

## **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<sup>1</sup>, P. Y. Camejo<sup>1</sup>, F. J. Moya<sup>1</sup>, J. L. López-Méndez<sup>2</sup>, M. Munguía-Bravo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México

<sup>2</sup>Unidad Minera La Caridad, México

relva@servidor.unam.mx camejo.pamela@gmail.com moya.francisco@gmail.com

### **RESUMEN**

La solubilización de los constituyentes de un mineral por acción bacteriana es conocida como biolixiviación. Este tipo de extracción es utilizado comercialmente en la lixiviación de minerales de sulfuros de cobre secundarios, además de ser responsable de la generación de drenaje ácido de mina. El objetivo de esta investigación fue encontrar cepas bacterianas termófilas capaces de oxidar especies reducidas de hierro y azufre para su aplicación en la lixiviación de minerales de sulfuros de cobre de baja ley. Para ello, se obtuvieron cultivos a partir de cepas termófilas tio- y ferro-oxidantes nativas de la mina La Caridad (México), midiéndose periódicamente pH, ORP, conductividad, concentración de ion ferroso y crecimiento bacteriano. Posteriormente, se adaptaron 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.

**Palabras claves:** Biolixiviación, sulfuros metálicos, microorganismos ferrooxidantes, microorganismos tiooxidantes.

### **ABSTRACT**

The solubilization of ores constituents under bacterial action is known as bioleaching. This type of extraction is commercially used in the leaching of secondary's copper sulfide minerals, besides being responsible for the generation of acid mine drainage. The objective of this research was to find strains of thermophilic bacterial species capable of oxidizing reduced iron and sulfur for use in the leaching of low-grade's copper sulfide ores. To this end, cultures were obtained from thio-and ferro-oxidizing thermophilic strains native of La Caridad mine (Mexico), periodically measuring pH, ORP, conductivity, concentration of ferrous iron and bacterial growth. Later, they adapted the leachable mineral of La Caridad under this condition. Finally, the strains and conditions under which they were better adapted were tested to mineral bioleaching on columns constructed under the ASTM-D5744.

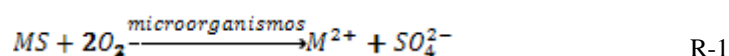
**Keywords:** Bioleaching, metal sulfides, ferro-oxidizing microorganisms, thio-oxidizing microorganisms.

## 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].

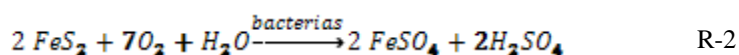
La disolución de los elementos metálicos contenidos en los minerales puede deberse a procesos químicos o biológicos. El papel de los microorganismos es catalizar la reacción de disolución del sulfuro metálico la cual se puede esquematizar con la siguiente reacción:



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

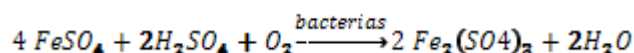
entre los microorganismos y el mineral, los microorganismos juegan un papel central en la formación de reactivos químicos que pueden tomar parte en el proceso.

En el caso de la piritita, 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

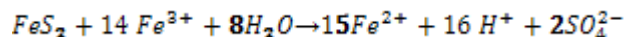
férrico según la siguiente reacción:



R-3

La transformación indirecta en el caso de la pirita, es consecuencia del ataque químico de los iones férricos que proceden de la acción

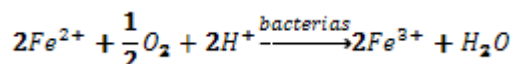
bacteriana sobre el mineral sulfurado disolviéndolo. La reacción global correspondiente es la siguiente:



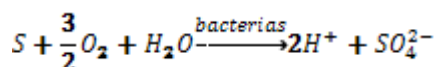
R-4

Paralelamente, la acción bacteriana cataliza la oxidación del ion ferroso y del azufre

elemental, formado como intermediario, según las dos reacciones siguientes:



