150 rpm en incubadora orbital. Los cultivos se prepararon en medio líquido MKM, al 0.1% p/v en el caso de la muestra sólida T1515G y al 10% v/v en el caso de las muestras líquidas, RGpe y P11. Cada 24 hs se monitorearon pH, potencial oxido-reducción y bacterias/mL. En el caso de cultivos enriquecidos con S° en este trabajo se implementó el monitoreo de la conductividad específica como indicativo de la reacción R-6 y en el caso de los cultivos enriquecidos con Fe(II) se realizó determinación de Fe(II) residual por titulación con  $KMnO_4^-$ , indicativo del avance de la reacción R-5. Las cepas que presentaron mejor adaptación a las condiciones de cultivo y un mayor crecimiento bacteriano, se seleccionaron para el estudio de biolixiviación en incubadora de la muestra mineral. Los cultivos seleccionados fueron: P11 con azufre y hierro como sustrato y las muestras de T1515G y RGpe crecidas con azufre, todas a 50°C.

**2.3 Estudios de biolixiviación en incubadora.** Los cultivos se prepararon inoculando con las cepas seleccionadas al 5% v/v una pulpa mineral preparada al 10% p/v en medio MKM basal. Periódicamente se monitorearon pH, potencial redox, conductividad y bacterias/mL. Una vez adaptados los microorganismos al mineral mediante realización de pases sucesivos, en el tercer pase se monitorearon también las concentraciones de cobre y hierro en la solución. La técnica utilizada para su determinación fue espectrometría de absorción atómica. Los resultados de estos cultivos se compararon con dos sistemas testigo, uno de ellos no-inoculado y el otro esterilizado.

**2.4 Estudios de biolixiviación en columna.** Las columnas fueron construidas en policarbamato bajo la norma ASTM D5744 [7,8].

Cada columna se llenó con 450 gramos de mineral de sulfuros de cobre de baja ley, T1380F, el cual fue lixiviado a 50°C. El primer lixiviado, se obtuvo alimentando las columnas con un caudal de 0,5 mL/min de solución de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a una concentración de 10 g/L durante tres días, posteriormente se alimentaron con solución bacteriana a una concentración del orden de  $10^6$  microorganismos/mL manteniendo el mismo caudal. Finalmente a partir del 13° día se

empezó a alimentar con medio MKM. Diariamente y durante un período de 30 días se recolectó el licor de lixiviación y se caracterizó, al igual que las soluciones de alimentación. La experimentación fue realizada con 6 de los cultivos bacterianos estudiados y con dos testigos (uno de ellos no-inoculado y el otro estéril) alimentados con medio MKM. Las columnas inoculadas con microorganismos provenientes de la solución de P11, se mantuvieron durante 90 días.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**3.1 Obtención de microorganismos.** El primer pase de adaptación de la muestra a 50 y a 70 °C duró 17 días y se finalizó una vez que las variables medidas pH, Fe(II), y K, no presentaron mayor variación. El segundo pase de adaptación terminó después de 17 días, y como criterio de término se consideró la oxidación completa del sulfato ferroso y el crecimiento logarítmico de las bacterias.

Durante este pase se observó que en el caso de las muestras cultivadas con sulfato ferroso como fuente de energía, la disminución de pH y Fe(II) era más rápida a 70 que a 50°C, mientras que en las muestras cultivadas con azufre la disminución de pH y K fue mayor a 50°C. Entre las bacterias del género *sulfobacillus*, se ha observado que *S. thermosulfidooxidans* es la más activa de las dos especies en cuanto a la oxidación de Fe<sup>2+</sup> y de sulfuros minerales; mientras que *S. acidophilus* es más eficiente en la oxidación del azufre [9,10]. Existe una amplia probabilidad de que en los cultivos en los que utilizó S<sup>o</sup> como sustrato se hayan desarrollado este tipo de bacterias termófilas moderadas. Debido a la menor tasa de crecimiento bacteriano en las muestras en las que se utilizó FeSO<sub>4</sub> como sustrato y 50°C, es posible que el consorcio bacteriano presente sea del tipo mesófilo adaptándose a esta temperatura y con un bajo metabolismo.

