

Uso combinado de dos biorreactores en la biolixiviación de un mineral sulfurado de cobre^(*)

V. de la Fuente^(*), A. Giaveno^(*), P. Chiacchiarini^(*), L. Lavalle^(*), E. Donati^{(**)(***)}
y P. Tedesco^(***)

Resumen La biolixiviación de minerales sulfurados de baja ley, utilizando microorganismos mesófilos, es una vía alternativa económicamente viable para la recuperación de ciertos metales de bajo costo. Habitualmente, los procesos de biolixiviación se realizan con los microorganismos en contacto directo con el mineral, lo que ocasiona ciertos inconvenientes (depósitos sólidos sobre el mineral, toxicidad de los iones sobre las bacterias, etc.). Estos inconvenientes pueden superarse mediante el uso de una metodología indirecta, generando el medio lixiviante a través de biorreactores. Estos consisten, esencialmente, en soportes saturados de bacterias adheridas a través de los cuales se hace pasar medio fresco para generar el medio lixiviante deseado. En este trabajo, se propone una combinación de dos biorreactores: uno, utilizado previamente, que genera medio oxidante a través de la acción del *Thiobacillus ferrooxidans*, y otro, presentado aquí, generador de medio sulfúrico por acción del *Thiobacillus thiooxidans*. Este sistema combinado se ha utilizado para lixiviar un mineral sulfurado de cobre de baja ley, logrando una recuperación importante del metal. La incorporación del biorreactor generador de ácido sulfúrico permitió eliminar los inconvenientes provocados por los depósitos de jarosita sobre el mineral, a un valor de pH relativamente bajo, manteniendo una elevada concentración de oxidante (ion Fe (III)) durante todo el proceso.

Palabras clave: **Biorreactores. Biolixiviación. Minerales sulfurados. *Thiobacillus thiooxidans*. *Thiobacillus ferrooxidans*.**

Combined use of two bioreactors in bioleaching of a copper sulphide ore

Abstract Bioleaching of sulphide ores using mesophiles microorganisms is an alternative way, economically viable, for certain inexpensive metals recovery. Generally, in these processes some problems become from the direct contact of microorganisms with the ore (deposits, toxicity of ions on the bacteria, etc.). To prevent these troubles, an indirect methodology with the so called bioreactors to generate the leaching medium may be used. These are supports saturated with attached bacteria through which fresh liquid medium is precolated to generate the lixiviant solution. In this paper a two combined bioreactors system is proposed; one of them, previously used, generates oxidant medium through the use of *Thiobacillus ferrooxidans* and other, introduced in this work, produces sulphuric acid medium using *Thiobacillus thiooxidans*. This combined system has been used to leach a copper sulphide mineral with an important recovery of the metal. The sulphuric acid producing bioreactor prevented troubles associated with jarosites deposits on the ore, which appear at low pH. At the same time a high concentration of oxidant agent (Fe(III) ion) is maintained during the process.

Keywords: **Bioreactors. Bioleaching. Sulphide ores. *Thiobacillus thiooxidans*. *Thiobacillus ferrooxidans*.**

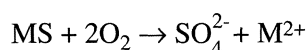
-
- (*) Trabajo recibido el día 3 de agosto de 1994.
(*) Dpto. de Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Comahue. Buenos Aires 1400. (8300) Neuquén (Argentina).
(**) Dpto. de Química. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata, 47 y 115. (1900) La Plata (Argentina).
(***) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, 11 y 526. (1900) La Plata (Argentina).

1. INTRODUCCIÓN

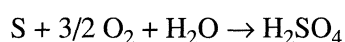
En los procesos de biolixiviación de minerales sulfurados de baja ley, los microorganismos denominados *Thiobacillus ferrooxidans* y *Thiobacillus thiooxidans* desempeñan un lugar preponderante. Ambos son microorganismos mesófilos, quimioautótrofos y pueden utilizar la oxidación catalítica de compuestos

de azufre reducidos como fuente de energía. Mientras el *Thiobacillus ferrooxidans* es capaz de crecer rápidamente sobre sulfuros metálicos muy poco solubles, el *Thiobacillus thiooxidans* crece más rápidamente sobre azufre, y ambos crecen apreciablemente sobre sulfuros solubles. Estos procesos son esencialmente aeróbicos, es decir, el oxígeno es el último aceptor electrónico de la oxidación. Una diferencia adicional de importancia es que el *Thiobacillus ferrooxidans* también cataliza la oxidación aeróbica del ion Fe(II) generando el ion Fe(III).

