

ESTUDIO DE MICROORGANISMOS NATIVOS EN PROCESOS DE BIOOXIDACIÓN DE MINERALES AURÍFEROS REFRACTARIOS.

Francisco P. Gordillo Espinosa., Víctor A. Sanmartín Gutiérrez, Fabián H. Carrión Mogrovejo.

Universidad Técnica Particular de Loja.

fpgordillo@utpl.edu.ec, fhcarrion@utpl.edu.ec,

Fax: 593-7-2584893

San Cayetano s/n

Casilla Postal: 11-01-608

Loja - Ecuador

RESUMEN

La amplia biodiversidad de nuestro País se manifiesta a través de distintas formas biológicas, es así que, en los distritos mineros de Portovelo y San Gerardo al sur del Ecuador se tomaron muestras de agua y rocas para la identificación de organismos nativos que forman parte de los procesos naturales de lixiviación de minerales sulfurosos.

Mediante métodos de identificación se logró detectar la presencia de cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* y una especie fúngica aun no determinada, los mismos que han sido aislados, cultivados, experimentados y conservados en medios apropiados.

La presente investigación pretende estudiar la adaptación individual y conjunta de las bacterias y los hongos a sistemas adecuados de agitación y aireación, en los cuales se ha colocado concentraciones distintas de muestras auríferas refractarias que provienen de los procesos de recuperación de oro por métodos tradicionales, a fin de comprobar su efectividad como pretratamiento en los procesos de cianuración.

La presencia de *Thiobacillus ferrooxidans* en condiciones ácidas ha sido ya probada con anterioridad, sin embargo, la presencia de especies fúngicas en estas condiciones son estudiadas para probar su eficacia como otra alternativa para la biolixiviación.

ABSTRACT

The broad biodiversity of our country is manifested through several different biological forms. From the villages of Portovelo and San Gerardo in the southern part of Ecuador, some samples of water and rocks were taken in order to identify the native microorganisms which take part in the natural processes of leaching of sulphurous minerals.

It's been achieved to determine the presence of *Spp. Thiobacillus ferrooxidans* and a fungi sample which has not been determined yet. These have been isolated, grown, experimented and conserved in appropriate cryogenic environments.

The present research intends to study the individual and group adaptation of the bacteria and the fungi upon suitable systems of agitation and ventilation, in which has been placed several different concentrations of refractory auriferous samples. These come from the recovery processes of gold through traditional methods and test their affectivity as pre-treatments upon the cyaniding processes.

The presence of *Thiobacillus ferrooxidans* in acid conditions has already been tested in advance, however, the presence of fungi species in these conditions are studied to prove their efficiency as another alternative for the bioleaching of refractory auriferous minerals.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, gran cantidad de residuos con características refractarias han sido acumulados por varias plantas industriales y por la minería artesanal, siendo los contenidos de oro de estos relaves, en algunos casos, superiores a los 20 gr/tonelada (PRODEMINCA, 2001), además, con estas características, estos yacimientos no son factibles de beneficiarlos por procesos de concentración o disolución tradicionales impidiendo conseguir porcentajes mayores de recuperación.

El problema de la refractabilidad ha situado a la pirita y la arsenopirita como los más importantes minerales que encapsulan y hacen refractarios algunos metales como el oro (Suzuki, 2001), haciendo que el método de recuperación a través de cianuración, sea poco óptimo y se aplique únicamente a la recuperación de oro nativo y de electrum (Cook, 1990).

Se reconoce actualmente la trascendencia de los microorganismos en la formación y transformación físico química de los minerales, con enorme interés en aquellos en los cuales se presentan oxidaciones y disoluciones naturales

provocadas por la acción de cepas que obtienen la energía para su metabolismo oxidando el hierro y el azufre presentes. Se descubrió algunas bacterias capaces de oxidar el azufre elemental hasta ácido sulfúrico (Vinogradski, 1887) y la influencia de ciertas especies de bacterias en la oxidación y descomposición de minerales sulfurados en particular de la pirita (Rudolf, 1922), estos métodos han sido determinados como procesos de acción catalítica en la disolución de componentes mineralógicos mediante la acción directa o indirecta de bacterias (Suzuki, 2001).

