

## **Biooxidación de sulfuros mediante cepas nativas de acidófilos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, mina de oro El Zancudo, (Titiribí, Colombia)**

## **Sulphide biooxidation using native *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *thiooxidans*, related acidophile strains from “El Zancudo” gold mine (Titiribí, Colombia)**

*Diana M. Ossa H.\* , Marco A. Márquez G.\*\**

### **RESUMEN**

El propósito de esta investigación fue evaluar a escala de laboratorio la acción de microorganismos acidófilos nativos compatibles con las especies *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, aislados de la mina El Zancudo, Titiribí (Antioquia) sobre la oxidación de sulfuros donde predominan la piritita y arsenopiritita, variando las concentraciones de sustrato (8% y 16%), y el tamaño de partícula (75  $\mu\text{m}$  y 106  $\mu\text{m}$ ). Los resultados de las mediciones diarias de pH y potencial redox realizadas por un tiempo de 25 días, demuestran que hubo una actividad de oxidación eficiente y se llegó a valores de pH de 1,4 y potencial redox de 600 mV, además de encontrarse en solución niveles altos de alrededor de 20 g/L de As y 60 g/L de Fe. Por los análisis de DRX, FTIR y SEM/EDX, se evidencia la presencia de productos propios de la oxidación bacteriana, como jarosita y arsenatos de hierro, además de una corrosión inicial y avanzada en los granos de piritita y arsenopiritita, respectivamente.

**Palabras clave:** quimiolitotrofos, biolixiviación, piritita, arsenopiritita, mineralogía aplicada.

### **ABSTRACT**

This investigation was aimed at a laboratory evaluation of the action of native *Acidithiobacillus ferrooxidans*- and *thiooxidans*-related acidophile micro-organism (isolated from El Zancudo gold mine in Titiribí, Colombia) on the oxidation of sulphides, mainly consisting of pyrite and arsenopyrite; sulphide concentration varied from 8% to 16% and particle size from 75  $\mu\text{m}$  to 106  $\mu\text{m}$ . pH and redox potential measurement revealed efficient oxidation for each culture over a 25-day period, reaching 1,4 pH and 600 mV redox potential. 20 g/L As and 60 g/L Fe levels were reached in solution. XRD, FTIR and SEM/EDX analysis revealed the presence of bacterial oxidation products such as jarosite and iron arsenates, as well as low and high corrosion in pyrites and arsenopyrites, respectively.

**Key words:** chemolithotrophics, bioleaching, pyrite, arsenopyrite, applied mineralogy.

\* M. Sc. Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Correo electrónico: dossahenao@hotmail.com

\*\* Ph D. Mineralogía. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Correo electrónico: mmarquez@unalmed.edu.co

## INTRODUCCIÓN

El problema de la refractariedad en menas de sulfuros para la extracción de metales preciosos es bien conocido y documentado a nivel mundial. Los minerales auríferos refractarios objeto de este estudio son aquellos en que la mayor presencia del oro está directamente asociada a los minerales sulfuros, bien por occlusión o bien por asociación, y en que las especies más comunes son la pirita y la arsenopirita, encontrándose en menor cantidad sulfuros como la esfalerita y la galena, además de sulfosales de cobre y antimonio. Se considera que en Colombia es común que los depósitos de oro filoniano muestren al menos cierto grado de refractariedad, lo que afecta la extracción de este metal (Ingeominas, 1987). Una alternativa biotecnológica para solucionar el problema de la refractariedad es la utilización de una variada cantidad de microorganismos quimiolitotrofos acidófilos, los cuales lixivian y oxidan los minerales que contienen sulfuros metálicos. Dicha tecnología ha venido ganando un gran auge en las últimas décadas, debido al mejoramiento en la cinética y la eficiencia de los mecanismos implicados en los procesos de metalurgia extractiva.

La biooxidación de los minerales no consiste en fenómenos constantes, es más una sucesión de diferentes pasos y es fuertemente influenciada por la interacción entre la temperatura, el pH y el potencial redox; por esta razón puede existir un control bioquímico específico para cada mineral. Este fenómeno también puede cambiar con relación al contenido lixiviado, al crecimiento bacteriano, al tamaño de partícula y a parámetros físicos como patrones de corrosión, entre otros (Mustin et ál., 1992).

Los conocimientos biológicos de cepas microbianas nativas en la recuperación de metales, contribuyen al conjunto de estudios en el área de biohidrometalurgia que se adelantan en varias universidades nacionales e internacionales, para implementar tecnologías limpias y económicas de aplicación en la comunidad minera, aportando soluciones no solo a los problemas de impacto ambiental, sino también al de carácter económico, y posibilitando la recuperación de oro en menas refractarias.

El objetivo general de este trabajo es evaluar a nivel de laboratorio la acción de cepas nativas de

acidófilos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans*, provenientes de la mina El Zancudo, Titiribí (Antioquia), sobre el mineral concentrado de sulfuros, comparando la eficiencia de oxidación al utilizar cultivos puros de cada una de estas bacterias, valiéndonos de técnicas analíticas como absorción atómica, microscopía electrónica de barrido (SEM/EDX), difracción de rayos X (DRX) y espectroscopía infrarroja (FTIR).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Aislamiento de microorganismos

Se tomó un total de cinco muestras en zonas de oxidación intempélica de sulfuros y en lixiviados de efluentes en el depósito de la mina El Zancudo, Titiribí (Antioquia), las cuales se inocularon en los medios selectivos T&K pH 1,8 y 9K pH 2,8 para el aislamiento de *A. f.* y *A. t.*, respectivamente; para este fin se toman 10 g o 10 mL de muestra y se adicionan a 90 mL de medio de cultivo en condiciones estériles (García et ál., 1995). De dichos cultivos se obtuvieron cepas compatibles con los quimiolitotrofos mencionados, de acuerdo con la identificación bioquímica según el manual Bergey (Staley et. ál., 1991).

### Preparación del sustrato

El mineral proveniente de la mina El Zancudo, Titiribí (Antioquia), se concentró en mesa Wiffley y luego se pasó por batea, asegurando que dicha concentración estuviera alrededor de 80% de sulfuros, donde predominan la pirita y la arsenopirita. Luego se procedió a tamizar el mineral con el fin de asegurar tamaños de partícula 75  $\mu\text{m}$  pasante malla 200 y 106  $\mu\text{m}$  pasante malla 140. El mineral concentrado se esterilizó en autoclave a 18 p.s.i. y T 110 °C por 40 minutos (Lasse y Olli, 1991).

### Descripción de ensayos

Una vez que las cepas nativas compatibles con *A. f.* y *A. t.* fueron aisladas y seleccionadas, se adaptaron al mineral concentrado de la mina El Zancudo, colocándolas en agitación constante con dicho sustrato como única fuente de energía por un período de 15 a 30 días (García et ál., 1995). Luego se procedió a realizar el montaje de los ensayos utilizando las siguientes variables: cultivos puros de *A. f.* y *A. t.*, porcentaje de sustrato de 8% y 16%, tamaño de partícula de 75  $\mu\text{m}$  y 106  $\mu\text{m}$  (Deveci, 2004). En cada cultivo se

adicionó un 10% de inóculo de las bacterias, donde la población tenía un promedio de  $10^7$  y  $10^8$  células por mililitro (conteo en cámara de Neubauer). Se adicionaron 180 mL de caldo 9K fresco, para completar un volumen final de 200 mL. Los cultivos se incubaron a 35 °C, en agitación constante a 150 rpm, por un período de 25 días.