Debido a estos resultados, se decidió que además de realizar el tercer pase para cada cultivo a la misma temperatura en la que se cultivaron en el primer y segundo pase, realizar simultáneamente otro pase donde se cultivara a 50°C\*, bacterias *ferrooxidantes* crecidas anteriormente a 70°C, y cultivar a 70°C\*, bacterias *tiooxidantes* crecidas a 50°C, con la finalidad de determinar si la temperatura era el factor determinante en el crecimiento y oxidación bacteriana [11]. La medición periódica de los parámetros de biolixiviación durante el tercer pase de adaptación muestra los siguientes resultados.

Con respecto al pH, figura 1, se observó que para los cultivos *ferrooxidantes* mantenidos a 70°C, la curva de pH no se diferenció del testigo, por lo que se infiere que para todos los medios expuestos a 70°C solamente existió lixiviación química y no bacteriana. Los cultivos *tiooxidantes* a 70°C no mostraron cambios significativos respecto al testigo, infiriéndose que no hubo actividad bacteriana implicada en el cambio de pH, por otro lado en el caso de las bacterias crecidas a 50°C en comparación con el testigo, sí existió disminución importante de pH demostrándose que esta disminución se asoció a la presencia de bacterias.

La mayor tasa de crecimiento se presentó en las muestras en las que se utilizó S<sup>o</sup> como sustrato, con un orden de población de 10<sup>6</sup> bacterias / mL, mientras que en aquellas muestras en las que se utilizó Fe(II) como sustrato el mejor cultivo presentó una población bacteriana del orden de 10<sup>5</sup> bacterias / mL, figura 2.

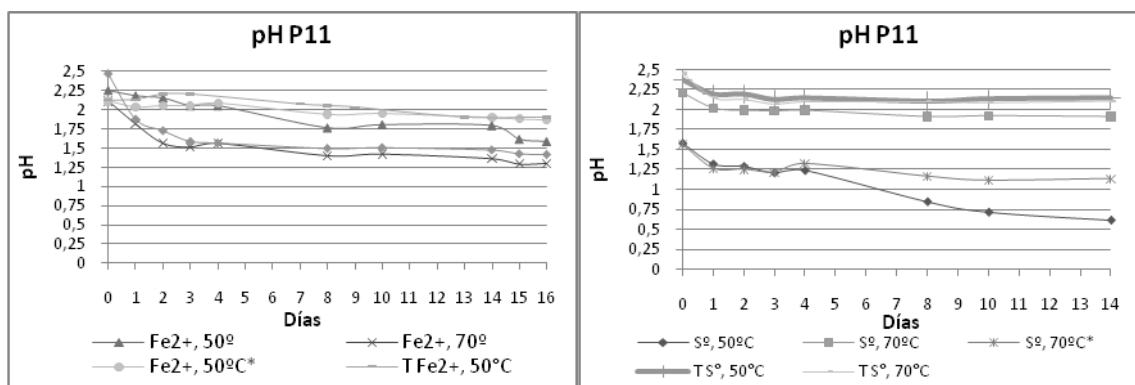


Figura 1. Variación del pH en cultivos de bacterias *ferrooxidantes* (izq) y *tiooxidantes* (der) en p11.