Uno de los microorganismos que más ha favorecido estos estudios es el quimiolitotrofo mesófilo *Thiobacillus ferrooxidans*, que posee la capacidad de catalizar compuestos reducidos de azufre y ion ferroso, utilizando oxígeno como aceptor electrónico y generando ácido sulfúrico como producto final (Rossi, 1990).

La lixiviación microbiológica es un proceso natural de disolución que resulta de la acción de un grupo de bacterias, básicamente del género *Thiobacillus*, con capacidad de oxidar minerales sulfurados, lo que permite liberar los valores metálicos ahí contenidos (Guerrero, 1998)

Las muestras seleccionadas para los ensayos fueron tomadas en galerías de minas cerradas en la década del 50 en el sector Soroche Unificado de Portovelo y en un depósito nuevo de la mina San Antonio en el sector San Gerardo, en estos lugares se puede apreciar que las rocas presentan altos grados de meteorización (oxidación).

El presente estudio permitirá determinar el comportamiento bacteriano a diferentes concentraciones de mineral, para verificar su crecimiento, el grado de oxidación Fe^{+2} a Fe^{+3} y el porcentaje sólido-líquido de pulpa adecuados para la biooxidación como pretratamiento a la lixiviación con cianuro.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento, Cultivo y Conservación

Las muestras fueron tomadas a una profundidad entre 50 y 100 metros en aquellas zonas de las galerías mineras que muestran altos

grados de meteorización de las rocas mineralizadas, especialmente en los planos de contacto estructural, característicos por la presencia de estalactitas y estalagmitas.

Se tomaron muestras de agua y rocas que se colocaron en frascos estériles de 120 ml. y se transportaron en cajas térmicas aisladas.

El cultivo sólido se realizó en cajas petri, utilizando un volumen de 25 ml. de medio FeTSB (Jonson, 1987) y se ajustó el pH a 2 con ácido sulfúrico concentrado.

En los cultivos líquidos se utilizó matraces Erlenmeyers de 125 ml, se colocó un volumen de 50 ml de medio 9K (Silverman and Lundgren, 1959) y se ajustó el pH a 2 igualmente con ácido sulfúrico concentrado, se agitó a 150 rpm, en un agitador orbital (THERMOLYNE) durante 15 días.

La siembra en los dos casos se realizó en condiciones asépticas utilizando cámara de flujo laminar (ESCO) y los materiales fueron previamente autoclavados (121 °C, 20 min) y sometidos a 20 min. de radiación UV antes de la inoculación.

La conservación de muestras seleccionadas congeladas se realiza en criotubos. Se prepara una solución crioprotectora de glicerol al 10% filtroesterilizada más una solución de medio 9K, la solución glicerol-medio 9K se esteriliza en autoclave (121°C, 15 min.), los microorganismos a congelarse se siembran en tubos de agar inclinado. La solución crioprotectora es añadida a los tubos de agar y medio líquido, el cultivo es resuspendido por raspado de las colonias y agitación respectivamente, luego se coloca 1.5 ml. de la suspensión a cada criotubo y se guarda a -80 °C en congelador o en nitrógeno líquido.

Determinación Crecimiento Bacteriano

Para determinar la transformación del Fe^{+2} a Fe^{+3} se prepara una solución de permanganato de potasio 0,1N y se titula sobre 5 ml. de solución extraída de las pruebas en experimentación.

El crecimiento bacteriano se determina tomando 15 µl. de cultivo, se adiciona 5 µl. de azul de lactofenol, se mezclan en un microtubo, la solución se coloca en una cámara de recuento (NEUBAUER) y se cuantifica el número de bacterias contenidas en 5 campos, el valor

resultante y recalculado nos da el número aproximado de bacterias por mililitro de cultivo.

Caracterización Mineralógica

La composición mineralógica se determinó por microscopía óptica (NIKON EPIPHOT) de luz reflejada en secciones pulidas, como se presentan en la Tabla 1.