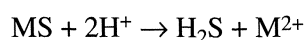
El ataque directo al ion sulfuro, catalizado enzimáticamente por estas bacterias, permite la liberación del ion metálico asociado a través del mecanismo denominado, precisamente, *directo*:



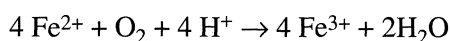
La oxidación del azufre elemental, que es un compuesto intermedio en el mecanismo anterior, permite la generación de ácido sulfúrico de acuerdo con la reacción:



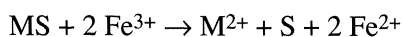
El ácido sulfúrico así generado puede contribuir a la liberación del metal mediante el desplazamiento del equilibrio hacia la formación de H₂S gaseoso (mecanismo *indirecto ácido*):



Adicionalmente, si existe ion Fe(II) y está presente el *Thiobacillus ferrooxidans*, éste cataliza el proceso según:



El ion Fe(III) puede actuar como agente oxidante sobre el sulfuro (en una acción exclusivamente química) que constituye el denominado mecanismo *indirecto oxidante*:



La acción conjunta de los tres mecanismos descritos permite un aumento considerable de la velocidad de disolución de los minerales sulfurados con respecto a la obtenida en un sistema similar abiótico.

Un procedimiento habitual de la biolixiviación es la percolación de un medio inoculado a través de los minerales. En estas circunstancias, se producen los siguientes inconvenientes:

- Se generan depósitos de jarositas (sales básicas de Fe(III)) y de azufre elemental sobre los minerales, que retardan o incluso detienen la extracción de metales.

- A medida que avanza el proceso, la concentración de los iones metálicos en solución se incrementa, pudiendo alcanzar niveles tóxicos para las bacterias.
- Algunos parámetros de importancia para el crecimiento bacteriano (en particular, la aireación y/o el pH) no pueden controlarse correctamente.

Una alternativa para evitar parcial o totalmente estos inconvenientes, es el uso de los llamados biorreactores (1-7). Estos son, esencialmente, sistemas que contienen algún tipo de soporte (inerte o no) sobre el cual se adhieren las bacterias. Este sistema puede tener una concentración bacteriana superficial muy elevada (superior a la que se alcanza habitualmente en medio líquido) que es capaz de generar, de forma continua y a gran velocidad, el medio lixivante requerido.

En un trabajo reciente (7), se ha realizado una biolixiviación utilizando en serie con una columna percoladora un biorreactor generador de medio oxidante (ion Fe(III)), con *Thiobacillus ferrooxidans* como microorganismo activo. La extracción lograda fue superior a la biolixiviación practicada *in situ* sobre la columna percoladora. Sin embargo, durante la experiencia el valor del pH subió ostensiblemente incrementando los depósitos de jarosita, disminuyendo la concentración del ion Fe(III) en solución y, en definitiva, disminuyendo apreciablemente la velocidad de extracción.

En este trabajo se modifica dicha metodología utilizando un segundo biorreactor. Este biorreactor, con el *Thiobacillus thiooxidans* como microorganismo activo y con azufre como sustrato no inerte, genera ácido sulfúrico como producto final, permitiendo mantener el pH suficientemente bajo durante todo el proceso de biolixiviación. El *Thiobacillus thiooxidans*, como se ha dicho, es notablemente más eficaz que el *Thiobacillus ferrooxidans* en la oxidación de azufre elemental y, además, resiste a valores de pH más bajos (incluso inferiores a 1,0) logrando altas velocidades y elevados rendimientos en la producción de ácido.

Con ambos biorreactores en serie con una columna percoladora, se realizó una biolixiviación de un mineral sulfurado de baja ley en cobre.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Cepas utilizadas

Se utilizó una cepa de *Thiobacillus thiooxidans*, la cual se mantenía habitualmente en medio Imai (8) de pH = 2,0, y una cepa de *Thiobacillus ferrooxidans* que se mantenía en medio 9 K (9). Ambas cepas se repicaban periódicamente a un medio fresco al alcanzar la etapa exponencial de crecimiento, según técnicas utilizadas anteriormente (10).