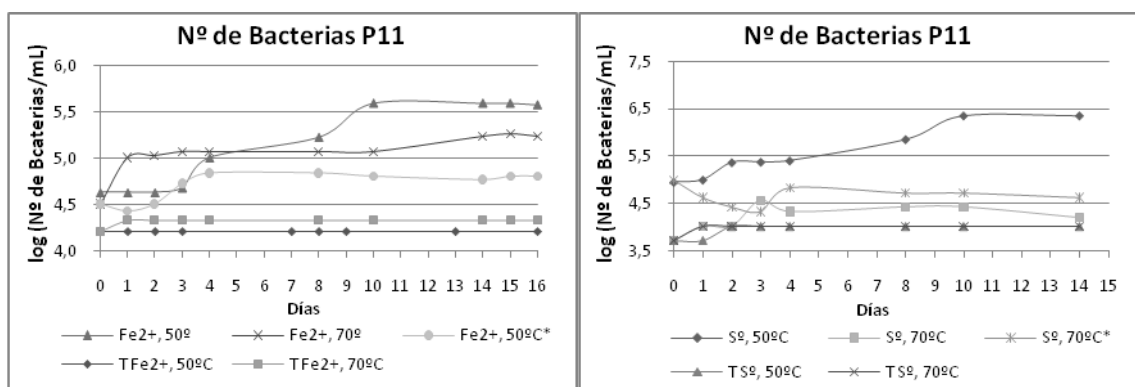


Figura 2. Crecimiento de bacterias *ferrooxidantes* (izq) y *tiooxidantes* (der) en p11.

**3.2 Biolixiviación en incubadora.** Las cepas que presentaron una mejor adaptación a las condiciones de cultivo y un mayor crecimiento bacteriano, se seleccionaron para realizar el estudio en de biolixiviación en incubadora con el mineral a 100 micras. Los cultivos seleccionados fueron: P11 con azufre y hierro como sustrato y las muestras de T1515 y RGpe crecidas con azufre como sustrato, cultivándose a 50°C.

Los resultados se compararon con los testigos T1380F no inoculado, y con T1380F-E estéril. El cultivo P11(Fe) presentó la mayor velocidad de extracción de cobre, seguido por RGpe(S°) y Testigo no inoculado, y la velocidad más baja de extracción de hierro, figura 3.

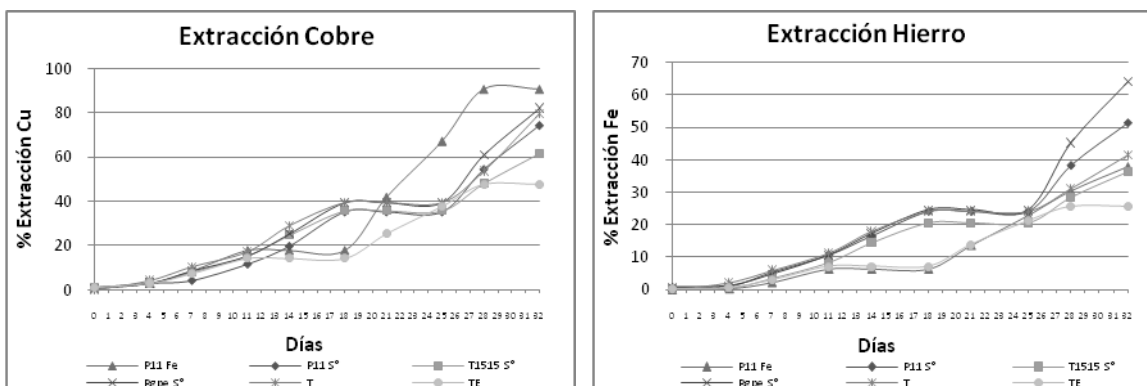


Figura 3. Extracción de cobre (izq) y de hierro (der) en la biolixiviación del mineral en incubadora.

Este fenómeno puede ser explicado con la formación de sulfatos férricos básicos que ha sido reportado en bacterias ferrooxidantes [12] (Grishin *et. al.*). En la figura 4 se observa que el pH de P11(Fe) se mantuvo mayor a 2 hasta aproximadamente el día 14, favoreciéndose así la formación de jarositas; a partir de este día se observa una disminución del pH debido a que en la reacción de formación de estos precipitados se liberan protones  $H^+$  que acidifican el medio.