Minerales	Fórmula	Cantidad, %	
		Portovelo	San Gerardo
Pirita	FeS ₂	19.1	15
Calcopirita	CuFeS ₂	0.44	6.1
Esfalerita	(ZnFe)S	0.95	--
Galena	PbS	0.4	--
Arsenopirita	FeAsS	--	10
Ganga	--	79.11	68.9

Tabla 1. Análisis mineralógico de los relaves

Análisis químico

La lectura para cada metal base se realizó por espectrofotometría de Absorción Atómica (PHILIPS-PYE-UNICAM). Los metales preciosos se determinaron por fusión copelación, disgregación ácida del doré y lectura por espectrofotometría de Absorción Atómica. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Elemento	Concentración	
	Portovelo	San Gerardo
Cu (%)	0.14	2.5
Fe (%)	9.5	15.3
Pb (%)	0.45	0.03
Zn (%)	0.62	0.03
As (%)	0.08	7.84
S (%)	12.1	8.9
Au (g/ton)	9.2	19.98

Tabla 2. Análisis químico de los relaves

Análisis Físico.

Se determinó el peso específico por el método del picnómetro y el control de pH con peachímetro (THERMO ORION), los resultados

se muestran en la tabla N° 3. El análisis granulométrico se realizó por vía seca y húmeda en vibrotamiz (RETSCH) con un pasante del 80% a 190 mallas.

Parámetro	Valores	
	Portovelo	San Gerardo
Peso específico, g/cm ³	2.65	2.92
pH (35% sólidos)	6.5	7.5

Tabla 3. Análisis físico de los relaves

Experimentación

Se realizó 50 pruebas para evaluar los rangos de concentración de pulpa, de las que se seleccionaron 3 de mejor crecimiento y se ensayaron nuevamente por duplicado.

Las muestras se procesaron en vasos de precipitación de 2000 ml. a concentraciones desde 5 al 60% respectivamente, colocando mineral refractario homogenizado con una granulometría de 190 mallas (0.78 µm), se adiciona agua destilada y desmineralizada hasta obtener una solución total de 1000 ml. De los cultivos aislados se tomaron 100 µl. de la muestra con mayor cinética de crecimiento, la cual se inoculó en la solución y se agitó a 175 rpm. en un agitador de jarras (PHIPPS & BIRD STIRRER), el pH se reguló periódicamente a 2 con ácido sulfúrico concentrado y la temperatura de la cámara de crecimiento fue de 22 °C; cada muestra se mantuvo en agitación en las condiciones descritas durante 21 días (Bañuelos y Castillo, 1993).

RESULTADOS

Se utilizó un modelo de ensayo unifactorial, y para los análisis estadísticos paramétricos de los datos mediante el coeficiente de correlación de Pearsón y regresión lineal.

Crecimiento Bacteriano.

El crecimiento bacteriano en los minerales de estudio en tres diferentes concentraciones (fig. 1, 2, 3) se observa una relación similar hasta la segunda semana a partir de la cual se distinguen diferencias de crecimiento en la muestra de S. Gerardo, posiblemente por la influencia de las características mineralógicas; en la semana final existe un crecimiento acelerado hasta el día 21.

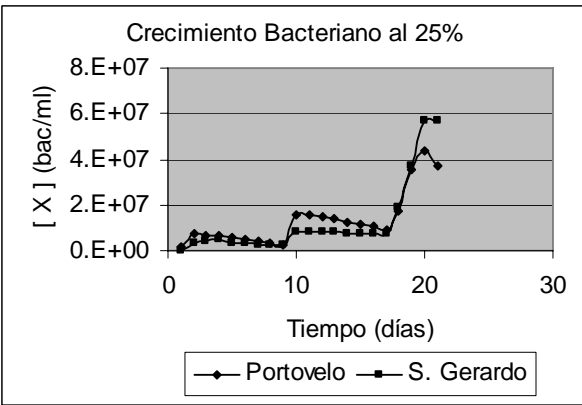


Figura 1. Crecimiento bacteriano al 25% de pulpa.

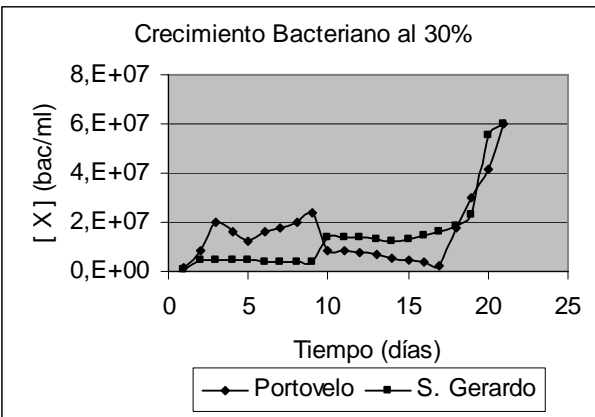


Figura 2. Crecimiento bacteriano al 30% de pulpa

Variación de pH.