Cada uno de los ensayos se realizó por duplicado. Denominación de los ensayos: cultivos **1-2**, consistente en inóculos puros de las cepas seleccionadas de *A. ferrooxidans*, y cultivos **3-4**, consistente en inóculos puros de las cepas seleccionadas de *A. thiooxidans*. **Condición I:** cultivo puro de *Ac. ferroox.*, cultivo puro de *Ac. thioox.*, 8% de mineral concentrado y tamaño de partícula de 75  $\mu\text{m}$  (pasante malla 200). **Condición II:** cultivo puro de *Ac. ferroox.*, cultivo puro de *Ac. thioox.*, 16% de mineral concentrado y tamaño de partícula de 75  $\mu\text{m}$  (pasante malla 200). **Condición III:** cultivo puro de *Ac. ferroox.*, cultivo puro de *Ac. thioox.*, 8% de mineral concentrado y tamaño de partícula de 106  $\mu\text{m}$  (pasante malla 140). **Condición IV:** cultivo puro de *Ac. ferroox.*, cultivo puro de *Ac. thioox.*, 16% de mineral concentrado y tamaño de partícula de 106  $\mu\text{m}$  (pasante malla 140).

### Monitoreo del proceso de biooxidación

Para monitorear el proceso de biooxidación, a cada ensayo se le realizaron mediciones diarias de pH (todos los ensayos parten de un pH inicial de 2,2), potencial redox (equipo potenciómetro/ionómetro marca Methrom), concentración de hierro ferroso (método de titulación con permanganato

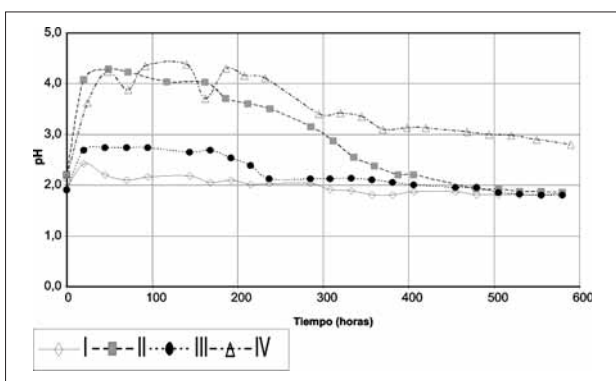
de potasio) y concentración de hierro y arsénico total en solución (la cual se determinó por absorción atómica, equipo marca Solaar) en el laboratorio del Cimex de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Además se realizaron análisis por espectroscopía de infrarrojo (FTIR) y difracción de rayos X (DRX), en el laboratorio de Física del plasma, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales, y análisis de microscopía electrónica de barrido con analizador de rayos X característicos (SEM/EDX) en la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, con el objeto de caracterizar el mineral después de la acción de los microorganismos.

## RESULTADOS

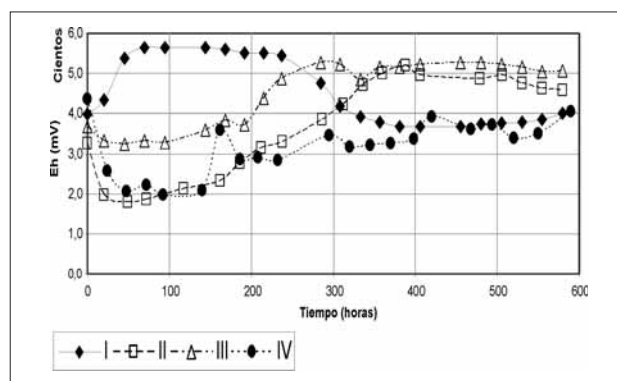
### Monitoreo de pH y Eh en el tiempo

En general, en todos los cultivos se observa un incremento del pH en las primeras 48 horas, a la vez que el potencial de oxidorreducción baja a valores alrededor de 200 mV; sin embargo, a partir de esta hora todos los ensayos muestran una disminución gradual de pH y un aumento en el Eh a través del tiempo (figuras 1 y 2).

En los **cultivos 1 y 2** (cultivos puros de *A. f.*) se observan diferencias marcadas entre las condiciones y se define una tendencia muy similar para las condiciones I y III, en las cuales el pH aumenta levemente en las primeras horas, llegando a valores cercanos a 3, para luego estabilizarse alrededor de 2 hasta el final. En las condiciones II y IV se observa un incremento considerable en el pH, que llega a

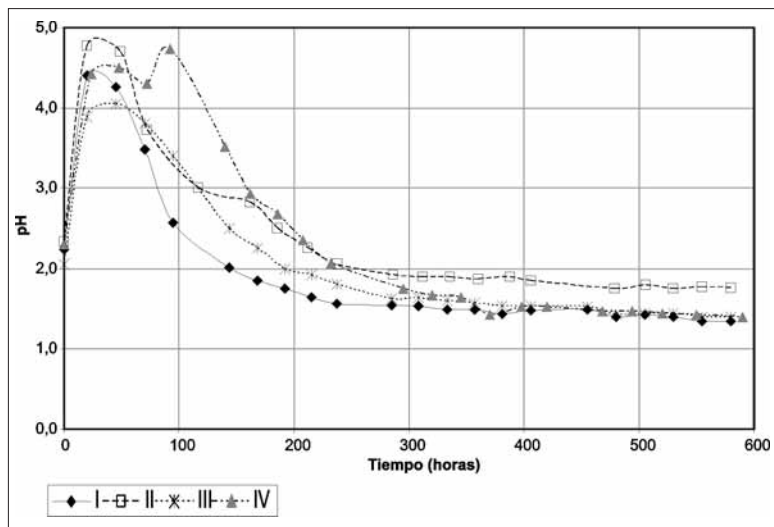


a)

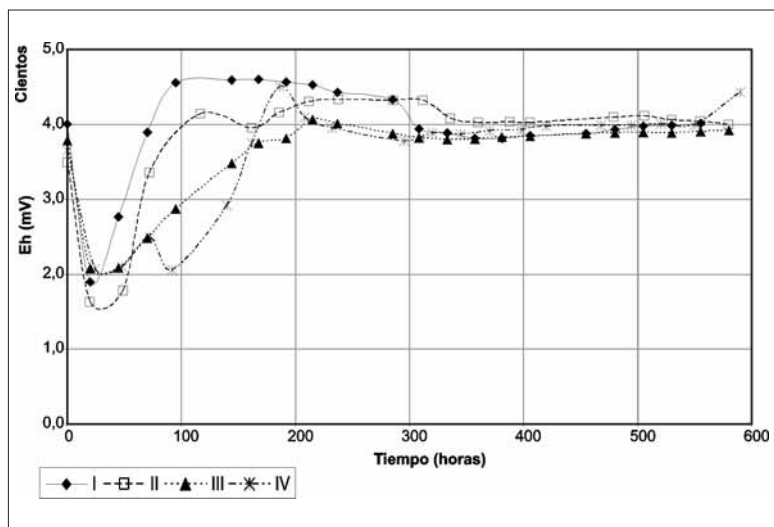


b)