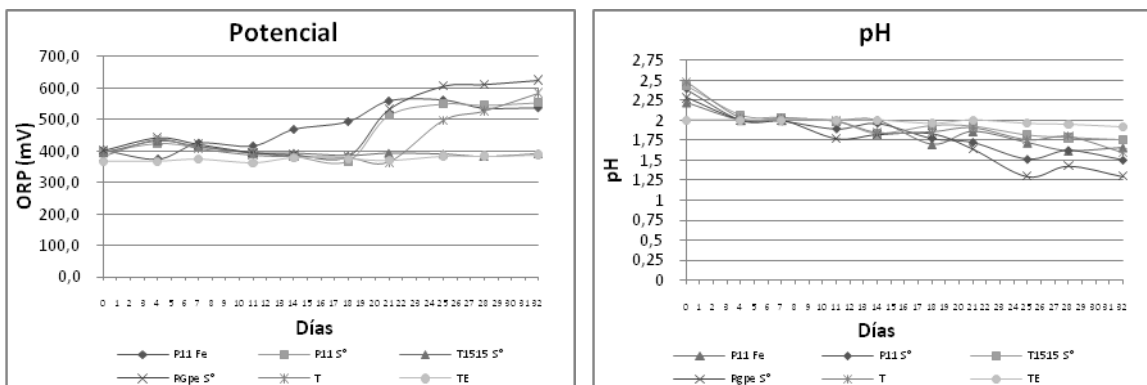


Figura 4. Variación del potencial redox (izq) y del pH (der) en la biolixiviación del mineral en incubadora.

**3.3 Biolixiviación en columnas.** Las pruebas de lixiviación en columnas se realizaron con las mismas soluciones bacterianas empleadas en las pruebas en incubadora, y los dos testigos, manteniendo la temperatura de las columnas y de la alimentación a 50°C. Dado que las soluciones de alimentación contenían licor de lixiviación, los parámetros de biolixiviación también fueron medidos en éstas, para ser considerados en los resultados.

De acuerdo a los parámetros medidos en el licor de lixiviación de las columnas, no hubo variación significativa en el pH, potencial y conductividad de las muestras con respecto a la alimentación durante los primeros 15 días, debido a que la producción inicial de ácido por acción bacteriana no compensa el consumo ocasionado por la reacción de las especies oxidadas, provocándose un ligero incremento del pH.

El conteo celular al microscopio permitió cuantificar la población bacteriana libre en el medio líquido. En la figura 5, las gráficas muestran que durante la alimentación con solución bacteriana, desde el inicio hasta el día 13, hubo un incremento en el número de bacterias en suspensión. A partir de este punto aunque la población bacteriana en general disminuye, se mantiene alrededor de  $10^6$  B/mL. Comparando el crecimiento entre las muestras, sólo P11(Fe) y RGpe(S°) presentaron un crecimiento bacteriano sostenido en el tiempo, mientras que en las otras muestras el crecimiento no se mantuvo.

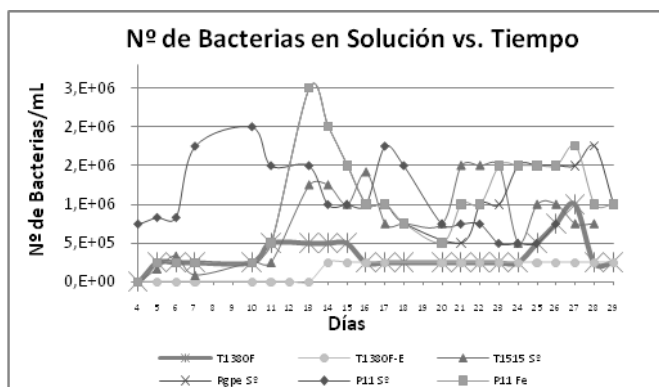


Figura 5. Población bacteriana libre en la biolixiviación del mineral en columnas.