El consumo de ácido sulfúrico para regular el pH está en función directa de la composición mineralógica, evidenciando su estabilización a partir de la segunda semana con un valor promedio de 2.5 como se indica en la figura 4.

Concentración de Hierro.

La titulación del hierro para la determinación indirecta del crecimiento bacteriano se muestra en la figura 5 y 6, en las cuales a partir de la segunda semana sus valores aumentan proporcionalmente al tiempo, debido también al aumento de la cinética de crecimiento bacteriano. Se determinó que el porcentaje de hierro aumenta en la pulpa a partir del día 12 para San Gerardo y 14 para la muestra de Portovelo.

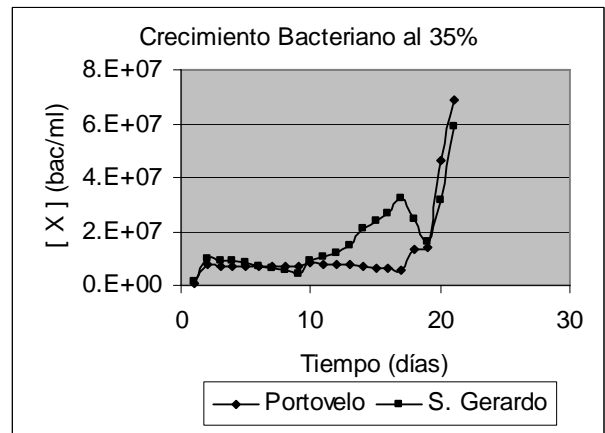


Figura 3. Crecimiento bacteriano al 35% de pulpa.

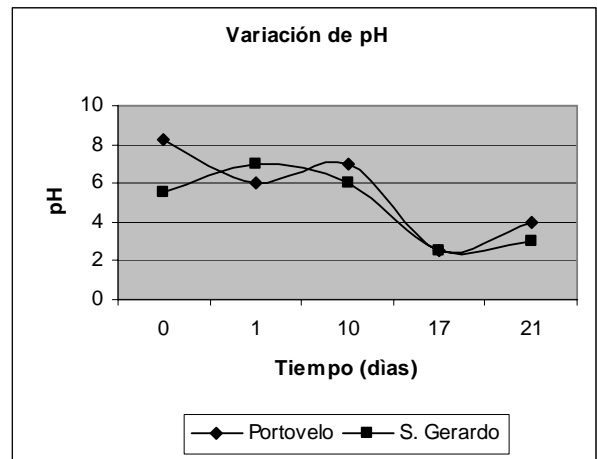


Figura 4. Variación del pH en la pulpa a 35% de concentración.

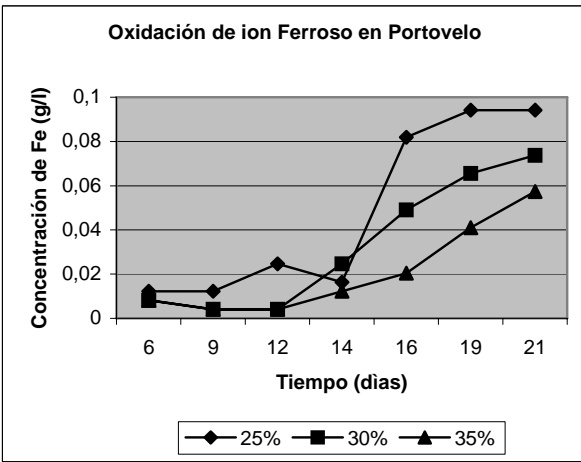


Figura 5. Oxidorreducción en los relaves de Portovelo.