**Figura 1.** a) Variación del pH en el tiempo de los cultivos 1 y 2 (*A. f.*) en las condiciones I (8% pulpa, 75  $\mu\text{m}$ ), II (16% pulpa, 75  $\mu\text{m}$ ), III (8% pulpa, 140  $\mu\text{m}$ ) y IV (16% pulpa, 140  $\mu\text{m}$ ). b) Variación del Eh en el tiempo de los cultivos 1 y 2 en las condiciones I, II, III y IV.



a)



b)

Figura 2. a) Variación del pH en el tiempo de los cultivos 3 y 4 (*At. t.*) en las condiciones I, II, III y IV. b) Variación del Eh en el tiempo de los cultivos 3 y 4 en las condiciones I, II, III y IV.

valores de 4, lo que repercute también en la caída del Eh en el sistema, ya que este tiene un comportamiento inversamente proporcional al pH. Sin embargo, a partir de las 100 horas, se activa en el sistema el proceso de oxidación y el pH comienza a disminuir a la vez que el Eh aumenta (figura 1).

En los **cultivos 3 y 4** (cultivos puros de *A. t.*) el comportamiento del pH no muestra diferencias significativas para todas las condiciones; la tendencia es que aumenta hasta las 100 horas aproximadamente, luego de las cuales comienza a bajar

gradualmente y llega a valores muy ácidos cercanos a 1.4 (figura 2).

### Disolución de Fe y As

En general, se observan diferencias significativas en la biolixiviación de hierro en las condiciones tratadas, para los cultivos puros de *A. f.* y *A. t.* En los cultivos puros de *A. f.*, la condición I (8% de pulpa y 75  $\mu\text{m}$ ) alcanza altos valores de hierro total en solución, mayores de 50000 ppm, seguida de la condición II (16% de pulpa y 75  $\mu\text{m}$ ) que llega a concentraciones por encima de 40000 ppm, al final del tiempo. Mientras que las condiciones III y IV solo alcanzan a disolver alrededor de 10000 ppm, siendo mucho menor en la condición IV (figura 3a).

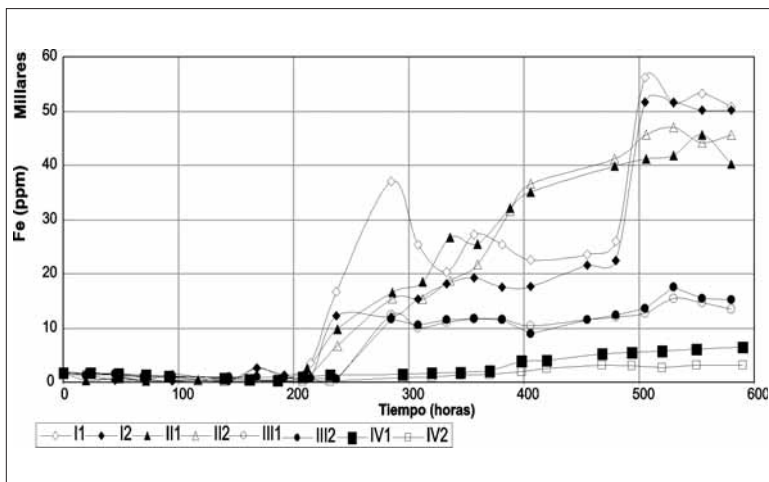
Para los cultivos puros de *A. t.*, la tendencia de disolución de Fe en las condiciones es muy similar a la de los otros cultivos, pero en las condiciones I y II estos solo logran lixiviar alrededor de 30000 ppm., (figura 3b).

En cuanto a la biolixiviación de arsénico, se observa que en los cultivos de *A. f.* las condiciones I y II alcanzan concentraciones cercanas a 20000 ppm, mientras que la condición III logra lixiviar alrededor de 10000 ppm y la condición IV solo obtiene una concentración de As por debajo de 5000 ppm.

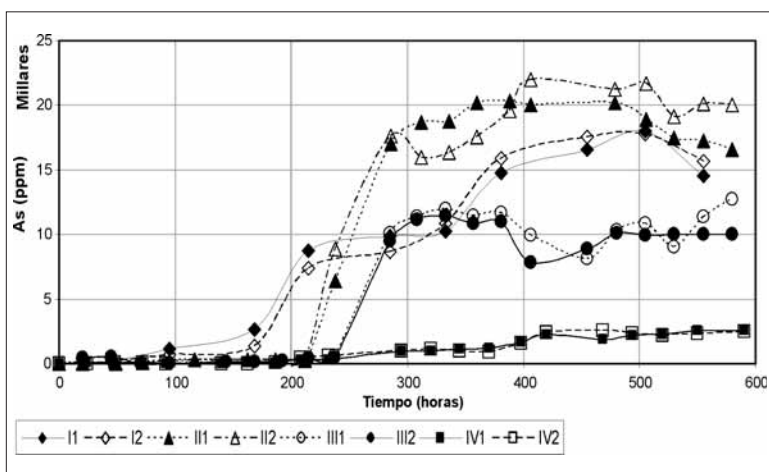
Para los cultivos de *A. t.* los resultados son similares a los anteriores; sin embargo, las condiciones III y IV se comportan como la condición IV de *A. f.*, llegando a lixiviar 5000 ppm al final del experimento.

### Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

En general en todas las muestras de los bioensayos se establece la presencia de materia orgánica, en los picos 2958, 2923 y 2853  $\text{cm}^{-1}$  reportados en Van der Marel y Beutelspacher (1976). La intensidad de estos picos varía un poco en las muestras; son más



a)



b)

**Figura 3.** a) Variación de la concentración de hierro total en solución en el tiempo de los cultivos 1 y 2 (*At. f.*) en las condiciones I (8% pulpa, 75  $\mu\text{m}$ ), II (16% pulpa, 75  $\mu\text{m}$ ), III (8% pulpa, 140  $\mu\text{m}$ ) y IV (16% pulpa, 140  $\mu\text{m}$ ). b) Variación de la concentración de arsénico total en solución en el tiempo de los cultivos 1 y 2 en las condiciones I, II, III y IV.

intensos en los cultivos puros de *A. t.* y en la condición IV (figura 5).

La banda  $1433\text{ cm}^{-1}$  es típica del modo vibracional  $\nu_3$  del carbonato calcita (carbonato de calcio), según Nyquist y Kagel (1971), y la banda  $876\text{ cm}^{-1}$  del modo vibracional  $\gamma_2$  y  $712\text{ cm}^{-1}$ , según Van der Marel y Beutelspacher (1976), lo que indica la presencia de carbonatos como la calcita en el concentrado y que apoya la teoría acerca del comportamiento de pH y potencial redox que se presentó en los cultivos (figura 5).

Las fases de los sulfatos hidratados de hierro, donde las más importantes y más comunes en el proceso de biooxidación de sulfuros son las jarositas, se reconocen por varios modos vibracionales, los más importantes son: la banda  $1635\text{ cm}^{-1}$  usualmente considerada como deformaciones  $\delta\text{ H}_2\text{O}$  del agua de las jarositas (Sasaki y Konno, 2000); las bandas  $1196\text{ cm}^{-1}$ ,  $1080\text{ cm}^{-1}$ , pertenecientes a las vibraciones de los sulfatos; la banda  $1002\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $\gamma_1$  y la banda  $628\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al modo  $\gamma_4$  de las jarositas (Sasaki y Konno, 2000; Lazaroff et ál., 1982).