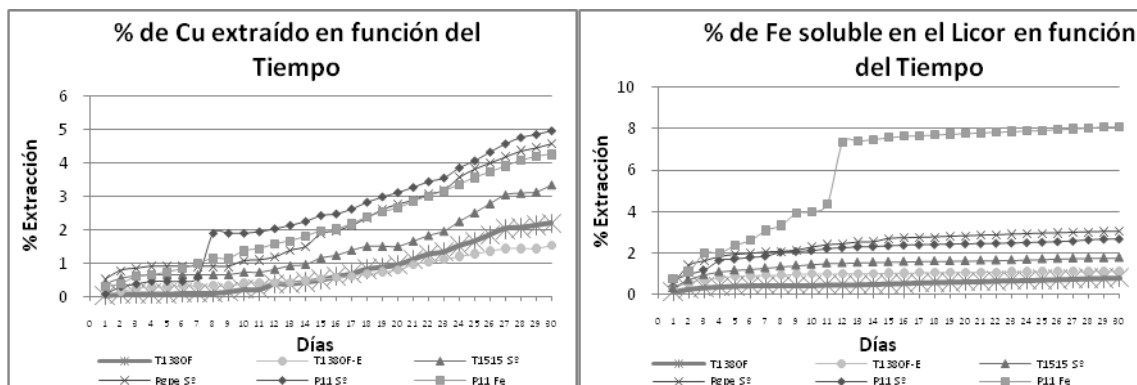


Figura 6. Extracción de cobre (izq) y hierro (der) en la biolixiviación del mineral 1380F en columnas.

Los cultivos que mostraron un mayor porcentaje de cobre extraído en función del tiempo fueron P11(S°) y RGpe(S°), por el contrario, a diferencia de lo ocurrido en incubadora, en la columna testigo no inoculada donde se alimentó sólo con medio MKM, no se logró extraer mayor cantidad del metal de interés, por lo que se infiere que las bacterias nativas del mineral no lograron lixiviar en estas condiciones. Por otro lado, P11(Fe) mostró el mayor porcentaje de extracción de hierro con respecto a las demás muestras, lo que se puede explicar considerando que la alimentación de esta columna tenía un contenido de iones férricos más abundante que las otras y por lo tanto se favoreció el mecanismo indirecto de lixiviación.

En las columnas P11(S°) y P11(Fe) que fueron mantenidas durante 60 días más, el pH alcanzó un valor alrededor de 1.5, el ORP se mantiene alrededor del 550-590 mV, la conductividad aumenta ligeramente hasta un valor alrededor de 10 mS y la población bacteriana se mantiene alrededor de 10<sup>6</sup> B/mL, en ambos casos. Con microorganismos termófilos moderados *tiooxidantes* la extracción alcanzada fue de 8.50% para Cu y 2.85% para Fe. Con los microorganismos *ferrooxidantes* fue de 7.40% para Cu y 15.34% para Fe, siendo la cinética de extracción de Fe también mayor, figura 6.

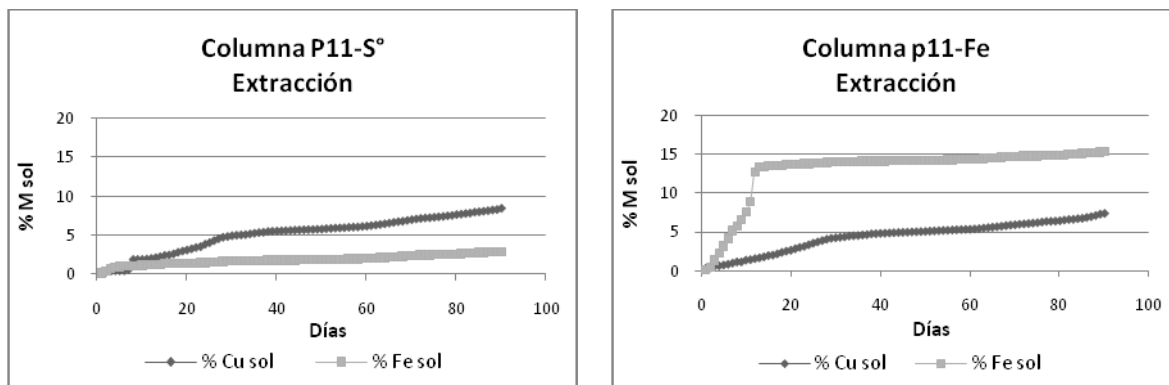


Figura 7. Extracción de cobre y hierro en columnas con microorganismos de P11.