R-5



R-6

## 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<sup>0</sup>, a 50°C y a 70°C, y a 150 rpm en incubadora orbital. Los cultivos se prepararon de acuerdo a la metodología desarrollada en el grupo de investigación dirigido por la Dra. Rivera-Santillán [7], 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 h se monitorearon pH, potencial oxido-reducción y bacterias/mL. Es importante hacer notar que en este trabajo se desarrollaron cultivos de microorganismos tiooxidantes y ferrooxidantes por separado y que en el caso de cultivos enriquecidos con S<sup>0</sup> en este trabajo se implementó el

monitoreo de la conductividad específica como indicativo de la reacción R-6 [8]. En el caso de los cultivos enriquecidos con Fe(II) se realizó determinación de Fe(II) residual por titulación con  $\text{KMnO}_4^-$ , 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 de acuerdo a la metodología desarrollada en el grupo de investigación dirigido por la Dra. Rivera-Santillán [7], 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 [9,10]. 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 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 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  $\text{Fe}^{2+}$  y de sulfuros minerales; mientras que *S. acidophilus* es más eficiente en la oxidación del azufre [11,12]. Existe una amplia probabilidad de que en los cultivos en los que utilizó  $\text{S}^0$  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  $\text{FeSO}_4$  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 [13]. 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° como sustrato [7], con un orden de población de  $10^6$  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  $10^5$  bacterias/mL, figura 2.

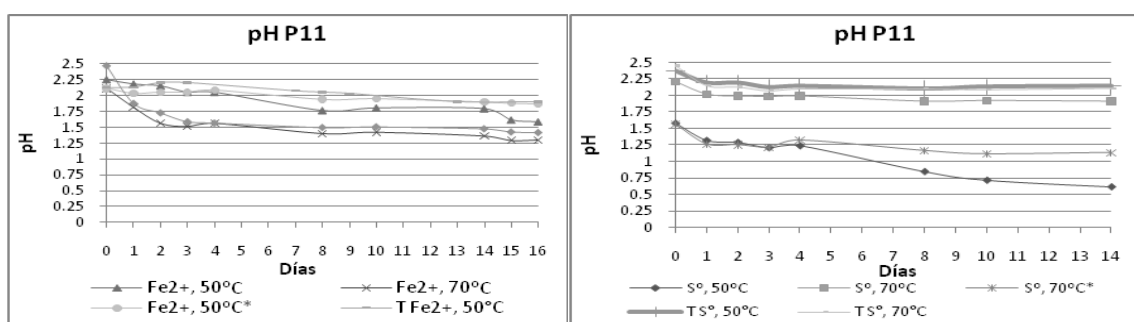


Figura 1. Variación del pH en cultivos de bacterias *ferrooxidantes* (izq) y *tiooxidantes* (der) en p11.

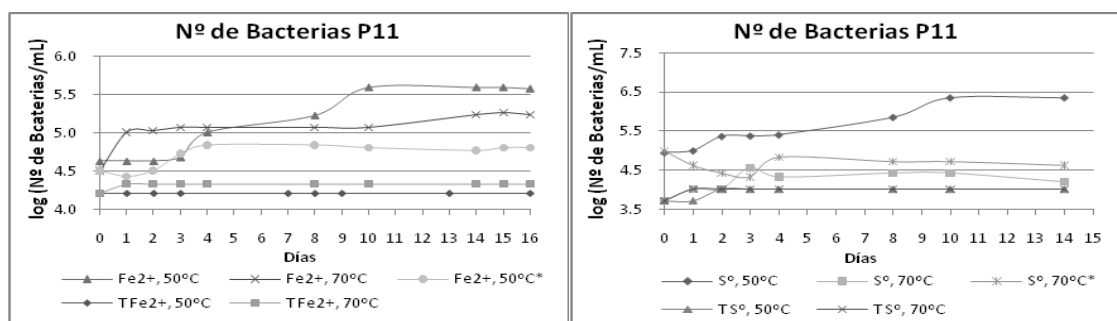


Figura 2. Crecimiento de bacterias *ferrooxidantes* (izq) y *tiooxidantes* (der) en p11.