La banda  $1400\text{ cm}^{-1}$  comúnmente interpretada como perteneciente a la deformación del amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) de la amoniojarosita (Sasaki, 1997; Lazaroff et ál., 1982).

Por último, las bandas observadas en  $508\text{ cm}^{-1}$  y  $472\text{ cm}^{-1}$  consideradas por Lazaroff et ál. (1982) como correspondientes al modo  $\tau_{\text{OH}}$  de la amoniojarosita.

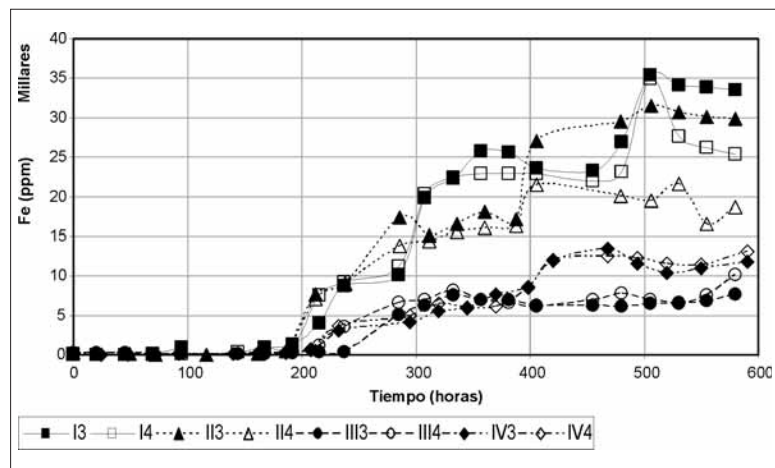
En las muestras, los sulfatos de calcio, como el yeso, pueden ser reconocidos en las bandas  $600\text{ cm}^{-1}$  y  $660\text{ cm}^{-1}$ . También en las bandas  $1117\text{ cm}^{-1}$ ,  $1143\text{ cm}^{-1}$  y la banda  $1165\text{ cm}^{-1}$ , cercanas a la región de las jarositas ya mencionadas (Van der Marel y Beutelspacher, 1976). Además son claras las bandas de cuarzo  $798\text{ cm}^{-1}$ ,  $778\text{ cm}^{-1}$  y  $694\text{ cm}^{-1}$ , siempre presentes en el mineral (Márquez, 1999).

### Difracción de rayos X (DRX)

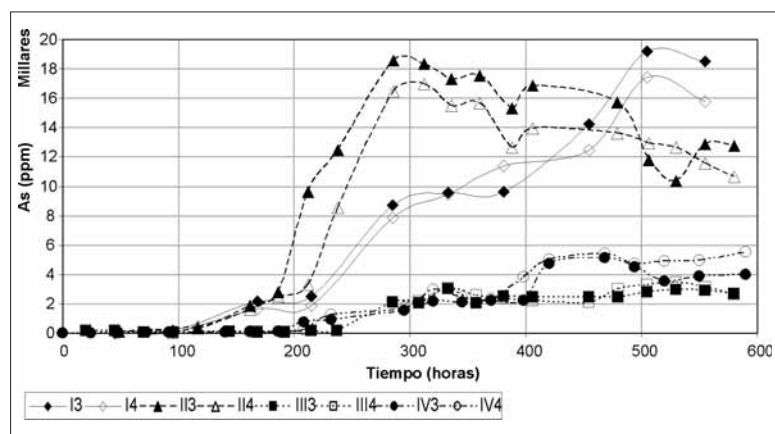
Con el fin de comparar equitativamente los resultados de las cuatro condiciones experimentadas, se tomaron varias reflexiones como punto de referencia para los minerales más representativos dentro de las muestras, los cuales son pirita, arsenopirita y jarosita.

Además se evaluó la presencia de otras fases minerales comunes en la oxidación bacteriana de





a)



b)

**Figura 4.** a) Variación de la concentración de hierro total en solución en el tiempo de los cultivos 3 y 4 (*At. t.*) en las condiciones I, II, III y IV. b) Variación de la concentración de arsénico total en solución en el tiempo de los cultivos 3 y 4 en las condiciones I, II, III y IV.

este tipo de sulfuros como los arsenatos. Por último, también se consideraron otros picos importantes en la muestra, por su intensidad.

De esta forma, para comparar la pirita y la arsenopirita se tomaron las reflexiones (2 0 0) con  $33.04^\circ 2\theta$  equivalente a la intensidad de 100% de la pirita, y (1 2 1) con  $36.76^\circ 2\theta$  equivalente a la intensidad de 100% de arsenopirita.

Para comparar la pirita y la jarosita se tomaron las reflexiones (2 2 0) con  $47.43^\circ 2\theta$  equivalente a la intensidad de 42% de pirita; (1 1 3) con  $29.02^\circ 2\theta$  equivalente a la intensidad de 100% de jarosita, y (0 2 1) con  $28.63^\circ 2\theta$  equivalente a la intensidad de

70% de jarosita. Es importante notar que los porcentajes consignados no pueden considerarse como datos cuantitativos reales; sin embargo, son muy útiles como parámetro de comparación en cuanto a las proporciones relativas de cada mineral en las muestras.

### Microscopía electrónica de barrido (SEM/EDX)

Los análisis de microscopía electrónica y los análisis microquímicos se realizaron en algunas muestras seleccionadas por presentar una buena eficiencia en el proceso de biooxidación de sulfuros, demostrada por las medidas de pH, Eh y concentraciones de hierro y arsénico en solución.

Además de las jarositas, se evidencian otras fases minerales propias de oxidación bacteriana, como el arsenato de hierro escorodita, el cual incluye algo de sulfatos; sin embargo, estos se encuentran en menor proporción comparados con la jarosita. Al igual que la muestra 2 condición I, se observan otros sulfuros oxidados, como esfalerita y galena; también sulfosales de antimonio, como boulangerita, las cuales comúnmente, se ven muy oxidadas en esta muestra (figura 9).

Según las imágenes, es claro que la arsenopirita se oxida, por lo menos en buena parte (figuras 7 y 10), generando pseudomorfos e indicando así que muy buena parte del azufre, hierro y arsénico sufren el proceso de oxidación in situ, es decir, sin haber algún tipo de lixiviación (solubilización) de estos iones.

Igualmente se evidencia la biooxidación de otros sulfuros y sulfosales presentes en pocas cantidades en la mena, como la galena (figura 11), y sulfosales de antimonio, como la boulangerita o jamesonita (figura 9); para el caso de la galena, el mecanismo de oxidación parece simular al de la arsenopirita, presentando pseudomorfos de jarosita, sin alta presencia de plomo.