#### 4. CONCLUSIONES

Se observó mayor crecimiento bacteriano a 50 °C que a 70 °C, lo que se evidenció en la diferencia entre las variables medidas (pH, ORP, Fe (II), K y B/mL) entre la muestra testigo y los cultivos.

A 50°C, crecieron aproximadamente 10 veces más las bacterias cultivadas con S<sup>o</sup> como sustrato que las cultivadas con Fe<sup>2+</sup>.

Las muestras P11(Fe) y RGpe(S<sup>o</sup>) obtuvieron un alto rendimiento en la extracción de cobre y favorables parámetros de biolixiviación. En el caso de P11(Fe) existió una posible acumulación de jarositas, lo que conllevó a una disminución en la concentración de Fe en el cultivo.

Las muestras mencionadas anteriormente también obtuvieron un alto rendimiento en la extracción de hierro y cobre en columnas de lixiviación durante 30 días.

En el caso de P11(Fe), debido a que la alimentación contenía una alta concentración de iones férricos, el mecanismo indirecto de lixiviación se vio favorecido.

Para las muestra P11(Fe) y RGpe(S<sup>o</sup>) debe contemplarse la posibilidad de realizar estudios posteriores para identificación del consorcio bacteriano presente y optimización del proceso de lixiviación.

La extracción alcanzada en las columnas P11(Fe) y P11(S<sup>o</sup>) aunque fue baja y requiere optimizarse, muestra la importancia de utilizar cepas mixtas, así como de la presencia de fierro en la solución.

## REFERENCIAS

1. T. Brewis, Mining, Vol. Abril (1984), p. 35-41.
2. C. Brierley, “*extracting metals with microorganisms*”; *Biomining* (2002).
3. D. Johnson y K. Hallberg, “*The microbiology of acidic mine waters*”; Res. Microbiol., 154 (2003).
4. G. Naranjo, “*Oxidación Bacteriana de sulfato ferroso en Acidithiobacillus Ferrooxidans*”; Tesis Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Departamento de Ingeniería Química.
5. C. Baker, y M. Dopson, “*Life in acid: pH homeostasis in acidophiles*”; TRENDS in Microbiology, Vol. 15 (2007), N° 4
6. F. Acevedo y JC. Gentina, “*Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras*”; (2005), Archivos de Ingeniería Bioquímica Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
7. ASTM, Norma D5744-96-2001 Standard Test Method for Accelerates Weathering of solid Materials using a Modified Humidity cell. Book of Standards, Vol. 11(04).
8. A. Giaveno, L. Lavallo, E. Donati, “*Uso de biorreactores para la lixiviación de un mineral oxidado*”. Jornadas SAM, 2000, p. 23-30.
9. Y. Rodríguez, A. Ballester, M. Blázquez, F. González, “*Mecanismo de biolixiviación de sulfuros metálicos*”; Revista de Metalurgia, Vol. 37 (2001), p. 655 – 672. “*Sintering, Theory and Practice*”; 1996, John Wiley and Sons, Inc. (libro)
10. Y. Rodríguez, M.L. Blázquez, A. Ballester, F. González, J.A. Muñoz, “*La biolixiviación al comienzo del siglo XXI*”; Revista de Metalurgia, Vol. 37 (2001), p. 616-627.
11. R. Sterner y W. Liebl, “*Thermophilic Adaptation of Proteins*”; Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 36 (2001), p. 39–106.
12. S. Grishin, J. Bigam, O. Tuovinen, “*Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed-bed reactor*”; Applied and Environmental Microbiology, Vol. 54(1988), N°12.

## AGRADECIMIENTOS

Uno de los autores, R. E. Rivera-Santillán, agradece a DGAPA-UNAM el financiamiento aportado al proyecto PAPIIT-IN212109 “Estudio de biolixiviación de minerales de cobre de baja ley” para la realización del presente trabajo.