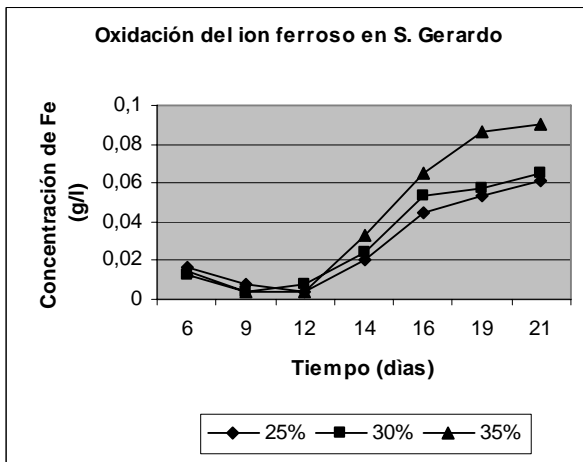


Figura 6. Oxidorreducción en los relaves de San Gerardo.

DISCUSIÓN

En condiciones controladas las cepas bacterianas recolectadas se adaptan exitosamente a los medios de cultivo in vitro y a los ensayos con pulpa mineral, mostrando los resultados estadísticos (Fig. 7) que el crecimiento bacteriano es directamente proporcional a la concentración de pulpa especialmente entre el 47% al 51% en condiciones controladas de granulometría, pH, temperatura y agitación (Fig. 8). Sin embargo, es evidente que el crecimiento bacteriano tiende a disminuir por la baja transferencia de oxígeno en el medio por la mayor concentración de pulpa.

Durante los primeros días la disolución de minerales no metálicos eleva los valores de pH, el que se estabiliza con el tiempo hasta llegar a un valor constante de 2.5, lo que sugiere que el metabolismo microbiológico produce ácido sulfúrico para la autorregulación del medio (Rossi, 1990).

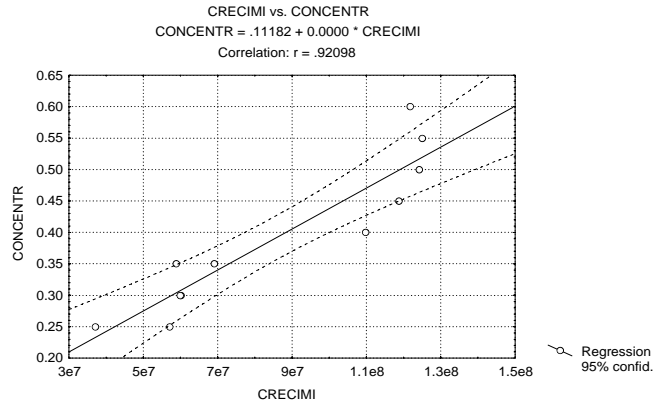


Figura 7. Correlación de Pearsón y análisis de regresión del crecimiento bacteriano en función de la concentración de pulpa.

Las muestras observadas por microscopía de luz transmitida presentan una gran cantidad de cristales de sulfato de calcio que se forman durante el proceso de biooxidación, esto se constituye como un indicador indirecto de la descomposición de los minerales carbonatados tipo calcita.

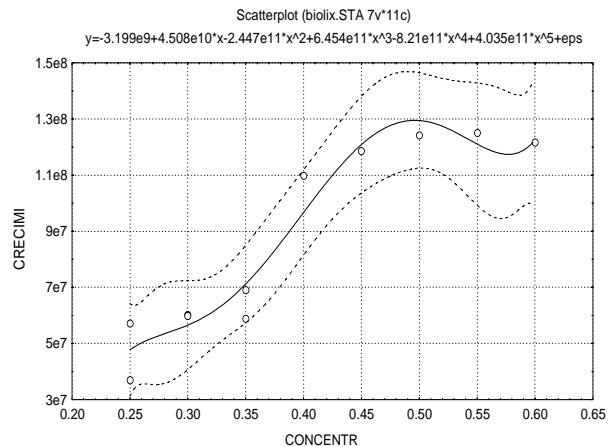


Figura 8. Ajuste de curvas para relacionar matemáticamente la concentración de pulpa en la solución con el crecimiento bacteriano.

Así mismo durante la observación microscópica se notó una gran adaptación de

una especie de *Penicillium aculeatum* muy esporulante que sobrevive en condiciones altamente ácidas y en un medio que no contiene carbohidratos, la investigación de este crecimiento fúngico determinaría la participación directa o indirecta en el proceso de biolixiviación.