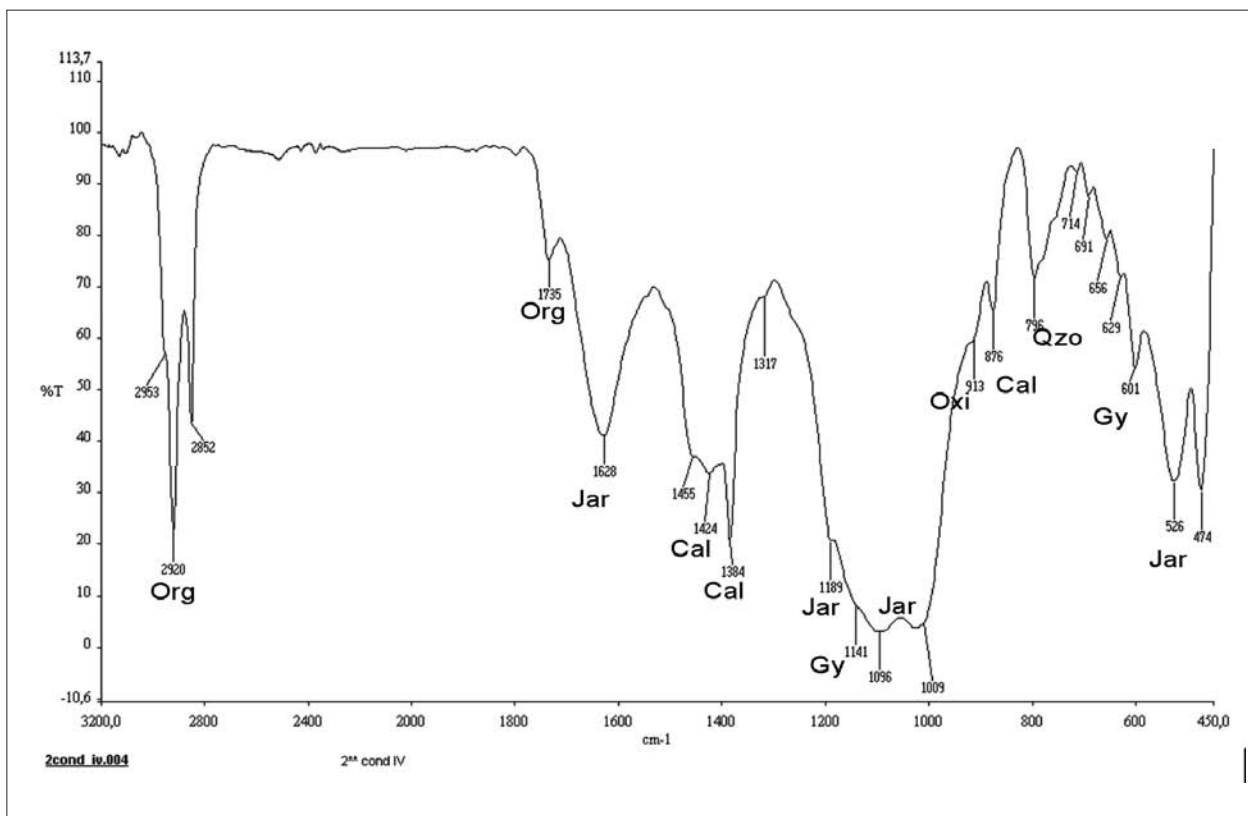


Figura 5. Espectro infrarrojo del cultivo 3 (*A. thioox.*) de la condición IV.

## DISCUSIÓN

### Análisis de pH y Eh en el tiempo

Para los cultivos puros de *A. f.* se observan diferencias claras entre los ensayos. En general las condiciones II y IV, con una concentración de sustrato del 16%, se ven más afectadas en comparación con las condiciones I y III, lo cual se ve reflejado en el comportamiento del pH y el Eh (figura 1), ya que esto está directamente relacionado con el tiempo que tarda el sistema en adquirir un pH ácido; interfieren tanto los carbonatos presentes en el mineral, los cuales se disuelven en ambientes ácidos entre pH de 0 a 5 (Marsden y House, 1992), como el estrés causado a las bacterias por las condiciones más drásticas a las que fueron sometidas.

Una característica de los cultivos puros de *A. t.* es que el potencial adquiere siempre un valor de estabilidad cercano a 400 mV, lo que puede explicarse en parte por el hecho de que en el sistema la concentración del ión férrico es menor, ya que

estas bacterias no son oxidantes de hierro, por lo tanto la presencia de este ión se debe a la oxidación química por el oxígeno. Como es sabido, el ión férrico es el principal controlador cinético del sistema, ya que es un fuerte oxidante de los sulfuros, por lo tanto una de las funciones más importantes de estas bacterias es mantener una concentración elevada de este elemento (García et. ál., 1995), lo cual no es posible con cultivos puros de *A. t.*; esta es una de las principales razones de la baja eficiencia relativa en la oxidación, encontrada en estos cultivos.

De otro lado, estos cultivos alcanzan valores de pH menores en comparación con los cultivos puros de *A. f.*, llegando en todos los casos a un pH de 1.4, como es de esperarse para los medios donde se encuentra activo *A. t.*, ya que esta bacteria se especializa en oxidar compuestos reducidos del azufre hasta sulfatos, en una serie de reacciones intermedias donde se genera gran cantidad de ácido sulfúrico (Brock y Madigan 1998; Schippers y Sand, 1999).

En cuanto a los valores de potencial de oxidoreducción obtenidos en este trabajo, se pudo observar una gran variación dependiendo de los cultivos y de los tratamientos. En general este comportamiento se puede explicar por el hecho de que cuando el Eh se dispara hacia valores más positivos, esto se relaciona directamente con el incremento neto del radio  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  en solución. Cuando el pH se dispara hacia valores ácidos, es el resultado del balance entre un consumo simultáneo de protones en la biooxidación del hierro ferroso y la liberación de protones relacionada con la precipitación de hierro férrico (Meruane y Vargas, 2003).

### Análisis de la disolución de Fe y As

Los cultivos puros de *A. t.* registraron en general una menor eficiencia relativa en el proceso, ya que obtienen los valores más bajos en la concentración de hierro en solución, en comparación con los cultivos puros de *A. f.* Sin embargo, con la concentración de arsénico en solución no se observan diferencias muy significativas entre ellos (figuras 3 y 4).

En general, los cultivos puros de *A. f.* muestran una alta eficiencia relativa en el proceso global de biooxidación y biolixiviación de sulfuros en las condiciones I y II, basados en los resultados obtenidos por las mediciones de los parámetros cinéticos (pH, Eh, Fe, As a través del tiempo) y la caracterización del mineral. En estas condiciones, los cultivos logran lixiviar cantidades representativas de hierro y arsénico al compararlas con las alcanzadas por los demás cultivos (figuras 3 y 4).

Las condiciones III y IV presentan una eficiencia relativa menor en el proceso global de biooxidación y biolixiviación, representada en una baja disolución de hierro y arsénico. Parece que esto se debe principalmente al efecto del tamaño de partícula de 106  $\mu m$  (Deveci, 2004).

Los resultados también demuestran que el tamaño de partícula del mineral influye en la eficiencia del proceso de oxidación, ya que en la condición IV las partículas son más grandes (106  $\mu m$ , pasante malla 140). Un tamaño de partícula grande significa una menor área superficial de los granos, lo que se relaciona directamente con la eficiencia en la capacidad oxidativa de las bacterias y del ión férrico (Acevedo y Gentina, 1989; Fowler et ál., 1999).

