



## ADAPTACIÓN DE LA BACTERIA *ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS* A PARTIR DE DRENAJES ÁCIDOS DE MINAS DE CARBÓN PARA SU USO EN LA RECUPERACIÓN DE ORO DISEMINADO EN CONCENTRADOS GRAVIMÉTRICOS

NORBERTO J. PÉREZ R<sup>1</sup>, ADIEL VÁSQUEZ QUIJANO<sup>2</sup>, ISMAEL GARCÍA-PÁEZ<sup>1</sup>

1: Universidad Francisco de Paula Santander. San José de Cúcuta, Colombia

2: Universidad de Nariño, San José de Cúcuta, Colombia

E-mail: ismaelhumbertogp@ufps.edu.co

### RESUMEN

En Colombia se ha determinado que en muchas de las plantas de procesamiento de minerales auroargentíferos se tienen pérdidas de hasta el 30% del oro. Estas pérdidas se deben principalmente a las características refractarias presentes en las menas, que hacen que el método de recuperación tradicional usado no sea adecuado. En casos como los minerales de Vetas en Santander, la refractariedad se debe principalmente a que el oro se encuentra encapsulado en minerales de pirita, lo que hace imposible la recuperación con los procesos convencionales de beneficio. Entre las diferentes alternativas de tratamiento de estas menas sulfuradas se destaca la lixiviación bacteriana con microorganismos quimiolitótrofos acidófilos del género *Acidithiobacillus* como pretratamiento del mineral antes de cualquier proceso de cianuración. En este pretratamiento, la catálisis de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* permite la liberación del oro al oxidar y lixiviar los minerales que contienen los sulfuros metálicos. En este proyecto se realizó el cultivo y adaptación de la bacteria a partir de drenajes ácidos de minas de carbón de Norte de Santander. Las bacterias se aislaron y enriquecieron a través de medios líquidos y medios sólidos, posteriormente se analizaron en cuanto a la morfología bacilar Gram negativa para confirmar la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* mediante pruebas bioquímicas. La cepa se enriqueció y se adaptó gradualmente al mineral procedente de la mina Reina de Oro de Vetas, Santander, mostrando una buena adaptación a las condiciones del mineral y un comportamiento promisorio para el tratamiento de concentrados auroargentíferos, puesto que se evidenció oxidación de los minerales sulfurados y reducción del hierro presente.

**Palabras clave:** *Acidithiobacillus ferrooxidans*, lixiviación bacteriana, mineral encapsulado, refractariedad, recuperación de oro.

### 1. INTRODUCCIÓN

El proceso de beneficio de minerales para la recuperación de oro avanza como consecuencia de las pérdidas del valioso metal en las colas, producto del proceso de cianuración por percolación y agitación. Estas pérdidas son generadas a causa de la encapsulación del oro por minerales sulfurados, haciendo casi imposible su recuperación. Esta refractariedad, es encontrada en las

menas de la mina Reina de Oro según estudios previos [1] donde minerales como pirita se encuentran a razones de 12% en el yacimiento. De acuerdo a informes realizados por Ingeominas, [2], el problema de la refractariedad en menas de sulfuro para la extracción de metales preciosos es bien conocido, se considera que en Colombia es común que los depósitos de oro filoniano muestran al menos cierto grado de



refractoriedad, lo que afecta la extracción de este metal.

Misari [3] afirma que el proceso de lixiviación bacteriana fue diseñado como pretratamiento a cualquier proceso de recuperación de oro por cianuración (percolación, agitación, en botadero o *heap*) para liberar el metal precioso de algunos componentes que lo encapsulan, y como proceso de disolución en la recuperación de metales como el cobre, debido a la formación de sulfatos metálicos, desde donde es posible recuperarlos por extracción por solventes y electrodeposición. En el caso de la recuperación de oro, con el uso de la lixiviación bacteriana normalmente se disminuye la cantidad de cianuro necesario en el proceso.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente artículo se describe los resultados obtenidos en el aislamiento de una cepa de *Acidithiobacillus*

*ferrooxidans* a partir de los drenajes ácidos de minas de carbón. Las cepas posteriormente fueron adaptadas para el procesamiento de un concentrado de minerales de oro refractario. Las fases que hicieron parte del estudio se describen a continuación.

**2.1 Toma de muestra bacterial de la mina.** Las muestras bacterianas fueron obtenidas a partir de los drenajes ácidos de minas de carbón del Norte de Santander: la mina *Montgomery* ubicada en la vereda Ayacucho, municipio de san Cayetano y la mina *La don Juana* nivel 6 ubicada en la vereda Honda Norte, municipio de Chinácota.

**2.2 Crecimiento, aislamiento y adaptación de la bacteria.** Se utilizó como medio selectivo 9K de Silverman Lundgren [4]. Además, se usaron medios modificados para las diferentes etapas del estudio tal como se muestra en la tabla 1 y se menciona en cada etapa del estudio.