2.2. Biorreactores

2.2.1. Biorreactor generador de ácido sulfúrico

Se agregaron 150 g de azufre elemental en trozos, con un tamaño de partícula comprendido entre 2 y 4 mm, a una columna percoladora. Inicialmente, se utilizó en modo *batch* discontinuo, agregando 300 ml de medio 9 K sin hierro con un valor inicial de pH igual a 2,0 y se inoculó al 10 % v/v con una cepa en etapa exponencial de crecimiento de *Thiobacillus thiooxidans*. El sistema se mantuvo en aireación forzada hasta que el pH se redujo a 1,0. Se desalojó el medio y se agregó medio fresco (sin volver a inocular) repitiendo el proceso hasta alcanzar una velocidad constante de crecimiento (máxima población bacteriana adherida) medida a través del descenso del pH.

2.2.2. Biorreactor generador de ion Fe(III)

Se agregaron 150 g de vidrio molido con un tamaño de partícula comprendido entre 2 y 4 mm, a una columna percoladora. De modo semejante al anterior, se agregaron 300 ml de medio 9 K con Fe(II) 0,16 M con un valor inicial de pH igual a 2,0 y se inoculó al 10 % v/v con una cepa en etapa exponencial de crecimiento de *Thiobacillus ferrooxidans*. El sistema se mantuvo en aireación forzada hasta agotarse el Fe(II), instante en el que se sustituía el medio agotado por medio fresco. Este proceso se repitió hasta conseguir una velocidad constante de oxidación de Fe(II).

2.3. Sistema lixiviante

Se montó una tercera columna percoladora que contenía 120 g de mineral con un tamaño de partícula de 1 mm, cuya composición química se muestra en la tabla I.

Esta columna se unió a través de dos circuitos a los dos biorreactores, cuya representación esquemática se muestra en la figura 1. El circuito denominado 1 unía la columna con mineral y al biorreactor generador de ácido sulfúrico, mientras que el circuito 2 unía la columna con mineral y al otro biorreactor.

Los biorreactores se vaciaron antes de unirse a la columna con mineral, agregándose a todo el sistema medio 9 K sin hierro con un valor de pH igual a 3,0. El volumen total agregado fue de 920 ml, necesario y suficiente para lograr una circulación adecuada en ambos circuitos. De este modo, la densidad de pulpa utilizada fue 13 % p/v, (13 g de mineral por cada 100 ml de medio). Mediante la inserción de aireadores, se permitió la recirculación de líquido y la aireación de todo el sistema.

TABLA I.— Composición química del mineral biolixiviado

TABLE I.— Chemical composition of the ore

Cuarzo	78 %
Hierro (como Fe ₂ O ₃)	17 %
Azufre	2,9 %
Cobre	1,0 %

Las especies mineralógicas de cobre presentes, en orden decreciente de abundancia, son: covelita, calcocita y calcopirita.

Durante los primeros 15 días sólo se habilitó el circuito 1. Luego se cerró el circuito 1 y se habilitó el 2. Debido a la baja extracción ácida de Fe(II), se añadió, en esa única oportunidad, un suplemento de Fe(II) —en forma de FeSO₄ · 7H₂O— para alcanzar una concentración de 1g/l de hierro en todo el sistema. Los circuitos se abrieron o cerraron alternativamente para conseguir un pH de valor bajo (inferior a 1,5), aunque no lo suficiente como para detener la acción del *Thiobacillus ferrooxidans* (el cual no es capaz de crecer por debajo de un valor de pH de 1,2).

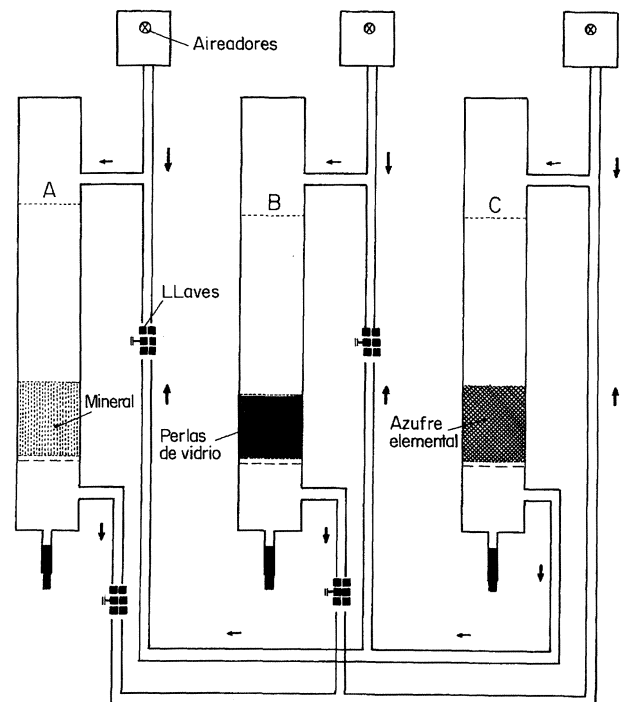


FIG. 1.— Esquema de instalación usado en la biolixiviación. Circuito 1: constituido por A y C. Circuito 2: constituido por B y C.