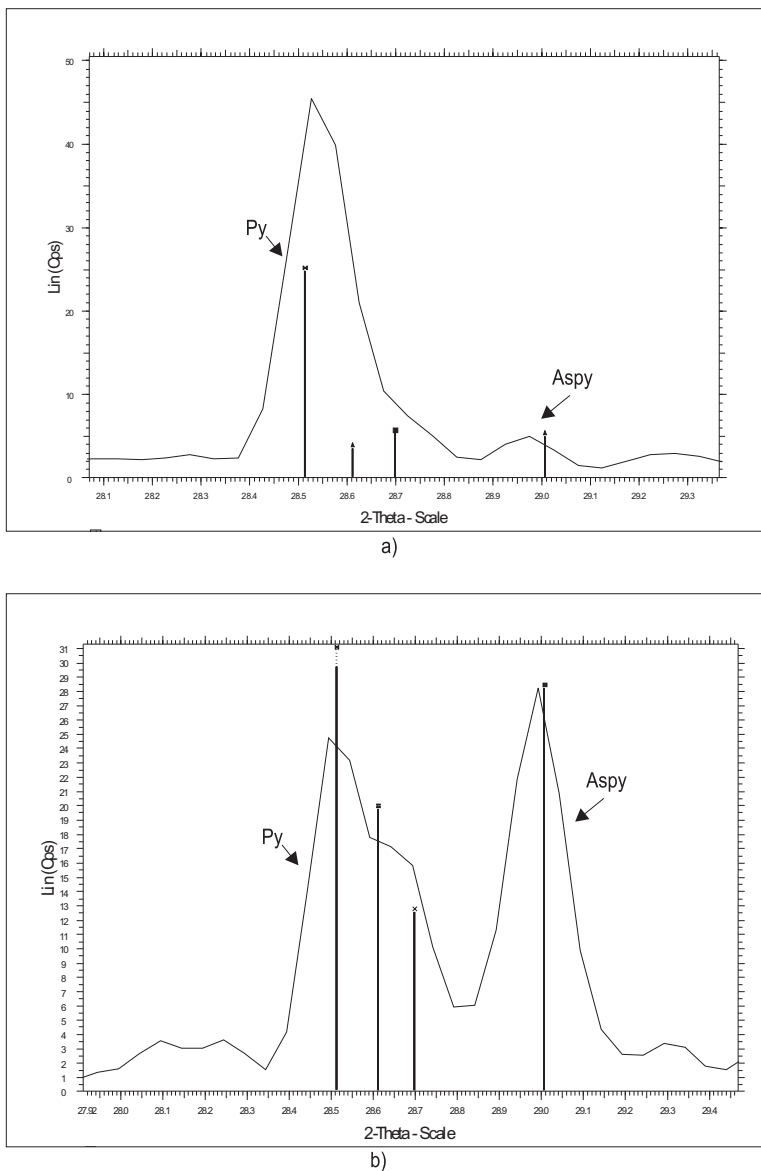


Figura 6. Proporciones relativas jarosita/pirita. a) Muestra del cultivo 3 (*A. thioox.*), condición I. b) Muestra del cultivo 1 (*A. ferrox.*), condición I.



**Tabla 1.** Valores porcentuales relativos de los principales minerales presentes en el mineral biooxidado, analizados por DRX.

Muestra %	1 I	3 I	1 II	3 II	2 III	4 III	4 IV
Py	48.9	43.6	53.6	36.4	56.5	45.0	43.7
Aspy	6.5	22.7	6.9	12.0	9.1	18.5	9.1
Jar	19	3.7	9.2	6.0	10.4	1.9	4.2
NH <sub>4</sub> jar	8.4	4.0	3.9	2.8	5.3		2.8
Qzo	7.7	17.9	8.1	17.6	9.8	17.3	17.6
Calcita	6.7	5.0	6.4	1.6	7.3	15.6	2.5
Kaatial	2.7	3.1	1.9				3.4
Tooelei				1.1	1.5		
Gyp			10	21.3			7.4
Estibina							9.3

### Análisis de FTIR

Se considera que la presencia de materia orgánica proviene de la biomasa precipitada y productos propios del metabolismo de las células. Posiblemente en la última condición (IV) las células, al estar más adaptadas al sistema, proliferan en mayor número o, por el contrario, en estas condiciones las células se afectaron más negativamente y se precipitaron como biomasa.

Esta técnica evidencia la presencia de jarositas definidas y jarositas amorfas en cultivos con alta y con baja eficiencia de biooxidación, respectivamente; además de bandas de arsenatos y de oxihidróxidos de hierro en menor intensidad para los cultivos puros de *A. f.*

### Análisis de DRX

En general, por los análisis de DRX, se observa lo que parece ser una tendencia de los cultivos puros de *A. f.* a oxidar preferencialmente la pirita, ya que las proporciones relativas de este sulfuro siempre son menores con respecto a los cultivos de *A. f.*, lo que no ocurre con la arsenopirita, pues las

cantidades de esta son mayores (tabla 1 y figura 6). Sin embargo, este resultado no indica de modo concluyente que la arsenopirita no se oxide en este sistema, ya que por los análisis químicos se establecen concentraciones similares (a las obtenidas por *A. f.*) de arsénico total en solución. Probablemente las *A. t.* posean una mejor capacidad de oxidar la pirita, debido a que este sulfuro posee más azufre, el cual es una de las principales fuentes de energía de estos microorganismos (Brock y Madigan, 1998).

Para los cultivos puros de *A. f.* se registran proporciones relativas de arsenopirita menores (figura 6) con respecto a los demás, lo que indica una oxidación activa de este sulfuro, lo cual se evidencia también por microscopía electrónica, mientras que la pirita muestra una fase de oxidación inicial o parcial. Además, de estas condiciones, la condición I es la que exhibe un mejor comportamiento en el proceso global de biooxidación, pues presenta proporciones mayores de jarositas (sulfato hidratado de hierro), y esta es la fase mineral más abundante como producto secundario del proceso según Konhauser (1998) y Márquez (1999). Las *A. f.* oxidan más fácilmente el hierro, por esta razón podrían oxidar preferencialmente la

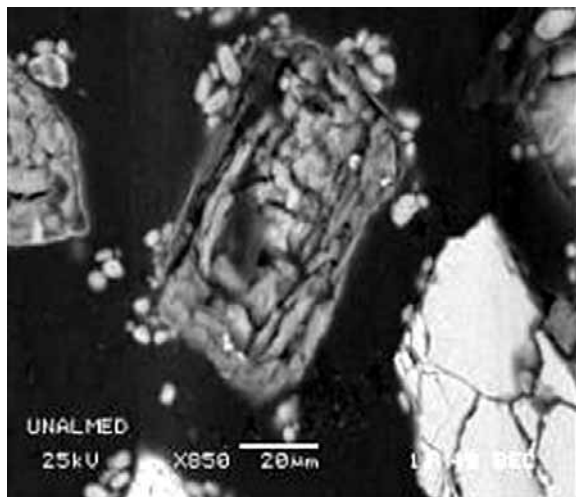


Figura 7. Grano de arsenopirita totalmente oxidada, con jarositas precipitadas alrededor, y grano de Py con oxidación inicial.