**Tabla 1.** Composición de medios de cultivo para el crecimiento y adaptación de colonias de *Acidithiobacillus ferrooxidans*

REACTIVOS, g	9k	9k reducido	9k sin sulfato	9k modificado	Leathem
<b>1<sup>era</sup> Solución</b>					
Wolfe mineral	-	-	-	5mL	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3	3	3	0,8	0.15
KCl	0,1	0,1	0,1	-	0.05
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5	0,5	0,5	0,4	0.05
MgSO <sub>4</sub> + 7H <sub>2</sub> O	0,5	0,5	0,5	2,0	0.5
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,01	0,01	0,01	-	0.1
AGUA	700mL	700mL	700mL	800mL	700ml
<b>2<sup>a</sup> Solución</b>					
FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	44,2	10	0	20,0	10
AGUA	300mL	300mL	300mL	200mL	300ml



El agente solidificante utilizado para la preparación de medios sólidos fue el agar – agar, en una proporción de 2 – 2.4% (20 – 24 gramos por litro de medio 9K), servidos en cajas petri.

**2.3 Cultivo en medio líquido:** Las muestras bacteriales se cultivaron en tubos de ensayo conteniendo medio 9k y medio Leatham en proporción de 4mL de medio por cada 500 microlitros de inóculo de muestra bacteriana.

**2.4 Cultivo en medio sólido:** Las muestras bacteriales se cultivaron en cajas petri con medio 9k gelificado con agar – agar por los métodos de: siembra masiva y estría simple y compuesta.

**2.5 Pruebas de identificación bioquímica:** Una vez se comprobó que la morfología de las bacterias aisladas corresponde a bacilos Gram negativos, se identificaron a través de unas pruebas bioquímicas para determinar la reacción hacia los siguientes compuestos: tetrionato, tiosulfato, tiocianato y azufre, utilizando purpura de metacresol como indicador de pH.

**2.6 Enriquecimiento bacteriano:** Se realizaron pases consecutivos cada 10 días en medio sólido y cada 15 días en medio líquido, para asegurar un crecimiento selectivo de la cepa y un enriquecimiento de la misma.

**2.7 Adaptación de la bacteria:** El objetivo final es lograr que la bacteria libere el oro encapsulado en los sulfuros, por lo que se hace necesario ir disminuyendo gradualmente el contenido de sulfato de hierro en el medio y aumentando gradualmente el contenido de mineral, para que ella lo utilice como su alimento oxidando la pirita y liberando el valor metálico. El proceso se realizó en 6 fases, en las cuales se fueron cambiando las condiciones del medio tal como se muestra en la tabla 2. Estas fases permitieron, además de la adaptación de la bacteria, observar el efecto de la densidad de pulpa en los microorganismos. Se usaron valores máximos (23.59%) y mínimos (7%) de la densidad de pulpa como condiciones extremas en las fases de adaptación.

**Tabla 2.** Fases de adaptación de la bacteria al mineral

<b>VARIABLE</b>	<b>CONDICION</b>	<b>FASE</b>	<b>FAS</b>	<b>FAS</b>	<b>FAS</b>	<b>FASE</b>	<b>FAS</b>	<b>FAS</b>
	<b>N</b>	<b>1</b>	<b>E</b>	<b>E</b>	<b>E</b>	<b>5</b>	<b>E</b>	<b>E</b>
			<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>		<b>6</b>	<b>7</b>
<b>AGITACIÓN</b>	rpm	125	125	125	150	150	150	150
<b>MEDIO</b>	mL	250	250	250	250	250	250	500
<b>TIPO DE MEDIO</b>		9kmo d	9k	9k	9kre d	9kred	9k (0)	9k (0)
<b>CANTIDAD DE FeSO<sub>4</sub></b>	g.	20	44,2	44,2	10	10	0	0
<b>INOCULO vol. de muestra/ vol medio</b>	mL/mL, %	0,2	5	5	10	10	15	15
<b>DENSIDAD DE PULPA w mineral / V medio</b>	g/mL, %	0	0	0	7%	23,59 %	10%	10%

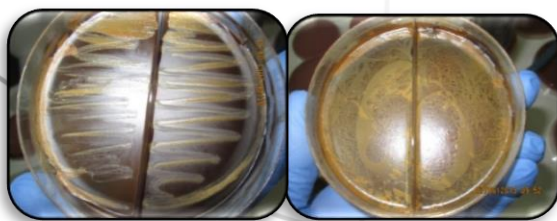


### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

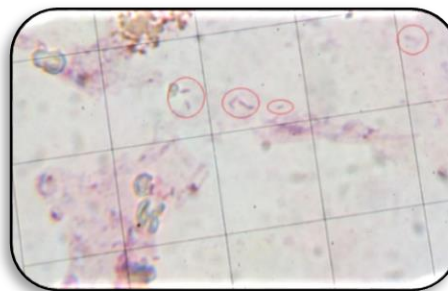
El procesamiento de la muestra bacteriana permitió verificar características de crecimiento, aislamiento y sobrevivencia del *Acidithiobacillus ferrooxidans* tales como su capacidad de crecer en medios ácidos (pH 1 – 3, ideal 2), y temperaturas que oscilan entre 28 y 35 °C (Mesófilos).