FIG. 1.— A schematic diagram of the used setting for biolixiviation. Circuit 1: made up by A and C. Circuit 2: made up by B and C.

2.4. Ensayo de control

Como ensayo de control, se utilizó un sistema estéril consistente, exclusivamente, en una columna percoladora. A los 15 días, también se le agregó un suplemento de Fe(II) semejante al utilizado en el sistema inoculado. Este sistema no se controló pasados 25 días debido a que la extracción de cobre se había detenido por completo tras los 4 días primeros.

2.5. Determinaciones analíticas

En los sistemas lixiviantes (tanto el inoculado como el estéril), se determinó el contenido de Fe(II) a través de una permanganometría. También se determinó la concentración de hierro total y de cobre en solución a través de un espectrofotómetro de absorción atómica con lámparas de cátodo hueco. Asimismo, se realizaron frecuentes recuentos bacterianos por medio de una cámara de Petroff-Hauser con un microscopio provisto de dispositivo de contraste de fase.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en las figuras 2, 3, 4 y 5. En la figura 2 se representa gráficamente el valor de pH en función del tiempo, y en la figura 3 se muestran los valores de Fe total y de Fe(II) en

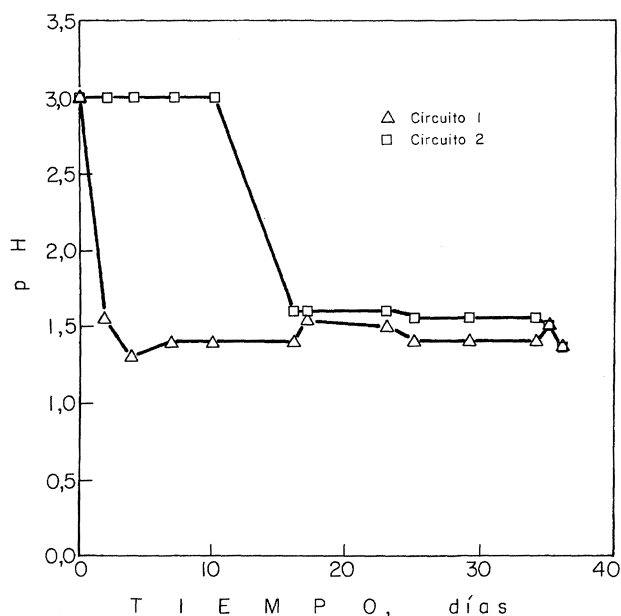


FIG. 2.— Evolución del valor de pH en los circuitos del sistema inoculado.

FIG. 2.— Evolution of pH in circuits of the inoculated system.

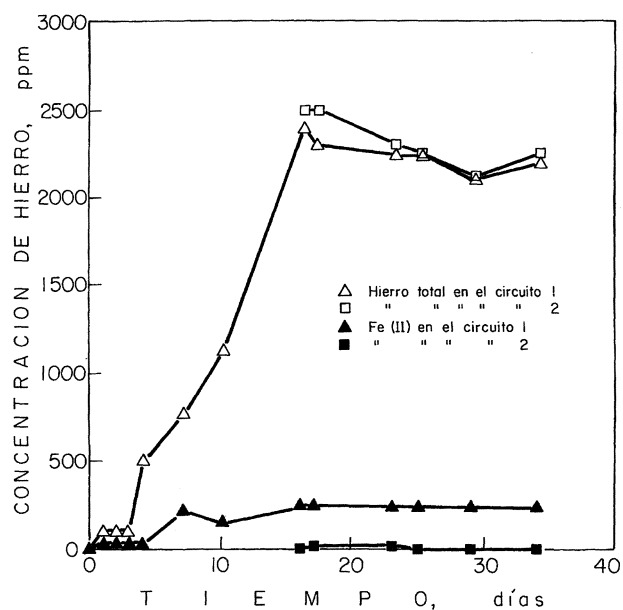


FIG. 3.— Evolución del Fe total y del Fe(II) en solución para el sistema inoculado.

FIG. 3.— Evolution of Fe total and Fe(II) in solution for the inoculated system.