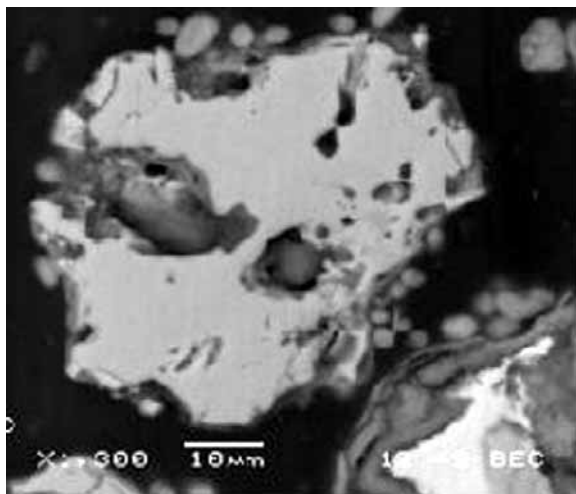


Figura 8. Grano de pirita corroído.

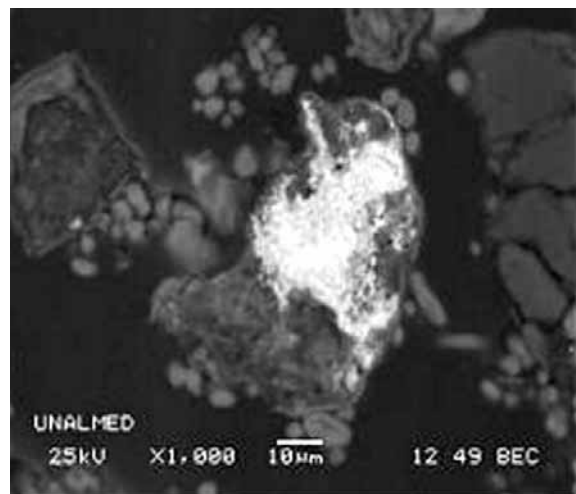


Figura 9. Grano de sulfosal de antimonio en estado de corrosión avanzada.

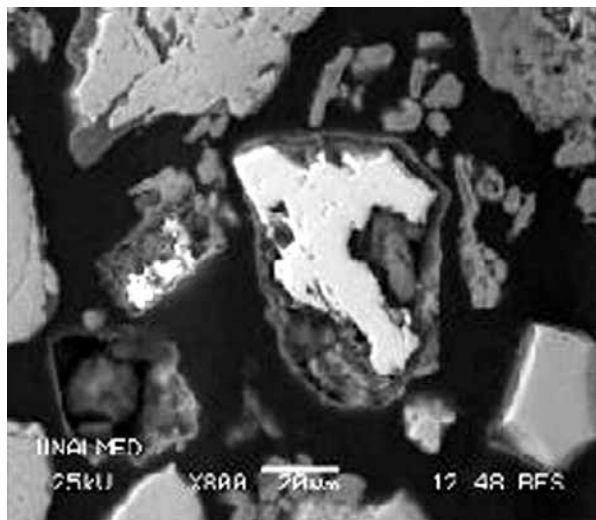


Figura 10. Granos de arsenopirita en los cuales se observan diferentes estados de corrosión, uno con oxidación total, otra muy avanzada con un núcleo pequeño remanente y otro con un núcleo grande.

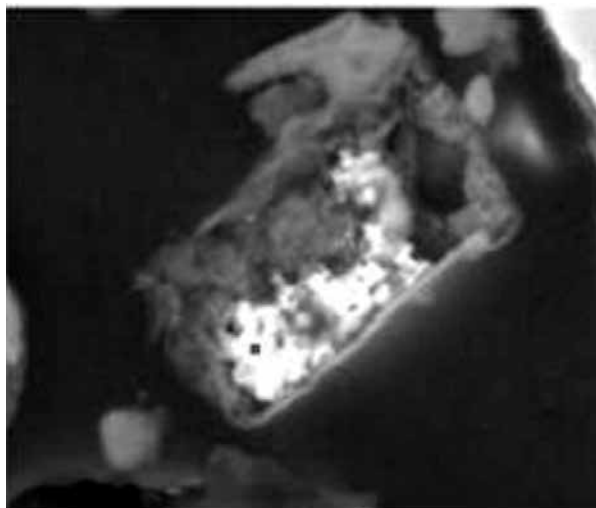


Figura 11. Seudomorfo parcial de galena con núcleo remanente que muestra un estado de corrosión avanzada.

arsenopirita, ya que este sulfuro es más susceptible a la oxidación microbiana por su estructura molecular; además se ha reportado que estas bacterias tienen una mayor capacidad para tolerar altas concentraciones de arsénico y parecen estar involucradas en su precipitación (Duchesne et al., 2003).

#### Análisis de SEM/EDX

En general, la muestra 1 condición II parece presentar una mejor oxidación que la muestra 2 condición I. A pesar de que la condición II posea un tamaño de

partícula mayor, posiblemente las bacterias van avanzando en su adaptación a la oxidación de sulfuros, ya que esto se ve reflejado en un mayor número de granos de arsenopirita casi en su totalidad oxidados con núcleos remanentes medianos y pequeños, así como en la presencia muy frecuente de pseudomorfos de arsenopirita totalmente oxidada (figura 7) y piritas con mayor grado de corrosión, que muestra golfos de corrosión mucho más profundos y con porosidad intensa hacia los bordes (figura 8), así como granos extensivamente corroídos, con grandes poros hacia el interior del cristal.

En general, en las muestras se observa que las partículas más grandes, sobre todo de pirita, se encuentran menos oxidadas. Sin embargo, las partículas de menor tamaño se presentan frecuentemente con un mayor grado de biooxidación.

En todas las muestras analizadas, las jarositas se encuentran precipitadas como cristales individuales y aislados. En cuanto a la química mineral de los productos de oxidación jarosita y, en pequeñas cantidades, escorodita (arsenato de hierro), se puede decir que tienen cantidades variables de As. Este tipo de cristal presenta con frecuencia cantidades mayores de potasio, menores de fósforo y trazas de plata y muy raramente contenidos menores de elementos como el plomo o el antimonio.

Se considera que el K y el P provienen del medio de cultivo, y que Ag, Sb y Pb son producto de la lixiviación de fases minerales presentes en el concentrado, como galena, boulangerita, tetraedrita, entre otras. El K podría eventualmente provenir de la oxidación de moscovitas o feldespatos, presentes como minerales de la ganga, lo cual también puede aportar Si y Al a estas.

## CONCLUSIONES

En esta investigación, las cepas nativas compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *thiooxidans* aisladas de la mina El Zancudo, Titiribí (Antioquia), revelan actividad oxidativa de sulfuros, mediante los análisis de los parámetros pH, Eh, Fe y As total en solución a través del tiempo y la caracterización del mineral pretratado, hallándose diferencias significativas entre ellos.