REFERENCIAS

Ávila, M, Díaz, Y, 2000. Biodegradación de cianuro: uso de microorganismos inmovilizados, Quito Ecuador, in *Beneficio del Oro y Tratamiento de Efluentes Course*, pp 1-12 (Universidad Politécnica Nacional: Ecuador, Universidad Católica de Lovaina: Belgium)

Bañuelos, S, and Castillo, P, 1993. Recuperación de metales preciosos a partir de sulfuros minerales refractarios, utilizando el proceso de lixiviación bacteriológica. *Geomimet Magazine* N° 184, pp. 9-18.

Chapaca, G, Ávila, M, 2003. Evaluación de las causas de refractariedad de un mineral aurífero de la zona de Bella Rica, Seminario Internacional de Minería, Metalurgia y Medio Ambiente. pp. 113-123.

Chiacchiarini, P. Lavalle, L. Tecnologías emergentes para la bioremediación de metales y su relación con la enseñanza de la Química, Universidad Nacional de Comahue. Facultad de Ingeniería, Argentina.

Dercach, V, 1982. Métodos especiales de enriquecimiento de minerales pp 409 (Vneshtorgizdat: Moscú).

Díaz, X, and Moya, L, 2003. Recuperación de Oro mediante biolixiviación y tiocianato, in Seminario internacional de minería, metalurgia y medio ambiente, pp. 127-135 (Universidad Politécnica Nacional: Ecuador).

Fowler, T, Holmes, P, Crundwell, F, 1999. Mechanism of pyrite dissolution in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 65, pp 2987-2993.

Guerreo, J, 1998. Biotecnología en la disolución y recuperación de metales, in Primer Congreso Peruano de Biotecnología y Bioingeniería, (Trujillo Perú).

Guevara, A, De la Torre, E. 2003. Importancia de los estudios mineralógicos en el procesamiento de minerales auríferos refractarios, in Seminario Internacional de Minería, Metalurgia y Medio Ambiente 2003, pp 99-110 (Universidad Politécnica Nacional: Ecuador)

González, M, 2004. Biorremediación y tratamiento de efluentes, Monografías.Com, Lucas Morea/Sinexi S.A.

Hartikainen, T. Ruuskanen, J. Raty, K. Von Wright, A. and Martikainen, P, 2000. Physiology and taxonomy of *Thiobacillus* strain TJ330, which oxidizes carbon disulphide (CS₂), *Journal of Applied Microbiology*, vol. 89, pp. 580-586.

Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P, 1998. Metodología de la Investigación, pp 105 – 112, 376 – 395 (McGraw Hill: México).

Johnson, B. Macvicar, J. Rolfe, S, 1987. A New Solid Medium for the Isolation and Enumeration of *Thiobacillus ferrooxidans* and Acidophilic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. pp. 7-18..

Noel, D M, Fuerstenau, M C and Hendrix, J L, 1991. Degradation of cyanide utilizing facultative anaerobic bacteria, Department of Chemical and Metallurgical Engineering University of Nevada , (Reno: Nevada).

Razo, I, Lopez, S, Lara, C and Monroy, M. Study on the ability of isolated and collection strains to degrade cyanide: an application of heap-leaching residues and effluents, Instituto de

Metalurgia, U.A.S. L.P., San Luis Potosí, Mexico.

Rossi, G. 2001. The design of Bioreactor. Hydrometallurgy. Vol 59.

Smith, A and Mudder, T. The chemistry and treatment of cyanidation wastes, pp 219-237 (Mining Journal books limited: London).

Susuki, N. Asai, S. Konoshi, Y. Tokushige, M, 2001. Copper Recovery from chalcopyrite concentrates by acidophilic thermophile acidianus brierleyi in batch and continuous flow stirrer tank reactors. Hydrometallurgy. Vol 59 N° 2-3.

Thompson, L C. Developments in mine waste bio treatment processes, Pintail Systems, Inc. 11801 E. 33rd Ave. Suite C. (Aurora: Colorado)

Zelikman, A, Voldman, G, Beliaevskaya, L. 1981. Teoría de los procesos metalúrgicos. pp. 208-213 (Vneshtorgizdat: Moscú).