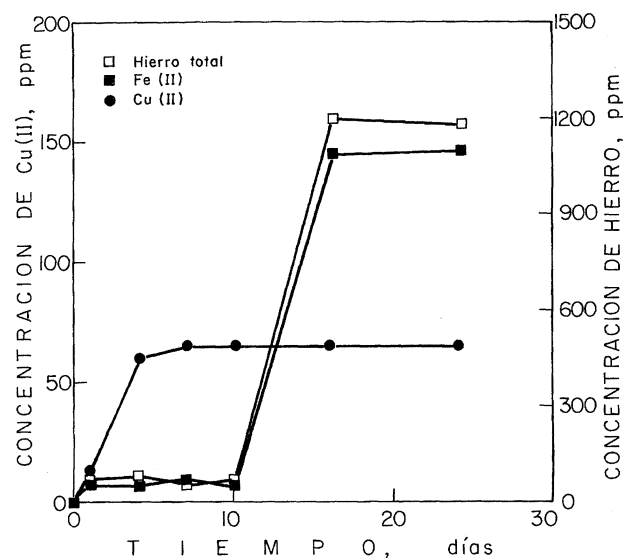


FIG. 4.— Evolución del Fe total, del Fe(II) y del Cu(II) en solución para el sistema estéril.

FIG. 4.— Evolution of Fe total, Fe(II) and Cu(II) in solution for the sterile system.

función del tiempo para el sistema inoculado. En las dos primeras representaciones gráficas, se incluyen de forma separada los valores obtenidos dentro de cada uno de los circuitos del sistema. En la figura 4 se muestran los datos de Fe total, de Fe(II) y de Cu(II) en solución para la columna estéril, y en la figura 5 la concentración de Cu(II) en solución en función del tiempo para el sistema inoculado.

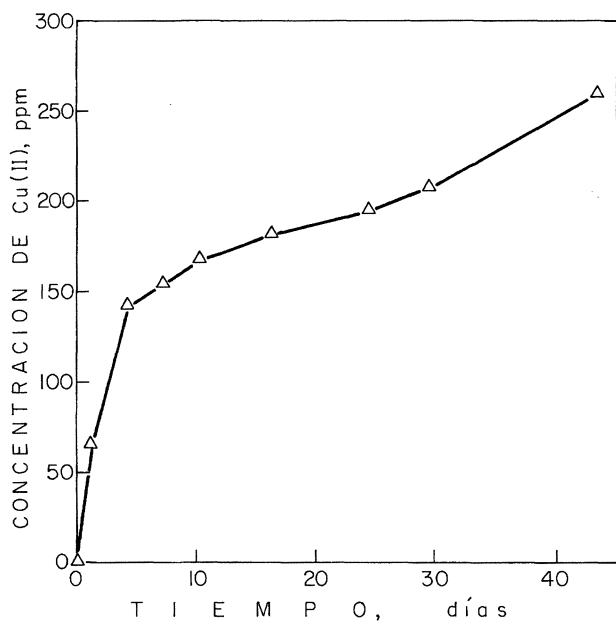


FIG. 5.— Evolución del Cu(II) en solución para el sistema inoculado.

FIG. 5.— Evolution of Cu(II) in solution for the inoculated system.

En la figura 2 se observa un rápido descenso del pH del sistema a medida que el medio circula a través del circuito 1 debido a la generación de ácido por el *Thiobacillus thiooxidans*. Posteriormente, el pH tiende a permanecer relativamente constante en torno a un valor comprendido entre 1,3-1,5. A los 15 días, tras habilitar el circuito 2, el pH tiende a aumentar ligeramente, lo cual se compensa con funcionamientos transitorios del circuito 1. Las diferencias entre los dos circuitos implican una ligera descoordinación entre ambos, aunque no se observaron precipitaciones importantes de jarositas en el circuito 2.

En la figura 3 se observa un pequeño aumento de la concentración de hierro en un primer período, lo cual implica una disolución esencialmente ácida de compuestos de hierro (probablemente de Fe(III) ya que el hierro presente se encuentra básicamente en esa forma). Más tarde, se produce un brusco incremento coincidente con el agregado del suplemento de hierro. El uso del circuito 2 permite la rápida acción del *Thiobacillus ferrooxidans*, manteniendo muy baja la concentración de Fe(II). La diferencia entre las concentraciones de Fe total y la de Fe(II) permite deducir que la concentración de oxidante se mantuvo en un alto nivel durante toda la experiencia.