### 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.

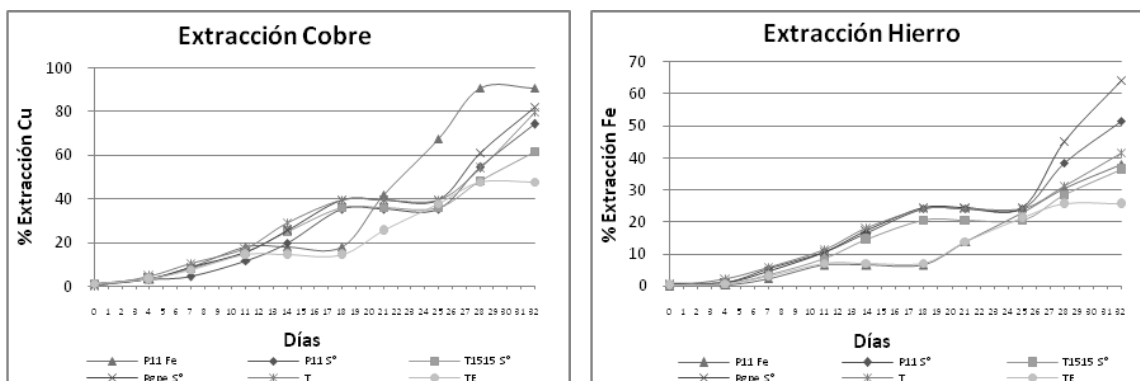


Figura 3. Extracción de cobre (izq) y de hierro (der) en la biolixiviación del mineral en incubadora.

Este fenómeno puede ser explicado con la formación de sulfatos férricos básicos que ha sido reportado en bacterias ferrooxidantes [14]. 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.

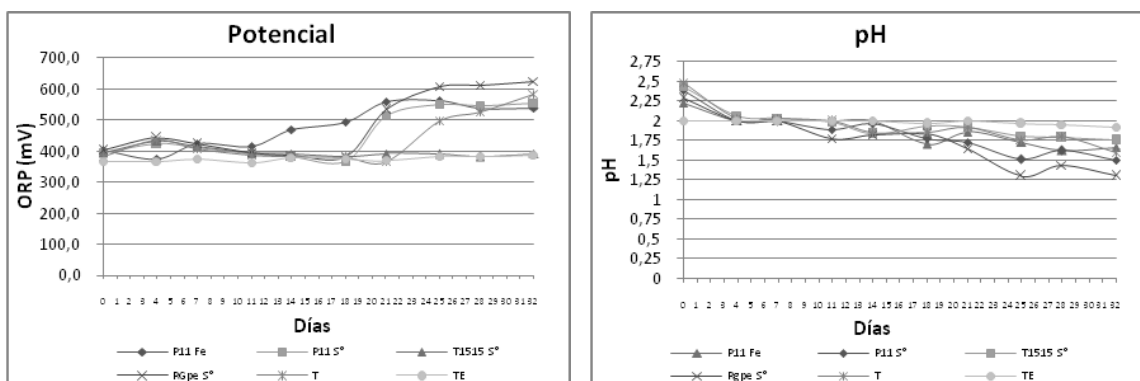


Figura 4. Variación del potencial redox (izq) y del pH (der) en la biolixiviación del mineral en incubadora.

### 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.

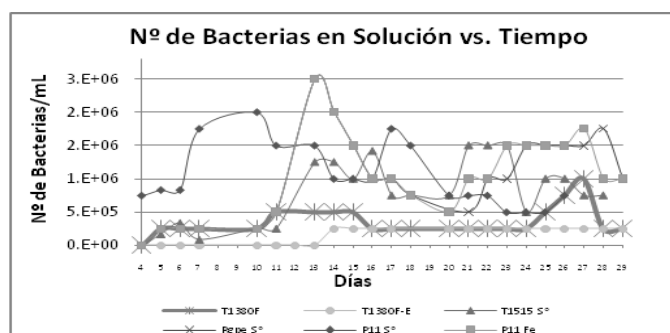


Figura 5. Población bacteriana libre en la biolixiviación del mineral en columnas.

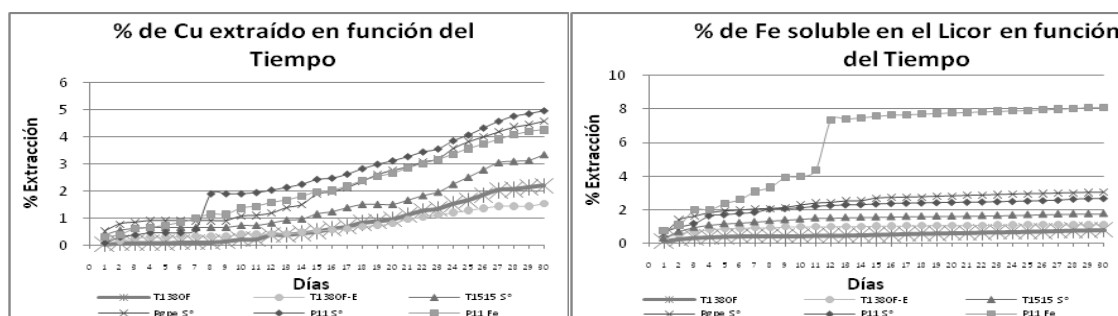


Figura 6. Extracción de cobre (izq) y hierro (der) en la biolixiviación del mineral 1380F en columnas.