Durante la etapa de cultivo por medio sólido y líquido se observó que cepas de *Acidithiobacillus ferrooxidans* crecen favorablemente en condiciones de baja luminosidad y gran área superficial, lo que le permite adecuarse a las condiciones iniciales en que fueron encontradas.

Como se puede evidenciar en la figura 1 el crecimiento de colonias de *Acidithiobacillus ferrooxidans* muestran la formación de colonias pequeñas y amarillas, aisladas en cajas petri con medio 9k solidificado con agar – agar. Las colonias aisladas que mostraron morfología bacilar Gram negativa coloreadas con safranina, ver figura 2, se pasaron a cultivo en tubos de ensayo donde se realizaron las pruebas bioquímicas, las cuales dieron resultado positivo para tetrionato, tiosulfato y azufre, y negativo para tiocianato lo que en efecto confirmó la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.



**Figura 1.** Colonias de *Acidithiobacillus ferrooxidans* aisladas en medio 9K solidificado con agar.



**Figura 2.** Bacilos Gram negativos y cristales alrededor coloreados por violeta de genciana y safranina. Aumento 100X.

Durante el proceso de enriquecimiento bacteriano se observó que al aumentar el contacto del medio con el área superficial existían mejores resultados de crecimiento, por lo que se verificó que la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* utiliza el oxígeno presente en la superficie para oxidar el hierro en solución como parte de su metabolismo. Este proceso demuestra que la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* no es aeróbica facultativa, sino por el contrario, es aeróbica estricta.

La fase de adaptación demostró que el crecimiento de la bacteria se ve afectado por la cantidad de mineral contenida en el medio. Se comprobó que valores de densidad de pulpa muy bajos, menores al 7 %p/v, inhiben el crecimiento bacteriano al escasear la fuente de energía y en grandes cantidades, superiores al 23% p/v, la bacteria es aplastada por el mineral que se encuentra en agitación. Debido a ello, se consideró realizar las pruebas finales con una densidad de pulpa de 10%, con la cual se aseguró un sustrato suficiente como fuente de energía y se minimizó el riesgo de aplastamiento de la bacteria durante la agitación.

Un análisis semicuantitativo realizado por DRX del mineral tratado, tabla 3, evidenció una disminución de



aproximadamente el 22% de la pirita presente en el mineral original. Este resultado preliminar permite considerar que el procedimiento es promisorio para su uso en el tratamiento y recuperación del oro desde estos minerales.

**Tabla 3.** Análisis DRX del mineral antes y después del tratamiento con la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

	Original	Tratado
<b>Pirita</b>	12,4	9,7
<b>Cuarzo</b>	70,3	77
<b>Zeolita A</b>	0,5	1,6
<b>Zeolita Rho</b>	16,8	11,7

#### 4. CONCLUSIONES

La bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* crece favorablemente en medio 9K en condiciones ácidas, aeróbicas, de baja luminosidad y temperatura ambiente (28° a 35° C); se aísla en medio 9k solidificado con agar – agar en una proporción mínima del 2%, formando colonias de color amarillo con morfología Gram negativa y bacilos pleomórficos que dependen del medio en que se cultiven.

Se logró enriquecer un cultivo de *Acidithiobacillus ferrooxidans* mediante la realización de pases consecutivos cada 7 días en medio líquido y cada 15 días en medio sólido.

Se logró la adaptación de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* a unas condiciones tales que se pudo evidenciar la oxidación de la pirita.

**AGRADECIMIENTOS:** Los autores del trabajo expresan sus agradecimientos a la Vicerrectoría de Investigaciones y Extensión de la UFPS y a COLCIENCIAS por la financiación del proyecto.

#### REFERENCIAS

- [1] LASPRILLA GOMEZ, Mauricio y LOZANO MEJIA, Rodrigo. Evaluación geológica del yacimiento de oro y plata de la mina reina de oro. Vetas. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 1990. p.96.
- [2] Ingeominas. 1987. Recursos minerales de Colombia. Publicaciones Geológicas Especiales del Ingeominas. Tomo I. Segunda edición.
- [3] MISARI CH., Fidel Sergio. Biohidrometalurgia: Tecnología de la lixiviación Bacteriana de Minerales. Lima: TECSUP, 1987. 293 p
- [4] CONSTANZA CORRALES, Lucia. Estudio piloto de aislamiento y fenotipificación de bacterias que participan en los procesos de biolixiviación, en las zonas mineras del Departamento de Boyacá. Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. 2006.