En general, todos los cultivos muestran una disminución gradual de pH y un aumento en el Eh a

través del tiempo. En este trabajo se define que los cultivos se afectan por la presencia de carbonatos en el mineral, lo cual interfiere en la fase de adaptación de las bacterias, retardándola. Sin embargo, se presentan diferencias en dicho retraso o inhibición, de acuerdo con el tipo de cepa utilizada y las condiciones a las que se sometieron los cultivos; las condiciones con mayor porcentaje de sustrato fueron las más afectadas. En un aspecto muy general, se podría analizar que los comportamientos en el pH/Eh se agrupan con base en el porcentaje de pulpa, mientras que la biolixiviación de hierro y arsénico aparentemente se afecta más por el tamaño de partícula.

Todos los cultivos mostraron normalmente las fases típicas de crecimiento microbiano: fase lag o de adaptación, fase de crecimiento exponencial y fase de estabilidad, las cuales se reflejan indirectamente por las mediciones diarias de pH, Eh, hierro y arsénico en solución. Además, las concentraciones de los dos elementos más representativos en el sistema (el hierro y el arsénico), que provienen de los sulfuros predominantes en el mineral, los cuales son la pirita y la arsenopirita, aumentan en todos los cultivos en el transcurso del experimento, y alcanzan altas concentraciones en solución, de alrededor de 60000 ppm para el hierro y 20000 para el arsénico.

En todos los cultivos de este bioensayo, el tamaño de partícula fue un factor evidentemente inhibitorio, ya que, como se discutió anteriormente, las condiciones III y IV exhiben una menor lixiviación de hierro y arsénico. En este trabajo la selección de los tamaños de partícula se hizo con base en dos factores; uno porque el tamaño de 75  $\mu\text{m}$  pasante malla 200 es el que comúnmente se utiliza a nivel de laboratorio; el otro factor es que para un proceso de biolixiviación a gran escala, el tamaño de partícula es un parámetro crítico por su influencia en la velocidad del proceso y por los costos asociados con la reducción de tamaño a nivel industrial. Por esta razón se escogió el tamaño de 106  $\mu\text{m}$ , ya que en nuestro medio es el más común en los procesos industriales.

Por los análisis de caracterización se evidenció y complementó la evaluación de la actividad oxidativa de las bacterias, por la formación de fases minerales propias de estos procesos, como sulfatos hidratados de hierro, arsenatos y oxihidróxidos de hierro. Además, se analizó el mecanismo oxidativo y se determinó corrosión y oxidación avanzada de los

sulfuros mediante análisis por microscopía electrónica con sonda de analizador microquímico (SEM/EDX).

Mediante el análisis mineralógico se pudo concluir que existen dos mecanismos diferentes en la biooxidación de la arsenopirita y la pirita. La arsenopirita oxida generando pseudomorfos y presentando oxidación y corrosión avanzadas, mientras que en la pirita predomina la disolución de las especies constituyentes (hierro y azufre) y no se observa la formación de cristales pseudomorfos.

Se puede decir que el sistema evaluado es muy complejo ya que hay muchas especies metálicas en solución que interactúan entre sí al lixivarse por acción directa e indirecta de los microorganismos. Dichos iones metálicos, como Fe, As, Cu, Zn, Pb, Ag, entre otros, tienen diferentes capacidades para precipitarse con las fases minerales que se forman en el proceso; por ejemplo, el Cu y el Zn no poseen dicha afinidad, pero el Pb y la Ag sí pueden precipitarse con las jarositas.

Este fenómeno se evidenció por SEM/EDX en este sistema, lo cual podría ayudar a explicar el proceso global de biooxidación, al establecer cuál o cuáles de estas especies desempeñan un papel importante como controladores cinéticos en este sistema.

## AGRADECIMIENTOS

A Colciencias por la cofinanciación, a los laboratorios de: Instituto de Minerales CIMEX, Microscopía Electrónica, Química, Microbiología de la Sede Medellín y el laboratorio de Física del Plasma de la Sede Manizales.

## BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, F.; Gentina, J. C. 1989. Process engineering aspects of the bioleaching of copper ores. *Bioprocess Engineering*. 4: 223-229.

Brock, T. D.; Madigan, M. T. 1998. Ecología de los microorganismos. 8a. ed. Illinois.

Deveci, H. 2004. Effect of particle size and shape of solids on the viability of acidophilic bacteria during mixing in stirred tank reactors. *Hydrometallurgy*. 71: 385-396.

Duquesne, K.; Lebrun, S.; Casiot, C.; Bruneel, O.; Personné, J.-C.; Leblanc, M.; Elbaz-Poulichet, F.; Marín, G.; Bonnefoy, V. 2003. Immobilization of arsenite and ferric iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its relevance to

acid mine drainage. *Applied and Environmental Microbiology*. 69 (10): 6165-6173.

Fowler, T. A.; Holmes, P. R.; Crundwell, F. K. 1999. Mechanism of pyrite dissolution in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology*. 65 (7): 2987-2993.

García, O.; Bigham, J. M.; Tuovinen, O. H. 1995. Sphalerite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. *Canadian Journal Microbiology*. 41: 578-584.

Ingeominas. 1987. *Recursos minerales de Colombia*. Publicaciones Geológicas Especiales del Ingeominas. Tomo I. Segunda edición.

Konhauser, K. O. 1998. Diversity of bacterial iron mineralization. Elsevier, *Earth-Science Reviews*. 43: 91-121.

Lasse, A.; Olli, T. 1991. Temperature effects on bacterial leaching of sulfide minerals in shake flask experiments. *Applied Environmental Microbiology*. 57 (1): 138-145.

Lazaroff, N.; Sigal, W.; Wasserman, A. 1982. Iron oxidation and precipitation of ferric hydroxysulfates by resting *Thiobacillus ferrooxidans* cells. *Applied Environmental Microbiology*. Apr. 924-938.

Márquez, M. A. 1999. Mineralogía dos processos de oxidação sobre pressno e bacteriana do minerio de ouro da mina Sao Bento, MG. Tese de doutorado. Universidad de Brasilia.

Marsden, J.; House, I. 1992. The chemistry of gold extraction. England: Ed. Ellis Horwood.

Meruane, G.; Vargas T. 2003. Bacterial oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH range 2.5-7.0. *Hydrometallurgy*. 71: 149-158.

Mustin, C.; Berthelin, J.; Marion, P.; Donato, P. 1992. Corrosion and electrochemical oxidation of a pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied Environmental Microbiology*. 58 (4): 1175-1182.

Nyquist, R. A.; Kagel, R. O. 1971. Infrared spectra of inorganic compounds (3800 – 45 cm<sup>-1</sup>). New York and London: Academic Press. 495.

Sasaki, K. 1997. Morphological characterization of jarosite groups formed through mediation of *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Mineral. Soc. Japan*. 26, 47-50. (in Japanese, with English abstr.)

Sasaki, K.; Konno, H. 2000. Morphology of jarosite groups compounds precipitated from biologically and chemically oxidized Fe ions. *Canadian Mineralogist*. 45-46.

Schippers, A.; Sand, W. 1999. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. *Applied and Environmental Microbiology*. 38: 319-321.

Staley, J. T.; Bryant, M. P.; Pfennig, N.; Hott, J. G. 1991. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 3: 1842-1858.

Van der Marel, H. W.; Beutelspacher, H. 1976. *Atlas of infrared spectroscopy of clay minerals and their admixtures*. New York: Elsevier Scientific Publishing Company. 396.