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  $10^6$  B/mL, en ambos casos. Con microorganismos termófilos moderados *tiiooxidantes* 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).

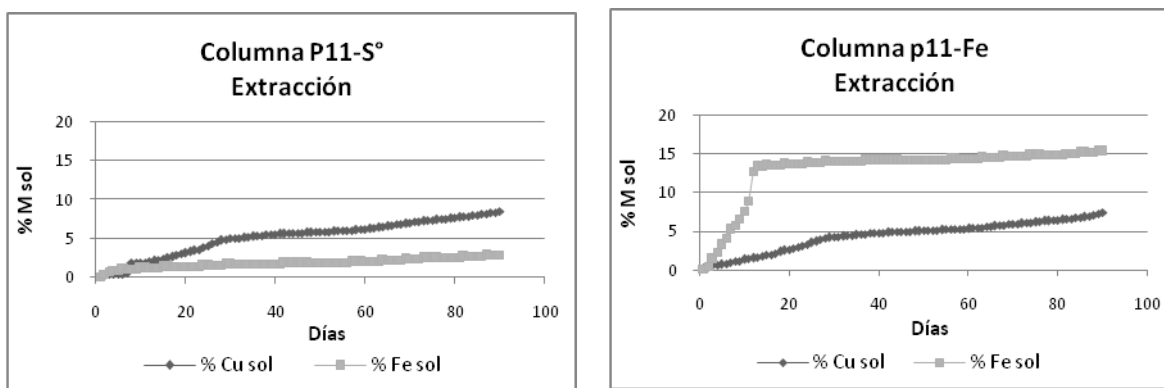


Figura 7. Extracción de cobre y hierro en columnas con microorganismos de P11.

#### 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° como sustrato que las cultivadas con Fe<sup>2+</sup>.

Las muestras P11(Fe) y RGpe(S°) 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°) 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°) aunque fue baja y requiere optimizarse, muestra la importancia de utilizar cepas mixtas, así como de la presencia de hierro en la solución.

#### 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.

#### 5. REFERENCIAS

- [1] Brewis, T. Mining, Vol. Abril (1984), p. 35-41.
- [2] Brierley, C. Extracting metals with microorganisms. Biomining (2002).
- [3] Johnson, D., Hallberg, K. The microbiology of acidic mine waters. Res. Microbiol., 154, (2003).
- [4] Naranjo, G. Oxidación Bacteriana de sulfato ferroso en Acidithiobacillus Ferrooxidans, Tesis Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Departamento de Ingeniería Química.
- [5] Baker, C., Dopson, M. Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. TRENDS in Microbiology, Vol. 15, (2007), N° 4.
- [6] Acevedo, F., Gentina, J. C. Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras. Archivos de Ingeniería Bioquímica Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, (2005).
- [7] López-Juárez, A., Gutiérrez-Arenas, N., Rivera-Santillán, R. E. Electrochemical behavior of massive chalcopyrite bioleached electrodes in presence of silver at 35 °C. Hydrometallurgy, Vol. 83 (2006), p. 63 - 68.



- [8] Rivera Santillán, R. E. Comunicación personal.
- [9] 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).
- [10] Giaveno, A., Lavalley, L., Donati, E. Uso de biorreactores para la lixiviación de un mineral oxidado. Jornadas SAM, (2000), p. 23-30.
- [11] Rodríguez, Y., Ballester, A., Blázquez, M., González, F. Mecanismo de biolixiviación de sulfuros metálicos. Revista de Metalurgia, Vol. 37 (2001), p. 655-672.
- [12] Rodríguez, Y., Blázquez, M. L., Ballester, A., González, F., Muñoz, J. A. La biolixiviación al comienzo del siglo XXI. Revista de Metalurgia, Vol. 37 (2001), p. 616-627.
- [13] Sterner R., Liebl, W. Thermophilic Adaptation of Proteins. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 36 (2001), p. 39-106.
- [14] Grishin, S., Bigham, J., Tuovinen, O. Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed-bed reactor. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 54, Nº 12, (1988).
- Sintering, Theory and Practice, (1996), John Wiley and Sons, Inc. (libro)