El valor del pH del ensayo estéril se mantuvo en torno a 3,0 (pH inicial) durante toda la experiencia. En la figura 4 se observa una bajísima concentración de hierro en solución antes de la adición del

suplemento de hierro (evidentemente la acción ácida es mucho menor a este valor de pH). Lógicamente, después se produjo un inmediato incremento de la concentración de hierro total.

Por último, en la figura 5 se observa la concentración de cobre en solución. Se observa un comportamiento clásico en las disoluciones de sulfuros metálicos por biolixiviación, con una importante velocidad de extracción inicial (aproximadamente 36 ppm/día hasta los 4 días) debida casi exclusivamente a la acción ácida y, en cierta medida, a la posible acción oxidante del Fe(III) liberado por el mineral durante el ataque ácido. La velocidad en el ensayo estéril, en el mismo período, fue sólo de 12 ppm/día (más tarde, la extracción prácticamente no continúa) debido a que, como se ha dicho, la acción ácida es menor debido a su valor de pH más alto y, adicionalmente, la concentración de Fe(III) fue muy baja. Entre los 4 y los 22 días, la velocidad de extracción en el sistema inoculado decreció hasta aproximadamente 3 ppm/día. Posteriormente, y coincidiendo con el incremento de la concentración de Fe(III) en solución (tras el suplemento de Fe(II) suministrado y de la consecuente oxidación por el *Thiobacillus ferrooxidans*), la velocidad volvió a incrementarse manteniéndose en 3,5 ppm/día hasta el final de la experiencia (42 días). Esta situación fue sustancialmente mejor a la observada cuando se usó un solo biorreactor (7), ya que en la misma se redujo bruscamente la extracción de cobre después de los 20 días, coincidiendo con la disminución de la concentración de ion Fe(III) en disolución y con la aparición de abundante precipitación.

Los datos de población bacteriana sólo son importantes desde el punto de vista cualitativo, ya que permiten decidir si el sistema funciona normalmente; sin embargo, los valores no son representativos de las poblaciones bacterianas activas, que se encuentran esencialmente adheridas sobre los soportes. Las poblaciones alcanzadas al final de la experiencia fueron de aproximadamente $5,7 \cdot 10^7$ bacterias/ml en el circuito 2, y $4,0 \cdot 10^7$ bacterias/ml en el circuito 1.

4. CONCLUSIONES

En este trabajo, se comprobó una combinación eficaz de dos especies de *Thiobacillus*, habitualmente utilizadas en procesos de biolixiviación, cumpliendo cada una de ellas una tarea específica y definida. El *Thiobacillus thiooxidans* permite una disolución inicial rápida de hierro y el mantenimiento de un valor de pH suficientemente bajo durante toda la experiencia, mientras que el *Thiobacillus ferrooxidans* genera un oxidante capaz de atacar especies de cobre refractarias al ataque ácido. Al introducir el uso de dos biorreactores

independientes, se permitió un crecimiento no competitivo y controlado de ambos *Thiobacillus*. Los resultados implican una disolución de cobre cuatro veces superior a la de un ensayo estéril de igual valor inicial de pH después de 42 días de iniciado el proceso. Adicionalmente, se observó una alta concentración de oxidante en solución, aún al final de la experiencia, y una pequeñísima cantidad de depósitos de jarositas en los biorreactores y sobre el mineral.

REFERENCIAS

- (1) ARMENTIA, H. y WEBB, C. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 1992: 697-700.
- (2) GARCÍA, M.J., PALENCIA, I. y CARRANZA, F. *Process Biochem.*, 24, 1989: 84-87.
- (3) GRISHIN, S. y TUOVINEN, O. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 1988: 3.092-3.100.
- (4) LANCY, E. y TUOVINEN, O. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 1984: 94-99.
- (5) NIKOLOV, L. y KARAMANEV, D. *Can. J. Chem. Eng.*, 65, 1987: 214-217.
- (6) NIKOLOV, L., VALKOVA-VALCHANOVA, M. y MEHO-CHEV, D. *J. Biotechnol.*, 7, 1988: 87-94.
- (7) PORRO, S., POGLIANI, C., DONATI, E. y TEDESCO, P. *Biotech. Lett.*, 15 (2), 1993: 207-212.
- (8) IMAI, K. *Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*. Ed. Academic Press. Nueva York, 1978: 275-295.
- (9) SILVERMAN, M.P. y LUNDGREN, D.G. *J. Bacteriol.*, 77, 1959: 642-647.
- (10) PISTORIO, M., CURUTCHET, G., DONATI, E. y TEDESCO, P. *Biotech. Lett.*, 16 (4), 1994: 419-424.